

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 14 日現在

機関番号：11101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26660018

研究課題名(和文)種子内接ぎ木技術の実用化

研究課題名(英文)Practical application of grafting in seed

研究代表者

原田 竹雄 (Harada, Takeo)

弘前大学・農学生命科学部・客員研究員

研究者番号：10228645

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：園芸作物における接ぎ木栽培は土壌病害抵抗性の台木を使用するなどの大きな利点がある。しかし、穂木と台木の生育を揃えた苗の準備と限られた時間内での接ぎ木作業は大変な労力を要する。そこで、穂木の茎頂分裂組織を含む子葉と台木の子葉を接着させたハイブリッド子葉種子を作製することで、キュウリの幼芽とカボチャの台木が生育する接ぎ木済みの発芽苗を獲得できた。子葉を固定する接着方法(接着剤の種類と量)をどのようにすれば、ベストであるかを詳しく検討する必要がある。いずれにせよ、最終的には全行程を画像解析装置を備えたロボットによる作業化で実用技術となるものと判断された。

研究成果の概要(英文)：Grafting is a very useful cultivating techniques in horticulture plants. However, the preparation of respective nursery plants as scion and rootstock, which should be equally grown, and the grafting operation during a limited period spends great labor for farmers.

I could make a hybrid cotyledon seed which grow up a grafted nurse of scion cucumber with rootstock pumpkin by engrafting of a cucumber cotyledon containing its shoot apex tissue and a pumpkin cotyledon containing its root. Although it is necessary to find out the best method for the engrafting, robotization of this seed grafting process would make practicable in horticulture.

研究分野：植物分子育種学

キーワード：接ぎ木 種子 キュウリ ウリ科 接ぎ木苗

1. 研究開始当初の背景

根の表面積は地上部のそれよりも100倍以上と見積もられていて、その膨大な容量の根毛が水分や無機栄養素などを吸収しており、The Hidden Half としての根系の重要性が再認識されている。一方、接ぎ木は約4000年前から中国の柑橘栽培で行われていたとの記録がある。その当初の目的は、優良個体の維持や早期開花性を付与する点にあったが、より優れた根系を発揮する台木種の存在が次々と明らかにされ、それを優先的に使用する接ぎ木栽培が採用されてきた。例えばキュウリでは台木としてカボチャが使用されているように、台木となる根部と穂木となる地上部は異なるゲノムからなる近縁植物体であり、接ぎ木はそれぞれの優れた能力を有する2種の植物体をコラボワークさせる栽培法となる。永年性の木本植物における接ぎ木個体の価値は実に大きいものがあるが、トマト、ナス、キュウリなどの1年生の農作物にも接ぎ木栽培が採用されているのは、土壌病害耐性などの台木を使用することで穂木の生産性を大きく向上できることにある。

接ぎ木技術は、イネ、コムギ、トウモロコシなどの禾本科やダイズなどのいわゆる主要農作物では全く採用されていないが、その理由は、禾本科の苗における接ぎ木の困難性や、ダイズは接ぎ木可能な幼苗体であるが、接ぎ木苗を準備して広大な畑にそれを移植するのは現実的ではないことにある。そこで、主要農作物に対して画期的な接ぎ木技術が開発されれば、優れた根系を有する台木種を直ちに活用できることになり、大幅な生産性の向上が実現できることになる。

2. 研究の目的

木本植物の場合の接ぎ木は、一般に春先のまだ休眠状態にある苗木間で行う。すなわち、細胞活性がほとんど無い時期に接ぎ木面を密着固定しておき、休眠明けに伴い細胞が再活

性化する時点で完全癒着を成立させる。一方、種子は吸水による発芽にいたるまでは、生理学的には休眠状態にある。また、種子においては既に根(幼根)が存在している。そこで、種子の幼根を入れ換えるかたちで接ぎ木を行うことを着想した。ダイズ乾豆における種子内の幼根を他の品種のものと取り換えて、切断面を密着しておき、1カ月後に吸水発芽させたところ、密着面が癒着した個体が生育できた。このことから、休眠状態にある乾燥種子の幼根を別の種子の幼根で入れ換えて、発芽させることによる接ぎ木技術を発案、この手法を画像認識テクノロジーによる自動ロボットで実行することになれば、ダイズはもとより、イネ、コムギ、トウモロコシなどの禾本科の主要農作物に対しても接ぎ木技術を提供できる可能性がある。そこで、現在、接ぎ木が栽培にとりいられているメロンおよびキュウリ・カボチャ間での種子内接ぎ木を検討した。

3. 研究の方法

メロンは品種‘ハニーゴールドン’の種子を果実より採種して、これを用いた。また、株式会社ときわ研究場より購入した、キュウリ品種‘ときわ333’を穂木、カボチャ種子‘ときわパワーZ2’を台木として、幼芽部組織を入れ換える方法を検討した。

4. 研究成果

メロン種子の実験：穂木品種と台木品種のそれぞれの種子において将来の下胚軸上部となる幼根部位で切断し、台木品種の切離幼根を穂木となる種子のその切離跡に切断面を完璧にフィットさせることは、顕微鏡下の観察から、手作業では相当な困難性があることが判った。そこで、セルフでの接ぎ木、すなわち、一つの種子で切断した幼根を切除跡に戻して密着させた場合、切断面が癒着するかを試みた。セロテープ固定では水分による粘着

度が低下し固定力が無くなった。パラフィルム巻き付では5日間固定後には癒着されたと判断されたが、幼根の伸長は観られなく、また、スポンジによる圧着でも5日後の根の伸長は無かった。一方、パラプラスチック（高純度のパラフィン：融点56℃）にて接ぎ木点を包埋固定した場合、約20%の確率で癒着および成長が確認された。しかし、接ぎ木面から不定根が形成される場合も見られたことから（図1）、この形成を起こさせない条件が求められた。このように、セルフではある条件下で種子内接ぎ木が成功することから、メロンでは接ぎ木面を完全に揃えるように切断面を形成できれば、異なる品種間でも種子内接ぎ木は可能と考察された。



図1 メロン種子内接ぎ木による接ぎ木点からの不定根形成（矢頭）。

キュウリ穂木・カボチャ台木の接ぎ木は世界的に実行されており、メロンより接ぎ木苗の需要は大きい。また、種子も大きく、種子内接ぎ木の施術もメロンに比べて容易であることから、キュウリ穂木・カボチャ台木間での種子内接ぎ木法を検討した。実体顕微鏡下でキュウリの幼芽部位を、加工した注射針で摘出し（図2）、MS培地上で無菌的に培養したところ、植物体への成長した（図3）。

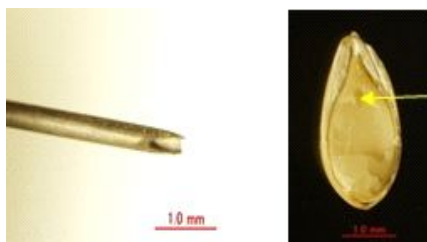


図2 茎頂部摘出に使用した注射針（左）と茎頂部摘出したメロン種子（右）。



図3 摘出した茎頂片培養の培養2週目（左）と5週目（右）。

そこで、茎頂摘出片を台木カボチャ茎頂摘出跡に置き換える手法を試みた。自作の専用メスを使用してカボチャの種皮の一部を剥ぎ、さらに上部側の一部子葉組織（約2.0 mm×3.5 mm）を切除したところ、約0.7 mm長の頂芽が観られた（図4）。

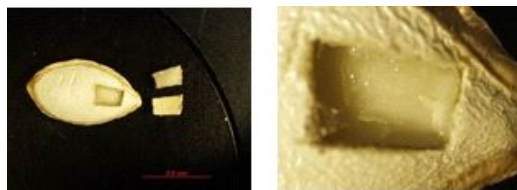


図4 カボチャ種子茎頂組織を摘出するための施術（左）と観察される茎頂組織（右）。

この頂芽片を加工注射針にて切除して、その切除跡に、キュウリ種子幼芽部の摘出同組織片の両端を極微量の接着剤などを使用して入れ込んだ。その後、切除した子葉片と種皮を元の部位に戻して、サージカルテープで固定するなどした。施術種子を発芽・生育させたところ、ほとんどは、茎頂組織は癒着することなく、キュウリ穂木の成長が認められなかったが、50個体に3個体ほどには無処理にはやや遅れるものの、生育が観られたため、さらに鉢上げしたところ、本葉の展開が認められた。しかし、キュウリとカボチャのアクチン遺伝子の制限酵素多型によるゲノム解析から、生育した穂木はいずれもカボチャであると判定された。

このように、カボチャおよびキュウリの幼芽組織片の摘出は容易であるが、キュウリ幼芽組織片をカボチャの幼芽部切除跡に切断面

が密着するように納めることには困難性があった。しかし、高精度のロボットによる作業が実現すれば、この方法による種子内接ぎ木が可能となるとの感触を得た。

穂木とするキュウリの幼芽組織片は微小で比較的柔らかいことから、取り扱う作業には困難性があった。そこで、幼芽部位を子葉ごと入れ換える方法を試みた。カボチャ種子の片側の子葉剥いで、幼芽部が残された側の幼根上部をカミソリ刃で直線の切れ目を入れ、幼芽を含む組織を切除した。その切断面にキュウリの幼芽部を含む子葉の下部でカットした子葉の切断面を密着しその両端を微量接着剤にて固定した。この施術カボチャは切除したカボチャ種皮を元の位置に戻して、サージカルテープで固定した(図5)。



図5 カボチャとキュウリのハイブリッド子葉種子(左)と種皮を戻した状態(右)。

これらの施術種子を吸水・発芽させたところ、カボチャとキュウリの両子葉が生育して、キュウリの子葉基部から幼芽が生育し、本葉が展開した後、カボチャ子葉の切除により穂木をキュウリとすることができた(図6)。



図6 成長したハイブリッド子葉種子(左)とカボチャ子葉を切除した接ぎ木個体(右)。

ハイブリッド子葉種子を作製することで、キュウリ穂木、カボチャ台木の種子内接ぎ

木体を生育させることができたが、カボチャの子葉をどのタイミングで切除すべきかを検討する必要がある。図6の例では切除が遅く、カボチャ子葉の旺盛な生育のためキュウリ側の生育が負けているように観える。また、敢えてカボチャの子葉をそのままに残すことも可能と判断された。その場合には、カボチャ子葉の生育が旺盛にならないように、初めからその子葉の半分を切除しておく方法も考えられた。さらに、子葉を固定する接着剤の種類、最良の塗布法を詳しく検討する必要がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕なし

○出願状況(計1件)

名称：種子を利用した接ぎ木による農作物の栽培方法

発明者：原田竹雄

権利者：弘前大学

種類：特許

番号：PCT/JP2013/080086

出願年月日：2013.11.7

国内外の別：国内および 国際

○取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等 <http://www.ag-s-p.com/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

原田竹雄 (HARADA Takeo)

弘前大学、農学生命科学部、客員研究員

研究者番号：10228645

(2) 研究分担者

なし