

研究ノート

ニホンスモモ(*Prunus salicina* Lindl.)の *in vitro* 発根に及ぼすアミノ酸の影響

村井泰広*・原田 久*・望岡亮介**

果樹の *in vitro* で増殖させたショットからの発根は順化し自根苗を得るための不可欠な条件である。ショットからの不定根形成に関する研究は種々の植物について報告されている。しかし、ほとんどの報告はオーキシン¹⁾や品種間差異²⁾などについてのものが多い。最近, *in vitro* 発根に及ぼすアミノ酸の効果が報告されているが、リンゴ台木³⁾やカキのショット⁴⁾で報告されているにすぎない。

本研究は、ニホンスモモのショットにおける *in vitro* 発根のメカニズムを解明するための基礎的知見を得る目的として発根培地にアミノ酸を添加することにより、*in vitro* 発根に及ぼすアミノ酸の影響を調べた。

ショ糖 3%, 6-ベンジルアデニン(以下 BA と略す)²⁾ 2 μM , 寒天 1.0% を添加した Woody Plant 培地(以下

WP 培地と略す)⁵⁾ でニホンスモモ, ‘メスレー’(*Prunus salicina* Lindl.) の茎頂から得られたショットを約 6 カ月間継代培養し、増殖して得られたショットを実験に使用した。なお、すべての実験においてショットの培養条件は 26°C, 16 時間日長、照度 2,500 lux とした。

Orlikowska³⁾ はリンゴ台木の *in vitro* 発根に L-プロリンおよび L-アルギニンの培地への添加が効果的であったと報告していることから、ホルモンフリーの前述の WP 培地に L-プロリンと L-アルギニン(以下プロリンとアルギニンと略す)をそれぞれ 0, 50, 100, 200 mg/l 添加する処理区を設け、長さ 1.5 cm の ‘メスレー’ のショットを植え付け、20 日間培養後、発根率および平均根数を調べた。平均根数は発根したショットあたりの根数とした。なお、アミノ酸を添加しない処理区を対照区と

Table 1. Effects of proline and arginine on *in vitro* rooting of Japanese plum cv. ‘Methley’.

Amino acids	Conc. (mg/l)	Rooting (%) ^{*1}	No. of roots ^{*2} \pm SE ^{*3}
Control ^{*4}	0	30	1.3 \pm 0.1
L-Proline	50	68	1.4 \pm 0.1
	100	80	1.8 \pm 0.2
	200	80	1.8 \pm 0.2
L-Arginine	50	60	1.3 \pm 0.1
	100	76	1.8 \pm 0.1
	200	84	1.8 \pm 0.2

*1 Twentyfive shoots were used in each treatment.

*2 Average number of roots/rooted shoots.

*3 Standard error.

*4 Amino acid free.

Yasuhiro MURAI*, Hisashi HARADA* and Ryousuke MOCHIOKA**

Effects of Amino Acids on *In vitro* Rooting of Japanese Plum(*Prunus salicina* Lindl.).

* 静岡大学農学部

(〒422 静岡市大谷 836)

** 大阪府立大学農学部

(〒593 堺市学園町 1-1)

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

** College of Agriculture, Osaka Prefecture University, Gakuen-cho, Sakai 593, Japan

した。供試本数は1処理区あたりそれぞれ25本とした。また、発根に及ぼすインドール酢酸(以下IBAと略す)とアミノ酸との相乗効果を調べるために、プロリンとアルギニンを0, 50, 100, 200 mg/l 添加した培地にIBA処理を施したシートを植え付けた。IBA処理は125 mg/l IBA溶液にシートの基部を5秒間浸漬して行った。IBA処理後、シートを発根培地に植え付け、20日後に発根率と平均根数を調べた。供試本数は1処理区あたりそれぞれ25本とした。

IBA処理を施さずプロリンおよびアルギニンを添加した場合の発根率および平均根数をTable 1に示した。

プロリンおよびアルギニンとも、添加した濃度が高くなるにしたがって、発根率が高くなる傾向が見られた。特に、両アミノ酸とともに200 mg/l 添加した時、高い発根率を示した。また、100, 200 mg/l のような高濃度の培地では発根率と同様に平均根数の値も高い傾向を示した。

一方、IBA処理とアミノ酸添加を併用した場合、プロリン、アルギニンとともに添加濃度にかかわらず高い発根率を示したが、IBA処理を併用した処理区の方がアミノ酸単独処理よりも発根を促進する効果が見られた(Table 2)。なお、アミノ酸単独処理とIBA併用処理とも発根の際シートの基部にカルスの形成は見られなか

Table 2. Effects of proline and arginine on *in vitro* rooting of Japanese plum cv. 'Methley' after IBA pretreatment.

Amino acids	Conc.(mg/l)	Rooting(%) ^{*1}	No. of roots ^{*2} ±SE ^{*3}
Control ^{*4} +IBA ^{*5}	0	72	1.6±0.1
	50	80	1.6±0.1
	100	92	1.8±0.1
	200	92	2.0±0.2
L-Proline+IBA	50	100	2.0±0.1
	100	92	2.1±0.1
	200	100	1.8±0.1
L-Arginine+IBA	50	100	2.0±0.1
	100	92	2.1±0.1
	200	100	1.8±0.1

*1 Twentyfive shoots were used in each treatment.

*2 Average number of roots/rooted shoots.

*3 Standard error.

*4 Amino acid free.

*5 IBA treatment was performed by dipping the shoots into 125 mg/l IBA solution.

Table 3. Effects of 14 kinds of amino acids on *in vitro* rooting of Japanese plum cv. 'Methley'.

Amino acids ^{*1}	Rooting(%) ^{*2}	No. of roots ^{*3} ±SE ^{*4}
L-Valine	75	1.7±0.1
L-Aspartic acid	70	1.5±0.1
D,L-Tyrosine	60	1.5±0.1
L-Leucine	50	1.6±0.2
L-Isoleucine	40	1.4±0.2
L-Threonine	50	1.6±0.2
L-Hydroxyproline	10	1.0±0.0
L-Alanine	75	1.7±0.1
L-Phenylalanine	95	2.0±0.1
L-Histidine	80	1.8±0.1
L-Cystine	90	1.9±0.1
L-Glutamine	20	1.3±0.1
L-Methionine	70	1.7±0.1
L-Serine	80	1.7±0.1

*1 Fourteen kinds of amino acid were added to WP medium at 100 mg/l.

*2 Forty shoots were used in each treatment.

*3 Average number of roots/rooted shoots.

*4 Standard error.

った。

プロリンやアルギニンが発根に効果的であることが確かめられたため、さらに、ホルモンフリーの WP 培地に 14 種のアミノ酸をそれぞれ 100 mg/l 添加し、継代培養で得られた‘メスレー’のシートを 1 处理区あたり 40 本植え付け、発根に及ぼす影響を 20 日後に調査した。なお、本処理区においては IBA 処理は施さなかった。発根培地への 14 種のアミノ酸の添加が発根に及ぼす影響を Table 3 に示した。高い発根率を示したのは L-フェニルアラニンで 95% と最も高く、ついで、L-システイン、L-ヒスチジン、L-セリンであり、プロリンやアルギニン単独処理よりも良い結果が得られた。また、L-バリン、L-アスパラギン酸、L-アラニン、L-メチオニンでも約 70% 以上の発根率を示し、IBA 処理単独処理と同様な結果を示した。一方、L-ヒドロキシプロリンおよび L-グルタミンを添加した場合、他のアミノ酸処理区よりもかなり低い値を示し、さらに、無処理の場合よりも低い値を示した。

本実験の結果から、高濃度のプロリンやアルギニン添加によって‘メスレー’のシートにおいては発根が促進されることが明らかになった。Santos *et al.*^⑥(1993) はアルギニンなどのアミノ酸はトウモロコシの体細胞胚形成を促進することを報告している。また、原田・鎌田^⑦(1979) はプロリンなどのアミノ酸は不定胚形成や花芽分化を促進することを述べている。また、Orlikowska^⑧(1992) によると、アルギニンの培地への添加がリンゴ台木のシートについて根の原基である根源体形成の時期を早めるとされている。これは、根が形成される際のタンパク質生合成にアルギニンが有効な窒素源となり得るからと考察している。また、同様に塚本^⑨(1979) は挿し木の不定根形成とアミノ酸との関連を述べている。これらのことから、プロリンやアルギニンはニホンズモ‘メスレー’の発根の際のタンパク質の生合成を促進し、その結果として発根率が高まったものと考えられる。また、アミノ酸の種類によっては異なる発根率が見られたが、使用したアミノ酸 14 種のうち、8 種で発根率 70%

以上の比較的良好な結果を示した。しかし、L-ヒドロキシプロリンや L-グルタミンでは発根率が 20% 以下を示し、発根を抑制する傾向を示した。カキのシートでは L-ヒドロキシプロリンが発根を促進することが報告されている^⑩。しかし、これは、250-2000 mg/l の高い濃度の溶液にシートの基部を 10 秒間浸漬処理後、発根培地に植え付けて得られた結果である。本研究では、14 種のアミノ酸について‘メスレー’のシートにおける発根に及ぼす影響を調べたが、培地へ添加した濃度が 100 mg/l のみであったため、他の濃度についても検討する必要がある。

これらの結果から、アミノ酸を培地に添加することによって、ニホンズモ‘メスレー’の *in vitro* での発根が促進されることが明らかとなった。しかし、個々のアミノ酸についての生理作用についてはいまだ不明な点が多く、さらに検討する必要がある。また、*in vitro* でのシートからの発根が困難な場合、発根培地にアミノ酸を添加することによりシートからの発根が促進され、効率的に植物個体が得られる可能性がある。今後、多くの植物についてアミノ酸の発根に及ぼす影響について明らかにする必要がある。

(1996 年 7 月 11 日受理)

文 献

- 1) 小崎 格, 野間 豊, 1990. 果樹苗生産とバイオテクノロジー, p. 48-53, 博友社, 東京.
- 2) Fukui, H., K. Nishimoto, M. Nakamura, 1992. J. Japan. Soc. Hort. Sci., **60**: 821-825.
- 3) Orlikowska, T., 1992. Plant Cell Tiss. Org. Cult., **31**: 9-14.
- 4) 加々美 裕, 松井俊治, 鹿野英士, 1992. 園芸学雑, **61** (別 2) : 104-105.
- 5) Lloyd, G., B. McCown, 1980. Proc. Int. Plant Propag. Soc., **30**: 421-427.
- 6) Santos, M., I. Claparnos, J. M. Torme, 1993. J. Plant Physiol., **142**: 74-80.
- 7) 原田 宏, 鎌田 博, 1979. 植物細胞組織培養 実際・応用・展望, p. 65-118, 理工学社, 東京.
- 8) 塚本洋太郎, 1979. 原色園芸植物図鑑改訂版, Vol. 5, 花木編, p. 176-187.