

# Studies on the flowering in aseptic culture of carrot

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2023-04-13 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Kumaki, Yoshifusa メールアドレス: 所属:
URL	<a href="https://doi.org/10.24517/00005252">https://doi.org/10.24517/00005252</a>

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



# ニンジンの組織培養による開花

熊 木 義 房

## まえがき

植物の器官または組織の一部を切りとって無菌的に培養する技術は一般に組織培養法と呼ばれている。一器官の生理を他の部分からの干渉なしに研究する方法としては便利なもので、いろいろな目的に用いられている。

この方法を用いた開花の研究例では Tashima and Imamura (1953), Takimoto (1960) らのアサガオや, Sugino (1957) のコムギを用いていたものがある。アサガオでは Sucrose を与えて10°Cにおくと光線の有無に関係なく全部花芽分化を行っており, Sucrose を与えず, 温度を10°Cから20°Cにかえると短日にした場合のみ花芽分化し, 終夜照明区では分化していない。これに対してコムギでは短日より終夜照明がよく, また20±2°Cの温度下においた場合, Sucrose の濃度を2, 4, 8, 10%とすると, 高濃度ほどよい結果となっている。いずれにせよ, 他の条件さえよければ全暗黒下でも花芽分化を行いうることが示された。これらの実験は種子を用いたものであって, 組織を切りとったものではない。組織培養で開花を調べたものには川田・石原 (1957) の生長点培養に関する報告がある。すなわち川田・石原らは22種の植物をテストし, イネおよびコムギでは生長点培養により開花結実が可能であったとしている。

イネの場合興味のあることは幼穂形成の直前になった生長点を培養してもすぐ幼穂を形成せず, 一定数の葉を分化した後に幼穂形成に移ることが明らかにされた。またコムギでは低温処理をしなければ花芽分化を行わないことが認められている。

これらの研究結果を除いては, 生長点培養による開花研究は全く見られない。著者 (1956, 58, 61) はこれまで試みて来た場合と同じ追求方法を取り, 培養基上で育てたニンジンの生長点の開花反応を調べ, 完全な開花を行はせることに成功した。かつ開花の条件を

検討した。これらの結果をまとめたものをここに述べる。

## 1. 糖濃度とバーナリゼーションの影響

組織又は器官の無菌培養では根がないのであるから, 初期の態勢維持には恐らく糖分が必要であろうということが想像され, 多くの研究でも糖を入れて成功しているところから, ニンジンの無菌培養でも先づ最初に培地に於ける糖のあるなし, あるいわその濃度との関係を検討するとともにバーナリゼーションの効果についても調べてみることにした。

実験は1960年5月から翌年3月までの間に行ったもので, 実験回数は6回に及んだが, しかしその中2, 3, 4回は培養そのものの失敗で, 1, 5, 6回のものについて述べるが, 便宜上実験第1~3とした。

第2~4回の失敗は材料の採取時期が7~8月の盛夏に当たっていたため菌, 細菌類の着生が多かったことと思われ, 一方培地植付けの際の材料消毒も不完全であったためかと考えられる。

(実験第1) 1960年5月1日にニンジン金時を播種, 1カ月後の6月1日, 本葉2~3枚の頃, 出来るだけ整一なもの120個採取した。次に生長点を中心に(葉身の基部)地上部, 地下部各3mm, 計6mmに切断した材料を10gのカルキを120ccの水にサスペンドして濾過した液で15分間消毒した。これを予め用意された試験管中の無菌培養基に植付けた。培養基の種類はwhite氏液 (white区), white氏液から糖だけ除いたもの (white-区), 寒天だけのもの (Agar区) との三種類にした。寒天濃度は0.5%, 培地のP.H. は夫々5.7, 5.9, 6.0であった。

植付け3週間後, 三種類夫々の半数を3~4°Cで2カ月半バーナリゼーション処理した。処理後さらに2カ月半, 11月中旬まで両者とも常温に置いて比較観察し, 検鏡した結果は第1表に示した。

第1表 糖とバーナリゼーションの花芽分化に及ぼす効果 (金時, 実生)

項目	段階	花芽分化段階																			
	個体	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
cont.	Agar	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
	white-	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
	white	×	I	I	×	0	0	II	×	0	×	×	×	×	×	I	I	×	I	0	0

Verna.	Agar	× × × × × × × × × × × × × × × × × × × ×
	white-	× × × × × × × × × × × × × × × × × × × ×
	white	0 0 VII × I 0 0 I I × 0 0 V 0 I × I I × I

実験第1の結果を述べると、試験管内の無菌培地に植付け後僅か1週間で white 区では0.5~1.0cmの新葉が伸び出すものが沢山出たが、white一区、Agar 区では一個も伸長を見なかった。

第1図(1)はバーナリゼーション直前の三区を示したものであるが、white一区、Agar 区など糖のないものは等しく伸びていなかった。

植付け後3週間で、そのままの cont. とバーナリゼーション処理に分けて処理すること2カ月半、すなわち9月中旬には cont. も処理区も white一区や Agar 区の糖のないものは依然として伸長を見ず、権付け当初のままであった。そして cont. の Agar 区は伸びないばかりでなく段々生色も失われつつあった。バーナリゼーション処理後さらに2カ月半両者とも同じ常温で比較観察したのであるが、バーナリ区でも糖のない区は段々生色を失い初め、最後には cont. のそれらと同じになって了った。

しかし糖のある white 区だけは cont. でもバーナリでも最初の伸長葉が子葉型であったものが段々本葉型になり、また胚軸部が膨大し出し大豆大以上のものも出来た。そしてバーナリ区の草勢は愈々活力を得たかの様に水々しい新組織を増殖するのに対し、cont. も増大はするが、その程度は著るしくなく、かつ途中枯死するもの数も多くなった。

第1図(2)の右側は上下とも white一区で頭初そのま

まの型である。左側は white 区で、上段はバーナリ、下段は cont. である。また第1表は11月中旬に於ける花芽分化状況で、この時までには生き残ったのは結局 white 区だけであるが、cont. の枯死数はバーナリゼーションの倍近くもなり、分化段階も漸くI~IIであるのに、前者ではV~VIIまでに至っていた。

(実験第2) 1960年10月10日、すでに生育の進んでいる6月播きのニンジン金時、及び三寸を材料とし、生長点附近の2~3mmの小葉を2~3枚残し、その他の外葉は全部除去した後、生長点を中心にエグリ取ったものを実験第1の場合と同じくカルキで消毒して試験管内培地に植付けた。培養液中の蔗糖は0、2、8%に分けたが、0は white 氏液から2%の糖の部分だけ除いたもの、2%区は white 氏液、8%区は white 氏の糖の部分だけ8%にしたものである。寒天濃度や培地のP.H.は実験第1の場合と同じであるが、新しく加わった8%区はP.H.5.5であった。

植付け個数は各区20個体であったが、菌類の侵入状況を確認するため、そのまま3週間 20°Cで放置し、発生したものを棄却してから3~4°Cのバーナリゼーション区と cont. (20°C) に分けて2カ月間処理した。処理後は両区共20~26°C (朝の短時間だけ16°Cまで下ったことがある) の硝子室に移した。第2表、第2図、(1)、(2)はその間の状況、結果を示すものである。

第2表 無菌培養における糖、バーナリと花芽分化2 (エグリ取)

項 目		供 試	入 室	4 月 後	5 月 後	花 芽 分 化 段 階										開 花	
						I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X		
						金 時	cont.	0 (%) 2 8	10個 " "	8 6 8	0/8 0/6 0/8	— — —					
	verna.	0 2 8	" " "	4 8 8	0/4 2/8 2/8	— 2/2 4/4	2	2									
三 寸	cont.	0	"	8	0/8	—											
		2	"	8	2/8	2/2	1										
		8	"	8	5/8	5/5	3	1								1	
	verna.	0	"	10	4/10	1/4	1										
		2	"	10	10/10	10/10	4	1	1	1	2	1	1	1	1		
		8	"	8	7/8	7/7	3	1							1	1	

実験第2の第2図はバーナリ処理後、硝子室に移してから1カ月後に於ける生育状況である。すなわち金時では cont. は勿論、verna. も蔗糖の濃度0は全部枯死状態で、2, 8%では verna. は赤く生き生きしていた。また同じく cont. や verna. 同志の間でも2%と8%を比較したものでは前者は幾分伸びがよいが、8%の方はガッチリした型であった。三寸では0でも verna. には4個体程生き残っているものがあって、その他 verna. cont. 間、2, 8%間の関係は金時の場合と同じであった。

第2表はさらに1カ月観察した後、すなわち2月末に於ける検鏡結果で、生き残り個体の相当多い三寸ではバーナリゼーションの効果が明瞭にあらわれていて、処理区の2, 8%では開花まで見ることが出来た

のに、cont. ではV~VI段階までのものしかなかった。金時に生き残り個体が多かったならば、試験管内での満開花がみられたと思われる。

(実験第3) 1960年9月20播きのニンジン金時及び国分の1カ月実生を用いた。すなわち材料の調製、消毒、植付などは実験第1の場合と同じ実生法で、植付け時期、バーナリゼーション処理初めの時期は実験第2より夫々10日づつ遅れており、また植付け個体は各区40個体であったが、培養基の種類、寒天濃度、P. H., 処理期間、処理後の硝子室への移動などはすべて実験第2と同じであった。

第2図, (3), (4), 第3表はその間の生育状況、結果を示すものである。

第3表 無菌培養に於ける糖, バーナリと花芽分化3 (実生)

項目	供試	入室	4カ月後	5カ月後	分化段階				
					0	I	II	III	
金時	cont.	0 (%)	20個	16	0/16	—	4	2	
		2	"	12	8/12	0/8			
		8	"	12	6/12	6/6			
	verna.	0	"	14	0/14	—	2	5	1
		2	"	12	12/12	8/12			
		8	"	13	13/13	11/13			
国分	cont.	8	"	20	0/20	—	4	1	
		2	"	18	12/18	5/12			
		8	"	16	12/16	6/12			
	verna.	8	"	18	0/18	—	9	5	
		2	"	20	20/20	14/20			
		8	"	18	18/18	151/8			

実験第3の第2図はバーナリゼーション処理後、硝子室に移してから約1カ月後に於ける生育状況であるが、金時、国分両品種とも、またバーナリゼーションでも cont. でも0区は全部死滅していた。そして2, 8%の生残り個体は金時よりも国分の方が多く、バーナリゼーションと cont. では両品種ともバーナリゼーションが多く生き残っていた。そして2, 8%間ではこの頃はまだ生き残り個体数の差は殆んどなく、草丈では2%が勝っていたが、8%はやはりガッチリした型を示した。しかし、その後1カ月の3月上旬には2%の方が枯死数が多くなった。

第3表はその時の検鏡結果であるが、金時と国分では金時は花芽分化期に入ったもの多く、国分は少なかった。またバーナリゼーションと cont. では両品種ともバーナリゼーションは分化傾向が高くなっていた。

そして2, 8%間では8%がやや高い傾向の様であるが、差は余り明瞭なものではなかった。

実験第1~第3を通じて認められることは、無菌培養ではその培養基に糖分のあることが必要な条件になるということである。すなわち培地に植付けてから僅か1週間で2%糖のあるものでは直ちに新葉が伸長し出したのに、寒天だけの培地や、無糖の培地では全く伸長が見られなかったことが注目される。

バーナリゼーションは無菌培養でも、花芽分化に促進的效果のあることは圃場実験の結果をさらに裏付けていることになるが、バーナリゼーションを与えても糖のない場合は cont. と少しも変わらないということから、バーナリゼーション効果は糖があって始めて効果があると考えられる。このことは著者(1961)の大小肥大根の越冬ニンジンと抽台や、切断肥大根の越冬ニ

ンジンの抽台などと併せ考えて興味あることと思われる。

ニンジンの肥大根の糖の含量は大体8%であるところから実験第2, 3では2, 8%を比較して見たが, 草丈伸長は常に2%がよく, 8%はガッチリしていたが, 伸長は遅れていた。花芽分化の進展度では8%が僅か進んでいた様に思われる。しかし目立って格段の開きがあったということは出来ない。この点さらに検討を必要とする。なお, ニンジンの生長点培養により実際の開花を見ることが出来たのは, ニンジンは無菌培養によって培養しやすい植物であるということも関係があると思われる。たとえば Steward (1958) はニンジンの貯蔵根の Phloem parenchyma からわずかな細胞群をとってココナット・ミルクを加えた培養液中に浮せ, 完全な一個の植物体を再生させた研究が注目される。このように高等植物の既分化細胞があたかも受精後の卵細胞の如く分裂と分化を続け得たという例は画期的なものであったが, 他の高等植物ではあまり例を見ないところである。

(要約) (1)ニンジンの生長点培養による花芽の発達および開花に対しては培養基に糖のあることは必要条件である。(2)パーナリゼーションの効果は糖が加えられた時明らかに認められる。(3)糖の濃度につき2, 8%を比較すると2%が草丈伸長には促進的であるが, 花芽分化には8%の方が僅かに促進的である。

第4表 無菌培養に於けるジベレリンと花芽分化 (エグリ取)

項 目	供 試	入 室	3 月 後	4 月 後	花 芽 分 化 段 階												開 花	
					0	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI		XII
金 時	cont.	2 (%)	20個	20	10/20	8/10	2	4	1		1							
		2・GA	"	19	16/19	13/16	6	2		2	3							
	verna.	2	"	18	12/18	12/12	5	1	2	2			1	1				
		2・GA	"	18	16/18	16/16	7	1	2			1			4			1
三 寸	cont.	2	16	16	14/16	14/14	9	5										
		2・GA	"	15	14/15	14/14	4	9									1	
	verna.	2	"	14	14/14	14/14	6	6	2									
		2・GA	"	14	14/14	14/14	5	6	1					1	1			

第3図は処理後硝子室に移してから1カ月後に於ける生育状況であるが, 0区がなく, 培養の技術も改良されたためか, 生き残り数も多くなった。

金時でも三寸でもW・2とW・2・GAではW・2

## 2. シベレリンの効果

著者 (1959, 61) これまでの実験ではニンジンの花芽分化や抽台に於て, ジベレリンによる促進効果が大きい認められたので, 無菌培養でもこれの応用は興味あるものと考えられた。しかし前記実験での材料は自然状態であるからジベレリン溶液の葉面撒布も出来たが, ここでは材料は試験管内であるから培養液に付加することにした。したがって濃度もなるべく低い方が適当と考えられ5 ppmとした。

すなわち培養基の種類は white 氏液 (W・2区) と white 液+5 ppmのジベレリン (W・2+GA区) であり, 寒天濃度とP.H.はおのおの0.5%, 及び5.7であった。

使用材料は8月中旬播きの金時及び三寸で, 前項の実験第2と同じくエグリ取り法によった。無菌培養基に植付けの時期は11月上旬で, 自然の低温を多少受けたものと思われるが, この実験の直接の目的には大きな支障はないと考えた。

個体数は金時では40, 三寸では32個で, 植付け後直ちに3~4°Cのパーナリゼーション区と20°Cのcont.に分けて1カ月半処理した。前項同様の硝子室に移した。硝子室に移してから1カ月後の生育状況は第3図の様で, さらに1カ月後の3月上旬に於ける検鏡結果は第4表に示す通りである。

・GAは伸びがよかった。またパーナリゼーションとcont.の比較ではパーナリゼーション区は生育旺盛で, 緑色も深く, cont.の黄色をおびた弱い生育のものと同らかな対比がみられた。



第5図及び第5表は植付け後1カ月の4月下旬の状態である。すなわち2%区と8%区の比較では2%区がSD, LD, ADのすべてに於ても草丈は勝っていた。SD, LD, AD間では8%区も2%区もともにSDは最も草丈低く, LDとADではLDはやや高いが, その差は極く少なかった。0区は個体数が少なかったが, LDの草丈は目立って高く, 全体の中でも一番高かった。

さらに1カ月後の5月下旬に検鏡したが, この間は草丈の伸長は何れも止まり, 段々緑色が薄くなったり, 葉の先端が褐色に枯れ込んだりし出し, 極端なものでは枯死していた。

第6表はその検鏡結果である。これによると8%区でも2%区でもSDは明瞭に花芽分化遅れ, 生き残り数も極端に少なくなっていた。8%区と2%区, またADとLDの優劣は余り明確でないが, 生き残り数では2%区のLDが最もよかった。

これを考察するとADはLDより草丈伸長が僅かではあるが, むしろ劣る結果となったことはいわゆる内的週期説による好光期と嫌光期の週期があるためかと考えられる。SD区の悪いことは圃場実験の場合と同じで Sugino (1957) の小麦の場合と全く同じである。培養基中の糖と日長の差異によって生ずる何らかの条件の総合が結果となって現われたものと考えられる。

0区は第1項の結果から考えて余り期待しなかったのであるが, 余分培養液があったので小数だけ置いて見たのが予想外の結果になった。それは本実験ではバーナリゼーション期間中は肥大根が完全についたままであったのに, 前々項の実験は無糖培養基中でのバーナリゼーションであった。著者(1961)既実験の切断根のバーナリゼーションや, 大小肥大根のバーナリゼーションの実験結果から併せ考えても当然のことであった。すなわちバーナリゼーションにより生長点のプラズマの状態が変り, 貯蔵栄養が他の部分から供給されると, その後の花芽分化が順調に進むが, 他の部分からの供給がなければ後の発達はみられないということであろう。

そしてここでも8, 2%区と同じくAD, LD区は相当分化段階が進んでいたのにSDは1カ月後には1個枯死し, 残りの1個も5mm位しか伸びず, 分化段階も進んでいなかった。これも8, 2%区と同じ理由と考えられる。

なお, 無菌培養で開花までに至ったものは, 根はな

く, 少量の葉と少量の茎と, 花茎から成るいわば奇形花であるが, 普通の正常栽培で開花するものでは6~8節の花茎を持っているのに対し, この場合は3~5節であった。

(要約) (1)ニンジンの無菌培養を全日長, 長日, 短日下においたところ, 短日処理では草丈伸も少く, 花芽分化も極端に遅れた。(2)全日長と長日の間では草丈伸長も花芽分化の進展度も大きな差はないが, 長日の方が若干優勢の傾向にあった。(3)無菌培養による開花節位は3~5節であって圃場実験の場合より若干少なかった。

## 総 括

ニンジンの生長点を中心とした組織の無菌培養を行った。それによって開花に大きく関係するバーナリゼーションを検討すると, 培養基中に糖のあるなしが, バーナリゼーションの効果に大きく影響することが分かった。このことはバーナリゼーションが肥大根の貯蔵養分量との間に深い関係があることを別な面から確認したことになる。バーナリゼーションを経過した器官から萌出する新葉は対照に比して緑色濃く, 活力的であったが, ジベレリンを付加した場合とくにそのコントラストが明瞭に現われた。

無菌培養において, 開花に対する日長の影響を検討したところでは, 短日条件下のものは培養器官から萌出する新葉の伸長さおそく, また伸長さも少く, かつ抽台, 開花も遅れていた。短日下のものは抽台, 開花のおくれたのは勿論短日条件そのものの影響はあろうが, 短い草丈伸長からくる同化絶対量の不足も関係すると考えられる。また全日長と長日条件のものでは大きな差は認められなかったが, 長日条件下のものが抽台, 開花にやや有利な傾向が見られた。長日植物でも異化作用のためには若干の暗期が必要なのかも知れない。

## 文 献

- (1) Bünning, E. : Der Verlauf der endogenen Tagesrythmik bei photoperiodischen Störrichtversuchen mit Soja. *Physiol. Plant.* 7 : 538~547, 1954.
- (2) 川田信一郎, 石原愛也 : 培養瓶内での花の形成—高等植物に於ける生長点培養について—*科学* 27 : 343~348, 1957.
- (3) 熊木義房 : ニンジンのバーナリゼーションに関する

る研究 園芸学会誌25 (3) : 163~166, 1956.

- (4) 熊木義房 : ニンジンジンのバーナリゼーションに関する研究(chemical vernalization, 日長との関係) 金大教紀要 6 : 158~164, 1958.
- (5) 熊木義房 : ニンジンの花芽分化, 抽台に及ぼすジベレリンの影響について園芸研集 9 (印刷中), 1961.
- (6) 熊木義房 : 施肥量, 土性, 根の大きさ, その他の条件がニンジンの花芽分化, 抽台に及ぼす影響 金大教紀要 9 : 32~42, 1961.
- (7) Sugino, M. : Flower initiation of the spring wheat in total darkness. Bot. Mag. 70 : 369~375, 1957.
- (8) Takimoto, A. : Effect of sucrose on Flower initiation of *Pharbitis Nil* in aseptic culture. Plant and Cell Physiol. 1 : 241~246, 1960.
- (9) Tashima, Y. and Imamura, S. : Flower initiation in total darkness in *Pharbitis Nil* Choisy, a Short day plant. Proc. Japan Acad. Sci. 29 : 581~585, 1953.

### 図 説

第1図 :

無菌培養に於ける糖及び低温処理。

- (1) 左から white 氏, white 氏から糖除去, 寒天のみ。(2)上段低温処理, 下段標準, 左 white 氏, 右は white 氏から糖除去。(実験第1)

第2図 :

同前。

- (1)~(2)はエグリ取り法, (3)~(4)は実生法。何れも低温処理後約1カ月半, 図中の0, 2, 8は糖の%, 又品種金時の図は省略。(実験第2, 3)

第3図 :

無菌培養に於けるジベレリン添加の影響。

- 低温処理後約1カ月で図中の2は糖%, GAはジベレリン5ppm, 又品種三寸の図は省略。

第4図 :

無菌培養基中の開花。

- 品種三寸(実験第2)。

第5図 :

無菌培養に於ける日長の影響。

- 図中のSDは8時間日長区, LDは16時間日長区, ADは24時間区。

## Studies on the Flowering in aseptic culture fo Carrot

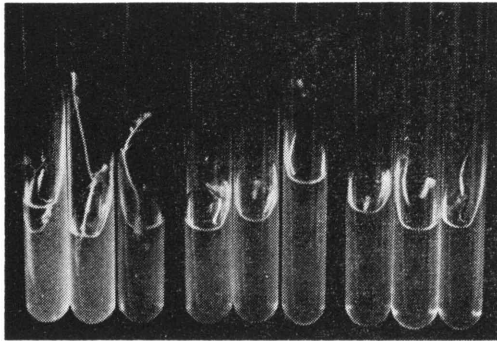
(English summary)

Yoshifusa KUMAKI

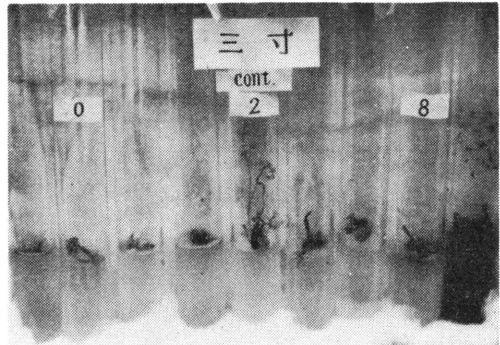
An experiment on aseptic culture of carrot tissues containing growing points suggested an active role of sugar in the process of vernalization. Sugar added to the cultural media greatly encouraged the effect of vernalization. Here again is substantiated the author's argument that for perfection of vernalization in carrots, nutrient substances in the root are indispensable.

In aseptic tissue culture, the influence of day-length on the flowering was examined. Under short-day condition, developing of leaves from the tissue was delayed and meagre, and bolting as well as Flowering was retarded. Between long-day and 24-hour day conditions, no remarkable difference was noticed with reference to their effects on the floral development, though a slight promotion of bolting and flowering was observed in the long-day lots.

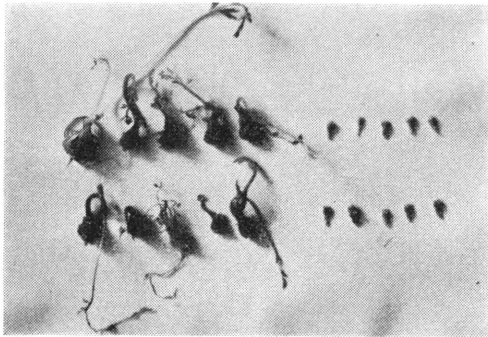




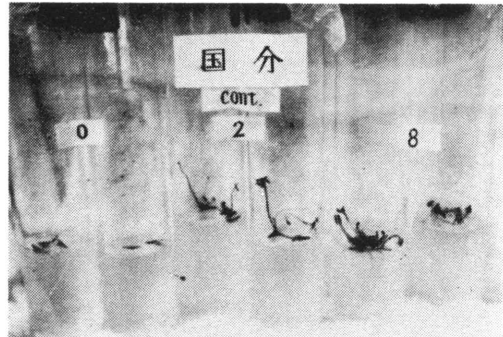
第 1 図 (1)



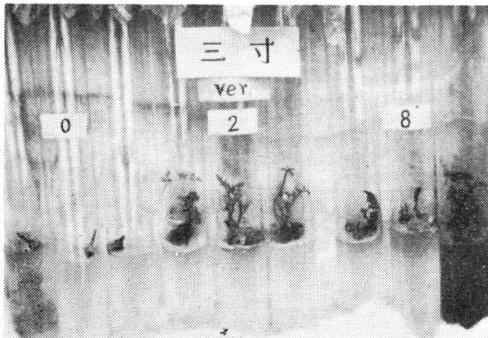
(2)



(2)



(3)



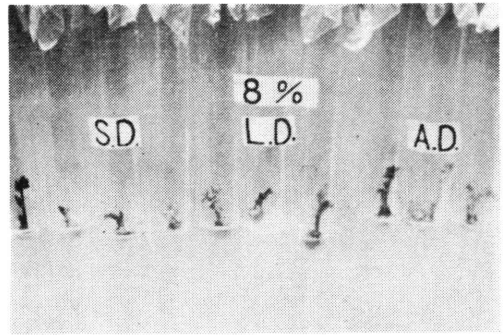
第 2 図 (1)



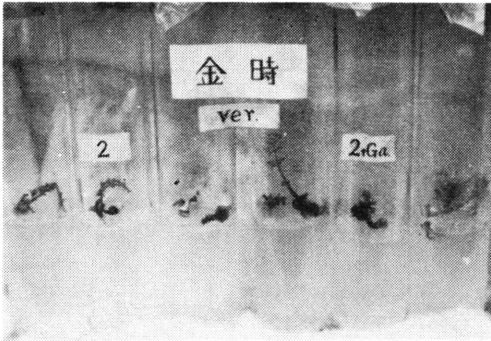
(4)



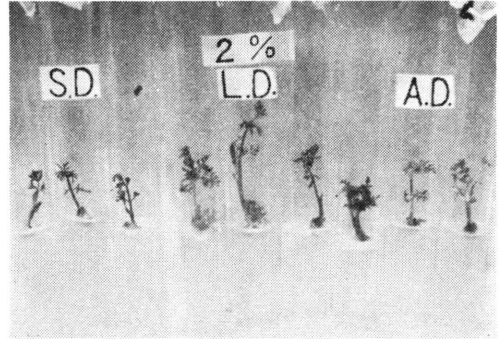
第 3 図 (1)



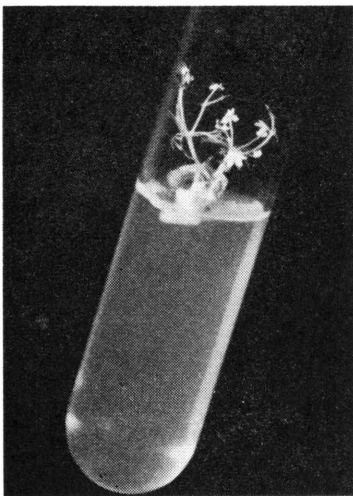
第 5 図 (1)



(2)



(2)



第 4 図