

サフランの培養による柱頭様組織と色素形成について (2)¹⁾

奈女良昭, 小山篤子, 藤岡尚美, 山崎和男, 神田博史*

広島大学医学部総合薬学科

Formation of Stigma-like Structures and Pigments in Cultured
Tissues of *Crocus sativus* (2)¹⁾

AKIRA NAMERA, ATSUKO KOYAMA, NAOMI FUJIOKA, KAZUO YAMASAKI and HIROSHI KOHDA*

Institute of Pharmaceutical Sciences, Hiroshima University School of
Medicine, 1-2-3, Kasumi, Minami-ku, Hiroshima 734, Japan

(Received June 8, 1987)

Stigma-like and style-like tissues of *Crocus sativus* were derived from various parts of its flower buds by culturing them on Linsmaier-Skoog or Gamborg B5 medium. The most suitable part for the differentiation was found to be between the petal and the ovary. Chemical analysis revealed the presence of both crocin and picrocrocin in these tissues.

Keywords——*Crocus sativus*; stigma-like tissue; crocin; picrocrocin

前報¹⁾につづき、アヤメ科サフランの薬用部位である柱頭部を誘導するためのより有効な部位を検討するため、開花期前の花芽の部分を生花、雌ずい、雄ずいなどに12分割して、これらの分化能力をみた。前回は柱頭部の三叉下部より誘導に成功したが、それ以外にもより誘導可能な部位が見つかったので報告する。

材料および方法

1. 材 料

国立衛生試験所和歌山薬用植物栽培試験場より分与されたサフランの球根を使用した。

2. 切片の調整

開花前の花茎を球根より切り取り、0.1% オスバン水溶液で5分間、1% ピューラックス水溶液で5分間、さらに70% EtOH 液で2~3秒間滅菌したのち、滅菌水で3回洗浄した。滅菌シャーレ上で花茎より無菌的につぼみを取り出し Fig. 1 に示したように a~r の部分に切断し植え付け切片とした。

3. 培地の調整

基本培地は Linsmaier-Skoog (LS) 培地、および Gamborg-B5 (B5) 培地を用いた。LS 培地には sucrose 3%, gelangum 0.2% を、B 5 培地には sucrose 2%, gelangum 0.2% を添加した。植物ホルモン (NAA, BAP) を添加した後 0.1N KOH および 0.1N HCl で pH を 5.7~5.8 に調整した。培地を加温溶解し、50 ml シャーレ (9×4 cm) に分注後オートクレーブ中 (120°C, 1.2 kg/cm²) 15 分間滅菌した。

4. 培養条件

培養は本学医学部附属薬用植物園内無菌室で、温度は 25±2°C, 暗黒下で行い、継代は約2カ月おきに行った。

a~r の各部位を α -naphthaleneacetic acid (NAA) 10^{-6} M~ 5×10^{-5} M, 6-benzylaminopurine (BAP) 10^{-6} M~ 3×10^{-5} M 添加, LS 培地および B 5 培地で培養した。培地には BAP と NAA の濃度に対応して次のようにナンバリング (No.) した。BAP-NAA: 10^{-6} ~ 10^{-6} M (No. 13), 10^{-6} ~ 10^{-5} M (No. 14), 10^{-6} ~ 5×10^{-5} M (No. 15), 10^{-5} ~ 10^{-6} M (No. 18), 10^{-5} ~ 10^{-5} M (No. 19), 10^{-5} ~ 5×10^{-5} M (No. 20), 3×10^{-5} ~ 10^{-6} M (No. 23), 3×10^{-5} ~ 10^{-5} M (No. 24), 3×10^{-5} ~ 5×10^{-5} M (No. 25)

a. 柱頭上部, b. 柱頭中部, c. 柱頭下部, d. 柱頭・花柱, e. 花柱上部, f. 花柱中部, g. 花柱下部, h. 子房上部, i. 子房下部, j. 胚珠, k. 子房の下, l. やく上部, m. やく下部, n. 花糸, o. 花弁から子房へ続く部分の上部, p. 花弁から子房へ続く部分の中部, q. 花弁から子房へ続く部分の下部, r. 花弁

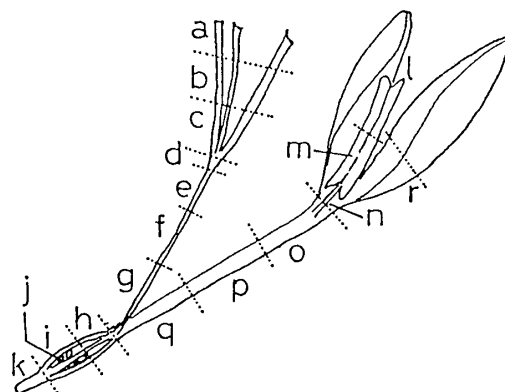


Fig. 1. Cultured Parts of Flower Bud Explants

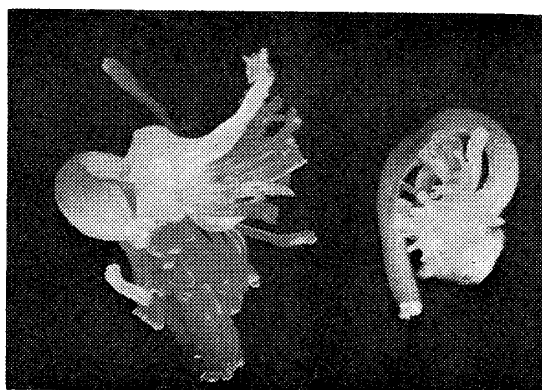


Fig. 2. A 5-month-old Culture Developing Yellowish Stigma-like Structures (q part in Fig. 1)

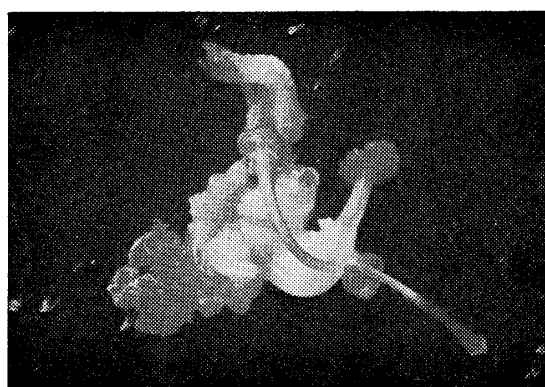


Fig. 3. The Stigma-like Tissues Transferred to LS Medium Containing 10^{-7} M BAP and 10^{-7} M NAA from the Medium Containing 3×10^{-5} M BAP and 5×10^{-5} M NAA (q part in Fig. 1)

結果ならびに考察

培養5～6週間後すべての培地でカルスが成長し、その表面から白～黄色の小さな柱頭様組織が形成され、培養2～3ヵ月後、LS培地ではNo. 19, 20, 24, 25で、B5培地ではNo. 14, 15, 19, 20で黄色～橙色の柱頭様組織となった。部位別ではq, p, o, h, d, e, g, fの順に形成率がよく培養5ヵ月後での柱頭の長さはq, p, oで2～5mm前後であった (Fig. 2 参照)。本数は良好な培地で100～150本であった。この柱頭様組織の一部は天然産のサフランと同等な色合いおよび長さを有するものとなった。しかしながら、継代を続けるうちにしだいに柱頭様組織が形成されにくくなり、かつ色素も比較的薄くなってきた。そのため、より長い、より色の濃い柱頭様組織の形成を促す目的で培養条件を検討した。その結果、ホルモン濃度の高い培地で形成された小柱頭様組織を、ホルモン濃度の低いLS培地あるいはB5培地に移植すると、15～20mmの長さの橙色～赤色の花柱組織を有する柱頭様組織（長さ、形態からして花柱組織を有すると思われるが内部形態的に観察していないため明言できない、以後柱頭様組織と呼ぶ）となった (Fig. 3 参照)。これまでのところいちばん効率よく、長くそして色素の濃い柱頭様組織を形成させる条件は、まず小柱頭様組織の形成率の高いq, p, oの切片を培養し、次にNAA-BAP; 10^{-7} M- 10^{-7} M, IAA-BAP; 10^{-7} M- 10^{-7} Mを添加したLS培地あるいはB5培地に移植する方法である。またここで形成された柱頭様組織の先端部を収穫し、まだ十分色素のついていない中間部、あるいは無色な基部をLSあるいはB5培地の高柱頭様組織形成培地に移植すると中間部や基部から多数の柱頭様組織が発生した。

以上より、形成された柱頭様組織を、ホルモン濃度の低い培地に移して伸長させるとともに色素を形成させ、その後先端の色素のついた柱頭を収穫し、中間部あるいは基部を移植して再び柱頭様組織を形成させるというサイクルを行えばサフラン柱頭様組織の大量増殖が可能となると考えられる。

また色素生産については前報¹⁾と同様、TLC, HPLCにてcrocin, picrocrocinの生成を確認した。この他含有

成分の様相はよく類似していた。

謝 辞：サフランを分与していただきました国立衛生試験所 和歌山栽培試験場前場長 堀越 司氏に厚く御礼を申し上げます。

引用文献および注

- 1) A. Koyama, Y. Ohmori, N. Fujioka, H. Miyagawa, K. Yamasaki, H. Kohda, *Shoyakugaku Zasshi*, **41**, 226 (1987).