

台木メロン形質転換体作出における植物体再生条件の検討

猿渡 真・荒木誠士・上野育夫・田中正美  
(熊本県農業研究センター)

Makoto Saruwatari, Seishi Araki, Ikuo Ueno and Masami Tanaka :  
Conditions of Redifferentiation in Production of Transgenic Rootstock Melon

台木用メロンにアグロバクテリウム法でキュウリ緑斑モザイクウイルス(CGMMV)のコートタンパク質遺伝子を導入し、ウイルス抵抗性品種を育成する。これまでの試験では、種子切片よりカルスは誘導されるが不定芽の発生が少ない、奇形等によるシュートの生育不良や発根し辛いといった問題があった。そこで今回、抵抗性品種の効率的な育成・選抜を目的とし、種子切片からの不定芽の発生・生育・発根に優れる培地等の検討を行った。

1. 材料および方法

メロン台木‘大井新1号’の完熟種子子葉部を供試し、アグロバクテリウム法によりキュウリ緑斑モザイクウイルス(CGMMV)のコートタンパク質遺伝子(pCG-CP)の導入をおこなった。不定芽誘導培地は3%のショ糖, 100mg/lのカナマイシンおよび200mg/lのセフォタキシウムを添加したpH5.8のMurashige & Skoog培地(以下, MS培地)を基本培地とした。これに以下各試験の処理を施し0.25%のゲルライトで固化した培地に、遺伝子導入処理した種子切片を14日間置床した場合の不定芽発生率および生育等を比較した。

試験1:不定芽の発生促進を目的とし、基本培地にBAおよびABAを次の通り加えたものを不定芽誘導培地とした。BA, ABA(mg/l) = ①0.1, 0.1 ②0.5, 0.1 ③1.0, 0.1 ④0.1, 0.5 ⑤0.5, 0.5 ⑥1.0, 0.5 ⑦0.1, 1.0 ⑧0.5, 1.0 ⑨1.0, 1.0。

試験2:生育が優れる不定芽の育成を目的とし、種子切片の上記⑧培地上の在床期間を0, 1, 3, 7, 14日間とし、その後①培地に移植し、14, 13, 11, 7, 0日間置床した。

試験3:シュートの発根促進を目的とし、上記⑧培地のショ糖濃度を1, 2, 3%とした。さらに発生した不定芽を、ショ糖濃度1, 2, 3%とした基本培地に硝酸銀10mg/lおよびIBAを0, 0.1, 0.5, 1.0mg/l加えた発根培地に移植し、発根状況を調査した。ただし、試験3は遺伝子導入処理なし。

2. 結果および考察

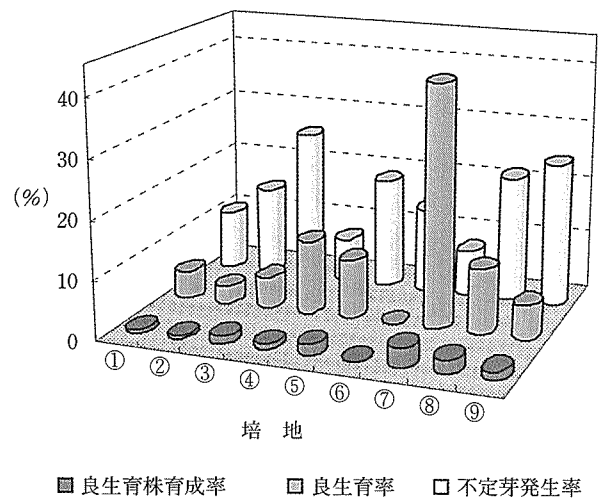
試験1:高濃度のBAを添加した培地ほど不定芽発生率が高かったが、後に奇形のみられるシュートになるものが多く、生育が劣った。一方、ABA濃度は不定芽発生率には影響しなかったが、高濃度のABAを添加した培地ほど不定芽に奇形が少なく、生育が優れた。培地⑦・⑧を用いた場合に生育が優れる不定芽の発生数が多かった(第1図)。

試験2:培地⑧への在床期間が7日間の場合に不定芽発生率が高かったが、生育の優れる不定芽は在床3日間の場合に多く発生した(第2図)。

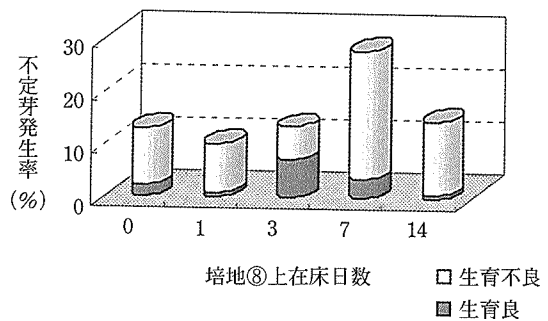
試験3:ショ糖濃度2%の培地において生育の優れる不定芽の発生が多かった。シュートからの発根促進に対してはショ糖濃度の明確な影響はみられなかったが、IBAを0.1~1.0mg/l添加することにより発根率は大幅に向上した(第1表)。

以上の結果、基本培地のショ糖濃度を2%とし、BA0.5mg/l, ABA1.0mg/lを添加した不定芽誘導培地に3日間、その後BA0.1mg/l, ABA0.1mg/lとした同様の培地に移植して11日間ほど置床することによ

り、生育の優れる不定芽を効率的に育成することが可能であった。さらに、シュートを0.1mg/lのIBAを添加した発根促進培地に移植することにより発根率が向上することが明らかになった。



第1図 BA・ABA濃度が不定芽に及ぼす影響



第2図 培地⑧への在床期間が不定芽に及ぼす影響

第1表 ショ糖濃度・IBA濃度が発根に及ぼす影響

Sucrose 濃度 (%)	良生育株 育成率 (%)	発根促進培地 IBA濃度 (mg/l)	発根 切片数 (%)	早期発根 <sup>a</sup> 切片数 (%)
1.0	14.1	0.0	0	—
		0.1	5 (55.6)	1 (20.0)
		0.5	6 (66.7)	5 (83.3)
		1.0	2 (22.2)	1 (50.0)
		Total	13 (36.1)	
2.0	29.5	0.0	2 (22.2)	1 (50.0)
		0.1	8 (88.9)	4 (50.0)
		0.5	4 (44.4)	3 (75.0)
		1.0	8 (88.9)	0 (0.0)
		Total	22 (61.1)	
3.0	5.1	0.0	0	—
		0.1	8 (88.9)	6 (75.0)
		0.5	9 (100)	7 (77.8)
		1.0	5(55.6) <sup>b</sup>	5 (—) <sup>b</sup>
		Total	22 (61.1)	

注) a) 移植後2週間以内に発根したもの。  
b) 移植後コンタミがみられ、後に枯死した。