

研究ノート

タマネギにおける根端組織由来カルス
からの植物体再分化

高儀雅俊*・豊井一徳**・一井眞比古**

タマネギ(*Allium cepa* L.)は、重要なネギ類蔬菜の一つとして、生産量が多い。タマネギの多くはF₁品種であり¹⁾、雄性不稔株を利用した種子生産により増殖が行われているが、種子よりも更に効率の高いF₁個体の大量増殖法の開発が望まれている^{2,3)}。

Allium 属植物では、ネギ⁴⁾やワケギ^{5,6,7)}及びニンニク⁸⁾等の植物でカルスを經由した再分化系がかなり確立されている。一方、タマネギでは、鱗葉、盤茎部からの再分化植物体の誘導^{2,3,9-11)}、プロトプラストからの球状胚の誘導¹²⁾、及びタマネギ以外の*Allium* 属植物とタマネギとの雑種からの再分化植物体¹³⁻¹⁵⁾がある。しかし、これらの研究では、鱗葉及び盤茎部由来カルスからの植物体再分化の頻度が必ずしも高くなく、再分化培養系が確立しているとは言えない。このため、タマネギカルスから再分化植物体を高頻度で得るための培養技術の開発が望まれている。

既に筆者らは、タマネギ種子の初生根先端部よりカルスを誘導し、安定的に増殖させることに成功している¹⁶⁾。そこで本研究では、この根端組織由来のカルスを用いて再分化を試み、効率良く再分化したので報告する。

実験に用いたタマネギは、栽培品種の中から脱分化能の優れたF₁品種“もみじ”を供試した。カルスの誘導には、3% ショ糖及び0.2% ジェランガムに10 µM 4-amino-3, 5, 6-trichloropyridine-2-carboxylic acid(以下 Picloram と略記)及び1 µM 6-furfurylamino-purine(以下 Kinetin と略記)を添加し、pH 5.8 に調整した、

Murashige and Skoog(以下 MS と略記)¹⁷⁾固体培地を用いた。この培地上に、70% エタノール及び、有効塩素濃度約3% のアンチホルミンで滅菌した種子を置床した。種子は培地に置床後3日目頃から発芽し、カルスは幼植物体の初生根先端部分からのみ形成された¹⁶⁾。このカルスを10 µM Picloram を添加したMS培地で60日間培養し、再分化実験に供した。なおカルスの培養及び再分化実験は25°C 約3000 lux の連続人工照明下で行った。

再分化実験にはオーキシンとして Picloram を、サイトカイニンとして Kinetin, 6-benzylaminopurine(以下 BA と略記)及び6-(2-isopentenyl)aminopurine(以下 2 ip と略記)を添加したMS培地を用いた。予備実験の結果から、Picloram 及びサイトカイニン濃度はいずれも0, 1, 10 µM とし、Picloram とサイトカイニンの種類と濃度を組み合わせた合計27区の再分化培地区を設けた。

再分化培地にカルスを置床後8週間目に再分化の様子を観察した。再分化植物体の形状は一般に不定根、不定芽及び不定胚に分類されるが、本研究でもその形態から再分化植物体を3つに分類して再分化個体を数え、それを置床カルス数で除してそれぞれの再分化率を求めた。

ホルモンフリー培地及びサイトカイニンのみを添加した培地では不定根がしばしば観察されたが、Picloram を添加した培地ではサイトカイニンの種類や濃度にかかわらず不定根が殆ど観察されなかった(**Table 1**)。不定根の形成率はサイトカイニンの種類や濃度によって異なり、BA, Kinetin, 2 ip のいずれかを1 µM 添加した培地では約70% の不定根形成率を示した。BA または Kinetin を10 µM 添加した培地では、1 µM 添加した培地より顕著に形成率が低くなった。一方、2 ip を10 µM 添加した培地では1 µM 添加した培地とほぼ同じ形成率を示した。これらのことから、2 ipの方が不定根の再分化に際しては、変動が少ないと判断される。

不定根はカルス置床後2週間目頃から出現し始め、8週間目には培地表面を這うように伸長した不定根(**Fig. 1-A**)やカルス表面から角状または扇型に伸長した不定

Masatoshi TAKAGI*, Kazunori TOYOI** and Masahiko ICHII**

Plant Regeneration from Onion Root Tip Callus.

* 香川県立高松工芸高等学校

(〒760 香川県高松市番町二丁目9-30)

** 香川大学農学部

(〒761-07 香川県木田郡三木町大字池戸2393 番地)

* Kagawa Prefectural Takamatsu Kougei High School, Takamatsu, Kagawa 760, Japan

** Faculty of Agriculture, Kagawa University, Miki, Kagawa 761-07, Japan

Table 1. Effect of picloram and cytokinins on regeneration from onion callus culture*¹.

Picloram (μM)	Regeneration rate* ² (%)						
	0	BA (μM)		Kinetin (μM)		2 ip (μM)	
		1	10	1	10	1	10
Adventitious root formation							
0	26	68	5	68	5	67	65
1	1	0	0	0	2	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0
Adventitious bud formation							
0	2	5	15	5	15	65	33
1	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0
Adventitious embryo formation							
0	0	0	0	0	0	67	33
1	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0

*¹ Observation was made 8 weeks after callus culture.

*² (Total number of regeneration forming callus/total number of cultured callus) \times 100.

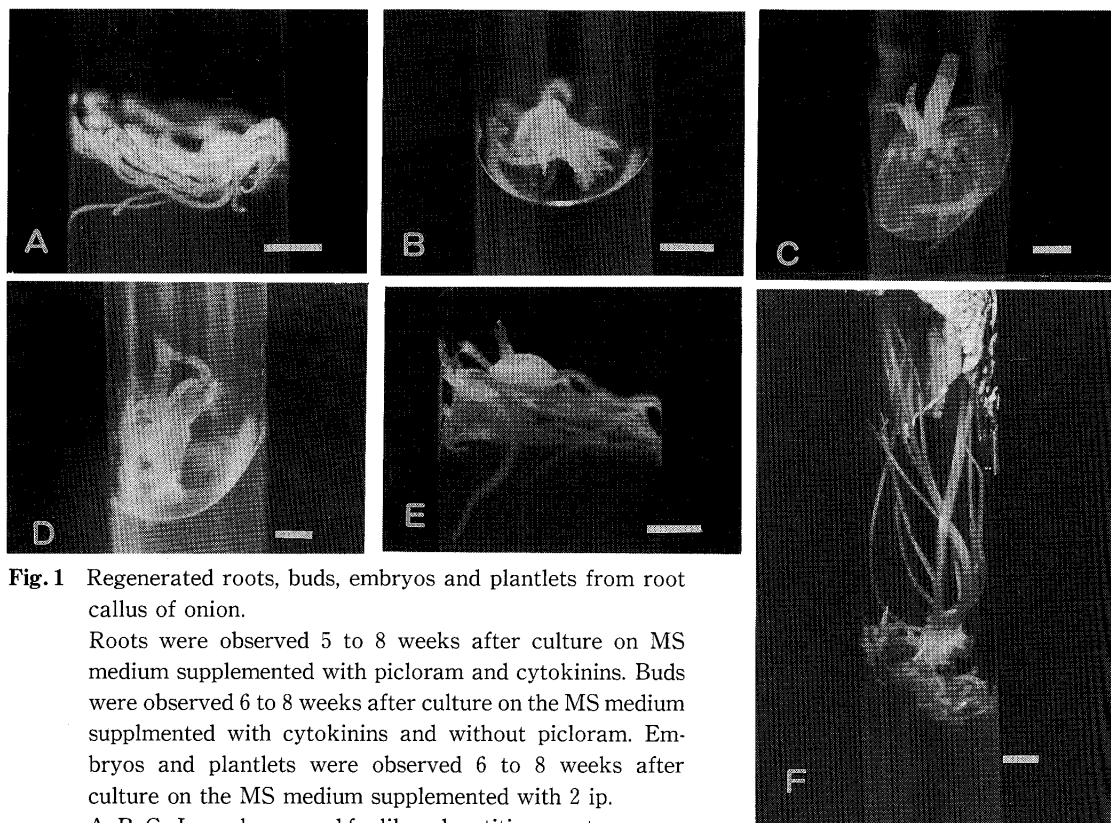


Fig. 1 Regenerated roots, buds, embryos and plantlets from root callus of onion.

Roots were observed 5 to 8 weeks after culture on MS medium supplemented with picloram and cytokinins. Buds were observed 6 to 8 weeks after culture on the MS medium supplemented with cytokinins and without picloram. Embryos and plantlets were observed 6 to 8 weeks after culture on the MS medium supplemented with 2 ip.

A, B, C: Long, horny and fanlike adventitious roots, respectively. D: Adventitious buds. E: Adventitious embryos. F: Plantlets. (Scale bar indicates 5 mm.)

根(Fig. 1-B, C)など種々の形態を示した。これらの不定根はニンジンなどの培養時に観察される通常的不定根とは、形態的に次の点で大いに異なっていた。まず第一に、不定根は一般に柔らかいが、本実験で観察された不定根は硬く、培地から外しても形状を変えなかった。第二に、不定根の表面には根毛が形成されておらず、植物体の根の形状とは異なっていた。本実験ではその形状から根と思われるものを不定根とした。しかしながら、中島ら³⁾が指摘するとおり、タマネギカルスからの不定根は embryogenic callus から胚様体へ発達する途中、何らかの原因で生長を停止した組織であると推論される。即ち、不定根というよりも、むしろ不定根様器官(root like body)ともいうべきものであると考えられる。

ニンジンなどの双子葉植物に比べて、タマネギなどの単子葉植物では不定胚が棒状であり、また不定胚がカルス細胞とよく似ているために不定胚経由と不定芽経由とを区別しにくい。そこで根が再分化せずに、芽のみが分化した場合を不定芽の形成とした(Fig. 1-D)。

Picloram を添加すると不定根再分化の場合と同様、不定芽の形成が殆ど認められなかった(Table 1)。ホルモンフリー培地でも不定芽は観察されたが、サイトカイニンを添加することによって不定芽の形成率が増大した。またサイトカイニンの種類により不定芽の形成率が異なり、2 ip は BA や Kinetin より不定芽の形成を大いに高めた。特に 1 μM 2 ip 添加区では 65% の高い不定芽形成率を示した。

培養容器内より再分化植物体を取り出し、同じカルス塊から芽と根が形成され、かつ両極性があると可視的に判断できるものを、本実験では不定胚とした³⁾。

BA または Kinetin と Picloram との組み合わせを添加した培地では、組み合わせの種類やその濃度にかかわらず、不定胚は観察されなかった。すなわち Picloram を添加せず 2 ip を添加した培地においてのみ、不定胚及び幼植物体が観察された(Fig. 1-E, F)。この時、1 及び 10 μM 2 ip 添加区における不定胚形成率はそれぞれ 67% 及び 33% であった(Table 1)。

以上、一連の実験より、タマネギにおけるカルス経由

の組織培養では、鱗葉及び盤茎部よりも、発芽種子の初生根先端部を外植物体片として用いた方が、脱分化率が高くカルスを安定的に供給できる¹⁶⁾。さらに、初生根先端部由来のカルスは形状がコンパクトであり、鱗葉及び盤茎部由来のカルスに比べて、増殖率や形状の安定性において優れている¹⁶⁾。本実験により、このカルスを 1 μM 2 ip を含む MS 再分化培地に移すことで、効率良く再分化が可能になり、タマネギにおいてカルスを經由した組織培養系が確立したと考えられる。

(1996年4月9日受理)

文 献

- 1) 高橋 尚, 1988. ハイテクによる野菜の採種(そ菜種子生産研究会編), p. 393-396, 誠文堂新光社, 東京.
- 2) 中島寿亀, 1987. 農業技術, 44: 117-121.
- 3) 中島寿亀, 桑原宏司, 田中政信, 1989. 佐賀県農試研報, 26: 119-132.
- 4) 折館寿朗, 1988. 育種学雑誌, 38 別 2: 32-33.
- 5) Shahin, E. A., K. Kaneko, 1986. Hort-Science, 21: 294-295.
- 6) 島田恒治, 宮崎貞巳, 田代洋丞, 新開隆尋博, 1973. 園芸学雑誌, 48: 198-199.
- 7) 島田恒治, 宮崎貞巳, 田代洋丞, 新開隆尋博, 1974. 園芸学雑誌, 49: 194-195.
- 8) 大澤勝次, 栗山尚志, 菅原祐幸, 1981. 野菜試報 A, 9: 1-46.
- 9) Phillips, G. C., K. J. Lutein, 1983. Hort-Science, 108 (6): 943-953.
- 10) 中島寿亀, 桑原宏司, 田中政信, 1989. 園芸学雑誌, 58 (別 2): 232-233.
- 11) Nandai, S., G., Fridboring, T. Eriksson, 1977. Hereditas, 85: 57-62.
- 12) 佐藤 裕, 浦上敦子, 永井 信, 1988. 育種学雑誌, 38 (別 2): 30-31.
- 13) Lu, C.-C., L. Currah, E. B. Peffley, 1989. Plant Cell Rep., 7: 696-700.
- 14) van der Valk, P., O. E. Schliten, F. Verstappen, R. C. Jansen, J. J. M. Dons, 1992. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 30: 181-191.
- 15) Song, P., E. B. Peffley, 1994. Plant Science, 98: 63-68.
- 16) 高儀雅俊, 竹村真理, 一井眞比古, 1992. 香川大農学報告, 44(1): 11-17.
- 17) Murashige, T., F. Skoog, 1962. Phyol. Plant., 15: 473-497.