

(講演要旨)

オオクサキビ種子からのカルス形成と植物体再分化 - 培地組成について

黒田 秧 (四国農試)

Callus induction and plant regeneration from seed of Fall Panicum,
Panicum dichotomiflorum Michx. : Composition of media
 S. Kuroda (Shikoku Nat. Agr. Exp. Stn)

パニカム属グループのオオクサキビ (*Panicum dichotomiflorum* Michx.) は、高度な耐湿性を有し、多湿転換畑に適する暖地型草種の一つとして有望視されている。また、生理的には、C₄ 種に属し、光合成能力が高く、乾物生産量が大きい特徴がある。一方、本草種の育種による改良はこれまでほとんどなされておらず、暖地型の優良草種として、一層の飼料的価値の向上が期待されている。そこで、本草種のバイオ育種を展開する上で重要となる細胞培養系の確立を図ることを目的に、種子からのカルス形成(脱分化)条件と植物体再分化条件について、培地組成を中心に検討したので、その概要を報告する。

オオクサキビは大分系を供試し、脱穀した種子を 70%エタノール 20秒、5%次亜塩素酸ナトリウム溶液 2分で殺菌した。播種は、3種の基本培地と各種、各濃度の糖、天然抽出物、植物ホルモンを添加した固形培地 (pH 5.8) に行い、26℃の暗黒下で2ヵ月間培養し、カルス形成状態を調べた。次に、50個の種子粒に由来するそれぞれのカルスを再分化培地に移して、3週間後に再分化状態を調査した。

その結果、再分化率からみた脱分化条件は、基本培地としてN6培地が、MS、B5培地よりも優れる傾向が認められた(表1)。糖はSucrose 30g/lおよび Glucose 60g/lが良く、カゼイン加水分解物(C.H.) 2g および酵母抽出物 4gの添加の場合に再分化率が向上した。しかし、ラクトアルブミンは脱分化を促進したが再分化を抑制した(表2)。脱分化のための2,4-D濃度は、2mgと4mg/lでカルス形成能が高いが、再分化率は 8mg/lで高まる傾向にあった(表3)。培地を固化するための固形物の比較では、Agarよりも Bacto-Agarの方が優れていた(表4)。一方、脱分化カルスを再分化させるための再分化条件は、サイトカイニンではカイネチン(KIN) 2mg、ベンジルアデニン(BA) 1~2mg、ゼアチン(Zea) 4mg/lに効果が認められた(表5)。添加糖では、Sucroseの場合、10g/lが最も良く、高濃度添加は再分化を著しく阻害した(表6)。

以上の結果より、オオクサキビ種子の脱分化培地としてN6基本培地+Sucrose 30g+C.H 2g+2,4-D 8mg+Bacto-Agar 7g/l, pH 5.8が選定され、再分化培地としては、N6基本培地+Sucrose 10g+KIN 2mg またはBA 2mg+Agar 7g/l, pH 5.8 が選定された。

表1 基本培地の種類がオオクサキビ種子の脱分化・再分化におよぼす影響

基本培地 ¹⁾	カルス形成	再分化率 ²⁾
N6	++	10 %
MS	+++	0
B5	++	2

1) 添加成分: Sucrose 30g+C.H 2g+2,4-D 2mg+Agar 7g/l

2) 供試 50カルス当たりの再分化カルスの割合
 再分化培地: N6+Sucrose 30g+Agar 7g/l

表3 2,4-D濃度が脱分化・再分化におよぼす影響

2,4-D mg/l	カルス形成	再分化率
0	—	—
0.5	±	0 %
1	+	4
2	++	4
4	++	14
8	+	52
12	±	6

脱分化培地: N6+Sucrose 30g +C.H 2g+Agar 7g/l

再分化培地: N6+Sucrose 10g +Agar 7g/l

表2 糖、天然抽出物の種類と濃度が脱分化、再分化におよぼす影響

添加成分 g/l	カルス形成	再分化率
Sucrose 0 + C.H 2	+	4 %
" 20 + "	++	4
" 30 + "	++	24
" 50 + "	+	12
" 80 + "	+	4
Sucrose 30 + C.H 0	++	4
" + " 4	+++	4
" + East Ext. 2	++	2
" + " 4	+++	16
" + Lactalb. 2	+++	0
" + " 4	++++	0
" + Coco.Milk 10%	+++	6
Glucose 15 + C.H 2	+	20
" 30 + "	++	12
" 60 + "	+	38
" 90 + "	-	0
Maltose 30 + C.H 2	++	8
Mannose 30 + "	-	0
Fructose 30 + "	++	12

脱分化培地 : N6 + 2,4-D 2mg + Agar 7g/l

再分化培地 : N6 + Sucrose 10g + Agar 7g/l

表4 培地固形物が脱分化・再分化におよぼす影響

固形物 g/l	カルス形成	再分化率
Agar 7	++	15 %
Gelrite 2.5	+++	0
Bacto-Agar 7	+~++	40

脱分化培地 : N6+Sucrose 30g+2,4-D 2mg+C.H 2g/l

再分化培地 : N6+Sucrose 10g+Agar 7g/l

表5 植物体再分化におよぼすサイトカイニンの添加効果

サイトカイニン mg/l	再分化率
KIN 0	0 %
1	8
2	15
4	2
BA 1	15
2	22
4	0
Zea 1	10
2	4
4	15
2ip 1	10
2	5
4	0
4PU 1	0
2	0
4	0

脱分化培地 : 表4と同じ

再分化培地 : N6+Sucrose 30g +Agar 7g/l

表6 再分化培地の Sucrose 濃度と再分化率との関係

Sucrose g/l	再分化率
0	17 %
10	25
20	2
30	0
40	0

脱分化培地 : 表4と同じ

再分化培地 : N6 + Agar 7g/l