

組織培養により養成したナシ台木と 栽培品種自根苗木の実用化に関する 基礎的研究

伴野 潔*・田辺賢二*・田村文男*
山下 聡**

緒 言

現在、ニホンナシ台木の繁殖は実生で行われている。しかし、これらの台木はすべて自家不和合性を示し、自殖しないため実生に変異が生じやすい。一方、挿木による栄養繁殖は母樹と全く同一の遺伝子を持つ個体を得ることができるが、樹齢が進むと発根率が著しく低下し、実際に優良台木系統を繁殖していくことは困難である。

また、ニホンナシ栽培品種の繁殖も台木と同様実生では同じ形質のものを作ることが不可能であり、さらに挿木による発根が困難なために接木により行われている。この方法は、同一形質の個体を一時に多数増殖することができ、技術的にも簡便であるなど多くの長所がある。しかし、季節の制約を受けると同時に、増殖能率も限られている。

一方、ニホンナシの優良台木系統及び栽培品種の繁殖法として、組織培養技術を利用した急速大量増殖法が報告されている^(4,5)。この繁殖法の利点としては、ウイルスフリー個体が得られること、短期間に大量のクローンが得られること、さらに台木を使用せずに自根苗による果実生産が可能になることなどが挙げられる。現在、この手法を用いて発根の困難なリング台木の繁殖及びウイルスフリー化、ブドウのウイルスフリー化の技術がすでに確立、実用化されている。

今後、組織培養により得られた個体の実用化に伴い、同じニホンナシ台木でも耐乾性、耐湿性、ユズ肌抵抗性、病虫害抵抗性などの優良形質をもつ系統の選抜や育種が進むものと思われる。また、鳥取県下のナシ栽培の実状を見ると樹齢40～50年の老木が大半を占め、その更新が急務となっており、そのために優良形質を持つ台木が大量に必要となってくる。したがって、組織培養により得られた台木の実用性の検討が早急に望まれている。また、ニホンナシ栽培品種の自根苗生産が可能になれば、発育の揃った優良苗木を大量に生産することができる。さらに、現在生産現

* 鳥取大学農学部生物生産学講座園芸学分野

** 鳥取県果樹野菜試験場

場で起こっている，えそ斑点病やナシ萎縮病等のウイルスによる生産力の低下，品質の劣変の問題を解決することができるものと期待される。したがって，ウイルスフリー苗木の生産・配布が早急に望まれている。

本研究は，組織培養により得られたナシ台木及び栽培品種自根苗を従来の実生苗及び接木苗と比較し，形態的・生理的観点から諸特性を調査することにより，これらの実用化の可能性を検討した。さらに，30年生の成木から得られた組織培養台木が，3年生の実生台木と同様のRejuvenation（若返り現象）を示した点に注目し，この点についても検討した。

第1章 ナシの組織培養台木の特性とRejuvenation

一般に、ナシの台木には‘ニホンヤマナシ’や‘マンシュウマメナシ’の実生が用いられる。しかし、これらの台木はすべて自家不和合性を示し、自殖しないために実生は広範な遺伝的変異を示す。また、発育も不揃いで優良苗木を大量に生産する上で支障となっている。したがって、耐乾性、耐湿性などの諸形質を持つ優良台木系統を大量に増殖する技術の確立が望まれている。

一方、これらの台木のクローニング方法として、組織培養法を用いた急速大量増殖法が極めて有効であることが明らかになった⁽⁴⁾。しかし、このように組織培養により養成された台木が実用可能であるかどうかは未だ検討されておらず、早急な検討が望まれている。

本章では、30年生の‘マンシュウマメナシ’成木から得られた組織培養台木が、3年生の実生台木と同様の若返り現象を示した点に注目し、組織培養台木と実生台木の諸特性を比較検討した。さらに、これらを台木として実際にニホンナシ品種を接木し、種木品種に及ぼす組織培養台木の影響を調査することにより、組織培養台木の実用化の可能性を検討した。

第1節 組織培養台木と実生台木の特性比較

1. 材料及び方法

本学ニホンナシ開発実験室系統保存区に栽植されている30年生のニホンナシ台木‘マンシュウマメナシ’ *Pyrus beturaefolia* BNGE (No. 3) を供試した。1984年にその新梢茎頂から0.5mm以下の茎頂端を摘出し、継代培養を行った後発根させて、1985年春から馴化・養成した個体を組織培養苗とした。また、それと同年、早春に同じ‘マンシュウマメナシ’の種子を播種・養成した個体を実生苗とした。この組織培養苗と実生苗を以下に示す実験に用いて、それぞれの特性を比較検討した。

一方、1987年6月中旬に実生苗、組織培養苗及び成木(組織培養苗と同じ30年生の‘マンシュウマメナシ’以下同様)について緑枝挿しを行い、得られたそれぞれの挿木苗も同様に以下の実験に用いて、さらに検討を加えた。

なお、統計処理はダンカンの多重検定法により行った。

1) 樹体の初期生育

1987年(3年生)の4月中旬に組織培養苗と実生苗を素焼鉢から掘り上げて、生育状態を調査した。また、1987年(3年生)、1988年(4年生)、1989年(5年生)の10月中旬に、両台木の総新梢長及び幹径を調査した。

一方、1988年、1989年の10月中旬に、実生苗、組織培養苗及び成木の挿木苗の総新梢長及び幹径を調査した。

2) 形態的特性

1987年の10月中旬に、実生苗、組織培養苗及び成木の葉を採取して、これらの縦径、横径、厚さ及び1葉重を調査した。また、1987年において組織培養苗に実生苗と同様のトゲが現れたこと

から、そのトゲの形態について比較調査し、さらに1988年、1989年に両台木のトゲ数を継続して調査した。

一方、1988年の10月中旬に実生苗、組織培養苗及び成木の挿木苗の葉を採取して、葉の形態について同様の調査を行った。また、1989年の6月中旬にそれぞれの挿木苗の根を太根（直径3mm以上）、中根（同1～3mm）、細根（同1mm以下）にわけ、それぞれの根重及び構成割合を調査した。

3) 挿木発根能

1987年、1988年、1989年の9月中旬に、実生苗、組織培養苗及び成木の発育枝を採取した。これらの枝を2節程度の長さの長さにわけ斜め切りにした挿し穂を、オーキシシン（IBA）の0、25、50 ppm溶液に24時間浸漬処理した後、ミスト床に挿して緑枝挿しを行った。挿木を行って2ヶ月経過した後、それぞれの発根率及び個体当たりの総根長を調査した。

4) 根の生理活性

1987年の6月中旬に、組織培養苗と実生苗の新根、細根を採取し、それらの呼吸量及び代謝活性を測定した。根の呼吸量は、ガスクロマトグラフにより測定し、CO₂発生量として表した。一方、根の代謝活性は、TTC還元能力測定法により測定し、フォルマザン生成量として表した。

根の呼吸量は、両台木の細根0.5gをバイアル瓶にいれ、少量の純水を入れた後密閉し、20°Cで3時間放置後シリンジで内部のガスを抜き取り、HITACHI 263型ガスクロマトグラフ（TCD）で測定した。純品による保持時間から検量線を作成し、CO₂の定量を行った。

一方、根の代謝活性は、0.4% 2, 3, 5-triphenyl tetrazolium chlorideと、1/10M phosphate buffer (pH6.0) の等量混合液を入れた試験管の中に、両台木の新根及び細根0.5gを浸した。これを37°Cで3時間保ち2N-H₂SO₄ 2mlで反応を停止し、tetrazoliumの還元によって生成したホルマザンを酢酸エチルで抽出し、485nmの吸光度によって測定した。さらに、採取した細根の一部はFAAで固定した後、上昇エタノール系列で脱水し酢酸イソアミルを中間液として用い臨界点乾燥した後白金で蒸着し、走査型電子顕微鏡（HITACHI X-650型）で表面構造を観察した。

一方、1989年6月中旬に実生苗、組織培養苗及び成木の挿木苗の細根を採取し、同様の方法でそれぞれの根の呼吸量及び代謝活性を測定した。

5) 無機成分の吸収

果樹の肥料成分の吸収状態は、葉成分含量に敏感に現れることから、1987年3月から10月にかけて組織培養苗と実生苗の葉（成葉）を経時的に採取した。採取したそれぞれの葉は乾物にし、得られた粉末試料0.5gを用いて、チッソ、リン、カリウム、カルシウム、マグネシウムの葉内含量を測定した。チッソ含量はケルダール法で測定し、リン、カリウム、カルシウム、マグネシウム含量は、高温灰化法⁽²⁰⁾により粉末試料を灰化した後、リン含量はバナドモリブデン酸法で、カリウム、カルシウム、マグネシウム含量は原子吸光法で、それぞれ測定した。

一方、実生苗、組織培養苗及び成木の挿木苗の葉（成葉）を、1989年6月から10月にかけて経時的に採取し、同様の方法で各無機成分の葉内含量を測定した。

6) 内生生長調節物質

1987年6月中旬に、組織培養苗と実生苗の根及び葉を採取して、第13図に示す方法に従って内生生長調節物質の抽出分離を行い、酢酸エチル可溶性酸性分画及びアンモニア可溶性塩基性分画

を得た。酸性分画については、ジベレリン活性をイネ‘短銀坊主’による矮性イネ検定法により測定し、塩基性分画についてはサイトカイニン活性をダイズカルス検定法により測定した。

2. 結 果

1) 樹体の初期生育

実生苗と組織培養苗の、養成3年目の春先における生育状態を写真1に示した。組織培養苗は実生苗に比べ著しく細根が多く、また地上部における新梢の分枝も多いことが認められた。

さらに、実生苗と組織培養苗の初期生育について調査した結果を第1表に示した。養成3年目の1987年では、組織培養苗の方が生育が旺盛であったが、養成4年目、5年目の1988年、1989年には、両者の初期生育にほとんど差異は認められなかったものの、組織培養苗の方が良好な生育を示した。

一方、実生苗、組織培養苗及び成木の挿木苗の初期生育について調査した結果を第2表に示した。組織培養苗の挿木苗は、1988年、1989年のいずれにおいても、実生苗及び成木の挿木苗の中間の初期生育を示した。

2) 形態的特性

実生苗、組織培養苗及び成木における葉の特性を第3表及び写真2に示した。組織培養苗の葉は、縦経、横経、厚さ、1葉重のいずれにおいても他より高い値を示し、葉が大きくて厚いことが認められた。

また、実生苗でみられたトゲを写真3に示した。実生ではトゲが数年間みられるが、それ以降になるとほとんど認められなくなり、幼木相 (Juvenile phase) から成木相 (Adult phase) へ移行することがわかる⁽¹⁸⁾。一方、組織培養苗でみられたトゲを写真4に示した。30年生の成木から得られた組織培養苗から、3年生の実生苗と同様のトゲが認められ、成木相に達していたものが幼木期に戻ったことが確認された。ただ、組織培養苗でみられたトゲは、実生苗でみられたトゲと形態的に多少異なり、少しなめらかなものであった。そこで、1988年及び1989年にこれらのトゲ数を調査した結果、組織培養苗では1989年においてトゲが全く認められなかった。これに対し組織培養苗では4年目の1988年に花芽が形成され、1989年春に開花した (第1表)。

一方、実生苗、組織培養苗及び成木の挿木苗について、同様にそれぞれの葉の形態及びトゲ数を調査した結果を第2表に示した。組織培養苗の挿木苗の形態は、実生苗及び成木の挿木苗の中間的な形態を示し、また組織培養苗の挿木苗のトゲ数は樹齢の経過に伴って減少し、成木の挿木苗ではトゲが全く認められなかった。

さらに、実生苗、組織培養苗及び成木の挿木苗の根の形態を第1図、写真5に示した。実生苗及び組織培養苗の挿木苗では、細根の占める割合が多かったが、実生苗の挿木苗は全体の根量が少なく、組織培養苗の挿木苗が最も細根が多いことが認められた。一方、成木の挿木苗は太根いわゆる走り根が多く、細根の占める割合は最も少なかった。

3) 挿木発根能

実生苗、組織培養苗及び成木の緑枝挿しによる発根率を第2図に示した。緑枝挿しを行ったいずれの年においても、組織培養苗は実生苗とほぼ同様の発根率を示し、成木の失った挿木発根能を回復し続けていた。また、養成5年目におけるそれぞれの発根の様子を写真6に示した。養成



写真1 実生苗と組織培養苗の春先における生育状態（養成3年目）
（左：実生苗 右：組織培養苗）

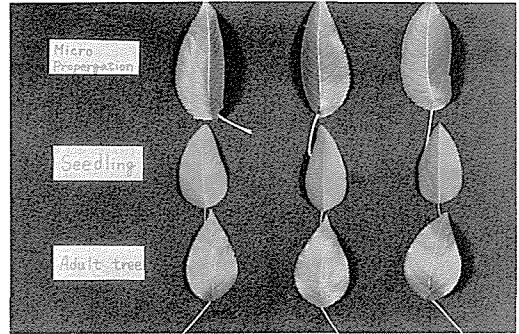


写真2 実生苗、組織培養苗及び成木の葉の特性

第1表 組織培養台木の特性

台木	総新梢長 (cm)			幹径 (mm)			トゲ数(個体当り)		花芽形成率(%)
	1987	1988	1989	1987	1988	1989	1988	1989	1988
実生苗	315.7b ^z	923.6a	1511.5a	12.2b	20.6a	28.2a	67.7a	54.0a	0a
組織培養苗	447.7a	729.3a	1669.3a	14.7a	22.0a	29.3a	1.3b	0b	4.0a

^zダンカンの多重検定 (5%水準)

第2表 ニシ台木における実生苗、組織培養苗及び成木の挿木苗の特性

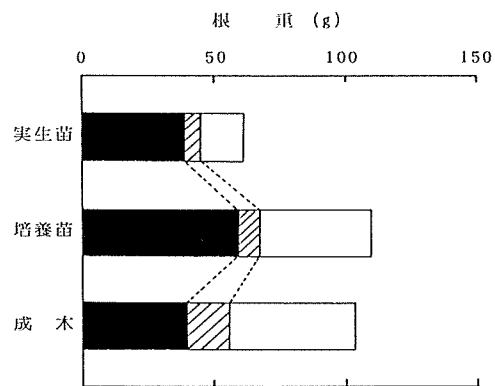
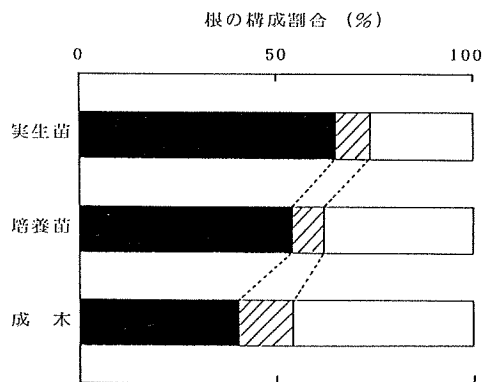
台木	総新梢長 (cm)		幹径 (mm)		トゲ数(個体当り)		葉の大きさ (1988)		
	1988	1989	1988	1989	1988	1989	縦径(mm)	横径(mm)	厚さ(mm)
実生苗	235.8a ^z	651.4a	9.7a	16.8a	20.8a	13.4a	101.0a	53.8b	0.25b
組織培養苗	148.4b	436.8b	9.1ab	16.1a	2.2b	1.2b	105.4a	60.1a	0.28a
成木	110.2c	293.8c	8.2b	16.1a	0b	0b	105.5a	61.1a	0.28a

^zダンカンの多重検定 (5%水準)

第3表 実生苗、組織培養苗及び成木における落の特性

台木	縦径(mm)	横径(mm)	厚さ(mm)	1葉近(g)
実生苗	57.1c ^z	33.1c	0.22c	0.29c
組織培養苗	84.2a	42.9a	0.31a	0.69a
成木	67.9b	38.1b	0.24b	0.37b

^zダンカンの多重検定 (5%水準)



第1図 実生苗, 組織培養苗及び成木の挿木苗における根の形態

□ 太根 ▨ 中根 ■ 細根

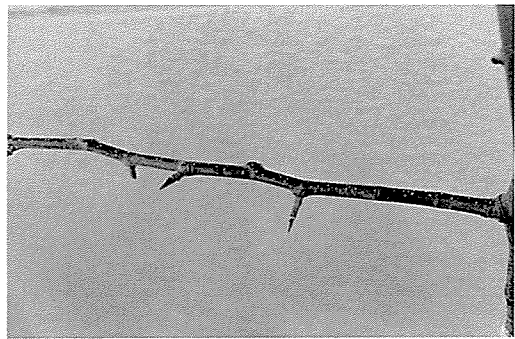


写真3 実生苗のトゲ

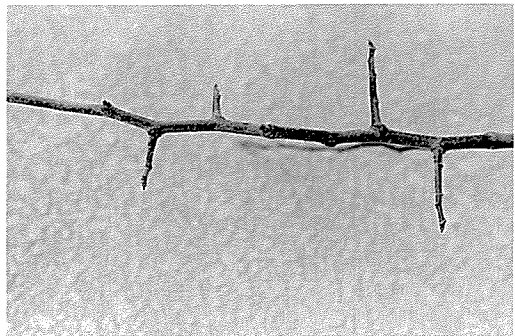


写真4 組織培養苗のトゲ

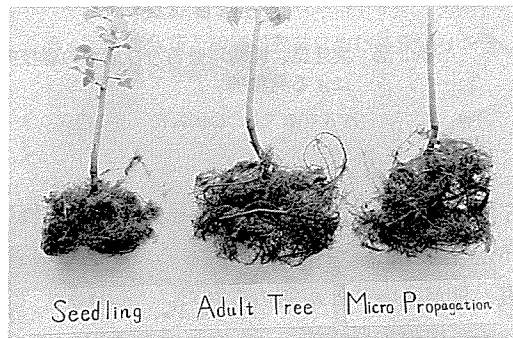
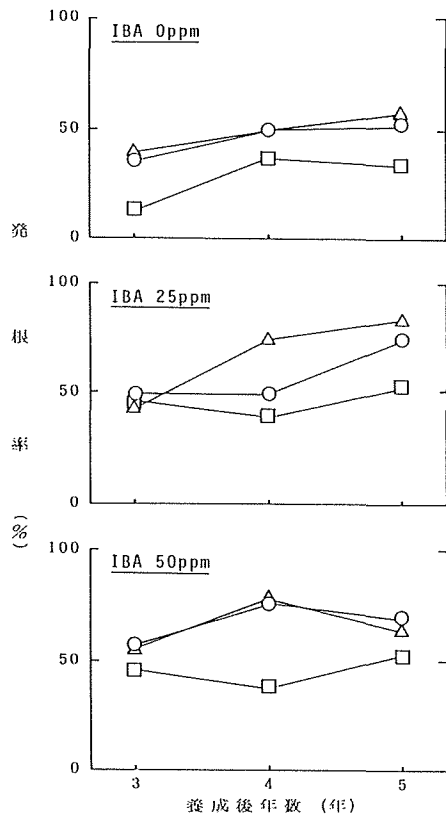


写真5 実生苗, 組織培養苗及び成木の挿木苗における根の形態



第2図 実生苗，組織培養苗及び成木の緑枝挿しによる発根率

△実生苗 ○培養苗 □成木

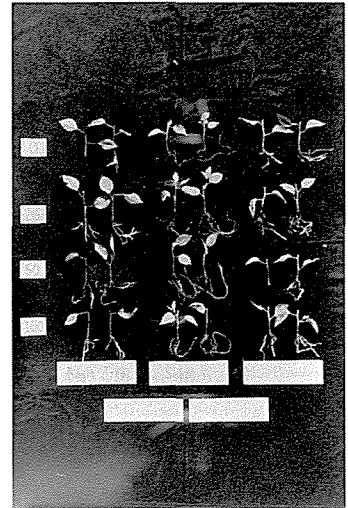


写真6 実生苗，組織培養苗及び成木の緑枝挿しによる発根（養成5年目）

5年目においても，組織培養苗は実生苗と同程度発根し，IBAを25ppmの濃度で処理することにより75%もの発根率が得られた。さらに，組織培養苗は実生苗より根量は劣るものの，仕事をする細根の量が多いことが認められた。

4) 根の生理活性

実生苗と組織培養苗における生理活性を第4表に示した。CO₂発生量は組織培養苗の方が多く，実生苗との間に6倍程度の差が認められた。また，フォルマザン生成量も組織培養苗の方が多く，実生苗との間に1.5倍程度の差が認められた。さらに，実生苗と組織培養苗の細根の表面構造を電

第4表 実生苗と組織培養苗における根の生理活性

台木	CO ₂ 発生量(μl/gFW/hr)		フォルマザン生成量(mg/gFW/hr)	
	細根	新根	新根	細根
実生苗	88.6b ²	0.056b	0.056b	0.044b
組織培養苗	584.2a	0.089a	0.089a	0.071a

²ダンカンの多重検定(5%水準)

第5表 実生苗、組織培養苗及び成木の挿木苗における根の生理活性

台木	CO ₂ 発生量 (μ l/gFW/hr)	フォルマザン生成量 (mg/gJW/hr)
実生苗	93.6b ²	0.051b
組織培養苗	154.5a	0.072a
成木	92.9b	0.063a

²ダンカンの多重検定 (5%水準)

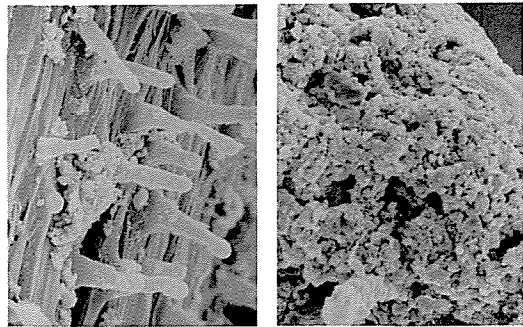
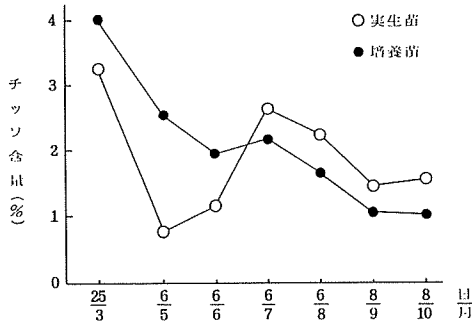
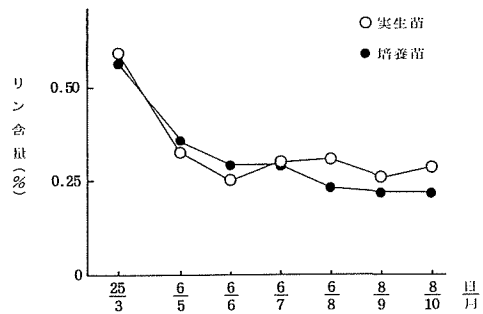


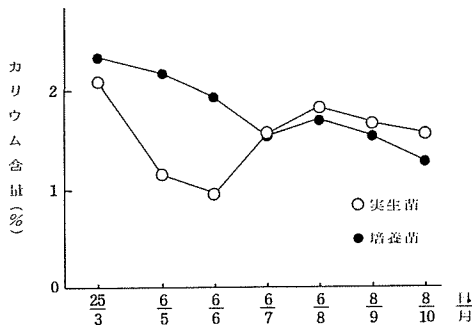
写真7 実生苗と組織培養苗の細根の表面構造
(左:実生苗 右:組織培養苗)



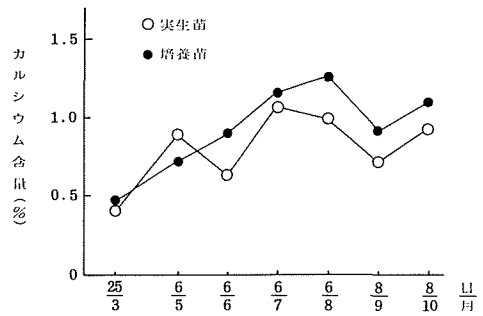
第3図 実生苗と組織培養苗における葉内チッソ含量の季節的変化



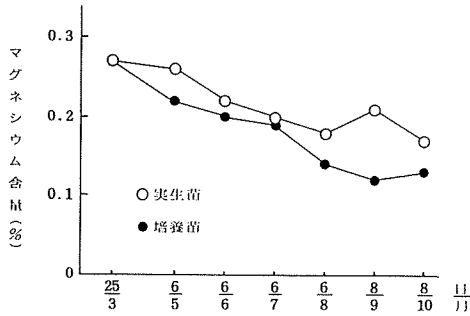
第4図 実生苗と組織培養苗における葉内リン含量の季節的変化



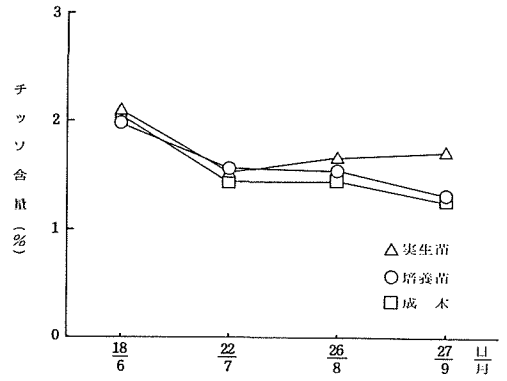
第5図 実生苗と組織培養苗における葉内カリウム含量の季節的変化



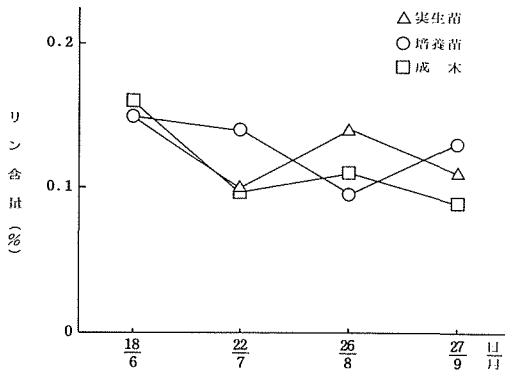
第6図 実生苗と組織培養苗における葉内カルシウム含量の季節的変化



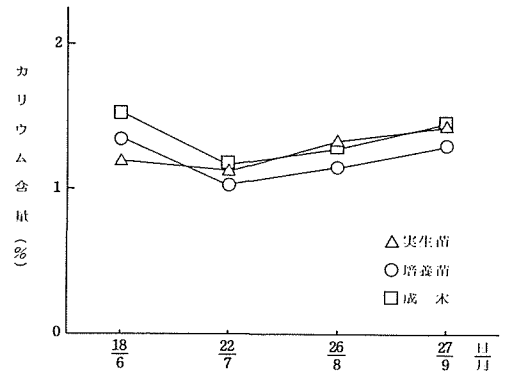
第7図 実生苗と組織培養苗における葉内マグネシウム含量の季節的变化



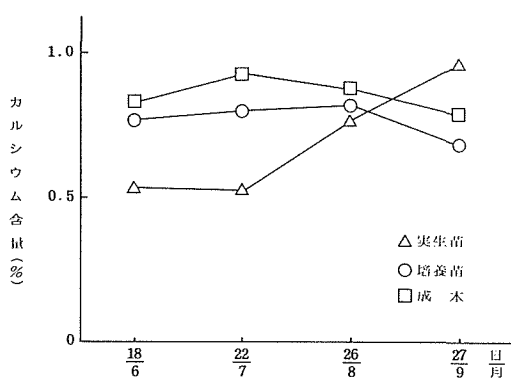
第8図 実生苗、組織培養苗及び成木の挿木苗における葉内チッソ含量の変化



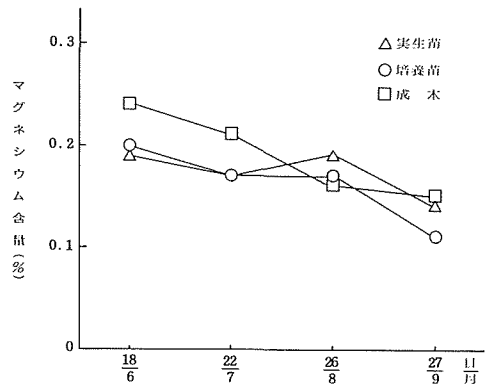
第9図 実生苗、組織培養苗及び成木の挿木苗における葉内リン含量の変化



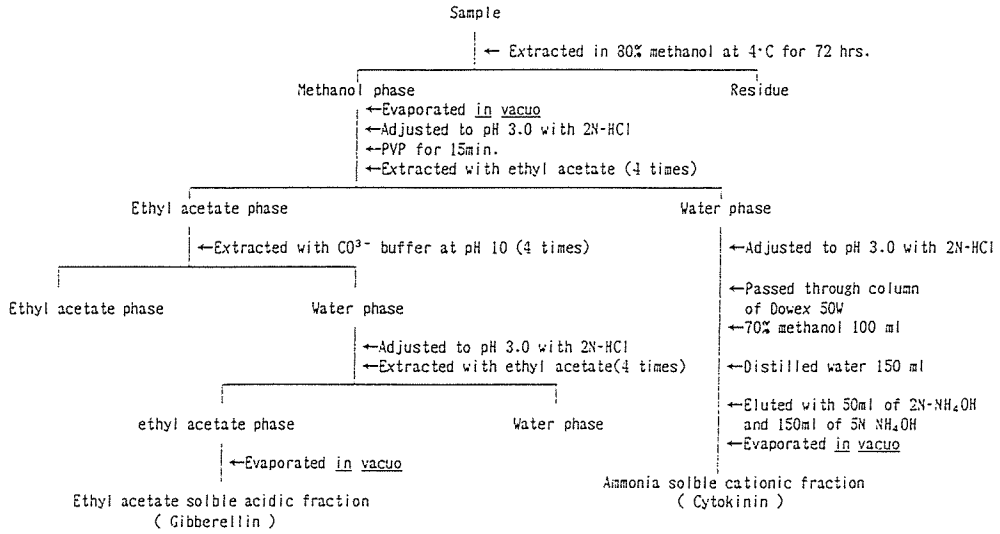
第10図 実生苗、組織培養苗及び成木の挿木苗における葉内カリウム含量の変化



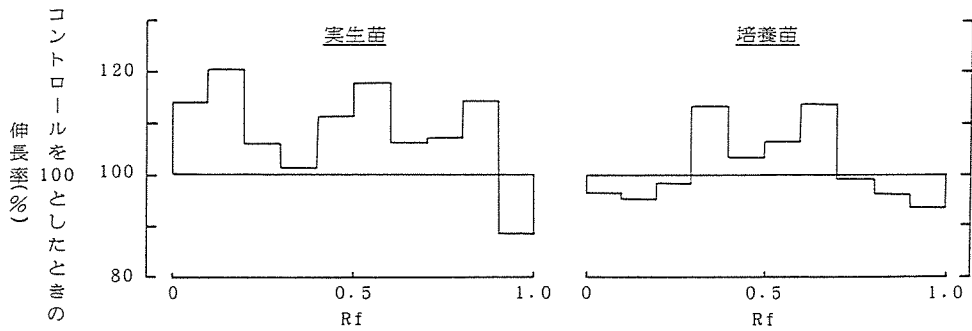
第11図 実生苗、組織培養苗及び成木の挿木苗における葉内カルシウム含量の変化



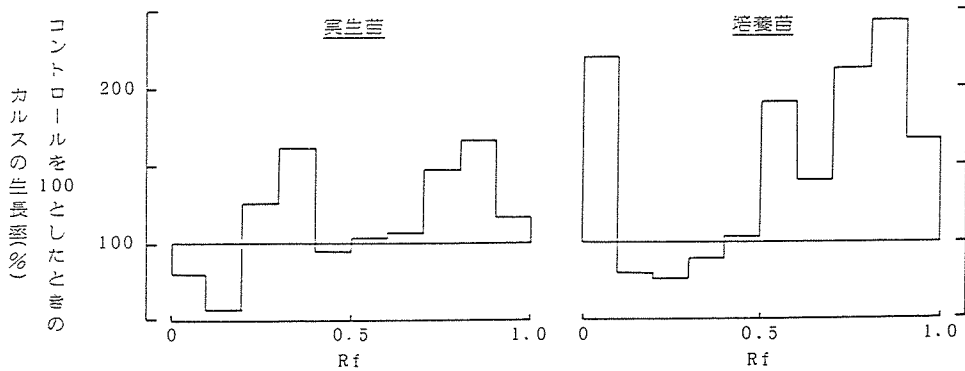
第12図 実生苗、組織培養苗及び成木の挿木苗における葉内マグネシウム含量の変化



第13図 ジベレリンおよびサイトカイニンの抽出分離方法



第14図 実生苗と組織培養苗の根におけるジベレリン活性



第15図 実生苗と組織培養苗の葉におけるサイトカイニン活性

第6表 実生苗と組織培養苗の根におけるジベレリン含量

台木	ジベレリン含量 (ng GA ₃ eq. /gFW)
	根
実生苗	11.8
組織培養苗	4.0

第7表 実生苗と組織培養苗におけるサイトカイニン含量

台木	サイトカイニン含量 (ng Kinetin eq. /gFW)	
	根	葉
実生苗	66	47
組織培養苗	140	180

子顕微鏡で観察した結果、組織培養苗の細根の表面に無数の付着物が認められた（写真7）。

一方、実生苗、組織培養苗及び成木の挿木苗における根の生理活性を第5表に示した。CO₂発生量は、組織培養苗の挿木苗が他に比べて特に多く、実生苗と成木の挿木苗の間には明瞭な差は認められなかった。また、フォルマザン生成量も組織培養苗の挿木苗が最も多く、次いで成木、実生苗の挿木苗の順であった。

5) 無機成分の吸収

実生苗と組織培養苗における葉内無機成分含量の季節的変化を第3図から第7図まで示した。葉内窒素含量は、生育初期は組織培養苗の方が多く、以後は実生苗の方が多くなる傾向にあった。葉内リン含量は、両台木とも3月下旬に高い値を示したが、以後はほぼ一定の値で推移し、両者の間に明瞭な差異は認められなかった。葉内カリウム含量は、葉内チッソ含量とほぼ同様の傾向を示し、特に生育初期において組織培養苗の方が多いたことが認められた。葉内カルシウム含量は、生育期間を通して組織培養苗の方が多く、逆に葉内マグネシウム含量は実生苗の方が多いた傾向にあった。

一方、実生苗、組織培養苗及び成木の挿木苗における葉内無機成分含量の変化を第8図から第12図に示した。葉内チッソ含量は、生育後期において実生苗の挿木苗が高い値を示したが、明瞭な差異は認められなかった。葉内リン含量は各挿木内において変動が大きく一定の傾向は認められなかった。葉内カルシウム含量は、生育盛期において組織培養苗及び成木の挿木苗が高い値を示し、葉内カリウム及びマグネシウム含量は、各挿木苗の間に明瞭な差異は認められなかった。

6) 内生生長調節物質

実生苗と組織培養苗の根におけるジベレリン含量及びジベレリン活性を第6表、第14図に示した。また、実生苗と組織培養苗の葉、根におけるサイトカイニン含量及び葉におけるサイトカイニン活性を第7表、第15図に示した。ジベレリン含量は実生苗の方が多く、逆にサイトカイニン含量は組織培養苗の方が多いたことが認められた。

第2節 穂木品種に及ぼす組織培養台木の影響

1. 材料及び方法

第1節と同様の方法で養成した組織培養苗と実生苗を台木として、1987年3月下旬に‘新水’‘二十世紀’及び‘豊水’のニホンナシ品種を接木したものを供試した。これらの接木苗を以下の実験に用いて、穂木品種に及ぼす組織培養台木の影響を検討した。なお、供試した3品種は養成3年

目の1989年春に圃場へ定植した。

1) 樹体の初期生育及び花芽形成

1987年(1年生), 1988年(2年生), 1989年(3年生)の10月中旬に, 供試した接木苗の総新梢長, 幹径及び花芽形成率を調査した。

2) 形態的特性

1989年の10月中旬に, 供試した接木苗の根の形態を調査した。

3) 無機成分の吸収

1987年6月から10月にかけて, 供試した接木苗の葉(成葉)を経時的に採取した。採取したそれぞれの葉は乾物にして粉末試料とし, 第1節と同様の方法でチツソ, リン, カリウム, カルシウム, マグネシウムの葉内含量を測定した。

4) 果実

1989年に供試した接木苗に果実を着果させ, それぞれの収穫適期(適熟)に果実を収穫し, 果形, 果重, 糖度及び硬度を調査した。

2. 結 果

1) 樹体の初期生育及び花芽形成

接木したニホンナシ3品種の生育及び花芽形成に及ぼす組織培養台木の影響を第8表から第10表に示した。樹体の生長は養成1年目の1987年においては, 一般にいずれの品種においても組織培養台木の方が生育が旺盛であった(写真8, 9, 10)。養成2年目, 3年目の1988年, 1989年では両者の間に有意差は認められなかったが, いずれの品種においても組織培養台木の方が生育が良好であった。一方, 花芽形成率はいずれの品種においても, 養成1年目の1987年において実生台木の方が高い値を示したが, 以後は組織培養台木の方が高い傾向にあった。

2) 形態的特性

実生台木と組織培養台木に接木したニホンナシ3品種の根の形態を写真11から写真13に示した。

第8表 '新水'の生育及び花芽形成に及ぼす組織培養台木の影響

台 木	総新梢長 (cm)			幹径 (mm)			花芽形成 (%)		
	1987	1988	1989	1987	1988	1989	1987	1988	1989
実 生	129.8b ²	238.3a	379.3a	13.9b	17.5a	24.2a	29.4a	13.2a	18.9a
組織培養苗	206.8a	200.6a	413.0a	16.2a	19.3a	27.6a	18.0a	28.7a	24.2a

²ダンカンの多重検定 (5%水準)

第9表 '二十世紀'の生育及び花芽形成に及ぼす組織培養台木の影響

台 木	総新梢長 (cm)			幹径 (mm)			花芽形成 (%)		
	1987	1988	1989	1987	1988	1989	1987	1988	1989
実 生	86.5a ²	204.0a	655.0a	10.4b	19.0a	29.1a	16.9a	18.9a	26.6a
組織培養	140.0a	251.1a	266.7a	13.2a	19.1a	29.5a	16.5a	25.2a	30.2a

²ダンカンの多重検定 (5%水準)

第10表 '新水' の生育及び花芽形成に及ぼす組織培養台木の影響

台木	総新梢長 (cm)			幹径 (mm)			花芽形成率 (%)		
	1987	1988	1989	1987	1988	1989	1987	1988	1989
実生	200.0a [*]	323.0a	789.3a	12.7b	19.8a	29.1a	28.3a	20.8a	21.5a
組織培養	206.0a	399.9a	1225.7a	14.7a	20.1a	31.9a	20.8a	30.0a	34.0a

^{*}ダンカンの多重検定 (5%水準)



写真8 '新水' の新梢生長に及ぼす組織培養台木の影響 (養成1年目)
(左:実生台木 右:組織培養台木)



写真9 '二十世紀' の新梢生長に及ぼす組織培養台木の影響 (養成1年目)
(左:実生台木 右:組織培養台木)



写真10 '豊水' の新梢生長に及ぼす組織培養台木の影響 (養成1年目)
(左:実生台木 右:組織培養台木)

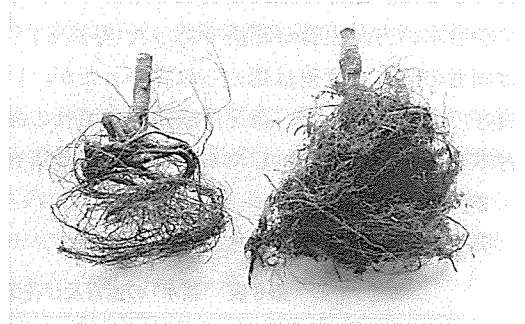


写真11 '新水' の根の形態に及ぼす組織培養台木の影響 (左:実生台木 右:組織培養台木)

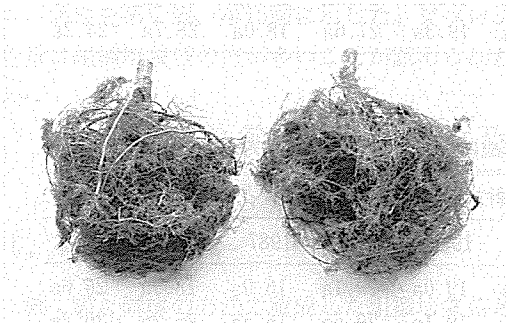


写真12 '二十世紀' の根の形態に及ぼす組織培養台木の影響 (左:実生台木 右:組織培養台木)

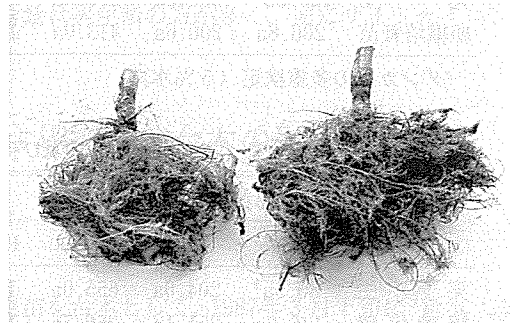
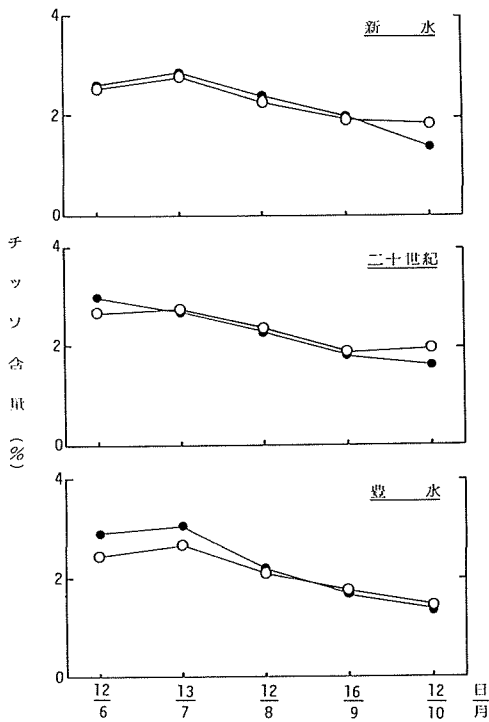


写真13 '豊水' の根の形態に及ぼす組織培養台木の影響 (左:実生台木 右:組織培養台木)

一般に、'新水'では従来の実生台木に接木した場合、地下部に占める太根や中根の割合が高く、逆に細根の割合が低くなる。これに対して、組織培養台木に接木した場合、細根の占める割合が著しく増加することが認められた。'二十世紀'及び'豊水'においても、地下部に占める細根の割合が若干増加した。

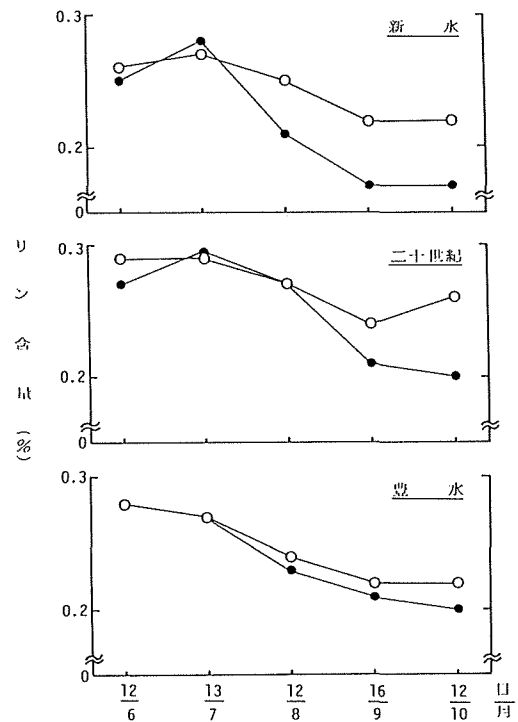
3) 無機成分の吸収

接木したニホンナシ3品種の葉内無機成分含量に及ぼす組織培養台木の影響を第16図から第20図に示した。葉内チッソ含量は、いずれの品種においても両台木間に明瞭な差異は認められなかった。葉内リン含量は、'豊水'においては両台木間に差異は認められなかったが、'新水'及び'二十世紀'では生育後期において実生台木の方が高い傾向にあった。葉内カリウム含量は、いずれの品種においても一定の傾向は認められなかった。葉内カルシウム含量は、いずれの品種においても生育盛期では両台木間に差異は認められなかったが、生育後期において組織培養台木の方が特多い傾向にあった。葉内マグネシウム含量は、一般にいずれの品種においても実生台木の方が高い傾向にあった。



第16図 '新水'、'二十世紀'及び'豊水'の葉内チッソ含量に及ぼす組織培養台木の影響

○ 実生台木 ● 増養台木



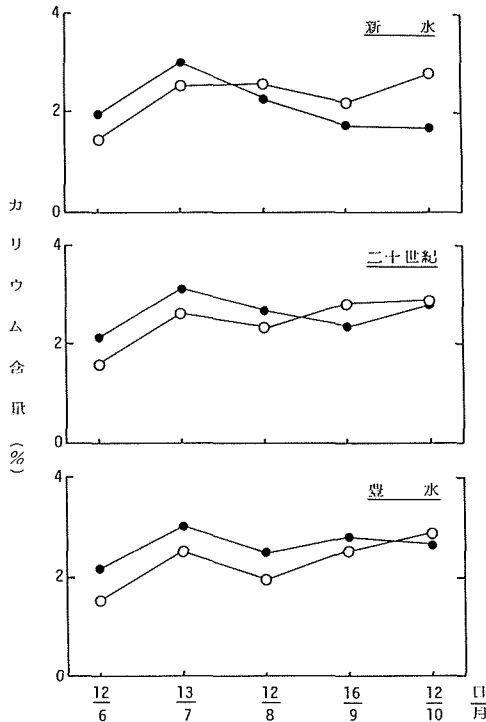
第17図 '新水'、'二十世紀'及び'豊水'の葉内リン含量に及ぼす組織培養台木の影響

○ 実生台木 ● 増養台木

4) 果実

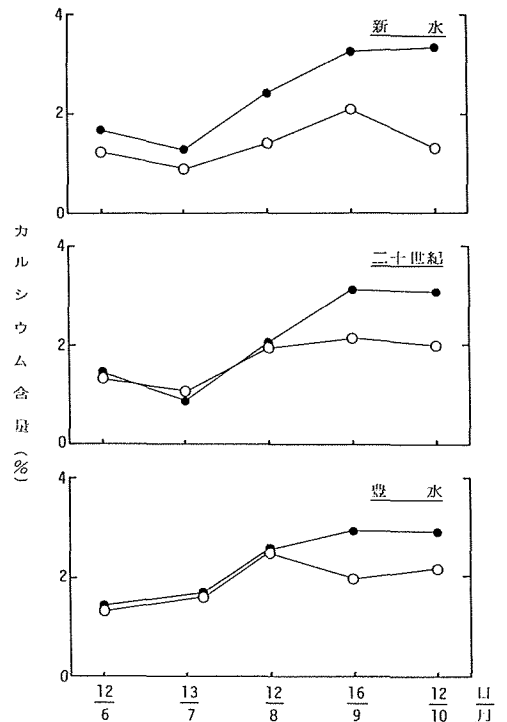
接木した3品種に、養成3年目の1989年に初結実させた果実を写真14から写真16に示した。また、それぞれの果実特性を第11表から第13表に示した。'豊水'においては、組織培養台木の方が果実が大きく、味、肉質においては両者の間に差異は認められなかった。

'新水'及び'二十世紀'では、果実の大きさ、味、肉質のいずれにおいても両者の間に差異は認められなかった。また、収穫時期はいずれの品種でも両者の間に差異は認められなかった。



第18図 '新水'、'二十世紀'及び'豊水'の葉内カルシウム含量に及ぼす組織培養台木の影響

○ 実生台木 ● 培養台木



第19図 '新水'、'二十世紀'及び'豊水'の葉内カルシウム含量に及ぼす組織培養台木の影響

○ 実生台木 ● 培養台木

第11表 '新水'の果実特性に及ぼす組織培養台木の影響

台木	果径 (mm)		果重 (g)	糖度 (%)	硬度 (kg/cm ²)
	横径	縦径			
実生	76.2a	57.9a	202.7a	13.2a	0.93a
組織培養	75.9a	57.5a	200.1a	12.8a	0.97a

※ダンカンの多重検定 (5%水準)

第12表 '二十世紀'の果実特性に及ぼす組織培養台木の影響

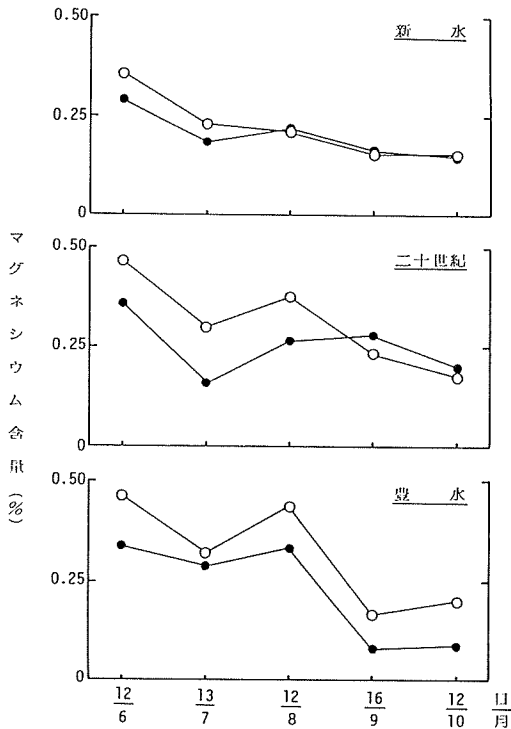
台木	果径 (mm)		果重 (g)	糖度 (%)	硬度 (kg/cm ²)
	横径	縦径			
実生	84.3a ^z	69.9a	284.3a	10.2a	1.28a
組織培養	85.4a	69.4a	301.4a	10.3a	1.27a

^zダンカンの多重検定 (5%水準)

第13表 '新水'の果実特性に及ぼす組織培養台木の影響

台木	果径 (mm)		果重 (g)	糖度 (%)	硬度 (kg/cm ²)
	横径	縦径			
実生	87.1a	73.0a	321.2a	11.2a	0.87b
組織培養	97.1a	81.0a	425.6a	12.2a	0.96a

^zダンカンの多重検定 (5%水準)



第20図 '新水', '二十世紀'及び'豊水'の葉内マグネシウム含量に及ぼす組織培養台木の影響

○ 実生台木 ● 培養台木

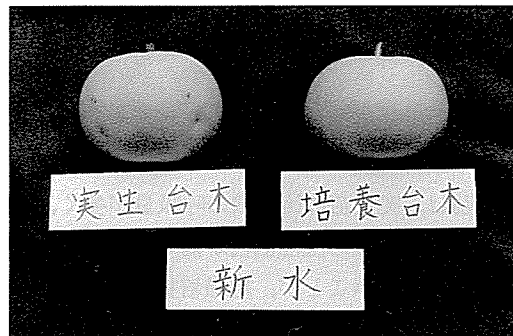


写真14 '新水'の果実発育に及ぼす組織培養台木の影響 (左:実生台木 右:組織培養台木)

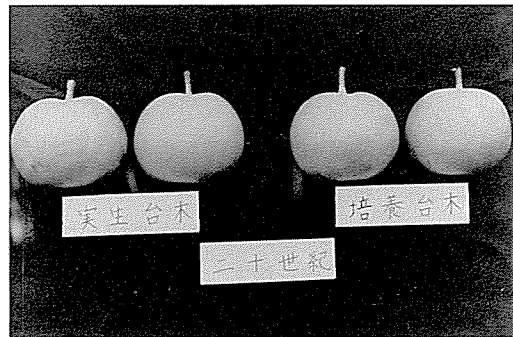


写真15 '二十世紀'の果実発育に及ぼす組織培養台木の影響 (左:実生台木 右:組織培養台木)

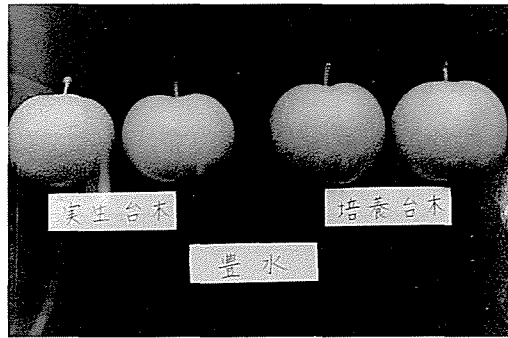


写真16 ‘豊水’の果実発育に及ぼす組織培養台木の影響
(左：実生台木 右：組織培養台木)

第3節 考 察

一般に、組織培養により得られた個体は、従来の繁殖法により得られた個体よりも生育が旺盛となることが知られている。Rosatiら⁽²²⁾はモモの台木を用いて、またSwartzら⁽²⁴⁾はイチゴを用いて同様の結果を報告している。

本実験においても、組織培養苗は実生苗に比べ新梢生長が旺盛で樹勢が強いことが認められた。また、組織培養苗は実生苗に比べ著しく細根が多いことが明らかになった。このことから、根が樹体の生育に関係していることが考えられ、それらの芽の生理活性を調査した。その結果、組織培養苗は、実生苗に比べ根の呼吸量が多く、TTCによる根の還元能が高いことから、組織培養苗は実生苗より根の生理活性が高いものと推察される。したがって、養水分の吸収器官である根の生理活性が高いことが、組織培養苗の旺盛な生育をもたらした一因であるものと考えられる。一方、実際にそれらを台木として接木を行った場合においても、組織培養台木の実生台木に比べ生育が旺盛であった。このことは、台木として用いた組織培養苗の細根量が多く、その生理活性が高いことと関連しているものと思われる。

また、根の生理活性は、一般に養水分の吸収と密接に関連していることが知られている^(16,26)。すなわち、根細胞の好気呼吸により養水分の積極的吸収が促進される。本実験において、組織培養苗はチツソの吸収が早期吸収型であるのに対し、実生苗ではおそ効き型の傾向が認められた。これは、組織培養苗の根の生理活性が高いことと関連しているものと思われる。しかも、樹体の生育初期は根や枝葉の広がる時期で、チツソを最も多く必要とする⁽¹³⁾ことから、組織培養苗は樹体の生育において効果的にチツソを吸収しているものと考えられる。一方、これらを台木として実際にニホンナシ品種を接木した個体においても、台木とほぼ同様の傾向が認められた。その中で、組織培養苗を台木として用いた場合、特に生育後期においてカルシウムの吸収が多い傾向にあった。現在、生産現場において、ニホンナシ果実の生理障害の一つであるユズ肌病が問題となっており、これはカルシウムの欠乏が原因であるものと考えられている。したがって、細根量が多くしかも生育後期にカルシウムの吸収が多い組織培養苗を台木として用いた場合、ユズ肌病をかなり防ぐことができるものと期待される。

さらに、根の生理活性は内生生長調節物質の生合成に大きく関与しているものと考えられている⁽⁹⁾。特に、サイトカイニンは根で合成されることが知られており、実際に根の生理活性が高い組織培養苗の方がサイトカイニンが多いことが認められた。このことは、組織培養苗において地上部の分枝が多く、実際に接木した場合に花芽形成が良好なことと関連しているものと思われる。

木本性植物の相的変換 (Phase change) の最も顕著な特徴は、一度成木相に達したものを栄養繁殖しても容易に幼木層に戻らない⁽¹⁸⁾ことである。しかし、30年生の成木から得られた組織培養苗から、3年生の実生苗と同様のトゲが認められた。また、組織培養苗における挿木発根能は実生苗と同程度であり、成木の失った抽木発根能を回復していた。このように、組織培養苗は実生苗と同様の若返し現象を示すことが明らかになった。

一方、Cancellierら⁽⁶⁾は、ブドウの組織培養苗の圃場試験において、定植直後に組織培養苗で若返り現象を示した特性は、数年後にまで維持されるものと、もとの植物体の特性に戻るものに分かれたと報告している。本実験においても、養成3年目に組織培養苗で見られたトゲは5年目には全く消失し、変わって花芽が形成されたが、挿木発根能はその後も低下せず維持されている。したがって、組織培養苗でみられた若返り現象は、その特性の一部だけで起こったものと思われる。

これとは別に、実生苗、組織培養苗及び成木の挿木苗を用いて、同様にそれらの諸特性を比較検討した。その結果、組織培養苗の挿木苗の生育特性は、実生苗と成木の接木苗の中間の特性を示した。また、組織培養苗の挿木苗において、トゲは樹齢の経過にもなって減少し、成木の挿木苗ではそれが全く認められなかった。したがって、組織培養苗は花芽形成が認められたことを見ても、過渡相 (Transitional phase) の状態にあるものと推察される。

第2章 ナシ栽培品種自根苗の特性

近年、ナシ産地鳥取において、主要栽培品種である‘二十世紀’は、樹齢40～50年の老木が大半を占めるようになり、これによる生産力の低下が問題となっている。したがって、改植・新植による老木の更新が急務となっており、そのために大量の苗木が必要となってくる。

また、接木によるウイルス病（えそ斑点病、ナシ萎縮病）の伝染により果実の品質低下が認められるようになった。このことから、生産現場においてウイルスフリー苗木の生産、配布が早急に望まれている。さらに、ニホンナシ品種は挿木による発根が困難なために、従来の接木による苗木生産では限界がありその供給が間に合わないのが現状である。したがって、台木を使用せず短期間に大量の自根苗を生産する方法の確立が強く望まれている。

一方、ニホンナシ栽培品種の繁殖法として、組織培養による大量増殖法が報告されている⁽⁴⁾。これにより、さきに述べた現在生産現場で問題となっていることを解決することができるものと期待される。しかし、組織培養により得られた自根苗の特性については未だ検討されておらず、早急な検討が望まれている。

本章では、組織培養により得られた栽培品種自根苗の特性について、従来の接木苗と比較調査することにより、自根苗の実用化の可能性を検討した。さらに、自根苗から穂木を採取して接木試験を行い、その接木苗の特性についても併せて検討した。

第1節 自根苗と接木苗の特性比較

1. 材料及び方法

本学農場に栽植されているニホンナシ栽培品種‘二十世紀’及び‘豊水’を供試した。栽培品種自根苗は、それぞれ第1章と同様の方法で培養し発根させて、1987年春に馴化・養成した（写真17）。一方、接木苗は、自根苗と同年春にそれぞれの穂木を2年生の‘マンシュウマメナシ’台木に接木し養成した。これらの自根苗と接木苗を以下の実験に用いて、それぞれの特性を比較検討した。なお、それぞれの自根苗と接木苗は、養成3年目の1989年春に圃場へ定植した。

1) 樹体の初期生育及び花芽形成

1988年（2年生）の10月中旬に、それぞれの自根苗と接木苗の総新梢長及び幹径を調査した。また、自根苗にも花芽形成が認められたことから、花芽形成率も併せて調査した。

2) 形態的特性

1989年（3年生）の10月中旬に、‘豊水’の自根苗と接木苗の根の形態を調査した。

3) 果実

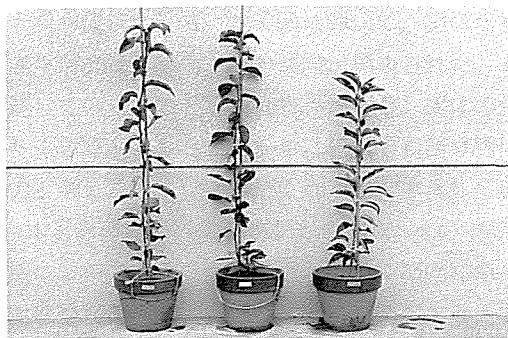


写真17 各栽培品種自根苗の生育状態
（左：‘豊水’，中：‘八雲’，右：‘おき二十世紀’）

1989年に‘二十世紀’の自根苗と接木苗に果実を着果させ、収穫適期（適熟）に果実を収穫し、果径、果重、糖度及び硬度を測定した。

2. 結 果

1) 樹体の初期生育及び花芽形成

‘豊水’及び‘二十世紀’の自根苗の特性を第14表、第15表に、またこれらの生育状態を写真18、写真19に示した。供試したいずれの品種においても、新梢生産量に全く差異は認められなかったが、幹径は接木苗の方が大きかった。また、花芽形成率は一般に接木苗の方が高い傾向にあったが、有意差は認められなかった。

2) 形態的特性

‘豊水’の自根苗及び接木苗の根の形態を写真20に示した。自根苗は接木苗に比べ根量が多く、また接木苗とほぼ同量の細根を持ちしかも中根、太根の割合が多いため根群が広いことが認められた。

3) 果実

‘二十世紀’の自根苗に、養成3年目の1989年に初めて結実した果実を写真21に示した。自根苗から得られた果実は、形状、味、肉質ともに従来の‘二十世紀’と同様であり、組織培養による変異は全く認められなかった。一方、果実の大きさは接木苗の方が大きく、収穫時期は両者の間に差異は認められなかった。

第14表 ‘豊水’自根苗の生育特性 (1988)

台 木	総新梢長(cm)	幹径(mm)	花芽形成率(%)
接木苗	323.0a ²	19.8a	20.8a
自根苗	324.3a	17.4a	7.9a

²ダンカンの多重検定 (5%水準)

第15表 ‘二十世紀’自根苗の生育特性 (1988)

台 木	総新梢長(cm)	幹径(mm)	花芽形成率(%)
接木苗	220.4a ²	20.0a	22.4a
自根苗	220.0a	13.7a	16.8a

²ダンカンの多重検定 (5%水準)

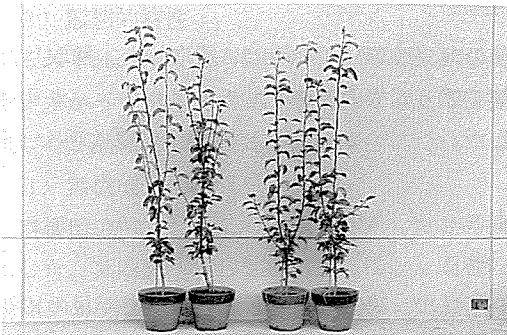


写真18 ‘豊水’の自根苗と接木苗の生育状態（養成2年目）（左：接木苗 右：自根苗）



写真19 ‘二十世紀’の自根苗と接木苗の生育状態（養成2年目）（左：接木苗 右：自根苗）

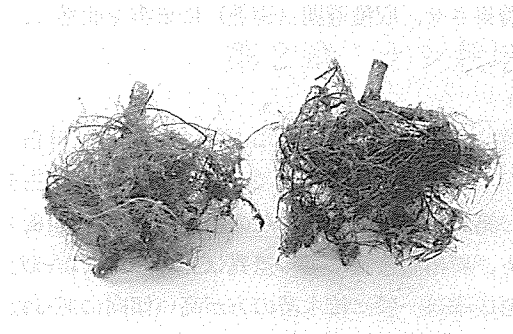


写真20 '豊水' の自根苗と接木苗の根の形態
(左: 接木苗 右: 自根苗)

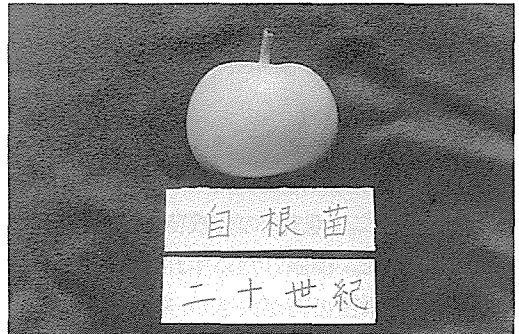


写真21 '二十世紀' 自根苗の果実

第2節 自根苗穂木を用いた接木苗の特性

1. 材料及び方法

第1節と同様の方法で養成した'豊水'及び'おさ二十世紀'の自根苗と、本学農場に栽植されている'豊水'及び'おさ二十世紀'を供試した。1988年1月に両者より穂木を採取し1988年3月下旬にそれぞれ同じ'マンシュウマメナシ'台木に接木した。これらの接木苗を以下の実験に用いて、それぞれの特性を比較検討した。

1) 樹体の初期生育及び花芽形成

1988年(1年生)、1989年(2年生)の10月中旬に、それぞれの接木苗の総新梢長、幹径及び花芽形成率を調査した。

2) 形態的特性

1989年の10月中旬に、それぞれの接木苗の根の形態を調査した。

3) 無機成分の吸収

1988年6月から10月にかけて、それぞれの接木苗の葉(成葉)を経時的に採取した。採取したそれぞれの葉は乾物にして粉末試料とし、第1章第1節と同様の方法で、チツソ、リン、カリウム、カルシウム、マグネシウムの葉内含量を測定した。

2. 結 果

1) 樹体の初期生育及び花芽形成

'豊水'及び'おさ二十世紀'の自根苗穂木の特性を第16表、第17表に示した。養成1年目の1988年において、'豊水'では自根苗の方が生育が旺盛であったが、'おさ二十世紀'では両者の間にほとんど差異は認められなかった。また、養成2年目の1989年では供試した2品種とも両者の間に有意差は認められなかったが、自根苗の方が生育が良好であった。

一方、花芽形成率は、'豊水'においては従来の穂木の方が高く自根苗との間に有意差が認められたが、'おさ二十世紀'では両者の間に明瞭な差異は認められなかった。

第16表 '豊水' 自根苗穂の特性

穂 木	総新梢長 (cm)		幹径 (mm)		花芽形成率(%)	
	1988	1989	1988	1989	1988	1989
対 照	78.0b ^z	234.0a	9.5a	16.5a	36.4a	17.8a
自根苗	174.7a	307.0a	11.0a	16.8a	7.9b	6.0b

^zダンカン多重検定 (5%水準)

第17表 'おさ二十世紀' 自根苗穂の特性

穂 木	総新梢長 (cm)		幹径 (mm)		花芽形成率(%)	
	1988	1989	1988	1989	1988	1989
対 照	79.5a ^z	234.0a	9.1a	15.1a	3.6a	10.2a
自根苗	73.8a	307.0a	9.5a	17.1a	6.8a	8.7a

^zダンカン多重検定 (5%水準)

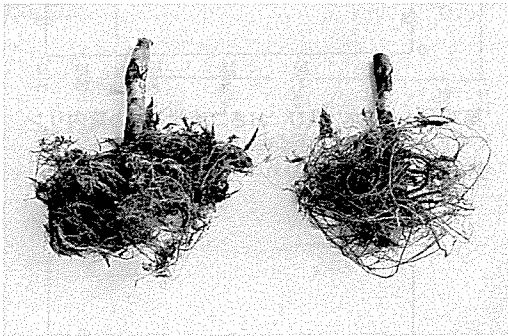


写真22 '豊水' の根の形態に及ぼす額根苗穂木の影響 (左: 対照 右: 自根苗)

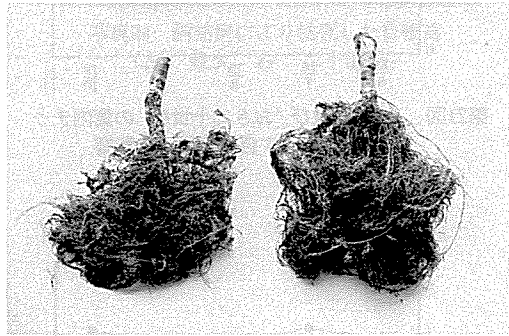


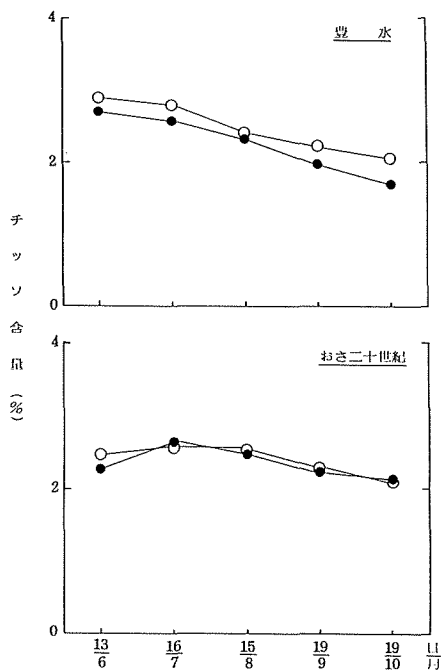
写真23 'おさ二十世紀' の根の形態に及ぼす自根苗穂木の影響 (左: 対照 右: 自根苗)

2) 形態的特性

それぞれの接木苗の根の形態を写真22, 写真23に示した。'豊水' では従来の穂木の方が多少根量が多かったが, 'おさ二十世紀' では逆に自根苗の穂木の方が根量が多いことが認められた。供試した2品種とも, 根系の構成割合については両者の間に差異は認められなかった。

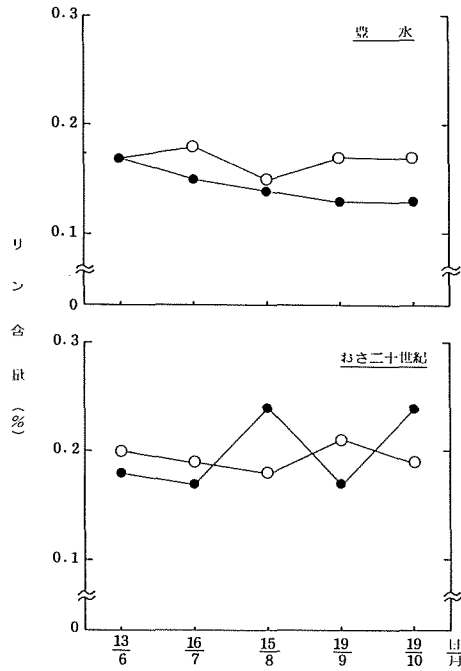
3) 無機成分の吸収

自根苗の穂木と従来の穂木を接木した2品種の葉内無機成分含量の変化を第21図から第25図に示した。葉内チツソ含量は, 2品種とも両者の間に明瞭な差異は認められなかった。葉内リン及びマグネシウム含量は, '豊水' においては従来の穂木の方が高い傾向にあったが, 'おさ二十世紀' では両者の間に一定の傾向は認められなかった。葉内カリウム含量は, '豊水' においては自根苗の穂木の方が高い傾向にあったが, 'おさ二十世紀' では両者の間に差異は認められなかった。葉内カルシウム含量は, '豊水' においては従来の穂木の方が特に高い値で推移したが, 'おさ二十世紀' では両者の間に差異は認められなかった。



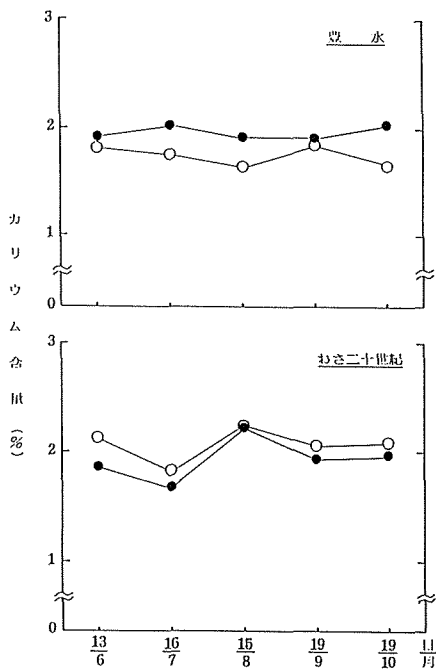
第21図 '豊水' 及び 'おさ二十世紀' の葉内チッソ含量に及ぼす自根苗穂木の影響

○対照 ●自根苗



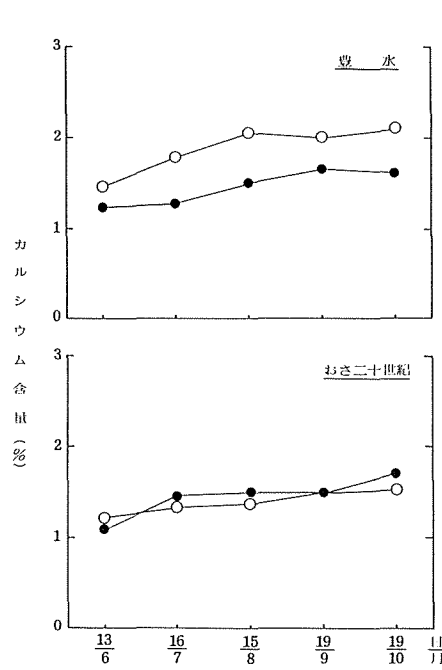
第22図 '豊水' 及び 'おさ二十世紀' の葉内リン含量に及ぼす自根苗穂木の影響

○対照 ●自根苗



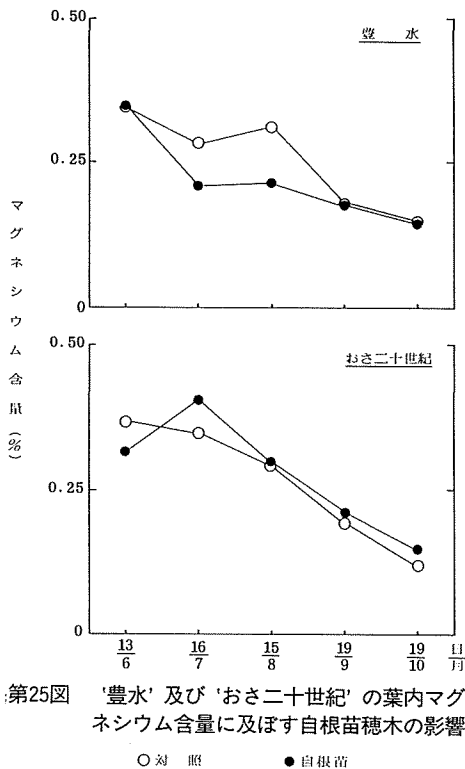
第23図 '豊水' 及び 'おさ二十世紀' の葉内カリウム含量に及ぼす自根苗穂木の影響

○対照 ●自根苗



第24図 '豊水' 及び 'おさ二十世紀' の葉内カルシウム含量に及ぼす自根苗穂木の影響

○対照 ●自根苗



第25図 '豊水' 及び 'おさ二十世紀' の葉内マグネシウム含量に及ぼす自根苗穂木の影響

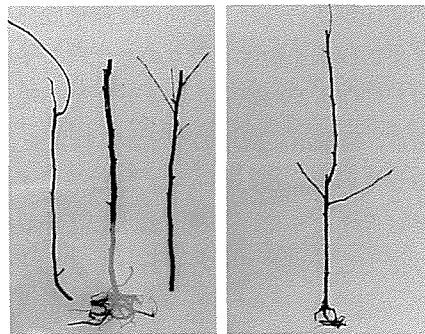


写真24 胴枯病により枯死した自根苗 (左: '豊水' 右: '二十世紀')

第3節 考 察

本実験で供試した '豊水' 及び '二十世紀' の自根苗は、接木苗と比較して新梢生長が旺盛であったが、幹径は逆に接木苗の方が大きいことが認められた。Websterら⁽²⁷⁾は、リンゴの栽培品種自根苗の圃場試験を行い、養成1~2年目においては接木苗の方が生育が旺盛であったが、それ以降になると自根苗の方が良好な生育を示したということを報告している。本実験においても、さらに養成年数が経過していけば自根苗の方が生育が旺盛となることが期待される。

本実験で供試した自根苗は、養成当年度の個体を用いていることから根系が1年しか経過していない。一方、接木苗は2年生の実生台木に接木した個体を用いていることから、自根苗とは明らかに根系が異なっていることがうかがえる。また、自根苗は定植時において接木苗よりも小さく、圃場試験の際定植時の大きさや生育状態によって、その後の生育が左右されやすい。そのため、写真24に示すように、自根苗が胴枯れ病により枯死したことが認められた。したがって、定植時までに自根苗が接木苗とほぼ同様の生育状態を示すようになることが必要であると思われる。

'二十世紀' 自根苗に結実した果実の特性は、従来の接木苗の果実と同様であったことから、組織培養による変異は起こっていないものと推察される。また、果実の大きさについては、自根苗

に結実した果実は従来の接木苗の果実よりも多少小さかったが、自根苗の方が生育が旺盛となってくることに伴って、果実も大きくなるものと思われる。

一方、自根苗を穂木として接木試験を行った結果、自根苗の穂木の方が従来の穂木よりも生育が旺盛であることが認められた。Webster⁽²⁸⁾らはリンゴの矮性台木の一つであるMM. 106の実生苗に、自根苗の穂木と従来の穂木をを接木した場合、自根苗の穂木の方が生育が旺盛であったということを報告している。また、根の形態において、自根苗の穂木を接木することにより多少の根量の増加が認められた。同様に無機成分の吸収においても、自根苗の穂木を接木することにより、従来の穂木を接木したものと比べ若干の差異が認められた。したがって、自根苗の穂木が台木に対して何らかの影響を与えたことが推察される。

さらに、自根苗の穂木のウイルス検定を行ったところ、ナシ系統のSGV (stem grooving virus) を保毒していた。したがって、自根苗穂木の旺盛な生育は穂木のウイルスフリー化によるものであるとは考えにくく、自根苗穂木の花芽形成率が低い値を示したことを考慮すると、穂木自体の若返りによるものであると思われる。

第3章 総合考察

本研究は、組織培養により得られたナシ台木及び栽培品種自根苗を従来の実生苗及び接木苗と比較し、形態的・生理的観点から諸特性を調査することにより、これらの実用性を検討する目的で行った。

まず、組織培養により養成された‘マンシュウマメナシ’（組織培養苗）は従来の種子繁殖により養成された個体（実生苗）に比べ、生育が旺盛で樹勢が強いことが認められた。さらに組織培養苗は実生苗に比べ著しく細根量が多く、その生理活性も高かった。一般に根の生理活性は養水分の吸収と密接に関係しており^(16,26)、根細胞の好気呼吸により特定養成の積極的吸収が促進される。したがって、組織培養苗は養水分の吸収器官である細根の量が多く、しかもその生理活性が高いことが、旺盛な生育をもたらしたものと思われる。

さらに、伴野ら⁽³⁾は、ニホンナシ品種における内生生長物質及び細根の生理活性の動きを調べ、内生生長調節物質の生合成と根の生理活性の関連性を示唆している。特に、サイトカイニン根で合成されることが知られており、実際に根の生理活性が高い組織培養苗の方がサイトカイニン含量が多かった。また地上部におけるサイトカイニン含量も組織培養苗の方が多く、逆にジベレリン含量は実生苗の方が多い傾向にあった。組織培養苗が地上部の分枝が多く、徒長せずに充実型の生育を示したことは、これらの内生生長調節物質含量の多少に起因しているものと推察される。

一方、緑枝挿しにより得られた挿木苗においても、組織培養苗の挿木苗は良好な生育を示した。また、緑枝挿しによる発根において、養成5年目の場合でも組織培養苗は実生苗とほぼ同様の発根率を示した。これらのことから、ナシ台木の挿木による繁殖も可能であるものと考えられ、同一の遺伝子を持ちしかも生育が旺盛な優良台木を大量に供給していくことができるものと思われる。

つぎに、30年生の‘マンシュウマメナシ’成木から得られた組織培養苗から、3年生の実生苗と同様のトゲが認められた。また、組織培養苗は緑枝挿しによる発根において実生苗と同程度発根し、成木の失った挿木発根能を回復していた。これらの特性は、その個体が幼木相の状態にあることの指標とされており、組織培養苗は若返り現象を起こしたことが明らかになった。

現在、実生における幼木相から成木相への変換にともなう内的要因については未だ不明の点が多く、その逆の成木相から幼木相への変換についてはほとんど解明されていない。木本生植物の相的変換の最も顕著な特徴は、一度成木相に達したものを栄養繁殖しても、たやすくは幼木相に戻らない⁽¹⁸⁾ことである。ところが一方で、成木相に達している植物にジベレリンを与えることにより、再び幼木相に戻ることが観察されている⁽²¹⁾。また、木本生植物の組織培養により得られた個体が、*invitro*圃場において若返り現象を示したという報告が数多くなされている^(1,10,12,14,15,17,23,25)。

一般に、幼木相の状態にある植物は旺盛な栄養生長を行うことから、組織培養苗が旺盛な生育を示したことは若返り現象の一つと考えることができる。その旺盛な生育を示したことの原因として、組織培養苗が細根量が多く、その生理活性が高いことをさきに述べたが、若返り現象と細根量及びその生理活性の間には、何らかの関係があるものと思われる。

また、Frydmanら⁽⁸⁾も、根が相的変換のコントロールに極めて重要であり、根で合成されるジベレリンが相的変換に関係していることを報告している。さらに、木本生植物の頂端分裂組織は幼木相から成木相への移行のスイッチを持っており、幼木相の頂端分裂組織におけるジベレリン含量は成木相のそれよりも多いということを報告している^(7,11)。このことは、根で合成されたジベレリンが地上部へ移動し頂端分裂組織のジベレリン活性が高まったことによるものと思われる。本実験において、組織培養苗の根におけるジベレリン含量は実生苗よりも少ないことが認められた。このことから、組織培養苗は3年生の実生苗と同レベルまで若返っておらず、実生苗と成木の中間の状態にあることが推定される。したがって、若返り現象の起こる内的要因として、今後成木も含めてジベレリン含量について検討していく必要があるものと考えられる。

一方、組織培養により得られた個体が若返り現象を起こした原因として、Rosatiら⁽²²⁾は、*in vitro*における培養の際に培地に添加した植物ホルモンの効果が残っていることを報告している。Zimmerman⁽²⁹⁾も、組織培養により得られた個体の分枝の増加は、*in vitro*におけるサイトカイニン処理によるものであることを示唆している。本実験に供試した組織培養苗は、BA(ベンジルアデニン) 1.0mg/1, IBA(インドール酪酸) 0.1mg/1の条件下で培養したものであり、かなり高濃度で長期間処理されている。したがって、組織培養苗には植物ホルモンの効果がかなり残っているものと推察される。

また、伴野ら⁽⁹⁾は、ニホンナシ栽培品種の組織培養による繁殖について、継代回数と発根の関係を検討し、継代回数が6代目までは全く発根しないが、7代目以降になると発根する個体が増加してくると報告している。さらに、Takeno⁽²⁵⁾らは、継代回数の増加に伴う発根率の向上は、内生ジベレリンとサイトカイニンの現象と関連していると報告している。したがって、継代培養期間中の質的変化、中でも内生ジベレリンとサイトカイニンの減少により発根が促進されたものと推察され、今後ニホンナシの不定根形成に関連して重要な研究材料となるものと思われる。

以上述べたように、組織培養苗は若返り現象を示したが、養成5年目においてトゲが全く消失して花芽が形成され、葉の形態は成木に近いものであった。しかし、組織培養苗の挿木発根能は実生苗とほぼ同様であり、幼木相の特性を維持していた。このように、若返り現象は特性の一部で起こっていることが明らかになった。Oliphantら⁽¹⁹⁾、Cancellierら⁽⁶⁾も、これと同様の現象を確認している。したがって、発根が容易である個体でありつつ、花芽が形成されるということは、組織培養苗を実用化していく上で、大いに有利なこととなると思われる。

一方、実生苗、組織培養苗及び成木の挿木苗の特性を調査した結果、組織培養苗は樹体の生育及び形態のいずれにおいても、他の二つの中間的な特性を示すことが認められた。特に組織培養苗と成木は同一の個体から得られた(遺伝的に同じ)ものであるにも関わらず、根の形態に著しい差異が認められた。したがって、組織培養苗は、花芽が形成されたことを考えてみても、幼木相の状態にあるというよりむしろ過渡相の状態にあると考えた方が、より適切であると思われる。

つぎに、組織培養苗を実用化していくために、実際にニホンナシ栽培品種を接木してその特性を調査した結果、組織培養台木の方が従来の実生台木に比べ生育が旺盛であった。また、そのような旺盛な生育にもかかわらず花芽形成が良好であった。したがって、これらのことは実際栽培において有利なこととなると思われる。さらに、組織培養苗と台木として‘新水’を接木したものにおいて、従来のものに比べ細根量の著しい増加が認められた。このことから、‘新水’において

組織培養苗を台木することにより、従来の徒長的な生育を抑え、落ちついた生育をする事が期待できるものと思われる。

以上のように、組織培養苗は実生苗に比べ初期生育が旺盛で樹勢が強く、特性の一部が若返り現象を示すことが明らかになった。また、これらを台木として実際に接木を行ったところ、台木とほぼ同様の特性を示し、組織培養苗を台木としたものは苗木として優れていることが認められた。リンゴにおいて、組織培養により得られた個体は早期開花、早期結実をし、さらに収量も多いことが報告されている⁽²⁾。ニホンナシにおいても、組織培養台木を用いた場合、同様な結果が得られるものと期待され、今後さらに検討していく必要があるものと思われる。

一方、組織培養により得られた‘二十世紀’‘豊水’の自根苗は、従来の接木苗と比較して新梢生長は旺盛であったが、幹径は一般に小さかった。このように、自根苗は植え付け当初生育が良好でないという報告がみられる^(9,22,29)。その原因として、植え付け時の根系の差異と苗木の大きさが考えられる。自根苗は養成当年度の個体を用いることができるが、接木苗はその台木が穂木を接木できるまでにある程度年数を必要とする。したがって、たとえ一年生の苗木であっても接木は1年以上経過しているため、両者を単に比較することは困難である。このように、自根苗は接木苗に比べて根系が小さいことが考えられるため、植え付け時の大きさがどうしても小さく、その後の生育が周囲の環境に左右されやすい。したがって、植え付け1年目において枯死していく個体が認められたものと考えられる。

以上のことから、自根苗を実用化していく場合、植え付け時の苗木の大きさをできる限り大きくする必要のあるものと思われる。このことは、その後の収量にも影響を及ぼすものと推察される。したがって、生長促進のための処理を行ったり、温室等に入れてできるだけ早く生長させるなどの処置が必要であるものと考えられる。また、自根苗を生産していくためには、かなりの費用がかかることが予想され、今後その生産コストを下げっていくために、さらに簡便な方法の検討が必要であるものと思われる。

一方、‘豊水’及び‘おき二十世紀’の自根苗の穂木を用いて接木試験を行った結果、自根苗の穂木の方が従来の穂木に比べ生育が旺盛であった。このように、自根苗の穂木が旺盛な生育を示したことは、自根苗の穂木が旺盛な生育を示したことは、自根苗自体の良好な生育が結びついたものと思われる。また、自根苗の穂木のウイルス検定を行ったところ、ナシ系統のSGVを保有していることが明らかになった。したがって、自根苗の穂木が旺盛な生育を示したことは、穂木のウイルスフリー化によるものであるとは考えにくく、自根苗の穂木の花芽形成率が低かったことを考慮に入れると、穂木自体の若返りによるものと思われる。Websterら⁽²⁸⁾は、自根苗の穂木を接木した場合において、花芽形成が全く認められない個体が出現したことを報告している。

今後、完全なウイルスフリーの個体を得るためには、熱処理と茎頂培養を併用して行ったり、また摘出する茎頂端の大きさを0.2mm程度にまで小さくしていくことが必要であるものと思われる。実際にウイルスフリー化が可能になれば、その個体を原原母樹として、ウイルスフリー苗を生産現場へ供給していくこともできる。一方、自根苗の穂木の花芽形成率が低い値を示したことは、実用面において不利な条件となることから、今後花芽形成を良好にしていくためにさらに検討していく必要があるものと思われる。

以上の結果から、組織培養により得られた自根苗の初期生育は良好であり、自根苗による果実

生産の可能性が示唆された。近年、組織培養による得られた自根苗は、従来の接木苗よりも収量が多くなることが多数報告されており、ニホンナシの自根苗においても収量の増加が期待される。また、自根苗は台木と穂木の相互作用（interaction）を究明していく上で、重要な研究材料となると考えられる。したがって、今後これらの実用化にあたり、果実の収量・品質などについての詳細な検討が必要と思われる。

摘 要

組織培養により得られたナシ台木及び栽培品種自根苗の実用化の可能性を検討する目的で、これらを従来の実生苗及び接木苗と比較し、形態的・生理的観点から諸特性を調査した。さらに、30年生の成木から得られた組織培養台木が、3年生の実生台木と同様のRejuvenation（若返り現象）を示したことに注目し、この点についても検討した。

1. 組織培養により得られた台木（組織培養苗）は、従来の種子繁殖により得られた台木（実生苗）に比べ、初期生育が旺盛であった。

2. 組織培養苗は実生苗に比べ著しく細根量が多く、地上部の分枝も多いことが認められた。また、組織培養苗は3年目において、トゲの出現や挿木発根能の回復にみられるように若返り現象を示した。しかし、組織培養苗に出現したトゲは養成5年目には全く消失し代わって花芽が形成されたが、挿木発根能はその後も変化せず維持されていた。

3. 組織培養苗は実生苗に比べ根の生理活性が高く、チッソの早期吸収やカルシウムの吸収増加の傾向が認められた。

4. 組織培養苗は実生苗に比べサイトカイニンが多く、逆にジベレリンは実生苗の方が多い傾向にあった。

5. 実生苗、組織培養苗及び成木の挿木苗の特性を調査した結果、組織培養苗の挿木苗は実生苗と成木の挿木苗の中間の特性を示した。

6. 組織培養苗と実生苗を台木としてニホンナシ品種を接木した結果、組織培養台木の方が実生台木に比べ樹体の初期生育が優れており、さらに花芽形成も良好であった。また、組織培養苗を台木として用いることにより、果実が大きくなる傾向にあり、無機成分の吸収においても台本の場合とほぼ同様の傾向が認められた。

7. 組織培養により得られた自根苗は、従来の接木苗と比較して、樹体の初期生育、花芽形成ともに接木苗の方が若干良好であったが、いずれも両者の間に有意差は認められなかった。また、自根苗に初結実した果実は、従来の接木苗のものと同様であり、組織培養による変異は認められなかった。

8. 自根苗の穂木と従来の穂木を用いて接木試験を行った結果、一般に自根苗の穂木の方が樹体の初期生育は良好であった。また、花芽形成率も従来の穂木の方が高い傾向にあった。

9. 以上の結果から、組織培養により得られたナシ台木及び栽培品種自根苗の初期生育は良好であり、実用化の可能性が示唆されるが、今後果実の収量・品質などについて、引き続き詳細に検討していく必要がある。

参 考 文 献

- 1) Alfaro, F. P. and T. Murashige. 1987. Possible rejuvenation of adult avocado by graftage onto juvenile rootstocks *in vitro*. HortScience. 22 (6) : 1321-1324.
- 2) Bajaj, Y. P. S. 1986. Biotechnology in agriculture and forestry Vol. 1 : Trees 1. pp. 61-62. Springer-Verleg, Berlin
- 3) 伴野潔・林真二・田辺賢二：1987. ニホンナシにおける花芽形成の品種間差異と内生生長調節物質との関係. 園学雑. 54 (1) : 15-25.
- 4) Banno, K., S. Hayashi, K. Tanabe and A. Tokuzumi : 1988. *In vitro* propagation of Japanese pear rootstocks. Plant Tissue Culture Lett. 5 (2) : 87-89.
- 5) _____, K. Yoshida, S. Hayasi and K. Tanabe : 1989. *In vitro* propagation of Japanese pear cultivars. J. Japan. soc. Hort. Sci. 58 (1) : 37-42.
- 6) Cancellier, S. and F. Cossio : 1988. Field observation on a clone of 'Corvina veronese' (*Vitis vinifera* L.) multiplied *in vitro* culture. Acta Hort. 227 : 508-513.
- 7) Frydman, V. M. and P. F. Wareing : 1973. Phase change in *Hedera helix* L. I : Gibberellin-like substances in the two growth phases. J. Exp. Bot. 24 : 1131-1138.
- 8) _____ : 1973. Phase change in *Hedera helix* L. II : The possible role of roots as a source of shoot gibberellin-like substances. J. Exp. Bot. 24 : 1139-1148.
- 9) Galletta, G. J. and R. H. Zimmerman : 1983. Field performance and phenotypic stability of tissue culture-propagated thornless blackberries. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 108 (2) : 285-290.
- 10) Geneve, R. L., W. P. Hackett and B. T. Swans on. 1988. Adventitious root initiation in de-bladed petioles from the juvenile and mature phase of English ivy. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 113 (4) : 630-635.
- 11) Hackett, W. P. : 1976. Control of phase change in woody plants. Acta Hort. 56 : 143-154.
- 12) _____ : 1985. Juvenility, maturation and rejuvenation in woody plants. Horticultural reviews. 5 : 109-155.
- 13) 林真二：1981. 果樹園芸各論 (小林章・苫名孝共編). pp. 1-32. 養賢堂.
- 14) Howard, B. H., O. P. Jones and J. Vasek : 1989. Growth characteristics of apparently rejuvenated plum shoots. J. Hort. Sci. 62 (2) : 157-162.
- 15) Jones, O. P. and W. C. C. Hadolow : 1989. Juvenile-like characters of apple trees produced by grafting scions and rootstocks produced by micropropagation. J. Hort. Sci. 64 (4) : 395-401.
- 16) 熊沢喜久男：1976. 植物の養分吸収. pp. 116-124. 東京大学出版会.
- 17) Mullins, M. G., Y. Mair and P. Sampet. 1979. Rejuvenation *in vitro* : Induction of juvenile characters in an adult clone of *Vitis vinifera* L. Ann. Bot 44 : 623-627.
- 18) 中川昌一：1978. 果樹園芸原論. pp. 1-3. 養賢堂.
- 19) Oliphant, J. L. 1988. Consideration of juvenility and maturity in the micropropagation of

- the *Metrosideros* species. *Acta Hort.* 227 : 482-484.
- 20) 大阪府立大学農学部園芸学教室. 1981. 園芸学実験・実習. pp. 151-152. 養賢堂.
 - 21) Rogler, C. E. and W. P. Hackett. : 1975. Phase change in *Hedera helix* L. : Induction of the mature to juvenile phase change by gibberellin A3. *Physiol. Plant.* 34 : 141-147.
 - 22) Rosati, P. : 1987. Field performance of micropropagated peach rootstocks and scion cultivars of sour cherry and apple. *Acta Hort.* 212 : 379-390.
 - 23) Smith, D. L., K. Kely and A. D. Krikorian. : 1989. Ethylene-associated phase change from juvenile to mature phenotype of daylily *in vitro*. *Physiol. Plant.* 76 : 466-473.
 - 24) Swartz, H. J., G. T. Galletta and R. H. Zimmerman. : 1983. Field performance and phenotypic stability of tissue culture-propagated strawberries. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 106 : 667-673.
 - 25) Takeno, K., J. S. Taylor, S. Sriskandarajah, R. P. Pharis and M. G. Mullins. 1982/83. Endogenous gibberellin- and cytokinin-like substances in cultured shoot tissues of apple. *Malus pumila* cv. Jonathan, in relation to adventitious root formation. *Plant Growth Regulation.* 1 : 261-268.
 - 26) 田辺賢二・林真二・伴野潔・原田直・真野隆 : 1986. ニホンナシ台木の種類と根の生理機能の差異. 園芸学会中四国支部大会要旨. : 10.
 - 27) Webster, A. D., V. Heather Oehl, J. E. Jackson and O. P. Jones. 1985. The orchard establishment, growth and precocity of four micropropagated apple scion cultivars. *J. Hort. Sci.* 60 (2) : 169-180.
 - 28) _____, T. R. Sparks and A. Belcher : 1986. The influence of micropropagation and chemical mutagens on the growth and precocity of Cox's orange pippin and Bramley's seedling apple. *Acta Hort.* 180 : 25-34.
 - 29) Zimmerman, R. H. : 1986. Propagation of fruit, nuts and vegetable crops-overview. *Tissue culture as a plant production system for horticultural crops.* : 183-199.