

組織培養シュートを利用したカンキツ 台木‘ヒリュウ’の短期育苗法

乗原 実*・梶谷裕二

カンキツ台木‘ヒリュウ’のクローン苗を低コストで簡易に育苗するため、組織培養シュートの屋外における挿し木・順化法と挿し木苗の生育促進法を検討した。

挿し木苗の定植時期と定植後の施肥量、秋期の補光が挿し木苗の生育に及ぼす影響を検討した結果、挿し木苗の樹高は定植が早く、施肥量が多い方が高かった。補光は地上部の生育量を増大させたが、地下部の生育には影響がなく、その結果T/R率を高くした。

4、5月の露地のビニルトンネル内で組織培養シュートの挿し木・順化を行って、挿し木苗を育成後、慣行の2～5倍量の多肥と秋期に補光することで、樹高20cm程度の苗が7～8ヶ月で得られる。

[キーワード: カンキツ, 台木, ヒリュウ, 組織培養, 育苗]

Raising Method of Shoot of ‘Flying Dragon’ Propagated by Tissue Culture. KUWAHARA Minoru and Yuji KAJITANI (Fukuoka Agricultural Research Center, Chikushino, Fukuoka 818-8549, Japan) *Bull. Fukuoka Agric. Res. Cent.* 23: 73-77 (2004)

In order to raise tissue culture nursery plants with a citrus rootstock ‘Flying dragon’ in a short period of time, the cutting and the acclimatization of the shoots, and growth promoting of the rooted cuttings in the outdoors were examined. The starting time for raising the plants, the amount of applied fertilizer, and supplemental lighting in autumn were investigated to determine their influence on the growth of the rooted cutting. Results showed that the growth of rooted cuttings was promoted when they were planted in April or May, the amount of applied fertilizer was increased 2 to 5 times the usual amount and supplemental lighting was provided in autumn. The shoots were cut and acclimatized in an outdoor vinyl tunnel in April or May, and increased amount of fertilizer was given and supplemental lighting was provided for the rooted cutting as growth promotion processing. Consequently, the above procedures provided plants with a height of about 20 cm in 7 - 8 months.

[keyword: citrus, rootstock, flying dragon, tissue culture, raising]

緒 言

カンキツの台木として利用されているカラタチの変異種‘ヒリュウ’は、Bitter et al.¹⁾によって有望なわい性台木であることが確認されて以来、国内でも‘ヒリュウ’台カンキツに関する研究が盛んに行われるようになった。‘ヒリュウ’を台木としたカンキツは樹冠がコンパクトになって栽培管理が省力化されるとともに、果実の糖度が上昇し高品質化が図られることが明らかにされている^{5,11)}ことから、カンキツ産地からは‘ヒリュウ’を台木とした苗木の大量供給が求められている。しかし、‘ヒリュウ’は多胚性であるものの、交雑胚の割合が約50%と高いため¹³⁾、珠心胚由来の均質な台木が得にくい⁴⁾。

組織培養による大量増殖は、均質なクローン台木を育成できるため、交雑胚やその割合が高い品種、含核数の少ない品種を台木として利用するうえで有効である⁶⁾。堀江ら²⁾はカラタチについて、能塚ら⁷⁾は‘ヒリュウ’について多芽体増殖とそれから得られたシュートの簡易発根法を明らかにし、苗生産に利用可能な増殖技術を確立した。しかし、‘ヒリュウ’の組織培養苗を簡易かつ大量に生産するためには以下の課題が残されている。一つは、組織培養シュートの挿し木で得られた挿し木苗は初期生育が緩慢なため、露地では接ぎ木できる大きさの台木までには1年半から2年の長い育苗期間を必要とする。もう一つは、順化作業が温湿度の制御が可能な人工気象

器やハウス等の施設内で行なう必要があることから、施設を保有していない場所では取り組みない点である。

そこで、露地条件下における組織培養シュートの簡易な挿し木・順化とその後の生育促進法を検討し、‘ヒリュウ’クローン苗の短期育苗法についていくつかの知見が得られたので報告する。

材料および方法

挿し穂は、‘ヒリュウ’多芽体をNAA0.1ppm, BA0.3ppm, ショ糖30g/ℓを添加したMT培地で継代培養後、2～3ヶ月以内に発生したシュートを長さを20±2mmに揃え、発根を促進するために切り口にIBA粉剤(1%)を塗布し、試験に供試した。なお、‘ヒリュウ’の多芽体は、無菌条件下で播種した実生の胚軸の切片をNAA0.5ppm, BA1.0ppm, ショ糖50g/ℓを添加したMT⁹⁾培地で培養して形成した不定芽から獲得した。多芽体の培養と挿し木苗の育成に用いた人工気象器は、気温25℃、照度5klxで16時間照明とした。試験は2002年3月から2003年2月にかけて行った。

1 挿し木苗の定植時期と定植後の施肥量および補光処理が苗の生育に及ぼす影響

試験は、組織培養シュートを人工気象器内で挿し木し、1ヶ月間かけて順化した発根済みの挿し木苗をUCソイルミックス¹⁰⁾を入れた大型プランター(縦26cm×横60cm×高さ27cm)に植え付け、露地で行った。試験区は、挿し木苗の定植時期を4月(4月17日)、5月(5月18日)、6月(6月18日)の3水準、施肥量を慣行、慣行の2

*連絡責任者(果樹苗木分場)

倍、5倍の3水準、補光を有、無の2水準を設定し、3元配置とした。各試験区は1区6樹、4反復とした。施肥は福岡県果樹栽培技術指針に準じて慣行区を窒素 6kg/10 a とし、ナタネ油粕(N:P:K=5.3:2:1%)を定植から9月までに4回分施した。補光は、9月17日から12月3日までの日没から12時までの約6~7時間、高さ1.5mから75wの白色灯を点灯した。9月17日から約2週間毎に樹高、12月3日に樹高、幹径、2月中旬には1区当たり3樹を掘り上げて全重量、地上部重、地下部重を調査した。

2 屋外ビニルトンネルを利用したクローン苗の短期育苗法

(1)屋外ビニルトンネルを利用した挿し木・順化法が挿し穂の生育に及ぼす影響 発根促進処理した挿し穂(組織培養シュート)はUCソイルミックの挿し床に挿し木した。試験区は、挿し木時期を4月(4月16日)、5月(5月17日)、6月(6月17日)の3区、順化場所を屋外の露地のビニ

ルトンネル(以下、露地トンネル)、ガラスハウス内のビニルトンネル(以下、ハウストンネル)の2区を設定した。各試験区は1区40樹、3反復とした。順化は、挿し床をビニルトンネル内に設置し、約2週間密閉後、約2週間かけてビニルを徐々に開けた。また、葉やけなど高温防止のため、設置直後からビニルトンネルの上に寒冷紗を二重に被覆し(晴天時の遮光率70%)、その後徐々に除去した。挿し木1ヶ月後に挿し穂の生存率、新梢発生率、樹高、1次根数、1次根発生率、2次根発生率を調査した。

(2)挿し木時期と多肥、補光が挿し木苗の生育に及ぼす影響 露地のトンネル内で4月、5月、6月に挿し木・順化した挿し木苗は、それぞれ1ヶ月後の5月、6月、7月に露地圃場に定植した。定植後は慣行の2倍量の施肥を9月までに4回分施で行い、補光を9月中旬から12月上旬まで行った。試験規模は1区15~20樹、6反復とした。12月3日に樹高を調査した。

第1表 挿し木苗の定植時期と定植後の施肥量および補光処理が苗の生育に及ぼす影響

	樹 高 (cm)	幹 径 (mm)	全重量 (g)	地上部 重 (g)	地下部 重 (g)	T/R 率
定植時期						
4月	12.3 b ¹⁾	2.50 b	2.28 b	0.94 b	1.30 b	0.73 a
5月	11.7 b	2.30 b	2.00 b	0.84 b	1.13 b	0.75 a
6月	9.3 a	1.71 a	1.15 a	0.55 a	0.50 a	1.05 b
施肥量						
慣行	7.7 a	1.67 a	0.96 a	0.36 a	0.53 a	0.71 a
2倍	11.0 b	2.08 b	1.71 b	0.70 b	0.95 b	0.82 a
5倍	14.7 c	2.76 c	2.76 c	1.26 c	1.44 c	0.99 b
補光						
有	12.2 b	2.26 b	1.90	0.89 b	0.98	0.91 b
無	10.1 a	2.08 a	1.73	0.66 a	0.97	0.68 a
育苗開始時期(A)	** ²⁾	**	**	**	**	**
施肥量(B)	**	**	**	**	**	**
補光(C)	**	*	ns	**	ns	**
A×B	ns	ns	*	ns	ns	**
A×C	ns	ns	ns	ns	ns	**
B×C	*	ns	ns	ns	ns	ns
A×B×C	ns	ns	ns	ns	ns	ns

1) 欄内の異なる英文字間には5%水準で有意差があることを示す (Scheffe法)。
2) **, *はそれぞれ1%, 5%水準で有意差があること、nsは有意でないことを示す。

第2表 屋外ビニルトンネルを利用した挿し木・順化1ヶ月後の挿し穂の生育

試 験 区	生存率	新 梢 発生率	穂 長	1 次 根 数	1 次根 発生率	2 次根 発生率
挿し木 場 所	(%)	(%)	(mm)	(本)	(%)	(%)
4月 露地トンネル	99.2 b ¹⁾	5.7 a	21.8 ab	2.9 b	89.6 b	0.8 a
ハウストンネル	79.4 a	2.7 a	21.2 a	2.1 a	63.7 a	0.0 a
5月 露地トンネル	100.0 b	85.7 b	27.8 c	2.9 b	98.4 b	75.0 c
ハウストンネル	99.2 b	82.4 b	25.8 c	2.3 ab	99.2 b	37.0 b
6月 露地トンネル	99.2 b	88.7 b	28.0 c	2.4 ab	100.0 b	68.0 c
ハウストンネル	96.0 b	62.7 b	25.3 bc	2.2 a	94.9 b	70.5 c

1) 異なる英文字間には5%水準で有意差があることを示す (Scheffe法)。

結 果

1 挿し木苗の定植時期と定植後の施肥量および補光処理が苗の生育に及ぼす影響

第1表に挿し木苗の定植時期と定植後の施肥量および補光処理が苗の生育に及ぼす影響を示した。樹高、幹径、地上部重は、定植時期では4月、5月区で高く、施肥量は5倍、2倍、慣行区の順に高くなり、補光の有無では補光処理区が高かった。全重量、地下部重は、樹高などと同じ傾向を示したが、補光の有無には差がなかった。T/R率は、定植時期では6月区が高く、施肥量では5倍区が高く、補光区間では補光処理区が高かった。樹高では施肥量と補光に、全重量では定植時期と施肥量に、T/R率では定植時期と施肥量並びに補光に交互作用が認められた。樹高は施肥量が2倍、5倍区の補光区で無補光区より高かった(第1図)。全重量は定植時期が早く施肥量が多いほど重く、T/R率は定植時期が遅く施肥量が多いほど高いとともに、定植時期が遅い補光区で高かった(第2、3図)。

補光が挿し木苗の樹高に及ぼす影響について、4月に定植し5倍量の施肥を行った区を対象に経時的に樹高を調査した結果を第4図に示した。補光区は補光開始直後は無補光区と差がなかったが、10月16日以降は無補光区より高く推移した。

2 屋外ビニルトンネルを利用したクローン苗の短期育苗法

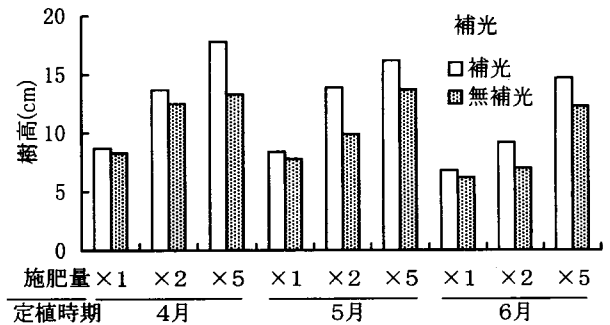
(1)屋外ビニルトンネルを利用した挿し木・順化法が挿し穂の生育に及ぼす影響 生育期間中の気温は、露地トンネル内とハウストンネル内はともに露地より高く推移し、特に露地トンネル内では5月、6月のビニル密閉時に高かった(第5図)。相対湿度も、露地トンネル内とハウストンネル内はともに露地より高く推移し、特に密閉時はほぼ100%で推移した(第6図)。

挿し木直後の挿し穂は、露地トンネル、ハウストンネルともに数日間若干の萎れがみられ、一部は枯死したが、多くはその後回復した。第2表に屋外ビニルトンネルを利用した挿し木・順化1ヶ月後の挿し穂の生育を示した。生存率は4月挿し木のハウストンネルを除くいずれの区も100%に近く非常に高かった。新梢発生率、穂長は5、6月の挿し木区で高く、1次根数は4、5月挿し木の露地トンネル区で高く、1次根発生率、2次根発生率は5、6月の挿し木区で高い傾向を示した。

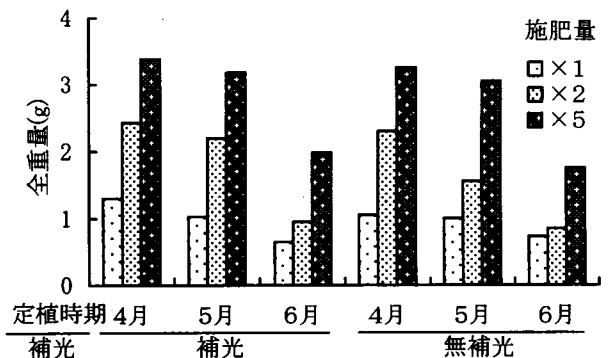
(2)挿し木時期と多肥、補光が挿し木苗の生育に及ぼす影響 露地トンネル内における挿し木時期と多肥、補光が苗の樹高に及ぼす影響を第7図に示した。4月挿し木区の樹高が20.1cmで最も高く、次いで5月挿し木区が18.4cmで、6月挿し木区が最も低く14.3cmだった。

考 察

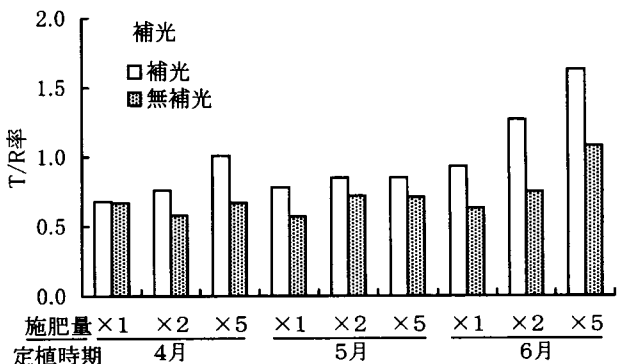
一般的なカンキツ台木の実生繁殖では、種子を台木養成圃に3月に播種した後、10月までの約8ヶ月間かけて移植苗を育成し、翌春接ぎ木苗育成圃に定植する。したがって、組織培養苗からの移植苗の育成も実生苗と同様



第1図 定植時期と施肥量および補光が挿し木苗の樹高に及ぼす影響



第2図 定植時期と施肥量および補光が挿し木苗の全重量に及ぼす影響



第3図 定植時期と施肥量および補光が挿し木苗のT/R率に及ぼす影響

に8ヶ月程度で終了することが望ましい。そこで、生育が緩慢な組織培養苗の生育促進処理を検討した結果、挿し穂苗の定植が早いほどその後の樹高が高くなったことから、4、5月に育苗を開始した方が良いと考えられた。一方、施肥量については慣行の2、5倍量の施肥により樹の生育が増大した。これは、実生繁殖では種子の養分によって発根と初期の新梢伸長を賄っているが、挿し木1ヶ月後の苗は小さく貧弱で樹体内に蓄積された養分が少ないため、実生繁殖時の施肥量では生育が劣っていたものと考えられた。また、カラタチやトロイヤーシトレンジの実生苗は秋期に補光を行うと生育が著しく促進される⁸⁾ことから、今回、組織培養由来の挿し木苗について

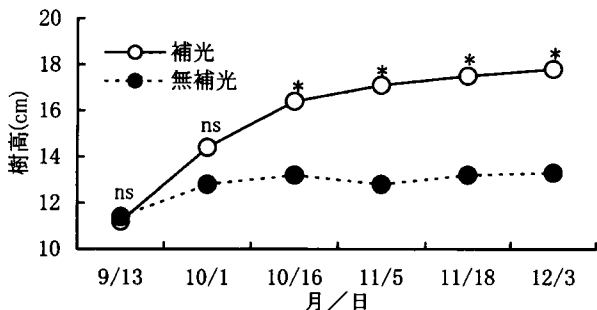
も同様に検討した。その結果、これらの苗にも生育促進効果があり、特に樹高に対しては施肥量と補光に相乗効果があることが示唆された。また、高原ら¹²⁾が秋期の補光によりカラタチのT/R率が高くなることを指摘しているが、本研究においても補光は地上部の生育を促進するが、地下部の生育には影響がなく、その結果T/R率が高くなることが再確認された。以上のことから、挿し木苗の生育促進には、定植を早くして、施肥量を多くし、秋期に補光すると良いことが明らかになった。

低コストで簡易な育苗法を検討するため、積極的な環

境調節が行えない露地（屋外）のビニルトンネルを利用して挿し木・順化試験を行った。その結果、露地の簡易なビニルトンネル内でも挿し木・順化がほぼ良好に行えることが明らかになった。順化中の組織培養個体の生存率を高めるには相対湿度を高く維持することが重要である³⁾。本試験においてもトンネル内の相対湿度を高く維持できたことが挿し穂の生存率を高めたと考えられる。また、挿し木・順化に適した時期は4～6月であったが、その後の多肥や補光処理を併用したところ、4、5月に挿し木した苗の生育が優れた。

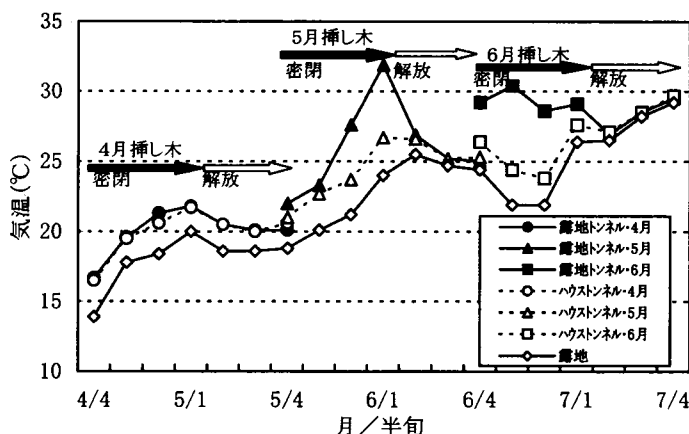
以上のことから、カンキツ台木‘ヒリュウ’のクローン苗を短期間に育苗するためには、組織培養シュートを4～5月に露地のトンネル内で挿し木し、1ヶ月の順化後、圃場に定植して慣行の2～5倍量の施肥を行い、秋期に補光すると、樹高が20cm程度の移植可能な苗を7～8ヶ月で育成できる。これにより、1年半から2年の長期間を要していた従来の育苗期間が大幅に短縮されることが明らかとなった。

今回明らかにした短期育苗法は、優良な形質を有した単胚系統、倍数性系統や突然変異系統などの実生繁殖ではクローン増殖が不可能な系統に適用できると考えられる。今後の実用化に向けた課題としては、挿し穂となる組織培養シュートの簡易な大量増殖法やセル成形苗を活

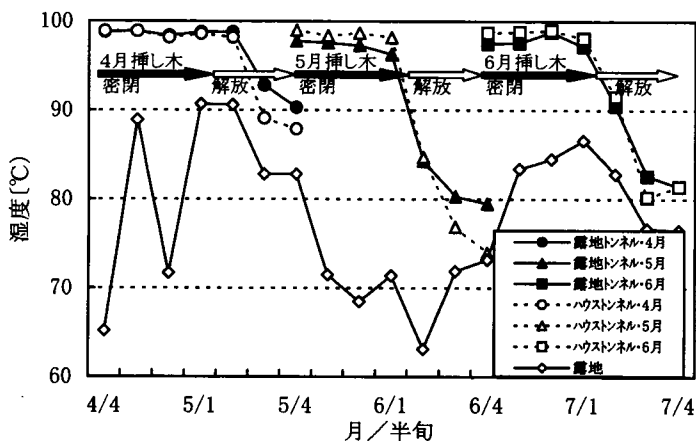


第4図 補光が挿し木苗の樹高に及ぼす影響

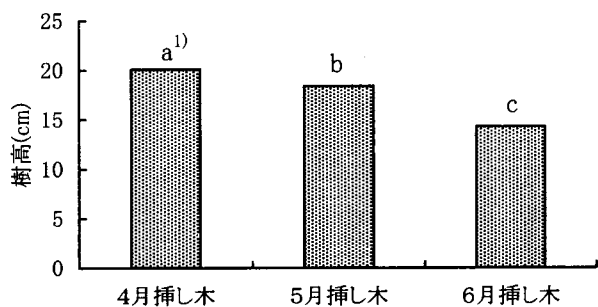
注) nsは有意差なし, *はt検定(5%)で有意差有り



第5図 トンネル内日平均気温の推移



第6図 トンネル内日平均相対湿度の推移



第7図 露地トンネル内における挿し木時期が苗の樹高に及ぼす影響

1) 同一英文字間には5%水準で有意差がないことを示す (Scheffe法)

用した、苗の機械移植法³⁾の確立を早急に行う必要がある。

引用文献

- BITTERS, W. P., D. A. COLE, and C. D. MCCATRY (1979) Facts about dwarf citrus trees. *Citrograph*. **64**: 54-56.
- 堀江裕一郎・鶴丈和・草野成夫 (1996) 組織培養カラタチの発根法とカンキツ台木への利用. 福岡農総試研報 **15**: 94-97.
- 今西英雄・田中道男 (1997) 園芸種苗生産学. 東京: 朝倉書店, 197p.
- 岩堀修一 (1999) カンキツ総論. 東京: 養賢堂, 708p.
- 小林康志・大野文征・岡田正道・鹿野栄士・牧田好高・加々美裕・井口功・原節生・黒柳栄一・佐々木俊之 (1995) ‘ヒリュウ’台木が‘青島温州’の生育・収量・果実品質に及ぼす影響. 静岡柑試研報 **26**: 23-30.
- 小崎格・野間豊 (1990) 果樹苗生産とバイオテクノロジー. 東京: 博友社, 232p.
- 能塚一徳・鶴丈和・堀江裕一郎 (2001) ‘ヒリュウ’の組織培養による増殖法と簡易発根法. 福岡農総試研報 **20**: 71-74.
- ROISTACHER, C. N. and E. M. NAUER (1985) Effect of supplemental light on citrus seedlings in winter. *Citrograph*. **7018**: 181-196.
- MURASHIGE, T. and D. P. H. TUCKER (1969) Growth factor requirements of citrus tissue culture. *Proc. 1st. Int. Citrus Symp.* 1155-1161.
- 佐々木篤 (1986) 鉢育苗及び鉢植樹によるカンキツウイルス無病樹の品種特性短期評価法試験 (第1報) 培養土, 植木鉢, 鉢替え方法の検討. 広島果試研報 **11**: 9-21.
- 高原利雄・緒方達志・河瀬憲次・岩垣功・村松昇・小野祐幸・吉永勝一・広瀬和榮・山田彬雄・高辻豊二・内田誠 (1994) 大谷伊予柑の生育と果実品質に及ぼす各種台木の影響. 果樹試報 **26**: 39-60.
- 高原利雄・緒方達志・藤沢弘幸 (2002) カラタチ実生の生育に及ぼす秋期夜間照明の影響. 園学雑 **71** (別1): 436.
- YOSHIDA, T. (1994) Dwarfism in trifoliate orange (*Poncirus trifoliate* Raf.), its inheritance and interaction with GA3. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* **63**(1): 23-30.