

人参乾燥不定胚の液体窒素中での貯蔵

貝 守 昇

Cryopreservation of Dried Somatic Carrot Embryos

Noboru Kaimori

Abstract

Dried somatic carrot embryos survived after preservation in liquid nitrogen. Somatic carrot embryos were dried at 27°C in a tall petri dish containing silica gel, then were stored for 3 days at the same condition. After transfer to the cryotube, they were immersed directly into liquid nitrogen, and were stored over night. After they were removed from liquid nitrogen, some of them were put in the room, others were immersed into the water at 37°C for 3 minutes in order to raise the temperature quickly.

The survival rate of dried somatic embryos was 85% after 3 weeks incubation on MS agar medium. The survival rates of dried somatic embryos put in the room or in water at 37°C were 90% and 95% respectively.

These results show that dried somatic carrot embryos are able to be preserved in liquid nitrogen for a long period and that raising temperature quickly is not necessary.

結 言

乾燥不定胚は、主に大量増殖の手段の一つである人工種子作製に利用するために研究されている。不定胚が乾燥後も生存していることは人参^{1),2)}、セルリー³⁾、アルファルファ⁴⁾、オーチャードグラス⁵⁾、ブロッコリー⁶⁾などで報告されている。これらの乾燥不定胚を乾燥状態で包埋することは、自然の種子と同じような特徴を持つことになる。そのため、従来のゲル中に包埋していた人工種子より様々な利点があると考えられている⁷⁾。

さらに、乾燥不定胚を長期貯蔵の手段としても利用することも考えられている。植物組織を遺伝資源として貯蔵する方法は、主として成長点を液体窒素中に保存する方法である。この方法は、安定的でしかも省力的な遺伝資源の保存法として、数多くの植物で試みられている。しかし、乾燥した不定胚を液体窒素に貯蔵する方法はほとんど研究されていない。1991年にメロンで報告されているだけである⁸⁾。メロン乾燥

不定胚を液体窒素中に貯蔵した後の生存率は45-65%であり、比較的低い生存率であった。遺伝資源として効率的に利用するためには、さらに高い生存率が求められる。

不定胚は成長点より多くの数量を1つのクライオチューブの中に保存出来るので、急速な増殖が可能であるという特徴を持っている。今後、さらに不定胚を貯蔵する研究を進める必要があると思われる。このような観点に立ち、本研究では乾燥人参不定胚が液体窒素に貯蔵した後も高い生存率を示すか否か検討した。

材料及び方法

材料はスーパー大型五寸人参（渡辺種苗株式会社）を用いた。70% アルコールで一分間、2% 次亜塩素酸ナトリウムで15分間滅菌した後、滅菌水で3回洗浄した。播種後4週間目の幼苗の胚軸を約5mmに切断し、2,4-Dを1mg/l含むMurashigeとSkoog (MS培地)⁹⁾の寒天培地(8g/l)に置床し、カルスを誘導した。温度