

無菌培養における培地糖分を栄養貯蔵性のある植物は吸収している

大阪府立園芸高等学校バイオ研究部 3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により計測した。

[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。
サボテン：品種「強刺黄彩玉」および「大型月世界」の無菌培養中の植物体を使用した。
ケイトウ：タキイ種苗(株)販売「けいとう-キャスル混合」種子を用いた。

実験1：ササユリの培地栄養分の減少と小球の成長

[方法] 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、明条件と暗条件で行った。

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(昭和工機製)でBrix%を計測した。

[結果] 明暗いずれの条件においても、ショ糖を5%で添加した培地のBrix%は、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%はほとんど検出できなかった(図1, 2)。

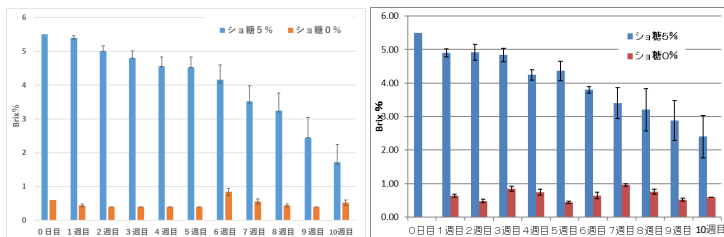


図1. 明条件でのササユリ鱗片培養における培地中の栄養分の減少、図中のバーは、標準誤差の範囲を示す

図2. 暗条件での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

小球の成長について、明暗いずれの条件においても、ショ糖を5%で添加した培地の小球は、葉緑体の形成について明確に違うものの、大きさそのものの変化に明らかな違いはなかった(図3)。

暗条件において、ショ糖無添加区は、根の伸長はあったが、小球の成長はなかった。(図4)。

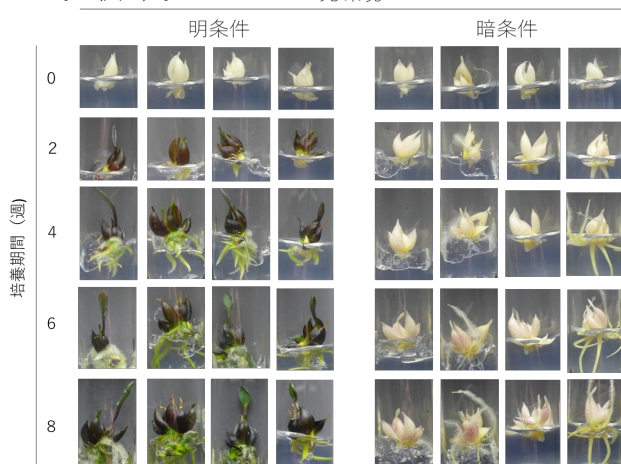


図3. ショ糖5%添加培地での無菌培養におけるササユリ小球(鱗茎)の明暗各条件での経時的変化

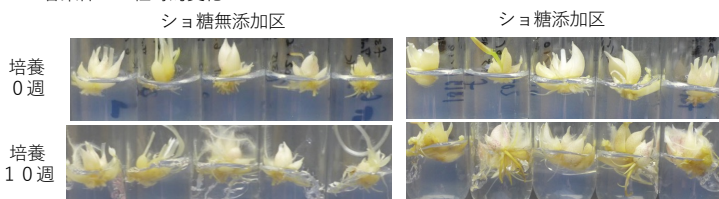


図4. 暗条件におけるショ糖添加の有無によるササユリ小球(鱗片)の成長の違い

実験2：ケイトウ培養培地の栄養分の減少と形態形成

[方法] ケイトウの種子を殺菌液(5.0%次亜塩素酸ナトリウム20mLを滅菌水60mL)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明暗条件で培養を行った。

[結果] 培地中の糖分について明暗いずれの条件でも明らかな減少はなかった(図5)。形態形成は、明条件でのみ進行し、暗条件での子葉展開以降の成長は認められなかった(図6)。

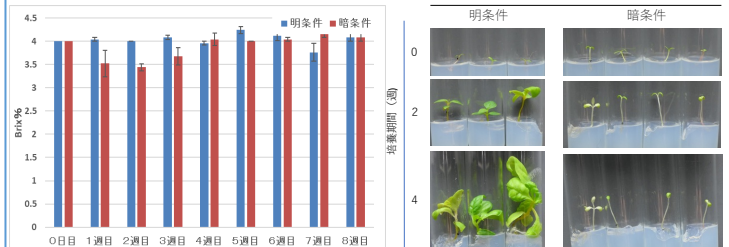


図5. 明暗各条件でのケイトウ培養培地中の栄養分の変化

図6. 明暗各条件でのケイトウの形態形成の違い

実験3：サボテン培地栄養分の減少と植物体の形成

[方法] 培地には、MS+ベンジルアデニン1mg/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。実験は2回行った。

1回目は品種「大型月世界」を用い、暗黒条件下での生育の可否を確かめるとともに切片調整方法について検討した。2回目は、品種「強刺黄彩玉」を用い、明暗各条件での成長を比較した。

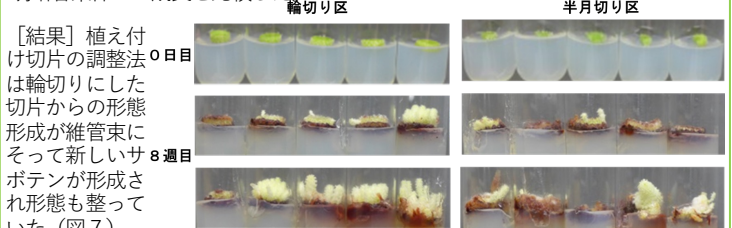


図7. サボテン「大型月世界」の植付切片調整時における「輪切り」区と「半月切り」区の調整直後の様子と暗条件での培養8週後の植物体形成の様子

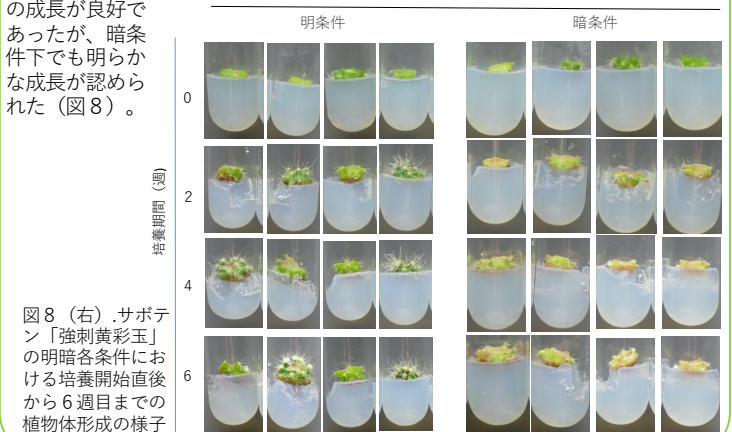


図8(右). サボテン「強刺黄彩玉」の明暗各条件における培養開始直後から6週目までの植物体形成の様子

[まとめ]

○ケイトウは、光がない環境では、子葉の展開以降の成長が全く進まず、林が指摘したように培地中のショ糖を自らの成長に使用している形跡が認められなかった。ケイトウの形態形成には、光合成による糖分の生成が必須であるといえる。

○暗条件が培養環境とされているササユリの小球は、培地中のショ糖を吸収して成長していることが確かめられた。

○明条件が培養環境とされているサボテンもササユリと同様に暗条件下でも、培地中のショ糖を吸収、利用して成長することが確かめられた。

[参考文献]

林知輝(2018)大阪府立園芸高等学校バイオサイエンス科卒業論文
浅尾浩史ら(1979)奈良県農業試験場研究報告10・38-45. 他