

## 米ナス蒔培養による植物体誘導

誌名	高知県農業技術センター研究報告 = Bulletin of the Kochi Agricultural Research Center
ISSN	09177701
著者	岡田, 昌久 猪野, 亜矢 松本, 満夫
巻/号	2号
掲載ページ	p. 41-44
発行年月	1993年2月

## 米ナス蒴培養による植物体誘導

岡田昌久\*・猪野亜矢\*・松本満夫\*

### Induction of Diploid and Haploid Plants by Anther Culture of Black Beauty Type Eggplant (*Solanum melongena*)

Masahisa OKADA, Aya INO and Mitsuo MATSUMOTO

#### 要 約

米ナスの品種改良に利用するために、蒴培養の検討を行った。

1. 蒴置床後20日前後から再分化植物がえられた。幼植物体はすべて蒴内部から直接不定胚經由で再分化した。
2. 再分化植物は2倍体あるいは半数体であった。半数体は2倍体に比べ生育が劣った。
3. 半数体植物の人為倍加は、コルヒチン0.1%を含む培地で2日あるいは4日間培養することにより可能であった。
4. 半数体の孔辺細胞は2倍体に比べ小さく、人為倍加2倍体の孔辺細胞は2倍体とほぼ同じ大きさであった。また、半数体は2倍体および人為2倍体に比べ孔辺細胞中の葉緑体数が少なかった。これらのことと外部形態から、2倍体と半数体は判別可能であった。
5. 2倍体および人為倍加2倍体は高い花粉稔性を示した。また、自家受粉によって正常に着果し、多数の種子がえられた。
6. 米ナス各系統の蒴培養による植物体の誘導率はクロワシおよびAUB132の後代系統で高く、早生米国大丸の後代系統で低かった。

キーワード：米ナス、蒴培養、半数体、コルヒチン処理、固定系統

#### はじめに

F1品種は生育および品質が均一で、なおかつ雑種強勢を示す等の利点があり、現在ほとんどの野菜でF1品種が利用されている。F1品種の作出のためには、その両親となる固定系統の育成が必要であるが、従来の自家受粉による方法では固定系統の育成までに長期間を要する。一方、蒴培養による花粉由来2倍体植物はホモ接合体であり、直接的に固定系統の誘導が可能である。このため、近年多くの植物で蒴培養による植物体の誘導がこころみられており、ナスについてもすでに武田ら<sup>3)</sup>、松原ら<sup>1)</sup>等の報告がある。

ところで、米ナスは本県の地域特産野菜であり、産地維持のために本県独自の品種の育成が望まれている。

そこで、多くの米ナス固定系統を短期間に誘導し、効率的にF1品種を育成するため、米ナス既存品種の自殖後代系統について蒴培養をこころみた結果、植物体を誘導することができたので、その概要を報告する。

#### 材料および方法

##### 1. 蒴培養

材料は旧高知県園芸試験場のビニールハウス内で栽培したAUB132の自殖第一代の花蕾を用いた。花蕾はその花粉が一核期後期と考えられる、花弁と萼がほぼ同長のもの<sup>3)</sup>を用いた。

蒴培養は武田ら<sup>3)</sup>の方法にしたがった。すなわち前処理として、花蕾を高湿度・暗黒下で、4℃、10日間

の低温処理を行った。前処理後の花蕾は70%エタノール数秒、ピューラックス5倍液(次亜塩素酸ナトリウム1.2%)で10分間殺菌後、滅菌水で3回すすぎ、無菌的に薬を取り出して置床した。培養は2,4-D 0.1 mg/l, カイネチン 0.1 mg/l, ショ糖 3%, ジェランガム 0.2%, 粉末活性炭 0.1% を含む pH 5.8 の Murashige and Skoog (以下MS) 培地<sup>2)</sup>で行った。培養条件は培養開始後3日間は35°Cの暗黒、それ以後は25°C, 2000lux, 16時間明期とした。培養開始20日後に、カイネチン 0.1 mg/l, ショ糖 3%, ジェランガム 0.2%, を含む pH 5.8 の MS 培地に薬を移植した。

薬培養により誘導された植物体は、ショ糖 1%, 寒天 0.9% を含む pH 5.8 の MS 培地に移植して継代培養した。培養条件は25°C, 2000lux, 16時間明期とした。

## 2. 再分化植物体の染色体数の観察

薬培養によってえられた植物体の染色体を観察し、2倍体あるいは半数体の判定を行った。

盛んに伸長している根端を2 mMの8-ハイドロキシキノリンに浸漬し、25°Cで約3時間前処理した後、エタノール：氷酢酸=3：1の固定液(4°C)で3時間以上固定した。固定後の根端は1規定塩酸：45%酢酸=2：1の解離液(60°C)中で、約15秒間解離させた。その後、根端分裂組織を2%酢酸オルセインで染色し、押しつぶし法でプレパラートを作成して生物顕微鏡下で染色体数を観察した。

## 3. 半数体植物の染色体倍加処理

薬培養によって誘導された半数体植物の染色体数を倍加するため、試験管内でのコルヒチン処理条件について、AUB132の自殖第一代の薬より誘導された半数体植物を用いて検討した。

オートクレーブで滅菌したショ糖 1%, ジェランガム 0.2% を含む MS 培地に、ろ過滅菌したコルヒチン水溶液をコルヒチン濃度 0.1% となるように加えた。植物体をコルヒチンを含む培地に挿して2および4日間培養した。各処理区には植物体を2個ずつ供試した。

処理後の植物体はショ糖 1%, 寒天 0.9% を含む pH 5.8 の MS 培地に移植し、再び継代培養条件で培養し、約3カ月に新しく伸長した苗条の根端細胞の染色体数を観察した。

## 4. 薬培養由来植物体の孔辺細胞長および孔辺細胞中の葉緑体数の観察

試験管内で継代培養している植物体の葉の裏面表皮をはぎ、孔辺細胞長と孔辺細胞中の葉緑体数を1植物体あたり100個について測定した。観察は、AUB132の自殖第1代の薬培養由来の2倍体、半数体およびコルヒチン処理により半数体を人為倍加した2倍体について行った。

## 5. 薬培養由来植物の順化および栽培

AUB132の自殖第1代の薬培養由来の2倍体、半数体、人為倍加の2倍体植物を順化した後、ガラス室で栽培した。

順化は、よく発根した植物体をオートクレーブで滅菌した畑土に植え付けて行った。順化後の植物体はワグネルポットに植え付けガラス室内で栽培し、開花後花粉稔性を測定した。花粉は2%酢酸オルセインで染色し、生物顕微鏡下で観察した。また、自家受粉を行い種子稔性について検討した。

## 6. ミナス各系統の薬培養について

高知県農業技術センターのビニールハウス内で栽培したクロワシ自殖第3代5系統、早生米国大丸自殖第4代4系統、AUB132および太郎早生の自殖第1代各1系統ずつを用いた。薬置床から約60日後にそれぞれの不定胚形成薬数を測定し、系統間の不定胚形成率を比較した。

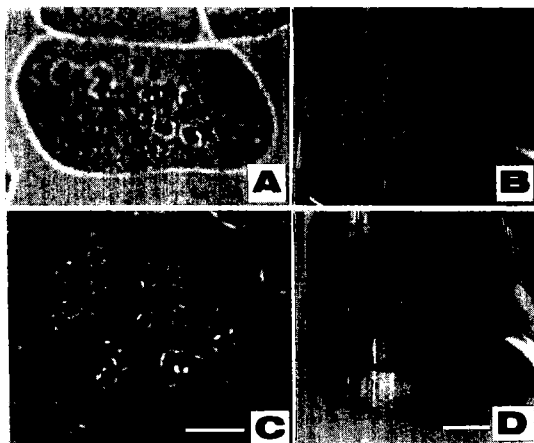
## 結果および考察

### 1. 薬培養

薬置床後20日前後から再分化が観察された。置床した薬でカルス化したものはなく、幼植物体はすべてが褐変した薬内部から直接不定胚経路で再分化した(第



第1図 ミナス薬培養で誘導された幼植物体  
スケールは1 mm



第2図 米ナス蒴由来植物の染色体および植物体  
 A: 半数体植物の根端染色体  $2n=12$   
 B: 半数体植物  
 C: 2倍体植物の根端染色体  $2n=24$   
 D: 2倍体植物  
 スケールは、A, C  $10\mu\text{m}$   
 B, D  $1\text{cm}$

1図)。このことから再分化植物体は蒴壁ではなく、花粉起源であると考えられた。誘導された不定胚数は蒴あたり1~数10個であった。

誘導された不定胚は、正常な植物体に生長したもののほかに、生長しないもの、発芽せずカルス化するもの、あるいは苗条の伸長しないものがみられた。このうち、苗条の伸長については、 $0.5\text{mg}/1$ のジベレリン酸を添加した継代培地への移植が効果的であった。また、再分化植物体は水浸状になるものが多かった。

## 2. 再分化植物体の染色体数の観察

再分化植物体には $2n=24$ の2倍性の個体と、 $2n=12$ の半数性の個体が観察された(第2図)。

半数体は2倍体に比べ発根しにくく、生育が劣った。また、半数体は水浸状になりやすく、2倍体に比べ葉身幅および茎径が小さかった。

## 3. 半数体植物の染色体倍加処理

コルヒチン2日間処理および4日間処理いずれも2倍性植物体および半数性と2倍性の混数性植物体が生じた(第1表)。このことから、これらの条件で半数体を処理することによって、試験管内で2倍体植物を誘導できることがわかった。

## 4. 蒴培養由来の植物体の孔辺細胞長および孔辺細胞中の葉緑体数の観察

第1表 半数体植物の染色体倍加におよぼすコルヒチン処理<sup>\*1</sup>の影響

植物体 No	処理 時間	観察 根数	根端染色体数 <sup>*2</sup>		
			x	2x	x+2x
1	2日	4	2	1	1
2	2日	4	0	4	0
3	4日	4	2	2	0
4	4日	4	0	4	0

\*1 0.1%コルヒチンを含む培地中で処理

\*2 それぞれの染色体数をもつ根の本数

第2表 蒴培養由来半数体、2倍体、人為倍加2倍体の孔辺細胞長<sup>\*1</sup>

$2n$	孔辺細胞長 ( $\mu\text{m}$ )		
	平均値	最小値	最大値
x	$17.7\pm 2.0$	12.5	22.5
2x	$25.8\pm 3.2$	15.0	30.0
$2x^{*2}$	$28.9\pm 3.6$	22.5	37.5

\*1 培養植物体について各々100個を測定

\*2 人為倍加2倍体

第3表 蒴培養由来半数体、2倍体、人為倍加2倍体の孔辺細胞中の葉緑体数<sup>\*1</sup>

$2n$	葉緑体/孔辺細胞		
	平均値	最小値	最大値
x	$4.45\pm 0.64$	3	6
2x	$5.93\pm 0.90$	4	7
$2x^{*2}$	$5.48\pm 0.82$	4	7

\*1 培養植物体について各々100個を測定

\*2 人為倍加2倍体

半数体の孔辺細胞長は、2倍体のそれに比べ小さくなる傾向を示した。また、コルヒチン処理による人為倍加の2倍体の孔辺細胞長は、2倍体植物のそれとほぼ同じであった(第2表)。

孔辺細胞中の葉緑体数は、2倍体および人為倍加の2倍体とも、半数体より多くなる傾向を示した(第3表)。

以上のことと、半数体の外部形態等が2倍体と異なることから、染色体観察を行わなくても半数体と2倍体とは判別可能であると考えられた。

## 5. 蒴培養由来植物の順化および栽培

2倍体は容易に順化し、正常に生育した。また、その花粉稔性は約95%で、自家受粉で正常に着果し多数

第4表 米ナス系統群別の薬培養からの不定胚形成率

系 統 群 名	No.	置 床 薬 数	不定胚形成薬数	不定胚形成率 (%)
ク ロ ワ シ	1	1302	37	2.8
	2	924	16	1.7
	3	1349	26	1.9
	4	1097	22	2.0
	5	1498	48	3.2
早 生 米 国 大 丸	1	865	14	1.6
	2	793	1	0.1
	3	868	0	0
	4	776	2	0.3
A U B 132		1566	25	1.6
太 郎 早 生		1305	6	0.5

の種子がえられた。

半数体は順化時の活着および順化後の生育が劣った。半数体の花粉稔性は約3%で、稔性花粉のなかには大型の花粉が観察された。また、自家受粉ではほとんど着果せず、着果した場合でも種子はえられなかった。

人為倍加の2倍体は容易に順化し、正常に生育した。また、その花粉稔性は約80%で、自家受粉で正常に着果し多数の種子がえられた。

#### 6. 米ナス各系統の薬培養について

ほとんどの供試系統で幼植物体が誘導された。特に、クロワシの各後代系統で置床薬あたり1.7~3.2%の高い不定胚形成率を示した。次いでAUB132の後代での誘導率が高く、1.6%を示した。早生米国大丸の後代では1系統を除いて不定胚形成率が低く、全く形成されない系統があった(第4表)。

以上のように、米ナスにおいても薬培養による植物体の誘導が可能であった。今後F1品種育成のためにはさらに、不定胚形成率の向上、植物体育成の効率化の検討が必要である。

#### 引 用 文 献

1. 松原幸子・胡開林・村上賢治(1991). ナス薬培養による半数体の育成. 園学中四支部平3大会発表要旨: 39.
2. Murashige, T. and Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures: *Physiol. Plant.* 15: 473-497.
3. 武田恭明・三輪龍士・浅平 端(1990). ナス薬培養における胚様体形成の促進. *園学雑.* 59 別1: 244-245.