

# 組織培養したマルメロシュートの発根と定植

青木 央

## Rooting Response of Quince (*Cydonia oblonga* Miller) Shoot to TFIBA (4,4,4-Trifluoro-3-(3-Indolyl) butyric Acid) and Conditioning Culture of the seedling for the Field Test

Hiroshi Aoki

### 要 旨

マルメロ (*Cydonia oblonga* Miller) の冬芽から組織培養によって誘導したシュートを発根させ、定植させることに成功した。発根剤は4,4,4-トリフルオロ-3-(3-インドリル)酪酸 (4,4,4-Trifluoro-3-(3-Indolyl) butyric Acid, TFIBA) が有効であることがわかった。

### 1. 緒 言

マルメロはバラ目ナシ科マルメロ属一属一種の果樹である。マルメロはリンゴやナシのような品種改良の歴史がないので、大量育種という意味では、組織培養の技術を用いることが方法のひとつである。カリンと近縁種なので、のど飴などの菓子や飲料、食品加工の利用などができる。さらに、ポリフェノールやサポニンといった機能性の成分も含有しており、ここ南北海道地域での栽培と利用が期待できる果樹のひとつと考えている。

これまでに、WP培地を用いてマルメロの冬芽から切り出した無菌組織を培養し、シュートを伸長させることに成功しており<sup>1)</sup>、さらに、このシュートを、一葉差しを応用した節部切片培養で大量に増殖させる方法も確立した。<sup>2)</sup> これらの研究の過程で課題となっていたのは、確実な発根の方法である。それまでにも、発根に成功した株がいくつか現れていたもので、無菌状態から野外に定植させる実験を進めるとともに、ここでは、発根誘導のオーキシンを各種検討した過程を追って、結果的に、4,4,4-トリフルオロ-3-(3-インドリル)酪酸 (4,4,4-Trifluoro-3-(3-Indolyl) butyric acid, TFIBA) が有効であったことの知見を得たので報告する。



写真1 TFIBAで発根させたマルメロのシュート  
アグリポットの中にパーミキュライトを入れて、養生してある。TFIBAの場合は、ヒゲ根の数が多く出現することが特徴である。

### 2. 試験方法

#### 2.1 発根条件の検討

BAPを含むWP培地にて節部切片培養によって得られたマルメロのシュートを、各種の発根誘導剤を含む発根用のWP培地 (寒天0.8%, ショ糖2%, pH5.7) に移植し、室温23°C, 湿度50%, 16時間日長 (40W蛍光灯9本) にて培養した。発根誘導剤として、インドール酢酸 (3-Indoleacetic

Acid, IAA), ナフチル酢酸 (1-Naphthylacetic Acid, NAA), インドール酪酸 (Indol-3-butyric Acid, IBA), インドール乳酸 (DL-Indol-3-lactic Acid, ILA), 5,6-ジクロロインドール酢酸 (5,6-Dichloro-3-indoleacetic Acid), 3,6ジクロロ-2-メトキシ安息香酸 (3,6-Dichloro-2-methoxybenzoic Acid, Dicamba), ナフチルアセトアミド (1-Naphthylacetamide, NA), 2,4-ジクロロフェノキシ酢酸 (2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid),  $\beta$ -ナフトキシ酢酸 ( $\beta$ -Naphthoxyacetic Acid, NOA), 4-クロロ-2-メチルフェノキシ酢酸 (4-Chloro-2-methylphenoxyacetic Acid), 4-クロロインドール-3-酢酸 (4-Chloroindol-3-acetic Acid, CIAA), 4,4,4-トリフルオロ-3-(3-インドリル), 酪酸 (4,4,4-Trifluoro-3-(3-Indolyl) butyric Acid, TFIBA), その他, ベンジルアミノプリン (6-Benzylaminopurine, BAP) を試した。このとき仮根を切って, 培地に差込植えをする場合と, そのまま株植える場合を試験している。また, 0.5%溶液に漬けてから移植する漬差しも試した。

### 2.2 順化と鉢上げ

発根に成功した株は, ヒゲ根が伸びきり, 瓶底で巻き上がる前に, アグリポット (IWAKI) にパーミキュライトを入れた滅菌ポットへ移植, ほぼ一ヶ月間養生した。その後, 滅菌した挿し木用土 (商品名みどり, 森産業株) を入れた長鉢4号に植替え, 同様のグロースキャビネット (サンヨー, MLR-350H) で育成した。新梢が生長したら室内 (年間最高室温34℃, 最低室温3℃, 昼間平均室温20.4℃, 最高湿度74%, 最低湿度18%, 昼間平均湿度39.7%) に開放した。その後, 観葉植物の培養土を入れた長鉢7号, 10号と鉢を変え育成した。ハイポネックス (5-10-5) 1000倍~2000倍希釈溶液を適宜与えた。

### 2.3 定植

マルメロの苗木の高さが約90~100cmになったところで, 当センターの敷地内に3株を植えた。定植地については, あらかじめ土壌のpHを差込式土壌酸度計 (株竹村電機製作所) で測定し, 適地を決めた。

施肥は, 特に施していない。最初の越冬に関しては, 積雪による倒木を避けるため, 除雪を行った。二冬目は, 枝を藁紐にて軽くまとめ上げた。

春先, 虫の駆除が必要な場合は, ピレスロイド系薬剤を用いた。また, 苗木の保護のため, 角材3本で添え木をした。

表1 マルメロの発根株の取得状況

発根誘導剤	条件など	取得株数
インドール酢酸 (IAA)	1.0, 0.1mg/l	-
ナフチル酢酸 (NAA)	0.2mg/l	-
インドール酪酸 (IBA)	0.1mg/l, 0.5%漬差し	-
インドール乳酸 (ILA)	0.5%漬差し	-
5,6-ジクロロインドール酢酸	0.2, 0.1, 0.05mg/l	-
3,6-ジクロロ-2-メトキシ安息香酸 (Dicamba)	0.2~0.005mg/l	1株 (0.01mg/l) 差込植え
ナフチルアセトアミド (NA)	0.5%漬差し	2株
2,4-ジクロロフェノキシ酢酸 (PA)	0.1mg/l, 0.5%漬差し	-
$\beta$ -ナフトキシ酢酸 (NOA)	0.2, 0.1, 0.05mg/l	-
4-クロロ-2-メチルフェノキシ酢酸	0.2, 0.1, 0.05mg/l	-
ベンジルアミノプリン (BAP)	0.4, 0.2, 0.1mg/l	14株 (0.4, 0.2mg/l)
4-クロロインドール-3-酢酸 (CIAA)	0.2, 0.1, 0.05mg/l	3株 (0.2, 0.1, 0.05mg/l)
4,4,4-トリフルオロ-3-(3-インドリル) 酪酸	0.2, 0.1, 0.05mg/l	4株 (0.05, 0.1 mg/l)
(TFIBA)	0.05mg/l (追試)	8株

表2 TFIBAとCIAAの発根試験の状況

誘導剤\濃度	0.05 mg/l	0.1 mg/l	0.2 mg/l	備考
TFIBA	2株/2株中	2株/2株中	0株/2株中	0.1mg/lで発根が最初
CIAA	1株/2株中	1株/1株中	1株/2株中	黄変が出る。

表3 TFIBA (追試) による培養日数と発根率

培養日数	51日	62日	65日
発根成績	6株/9株 (67%)	7株/9株 (78%)	8株/9株 (89%)

\*4,4,4-トリフルオロ-3-(3-インドリル) 酪酸 (TFIBA) の濃度 0.05mg/l

## 3. 結果

表1に, 各種の誘導剤を試験した場合の発根株の取得状況についてまとめた。最初に発根が確認されたDicambaの場合は, 仮根部を切って差込植えをした場合であったが, その後, 再現性に乏しかった。また, ナフチルアセトアミドの場合も0.5%溶液に漬差しという方法で2株得られているが, 発根率はよくなかった。むしろ, シュートの伸長に用いるベンジルアミノプリン (BA) を含有する培地に長期放置したため偶発的に発根する株の取得数が14株という結果が出ているが, 発根率は低い。最終的には, CIAAとTFIBAという発根誘導剤を見つけること (表2) ができた。CIAAは発根率がよいが, 黄変が出る欠点がある。一方, TFIBAの場合は0.1mg/mlの濃度での発根を確認したのが最初で, 成績もよく, 表1最下段に示したように0.05mg/mlでの再現性も良い。ただし, 全て仮根の付いたままで株植えた場合のみで, 先端部切り落としの上, 差込植えをした場合 (TFIBAは5株, CIAAは6株) は, 発根しなかつ

た。発根までの期間は、概ね2ヶ月程度かかるが、80%程度の高い発根率を得られた。(表3)さらに、誘導される株は、ヒゲ根の数が多く、TFIBAは、優れたオーキシンであることがわかった。(写真1)

ショ糖の濃度を变化させて、発根させる方法<sup>3)</sup>も報告されているようであるが、マルメロの場合は1.0%、0.5%、0.25%と変化させても、発根期間が短縮あるいは、促進されるということは無いようである。また、マルメロは、BAPとTFIBAを混入した培地を調整し、シュートの伸長と発根を同時に行うことは、難しい品種であるようだ。

発根したシュートを鉢上げしたときに、一部枯れが出るのが観察されるが、一ヶ月後に再び新梢が発生する。この後、グロースキャビネットから出して室内に開放すると、順調に伸長する。このとき、側枝は出現しない。

野外に3株を定植したのは2000年9月である。この3株は、ベンジルアミノプリンにより発根した株を用いており、長鉢10号に鉢上げした株を用いた。(写真2, 3)

苗木は、冬を前に葉を枯らすが、概ね平均温度10℃以下で、4℃前後の日が続くと落葉するようである。翌年の春から、側枝を伸ばしてくる。(写真4)

樹形は、外気による刺激を受けることが大事で、室内で育てても、一般的に野外で見受けられるような樹形にはならない。2002年7月の様子を写真5に示した。防虫、駆除の必要が出たときは、ピレスロイド系の薬剤としては、ピレトリン(商品名パイベニカ、武田薬品)が使用できた。基本的な栽培法としては成書<sup>4)</sup>が参考になった。

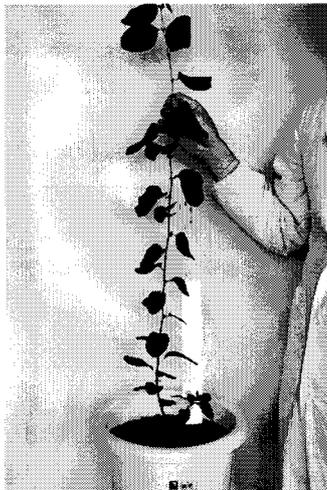


写真2 定植前のマルメロ  
長鉢10号植え。伸長約90cm程度ある。



写真4 定植後、翌年春のマルメロ  
側枝が伸長を始めている。

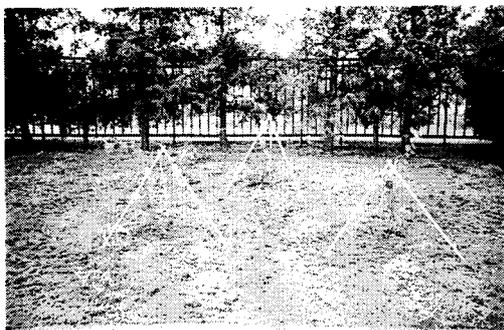


写真3 定植後のマルメロ  
3株を定植した。左側は、2本のシュートを持つ。中央奥側は、一本シュート。右側は一本シュートであるが、既に一箇所枝分かれている。

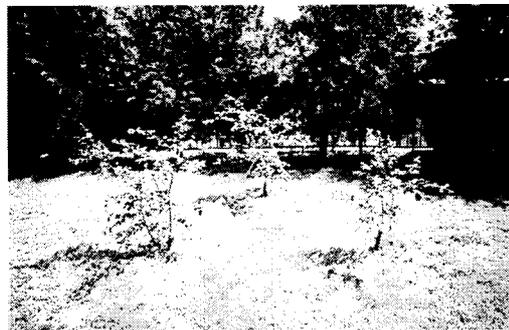


写真5 定植後2年を経たマルメロ

#### 4. 考 察

マルメロの場合は、組織的な品種改良の取り組みがないので、組織培養の技術を利用して、優良品種の育成などに結びつくことを期待している。

マルメロの組織培養による増殖では、成長点の無菌的な切り出し方法と、発根方法に技術的な検討課題があり、あとは、既に報告されている基礎技術をそのまま適用できる品種であると考えられる。CIAAやTFIBAの同時検討については、ニチニチソウ、サツキ、ブドウの挿し木と組織培養されたイチゴについての報告がある。<sup>5)</sup> ここでもイチゴの発根にTFIBAは、2カ月程度要するとある。TFIBAは、名古屋工業技術試験所<sup>6)</sup>で開発された新しいオーキシンであり、今後も応用例が報告されることだろう。

現時点では定植した苗木が果実をつけるのかどうかといった問題や樹木の寿命などの課題も残されていると思うが、このような植物組織培養の基礎技術の適用が整備されたことは、マルメロの育種にとって、応用できるバイオテクノロジーが格段に広がったことを意味しており、社会的同

意の問題も解決されれば、地域に特徴ある品種として大きな発展に結びつくことであると考えられる。

#### 参 考 文 献

- 1) 青木央, 大坪雅史, 宮崎俊一: 北海道立工業技術センター研究報告, 第5号 (1998), P35-37
- 2) 青木央, 大坪雅史, 宮崎俊一: 工業技術連絡会議, 東北・北海道地方部会研究論文集, 第13号 (2001), P143-146
- 3) 山田康之, 岡田吉美編: 植物バイオテクノロジー, 現代化学増刊5, 東京化学同人(東京), (1986), P47
- 4) 野原敏男, 山口作英, 丸岡孔一, 岩谷祥造: 北海道の庭植え果樹づくり, 北海道新聞社(札幌), (1990), P139-141
- 5) 庄子和博, 吉原利一: 電力中央研究所報告(我孫子研究所), U96021 (1996), P1-16
- 6) 片山正人: 植物の化学調節, Vol.32, No.1 (1997), P60-73