

研究ノート

培養中におけるカラスビシャク植物個体の生長の経時変化について

進士 宏・岡田 稔

株式会社ツムラ

(〒 300-11 茨城県稲敷郡阿見町吉原 3586)

1. 摘 要

培養中のカラスビシャク植物個体の生長を経時的に調べた。

塊状体（塊茎様の組織塊）を、IAA 0.25 mg/l, BA 0.5 mg/l 添加の MS 培地で液体振とう培養し、培養 13 日目、27 日目、41 日目、54 日目に、各器官の乾物重を測定し、生長解析のパラメーターと各器官への乾物分配率を算出した。

相対生長率は培養開始時に最大で、その後、次第に低下し、生長速度は培養期間〔13-27 日目〕で最大値を示した。

各器官への乾物分配率から培養固体の生長の様相をみると、培養前半期で主に葉身と葉柄が生長し、後半期で主に塊状体が生長する経時的パターンを示した。

一定期間に得られる塊状体乾物重と塊状体を得るためのコストから評価すると、最適培養期間は 41 日間であった。

2. 緒 言

半夏は、カラスビシャク (*Pinellia ternata* Breitenbach) のコルク層を除いた塊茎で、健胃消化薬、鎮吐薬、鎮咳去痰薬とみなされる処方およびその他の処方に、比較的高頻度で配合されている。

筆者ら¹⁾は、組織培養によるカラスビシャクの種苗用塊茎の増殖法における、培地成分の影響について検討している。組織培養によるカラスビシャクの増殖法については、Shoyama ら^{2),3)}、Hatano ら⁴⁾および Tsay ら⁵⁾の報告があるが、いずれも葉や根を再分化させる段階は固形培地で培養し、その後、土壌に順化させている。筆者らの方法は、(最初の段階を除いた)再分化を含めた全段階を液体培養の 1 段階でおこない、土壌順化を経ずに、畑に植え付けるための種苗用塊茎を得るものである。

本研究では、上述の培養法における、カラスビシャク

植物個体の生長の様相を経時的に調査した。筆者らは培養個体の生長に及ぼす培地成分の影響に関する研究¹⁾を進めているが、経時的な生長の様相を把握することは、カラスビシャクについての様々な培養研究の基礎資料として重要であり、最適培養期間を知るためにも必要である。また、培養個体の生長を経時的に追った研究例は少なく、この観点からも意義がある。

3. 実験材料および方法

当社、生物・化学研究所で栽培を続けてきたカラスビシャク植物個体を材料として用いた。塊茎切片（約 8 mm³）を、IAA 0.25 mg/l, BA 0.5 mg/l, ショ糖 3%, ゲルライト 0.2% 添加の Murashige and Skoog 培地⁶⁾で培養し、植物体を再生させ、葉身、葉柄と根を除去して塊状体を得た。この塊状体をゲルライトを除いた同条件の液体培地で数代培養した。得た塊状体をフラスコ当たり 8.19 g~8.45 g（塊状体の乾物率：乾物重/生体重は 0.107）、計 20 フラスコ接種した。培地は上と同じ条件の液体培地で、培養器は 500 ml 広口三角フラスコを用い、フラスコ当たり 200 ml の培地を分注した。振とう速度は 60 rpm、光条件は明/暗：16 hr/8 hr（明期：2300 lux）とした。

培養開始後、13 日目、27 日目、41 日目、54 日目にそれぞれ 5 フラスコを調査した。調査項目は、塊状体の生重、乾物重、再分化葉数、および葉身、葉柄、根の乾物重であり、培地中のしょ糖残存量もレゾルシノール塩酸法 (Roe 法)⁷⁾により測定した。これらのデータより、PGR, RGR, 各器官への乾物分配率、塊状体の乾物率および培養個体によるしょ糖吸収量を算出した。

培養個体の生長の様相は、個体全体の生長量と各器官の生長量で評価した。個体全体の生長量をあらわすために、1 つは RGR⁸⁾（相対生長率）を用い、もう 1 つとして、Plant Growth Rate (PGR) というパラメーターを

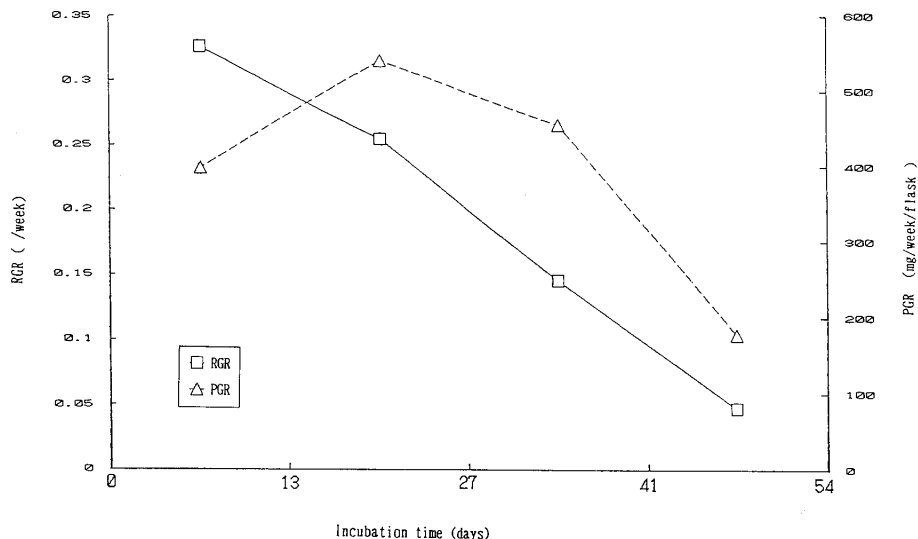


Fig. 1 Time Course of Plant Growth Rate(PGR) and RGR during Liquid Culture of *Pinellia ternata*

考え出した。すなわち、培養開始後日数 t_1 と t_2 におけるフラスコ内の植物個体の乾物重をそれぞれ W_1 と W_2 とした場合、培養期間 $[t_1-t_2]$ での RGR と PGR は、

$$RGR = (1_n(W_2/W_1)) / ((t_2 - t_1) / 7)$$

$$PGR = (W_2 - W_1) / ((t_2 - t_1) / 7)$$

である。PGR は、1 週間の培養期間での植物個体のフラスコ当たりの乾物重増加である。

各器官の生長量は、各器官の乾物重であらわした。

また、各器官への乾物分配率によっても個体の生長の様相をとらえた。各器官への乾物分配率の求め方は、例えば、葉身への乾物分配率は次のとおりである。培養開始後 t_1 日後の葉身の乾物重を L_1 、個体全乾物重を W_1 とし、 t_2 日目の葉身の乾物重を L_2 、個体全乾物量を W_2 とすると、培養期間 $[t_1-t_2]$ での葉身への乾物分配率 R_{1-2} は

$$R_{1-2} = (L_2 - L_1) / (W_2 - W_1)$$

とした。他の器官への乾物分配率も同様に算出する。

培養個体によるしょ糖吸収量は、培養開始時のフラスコへのしょ糖投与量 (6 g) から、調査時のフラスコ当たりの培地残存しょ糖量を差し引くことによって求めた。

以下の結果はすべてフラスコ当たりの値で示した。

4. 結 果

RGR は、培養開始時に最も高く、培養日数を経るにしたがって低下した。PGR は、培養期間 (13-27 日目) で最大値を示し、培養期間 (41-54 日目) で急激に低下した (Fig. 1)。

各器官の乾物重の経時変化については、葉身と葉柄は

培養 27 日目までは増加し、以後は増加が鈍るか減少した。塊状体と根は培養 54 日目まで増加し続けた (Fig. 2)。

個体全乾物重の推移は、培養期間 (13-41 日目) で傾きが急になり (41-54 日目) で鈍った (傾きは PGR に相当する) (Fig. 2)。

各器官への乾物分配率については、葉身への分配率と葉柄への分配率は培養開始～27 日目まで高い分配率を維持したが、以後は次第に低下し、培養期間 (41-54 日目) ではマイナスの分配率となった。塊状体への分配率は培養開始～27 日目までは (葉身と葉柄) への分配率と同じかそれ以下であったが、培養 27 日目以降高くなり、培養期間 (27-41 日目) で 71%、(41-54 日目) で 118% となった。根への分配率は培養期間中大きな変化はなかった (Fig. 3)。

再分化葉数は、培養全期間を通じて増加し続けた。最終的な再分化葉数の約 60% は培養 27 日目以降に再分化したのに対し、上述のように、葉身と葉柄の乾物重は培養 27 日目以降増加が鈍るか低下した。したがって、培養 27 日目以降は、乾物重に寄与するような大きな葉は再分化していないことになる。

個体による培地中しょ糖の吸収は、培養日数を経るにしたがって吸収速度が低下する傾向があったが、培養 54 日目まで吸収を続け、最終的には投与量の 83% が吸収された。また、最初の 13 日間で、最終的に吸収されるしょ糖量の 45% が吸収された。

連続的な培養のサイクルを考える際、塊状体生産にとって最も効率のよい (一定期間に最も多くの塊状体が得

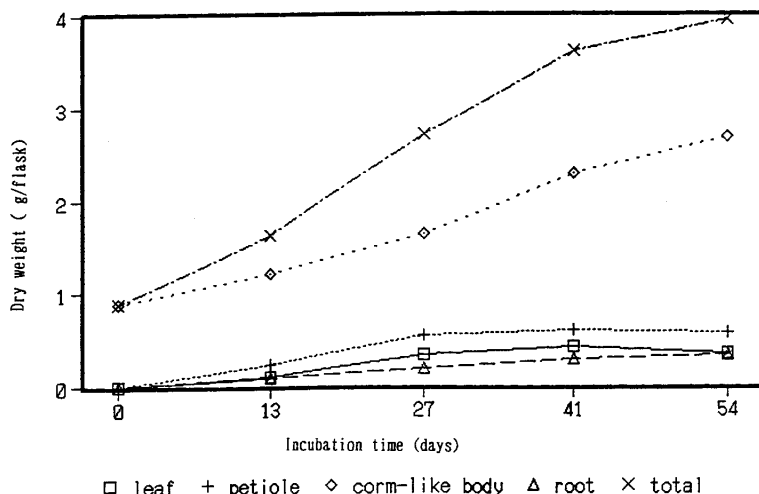


Fig. 2 Time Course of Dry Weights of Organs during Liquid Culture of *Pinellia ternata*

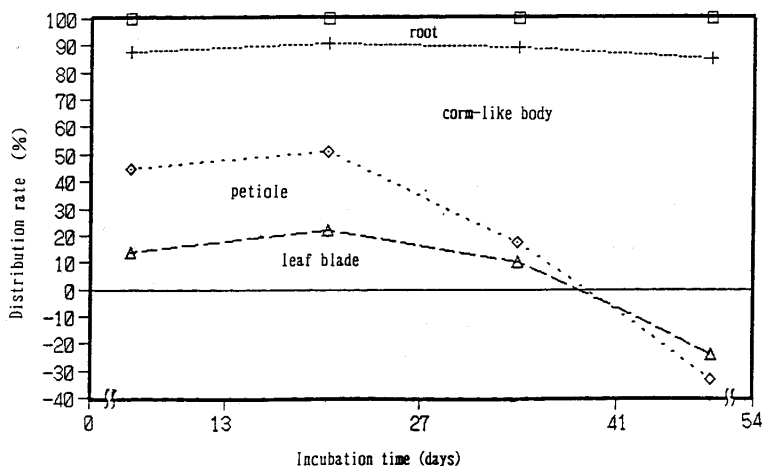


Fig. 3 Time Course of Dry Matter Distribution Rates in Organs during Liquid Culture of *Pinellia ternata*
The distance between marks on the axis of ordinate indicates distribution rate.

For example, distribution rate in petiole is $(P_2 - P_1) / (W_2 - W_1)$, When on incubation time t_1 and t_2 dry weight of whole plant are W_1 and W_2 and dry weight of petiole are P_1 and P_2 respectively.

られる) 培養日数を求めるために、各培養日数における塊状体乾物重の(培養開始時からの) RGR を算出した。

RGR は培養日数が 13 日間、27 日間、41 日間では差がなく、54 日間で低かった。

塊状体の乾物率は、培養 13 日目、27 日目、41 日目、54 日目それぞれで、0.112、0.117、0.115、0.121 であり、54 日目が最も高かったが大きな差ではなかった。

5. 考 察

培養期間 [0-13 日目] で、最終的に吸収されるしょ糖量の 45% が吸収されるにもかかわらず、PGR はそれ以後の培養期間 [13-41 日目] のほうが高かった。これ

は、培養初期には量的生長よりも、器官分化などの質的生長にしょ糖が消費されたことによると思われる。理由のもう一つの可能性として、培養 13 日目以降は光合成による乾物生産がおこなわれたと考えることもできる。しかし、培養 13 日目の時点で葉身の乾物重は、最終的な葉身の乾物重の約 30% しかなく、最も高い PGR を記録した培養期間 [13-27 日目] の乾物生産に、出葉、展開中の葉身による光合成が寄与したとは考えにくい。

各器官への乾物分配率から培養個体の生長の様相をとらえると、培養前半期では葉身と葉柄に炭水化物が優先的に送られ、葉身と葉柄の生長を完成させた後に、培養後半期で炭水化物が塊状体に送られた。この生長の様相

は、培養個体に限らず、自然下でのカラスビシャク個体の生長の様相を表していると推察される。

最適培養期間について考えると、13~41 日間では塊状体の RGR に差はなかったが、継代間隔が長いほど、塊状体を得るためのコストを低減できることから、41 日間が最適であると思われる。

(1991 年 5 月 16 日受理)

文 献

1) 進士 宏, 岡田 稔, 1990, 生薬学雑誌, **44**: 304-310.

- 2) Y. Shoyama, K. Hatano, I. Nishioka, 1983. *Planta Med.*, **47**: 103-105.
- 3) Y. Shoyama, K. Hatano, I. Nishioka, 1983. *Planta Med.*, **49**: 14-16.
- 4) K. Hatano, Y. Shoyama, I. Nishioka, 1986, 生薬学雑誌, **40**: 188-192.
- 5) H. S. Tsay, T. G. Gau, C. C. Chen, 1989. *Plant Cell Reports*, **8**: 450-454.
- 6) T. Murashige, F. Skoog, 1962. *Physiol. Plant.*, **15**: 473-497.
- 7) J. H. Roe, *J. Biol. Chem.*, 1934. **107**: 15-22.
- 8) 江原 薫, 1970, 栽培学大要, 46-52, 養賢堂.

Summary

Time Course of the Growth of Cultured *Pinellia ternata* Plant

Hiroshi SHINJI, Minoru OKADA

Tsumura & Co. Yoshihara 3586, Ami-machi, Inashiki-gun Ibaraki, 300-11 Japan

Time course of the growth of cultured *Pinellia ternata* plants was investigated.

Corm-like bodies were cultured in a MS liquid medium containing 0.25 mg/l IAA and 0.5 mg/l BA by shaking. On the 13th, 27th, 41th, and 54th day, the dry weight of each organ-corm-like body, leaf blade, petiole, root-was measured. From these data, growth parameters and distribution rate of dry matter in each organ were calculated.

Relative growth rate was at its maximum at the beginning of culture and then decreased gradually. The growth rate in the dry matter of the whole plant was at its maximum between the 13th-27th day.

The time course of the distribution rate of dry matter in each organ indicates that during the first half of the culture period, mainly leaf blades and petioles grow and during the latter half, mainly corm-like bodies grow.

Judging from the weight of corm-like bodies obtained for a fixed period and the cost in gaining corm-like bodies, the best culture period was 41 days.