

トウガラシ子葉からの不定芽形成能に及ぼす
品種・培地間相互作用の影響

加藤 鎌司・鈴木 陽子*・野村 知之・(故)林 喜三郎
(農学部作物・育種学研究室)

Effect of Interaction between Variety and Culture Medium
on Induction Capacity of Adventitious Bud from Cotyledon Explant
in Pepper, *Capsicum annuum* L.

Kenji KATO, Yoko SUZUKI, Tomoyuki NOMURA and the late Kisaburo HAYASHI
Laboratory of Crop Science and Plant Breeding, Faculty of Agriculture

Abstract : Potentiality of four different culture media (See Table 1) was evaluated to find out the best medium for inducing adventitious buds from cotyledon explants in pepper, using 33 varieties (See Table 4) representing a wide genetic variation. Depending on varieties and culture media, a wide variation from 0.03 to 21.6 was observed in culture efficiency which represented the average number of adventitious buds induced from one inoculated explant. The analysis of variance showed that culture efficiency averaged for 33 varieties was not different among the media (Tables 2 and 3). It was thus concluded that all of the culture media possessed the same potentiality for inducing adventitious buds. On the contrary, a wide varietal variation ranged from 2.2 to 14.0 was observed in culture efficiency averaged for four culture media (Tables 3 and 4). This indicated the importance of the choice of variety used for the culture. The interaction between varieties and culture media also proved statistically significant by the analysis of variance (Table 3), clearly showing that the favorable medium was different among varieties (Table 4 and Fig. 2). It was also suggested that the use of different types of varieties partly resulted in the establishment of four different media (Table 6). Culture efficiency attained on the most favorable medium for each variety was different among varieties and ranged from 3.7 to 21.6. From practical point of view, therefore, *in vitro* mass propagation proved to be possible for all of the pepper varieties tested. The analysis of the relationship between variety group and culture response demonstrated that the most favorable medium seemed different between variety groups in red pepper (Table 5); 'A' medium for 'Yatsubusa' group, 'B' medium for 'Enomi' and 'Fushimi' groups, and 'C' medium for 'Takanotsume' group. However, it proved impossible in sweet pepper to speculate the most favorable medium on the basis of the variety group of each variety, because it differed largely among the varieties belonging to the same variety group, namely 'Large-fruit' group (Table 5). As the percentage of adventitious buds grown up to plantlets proved still rather low, especially for the

Key Words : *Capsicum annuum*, adventitious bud, tissue culture, varietal difference

* 現, (株) ベルディ (豊橋市天伯町東沢61, 〒441)

buds induced on B or C medium (Table 7), further improvement of culture medium is required.

結 言

トウガラシの組織培養においては、GUNAY and RAO (1978) が IAA と BA を含む培地で子葉と胚軸からの植物体形成に初めて成功して以来、同様の培地で FARI and CZAKO (1981) 及び PHILLIPS and HUBSTENBERGER (1985) が各々胚軸及び子葉から、長尾 (1985) がゼアチンを含む培地で子葉から、葛ら (1986) が IAA, NAA 及び BA を含む培地で子葉及び茎から、そして SRIPICHTT *et al.* (1987) が BA のみを含む培地で子葉から、それぞれ植物体の形成に成功している。これらの方法ではカルスを経由せずに外植体から直接不定芽が形成されるので、培養中の遺伝的変異がほとんどない (長尾, 1985)。従って、トウガラシ種苗の大量増殖法として子葉からの不定芽形成法を実用化できると考えられる。

植物組織の培養による植物体の形成及び再分化の効率は品種によって大きく異なることがあり、トマト葉片からの植物体形成能 (FRANKENBERGER *et al.*, 1981; TAN *et al.*, 1987), ダイズ未熟胚からの不定胚形成能 (KOMATSUDA and OHYAMA, 1988), そしてコムギ未熟胚由来カルスからの植物体再分化能 (SEARS and DECKARD, 1982; MADDOCK *et al.*, 1983; CHOWDHURY *et al.*, 1991) など多くの植物種で報告例がある。また、トウガラシにおいても、胚軸からの植物体形成能が品種によって異なることが知られている (OCHOA-ALEJO and IRETA-MORENO, 1990)。しかしながら、種苗の大量増殖法として実用化できる方法は、すべての品種に同じように適用可能であることが望ましい。従って、上述の培養法を実用化するためには、培養効率における品種間差異の解析が不可欠である。

また実用化のために検討すべき第2の点として、最適な培地組成の解明が必要である。このような観点から、林ら (1988) がトウガラシ品種 'ダルマ' を供試して上述の4種類の培地を比較したところ、長尾 (1985) の培地が最適であることが示された。しかしながら、トマトの葉片培養においては、最適培地が品種によって異なることが知られている (KURTZ and LINEBERGER, 1983; ZELCER *et al.*, 1984)。しかもトウガラシの子葉培養に好適とされる4培地は、互いに異なる品種を供試して確立されたものである。これらのことからすると、本培養系においても好適培地が品種によって異なることが示唆されるが、従来このような観点からの研究例はない。

そこで本研究では、トウガラシ33品種を供試し、上述の4培地上での不定芽形成能を調べ、品種と培地との相互関係を解析した。

材料及び方法

1. 供試品種 トウガラシ属内における多様な品種間変異を包括すべく、Table 4 に示したトウガラシ31品種及び近縁野生種2系統を供試した。その内訳は、京都大学農学部附属亜熱帯植物実験所より分譲された日本在来のトウガラシ5群15品種、高知県園芸試験場 (現、高知県農業技術センター) より分譲された大果群の改良品種2品種、農業生物資源研究所より分譲された大果群の改良品種14品種及び近縁種である *Capsicum baccatum* L. の2系統である。

2. 不定芽誘導培地 子葉切片から不定芽を誘導するための培地として、トウガラシの子葉培養に有効とされている4種類の培地を用いた。いずれの培地もMSの無機塩 (MURASHIGE and SKOOG, 1962), ショ糖30g/l及び寒天9g/lを含む固形培地である。また各培地にオーキシシンとしてインドール酢酸 (IAA) 及びナフトレン酢酸 (NAA), サイトカイニンとしてベンジルアデニン (BA) 及び

ゼアチン, そしてカゼイン加水分解物 (CH) を添加したが, 各培地のホルモン組成の詳細は Table 1 に示した通りである。なお, 培地は pH = 5.8 に調整した後, 直径 9 cm のシャーレに 50 ml ずつ分注し, 121°C で 15 分間滅菌した。

3. 培養方法 種子を 70% エタノールで 10 秒間, 3% 次亜塩素酸ナトリウムで 20 分間浸漬して表面殺菌し, 滅菌水で 3 回洗浄した後, 播種培地に置床し, 27°C, 連続照明 (900 lux) の下で発芽させた。播種培地には 1/2 濃度 (SRIPICHTT *et al.*, 1987) の MS 無機塩と 7.5 mg/l の寒天を添加し, 直径 2.5 cm の試験管に 10 ml ずつ分注した。

発芽後約 4 日, 子葉が展開した直後に子葉の基部から 1/4 を切り出した切片 (林ら, 1988) を不定芽誘導培地 (Table 1) に置床した。培地当りの置床切片数は 32 であり, 2 シャーレに分けて置床した。培養条件は 27°C, 12 時間照明 (3000 lux) である。置床後 21 日目に不定芽を形成した切片数及び形成された不定芽数を調査し, 得られた結果より以下の 3 項目を算出した。

$$\text{不定芽形成切片率} = \text{不定芽形成切片数} \times 100 / \text{置床切片数}$$

$$\text{切片当り不定芽数} = \text{全不定芽数} / \text{不定芽形成切片数}$$

$$\text{置床切片当り形成不定芽数} = \text{不定芽数} \times 100 / \text{置床切片数}$$

Table 1. Four kinds of culture medium for inducing adventitious bud from cotyledon explant

Culture medium	Additives (mg/l) ¹⁾					Reference
	IAA	NAA	BA	Z	CH	
A	—	—	—	5	—	NAGAO, 1985
B	1	—	2	—	—	GUNAY and RAO, 1978
C	0.05	0.1	6.6	—	600	GE <i>et al.</i> , 1986
D	—	—	3	—	—	SRIPICHTT <i>et al.</i> , 1987

1) IAA : Indoleacetic acid, NAA : 1-Naphthaleneacetic acid, BA : Benzyladenine, Z : Zeatin, CH : Casein hydrolysate.

2) Basal medium : MS inorganic salts + sucrose 30g/l + agar 9g/l.

4. 不定芽からの茎葉体形成 置床後 21 日目に, 不定芽を形成した切片を不定芽伸長培地に移植し, その後の不定芽の発育を調査した。本培地にはゼアチン 1 mg/l (長尾, 1985), MS の無機塩, ショ糖 30g/l 及び寒天 9 g/l を添加し, 7.5 × 7.5 × 9.5 cm³ の培養箱に 100 ml ずつ分注した。その他の事項は前述の通りである。

結 果

33 品種と 4 培地とを組み合わせた 132 の培養区間において, 不定芽形成切片率 (以下, 形成率と略す) には 0.6% から 100% の, 切片当り不定芽数 (以下, 不定芽数と略す) には 1.6 から 22.2 の, それぞれ培地間差異が認められた。また形成率と不定芽数の積に相当する置床切片当り形成不定芽数 (以下, 形成効率と略す) には 0.03 から 21.6 の変異があり, 平均値は 6.3 であった (Chart 1)。また, 各品種において最も成績の良かった培地での形成効率を比較すると, 3.7 から 21.6 の変異がみられた。以下では, 培養効率に影響すると考えられる培地・品種及び両者の相互作用について, それぞれ解析した。

1. 培地間差異 培養結果を全品種の平均値として培地ごとに示したのが Table 2 である。形成率には67%から73%の, 不定芽数には8.2から10.2の, また形成効率には5.6から6.8の, それぞれ培地間差異が認められた。分散分析の結果, 不定芽数における培地間差異は統計的に有意であった ($P < 0.05$) が, その他の2項目では有意差が認められなかった (Table 3)。従って, 不定芽の形成効率は培地間でほとんど異ならないと結論できる。

Table 2. Culture response on different culture medium averaged for 33 pepper varieties

Culture ¹⁾ response	Culture medium ²⁾				average
	A	B	C	D	
Induction rate (%)	72.9	67.0	71.6	68.6	70.0
No. of buds	8.4	10.2	9.4	8.2	9.0
Culture efficiency	6.1	6.8	6.7	5.6	6.3

1) Induction rate : Percentage of explants induced adventitious bud.

No. of buds : Average number of adventitious buds per one inducing explant.

Culture efficiency : Average number of adventitious buds induced from one inoculated explant.

2) The detail of each culture medium is given in Table 1.

Table 3. Significance of treatment effects and their interactions encountered in an analysis of variance of culture response

Source of variation	F-value		
	Induction ¹⁾ rate	No. of ¹⁾ buds	Culture ¹⁾ efficiency
Treatment			
Replication (R)	0.04	1.66	1.87
Variety (V)	5.17**	6.51**	5.48**
Medium (M)	1.23	3.16*	1.98
Interaction			
V × M	1.82**	2.27**	2.14**
V × R	0.75	2.18	1.21
M × R	2.18	1.63	1.74

1) See notes in Table 2.

*, ** : Significant at 5% and 1%, respectively.

2. 品種間差異 培養結果を全培地の平均値として品種ごとに示したのが Table 4 である。形成率には34.7%から96.9%の, 不定芽数には1.8から11.7の, そして形成効率では 'LS 1658' の2.2から '札幌大長' の14.0までの, それぞれ多様な品種間変異が認められた。分散分析の結果, どの項目においても品種間差異は統計的に有意であった ($P < 0.01$)。

トウガラシ品種における形成率と不定芽数との関係を見るために, 品種ごとに全培地の平均値をプロットしたのが Fig. 1 である。相関係数が $r=0.444$ と 1%水準で有意であったことから, 形成

率の高い品種では一般に不定芽数も多くなる傾向のあることが示された。

Table 4. Culture response of 33 pepper varieties averaged for 4 culture media and their favorable culture medium

Variety ¹⁾ group	Variety	Induction ²⁾ rate (%)	No. of ²⁾ buds	Culture ²⁾ efficiency	Favorable ³⁾ medium
Enomi	Enomi	64.8	16.6	10.5	B
	Huiiri-togarashi	62.7	7.8	5.0	B
Takanotsume	Takanotsume	68.8	13.9	8.7	C
	Hontakanotsume	66.4	7.8	5.4	C
	Daruma	66.4	11.9	7.9	A
Yatsubusa	Tochigimitaka	75.7	6.5	4.8	A
	Nagayatsubusa	73.4	7.6	5.5	A
	Yatsubusa	96.9	8.7	8.4	A,B,C
Fushimi	Sapporo-onaga	95.3	14.6	14.0	B
	Nikko	87.5	9.5	8.3	A,B
	Fushimi-amanaga	82.8	8.1	7.0	B
Large-fruit (local)	Kishu-shishito	70.3	5.0	3.5	D
	Yamashina-togarashi	77.2	7.9	5.6	A,B,D
	Shishito	60.2	5.9	3.8	A
	Tanaka-togarashi	60.9	10.2	6.3	B
Large-fruit (improved)	California Wonder	80.5	9.3	7.4	A,B
	Shosuke	95.3	9.8	9.4	A,B
	Chinese Giant	70.3	5.2	4.1	B,D
	Chile Duiee	42.3	5.1	2.4	A
	Daio	70.2	12.7	8.6	C
	Gokuwase-ojishi	68.0	8.8	6.0	B,D
	Gokuwase-shuryoku	59.7	6.0	4.0	B
	Heian-eiko	72.5	11.2	8.4	B
	Isepiman	48.3	2.3	1.9	A
	Ishiiipiman	49.2	5.9	2.8	C
	Miimidori	41.0	6.3	3.0	B
	Ogata-yolowonder	88.3	9.7	8.8	C
	Pimento-type	63.5	7.9	5.0	A,C,D
	Pimento	90.0	7.6	6.9	C
Ruby King	81.3	9.4	8.1	B,C	
Sakigake	76.3	7.3	6.3	C	
<i>C. baccatum</i> L.	LS 1655	78.0	10.6	8.7	C
	LS 1658	34.7	4.9	2.2	C

1) Thirty-one varieties were grouped into five according to KUMAZAWA *et al.* (1954).

2) See notes in Table 2.

3) Alphabetical characters indicate the favorable medium on which culture efficiency was the highest and more than 80% of the highest value in each variety. The detail of each culture medium is given in Table 1.

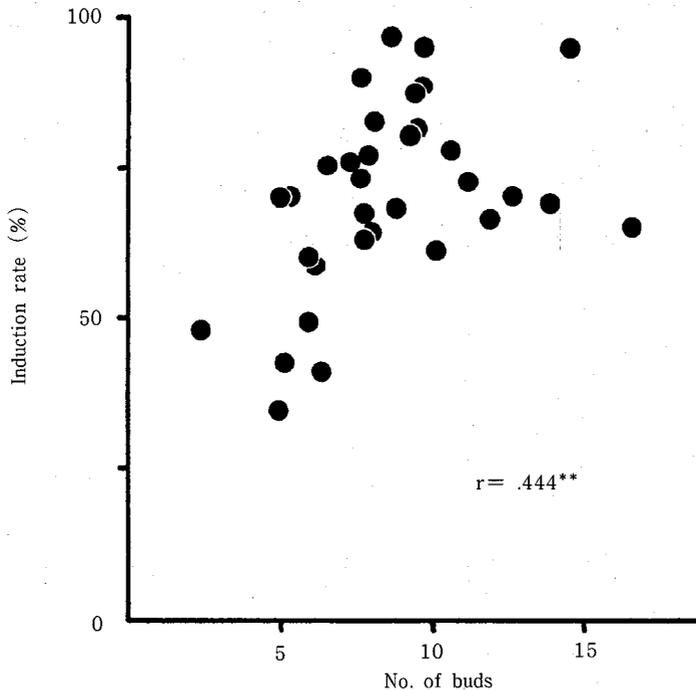


Fig. 1. Relationship between induction rate and number of buds observed among 33 pepper varieties. The data of each variety is given in Table 4.
 ** : Significant at 1% level.

3. 品種と培地の相互作用 分散分析の結果、形成率・不定芽数及び形成効率のいずれの項目においても品種と培地の相互作用が1%水準で有意であった (Table 3) ことから、品種により好適培地の異なることが明らかである。相互作用の一例として、形成効率がA培地で最も高かった‘ダルマ’、B培地とD培地で最も高かった‘札幌大長’、C培地で最も高かった‘ダイオオ’及び全品種の平均について各培地での形成効率を Fig. 2 に示した。‘札幌大長’は全培地において品種平均を大きく上回っているが、好適培地はB培地である。‘ダルマ’はB培地では全品種平均の1/2以下であったが、好適培地とするA培地では全品種で最高の値を示した。‘ダイオオ’も好適培地とするC培地以外では全品種平均より低い値を示した。

他の品種についても最適培地を調べたところ、Table 4 に示す結果が得られた。この結果を品種群別にまとめたのが Table 5 である。33品種のうち9品種では複数の培地を好適としたので、Table 5 ではこれらの品種は重複してカウントされている。また参考のために THOMPSON (1949) による品種群も示してある。同表から明らかなように、A, B, C の3培地のいずれかを好適とする品種は多く存在したが、D培地を好適とする品種は5品種しか存在しなかった。これを品種群別にみると、大果群においては品種によって好適培地が異なり、一定の傾向が認められなかった。これに対して、他の4品種群及び野生種においては群内変異が小さく、榎実群、八房群、伏見群及び *C. baccatum* 群では各群内の全ての品種がそれぞれB, A, B及びC培地を好適培地とした。以上の結果より、大果群を除く他の4品種群においては、品種の所属する群により好適培地を推定できることが示された。

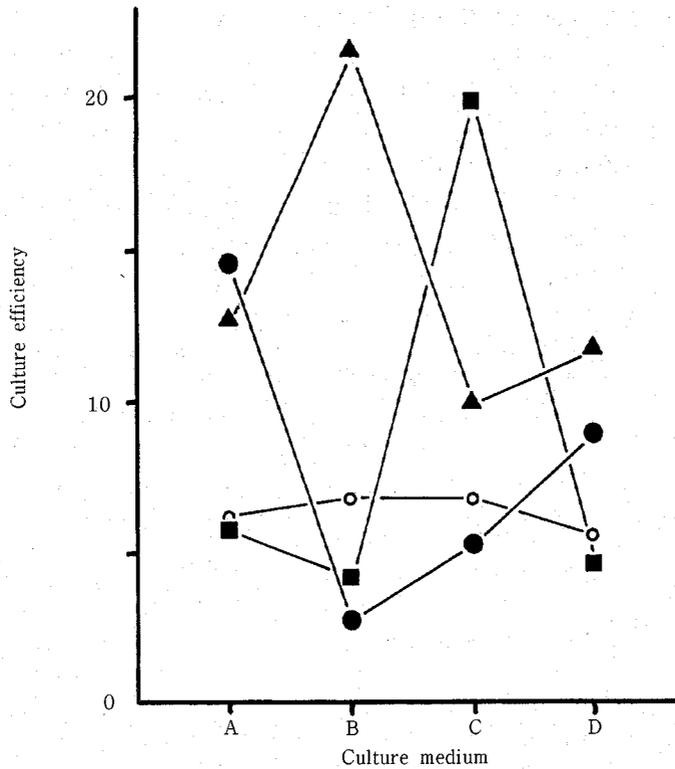


Fig. 2. Interaction between varieties and culture media observed in culture efficiency of typical three varieties.

● : 'Daruma' , ▲ : 'Sapporo-onaga' , ■ : 'Daio' , ○ : Average for all varieties.

Table 5. Number of pepper varieties classified on the basis of their favorable culture medium and the difference among variety groups

Variety group		No. of varieties	Favorable culture medium ¹⁾			
KUMAZAWA <i>et al.</i> (1954)	THOMPSON (1949)		A	B	C	D
Enomi	Cherry pepper	2	0	2	0	0
Takanotsume	Cone pepper	3	1	0	2	0
Yatsubusa	Red cluster pepper	3	3	1	1	0
Fushimi	Long pepper	3	1	3	0	0
Large-fruit local	Sweet pepper	4	2	2	0	2
improved		16	5	8	7	3
<i>C. baccatum</i> L.		2	0	0	2	0
Total		33	12	16	12	5

1) The detail of each culture medium is given in Table 1.

4. 各培地の開発に供された品種の好適培地 Table 6 から明らかなように、A培地の開発に供された品種 '昌介' の形成率はどの培地でも90%以上の高い値を示した。これに対して不定芽数はA培地において最も高く13.9であり、その結果形成効率は全培地で最も高い13.5を示した。従って、'昌介' に最も適した培地はA培地であり、ついでB培地も適しているといえる。

B培地の開発に供された品種 'カリフォルニアワンダー' については、B培地での形成率78%は全培地の平均81%とほとんど異ならなかった (Table 6)。これに対して不定芽数が12.8と他の培地より高かったため、形成効率は10.0という高い値を示した。従って、'カリフォルニアワンダー' ではB培地、ついでA培地が好適培地といえる。

Table 6. Culture response of pepper varieties which had been used to establish culture medium

Variety ¹⁾	Culture response ²⁾	Culture medium ³⁾				
		A	B	C	D	average
Shosuke (A)	Induction rate (%)	96.9	100.0	90.6	93.8	95.3
	No. of buds	13.9	11.2	6.1	7.9	9.9
	Culture efficiency	13.5	11.2	5.6	7.4	9.4
	Ranking	2	5	15	11	3
California Wonder (B)	Induction rate (%)	87.5	78.1	68.8	87.5	80.5
	No. of buds	10.7	12.8	6.8	6.3	8.6
	Culture efficiency	9.4	10.0	4.7	5.5	7.4
	Ranking	6	7	20	19	13
Pimento (B)	Induction rate (%)	87.5	87.5	100.0	85.0	90.0
	No. of buds	8.6	5.0	9.5	7.5	7.7
	Culture efficiency	7.5	4.3	9.5	6.4	6.9
	Ranking	13	21	10	14	15
Yatsubusa (D)	Induction rate (%)	90.6	100.0	100.0	96.9	96.4
	No. of buds	9.4	9.7	10.1	5.8	8.8
	Culture efficiency	8.4	9.7	10.1	5.6	8.4
	Ranking	8	9	8	17	8

1) Alphabetical characters in parenthesis indicate the culture medium which was established by using respective varieties.

2) Ranking: Varieties were ranked by their culture efficiency on each culture medium.

3) The detail of each culture medium is given in Table 1.

同じくB培地の開発に供された品種 'ピメント' については、どの培地でも85%以上の高い形成率を示した (Table 6)。不定芽数はC培地において最も高く9.5であり、B培地では最も低く5.0であった。このためB培地での形成効率は4.3と最も低かった。従って、'ピメント' においてB培地は最も適さない培地であり、好適培地はC培地である。

D培地の開発に供された品種 '八房' では、どの培地でも90%から100%の高い形成率を示した。

しかし不定芽数はA, B, Cの各培地において9.4から10.1であったのに対し, D培地では5.8と低く, このためD培地での形成効率は全培地で最も低い5.6を示した。従って, '八房'においてD培地は最も適さない培地であり, 好適培地はC培地である。

5. 不定芽からの茎葉体形成 不定芽伸長培地における不定芽の発育・伸長に及ぼす不定芽誘導培地の影響は, Table 7に示した通りである。同表は全品種の結果をまとめたものであるが, '++'及び'+++と評価されている茎葉体はともによく発育しており, 発根処理に移せるものであったが, '-'及び'+'のクラスでは利用可能な茎葉体は得られなかった。不定芽からの茎葉体形成効率は培地によって大きく異なり, A培地においては全培養箱の37%においてよく発育した茎葉体が得られたのに対し, C培地ではわずか2%にすぎなかった。また茎葉体形成効率が比較的高いA, D培地はいずれもオーキシンを含まない培地であった。

Table 7. Growth of adventitious buds induced on different culture media

Culture ¹⁾ medium	Growth of adventitious bud ²⁾				
	-	+	++	+++	total
A	34.2%	28.8%	17.8%	19.2%	100%
B	68.6	23.5	3.9	3.9	100
C	63.8	34.0	2.1	0.0	100
D	51.1	31.1	6.7	11.1	100

1) The detail of each culture medium is given in Table 1.

2) Adventitious buds were cultured on the basal medium (Table 1) supplemented with 1 mg/l Zeatin. Results were shown on the basis of culture boxes which contained about 5 explants. According to the development of the most advanced shoot or bud, culture boxes were classified as follows: -; no growth, +; slight growth, ++; sufficient growth, +++; full growth.

考 察

トウガラシ子葉から不定芽を形成させる培養系に好適とされている4種類の培地は, サイトカインを単独で添加する培地 (A, D) とサイトカインとオーキシンを併せて添加する培地 (B, C) とに大別される (Table 1)。子葉培養法を種苗の大量増殖法として実用化するという観点から見ると, これらのうちのどの培地が最適であるかが問題となる。そこで本研究において解析した結果, 品種によって好適培地の異なることが明らかになった (Fig. 2, Table 4)。分散分析の結果, 品種・培地間の相互作用が統計的に有意であったこともこの結論を支持している (Table 3)。従って, トウガラシ品種の子葉培養においては, 品種ごとに適した培地を用いる必要性のあることが示された。また, 好適培地における形成効率の品種間差異が3.7から21.6であり, いずれの品種においても不定芽形成がみられたことから, 本方法の利用による種苗の大量増殖がどの品種においても可能であることが示された。

供試品種の好適培地の推定が可能であれば, 培養の省力化を図ることができる。そこで本研究ではこのための指標として熊沢ら (1954) による品種群に注目した。その結果, 大果群を除く4品

種群、即ち通称‘トウガラシ’と呼ばれているグループの在来品種においては、好適培地が品種群間で異なったものの群内の品種間では同じであった (Table 5)。これに対して、通称‘ピーマン’あるいは‘シシトウ’と呼ばれている大果群においては、品種によって好適培地が異なり (Table 5)、全品種に適用可能な培地は存在しなかった。従って、‘トウガラシ’においては品種の所属する群により好適培地を推定できるが、‘ピーマン’及び‘シシトウ’においては品種毎に好適培地を調べる必要があると結論できる。

なお大果群における多様な品種間変異は、本群がわが国に導入された時期の新しさを反映しているものと思われる。即ち、16世紀に導入された‘トウガラシ’では、各地域の栽培環境への適応力や品質特性に対する長年の選抜により品種の分化が進み、Table 5の4群が確立された (熊沢ら、1954)。従って、各群内における遺伝的変異は比較的小さく、その結果培養反応も品種により異ならなかったと考えられる。一方、明治以降に導入された‘ピーマン’においては、品種の分化が進んでいないために多様な遺伝的変異が混在し、このために培養反応も品種により異なると考えられる。

長尾 (1985) がA培地、D培地及びB類似培地 (BA 2 mg/l + IAA 1 mg/l) などを用いて‘昌介’を培養した結果、A培地が最適であった。本実験においても‘昌介’の好適培地はA培地であることが確認された (Table 6)。またGUNAY and RAO (1978) はB培地に加えてゼアチン 1 mg/lの培地及びBA 2 mg/lの培地も比較したが、供試品種‘カリフォルニアワンダー’の好適培地はB培地であった (Table 6)。以上のことより、ゼアチン、BA及びIAAという共通のホルモンを用いながら、長尾 (1985) がA培地、そしてGUNAY and RAO (1978) がB培地とそれぞれ異なる培地を好適としたのは、供試品種が異なったためである。なお、B培地において‘カリフォルニアワンダー’と同様に良い結果を示した‘ピメント’ (GUNAY and RAO, 1978) が、B培地を最も不適当な培地とすることが判明した (Table 6) が、この相違の原因は明らかではない。

一方、SRIPICHTT *et al.* (1987) はA、B及びCの3培地を好適とする品種‘八房’ (Table 6) を供試し、B類似培地 (BA 3 mg/l + IAA 1 mg/l) 及びD培地を比較した結果、前者ではなく後者を最適培地とした。このような相違の原因として、形成される不定芽の形状の違いが考えられる。即ち、誘導された不定芽の発育・伸長が培地中のオーキシンの有無によって異なり、オーキシンを含まないA、Dの両培地では培養21日目にはすでに本葉に類似した形状を示すのに対し、オーキシンを含むB、Cの両培地では緑色の棒状突起として認められた (Fig. 3)。本実験では不定芽の発育伸長よりも誘導に注目したために後者も不定芽としてカウントしたが、この点がSRIPICHTT *et al.* (1987) との相違の原因と考えられる。

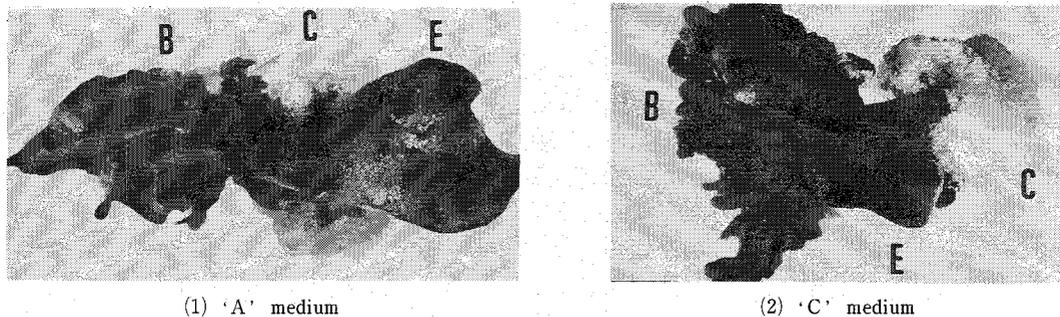


Fig. 3. Adventitious buds initiated on the proximal end of cotyledon explant in cv. 'Pimento'. 'B', 'C' and 'E' indicate adventitious bud, callus and cotyledon explant, respectively. (Twenty-one days after the first inoculation)

不定芽からの茎葉体形成効率について解析するためには、本来ならば各不定芽誘導培地に対応する不定芽伸長培地を用いるべきである。しかしながら、本研究では主に不定芽形成効率に注目したために、A培地に対応するゼアチン培地だけを用いた。このために、オーキシンを含むB、C培地において誘導された不定芽が示した低い茎葉体形成効率 (Table 7) が、不定芽の素質及び不定芽伸長培地のどちらに起因するかは不明である。従って、今後は誘導された不定芽からの茎葉体形成効率についても検討する必要がある。

要 約

トウガラシ子葉から不定芽を誘導する培養系に好適な培地として4種類の培地が知られているが、これらの培地の比較試験はほとんど行われていない。そこで本研究では、トウガラシにおける多様な遺伝的変異を代表すると考えられる33品種を供試して、4培地上での不定芽形成能を比較した。

分散分析の結果、置床した外植体当りの形成不定芽数で表される形成効率は品種によって異なったが、培地によっては異ならなかった。従って、4培地はいずれも同等の能力を有することが明らかである。ただし、品種・培地間での相互作用が統計的に有意であったことから、品種によって好適培地が異なることが示された。また、好適培地における形成効率の品種間差異が3.7から21.6であり、いずれの品種においても不定芽形成がみられたことから、本方法による種苗の大量増殖がどの品種においても可能であることが示された。

供試品種の好適培地を推定するための指標として熊沢ら (1954) による品種群に注目したところ、大果群を除く4品種群、即ち通称「トウガラシ」と呼ばれているグループの在来品種においては、好適培地が品種群間で異なったものの群内の品種間では同じであった。これに対して、通称「ピーマン」あるいは「シシトウ」と呼ばれている大果群においては、品種によって好適培地が異なり、全品種に適用可能な培地は存在しなかった。従って、「トウガラシ」においては品種の所属する群により好適培地を推定できるが、「ピーマン」及び「シシトウ」においては品種毎に好適培地を調べる必要があると結論できる。

謝 辞

本研究の遂行に当たり、供試材料を提供して下さった京都大学農学部附属亜熱帯植物実験所助教藤本光宏博士ならびに農業生物資源研究所遺伝資源第二部遺伝資源管理情報科及び高知県農業技術センター育種バイオテクノロジー科の諸氏に厚く御礼申し上げます。また、研究費の一部は農林水産省「地域バイオテクノロジー研究開発促進事業」によった。記して謝意を表する。

引用文献

- 1) CHOWDHURY, S. H., KATO, K., YAMAMOTO, Y. and HAYASHI, K. : Varietal variation in plant regeneration capacity from immature embryo among common wheat cultivars. *Japan. J. Breed.*, **41**, 443-450 (1991).
- 2) FARI, M. and CZAKO, M. : Relationship between position and morphogenetic response of pepper hypocotyl explants cultured *in vitro*. *Sci. Hort.*, **15**, 207-213 (1981).
- 3) FRANKENBERGER, E. A., HASEGAWA, P. M. and TIGCHELAAR, E. C. : Diallel analysis of shoot-forming capacity among selected tomato genotypes. *Z. Pflanzenphysiol.*, **102**, 233-242 (1981).

- 4) 葛和麟・笹隈哲夫・田中正武: トウガラシ属の組織培養の研究. I. 育雜, **36** (別冊 1), 16-17 (1986).
- 5) GUNAY, A. L. and RAO, P. S.: *In vitro* plant regeneration from hypocotyl and cotyledon explants of red pepper (*Capsicum*). *Plant Sci. Lett.*, **11**, 365-372 (1978).
- 6) 林喜三郎・楊志慶・加藤鎌司: トウガラシの不定芽形成に及ぼす子葉外植体及び培養条件の影響. 高知大学学術研究報告, **37**, 153-159 (1988).
- 7) KOMATSUDA, T. and OHYAMA, K.: Genotypes of high competence for somatic embryogenesis and plant regeneration in soybean, *Glycin max*. *Theor. Appl. Genet.*, **75**, 695-700 (1988).
- 8) 熊沢三郎・小原越・二井内清之: 本邦におけるとうがらしの品種分化. 園学雑, **23**, 152-158 (1954).
- 9) KURTZ, S. M. and LINEBERGER, R. D.: Genotypic differences in morphogenic capacity of cultured leaf explants of tomato. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **108**, 710-714 (1983).
- 10) MADDOCK, S. E., LANCASTER, V. A., RISIOTT, R. and FRANKLIN, J.: Plant regeneration from cultured immature embryos and inflorescences of 25 cultivars of wheat (*Triticum aestivum*). *J. Exp. Bot.*, **34**, 915-926 (1983).
- 11) MURASHIGE, T. and SKOOG, F.: A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.*, **15**, 473-497 (1962).
- 12) 長尾照義: ピーマンの細胞質雄性不稔系統の増殖. 田中隆莊監修, "クローン植物大量生産の実際技術", p. 33-37, CMC, 東京 (1985).
- 13) OCHOA-ALEJO, N. and IRETA-MORENO, L.: Cultivar differences in shoot-forming capacity of hypocotyl tissues of chilli pepper (*Capsicum annum* L.) cultured *in vitro*. *Sci. Hort.*, **42**, 21-28 (1990).
- 14) PHILLIPS, G. C. and HUBSTENBERGER, J. F.: Organogenesis in pepper tissue cultures. *Plant Cell Tissue Organ Culture*, **4**, 261-269 (1985).
- 15) SEARS, R. G. and DECKARD, E. L.: Tissue culture variability in wheat: Callus induction and plant regeneration. *Crop Sci.*, **22**, 546-550 (1982).
- 16) SRIPICHTT, P., NAWATA, E. and SHIGENAGA, S.: *In vitro* shoot-forming capacity of cotyledon explants in red pepper (*Capsicum annum* L. cv. Yatsufusa). *Japan. J. Breed.*, **37**, 133-142 (1987).
- 17) TAN, M. M. C., COLIJN-HOOYMANS, C. M., LINDHOUT, W. H. and KOOL, A. J.: A comparison of shoot regeneration from protoplasts and leaf disks of different genotypes of the cultivated tomato. *Theor. Appl. Genet.*, **75**, 105-108 (1987).
- 18) THOMPSON, H. C.: "Vegetable Crops", p. 509-513, McGraw-Hill Book Company, New York (1949).
- 19) ZELCER, A., SOFERMAN, O. and IZHAR, S.: An *in vitro* screening for tomato genotypes exhibiting efficient shoot regeneration. *J. Plant Physiol.*, **115**, 211-215 (1984).

Chart 1. Culture efficiency of 33 pepper varieties cultured on four media

Variety ¹⁾ group	Variety	Culture medium			
		A	B	C	D
Enomi	Enomi	7.59	15.84	10.50	8.22
	Huiiri-togarashi	4.47	7.75	5.27	2.34
Takanotsume	Takanotsume	4.09	7.47	13.91	9.44
	Hontakanotsume	3.13	3.63	8.28	6.56
	Daruma	14.66	2.75	5.31	9.03
Yatsubusa	Tochigimitaka	7.94	3.97	3.63	3.59
	Nagayatsubusa	9.84	2.56	4.84	4.84
	Yatsubusa	8.44	9.69	10.06	5.59
Fushimi	Sapporo-onaga	12.72	21.63	9.94	11.81
	Nikko	10.31	8.41	7.06	7.53
	Fushimi-amanaga	7.97	10.91	3.72	5.28
Large-fruit (local)	Kishu-shishito	3.41	2.75	2.75	5.06
	Yamashina-togarashi	5.81	6.78	3.25	6.37
	Shishito	5.06	2.66	3.47	4.00
	Tanaka-togarashi	6.28	9.00	3.31	6.47
Large-fruit (improved)	California Wonder	9.38	10.03	4.69	5.50
	Shosuke	13.50	11.19	5.56	7.38
	Chinese Giant	0.50	6.44	3.72	5.69
	Chile Duiee	6.88	0.03	1.09	1.56
	Daio	5.75	4.16	19.91	4.63
	Gokuwase-ojishi	1.66	9.94	2.59	9.63
	Gokuwase-shuryoku	1.41	8.53	1.94	4.00
	Heian-eiko	8.96	12.19	5.09	7.48
	Isepiman	3.72	1.91	1.22	0.63
	Ishiipiman	1.81	2.84	4.47	2.03
	Miimidori	2.44	7.37	0.72	1.50
	Ogata-yolowonder	6.03	4.75	15.31	9.00
	Pimento-type	5.30	3.56	5.76	5.53
	Pimento	7.50	4.34	9.47	6.41
	Ruby King	1.81	11.47	11.72	7.59
	Sakigake	7.91	4.71	11.70	0.84
<i>C. baccatum</i> L.	LS 1655	5.72	4.91	15.94	8.29
	LS 1658	0.75	0.66	6.50	0.88

1) See notes in Table 4.

(1991年9月29日受理)

(1991年12月27日発行)