

フウラン (*Neofinetia falcata* Hu) の小花からの プロトコーム様球体の誘導と植物体の再生

島崎一彦

高知大学農学部

(〒783 南国市物部乙200番地)

(1992年8月17日受付)

(1992年9月28日受理)

フウランは日本を中心とするアジアの温帯地域に分布し、花や葉型の変異が多く鑑賞用植物として古くから栽培されている。しかしながら、一般にその成育は極めて緩慢であり、単茎性であるため株分けによる繁殖効率も悪く、優良品種の栄養体の大量増殖は困難である。

組織培養技術を用いたラン科植物の栄養体の増殖は Rotor¹⁾ が初めて成功して以来、多くの種で成功例が報告されている²⁾。ラン科植物の *in vitro* での増殖は、茎頂からプロトコーム様球体 (Protocorm-like body, PLB) を誘導し、これを増殖して多数の植物体を得る方法が一般的である。 *Phalaenopsis* など数種の単茎性のランでは茎頂培養によって PLB や植物体を誘導できる³⁾ が、茎頂摘出後母株が消滅することが多く実用的でない。このため、単茎性ランでは茎頂以外の組織を利用した増殖法の確立が必要である。しかしながら、フウランでは茎頂や種々の器官の培養による栄養体の増殖例は報告されていない。

本研究はフウランの大量増殖法を確立するために、幼花序の小花からの PLB 誘導と植物体再生法について検討したので報告する。

【実験1】 植物材料としてフウランの成株の葉腋に位置する長さ約7mmの花序を切り取り供試した (Fig. 1)。幼花序を0.01% Tween 20 を添加した0.1% 塩化第二水銀で10分間殺菌し、滅菌水で3回水洗した後、小花を一個ずつに切り離し外植体とした。外植体の培養には、Murashige and Skoog 培地⁴⁾ (MS 培地) 中の硝酸アンモニウムを412.5 mg/l (1/4 倍)、硝酸カリウムを950 mg/l (1/2 倍) の濃度に変更し、シヨ糧20 g/l、2-(*N*-モルホリノ)エタンスルホン酸 (MES) 1 mM、植物ホル

モンとして *N*⁶-benzyladenine (BA) 及び α -naphthaleneacetic acid (NAA) を添加した修正 MS 培地を使用した。培地の固化剤には2 g/l ゲルライトを使用した。培地の殺菌は120°Cで15分間行った。培地殺菌後の pH は5.8であった。培養容器は樹脂キャップ付き試験管 (25×100 mm) を使用し、培地量は1容器当り10 ml とした。供試外植体数は1区当り15とした。培養は全て16時間日長、25±1°C、約25 μ E/m²・s の人工照明室で2カ月間行った。

【実験2】 実験1において BA 1 μ M 及び NAA 10 μ M を添加した培地で小花から形成された PLB を一個ずつに切り離して、シヨ糖を0, 5, 10, 20, 40 及び80 g/l の濃度で添加した植物ホルモン無添加の修正 MS 培地で培養した。供試 PLB 数は1区当り10とした。培養は実

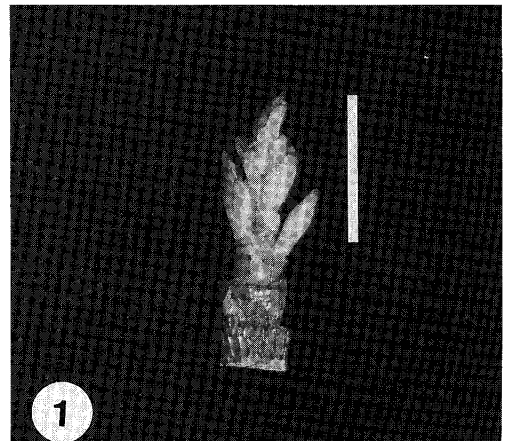


Fig. 1 An inflorescence used for the explants. Scale bar indicates 5 mm.

Table 1. Effect of growth regulators in modified MS media on formation of protocorm-like bodies (PLB) from floret cultures.

Growth regulators (μM)		Frequency of PLB formation (%)
BA	NAA	
0	0	6.7
1	0	0
10	0	0
0	1	6.7
0	10	13.3
1	1	20.0
10	1	13.3
1	10	80.0
10	10	46.7

験1と同様の条件下で2カ月間行った。

培養2カ月後の小花の成育様相を **Table 1** に示した。ホルモン無添加区、NAAを単独にまたはBAと組み合わせて添加した全ての処理区で小花柄からPLBが形成された (**Fig. 2**)。BAを単独に添加した処理区ではPLB形成が認められなかった。PLB形成率にはBA 1 μM と NAA 10 μM を添加した区が最大であった。培養期間中のシュート形成は認められなかった。

ショ糖濃度を変更した修正MS培地でのPLBの成育様相を **Table 2** に示した。PLBからのシュート形成はショ糖を5~20 g/lの濃度で添加した区で認められた。シュート形成率及び形成率はショ糖5 g/l区>10 g/l区>20 g/l区の順で大きくあり他の処理区ではシュート形成が認められなかった。ショ糖5 g/l区では発根も認められた (**Fig. 3**)。

以上の結果からフウランの大量増殖は、小花をBA 1 μM と NAA 10 μM を添加した修正MSで培養しPLBを誘導・増殖させた後、ショ糖濃度5 g/l、植物ホルモ

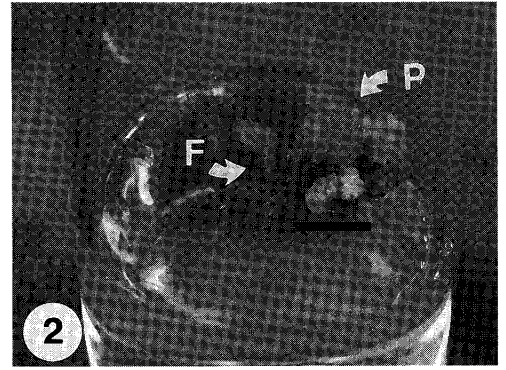


Fig. 2 Induction of protocorm-like bodies from floret cultures on modified MS medium with BA 1 μM and NAA 10 μM . F: floret, P: protocorm-like bodies. Scale bar indicates 5 mm.

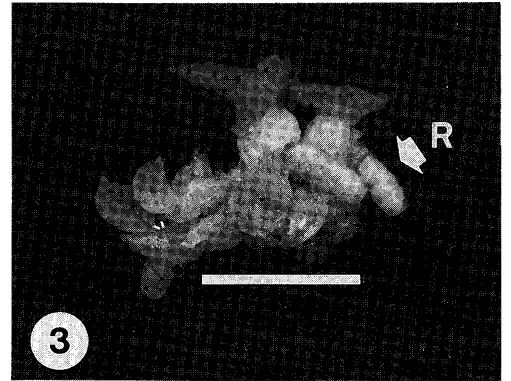


Fig. 3 Shoot formation from protocorm-like bodies on 5 g/l sucrose supplemented modified MS medium. R: root. Scale bar indicates 5 mm.

ン無添加の修正MS培地で植物体を誘導する方法で可能であると思われる。

Table 2. Effect of sucrose concentrations in modified MS media on shoot formation from PLB cultures.

Sucrose (g/l)	Frequency of shoot formation (%)	Average number of shoots	Rooting
0	0	0	—
5	60	3.3 ^a	+
10	30	2.0 ^{ab}	—
20	10	0.2 ^b	—
40	0	0	—
80	0	0	—

Values within columns followed by different letters are significantly different at $p=0.01$ by Duncan's multiple range test.

文 献

- 1) Rotor, G. Jr., 1949. Amer. Orchid Soc. Bull., 18: 738-739.
- 2) Arditti, J., 1977. In "Orchid Biology I" (ed. by Arditti, J.), p. 203-293, Cornell University Press, Ithaca, London.
- 3) Intuwong, O., Y. Sagawa, 1974. Amer. Orchid Soc. Bull., 43: 893-895.
- 4) Murashige, T., F. Skoog, 1962. Physiol. Plant., 15: 473-497.

Summary

Induction of Protocorm-like Body (PLB) and Subsequent
Plantlet Formation from Floret Culture of *Neofinetia falcata* Hu

Kazuhiko SHIMASAKI

Department of Subtropical Agriculture, Kochi University,
Monobe B200, Nankoku city, Kochi, 783 Japan

Florets of *Neofinetia falcata* Hu were cultured on modified MS medium containing 412.5 mg/l NH_4NO_3 and 950 mg/l KNO_3 . A combination of 1 μM BA and 10 μM NAA was the most effective for the induction of protocorm-like bodies (PLB). Plantlet formation from PLB was enhanced on modified MS medium supplemented with 5 g/l sucrose.