

組織培養によるいぐさ属遺伝資源の評価

第1報 カルス誘導・増殖と植物体再分化

新倉克巳・松岡秀道・加藤清正・中村泰郎 (農業生物資源研究所)

Katsumi SHINKURA, Hidemichi MATSUOKA, Seisho KATO and Tairo NAKAMURA :

Evaluation of *Juncus* Species by Tissue Culture

1. Callus Induction and Plantlet Regeneration

ジーンバンク事業の一貫として1983年にニュージーランドで収集されたいぐさ属10種約180系統を保存している。保存系統は形態的、生理的特性を明らかにしつつあるが、一方、組織培養による遺伝資源のインビトロ評価と効率的な保存・管理法の開発も試みている。インビトロ評価では、幼花序からのカルス誘導・カルス生育・植物体再分化について種間差を認めたのでその概要を報告する。

1. 試験方法

Juncus effusus (収集番号150), *J. gregiflorus* (同068), *J. inflexus* (同086), *J. maritimus* (同074) の幼花序を供試し、カルス誘導には2,4-D 0.5, 1.0, 5.0mg/l とBA 0, 0.5, 1.0mg/l を組合せたMS培地 (サッカコース 20g/l, 寒天8g/l, pH5.8) を用いた。カルス維持・増殖には2,4-D1.0mg/l とBA0.5mg/l, ピクロラム5.0mg/l とBA0.5mg/l を組合せた2種類のMS培地 (ゲランガム2g/l) を用いた。芽原基の発達にはMS基礎培地にカルスを移植した。なお、幼花序あるいはカルスは1処理当たり5個供試した。

2. 結果及び考察

幼花序切片を培地に置床した1週後にはすべての種で淡黄白色のカルスを形成した。すべてのホルモン濃度組合せでカルスの生育が認められたが、置床3週後では、

4-D1.0mg/l とBA0.5mg/l が良好なカルス生育をもたらした。(第1表) 生育程度は種によってホルモン濃度の反応が異なり、*J. maritimus* と *J. effusus* はいずれの2, 4-D濃度でも良好な生育をした。*J. gregiflorus* は2,4-D 0.5-1.0mg/l 区、*J. inflexus* は2,4-D 0.5mg/l 区でやや良好なカルス生育がみられた。

第2表で示したように、置床3週後にどの種にも芽原基の分化をいずれかのホルモン組合せで認めた。芽原基は淡黄白色をした不定胚であった。*J. gregiflorus* と *J. maritimus* では2,4-D 0.5-5.0mg/l 区で芽原基の分化が良かった。*J. effusus* では2,4-D1.0mg/l とBA0.5-1.0mg/l の組合せの時に分化数が多く、他では劣った。*J. inflexus* では、2,4-D 0.5mg/l とBA0mg/l, 2,4-D 5.0mg/l とBA1.0mg/l の組合せでそれぞれ1個づつの分化であった。

幼花序切片置床6週後にカルスを基礎培地に移植したところ、約10日後から多数の幼植物体が発達した(第3表) カルス誘導・生育時のBAの添加の有無が幼植物体の発達に影響していた。前代培地のホルモン濃度はBA0.5mg/l で幼植物体が最も良く発達し、2,4-Dは0.5-1.0mg/l であった。*J. effusus* ではカルス誘導時にBAが含まれていないと幼植物体の発達が認められず、*J. gregiflorus* と *J. inflexus* では少なかった。*J. maritimus* ではBA0mg/l でもカルス当たり1.0-2.2本の幼植物体が得られた。カルス誘導・生育培地上で芽原基の分化を認めなかった処理区のカルスでも基礎培地に移植後に幼植物体発達を認めており、不定胚の分化時期と幼植物体発達の条件についてはなお検討する必要がある。

カルスの継代培養は、2,4-D1.0mg/l とBA0.5mg/l の組合せよりもピクロラム5.0mg/l とBA0.5mg/l の組合せの方でカルス生育が良好であった。継代培養中にもカルスに芽の原基を認め、不定胚の再分化能は維持されていた。

第1表 いぐさ属幼花序のカルス生育

ホルモン濃度 2,4-D	<i>J. effusus</i>		<i>J. gregiflorus</i>		<i>J. inflexus</i>		<i>J. maritimus</i>		
	B	A	3週	4週	3週	4週	3週	4週	
0.5 mg/l	0	1.8	3.0	2.8	3.8	2.4	3.4	2.0	2.3
	0.5	3.2	3.8	1.7	3.0	2.8	3.2	4.0	4.0
	1.0	2.0	4.3	2.0	4.0	3.2	3.6	3.7	4.3
1.0 mg/l	0	3.7	5.0	1.3	2.3	2.5	3.0	1.6	3.0
	0.5	3.0	4.3	4.0	5.0	2.2	2.4	2.3	4.3
	1.0	2.3	2.8	1.8	3.0	1.8	2.3	3.5	3.7
5.0 mg/l	0	2.0	2.5	2.0	3.2	1.3	3.0	2.0	3.7
	0.5	2.3	2.5	2.0	2.0	3.3	3.3	3.2	4.6
	1.0	2.3	2.8	2.2	3.0	1.0	3.5	4.0	4.3

注) a) 室温は25.0°C±1.0°C
b) カルス生育=0:無・枯死, 1:(不良)~2~3~4~5(良)

第2表 いぐさ属幼花序カルスの芽原基の分化

ホルモン濃度 2,4-D	<i>J. effusus</i>		<i>J. gregiflorus</i>		<i>J. inflexus</i>		<i>J. maritimus</i>	
	B	A	3週	4週	3週	4週	3週	4週
0.5 mg/l	0	1.0	2.0	0	1.0	1.3	1.5	2.0
	0.5	0	2.0	0	0	1.5	2.0	2.0
	1.0	1.0	2.0	0	0	2.0	2.0	2.0
1.0 mg/l	0	0	2.0	0	0	2.0	2.0	2.0
	0.5	2.0	1.5	0	0	2.0	2.0	2.0
	1.0	3.5	1.0	0	0	2.0	2.0	2.0
5.0 mg/l	0	0	1.0	0	0	2.0	2.0	2.0
	0.5	1.0	1.0	0	0	2.0	2.0	2.0
	1.0	0	0	1.0	0	2.0	2.0	2.0

注) a) 室温は25.0°C±1.0°C b) カルス当たりの芽原基の分化数

第3表 いぐさ属幼花序カルスのMS基礎培地での幼植物体

前代培地 2,4-D	ホルモン濃度		<i>J. effusus</i>		<i>J. gregiflorus</i>		<i>J. inflexus</i>		<i>J. maritimus</i>	
	B	A	2週	4週	2週	4週	2週	4週	2週	4週
0.5 mg/l	0	0	0	1.0	1.0	2.7	2.7	2.2	3.8	3.8
	0.5	3.8	4.3	4.2	4.2	3.8	3.8	2.2	3.8	3.8
	1.0	3.8	4.2	3.0	4.0	2.0	2.3	2.4	4.3	4.3
1.0 mg/l	0	0	0	1.0	2.5	0	0	1.3	2.3	2.3
	0.5	3.2	3.2	2.3	3.3	1.0	3.0	1.8	2.8	2.8
	1.0	1.3	3.2	1.6	3.2	-	-	1.3	2.8	2.8
5.0 mg/l	0	0	0	0	0	0	0	1.0	1.7	1.7
	0.5	1.5	2.0	0	0	1.0	1.0	1.0	2.0	2.0
	1.0	-	-	0	2.0	0	0	2.0	3.3	3.3

注) a) 室温は18.0°C±1.0°C b) カルス当たりの幼植物体数