

## ナス台木品種‘アシスト’のプロトプラストからの植物体再生 栗山孝浩・\*國武久登・\*中島寿亀・\*森 欣也・\*田中政信・七島琢男 (九州電力総合研究所・\*佐賀県農業試験研究センター)

Takahiro KURIYAMA, Hisato KUNITAKE, Toshiki NAKASHIMA, Kinya MORI,

Masanobu TANAKA and Takuo NANASHIMA: Plant Regeneration from Protoplasts of Eggplant Root-stock cv. 'Assist'

細胞融合により、ナスの複合病害抵抗性台木を育成するためには、台木植物の安定的なプロトプラスト培養系を確立することが重要である。本研究では、台木品種‘アシスト’の子葉プロトプラストからの植物体再生について検討した。

### 1. 試験方法

材料には、滅菌した種子をホルモンフリーの1/2 MS培地に播種し、7～10日間培養して得られた実生の子葉を供試した。プロトプラストの単離にあたり、子葉1gを10mlの酵素液(0.7%セルラーゼオズカR-10, 0.7%マセロザイムR-10, 5 mM MES, 5 mM CaCl<sub>2</sub>・2 H<sub>2</sub>O, 0.5M ショ糖, pH5.7)で16時間、25°Cで静置処理し、80μmのナイロンメッシュで残さを除去後、洗浄しプロトプラストを単離した。次に、細胞密度を5×10<sup>4</sup>/mlに調整後、0.1%ゲルライトに包埋し、30°C, 暗黒条件下で培養を行った。プロトプラストからの効率的なコロニー形成条件を究明するために生長調節物質及びカザミノ酸の影響について検討を行った。さらにプロトプラスト由来カルスからの不定芽形成に及ぼす生長調節物質の影響について調査した。再生した植物体は、順化後鉢上げし、3か月後、それらの生育状態や形態を実生と比較した。

### 2. 結果及び考察

プロトプラストの収量は、材料1g当たり約17×10<sup>6</sup>個

第1表 ‘アシスト’のプロトプラストからのコロニー形成に及ぼす生長調節物質の影響<sup>1)</sup>

生長調節物質(mg/ℓ)		ショ糖濃度 (%)	コロニー形成率 <sup>2)</sup> (%)
NAA	Kinetin		
0	0	1	0
0.5	0.5	1	1.6
1.0	0.5	1	5.2
2.0	0.5	1	0.9
0.5	1.0	1	1.5
1.0	1.0	1	1.0
2.0	1.0	1	0.2
0	0	3	0
0.5	0.5	3	18.4
1.0	0.5	3	18.6
2.0	0.5	3	16.7
0.5	1.0	3	8.3
1.0	1.0	3	14.4
2.0	1.0	3	0

注 a) すべての処理区は、30°C, 暗黒条件下で培養した。また、すべての培地には1mg/ℓ 2, 4-Dを添加した。b) コロニー形成は培養1か月後に調査を行った。

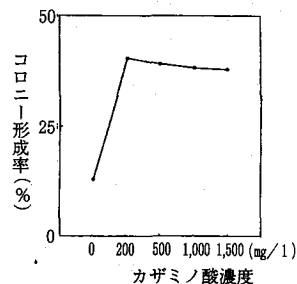
第2表 ‘アシスト’のプロトプラスト由来カルスからの不定芽分化に及ぼす生長調節物質の影響

生長調節物質(mg/ℓ)		不定芽形成率 <sup>1)</sup> (%)	1カルス当たりの不定芽数(本±SE)
IAA	Zeatin		
0.1	1.0	57.1	2.1±4.84
0.5	1.0	28.6	0.8±1.86
1.0	1.0	27.8	1.0±3.08
0.1	2.0	80.6	4.7±5.87
0.5	2.0	75.0	3.2±3.18
1.0	2.0	66.7	4.2±4.59
0.1	5.0	77.8	5.0±5.64
0.5	5.0	72.2	4.4±5.04
1.0	5.0	94.4	8.0±6.23

注) 1処理区当たり30個のカルスを供試し、1か月後に不定芽分化の調査を行った。

であった。培養2～3日後、第1分裂が認められ、1か月後には約1mmのコロニーが形成された。プロトプラストからコロニー形成に及ぼすショ糖濃度及びナフトレン酢酸(NAA)(0, 0.5, 1, 2 mg/ℓ)とカイネチン(0, 0.5, 1 mg/ℓ)の影響について調査した。ショ糖濃度は1%よりも3%の方がよく、生長調節物質の濃度の試験では、ほとんどの処理区で高いコロニー形成が認められた。特に、1mg/ℓ NAAと0.5mg/ℓカイネチンを添加した培地で最も高いコロニー形成率(18.6%)が得られた(第1表)。次に、カザミノ酸濃度について検討した結果、低濃度のカザミノ酸添加でもコロニー形成の増加が認められ、200mgを添加した培地において最も高いコロニー形成率(40.4%)が得られた(第1図)。以上の結果、プロトプラストからの効率的なコロニー形成には、1mg/ℓ NAA, 0.5mg/ℓカイネチン, 1mg/ℓ 2, 4-D, 200mg/ℓ カザミノ酸, 3%ショ糖, 0.5M マニトールを添加した1/2 MS培地が適当であった。次に、プロトプラスト由来カルスからの不定芽分化に及ぼすインドール酢酸(IAA)(0.1, 0.5, 1 mg/ℓ)とゼアチン(1, 2, 5 mg/ℓ)の影響について調査した。分化培地移植2週間後、グリーンスポットの形成が認められ、培養1か月後の調査では、本試験のすべての濃度範囲で不定芽形成が認められた。特に、1mg/ℓ IAA, 5mg/ℓゼアチンを添加した1/2 MS培地では94.4%の不定芽形成が見られ、1カルス当たりの不定芽形成数も8.0本であった。(第2表)。形成された不定芽は、発根培地(1/4 MS培地)に移植した結果、移植10日後に成葉と根が分化し、1か月後には完全な小植物体が形成された。それからの植物体は容易に順化でき、素焼き鉢で順調に生育した。形態調査を行った結果、プロトプラスト由来の植物体は、実生と比較して異常が認められなかった。

以上のように、ナス台木品種‘アシスト’のプロトプラストからの植物体再生系を確立した。特に、カザミノ酸の添加はコロニー形成に重要な要因であった。



第1図 ‘アシスト’のプロトプラストからのコロニー形成に及ぼすカザミノ酸濃度の影響