

研究ノート

ニンニクのソマクローナル変異

柳野利哉

ニンニク (*Allium sativum* L.) は鱗茎で繁殖する栄養繁殖性作物であり, 組織培養によるウイルスフリー株の育成や大量増殖が行われている。その際, ウイルス除去率や増殖率を高めるために, カルス培養の利用も提案されているが¹⁻³⁾, この方法による場合は変異の発生が問題となる。一方, ニンニクはほとんどの系統が種子不稔であり, 交雑育種が困難なことから, ソマクローナル変異の育種の利用もまた期待されている⁴⁾。このような相反する目的にカルス培養を用いるためには, 発生する変異の予測や制御が重要となる。ここでは, カルス培養で得られたニンニクの再分化個体について, ソマクローナル変異を調査した結果について報告する。

ニンニク品種「福地ホワイト」のウイルスフリー株から葉原基 2, 3 枚を付けた茎頂を摘出し, 2, 4-D 0.4~0.5 mg/l のみ, または 2, 4-D 0.4 mg/l と *p*-chlorophenoxyacetic acid (*p*-CPA) 2 mg/l を添加した AZ 培地⁵⁾に置床してカルスを誘導した。誘導されたカルスを 2, 4-D 0.5 mg/l を添加した AZ 培地で継代培養し, カルス誘導開始から 24 週間目 (継代 2 回), および 49 週間目 (継代 3 回) に, NAA 0.02 mg/l と BA 0.5~2 mg/l を添加した LS 培地⁶⁾に移植して再分化を図った。なお, 培養は全て, 20°C, 12 時間日長で行った。カルス誘導培地に置床された茎頂は最初は生育が緩慢であったが, 3 ヶ月目頃から白色でコンパクトなカルスが誘導され, さかんに増殖した。再分化培地にカルスを移植するとまず多数の根が分化し, 1 ヶ月目頃から茎葉の分化が認められた。移植したカルスのうち茎葉を再分化したカルスの割合は, 24 週間培養区が 100 個中 87 個 (87.0%) だったのに対し, 49 週間培養区は 416 個中 65 個 (15.6%) に低下していた。

再分化した茎葉をホルモンフリーの培地で発根させ, 順化した後, ポリポットに鉢上げした。ポットで生育中の個体から根端 2~4 本を採取して染色体数を調査した。多くの個体は $2n=16$ の 2 倍体であったが, $2n=32$ の 4 倍体も認められた (Fig. 1)。4 倍体の出現頻度は 24 週間培養区が 62 個体中 2 個体 (3.2%), 49 週間培養区が 55 個体中 2 個体 (3.6%) であり, 培養期間の長短による差は見られなかった。カルス中の 2 倍性細胞と 4 倍性細胞の比が, 発生頻度と分裂速度の関係で一定に保たれていることが推察される。なお同一個体の根端は全て同じ倍数性を示し, 混数体は見出されなかった。

再分化当代の個体を 1990 年の夏~秋にガラスハウスに移植し観察を続けた。可視的な変異体として, 葉緑素変異と考えられる斑入り個体が出現した (Fig. 2)。秋から冬には正常に見えても, 春から夏に新しく出てくる葉が斑入りとなる個体が多く, 斑入りの程度も個体によりかなり差があった。1991 年 5 月 27 日の時点で明らかに斑入りと認められた個体の割合は, 24 週間培養区が, 143 個体中 8 個体 (5.6%), 49 週間培養区が 71 個体中 25 個体 (35.2%) で, 培養期間が長くなるに従って顕著に増加した。

1991 年夏に再分化当代の鱗茎を収穫し, 秋に側球を当代の個体ごとに系統としてほ場に植付け, 1992 年夏

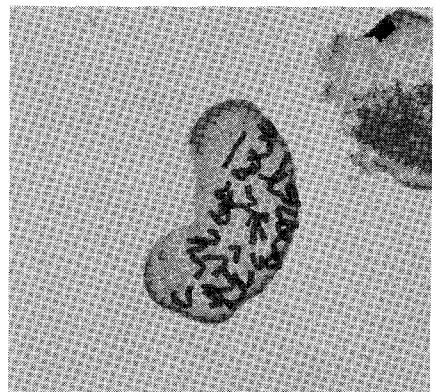


Fig. 1 Root-tip cell of a regenerant with tetraploid number of chromosomes ($2n=32$).

Toshiya YANAGINO

Somaclonal Variation in Garlic

青森県畑作園芸試験場

(〒033 青森県上北郡六戸町大落瀬柳沢 91)

Aomori Field Crops and Horticultural Experiment Station,
91, Yanagisawa, Inuotose, Rokunohe, Kamikita, Aomori,
033 Japan



Fig. 2 A regnerant with variegated leaves.

Table 1. Bulb characters of non-cultured plants and regnerants from calli cultured for 49 weeks.

Culture period (weeks)	No. of plants	Bulb weight (g)	No. of cloves per bulb
0	45	60.1± 9.64	5.6±1.17
49	31	57.5±11.10	5.5±1.34

± indicates standard deviation.

には再分化個体の栄養繁殖次代の鱗茎を収穫した。栄養繁殖3代の植付けの際に、49週間培養区の各系統から8~11 gの側球を1個ずつ取り出して、カルス培養を経ていない個体との形質比較に供試した。対照区としてウイルスフリーの8~11 gの側球を用意し、1992年10月2日に条間25 cm、株間15 cmでほ場に植付けた。1993年7月2日に鱗茎を収穫し、乾燥後、鱗茎重と側球数を調査した (Table 1)。鱗茎重、側球数とも、対照区においても環境による変動が大きく、この程度の試験規模では49週間培養区との間で平均値や分散の有意差は見出されなかった。

カルス培養をウイルスフリー株作出や大量増殖の目的で用いる場合、再分化率と変異発生率の両面から、培養期間を短く抑えるべきと考えられるが、本研究においては茎葉再分化率や斑入り個体の出現頻度から見て、24週間以下が望ましいと判断された。また、再分化個体の中から、斑入りを始めとする可視的な変異体を取り除くことが必要であるが、量的形質の変異についてはさほど問題とはならないと考えられた。

一方、ソマクローナル変異の育種的利用を図る場合は、培養期間を長くすることによって質的形質の変異体を得ることが期待できるが、鱗茎重や側球数についての改良は容易ではなく、相当の規模の系統選抜が必要となるものと思われた。

なお、本研究の一部は農林水産省、地域バイオテクノロジー研究開発促進事業の助成を受けて行われたものである。
(1993年9月24日受理)

文 献

- 1) 大沢勝次, 栗山尚志, 菅原祐幸, 1981, 野菜試験場報告 A, 9: 1-46.
- 2) Nagasawa, A., J. J. Finer, 1988. HortScience, 23 (6): 1068-1070.
- 3) 薛 惠民, 荒木 肇, 八鍬利郎, 1991, 植物組織培養, 8 (3): 166-170.
- 4) Novák, F. J., 1980. Z. Pflanzenzüchtg, 84: 250-260.
- 5) Abo El-Nil, M. M., 1977. Plant Science Letters, 9: 259-264.
- 6) Linsmaier, E. M., F. Skoog, 1965. Physiol. Plant., 18: 100-127.