

カリンの組織培養に関する研究

— 茎頂培養による増殖 —

九州東海大学農学部 平田 哲也・香西 護
戸田 義宏

1. はじめに

カリン (*Chaenomeles sinensis* KOEH.) は、バラ科ボケ属の落葉性高木であり、ジャム、ゼリー、果実酒などの食品や、咳止めなどに用いられる。また、樹形が美しいことから庭木や街路樹としても利用されている。このようにカリンは加工用や生薬、緑化樹など多方面で注目され、近年種苗としての需要が高まりつつある。

カリンの繁殖は、種子繁殖が中心であり挿し木などの栄養繁殖は困難とされている¹⁾。このような有性(種子)繁殖では後代の形質が分離することから、優良個体の増殖や維持には無性繁殖による増殖が望まれる。

現在、多くの植物で優良個体の増殖法として組織培養によるクローニング技術が導入されており、リング等に代表される一部の木本性果樹において、茎頂培養による増殖が一般的になろうとしている²⁾。

そこで筆者らは、カリンを対象に茎頂培養法による増殖を試み、in vitro 増殖における適性培養条件の検討を行ったので報告する。

2. 材料及び方法

実験には、九州東海大学の実験圃場内で生育させた5年生のカリンの新梢を4月下旬に採取し供試した。

殺菌は、70%エタノールで1分間、次にTween20を滴下した1%アンチホルミン液でスターラーで回転させながら14分間処理した。次に、滅菌水で3回洗浄し実体顕微鏡下で茎頂(0.5mm)をメスにて摘出し、培地に置床した。

初代培養には、MS (MURASHIGE & SKOOG 1962) と、WP (LLOYD & Mc COWN 1981), B5 (GAMBORG 1968), BT (CHALPA 1984) の各培地を基本に、BA (6-Benzylaminopurine) をそれぞれ0, 0.5, 1.0, 2.0mg/ℓ添加した培地を用いた。

また、培地内支持物による生育を検討するため、寒天法とペーパーウィック法の比較を行った。

次に、継代培養は初代培養で得られたシュートを、

BAを1mg/ℓとGA₃ (Gibberellic acid) をそれぞれ0, 0.1, 0.5, 1.0, 2.0mg/ℓ添加したBT培地に移植した。

この継代培養により増殖したシュートはBTを基本培地とした寒天とペーパーウィックの培地にそれぞれIBA (3-indolebutyric acid) を0, 0.1, 0.5, 1.0, 5.0mg/ℓ添加した発根培地に置床した。培地にはショ糖を20g/ℓ、寒天を7g/ℓ添加してPHを5.8に調整した。

培養環境は、温度を24±2℃に設定し照度3000Luxの16時間日長条件である。

3. 結果及び考察

培養開始1ヶ月後のシュート形成については、表-1に示すように、それぞれの培地でBAを添加することによりシュートの生長がみられ、無添加では生長が見られず、カリンの初代培養においてはサイトカイニンの添加が好ましいと考察される。また、BAを1.0mg/ℓから2.0mg/ℓ添加した条件で生存率やシュート生長は共に良好な値を示した。適性基本培地にはBTが良く、特に寒天培地において生存率やシュート生長が良好であった(表-1)。

初代培地で得られたシュートはロゼット状を呈している、そこでGA₃を添加して茎の伸長実験を試みた。その結果GA₃を添加することにより、シュートの伸長とシュートの増殖が高まる傾向がみられた(表-2)。

さらに、シュートの増殖を高めるため、回転培養器による液体培地と2層培地を用いて、寒天培地との比較をおこなった(表-3)。1本当たりのシュート数は寒天では2.5本/month., 液体では2.2本/month., 2層では6.1本/month.の増殖率を示し、2層培地が寒天と液体培地よりも優れた結果を示した(図-1)。

伸長したシュートの先端を約1cmの大きさに切断し、BTを基本培地としたIBAを含む培地に置床して発根の促進を試みた。なお、この実験には培地支持物による発根差を検定するためペーパーウィックと寒天を試みた。ペーパーウィック培地ではシュート切断部が培地液面に直接するように調節した。

結果は、培養後40日目にペーパーウィック培地でIBAを添加した条件で発根がみられたが(図-3)、発根数は低く何らかの方法を試みる必要がある。

今回の実験では、増殖中の個体にビトリフィケーションや発根に問題が残る。しかし、カリンの茎頂培養による増殖は可能であり、GA₃を添加することによりシュートの伸長が促進され、さらに2層培養法により容易に増殖することが明らかになった。今後は、さらに発根率を高め、自然環境への馴化過程とビトリフィケー

表-1 カリンの茎頂培養からのシュート形成

培地	BA (mg/l)	培養数	生存数	生存率 (%)	平均シュート長 (mm)
ペーパーウィック					
MS	0	30	0	0	0
	0.5	28	6	21.4	0.8
	1.0	30	8	26.7	1.7
	2.0	30	6	30.0	1.4
WP	0	30	0	0	0
	0.5	30	10	33.3	2.1
	1.0	30	18	60.0	2.5
B5	0	30	0	0	0
	0.5	30	12	40.0	1.6
	1.0	29	18	62.1	3.5
BT	0	30	0	0	0
	0.5	29	14	48.3	2.4
	1.0	28	19	67.9	3.0
寒天	0	30	0	0	0
	0.5	29	14	48.3	2.4
	1.0	28	19	67.9	3.0
B5	0	30	2	6.7	1.3
	0.5	30	14	46.7	2.7
	1.0	30	20	66.7	3.6
BT	0	30	1	3.3	1.0
	0.5	30	15	50.0	3.1
	1.0	30	21	70.0	4.1
BT	0	30	1	3.3	1.0
	0.5	30	15	50.0	3.1

表-2 継代培養におけるGA₃の効果

ホルモン	BA (mg/l)	GA ₃ (mg/l)	培養数	生存数	1本当りのシュート数 (本)	平均シュート長 (mm)
	1.0	0	20	13	1.1	9.2
	1.0	0.1	25	16	1.6	10.7
	1.0	0.5	25	17	2.3	10.0
	1.0	1.0	24	15	2.4	9.8
	1.0	2.0	20	11	1.9	9.3

ション防止対策を検討する必要がある。

引用文献

- (1) 小崎 格：果樹苗生産とバイオテクノロジー，pp. 232, 博友社，東京，1990
- (2) 上原敬二：樹木大図説，II，pp. 449, 有明書房，東京，1959
- (3) VISEUR, J.: Acta Hort., 212, 117~124, 1987

表-3 培地によるシュート増殖の差異

培地 ¹⁾	培養数	生存数	1本当りのシュート数 (本)	1本当りのシュート長 (mm)
寒天	32	27	2.5±1.5	6.5±4.0
液体	20	20	2.2±0.8	10.5±4.7
2層	20	20	6.1±2.0	9.1±2.8

¹⁾ BT培地に1.0mg/l BAと0.5mg/l GA₃添加

表-4 発根に対する培地条件の影響

培地	IBA (mg/l)	培養数	生存数	発根数
ペーパーウィック	0	20	18	0
	0.1	20	18	0
	0.5	20	20	0
	1.0	20	20	3
	5.0	20	20	1
寒天	0	20	12	0
	0.1	20	17	0
	0.5	20	12	0
	1.0	20	15	0
	5.0	20	9	0



図-1 2層培養で得られたシュート



図-2 シュートからの発根