

カキ平核無未熟胚の組織培養

石田雅士・*稲葉昭次・傍島善次

MASASHI ISHIDA, AKITSUGU INABA and YOSHITSUGU SOBAJIMA

In Vitro Culture of Young Embryo in Hiratanenashi Persimmon

要旨 カキ平核無の偽単為結果性を明らかにするために、開花時に受粉を行った果実について、開花後60日目に種子の発育状態を調べた結果、非常に変異性に富み、胚がハート型まで発達したものは、未熟種子中約31%であった。未熟種子のハート型の胚をMS培地でオーキシシン2.0mg/lおよびベンジルアデニン0.2mg/lに調整したカンテン培地上で、平核無幼植物が98%の確率で得られた。

緒言

カキ平核無は、わが国で代表的な栽培品種であり、一般に単為結果性の強い品質優良な渋ガキであると認められている。傍島ら¹⁾は平核無の単為結果性について組織学的に検討を加え、また受精胚を組織培養することによって幼植物を得たことから、平核無は偽単為結果性の形質をもつことを明らかにした。すなわち、平核無受粉果の胚珠の一部は、正常で、受精胚は球状あるいはハート型まで生長するが、胚乳細胞の分裂異常によって、胚乳組織が崩壊するために種子の生長が不完全となり、種子が発育途中で退化する原因の一つであると指摘した。そこで今回は受精胚から幼植物を得るに当たって培養組織のオーキシシンおよびサイトカイニンの適正濃度について実験を行い、平核無の偽単為結果性について、更に検討を加えることを目的とした。

材料および方法

京都府立大学農学部附属農場栽植の約27年生の平核無成木を供試し、開花時に禅寺丸の花粉を用いて400個の花に人工授粉を行った。開花60日後に200個の果実から未熟種子を取り出し、種子長を測定した。別に種子長10~15mmの種子200個を選び、アンチホルミン有効成分0.6%溶液で20分間殺菌後、無菌的に未熟胚を取り出し、Murashige, Skoog (MS) の培地²⁾に

インドール酢酸 (IAA) およびベンジルアデニン (BA) を、それぞれ0.2mg/l、2.0mg/lの2段階に変えた培地、計4区に50個の未熟胚を試験管中の培地上に植え、その後胚の生長過程を28°C、16時間5,000Lux下で観察した。

結 果

開花60日後に受粉果200個から種子を取り出し、種子長を調べた結果は第1表に示した。すなわち種子長により6つのTypeに大別することが出来た。なお6Typeの状態は第1図に示した。受粉果200個からの総種子数は661で、その内CTypeが最も多く31.3%を占めた。ついでBType、DTypeの順であった。

Table 1. Variation of immature seeds taken out of 200 growing fruits of 60 days after pollination.

Variation	Length	Number	Percentage
A Type	0~5 mm	45	6.8%
B Type	5~7	169	25.6
C Type	7~10	207	31.3
D Type	10~15	156	23.6
E Type	15~20	82	12.4
F Type	20~25	2	0.3
Totality		661	

京都府立大学農学部果樹園芸学研究室
Laboratory of Pomology, Faculty of Agriculture,
Kyoto Prefectural University, Kyoto, Japan

※現在岡山大学農学部
昭和55年7月28日受理



Type A. B. C. D. E. F.

Fig. 1. Growing status of immature seeds taken out growing fruits of 60 days after pollination.



Fig. 2. The status of seed coats in degradation of C type seed (60 days after pollination).

F Type は僅か2個にすぎず、富有ガキの未熟種子と同程度の大きさまで生長していたが、胚の発育は途中で停止しており、小さい反面、胚乳は比較的良好に発達した種子であった。C Type の種子は一部胚が球状ま

Table 2. Occurrence of young seedling obtained from culture of heart-shaped embryos of 60 days after pollination in various media.

Media	IAA	BA	Successful number	Seedlings
	0.2mg/l	0.2mg/l	8	16%
	2.0	0.2	49	98
	2.0	2.0	22	44
	0.2	2.0	25	50

で発育したものが散見されたが、胚乳の発育が悪く、第2図に示したように種子の基部半分が黒変しているものが50%余り含まれていた。

つぎに D Type の種子は胚がハート型まで発育しており、この未熟種子から胚を取り出し、MS 培地基本成分の他に IAA と BA をそれぞれ 0.2 mg/l, 2.0 mg/l に調整した培地上に胚を植付け、培養後25日目に観察した結果を第2表ならびに第3, 4, 5および6図に示した。すなわち植付け後の胚の発育は IAA 2.0mg/l BA 0.2mg/l の区で最も良好な自然に近い状態で、最終的には幼植物が49本得られた。これに対して IAA 2mg/l BA 2mg/l の場合は、未熟胚は脱分化を起こして、カルス化する場合が多かった。

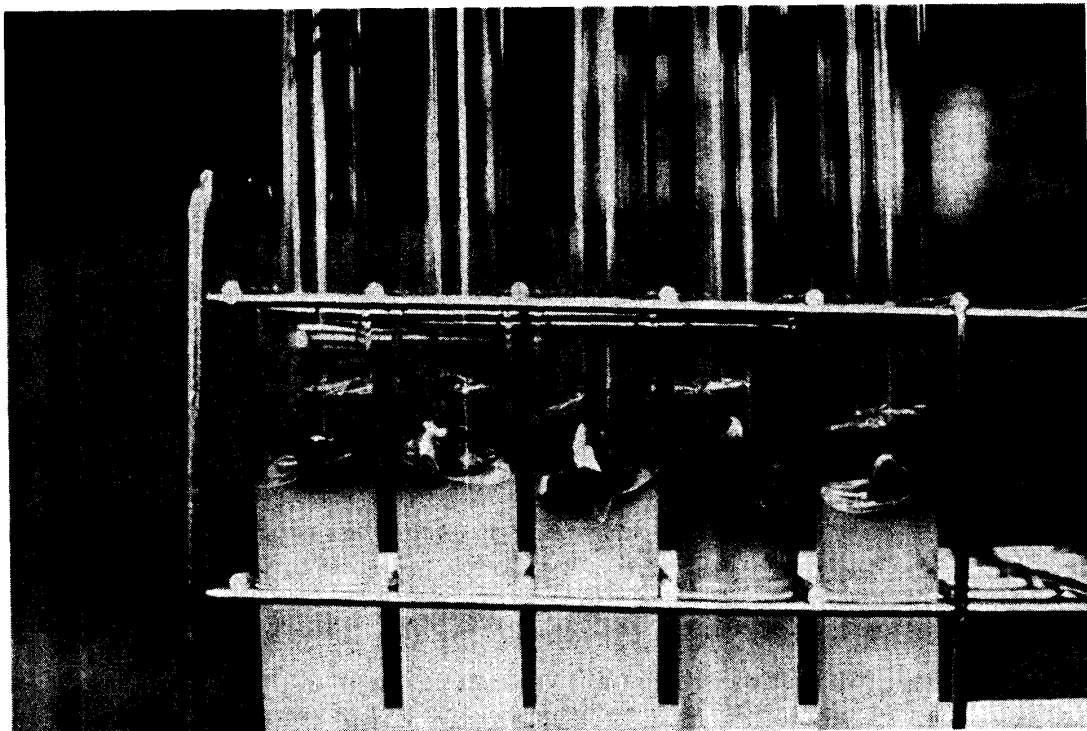


Fig. 3. Development of young plant from isolated immature embryo of Hiratanenashi 25 days after planting on medium containing IAA 2.0mg/l and BA 2.0mg/l.

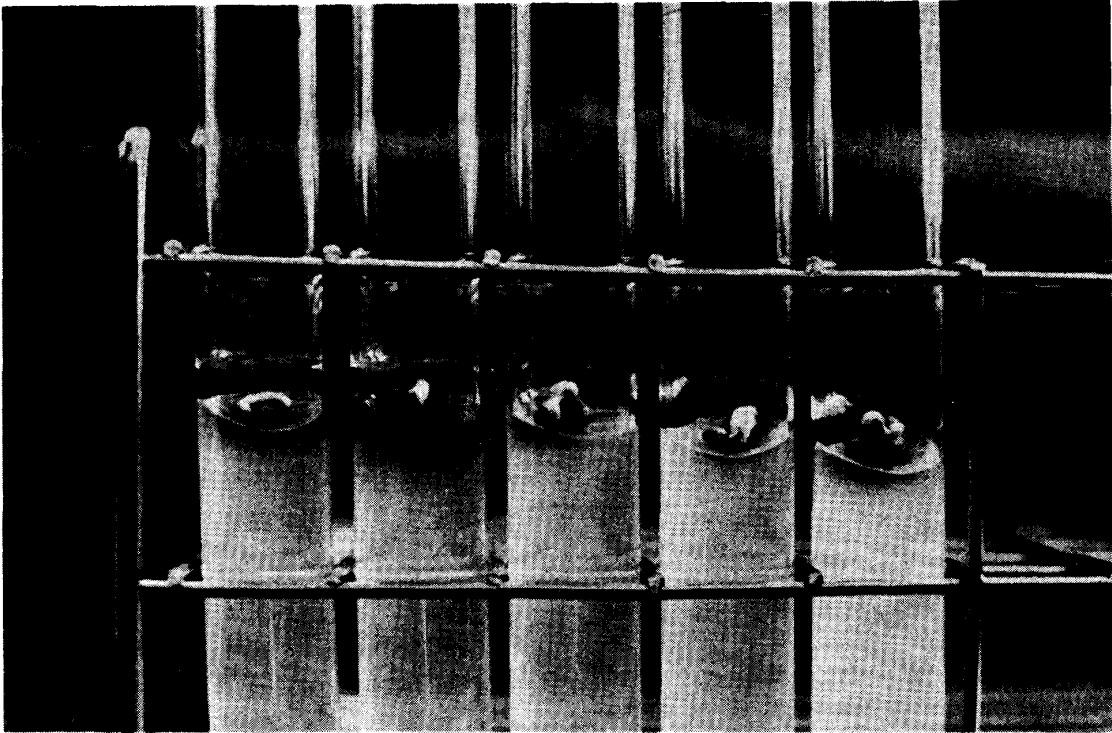


Fig. 4. Development of young plant from isolated immature embryo of Hiratanenashi 25 days after planting on medium containing IAA 0.2mg/l and BA 2.0mg/l.

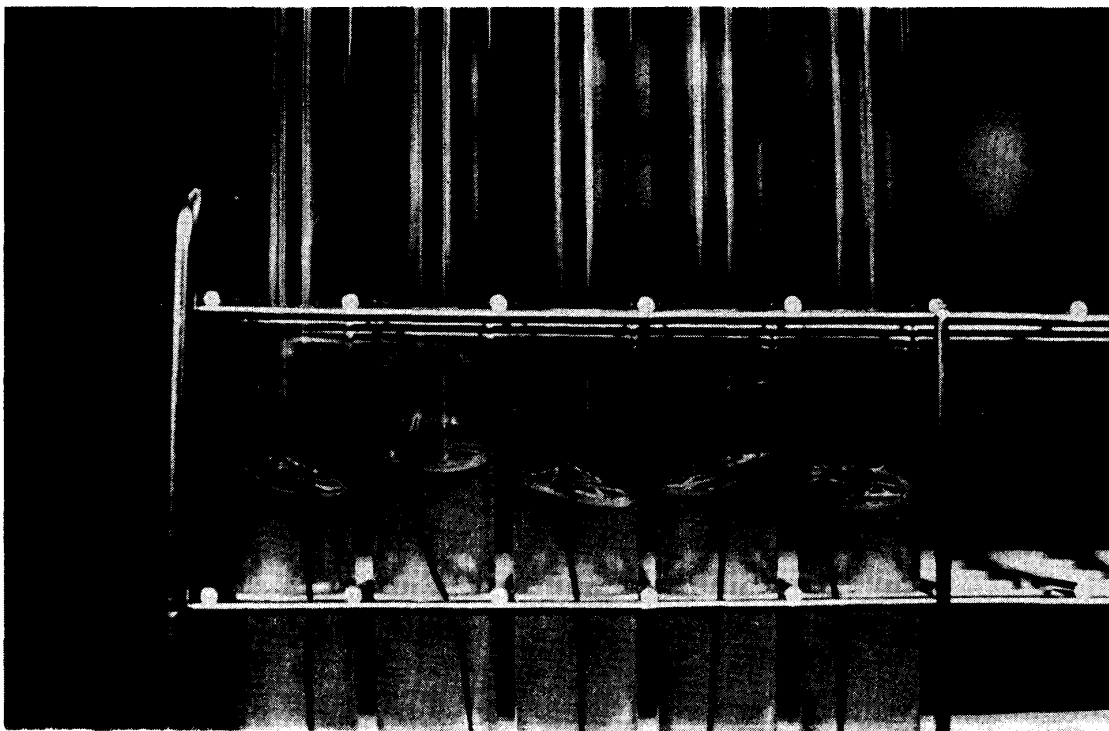


Fig. 5. Development of young plant from isolated immature embryo of Hiratanenashi 25 days after planting on medium containing IAA 0.2mg/l and BA 0.2mg/l.

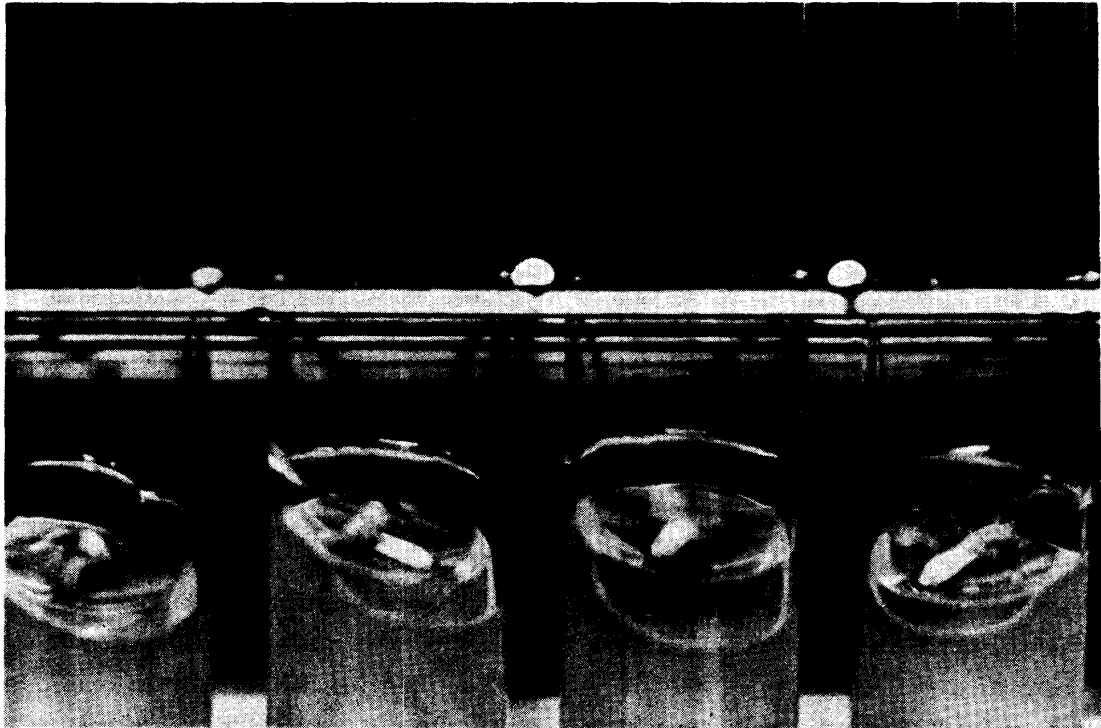


Fig. 6. Development of young plant from isolated immature embryo of Hiratanenashi 25 days after planting on medium containing IAA 2.0mg/l and BA 0.2mg/l.

IAA 0.2mg/l の場合は、いずれも根の誘起ならびに生長を促した。

考 察

平核無果実は単為結果性をもつ一方、偽単為結果の形質をもつことは、傍島ら¹⁾の研究からも明らかである。しかしながら開花60日後の未熟種子の生長を調べると、その形質はかなりの変異に富んでいることが判明した。すなわち6 Typeに分けることが出来たが、A TypeとB Typeは種子中に胚が肉眼的に認められなかったことから、無受精の可能性が大きいように思われた。C Typeは胚が球状まで発達しているものが一部認められたが、種皮の基部半分が黒変しているものが半数近くあり、胚乳の発達も異常であるものが、かなり存在するものと考えられる。このことは筆者らの胚乳細胞の崩壊退化が種子の生長不完全となると指摘した点とよく一致した結果であった。E, F Typeの種子は比較的胚乳の発達は良好であったが、胚がほとんど認められなかった。つまりD Typeの種子のみすべて胚はハート型まで発達しており、胚乳もかなり発達していたが、全体の種子の大きさは、比較的小さかった。

以上のことから、平核無の偽単為結果と種子の発育との関連性を考えてみると、本来カキは4心皮、8子室で200個の果実中には1,600個の胚珠が存在するが、開花60日まで発育する種子数は、その約1/3弱であり、

少なくとも受精が行われたと思われるD Typeの種子は156個で未熟種子中23.6%である。すなわち受粉果2個中に受精胚が平均1個理論的に存在することになる。したがって受精胚が初期の果実発育に寄与しているのは事実であるが、具体的に果実の着果をどの程度良好ならしめているかが偽単為結果との関係で重要な点となるものと考えられる。しかし本来平核無は単為結果性が強いと考えられているので、この点さらに詳細な研究が必要であろう。単為結果性についてはPearsonら³⁾はブドウの無核種で受精しなくても珠心や珠皮がある程度まで発育すると指摘しており、平核無についても、このような観点から種子の発育を調べる必要があると思われる。

つぎに胚培養の結果については、カンキツ類で堀内ら⁴⁾が指摘しているように、カキにおいても胚がハート型まで発達した時期、すなわち開花後60日ごろが適切な時期であり、とくに平核無においては開花後70日を過ぎると、すべての種子は退化するので、開花60日前後が唯一の培養適期であった。培養組成については、MS培地で幼植物を得るには、IAA 2.0mg/l, BA 0.2mg/lが最も適当な条件であり、とくにIAA濃度が低い場合は根の誘起を促し、BA濃度が高い場合は芽の分化が良好であったのは、Skogら⁵⁾のタバコカルスから幼植物を得た場合と同様の結果であり、非常に興味ある問題であった。今後本実験の結果にみられ

るとおり、平核無の未熟胚の培養によって幼植物を得たことから、胚培養利用によるカキ育種への発展も考えられると思われた。

引用文献

- 1) 傍島善次・石田雅士・稲葉昭次(1975): カキ果実の発育に関する研究(第2報)平核無の種子の発育不全について, 園学雑, 44, 1-6.
- 2) Murashige, T., and Skoog, F. A. (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant* 15, 473-497
- 3) Pearson, H. M. (1932) Parthenocarpy and seed abortion in *Vitis Vinifera*. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 29 : 169-175
- 4) 堀内昭作・湯田英二・中川昌一(1976) カンキツ類の胚培養に関する研究(第1報) 園学雑, 45, 253-260
- 5) Skoog, F and Miller, C. O. (1957) Chemical regulation of growth and organ formation in Plant tissues cultured *in vitro*. *Symp. Soc. Exptl. Biol.* 11, 118-131.

Summary

In order to clarify the process of seed abortion of parthenocarpic and pseudo-parthenocarpic Hiranenashi persimmon, the tissue culture of immature embryo was carried.

Immature seeds, 60 days after pollination were divided into the following six different types. A type (0-5 mm. length), B type (5-7 mm.), C type (7-10mm.), D type (10-15mm.), E type (15-20mm.) and F type (20-25mm.).

Embryos isolated from immature seeds were about 23.6% of total seeds examined and such

embryos came only from D type seeds.

The heart-shaped embryos isolating from D type seeds, 60 days after pollination were cultured on MS medium containing various concentration of IAA and BA respectively.

Seedlings from embryo cultivated *in vitro* were obtained successfully 98% on MS medium containing 2.0mg/l, IAA and 0.2mg/l, BA, however the rooting of embryo was better on media containing 0.2mg/l, IAA.