

作付されるため、これが生育後期まで旺盛で健全な生育を継続した要因であると思われる。

2) ウラルカンゾウについて

根重については両者で顕著な差が認められなかったのに対し、GL含量については顕著に異なり、培養苗は圃場苗に対して54%の値となった(表2)。培養苗の根部が圃場苗よりも顕著に肥大していたことから(表2, 図2)、デンプン等の多大な蓄積がGL相対量の低下を引き起こしたと推察された。培養苗で根部の肥大を引き起こした要因として、育苗時に根の伸長が抑制されたこと、またウイルスフリー苗による生育の改善等が考えられる。

E. 結論

セリバオウレンについて、培養苗ではウイルスフリーとなったことにより、茎葉の枯れ上がりが遅くなり、地下部での腐敗が観察されなかったことから、根茎増殖率および根重が圃場苗を上回ることが明らかとなった。ウラルカンゾウについては、培養苗では生育が旺盛になる一方で、根部の肥大が顕著となりGL含量が低下することが判明した。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし



図1 ポット栽培1年目におけるセリバオウレンの培養苗由来株と圃場苗由来株の生育比較。写真は2012年10月29日撮影。

表1 ポット栽培1年目セリバオウレンの培養苗由来株と圃場苗由来株における生育関連形質の比較

試験区	種根茎重 (fw g)	花茎数 (本)	草丈 (cm)	茎数 (本)
培養苗	1.7 ± 1.5	2.1 ± 1.5	15.0 ± 1.5	40.0 ± 22.3
圃場苗	25.2 ± 15.7	2.3 ± 1.0	14.4 ± 2.8	21.7 ± 14.3
有意性	**	ns	ns	ns

試験区	根茎重 (fw g)	茎葉重 (dw g)	根茎重 (dw g)	根重 (dw g)
培養苗	2.7 ± 1.4	4.2 ± 2.4	0.7 ± 0.4	5.8 ± 3.4
圃場苗	15.4 ± 10.4	2.5 ± 2.6	3.8 ± 2.2	1.8 ± 2.6
有意性	ns	ns	**	*

試験区	根茎増加率※ (%, fw)	頂小葉の色		
		L*	a*	b*
培養苗	205 ± 78	54.9 ± 3.8	-2.1 ± 2.9	29.7 ± 2.3
圃場苗	66 ± 24	36.6 ± 4.9	9.3 ± 3.0	8.9 ± 4.6
有意性	***	***	***	***

2012年5月2日に花茎数、10月29日にその他の形質を各7個体調査し、数値は平均値±標準偏差を示す。**および***はそれぞれ1%および0.1%水準で有意差があることを、nsは有意がないことを示す(t検定)。※根茎増加率：根茎重/種根茎重・100、新鮮重。



図2 圃場栽培1年目におけるウラルカンゾウの培養苗由来株と圃場苗由来株の地下部の比較。写真は2012年10月9日撮影。

表2 圃場栽培1年目のウラルカンゾウの培養苗由来株と圃場苗由来株における生育関連形質の比較

試験区	苗重量 (fw g)	草丈 (cm)	茎数	地下部重 (fw g)
培養苗	3.3 ± 2.3	26.4 ± 5.5	3.5 ± 1.1	43.2 ± 18.1
圃場苗	13.1 ± 2.6	28.9 ± 6.7	1.6 ± 0.7	112.7 ± 69.5
有意性	**	ns	***	*

試験区	ストロン重 (dw g)	根重 (dw g)	根のGL (%)
培養苗	3.4 ± 1.6	11.9 ± 7.0	0.99 ± 0.12
圃場苗	18.6 ± 10.2	10.2 ± 8.0	1.84 ± 0.22
有意性	***	ns	***

試験区	根頭径 (mm)	根数	地下部増殖率※ (%, fw)
培養苗	11.6 ± 3.9	2.8 ± 2.0	1308 ± 550
圃場苗	7.8 ± 1.8	4.1 ± 2.4	860 ± 530
有意性	*	ns	ns

2012年8月6日（地上部）および10月29日（地下部）に各10個体を調査し、数値は平均値±標準偏差を示す。なお、培養苗の苗重量のみn=3。*、**および***はそれぞれ5%、1%および0.1%水準で有意差があることを、nsは有意差が無いことを示す(t検定)。※地下部増殖率：地下部重量/苗重量×100、新鮮重。

平成24年度厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）
優良形質を持った薬用植物新品種の育成及びそれら種苗の安定供給体制構築のため
の保存、増殖に関する基盤的研究（H22-創薬総合-指定-015）

分担研究報告書

分担研究課題：ウコンおよびショウガの培養苗由来の再生植物体形質変異に関する
実証試験

研究分担者 飯田 修（独）医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター種子島研究部リーダー
研究協力者 杉村康司（独）医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター種子島研究部研究員
研究協力者 吉松嘉代（独）医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター筑波研究部室長
研究協力者 林 茂樹（独）医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター北海道研究部研究員

要旨 種子繁殖が困難な植物については、一般的に栄養繁殖が用いられる。効率的な栄養繁殖法の一つとして組織培養が挙げられるが、実用化を考慮すると培養苗由来の再生植物体が形質へどのような変異を及ぼすかを検討する必要がある。ウコンおよびショウガにおける培養苗由来の再生植物体の形質変異について、圃場で生産された種苗との比較を行うため、培養苗由来のウコンおよびショウガの馴化2年目の生産物の根茎と圃場苗由来根茎を用い、野外圃場で試験栽培を行った。その結果、ウコンは培養苗由来株に比べ、圃場苗由来株の開花率が高く、地上部と地下部の成長量は大きく、また側根茎表面の色や大きさにやや違いが見られた。開花率および成長量の差異は、植え付け時の種イモの大きさに起因するものと思われた。ショウガは草丈、茎数、根の状態、芽の色さらに地上部と地下部の成長量に圃場苗由来株と培養苗由来株の差異が見られた。これらの差異は、種苗の育成過程の違いによるものではなく、供試した根茎の品種間の差異と推察された。

ウコンおよびショウガの培養苗由来の再生植物体は外部形態的には問題は見られず、根茎は高い増殖率を示し、生薬生産用および種苗生産用双方の種苗としての適性が高いと判断された。

A. 研究目的

種子繁殖が困難な植物については、一般的に栄養繁殖が用いられる。効率的な栄養繁殖法の一つとして組織培養法が挙げられるが、実用化を考慮すると培養苗由来の再生植物体が形質へどのような変異を及ぼすかを検討する必要がある。

ウコン (*Curcuma longa* L.) およびショウガ (*Zingiber officinale* Roscoe) はともにショウガ科の植物で、薬用や食用として汎用されている。ショウガ科植物の組織培養による増殖法は既に多く報告されているが、培養苗か

ら生薬生産に向けた実生産が行われておらず、培養苗由来の再生植物体の評価が求められている。

本研究では、ウコンおよびショウガの培養苗由来の再生植物体の形質変異について検討するため、圃場で生産された種苗との比較試験を行う。今年度はこれまで2年間馴化、増殖を行ってきた根茎と圃場で生産された根茎を種苗として用い、野外圃場で栽培試験を行い、形質変異および成長量について比較検討した。

B. 研究方法

材料：培養苗は筑波研究部育種生理研究室で育成、継代培養されたウコン（種子島在来種）およびショウガ（品種：三州）株を用いた。圃場苗はウコンでは種子島研究部保存の種子島在来種を、ショウガでは2012年にタキイ種苗より購入した品種‘三州’を用いた。馴化および育成：培養由来苗の育成は、2010年5月18日および7月21日に、腐葉土を用いポリポットに移植後温室内で馴化し、2011年1月24日に根茎を温室内の土中に保存した。2011年5月16日に根茎を取り出し、直径15 cmの素焼き鉢に1鉢1根茎を植え付け、温室内で育成し、2012年1月30日に根茎を温室内の土中に保存した。

圃場栽培：培養苗および圃場苗由来のウコン、ショウガのそれぞれの根茎を2012年5月25日に野外圃場に定植した。ウコンは育成した培養苗由来16株について、それぞれの株の中で最も大きな主根茎を1個ずつ、合計16個を選び、一方圃場生産株からも培養苗由来の根茎に準じた大きさの根茎を16個選定し、栽培試験に用いた（図1）。また、培養苗由来16株から5株を選び、5株について株毎に根茎を一個ずつに分離し、全ての根茎を植え付けた。ショウガについても同様に、培養苗由来10株および圃場生産株から同じような大きさの根茎を10個選定し、試験に供した（図1）。また、培養苗由来10株から5株を選び、5株について根茎を分離可能な大きさに分け、全ての根茎を植え付けた。なお、ウコン、ショウガともに圃場苗と培養苗に用いた親植物の起源は異なった。施肥量はウコン、ショウガ共通として、基肥として、10 aあたり堆肥2000 kg、苦土石灰100 kg、化成肥料（8-8-8）112.5 kg、過リン酸石灰34.3 kg、追肥として、7月26日にNK化成18.75 kgを施用した。地上部の生育調査はウコンが11月9日、ショウガが11月29日に行った。収穫はウコンが2013年1月29日、ショウガが2012年11月28日に行った。根茎の調査はウコンが1月29日、ショウガが11月30日に行った。

C. 研究結果

1. ウコン

1) 花序を形成した個体数は、圃場苗由来株では16個体中10株、培養苗由来株では1株であった。根茎の形態は側根茎でやや異なり、外表面の色が圃場苗由来株では橙色を帯び、培養苗由来株では褐色であったが、根茎断面の色には差異は見られなかった。側根茎の大きさは圃場苗由来株の方が太く、大きい傾向が見られた（図2、3）。

2) 地上部および地下部の成長量は圃場苗由来株の方が大きかったが、植え付け時の種イモの大きさによる影響と思われる。種イモの1根茎から生産された1株当たり根茎生重量は圃場苗由来では 949.0 ± 313.2 g、培養苗由来では 699.5 ± 220.2 gと前者が大きかったが、生産物の増殖率は、培養苗由来株がやや大であった（表1、2）。

3) 培養苗由来の2年生1株から生産された3年生株の根茎総生産量は平均2077.5 g（1756.5–2506.3 g）で、増殖率は平均2,757.0%（2,513–3,675%）であった（表3）。

2. ショウガ

1) 外部形態は圃場苗由来株に比べ培養苗由来株は全体的に大きく、根は太かった。芽の色は培養苗由来株の方が濃赤だった（図4、5、6、7）。

2) 草丈、地上部重量は圃場苗由来株に比べ培養苗由来株が大きかったが、茎数は少なかった。種イモの1根茎から生産された1株当たり根茎生重量は、圃場苗由来では 365.0 ± 136.9 g、培養苗由来では 212.4 ± 53.1 gと前者が大きく、生産物の増殖率も1.7倍高かった（表4、5）。

3) 培養苗由来の2年生株1株から生産された3年生株の根茎総生産量は平均376.2 g（272.8–429.8 g）で、増殖率は平均780.9%（513–992%）であった（表6）。

D. 考察

ウコンは培養苗由来株に比べ、圃場苗由来株の開花率が高く、地上部と地下部の成長量は大きく、また側根茎の色や大きさにやや違いが見られた。主根茎1個を用いた比較試験

では、植え付け時の種イモの生重量は、圃場苗由来では平均41.4 g、培養苗由来では平均28.5 gと前者が1.45倍大きく、種イモの大きさの違いが地上部および地下部の成長量の量的な形質に影響を及ぼしたと思われる。一方、収穫した根茎の増殖率は、培養苗由来株の方がやや高かった(1.05倍)。これらのことから、開花率および成長量の差異は植え付け時の種イモの大きさに起因するものと思われた。

ショウガは草丈、茎数、根の状態、芽の色さらに地上部と地下部の成長量に圃場苗由来株と培養苗由来株の差異が見られた。根茎1個を用いた比較試験では、植え付け時の種イモの生重量は、圃場株由来では平均31.4 g、培養苗由来では平均32.2 gとほとんど変わらないにもかかわらず、地上部と地下部の成長量、増殖率に大きな差異が見られたこと、さらに根の状態や芽の色等質的形質が異なっていたこと等から、圃場苗由来株と培養苗由来株の差異は、種苗の育成過程の違いによるものではなく、供試した根茎の品種間の差異と推察された。

ウコンおよびショウガの培養苗由来の再生植物体は外部形態的には問題は見られず、根茎は高い増殖率を示し、生薬生産用および種苗生産用双方の種苗としての適性が高いと判断された。

E. 結論

ウコンおよびショウガにおける培養苗由来の再生植物体の形質変異について、圃場で

生産された種苗との比較を行うため、培養苗由来のウコンおよびショウガの馴化2年目の生産物の根茎と圃場苗由来根茎を用い、野外圃場で試験栽培を行った。

1. ウコンは培養苗由来株に比べ、圃場苗由来株の開花率が高く、地上部と地下部の成長量は大きく、また側根茎の色や大きさにやや違いが見られた。開花率および成長量の差異は植え付け時の種イモの大きさに起因するものと思われた。

2. ショウガは草丈、茎数、根の状態、芽の色さらに地上部と地下部の成長量に圃場苗由来株と培養苗由来株の差異が見られた。これらの差異は、種苗の育成過程の違いによるものではなく、供試した根茎の品種間の差異と推察された。

ウコンおよびショウガの培養苗由来の再生植物体は外部形態的には問題は見られず、根茎は高い増殖率を示し、生薬生産用および種苗生産用双方の種苗としての適性が高いと判断された。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

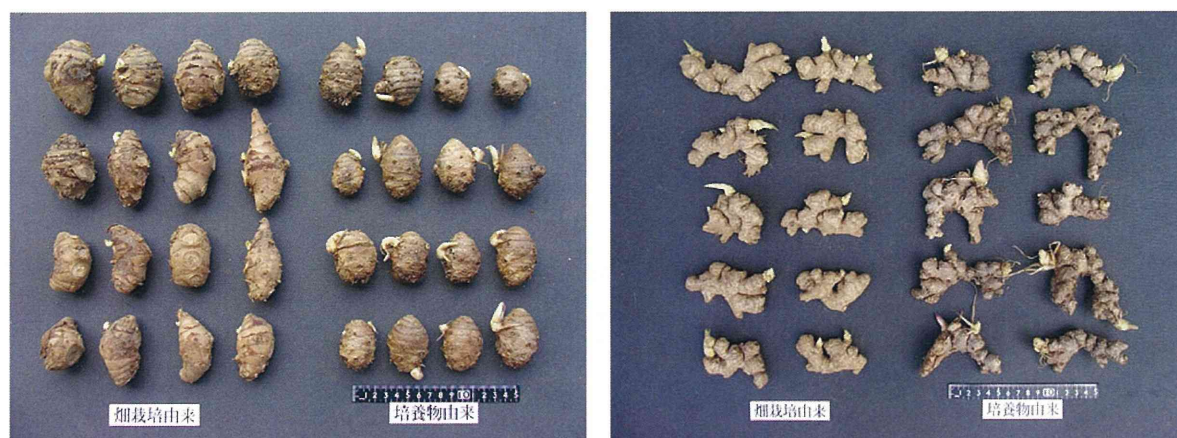


図1 種イモとして用いた根茎（左：ウコン、右：ショウガ）

表1 ウコンの圃場苗由来および培養苗由来株の地上部生育特性

区	草丈 cm	偽茎長 cm	葉身長 cm	葉身幅 cm	偽茎数	花序個体数 株
圃場苗由来	182.4±10.7	62.9±6.7	119.5±7.6	23.9±1.7	5.8±1.9	10
培養苗由来	157.9±9.1	56.6±5.5	101.3±7.1	21.6±2.0	4.2±1.9	1

平均値±標準偏差（n=16）

表2 ウコンの圃場苗由来および培養苗由来株の地下部生育特性(1株当たり)

区	主根茎		側根茎	根茎生重量	植付時種イモ	増殖率 %
	個数	生重量 g	生重量 g	合計 g	生重量 g	
圃場苗由来	6.8±2.5	416.3±148.4	532.7±170.4	949.0±313.2	41.4±13.4	2408±811
培養苗由来	4.9±2.1	282.9±104.0	416.7±123.5	699.5±220.2	28.5±7.5	2524±688

平均値±標準偏差（n=16）

表3 ウコン培養苗由来株の種イモ1株当たりの根茎生産量

系統No.	植付種イモ		根茎総生産量	増殖率 %
	個数	総生重量 g	生重量 g	
2	6	94.3	2506.3	2658
3	9	60.0	2204.7	3675
4	11	71.2	1816.5	2551
5	11	69.9	1756.5	2513
7	6	88.1	2103.4	2388
平均	8.6	76.7	2077.5	2757.0
SD	2.5	14.1	304.9	522.2



図2 ウコン圃場苗由来(下2列)と培養苗由来(上2列)の再生植物体の根茎

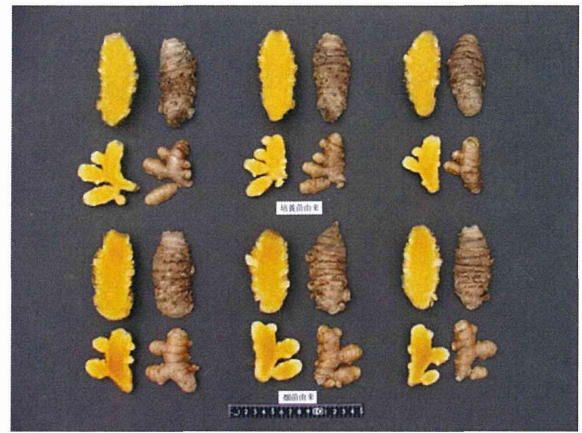


図3 ウコン圃場苗由来(下2列)と培養苗由来(上2列)の再生植物体の根茎表面と内部断面

表4 ショウガの圃場苗由来および培養苗由来株の地上部生育特性(1株当たり)

区	草丈 cm	葉長 cm	葉幅 cm	茎数	地上部重量 g	
					生重量	乾燥重量
圃場苗由来	73.5±6.1	23.4±1.3	2.8±0.2	24.9±6.4	351.0±128.0	41.6±11.7
培養苗由来	90.5±5.1	25.0±1.5	2.8±0.2	16.8±3.3	385.9±96.7	48.7±12.5

平均値±標準偏差 (n=10)

表5 ショウガの圃場苗由来および培養苗由来株の地下部生育特性(1株当たり)

区	根茎生重量	植付時種イモ	増殖率 %
	g	生重量 g	
圃場苗由来	365.0±136.9	31.4±8.6	1167±296
培養苗由来	212.4±53.1	32.2±8.4	685±181

平均値±標準偏差 (n=10)

表6 ショウガ培養苗由来株の種イモ1株当たりの根茎生産量(3年目)

系統No.	植付種イモ		根茎総生産量 生重量 g	増殖率 %
	個数	総生重量 g		
1	4	53.2	272.8	513
2	3	40.8	404.7	992
6	3	47.9	429.8	897
7	4	50.0	378.9	758
10	3	53.0	394.7	745
平均	3.4	49.0	376.2	780.9
SD	0.5	5.1	60.7	181.5



図4 ショウガ園場苗由来(左)と培養苗由来(右)の再生植物体



図5 ショウガ園場苗由来(上)と培養苗由来(下)の再生植物体の根茎



図6 ショウガ園場苗由来再生植物体の根茎



図7 ショウガ培養苗由来再生植物体の根茎

平成24年度厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）

優良形質を持った薬用植物新品種の育成及びそれら種苗の安定供給体制構築のための保存、
増殖に関する基盤的研究（H22-創薬総合-指定-015）

分担研究報告書

分担研究課題：人工環境制御下での種苗の保存と効率的増殖に関する研究

研究分担者	医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター筑波研究部	吉松嘉代
研究協力者	同	河野徳昭
研究協力者	同	乾 貴幸
研究協力者	同	北澤 尚
研究協力者	医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター種子島研究部	飯田 修
研究協力者	金沢大学薬学部	御影雅幸
研究協力者	日本製紙株式会社	根岸直希

重要生薬である地黄、麻黄及び遠志の基原植物であるカイケイジオウ、アカヤジオウ、シナマオウ及びイトヒメハギについて、組織培養による効率的増殖法を検討した。カイケイジオウに関しては、圃場栽培植物根茎に形成した新芽を材料に、茎頂培養により培養シュート誘導、植物体再生に成功した。本培養植物体より生育良好な優良クローンを選抜し、植物ホルモン無添加、ショ糖2%を含み主要無機塩類濃度が半量のMurashige and Skoog固形培地 [(2)/2MS HF] で継代培養することにより、健全な苗の大量増殖が可能となった。本成果は、従来の圃場での継続した栄養繁殖による品質低下が危惧されていた地黄の品質向上及び生産性向上への寄与が期待できる。アカヤジオウは同様に茎頂培養による培養シュート誘導に成功し、現在培養植物体を育成中である。シナマオウについては、圃場栽培植物より採取した3系統の種子を無菌的に播種し、無菌植物体の育成を行った。その結果、系統により発芽のための光条件が異なっていることが判明した。得られた実生を材料に、シュート生育・増殖及び発根のための培養条件を検討した結果、シュートの継代培養及び増殖にはインドール酪酸（IBA）0.1 mg/L、1%ショ糖を添加したDKW/JUGLANS固形培地 [DKW(1)IB0.1] が適しており、増殖能の高い培養シュートの誘導に成功した。本シナマオウ培養シュートは、組織培養での発根率は低いものの、日本製紙独自の培養法である光独立栄養培養での発根率は36.4%であり、資源の枯渇が危惧されている麻黄資源の確保への寄与が期待できる。イトヒメハギについては、種子を材料に、無菌シュートの育成に成功した。現在、シュート増殖及び植物体再生を検討中である。

A. 研究目的

国内での増殖が困難あるいは交雑により含有成分が変化し易い漢方薬原料植物の安定的・戦略的確保のため、植物組織培養による優良系統の選抜と効率的増殖法の確立を

行い、さらに人工環境制御下での生薬生産の基盤を確立する。

本研究で得られる成果は、漢方薬原料生薬の約90%以上を中国等の海外からの輸入に依存している日本における漢方薬の安定

的・持続的生産に貢献し、国民の健康の増進を図る上で、その意義は大きい。

B. 研究方法

1) 植物材料

カイケイジオウは、奈良県で生産されている圃場栽培植物の根茎（新芽付き）、アカヤジオウは筑波研究部圃場で栽培している植物の根茎（新芽付き）、シナマオウは、金沢大学医薬保健学域薬学類・創薬科学類附属薬用植物園で栽培されている植物より採取した種子、イトヒメハギは、富山大学薬用植物園圃場で栽培している植物より採取した種子を植物材料として用いた。

2) 植物材料の殺菌

植物材料をガーゼあるいはミラクロスで作製した袋に入れて、径9 cmのガラスシャーレに入れ、75%エタノールで1分間殺菌し、滅菌水50mLで洗浄後、植物材料の入った材料を75%エタノールで殺菌したピンセットを用いて、ガラスビーカーに入れた殺菌液（0.1% v/v Tween 20を含む2%又は3% w/v 次亜塩素酸ナトリウム溶液）に浸け、攪拌しながら室温（約25℃）で10-20分間殺菌した。クリーンベンチ内で植物材料の入った袋を滅菌した径9 cmのガラスシャーレに入れ、滅菌水50mLで3回（但し、アカヤジオウシュート及びイトヒメハギ種子の再殺菌時は7回）洗浄した。植物材料が入ったガラスシャーレに傾斜をつけて静置して余分な水分を取り除いた後、植物材料の入った袋を新しい径9 cmの滅菌シャーレに移し、植付け片の調製又は種子の取り出しを行い、培地への植付けを行った。

3) カイケイジオウの殺菌と培養

根茎より新芽を含む約1 cmの切片を調製して殺菌後、痛んだところと外側の葉を取り除いて約0.5 cm長のシュート片を調製して植物ホルモン無添加(2)/2MS固形培地 [(2)/2MS HF] に植付け、23℃、14時間照明下で培養した。6日後、雑菌の繁殖が無い切片を種々培地に移植し、形態形成を観察した。

さらに得られた培養シュートを種々培地で培養し、増殖法を検討した。

4) アカヤジオウの殺菌と培養

根茎より新芽を含む約1 cmの切片を調製して殺菌後、約1-3mm長のシュートあるいは茎頂片を調製してベンジルアデニン（BA）1mg/l添加(2)/2MS固形培地 [(2)/2MS B1] 又はIBA 0.01 mg/lとBA 0.1 mg/l添加(2)/2MS固形培地 [(2)/2MS IB0.01 B0.1] に植付け、23℃、14時間照明下で培養した。

5) シナマオウ種子の発芽と増殖

シナマオウ種子を殺菌後、(2)/2MS HFに植付け、23℃、14時間照明下及び暗所で培養した。経時的に発芽を観察し、得られたシュート部を種々培地に植え付け、シュート増殖、生育及び発根を検討した。また、培養シュートより挿し穂（頂芽を含む3節程度）を調製して光独立栄養培養に供し、発根を検討した。

光独立栄養培養条件

培養器：上部に通気のためのフィルターがついた透明プラスチック製容器

培地：シヨ糖無添加、IBA 2 mg/l添加Gamborg B5液体培地 [B(0) IB2]

支持体：オアシスミニベッド挿し木用

培養条件：温度25℃、相対湿度60%、16時間照明（冷陰極管 赤：青 =6：4）、炭酸ガス濃度 1000 ppm

6) イトヒメハギ種子の発芽と培養

イトヒメハギ種子を殺菌後、(2)/2MS HFに植付け、23℃、14時間照明下及び暗所で培養した。経時的に発芽及び雑菌の混入の有無を観察し、雑菌の混入が見られた種子は、培養試験管より取り出し、周りの培地を75%エタノールで湿らせたキムタオルで拭き取った後、さらに75%エタノールで湿らせたキムワイプに挟んでこすり合わせた後、再度殺菌を行い、同様に植付けと培養を行った。得られた実生のシュートを種々培地に植え付け、シュートの形成と増殖を検討した。

C. 研究結果

1) カイケイジオウ無菌植物体の誘導

予試験として、筑波研究部圃場栽培及び閉鎖温室内での鉢栽培のシュートを材料に、殺菌液：2%次亜塩素酸ナトリウム溶液で10分間殺菌処理後、種々固形培地、23°C、14時間照明下で培養したところ、全ての外植片に雑菌の混入が認められ、無菌培養系が誘導できなかった。そこで、秋に掘り上げ保管した新芽のついた根茎を材料に、殺菌液：3%次亜塩素酸ナトリウム溶液、殺菌液での処理時間15分とし、各種培地への植付け前に(2)/2MS HFで6日間培養し、雑菌混入の有無を確認した。

植付け6日後、22切片中18切片に雑菌の混入が認められ、雑菌混入率は81.8%であった。本切片を種々培地に植付けてさらに27日間培養した結果、BA 1mg/1添加培地 [(2)/2MS B1] ではマルチプルシュート形成が、NAA 0.5 mg/1添加培地 [(2)/2MS NO. 5] ではカルス形成と発根が認められ、NAA 0.1 mg/1とBA 1 mg/1添加培地 [(2)/2MS NO. 1B1] ではマルチプルシュートとカルスの形成が認められた(図1)。

得られたシュート [(2)/2MS B1 : RehN1] より約1 cm長のシュート切片 (St) を調製して種々培地に移植し同条件で培養した。また、シュートを含むカルス [(2)/2MS NO. 1B1 : RehN2及び(2)/2MS NO. 5 : RehN3] より約0.5 cm角のシュートを含むカルス切片 (StC) を、カルス [(2)/2MS NO. 5 : RehN3] より約0.5 cm角のカルス切片 (C) を調製して(2)/2MS HFに移植し同条件で培養した。

植付け30日後に観察した結果、(2)/2MS HFで培養したStではマルチプルシュート形成と発根が認められ、正常な形態の植物体を得られた。IBA 1 mg/1を添加した培地 [(2)/2MS IB1] で培養したStは、2本のシュート形成と発根が認められ、正常な形態の植物体を得られた。一方、前培地と同じ(2)/2MS B1培地で培養したStでは発根は認められず、正常な形態のシュートと異常な形態(葉が小さい、葉がねじれるなど)を示すシュートが混在した(図2)。

(2)/2MS HFで培養したStCではマルチプ

ルシュートの形成と発根が認められたが、シュートの多くが異常な形態を示した(図2)。

(2)/2MS HFで培養したCではシュートが形成せず、不定根の形成が認められた(図2)。

2) カイケイジオウ再生植物体の増殖

前述のRehN1及びRehN2植物体より約2 cm長のシュート切片を調製して(2)/2MS HF (RehN1及びRehN2) 又は(2)/2MS IB1 (RehN1) に植付けて同条件で培養し、植物体再生を検討した。

培養40日後、RehN1及びRehN2とも(2)/2MS HFで発根と植物体再生が認められ、本シュート切片からの発根と植物体再生にIBAの添加は不要であり、1シュート切片あたりの形成シュート数は1~1.5本であった(図3)。初代培養物において、カルス形成が認められなかったRehN1は、初回の移植ではBA添加培地で異常な形態のシュートが出現したが、移植二代目では全て正常形態のシュートが生育した(図3)。

一方、初代培養物でシュートとともにカルス形成が認められたRehN2は、初回の移植後は異常な形態のシュートが形成し、それらの二代目の移植では、正常な形態のシュート(58.8%)と異常な形態のシュート(41.2%)が混在した(図3)。しかしながら、再度同培地にシュート切片を移植し継代したところ、正常な形態のシュートの割合が増加(72.7%)し、さらに継代培養を繰り返すことにより、継代した全てのRehN2が正常植物体となった。

RehN1及びRehN2とも(2)/2MS HF、23°C、14時間照明下で30-40日ごとの継代培養を繰り返すことにより、増殖率1.5~2.0倍での増殖が可能となった。

3) アカヤジオウ無菌培養物の誘導

予試験でカイケイジオウと同様に秋に掘り上げ保管した新芽のついた根茎を材料に、殺菌液：3%次亜塩素酸ナトリウム溶液、殺菌液での処理時間20分とし、約0.5 cm長のシュート切片を調製して(2)/2MS B1に植付け、23°C、14時間照明下で培養したところ、植付け39日後までに、外植片30個のうち28個に雑

菌の繁殖が認められ（雑菌混入率：93.3%）、残りの切片もシュート形成は認められず、カルス形成のみが認められた。そこでより小さな組織の切り出しを行った。殺菌処理後、約1-3 mm長の茎頂組織又はシュート切片を取り出し、(2)/2MS B1又はIBA 0.01 mg/lとBA 0.1 mg/l添加(2)/2MS [(2)/2MS IBA0.01BA0.1]に植付け、無菌培養系の誘導を行った(図4)。

約1 mm長の茎頂を外植片としたときの雑菌混入率は、植付け63日後で4.2%であり、約3 mm長のシュート片を外植片としたときの雑菌混入率28.0%よりも低かった。また、茎頂を(2)/2MS B1で培養63日後のシュート形成率は17.4%、マルチプルシュート形成率は13.0%であり、1マルチプルシュートあたりの平均シュート数は 4.3 ± 3.2 本であった(図4)。

約3 mm長のシュート切片を外植片として(2)/2MS IBA0.01 B0.1で培養すると、その多くで培地の褐変が認められた。そこで、植付け16日後に新しい培地に交換し培養を継続したところ、植付け36日後(培地交換20日後)のシュート形成率は16.7%、1本あたりのシュート数は 1.3 ± 1.6 本であった。植付け56日後まで同培地で培養を継続したシュート2本のうち、1本にマルチプルシュートが形成しシュート数は4本、最大シュート長は2.4 cmであった(図4)。

4) アカヤジオウシュートの増殖

茎頂切片より誘導したマルチプルシュートを個々に分割し、また、同様に形成したカルスをそのまま(2)/2MS HFに移植し13日間培養したところ、シュート切片からはマルチプルシュートが形成し、シュート数は2.0~3.5本であった。また、移植したカルス切片4個のうち、2個からはマルチプルシュートが形成し、シュート数は2.0~4.0本であった(図5)。

さらに培養を継続し、植物体再生を検討中である。

5) シナマオウ種子の発芽と無菌培養系の誘導

金沢大で採取された材料種子(内モン産)

の親植物の地上部茎の2008年及び2009年の総アルカロイド含量は、それぞれ、Es145(TS1025-10)：0.15及び0.21%、Es513(TS1026-10)：1.10及び0.64%、Es611(TS1027-10)：0.91及び0.69%である。シナマオウ種子は、いずれも長径約5 mmで一方が鋭端になっており、短径は $Es513 < Es145 < Es611$ の順であった。これら3系統の種子を殺菌後、無菌的に播種し、23℃、暗所又は14時間照明下で30日間培養したところ、Es145及びEs513は種子の発芽に対する光の影響は少なく、いずれの条件でもほぼ同じ発根率及び子葉展開率(Es145の子葉展開率：暗所及び照明下とも60.0%、Es513の子葉展開率：暗所80.0%、照明下90.0%)を示したが、Es611の発根と子葉展開は、14時間照明下よりも暗所の方が良好であった(Es611の子葉展開率：暗所55.6%、照明下30.0%、図6)。なお、播種71日後まで観察を継続したが、30日以降は、新たな発根及び子葉展開は認められなかった。

6) シナマオウシュートの増殖と植物体再生(移植一代目)

予試験において、シナマオウ実生由来株のシュートの増殖にカイネチンの効果が認められず、また、MS HF培地での継代を重ねるにつれてシュートの発根が認められなくなったため、本試験においては、種々基本培地と種々濃度のIBA添加培地の効果を調べた。得られた実生より2節を含むシュート切片を調製し、種々培地に植付けてシュート増殖及び植物体再生条件を検討した(図7、8)。これ以降の試験では、光源として白色LEDを使用した。

実生からの移植1代目は、HFでも50%以上の発根率を示し、いずれの基本培地においても発根に対するIBAの顕著な促進効果は認められず、IBA 1mg/lではC2D(2)以外の培地において発根が阻害された。シュートの生育はIBA 0.5 mg/l以下で良好になる傾向が認められ、特にIBA0.1 mg/l添加DKW(2)培地でのシュート長は最大であった(17.9 ± 0.2 cm、図7)。得られた結果を基本培地ごとに集計した結果、シュート数、シュート長及び発根数は

DKW(2)が最も良好であった(図7)。

同様に系統別及び発芽時の光条件別に集計した結果、いずれの系統も、暗所で発芽させた実生由来のシュートの方がよりシュート長が長く、生育が良い傾向があり、系統間での形態的差異は認められなかった(図8)。暗所で発芽させた実生由来のEs611は、最も発根率が低かったが、シュート数及びシュート長とも最大であった(図8)。

7) シナマオウシュートの増殖と植物体再生(移植二代目)

予試験において、MS HF培地で継代培養を重ねたシナマオウ実生は、培養期間の延長とともに、発根能、シュート形成能を失い、安定した組織培養物が得られなかった。そこで、移植一代目の培養シュート及び培養植物体より、同様に2節を含むシュート切片を調製して同培地に継代し、シュート増殖と植物体再生を調べた(図9、10)。

移植二代目は、いずれの基本培地でも、HFでは発根は認められず、IBA添加区で発根が認められた。DKW(2)HF及びDKW(2)IB0.1は、シュートの発根は認められないものの、シュート数は最大であり(それぞれ 3.5 ± 0.7 本及び 3.5 ± 2.1 本)、シュートの伸長も良好で、それぞれシュート長 10.1 ± 3.4 cm及び 15.5 ± 4.9 cmであった。また、MES(2)IB0.5では、シュート数は1本であるが、良好なシュートの伸長(シュート長： 15.4 ± 10.7 cm)と植物体再生(発根率：100.0%、発根数 2.0 ± 1.4 本)が認められた(図9)。

移植二代目の結果を系統別及び発芽時の光条件別に集計した結果、移植一代目ではいずれの系統においても暗所で発芽させた実生より誘導したシュートの方が、より良好なシュートの増殖及び成長(伸長)が認められたが、移植二代目ではその効果は見られず、Es145及びEs513ではむしろ照明下で発芽させた実生由来の方がシュート生育も発根も良好であった。Es513及びEs611系統の照明下で発芽させた実生クローンには、マルチプルシュートが形成したものが存在した(図10、写真中のEs513L6、Es611D1及びEs611L1)。

8) シナマオウシュートの増殖と植物体再生(移植三代目)

移植二代目で生育の良好であった培養シュート及び植物体より、2節を含むシュート切片及び茎切片を調製し、移植二代目の培養で最もシュートの増殖及び伸長が良好であったDKW(2)IB0.1に移植し、シュート増殖と成長を調査した。

植付け片として茎切片を用いた場合、移植二代目での培地の種類に関わらず、成長せずに枯死する割合がシュート切片よりも多かった(培養56日後の枯死率 シュート切片：31本中3本 9.7%、茎切片：16本中6本 37.5%)。

シュート切片をDKW(2)IB0.1に移植し56日間培養後の結果を図11に示した。移植二代目での培地の種類及び植物クローンに関わらず、DKW(2)IB0.1では良好な生育が認められた。しかし、移植を重ねる毎に著しい発根率の低下が認められた。また、植物クローンの中では、Es611L1が最もシュート増殖能が高く、成長が良好であった(図11)。

茎切片をDKW(2)IB0.1に移植し56日間培養後の結果を図12に示した。シュート切片と同様に、枯死しなかったものは、移植二代目での培地の種類及び植物クローンに関わらず、DKW(2)IB0.1で良好な生育が認められた。シュート切片の場合と同様に、発根率の低下が認められた(図12)。

得られた植物クローンは、DKW(1)IB0.1(発根を促すため、シヨ糖濃度を1%に変更)での継代培養を行った。

9) シナマオウシュートの増殖、生育と植物体再生に対する塩化ナトリウムの影響

シナマオウは耐塩性があることが報告されている(御影雅幸, 薬用植物研究, 34:1-6, 2012)。そこで、DKW(1)IB0.1での継代培養で試験材料が十分に確保できたEs611D2及びEs611L1より、2節を含むシュート切片及び茎切片を調製して100 mM NaCl無添加あるいは添加した培地に植え付けて、シュート増殖、生育及び植物体再生に対する影響を調べた

(図13、14)。なお、材料の継代培養に用いた基本培地DKWは、主要肥料成分であるNPKはそれぞれMSと同程度 (N:0.8倍、P:1.6倍、K:1.0倍) であるが、二価の金属イオン濃度がMSに比べて高い (Ca:2.3倍、Mg:2.0倍、Fe:1.2倍、Mn:2.0倍、Zn:2倍、Cu:10倍、Mo:2倍) 培地であるため、NaClは、1%ショ糖とIBA 0.1 mg/lを添加したMS及びMES培地に添加した。

培養43日後のシュート切片の枯死率 [MS(1)IB0.1及びMES(1)IB0.1]は、NaCl無添加で7.1% (14切片中1本)、100 mM NaCl添加で28.6% (14切片中4本) であり、NaClの添加により、切片枯死率が増加した。また、同様に、培養43日後の茎切片の枯死率はNaCl無添加で25% (12切片中3本)、100 mM NaCl添加で41.7% (12切片中5本) であり、シュート切片よりも枯死率の増加割合が大きかった。

生育したそれぞれの切片について、生育及び発根を調べた結果を図13及び14に示した。Es611D2ではいずれの切片を用いた場合でもNaCl添加によりシュート数及びシュート長の減少が認められた (図13及び図14) が、シュート切片をMES(1)IB0.1で培養したEs611L1ではNaCl添加によるシュート数及びシュート長の増加傾向が認められた (図13)。

また、NaCl添加培地で生育したシュートは茎の肥大化が観察された (図13及び14)。

10) シナマオウシュートEs611D2及びEs611L1の増殖、生育と植物体再生に対するサイトカインの効果

DKW(1)IB0.1またはMES(1)IB0.1で増殖させたEs611D2及びEs611L1より2節を含むシュート切片及び茎切片を調製して、1%ショ糖、IBA 0.1 mg/lとともにベンジルアデニン (BA) を0.5 mg/l添加したDKW及びMES培地に植付け、シュートの増殖、生育と植物体再生を調査した (図15)。

本結果では、発根した植物体は得られなかった。BA0.5 mg/l添加により、多数のシュートが形成したのも存在したが、ばらつきが大きく、概してBA添加によるシュート増殖効果は認められなかった (図15)。

11) 継代培養したシナマオウ各クローンの増殖、生育と植物体再生

DKW(1)IB0.1で継代培養したシナマオウ各クローンの培養32日後の増殖、生育及び植物体再生を図16に示す。同培地で継代維持可能で増殖能が高いクローンとして、Es145系統は2クローン (Es145L1及びEs145L4)、Es513系統は4クローン (Es513D3、Es513L5、Es513L6、Es513L7)、Es611系統では3クローン (Es611D3、Es611D4、Es611L1) 得られた。これらの系統のうち、Es145L1、Es513D3、Es611D3以外の6クローンは、継代培養中に発根した植物体の再生が認められたが、発根率が低く、安定した植物体の再生には至らなかった。

12) 光独立栄養培養によるシナマオウシュートEs611L1の発根

DKW(1)IB0.1で増殖・育成したEs611L1シュートより挿し穂 (頂芽を含む3節程度) を調製して光独立栄養培養に供し、発根した苗の育成を試みた。培養91日後、挿し穂22本のうち、8本に発根が認められた (発根率36.4%、図17)。

13) イトヒメハギ種子の発芽と培養 (1回目)

湿らせた川砂で保管中の種子より砂を落とし、殺菌液:3%次亜塩素酸ナトリウム溶液で15分間の殺菌処理後、(2)/2MS、23°C、14時間照明下で培養したところ、播種6日後に種子30粒中、26粒で雑菌の混入が認められ (雑菌混入率86.7%)、発芽が認められたのはわずか1粒であった (幼根は種皮中で、種子の割れ目から子葉が展開)。

子葉展開のみの種子1粒をそのまま、3%ショ糖含有、NAA0.01 mg/l、BA0.1 mg/l、MES 0.5 g/l添加MS固形培地 [MES NO.01 B0.1] に移植 (1回目) し、23°C、14時間照明下で培養したところ、移植19日後でも生育が認められないため、ピンセットで種皮を取り除き培養を継続したところ、その20日後から芽の成長が観察された。

培養54日後、得られた組織 (子葉+芽+幼根) をそのまま、3%ショ糖含有、NAA0.1 mg/l、

BA1 mg/1、MES 0.5 g/1添加MS固形 [MES NO. 1 B1] に移植 (2回目) し培養したところ、43日後にカルス形成とともにマルチプルシュートの形成 (10シュート) が観察された。

培養50日後に、マルチプルシュートをカルス部分とともに7個に分割 (約5 mm角) し、MS HFに移植 (3回目) し42日間培養したところ、植物体の再生 (5本中1本が発根: 発根率20.0%) とシュートの形成 (同5本: 形成率100.0%) およびカルスの褐変が観察された。

培養43日後、得られたマルチプルシュートよりシュート切片を調製し、IBA 0.1、0.5及び1 mg/1を添加した3%ショ糖含有MS固形培地に移植 (3回目) し培養したところ、全てのシュートが褐変後枯死し、培養物の育成に至らなかった (図18)。

14) イトヒメハギ種子の発芽と培養 (2回目)

採取後直ぐのイトヒメハギ種子 (種皮の表面に毛がついている、図19) を、1回目と同様に、殺菌、播種したところ、4日後の雑菌混入率は96.4% (55個中53個) であった。

そこで、雑菌繁殖が認められた培養試験管より75%エタノールで殺菌したピンセットを用いて種子を取り出し、75%エタノールで湿らせたキムタオルで種子の周りを良く拭き取った後、75%エタノールで湿らせたキプワイプに種子を挟んで良くすり合わせて種子表面の毛を取り除いた後、再度、同様に殺菌処理を行った。その結果、再播種21日後の雑菌混入率は69.0%となり、その後の雑菌繁殖は認められなかった (図19)。

再播種8日後に胚状組織の形成 (残存種子16粒中1粒: 6.3%) が、21日後に擦り合わせ処理時に種皮がとれた種子1粒から発根と子葉展開が観察された (残存種子13粒中1粒: 7.7%) (図19)。

胚状組織を新しい(2)/2MSに移植し培養したところ、子葉の緑化と展開は観察されたが、発根およびシュートの生育は認められなかった。そこで、組織全体を(2)/2MS IB0.01B0.1に移植し培養したが、生育は不良なままであった (図19)。

一方、種皮がとれた種子より生育した実生

(発根、子葉展開) を新しい(2)/2MSに移植し培養したところ、マルチプルシュート (シュート数3) の形成と根の成長が観察された。本植物体より幼根を切り離してシュートを分割し、(2)/2MS IB0.01B0.1に移植し40日間培養した結果、マルチプルシュート形成 (7.0 ± 1.0本) と発根 (発根率100.0%、発根数1.5 ± 1.7本) が認められ、現在、育成を継続中である (図19)。

D. 考察

地黄の基原植物の一つであるカイケイジオウについては、植物ホルモン無添加培地での増殖能及び植物体再性能が高い培養植物体の育成に成功した。これらの圃場栽培時の形質評価が今後の課題である。

アカヤジオウの殺菌と無菌培養物の育成は、カイケイジオウよりも困難で、より小さな茎頂組織の取り出しと培養が必要であった。カイケイジオウでの培養条件 (培地の種類) がアカヤジオウに適応可能であるかどうかを今後試験する必要がある。

シナマオウは、3系統の種子より増殖能の高いシュート培養の育成とDKW培地を用いた培養方法の確立に成功した。裸子植物であるシナマオウは、通常の組織培養で使用されるMS、B5あるいはWoody Plant (WP) 培地ではなく、MSに比べて二価の金属イオン濃度が高い培地が最も好適であった。植物組織培養では、安定して発根する植物体再生方法が確立できなかったが、組織培養で増殖させたシュートを光独立栄養培養へ供することにより、発根苗の育成が可能であることが判明した。本手法による発根率の向上が課題である。

イトヒメハギの組織培養物の育成には、種皮表面の毛を取り除く操作と、種皮を取り除く操作が、効果的であることが判明し、また、一旦、マルチプルシュートが得られても、植物ホルモン無添加培地では、枯死し易いことが明らかとなった。安定的に苗が得られる培養方法の確立が課題である。

E. 結論

奈良県産のカイケイジオウを材料に、植物

組織培養による効率的増殖方法を確立し、薬用植物資源研究センター保有のアカヤジオウより培養シュートの育成と増殖に成功した。また、内モンゴ産シナマオウ種子より、増殖能の高いシュート培養の育成と、継代培養方法を確立した。さらに、富山県産のイトヒメハギを材料に、無菌シュートの育成に成功した。これらの成果により、人工環境制御下での生薬生産技術構築のための基盤を確立した。

F. 研究発表

1. 論文発表

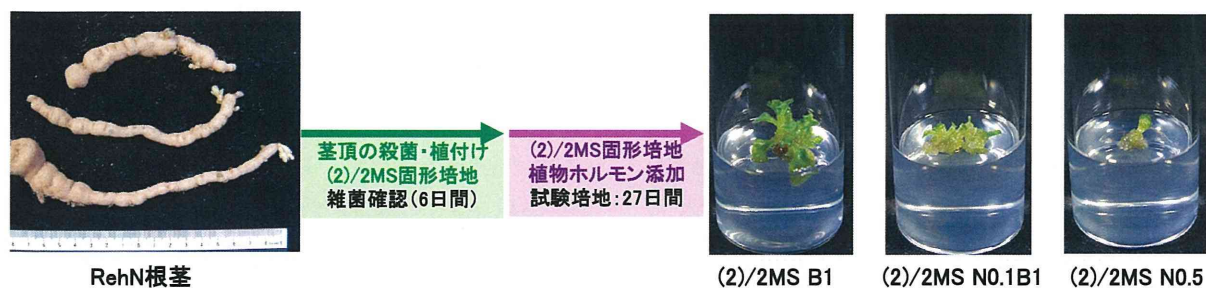
- 1) 吉松嘉代：薬用植物組織培養物コレクションについて. 日経バイオテクオンライン GreenInnovation, **219**, (2012).
- 2) 吉松嘉代、河野徳昭、乾 貴幸：植物工場での甘草生産に適したウラルカンゾウの選抜と育成. ブレインテクノニュース, **149**, 1-9 (2012)
- 3) 吉松嘉代：甘草の水耕栽培 薬用植物資源の保護と確保. ファルマシア, **49**, 141-146 (2013).
- 4) 吉松嘉代：植物工場における薬用植物優良苗の育成と生産. SHITA REPORT No. 30, 日本生物環境工学会, 京都, 2013, pp.13-21.

2. 学会発表

- 1) 吉松嘉代：「植物工場に適した薬用植物の分子育種」, 日本学術振興会植物バイオ第160委員会第4期第4回研究会「植物工場と植物バイオの接点」(2012. 6. 29, 大阪)
- 2) 吉松嘉代：「植物工場における薬用植物優良苗の育成と生産」. 第23回SHITAシンポジウム (2013. 1. 18, 東京)
- 3) 吉松嘉代、松本敏一、岩本嗣、乾貴幸、河野徳昭、川原信夫：漢方薬に使用される薬用植物の組織培養及び効率的増殖法に関する情報整備 (2). 第30回日本植物細胞分子生物学会(生駒)大会・シンポジウム (2012. 8. 3-5, 奈良)
- 4) 吉松嘉代、河野徳昭、乾貴幸、川原信夫：種々栽培環境条件下で養液栽培したウラルカンゾウ優良株の形質. 日本生薬学会第59回年会 (2012. 9. 17-18, 千葉)
- 5) 吉松嘉代、河野徳昭、飯田修、根岸直希、中浜克彦、河岡明義、御影雅幸、川原信夫：人工環境制御下でのマオウ属種苗の保存と効率的増殖に関する研究. 日本薬学会第133年会 (2013, 3/27-30, 横浜)

G. 知的財産権の出願・登録状況

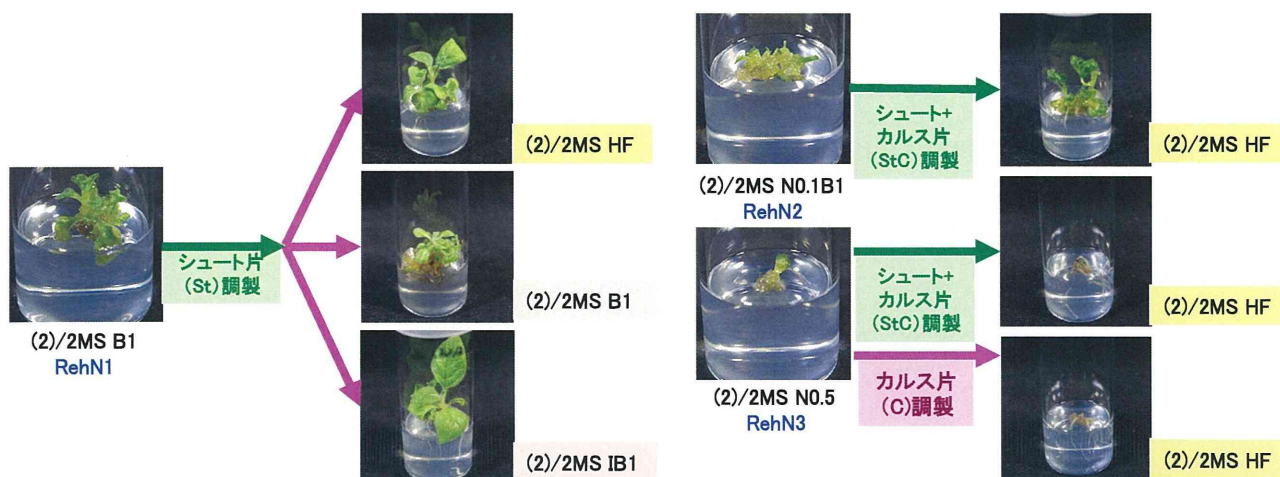
なし。



植付け培地		シュート形成数	最大シュート長 cm	発根数	カルス形成*	備考	
NAA mg/l	BA mg/l						
0	1	5	2.0	0	-	マルチプルシュート形成、最も生育が良好	
0.1	1	7	1.0	0	++	マルチプルシュート形成、基部にカルス形成	
0.5	1						雑菌繁殖のため試験中止
0.5	0	1	1.0	2	++	シュート基部にカルス形成	

* -:カルス未形成
 +:カルスの形成が認められる
 ++:カルスの形成と増殖が認められる

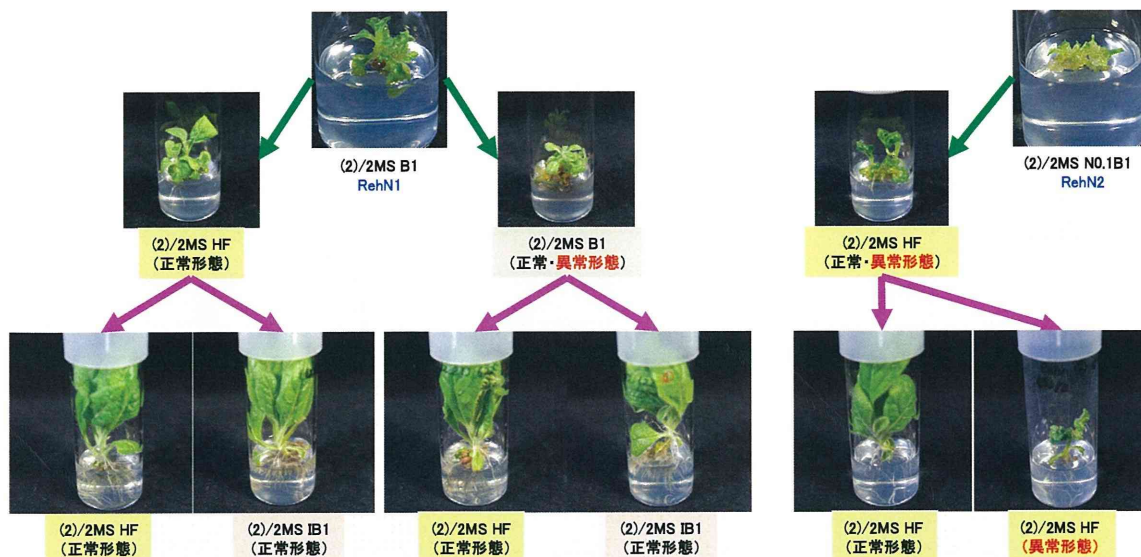
図1. カイケイジオウ (RehN) 無菌培養系の誘導 (植付け33日後、移植27日後)



前培地	植物記号	移植片	移植培地	本数	シュート形成数	最大シュート長 cm	発根数	備考
(2)/2MS B1	RehN1	St	(2)/2MS HF	1	5.0	3.8	19	正常形態、生育良好
			(2)/2MS B1	1	5.0	3.4	0	正常及び異常形態が混在
			(2)/2MS IB1	1	2.0	5.2	20	正常形態、生育良好
(2)/2MS N0.1B1	RehN2	StC	(2)/2MS HF	6	3.8±2.6*	2.1±1.0*	1.8±2.1*	正常及び異常形態が混在
(2)/2MS N0.5	RehN3	StC	(2)/2MS HF	1	2.0	1.0	8	異常形態、カルス形成
		C	(2)/2MS HF	1	0	-	10	カルス形成、不定根形成

*: 平均±標準偏差

図2. カイケイジオウ (RehN) 初代培養物からの植物体再生 (培養30日後)

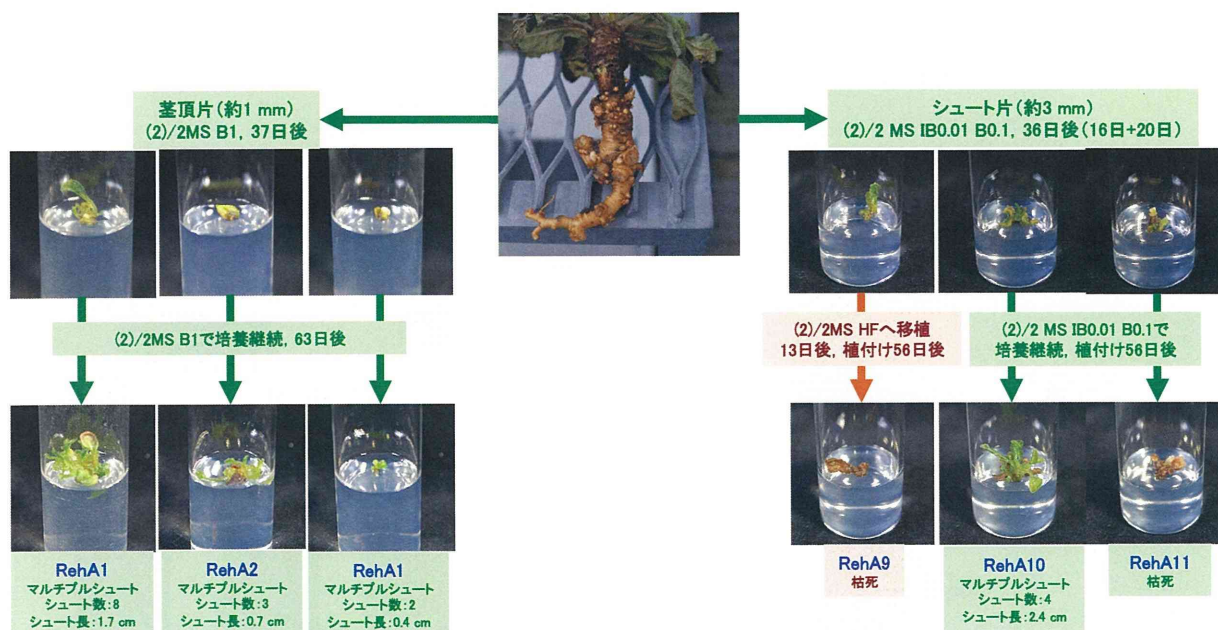


植物記号	移植培地	本数	シュート形成数*	最大シュート長 cm*	発根数**	備考
RehN1	(2)/2MS HF	4	1.0±0.0	6.8±1.3	+++	正常形態、生育良好
	(2)/2MS IB1	4	1.5±1.0	6.7±1.7	+++	正常形態、生育良好
RehN2	(2)/2MS HF	17	1.5±0.8	5.4±1.4	+~ +++	正常形態(58.8%)と異常形態(41.2%)が混在

*: 平均±標準偏差

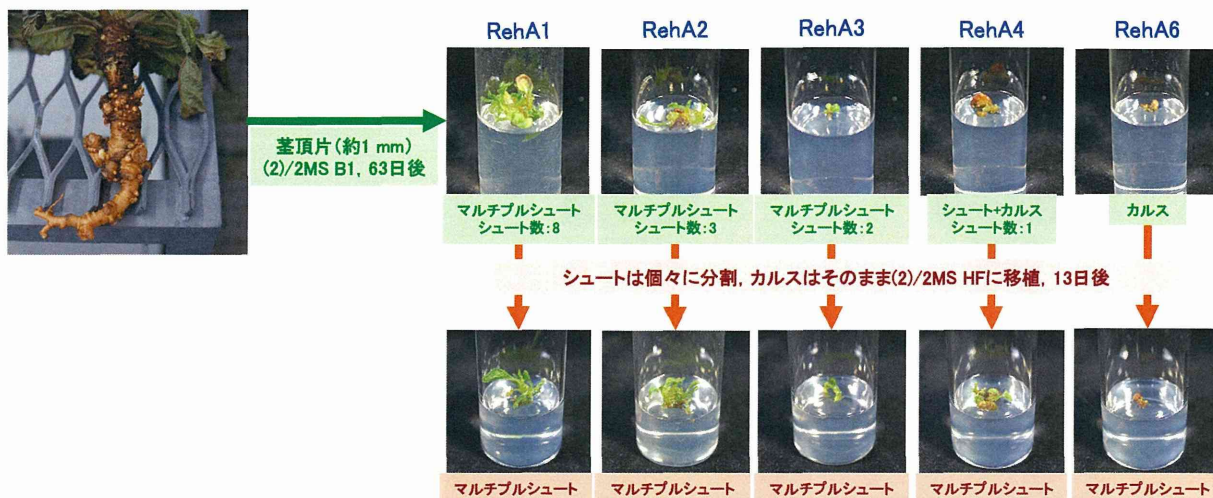
+: 20未満、++: 20~50本未満、+++: 50本以上

図3. カイケイジオウ (RehN1及びRehN2) シュートからの植物体再生 (培養40日後)



外植片 (高さ)	培地	植付け本数	培養日数	雑菌混入率 (本数)	シュート形成率 (シュート数±SD)	マルチプルシュート形成率 (シュート数±SD)	カルス形成率
茎頂 (約1 mm)	(2)/2 B1	24	63日	4.2% (1本)	17.4% (3.5±3.1)	13.0% (4.3±3.2)	17.4%
シュート (約3 mm)	(2)/2 IB0.01 B0.1 (16日後に交換)	25	36日	28.0% (7本)	16.7% (1.3±1.6)	0% (0.0±0.0)	0%

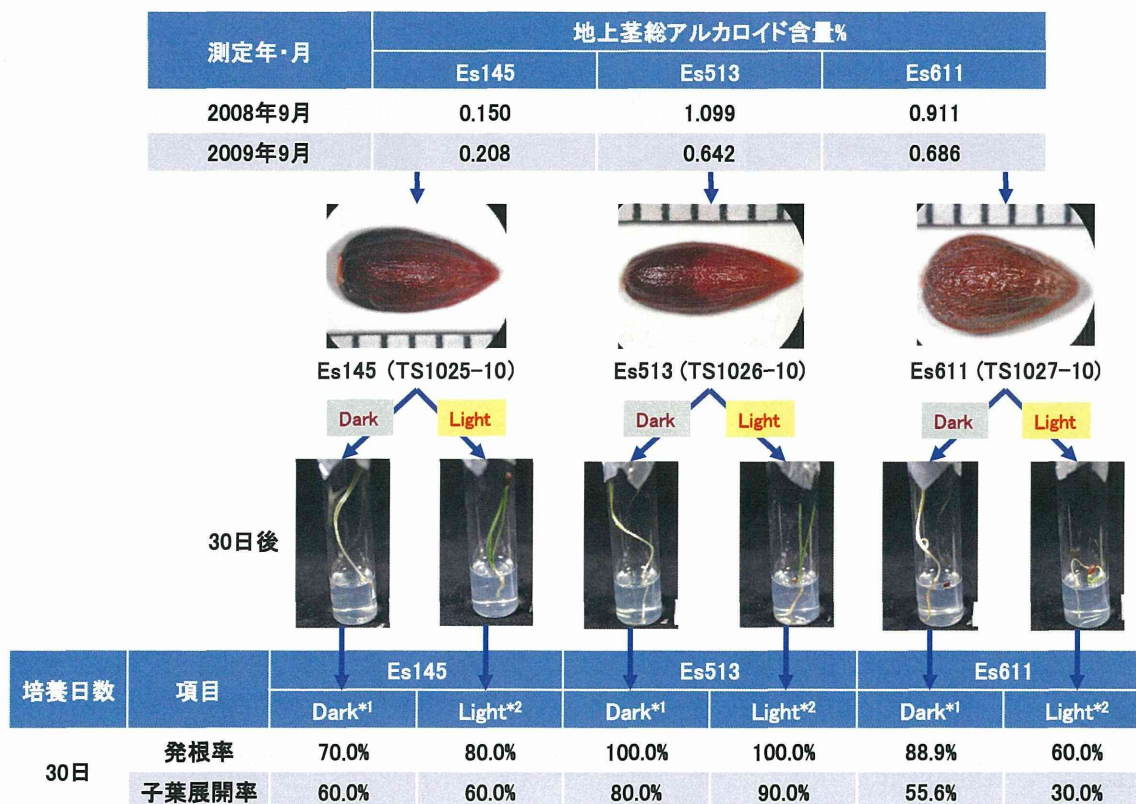
図4. アカヤジオウ (RehA) 無菌培養系の誘導



植物記号	移植片	本数	シュート形成率	形成シュート数*	最大シュート長 cm*	発根率	発根数
RehA1	シュート	5	100.0%	3.4±0.5	1.8±0.5	40.0%	1.0±0.0
RehA2	シュート	2	100.0%	3.5±0.7	1.6±0.0	0.0%	0
RehA3	シュート	1	100.0%	2.0	1.0	100.0%	2.0
RehA4	カルス	1	100.0%	4.0	1.2	0.0%	0.0
RehA5	カルス	1	0.0%	0.0	-	0.0%	-
RehA6	カルス	1	100.0%	2.0	1.0	0.0%	0.0
RehA7	カルス	1	0.0%	0.0	-	0.0%	-

*: 平均±標準偏差

図5. アカヤジオウ (RehA) シュートの増殖 [(2)/2MS HF移植13日後]



*1: 23°C, 暗所 *2: 23°C, 14時間照明(白色蛍光灯)

図6. シナマオウ種子 (金沢大系統: 内モンゴ産) の発芽と無菌培養系の誘導