

## サトイモの凍結保存

中島寿亀・古賀亮<sup>1)</sup>・國武久登・森 欣也・田中政信 (佐賀県農業試験研究センター<sup>1)</sup> 佐賀大学農学部)Toshiki NAKASHIMA, Ryouti KOGA, Hisato KUNITAKE, Kinnya MORI and Masanobu TANAKA :  
Cryopreservation of Taro (*Colocasia esculenta* Schott)

現在、サトイモの遺伝資源は圃場栽培により維持されているが、そのために多大な努力と経費が必要であり、また気象災害や病虫害等による消失の危険性もある。演者らは、安全かつ効率的な長期保存技術としてサトイモの凍結保存法を確立するために、カルスを用いて凍結法、前培養条件、凍害防御剤処理時間について検討し、その結果に基づき芽の凍結保存を試みた。

## 1. 材料及び方法

(1) 凍結法：材料として「筍芋」の茎頂由来のカルスを用いた。カルスは、Picloram 1 mg/1 と ABA 1 mg/1 を添加したMS固形培地で誘導し、0.6mm以下の細胞塊を選抜した後、同組成の液体培地で1週間ごとに継代培養し供試した。凍結法はガラス化法、暖速予備凍結法、簡易凍結法の3手法とし、第1表に示した種々の条件で凍結した。(2) 前培養培地：材料として試験1と同様のカルスを用いた。前培養培地としてシヨ糖0.4M、プロリン0.5M、ABA10mg/1及びプロリン1mM+ABA1mg/1の4区を設けた。前培養期間は、シヨ糖0.4M区では2日間、他の3区では7日間とし、簡易凍結法により凍結した。(3) 凍害防御剤処理時間：材料として試験1と同様のカルスを用いた。前培養は、プロリン1mM+ABA1mg/1の培地で7日間行った。凍害防御剤(グリセリン2M、シヨ糖0.4M)処理区として、0、5、10、20、30分の5区を設け、簡易凍結法により凍結した。(4) 芽の凍結：材料として「筍芋」の無菌植物より採取した芽を用いた。無菌植物は暗黒条件下で培養し、伸長した黄化茎を一節ずつ芽を付けて切断して供試した。

第1表 凍結保存方が凍結後のサトイモのカルスの生存に及ぼす影響

凍結保存法	試験内容	結果
ガラス化法	PVS2液処理時間 (0~60分)	全カルス枯死
	Loading液種類 (5種類)	全カルス枯死
	前培養シヨ糖濃度 (0.1~1M)	全カルス枯死
暖速予備凍結法	前培養培地種類 (4種類)	全カルス枯死
	凍害防御剤種類 (2種類)	全カルス枯死
簡易凍結法	凍害防御剤種類 (0~20分)	0分で8%生存

第2表 前培養培地が凍結後のサトイモのカルスの生存に及ぼす影響

前培養培地	供試数	生存数	生存率(%)
シヨ糖0.4M	20	0	0
プロリン0.5M	20	0	0
ABA10mg/1	20	2	10
プロリン1mM+ABA1mg/1	20	9	45

凍結法は簡易凍結法とし、前培養はプロリン1mM+ABA1mg/1の培地で7日間、凍害防御剤処理は20分間行い、-30℃で1時間凍結脱水した後液体窒素内に投入した。

## 2. 結果及び考察

(1) 融解直後のカルスは、凍結前と同様に黄色を呈していたが、培養3日後にはほとんどが白化した。ガラス化法及び暖速予備凍結法で凍結したカルスは、いずれの区も全て枯死したが、簡易凍結法の凍害防御剤無処理区では培養約1か月後から白化したカルスの一部に微量なカルスの増殖が認められ、2か月後の生存率は8%となった(第1表)。(2) プロリン1mM+ABA1mg/1添加区及びABA10mg/1添加区では、融解・培養約1か月後から白化したカルスの一部に微量なカルスの増殖が認められ、2か月後の生存率は各々45%と10%となった(第2表)。しかしながら、他の2区ではカルスの生存は認められなかった。(3) 培養2か月後の生存率20分区で47%と最も高率であり、次いで10分区の45%、30分区の20%、5分区の3%であった(第3表)。(4) 融解直後の芽は緑色であったが、水浸状でかなり軟化していた。培養後は徐々に退色し、約1週間で白化した。その後、芽の伸長は認められなかったが、培養約3週間後から白化した芽の一部に根の発生が認められた(第4表)。発生した根は緑色で、生長は極めて緩慢であった。

以上の結果、芽の組織も液体窒素内で生存できることが認められ、今後、凍結のための諸条件についてさらに検討することにより、サトイモの芽の凍結保存も可能になるものと考えられた。

第3表 凍害防御<sup>2)</sup>の処理時間がサトイモのカルスの生存に及ぼす影響

処理時間	供試数 <sup>1)</sup>	生存数	生存率(%)
0	40	0	0
5	40	1	3
10	20	9	45
20	30	14	47
30	40	8	20

注) x) カルス誘導培地+グリセリン2M、シヨ糖0.4M  
y) カルスは、約5mm塊を1つとした

第4表 簡易凍結法で凍結したサトイモの芽の生存率

供試数	生存数	生存率(%)
60	20	3