

# チモシー(*Phleum pratense* L.)の幼穂からのカルス形成と 植物体再分化

誌名	日本草地学会誌
ISSN	04475933
著者	明石, 良 池田, 一
巻/号	33巻3号
掲載ページ	p. 291-292
発行年月	1987年12月

## チモシー (*Phleum pratense* L.) の幼穂からの カルス形成と植物体再分化

明石 良・池田 一

Callus formation and plant regeneration from immature inflorescences  
of timothy (*Phleum pratense* L.)

Ryo AKASHI and Hajime IKEDA

### 緒 言

カルスもしくは培養細胞から植物体を効率的に再生することは、細胞融合や遺伝子組換えによる育種を行う上で実際の意義を持つと考えられる。最近、飼料作物について、種々の草種においてカルスおよび単離細胞またはプロトプラストからの植物体再分化例が報告されている<sup>1-5)</sup>。

筆者らは種々の飼料作物の草種および品種を用いて効率良く植物体再分化を行うために、組織の違いや培養条件等について一連の検討を行っている。ここでは、チモシーのカルス誘導とカルスの植物体再分化について報告する。

キーワード：カルス形成、植物体再分化、チモシー

### 材料および方法

本試験に使用したチモシーの系統は、1950年代に米国より取り寄せられ、九州大学で系統保存中のものを1973年宮崎大学に分譲された系統（系統名 Very Late）である。

カルスの誘導は、幼穂形成期の分けつを上部から4~5枚の葉鞘を残して長さ10 cm程に切り取り、エタノールで1分、さらに、0.6%の次亜鉛素酸ナトリウムで10~15分間表面殺菌を行い、ついで滅菌水で2~3回洗浄した後にクリーンベンチ内で表面の葉鞘を取り除き、5 mm程度の幼穂をカルス誘導の外植体として用いた。

使用した培地は、Murashige and Skoog 培地<sup>6)</sup>（以

宮崎大学農学部 (889-21 宮崎市大字熊野 7710 番地)

下 MS 培地と記す)を基本培地として、カルスの誘導には 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid), NAA (1-naphthaleneacetic acid) および BAP (6-benzylaminopurine) をそれぞれ単独あるいはそれらの組み合わせにより添加した寒天培地を用いた。また、再分化培地はカルス誘導後約40日目頃に、それぞれのカルスをホルモン無添加の MS 培地に移し変えた。継代培養は同様の培地を21日ごとに更新した。

再分化した植物体は、1/2 MS (無機塩組成を1/2とする)培地で十分に生育させた後、2~3日間室内で水耕し、これをポットに移した。供試したすべての培地中の pH は 5.7-5.8 に調整し、すべての培養は 26-27°C 連続照明下で行った。

### 結果および考察

培養開始後最初の変化は、培養15~20日目頃に見られ、カルスは幼穂の両端から形成され、その後中心部におよんだ。40日目頃には、0.1 mg/l NAA + 3 mg/l BAP 添加区を除いたすべての区においてカルスの形成が認められ、また、高濃度の 2,4-D を添加した区では幼穂の表面に直径 1~2 mm の小粒状カルスが形成された。

培地に添加したホルモン組成とカルス形成との関係については Table 1 に示すように、5 mg/l および 10 mg/l の 2,4-D 添加区で 100% を示し、生長量も良好であったが、2 mg/l 2,4-D 添加区ではカルス形成率も 81% と低く、生長量も劣った。また、0.1 mg/l NAA + 3 mg/l BAP 添加区では、カルスの形成は認められ

Table 1. Effect of medium composition on callus formation and plant regeneration from immature inflorescences of timothy cultured *in vitro*

Medium composition (mg/l)	Callus induction			Regeneration		
	No. of explants cultured	% explants forming <sup>a)</sup>	Extent of callus growth <sup>b)</sup>	% callus with shoot <sup>c)</sup>	Average number of shoot per callus	
2, 4-D NAA BAP						
2 0 0	21	81	+	65	12.0	
5 0 0	11	100	++	73	17.1	
10 0 0	10	100	++	63	5.4	
0 0.1 3	10	0	-	-	(6.9)*	

a) Result of 40 days later in culture.

b) - no callus; + slight; ++ moderate

c) Number of shoot regenerated of callus derived from immature inflorescences cultured on MS hormon-free medium for 30-50 days.

\* Shoot formed directly from immature inflorescences.

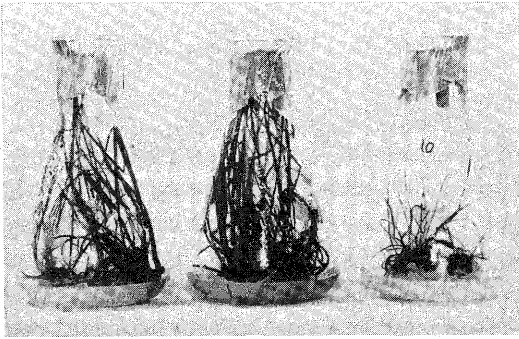


Fig. 1. Shoot regeneration of callus derived from immature inflorescences cultured on MS hormon-free medium for 30 - 50 days.

Explants were initially cultured on MS medium containing 2 mg/l, 5 mg/l, 10 mg/l of 2, 4-D (left to right) for 40 days.

なかった。培養を開始して40日目に、0.1 mg/l NAA + 3 mg/l BAPを除くそれぞれの区で形成されたカルスおよび誘導期間中にカルスの形成が認められなかった区の幼穂をホルモン無添加のMS培地に置床した。カルスを置床した後10日間はカルスの生長は旺盛であり、同時にカルスの表面に多数のグリーンスポットが形成された。その後、グリーンスポットから多数の茎葉分化が認められ、また、0.1 mg/l NAA + 3 mg/l BAPにより誘導した幼穂からは、カルス形成を経ないで直接に茎葉を形成した。茎葉分化率はカルス誘導時に添加したホ

ルモン組成と関係が認められ、5 mg/l 2, 4-Dを添加した培地において73%と高く、また、カルスあたりの茎葉分化数も17.1本と他の区よりも高い値を示した(Fig. 1)。また、2 mg/l 2, 4-Dでカルス誘導を行った区で、再分化時に正常個体に混って2個体のアルビノ個体が認められた。茎葉の分化後、ホルモン無添加の1/2 MS培地で発根を促した。

再分化した植物体は、2~3日間室内で水耕培養を行った後、ポットに移した。

以上のように、チモシーの幼穂から得られたカルスからは培養条件によっては比較的容易に、しかも高率に植物体再分化が認められた。

#### 引用文献

- 1) BOVO, O.A. and L.A. MROGINSKI (1986) *J. Plant Physiol.* 124, 481-492.
- 2) CONGER, B.A. and R.E. Mc DONNELL (1983) *Plant Cell Tissue Organ Culture*, 2, 191-197.
- 3) DALE, P.J., et al. (1981) *Plant Cell Tissue Organ Culture*, 1, 47-55.
- 4) DALE, P.J. and S.J. DALTON (1983) *Z. Pflanzenphysiol.* 111, 39-45.
- 5) LU, C. and I.K. VASIL (1982) *Amer. J. Bot.*, 69, 77-81.
- 6) MURASIGE, T. and F. SKOOG (1962) *Physiol. Plant.*, 15, 473-497.

(昭和62年11月17日受理)