

## シクラメンの不定胚からの植物体再生

田中恵子・荒井 滋

Plant Regeneration from Somatic Embryos of *Cyclamen persicum* L.

Keiko TANAKA and Shigeru ARAI

Key words : cyclamen, embryogenic callus, somatic embryo

本県の主要鉢花であるシクラメンは種子により繁殖が行われているが、自殖弱勢が著しいため遺伝的に雑種性が強く、そのために形質のばらつきが大きいので、市場で問題となっている。一方、F<sub>1</sub>品種も発売されているが、前述の理由で親が完全に固定されておらず、種子が高価であるという欠点がある。それゆえ、優良な母本と同じ形質を持つ苗の大量増殖に、組織培養技術の利用が試みられてきた。その中でも、不定胚を用いた培養法は、増殖率が良く正常個体を得やすいため、注目を集めている。シクラメンの不定胚誘導と植物体再生に関する報告は、葉身<sup>1)</sup>と根<sup>2)</sup>の組織を用いたものがあるが、本県での技術の確立と効率を高めることを目的として試験を行った。

無菌播種した品種「シルビア」の1年生株の葉身、葉柄および根を供試した。70%エタノールに30秒間、有効塩素5%の次亜塩素酸ナトリウム溶液(アンチホルミン)に5分間浸し、滅菌水で3回水洗してから葉身は6mm角、葉柄は6mm長、根は5mm長に切った。アンチホルミン処理は、カルスの形態を変えて、不定胚形成能のあるembryogenicなカルスの誘導を目的に行った。そして、2,4-D 1.0mg/l, BA 0.1mg/lを含むMS培地(ゼランガム0.2%, pH5.6)を基本培地としてショ糖を3, 5, 7, 9および11%加えた培地に組織片を置床した。25°C, 暗黒下で40日間培養後、カルス形成を調査した。葉身のショ糖5, 11%, 葉柄のショ糖9, 11%および根のショ糖11%区で、3.7から26.7%の組織片からカルス形成が見られ、その他の試験区ではカルス形成は見られなかった。葉身と葉柄からのカルスは硬く、friableなカルス(さわるとすぐくずれる粒状のカルス)は根からのカルスだけだった。そのままの培地でさらに3カ月おいた後、根のカルスすべて(3片)から不定胚が分化した(第1図)、あわせて41個となった。

次に、カルス形成率を高めるため、エタノール処理は行わず、アンチホルミン濃度を1/5の有効塩素1%に下げて0から15分間処理をし、水洗した。葉身は6mm角、葉柄と根は3mm長に切り、基本培地にショ糖5~11%を加えた培地に置床し、培養した。40日後のカルス形成率は、第1表および第2表のとおりであった。friableなカルスを形成したのは、根のアンチホルミン無処理の3区と5分間処理のショ糖濃度5%区だけだった。形成したカルスの一部を取り、カルス形成時と同じショ糖濃度であるホルモンフリー培地に置床した。30日後に不定胚形成数を調査すると、根のfriableなカルスのうち29.7%から不定胚が形成されていた。

したがって、根の組織を材料としてアンチホルミン処理は行わず、11%とショ糖濃度が高い培地でfriableなカルスを形成させ、その後ホルモンフリー培地に置床すれば、培養開始から70日で不定胚が得られることがわかった。また、5および10分間のアンチホルミン処理はカルス形成を抑制したが、15分間処理すると葉身および葉柄のカルス形成率が高まった。しかし、friableなカルスは形成されなかった。

一方、形成されたembryogenicなカルスはショ糖濃度5%の基本培地で維持・増殖できた。

前半の試験で形成した不定胚41個を、ショ糖濃度3%のホルモンフリー培地に置床した。移植30日目に芽と根の両方が伸長したのは13個(31.7%)だった。これをショ糖濃度3%でホルモンフリーの1/3MS培地に置床すると、4株(30.8%)が正常な生育を示した。後半の試験で形成した不定胚238個を、同様のホルモンフリー培地に移植すると、30日目に芽と根の両方が伸長したのは44個(18.5%)だった(第2表)。これを1/3MS培地に置床すると、21株(47.7%)が正常な生育を示した。

1) 島田多喜子・大谷基泰. 1989. 園学要旨 平元春: 574.

2) 大橋一夫・和久井隆・米内貞夫. 1991. 園学雑. 60(別1): 444-445.

今回記述した以外にも同様の条件で培養を行ったが、時によりカルス形成率やカルスの形態にかなりの違いがあった。材料に用いた株の違いがひとつの原因と考えられるが、再現性のある培養条件を見つける必要がある。また、根だけでなく葉身や葉柄の組織からも不定胚を形成させて効率を高めたい。さらに、不定胚からの植物体再生率を高め、再生した植物体の均一性の検討も行う必要がある。



第1図 friable なカルスからの不定胚形成

Fig. 1. Formation of somatic embryos from friable callus.

第1表 アンチホルミン処理とショ糖濃度が葉身と葉柄のカルス形成に及ぼす影響<sup>1)</sup>

Table 1. Effect of antiformin treatment and sucrose concentration on callus formation from leaf and petiole.

培養部位	アンチホルミン処理時間(分)	ショ糖濃度(%)	置床数	カルス形成数(形成率%)	カルスの大きさ <sup>2)</sup>
葉身	0	5	18	16(88.9)	+++
		7	18	8(44.4)	+++
		9	18	8(44.4)	+++
	5	11	18	6(33.3)	++
		5	18	4(22.2)	+
		7	18	3(16.7)	++
	10	9	18	3(16.7)	+
		11	18	0	-
		5	16	0	-
		7	16	10(62.5)	++
		9	16	0	-
		11	16	0	-
	15	7	16	5(31.3)	+++
		9	16	4(25.0)	+
		11	16	12(75.0)	+
葉柄	0	9	10	10(100.0)	+++
		11	10	10(100.0)	+++
		5	7	0	-
	5	7	8	1(12.5)	+
		9	8	0	-
		11	7	0	-
	10	5	9	0	-
		7	9	0	-
		9	9	0	-
		11	9	0	-
		9	10	10(100.0)	+++
		11	10	10(100.0)	+++

<sup>1)</sup> カルス形成培地はMS, 2,4-D 1.0mg/l, BA0.1mg/l, ショ糖5~11%, カルス形成は置床40日後調査

<sup>2)</sup> +~+++ : 小~大, - : 形成せず

第2表 アンチホルミン処理とショ糖濃度が根のカルス形成に及ぼす影響およびカルスからの不定胚形成<sup>1)</sup>

Table 2. Effect of antiformin treatment and sucrose concentration on callus formation from root, and induction of somatic embryos.

アンチホルミン処理時間(分)	ショ糖濃度(%)	置床数	カルス形成数(形成率%)	カルスの大きさ <sup>2)</sup>	不定胚形成カルス数(形成率%)	不定胚数	不定胚発芽発根数(率%)
0	7	20	20(100.0)	+++	4(20.0)	8	3(37.5)
	9	20	15(75.0)	++	4(26.7)	46	11(23.9)
	11	45	38(84.4)	+++	14(36.8)	184	30(16.3)
5	5	25	1(4.0)	+	0		
	7	45	3(6.7)	+			
	9	45	0	-			
	11	45	0	-			
10	7	25	0	-			
	9	25	0	-			
	11	45	0	-			

<sup>1)</sup> カルス形成培地はMS, 2,4-D 1.0mg/l, BA0.1mg/l, ショ糖5~11%, 不定胚形成培地はMS, ショ糖5~11%, 不定胚発芽発根培地は1/3MS, ショ糖3%

カルス形成は置床40日後, 不定胚形成は移植30日後, 発芽発根はさらに30日後調査

<sup>2)</sup> +~+++ : 小~大, - : 形成せず