

マメ科木本植物におけるカルス形成

九州大学農学部 出口 美和・玉泉幸一郎
矢幡 久

1. はじめに

組織培養技術の利用目的は様々であり、中でもカルス経由の植物体再生系は、細胞選抜・細胞融合の技術を生かした品種改良に発展する可能性をもつ培養系である。窒素固定菌の共生するマメ科の植物は、このような培養系が確立され、細胞融合の材料として用いることが出来れば、他樹種との雑種に窒素固定菌を与えられる可能性があり、有用な植物群であると考えられる。そこで本研究では、このような将来の目標の第一歩として、マメ科木本植物のカルス形成の難易について検定を行った。さらに、検索の結果、特に成長の良好であったニセアカシアについて、培地、ホルモンの検索を行った。

2. 材料と方法

(1) マメ科木本植物のカルス形成

用いた樹種は、ヤマハギ、クズ、イヌエンジュ、ギンネム、ニセアカシア、ネムノキ、モリシマアカシア、ジャケツイバラ、イタチハギ、フジ、アカシア sp. の11樹種で、外植体は全て九州大学農学部構内に成育する成木の当年枝から採取した。これらの材料は、小枝・葉を落とし、70%エタノールを噴霧して殺菌し、クリーンベンチ内に持ち込み、エタノールが蒸発してからメスで外皮をはがし、内皮・木部を含めて、形成層を約1cmの長さで切って置床した。カルス誘導培地は、Murashige - Skoog (MS) 培地を基礎培地とし、シヨ糖20g/ℓ、寒天8g/ℓを加え、2, 4-ジクロロフェノキシ酢酸(2, 4-D)を0.1, 0.5, 1.0, 2.0mg/ℓ添加し、pH5.7に調整後、加圧殺菌したものを用いた。置床は1990年8月15~24日に行い、置床本数は各樹種とも2, 4-D濃度別に25本ずつとした。培養条件は、25℃で明期8時間、暗期16時間とした。

(2) ニセアカシアのカルス形成

材料のニセアカシアは、九州大学農学部構内に生育する当年生萌芽枝から採取し、(1)と同様の処理を行い、

1991年8月21日に置床した。カルス誘導の基本培地は、MS培地、Woody Plant Medium (WPM), B5培地の3種類で、それぞれにシヨ糖20g/ℓ, gelrite2.4g/ℓを加えた。植物ホルモンは、2, 4-D, 6-ベンジルアミノプリン (BAP), 3-インドール酢酸 (IAA), 1-ナフタレン酢酸 (NAA) の4種類で、表-2の8種類の組み合わせを用いた。置床本数は、MS-5, 6, WPM, B5では25本ずつ、その他は20本ずつとした。培養条件は、25℃で明期16時間、暗期8時間とした。

3. 結果と考察

(1) マメ科木本植物のカルス形成

培養約1カ月後のカルス形成率、カルス平均重量をそれぞれ表-1, 図-1に示した。ヤマハギ・クズを除く9樹種でカルス形成がみられた(表-1)。カルス重量は、ニセアカシアが最大で、アカシア sp. が最も小さかった(図-1)。ニセアカシアは、2, 4-D濃度0.5mg/ℓ以上で成長が良好で、透明感のある白色カルスが形成された。ギンネムは、ニセアカシアの次に成長は良好だったが、ほとんどが置床後すぐ褐変し始め、しかも汚染率が93%と高かった。イヌエンジュは、0.1mg/ℓでは外植体上に緑色カルスができて、0.5mg/ℓ以上では外植体と培地の接触部分に透明感のある白色カルスが形成された。イタチハギは、2, 4-D濃度が高くなるとともにカルスの成長がよくなり、ジャケツイバラではその逆の傾向がみられた。フジは、0.1, 0.5, 1.0mg/ℓではカルスの形成量が多くなったが、枯死率はアカシア sp. に次いで21%と高かった。成長の悪いネムノキ、モリシマアカシア、アカシア sp. は、外植体上にわずかにカルスができたのみであった。

全体的にはいずれの樹種においても、2, 4-D濃度が低いと緑色、高くなると白色カルスになるという傾向がみられた。

(2) ニセアカシアのカルス形成

ニセアカシアの培地・ホルモン検索では、カルス形成はいずれにおいても高率で、培地・ホルモン間に差

はみられなかった(表-2)。カルスはMS-2では緑色で、MS-5とMS-6では緑色部分と透明感のある白色カルスが混ざっており、WPM, B5培地を使ったものでは、外植体上が緑色で、その周囲は白色カルスであった。その他は全て透明感のある白色カルスを形成した。培養5週間後のカルス平均重量を図-2に示した。カルス成長は、MS-1,3,4で良好で、それに比べてBAPの添加されているものは悪かった。培地間ではカルスの成長差はみられなかったが、WPM, B5培地では、カルス形成と同時に外植体上のカルス付近から不定根の分化がみられ、B5培地では、その不定根の近くから1個体だけ不定芽の分化も見られた(表-2)。この不定根や不定芽がカルス由来か、外植体由来のものか確認できていないが、器官分化の面でWPM, B5培地のほうがMS培地より適しているとも考えられる。

以上のことから、ニセアカシアのカルス形成は培地・

ホルモンに関係なく高率で起こり、カルス成長量は培地による差はなく、ホルモンでは2,4-D単独またはIAAとNAAの組み合わせなど、BAPを添加しないもので良いと言っている。

4. おわりに

ニセアカシアは¹⁾により胚軸・上胚軸由来のカルスからの不安定芽の分化が報告されており、また今回の検索から他のマメ科木本植物よりカルスの成長が著しくよいことが明らかになった。今後、ニセアカシアを中心に、器官分化、植物体再生を確実にすることで、カルス経由の培養系の確立が期待される。

引用文献

- (1) 邇 徳本・須藤昭二・玉泉幸一郎：第100回日林論，515～516，1989

表-1 培養1カ月後のカルス形成率(%)

| 樹種 | カルス形成 | 枯死 | 汚染 |
|----------|-------|-----|----|
| ヤマハギ | 0 | 100 | 0 |
| クズ | 0 | 100 | 0 |
| イヌエンジュ | 62 | 18 | 20 |
| ギンネム | 7 | 0 | 93 |
| ニセアカシア | 50 | 0 | 50 |
| ネムノキ | 66 | 0 | 34 |
| モリシマアカシア | 44 | 2 | 54 |
| ジャケツイバラ | 63 | 4 | 33 |
| イタチハギ | 56 | 0 | 44 |
| フジ | 43 | 21 | 36 |
| アカシア sp. | 45 | 37 | 18 |

表-2 ニセアカシアカルス形成率(%)

| 培地 | ホルモン | カルス形成 | 枯死 | 汚染 | 不定根 | 不定芽 |
|----------|----------------|-------|----|----|--------|-------|
| MS(MS-1) | 2,4-D | 80 | 0 | 20 | 0 | 0 |
| (MS-2) | 2,4-D+BAP | 80 | 5 | 15 | 0 | 0 |
| (MS-3) | 2,4-D+IAA | 90 | 0 | 10 | 0 | 0 |
| (MS-4) | 2,4-D+NAA | 80 | 0 | 20 | 0 | 0 |
| (MS-5) | 2,4-D+NAA+BAP | 92 | 0 | 8 | 0 | 0 |
| (MS-6) | 2,4-D+NAA+BAP* | 96 | 0 | 4 | 0 | 0 |
| WPM | 2,4-D | 88 | 4 | 8 | 0.83** | 0 |
| B5 | 2,4-D | 96 | 0 | 4 | 18.2** | 4.5** |

* 濃度0.1mg/l, それ以外のホルモンはすべて1.0mg/l

** カルスを形成した個体数に対する分化率(%)

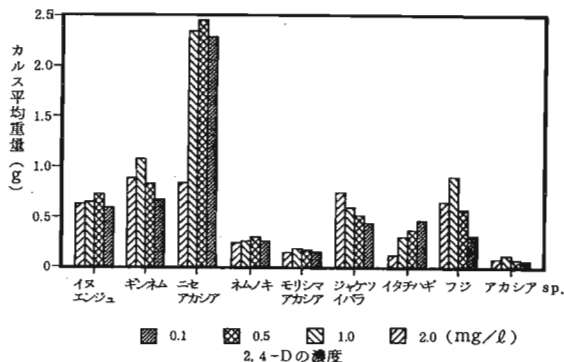


図-1 培養1カ月後のカルス平均重量

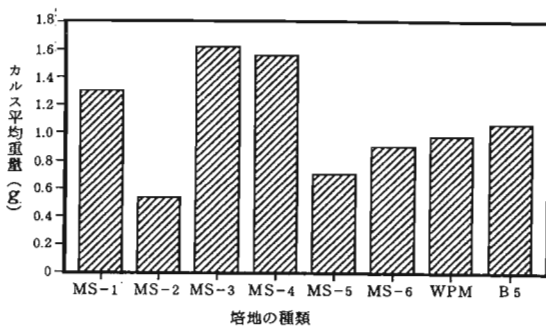


図-2 ニセアカシア培地・ホルモン検索カルス平均重量