

研究成果情報	生産環境	3	花き・花木	バイオテク
新技術・情報名	ミヤコワスレのプロトプラ ストの単離及び培養技術		分類	③

1. 成果の内容

1) 技術、情報の内容及び特徴

ミヤコワスレの細胞レベルでの育種を進めるための基礎として、無菌植物の葉を酵素処理してプロトプラストを単離し、さらに効率的に分裂させる方法を確立した。

- (1) ミヤコワスレの無菌植物の葉を、0.2%ペクトリアーゼY-23、2%セルラーゼオノズカRSを用いて、25℃、16時間、静置処理を行うと、葉1g当たり 2.89×10^6 個のプロトプラストを単離できる。
- (2) プロトプラストの分裂に最適な植物成長調節物質は、NAA 2.0mg/l、BA 1.0mg/lである。
- (3) プロトプラストの分裂に最適な基本培地は、KM8P培地である。

2) 技術、情報の適用効果

ミヤコワスレは3倍体で交雑育種が困難なので、細胞レベルでの突然変異の誘発、細胞選抜及び細胞融合などの細胞育種に利用できる。

3) 適用範囲

国、県、民間等の試験研究機関

4) 成果の利活用・普及指導上の留意点

プロトプラストの分裂が始まったら、2週間後から1週間毎に新鮮な培地を追加する必要がある。

2. 具体的データ

表1 プロトプラストの単離に及ぼす酵素の影響 (平成3年)

ペクトリアーゼY-23	セルラーゼRS	取率	生存率
%	%	10 ⁶ 個/g葉重	%
0.05	0.5	1.48	90.5
0.05	1.0	1.77	90.8
0.05	2.0	2.59	91.2
0.1	0.5	1.58	90.9
0.1	1.0	1.97	91.5
0.1	2.0	2.73	91.9
0.2	0.5	1.59	89.8
0.2	1.0	1.74	90.7
0.2	2.0	2.89	90.4

表2 プロトプラストの分裂に及ぼす植物成長調節物質の影響 (平成元年)

NAA	BA	肥大細胞率	細胞分裂率	コロニー形成率
mg/l	mg/l	%	%	%
2.0	1.0	41.2	24.3	13.4
2.0	2.0	30.4	15.1	4.8
5.0	1.0	28.7	12.1	6.4
5.0	2.0	21.1	6.9	1.2

注) 基本培地は1/4MS、培養21日後の結果。

表3 プロトプラストの分裂に及ぼす基本培地の影響 (平成3年)

基本培地	肥大細胞率	細胞分裂率	コロニー形成率
	%	%	%
1/4MS	13.7	5.9	0.0
KM8P	17.2	20.5	12.3
TM2	2.7	0.0	0.0
ST-C	1.9	0.6	0.0
B5	16.5	5.3	0.0

注) 植物成長調節物質NAA 2.0mg/l、BA 1.0mg/lを添加、
培養14日後の結果。

3. その他特記事項

担当部科室名: 生産環境研究所 生物資源部 生物工学研究室

研究担当者名: 中原隆夫、古賀正明、近藤英和

研究課題名: 花きの単細胞からの個体再生

期 間: 昭和62年~平成3年 予算区分: 県特

既発表論文・資料名等: 平成元年度~3年度 生物資源部試験成績概要書

取りまとめ責任者名: 中原隆夫