

植物無菌培養培地の栄養分の減少について -暗条件下でのBrix%の変動-

大阪府立園芸高等学校バイオ研究部 2年勝本美和

[はじめに] 2019年に卒業したバイオ研究部の林は、植物の無菌培養培地に添加されるショ糖は、栄養素としてではなく浸透圧の調節のために添加されていることをケイトウを用いた実験で証明したとしている。しかし、培地に高濃度のショ糖を加えるユリの鱗片培養は暗黒条件下で行われており、光合成による糖分の生成は期待できない。そこで、実際に糖を含む培地中の栄養分の減少を屈折糖度計を用いたBrixにより計測し、糖分が植物体にどのように吸収されるかを検証した。

今回は、光合成が期待できない暗条件下でササユリ、サボテン、ケイトウの培養培地中の栄養分の減少の計測を試みたのでこれを報告する。

[材料]

ササユリ：バイオ研究部で作出した系統間交雑雑種「f315」と「f314」の無菌培養中の鱗茎を使用した。

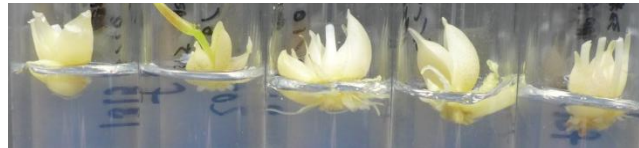


図1 (左) 実験に用いた無菌培養中のササユリの鱗茎

サボテン：品種「大型月世界」の無菌の植物体を使用した。

ケイトウ：タキイ種苗株式会社販売のけいとう-キャスル混合の種子を使用した。

[方法]

実験1：ササユリの培地栄養分の減少と鱗茎の成長

培地には、MS+ナフタレン酢酸 0.1mg/Lをゼランガム 0.2%で固化したものを基本とし、サッカロースを5%で添加したものと無添加のものを設けた。培養は25°C、暗黒条件下で行った。

培地に鱗片を植え付け後、10週までクリーベンチ内で培地の一部を無菌的に取り出し、屈折糖度計（昭和工作機製）でBrix%の計測を行なった。また鱗茎の大きさは試験管の外側から定規を用い横幅を計測した。

実験2：サボテン培地栄養分の減少と植物体の形成

培地には、MS+ベンジルアデニン 1 mg/L, ナフタレン酢酸 1mg/10mL 添加+3%スクロースをゼランガム 0.2%で固化したものをを使用した。培養は、実験1と同様に行なった。

培地への植え付けは、円筒形のサボテンを輪切りにしたものと同様にこれを半分に切ったもの（半月切り）を植え付けた。

植え付け後は8週まで、Brix%の計測と植物体の形成を観察記録した。

実験3：ケイトウ培養培地の栄養分の減少。Brix%測定

ケイトウの種子を殺菌液（5.0%次亜塩素酸ナトリウム 20 mLを滅菌水 60 mL）に加え攪拌子で10分間殺菌を行い、種子を寒天培地に置床し発芽させた。得られた無菌の実生を、ホルモンフリーのMS+3%サッカロース培地に置床し培養を行った。データは実験2と同様に採取した。

[結果]

実験1：ショ糖を5%で添加した培地のBrix%は、培養6週目以降明らかな減少が認められた。一方、ショ糖無添加の培地ではBrix%の変化は検出できなかった（図2）。

培養期間中の鱗茎の肥大は、ショ糖添加区、無添加区とも培養開始、4、5週目までは認められたが、それ以降の成長は抑制された（図3）。

培養期間中の、小球の経時的な変化の様子を図4に示した。

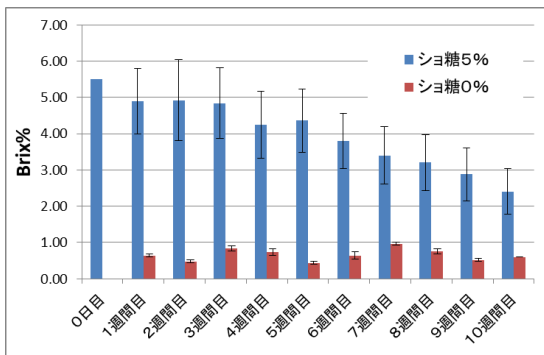


図2. ササユリ鱗片培養における培地中の栄養分の減少
図中のバーは、標準誤差の範囲を示す

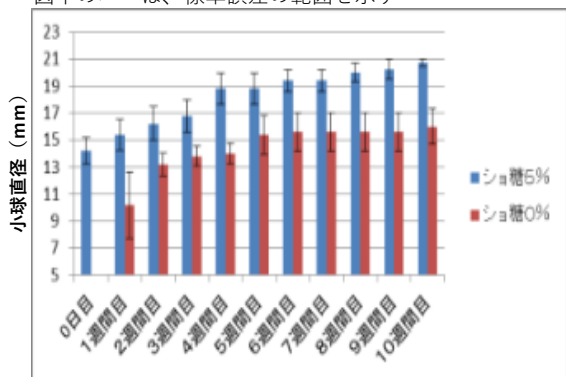


図3. ササユリ鱗片培養における小球（鱗茎）の成長
図中のバーは、標準誤差の範囲を示す

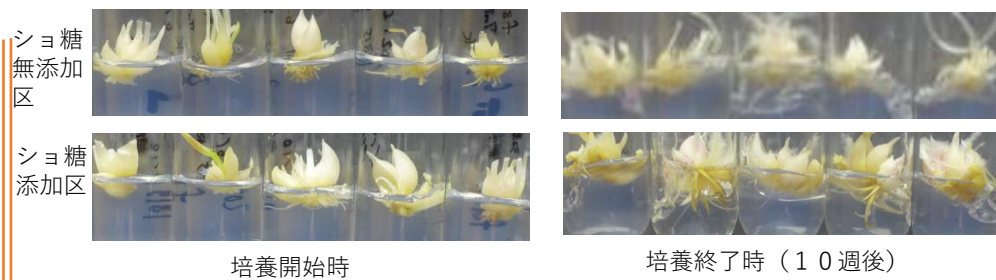


図4. ササユリの10週間の鱗片培養における小球（鱗茎）の経時的変化

実験2

サボテン培養培地中のBrix%測定の変化を図5に示した。全体に減少傾向であるが、誤差範囲が大きく、変化の傾向は定かではなかった。植え付け切れ調整の影響はなかった。

植付け直後と培養8週目の写真を図6に示した。輪切り区は、維管束にそって整ったサボテンが多数形成されたが、半月切りで形成されたサボテンは異状であった。

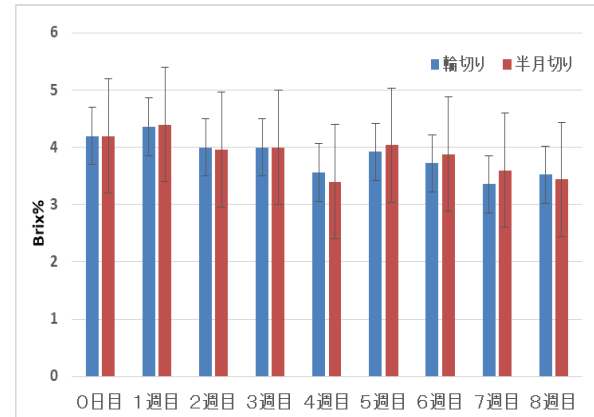


図5. サボテン培養における培地中の栄養分の変化

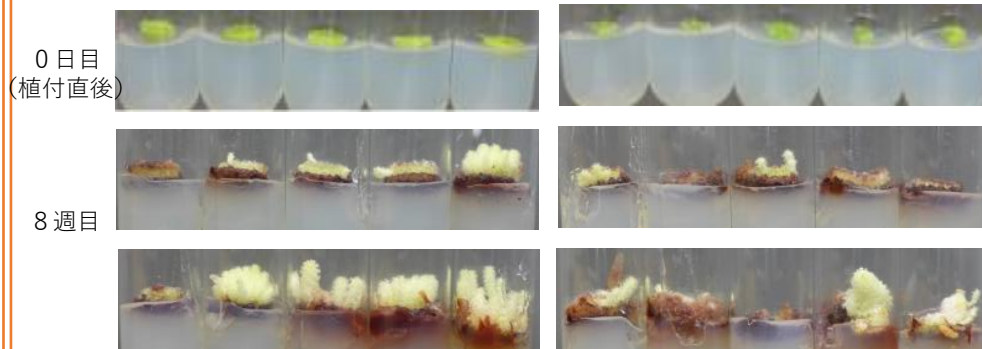


図6. サボテンの植付切片調整時における‘輪切り’区と‘半月切り’区の調整直後の様子
と培養8週後の植物体形成の様子

実験3

ケイトウの培養培地中のBrix%の変化を図7に示した。明瞭な経時的変化はなかった。植物体は徒長しただけで、明らかな成長は認められなかった（図8）。

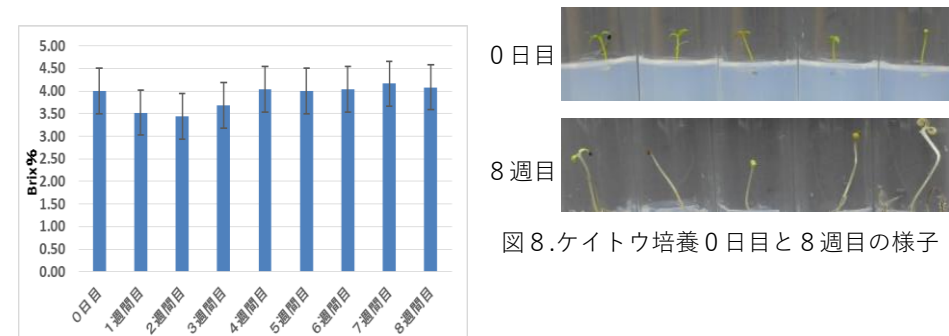


図7. ケイトウ培養培地中の栄養分の減少

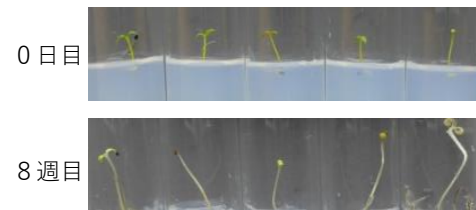


図8. ケイトウ培養0日目と8週目の様子

[まとめ]

ササユリの培養では、ショ糖を添加した培地で明らかな養分の減少が認められた。しかし、添加しなかった培地では、植物体の成長はあったが、養分の減少を検出できなかった。

サボテン培養ではサボテン形成の良否に関わらず、明瞭な養分の減少傾向は検出できなかった。

ケイトウは、暗条件下では生育できず、培地養分の変化も検出できなかった。

今後、明条件下での計測を行い、培地糖分の消費と植物体成長の関係性を明らかにしたい。

[参考文献]

花専科, 育種と栽培, ユリ, 発刊日1993年9月30日, 編著者, 国重正明
発行所, 株式会社誠文堂新光社