

メロン・プロトプラストからの再生系の確立

誌名	農林水産技術研究ジャーナル
ISSN	03879240
著者	田部井, 豊
巻/号	12巻6号
掲載ページ	p. 10-11
発行年月	1989年6月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



メロン・プロトプラストからの 再生系の確立

田部井 豊

1. 背景

これまでの植物育種では、同一種内で目的とする形質を持ったものを交雑させることで、変異を拡大し選抜を繰り返して新品種の多くを育成してきました。目的とする有用遺伝子が同一種内に存在しない場合には、近縁野生種から遺伝子を導入しようと試みられますが、栽培種と野生種間では交雑不親和性を示す場合が多く、近縁野生種の利用が困難でした。このような障害を乗り越えて遺伝子を導入するためには、細胞融合や遺伝子操作等を利用する必要があります。細胞融合やパルス波を利用した電氣的遺伝子導入を行う場合は、プロトプラストからの再生系を確立しておくことが前提条件となります。

2. 目的

メロンの近縁野生種には、つる割れ病やネコブセンチュウなどの土壌病虫害に極めて高い抵抗性を持ちながら交雑親和性が低いため利用できないものがあります。細胞融合や遺伝子操作等により野生種を利用するための基礎技術として、メロンのプロトプラスト再生系を確立するために本研究を進めました。

3. 成果

安定したプロトプラスト培養系を確立するためには、分裂活性の高いプロトプラスト(写真1)を常に供給する必要があります。そのための植物組織として培養器内で無菌的に発芽させた幼植物の展開子葉を用い、またプロトプラスト単離条件は成功例のあるアブラナ科やナス科植物で試みられている方法を参考にして条件設定を行いました。

一般にプロトプラストの初期分裂には、オーキシンの影響が大きいとされています。そこで各種のオーキシン濃度でプロトプラストの培養を試みたところ、低濃度の2, 4-Dとベンジルアデニン(BA)とを組み合わせた液体培地中で活発な分裂をしました。また、初期分裂に関して品種間差が大きく、シャランテが他の品種に比べ高い分裂率を示しました。

次に分裂を始めたプロトプラストからカルスを形成させる必要があります。そのため初期分裂を誘導した条件から、セルコロニー(写真2)生育と共にオーキシン濃度と浸透圧を徐々に下げてゆきます。浸透圧調節剤にマンニトールだけを用いてもカルス形成そのものには影響がありませんでしたが、マンニトールとブドウ糖を等量混合して培養することにより、再分化率を高められることがわかりました(表1)。

約2~3mmに生育したカルスを、不定芽を再分化させるための培地に移します。再分化のた

Yutaka TABEI : Establishment of protoplast culture method on melon (*Cucumis melo* L.)

めのホルモンは、初期分裂時とは逆にサイトカイニンの影響が大きいとされています。サイトカイニンの種類と濃度を検討したところ、BA 2 mg/ℓ と、ジベレリン 0.5 mg/ℓ を加えた培地を用いた場合、生長点様の組織が多く現れました (表1)。これらの生長点様組織をジベレリンを含む培地で培養することにより、莖葉を分化させることに成功しました (写真3)。

4. 今後の展望

メロンのプロトプラスト培養系が確立されたことから、交雑親和性が低いため利用されずにいた近縁野生種を細胞融合により利用することが可能になりました。また将来、耐病虫性など

の有用遺伝子が容易に単離・増殖できるようになれば、パルス波を利用する電氣的遺伝子導入法を用いることで、従来より迅速な育種が可能になるでしょう。

(野菜・茶業試験場 育種第2研究室)

主要な発表文献

- 1) 田部井豊, 菅野紹雄, 五十嵐勇, 西尾剛; メロン子葉プロトプラストからの植物体再生, 園学要旨, 昭62秋, 236-237 (1987)
- 2) 田部井豊, 菅野紹雄, 五十嵐勇; ウリ科野菜の細胞培養系作出技術の開発, 野菜試験場育種部研究年報, 14, 7-9 (1986)
- 3) 田部井豊, 菅野紹雄, 五十嵐勇; メロンのプロトプラスト培養の安定化条件, 野菜・茶業試験場野菜育種部研究年報, 1, 11-12 (1988)

表1 メロンプロトプラスト由来カルスに対する再分化培地のホルモンと浸透圧調節剤の影響 (材料 Charentais)

カルス形成までの浸透圧調節剤	再分化培地の** ホルモン条件	置床 カルス数	不定芽 分化数	1カルス当りの 不定芽分化数
マンニトール単用 (M)	BA+IAA	16	2	0.13
	BA+GA ₃	16	20	1.25
	Zeatin+IAA	16	1	0.06
	Zeatin+GA ₃	16	7	0.44
マンニトール +ショ糖 混合* (M+S)	BA+IAA	16	2	0.13
	BA+GA ₃	16	7	0.44
	Zeatin+IAA	32	1	0.03
	Zeatin+GA ₃	16	4	0.25
マンニトール +ブドウ糖 混合* (M+G)	BA+IAA	9	4	0.44
	BA+GA ₃	9	27	3.00
	Zeatin+IAA	9	2	0.22
	Zeatin+GA ₃	9	7	0.78

* 各浸透圧調節剤を1:1混合したもの

** BA+IAA =MS培地+BA 2.0mg/ℓ+IAA 0.2mg/ℓ
 BA+GA₃ =MS培地+BA 2.0mg/ℓ+GA₃ 0.5mg/ℓ
 Zeatin+IAA=MS培地+Zeatin 5.0mg/ℓ+IAA 0.2mg/ℓ
 Zeatin+GA₃=MS培地+Zeatin 5.0mg/ℓ+GA₃ 0.5mg/ℓ

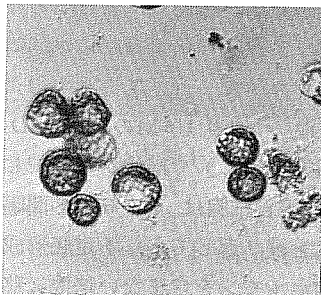


写真1

子葉由来
プロトプラスト

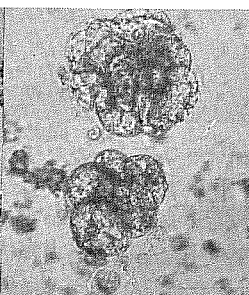


写真2

プロトプラスト
由来カルス



写真3

不定芽の分化