

〔徳島農研報 No.3〕  
〔25～29 2006〕

## 様々な培養容器でのエキザカムの インビトロにおける生育と開花\*

川村泰史\*\*・吉原 均・新居宏延

In vitro growth and flowering of *Exacum affine* seedlings in various culture bottles

Hirofumi KAWAMURA, Hitoshi YOSHIHARA and Hironobu NII

### 要

### 約

川村泰史・吉原均・新居宏延(2006): 様々な培養容器でのエキザカムのインビトロにおける生育と開花, 徳島農研報(3): 25～29.

エキザカムを培養容器内で開花させて観賞するインビトロフラワーとして利用するために, 培養容器の大きさ, 移植時期, 開花用培地濃度の影響を調査し, 生育と開花に対する最適な条件を選定した。

培養容器は容積11～940mLの6種類, 培地量は3～100mLで検討した結果, 容積・培地量が小さいほど開花が不安定となった。

小さな培養容器で開花させるための移植時期は播種後20日が適していた。

開花用培地濃度は1/4MSとショ糖濃度50g/Lの組合せが開花および観賞に適していた。

キーワード: エキザカム, インビトロ, 培養容器, 生育, 開花

## はじめに

今日, 都市化の進展により花きや小さな植物等で身近に自然を感じたいという気持ちを持つ人が増えてきていると考えられる。そこで, いつでも身近にある植物に灌水や施肥等の管理が不要であるなら容易に生育を楽しむことができると考えられる。

試験管等のインビトロの状態で安定して開花させる技術については東京農大の雨木らがエキザカム<sup>1),2),4),5)</sup>やカラコエ<sup>6),7)</sup>で研究を行っており, 例えば, エキザカムの開花方法は生育途中に蒸留水(滅菌水)やジベレリン(GA<sub>3</sub>)を添加すること, 培養容器によって適当な培地量があること等が報告されている。しかし, これらの報告では主に平底試験管を用いて試験が行われているので, インビトロでの開花技術を実用化するためには様々な培養容器での生育と開花状況について把握する必要があると考えられた。

そこで, 筆者らはインビトロフラワーの代表例として

エキザカムを用い, さまざまな培養容器での開花特性を調査し, また, 開花が不安定な小さい培養容器において移植時期, 開花用培地濃度を検討し, 安定的な開花をさせるために必要な条件について一定の知見を得たので報告する。

## 試験方法

エキザカムの品種には‘ミゼットブルー’を用いた。無菌播種を行って得た無菌植物を材料として供試した。

無菌植物を得るために種子の殺菌はポリエステル製繊維の袋(商品名: お茶パック)に約5mgの種子を入れ, 70%エタノールに約30秒浸漬した後, 1%次亜塩素酸ナトリウム溶液に10分間浸漬し, 滅菌水で3分間3回洗浄した。殺菌して得られた種子は50mLの培地の入ったプラントボックスに駒込ピペットを使って5mL程度の滅菌水で洗い流すことにより置床した。

培地は全体の濃度を1/4としたMS培地<sup>3)</sup>を用い, 特

\*本報告の一部は平成16年度園芸学会春季大会において発表した。 \*\*現徳島県立農林水産総合技術支援センター高度専門技術支援担当

記無き場合、ショ糖濃度 40g/L、寒天 8g/L を加え、培地は全て pH5.8 に調整後、湯煎により寒天を溶解したものを培養容器に分注してから 121℃、15 分の条件で高温高压の滅菌処理を行った。

環境条件として温度は 25℃ に設定し、培地面付近で照度約 5000lx、14 時間日長で管理した。

開花調査は肉眼にて確認を行い、蕾が見えた場合は蕾、花卉展開したものを開花中、開花が終わって萎んだものを開花済、蕾のままで開花せずに褐変枯死したものを未開花枯死とした。また、調査は 6 ～ 17 日の間隔で適宜実施した。

### 1 培養容器の種類

第 1 表に示すとおり、6 種類の培養容器を用いた。

バイアル瓶は蓋のゴムを外して使用した。試験管の蓋には半透明耐熱性プラスチックを用いた。UM サンプル瓶とプラントボックスは半透明耐熱性プラスチックの蓋を用い、孔を空けて通気性の膜（商品名：ミリシール）を貼り、換気を行った。

播種は 2003 年 7 月 16 日、播種から 8 日後に移植し、供試本数は各区 10 本とした。

### 2 移植時期

第 1 表 培養容器の種類、容積、培地量

| 培養容器の種類  | 容積 (mL) | 培地量 (mL) |
|----------|---------|----------|
| バイアル瓶 A  | 11      | 3        |
| バイアル瓶 B  | 20      | 5        |
| 試験管 A    | 45      | 10       |
| 試験管 B    | 60      | 20       |
| プラントボックス | 380     | 50       |
| UM サンプル瓶 | 940     | 100      |

移植時期の試験は培養容器としてバイアル瓶 A、バイアル瓶 B、試験管 A を用い、容積、培地量は 1 の試験に準じた。播種は 2003 年 9 月 23 日に行い、5、10、15、20、25 日後に移植した。供試本数は各区 10 本とした。

### 3 開花用培地濃度

開花用培地濃度の試験では培養容器としてバイアル瓶 A と試験管 A を用い、培地濃度は 1/4MS、1/2MS、MS とショ糖濃度 30、40、50 (g/L) を組み合わせて試験を行った。容積、培地量は 1 の試験に準じ、供試本数は各区 20 本とした。

2004 年 4 月 30 日に 1/4MS、ショ糖濃度 40g/L、pH5.8、寒天 8g/L の培地に播種し、21 日後の 5 月 21 日に移植した。播種から 48 日後の 6 月 18 日に滅菌した

蒸留水をバイアル瓶は各 0.5mL、試験管は各 2.0mL 添加した。

## 試験結果

### 1 培養容器の種類

培養容器の種類が生育と開花に及ぼす影響を第 2 表に示した。

生育は、培養容器が大きく培地量の多い区ほど草丈が高く、乾物量が多くなった。

開花状況は、播種から 64 日後に蕾を確認し、119 日後に多くの試験区で開花を確認した。141 日後にはどの培養容器でも開花済の個体が多くなった。培養容器が大きいほど小花総数が多くなる傾向が見られた。試験管 A よりも大きな培養容器では全ての株で開花が確認された。バイアル瓶 A、B では開花しない個体が見られ、小花総数も少なく、開花が不安定であった。

全ての区で開花を確認した 10 月 10 日に、それぞれの培養容器で開花したものを第 1 図に示した。

### 2 移植時期

移植時期が生育と開花に及ぼす影響を第 3 表に示した。

生育は、バイアル瓶 A、バイアル瓶 B では 20 日後、試験管 A では 25 日後に移植すると葉数が最も多くなり、生育旺盛であった。バイアル瓶では特に早期に移植した場合、培地が著しく減少して生育が停止した。

開花状況は、播種から 64 日後に蕾を確認し、118 日後に多くの試験区で開花を確認した。バイアル瓶 A では殆ど開花が見られず、バイアル瓶 B では 20 日後、試験管 A では 15 日後に移植すると小花総数が多く、開花株数も多くなった。バイアル瓶 A、B 共に全て開花する試験区はなかった。

### 3 開花用培地濃度

開花用培地濃度が生育と開花に及ぼす影響を第 4 表に示した。

バイアル瓶 A の茎葉生重は移植から 151 日後に MS でショ糖濃度 30g/L の区で最も高くなったが、これよりショ糖濃度を高くすると生育の低下が見られた。一方、1/2MS、1/4MS ではショ糖濃度の影響はほとんどなく、茎葉生重は 1/2MS では約 0.3g、1/4MS では約 0.2g であった。試験管 A の茎葉生重は MS でショ糖濃度 50g/L と高い場合には最も重くなり、1/2MS はいずれのショ糖濃度区でも約 0.9g、1/4MS はいずれのショ糖濃度区でも約 0.6g とほとんど差がなく、バイアル瓶 A とは逆

様々な培養容器でのエキザカムのインビトロにおける生育と開花

第2表 培養容器の種類が開花と生育に及ぼす影響

| 試 験 区    | 64 日後 | 119 日後 |    |    | 141 日後 |    |     |    | 生育状況 (141 日後) |        |         |          |          |
|----------|-------|--------|----|----|--------|----|-----|----|---------------|--------|---------|----------|----------|
|          | a     | a      | b  | c  | a      | b  | c   | d  | 小花総数          | 開花株(%) | 草丈 (cm) | 地下部 (mg) | 地上部 (mg) |
| バイアル瓶A   | 2     | 0      | 0  | 2  | 2      | 0  | 2   | 1  | 5             | 20     | 4.4     | 28       | 29       |
| バイアル瓶B   | 2     | 0      | 1  | 4  | 0      | 0  | 6   | 1  | 7             | 30     | 4.3     | 46       | 37       |
| 試験管A     | 1     | 9      | 8  | 11 | 6      | 4  | 21  | 1  | 32            | 100    | 4.8     | 110      | 62       |
| 試験管B     | 0     | 7      | 6  | 21 | 3      | 3  | 29  | 4  | 39            | 100    | 7.5     | 135      | 92       |
| プラントボックス | 10    | 25     | 56 | 56 | 39     | 39 | 107 | 3  | 188           | 100    | 7.3     | 444      | 305      |
| UMサンプル瓶  | 0     | 80     | 47 | 59 | 43     | 22 | 121 | 10 | 196           | 100    | 9.0     | 635      | 603      |

注) 表中の日数は播種からの経過日数を示す。

小花の状態 a: 蕾, b: 開花中, c: 開花済, d: 未開花枯死

小花総数は供試 10 個体当たりの総数。

地下部と地上部の重さは乾物重: 播種から 141 日後に採取, 70℃ 累計約 70 時間の乾燥処理。

第3表 培養容器と移植時期が生育と開花に及ぼす影響

| 試 験 区  |      | 生育状況（本葉展開数） |       |       | 64 日後 | 118 日後 |    |    |    |      |        |
|--------|------|-------------|-------|-------|-------|--------|----|----|----|------|--------|
| 容器の種類  | 移植時期 | 5 日後        | 25 日後 | 50 日後 | a     | a      | b  | c  | d  | 小花総数 | 開花株(%) |
| バイアル瓶A | 5    | 発芽          | 1.8   | 3.8   | 0     | 0      | 0  | 0  | 0  | 0    | 0      |
|        | 10   | —           | 2.0   | 4.2   | 0     | 0      | 0  | 0  | 1  | 1    | 0      |
|        | 15   | —           | 3.8   | 6.6   | 0     | 0      | 0  | 0  | 1  | 1    | 0      |
|        | 20   | —           | 5.4   | 11.8  | 2     | 0      | 0  | 1  | 5  | 6    | 10     |
|        | 25   | —           | 3.8   | 8.6   | 0     | 0      | 1  | 0  | 0  | 1    | 10     |
|        | 30   | —           | —     | 4.8   | 0     | 0      | 0  | 0  | 0  | 0    | 0      |
| バイアル瓶B | 5    | 発芽          | 2.0   | 2.8   | 0     | 0      | 0  | 0  | 0  | 0    | 0      |
|        | 10   | —           | 2.0   | 4.0   | 0     | 0      | 0  | 0  | 0  | 0    | 0      |
|        | 15   | —           | 4.0   | 6.0   | 0     | 0      | 0  | 0  | 1  | 1    | 0      |
|        | 20   | —           | 4.8   | 13.2  | 1     | 1      | 0  | 6  | 1  | 8    | 60     |
|        | 25   | —           | 3.6   | 6.2   | 0     | 0      | 2  | 0  | 3  | 5    | 10     |
|        | 30   | —           | —     | 5.2   | 0     | 3      | 4  | 0  | 0  | 7    | 40     |
| 試験管A   | 5    | 発芽          | 4.0   | 8.2   | 2     | 3      | 10 | 14 | 9  | 36   | 100    |
|        | 10   | —           | 4.0   | 11.4  | 6     | 1      | 12 | 12 | 11 | 36   | 90     |
|        | 15   | —           | 5.2   | 13.0  | 10    | 2      | 9  | 19 | 13 | 43   | 100    |
|        | 20   | —           | 4.6   | 16.4  | 1     | 2      | 14 | 2  | 11 | 29   | 100    |
|        | 25   | —           | 4.0   | 17.4  | 0     | 3      | 14 | 0  | 8  | 25   | 80     |
|        | 30   | —           | —     | 11.2  | 0     | 3      | 16 | 6  | 1  | 26   | 90     |

注) 表中の日数は播種からの経過日数を示す。

小花の状態 a: 蕾, b: 開花中, c: 開花済, d: 未開花枯死

小花総数は供試 10 個体当たりの総数。

第4表 開花用培地濃度が開花と生育に及ぼす影響

| 容器の種類  | 処理内容  |             | 70 日後 | 120 日後 |    |    | 151 日後 |    |    |   | 小花総数 | 開花株 | 茎葉生重  |
|--------|-------|-------------|-------|--------|----|----|--------|----|----|---|------|-----|-------|
|        | 培地濃度  | ショ糖濃度 (g/L) | a     | a      | b  | c  | a      | b  | c  | d |      | (%) | (g)   |
| バイアル瓶A | 1/4MS | 30          | 2     | 13     | 10 | 1  | 5      | 5  | 12 | 2 | 24   | 75  | 0.214 |
|        | 1/4MS | 40          | 0     | 10     | 14 | 0  | 5      | 2  | 16 | 2 | 25   | 80  | 0.203 |
|        | 1/4MS | 50          | 3     | 5      | 18 | 2  | 7      | 8  | 19 | 0 | 34   | 100 | 0.190 |
|        | 1/2MS | 30          | 0     | 2      | 17 | 0  | 4      | 4  | 17 | 0 | 28   | 95  | 0.298 |
|        | 1/2MS | 40          | 1     | 5      | 23 | 2  | 5      | 6  | 25 | 1 | 37   | 95  | 0.349 |
|        | 1/2MS | 50          | 2     | 12     | 25 | 1  | 4      | 9  | 31 | 0 | 44   | 100 | 0.323 |
|        | MS    | 30          | 0     | 5      | 15 | 0  | 3      | 10 | 17 | 0 | 30   | 90  | 0.371 |
|        | MS    | 40          | 0     | 11     | 10 | 1  | 4      | 7  | 16 | 0 | 27   | 85  | 0.237 |
|        | MS    | 50          | 0     | 5      | 4  | 1  | 7      | 3  | 7  | 0 | 17   | 40  | 0.129 |
| 試験管A   | 1/4MS | 30          | 0     | 13     | 9  | 0  | 6      | 5  | 13 | 0 | 24   | 60  | 0.608 |
|        | 1/4MS | 40          | 1     | 13     | 16 | 5  | 7      | 6  | 25 | 1 | 38   | 90  | 0.628 |
|        | 1/4MS | 50          | 7     | 11     | 23 | 14 | 4      | 13 | 39 | 0 | 56   | 95  | 0.624 |
|        | 1/2MS | 30          | 0     | 12     | 13 | 2  | 15     | 7  | 26 | 0 | 48   | 80  | 0.925 |
|        | 1/2MS | 40          | 0     | 12     | 15 | 18 | 8      | 3  | 40 | 1 | 51   | 100 | 0.960 |
|        | 1/2MS | 50          | 4     | 22     | 23 | 23 | 7      | 6  | 58 | 4 | 75   | 90  | 0.951 |
|        | MS    | 30          | 0     | 10     | 8  | 2  | 13     | 9  | 18 | 0 | 40   | 60  | 0.698 |
|        | MS    | 40          | 0     | 12     | 6  | 1  | 24     | 17 | 15 | 0 | 56   | 85  | 0.623 |
|        | MS    | 50          | 0     | 25     | 16 | 3  | 21     | 16 | 43 | 0 | 80   | 95  | 1.075 |

注) 表中の日数は播種からの経過日数を示す。

小花の状態 a: 蕾, b: 開花中, c: 開花済, d: 未開花枯死

小花総数は供試 20 個体当たりの総数。

茎葉生重は播種から 151 日後の 9/28 に採取して測定した平均値。



第1図 培養容器の種類毎の開花状況 (2003年10月10日)  
左からバイアル瓶A, バイアル瓶B, 試験管A, 試験管B,  
プラントボックス, UMサンプル瓶

の傾向を示した。

開花状況は、播種から70日後に蕾を確認し、120日後に多くの試験区で開花を確認した。151日後にはどの試験区でも開花済の個体が多くなった。試験管Aでは1/2MS ショ糖濃度 50g/L の区で開花した小花総数が多く、開花株の割合も高かった。また、バイアル瓶Aも1/2MS ショ糖濃度 50g/L の区で最も小花総数が多かったが、生育が旺盛となり、培養容器の中で植物体が容器に接触していた。これに対し、1/4MS ショ糖濃度 50g/L では小花総数はやや少ないものの開花株の割合が高く、生育も容器内に収まっていた。

## 考 察

### 1 培養容器の種類

培養容器は容積が大きいほど生育が良く、開花については試験管の容積 45mL、培地量 10mL 以上のものでは全て開花した。

鈴木ら<sup>4),5)</sup>は蒸留水とジベレリンの添加について試験管において検討しているが、試験目的は培地量の減少を補うことよりも発蕾促進のためであった。しかし、今回の試験から容積の小さいバイアル瓶では生育途中で培地が乾燥して減少し、そのことにより植物体が培地中の養水分を利用できなくなると考えられた。そのため、バイアル瓶のように小さな培養容器を用いてエキザカムを生育・開花させるためには生育途中で水を補給することが不可欠であると考えられた。

### 2 移植時期

これまで、雨木ら<sup>1)</sup>はエキザカムを直径 40mm × 長さ 130mm の平底試験管で培地量 40mL のところへ直接無菌播種して使用する場合での試験を行っており、移植の

試験データは無かった。

移植時期はバイアル瓶A, バイアル瓶Bで20日後、試験管Aでは25日後に移植すると生育が良かった。しかし、開花はバイアル瓶A, バイアル瓶Bで20日後、試験管Aでは15日後に移植すると小花総数が多くなり、小さい培養容器では移植時の植物体をある程度大きくしておく必要があると考えられた。

今回の試験により、原因は不明であるが、発芽直後に移植するのは植物体が十分に生育していないことから、生育・開花共に悪影響があったと考えられた。そのため、移植には植物体にある程度の大きさが必要と考えられた。

### 3 開花用培地濃度

培地濃度試験は雨木ら<sup>1)</sup>がショ糖濃度 20, 40, 80g/L について換気条件についても併せて検討しており、80g/L と高濃度では草丈が小さくなり、良い結果は得られていなかった。

今回、筆者らの試験と雨木ら<sup>1)</sup>の試験では換気等異なる条件が多いので単純な比較は出来ない。しかし、ショ糖濃度 50g/L とこれまで通常使われてきた 40g/L より若干高濃度にすることにより、容量の小さい試験管とバイアル瓶で開花が安定することを明らかにした。

また、培養容器の大きさおよび移植時期の試験では移植後滅菌水の添加は行わなかったが、この試験では移植から28日後に滅菌水の添加を行った。バイアル瓶では移植から約1ヵ月後に培地の減少が著しいことが観察されていたことから、滅菌水の添加により生育と開花を促したと考えられる。また、そのことが移植時期の試験と比較して151日後においても多くの株で開花中の状態にあったことにつながったと考えられる。

バイアル瓶A, 試験管A共に1/2MS, ショ糖濃度 50g/L の区で開花した小花総数が多く、開花株の割合も高かった。しかし、バイアル瓶Aの1/2MSでは全てのショ糖濃度区で植物体が培養容器の中で植物体が接触しており、観賞には適していなかった。また、試験管Aでは151日後に1/2MS, ショ糖濃度 50g/L の小花はほとんど開花済みの状態だったが、1/4MS, ショ糖濃度 50g/L の小花は開花中のものが多く、試験管Aでも1/4MS, ショ糖濃度 50g/L が長期間の観賞に適していると考えられた。

今回の試験により、培養容器では容積 11mL のバイアル瓶から容積 940mL のUMサンプル瓶までの大きさでエキザカムが安定して開花する方法が確立したと考える。

具体的には、1/4MS でショ糖濃度 40g/L の培地に播



## 様々な培養容器でのエキザカムのインビトロにおける生育と開花

種して得られた無菌植物を20～25日後に1/4MSでショ糖濃度50g/Lの培地に移植して約1ヵ月後に滅菌水を添加すると1ヵ月で開花が始まり、1～2ヵ月の花の観賞期間を経て開花が終了する。このことは雨木ら<sup>1)</sup>が平底試験管に移植せずに播種後約60日で発蕾、約80日で開花すると報告していることとほぼ一致した。無菌播種した植物を移植して小さな培養容器で管理しても同じ過程を経ることが確認された。

しかし、今回の試験で使用した品種はエキザカムの‘ミゼットブルー’について検討して得られた結果であり、これ以外の植物、品種については検討できていない。今後、様々な植物・品種についても検討していきたいと考えている。

## 謝 辞

本試験を行うに当たり、殺菌方法、培地、品種選定等について東京農業大学の雨木若慶博士から様々な御助言を頂き、円滑な試験遂行が可能となった。ここに謝意を表する。

## 摘 要

エキザカムをインビトロフラワーとして利用するため、無菌播種から得られた植物体を用いて移植した場合の培養容器の種類、移植時期、開花用培地濃度についての検討を行い適条件を選定した。

- 1 培養容器の種類はバイアル瓶2種類、試験管2種類、プラントボックス、UMサンプル瓶、6種類の培養容器（容積11～940mL）を使って培地量3～100mLで検討した。容積・培地量が小さいものほど開花が不安定であった。

- 2 移植時期は容積バイアル瓶2種類、試験管の3種類の培養容器（容積11, 20, 45mL）で播種から5～25日後に実施し、播種後20日に移植するのが開花に適していた。

- 3 開花用培地濃度はバイアル瓶と試験管の2種類の培養容器（容積11, 45mL）で1/4, 1/2, 1MSとショ糖濃度30, 40, 50g/Lを組合せて試験を行い、1/4MSでショ糖濃度50g/Lの組合せが開花および観賞に適していた。

## 引用文献

- 1) 雨木若慶・吉村奈岐・樋口春三(1998): *Exacum affine* のインビトロ開花に及ぼす換気回数、糖濃度の影響. 園学雑, 67 (別2): 425.
- 2) \_\_\_\_\_・黒釜明美(2004): インビトロにおけるエキザカムの生長・開花に及ぼす培地添加量の影響. 園学雑, 73 (別1): 158.
- 3) MURASHIGE, T and F. SKOOG (1962): A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant*, 15: 473～497.
- 4) 鈴木絵美・雨木若慶・渡邊博之(2003): インビトロにおけるエキザカムの生長・開花に及ぼすGA<sub>3</sub>とその処理液量の影響. 園学雑, 72 (別2): 221.
- 5) \_\_\_\_\_・\_\_\_\_\_・\_\_\_\_\_ (2004): インビトロにおけるエキザカムの生長・開花に及ぼすGA<sub>3</sub>とその処理時期の影響. 園学雑, 73 (別1): 157.
- 6) 梁順子・雨木若慶・樋口春三(1999): *Kalanchoe blossfeldiana* Poellniz. のin vitro開花に及ぼす品種および培養環境の影響. 園学雑, 68(6): 1170-1177.
- 7) \_\_\_\_\_・\_\_\_\_\_・\_\_\_\_\_ (2000): *Kalanchoe blossfeldiana* Poellniz. のin vitroとin vivoにおける光周的花成反応の比較. 園学雑, 69(5): 635-640.