



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

サンダーソニア (*Sandersonia aurantiaca* Hook.) の *in vitro* での生育特性

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2022-06-08 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 福井, 博一, 服部, 澄子, 中村, 三夫 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/5532

サンダーソニア (*Sandersonia aurantiaca* Hook.) の *in vitro*での生育特性

福井博一・服部澄子・中村三夫

生物生産制御学講座
(1993年7月20日受理)

In Vitro Growth of *Sandersonia aurantiaca* Hook.

Hirokazu FUKUI, Sumiko HATTORI and Mitsuo NAKAMURA

Department of Controlled Plant Production
(Received July 20, 1993)

SUMMARY

The *in vitro* growth of *Sandersonia aurantiaca* Hook was investigated. Development in embryo culture included germination-like growth, development of adventitious buds and formation of adventitious roots. The germination-like growth had shoot elongation and rooting, which was promoted by Gibberellin₃ (GA₃), and the explants formed bulblets after twelve-weeks culturing. The development of the adventitious bud was promoted by 6-Benzylaminopurine (BAP), and the formation of the adventitious roots by α -Naphthalenacetic acid (NAA).

Adventitious buds turned their mass through subculturing. The applications of BAP with NAA increased the fresh weight of the mass of adventitious buds. NAA also accelerated their browning. Therefore, the best medium for their growth was one containing BAP 0.1 μ M.

The bud burst from bulblets was accelerated by GA₃. The burst bud showed first shoot elongation, then formation of the new bulblet. The NAA did not accelerate the bud burst, but promoted intensively bursting of bud from a bulblet and accelerated the formation of many new bulblets from a bulblet.

Res. Bull. Fac. Agr. Gifu Univ. (58) : 57-63, 1993

要 約

球根切り花としての需要が高まっているサンダーソニア (*Sandersonia aurantiaca* Hook.) の *in vitro*での大量増殖を行うにあたり、*in vitro*での生育特性を調査した。胚培養を行った結果、胚は発芽的生長、不定芽形成、不定根形成の3種類の発育を行い、発芽的生長はGA₃によって促され、その後子球を形成した。不定芽形成はBAPによって促進され、不定根形成はNAAの添加によって促進された。

不定芽は継代培養によって増殖し、BAPとNAAを同時に添加することによって不定芽の生体重が増加した。しかし、同時に不定芽の褐変も観察され、NAAの添加によって褐変が著しくなったことから、正常な不定芽が多量に形成される区はBAP 0.1 μ M単独添加区のみであることが明らかとなった。

胚培養で形成された子球からの出芽はGA₃によって促進され、シュート伸長が観察された後、新たな子球形成が認められた。NAAを添加した場合、出芽球数は少なかったが、1子球から複数の出芽を促し、多数の新たな子球を形成させた。

緒 言

サンダーソニア (*Sandersonia aurantiaca* Hook.) は南アフリカ原産のユリ科の球根植物で、近年切り花としての需要が高まりつつある。サンダーソニアの種苗の増殖は主に分球と実生繁殖が用いられているが、分球による増殖率は低く、一般には実生繁殖が行われている。サンダーソニアは種子稔性が高く、多

くの種子を採取できるが、その発芽率が著しく低く、発芽後の球根養成に2年以上を必要とすることから、種苗生産コストの面からそのほとんどが海外からの輸入に頼っており、国内での安定した種苗の供給方法の確立が望まれている。

球根植物の種苗の大量生産方法の1つとして組織培養による大量増殖が試みられており、ユリ、グラジオラスなどで実用化されている¹⁾。そこで本研究では、サンダーソニアの *in vitro* での大量増殖を行うための基礎資料としてその *in vitro* での生育特性を調査した。

材料および方法

1. 胚培養

1990年4月5および6日に人工受粉を行い結実させた果実から種子を採取し、有効塩素1%の次亜塩素酸ナトリウム (*tween* 20を0.01%になるように添加) で15分間表面殺菌し、滅菌水で3回以上洗浄した後、約1時間吸水させ、実体顕微鏡下で無菌的に胚を摘出し、培地に置床した。

培地は、基本培地として Murashige & Skoog の処方²⁾の培地 (以下 MS 培地とする) を用い、これに α -Naphthaleneacetic acid (NAA), Gibberellic acid (GA_3), 6-Benzylaminopurine (BAP) をそれぞれ 0~10 μ M の濃度で添加し、寒天0.8%およびショ糖3%を加え、pH 5.8に調整した。培養条件は20 \pm 1 $^{\circ}$ C, 暗黒条件で6週間培養を行い、反復数は20個体とした。

2. 不定芽の培養

胚培養によって形成された不定芽を GA_3 0.32 μ M, ショ糖6%, 寒天0.8%添加した MS 培地で10~13代継代培養し、増殖させた不定芽を約7mm角に調整したものを供試材料とした。培地は MS 培地に NAA と GA_3 および NAA と BAP を組み合わせて添加し、さらにショ糖6%と寒天0.8%を加えたものを用いた。反復数は12個体とし、培養条件は20 \pm 1 $^{\circ}$ C, 3000lux, 16時間日長とした。培養期間は12週間とし、培養開始6週後に同じ組成の培地に移植を行った。

3. 子球の培養

胚培養によって得られた発芽的生長個体由来の子球を GA_3 0.32 μ M, ショ糖6%, 寒天0.8%添加した MS 培地に移植し、増殖させた子球径5mmのものを供試材料とした。培地は MS 培地に NAA, GA_3 , および BAP を 0~1.0 μ M の濃度で添加し、さらにショ糖6%と寒天0.8%を加えたものを用いた。反復数は11個体とし、培養条件は20 \pm 1 $^{\circ}$ C, 3000lux, 16時間日長とした。培養期間は12週間とし、培養開始6週後に同じ組成の培地に移植を行った。

結 果

1. 胚培養

培養した胚の発育様式は、(1)シュートと根の生長を同時に行う発芽的生長、(2)不定芽形成、(3)不定根形成の3種類に大別できた(第1図)。供試したサンダーソニアの胚の生長個体率は著しく低く、最も生長個体率が高いものでも17%であった。この生長が認められたもののうち発芽的生長を示したものは、第1表に示すように GA_3 の添加によって促され、0.32 μ M 添加区で最も高く無添加区の約2.5倍を示した。しかし、 GA_3 濃度が高まるに従いその促進効果は認められなくなり、10.0 μ M 添加区では無添加区より少なくなった。BAP 添加区での発芽的生長個体率は0.32 μ M 添加区で無添加区に比べて高かったものの、全体として発芽的生長を促進する効果があるとはいえなかった。NAA についても同様で、特に NAA 高濃度添加区では著しく発芽的生長が抑制された。これらの発芽的生長が認められた個体は、その後子球形成が認められた(第1図)。

不定芽が形成された個体は極めてわずかであったが、第1表に示すように BAP 低濃度添加区で多くなる傾向が認められ、BAP が胚からの不定芽形成を促進する効果が認められた。不定根形成は NAA の添加によって著しく促進された(第1表)。

2. 不定芽の培養

胚培養の結果得られた不定芽の生体重に及ぼす生長調節物質の影響を第2, 3図に示した。 GA_3 あるいは

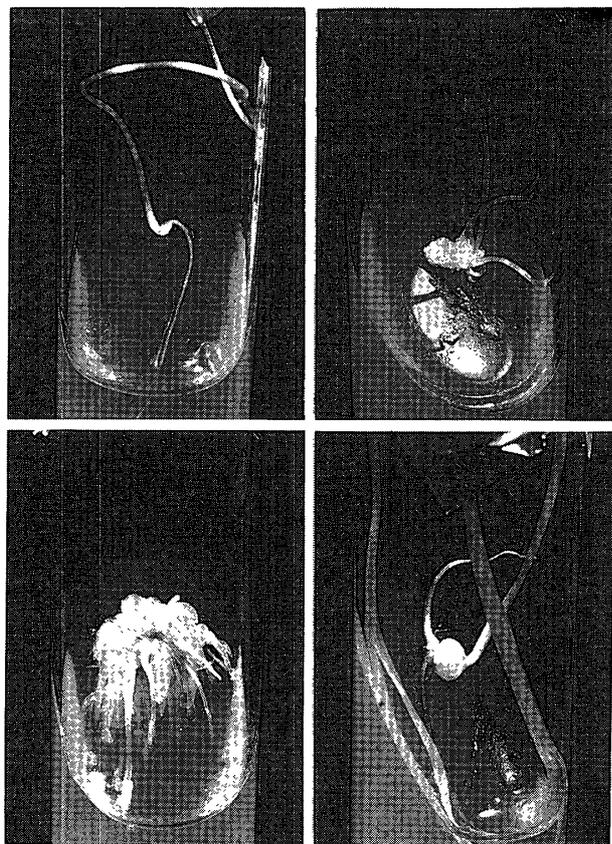


Fig.1. Development of embryos *in vitro*.

- A : Germination-like growth
- B : Development of adventitious bud.
- C : Formation of adventitious root.
- D : Formation of bulblet

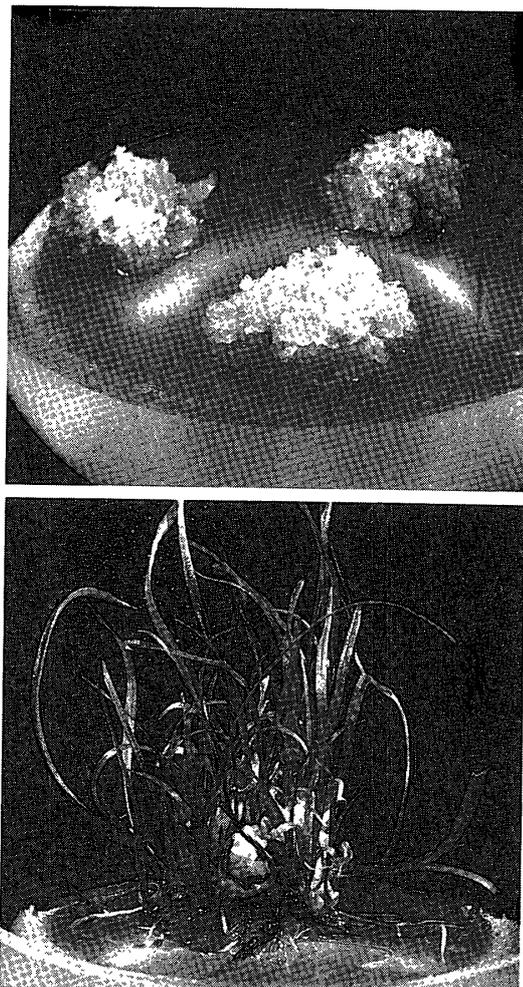


Fig.2. Growth of mass of adventitious buds and formation of shoots from mass of adventitious buds.

BAP 無添加の NAA 単独添加区についてみると、NAA 無添加区（生長調節物質無添加区）で0.83 gを示したが、NAA が添加されると0.5 g前後となり、NAA 単独添加の場合には NAA は不定芽の増殖を抑制する傾向が認められた。GA₃についてみると、同時に加えた NAA 濃度に関わらず、生長調節物質無添加区と比較して生体重が多くなる区はほとんどみられず、GA₃は不定芽の増殖を促進するとはいえなかった。しかし、BAP では生長調節物質無添加区より生体重が大きくなる区が認められ、特に BAP 0.1 μM 単独添加区あるいは NAA 10.0 μM 併用区で1.0 g以上の生体重を示し、BAP の不定芽増殖促進作用が認められた。しかし、BAP の不定芽増殖促進作用は BAP の濃度が高くなるに従い低下した。

12週間の培養後には褐変したものが多数認められたため、褐変した不定芽の生体重を測定し、第4図に示した。生長調節物質無添加区での褐変した不定芽の生重は0.34 gであった。NAA 単独添加区についてみると NAA 10.0 μM 添加区で0.50 gと褐変した不定芽が多くなり、第3図の総生体重との比較から、ほとんどの不定芽が褐変していたことが明らかとなった。GA₃と NAA を同時に加えた場合についてみると、生長調節物質無添加区と比較して、GA₃を添加すると不定芽の褐変が少なくなる傾向が認められ、GA₃ 10.0 μM 単独添加区での褐変した不定芽の生重は0.13 gで、第3図との比較から、0.63 gの不定芽のうち0.40 gは正常な不定芽であったことが明らかとなった。しかし、この GA₃の褐変抑制効果は NAA の添加によって打ち消され、NAA 濃度が高くなるに従い褐変した不定芽の生重は大きくなり、NAA 10.0 μM を同時に添加した区での褐変した不定芽の生重はいずれの場合でも0.50 g前後を示した。BAP と NAA と

Table 1. Effect of growth regulators on development of embryo *in vitro*.

		Germination like growth	Development of adventitious bud	Formation of adventitious root
Growth regulators free		3.3%	1.7%	1.7%
GA ₃	0.1 (μ M)	0.0	0.0	0.0
	0.32	8.3	3.3	1.7
	1.0	3.3	0.0	3.3
	3.2	3.3	0.0	1.7
	10.0	1.7	0.0	1.7
BAP	0.1 (μ M)	1.7	3.3	1.7
	0.32	5.0	0.0	6.7
	1.0	0.0	3.3	0.0
	3.2	3.3	1.7	0.0
	10.0	1.7	0.0	0.0
NAA	0.1 (μ M)	5.0	0.0	11.7
	0.32	0.0	0.0	13.3
	1.0	1.7	1.7	8.3
	3.2	0.0	0.0	11.7
	10.0	0.0	0.0	6.7

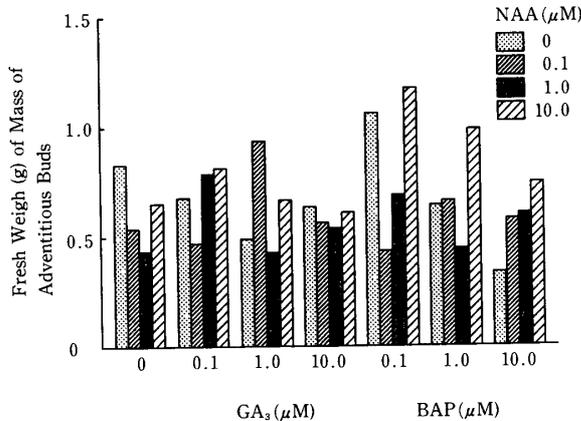


Fig.3. Effect of plant growth regulators on fresh weight of mass of adventitious buds.

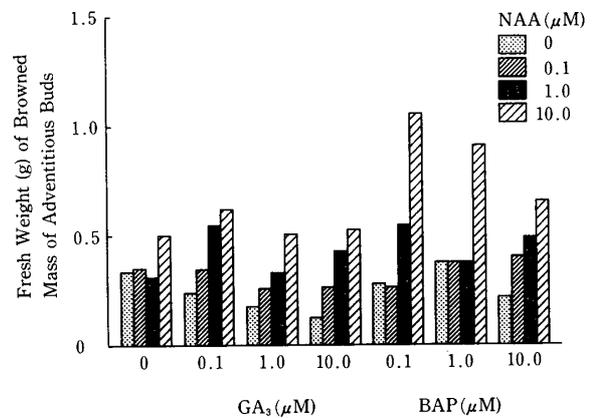


Fig.4. Effect of plant growth regulators on browning of mass of adventitious buds.

を同時に添加した場合についてみると、NAA の褐変促進効果が著しく大きくなり、特に NAA 10.0 μ M 添加区での褐変した不定芽の生重は極めて大きく、第 3 図の総生体重との比較から、NAA 10.0 μ M 添加区の不定芽のほとんどが褐変していた。したがって、正常な不定芽が多量に形成された培養区は BAP 0.1 μ M 単独添加区のみであることが明らかとなった。

褐変していない正常な不定芽の中には第 2 図に示すような黄白色のシュートの伸長が認められないものとシュートの伸長が盛んにみられるものに大別できた。シュートの伸長を伴わない黄白色の不定芽の生重は第 5 図に示すように NAA の高濃度の添加によって著しく小さくなった。全培養区の中で、シュートの伸長を伴わない黄緑色の不定芽重が最も大きかった培養区は、BAP 0.1 μ M 単独添加区で、第 3 図との比

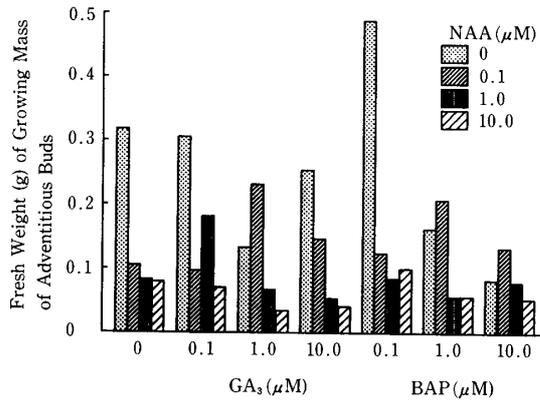


Fig.5. Effect of plant growth regulators on growing of mass of adventitious buds without shoots. The growing mass of adventitious buds was cream color.

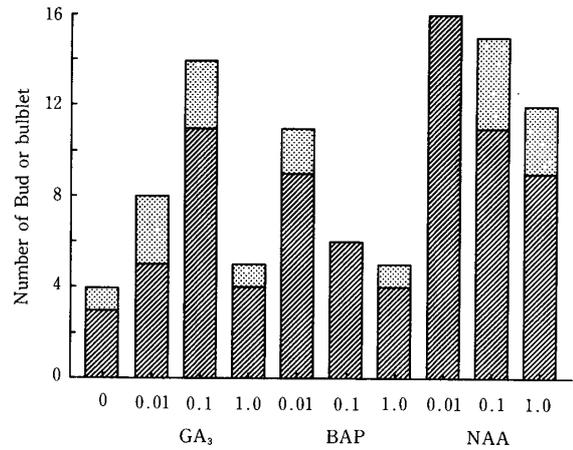


Fig.7. Effect of plant growth regulators on number of bud or new formed bulblet from bulblet. The dotted pattern indicate the number of bud without new foumed bulblet. The shading pattern indicate the number of bud with new formed bulblet.

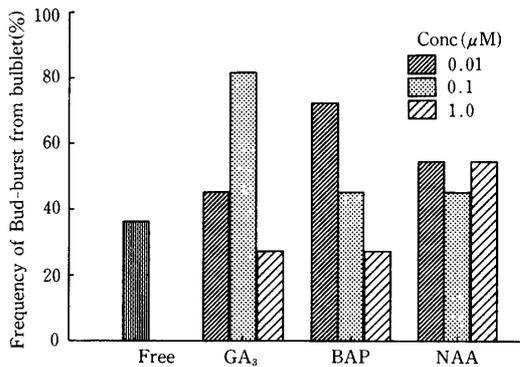


Fig.6. Effect of plant growth regulators on bud-burst from bulblet.

較から約半量がこの不定芽で占められていたことが明らかとなり、シュートの伸長を伴わない不定芽塊の増殖には BAP 0.1 μ M 単独添加が最も適していることが明らかとなった。シュートの伸長が認められる不定芽の生重についてみると、GA₃添加区で多くなる傾向があり、GA₃10.0 μ M 単独添加区での生体重が最も大きかった。

3. 子球の培養

胚培養で得られた子球を培養し、子球からの出芽に及ぼす生長調節物質の影響をみたものが第6図である。生長調節物質無添加区でも36%の子球から出芽が認められた。生長調節物質ごとに濃度と出芽率との関係を見ると、GA₃は0.1 μ M区で82%の高い出芽率を示し、GA₃の出芽促進効果が認められた。BAPでは0.01 μ M区で73%の出芽率を示し、低濃度での出芽促進効果が明らかとなった。NAAについては

いずれの濃度でも50%前後の出芽率を示し、生長調節物質無添加区に比べて高かったものの、出芽促進

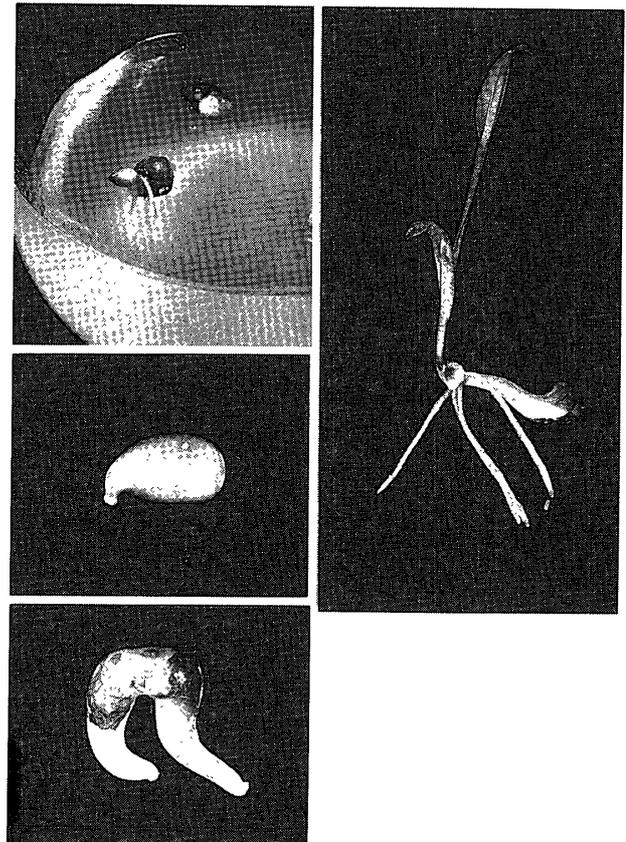


Fig.8. Growth from bulblet *in vitro*

- A : Bud burst from bulblet
- B : Shoot elongation and formation of bulblet
- C, D : New formed bulblet

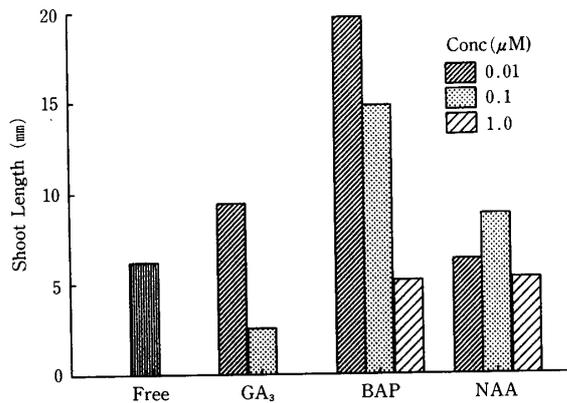


Fig. 9. Effect of plant growth regulators on shoot elongation from bulblet

示すように新たな子球を形成し、形成した子球数と生長調節物質との関係を見ると(第7図)、生長調節物質無添加区では3個の子球しか形成されなかったが、GA₃0.1μM 添加区および BAP 0.01μM 添加区ではそれぞれ11個、9個の子球が形成された。一方 NAA 0.01μM 添加区では出芽したシュートの全てが子球を形成し、最大の16個の子球が形成され、NAA の子球形成促進効果が明らかとなった。したがって、子球の増殖培地として NAA 0.01μM の添加が効果的であることが明らかとなった。

出芽した球根からのシュートの伸長と生長調節物質との関係を示したものが第9図である。生長調節物質無添加区でのシュート長は6mmであったのに対し、BAP 0.01μM 添加区では20mmと著しく長く、BAP 低濃度でのシュート伸長促進効果が明らかとなった。GA₃および NAA は生長調節物質無添加区と比較して促進効果があるとはいえなかった。

考 察

植物体の増殖を目的として初代培養を行う場合、一般に茎頂組織が用いられることが多いが、多くの球根植物では茎頂組織は1母球当たり1個しか存在せず、ウィルスフリーを目的とした場合を除いて茎頂組織を大量増殖に用いた例は少ない。このため球根植物では、さまざまな器官を用いて大量増殖が行われている¹⁻⁴⁾。

胚培養は、主に育種を目的として行われており、ハクラン⁵⁾やユリの遠縁種間雑種⁶⁾など多くの種間交雑種が作り出されているが、ササユリでは大量増殖を目的として胚培養が行われている⁷⁾。サンダーソニアでは多数の茎頂組織を得ることはコスト面から極めて困難であるが、容易に多数の種子が得られるため、胚培養は極めて容易である。大量増殖を目的とした場合の胚培養の利点として、適切な休眠打破の方法が確立していない難発芽性の種子からの植物体の獲得が挙げられるが、サンダーソニアは種子の休眠が著しく深く、この点からも胚培養が初代培養の方法として適しているものと考ええる。

胚培養による初代培養での発育形態として、生長点塊(不定芽塊)を形成する場合と⁷⁾、発芽的生長がみられる場合がある⁶⁾。本研究でのサンダーソニアの胚培養での形態には両者が観察された。

成熟した胚を供試材料として用いた場合には、生長調節物質無添加においても発芽的生長が認められるが^{8,9)}、本研究での場合のように未熟胚の場合には GA₃ の添加が必要であった。したがって成熟した胚では胚自体のジベレリン生合成能が高く、培地への GA₃ の添加が不要であったのに対し、未熟なものでは胚自体のジベレリン生合成能が低かったため、GA₃ の発芽的生長促進作用が認められたものと考ええる。

サンダーソニアの種子は前述のように休眠が深く、発芽に1~2年を要するといわれている。しかし本研究において、培養した胚は休眠が認められず、6週間後には生育がみられた。したがって、サンダーソニアの種子の休眠現象には胚は関与しておらず、胚乳あるいは種皮に含まれる生長抑制物質が関係しているものと考ええる。

栽培中のサンダーソニアの球根は、収穫時にはすでに休眠が開始されており、球根を出芽させるために

効果が高いとはいえなかった。出芽した球根の中には複数のシュートが認められたため、出芽数と生長調節物質との関係を見たものが第7図である。生長調節物質無添加での出芽数は4個と少なかったが、GA₃0.1μM 添加区では第6図の出芽率の傾向と同様に14個と著しく多く、BAP 0.01μM 区でも同様に11個と多かった。NAA についてみると、第6図に示すように出芽率が高くなかったにも関わらず最大16個の出芽が認められ、NAA 添加区では1個の球根から複数の出芽が認められるものが多数あり、NAA は出芽自体を促進する作用はないものの、出芽したものについては多数の出芽を促進する作用があるものと推察できた。出芽した球根は、第8図に

は低温処理などの休眠打破処理が不可欠である。しかし、胚培養あるいは継代培養中に *in vitro* で形成された子球は、培養6週間後にはすでに出芽し始めており、生長調節物質無添加区においても30%以上の出芽個体が認められた。したがって、*in vitro* で形成された子球は、圃場で栽培された球根とは異なり、極めて浅い休眠状態となっているものと考えられる。この *in vitro* で形成された子球は、GA₃0.1μM や BAP 0.01μM を添加した培養区で高い出芽率を示したことから、これらの生長調節物質は子球の休眠打破作用を持つと考えられ、圃場で収穫された球根の休眠打破にもこれらの生長調節物質の利用が可能であると考ええる。

本研究において、胚から不定芽が形成された。一般に植物組織からの不定芽形成にはオーキシンとサイトカイニンの相互作用が関係していることが明らかとなっているが¹⁰⁾、本研究においても不定芽の増殖は NAA と BAP を組み合わせた培地で良好であった。この増殖した不定芽は黄白色を呈し、embryogenic callus に形態が類似していたが、この点については明らかにすることはできなかった。

高濃度のオーキシンを添加した培地では、不定芽の増殖は著しく促進されたものの、同時に褐変が生じ、12週間後ではほとんどが褐変した。したがって、本研究ではオーキシンを低濃度あるいは無添加の培地が不定芽の増殖に適していると結論したが、継代培養期間を短縮させるなどの方法や褐変抑制物質の培地への添加などについても検討を行う必要がある。

この黄白色の不定芽からのシュートの形成は、培地からの NAA の除去によって制御することが可能で、サイトカイニンによって茎頂生長点の葉原基の分化が促進されたことを示した。

球根植物における新たな球形形成は、個体の age が若い栄養生長期に行われることはなく、栄養生長停止後に開始される。このことは *in vitro* のサンダーソニアにおいても同様で、BAP 添加培地においてシュートの伸長が促され、その生長が停止した後新たな子球が形成された。しかし、形成された子球の肥大は BAP では促進されず、NAA の子球の肥大の促進作用が認められた。ユリではオーキシンの子球肥大促進効果が認められており¹¹⁾、子球の肥大とオーキシンの密接な関係が推察できた。子球の肥大は、培地中の糖濃度の増加によっても促進されることが知られており、サンダーソニアの実用的な大量増殖法を確立するためにはこの点についても検討し、より効率的な子球肥大条件を明らかにする必要がある。

引用文献

- 1) 新見芳二・小野沢剛：ヒメサユリ (*Lilium rebellum* Baker.) の栄養繁殖に関する研究，第1報。リン片培養とリン片ざしによる子球形成。園学要旨 昭52秋：348-349, 1977.
- 2) Niimi, Y. and T. Onozawa: *In vitro* bulblet formation from leaf segments of lilies, especially *Lilium rebellum* Baker. Sci. Hort. 11: 379-389, 1979.
- 3) 新見芳二・渡辺宏和：組織培養によるヒメサユリ (*Lilium rebellum* Baker.) の繁殖，特に茎切片の子球形成について。園学雑 51: 344-349, 1982.
- 4) Wright, N. A. and P. G. Alderson: The growth of tulip tissues *in vitro*. Acta Hort. 109: 263-270. 1980.
- 5) 大澤勝次：野菜の組織・細胞培養の実際と展望。p318-351. 加古舜治編著：増補／園芸植物の器官と組織の培養。誠文堂新光社，東京。
- 6) 浅野義人：ユリの遠縁種間交雑に関する研究。第3報。胚培養により作出された遠縁種間交雑について。園学雑 47: 401-414, 1978.
- 7) Fukui, H., N. Adachi, T. Hara and M. Nakamura: *In vitro* growth and rapid multiplication of *Lilium japonicum* Thunb. Plant Tissue Culture Letters 6: 119-124. 1989.
- 8) 服部澄子・福井博一・中村三夫：サンダーソニアの胚培養および培養中の子球の生育様式について。園学雑 61別2: 468-469, 1992.
- 9) 澤 完・小林加奈：サンダーソニアの切断種子，未熟種子，並びに胚培養について。園学雑 60別2: 520-521, 1991.
- 10) 古川 一・重松典宏・岸田国興：シンテッポウユリのリン片及び不定芽葉片からの不定芽形成に切れ目処理が与える影響。植物組織培養 5: 98-100, 1988.
- 11) 永瀬 幸：ササユリ及びヒガンバナの *in vitro* での球根肥大に関する研究。岐阜大学修士論文，1991.