

ルミン(有効塩素濃度1%)に20分浸漬した後、滅菌水で洗浄する方法で行った。培養器として直径9cmの滅菌シャーレを用いた。これに種々の培地の約20mlを入れ、各シャーレ50粒の種子を置床した。4反復とした。25℃、16時間日長、約5,000luxで培養し、1カ月後に種子の発芽率とカルス形成率を調査した。その後、カルスからの再生個体を得ようとし、表2に示す各種の培地に継代した。培養条件はカルス誘導と同様である。

結 果

植物生長調節物質のオーキシンとして2, 4-ジクロロフェノキシ酢酸(2, 4-D)とインドール酢酸(IAA)を、またサイトカイニンとして6-ベンジルアデニン(BA)とカイネチン(KIN)を含む培地におけるチモシー(品種ノサップ)の発芽率とカルス形成率を表1に示した。オーキシンの2, 4-Dを添加した培地でBAの100μM以外でカルスの形成が認められた。しかし、IAAはカルスの誘導には効果がなかった。サイトカイニンのBAとKINは無添加の方がカルス形成率は高かった。カルス形成には2, 4-D単独で良く、BAはKINよりも阻害的に働いた。2, 4-D濃度の100μMでは減少した。発芽率と植物生長調節物質とは明らかな関係は認められなかった。再分化の結果を表2に示した。茎葉分化はKINを含む培地で認められた。その後、植物生長調節物質を含まない培地に移植し発根させた。

表2 再分化のために用いた培地と再分化

	(μM)	2, 4-D	
		0	1
K I N	0	-	-
	1	+	-
	10	-	+
B A	0	-	-
	1	-	-
	10	-	-

+ : 個体再生

考 察

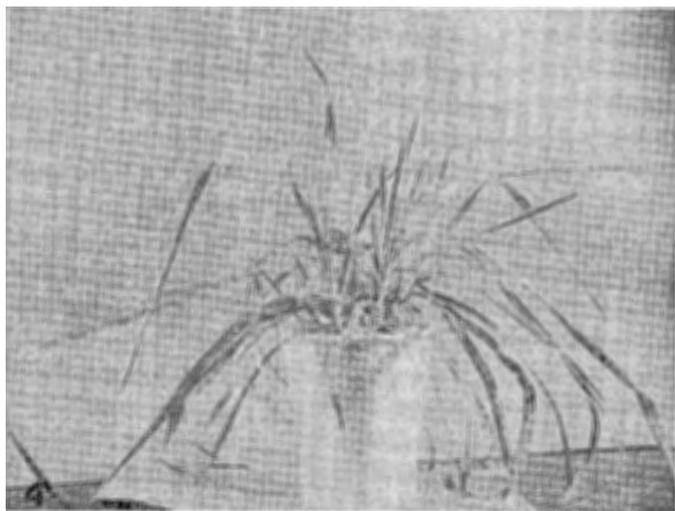
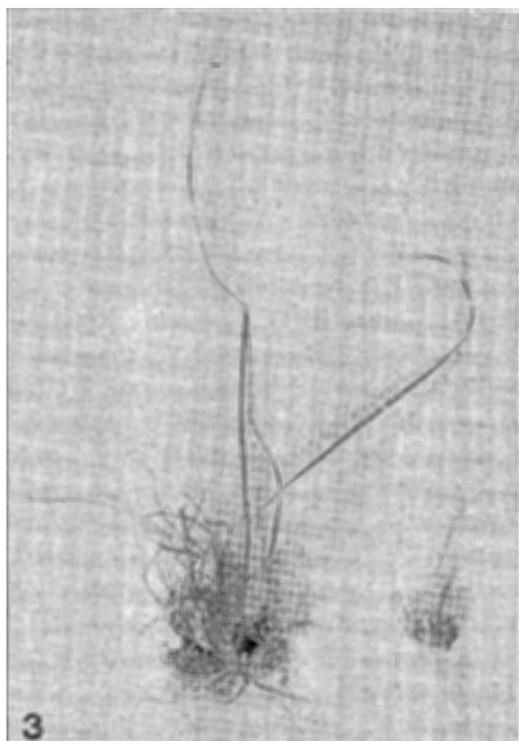
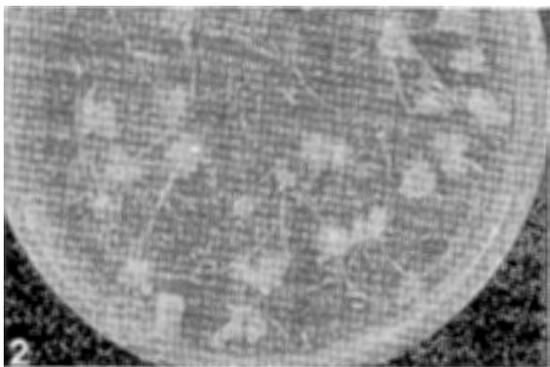
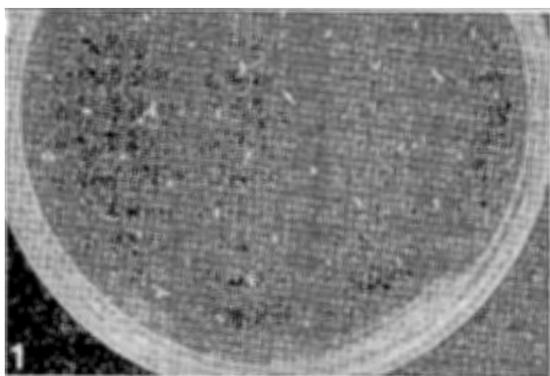
イネ科牧草におけるカルスからの個体再生の報告は寒地型牧草のオーチャードグラス<sup>1)</sup>、イタリアンライグラス<sup>2)</sup>、トールフェスク<sup>3)</sup>など、暖地型牧草<sup>6)</sup>のギニアグラス、ネピアグラス、ブルーパニックグラスなどでなされている。北海道における主要牧草のチモシー、およびペレニアルライグラスで報告がない。本研究はチモシーの種子カルスからの個体再生の報告である。本研究と前述の寒地型イネ科牧草の研究からカルスの誘導には10μM、50μMくらいの濃度の2, 4-Dを用い、カルス形成後は2, 4-D濃度を低下させ、サイトカイニンとしてKINまたはBAなどを添加して茎葉分化を得ているのが一般的である。また基本培地はMS培地が主であるが、オーチャードグラスではSH基<sup>5)</sup>が用いられている。本研究では再生率が低く、今後さらに効率良く、安定的に個体を得る諸条件を明らかにする必要がある。

摘 要

チモシーの細胞育種の基盤として、組織培養技術を確立することを目的として研究を行った。手始めとして、種子からのカルス誘導条件を検討し、さらにカルスよりの個体の再生を試みた。基本培地としてMS培地を用い、種々の植物生長調節物質を組み合わせで培養した。培養条件は、25℃、約5,000ルクスの16時間日長である。その結果、カルス誘導は、1μMの2, 4-Dを含む培地で良好であった。得られたカルスからの個体再生は、カイネチンを含む培地で得られた。

参 考 文 献

- 1) Conger, B. V. and J. V. Carabia(1978) Callus induction and plantlet regeneration in orchardgrass Crop Sci. 18:157-159
- 2) Jones, M. G. K. and P. J. Dale(1982) Reproducible regeneration of callus from suspension culture protoplasts of the grass *Lolium multiflorum* Z. Pflanzenphysiol. 105:267-274
- 3) Lowe, K. W. and B. V. Conger(1979) Root and shoot formation from callus cultures of tall fescue Crop Sci. 19:397-400
- 4) Murashige, T. and F. Skoog (1962) A revised medium for rapid growth and bio assay with tobacco tissue cultures Physiol. Plant. 15:473-497
- 5) Schenk, R. U. and A. C. Hildebrandt (1972) Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures Can. J. Bot. 50:199-204
- 6) Vasil, I. K. (1985) Biotechnology in the improvement of forage crops Proceedings of the XV IGC 45-48



写真説明

1. チモシー種子の発芽
2. 種子の発芽とカルス形成
3. カルスからの個体再生
4. 再生した幼植物