

## 技術ノート

## 細片濾紙を支持材とした培地の効果

加納一三\*

植物組織培養において一般的に用いられる寒天は培養物の支持材として有効である。しかし寒天培地における組織の生長速度は液体培地を用いた場合に比べ一般に遅いとされる<sup>1)</sup>。一方、液体培地を用いた場合は、培養物が培養液中に水没するため、振盪などの方法による酸素の供給を必要とし、設備や消費電力にコストを要する。またペーパーウィック法<sup>2)</sup>では、平面的な濾紙の上で培養するため培養物は安定せず、さらに培養物と濾紙との接触面積が小さいため培養物が乾燥しやすいといった難点がある。これらの問題点を解決するために、細かく裁断した濾紙を支持材とする新たな培養法(以下ペーパーシュレッド法と呼ぶ)を考案し、その有効性を検討した。

実験材料には、南アフリカ原産、ユリ科の多肉植物で、培養が容易な *Haworthia maughanii*<sup>3)</sup> の誘導してから 3

年を経過したカルスを用いた。培養液は、Murashige-Skoog<sup>4)</sup> の処方、 $\alpha$ -naphthaleneacetic acid (NAA) と Kinetin をそれぞれ 1 mg/l、ショ糖 3% を加え、pH 5.8 に調節したものをを用いた。培養物の支持材として直径 15 cm の濾紙(東洋濾紙 2号)を事務用シュレッター(リコー・クロスカットシュレッター・リカット 2702DA、裁断片一片は約 2 mm×13 mm の短冊型)で処理した後、濾紙一枚分の裁断片を 100 ml のコニカルビーカーに入れ、その中に培養液を 20 ml ずつ分注し、アルミホイルで蓋をしてペーパーシュレッド培地を作成した(Fig. 1)。対照区として、同組成の培養液に 0.8% の寒天を加え、100 ml のコニカルビーカーに 20 ml ずつ分注した固型培地を用いた。

培養は、培養器 1 個あたり生重量約 2.5 g のカルスを

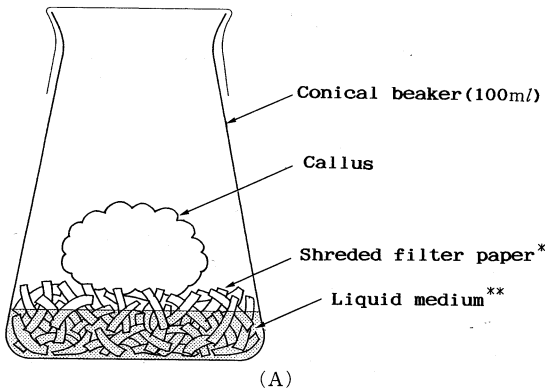


Fig. 1 A, Diagram of the "paper shred method" used in this study.

B, Callus on the paper shred medium, 30 days after inoculation.

\* A filter paper (15 cm in diameter) was shredded to fine stripes approx. 2 mm×13 mm in size by an office shredder. The whole of the shredded filter paper was used for one conical beaker.

\*\* 20 ml liquid MS medium containing NAA (1 mg/l), Kinetin (1 mg/l) and sucrose (3 %).

Kazumi KANOH\*

Effects of the "Paper Shred Medium", A New Method for Plant Tissue Culture.

\* 西武学園文理高等学校

(〒350-13 狭山市柏原新田下河原 311-1)

\* Seibugakuen Bunri High School, 311-1, Shimogawara, Kashiwabarashinden, Sayama-shi, Saitama 350-13, Japan

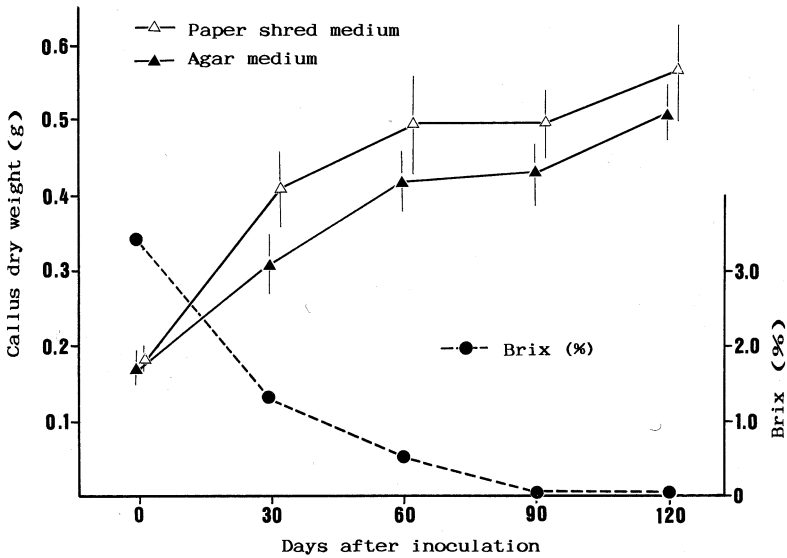


Fig. 2 Growth curves of callus on two different media and changes of Brix % measured by a hand refractometer in the paper shred medium. Vertical bars give 95% confidence interval.

植え、人工気象器内で、25°C、3,000 lux 連続照明下で行なった。調査は30日毎に培養開始後120日目まで行い、1回の測定にそれぞれ培養器8個からカルスを取り出して、60°Cで48時間処理し、乾燥重量を測定した。さらにペーパーシュレッド培地では手持屈折計(アタゴN1・Brix 0~32%)を用い、培養液のブリックス%を測定した。

培養開始後、2種類の培地のいずれにおいてもカルスは器官分化をほとんど起こさず、その形状ならびに生育形態に外見上の差は認められなかった。しかし生長量には明らかな差があり、培養の全過程を通し、ペーパーシュレッド培地の方が優れていた(Fig. 2)。培養開始後30日目には最も大きな差を示し、培養開始時のカルス平均重量に対して、寒天培地では1.8倍、ペーパーシュレッド培地では2.2倍の増加を示した。その後、その差は縮まる傾向が認められた。これはペーパーシュレッド培地において、培養したカルスの培地成分の吸収速度が速いため生長速度も速かったと推測され、また培地成分が早く減少するため、その後の寒天培地での生長が追い付いて来るものと考えられた。

ペーパーシュレッド培地でのブリックス%の推移は、3.4%から始まり、培養開始後30日で半減、90日には0%に近い値が示された(Fig. 2)。手持屈折計で計測したこれらの数値は無機塩類やシヨ糖など培養液中の成分全体の屈折値であるが、培養液の成分比率から考えてその数値の大半はシヨ糖の値と考えられる。したがって培養液中の成分のうち少なくともシヨ糖は培養開始後約

90日までにほとんどが吸収されたと考える。またブリックス%の減少に伴い、培養開始後約60日から生長速度が鈍ることから、培養開始60日前後で培養液を追加すれば、培養開始から60日後までの生長速度をその後も維持できる可能性があると考えられる。

以上の結果よりペーパーシュレッド法は、カルスの培養に有効な手法であることが明らかとなった。本法の利点を以下に列記する。

- (1) 寒天培地に比べカルスの生長が速い傾向がある。
- (2) 液体培地でありながら、培養物が培養液中に水没することがないため、振盪が不要である。
- (3) 培地表面に荒い凹凸ができるため、表面積が増加すると同時に培養物との接触面積も増加することから培養物はペーパーウィック法に比べ乾燥し難く、また培地上での安定感もよい。
- (4) 培養中に培養液が不足した場合、培養液の追加が可能である。
- (5) 寒天培地に比べ、使用後の培養器の洗浄が容易である。

実験を進めるにあたり財団法人進化生物学研究所 林雅彦博士には有益なご助言をいただき、本稿のご校閲をお願いした。また、西武学園文理高等学校科学部 河合正憲君、福岡真太郎君、および同校理科教職員各位にご助力をいただいた。厚く御礼申し上げます。

(1995年8月5日受理)

## 文 献

- 1) 原田 宏, 鎌田 博, 1979. 植物細胞組織培養(原田 宏, 駒嶺 穆編), p. 41-43, 理工学社, 東京.
- 2) Baker, R., D. J. Philips, 1962. *Phyton.*, **52**: 1242-1244.
- 3) Hayashi, M., 1987. *S. Afr. J. Bot.*, **53**(6): 411-423.
- 4) Murashige, T., F. Skoog, 1962. *Physiol. Plant.*, **15**: 473-497.