

不定胚培養系によるワサビのクーロン増殖

春木和久、山田員人

摘要

ワサビにおける不定胚形成、不定胚の増殖、不定胚からの植物体再生について検討した。

1. 種子からの不定胚形成

1) 不定胚は未熟種子の子葉切片及び未熟胚から誘導することができた。不定胚は、ホルモンフリーのワサビ用改変 MS 培地 (MS 培地の NH_4NO_3 と KNO_3 の濃度を $1/2$ にしたものにしょ糖 20g/L を添加し、 2g/L ジェランガムで固化した培地) で高頻度に発生した。また、BA と 2,4-D を添加した培地ではカルスが発生した。

2) 形成された不定胚をホルモンフリーのワサビ用改変 MS 培地に移植したところ、一部の不定胚から植物体が再生した。また、多くの不定胚ではその表面で二次胚形成がみられた。

2. 薬からの不定胚形成

1) 不定胚形成は、 $0.1\text{mg/LNAA} + 0.1\text{mg/L2,4-D}$ 、あるいは $0.1\text{mg/LNAA} + 0.1\text{mg/L2,4-D} + 0.02\text{mg/LBA}$ を添加した改変 NITSCH 培地 (NITSCH 多量要素+B5 微量要素+MSFe+NITSCH ビタミン+ $800\text{mg/L L-グルタミン} + 100\text{mg/L L-セリン} + 100\text{g/L}$ しょ糖を 0.8% 寒天で固化したもの) でみられた。その場合、不定胚形成には 30°C で 2?3 日間の高温処理が必要であった。不定胚形成に適した薬のステージは、花卉長/薬長の値が $1.0?2.0$ のものであった。

2) 形成された不定胚をホルモンフリー改変 MS 培地に移植したところ、約 20% の不定胚が植物体に再生した。再生した個体は草勢が弱かった。染色体数を調査したところいずれの個体も二倍体 ($2n=28$) であった。

3. 不定胚の増殖

1) 不定胚の二次胚形成を利用した増殖が可能となった。不定胚は、ワサビ用改変 MS 培地を 50mL 入れた 100mL 三角フラスコを用い、サンキャップシートで蓋をして液体振とう培養をすると高率で増殖することが明らかとなった。また、培地の窒素成分の代り 5mM グルタミンと $10\text{mMNH}_4\text{NO}_3$ を添加すると増殖率が向上した。

4. 植物体再生

1) 不定胚あるいは二次胚形成によって得られた不定胚の塊からの植物体再生率は、ABA を添加することによって 10% 前後になった。不定胚形成を大量増殖に利用するためにはさらに再生率を向上させる必要がある。

2) 不定胚あるいは試験管内で分割したシュートから得られた個体は実生個体に比べて胚芽数が多かった。また、実生個体では葉柄の色に変異がみられたが、不定胚から得られた個体では色の変異、形態的な変異はみられなかった。