

## 植物生長調節物質を用いないニンジンの不定胚形成

古川 一・松原千尋・重松典宏

大和紡績株式会社播磨研究所  
(〒675-01 兵庫県加古郡播磨町古宮 877)

(1989年2月9日受付)

(1989年3月17日受理)

ニンジン (*Daucus carota* L.) は, Steward らの報告<sup>1)</sup>以来, 不定胚形成のモデルとして用いられ, 多くの報告<sup>2)</sup>がなされている。これらの報告のうちほとんどのものは, 植物生長調節物質を用いて不定胚を形成する方法をとっているが, 植物生長調節物質は多くの生理作用を誘発させるため, 不定胚形成の機構解明を目的とする際には要因が複雑となり, 機構解明は困難となる。そこで, 植物生長調節物質を用いることなく不定胚を形成する方法が求められている。この面では, 嵯峨らが実生の茎頂を含む部位を高浸透圧条件の培地で培養する方法<sup>3)</sup>を, 清末らが種子を次亜塩素酸で処理する方法<sup>4)</sup>を報告している。また, Smith and Krikorian は, 胚が発芽した後の分果を培養し, 不定胚を形成したと報告<sup>5)</sup>している。

この報告では, ニンジンの無菌植物において, 植物生長調節物質などの処理を用いることなく, 体細胞から不定胚が形成することを明らかにし, 不定胚形成の要因について考察した。

供試材料には西洋系の“時無五寸”および“新黒田五寸”と東洋系の“本紅金時”を用いた。種子の滅菌は70%エチルアルコールに1分間浸漬し, ついで, 有効塩素1%の次亜塩素酸ナトリウムに5分間浸漬することによって行った。MS 修正培地 (Murashige and Skoog 培地<sup>6)</sup>, ピオチン 0.05 mg/l, 葉酸 0.5 mg/l, ショ糖 20 g/l, 寒天 8 g/l, pH 5.7) に滅菌した種子をは種し, 無菌的に発芽させた。ついで, は種後 30 日目の無菌植物を, ハイポネックス® (ハイポネックスジャパン社, 6.5-6-19) 3 g/l, ショ糖 20 g/l, 寒天 8 g/l, pH 5.7 の培地 (以下 H 培地) に移植して育成した。また, “時無五寸”および“新黒田五寸”の一部は, 移植することなく, 発芽させた培地でそのまま育成した。すべての実験

をとおして, 培養条件は, 25°C, 4,000 lux, 16 時間照明とした。

“本紅金時”を除く 2 品種において, H 培地への移植後 10 日目 (は種後 40 日目) ごろから, 幼根の先端部においてカルス形成, 不定胚および再分化した植物を認めることができ (Fig. 1), 移植後 30 日目 (は種後 60 日目) には, 無菌植物からの植物再分化率が 4%前後となった (Table 1)。このように植物を再分化した無菌植物は少なかったが, 予備実験や Table 1 に示した時無五寸の 3 回の反復実験においても, 同様な植物再分化を認めたので, 再現性はあると考えられる。

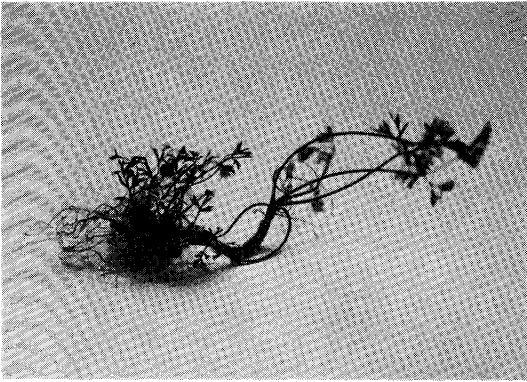
“本紅金時”からは植物が再分化せず, 2,4-D を用いた予備実験においても不定胚を形成しなかった。それで, “本紅金時”は不定胚形成能の低い品種であると推定した。

再分化した植物は, shoot と根を有しており, 実生とよく似た形態を示した (Fig. 2)。また, 植物を再分化した無菌植物のうち 2 個体 (時無五寸 1 個体, 新黒田五寸 1 個体) では, 再分化した植物の胚軸から, カルスを形成することなく, 二次的に多数の不定胚が形成した (Fig. 3)。これらのことと植物が再分化した部位付近に不定胚を認めたことから, 再分化した植物は不定胚由来であると考えられる。

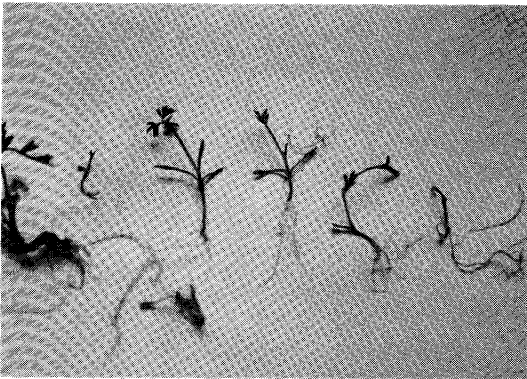
ニンジンの品種は, ある程度農業形質がそろうように育種されているが, 不定胚形成能についてはまったくセレクションを受けていない。したがって, 同一品種内においても不定胚形成能に差異を生じる可能性は大きいと推定できる。それで, 本研究において植物を再分化した無菌植物は不定胚形成能の高い個体であり, 品種内に不定胚形成能の高い個体数が絶対的に少ないため, 植物再分化率が低くなったと推察することも可能であろう。

**Table 1.** Number of seedlings with regenerated plant on the medium without plant growth regulators (after 60 days of culture).

Cultivar	No. of seedlings (A)	No. of seedlings with regenerated plants (B)	Frequency (B/A×100)
"Tokinashi go sun"	82	3	3.6
	24	3	12.5
	43	3	6.9
	103	5	4.8
"Shin kuroda go sun"	82	4	4.9
"Honbeni kintoki"	80	0	0
	54	0	0

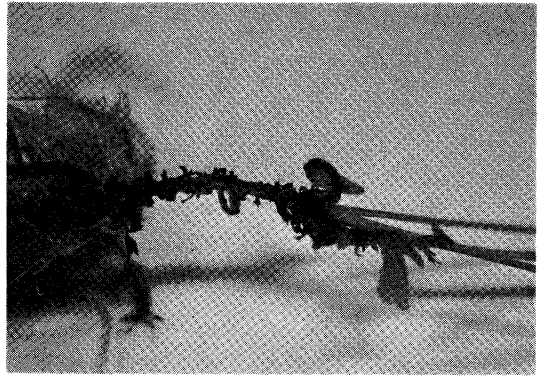


**Fig. 1.** Plant regeneration from the radicle of carrot cultured on the medium without plant growth regulators after 60 days of culture.



**Fig. 2.** Regenerated plants from the radicle of carrot after 60 days of culture.

発芽させた培地でそのまま育成した“時無五寸”および“新黒田五寸”の各100個体の無菌植物では、は種後60日目に、それぞれ2個体で植物再分化を認めた。したがって、H培地へ移植する際の影響で無菌植物が不定胚を形成したとはいえないであろう。



**Fig. 3.** Somatic embryos from the hypocotyl of the regenerated plant.

嵯峨らおよび清末らは、ともにストレスが不定胚形成に重要な働きをすると推察している。また、Wetherell<sup>7)</sup>は、2,4-Dを用いる実験系ではあるが、浸透圧のストレスによってニンジンの不定胚形成が高まることを報告している。本研究では、滅菌に用いた有効塩素1%次亜塩素酸ナトリウムの5分間浸漬は、清末らが用いた有効塩素10%次亜塩素酸ナトリウムの15~60分処理とくらべると、1/10の濃度、1/3~1/12の処理時間である。また、培地に添加したショ糖0.058M(20g/l)は、嵯峨らが有効とした0.5Mとくらべると1/8以下の濃度である。このことから、われわれの実験系では、次亜塩素酸ナトリウム処理や培地の浸透圧の各ストレスによって、不定胚の形成が誘導されたとは考えにくい。

最近、浅平は*in vitro*の環境は高湿度、低CO<sub>2</sub>濃度条件であり、これらの環境条件が植物にvitrificationやCO<sub>2</sub>飢餓をもたらすことを報告<sup>8)</sup>している。このような要因もニンジンの組織にストレスとして働き不定胚形成を誘発する可能性もある。今後はニンジンの不定胚形成の要因についてさらに検討を進めていきたい。

## 文 献

- 1) Steward, F. C., M. O. Mapes, K. Mears, 1958. Am. J. Bot., **45**: 705-708.
- 2) Tisserat, B., E. B. Esan, T. Murashige, 1979. Hort. Rev., **1**: 1-78.
- 3) 清末知宏, 鎌田 博, 原田 容, 1987. 第10回植物組織培養シンポジウム講演要旨集, p. 164.
- 4) 嵯峨 均, 鎌田 博, 原田 宏, 1985. 第9回植物組織培養シンポジウム講演要旨集, p. 161.
- 5) Smith, D. L., A. D. Krikorian, 1988. Plant Sci., **58**: 103-110.
- 6) Murashige, T., F. Skoog, 1962. Physiol. Plant., **15**: 473-497.
- 7) Wetherell, D. F., 1984. Plant Cell Tissue Org. Cult., **3**: 221-227.
- 8) 浅平 端, 1988. 新花卉, 139: p. 9-15.

---

**Summary**

## Somatic Embryogenesis in Carrot without Plant Growth Regulators

Hajime FURUKAWA, Chihiro MATSUBARA and Norihiro SHIGEMATSU

*Daiwa Spinning. Co. Ltd., Harima Research Laboratory,  
877 Komiya, Harima, Kako, Hyogo 675-01, Japan*

Carrot seedlings were cultured on modified Murashige and Skoog medium without plant growth regulators. These seedlings were transferred to the medium containing 3 g/l Hyponex® (6.5-6-19), 20 g/l sucrose and 8 g/l agar. Somatic embryos and plantlets formed on radicles of two cultivars ("Tokinashi go sun" and "Shin kuroda go sun"). And secondary somatic embryogenesis also occurred directly in hypocotyls of regenerated plants.