研究ノート

数種野生マメ科植物におけるカルス形成と植物体再分化について

明石 良*・池田 一**

ツルマメ (*Glycine soja* SIEB. et ZUCC.), クサネム (*Aeschynomene indica* L.), カワラケツメイ (*Cassia nomame* L.), ヤブツルアズキ (*Phaseolus trilobatus* SCHREB.) およびミヤコグサ (*Lotus corniculatus* L.) の 6 種の野生マメ科植物を用いて, カルス形成と植物体再分化について検討した。

Table 1 は, 供試各草種におけるカルス形成とカルスからの植物体再分化について, 供試部位, 培地組成, 茎葉分化に至るまでの培養日数および茎葉分化率等について示したものである。

基本培地はクサムネでは Gamborg らの培地 (B 5 培

地) を, また, その他の草種では Murashige and Skoog らの培地 (MS 培地) を用いた。pH はすべての培地で 5.7~5.8 に調整した。培養はすべて 25°C 連続照明下で行った。

カルスの性状は培地のホルモン組成や濃度によっても異なるが, 脱分化時の白色・軟質カルスから漸次着色・硬質ないしは粒状カルスへと変化した。この性状の変化には, これまでに報告されたマメ科植物のカルス形成および再分化の例¹⁻⁵⁾ に述べられているように, 草種によってかなりの違いが観察された。

ツルマメでは, 脱分化培地の 2, 4-D 2.0 mg/l の場合

Table 1. Plant regeneration from calli in some wild legume species and their culture conditions.

Species	Explant	Basic medium	Callus induction (mg/l)	Regeneration (mg/l)	Total culture days	% of shoot regeneration ^a
<i>Glycine soja</i> SIEB. et Zucc.	germinating seed	MS	2, 4-D 2.0 + BAP 1.0	BAP 0.2+NAA 0.1	30~60	0
<i>Aeschynomene indica</i> L.	hypocotyl	B 5	2, 4-D 2.0 + BAP 1.0	NAA 0.1 → BAP 2.0+NAA 1.0	90	13
				BAP 0.2+NAA 0.1	90	13
				BAP 3.0+NAA 0.1 → BAP 0.2+NAA 0.1	90	6
				NAA 0.1 → BAP 0.2+NAA 0.1	30~60	20
				BAP 0.2+NAA 0.1	30~60	37
				BAP 3.0+NAA 0.1 → BAP 0.2+NAA 0.1	30~60	42
<i>Cassia nomame</i> L.	hypocotyl	MS	2, 4-D 0.2 + BAP 0.5	BAP 1.5+NAA 0.1	35	20
				BAP 3.0+NAA 0.1 → 1/2 MS	120	8
<i>Phaseolus trilobatus</i> SCHREB.	hypocotyl	MS	2, 4-D 2.0	BAP 3.0+NAA 0.1 → BAP 0.2+NAA 0.1	90~120	30
<i>Lotus corniculatus</i> L.	cotyledon	MS	2, 4-D 2.0 + BAP 1.0	BAP 1.5+NAA 0.1 → BAP 3.0+NAA 0.1	120	30
				BAP 3.0 + NAA 0.1	90	75
	cotyledon	MS	2, 4-D 2.0	BAP 3.0+NAA 0.1 → BAP 0.2+NAA 0.1	140	30

^a No. of calli with shoots/No. of placed calli.

* Ryo AKASHI and ** Hajime IKEDA: Callus Formation and Plant Regeneration in Some Wild Legume Species. 宮崎大学農学部 (〒889-21 宮崎市学園木花台西 1-1) Faculty of Agriculture, Miyazaki University, (Miyazaki 889-21, Japan)

Table 2. Content of water, total-N, protein-N, P, K, Ca and Mg in white-soft and green-compact callus of *Aeschynomene indica* L. (% per fresh weight).

Callus type	Water	Total-N	Protein-N	P	K	Ca	Mg
White-soft	93.910	0.271	0.196	0.033	0.256	0.013	0.025
Green-compact	92.010	0.636	0.366	0.037	0.335	0.013	0.032

は白色・軟質カルスから漸次緑色を呈するようになるが、2,4-D 2.0 mg/l および BAP 1.0 mg/l を添加した場合は緑色・硬質カルスとなり、さらにカルス塊の表面に毛茸状構造をもつ霜状カルスへと変化した。

クサネムでは脱分化培地で得られたカルスを再分化培地へと移し、さらに継代培養を続ける間に白色・軟質カルスから淡緑色・軟質ついで濃緑色・硬質カルスへと変化した。最後には濃緑色の根状組織を分化するカルス塊が多数認められた。このクサネムにおける白色カルスと緑色・硬質カルスの水分含有率、全窒素、蛋白態窒素、磷(P)、カリ(K)、カルシウム(Ca)およびマグネシウム(Mg)の含有率を示したのが **Table 2** である。分析は全窒素はケルダール法、蛋白態窒素はバルンスタイン法、磷は比色法、カルシウムとマグネシウムは原子吸光法、カリは炎光法によって測定した。この結果は、カルスが白色から緑色・硬質になると水分含有率は減少、全窒素、蛋白態窒素、磷、カリ、カルシウムは増加しているがマグネシウムでは変化が認められないことを示している。

カワラケツメイでは、この実験の条件下においてはホルモンの組成の差異にかかわらずカルスは淡褐色・軟質カルスから濃褐色・粒状カルスへと変化するものが多く、一般にカルスの生長量は他の草種に較べ大きかつ

た。

ヤブツルアズキでは、緑色・硬質ないしは緑色・粒状カルスの表面に葉状構造をもつカルスが多数観察された。また、ミヤコグサでは最終的には緑色・粒状カルスへと変化した。

茎葉分化はツルマメを除く5草種で認められた。クサネムおよびミヤコグサでは脱分化時に NAA 0.1 mg/l を添加した場合には脱分化から茎葉分化までに要する培養日数が短く、また、茎葉分化率も高い傾向を示した。この実験の範囲では茎葉分化率が高かったのはミヤコグサで、ついでクサネムであった。

(1988年9月8日受理)

文 献

- 1) Bove, O. A., L. A. Mroginski, H. Y. Rey, 1968. Plant Cell Rep., **5**: 295-297.
- 2) Ghazi, T. D., H. V. Cheema, M. V. Nabors, 1986. Plant Cell Rep., **5**: 452-456.
- 3) Nagarajan, P., J. S. McKenzie, P. D. Walton, 1986. Plant Cell Rep., **5**: 77-80.
- 4) Ozaki, K., 1985. Plant Tissue Cult. Lett., **2**: 59-62 (in Japanese).
- 5) Stavarek, S. J., T. P. Croughan, D. W. Rains, 1980. Plant Sci. Lett., **19**: 253-261.