

光独立栄養培養条件下におけるイチゴ培養小植物体の純光合成  
速度および成長に及ぼす培地の初期無機イオン組成  
および初期総無機イオン濃度の影響

梁 燦 錫・古 在 豊 樹・富士原和宏

千葉大学園芸学部

Effects of Initial Inorganic Ion Composition and Initial Total Inorganic Ion  
Concentration of Culture Medium on the Net Photosynthetic Rate and  
Growth of Strawberry Plantlets *In Vitro* under Photoautotrophic Conditions

Chan Suk YANG, Toyoki KOZAI and Kazuhiro FUJIWARA

Faculty of Horticulture, Chiba University, Matsudo 271, Japan

The net photosynthetic rate and growth of strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch. cv. Houkouwase) plantlets *in vitro* under photoautotrophic conditions as affected by initial inorganic ion composition (modified Hoagland and Arnon, MHA; Hoagland and Arnon, HA; Murashige and Skoog, MS) and initial total inorganic ion concentration of the medium (20, 40, 60 and 80 mol·m<sup>-3</sup> for MHA media) were investigated. Three shoots at the rooting stage, each planted on a 0.13 × 10<sup>-4</sup> m<sup>3</sup> liquid medium in a cup, were cultured in a 7.5 × 10<sup>-4</sup> m<sup>3</sup> cylindrical polycarbonate vessel. Concentrations of K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup> and SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> in 40 mol·m<sup>-3</sup> MHA were 1.3, 1.5, 3.0, 1.1, 3.0 and 1.5 times, respectively, those in HA. The vessel with the number of air exchanges of 3.5h<sup>-1</sup> had four membrane microporus filters (pore diameter: 0.5 μm). Cultures were maintained in a room for 21 days at 25°C, 70% relative humidity, 2.0 mmol·mol<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub>, 16 h·d<sup>-1</sup> photoperiod and 160 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> photosynthetic photon flux density provided by cool-white fluorescent lamps. Net photosynthetic rate per plantlet on day 21 was the greatest in 4.5 mol·m<sup>-3</sup> with initial phosphorus concentration of MHA and dry weight per plantlet on day 21 was the greatest in 3 mol·m<sup>-3</sup> with initial phosphorus concentration of MHA. Fresh weight, percent dry matter, leaf area and transpiration rate per plantlet on day 21 were greater in MHA with initial total inorganic ion concentrations of 40 and 60 mol·m<sup>-3</sup> than in HA, MS and MHA with initial total inorganic ion concentrations of 20 and 80 mol·m<sup>-3</sup>. Forty and 60 mol·m<sup>-3</sup> with initial total inorganic ion concentration of MHA and initial phosphorus concentration of 3 and 4.5 mol·m<sup>-3</sup> gave significantly enhanced net photosynthetic rate and growth of the plantlet under photoautotrophic conditions.

(Received October 20, 1994)

1994年10月20日受付

緒 言

植物組織培養において、クロロフィルを有する培養小植物体（以下、小植物体）を換気回数が小さい培養器で培養すると、明期における培養器内のCO<sub>2</sub>濃度は大気

の平均濃度よりも200~250 μmol·mol<sup>-1</sup>低くなり、そ

の結果、小植物体の光合成が抑制される（富士原ら、1987; Desjardins *et al.*, 1988; Infante *et al.*, 1989）。このとき、培養器内のCO<sub>2</sub>濃度と光合成有効光量子束密度（photosynthetic photon flux density, 波長400~700 nm, 以下PPFDと略す）を同時に高めると、小植物体の純光合成速度が増大し（富士原ら、1987; Desjardins *et al.*, 1988; Infante *et al.*, 1989）、成長が促進され

(Desjardins *et al.*, 1988; Infante *et al.*, 1989; Kozai *et al.*, 1990), さらに順化時における小植物体の生存率を高めることができる (Laforge *et al.*, 1991). 炭素源である糖を培地に添加せずに培養 (光独立栄養培養) しても,  $\text{CO}_2$  濃度および PPFD を高めれば, 従来の従属栄養 (炭素源を培地の糖に依存する栄養様式) または光混合栄養 (炭素源を培地の糖および大気中の  $\text{CO}_2$  に依存する栄養様式) 培養した小植物体よりも生育が促進される場合のあることが報告されている (Cournac and Chagvardieff, 1992; Kozai and Iwanami, 1988a; Kozai *et al.*, 1988b).

光独立栄養培養では, 従来の従属栄養培養用に考案された Murashige and Skoog (1962) 培地 (以下, MS) 組成よりも養液栽培用に考案された培地組成により小植物体の成長が促進されることがある (Kozai *et al.*, 1988c; 古在ら, 1990). このことは, MS が光独立栄養培養用培地として必ずしも適しているとはいえないことを意味しており, 同時に光独立栄養培養における培地組成に関する研究の必要性を示唆している (古在ら, 1990).

本研究では, 光独立栄養培養に適した新たな培地組成を開発するための基礎データを得ることを目的とした. すなわち,  $\text{CO}_2$  濃度および PPFD を高めた環境条件下において, 従来の組織培養用の MS, 養液栽培分野で最も知られている培地組成である Hoagland and Arnon (Hoagland and Arnon, 1950) 溶液 (以下, HA) および, それらよりも成長促進に効果的であると予想された培地組成である Modified HA (以下, MHA: HA の無機イオン組成および総無機イオン濃度を改変; 本文中の材料および方法を参照) を用い, 光独立栄養培養条件下におけるイチゴ培養小植物体の純光合成速度および成長に及ぼす培地の初期無機イオン組成 (以下, たんに無機イオン組成) および初期総無機イオン濃度 (以下, たんに総無機イオン濃度) の影響を調べた.

## 材料および方法

### 1. 植物, 培養条件および試験区

植物はイチゴ (*Fragaria × ananassa* Duch. cv. Houkouwase) とした. 慣行による光混合栄養培養した増殖培養ステージ後期のイチゴ培養小植物体 (以下, 小植物体) を 2~3 枚の展開葉を含むように株分けし, 根を切り除いたものを外植体とした. 1 外植体当たりの生体重は約 30 mg になるように揃えた. 1 培養器当たりの外植体本数は 3 本とした (Table 1).

Fig. 1 に本実験で用いた培養システムを示す. 培養器は円柱型ポリカーボネイト製容器 (空気容積:  $7.5 \times 10^{-4}$

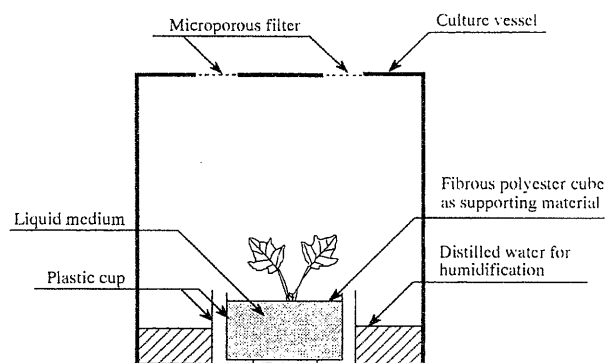


Fig. 1 Schematic diagram of the culture system.

$\text{m}^3$ ) を用い, 栓には直径 10 mm の穴を 4 個開け, 通気性のマイクロポラスフィルター (商品名: ミリシール, 孔径:  $0.5 \mu\text{m}$ , 直径: 18 mm, (株) ミリポア製) をそれぞれの穴に 1 個ずつ貼り付けた. 培養器の換気回数は  $3.5 \text{ h}^{-1}$  であった. ここで, 換気回数とは, 単位時間当たりの換気量を培養器の空気容積で除したものである (古在ら, 1986). 培養器の中には支持材のポリエステルキューブの入ったプラスチック製カップを 4 個入れ, 各カップ当たりの液体培地量を 13 ml とした. また, 培養器内には滅菌水を入れ培養器内の相対湿度を一定に保つようにした.

Table 1 に本実験における共通の培養条件を示す. 培養器は気温  $25^\circ\text{C}$ , 相対湿度 70% に保たれた培養室に置かれた. 光源には白色蛍光灯を用いた. 培養器内の培地面の高さにおける PPFD は  $160 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  とした. 明暗周期は 24 h, 明期は  $16 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$  とした. 培養室内の  $\text{CO}_2$  濃度は, 明期には  $2.0 \text{ mmol} \cdot \text{mol}^{-1}$  になるように制御を行い, 暗期には制御を行わなかった.

各試験区の培地組成を Table 2 に示す. 試験区は, 無機イオン濃度が 20, 40, 60 および  $80 \text{ mol} \cdot \text{m}^{-3}$  である MHA の 4 区 (それぞれ, MHA20 区, MHA40 区, MHA60 区および MHA80 区), HA 区および MS 区の計 6 試験区とした. MHA40 区は HA 区よりも  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  をそれぞれ 1.3, 1.5, 3.0, 1.1, 3.0, 1.5 倍に高めたものである. また, MHA40 区は MS 区よりも  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  をそれぞれ 1.3, 2.0, 2.3, 2.0 倍に高めたものである. なお, MHA20 区, MHA40 区, MHA60 区, MHA80 区および HA 区には, 微量無機塩類として  $\text{H}_3\text{BO}_3$  2.86,  $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  2.10,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  0.08,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.22,  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0.04 および Fe-EDTA  $23.1 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3}$  を添加した. いずれの試験区の培地にも有機成分 (糖, 成長調節物質, ビタミン, 有機酸など) を添加しなかった.

**Table 1** General description of the experimental conditions.

|                               |                                                                                            |
|-------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|
| Plant material                |                                                                                            |
| Species                       | Strawberry ( <i>Fragaria</i> × <i>ananassa</i> Duch. cv. Houkouwase)                       |
| Explant                       | 2-3 small leaves with leaf stalks, crown and virtually no roots, three explants per vessel |
| Vessel                        |                                                                                            |
| Type                          | Cylindrical polycarbonate vessel                                                           |
| Air volume                    | $7.5 \times 10^{-4} \text{ m}^3$                                                           |
| Number of air exchanges       | $3.5 \text{ h}^{-1}$                                                                       |
| Culture medium                |                                                                                            |
| Volume                        | $0.13 \times 10^{-4} \text{ m}^3$ per vessel                                               |
| Supporting material           | Fibrous polyester cube                                                                     |
| pH                            | 5.8 before autoclaving                                                                     |
| Growth regulators             | None                                                                                       |
| Sugar                         | None                                                                                       |
| Culture chamber               |                                                                                            |
| Air temperature               | $25 \pm 0.5^\circ\text{C}$                                                                 |
| Air relative humidity         | $70 \pm 5\%$                                                                               |
| Light source                  | Cool-white fluorescent lamps                                                               |
| Photoperiod                   | $16 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$                                                         |
| PPFD*                         | $160 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$                                |
| CO <sub>2</sub> concentration | $2.0 \pm 0.1 \text{ mmol} \cdot \text{mol}^{-1}$                                           |

\* PPFD, photosynthetic photon flux density on the medium surface.

**Table 2** Treatment codes, initial inorganic ion concentrations and initial total inorganic ion concentrations of the media used in the present experiment.

| Treatment code* | Inorganic ion concentration ( $\text{mol} \cdot \text{m}^{-3}$ ) |                  |                  |                              |                              |                                             |                               |                 | Total |
|-----------------|------------------------------------------------------------------|------------------|------------------|------------------------------|------------------------------|---------------------------------------------|-------------------------------|-----------------|-------|
|                 | K <sup>+</sup>                                                   | Ca <sup>2+</sup> | Mg <sup>2+</sup> | NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> | NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> | SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> | Cl <sup>-</sup> |       |
| MHA20           | 4.0                                                              | 2.0              | 1.5              | 1.5                          | 8.0                          | 1.5                                         | 1.5                           | 0.0             | 20    |
| MHA40           | 8.0                                                              | 4.0              | 3.0              | 3.0                          | 16.0                         | 3.0                                         | 3.0                           | 0.0             | 40    |
| MHA60           | 12.0                                                             | 6.0              | 4.5              | 4.5                          | 24.0                         | 4.5                                         | 4.5                           | 0.0             | 60    |
| MHA80           | 16.0                                                             | 8.0              | 6.0              | 6.0                          | 32.0                         | 6.0                                         | 6.0                           | 0.0             | 80    |
| HA              | 6.0                                                              | 4.0              | 2.0              | 1.0                          | 14.0                         | 1.0                                         | 2.0                           | 0.0             | 30    |
| MS              | 20.1                                                             | 3.0              | 1.5              | 20.6                         | 39.4                         | 1.3                                         | 1.5                           | 6.0             | 93    |

\* MHA, modified Hoagland and Arnon; HA, Hoagland and Arnon (1950); MS, Murashige and Skoog (1962). The number following MHA denotes initial total inorganic ion concentration of the medium. All MHA and HA contain  $2.86 \text{ H}_3\text{BO}_3$ ,  $2.10 \text{ MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ,  $0.08 \text{ CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ,  $0.22 \text{ ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $0.04 \text{ Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  and  $23.1 \text{ Fe-EDTA}$  (in  $\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$ ) as micronutrient sources.

## 2. 純光合成速度の算定

培養器内外の CO<sub>2</sub> 濃度の測定には、ガスクロマトグラフ ((株)島津製作所製, モデル GC12A) を用いた. 試験開始 21 日目 (以下, 21 日目) における培養器内外 CO<sub>2</sub> 濃度が一定とみなされる明期後半における培養器内の小植物体当たりの純光合成速度  $P_p$  ( $\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{h}^{-1} / \text{plantlet}$ ) は次式で近似される (富士原, 1988).

$$P_p = k \cdot V \cdot E \cdot (C_{\text{out}} - C_{\text{in}}) / n$$

ここで,  $k$  は  $25^\circ\text{C}$  における CO<sub>2</sub> の体積のモルへの変換係数 ( $1 \text{ m}^3 = 40.9 \text{ mol}$ ),  $V$  は培養器の空気容積 ( $\text{m}^3$ ),  $E$  は換気回数 ( $\text{h}^{-1}$ ),  $C_{\text{in}}$  および  $C_{\text{out}}$  は培養器内外の CO<sub>2</sub> 濃度 ( $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ ),  $n$  は培養器内の小植物体本数である.

## 3. 蒸散速度の算定

21 日目の明期約 10 時間における小植物体の入ったカップとブランクカップの重量減少速度の差および小植物

体当たりの炭素固定速度により、小植物体当たりの蒸散速度を算定した。小植物体当たりの蒸散速度  $T_p$  ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}\cdot\text{h}^{-1}/\text{plantlet}$ ) の算定式を以下に示す。

$$T_p = \{i \cdot (C_p - C_d) + (j \cdot P_p)\} / n$$

ここで、 $i$  は水のグラムからモルへの変換係数 ( $1\text{ g} = 55.6\text{ mmol}$ )、 $C_p$  は小植物の入ったカップの全重量減少速度 ( $\text{mg}\cdot\text{h}^{-1}$ )、 $C_d$  はブランクカップの全重量減少速度 ( $\text{mg}\cdot\text{h}^{-1}$ )、 $j$  は小植物体当たりの純光合成速度から小植物体当たり炭素固定速度への変換係数 ( $12.0 \times 10^{-3}\text{ gC}\cdot\text{mmol CO}_2^{-1}$ )、 $P_p$  は小植物体当たりの純光合成速度 ( $\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{h}^{-1}/\text{plantlet}$ )、 $n$  は培養器内の小植物体本数である。

#### 4. 成長量の測定および算定

試験開始時に、各試験区に値え付ける外植体の生体重を測定した。それらとは別の10本の外植体の生体重と乾物重を測定し、それらから試験開始時の外植体の平均乾物率を算出した。

21日目に各試験区の3培養器から小植物体を取り出し、その生体重と乾物重を茎葉部と根部に分けて測定した。乾物重は、生体重の測定後  $60^\circ\text{C}$  の恒温乾燥器内に72時間置いた後測定した。全生体重に対する全乾物重の比率(乾物率)および根部乾物重に対する茎葉部乾物重との比(S/R乾物重比)を算定した。試験開始時における外植体の平均乾物率は9.5%であった。また、試験終了時に葉面積を測定した。葉面積の測定にはパーソナルコンピュータ(PC-9801 VM, 日本電気(株)製)に画像入力カメラ(GT-20, セイコーエプソン(株)製)を接

続したものを用いた。

### 結果および考察

#### 1. 純光合成速度

21日目の明期後半における小植物体当たりの純光合成速度はMHA40区およびMHA60区で他の試験区より大となった(Fig. 2A, B)。MHA40区およびMHA60区の純光合成速度は、それぞれMHA80区の約4.4倍、4.6倍、HA区の約2.6倍、2.6倍、MS区の約1.6倍、1.6倍であった。MHA40区およびMHA60区は、MHA80区、HA区およびMS区との間で有意差が認められた。これらのことから、純光合成速度は総無機イオン濃度よりも無機イオン組成により強く影響を受けることが分かった(Fig. 2A)。純光合成速度は総無機イオン濃度  $40\sim60\text{ mol}\cdot\text{m}^{-3}$  範囲で大であった(Fig. 2A)。また、培地内の無機イオン組成の影響が強く、とくに純光合成速度は  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  濃度との相関が高く、光合成に有効な濃度範囲は  $3\sim4.5\text{ mol}\cdot\text{m}^{-3}$  であった(Fig. 2B)。MHA80区およびMS区の低い純光合成速度は総無機イオン濃度が高すぎたことがひとつの原因と考えられた(Fig. 2A)。HA区およびMS区の低い純光合成速度は培養末期における培地中の  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  欠乏によるものと考えられる。なお、乾物重当たりの純光合成速度は、試験区間で有意差が認められなかった。

純光合成速度と蒸散速度との関係をFig. 3に示す。純光合成速度と蒸散速度との間に正の直線相関がみられた。純光合成速度に対する蒸散速度の比( $T_p/P_p$  比)は

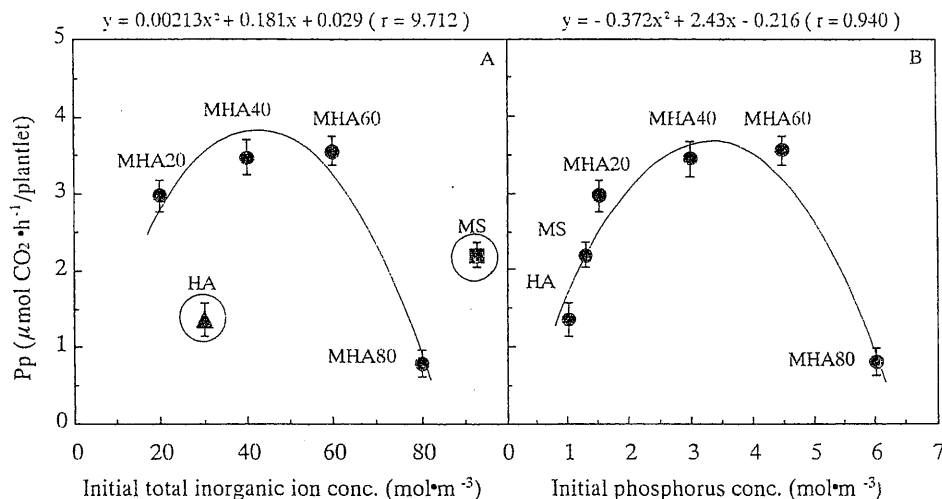
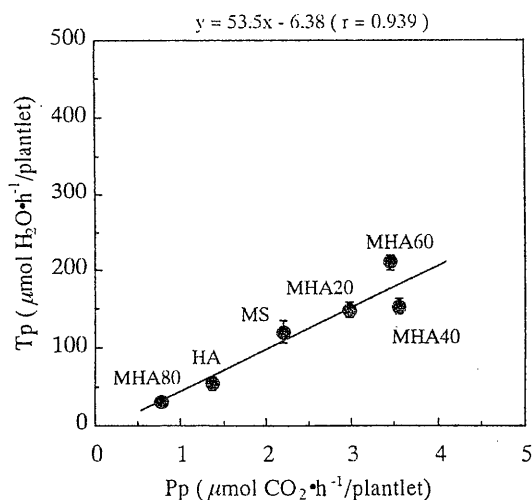


Fig. 2 Net photosynthetic rate of strawberry plantlets *in vitro* on day 21 as affected by initial total inorganic ion concentration (A) and initial phosphorus concentration (B) in the medium.

Each point is the mean of 3 replicates; vertical lines are  $\pm$ S.E.



**Fig. 3** Relationship between net photosynthetic rate and transpiration rate per plantlet of strawberry *in vitro* on day 21 as affected by initial inorganic ion composition and initial total inorganic ion concentration in the medium.

Each point is the mean of 3 replicates; vertical lines are  $\pm$ S.E.

30~70 の範囲であった。なお、この値は、圃場で生育中の植物体と比較すると約 1/10 程度である。  $T_p/P_p$  比が最大であったのは MHA60 区であった。

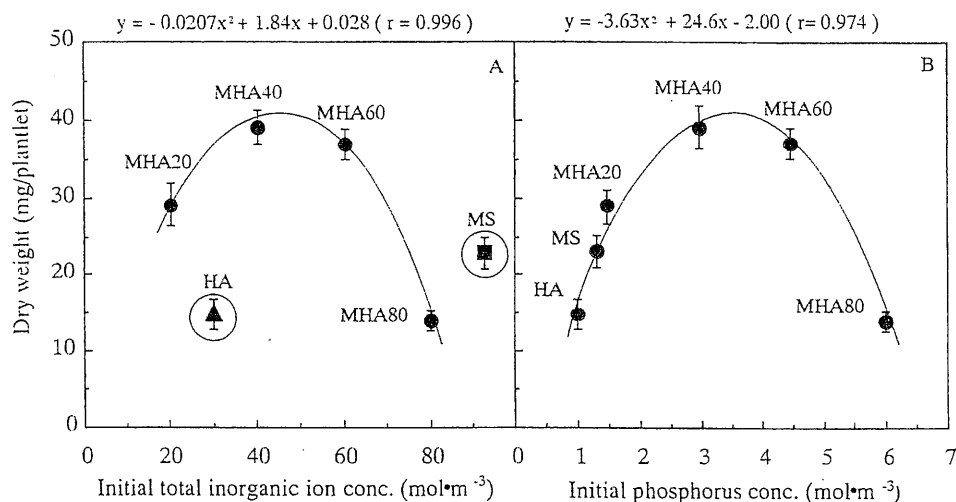
## 2. 成長量

### 2.1 乾物重、生体重および乾物率

21 日目における小植物体の乾物重を Fig. 4A に示す。小植物体当たりの乾物重は MHA40 区および MHA60 区

で他の試験区より大となり、それぞれ HA 区の約 2.6 倍、2.5 倍、MS 区の 1.7 倍、1.6 倍であった。MHA40 区および MHA60 区は HA 区、MS 区、MHA20 区および MHA80 区との間で有意差が認められた。21 日目における小植物体の生体重および乾物率を Table 3 に示す。小植物体当たりの生体重は乾物重と同様な傾向で、MHA40 区および MHA60 区で他の試験区より大となった。MHA40 区および MHA60 区は、それぞれ MHA80 区の約 2.5 倍、2.7 倍、HA 区の約 2.3 倍、2.4 倍であった。MHA40 区および MHA60 区は HA 区および MHA80 区との間で有意差が認められた。乾物率は、試験開始時 (9.5%) に比べて高く、MHA40 区で大となり、MS 区で小となった。MHA40 区は MS 区との間で有意差が認められた。

乾物重および生体重が MHA40 区および MHA60 区で他の試験区より大であったことの第 1 の原因は、純光合成速度が高かったことにありと考えられる。前述したとおり、明期の純光合成速度は MHA40 区、MHA60 区で最も高くなっている (Fig. 2 A, B)。第 2 の原因は、換気回数が高い培養器を用いることにより、蒸散促進に伴う無機イオン吸収が増大されたことによると推察される。すなわち、これらのことから小植物体の光独立栄養成長を促進させるためには、物理的培養環境とともに培地の化学的培養環境である培地組成の無機イオンが重要であると考えられる。HA 区および MS 区における  $H_2PO_4^-$  欠乏による成長抑制は光混合栄養培養においても観察されている (Tsuji *et al.*, 1993) (Fig. 4B)。



**Fig. 4** Dry weight of strawberry plantlets *in vitro* on day 21 as affected by initial total inorganic ion concentration (A) and initial phosphorus concentration (B) in the medium.

Each point is the mean of 3 replicates; vertical lines are  $\pm$ S.E.

## 2.2 葉面積, 比葉面積および S/R 乾物重比

小植物体当たりの葉面積は, MHA40 区および MHA60 区で他の試験区より大となり, MHA80 区で最小となった (Table 3). MHA40 区および MHA60 区の葉面積は, それぞれ MHA80 区の約 2.5 倍, 2.7 倍, HA 区の 2.0 倍, 2.1 倍, MS 区の 1.3 倍, 1.4 倍であった. MHA40 区および MHA60 区は, HA 区, MS 区, MHA20 区および MHA80 区との間で有意差が認められた. 小植物体当たりの比葉面積 (=葉面積/葉部乾物重) は, MHA20 区, MHA40 区, MHA60 区および MHA80 区で,  $189 \sim 197 \text{ cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ , HA 区で  $226 \text{ cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ , MS 区で  $222 \text{ cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$  であった. このことは, 培地の総無機イオン濃度によらず MHA の区の小植物体の葉は, HA 区および MS 区のそれに比べ, 厚くなったことを示している.

葉が厚かったことは葉の体積当たりの表面積が小さいことを表すものと考えられる. したがって, これらの試験区の小植物体は, 培養器外に移植した後も過剰に水分を損失することなく, 成長を継続し, その結果, 生存率が高まるものと推察される.

小植物体当たりの S/R 乾物重比は, 各試験区間には有意差が認められなかった (Table 3).

以上より, 培養器内外における小植物体の純光合成速度および成長を促進させるためには, 培養器内の物理的環境要因である PPFD および  $\text{CO}_2$  濃度などとともに培地の化学的環境要因である総無機イオン濃度および培地の無機イオン組成, とくに  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  濃度が重要であることが明らかになった. また, HA および MS 培地よりも修正 HA 培地 (とくに総無機イオン濃度  $40 \text{ mol} \cdot \text{m}^{-3}$  の修正 HA) が光独立栄養培養に適していることが示された.

今後は, 光独立栄養培養条件下における培養期間中の無機イオン濃度の経時変化を詳細に調べ, 培養小植物体の純光合成速度および成長を最大とする培地無機イオン組成策定のための基本データを蓄積する必要がある. また, 光独立栄養培養条件下における培養小植物体の種類によって培地内の初期  $\text{NH}_4^+:\text{NO}_3^-$  比が培養小植物体の生長に及ぼす影響は大きいので (Yang *et al.*, 1992), イチゴ培養小植物体についても今後検討が必要であろう.

## 摘 要

光独立栄養条件下におけるイチゴ (*Fragaria × ananassa* Duch. cv. Houkouwase) 培養小植物体の純光合成速度および成長に及ぼす培地の初期無機イオン組成 (modified Hoagland and Arnon, MHA; Hoagland and Arnon, HA; Murashige and Skoog, MS) および MHA の初期総無機イオン濃度 (20, 40, 60 および  $80 \text{ mol} \cdot \text{m}^{-3}$ ) の影響を調べた.

総無機イオン濃度  $40 \text{ mol} \cdot \text{m}^{-3}$  の MHA は HA よりも  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  をそれぞれ 1.3, 1.5, 3.0, 1.1, 3.0, 1.5 倍に高めたものである. 20, 40 および  $60 \text{ mol} \cdot \text{m}^{-3}$  の MHA は  $80 \text{ mol} \cdot \text{m}^{-3}$  の MHA を希釈したものである. 発根ステージにある小植物体を株分けしたものを外植体とし, それらをポリカーボネイト製培養器内で培養した. 培養器には通気性マイクロポーラスフィルター (孔径:  $0.5 \mu\text{m}$ ) を 4 個貼り付けた (換気回数:  $3.5 \text{ h}^{-1}$ ). 培養器は気温  $25^\circ\text{C}$ , 相対湿度 70%,  $\text{CO}_2$  濃度  $2.0 \text{ mmol} \cdot \text{mol}^{-1}$ , 明期  $16 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ , 光合成有効光量子束密度  $160 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  (光源: 白色蛍光灯) 下に置いた.

試験開始 21 日目における小植物体当たりの純光合

**Table 3** Fresh weight (Wf), percent dry matter (DM), leaf area (LA), shoot/root dry weight (S/R Wd) ratio of strawberry plantlets *in vitro* on day 21 as affected by the initial inorganic ion composition and initial total inorganic ion concentration in the medium.

| Treatment code* | Wf (mg/plantlet) | DM (%) | LA ( $\text{cm}^2$ ) | S/R Wd ratio |
|-----------------|------------------|--------|----------------------|--------------|
| MHA20           | 181ab**          | 16ab   | 5.7bc                | 5.2a         |
| MHA40           | 222a             | 18a    | 6.8a                 | 6.1a         |
| MHA60           | 237a             | 16ab   | 7.2a                 | 6.1a         |
| MHA80           | 88c              | 16ab   | 2.7d                 | 5.3a         |
| HA              | 98c              | 15ab   | 3.4cd                | 4.7a         |
| MS              | 174ab            | 13b    | 5.1bc                | 6.2a         |

\* MHA, modified Hoagland and Arnon; HA, Hoagland and Arnon (1950); MS, Murashige and Skoog (1962). The number following MHA denotes initial total inorganic ion concentration of the medium. \*\* Means followed by the same letter in each column are not significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test.

成速度は  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  濃度  $4.5 \text{ mol} \cdot \text{m}^{-3}$  で最大で、乾物重は  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  濃度  $3 \text{ mol} \cdot \text{m}^{-3}$  で最大となった。小植物体当たりの生体重、乾物率、葉面積、および蒸散速度は初期総無機イオン濃度 40 および  $60 \text{ mol} \cdot \text{m}^{-3}$  の MHA で HA, MS, 初期総無機イオン濃度 20 および  $80 \text{ mol} \cdot \text{m}^{-3}$  の MHA より大となった。初期総無機イオン濃度 40 および  $60 \text{ mol} \cdot \text{m}^{-3}$  の MHA および初期  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  濃度 3 および  $4.5 \text{ mol} \cdot \text{m}^{-3}$  の MHA は、HA および MS よりも小植物体の純光合成速度および成長を促進させることが明らかになった。

## 文 献

- Cournac, L., Chagvardieff, P. 1992. Improvement of photoautotrophic *Solanum tuberosum* plantlet culture by light and  $\text{CO}_2$ : Differential development of photosynthetic characteristics and varietal constraints. *Acta Hortic.* **319**: 53-58.
- Desjardins, Y., Laforge, F., Lussier, C., Gossein, A. 1988. Effect of  $\text{CO}_2$  enrichment and high photosynthetic photon flux on the development of autotrophy and growth of tissue-cultured strawberry, raspberry and asparagus plantlets. *Acta Hortic.* **230**: 45-53.
- 富士原和宏 1988. 培養器内  $\text{CO}_2$  濃度が一定である場合の培養小植物体の  $\text{CO}_2$  交換速度の算定法. *植物組織培養* **5**: 104-106.
- 富士原和宏・古在豊樹・渡部一郎 1987. 培養小植物体を含む閉栓容器内の炭酸ガス濃度測定と培養小植物体の純光合成速度の推定. *農業気象* **43**: 21-30.
- Hoagland, D. R., Arnon, D. I. 1950. "The Water Culture Method for Growing Plantlets without Soil," Calif. Agro. Exp. Sta. Univ of Calif., Berkeley. 32 pp.
- Infante, R., Magnanini, E., Righetti, B. 1989. The role of light and  $\text{CO}_2$  in optimising the conditions for shoot proliferation of *Actinidia deliciosa* in vitro. *Physiol. Plant.* **77**: 191-195.
- 古在豊樹・富士原和宏・渡部一郎 1986. 栓および容器が閉栓培養器内外間のガス交換速度に及ぼす影響. *農業気象* **42**: 119-127.
- Kozai, T., Iwanami, Y. 1988a. Effect of  $\text{CO}_2$  enrichment and sucrose concentration under high photon fluxes on plantlet growth of carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) in tissue culture during the preparation stage. *J. Jpn. Soc. Hortic. Sci.* **57**: 279-288.
- Kozai, T., Koyama, Y., Watanabe, I. 1988b. Multiplication of potato plantlets *in vitro* with sugar-free medium under high photosynthetic photon flux. *Acta Hortic.* **230**: 121-127.
- Kozai, T., Kubota, C., Watanabe, I. 1988c. Effects of basal medium composition of the growth of carnation plantlets in auto- and mixo-trophic tissue culture. *Acta Hortic.* **230**: 121-127.
- 古在豊樹・久保田智恵利・渡部一郎 1990. 異なる培地基礎成分を用いて光独立栄養培養および混合栄養培養したカーネーション小植物体の生長. *生物環境調節* **28**: 21-27.
- Kozai, T., Oki, H., Fujiwara, K. 1990. Photosynthetic characteristics of *Cymbidium* plantlet in vitro. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* **22**: 205-211.
- Laforge, F., Lussier, C., Desjardins, Y., Gosselin, A. 1991. Effect of light intensity and  $\text{CO}_2$  enrichment during in vitro rooting on subsequent growth of plantlets of strawberry, raspberry and asparagus in acclimatization. *Sci. Hortic.* **47**: 259-269.
- Murashige, T., Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* **15**: 473-497.
- Tsuji, K., Nagaoka, M., Ito, H. 1993. Growth promotion of carrot plantlets *in vitro* by adding supplements of phosphate to MS medium. *Environ. Control in Biol.* **31**: 155-160.
- Yang, C. S., Kozai, T., Jeong, B. R. 1992. Medium  $\text{NH}_4^+$ :  $\text{NO}_3^-$  ratio and ion level affect photoautotrophic growth of carnation and potato plantlets *in vitro*. *Abstr. Annu. Mett. Korean Soc. Hortic. Sci.* **10**: 130-131.