



レタス胚軸組織の不定根形成について

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2012-11-07 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 佐々木, 久視 メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.32150/00003159

レタス胚軸組織の不定根形成について

佐々木 久 視
北海道教育大学旭川分校農学研究室

Adventitious Root Formation in Lettuce Hypocotyl Tissue Cultured *in vitro*

Hisami SASAKI
Agricultural Laboratory, Asahikawa College, Hokkaido University of Education,
Asahikawa 070

Summary

The present investigation was performed in order to examine the effects of various factors on the adventitious root formation of lettuce (*Lactuca sativa* L. cv. Wayahead) hypocotyl segments cultured *in vitro*. When the excised tissues of lettuce seedlings were precultured for a brief period on a medium including 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) alone and subsequently transferred to the basal medium without any hormones, many roots were formed on the cultured tissues.

With respect to the inorganic ingredients of the media, a Murashige-Skoog media was superior to a White's devised media (10) for encouraging root formation. It was markedly enhanced by culturing for 6 days on a medium containing 2,4-D (0.1 mg/l) plus a low concentration of kinetin (0.01 mg/l). An increased kinetin concentration (0.1 mg/l), however, decreased the root formation. The root formation was stimulated by an increasingly ambient temperature and it was found to be most effective under conditions in which light was followed by darkness.

From those results it appear that, in the lettuce hypocotyl tissue culture, cell dividing activity in the region of the endodermis or pericycle tissues adjacent to the vascular bundle system (13), leading to regeneration of root primordia, was stimulated by culture on a medium with a 2,4-D plus low concentration of kinetin under high temperature in the light. The root development was promoted by culture on the basal medium under high temperature in darkness later.

緒 言

レタスの胚軸組織における不定根形成はオーキシン単独培地で培養後、基本培地に移植することにより容易にみられた(12)。このような培養組織の不定根形成に関しては従来多くの研究がなされ、その形成過程は幾つかの発育段階より成ることが知られている(6, 7)。

今回、レタス胚軸組織の不定根形成過程における培地条件並びに温度や光などの培養環境について検討した結果を報告する。

本研究の遂行に際し、御懇切な指導ならびに助言を賜った北海道大学農学部岡澤養三教授に対し深謝の意を表する。

実験材料および方法

培養材料としてレタス品種ワイヤヘッド (*Lactuca sativa* L. cv. Wayahead) を用いた。この種子を前報(13)に準じ、70%エタノール処理後、0.5%次亜塩素酸ナトリウム溶液にて約30分間表面殺菌した。これを滅菌水で洗浄後、0.7%寒天、2%蔗糖を含むWhite改良(WD)培地(10)に播種し、暗所で9日間生育した。この幼植物の胚軸組織片6mmを培養に供した。

培地にはWDまたはMurashige-Skoog(MS)培地の無機塩(9)を用い、これに生長物質、蔗糖、カザミノ酸、並びにビタミン類(10)を添加した。培養方法は初めに0.1mg/l濃度の2,4-dichlorophenoxyacetic acid(2,4-D)を含む培地(2,4-D培地)で胚軸組織片を培養し、その後、生長物質無添加の基本培地に移植し3週間培養した。

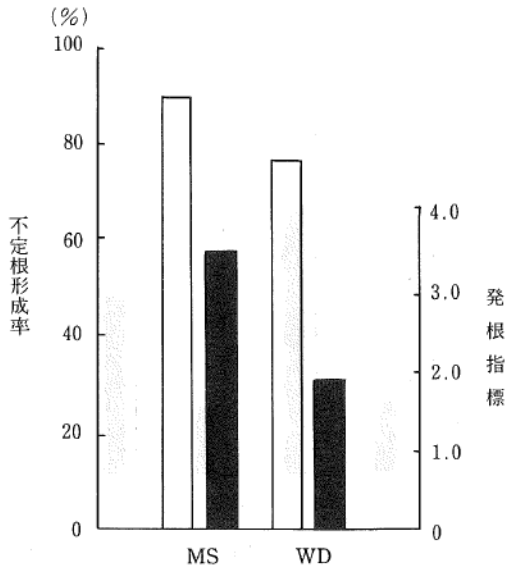
培養は通常、室温、暗所で行なった。また、培養温度および光の影響については15、20、25及び30°Cに設定した人工気象器を用い、昼光色蛍光灯(約1500Lux)により明所培養を行なった。培養胚軸組織片は1フラスコ当り4個体置床し、各試験区当り20個体用いた。培養組織の生育状況は培養開始後3週間目に調査し、不定根形成率および発根指標を求めた。発根指標は(全発根数×発根個体数)/(培養組織個体数)²により算出した(7)。

実験結果

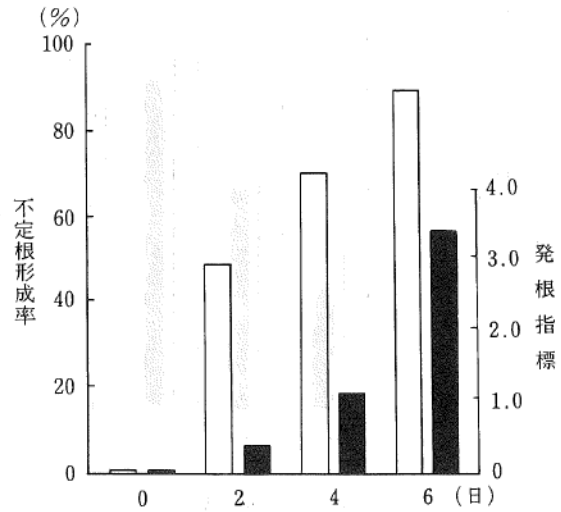
1. 培地条件

不定根形成に対するMSおよびWD培地無機塩の効果を比較検討した。その結果、第1図に示すようにMS培地において多数の不定根形成が得られた。このような結果はアスパラガスのカルス組織における発根でもみられている(14)。また、カボチャ胚軸組織においてはインドール酢酸を含むHeller培地では発根しないが、MS培地ではその形成が報告されている(5)。これらの結果から、一般に胚軸組織の不定根の形成には塩類濃度の低いWDやHeller培地に比し、高濃度のMS培地の方が有効に作用するものと思われる。

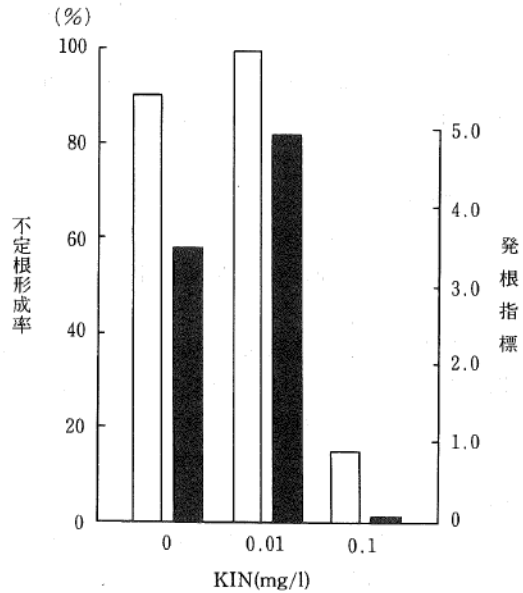
次に不定根形成におよぼす2,4-D培地での培養期間の影響についてみると、第2図に示すように4~6日間の培養により高い不定根形成率が得られ、6日間の培養で最高の発根指標値を示した。このように、不定根形成には短期間の2,4-D処理で充分であり、長期間の培養ではカルス化をきた



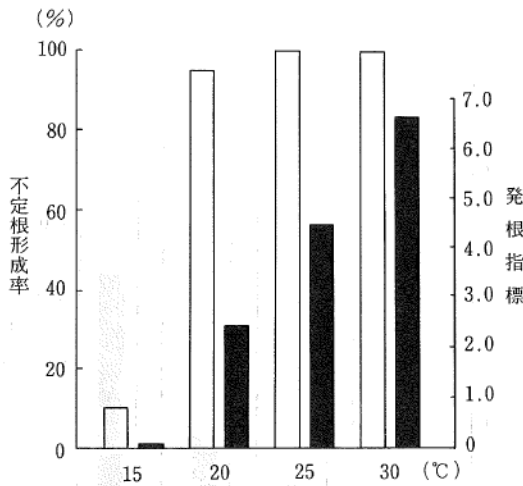
第1図 レタス胚軸組織の不定根形成における無機塩培地の影響
胚軸組織を2.4-D (0.1 mg/l) の添加したMurashige-Skoog (MS) またはWhite改良 (WD) 無機塩培地で6日間培養し、各々の培地から2.4-Dを除去した基本培地で3週間、室温で培養した。
□ ; 不定根形成率, ■ ; 発根指標



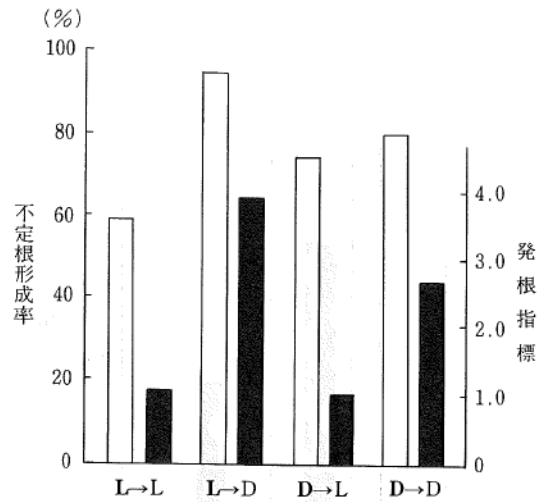
第2図 レタス胚軸組織の不定根形成におよぼす2.4-D培地処理日数の影響
2.4-D (0.1 mg/l) 培地で各期間培養し、基本培地に移植培養した(3週間目)。棒グラフの説明は第1図と同様。



第3図 レタス胚軸組織の不定根形成におよぼす2.4-D培地に添加したKIN濃度の影響
各濃度のKINと2.4-D (0.1 mg/l) の組合せ培地で6日間培養したのち、基本培地に移植培養した(3週間目)。棒グラフの説明は第1図と同様。



第4図 レタス胚軸組織の不定根形成におよぼす培養温度の影響
胚軸組織を2,4-D (0.1 mg/l) 培地に置床し、各培養温度条件で4日間培養したのち、基本培地で3週間移植培養した。棒グラフの説明は第1図と同様。



第5図 レタス胚軸組織の不定根形成におよぼす光処理の影響
胚軸組織を2,4-D (0.1 mg/l) 培地に置床し、明所(L)または暗所(D)で4日間培養したのち、基本培地に移し明所(L)または暗所(D)で3週間室温下で培養した。棒グラフの説明は第1図と同様。

した(11)。また、即ち報告したように、2,4-D培地の長期間培養ではカルスのみを生じたのに対し、 α -ナフタレイン酢酸(NAA)単独培地では不定根の形成もみられた(11)。したがって、同じオーキシンであっても2,4-DとNAAの作用性には相違のあることが明らかである。

次に不定根形成に対するサイトカイニンの影響についてみると、2,4-D培地へのカイネチン(KIN)の共存は必ずしも必要としないが、0.01 mg/lの低濃度では不定根形成を若干促進した(第3図)。しかしながら、0.1 mg/l濃度では顕著な阻害作用が示された。

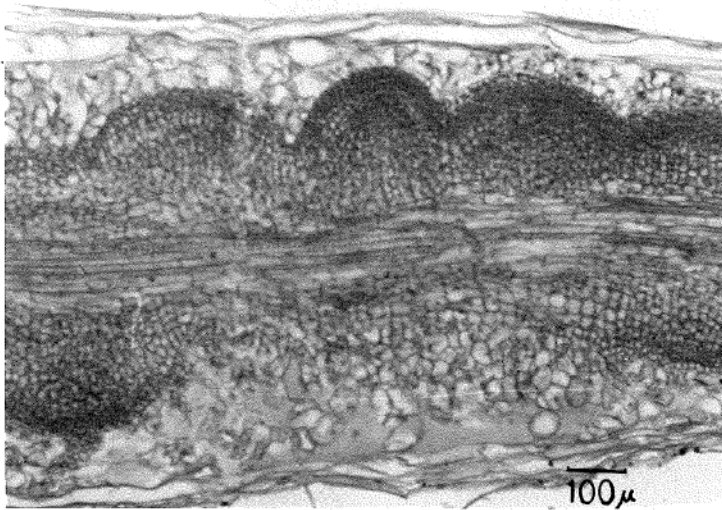
2. 培養温度と光

レタス胚軸組織の不定根形成におよぼす温度の影響についてみると、第4図に示すように不定根形成率は15°Cでは低いが、20°C以上で100%に近い値を示した。また、発根指標値は温度に比例して増加を示した。

光の効果では全培養期間を暗所で培養した場合に比し、明所で培養すると不定根形成率および発根指標ともに減少した(第5図)。これに対し、2,4-D培地での培養期間を明所で培養し、そのごの基本培地での培養期間を暗所にすると高い不定根形成率と発根指標値が得られた。

また、2,4-D培地での期間を暗所にし、そのご明所下で培養した場合には発根指標値は減少した(第5図)。

このようにレタス胚軸組織の不定根形成は高温下で促進され、2,4-D培地での培養期間は明所、そのごの基本培地での期間は暗所が好適であった。



第6図 レタス胚軸組織の内生的分裂組織

胚軸組織を2,4-D (0.1 mg/l) 培地上で4日間培養し、そのご基本培地に移植した(1週間目)。

考 察

レタス胚軸組織は2,4-D単独培地で培養すると維管束周縁組織の細胞分裂を開始し、そのご基本培地に移植すると内生的に不定根原基の形成がみられ、さらに生長して不定根となった(13)。一般に不定根形成は内皮あるいは内鞘組織の細胞分裂開始による根端分裂組織の形成によって起るものと解されている(3)。

ジャガイモ塊茎組織の不定根形成ではその培養初期にNAAとKINを同時に与えることにより内生的な根端分裂組織の形成がみられ、KINの存在は根端組織の分化条件として重要であることが知られている(7)。また、エンドウ組織の培養においてはオーキシンは不定根の初期段階で働き、低濃度のサイトカイニンの共存はこれを促進するが、高濃度では抑制することが報告されている(1)。

これらの結果から、レタス胚軸組織の不定根形成において2,4-D培地に添加した低濃度(0.01 mg/l)のKINは内皮あるいは内鞘組織の細胞分裂活性を増加するものと考えられる。一方、2,4-D培地での培養期間は明所、高温条件が不定根形成を促したが(第4および5図)、Mooreら(8)も*Sinaps alba*の子葉組織の不定根形成が高温(25~30°C)で促進されることを示し、Gautheret(2)は*Helianthus tuberosus*の塊根組織の不定根形成が明所で促進されることを明らかにしている。また、Heide(4)は高温、長日下で*Begonia*×*Cheimantha*の葉組織の内生オーキシン含量の増加をみている。さらに、レタス胚軸組織片を2,4-D培地で培養したのち、基本培地に移植すると、既に報告したように(13)、1週間目には維管束周辺部に層状に発達した分裂組織がみられ(第6図)、そのご根の生長点組織となりさらに生長して不定根となった。

以上の結果から、本実験における2,4-D培地での培養期間に与えた高温および明所条件は胚軸組織に対するオーキシン作用の発現を助長し、維管束周縁組織の細胞分裂活性の増加を促すものと

判断される。また、不定根原基の形成後は培地への生長物質の添加は不要であり、この過程における光は不定根の生長に対して阻害的效果を示すことが明らかである。

摘 要

本研究は組織培養におけるレタス (*Lactuca sativa* L. cv. Wayahead) 胚軸組織の不定根形成について検討した。

胚軸組織は 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) を含む培地で短期間培養したのち、基本培地に移植すると不定根を形成した。この際の培地無機塩は White 改良培地(10)に比し、Mura-shige-Skoog 培地 (9) の方が好適であった。また、不定根形成は 2,4-D (0.1 mg/l) と低濃度 (0.01 mg/l) の KIN を含む培地で 6 日間培養することにより著しく促進された。しかし、KIN 濃度を高めるとその形成は減少した。

不定根形成は培養温度の増加により促進され、初期の明所とそれに続く暗所条件が最も効果的であった。

これらの結果から、レタス胚軸組織は明所、高温下で 2,4-D と低濃度 KIN を含む培地で培養することにより、根の原基形成を導くための内皮、内鞘組織の細胞分裂活性増加 (13) が促進され、その根の生長は暗所、高温下、基本培地により進展するものと思われる。

引用文献

1. Ericksen, E. N. 1974. Root formation in pea cuttings. III. The influence of cytokinin at different developmental stages. *Physiol. Plant.* 30 : 163-167.
2. Gauthreret, R. J. 1969. Investigations on the root formation in the tissues of *Helianthus tuberosus* cultured *in vitro*. *Amer. J. Bot.*, 56 : 702-717.
3. Haissig, B. E. 1974. Origins of adventitious roots. *N. Z. J. For. Sci.* 4 : 299-310.
4. Heide, O. M. 1967. The auxin level of Begonia leaves in relation to their regeneration ability. *Physiol. Plant.* 20 : 886-902.
5. Jelaska, S. 1973. The effect of growth regulators on the survival of excised pumpkin hypocotyl tissue. *Acta Bot. Groat.* 32 : 95-100.
6. Kantharaj, G. R., Mahadevan, S., and G. Padmanaban 1979. Early biochemical events during adventitious root initiation in the hypocotyl of *Phaseolus vulgaris*. *Phytochemistry.* 18 : 383-387.
7. 桂 直樹, 岡澤養三, 田川 隆 1970. 馬鈴薯の組織培養に関する生理学的研究. 第 2 報. 発根過程における α -Naphthaleneacetic acid および Kinetin の意義について. 北海道大学農学部邦文紀要. 7 : 416-422.
8. Moore, K. G., Illsley, A., and P. H. Lovell 1975. The effects of temperature on root initiation in detached cotyledons of *Sinaps alba* L. *Ann. Bot.* 39 : 657-669.
9. Murashige, T., and F. Skoog 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15 : 473-497.
10. Okazawa, Y., Kastura, N., and T. Tagawa 1967. Effects of auxin and kinetin on the development and differentiation of potato tissue cultured *in vitro*. *Physiol. Plant.* 20 : 862-869.
11. 佐々木久視 1974 蔬菜類の発育・生長に関する生理形態学的研究. 第 2 報. レタスの組織培養における器官形成について 北海道教育大学紀要 (II B), 25 (1) : 17-27.
12. 佐々木久視 1975 そ菜類の発育・生長に関する生理形態学的研究. 第 3 報. レタスはい軸カルスの不定芽形成について. 園学雑. 44 : 138-143.
13. 佐々木久視 1983 組織培養によるレタス (*Lactuca sativa* L.) の細胞分化と器官形成に関する研究 北海道

教育大学紀要 (II B), 34(1): 17-33.

14. 八楯利郎, 原田隆, 嵯峨紘一, 志賀義彦 1971 アスパラガスの形態形成に関する研究. 第1報. 組織培養法による若茎柔組織からのカルス形成. 園学雑. 40: 230-236.