

カラタチの上胚軸ならびに根部からの植物体の再生

平松純子・榎本末男*・大山勝夫*

広島県果樹試験場

(〒729-24 広島県豊田郡安芸津町三津 2835)

*農業生物資源研究所細胞育種部

(〒305 茨城県筑波郡谷田部町観音台 2-1-2)

(1986年7月21日受付)

(1987年1月21日受理)

組織培養の園芸への利用の一つとして, *in vitro* でのクローン増殖があり, 種々の植物で研究が進み, 果樹の分野ではリンゴ¹⁾, ブドウ²⁾ですでに実用化の段階に至っている。カンキツにおいては, その実生組織は高い不定芽形成能を持つことが報じられている^{3,4)}。わが国カンキツの主要台木であるカラタチは, 従来種子で繁殖されてきたが, 実生に低率ながら変異が生ずること, 種子の大量入手が必ずしも容易でないことなどから, 組織培養による *in vitro* での増殖が考えられる。この面では Matsumoto and Yamaguchi ら⁵⁾が, カラタチの実生を培養し, その茎と根の境界附近に不定芽と不定胚の形成を認めた報告にとどまっている。そこで, 本報ではカラタチの実生組織の部位による特質を明らかにし, これまでに効率よく不定芽を分化させ, 植物体にまで育成する条件を見出したので報告する。

カラタチ (*Poncirus trifoliata*) の種子を剥皮し, 70% エタノールに数秒, 1% アンチホルミンに15分浸漬して滅菌した。その後, 滅菌水で3回洗浄し, ホルモン無添加の Murashige and Skoog (MS) 培地⁶⁾に播種した。これを28℃, 暗所で2週間育成し, 約40mmに生育した実生を材料とした。培地は Edriss ら³⁾の用いた MS 培地 (ショ糖濃度5%, 寒天濃度1%, pH5.8) を使用し, 培養条件は28℃, 照度3000luxの12時間日長とした。

ホルモン組成と不定芽分化との関係 6-benzylamino-purine (BA) 0, 0.1, 0.5, 1.0, 5.0, 10.0 mg/l と 2-naphthalene acetic acid (NAA) 0, 0.1, 1.0, 10.0 mg/l を相互に組合わせた24種類の培地で, 芽は切り除き約10mmの長さに調整した上胚軸と根部をそれぞれ外植片として培養を行った。その結果, カルス形成と発根に

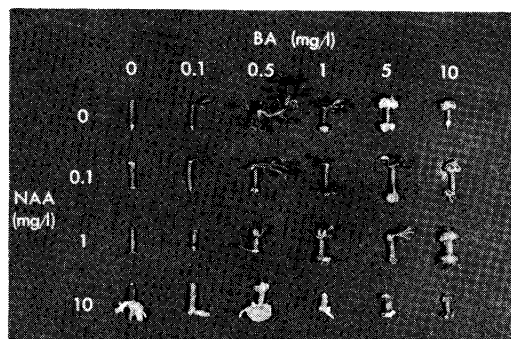


Fig. 1. Response of trifoliate orange epicotyl segments to varying BA and NAA concentrations.

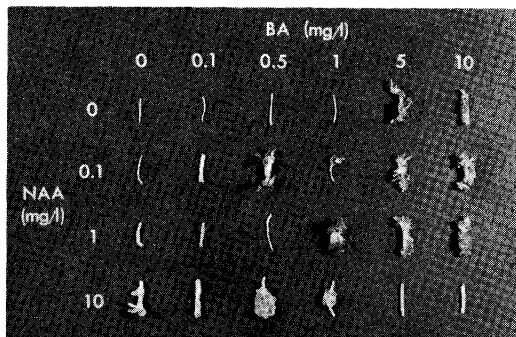


Fig. 2. Response of trifoliate orange root segments to varying BA and NAA concentrations.

ついては, 上胚軸, 根ともに同様な傾向を示し (Fig. 1, 2), カルス形成は BA 0.5 mg/l + NAA 10.0 mg/l, 発根は NAA 10.0 mg/l のみを含む培地で旺盛であった。

一方, 不定芽の形成は上胚軸, 根のいずれの外植片でも認められたが, 分化部位, 発達状態の点で差異があっ

た。上胚軸では、BA 0.5mg/l+NAA0~0.1mg/l を含む培地において、切断面から1~4芽が分化し、シュートへと生育した。しかし、根では同様なホルモン濃度でも、不定芽を分化するのみで、シュートへと生育する事例は見られなかった。

また、BA~10mg/l+NAA 0~1mg/l を含む培地において、上胚軸では切断面から多数の不定芽が分化したが (Fig. 3), 側面からの分化はきわめて少なかった。これに対し、根においては切断面と側面から同時に不定芽が多数分化した (Fig. 4)。しかし、同一培地上で培養を

継続した場合は、不定芽の分化は進むが、その伸長は認められなかった。そこで、不定芽を分化した外植片を、BA 0.5mg/l を含む培地に移植したところ、シュートへと生育した。次いでシュートを基部で切断し、NAA 0.5mg/l を含む培地で培養したところ、容易に発根し完全な植物体へ生育した。

上胚軸および根部の各部位と不定芽形成能との関係

上述の実験で不定芽形成の旺盛であった培地を用い、部位による不定芽形成能を調査した。上胚軸と根は長さ10mmの切片とし、子葉からの距離別に培養を行った

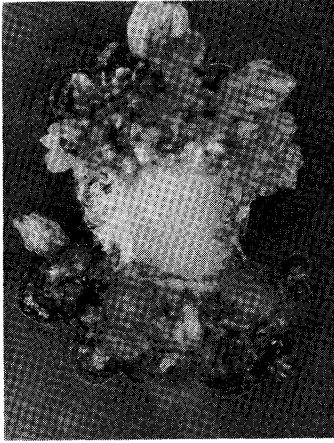


Fig. 3. Adventitious buds formed on the cut end of an epicotyl segment. The segment was cultured on the medium containing 10 mg/l BA + 0.1 mg/l NAA.



Fig. 4. Adventitious buds formed on the cut end and the side of a root segment. The segment was cultured on the medium containing 10 mg/l BA + 0.1 mg/l NAA.

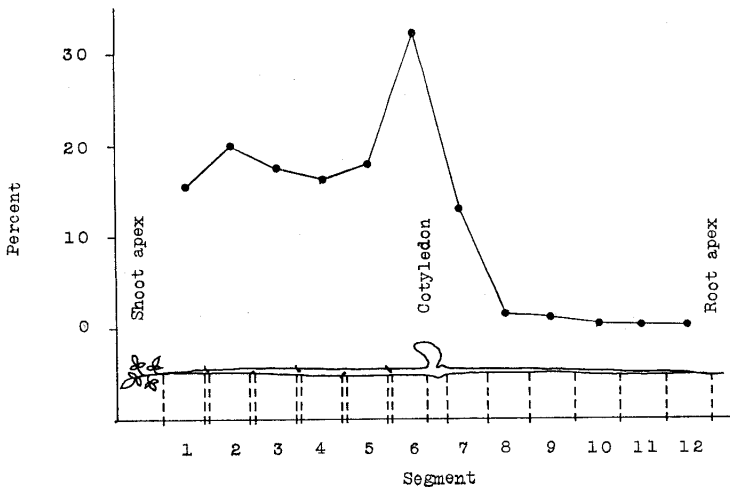


Fig. 5. Relation of the position of the seedling to the bud-regeneration potential. The segments for culture were 10mm long.
 Percent = $\{(\text{segment with bud}) / (\text{segment cultured})\} \times 100$.

(Fig. 5). その結果、不定芽形成は上胚軸においてはどの部位でも認められたが、子葉に最も近い segment 6 で顕著であった。また、根部においても同様に、子葉に最も近い segment 7 で不定芽形成率は高かった。しかし、根部では不定芽形成率は全般に低く、先端に近い segment 10~12 では、まったく分化は認められず、この点上胚軸と著しく相異していた。

以上のことより、カラタチの不定芽誘導には、ホルモンの組合せは BA 5~10 mg/l + NAA 0~1 mg/l, 外植片の採取部位は子葉近傍の上胚軸が適しており、この条件により in vitro で効率よく増殖できることが明らかとなった。

文 献

- 1) 石原愛也, 1980. 農業及び園芸, **55** (10): 1216-1222.
- 2) 笹原宏之, 多田邦雄, 井理正彦, 竹田泰平, 田崎三男, 1981. 園芸学会雑誌, **50** (2): 169-175.
- 3) Edriss, M. H., D. W. Burger, 1984. Sci. Hortic., **23**: 159-162.
- 4) Grinblat, U., 1972. J. Am. Soc. Hortic. Sci., **97** (5): 599-603.
- 5) Matsumoto, K., H. Yamaguchi, 1983. Jpn. J. Breed., **33** (2): 123-129.
- 6) Murashige, T., F. Skoog, 1962. Physiol. Plant., **15**: 473-497.

Summary

Plant Regeneration from Epicotyl and Root Segments of Trifoliate Orange (*Poncirus trifoliata*)

Junko HIRAMATSU, Sueo ENOMOTO* and Katsuo OYAMA*

*Fruit Tree Experiment Station of Hiroshima Prefecture, Akitsu-cho,
Toyota-gun, Hiroshima Prefecture, Japan*

* *Department of Cell Biology, National Institute of Agrobiological Resources,
2-1-2, Kannondai, Yatabe, Tsukuba, Ibaraki 305*

Adventitious buds were easily obtained from epicotyl and root segments of trifoliate orange cultured on Murashige and Skoog medium containing 5-10 mg/l BA + 0-1 mg/l NAA. Epicotyl segments adjacent to cotyledonary node showed the highest potential in bud-regeneration whereas root segments showed lower or no bud-regeneration.