

回転培養されたクロユリの子球生長に及ぼすMS培地, ショ糖およびポリエチレングリコールの濃度の影響

大川勝徳

愛媛大学大学院農学研究科 790-8566 松山市樽味3-5-7

Effects of Concentrations of MS Medium, Sucrose and Polyethylene Glycol on Bulblet Growth of *Fritillaria camtschaticensis* Ker-Gawl. by a Rotary Shaker

Masanori Ohkawa

Graduate School of Agriculture, Ehime University, 3-5-7 Tarumi, Matsuyama, 790-8566

Summary

The effects of concentrations of MS medium, sucrose and polyethylene glycol (PEG) on bulblet formed on small globular scale of *Fritillaria camtschaticensis* Ker-Gawl. were researched. The scales were cultured for 4 weeks under continuous light of 1,500 lx at 25 °C on a rotary shaker. Our results show that the standard strength MS medium containing 6% sucrose and 1% PEG provides the optimum condition for inducing and subsequent growing bulblets from scales of *Fritillaria camtschaticensis* Ker-Gawl.

Key Words: bulblet growth, *Fritillaria camtschaticensis* Ker-Gawl., polyethylene glycol, sucrose.

緒 言

ユリ科ユリ属のササユリを組織培養で増殖する試みは多くの研究者により行われており, 球根りん片(水口・大川, 1994a, 1994b)や球根りん片から再生した子球のりん片(浅尾ら, 1992)からの子球形成および子球肥大の条件(水口・大川, 1994a)が報告されている. 一方, 同科バイモ属の増殖に関しては *Fritillaria meleagris* (Kukulczankaら, 1989)とクロユリ(大川・北嶋, 1998; 大川ら, 1999)の報告があるにすぎない.

これまで筆者らはクロユリの増殖を目的に, 固体培地における球根の小球状りん片からの子球形成および子球肥大の諸条件を明らかにした(大川・北嶋, 1998; 大川ら, 1999; 大川・西野, 1999). しかし, 培養で得られた子球は小さく, 圃場に移植しても腐敗することが多い. 健全な球根を得るには, 子球をさらに試験管内で培養して肥大させる必要がある. そこで本研究は効率良く子球を肥大させる条件を明らかにすることを目的として, 子球の生長に及ぼすMS培地, ショ糖およびポリエチレングリコール(PEG)の濃度の影響を回転液体培養で検討した.

材料および方法

実験 1. 子球の肥大に及ぼすMS培地濃度の影響

1996年9月にクロユリ球根(新鮮重, 約10g)を購入した. 同年11月上旬にバーミキュライトと腐葉土を1:1(v/v)の割合で混合した用土をプランター(170×365×150mm)に充填し, 球根を植え付けてガラス室で栽培した. 地上部が枯死した1997年8月に掘り上げて小球状りん片を剥離し, NAA(0.1 ppm)およびKinetin(0.1 ppm)を添加した固体MS培地(25 °C, 暗黒下)で8週間培養し, 得られた再生子球(新鮮重, 約13mg)を本実験に供した(第1図).

MS培地の濃度を1/1, 1/2, 1/4および1/8(v/v)に希釈する4区を設けた. そしてpH5.8に調節し, ショ糖3%を添加した培養液を100ml容三角フラスコに60mlずつ分注後, オートクレープで120 °C, 15分間加圧滅菌した. 次いで, エタノールで10秒間, 2%次亜塩素酸ナトリウム溶液で3分間滅菌した子球を三角フラスコ当たり5個ずつ供し, 回転速度1rpm, 20 °C, 1,500lxの連続照明下で4週間回転培養した. 供試した子球は実験開始時と終了時にその新鮮重を秤量し, 子球の増加率(%)を求めた.
子球増加率(%)=[(培養終了時重量-培養開始時重量)/培養開始時重量]×100

子球は1処理区当たり5個ずつ供し、8反復した。

実験 2. 子球の肥大に及ぼすショ糖濃度の影響

実験 1 と同一の方法で得た再生子球を供し、非希釈の MS 培地を用いて、ショ糖濃度 3, 6, 9% 区および対照 (無添加) 区の計 4 区を設けた。培養および調査方法は実験 1 と同様に行った。

実験 3. 子球の肥大に及ぼす PEG 濃度の影響

実験 1 と同一の方法で得た再生子球を供試し、非希釈の MS 培地とショ糖 6% で、PEG (平均分子量約 7, 500) 濃度 1, 3, 5% 区および対照 (無添加) 区の計 4 区を設けた。培養および調査方法は実験 1 と同様に行った。

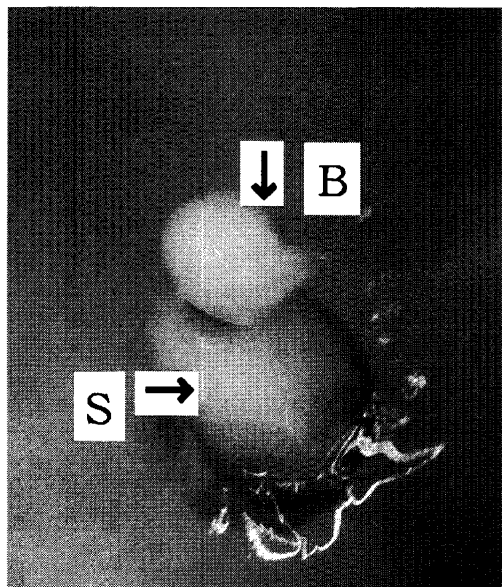


Fig. 1. Bulblet (B) formed on small globular scale (S) of *Fritillaria camtschatscensis* Ker-Gawl. cultured on a rotary shaker.

結 果

実験 1. 子球の肥大に及ぼす MS 培地濃度の影響

子球の肥大は MS 培地 1/1 区 (第 2 図) と 1/2 区で良好であったのに対し、1/4 区と 1/8 区は不良であった (第 1 表)。1/1 区と 1/2 区の間に有意差は認められなかったが、両区と 1/4 区や 1/8 区との間に有意差が認められた。また子球は培養開始時に白色を呈していたが、培養終了時に緑変した (第 1 図, 第 2 図)。

実験 2. 子球の肥大に及ぼすショ糖濃度の影響

子球の肥大はショ糖 3% 区と 6% 区で良好であったが、9% 区と対照区は不良であった (第 2 図)。子球肥大の最も優れた 6% 区は他区との間に有意差が認められた。また子球肥大が良好であった 3% 区は、9% 区および対照区との間に有意差が認められた (第 1 表)。

実験 3. 子球の肥大に及ぼす PEG 濃度の影響

PEG 1% 区 (第 2 図) の子球肥大は他区と比較して良好であったが、5% 区は不良であった (第 1 表)。子球が最も肥大した 1% 区は他区との間に有意差が認められ、また 3% 区および対照区も 5% 区との間に有意差が認められた。

考 察

MS 基本培地は広範な植物に適応するが、個々の植物にとって最適であるとは限らない。従って、対象植物に応じて培地の組成や濃度を検討する必要がある。本研究は回転液体培養で、まず子球肥大に適した MS 培地の濃度を検討した。その結果、培養後 4 週間で非希釈と 2 倍希釈での子球の生長は良好であった。一方、4 倍希釈では子球の増加率が 2 倍希釈の約 1/2 であり、子球の生長には非希釈

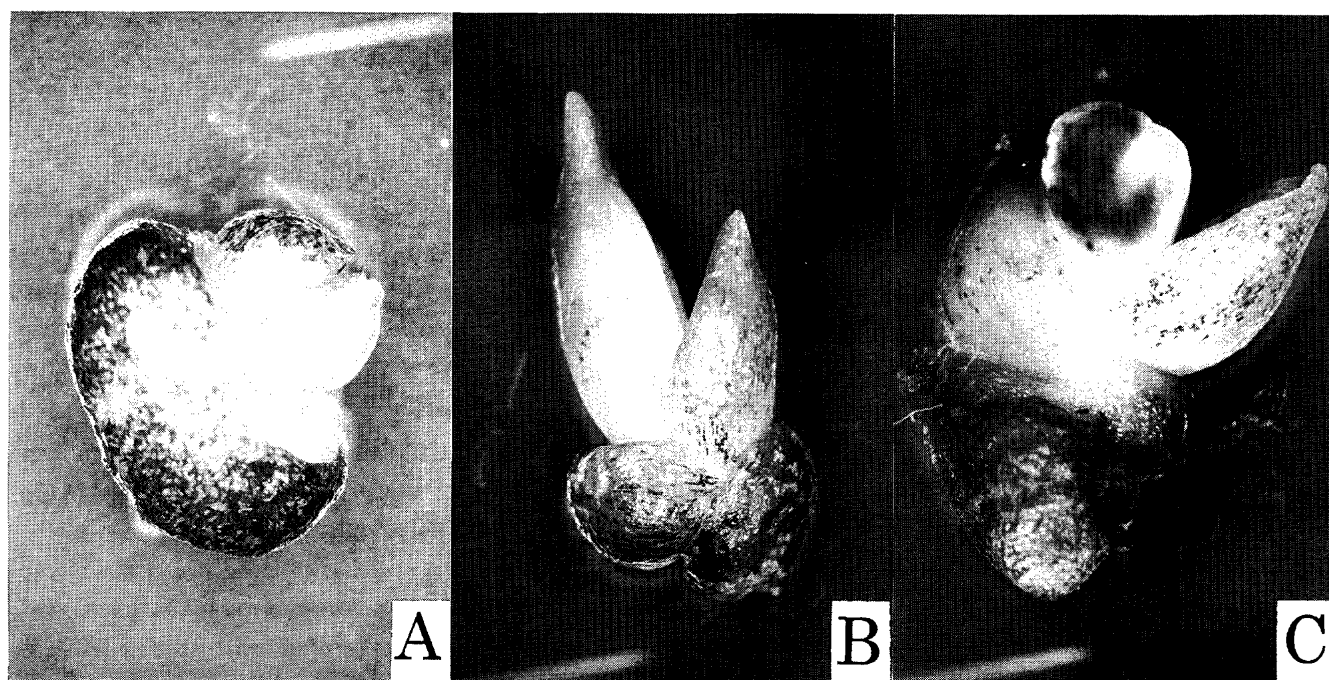


Fig. 2. Bulblets of *Fritillaria camtschatscensis* Ker-Gawl. cultured on a standard strength MS medium containing 3% sucrose (A), 6% sucrose (B), and 6% sucrose and 1% polyethylene glycol (PEG) (C). The scales were cultured on a rotary shaker.

Table 1. Effects of concentrations of MS medium, sucrose and polyethylene glycol (PEG) on growth of the regenerated bulblets of *Fritillaria camtschaticensis* Ker-Gawl. on a rotary shaker.

Medium & Chemicals	Concentration	Bulblet weight (mg, FW)	Δ Weight (%) ^z
MS medium	1/1(v/v)	21.2a ^y	60.6
	1/2	20.2a	57.0
	1/4	16.4b	27.1
	1/8	15.7b	18.8
Sucrose	9(%)	15.0c	11.1
	6	26.9a	99.3
	3	23.7b	76.7
	0	16.1c	18.4
PEG	5(%)	16.7c	27.5
	3	25.0b	89.4
	1	31.2a	136.4
	0	25.1b	96.1

^z (Final weight - Initial weight) / Initial weight $\times$ 100.

^y Data are treated with Duncan's multiple range test at $P=0.05$.

ないし2倍希釈のMS培地が適すると考えられた。

通常、植物の組織培養に供される炭素源はショ糖3%である。糖類は培養液の浸透圧を調節し、高い浸透圧は植物の生長に影響を及ぼすと報告されている (Litz, 1986; Finkelstein・Crouch, 1986; Kong・Yeung, 1995)。ユリでも高濃度のショ糖は子球の生長を抑制すると報告されている (河原林・浅平, 1988)。本実験の結果、子球の生長はショ糖9%区と無添加区が他処理区と比較して著しく低かった。その理由として、前者は過度の浸透圧、後者は炭素源の不足と考えられる。一方3~6%の範囲では培養期間中に糖の一部が消耗され、培養液に残った糖による浸透圧が植物に適度のストレスを与えたものと考えられる。従って、クロユリ子球の生長に対してショ糖濃度は3~6%の範囲が適していると考えられる。

培養液の浸透圧調節には植物に代謝されないPEGなどを使用するのが良策と考えられる。すでにササユリ子球の肥大にPEG3%が良好であると報告されている (大城・大川, 1996)。本実験の結果、培養終了時の子球重の増加はPEG1%で高かったものの、さらに高濃度になるに伴って低下した。特に5%では他の処理区と比較して低かった。この理由として、PEG5%では培養液の浸透圧がクロユリの子球生長の上限閾値を超えたものと考えられる。一方、PEG1%とショ糖6%の組み合わせによって調節された培養液の浸透圧は子球の生長に適していると思われる。その理由として、ショ糖は培養経過とともに植物に吸収・代謝され、ショ糖による培養液の浸透圧は低下することと、代謝されないPEG1%では子球の生長に適度な浸透圧が長期間保持されることによって、子球に適度なストレスを与えつづけたものと推定された。

摘 要

クロユリ (*Fritillaria camtschaticensis* Ker-Gawl.) の小球状りん片から得た子球の生長に及ぼすMS培地、ショ糖およびポリエチレングリコール (PEG) の濃度の影響を検討することを目的として、25℃、1,500lxの連続照明下で4週間回転液体培養した。その結果、子球の肥大には非希釈のMS培地で、ショ糖濃度6%、PEG濃度1%とするのが適していると考えられた。

引用文献

- 浅尾浩史・松谷幸子・田中恵子・荒川 滋. 1992. りん片培養によるササユリの大量増殖. 奈良農試研報. 23: 1-6.
- Finkelstein, R. R. and M. L. Crouch. 1986. Rapeseed embryo development in culture on high osmoticum is similar to that in seeds. *Plant Physiol.* 81: 907-912.
- 河原林和一郎・浅平 端. 1988. ユリ茎端部組織の生育に及ぼす培地組成. 園学雑. 57: 258-268.
- Kong, L. and E. C. Yeung. 1995. Effect of silver nitrate polyethylene glycol on white spruce (*Picea glauca*) somatic embryo development: Enhancing cotyledonary embryo formation and endogenous ABA content. *Physiol. Plant.* 93: 298-304.
- Kukulczanka, L., K. Eromer and B. Czastka. 1989. Propagation of *Fritillaria meleagris* L. through tissue culture. *Acta Hort.* 251: 147-153.
- Litz, R. E. 1986. Effect of osmotic stress on somatic embryogenesis in *Carica* suspension cultures. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 111: 969-972.
- 水口 茂・大川勝徳. 1994a. ササユリの母りん片白色カルス由来の子球の発育に及ぼすナフトレン酢酸とベンジルアデニンの影響. 園学雑. 63: 429-437.
- 水口 茂・大川勝徳. 1994b. ササユリの母りん片培養における切断および植物ホルモン処理の子球形成に及ぼす影響. 生環調. 32: 239-243.
- 大川勝徳・北嶋純也. 1998. クロユリの *in vitro* 培養による増殖に関する研究. 第1報. 小球状りん片からの子球形成について. 園学雑. 67: 242-248.
- 大川勝徳・北嶋純也・西野 圭・大川野理子. 1999. クロユリの *in vitro* 培養による増殖に関する研究. 第2報. 植物ホルモンの子球の肥大、出葉および発根に対する効果について. 園学雑. 68: 184-188.
- 大川勝徳・西野 圭. 1999. 試験管内培養によるクロユリ再生子球の生長に及ぼす温度と照度の影響. 生環調. 37: 243-247.
- 大城智弘・大川勝徳. 1996. ササユリのりん片培養による増殖に関する研究. 第11報. 子球形成に及ぼすポリエチレングリコール (PEG) の影響. 園学雑. 65(別1): 504-505.