

テンサイの培養組織におけるカルスおよび不定芽の形成

誌名	日本作物學會紀事
ISSN	00111848
著者	榎本, 末男 大山, 勝夫
巻/号	54巻3号
掲載ページ	p. 281-282
発行年月	1985年8月

テンサイの培養組織におけるカルスおよび不定芽の形成

榎本末男・大山勝夫

(農業生物資源研究所)

Callus Induction and Shoot Formation from Explant of Sugar Beet

Sueo ENOMOTO and Katsuo OHYAMA

(National Institute of Agrobiological Resources, Yatabe, Tsukuba, Ibaraki 305)

昭和 59 年 11 月 24 日受理

近年、組織培養を利用した大量増殖法が多くの作物で試みられるようになった²⁾。テンサイにおいても有用遺伝子型株の増殖にあたり茎頂培養ならびに器官培養の利用が考えられている^{4,5)}。

著者らはテンサイについて安定した培養系を確立し、有用遺伝子型株の大量増殖ならびに今後の育種にあたり、その基礎技術の開発を目的として本研究に着手した。今回はカルスの誘導ならびに器官形成について検討した結果について報告する。

本文に入るに先立ち、テンサイ種子の提供をして頂いた北海道農業試験場・てんさい部・育種第三研究室に対しお礼申上げる。

材料と方法

テンサイの TA 8 系統および TK 17G 系統の各種子を実験材料とした。種子の滅菌は 70% エタノール液に 10~20 秒浸漬した後、次亜塩素酸カルシウム 10% ろ過液に 15 分間浸漬し、無菌水で 3~4 回洗浄した。滅菌種子は MURASHIGE and SKOOG (MS)⁶⁾ の基本培地を入れた管瓶に 1 粒づつは種し、28°C 恒温室に保護した。置床後、数日以内に発芽しはじめ、子葉を展開した。胚軸が 20~30 mm に生長した芽生えを実験材料として用いた。

カルス培養実験では胚軸 (15 mm) および子葉を切り離して外植片とした。基本培地として MS 培地を用い、生長調節物質として 2,4-D, NAA, BA, および 4PU (N-(2-chloro-4-pyridyl)-N'-phenylurea) を所定の濃度で組合せて加えた各実験区を設けた。

不定芽誘導実験では芽生えの茎頂を MS 培地に植

付けて育成した材料を用い、その葉柄から外植片を切り取った。培地は MS 培地を基本とし、NAA および BA を所定の濃度で加えた各実験区を設けた。

両実験とも培養器は管瓶を用い各 1 外植片を植付けた。また、培養条件は温度 28°C, 光 4,000 Llx, 12 時間照明であった。調査は置床後、30~40 日間培養したのち実施した。

結果と考察

1. カルスの誘導と培養; MS 基本培地にオーキシンおよびサイトカイニンを組合せて加えた培地で TA 系統の胚軸を外植片として 30 日間にわたり培養した結果を第 1 表に示した。当初、カルスは胚軸切口の両端に形成され、次第に胚軸全体がカルス化した。カルス化の程度は生長調節物質の組合せによって異なり、NAA 0.1~1.0 mg/l と BA または 4PU 1 mg/l を加えた区においてカルス形成量が多く、NAA 単独添加では根の形成が認められた。次にカルスの性状をみると、その色調は白色、黄色~褐色、赤色等、実験区によって差異があった。TA 8 系統は赤色ビートの一種であり、ベタシアニンを多く含んでいるが¹⁾、オーキシンとして NAA を用いた場合には 2,4-D を加えた場合よりも赤色カルスの形成量が多かった。このように培地に加える生長調節物質の種類によって色素の生成能に差異が認められることについては、中嶋ら⁷⁾もテンサイの胚軸培養において植物ホルモンの組合せにより赤色程度の発現に差異があることを報告している。次に、外植片として胚軸と子葉についてカルス形成能を比較してみると概して胚軸の方がまさり、また、TA 8 と KT 17G の二系統間では前者の方がカルス形成能が高かった。

* 大要は第 178 回講演会 (昭和 59 年 10 月) において発表。

Table 1. Callus and root formation in hypocotyl explants of sugar beet on media with different combinations of growth hormones.

	24-D mg/l				NAA mg/l			
	0.1		1.0		0.1		1.0	
	Root	Callus	Root	Callus	Root	Callus	Root	Callus
0	—	+	—	+	††	—	‡‡	+
		(Y)		(Y)				(YR)
BA mg/l	0.1	—	‡	—	+	+	+	‡
			(W)		(W)		(WR)	
4PU mg/l	1.0	—	‡	—	+	‡‡	—	‡‡
			(W)		(YW)		(RW)	
4PU mg/l	1.0	—	+	—	—	‡‡	—	‡‡
			(YW)		(WY)		(RW)	
10.0	—	—	—	—	—	—	—	—

W: white Y: yellow R: red.

* 4PU: N-(2-Chloro-4-pyridyl)-N'-phenylurea.

2. 不定芽形成; TA 8 系統について胚軸由来のカルスを用い, MS 基本培地に BA 1 mg/l, NAA 0.1 mg/l を加えた培地で継代培養したところ赤色カルスから不定芽の再分化が認められ, これらの不定芽を分離培養したところ展開した葉柄の向軸側に小塊が形成されこれが再び不定芽として発達した. そこで, このような不定芽形成に対する生長調節物質の効果を検討するため, あらかじめ茎頂培養によって育成した TA 8 系統の個体の葉柄を 20 mm に切断し, BA および NAA を単独または組合せて加えた培地で培養した. 器官形成とカルス形成に対する反応は第 2 表に示したとおりである. すなわち NAA 添加の有無にかかわらず BA 0.1~5.0 ppm の範囲では高濃度になるほど不定芽形成率が高い. また生長調節物質を加えない基本培地の場合のみは不定芽形成は認められず, 不定根の形成が観察された. 一方, TK 17G 系統についても同様な実験を行ったが, 葉柄からの不定芽形成は殆んど認められなかった. テンサイの培養組織からの不定芽形成については, すでに報告されているが^{3,4)} その頻度は未だかなり低い.

今回の実験では葉柄組織から直接に不定芽が形成されたことや植物ホルモンに対する反応については新たな知見が得られたといえる. なお, テンサイの系統によって再分化能に差異があるようであるが, これらの問題については今後さらに検討したい.

引用文献

1. 知地英征 1967. 北大農邦紀 9: 303—372.
2. CONGER, B. V. 1982. Cloning agricultural plants via *in vitro* techniques, CRC Press, Florida.
3. De GREEF W. and M. JACOBS 1979 Plant

Table 2. Morphogenetic responses of sugar beet petiole explants to various combinations of BA and NAA (TA 8).

Growth hormones		Growth responses		
BA mg/l	NAA mg/l	% with shoots	% with roots	Callus
0	0	0	27.0	+ —
0.1	0	4.4	4.4	+ +
1.0	0	8.9	0	+ + +
2.5	0	8.9	0	+ +
5.0	0	13.3	0	+ +
0.1	0.1	2.2	4.4	+ +
1.0	0.1	2.2	0	+ +
2.5	0.1	0	0	+ +
5.0	0.1	11.1	0	+ + + +

Science Letters 17: 55—61.

4. HARM, C. T., I. BAKTIR and J. J. OERTLI, 1983 Plant Cell Tissue Organ Culture 2: 93—102.
5. 三上哲夫, 木下俊郎 1984, 育種学雑誌 34 別 2: 58—59.
6. MURASHIGE T. and F. SKOOG 1962, Plant Physiol 15: 473—495.
7. 中嶋 博, 津田周弥 1980, てん菜研究会報 22: 83—86.



Fig. 1. Buds formation from callus tissues 30 days after culture on MS medium with BA (1 mg/l) and NAA (0.1 mg/l).



Fig. 2. Buds formation from petiole explants 30 days after culture on MS medium with BA (1.0 mg/l).