

## 研究ノート

## スモモ、ウメおよびアンズにおける二相培養法 (Double Phase Culture)によるシュート増殖の改善

村井泰広\*・原田 久\*

植物の Micropropagation では培地として通常、寒天やゼランガムを支持体とする固体培地または液体培地が用いられる。一般に液体培地での増殖率は固体培地での場合に比べてすぐれていることが知られている<sup>1)</sup>。液体培地での増殖は大量にしかも、短時間で行うことが可能であるが、植物の種類によっては Vitrification が起きやすく順化の際に問題となりやすい<sup>2)</sup>。Viseur<sup>3)</sup> (1987) はセイヨウナシのシュート増殖において固体培地である寒天培地の上に液体培地を重層する方法 (Double phase culture: 以下二相培養法と称す) を用いると固体培地に比べ多くの均一なシュートが得られたと報告している。しかし、二相培養法に関する報告はこのほかカンキツで一部報告があるのみである<sup>4)</sup>。

バラ科のスモモ亜属であるニホンスモモ、ウメ、アンズは互いに近縁な植物であるが、これら植物の *in vitro* におけるシュート増殖に関する報告は若干の報告がみられる程度である<sup>5-7)</sup>。筆者らは予備的な実験の結果、いずれの種も寒天培地上ではシュートの増殖率が劣り、シュートの伸長性が不良であった。また、液体培地で各種シュートの振とう培養を行ったところ、シュートの伸長は促進されるものの、Vitrification が生じやすく、寒天培地に移植すると多くの個体が枯死した (データ省略)。

そこで、本研究はニホンスモモ、ウメ、アンズの栽培品種を用い、シュート増殖の改善を目的として、二相培養法と従来より用いられている寒天を支持体とする固体培地を用いた場合でのシュートの増殖を比較した。

実験にはニホンスモモ '大石早生'、ウメ '南高'、アンズ '麦黄準杏' のシュートを用いた。なお、ウメのシュートは  $5 \mu\text{M}$  の 6-ベンジルアミノプリン (BA)、ソルビ

トール 3%、寒天 0.7% を含んだ Lloyd and McCown<sup>8)</sup> の Woody Plant Medium (以下 WP 培地とする) でそれぞれ 6 か月間以上継代培養し増殖させた。アンズのシュートはウメで用いた WP 培地で糖をショ糖に変えたもので 6 か月以上継代培養した。ニホンスモモのシュートは  $2 \mu\text{M}$  の BA、ショ糖 3%、寒天 1% を含んだ WP 培地で同様に増殖させた。ニホンスモモとアンズのシュートは長さ約 1 cm に調整後、1 本ずつ BA  $1 \mu\text{M}$ ,  $5 \mu\text{M}$ ,  $10 \mu\text{M}$ 、ショ糖 3%、寒天は継代培養と同じ濃度でそれぞれ添加した WP 培地を直径 2.2 cm 高さ 11.5 cm のガラス管瓶に 10 ml 分注後に植え付け、ポリプロピレン製のキャップで栓をし、30 日後の平均シュート数、最大シュート長を測定した。同様にウメのシュートは長さを約 5 mm 程度に調整後、1 本ずつ BA  $1 \mu\text{M}$ ,  $5 \mu\text{M}$ ,  $10 \mu\text{M}$ 、ソルビトール 3%、寒天 0.7% を添加した WP 培地に植え付け、ポリプロピレン製のキャップで栓をし、30 日後の平均シュート長及び最大シュート長を調査した。なお、シュートは長さが 2 mm 以上のものを測定した。一方、二相培養法は前述の寒天培地 10 ml を管瓶に分注後各種のシュートを 1 本ずつ植え付け、BA  $1 \mu\text{M}$ ,  $5 \mu\text{M}$ ,  $10 \mu\text{M}$  の濃度で添加した WP 液体培地 3 ml 程度加え (Fig. 1)、前述同様にポリプロ

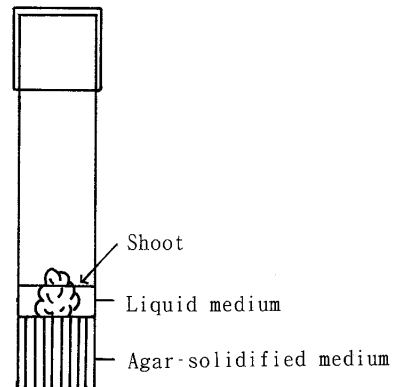


Fig. 1 Scheme of the double phase culture medium.

Yasuhiro MURAI\* and Hisashi HARADA\*

Improvement of Shoot Proliferation of Japanese Plum, Mume and Apricot Cultivars by Double Phase Culture.

\* 静岡大学農学部

(〒422 静岡市大谷 836)

\* Faculty of Agriculture, Shizuoka University, 836 Ohya, Shizuoka 422, Japan

**Table 1.** Effect of double phase culture media at various BA concentrations on shoot proliferation of Japanese plum, mume and apricot cultivars.

Species	Medium type	BA conc. ( $\mu\text{M}$ )	No. of shoots* <sup>1</sup>	The longest shoot length (mm)
Japanese plum	Agar-solidified	1	1.1 $\pm$ 0.1* <sup>2</sup>	11.0 $\pm$ 1.2
		5	1.4 $\pm$ 0.1	8.5 $\pm$ 0.7
		10	2.0 $\pm$ 0.2	7.8 $\pm$ 0.6
	Double phase	1	1.8 $\pm$ 0.1	12.3 $\pm$ 0.9
		5	2.8 $\pm$ 0.3	9.6 $\pm$ 0.8
		10	3.9 $\pm$ 0.3	9.0 $\pm$ 0.8
Mume	Agar-solidified	1	2.0 $\pm$ 0.2	5.2 $\pm$ 0.4
		5	3.8 $\pm$ 0.3	4.6 $\pm$ 0.3
		10	6.3 $\pm$ 0.5	4.3 $\pm$ 0.5
	Double phase	1	3.3 $\pm$ 0.2	14.4 $\pm$ 1.1
		5	6.7 $\pm$ 0.6	9.0 $\pm$ 0.5
		10	5.6 $\pm$ 0.5	8.6 $\pm$ 0.5
Apricot	Agar-solidified	1	2.7 $\pm$ 0.3	17.2 $\pm$ 0.9
		5	3.6 $\pm$ 0.3	13.8 $\pm$ 0.8
		10	5.3 $\pm$ 0.3	13.7 $\pm$ 0.9
	Double phase	1	3.5 $\pm$ 0.3	26.1 $\pm$ 1.3
		5	8.4 $\pm$ 0.9	15.8 $\pm$ 1.2
		10	10.8 $\pm$ 0.9	16.3 $\pm$ 0.9

\*<sup>1</sup> In each treatment, 25 cultured shoots were examined.

\*<sup>2</sup> Standard error.

ビレン製のキャップで栓をし、30日後の平均シュート数、最大シュート長を測定した。培養条件は26°C、16時間日長、照度は約2,500 luxとした。なお、各処理区ともそれぞれ25本ずつ植え付けた。その結果を **Table 1** に示した。すなわち、寒天培地ではニホンスモモ、ウメ、アンズいずれの種類もBA濃度が高くなるほどシュート数が増加する傾向が認められた。ニホンスモモではその傾向はあまり顕著ではなかったが、ウメやアンズでは顕著な増殖促進効果が認められた。最大シュート長はいずれの種類も逆にBA濃度が低い方が長くなった。二相培養法ではいずれの種類もBA濃度が高くなるにしたがってシュート増殖が促進される傾向が認められた。また、いずれの種類も寒天培地に比べてかなりシュート増殖が促進された。最大シュート長はいずれの種類においても寒天培地同様、BA濃度が低いほどシュート長は長くなり、寒天培地のそれらよりも長くなった。なお、二相培養法の効果が顕著であったアンズのシュート増殖の状況を **Fig. 2** に示した。この場合、寒天培地に添加した液体培地は約2週間程度で植物体に吸収されるかまたは蒸発するなどしてほとんど消滅した。また、すべての種の得られたシュートは順化の際に問題となる Vitrification はまったくみられなかった。



**Fig. 2** Shoot proliferation of apricot on agar-solidified or double phase culture medium containing 10  $\mu\text{M}$  BA. Left; Agar-solidified medium. Right; Double phase culture medium.

以上のことより、スモモ亜属果樹であるニホンスモモ、ウメ、アンズの Micropropagation において二相培養法は寒天培地に比べてシュートの増殖や伸長について優れた結果を示した。この方法を応用すれば増殖効率の低い木本性植物の種苗生産の効率化に寄与するものと考えら

れる。今後、より多くの種や品種について二相培養法の効果を調査する予定である。

(1995年9月12日受理)

#### 文 献

- 1) Skidmore, D. I., A. J. Simon, S. Bedi, 1988. *Plant Cell Tissue Organ Culture*, **14**: 129-136.
- 2) 高山真策, 1993. 植物種苗工場, p.97-98, 川島書店, 東京.
- 3) Viseur, J., 1987. *Acta Hortic*, **212**: 117-124.
- 4) Omura, M., T. Hidaka, 1992. *Bull. Fruit Tree Res. Stn*, **22**: 37-38.
- 5) Uematsu, C., T. Akihama, 1987. *Japan. J. Breed*, **37**: 283-290.
- 6) 岩本和也, 原野博実, 藤田政良, 1990. *園学雑*, **59**: (別2)160-161.
- 7) Snir, I., 1984. *HortScience*, **19**: 229-230.
- 8) Lloyd, G., B. McCwon, 1980. *Proc. Int. Plant Propag. Soc.*, **30**: 421-427.