

平成7年4月1日から平成8年3月31日までの1年間、岡山大学において植物培養技術に関する研修を行ったのでここに報告します。

【研修主題】ヤーコンカルスからの不定胚再分化及びプロトプラスト培養について

ヤーコンはアンデス高地原産のキク科の多年生球根植物で、ニュージーランドから1985年に日本へ導入されたが、一般的には普及しておらず、生態学的に見ても解明されていない点もある。だが、将来的に見て健康食品として有望視されている。塊根中には多量のフラクトオリゴ糖を含むとともに、ビタミンやミネラルも豊富にある。このたび、大量増殖もさることながらヤーコンの有効な形質を利用し、新しい植物の作出を目標にプロトプラスト培養を行う基礎研究として、カルスを形成させ、不定胚、さらには植物体への分化を目的に検討する。

【材料及び方法】供試材料であるヤーコンは塊根の状態で茨城大学より譲り受けた。カルス形成の目的のために塊根を温室内でポット植えして、展開5日後くらいの幼葉の葉片と葉脈を使用した。葉片は5mm平方、葉脈は縦5mm、径4mmに切断、それぞれ種々の培地に5片ずつ植え付けた。培地はMSを基本に3%ショ糖、1%寒天、成長調節物質として0、0.01、0.1、1.0mg/lのBAと2.4-Dを各濃度で組合わせた16種類を用意し、カルスの形成を試みた。培養期間は7月4日と7月27日に植え付け、それぞれ40日前後にカルスの形成の有無及び生体重を測定した。

カルスからの不定胚の再分化と不定胚から植物体への伸長のため次の実験を行った。カルス培養において16種類の培地の中からカルスを形成した8培地を選抜し(第1表 callusing の区) 形成されたカルスを径2~3mmの大きさに切り分けて植え付け、不定胚の形成をみた。培地はMS基本に3%ショ糖、1%寒天、0.1、1.0、5.0、10.0mg/l

BA単独、0.1、1.0、5.0mg/l zeatin 単独、1.0mg/l BA+0.01mg/l NAAの計8種類とホルモンフリーも併せて9種類の培地に植え付けた。

培養期間はすべての培地で植え付けてから40日前後を目安に不定胚形成の調査を行った。また、不定胚形成が見られなかったカルスにおいては、葉片、葉脈を植え付けてから60日~100日間、寒天培地で培養後、14日前後の液体振とう培養を行い、再度、不定胚の形成を試みた。

【結果】葉片、葉脈の切片から形成されたカルスの平均生体重と形成の有無については第1表に示した。16組合わせの培地のうち、カルスが形成されたのは8培地あり、2.4-Dを0.1mg/l(培地No.3、7、11、15)と1.0mg/l(培地No.4、8、12、16)添加した培地であった。特に2.4-Dを0.1mg/l添加した培地でのカルスの増殖は著しく、乳白色のカルスを形成した。一方、2.4-Dを1.0mg/l添加した培地においては生体重は低かったものの、黄色の粒状のカルスを形成した。

カルスからの不定胚の再分化では0.01mg/l BAと1.0mg/l 2.4-Dを添加した培地(培地No.8)で形成されたカルスが0.1、1.0mg/l BA添加の2種類の培地に継代して42日目には不定胚を形成し(第2表、第1図) その後、0.1mg/l BA添加へ継代して形成された不定胚は植物体へと伸長した。その他の継代したカルスでは、多くの発根は見られたが、不定胚は形成されなかったため、初代培地において継代を繰り返すとともに液体振とう培養を行い、その後、不定胚形成のための培地に継代したところ、第2表に示すように6種類の培地から不定胚の形成が見られた。

このたびの研修においては、文部省や岡山県教育委員会の皆様をはじめ、所属校の校長先生、諸先生方に感謝いたしますとともに、本研修でご指導頂いた岡山大学教授松原先生、助手村上先生に厚く御礼申し上げます。

第 1 表 . BA と 2.4-D の各濃度による葉肉外植体からのカルス形成及び生体重

培地 no.	植物ホルモン BA (mg/l)	植物ホルモン 2.4-D (mg)	平均生体重 (mg)	カルス形成
1	0	0	92	-
2	0	0.01	242	-
3	0	0.1	2855	-
4	0	1.0	499	-
5	0.01	0	99	-
6	0.01	0.01	118	-
7	0.01	0.1	2887	-
8	0.01	1.0	370	-
9	0.1	0	70	-
10	0.1	0.01	145	-
11	0.1	0.1	2805	-
12	0.1	1.0	455	-
13	1.0	0	267	-
14	1.0	0.01	581	-
15	1.0	0.1	3835	-
16	1.0	1.0	624	-

・培地は MS を基本とする。



第 1 図 . BA0.1mg/l 添加の MS 培地に継代したカルスから再分化した胚様体

第 2 表 . 不定胚の形成に有効な植物ホルモンの組み合わせ及び培養期間

カルス形成 (固体)		カルス形成 (液体)		不定胚形成 (固体)			不定胚形成数
BA	2.4-D	BA	2.4-D	NAA	BA	zeatin	
0.01	1.0	-	-	0	0.1	0	1
(44day culture)		(42day)					
0.01	1.0	-	-	0	1.0	0	1
(44day)		(42day)					
0.01	1.0	0.01	1.0	0	5.0	0	5
(67day)		(13day)		(28day)			
0.1	1.0	0.1	1.0	0.01	1.0	0	1
(99day)		(15day)		(25day)			
1.0	1.0	1.0	1.0	0	0.1	0	3
(99day)		(15day)		(23day)			
1.0	1.0	1.0	1.0	0.01	1.0	0	1
(99day)		(15day)		(27day)			
1.0	1.0	1.0	1.0	0	0	0.1	1
(99day)		(15day)		(30day)			
1.0	1.0	1.0	1.0	0	0	1.0	2
(99day)		(15day)		(23day)			

・培地は MS を基本とする。

・植物ホルモンの単位は (mg/l) である。

・不定胚の形成数は 6 片の外植体を植え付けてから得られたものである。