

キウイフルーツの薬培養における植物体再生

渡辺慶一・白戸一士*・高橋文次郎*

日本大学短期大学部

(〒252 藤沢市亀井野 1866)

* 日本大学農獣医学部

(〒252 藤沢市亀井野 1866)

(1987 年 11 月 3 日受付)

(1988 年 1 月 7 日受理)

果樹の薬培養については、カンキツ¹⁾、パパイヤ²⁾、コナツツ³⁾、ブドウ^{4,5)}、リンゴ^{6,7)}で植物体の再生に成功している。キウイフルーツでは、Hirsch ら⁸⁾、Brossard-Chriqui ら⁹⁾、Fraser ら¹⁰⁾によって試みられている。

筆者らはこれまでキウイフルーツ (*Actinidia deliciosa* (A. Chev.) C. F. Liang and A. R. Ferguson var. *deliciosa*) とその近縁種の染色体数¹¹⁾およびキウイフルーツの新梢組織からのカルス形成と植物体再生¹²⁾について報告した。今回はキウイフルーツの半数体を作成する目的で薬からのカルスおよび器官形成におよぼす生長調節物質の検索と、得られた植物体の染色体を調べたのでこれらの結果について報告する。

供試植物は日本大学藤沢農場で栽植のキウイフルーツの雄株品種“マチュア”および雌株品種“ヘイワード”である。用いた薬は接合期～四分子の減数分裂期および1枝～2枝性の小孢子期の細胞を包含する時期のもので、前者を未熟薬、後者を成熟薬とした。蕾はまず70%エタノール中で2～3秒滅菌を行った後、2%次亜塩素酸ナトリウム溶液に10分間浸漬した。次いで滅菌水で数回水洗後、蕾から薬を取り出して培養に使用した。培地は Murashige and Skoog (MS)¹³⁾の基本培地にシロ糖3%、寒天0.8%を添加したものを使用した。生長調節物質はオーキシンとして naphthaleneacetic acid (NAA)、サイトカイニンとして 6-benzyladenine (BA) を用い、それぞれの濃度を0, 0.01, 0.1, 1.0, 10.0 mg/l とし、NAA と BA の組合せによって25区を設けた。培地は pH を5.7に調整した後、三角フラスコに分注し滅菌した。次いで、1個のフラスコあたり30～50個の薬を置床し、1区あたりのフラスコを5個とし、これらを25℃の暗黒下に置いて培養した。

初代培養で形成したカルスとそのカルスから分化した根を NAA と BA を組合せ添加、またはゼアチンを単独添加した MS 培地に移植した。この移植片の培養は約26℃、約7,000 lux で16時間照明の8時間暗黒下で行った。茎葉の分化した幼植物は MS 培地に indole-3-butyric acid (IBA) 1.0 mg/l を添加した培地、あるいは幼植物の基部を IBA 2,000 mg/l 溶液に5秒間浸漬した後、パーミキュライトへ移植した。体細胞染色体は、再生した植物の根端を用い、“押しつぶし法”によって観察した。

初代培養における“マチュア”および“ヘイワード”の薬からのカルス(薬カルス)の形成率とその増殖量、またカルス上での不定根の分化の有無を Fig. 1, 2 に示した。培養後約1週間でカルス形成が認められた。その後カルス細胞は増殖を続け、約60日後にカルス細胞の増殖はほとんど停止し、70日後にはカルスの褐変が認められた。

“マチュア”では未熟薬と成熟薬間にカルスの増殖に顕著な差はなかった。単独添加区では、BA 単独添加区より NAA 単独添加区でカルス形成率が高く、さらに NAA の濃度が高くなるにつれてカルス形成率も高まった。NAA と BA の組合せ添加区では、NAA 0.1～10.0 mg/l と BA 0.01～10.0 mg/l の組合せ添加区のカルス形成は良好であった。カルスの増殖能も BA 単独添加区より NAA 0.1～10.0 mg/l と BA 0.01～10.0 mg/l の組合せ添加区で良好であり、特に成熟薬の NAA 1.0 mg/l と BA 10.0 mg/l の組合せ添加区でカルスの増殖は旺盛であった。

“ヘイワード”では未熟薬にくらべ成熟薬のカルスの形成率がやや高い傾向がみられた。NAA 0.1～10.0

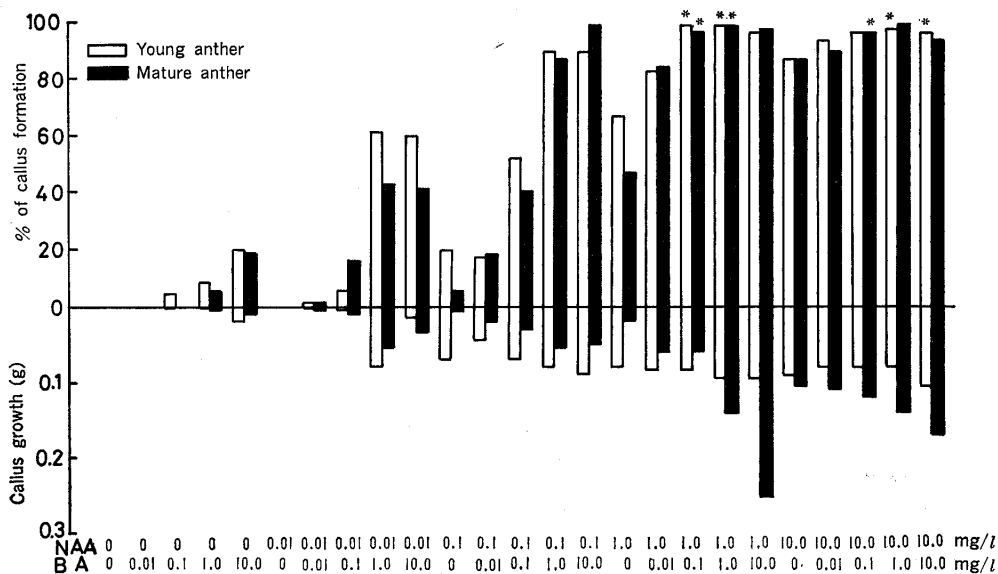


Fig. 1. Effect of combinations of NAA and BA on callus formation and root formation from anther-derived calli of the staminate cultivar "Matua" after 60 days of culture in the dark at 25°C. *Root formation.

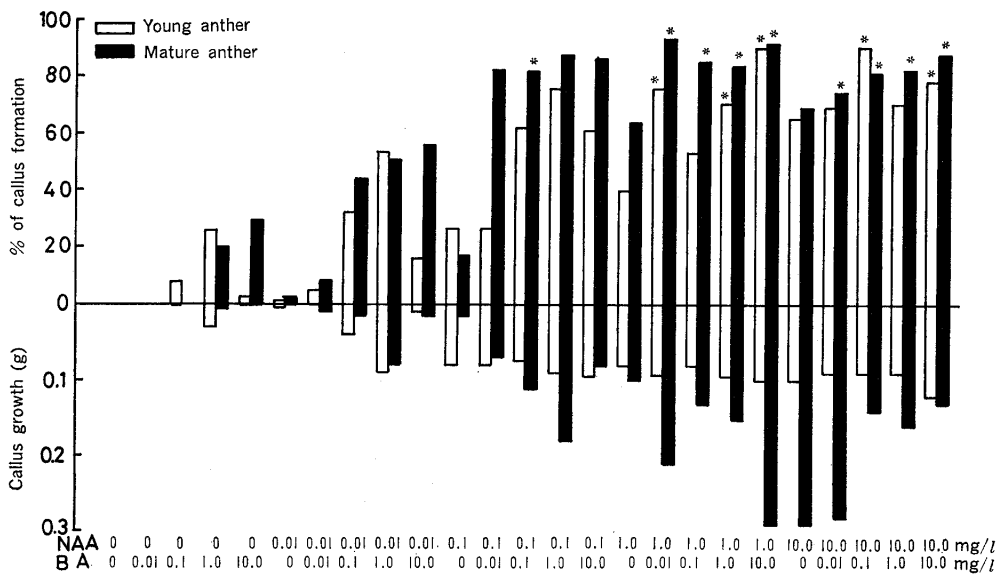


Fig. 2. Effect of combinations of NAA and BA on callus formation and root formation from anther-derived calli of the pistillate cultivar "Hayward" after 60 days of culture in the dark at 25°C. *Root formation.

mg/l と BA 0.01~10.0 mg/l の組合せ添加区で比較的高いカルス形成率を示したが、BA 単独添加区では形成率は低く、カルス形成が認められない区もあった。カルスの増殖能も概して BA 単独添加区に比べて NAA 単独添加区または NAA と BA の組合せ添加区で良好で

あった。

葯カルスからの不定根の分化は、カルスの増殖が旺盛な区、すなわち NAA 1.0~10.0 mg/l と BA 0.01~10.0 mg/l の組合せ添加区の一部でみられた。しかし、いずれの区でも茎葉の分化は認められなかった。

初代培養の葯カルスとそのカルスから分化した根を NAA と BA の組合せ添加培地、およびゼアチン単独添加培地に移植して培養した結果を **Table 1, 2** に示した。また、移植後の培養によって得られた茎葉の分化を **Fig. 3** に示した。初代培養の葯カルスを 3~5mm 角に切って NAA 1.0 mg/l と BA 1.0 mg/l の組合せ添加区、ゼアチン 1.0 mg/l 区および 2.0 mg/l の単独添加区に移植した結果、“マチュア”でゼアチン 2.0 mg/l の単独添加区で茎葉の分化がみられた (**Fig. 3 A, Table**

1)。葯カルスから分化した根を培養した場合、培養後 1 週間目から根の伸長が始まり、同時に肥大緑化してやがてカルス化（根カルス）した。NAA と BA を組合せ添加した培地、NAA 0.01 mg/l と BA 1.0 mg/l の組合せ添加区で根カルスの増殖能は良好であったが、NAA と BA のいずれの組合せ添加区でも茎葉の分化は認められなかった。次にゼアチン 1.0 mg/l 単独添加区では、培養後 20 日目に根カルスから茎葉の分化が認められた (**Fig. 3 BC, Table 2**)。しかし、培養の継続に従って枯

Table 1. Effects of growth regulators on growth and shoot formation of calli derived from anthers.

Growth regulators (mg/l)			Callus growth ^a		Shoot initiation ^b	
			Cultivars		Cultivars	
NAA	BA	Zeatin	Matua	Hayward	Matua	Hayward
1.0	1.0	—	+++	+++	—	—
—	—	1.0	++	++	—	—
—	—	2.0	+++	+++	+	—

Cultured for 60 days.

^a ++ : Moderate, +++ : Excellent.

^b — : Non shoot initiation, + : Shoot initiation.

Table 2. Effects of growth regulators on growth and shoot initiation of root derived callus formed from anthers.

Growth regulators (mg/l)			Callus growth ^a		Shoot initiation ^b	
			Cultivars		Cultivars	
NAA	BA	Zeatin	Matua	Hayward	Matua	Hayward
0.01	0.01	—	+	+	—	—
0.01	0.1	—	++	++	—	—
0.01	1.0	—	+++	+++	—	—
—	—	1.0	++	++	+	+

Cultured for 60 days.

^a + : Slight, ++ : Moderate, +++ : Excellent.

^b — : Non shoot initiation, + : Shoot initiation.



Fig. 3. Shoot formation from anther-derived calli of kiwifruit.

A : Shoot initiation from “Matua” calli, B : Shoot initiation from calli on the roots induced from “Matua” calli, C : Shoot initiation from calli on the roots induced from “Hayward” calli.

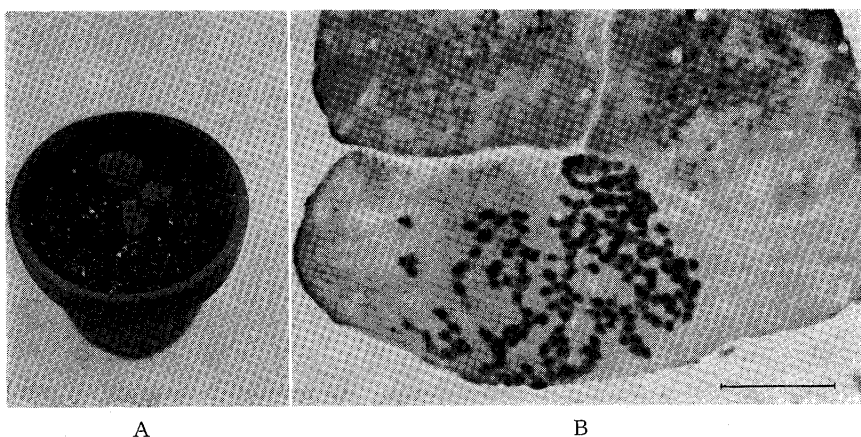


Fig. 4. A regenerated plant (A), and its metaphase chromosomes ($2n=c. 174$) in root-tip cell (B) of kiwifruit "Matua." Bar=10 μ m.

死するものや、異常葉を生じるもの、さらに叢生状に成育するものなどがみられた。

薬カルスから茎葉の分化した幼植物は基部を IBA 2,000 mg/l 溶液に 5 秒間浸漬した後、パーミキュライトへ移植するとこれまでと同様¹²⁾、容易に発根した。

薬カルスから再分化した“マチュア”の根端細胞中期における染色体を **Fig. 4** に示した。キウイフルーツの染色体の大きさは約 1 μ m と小さい。再分化した個体の根端細胞の染色体数は約 $2n=174$ で、以前に報告した場合¹¹⁾と同様に核型は次中部動原体型、中部動原体型が大部分であった。

以上の結果からキウイフルーツの薬から誘導されたカルスからの植物体の再生にはゼアチンが効果的であることが認められた。“マチュア”の薬カルス由来の再分化した植物の染色体数は約 174 で半数体ではなかった。このことは、再分化した植物は薬組織から分化したことを意味する。今後は花粉粒の単独培養について検討したい。

文 献

1) Hidaka, T., Y. Yamada, T. Shichijo, 1982. Jpn.

J. Breed., **32**: 247-252.

- 2) Litz, R. E., R. A. Conover, 1978. Proc. Fla. State Hort. Soc., **91**: 180-182.
- 3) Thanh-Tuyen, N. T., E. V. de Guzman, 1983. Plant Sci. Lett., **29**: 81-88.
- 4) Rajasekaran, K., M. G. Mullins, 1983. Am. J. Enol. Vitic., **34**: 108-113.
- 5) Hirabayashi, T., I. Kozaki, T. Akihama, 1976. HortScience, **11**: 511-512.
- 6) Wu, J., 1981. Acta Hort. Sin., **8**: 36.
- 7) Xue, G., J. Niu, 1984. Acta Hort. Sin., **11**: 161-164.
- 8) Hirsch, A. M., D. Bligny, B. K. Tripathi, 1977. Acta Hort., **78**: 75-79.
- 9) Brossard-Chriqui, D., B. K. Tripathi, 1984. Can. J. Bot., **62**: 1940-1946.
- 10) Fraser, L. G., C. F. Harvey, 1986. Sci. Horticult., **29**: 335-346.
- 11) 渡辺慶一, 白戸一士, 高橋文次郎, 1984. 園学要旨, 昭 59 秋, p. 58-59; 1986. 園学要旨, 昭 61 春, 92-93.
- 12) 渡辺慶一, 高橋文次郎, 1987. 日大農獣報, **44**: 136-141.
- 13) Murashige, T., F. Skoog, 1962. Physiol. Plant., **15**: 473-497.

Summary

Plant Regeneration from Cultured Anthers of Kiwifruit

Keiichi WATANABE, Kazushi SHIRATO* and Bunjiro TAKAHASHI*

Junior College, Nihon University, 1866, Kameino, Fujisawa, 252 Japan

** College of Agriculture and Veterinary Medicine, Nihon University, 1886,
Kameino, Fujisawa, 252 Japan*

Callus induction and plant regeneration from anthers of kiwifruit "Matua" and "Hayward" were studied. Good callus growth was obtained on MS medium containing NAA and BA, or a high concentration of NAA only. Shoot formation from calli of "Matua" was observed on the medium containing 2.0 mg/l zeatin. Roots were induced from shoots on the MS medium containing 1.0 mg/l IBA, or on vermiculite after the shoot bases were treated with 200 mg/l IBA for 5 sec. Chromosome numbers in root-tip cells of plant regenerated from the callus of "Matua" were about 174. This suggests that the plant regenerated would be originated from diploid somatic tissue of anther.