

ヒエ及びキビのカルス培養と再分化

岩井 孝尚・本蔵 良三・中村 茂雄・降幡 泰永

(宮城県農業センター)

Callus Formation and Regeneration in *Echinochloa utilis* Chwi et Yabuno, and *Panicum miliaceum* L.

Takayosi IWAI, Ryoso HONKURA, Shigeo NAKAMURA and Yasunaga FURIHATA

(Miyagi Prefecture Agricultural Research Center)

1 はじめに

近年、組織培養の技術、特にプロトプラスト培養や細胞融合といった手法を利用し、新品種の育種がなされるようになってきている。筆者らは、ヒエやキビが最近の健康食品ブームで米などの主要穀類に比べて蛋白、脂質、灰分、ビタミンBなどの含量や消化率が高く注目されていることや、宮城県内でキビが栽培され地域特産的な品種が望まれていることから、細胞融合により新たな遺伝的特性を持った新品種を育成することを試みている。

イネ科作物の中でイネはプロトプラスト培養系が大概ら¹⁾によって確立されているが、ヒエやキビといった雑穀類の培養系についてはほとんど研究されていない。今回はヒエとキビの細胞融合を行うための基礎となる種子からのカルス形成及びカルスからの再分化系を確立したので報告する。

2 試験方法

(1) ヒエ及びキビのカルス培養条件の検討

材料はヒエ（白ヒエ、赤ヒエ、ヤリコヒエ、飛騨在来、イヌビエ、タイヌビエ、ヒメタイヌビエ）及びキビ（白キビ、山梨モチ系、宮城在来）を用いた。

ヒエとキビの種子は、70%エタノールで2分間、アンチホルミン（有効塩素濃度1%）で10分間滅菌した後、供試した。又各試験に用いた培地はいずれもしょう糖30g/l、寒天8g/lを含み、培養は27℃、3000Lux、16時間日長で行った。

(2) ヒエ及びキビのカルス形成に及ぼす2.4-D濃度の影響

Murashige & Skoogの培地を基本培地とし、2.4-Dの添加量を変えてカルス形成量の変化を調査した。2.4-D濃度はヒエで1, 2, 4, 8, 16mg/lとし、キビでは0.25, 0.5, 1, 2, 4mg/lとした。ヒエ6品種、キビ3品種の滅菌種子を置床し、3週間培養した後カルス形成の程度を調査した。

(3) カルス形成に及ぼす基本培地の組成の影響

MS, B5, AA, N6培地を基本培地として3週間培養し、カルス形成程度を比較検討した。ただし、2.4-D濃度をヒエでは4mg/l、キビでは0.5mg/lとした。

(4) カルスからの再分化に及ぼす培地組成の影響

ヒエとキビのカルスは2.4-Dをそれぞれ4mg/l, 0.5mg/lの濃度で含むMS培地で3週間培養して得られたものを供試した。再分化培地として用いたのはホルモン組成を変えた3種類のMS培地、ホルモンフリーの1/2MS培地、及びホルモンを含むN6培地の計5種類とした。調査は再分化培地に移植後8週間目に不定芽形成の有無を調査した。

3 試験結果及び考察

(1) ヒエ及びキビのカルス形成と品種間差

ヒエのカルス形成は飛騨在来系ヒエを除いて6品種を供試したが、白ヒエと赤ヒエの2品種は2.4-D濃度1~16mg/lのいずれの区においてもカルス形成量は良好であった。これら2品種は、2.4-D濃度4~16mg/lの区では発芽がほとんど起こらず胚盤由来と思われる黄色の硬質粒状のカルスを形成した。しかしながら2.4-D濃度1~2mg/lの区では、正常に発芽も行われるために、胚盤由来と思われる黄色の硬質粒状のカルスだけでなく、根端由来の白色で軟質のカルスが多量に形成された。またヒメタイヌビエも前2品種と同様な傾向を示したが、4mg/l以上

表1 ヒエ及びキビのカルス形成に及ぼす2.4-D濃度の影響

品 種	2.4-D濃度(mg/l)				
	1	2	4	8	16
白 ヒ エ	++	++	++	++	++
赤 ヒ エ	++	++	++	++	++
ヤ リ コ ヒ エ	nt	nt	++	+	+
イ ヌ ビ エ	nt	nt	++	++	++
タ イ ヌ ビ エ	nt	nt	+	+	+
ヒメタイヌビエ	++	++	+	+	+

品 種	2.4-D濃度(mg/l)				
	0.25	0.5	1	2	4
白 キ ビ	++	+++	++	++	++
山梨キビ(モチ)	++	++	+	+	+
宮城在来キビ	+++	+++	++	+	+

注. 基本培地としてMS培地（しょう糖 30g/l, 寒天 0.8%を含む）を用いた。またカルス形成程度の判定は培地に置床後約3週間目に行った。カルス形成程度（カルスの直径）+++：1cm以上 ++：0.5~1cm +：0~0.5cm -：カルス形成が起こらなかったもの。nt：未検定

の濃度ではカルス形成があまりよくなかった。ヤリコヒエ、イヌビエ、タイヌビエは4 mg/l以上の区のみで試験を行ったが、いずれも発芽が起こらず胚盤由来と思われるカルスが形成されていた。以上の結果、ヒエから細胞融合に用いるための単一の種類のカルスを得るためには2.4-D濃度が4 mg/lが適当であると考えられた。

キビについては3品種を試験に供試したがいずれの品種も2.4-D濃度が0.25 mg/l～0.5 mg/lの区で良好なカルス形成を示した。しかしながら0.25 mg/lの区では正常な発芽も行われたために、胚盤由来と思われるやや白色で硬質の小粒状のカルスと、根端からの白色で軟質のカルスを形成していた。また2.4-D濃度が1～4 mg/lの区ではいずれの品種もカルス形成量が減少する傾向にあった。以上からキビのカルス形成のための2.4-D濃度は、0.5 mg/lが適当であると考えられた。

(2) ヒエ及びキビのカルス形成と基本培地の種類

先の実験から、ヒエとキビの種子からのカルス形成に適当な2.4-D濃度が決定されたが、基本培地としてMS, B5, AA, N6培地についてもカルス形成の可否を検討した(表2)。ヒエでは2.4-D濃度を4 mg/l, キビでは0.5 mg/lとしてカルス形成量を調査した。ヒエでは白ヒエ, 赤ヒエ, 飛騨在来3品種を供試したが、いずれの品種もMS, B5培地で黄色粒状の硬質の良好なカルスの形成が認められた。

キビでは、白キビ, 山梨モチ系, 宮城在来3品種を供試したが、いずれの品種も全ての培地で良好なカルス形成が認められた。このことからヒエとキビともにMS又はB5培地を基本培地とすれば良好なカルス形成が行われることが示された。

表2 ヒエ及びキビのカルス形成に及ぼす基本培地の影響

品 種	MS培地	B5培地	AA培地	N6培地
白 ヒ エ	++	++	+	++
赤 ヒ エ	+	++	++	—
飛騨在来ヒエ	+++	++	++	+
白 キ ビ	+++	+++	+++	+++
山梨系キビ	+++	+++	++	+++
宮城在来キビ	+++	+++	+++	+++

注. 2.4-D濃度はヒエ4 mg/l, キビ0.5 mg/lとした。
カルス形成程度は表1と同様の基準で行った。

(3) ヒエ及びキビのカルスからの再分化と基本培地の種類

カルスが再分化するための条件について基本培地の種類

を変えて検討した(表3)。その結果、供試したヒエ2品種(白ヒエ, 赤ヒエ), キビ2品種(白キビ, 宮城在来)の計4品種のうち赤ヒエをのぞいた3品種では、インドール酢酸0.2 mg/l, カイネチン1 mg/lを含むMS培地で再分化が認められた。またホルモンフリーの1/2 MS培地で宮城在来をのぞいた3品種で再分化が認められた。以上のことからヒエとキビの細胞融合を行う際には品種の組み合わせを考えて再分化培地を選択する必要があると考えられた。

また表には示さなかったがここで得られた再分化個体について稔性があるかどうかについても調査した。その結果いずれの再分化個体も稔性があることが確認された。

4 ま と め

ヒエとキビの細胞融合個体を作出するためにカルス培養系が必要になる。今回の結果からヒエでは2.4-D濃度4 mg/lの, キビでは0.5 mg/lを含むMS又はB5培地がカルス形成に適当であると考えられた。またカルスからの再分化にあたってはインドール酢酸0.2 mg/l, カイネチン1 mg/lを含むMS培地, 又はホルモンフリーの1/2 MS培地が適当であると考えられた。品種についてみると、赤ヒエ, 白ヒエ, 白キビ, 宮城在来キビがカルス培養系とカルスからの再分化が良好であった。

表3 ヒエ及びキビのカルスからの再分化に及ぼす培地組成の影響

品 種	MS培地		1/2 MS培地	N6培地
	a	b	ホルモン 無添加	ホルモン 無添加
白 ヒ エ	+	++	++	—
赤 ヒ エ	—	—	+	++
白 キ ビ	+	—	—	+
宮城在来キビ	+	—	—	—

注. いずれの基本培地も30 g/lしよ糖, 0.8%寒天を含む。

ホルモン組成; a: IAA 0.2 mg/l, Kinetin 1 mg/l

b: NAA 0.01 mg/l, BAP 0.1 mg/l

引 用 文 献

- 1) 大槻義昭, 吉田泰二, 山地チカ子, 亀島雅史. 1988. イネ・プロトプラストの効率的調整にかかわる培養条件. 育種 38(別1): 78-79.