



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

カキのin vitroでの発根に及ぼす処理方法と培地中のショ糖濃度の影響

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2022-06-07 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 福井, 博一, 西元, 和男, 村瀬, 一生, 中村, 三夫 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/5514

カキの *in vitro* での発根に及ぼす処理方法と 培地中のショ糖濃度の影響

福井博一・西元和男・村瀬一生・中村三夫

生物生産制御学講座

(1988年8月1日受理)

Effect of Rooting Induction Treatments and Sucrose Concentrations in Medium on *in vitro* Rooting of Japanese persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.)

Hirokazu FUKUI, Kazuo NISHIMOTO, Itsuo MURASE
and Mitsuo NAKAMURA

Department of Controlled Plant Production

(Received August 1, 1988)

SUMMARY

The effects of rooting induction treatments and sucrose concentrations in medium on *in vitro* rooting of Japanese persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) were studied. The shoot bases (3–4 cm) were dipped in β -Indolebutyric acid (IBA) solution or α -Naphthyl acetamide (NAM) powder was applied to the bases. The treated shoots were subjected to rooting in Murashige & Skoog's medium containing half-strength nitrogen supplemented with various concentrations of sucrose without plant growth regulators. The dipping in 10^{-3} M IBA and the application of NAM enhanced rooting was about 90%. The application of NAM was more effective than the dipping in 10^{-3} M IBA. A sucrose concentration of 30g/l was indispensable for rooting.

Res. Bull. Fac. Agr. Gifu Univ. (53) : 133—137, 1988.

要 約

Murashige & Skoog の培地の無機窒素成分を1/2に調整した培地 (1/2NMS培地) に zeatin 10^{-5} M を添加した培地で、1年以上維持したカキ '富有' の実生個体の 3～4 cm に伸長したシュートを供試材料とし、シュートからの発根に及ぼす種々の発根処理の影響を調査した。処理方法としてシュート基部 (約 3 mm) を β -Indolebutyric acid (IBA) 溶液に浸漬する方法と α -Naphthyl acetamide 粉剤 (NAM) を塗布する方法を用いた。発根処理後シュートは zeatin を含まない種々の濃度のショ糖を添加した1/2NMS培地に置床した。発根率は IBA 10^{-3} M処理と NAM 処理が最も良く、いずれも90%前後で、根数も無処理の2倍以上であった。IBA 処理の時間を種々に変化させたが、有為な差は認められなかった。

処理操作の簡便さから IBA 10^{-3} M処理よりも NAM 処理が優れていると考えられた。発根培地中のショ糖濃度は30 g/l が最も良かった。ショ糖は根の誘導、根の伸長のいずれの段階にも不可欠であった。

緒 論

果樹の茎頂培養技術はリンゴのわい性台木の大量増殖で最初に応用され¹⁾、現在その大量増殖、発根処理、馴化法などの点において最も進んだ分野の一つとなっている^{2,3)}。カキの茎頂培養は、1980年代半ばに杉浦ら⁴⁾及び Cooper⁵⁾によって始められ、その後リンゴの例をもとに急速な発展を遂げたが、研究開始後の年数が短いことなどから、未だ効率の良い発根方法や馴化・鉢上げなどが検討されておらず、実用化には

至っていない。本研究ではカキの茎頂培養における発根処理方法の検討を行うと共に、処理後の発根培地におけるショ糖の濃度について調査した。

材料及び方法

供試材料

‘富有’の実生の F 3 系統⁶⁾を、Murashige & Skoog の培地の無機窒素成分の1/2に調整したもの (1/2N MS培地) に、3%ショ糖、0.7%寒天、 10^{-5} M zeatin を添加した培地 (pH 5.7) で1年間継代培養し、4 cm 以上に伸長したシュートを供試材料として用いた。シュートは3~4 cm の長さに切り揃えた後、展開葉を1~2枚残してすべての葉を除去した。

実験 I シュートからの発根に及ぼす発根処理の影響

発根処理はシュートの基部約 3 mm の部位に無菌的に行った。発根処理方法として、高圧滅菌した種々の濃度の β -Indolebutyric acid (IBA) 溶液にシュート基部を浸漬する方法と α -Naphthyl acetamide 粉剤 (石原産業⁷⁾ α -Naphthyl acetamide 0.40%を含む:NAM) をシュート基部に塗布する方法を用いた。発根処理後、生長調節物質無添加の1/2NMS培地に3%ショ糖と0.7%寒天を添加し、pH を5.7に調整した培地 (発根培地) にシュートを置床し、7週間後に発根率、根数、最大根長、シュート伸長量、展葉数について調査した。各区当りの個体反復数は20とし、実験反復数は2とした。

実験 II 発根に及ぼす発根培地中の糖濃度の影響

実験 I と同時にシュートを調整した後、NAM による発根処理を行った。発根処理後、ショ糖濃度が種々に異なる培地にシュートを置床し、発根処理7週間後、発根率、根数、最大根長、シュート伸長量、展葉数について調査した。処理区当りの反復数は21とし、実験反復は1とした。

培養は継代培養と発根処理後の培養は、いずれも 25 ± 1 °C, 3000lx, 16時間日長の条件で行った。

結 果

実験 I シュートからの発根に及ぼす発根処理の影響

無処理区での発根率に比べ、いずれの発根処理区とも発根率は増加した(第1図)。IBA 10^{-3} M処理区では処理時間に関わらず90%前後の高い値を示し、安定した発根効果が認められたが、IBA 10^{-5} M及び IBA 10^{-4} M区では処理時間によって発根率に差が認められた。NAM 処理区は87.5%の高い発根率を示した(第2図)。

種々の発根処理の効果を発根数で見たものが第3図である。無処理区での根数は1.3本であったが、処理区では根数が増加する傾向が認められた。特に IBA 10^{-3} M処理はいずれの処理時間においても根数が多く、他の区に比べ有意に高い効果が認められた。また NAM 処理区の根数も高い値を示した。IBA 10^{-3} M 処理区及び NAM 処理区は、無処理区の2倍以上の根数であった。

根長では、無処理区に比べ処理区が高い値を示したが、濃度及び処理時間で一定の傾向は認められず、発根処理後の根の伸長には発根処理の差が大きな影響を及ぼすとは考えられなかった(第4図)。

高い発根効果の認められた IBA 10^{-3} M の5分、30分、60分及び NAM 処理の4処理区間の処理後の発根過程を経時的に調査したものが第5図である。無処理区では処理後5週間まで発根個体の増加が緩慢であったが、その後増加し7週間後には発根個体率は50%となった。IBA 及び NAM 発根処理区では、IBA 10^{-3} M 5分処理区を除き、処理後1週間までは発根がみられなかったものの2週目以降から発根する個体が現れ、その後発根率は直線的に増加した。

実験 II 発根に及ぼす発根培地中の糖濃度の影響

発根に及ぼす発根培地中のショ糖濃度の影響を見たものが第1表である。NAM 処理後ショ糖3%を添加した発根培地に置床したシュートは28日後から発根が観察され、49日後には76.2%のものが発根した。発根培地に添加されるショ糖濃度を6%に高めた場合には、発根開始が極めて早く、調査開始の21日後にはすでに12.5%の個体に発根が認められた。しかし、その後の発根個体率の増加は小さく、49日後には3%区の発根個体率より低い値となった。一方、ショ糖無添加の発根培地に置床したシュートはまったく発根

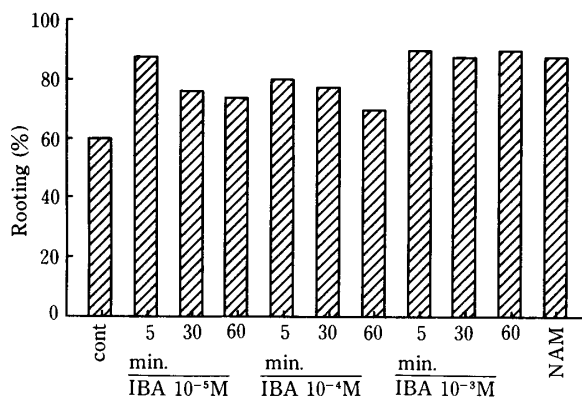


Fig. 1. Effect of various rooting induction treatments on rooting from shoots of Japanese persimmon. Shoots were dipped in IBA solution for several minutes or applied NAM powder.

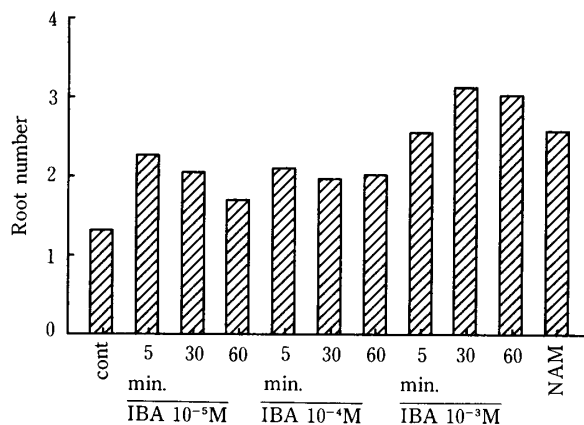


Fig. 3. Effect of various rooting induction treatments on root number from shoots of Japanese persimmon.

が認められなかった。シヨ糖無添加培地で14日間培養後3%シヨ糖添加培地に移植したシュートは、最初からシヨ糖3%を添加した発根培地で培養したものに比べ発根個体率の推移がほぼ14日遅れ、シヨ糖無添加によるシュートの発根阻害は、その後のシヨ糖の添加により打ち消されることが明らかとなった。

シヨ糖3%を添加した培地に種々の期間置床した後、シヨ糖無添加培地に移植した場合のシュートからの発根を見ると、シヨ糖3%添加培地での培養期間が7日以内の場合にはまったく発根がみられなかった。また、シヨ糖3%添加培地で14日間培養した区でも発根した個体は7.1%に過ぎず、このことはシヨ糖6%添加培地の場合でも同様であった。したがって、シュートからの発根の誘導には3週間以上の期間が必要であった。

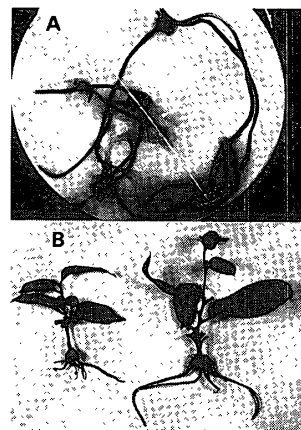


Fig. 2. Rooted shoots by application of NAM. A indicated rooting viewing from the bottom of culture pot and B indicated the rooted plantlets.

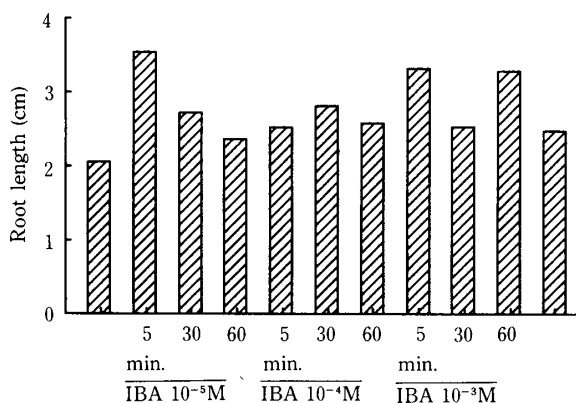


Fig. 4. Effect of various rooting induction treatments on length of roots from shoots of Japanese persimmon.

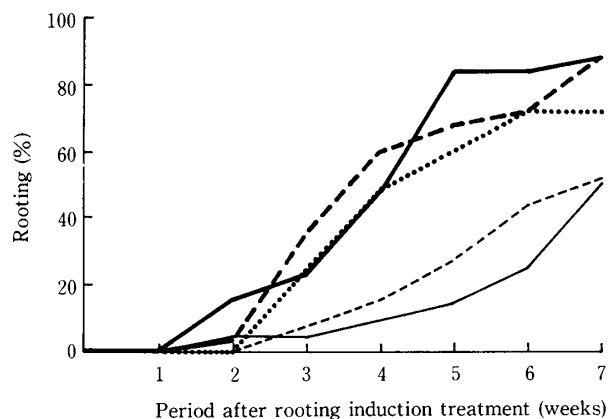


Fig. 5. Change of rooting rate after rooting induction treatments : control (—), a dip in IBA 10⁻³M for 5 min. (---), for 30 min. (···), for min. (-·-) and an application of NAM (—).

Table 1. Effect of various concentrations of sucrose supplemented in rooting medium after rooting induction treatment by NAM on rooting from shoot of Japanese persimmon.

No.	Sucrose conc. in rooting medium and periods on the medium	rooting (%)				
		Days after rooting induction treatments				
		21	28	35	42	49
1	3% (49days)	0	14.3	38.1	61.9	76.2
2	6% (49days)	12.5	29.2	37.5	45.8	62.5
3	0% (49days)	0	0	0	0	0
4	0% (14days) → 3% (35days)	0	0	4.8	19.0	28.6
5	3% (3days) → 0% (46days)	0	0	0	0	0
6	3% (7days) → 0% (42days)	0	0	0	0	0
7	3% (14days) → 0% (35days)	7.1	7.1	7.1	7.1	7.1
8	6% (3days) → 0% (46days)	0	0	0	0	0
9	6% (7days) → 0% (42days)	0	0	0	0	0
10	6% (14days) → 0% (35days)	10.7	10.7	10.7	10.7	10.7

考 察

種苗の大量増殖を行うにあたり、発根操作の簡便化、効率化は重要な課題となっている。培養したカキのシュートからの IBA 処理による発根は、すでに杉浦ら⁴⁾および Cooper ら⁵⁾が報告しているが、本実験でも示されたようにその濃度が低い場合には効果が一定せず、効率的な発根には 10^{-3} Mの高濃度処理が不可欠であった。NAM 処理は高い発根促進効果を示し、IBA 10^{-3} M処理と同様カキのシュートからの発根処理に適していると考えられた。この両処理を比較した場合、IBA 10^{-3} M処理はシュートを処理液に5分以上浸漬する必要があるのに対し、NAM 処理はシュート基部に粉末の薬剤を塗布する方法であるため、IBA 処理に比べ操作が簡便で、短時間で大量のシュートを処理できることから、将来カキの均一台木の大量増殖の実用化を図る上で重要な技術になると考えられる。

Zimmermann ら²⁾はリンゴの効率的な発根処理に関する研究の中で、培養して増殖したシュートを非無菌状態で発根処理し、プラグ状にしたピートに挿し木することによって容易に馴化苗が生産されることを示した。Cooper ら⁵⁾はカキで発根処理を行った後、発根培地を用いることなく粒子の細かいバミスにシュートを直接挿す方法を用いて発根操作の簡便化を検討したが、発根後の移植過程で枯死したり、休眠する個体が多く鉢上げが困難であったと報告している。カキの根は物理的障害に弱く、本実験でも発根処理後の根の伸長過程において根端が培養容器壁に接すると容易に根端組織が枯死状態になることが観察されたことから、今後発根後の馴化、鉢上げ過程における検討を行う必要がある。

発根培地のシヨ糖濃度について検討した結果、シヨ糖無添加の培地では発根はまったく見られなかった。さらに発根処理直後の根の誘導期、あるいは誘導後の伸長期に相当する時期にシヨ糖を添加しなかった場合にも発根が著しく阻害されたことから、シヨ糖は根の誘導、伸長のいずれの時期にも不可欠であると考えられた。発根は挿し穂内の炭水化物含量に大きく影響されることが知られている⁸⁾。本実験でシヨ糖濃度が高いほど根の誘導が早く開始された結果からも、発根培地中のシヨ糖はシュート内の炭水化物含量を高める効果があったと考えられた。Chong ら³⁾リンゴを用いて、発根に及ぼす糖の種類及び濃度の影響を詳細に検討し、シヨ糖では、30 g/lの濃度が発根率、根数、根長いずれにおいても大きな値を示し、それより濃度が高くなるに従い値が小さくなることを報告している。このことはカキの場合にも同様で、シヨ糖30 g/l添加区の発根率が最も高い値を示した。

発根処理後の発根率の推移を見ると、処理後2週間までは発根率が極めて低く、その後急速に上昇することが明らかとなった(第5図)。また、シヨ糖添加培地から無添加培地への移植した場合、シヨ糖添加培地での培養期間が2週間以内ではほとんど発根しなかったことから、カキのシュートからの根の誘導には3週間以上の期間が必要であると考えられた。この発根誘導期間は他の果樹に比べ長かった⁹⁾。Zimmer-

manら²⁾は、リンゴの培養シュートからの発根にはその材料とするシュートの増殖段階での条件やその生理状態が大きく関与することを示唆している。供試材料のシュートの増殖培地には 10^{-5} Mの高い濃度のzeatinが添加されており、サイトカイニンは発根を抑制する作用があることから、本実験の発根誘導期間の長さにはシュートの増殖段階での高濃度のサイトカイニンが関与している可能性がある。

引用文献

- 1) Jones, O. P. 1967. Effect of benzyladenin on isolated apple shoots. *Nature* 215 : 1514-1515.
- 2) Zimmerman, R. H. and I. Fordham. 1985. Simplified method for rooting apple cultivars *in vitro*. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 110 : 34-38.
- 3) Chong, C. and E. -C. Pua. 1985. Carbon nutrition of Ottawa 3 apple rootstock during stages of *in vitro* propagation. *J. Hort. Sci.* 60 : 285-290.
- 4) Sugiura, A., R. Tao, H. Murayama & T. Tomona. 1986. *In vitro* propagation of Japanese persimmon. *HortScience* 21 : 1205-1207.
- 5) Cooper, P. A. and D. Cohen. 1985. Micropropagation of Japanese persimmon (*Diospyros kaki*). Combined Proceedings, International Plant Propagator's Society 34 : 118-124.
- 6) Fukui, H., T. Kano, S. Takeuchi and M. Nakamura. 1987. *In vitro* growth of Japanese persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) seedling plants. *Res. Bull. Fac. Agr. Gifu Univ.* (52) : 25-30.
- 7) Fukui, H., M. Sugiyama and M. Nakamura. 1989. Shoot tip culture of Japanese persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.). *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 58 : (in press).
- 8) Haissig, B. E. 1984. Carbohydrate accumulation and partitioning in *Pinus banksiana* seedlings and seedling cuttings. *Physiol. Plant.* 61 : 13-19.
- 9) James, D. J. and I. J. Thurbon. 1979. Rapid *in vitro* rooting of the apple rootstock M. 9. *J. Hort. Sci.* 54 : 309-311.