

外植体及び浸透圧調節剤の種類によるローズグラス (*Chloris gayana* Kunth) embryogenic callus形成率の差異

山方 誠・小松敏憲・*浅野義人 (鹿児島憲農業試験場大隅支場・*千葉大学園芸学部)

Makoto YAMAKATA, Toshinori KOMATSU and Yoshito ASANO : Effects of explants and osmotic pressure regulators on embryogenic callus formation of Rhodesgrass (*Chloris gayana* Kunth)

ローズグラスにおいて初期伸長性や耐倒伏性、品質に優れた品種の育成のために、組織培養を利用し有用な育種素材を作出する場合、効率的なカルスからの再分化系の確立が必要である。今回それぞれ3種類の外植体及び浸透圧調節剤がembryogenic callus (E.カルス)の形成に及ぼす影響について検討した結果について報告する。

1. 試験方法

外植体として種子、胚軸、幼穂を用いた。供試品種・系統は、ハツナツ、カタンボラ、大隅3、4号であった。培地は塩酸チアミン1.0mg/l、ミオイノシトール200mg/lとしたMSにsucrose30g/l、ゲルライト2g/lを加えpH5.8に調整したものをを用いた。また培地へのL-proline10mM添加がE.カルス形成に与える影響について種子、胚軸で検討した。ホルモンは種子、胚軸では2,4-D1.0mg/l、幼穂の場合はpicloram5.0mg/lとした。

浸透圧調節剤としてはソルビトール (MW:200)、マニトール (MW:182)、ポリエチレングリコール (PEG) (MW:6000)を用いた。前2者は2.0、3.0、5.0% (W/V)、後者は2.5、5.0、7.5% (W/V)の各濃度で上記培地に加えた。そしてハツナツの種子を1処理につき100粒置床した。

培養はすべて25℃、暗黒下の条件で行い、置床外植体当たりのE.カルス数及びnon embryogenic callus (N.E.カルス)数を置床後45日目に調査した。E.カルスは、カルス上に不定胚を形成しているもの、または表面が滑らかで黄白色のものをその判定基準とした。

2. 結果及び考察

外植体別のE.カルス形成率を第1表に示した。カルス形成率は胚軸で低くなったほかはほぼ80%以上であった。

幼穂は上野らの方法¹⁾に従い5mm以下のサイズを用いたところ、外植体数が少ないが形成されたカルスはすべてE.カルスであり、効率的な外植体と考えられた。

種子、胚軸の場合は、幼穂に比較してE.カルス形成率は2.0~24.0%と低かった。種子の場合L-proline添加区のE.カルス形成率は品種・系統間で異なった。特にカタンボラではL-prolineの添加によってE.カルスの形成が抑制されたが、胚軸でも同様の傾向にあった。ベントグラスではL-prolineによるE.カルス誘導の効果が示されている²⁾が、草種や品種・系統間で反応が異なることが考えられた。

E.カルス形成に及ぼす浸透圧調節剤の効果をみるためにソルビトール、マニトール、PEGについて比較したところ、PEGの効果が最も大きく、ついでソルビトール

であり、PEGは5.0%添加、ソルビトールは2.0%添加でそれぞれE.カルス形成率は最も高まった。しかしマニトールでは今回検討した濃度域では抑制的な効果しかみられなかった。分子量はほぼ同程度であるソルビトールとマニトールのE.カルス形成において対照的な結果が示されたことから、ソルビトールについては浸透圧調節効果のみではないことが推察された。

引用文献

- 1) 上野敬一郎・浅野義人・大澤勝次：育雑 38, 別(1) 54-55 1988.
- 2) カリダス シェテイ・浅野義人：育雑 41, 別(1) 20-21 1991.

第1表 外植体別のEmbryogenic callus形成率

外植体	品種・ 系統名	置床外 植体数 A	N.E.カル ス数		E.カル ス数 C	カルス 形成率(%) (B+C)/A	E.カルス 形成率(%) C/(B+C)
			B	C			
幼穂	大隅4号	10	0	8	80.0	100.0	
	カタンボラ	12	0	9	75.0	100.0	
	ハツナツ	3	0	3	100.0	100.0	
種子	大隅3号	-	100	78	20	100.0	20.4
		+	100	76	24	100.0	24.0
	カタンボラ	-	100	74	18	96.8	19.6
		+	100	89	8	98.0	8.2
	ハツナツ	-	100	81	19	100.0	19.0
		+	100	81	19	100.0	19.0
胚軸	大隅3号	-	50	49	1	100.0	2.0
		+	50	31	1	64.0	3.1
	カタンボラ	-	50	39	6	90.0	13.3
		+	50	37	1	76.0	2.6
	ハツナツ	-	50	27	1	56.0	3.6
		+	50	19	4	46.0	17.4

注) -, +: L-proline10mM添加の有無, E.カルス: Embryogenic callus N.E.カルス: Non embryogenic callus

第2表 Embryogenic callus形成に与える浸透圧調節剤の効果

浸透圧 調節剤 (分子量)	濃度 (%, w/v)	置床 種子数 A	N.E.カル ス数		E.カル ス数 C	カルス 形成率(%) (B+C)/A	E.カルス 形成率(%) C/(B+C)
			B	C			
ポリエチレ ングリコー ル (MW:6000)	0	100	88	9	98.0	9.3	
	2.5	100	86	14	100.0	14.3	
	5.0	100	76	22	100.0	22.4	
	7.5	100	74	19	95.9	20.4	
ソルビトール (MW:200)	0	100	88	9	98.0	9.3	
	2.0	100	83	16	100.0	16.2	
	3.0	100	88	11	99.0	11.1	
	5.0	100	87	10	97.0	10.3	
マニトール (MW:182)	0	100	81	19	100.0	19.0	
	2.0	100	88	8	97.0	8.3	
	3.0	100	88	11	100.0	11.0	
	5.0	100	88	9	97.0	9.3	