

岡山県立久世高等学校  
古澤氏由児

## 1. はじめに

平成14年度文部科学省産業教育内地留学生として、岡山大学農学部作物繁殖学研究室で研修を行った。

作物繁殖学研究室では、作物の種苗生産に関わる生理・生態的特性の解明と、生産システムの開発を研究課題としている。具体的には、突然変異トマトの雄性不稔システムを利用した効率的F<sub>1</sub>種子生産、イチゴ、トマトの最適肥培省力管理、人工光に対するトマト、ピーマン、カボチャなどの生理・生態的特性、などを研究している。

今回、「突然変異トマトの器官培養による再生系の確立」と題し、トマトの花粉培養を中心に研究を行った。薬培養・花粉培養により半数体を作成し、コルヒチンなどの薬品により染色体数を倍加して遺伝的純系を得ることは、育種において形質固定にかかる年限を短縮できることから、有用な手法となっている。しかし、トマトは様々な器官で培養可能であるものの、薬培養・花粉培養は困難であり、これまでに成功したとする論文報告は全世界で数例である。しかもそれは追試をしても成功しないという、再現性の乏しいものばかりである。学生時代からこの問題に興味があり、今年内地留学させていただけるのも何かの縁と思い、夢を追わせていただいた。

当研究室では、線照射で突然変異を誘発し、様々な形質のトマトを作成している。花粉が崩壊するために雄性不稔となるトマトは、F<sub>1</sub>種子生産において交配のための除雄作業を省略できることから、種子親として有望である。しかし、逆にその親を毎年維持するためには花粉がないことは致命的である。そこで崩壊前の花粉を培養し、植物体を再生することができれば、親を維持する手法としても大変有効となる。今回は材料として、この雄性不稔トマトを使用した。

## 2. 材料および方法

材料には前述の雄性不稔トマトを用いた。また、トマトと同じナス科で花粉培養の可能なナスを対照として用いた(品種:黒陽)。がくから花弁が見え始める段階の花蕾を採取して薬を集め、70%エタノールで30秒、次亜塩素酸ナトリウム溶液(有効塩素濃度0.5%)で10分間表面殺菌し、滅菌水で3回洗浄した。注射筒で薬を押しつぶして花粉を薬内部から押し出し、ステンレスメッシュ(孔径45μm)でろ過した。ろ液を遠心分離(500rpm, 3分間)した後、上澄みを除去して滅菌水を加えて懸濁し、再度遠心分離(500rpm, 3分間)した。この滅菌水での洗浄操作を3回行った。

滅菌水を加えて花粉密度を $2 \times 10^5 / \text{ml}$ に調節した花粉懸濁液を滅菌シャーレ(60×15mm)に2mlずつ分注した。そして、暗黒下、35℃で3日間の糖飢餓高温前培養を行った。

前培養後、2倍濃度のNLN培地(ショ糖2%, NAA0.5mg/l, BA0.5mg/l添加)を2ml加え、暗黒下、25℃で培養した。そして、培地添加後3週間目に、シャーレ内に形成された直径0.5mm以上のカルスの数を目視により測定した。

形成されたカルスは、MS培地(ショ糖2%, IAA 2mg/l, zeatin 4mg/l, ジェランガム0.2%添加)に植え付けて不定芽を形成させた。現在MS培地(ショ糖2%, ジェランガム0.2%添加)で不定芽からの発根誘導中である。

## 3. 結果および考察

まずNLN培地に様々な物質を添加して培養し、カルス形成を試みた。12月現在で計15種類の物質を用いたが、中でもSTS(チオ硫酸銀)、ケンフェロールなどでナスのカルス形成促進効果が認められた。STSのエチレン抑制作用、ケンフェロール

の抗酸化作用が促進的に働いた可能性が示唆された。しかし、トマトはカルス形成しなかった。

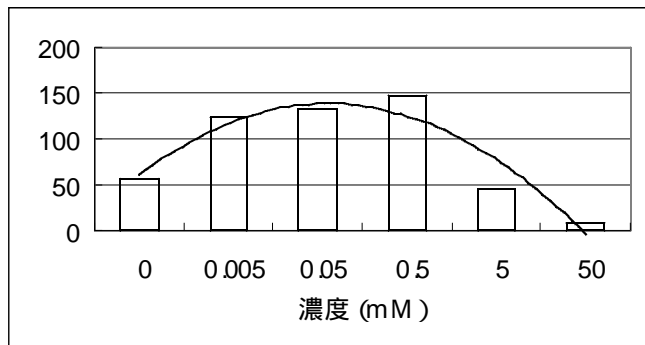


図 1 . STS がナス花粉のカルス形成に及ぼす影響

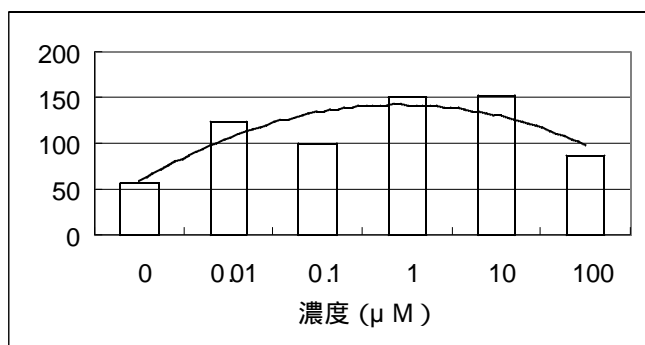


図 2 . ゲンタミシンがナス花粉のカルス形成に及ぼす影響

トマトでカルス形成が認められなかったのは、糖飢餓高温前培養がカルス形成へのスイッチの役割を果たしていないからではないかと考え、前培養の段階で様々な刺激を与え、カルス形成を試みた。その中で、青色光処理、38℃ 処理などでナスのカルス形成促進効果が認められた。しかし、トマトはカルス形成しなかった。今後は、更なる刺激、物質の検証と、効果の認められた刺激と物質を組み合わせた実験を行っていく予定である。

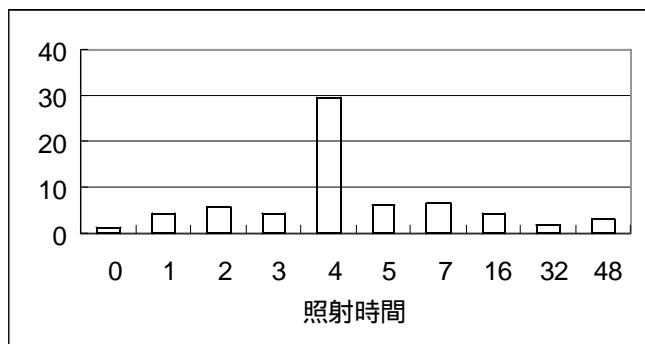


図 3 . 青色光がナス花粉のカルス形成に及ぼす影響

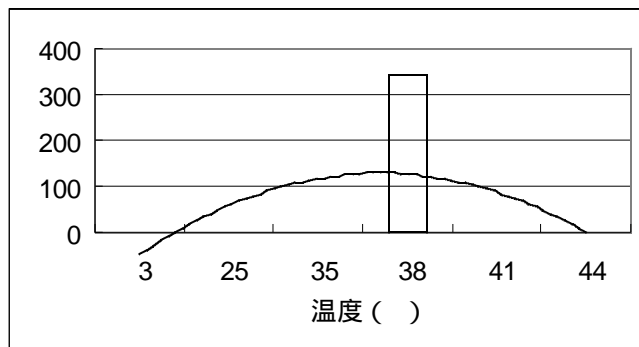


図 4 . 温度条件がナス花粉のカルス形成に及ぼす影響

形成されたカルスは、ホルモン添加の MS 培地に植え付けて不定芽を形成させた。発根後は順化をさせ、倍数性の確認を行う予定である。

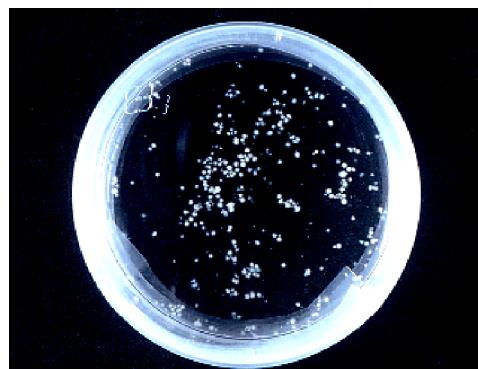


写真 1 . ナス花粉培養から得られたカルス



写真 2 . ナス花粉由来カルスから得られた不定芽

#### 4 . おわりに

貴重な研修機会を与えていただいた文部科学省、岡山県教育委員会、所属校の校長はじめ諸先生方に感謝致します。また、研修中に懇切丁寧な御指導を頂いた、岡山大学農学部作物繁殖学研究室教授榎田正治博士、助教授吉田裕一博士、講師村上賢治博士、並びに本研究室専攻生諸氏に御礼申し上げます。

