

平成22年 3月 31日現在

研究種目：基盤研究 (B)  
研究期間：2007～2010  
課題番号：19380023  
研究課題名 (和文) シロイヌナズナ側根発生システムの解明に基づく果樹マイクロ挿し穂の発根改善  
研究課題名 (英文) Improvements in rooting of microcuttings of fruit trees by applying the findings in development of lateral roots of *Arabidopsis thaliana*  
研究代表者  
鉄村 琢哉 (TETSUMURA TAKUYA)  
宮崎大学・農学部・准教授  
研究者番号：00227498

研究代表者の専門分野：農学  
科研費の分科・細目：農学・園芸学・造園学  
キーワード：果樹、発根、マイクロ挿し穂

#### 1. 研究計画の概要

(1) マイクロ挿し穂の発根に及ぼす根発達培地の影響；カキ栽培品種や台木系統、ニホンナシ栽培品種、ハイブッシュ系やラビットアイ系のブルーベリーなどの茎頂培養系の確立している果樹マイクロ挿し穂を用い、ゲルライトにバーミキュライトを混合した根発達培地の有効性について実験し、発根率、側根形成率、鉢上げ成功率などを調査する。対照としてはゲルライトのみ、バーミキュライトのみの培地を用いるが、ゲルライトとバーミキュライトの混合比率については、4：5を基本とするものの、材料によってはその比率の検討を行う。また、本実験はニホングリ栽培品種およびマンゴー、ライチ、ストロベリー、グアバなどの熱帯果樹のマイクロ挿し穂を用いても行うが、これらの果樹については茎頂培養系そのものが確立していないので、まず外植片の *in vitro* 導入、そして増殖の手法を確立してから行う。さらに上記の果樹を用い *in vivo* での実験すなわち挿し木を行い、挿し床の種類が発根率や発根した根の形状に及ぼす影響についても調査する。

(2) シロイヌナズナの側根形成に関する変異体のスクリーニングおよび変異体の遺伝子構造の解析調査；種子への EMS 処理により主根の成長や側根の形成に変異を起こしたシロイヌナズナ M2 系統群の側根形成変異に関する2次スクリーニングを行う。その後、得られた変異体の自殖を行い、変異の固定を試みる。固定できた系統は、遺伝子構造の解析をノッティンガム大学のベネット教授に依頼し、側根形成に関わる新たな遺伝子がないかどうか探査する。

#### 2. 研究の進捗状況

(1) カキ栽培品種のマイクロ挿し穂を3種類 (ゲルライトのみ、ゲルライトとバーミキュライトの混合、バーミキュライトのみ) の根発達培地で発根させたが、一定した傾向が見られなかったため、‘太秋’マイクロ挿し穂を用い、ゲルライトとバーミキュライトの混合比を様々な設定した根発達培地に植え付ける実験を行った。その結果、発根能力の低い‘太秋’マイクロ挿し穂は、従来の混合培地よりもゲルライトの割合を高めた培地において、ゲルライトのみやバーミキュライトのみの根発達培地よりも発根率や側根形成率が高くなった。一方、同様の培地を用い、発根能力の高いカキわい性台木1系統の発根実験を行ったが、バーミキュライトの根発達培地への添加は、発根率や側根形成を改善しなかった。その後、新たな2系統のマイクロ挿し穂を用いて発根実験を行ったが、‘太秋’マイクロ挿し穂の発根に最適であった混合比においても発根率等の向上は認められず、カキについてはクローン間差が大きいことが確認された。

ニホンナシ栽培品種のマイクロ挿し穂を上記3種類の根発達培地で発根させたところ、多くの品種で混合培地での発根率が高くなり、同時に側根発生率も高くなり、クリやクルミなどと同様の結果になった。ただし、そのような傾向を示さない品種 (‘幸水’) やどの培地でも発根しない品種 (‘長十郎’) も存在したため、これらの品種に関しては発根処理方法そのもの改善が必要だと思われる。そこで‘長十郎’マイクロ挿し穂については発根促進剤であるオーキシンの処理濃度を2倍にしたところ発根させることに成功

し、根発達培地での実験を行えることができた。その結果、発根能力の低い5品種のマイクロ挿し穂は混合培地での発根率が上がるが、発根能力の高い‘幸水’マイクロ挿し穂は培地間の発根率の差がなくなることが明らかとなった。ただし、鉢上げ成功率に差異は認められなかった。一方、本実験における発根率は、今までの研究報告に比べ全体的に低かったため、この培地の改良を目的とした実験を行った結果、発根能力の低い‘豊水’マイクロ挿し穂において、基本培地を1/2MWから1/2WPに変更することにより発根率が高まった。一方1/2MSは発根率を改善しなかった。発根能力の高い‘幸水’マイクロ挿し穂は基本培地の違いにより発根率が変化することはなかったが、根系の発達は1/2WPが優れた。

ハイブッシュ系とラビットアイ系のブルーベリーのマイクロ挿し穂は3種類すべての根発達培地において、ほぼ100%の発根率と十分に発達した根系を示した。これはブルーベリーが発根し易く、根が非常に細いため、どの培地でも屈曲しながら根が伸長していくことが原因だと推察された。このような細根を持つ植物、すなわち草本性植物に近いものは、従来の寒天培地で発根処理しても何ら問題でないと考えられた。

ニホングリ栽培品種、マンゴー、ライチ、ストロベリーグアバの茎頂培養を開始した。ストロベリーグアバは外植片の定着に成功しなかったが、ニホングリ、マンゴーやライチは成功し、特にマンゴーについては効率的な増殖が行え、発根実験に供試できるだけのシュートを揃えることができた。側根の発生とエチレンとの関係を調べるため、根発達培地の入った容器内のエチレンの増減を測定するためのGCを購入し、分析を行っている。

また屋外での挿し木に関する実験では、クリの挿し穂を種々の培土で挿し木したが、全体的に発根率が低く、発根処理方法等の改善が必要だと考えられた。

(2) EMS処理した種子を用い、側根多形成系統や側根未形成系統のスクリーニングを行った。その結果、側根多形成系統について変異体を見つけ、M5植物まで得ることができ、形質を固定することができた。一方、側根未形成系統については選抜することが非常に難しく、側根少形成系統のスクリーニングを行うことに変更した。しかしそれでも、成長の劣る系統が多く、種子の採取に困難をきたした。時間がかかったものの、M5~M6植物まで得ることができ、形質を固定することができ、側根多形成系統と共にベネット教授へ供与する準備ができた。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

多くの種類の果樹マイクロ挿し穂を実験に供試することができた。また、計画にはなかったエチレンとの関係を調査する準備を整えることができた。シロイヌナズナの実験に関してはスクリーニングに時間がかかってしまったが目的とする種子が得られた。一方、挿し木の実験は小規模でしか行えなかった。

4. 今後の研究の推進方策

(1) 茎頂培養系を確立できた果樹マイクロ挿し穂について、混合培地の有効性を確認する。また、根発達培地フラスコ内のエチレン濃度を測定し、側根発生との関係を明らかにする。  
(2) シロイヌナズナ側根形成変異体の種子をベネット教授に分与し、解析を依頼する。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計3件)

① Takuya Tetsumura, Kazumi Irishima, and Chitose Honsho. Development of *in vitro* root system from microcuttings of fruit trees. Combined Proceedings International Plant Propagators' Society. 査読無. Vol. 58. 2009. 474-477.

② Takuya Tetsumura, Yasuyo Matsumoto, Makiko Sato, Chitose Honsho, Kensuke Yamashita, Haruki Komatsu, Yasuhiro Sugimoto, Hisato Kunitake. Evaluation of basal media for micropropagation of four highbush blueberry cultivars. *Scientia Horticulturae*. 査読有. Vol. 119. 2008. 72-74.

<http://hdl.handle.net/10458/2763>

[学会発表] (計4件)

① 鉄村琢哉・石村麻美・愛甲優瑞美・江口奈々・甲斐由利加・本勝千歳、ニホンナシ栽培品種のマイクロ繁殖における基本培地と発根培地の再検討、園芸学会平成21年度秋季大会、平成21年9月27日、秋田大学手形キャンパス

② T. Tetsumura, S. Haranoushiro, C. Honsho. Improvement of rooting of cuttings of a dwarfing rootstock for kaki and its micropropagation. IV International Symposium on Persimmon, Nov. 10, 2008. Faenza, Italy.

③ 鉄村琢哉・入嶋和美・本勝千歳、果樹マイクロ挿し穂の *in vitro* での根系発達、国際植物増殖者会議日本支部第15回茨城大会、平成20年10月18日、つくば国際会議場