

キウイフルーツ台木用植物(*Actinidia*属植物)の組織培養における 植物生長調節剤の好適濃度

新田 浩通・金好 純子・佐々木 篤

キーワード：キウイフルーツ，マタタビ，サルナシ，組織培養，増殖，発根，順化

わが国におけるキウイフルーツの栽培は1970年頃から始まったが，本県においても，生産過剰基調にあったカンキツ園の転換作物として1985年頃から沿岸島しょ部を中心に取り入れられ，現在の栽培面積は約110haに達している。しかし，本県の沿岸島しょ部地帯は夏季の用水確保が困難な上に，花崗質土壌で耕土がせき薄であり，夏季多量の用水を必要とするキウイフルーツを今後増殖していくには用水の確保など多くの問題がある。また，カンキツ園の改植園のため白紋羽病やネコブセンチュウ等の土壌病害虫による被害も問題となっている^{21,30)}。

これらの問題の解決策として，乾燥土壌への適応台木，あるいは耐病虫性台木などを用いて生産の安定を図る方が望まれるが，これらについての研究は少ない^{2,24)}。当研究所では，1986年からキウイフルーツの耐病虫性台木の探索を進めており，ネコブセンチュウの寄生性について，サルナシとマタタビはキウイフルーツの自根樹や実生樹に比べて寄生性が低いことを報告した²⁰⁾。一方，筆者らは，キウイフルーツの台木研究の一環として，*Actinidia*属植物のもつ有用機能の把握を効率的に行い，さらに育成された優良台木の迅速な普及に役立てるため，器内外植片よりシュート及び発根を誘導する条件について検討してきた。その結果，効率的増殖のための2，3の知見を得たので報告する。

なお，本報告の一部は昭和63年園芸学会中四国支部大会において発表した。

材料及び方法

1) 供試シュートを得るための培養

*Actinidia*属植物としてキウイフルーツ(*Actinidia chinensis* Planch, 供試品種：ヘイワード)，サルナシ(*A. arauta* Planch)，県内林野に自生しているマタタビ(*A. polygama* Miq)を用いた。供試個体を得るため，1986年

8月に，これらの植物の新梢先端部2cmを採取し，70%エタノール液に1分間，0.1%Tween20を添加した1%硫酸8ヒドロキシキノリン液に10分間浸漬滅菌し，さらに，滅菌した脱イオン水で3回洗浄後，生長点及びその近傍を含めて0.7~1.0mmの組織片を摘出し，組織培養を行った。莖頂組織の初代培地は，Murashige & skoogの培地²³⁾を2分の1濃度に希釈した培地(以下，MS1/2培地)にしょ糖3%，寒天0.8%，6-ベンジルアミノプリン(以下，BAP)0.5mg/ℓを加え，pH5.8に調整し，φ30mm×100mmの試験管に10mlずつ分注した後，オートクレーブ(1kg/cm²圧，15分間)で滅菌したものをを用いた。培地に置床した莖頂組織は，25°C，2000Lux，16時間日長下で培養し，30~40日毎に継代した。

2) サイトカイニン及びオーキシン濃度が*Actinidia*属植物のシュート及び根の発生に及ぼす影響

基本培地に添加するBAP及び1-ナフタレン酢酸(以下，NAA)の適正濃度試験に供試する材料は，前期3種の*Actinidia*属植物の莖頂培養で得たシュートを各々1芽ずつ約10mm長に分割したものをを用いた。培地はMS1/2培地に，しょ糖3%，寒天0.8%を添加したものを基本培地とし，BAPを0~10mg/ℓ，NAAを0~10mg/ℓの濃度を組み合わせた16区を設けた。これら培地はpH5.8に調整し，φ59mm×92mmのコニカルピーカーに30mlずつ分注した後，オートクレーブで滅菌した。分割したシュートの置床は，シュート基部約5mmを培地内に埋め込む方法を取り，処理は1区3本5反復とした。培養環境は，莖頂培養の場合と同一とし，30日後のシュート及び根の発生個体割合及び発生本数を調査した。

サイトカイニンの種類及び濃度がシュートの発生に及ぼす影響試験は*Actinidia*属植物3種をBAP及びNAAの添加培地で培養して得たシュートを前項同様に調整し，各処理培地に置床した。供試培地は，BAP，カイネチン，ゼアチン，4-ピニジル尿素(以下，4PU)を各々0.1~10

mg/ℓ ずつ基本培地に添加後、pH5.8に調整したものをを用いた。培養環境や培養期間は前項の試験に準じ、試験は1区10～12本として2反復で行い、培養30日後にシュートの長さ及び発生数を調査した。

3) しょ糖濃度が *Actinidia* 属植物のシュート及び根の発生に及ぼす影響

BAP及びNAAの添加培地で培養した *Actinidia* 属植物3種のシュートを前項同様1芽ずつ10mm長に分割し、各処理培地に置床した。供試培地は、MS 1/2 培地に寒天0.8%を加え、しょ糖濃度を各々0, 2, 5%の濃度で添加後、pH5.8に調整した。試験は1区10～15本4反復とし、培養環境は前項2)の試験と同一条件とし、培養30日後にシュートの長さ及び発生数、根の発生個体割合及び発生数を調査した。

4) オーキシンの種類及び処理方法が *Actinidia* 属植物の発根に及ぼす影響

NAA及びβ-インドール酪酸(以下、IBA)の濃度と処理方法試験は、前項3)と同様にBAPとNAA添加培地で培養して得た *Actinidia* 属植物3種のシュートを用いた。処理区は、MS 1/2 培地にしょ糖5%、寒天0.8%を添加し、pH5.8に調整したものを基本培地とし、これにシュートの基部を埋め込んだA区、NAA又はIBA50mg/ℓ 液にシュート全体を2時間浸漬後に基部を埋め込んだC区、及びD区、NAA区またはIBA2000mg/ℓ 液にシュート全体を5秒間浸漬後に基部を埋め込んだE区、F区と、基本培地にNAA0.1mg/ℓ 添加した培地に、シュートの基部をそのまま埋め込んだB区とを設けた(第2図)。試験は1区33～56個体とし、培養20日後の根の発生個体割合及び発生数、健全個体割合を調査した。なお、健全個体とは、調査時にシュートの伸長と発根があり、薬害による黄化症状のないことを条件とした。

IBA50mg/ℓ 液へのシュートの浸漬時間と発根促進効果試験は、*Actinidia* 属植物3種のシュートをIBA50mg/ℓ 液又は同割合含有の寒天培地中に所定時間浸漬後、寒天0.8%を支持体としたA区、ゲルライト0.2%を支持体としたG区を設けて、しょ糖5%添加し、pH5.8に調整後滅菌したMS 1/2 培地に置床した。なお、処理の方法として、キウイフルーツ及びマタタビはIBA溶液中にシュート全面を所定時間浸漬させる方法を用いたが、サルナシは全面浸漬処理区の茎葉の生長が不良であったことから、IBA溶液に寒天0.7%を添加後、滅菌しゲル化させた培地に、シュートの基部約5mmを所定時間浸漬させる方法を用いた。シュートの置床方法はすべてサルナシの薬液浸漬で用いた方法によった。試験は1区13～15個体とし、培養30日後の発根数及び健全個体割合と、培養40日後の根量を調

査した。なお、健全個体の基準は、前項3)の試験と同一とした。浸漬処理中の室温は17±2℃の範囲内にあった。

IBA濃度試験は、*Actinidia* 属植物3種のシュートを用い、IBA所定濃度の溶液中にシュートの基部約5mmを5秒間浸漬後、前項3)の試験と同一の方法で置床した。試験は1区20～25個体とし、培養30日後の発根数及び健全個体割合、培養45日後の根量を調査した。なお、健全個体の基準は、前項の試験と同一とした。浸漬処理中の室温は18±2℃の範囲内にあった。

5) *Actinidia* 属植物の培養個体の発根量が順化効率に及ぼす影響

Actinidia 属植物3種の不定芽をMS 1/2 培地に寒天0.8%と各種植物の発根に最適なNAA濃度(キウイフルーツ1mg/ℓ、サルナシ0.1mg/ℓ、マタタビ無添加)を添加し、pH5.8に調整した培地で約60日間培養させて供試個体を得た。これらの個体を根量別に3段階に分けて順化容器に移植した。順化容器は、炊事用水切りかご(内径30×22×12cm)に網目1mm間隔の寒令紗を敷き、パーライトとピートモスと砂とを等量に混合し滅菌したものを培土とし、約4ℓ入れた。

試験は、供試個体1区8～11本を移植した順化容器を27℃、8000Lux、16時間日長下に設定した恒温器内(湿度77%以上)に入れ、処理44日後の生育量及び生存個体割合、健苗割合を調査した。なお、健全苗の基準は、順化後の苗長の伸長が認められ、調査時に葉長30mm以上の葉の着生があることを条件とした。また、順化開始時には、各区の供試個体を解体し、茎葉及び根の生重を調査し、処理前の根重及びT/R(茎葉重/根重)比として図中に明記した。

6) オーキシン処理の違いと培養個体の順化効率

試験は、IBA50mg/ℓ 液に5秒、1分、2時間浸漬して得た個体及びIBA濃度100, 500, 1000mg/ℓ に5秒間浸漬して得た個体を用い、発根誘導に用いるオーキシン処理の方法が順化効率に及ぼす影響を調査した。試験は、両試験とも1区8個体ずつ供試した。順化は前項5)の試験と同一の容器を用い、培土は前項5)の試験で用いた培土に炭素系土壌改良資材(商品名: アクティ)を25%容量で混和させたものをを用いた。順化中は25～27℃、8000Lux、16時間日長下の恒温器内に順化容器のふたを外したまま放置した。調査は、IBA処理時間別の試験では順化開始40日後に、IBA濃度別の試験では30日後に行い、生存個体割合及び健苗割合を調査した。

実験結果

1) サイトカイニン及びオーキシン濃度が *Actinidia* 属植物のシュート及び根の発生に及ぼす影響

基本培地に BAP 及び NAA の各濃度を 16通りの組合せで添加した培地で *Actinidia* 属植物を置床し、シュートの発生した個体数を調査した結果、シュートの発生個体割合の高い処理区は、キウイフルーツでは BAP0.1mg/ℓ 単用区及び同濃度と NAA0.1mg/ℓ 添加区、BAP1mg/ℓ 単用区及び同濃度と NAA0.1mg/ℓ 添加区、BAP10mg/ℓ と NAA0.1mg/ℓ 添加区、サルナシでは BAP10mg/ℓ 単用区及び同濃度と NAA0.1mg/ℓ 添加区、ならびに BAP1mg/ℓ 単用区及び同濃度と NAA0.1mg/ℓ 添加区、マタタビでは BAP0.1mg/ℓ 単用区、BAP1mg/ℓ 単用区及び同濃度

と NAA0.1mg/ℓ 添加区、BAP10mg/ℓ 単用区及び同濃度と NAA0.1mg/ℓ 添加区であった。これらの処理区のうち、シュートの発生数の最も多い処理区は、キウイフルーツとマタタビでは BAP1.0mg/ℓ 単用区及び同濃度と NAA0.1mg/ℓ 添加区、サルナシでは BAP10mg/ℓ 単用区及び同濃度と NAA0.1mg/ℓ 添加区であった。

一方、根の発生個体割合の高い処理区は、キウイフルーツでは NAA0.1～1mg/ℓ 単用区、サルナシでは NAA0.1mg/ℓ 単用区、並びに BAP0.1mg/ℓ と NAA0.1又は1mg/ℓ 添加区、マタタビでは両剤無添加区、ならびに NAA0.1mg/ℓ 単用区、BAP0.1又は1mg/ℓ と NAA0.1mg/ℓ 添加区であった。これら処理区のうち、根の発生数の最も多い処理区は、キウイフルーツでは NAA0.1mg/ℓ 単用区、サルナシでは NAA0.1mg/ℓ 単用区、マタタビでは植物生長調節剤の無添加区、ならびに NAA0.1mg/ℓ 添加区であ

第1表 *Actinidia* 属植物のシュート及び根の発生に及ぼす BAP と NAA の影響

添加濃度		キウイフルーツ				サルナシ				マタタビ			
		シュート		根		シュート		根		シュート		根	
BAP mg/ℓ	NAA mg/ℓ	発生個体 割合 *	発生数	発生個体 割合 *	発生数	発生個体 割合 *	発生数	発生個体 割合 *	発生数	発生個体 割合 *	発生数	発生個体 割合 *	発生数
0	0	13.3e	0.1	13.3def	0.1	6.7c	0.1	6.7e	0.1	16.7de	0.2	100a	4.8
0	0.1	13.3e	0.1	80.0ab	3.5	13.3c	0.1	80.0abc	4.8	0e	0	83.3a	4.8
0	1.0	13.3e	0.1	93.3a	5.1	0c	0	53.3cd	2.3	0e	0	22.2c	1.2
0	10.0	0e	0	40.0cde	0.5	0c	0	0e	0	0e	0	0c	0
0.1	0	80.0ab	1.1	6.7ef	0.1	53.3b	0.7	0e	0	94.4a	1.6	50.0b	1.9
0.1	0.1	73.3bc	1.1	46.7cd	0.7	46.7b	0.6	86.7ab	2.9	50.0cd	0.8	88.9a	2.9
0.1	1.0	6.7e	0.1	60.0bc	1.3	0c	0	93.3a	4.3	5.6e	0.1	11.1c	0.9
0.1	10.0	0e	0	20.0def	0.4	0c	0	0e	0	0e	0	0c	0
1.0	0	86.7ab	1.6	0f	0	93.3a	2.5	0e	0	100a	3.5	11.1c	0.1
1.0	0.1	100a	2.1	0f	0	93.3a	3.3	6.7e	0.1	83.3a	2.3	77.8a	1.6
1.0	1.0	16.7d	1.6	13.3def	0.4	0c	0	66.7bcd	3.8	16.7de	0.3	44.4b	2.7
1.0	10.0	0e	0	6.7ef	0.1	0c	0	0e	0	0e	0	5.6c	0.1
10.0	0	46.7cd	0.5	0f	0	100a	3.9	0e	0	50.0bc	1.4	5.6c	0.1
10.0	0.1	93.3ab	1.4	0f	0	100a	4.7	0e	0	77.8ab	1.8	5.6c	0.1
10.0	1.0	40.0d	0.5	0f	0	20c	0.3	33.3de	2.3	22.2de	0.4	0c	0
10.0	10.0	0e	0	13.3def	0.5	0c	0	0e	0	0e	0	0c	0

注) 表中数値は平均値 * : 発生個体割合のみ統計処理を行った。

a～f : ダンカンの多重検定結果 (5%水準) を示し、同一項目の a～f の同一文字間に有意差なし。

った(第1表)。

基本培地に4種のサイトカイニン剤を1ℓ当たり0.1mg(低), 1mg(中), 10mg(高)の3濃度添加してシュートの発生数を比較したところ, 発生数の多かった濃度は, BAP処理の場合キウイフルーツとマタタビでは中間濃度区, サルナシでは高濃度区, カイネチン処理では3植物とも高濃度区, 4PU処理では3植物とも低濃度区, ゼアチン処理では3植物とも高濃度区であった(第1図)。なお, 各処理区におけるシュートの平均長をみると, キウイフルーツ, マタタビではBAP, カイネチン, ゼアチンとも低濃度区で長かった。サルナシは濃度による伸長差が少なく, また, 4PU処理の場合は3植物ともシュートが短くて太い傾向にあった(第1図)。

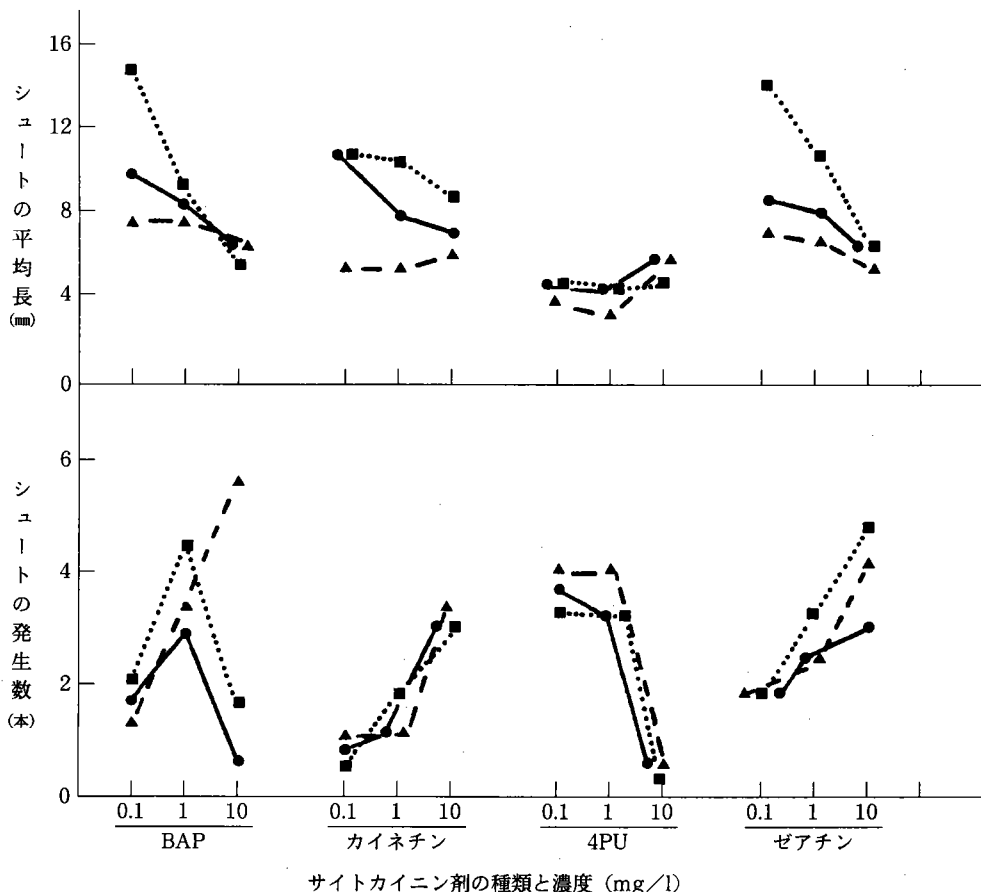
2)しよ糖濃度が*Actinidia*属植物のシュート及び根の発生に及ぼす影響

シュート及び根の発生数は供試した *Actinidia* 属3植物とも, しよ糖添加区が優り, シュートの発生や伸長量において濃度2%と5%との間に差はなかった。

一方, 根の発生個体割合においては, キウイフルーツではしよ糖濃度2%よりも5%の方が有意に高く, 他の2植物も5%区の方が高い傾向にあった。なお, マタタビの根の発生は, しよ糖無添加でも高率にみられた(第2表)。

3)オーキシンの種類及び処理方法が*Actinidia*属植物の発根に及ぼす影響

*Actinidia*属植物の発根促進のため, 育成培地にシュートを置床する前にIBAまたはNAAの浸漬処理を行うが, これらの適性濃度及び時間を検討した。その結果, キウイフルーツでは全区で発根数がやや少ないものの, 発根数や健全個体割合から, 発根促進には3供試植物とも



第1図 シュートの発生に及ぼすサイトカイニン剤の種類と濃度の影響

注) ●—— キウイフルーツ ▲--- サルナシ ■..... マタタビ

第2表 *Actinidia* 属植物のシュート及び根の発生に及ぼすしょ糖濃度の影響

供試植物	しょ糖添加濃度 %	シュート			根	
		平均長 * mm	発生個体割合 ** %	発生数 本	発生個体割合 ** %	発生数 本
キウイフルーツ	0	11.5	12.5b	0.1	2.1c	0
	2	19.6	49.1ab	0.6	19.7b	0.3
	5	17.5	58.0a	0.7	57.6a	1.7
サルナシ	0	10.7	0b	0	5.8a	0.1
	2	15.7	33.3a	0.4	27.9a	0.6
	5	14.3	35.3a	0.4	45.4a	2.9
マタタビ	0	12.7	11.1b	0.1	74.0b	1.4
	2	23.9	41.9a	0.6	98.3a	4.1
	5	22.6	44.8a	0.6	100a	6.3

注) 表中数値は平均値。

* シュートの平均長は培養期間中に発生してきたものを含まない。

** 発生個体割合のみ統計処理を行った。

a~b: ダンカンの多重検定結果 (5%水準) を示し, 同一植物, 同一項目の a~c の同一文字間に有意差なし。

IBA50mg/ℓ 液への2時間浸漬処理が最もよく, 次いで NAA50mg/ℓ 液への2時間浸漬処理がよかった(第2図)。IBA又はNAA2000mg/ℓ 液への5秒間浸漬区は, 葉害による黄化症状やカルス形成等が著しく, 健全個体が少なかった。なお, サルナシの場合, 全面浸漬処理を施すと, 培地内置床部分だけではなく, 浸漬された組織全体から多量の根が形成され, 茎葉の伸長が著しく劣った。

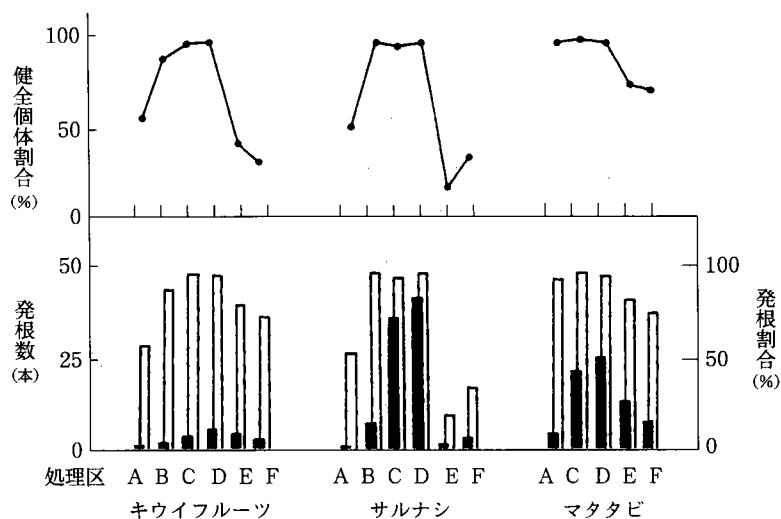
次に, IBA50mg/ℓ 液を用い, 発根を促進さす最適浸漬時間を調べたところ, キウイフルーツでは5秒間, マタタビでは1~2時間であった。サルナシでは, IBA50mg/ℓ を含んだ寒天にシュートの基部を1時間挿し込む処理が最も発根を促進した(第3図)。

次にIBA溶液に5秒間シュートを浸漬し, 発根促進や根重増加に有効な濃度を調べたところ, キウイフルーツでは500mg/ℓ, サルナシでは100mg/ℓ, マタタビでは1000mg/ℓ 液であった。しかし, シュートの伸長及び発根の認められない個体や葉害による黄化症状を除いた健全個体割合の高い濃度は, キウイフルーツ及びサルナシでは100mg/ℓ, マタタビでは100~500mg/ℓ 液であった(第4図)。

4) 培養個体の発根量及びオーキシン処理方法が順化効率に及ぼす影響

器内培養から順化容器へ移植する時の根量とその後の生存個体の推移をみると, 供試3植物とも移植時の根量が多いほど順化後の生存個体割合及び健苗割合が高く, 根量も増加していた(第5図)。この傾向は, 反復して行った同様の試験においても認められた。

次に, 発根促進のため, シュートを培地に植え付ける前にIBA50mg/ℓ 液に浸漬するが, その浸漬時間と順化後の生育との関係を検討したところ, 移植後の生存個体割合及び健苗割合が最も良かったのは, キウイフルーツでは5秒間浸漬処理, マタタビでは1時間浸漬処理であった。また, サルナシでは, IBA50mg/ℓ を含んだ寒天培地にシュート基部を1分間挿し込む処理区で生育が最も良好であった(第6図)。一方IBA液へ5秒間浸漬した場合の溶液濃度と順化後の生存個体割合及び健全個体割合調査で最も良かった溶液濃度はキウイフルーツ, サルナシ, マタタビのいずれも100mg/ℓ であった(第7図)。



第2図 置床前処理としてのオーキシシン液浸漬が発根促進及び健全個体率の向上に及ぼす影響

注) A: オーキシシン液無浸漬区

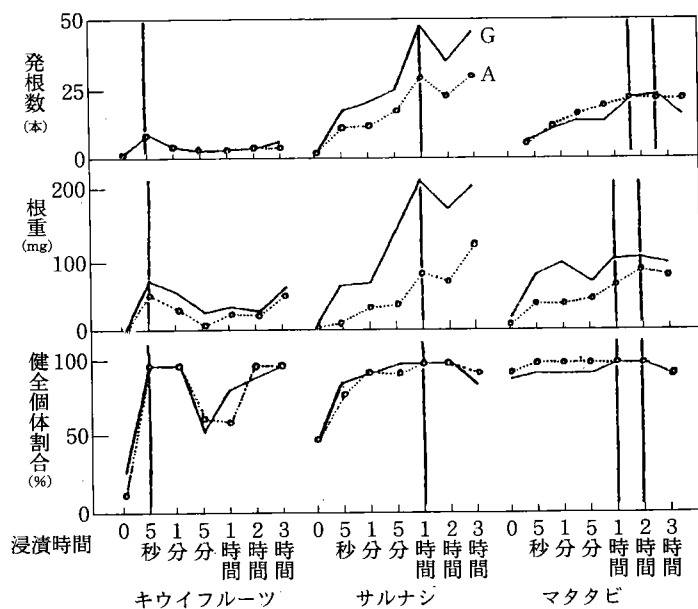
B: NAA0.1mg/ℓ 培地内添加区

C: NAA50mg/ℓ 2時間シュート全体浸漬区

D: IBA50mg/ℓ 2時間シュート全体浸漬区

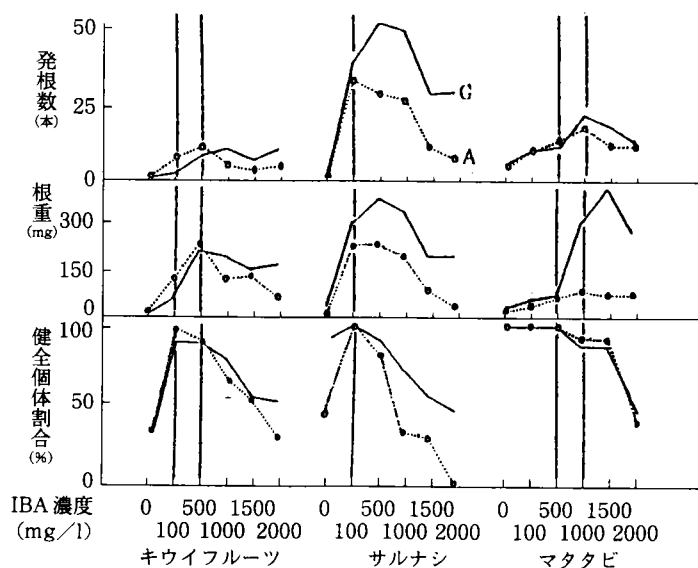
E: NAA2000mg/ℓ 5秒間シュート全体浸漬区

F: IBA2000mg/ℓ 5秒間シュート全体浸漬区

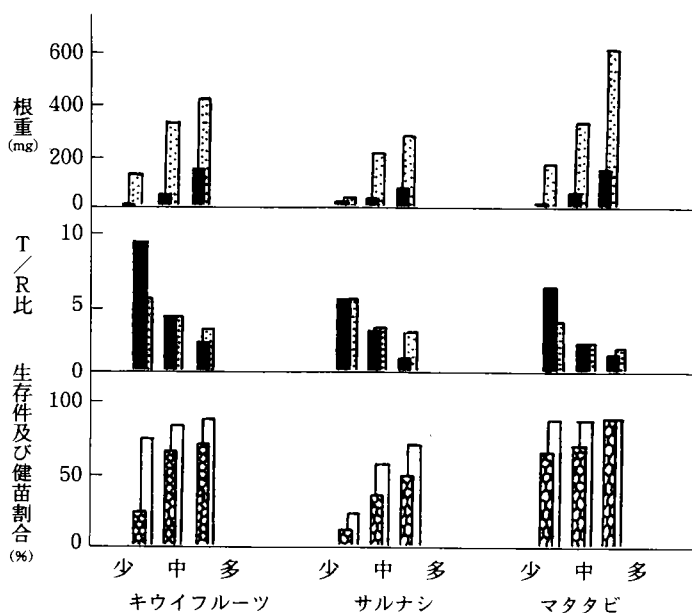


第3図 シュートへのIBA50mg/ℓ溶液浸漬時間と処理別の発根程度及び健全個体割合

注) A: 寒天培地 G: ゲルライト培地



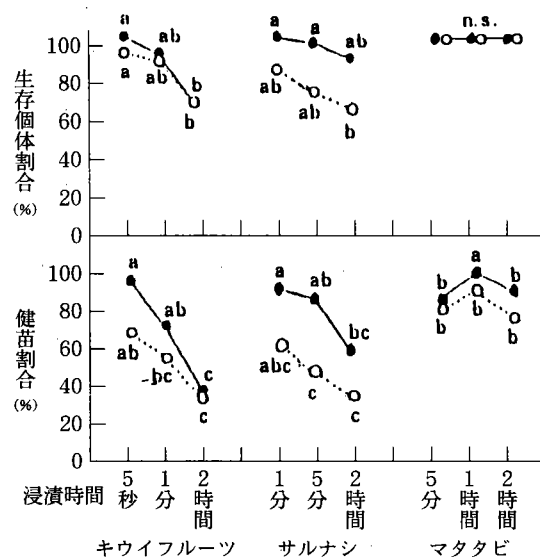
第4図 シュートへ基部へのIBA溶液5秒間浸漬濃度と処理別の発根程度及び健全個体割合
注) A: 寒天培地 G: ゲルライト培地



第5図 試験管内発根量の差異と移植後の生存個体及び健苗割合

注) T/R: 茎葉重/根重, 少中多は根量による区分

■ 処理前 □ 処理後 ▨ 生存個体割合 ▩ 健苗割合

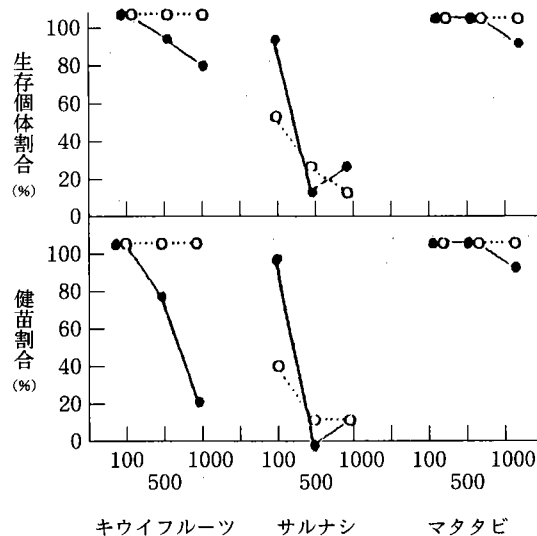


第6図 シュート基部へのIBA50mg/l溶液浸漬時間と処理別の順化程度

注) ダンカンの多重検定5%水準

同一項目,同一樹種の同一文字間(a~c)に有意差なし
n.s.:有意差なし

● — 寒天培地 ○ — ゲルライト培地



第7図 シュートへのIBA溶液浸漬濃度と処理別の順化程度

注) ● — 寒天培地 ○ — ゲルライト培地

考 察

Actinidia 属植物のうちキウイフルーツの組織培養については、茎頂培養を始め数多くの報告があるが^{1,10,19,22,26,29,31,34}、サルナシ、マタビについての報告は少ない^{8,11,15,17,18}。そこで、筆者らは、キウイフルーツの台木研究の一環として、これら植物の茎頂を用いて、器内におけるシュート及び根の増殖条件を検討した。

1) シュートの発生促進に有効な植物生長調節剤の種類、濃度及び処理方法

キウイフルーツについては、茎頂、茎切片、カルスなどからの再分化に各種のサイトカイニンやオーキシンを組合せた数多くの報告があるが^{3,6,8,10,18,25,31,32}、本報では、まず、BAPとNAAを組合せて *Actinidia* 属植物キウイフルーツ、サルナシ、マタビ 3 種のシュート増殖試験を行った。その結果、シュートの発生が良好であったのは、キウイフルーツとマタビではBAP 1 mg/ℓ 添加区で、サルナシではBAP 10 mg/ℓ 添加区であった。一方、同時に組合せて添加したNAAでは、供試した 3 植物とも無添加又は 0.1 mg/ℓ 添加区が良好で、NAAの高濃度添加区ではシュートの分化が認められなかった。このことは、片岡ら¹³、Levaら¹⁸、渡辺ら³³がキウイフルーツで報告しているように、マタビやサルナシにおいてもオーキシンの高濃度添加はシュートの分化に抑制的に働くものと考えられる。

また、サイトカイニン活性を有する植物生長調節剤BAP、カイネチン、4 PU、ゼアチンの 4 種類によるシュートの分化能を比較したところ、BAPを添加した場合、サルナシはキウイフルーツやマタビとは異なる反応を示した。また、カイネチンとゼアチンは高濃度区ほどシュートの分化が良好であったのに対し、4 PUでは逆の傾向があった。このことから、サイトカイニン活性をもつといわれる薬剤でも濃度間の反応は同一ではなく、各植物の最適濃度を把握しておく必要がある。なお、4 PUを添加した場合には、シュートの伸長が他のサイトカイニン剤に比べ短い傾向にあったが、このような現象は志村ら²⁰も認めており、本剤を用いて *Actinidia* 属植物のシュートを効率的に増殖するためには、増殖培養段階でシュートの伸長を同時に促進する処理法を検討しておくことが必要である。

次に、果樹の茎頂培養における、しよ糖濃度とシュートの増殖との関係について、福井ら⁹は、リンゴにおいて、しよ糖濃度が低下すると葉の分化、生長が抑制されるとし、能塚ら⁹は、ブドウにおいて、台木間品種で適性が異なり、しよ糖濃度 5 % が最適とする品種が多かったとし、

平松ら⁷は、川野ナツダイダイ実生において、しよ糖濃度 5 % より 3 % が好適であるとしている。本報における *Actinidia* 属植物 3 種のシュートの分化には、しよ糖無添加区より添加区の方が良好であったものの、2 % と 5 % との間に差異は認められなかった。このため、*Actinidia* 属植物のシュートの分化に用いるしよ糖の濃度は、2 % で十分と考える。

なお、本報ではシュートの増殖好適条件で *Actinidia* 属植物 3 種を培養しても、30日後におけるシュートの平均発生数は 6 芽未満であった。大量増殖のためには、Monetteら²²がキウイフルーツに用いた液体培地や、Lawesら¹⁰がキウイフルーツの根からのシュート形成に前処理としての高濃度のサイトカイニン溶液への浸漬処理を行った例もあり、基本培地の組成等についてさらに検討が必要である。

2) 根の発生促進に有効な植物生長調節剤の種類、濃度及び処理方法

シュートからの発根について、基本培地内にオーキシン活性をもつ植物生長調節剤を直接添加する方法について検討し、発根促進には、キウイフルーツではNAA 1 mg/ℓ 添加が、サルナシではNAA 0.1 mg/ℓ 添加、ならびにBAP 0.1 mg/ℓ と NAA 1 mg/ℓ の両剤添加が、マタビでは植物生長調節剤無添加、ならびにNAA 0.1 mg/ℓ 添加がよいことを明らかにした。しかし、培養30日後の平均発根数がいずれの供試植物も 5 本未満であった。そこで発根をさらに促すため、前処理としてIBA又はNAA溶液中に浸漬後植え込む 4 つの処理区を設けて培地内に直接添加する方法と比較したところ、IBA又はNAA 50 mg/ℓ 溶液中に 2 時間浸漬した後に埋め込む処理区において、供試 3 植物とも発根が促進された。発根促進のため、前処理としてオーキシン活性のある植物生長調節剤の溶液中に浸漬する方法は植物の栄養繁殖時にしばしば利用される方法であり、キウイフルーツを用いた組織培養においても多くの報告がある^{5,12,25,27,33,35}。しかし、これらの方法は、供試する植物体の組織の条件、オーキシンの種類、濃度、浸漬時間等によって発根量が左右されやすいことがわかっている。そこで *Actinidia* 属植物のシュートを 10 mm 大に切り取り、IBA溶液の浸漬条件を、時間、濃度の 2 要因に限定して、濃度 50 mg/ℓ 溶液へ浸漬する場合の最適な浸漬時間と、5 秒間の浸漬処理におけるIBAの最適濃度を検討した。その結果、IBA 50 mg/ℓ 液にシュートを全面浸漬する場合の最も好適な時間は、キウイフルーツでは 5 秒間、マタビでは 1～2 時間であった。サルナシにおいては、シュートの全面浸漬処理は茎葉の生長が不良になることから、IBAの所定濃度溶液に寒天 0.7 % を添加後に滅菌し、

ゲル化させた培地にシュートの基部を所定時間挿し込む方法を採用したところ、発根の促進に好適な挿し込みは1時間であった。また、シュートの基部を5秒間浸漬させるIBAの好適濃度は、キウイフルーツでは100mg/ℓ、サルナシでは100mg/ℓ、マタタビでは500~1000mg/ℓであった。なお、*Actinidia*属植物3種のシュートからの発根促進方法としては、シュートをオーキシン添加培地に直接植える方法よりもシュートをオーキシン液に浸漬してからオーキシン無添加の培地へ植える方が好ましいものとする。

次に、発根用の培地に添加するしよ糖濃度については、供試したら植物とも、発根はしよ糖濃度が2%よりも5%の方が促進される傾向にあった。古在¹⁴⁾は、ウツボカズラなどを用いて、試験管内の小植物体では糖類を主要エネルギー源とした従属栄養的生長の側面が強く、光独立栄養的側面が弱いことを報告している。本報で用いた*Actinidia*属植物のように順化处理を前提とした場合には、発根培地のしよ糖濃度と小植物体の順化効率との関係について今後検討する必要がある。なお、供試植物のうち、マタタビは、しよ糖無添加区でも発根個体割合が高いことや、オーキシン無添加の培地で発根が良好であることなどの点で、他の2種の供試植物と異なった反応を示し、試験管内での発根の容易な植物であることが示唆された。

3) 器内培養個体の根量と順化個体割合との関係

オーキシン処理によってシュートから発根させた*Actinidia*属植物の培養個体を用いて、試験管から取り出す時の根量の多少が、順化後の生存個体割合、健苗割合に及ぼす影響を調査した結果、サルナシは、キウイフルーツやマタタビに比べ発根量が多かったにもかかわらず、順化後の生存個体割合、健苗割合は劣っていた。サルナシの培養個体の順化について李¹⁷⁾は、前段の発根処理の際にシュートをオーキシンの含有する培地に直接移して、シュート基部に白色粒状の組織が発生した段階で順化することにより順化効率が改善されたとしている。サルナシの順化後の健苗率の向上については、これらを参考にさらに検討が望まれる。

以上のとおり、キウイフルーツのほか、サルナシ、マタタビなど*Actinidia*属植物の器内における増殖が可能であり、シュートの発生や発根促進に好適な植物生長調節剤等の濃度や時間が明らかになった。これらの手法は、キウイフルーツ台木としての有用機能の研究の効率化や、優良台木の大量繁殖の役立つものとする。

摘 要

キウイフルーツ台木用植物(キウイフルーツ、サルナシ、マタタビ)の効率的な器内増殖技術を確立するため、シュートの増殖及び発根に好適な植物生長調節剤、糖の濃度、処理方法などについて検討し、次の結果を得た。

1. BAPとNAAを組合せて基本培地(MS 1/2 培地)に添加した場合、シュートの増殖に最適な添加濃度は、キウイフルーツとマタタビではBAP 1mg/ℓ 及びNAA 0~0.1mg/ℓ であり、サルナシは、BAP 10mg/ℓ 及びNAA 0~1mg/ℓ であった。一方、最も発根を誘導する添加濃度は、キウイフルーツではNAA 1mg/ℓ、サルナシではNAA 0.1mg/ℓ、マタタビではホルモン無添加、並びにNAA 0.1mg/ℓ であった。

2. サイトカイニン活性をもつ4種の植物生長調節剤(4PU, BAP, ゼアチン, カイネチン)のうちシュートの増殖に最適な剤及び濃度は、キウイフルーツでは4PU 0.1mg/ℓ、サルナシではBAP 10mg/ℓ、マタタビではゼアチン 10mg/ℓ であった。

3. *Actinidia*属植物の育成培地にしよ糖を2%と5%添加して同植物の生育を比較した結果、シュートの発生は両濃度の間に差はなく、発根数は5%で優れた。

4. 茎頂培養由来のシュートをIBA 50mg/ℓ 液に浸漬後オーキシン無添加の培地に置床する場合、順化後に健全な成苗が最も多く得られる処理区は、キウイフルーツでは5秒間、マタタビ1時間の全面浸漬、サルナシでは同剤を等量含有した寒天培地への1時間の基部浸漬であった。

5. IBA溶液へシュートを5秒間浸漬処理後オーキシン無添加の培地に置床する場合、順化後に健全な成苗が最も多く得られる処理区は、キウイフルーツ及びサルナシ、マタタビともに100mg/ℓ 液への基部浸漬であった。

6. 試験管から搬出する際の根量は、*Actinidia*属植物の順化後の生育に影響を及ぼした。

謝 辞

本研究のとりまとめにあたっては、当研究所の中澤啓一所長、小笠原静彦室長並びに中谷宗一室長に懇切なご指導をいただいた。ここに記し、深く謝意を表する。

引用文献

- 1) 秋浜友也・植松千代美・川又伸治・松尾洋一・福田実 1987. キウイフルーツの茎頂培養におけるサイトカイニンの効果 育種雑. 37 (別 2): 90-91.
- 2) 天野勝司・堤善教・水谷房夫・日野昭・門屋一臣 1991. 湛水処理がキウイフルーツ, サルナシ及びマタタビの光合成特性と樹体内成分に及ぼす影響 園芸学会平成3年度春季大会講演要旨: 46-47.
- 3) Canhoto J. M. and Cruz G. S. 1987. In vitro multiplication of *Actinidia chinensis* Planch. by culture of young leaves. Boletim da Sociedade Broteriana, 2 (60): 239-252. (Hort. Abs. 59(12): 1121.)
- 4) 福井博一・今河茂・田村勉 1981. リンゴ茎頂の生長に及ぼす生長調節物質及び糖の影響 園学雑. 49(4): 549-556.
- 5) Gui Y. L. 1979. Induction of callus and regeneration of plantlets in stem segment culture of Chinese gooseberry. Acta Botanica Sinica 21(4): 339-344. (Hort. Sci. 50(8): 505.)
- 6) Harada A. 1975. In vitro organ culture of *Actinidia chinensis* Pl. as a technique for vegetative multiplication. J. Hort. Sci. 50(1): 81-83.
- 7) 平松純子・佐々木篤 1985. ウイルス無毒苗個体作出のためのカンキツの茎頂培養の検討 第1報 カンキツ実生幼苗胚軸頂芽の培養条件 広島県試報11: 1-8.
- 8) Hirsch A. M. and Bligny-Frotune D. 1979. Organonénese dans les culture de tissus de deux plantes appartenant au genre *Actinidia* (*Actinidia chinensis* et *Actinidia polygama*). (Hort. Sci. 49(11): 717.)
- 9) 能塚一徳・平川信之・角利昭 1987. 組織培養によるブドウウイルス無毒苗の大量増殖 第1報 増殖培地中の糖が無毒苗の増殖に及ぼす影響 福岡農総試研報B 6: 23-28.
- 10) Jordán M., Medina C. and Mujica A. M. 1986. Micropropagación de Kiwi (*Actinidia chinensis* Pl.). Estudio histológico de la morfogénesis inducida in vitro. Ciencia e Investigación Agraria 13(3): 207-212. (Hort. Abs. 57(12): 979.)
- 11) Kamenická, A. ; Rypák, M. 1986. Indukcia organogenézy aktinidie vyžacnej (*Actinidia arguta* Planch. ex Miq.) V podmienkach in vitro. Pol'nohospodárstvo 32(9): 800-810. (Hort. Abs. 58(1): 15.)
- 12) Kamenická A. and Rypák M. 1989. Regenerácia aktinidie čínskej (*Actinidia chinensis* Planch.) v kultúre in vitro. Polnohospodárstvo 35(9): 811-818. (Hort. Abs. 60(6): 476.)
- 13) 片岡郁雄・中平則・井上宏 1987. キウイフルーツ (*Actinidia chinensis* Planch.) のカルス培養における活発な不定芽分化 香川大農学部報 39(1): 21-26.
- 14) 古在豊樹 1987. 培養植物の生長促進と順化 細胞 19(7): 25-30.
- 15) Lee M. H., Ahn C. Y., Jo J. G. and Chung H. J. 1987. In vitro rapid propagation of *Actinidia arguta* Planchon from bud culture. Research Report of the Institute of Forest Genetics, Korea Republic 23: 173-177 (Hort. Abs. 59(5): 413.)
- 16) Lawers G. S. and Sim B. L. 1980. Kiwifruit propagation from root cutting. New Zealand Journal of Experimental Agriculture 8 (3-4): 273-275. (Hort. Sci. 51(9): 598.)
- 17) 李风云 1986. 猕猴桃組培苗生根移栽的改进 中国果树 1: 39-40.
- 18) Leva A. R. and Magrini P. 1986. Fattori di crescita del callo e produzione di germogli in *Actinidia chinensis* Pl. ed *Actinidia arguta* Pl. Rivista della Ortoflorofrutticoltura Italiana 70(1): 49-56. (Hort. Abs. 57(2): 107.)
- 19) Marino G. and Bertazza G. 1990. Micropropagation of *Actinidia deliciosa* cus. 'Hayward' and 'Tomuri'. Scientia Horticulture 45 (1-2): 65-74. (Hort. Abs. 61(4): 314.)
- 20) 松本要・小笠原静彦 1991. キウイフルーツ台木の種類別ネコブセンチュウ寄生性調査 第35回日本応用動物昆虫学会講演要旨: 180.
- 21) 百田洋二 1986. キウイから検出されたネコブセンチュウ 関東東山病虫研報 33: 237.
- 22) Montte P. L. 1986. Micropropagation of Kiwifruit using non-axenic shoot tips. Plant cell, Tissue and Organ culture 6(1): 73-82. (Hort. Abs. 56(9): 724-725.)
- 23) Murashige T. and Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 15: 473-497.
- 24) 永田寛嗣・池田富喜夫 1990. キウイフルーツ高品質安定生産に対するシマサルナシ (*A. rufa* Planch) 台の効果 第1報 シマサルナシ台の台木適応性について 園芸学会中四国支部平成2年度大会講演要旨: 13.

- 25) Pais M. S. S., Oliveira M. M. and Barroso J. 1987. Use of petiole segments of *Actinidia chinenses* (Kiwifruit) for plant differentiation and production of friable calli for protoplast isolation. *Acta Horticulturae* 212 : 687-690. (Hort. Abs. 58(12) : 1052.)
- 26) Piagnari C., Eccher T. and Castelli S. 1986. Micropropagation of *Actinidia chinensis* : effects of growth regulators on proliferation rate. *Acta Horticulturae* 179(2) : 887-890. (Hort. Abs. 57(3) : 186-187.)
- 27) Sammarcelli F. and Legave J. M. 1990. Multiplication in vitro par néoformation chez *Actinidia deliciosa*, cultivar Hayward. *Fruits (Paris)* 45(4) : 393-401. (Hort. Abs. 61(9) : 905.)
- 28) 志村勲・樋口幸男・石川駿二 1990. 4-ピリジル尿素処理によるキウイフルーツ節間カルスからのシュート形成 園学雑誌 58(4) : 841-847.
- 29) Standardi A. 1981. Micropropagazione dell'*Actinidia chinensis* Pl. mediante coltura "in vitro" di apici meristematici. *Frutticoltura* 43(1) : 23-27. (Hort. Abs. 51(9) : 598)
- 30) 牛山欽司・小笠原静彦・家城洋之・青野信男 1987. キウイフルーツ白紋羽病の発生 関東東山病虫研報 34 : 107.
- 31) Wang J. X., Li S. Z., Li B. W. and Ren E. Y. 1982. Propagation of *Actinidia chinensis* by tissue culture. *Liaoning Agricultural Science* 1 : 32-34. (Hort. Abs. 53(3) : 162.)
- 32) Wan M., Zhang X. L. and Cun S. X. 1987. First report on rapid propagation technique by stem tissue culture of Kiwifruit. *Yunnan Agricultural Science and Technology* 4 : 20-23. (Hort. Abs. 58(11) : 910.)
- 33) 渡辺慶一・高橋文次郎 1987. キウイフルーツ新梢組織からのカルス形成と器官形成に及ぼす生長調節物質の影響 日大農獣医学部研報 44 : 136-141.
- 34) Wessels E., Nel D. D., Staden and D. F. A. Von. 1984. In vitro propagation of *Actinidia chinensis* Pl. cultivar Hayward. *Deciduous Fruit Grower* 34(12) : 453-457. (Hort. Abs. 56(2) : 92.)
- 35) Yu S. Z. 1983. Differentiation of plantlets in cotyledon culture of Chinese gooseberry. *plant physiology Communications* 2 : 37-38. (Hort. Abs. 55(2) : 99.)

Micropropagation of Kiwifruit and Related Species, *Actinidia aruguta* Planch., and *Actinidia polygama* Miq, *in vitro*

Hiromichi NITTA, Junko KANEYOSHI and Atsushi SASAKI

Summary

In order to develop an efficient micropropagation method of rootstocks of kiwifruit tree, *Actinidia chinensis* Planch., the authors made preliminary experiments of the shoot-tip culture using three species of *Actinidia*: *A. chinensis*, *A. aruguta* Planch., and *A. polygama* Miq. The results obtained are summarized as follows.

1) Shoot-tips were planted on 1/2MS mediums supplemented with plant growth regulators; BAP, NAA. The best compounding for shoot growth was 1mg/ℓ BAP Plus 0-0.1mg/ℓ NAA for *A. chinensis* and *A. polygama*, whereas the optimum doses for *A. aruguta* were 10mg/ℓ BAP plus 0-0.1mg/ℓ NAA. On the other hand, the optimum hormone doses for root growth were 1mg/ℓ NAA for *A. chinensis*, 0.1mg/ℓ NAA for *A. aruguta*, and growth regulator free or 0.1mg/ℓ NAA for *A. polygama*.

2) The shoots were planted and cultured on 1/2MS mediums supplemented with one of four plant growth regulators which have cytokinetic activity; 4PU, BAP, zeatin, and kinetin. The most vigorous development of shoots was obtained from the medium with 0.1mg/ℓ 4PU for *A. chinensis*, with 10mg/ℓ BAP for *A. aruguta*, and with 10mg/ℓ BAP for *A. polygama*, respectively.

3) The shoots were planted on two different 1/2 MS mediums which contained 2% and 5% sucrose, respectively. The rates of shoot development were not different between two mediums irrespective of *Actinidia* species. However, the rates of root development on 5% sucrose medium were greater than one on 2% sucrose medium.

4) The shoots were soaked in IBA solution (50mg/ℓ) during different periods, and planted on growth regulator free 1/2 MS. After the culture and acclimatization, the numbers of normal plantlets were compared. The best yield was obtained from 5-second-soak for *A. chinensis*, and from 1-hour-soak for *A. polygama*. The best yield of *A. aruguta*, however, obtained when the basal part of shoot was inserted into agar medium which contained 50mg/ℓ IBA for one hour.

5) The optimum concentration of IBA for 5-second-soak was determined by comparing the numbers of normal plantlets after acclimatization. The best yields were obtained from the solution of 100mg/ℓ IBA irrespective of species.

6) The root quantity of plantlet which was transferred to acclimatization affected the growth of the plant thereafter. The greater quantity of roots the plantlet had, the more vigorously it grew.

Key words: kiwifruit, *actinidia polygama*, *actinidia aruguta*, tissue culture, micropropagation, rooting, acclimatization

