

## 研究ノート

サイトカイニンの種類がカキの *in vitro* 繁殖に及ぼす影響

鉄村琢哉\*・田尾龍太郎\*\*・杉浦 明\*\*

\*京都大学農学部附属農場

(〒569 大阪府高槻市八丁畷町 12-1)

\*\*京都大学農学部

(〒606-01 京都市左京区北白川追分町)

## 1. はじめに

カキ (*Diospyros kaki* Thunb.) の茎頂培養は, Cooper<sup>1)</sup>が zeatin を用いて成功して以来, 急速に研究が進んでいる。福井ら<sup>2)</sup>は 10  $\mu\text{M}$  の zeatin を用いてカキ 139 品種中 102 品種の茎頂培養に成功している。また Sugiura<sup>3)</sup>が開発した 6-benzyladenine (BA) を用いる手法によって, 村山ら<sup>4)</sup>は 7 品種中 6 品種の茎頂培養に成功している。増殖培地に zeatin を用いるとシュートは葉を順次展葉し伸長するが<sup>1,2)</sup>, BA を用いるとシュートはほとんど伸長せずロゼット状となるため, 発根用シュートを得るためには 6-isopentenyladenine (2iP) によりシュートの伸長を促すことが必要となる<sup>3,4)</sup>。このようにサイトカイニンの種類がカキの茎頂培養に及ぼす影響は大きいと考えられるものの, ‘西村早生’を除いて<sup>5,6)</sup>前述の 2 通りの茎頂培養の手法を直接比較検討した報告はない。そこで本研究では **Table 1.** に示したカキ 25 品種について, zeatin または BA と 2iP で茎頂培養し, 得られたシュートに発根処理を行ったのでその結果を報告する。

## 2. 材料および方法

茎頂培養の手法は村山ら<sup>4)</sup>の報告に従った。休眠枝の腋芽(休眠芽)から無菌的に 2 mm 長の茎頂(葉原基数枚を含む)を切り取り, 10  $\mu\text{M}$  zeatin または 20  $\mu\text{M}$  BA を添加した MS (1/2 N) 培本 (MS 培地の  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  と  $\text{KNO}_3$  の濃度を 1/2 とした基本培地)に植えつけて定着を試みた。定着できた品種は同組成の培地で 3 回以上継代培養した後, zeatin で培養したシュートについては同組成の培地に植えつけ, BA で培養したシュートについては, BA または 2iP (25  $\mu\text{M}$ ) を添加した培地に植えつけ, シュートの増殖と伸長に対する各サイトカ

イニンの効果をみた。zeatin または 2iP で伸長したシュートは, 基部を 1.25 mM 3-indolebutyric acid (IBA) 溶液に浸漬し, 基本培地を 2 倍に希釈したホルモンフリーの 1/2 [MS (1/2 N)] 培地に植えつけた後, 10 日間暗黒処理を行い発根誘導した。以上の実験において培養は温度 28°C, 暗黒処理期間を除き 16 時間日長 (20  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) で行い, 培地にはショ糖 3%, 寒天 0.8% を加用した。

## 3. 結果および考察

本実験と村山ら<sup>4)</sup>の実験の結果とをあわせると, BA で定着できた品種は 25 品種中 9 品種であり, zeatin で定着できた品種は 23 品種であった。zeatin でも BA でも定着しなかった品種は, ‘幸田御所’と‘甲州百目’の 2 品種であった。カキ数品種の茎頂培養できわめて有効であった 4PU でも‘甲州百目’は茎頂培養が不可能であり<sup>7)</sup>, これらの品種の茎頂培養の成功にはサイトカイニン以外の影響も考えられる。また本実験では‘会津身不知’と‘禅寺丸’は zeatin によって定着したが, 福井ら<sup>2)</sup>の実験では定着しなかった。これに関しては外植片の採取部位の違い(前者は休眠芽, 後者は新梢茎頂部を使用)等, 種々の原因が考えられるが, 本実験の結果のみでは不明であった。

定着できた品種のシュートの増殖と伸長に対する各サイトカイニンの効果は, **Table 1.** に示すとおりである。今までの報告と同様, BA で培養したシュートは一部の品種を除いてほとんど伸長しなかったもののシュート数は 4~5 倍に増加した。それに対して zeatin または 2iP で培養したシュートは良好に伸長した。発根率に関しては BA と 2iP で培養したシュートは全体的に高く, zeatin で培養したシュートは一部の品種を除いて低い

**Table 1.** Effect of cytokinin types on shoot proliferation, elongation and rooting of 25 Japanese persimmon cultivars. The culture method was after that described by Murayama *et al.* (1989). Data were taken after 40 days of culture, except for rooting (30 days). The values are means of 20~50 replicates.

Cultivar	Cytokinin					
	BA <sup>a</sup> (2iP) <sup>b</sup>			Zeatin <sup>c</sup>		
	No. of shoots	Height of tallest shoot (mm)	Rooting (%)	No. of shoots	Height of tallest shoot (mm)	Rooting (%)
Aizumishirazu		— <sup>d</sup>		1.4±0.1 <sup>e</sup>	8.7±0.7 <sup>e</sup>	0
Amayotsumizo		× <sup>f</sup>		1.9±0.2	9.7±0.6	5
Chokenji		×		2.7±0.3	12.3±0.4	15
Egosho		—		2.3±0.3	13.2±0.7	60
Emon		×		2.2±0.2	10.6±0.8	0
Fuyu		×		1.6±0.1	12.8±0.8	0
Hanagosho		—		2.4±0.2	12.5±1.4	10
Hazegosho		×		2.9±0.2	10.0±0.5	0
Hiratanenashi	5.1±0.3 (2.2±0.2)	5.6±0.4 (14.7±0.6)	80	4.4±0.4	12.4±1.0	10
Jiro		—		4.4±0.2	8.6±0.5	8
Kakiyamagaki	4.3±0.3 (2.2±0.1)	4.8±0.5 (12.3±0.8)	70	1.5±0.1	10.9±0.4	0
Kodagosho		×			×	
Koshuyakume		×			×	
Kurogaki		—		1.8±0.2	7.8±0.5	0
Meotogaki	4.9±0.4 (2.4±0.2)	5.4±0.4 (12.5±0.6)	80	2.4±0.2	9.9±0.5	80
Mushirodagosho		×		1.4±0.1	11.3±0.7	5
Nagara	4.5±0.3 (2.7±0.2)	15.3±0.7 (21.8±1.6)	35	1.8±0.2	26.1±2.4	10
Nishimurawase		—		1.5±0.2	12.6±0.5	40
Nishimurawase(DS <sup>g</sup> )		—		1.7±0.2	14.5±0.9	25
Saijo		×		1.7±0.2	9.7±1.0	10
Sakokushi		×		2.6±0.2	12.4±0.8	15
Suruga		×		1.7±0.2	8.1±0.6	0
Tamopan		×		1.7±0.1	16.3±1.4	0
Tohachi		×		1.9±0.2	11.6±0.6	10
Yoshino		×		1.5±0.2	9.0±0.5	0
Zenjimarū		×		2.8±0.2	9.7±0.9	0

<sup>a</sup> BA (20 μM) was used for culture establishment and shoot proliferation.

<sup>b</sup> 2iP (25 μM) was used for shoot elongation. Data are shown in parentheses.

<sup>c</sup> Zeatin (10 μM) was used for culture establishment, shoot proliferation and elongation.

<sup>d</sup> Not examined. According to Murayama *et al.* (1989), cultivars other than 'Hanagosyo' could be proliferated by BA.

<sup>e</sup> Mean±S.E.

<sup>f</sup> Cultures could not be established in the method employed.

<sup>g</sup> A dwarf strain.

(1991年9月20日受理)

という結果であった。BAと2iPを使用した村山ら<sup>4)</sup>の報告においても多くの品種が高い発根率を示している。いっぽう zeatin で培養したシュートでも良好な発根をしている例もある<sup>1),8)</sup>。しかしながら各報告における発根処理方法には多少の違いがあり、直接的な比較検討は難しい。また発根処理方法以外にも、シュートの継代回数<sup>9,10)</sup>、培養間隔<sup>11)</sup>や増殖用サイトカイニンの濃度<sup>12)</sup>などもシュートの発根に影響を及ぼすことが確認されており、増殖用サイトカイニンの種類の違いがシュートの発根に直接影響を及ぼすかどうかについては、培養条件等を厳密に定めた上で今後検討して行く必要がある。

以上の結果、BAよりも zeatin の方がより多くの品種の茎頂培養が可能であることが明かとなった。しかしながら zeatin で培養したシュートはBAで培養したシュートよりも発根率が低い可能性も示唆された。また zeatin は非常に高価であり、*in vitro* 繁殖の実用化を妨げる原因になるであろう。現在、BAで定着できなかった品種の一部を zeatin で定着・増殖した後、BAで継代培養したところ良好にシュートは増殖している。このようにBAと zeatin を上手に組合せて使用することにより、確実かつ経済的に数多くのカキ品種が *in vitro* 繁殖できるであろう。

## 文 献

- 1) Cooper, P. A., D. Cohen, 1985. Comb. Proc. Inter. Plant Prop. Soc., **34**(1984): 118-124
- 2) 福井博一, 西元和男, 中村三夫, 1990. 園学雑誌, **59**: 51-57
- 3) Sugiura, A., R. Tao, H. Murayama, T. Tomana, 1986. HortScience, **21**: 1205-1207
- 4) 村山秀樹, 田尾龍太郎, 田中辰美, 杉浦 明, 1989. 園学雑誌, **58**: 55-61
- 5) 文室政彦, 村山秀樹, 田尾龍太郎, 村田龍一, 杉浦 明, 1988. 滋賀農試研究報告, **29**: 20-32
- 6) Fukui, H., M. Sugiyama, M. Nakamura. 1990. J. Japan. Soc. Hort. Sci., **58**: 43-47
- 7) 秋浜友也, 植松千代美, 尾関健, 荒川英治, 1987. 育学雑誌, **37** 別冊 1: 56-57
- 8) 福井博一, 西元和男, 中村三夫, 1989. 育学雑誌, **39** 別冊 2: 104-105
- 9) Sriskandarajah, S., M. G. Mullins, Y. Nair, 1982. Plant Science Letter, **24**: 1-9
- 10) Banno, K., K. Yoshida, S. Hayashi, K. Tanabe, 1989. J. Japan. Soc. Hort. Sci., **58**: 37-42
- 11) Harris, R. A., S. H. Mantell, 1991. Journal of Horticultural Science, **66**: 95-102
- 12) Lee, N., H. Y. Wetzstein, 1990. J. Amer. Soc. Hort. Sci., **115**: 324-329

## Summary

Effect of Cytokinin Types on the *in vitro* Propagation of Japanese Persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.)

Takuya TETSUMURA\*, Ryutaro TAO\*\* and Akira SUGIURA\*\*

\**Experimental Farm, Kyoto University, Hachonawate, Takatsuki, Osaka 569, Japan*

\*\**Faculty of Agriculture, Kyoto University, Sakyo-ku, Kyoto 606-01, Japan*

To investigate the effect of cytokinin types on the *in vitro* propagation of Japanese persimmon, the shoot tips of 25 cultivars were examined. Shoot tip cultures of 23 of the cultivars were established by 10  $\mu$ M zeatin, and those of 9 by 20  $\mu$ M BA. The shoots elongated by 25  $\mu$ M 2iP after proliferation by BA rooted better than those proliferated and elongated by zeatin alone.