



Title	テンサイの緑色培養カラスの光合成能と増殖
Author(s)	中嶋, 博; NAKASHIMA, Hiroshi; 津田, 周彌 他
Citation	北海道大学農学部邦文紀要, 15(2), 169-172
Issue Date	1987-01-20
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/12061
Type	departmental bulletin paper
File Information	15(2)_p169-172.pdf



テンサイの緑色培養カルの光合成能と増殖

中嶋 博・津田周彌

(北海道大学農学部工芸作物学教室)

(昭和61年6月2日受理)

Photosynthetic Potential and Growth of Green Cultured Callus in Sugar Beet

Hiroshi NAKASHIMA and Chikahiro TSUDA

(Laboratory of Industrial Crops, Faculty of Agriculture,
Hokkaido University, Sapporo 060, Japan)

緒 言

ナス科およびイネ科の植物を中心とした植物細胞・組織培養の研究が広範に行われ、すでに植物育種への実際的な利用が試みられている。テンサイについての研究は少なく、その端緒についたところである^{1),2),7)}。著者らはテンサイについても、細胞・組織培養の技術が植物育種に貢献するものと考え、この技術の確立のための一連の研究を行ってきたが^{4),5),6)}、その過程においてしばしば、緑色カルスがみいだされた。高等植物の光独立栄養細胞の培養は光合成能の高い細胞の選抜、光合成の研究の実験系を提供するのみならず、太陽エネルギーの直接利用という経済性の故に研究対象となっている^{9),10)}。

本研究はテンサイの緑色カルスについて、これらのカルスは光合成能を持っているのか、その能力はどのくらいで有るのか、またカルス内での物質の移動はどのようになっているのか、さらに光独立栄養細胞の維持、増殖の可能性などを知る目的で行った。

材料および方法

テンサイの組織をMS培地³⁾を基本とし、寒天7g/l、ショ糖20g/l、pH 5.8に調整した種々の植物生長調整物質を含む培地で、25°C、16時間日長、約5,000 luxで培養を続け、これより得られた緑色カルスを中心に実験を行った。試料の光合成能は¹⁴Cの取り込み量で評価した。緑色カルスを含む数種の試料をガラス製同化容器内に入れ、30分間、明所で約5μCiの¹⁴CO₂を施与した。施与後、試料を80°Cで乾燥後、取り込んだ¹⁴Cの量を計測した。乳鉢で微粉碎した試料の10mg前後を正確

に秤量後、組織溶解剤を加え溶解後、シンチレーターを加え、液体シンチレーションカウンターで計測した。

試料のクロロフィルは85%アセトンで抽出した。抽出液の吸収スペクトルを分光光度計で調査した。

さらに、直根部由来の8つの緑色カルスを上述のMS培地に2μM, IAA (インドール・酢酸)と5μM, BA (ベンジル・アミノプリン)となるようにそれぞれを添加しショ糖濃度が0, 5, 10, 20および50g/lの5つの培地に継代した。約10日毎に4回、カルスの生重の増加を求め、カルスの増殖とした。

培養条件は上述の通りである。

結果および考察

予備的に行った¹⁴CO₂の取り込み実験で緑色カルスで取り込みが観察された。本実験では詳細に観察するため、時期を異にして2回、2反復で行った。friableおよびcompactな緑色カルス、淡緑色カルス、褐色カルスおよび白色カルスと実生の子葉などを反復毎に同一同化容器に入れ、¹⁴CO₂を同化させた。結果をTable 1のAに示した。次に緑色部と半透明部を同時にもつカルスを¹⁴C施与前および施与後に分割し取り込みを比較した。結果をTable 1のBに示した。それぞれ同時に¹⁴CO₂を施与しない種々の試料を対照として計測したが、すべて10 dpm/mg·dw以下であった。これらの結果より、緑色カルスのfriableなもの、およびcompactなものとも同じような光合成能をもつことが明らかとなった。淡緑色カルスも光合成能が検出できた。緑色部と半透明部を同時にもつカルスを分割後¹⁴CO₂を施与したものでは半透明部への取り込みは褐色カルスと同じ程

Table 1. Amount of ^{14}C incorporated into calli by photosynthesis (dpm/mg·dw)

	I	II
A) cotyledon	792	886
green callus (compact)	802	410
green callus (friable)	575	802
green callus (friable)	391	—
pale green callus (friable)	128	112
brown callus	—	247
white callus	18	—
B) cotyledon	10378	24185
green callus	{ 992 }	984
semi-transparency	{ 337 }	—
green callus	1079	2681
semi-transparency	105	—
brown callus	105	92

Figures in { } : Callus was divided after treatment.

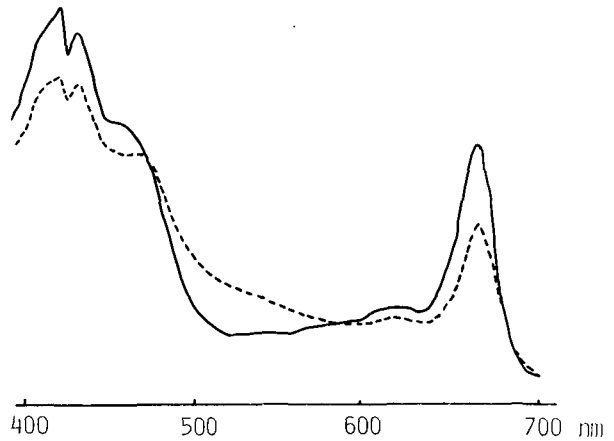
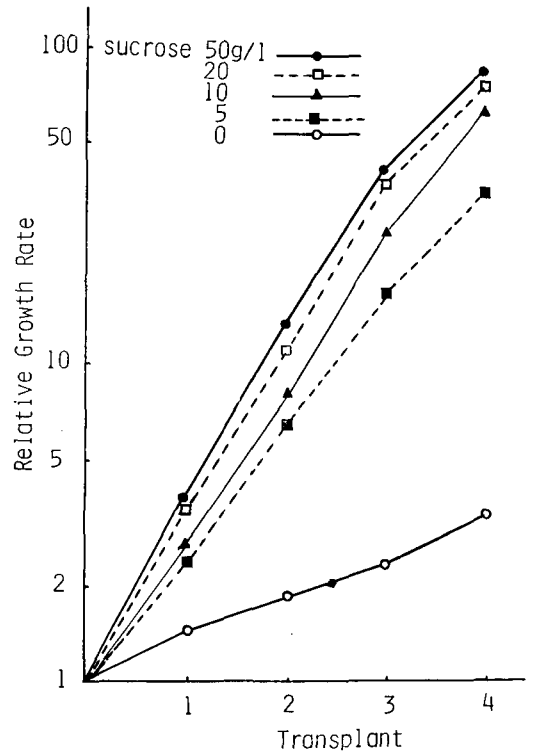
度認められた。しかし、施与後分割された半透明部に比較して少なかった。このことは、施与後分割された半透明部には同一カルの緑色部での光合成産物が移動したことを示すものと思われる。両実験とも褐色カルスで取り込みが認められている。しかし、白色カルスではほとんど認められていない。このことは、褐色カルスおよび半透明カルスは外見では認められないが、わずかにクロロフィルを保持し光合成を行っているものと推定される。さらに子葉の取り込み量が実験によって異なっているが、これは発育段階の差異によるものと思われた。

クロロフィルの性質を知るためのアセトン抽出液の吸収スペクトルを Fig. 1 に示した。friable および compact な緑色カルスとも、子葉のクロロフィルと同じパターンを示した。

すなわち 665 nm と 615 nm に頂点をもち、質的には同じものと推定できる。

シヨ糖濃度を異にする培地でのカルの増殖を Fig. 2 に示した。増殖はシヨ糖濃度の高いものほど高く、継代では最後のもので低かった。シヨ糖濃度が 0 の培地ではほとんど増殖せず、50 g/l の培地では増殖が一番高いがカルの緑色は退化してきた。

これまでの他植物の研究で、培養した細胞中に発達したグラナをもつ葉緑体ならびに光合成活性をもつ培養細胞が見いだされている¹⁰⁾が、ほとんどの細胞は糖類なし

**Fig. 1.** Absorption spectra of chlorophyll from cotyledon (solid line) and green callus (broken line) of sugar beet.**Fig. 2.** Effects of sugar content on green callus growth in sugar beet.

では生長できず、これは低いクロロフィル含量と光合成活性によるとされている。また細胞の緑化には、オーキシン、サイトカイニン、糖類、無機塩、光強度およびガス相が関係しているとされている。光独立栄養培養に成功しているのはわずかな種で YAMADA ら¹⁰⁾ はこれには培養条件を制御する必要のほかに、光独立栄養細胞の選抜を強調している。SATO ら⁸⁾ は C_3 植物の光独立栄養的に培養された緑色細胞は明所で C_4 化合物中に $^{14}CO_2$ の大量の取り込みを認めている。これらのことは興味深い問題である。

本研究では緑色カルスは緑葉と同じクロロフィルをもち、光合成能は子葉の光合成能の盛んなものに比較して 1/10 から 1/20 程度で低いと推定される。このことはカルスでは気孔、維管束系などの組織が未発達であり、さらに培養容器中の酸素や炭酸ガスなどの空気組成の変化、あるいは光合成産物がカルスの増殖に有効に利用される物質になっていないか、または利用されないかなどの理由により、光合成能が低く、カルスの増殖も低いと推定される。

緑色部と半透明部をもつカルスの実験から光合成産物は短時間に緑色部から半透明部に移動することがわかった。ショ糖の添加されない培地では緑色カルスでもほとんど増殖しなかった。光独立栄養カルスを維持、増殖することは通常の継代では困難であり、培養条件の検討ならびに光独立栄養カルスの選抜などが必要とおもわれる。

テンサイの緑色カルスの光合成能および増殖についての遺伝子型間差があるのか、また再分化能との関係など、これの育種への応用については、解決すべき問題が多い。

摘 要

テンサイの組織培養過程で見いだされた緑色カルスについて、その光合成能と増殖について研究した。その結果、緑色カルスは子葉の 1/10 から 1/20 の光合成能をもっていた。またカルス内での物質の移動は速やかに行われていた。緑色カルスと緑葉は同じ吸収スペクトルパターンクロロフィルをもっていた。ショ糖の添加されない培地ではほとんど増殖しなかった。

これらのことはカルスでは組織分化がなされていないこと、あるいは培養容器中の空気組成の変化などの理由により、光合成能および増殖が低いものと考えられた。

引用文献

1. MIEDEMA, P.: A tissue culture technique for vegetative propagation and low temperature preservation of *Beta vulgaris*, *Euphytica*, **31**: 635-643. 1982
2. MIKAMI, T., KINOSHITA, T. and SAITO, H.: Clonal propagation of sugar beet plant by apical meristem culture, *J. Fac. Agr. Hokkaido Univ.*, **62**: 325-331. 1985
3. MURASHIGE, T. and SKOOG, F.: A revised medium for rapid growth and bio assay with tobacco tissue cultures, *Physiol. Plant.*, **15**: 473-497. 1962
4. 中嶋 博・津田周彌: テンサイの組織培養, カルス形成に及ぼす生長調節物質および供試組織の影響, てん菜研究会報, **25**: 84-89. 1983
5. 中嶋 博・津田周彌・熊谷利恵子: テンサイの組織培養, カルスの組織・形態と水溶性色素, てん菜研究会報, **26**: 31-36. 1984
6. 中嶋 博・神戸美香子・津田周彌: テンサイの組織培養, カルス増殖に及ぼす系統, 2,4-D 濃度および胚軸の供試部位の影響, てん菜研究会報, **27** (印刷中).
7. SANDERS, J. W. and DAUB, M. E.: Shoot regeneration from hormone-autonomous callus from shoot cultures of several sugarbeet (*Beta vulgaris* L.) genotypes, *Plant Sci. Letters*, **34**: 219-223. 1984
8. SATO, F., NISHIDA, K. and YAMADA, Y.: Activities of carboxylation enzymes and products of $^{14}CO_2$ fixation in photoautotrophically cultured cells, *Plant Sci. Letters*, **20**: 91-97. 1980
9. YAMADA, Y. and SATO, F.: The photoautotrophic culture of chlorophyllous cells, *Plant & Cell Physiol.*, **19**: 691-699. 1978
10. YAMADA, Y. and SATO, F.: Selection for photoautotrophic cells, In: Hand Book of Plant Cell Culture, I. Techniques for propagation and breeding. (Ed. EVANS, D. A., SHARP, W. R., AMMIRATO, P. V. and YAMADA, Y.) Macmillan Publishing Co. pp. 489-500. 1983

Summary

Green calli were often found in the process of tissue culture experiment of sugar beet. This study was carried out to clarify the photosynthetic potential and growth of these green calli. The

following results were obtained: The photosynthetic potential was about 1/10 to 1/20 of that of cotyledons. Translocation of photosynthate was rather rapid. Absorption spectra patterns of chlorophyll from green calli and cotyledons were similar. Calli almost did not grow on the media

without sucrose.

The reason of low photosynthetic potential and growth was assumed to be due to lack of stomata and vascular bundle system of calli and also to the change of aerial components in the incubation vessel.