

ペピーノ葉外植片からのカルス誘導とその植物体再生

豊田秀吉*・庄司竜三*・茶谷和行*・北 宜裕**

* 近畿大学農学部

(〒 577 東大阪市小若江3-4-1)

** 神奈川県園芸試験場

(〒 259-01 神奈川県中郡二宮町二宮1217)

(1986年2月24日受付)

(1986年5月6日受理)

ペピーノ (*Solanum muricatum*) がナス科の新果菜としてわが国にも紹介され¹⁾, 国内においても栽培試験が行われるようになった^{2,3)}. 筆者らは, その基礎的研究の一環として組織培養法を利用し, 大量増殖法や有益な形質をもつ変異体を作成する研究を行っている. しかしながら, ペピーノの組織培養に関してはまったく報告されていないのが現状であり, 培養条件等の確立が急務であった. そこで本論では, ペピーノの葉外植片からカルスを誘導し, さらにそれらから植物体を再生するための培養条件, とくに植物ホルモンの効果について調べた. その結果, 効率よく再生植物体を得る条件が判明したので, それらについて報告する.

ペピーノを温度制御温室 (26°C, 7,000~8,000 lux の全日長照明) 内で育成し, 草丈が 30~40cm に成長したところで上位の比較的若い葉を採取した. それを70%エタノールで30秒, Tween 20 を1滴加えた1%次亜塩素酸ナトリウムで数分間表面滅菌したのち, 滅菌水で十分洗浄して, 0.5~1 cm 平方の葉断片を作製した. このような葉外植片を, Murashige-Skoog⁴⁾ (MS) の基本組成に 0.1mg/l の 2,4-D (ナトリウム塩) と 0.25mg/l のカイネチンを添加し, pH を5.7に調製した培地上に置床して, 26°C, 3,000~4,000 lux の全日長照明下で培養した. その結果, 培養開始後約1週間外植片の周縁部にカルス化が認められ, 2週間後にはさらにそのカルスから不定根の形成が認められた. しかしながら, 上記ホルモン添加培地でさらに培養を継続しても, カルスの増殖は認められたが, それらの shoot (幼苗) 形成は観察されなかった. そこで添加する植物ホルモンをインドール酢酸 (IAA) と 6-ベンジルアミノプリン (BAP) に変更し, Table 1 に示した合計15通りの植物ホルモン組

合わせ区で葉外植片の培養を行った. この場合, いずれの植物ホルモン組み合わせ区においても, 置床後約1週間外植片の周縁部からカルスが生じ (Fig. 1-A), さらに10~12日間培養を続けると外植片のすべてがカルス化し, そのカルスには緑色小斑 (greening spot) の形成も観察された. このようなカルスを同じホルモン濃度の培地に移植すると, 移植後20~25日で shoot が形成された (Fig. 1-B), 小葉の分化 (Fig. 1-C) も観察された. Table 1 で明らかなように, 用いたすべての植物ホルモン組み合わせ区で shoot の形成や小葉の分化が観察されたが, とくに IAA と BAP の濃度をそれぞれ0.01と1.0および0.05と 0.5mg/l としたときに, 他の実験区より

Table 1. Effect of IAA and BAP^a on shoot differentiation of callus tissues induced from leaf-explants of pepino, *Solanum muricatum*.

Concentrations (mg/l) of BAP	Concentrations (mg/l) of IAA		
	0.01	0.05	0.10
0.1	S, >50 ^b	S, >50	S, >50
0.5	S, >50	S, 30-40	S, >50
1.0	S, 30-40	S, >50	S, >50
1.5	S, >50	S, >50	S, >50
2.0	S, >50	S, >50	S, >50

^a Various concentrations of indole-3-acetic acid (IAA) and 6-benzylaminopurine (BAP) were added to Murashige-Skoog medium (pH 5.7, 0.8% agar). Callus tissues were incubated at 26°C under a continuous illumination of 3,000-4,000 lux.

^b S represents differentiation of callus tissues into shoot. Numbers in the table represent days required for shoot differentiation.

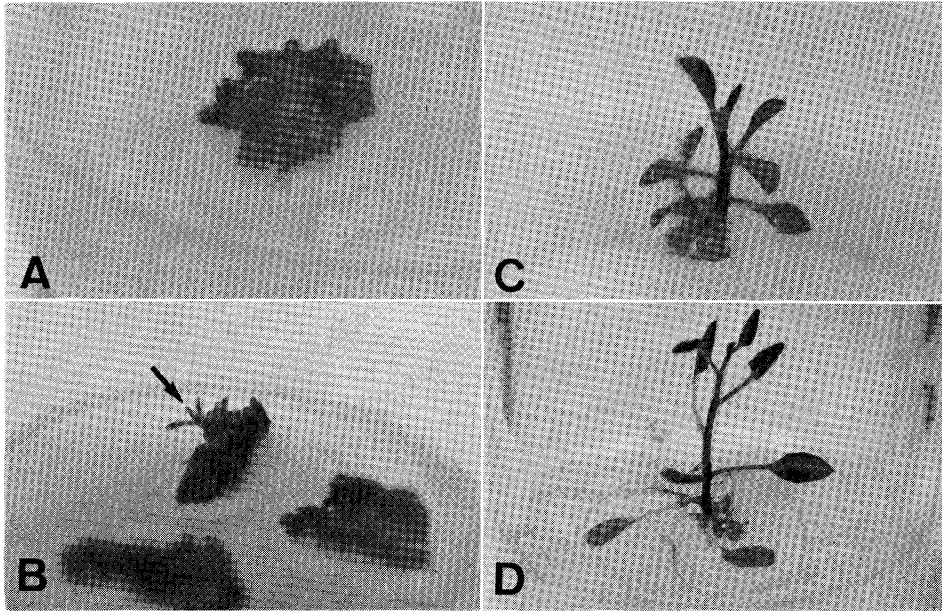


Fig. 1. Callus induction and plant regeneration from leaf-explants of pepino, *Solanum muricatum*. A) Callus induction in surrounding area of leaf-explants (7 days after incubation). B) Differentiation of callus tissues into shoots (arrow) (30 days after incubation). C) Development of leaflets (40 days after incubation). Incubation in A to C was carried out on Murashige-Skoog (MS) medium supplemented with 0.05 mg/l IAA and 0.5 mg/l BAP. D) Initiation and elongation of normal roots when shoots were transferred to MS medium where plant hormones were replaced with 0.3 mg/l IAA and 0.01 mg/l BAP (10 days after transfer).

Table 2. Effect of IAA and BAP on root initiation in shoots redifferentiated from callus tissues of pepino leaf-explants.

Concentrations (mg/l) of BAP	Concentrations (mg/l) of IAA							
	0.30	0.35	0.40	0.45	0.50	0.55	0.60	0.65
0.01	r ^a	ar ^b	ar	ar	ar	ar	ar	ar
0.02	ar	ar	ar	ar	ar	ar	ar	ar
0.05	ar	ar	ar	ar	ar	ar	ar	ar
0.07	ar	ar	ar	ar	ar	ar	ar	ar
0.10	ar	ar	ar	ar	ar	ar	ar	ar

^a Differentiation and normal growth of roots.

^b Differentiation of abnormal, adventitious roots.

約10日間早く shoot の形成が観察された。また、2,4-D とカイネチンを含む MS 培地で誘導した上述のカルスについても、IAA と BAP を添加した MS 培地に移植し同様の実験を行ったところ、葉外植片の場合とほとんど同様の結果を得たが、0.1mg/l の IAA にそれぞれ 1.0、1.5 および 2.0mg/l の BAP を加えた3通りの培地では shoot 形成は観察されなかった。以上のことから、ペピーノの shoot 形成には IAA と BAP をそれぞれ 0.05 と 0.5mg/l および 0.01 と 1.0mg/l を添加した MS

培地が適していると判断した。

つぎに、shoot 形成後の発根誘導に関して植物ホルモンの及ぼす影響を検討した。発根誘導は、小葉分化後約10日後に Table 1 のすべての実験区において観察されたが、正常な根は IAA と BAP を 0.05 と 0.5 および 0.01 と 1.0mg/l とした場合にのみ形成された。しかしながら、このような場合も形成された根の伸長は不良で土壌への移植は不可能であった。そこで、発根誘導およびその伸長に適した培地条件を検討するため、IAA と BAP

の濃度を変更し, shoot の培養をさらに継続した (Table 2). この場合, 正常な根の形成が観察された濃度区は 0.3mg/l の IAA と 0.01mg/l の BAP を添加したときのみで (Fig. 1-D), 他の実験区およびホルモンフリーの MS 培地で培養した場合には, すべて不定根が形成された。しかしながら上記のホルモン濃度区で根を 2~3 cm に伸長させたあとホルモンフリー培地に移植した場合には, さらに根の伸長が促進され, 土壌移植までの培養日数を短縮することが可能であった。以上のようにして育成した再生植物体については, 土壌に移植しても良

好な生育を示すことが判明した。

文 献

- 1) 伊藤祐司, 梶浦一郎, 1985. 農業および園芸, 60 : 1283-1286.
- 2) 高橋 基, 1985. “有望野菜のつくり方” (清田勇編), p. 112-120, 農山漁村文化協会, 東京.
- 3) 北 宜裕, 高橋 基, 1985. 昭和60年度日本園芸学会秋期大会講演要旨集, p. 162-163.
- 4) Murashige, T., F. Skoog, 1962. *Physiol. Plant.*, 15 : 473-497.

Summary

Callus Induction and Plant Regeneration from Leaf Explants of Pepino

Hideyoshi TOYODA*, Ryuzo SHOJI*, Kazuyuki CHATANI* and Nobuhiro KITA**

* Faculty of Agriculture, Kinki University, Kowakae 3-4-1, Higashiosaka 577, Japan

** Kanagawa Horticultural Experimental Station, Ninomiya 1217, Ninomiya-machi, Nakagun, Kanagawa 259-01, Japan

Plant regeneration from pepino leaf-explants was investigated in the present study. Rapid formation of shoots was observed when explant-derived callus tissues were incubated on a Murashige-Skoog medium containing 0.05mg/l IAA and 0.5mg/l BAP for a month. Initiation and elongation of normal roots were observed when shoots were transferred to the medium where plant hormones were replaced with 0.3mg/l IAA and 0.01mg/l BAP.