

植物生長調節物質を含まない培地におけるニンジン分果からの不定胚形成能の品種間差異

古川 一・重松典宏

ダイワボウ クリエイト株式会社播磨研究所

(〒 675-01 兵庫県加古郡播磨町古宮 877)

(1991年1月21日受付)

(1991年5月7日受理)

受精胚由来の植物が発芽したあとのニンジン分果を植物生長調節物質を含まない Murashige and Skoog の培地で培養し、不定胚形成能について検討した。供試した 8 品種群 19 品種すべてについて不定胚形成を認めたが、その形成頻度は品種により異なっていた。長崎五寸群に属する 6 品種は 54% 以上の不定胚形成頻度を示し、特に“陽明五寸”は 62% 以上の高い頻度を示した。また、チャンテネー群に属する 5 品種は 20% 程度の不定胚形成頻度を示した。一方、東洋系ニンジンである金時群の 3 品種は、他の品種群とくらべて、4% 以下と低い不定胚形成頻度を示した。これらの結果からニンジン分果の不定胚形成能は品種あるいは品種群によって異なり、それは環境要因よりも、むしろ遺伝的要因によると考えた。

1. 緒 論

不定胚形成能に品種間差異があることは、ナス¹⁾、ヒマワリ²⁾、ワタ³⁾、コムギ⁴⁾、など多くの植物で認められており、キュウリではその遺伝様式も検討されている⁵⁾。一方、ニンジンは高い不定胚形成能を有することが知られているが、不定胚形成能の品種間差異についての報告はほとんどなされていない。これは 2, 4-D などの植物生長調節物質を用いた場合には、ニンジンの不定胚形成能のポテンシャルが高すぎるため、有意な差が出にくいことによると考えられる。

他方、ニンジンでは植物生長調節物質を用いずに不定胚を形成させることにより、植物生長調節物質によって多種の生理作用を誘導することなく、不定胚形成に関与する生理作用だけをピックアップさせて、不定胚形成機構を解明しようという試みがなされている⁶⁾。しかしながら、植物生長調節物質を用いないニンジンの不定胚形成能については、Smith and Krikorian によって、受精胚由来の植物が発芽したあとのニンジン分果（通常は種子とされる）から不定胚を形成した際、予備実験に供試した 5 品種では、不定胚形成能に品種間差異の認められなかったことが報告されているにすぎない⁷⁾。

そこで、不定胚形成機構の解明を最終的な目的とし、

Smith らの方法を用いて、植物生長調節物質を含まない培地におけるニンジン分果からの不定胚形成の品種間差異を明らかにし、その要因について検討した。

2. 材料および方法

本邦で栽培されている西洋系ニンジン 7 品種群および東洋系ニンジン 1 品種群から 19 品種を選び、それらの不定胚形成能を調査した。品種分類は、主に、勝又の総論⁸⁾に紹介された Babb の血統的分類によった。そして、勝又の品種分化⁹⁾に基づいて、Babb の分類に記載されていない“長崎五寸”から分化した品種群を長崎五寸群、また、東洋系ニンジンの“金時”から分化した品種群を金時群とした。

分果発芽培地および不定胚形成培地は、Murashige and Skoog 培地¹⁰⁾の無機塩類およびビタミン類にショ糖 20 g/l、寒天 8 g/l を加え、pH を 5.7 に調整したものをを用いた。培地はプラスチック製容器 (φ8 cm×5 cm) に 50 ml ずつ分注したのち、オートクレーブで 15 分間 (121°C, 1.2 気圧) 滅菌した。分果の滅菌は、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おこなった。こうして滅菌した分果は、無菌水で 3 回すすいだのち、分果発芽培地に置床して発芽させ、受

Table 1. Varietal difference in the embryogenic ability of mericarps among 8 carrot groups on a medium without plant growth regulators(after 30 days of culture).

Group	Cultivar	Frequency of embryo formation (%)
Scarlet Horn	MS san-sun	24
Oxheart	Tokinashi san-sun	22
Nagasaki go-sun	Kuroda go-sun	56
	Shinkuroda go-sun	54
	Natumaki beni go-sun	56
	Natumaki kinko go-sun	74
	Natumaki senko go-sun	60
	Youmei go-sun	72
	Chantenay	Early chantenay
Wase go-sun		22
Chantenay improved		12
Harumaki kinko go-sun		24
Inari go-sun		22
Long Orange	Kokubun senko ohnaga	42
Nantes	Red one	34
Imperator	Imperator	38
Kintoki	Honbeni kintoki	0
	Kintoki	2
	Nagabutori kintoki	2

Fifty mericarps were cultured in each cultivar.

Table 2. Effect of the duration of NaClO treatment on somatic embryo formation in carrot mericarps (after 30 days of culture).

Cultivar	Frequency of embryo formation (%)		
	Duration of NaClO treatment (min.)		
	1	5	25
Youmei go-sun	78	74	72
Inari go-sun	26	28	22
Honbeni kintoki	4	0	4

Fifty mericarps were cultured in each treatment.

精胚由来の植物が発芽したあとの分果だけを不定胚形成培地に置床 (5分果/容器) した。

また、次亜塩素酸ナトリウムによる浸漬時間と分果からの不定胚形成の関係を調べるため、Table 2 に示した3品種を用い、上述の滅菌法のうち次亜塩素酸ナトリウムへの浸漬時間を1、5および25分間とし、他は同様の方法で不定胚形成をおこなわせた。すべての実験をとおして、培養条件は25°C、16時間照明(3,000 lux)とした。

こうして不定胚形成培地に分果を置床したのち30日目に、1品種につき50個の分果を実体顕微鏡を用いて観察し、不定胚形成の有無を調査した。不定胚形成能は、

不定胚が形成した分果数を調査した全分果数(50)で除しそれをパーセントで示した値である不定胚形成頻度で示した。

3. 結果および考察

Table 1 にニンジン19品種の不定胚形成頻度を示した。“本紅金時”を除くすべての品種において、不定胚形成培地に分果を置床した14日目前後に、分果からの不定胚形成を確認した。これらの不定胚は、分果を置床した40日目前後には、植物にまで発育した。

長崎五寸群の6品種は54から74%と高い不定胚形成頻度を示した。ついで、ロング・オレンジ群の“国分

鮮紅大長”, インペレーター群の“インペレーター”およびナンテス群の“レッドワン”は30から40%程度の不定胚形成頻度を示した。スカーレット・ホーン群の“MS三寸”, オックス・ハート群の“時無三寸”およびチャンテネー群の5品種は, それぞれ20%程度の不定胚形成頻度を示した。一方, 東洋系ニンジンの金時群に属する3品種は2%程度の不定胚形成頻度であった。

Kiyosueらは, ニンジン分果を次亜塩素酸ナトリウムで浸漬処理すると, 不定胚形成頻度が高くなることを報告している¹¹⁾。したがって, 本研究において認められた不定胚形成頻度の差異も, 不定胚形成能そのものによる差異ではなく, 次亜塩素酸ナトリウムに対する感受性の差異による可能性があると考えられる。しかし, Table 2に示したように, 本研究で用いた次亜塩素酸ナトリウム浸漬処理時間程度では, 不定胚形成頻度に影響を与えないことが判明したため, この考えは否定した。なお, Kiyosueらが供試した“US春蒔五寸”はチャンテネー群の品種であり, その不定胚形成頻度は本研究で用いたチャンテネー群の品種とほぼ同じ10~20%程度と報告されている。

ブドウの多胚現象の頻度は, 栽培地の環境要因に影響されることが報告されている¹²⁾。したがって, 栽培地あるいは採種時期の環境要因によって, ニンジンの不定胚形成頻度にも差異の生じる可能性について考察する必要がある。

オックス・ハート群の“時無三寸”とロング・オレンジ群の“国分鮮紅大長”とは, 長野県で九月に採種されているが, 不定胚形成頻度は大きく異なっている。長崎五寸群の“陽明五寸”とチャンテネー群の“いなり五寸”とは, 京都府で六月に採種されているが, それぞれの不定胚形成頻度も大きく異なっている。また, チャンテネー群の“早生五寸”は北海道で九月に, チャンテネー群の“春蒔金港五寸”は長野県で八月に, それぞれ採種されているが, 同程度の不定胚形成頻度を示している。同様に, 長崎五寸の“夏まき紅五寸”は兵庫県で, 長崎五寸の“黒田五寸”は長崎県で, とともに六月に採種されているが, 同程度の不定胚形成頻度を示している。

さらに, Table 1に示した分果(1989年採種)と異なる採種年度に分果(1990年採種)の不定胚形成頻度は, “陽明五寸”62%, “いなり五寸”22%, “本紅金時”0と, Table 1に示した結果とくらべて, 大きな年次変動を示さなかった。

このように, 環境要因がさほど変わらないと考えられる同地域で採種されても, 品種によって不定胚形成頻度は異なっていた。また, 環境要因が異なると考えられる

他地域で採種されても, 同一品種群であるならば, 不定胚形成頻度は同程度であった。さらに, 同地域で採種された品種の頻度には, 大きな年次変動が認められなかった。これらの結果を考察すると, 環境要因は, ニンジン分果の不定胚形成頻度に大きく影響を与えることはないのかもしれない。しかし, 気象条件が不定胚形成頻度ほどの程度, 影響を与えるかは不明である。このため, 同一の環境下で栽培・採種したチャンテネー群, 長崎五寸群および金時群品種の不定胚形成頻度を調査し, 環境要因と不定胚形成頻度との関係を明らかにしなければならないであろう。

長崎五寸群, チャンテネー群および金時群に属する品種は, それぞれ“長崎五寸”, “チャンテネー”および“金時”の多くの特性を残して育種されているため, それぞれの品種の遺伝子を多く残しているであろう。それで長崎五寸群, チャンテネー群および金時群において不定胚形成頻度が大きく異なるのは, 環境要因があまり不定胚形成頻度に影響を与えないならば, これら品種群の遺伝的要因による可能性が高いと考えた。

本研究において“黒田五寸”を育種素材として用いている長崎五寸群の品種は, すべて高い不定胚形成頻度を示した。また, “夏蒔金港五寸”および“春蒔金港五寸”はチャンテネー群の八事系とともに交配親としているが, 黒田系をもう一方の交配親とする“夏蒔金港五寸”のほうが, “チャンテネー”をもう一方の交配親とする“春蒔金港五寸”より, 不定胚形成頻度は著しく高かった。それで“黒田五寸”には分果から不定胚形成がおこりやすいような遺伝的要因があることも可能である。しかし, これについては交雑などによるより詳細な実験結果から考察しなければならないであろう。

金時群を含む東洋系ニンジンは, 品種分化的にかなり早い時期に西洋系ニンジンと分化したことが報告されている¹³⁾。筆者らは植物生長調節物質を含まない培地においてニンジン実生を育成すると, 極めて低頻度ではあるが, 胚軸から不定胚が形成されることを報告した¹⁴⁾が, この際も“本紅金時”は不定胚を形成しなかった。さらに, 本研究でも金時群に属する品種は他の品種群とくらべて著しく低い不定胚形成頻度を示した。それで, 金時群は遺伝的要因により不定胚形成能が低い品種群であると推察した。

このように, 少なくともチャンテネー群, 長崎五寸群および金時群の間には, 不定胚形成能に遺伝的な差異がある可能性が高いと考えられる。環境要因については遺伝的要因よりも影響が小さいと思われるが, 具体的な実験例はない。したがって, 今後は環境要因が不定胚形成

に与える影響を明らかにするとともに、これらの実験系を用いて遺伝子レベルから不定胚形成機構解明の研究を進めていく予定である。

文 献

- 1) Gleddie, S., W. Keller, G. Setterfield, 1983. *Can. J. Bot.*, **61** : 656-666.
- 2) Espinasse, A., C. Lay, 1989. *Crop Sci.*, **29** : 201-205.
- 3) Trolinder, N. L., J. R. Goodin, 1987. *Plant Cell Rep.*, **6** : 231-234.
- 4) Mackinnon, C., G. Gunderson, M. W. Nabors, 1987. In *Vitro Cellular and Developmental Biol.*, **23** : 443-448.
- 5) Nadolska - Orczyk, A., S. Malepszy, 1989. *Theor. Appl. Genet.*, **78** : 836-840.
- 6) Kiyosue, T., H. Kamada, H. Harada, 1989. *Plant Tissue Cult. Lett.*, **6** : 162-164.
- 7) Smith, D. L., A. D. Krikorian, 1988. *Plant Sci.* **58** : 103-110.
- 8) 勝又広太郎, 1968. *農業および園芸*, **53** : 1371-1375.
- 9) 勝又広太郎, 1968. *農業および園芸*, **53** : 1225-1228.
- 10) Murashige, T., F. Skoog, 1962. *Physiol. Plant.*, **15** : 473-497.
- 11) Kiyosue, T., H. Kamada, H. Harada, 1989. *Plant Tissue Cult. Lett.*, **6** : 138-143.
- 12) Bouquet, A., 1980. *Vitis*, **19** : 134-150.
- 13) Small, E., 1978. *Can. J. Bot.*, **56** : 248-276.
- 14) 古川 一, 松原千尋, 重松典宏, 1989. *植物組織培養*, **6** : 92-94.

Summary

Varietal Difference in the Embryogenic Ability of Carrot Mericarps on a Medium without Plant Growth Regulators.

Hajime FURUKAWA and Norihiro SHIGEMATSU

*Daiwabo Create Co. Ltd., Harima Research Laboratory,
Harima, Kako, Hyogo 670-01, Japan*

Embryogenic ability was examined with 19 cultivars(8 groups) of carrot (*Daucus carota* L.). Carrot mericarps were cultured on Murashige and Skoog medium without plant growth regulators after removal of germinated zygotic embryos. Somatic embryo formation occurred on all cultivars. The Nagasaki go-sun group showed a high frequency of embryo formation ie. more than 54% and the Chantenay group showed a frequency of about 20%. On the other hand, the Kintoki group showed a frequency of less than 4%. These results suggest that the frequency of embryo formaton was influenced by the donor genotypes.