

グロリオーサのマイクロプロパゲーションに及ぼす培養温度の影響

高村武二郎・中村恵美・冨永真由美・田中道男

EFFECTS OF TEMPERATURE ON THE MICROPROPAGATION OF *GLORIOSA SUPERBA* L.

Takejiro TAKAMURA, Emi NAKAMURA, Mayumi TOMINAGA and Michio TANAKA

Abstract

The effects of temperature on the formation and growth of shoot and tuber in the micropropagation of *Gloriosa superba* L. were investigated. The explants formed the greatest number of shoots at 30°C, and the shoot formation was inhibited at 15°C. At 30°C, a lot of tubers, produced *in vitro*, sprouted and formed secondary shoots. The optimal temperature for tuber growth *in vitro* was 20°C. These results suggested that the optimal temperature for shoot formation differed from the temperature for the tuber growth *in vitro* in the micropropagation of *G. superba* L.

Key word : micropropagation, *Gloriosa superba*, temperature, shoot formation, tuber growth.

緒 言

グロリオーサ (*Gloriosa superba* L.) はアフリカおよび熱帯アジアに分布するユリ科の球根植物であり、主に切り花として広く用いられている。また、開花調節技術も開発されており、暖地での周年栽培がすでに可能になっている⁽¹⁾。

グロリオーサの繁殖は種子または栄養繁殖での塊茎形成によって行われている。しかし、種子繁殖では親の優良形質が次世代で発現するとは限らない。そこで、栄養繁殖が望まれるが、1母球からは通常二股の塊茎1つしか形成されず、増殖率は低い。また、その塊茎形成に関する研究は少なく、そのため塊茎生産は鉢物の需要速度に追いつかず⁽²⁾、優良なグロリオーサの塊茎は高価である。また、挿し芽や塊茎分割による増殖は不可能と報告されており⁽³⁾、組織培養による優良個体のクローン増殖や塊茎生産が望まれている。

これまでにグロリオーサの*in vitro*での増殖、すなわちマイクロプロパゲーションに関してはいくつかの報告があり^(2,3,4,5,6,7)、外植体、植物生長調整物質の濃度、増殖サイクル、および土壌への移植法などが検討されているが、培養時の温度条件に関してはあまり論じられてはならず、改良の余地が多く残されている。そこで本研究では、グロリオーサのマイクロプロパゲーションに及ぼす温度の影響について検討した。

材料および方法

グロリオーサ 'ルテア' の塊茎を用いて、30°Cのインキュベーターで萌芽させた後、五井⁽⁸⁾の方法に従って得られた*in vitro*でのクローン苗条を実験材料とした。

外植体には球状に肥大したシュートの基部を縦に2分割したもの(以下シュート基部切片とする)を用い、各処理区16外植体を供試した。培地には0.5 μM α-ナフタレン酢酸 (NAA)、5.0 μM N⁶-ベンジルアデニン (BA)、3%ショ糖および0.2%ジェランガムを添加したMS培地⁽⁹⁾を用いた。pHを5.8に調整した後、121°C、1.1気圧で30分間オートクレーブ滅菌した。通気を促すためにポリメチルペンテン製のキャップに直径3 mmの穴を開け、孔径0.5 μmのフロロカーボン製のメンブレンフィルターシールを接着した900 mlガラス製ボトルを培養容器に用い、各容器に培地を180 ml注入した。培養容器内に置床した外植体を15、20、25または30°Cで90日間培養した後、*in vitro*での増殖、小植物体の生長および塊茎形成に及ぼす培養温度の影響を調査した。なお、実験は2反復行った。

結 果

シュート基部切片からのシュート形成に及ぼす培養温度の影響を第1表に示す。15°C区では、シュートを形成した外植体が少なく、形成されても1外植体から1本の

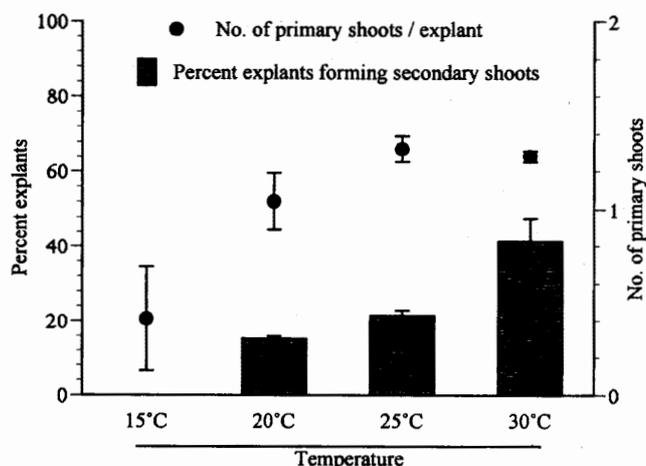


Fig. 1. Effects of temperature on primary and secondary shoot formation.

シュートしか形成されなかった。そのシュートにおいても正常なものは少なく、多くはクロロシスをおこしていた。一方、20、25および30℃区では多くの外植体でシュートが形成され、それらの外植体からはそれぞれ平均1.36、1.89および2.58本、培養した1外植体あたりではそれぞれ1.19、1.60および2.25本のシュートが形成された。

ところで、15℃区では形成されたシュートの生長が抑制されたが、20、25および30℃区では、温度が上昇するにつれてシュートの伸長が促進された。しかしながら、30℃区では外植体から直接形成されたシュート（一次シュート）の他に、一度形成された塊茎が新たに萌芽して形成されたシュート（二次シュート）が多く認められ

（第1図）、二次シュートに形成された塊茎から新たに萌芽したシュートも観察された（データ未掲載）。また、二次シュートの形成は20および25℃区においても認められたが、二次シュートを形成する外植体の割合は高温区で有意に高い値となった。なお、一次シュートの数は25および30℃区で他の温度区と比較して有意に高い値を示した。

外植体ならびに*in vitro*で得られたシュートにおける塊茎形成に及ぼす培養温度の影響を第2表に示す。すべての処理区で半数以上の外植体から塊茎が形成された。15℃区では塊茎のみを形成し、シュートを形成しない個体が多く認められたが、その他の温度区では多くの個体でシュートの基部に塊茎が形成された。しかしながら、30℃区では他の処理区と比較して、塊茎を形成したシュートの割合が有意に低い値となった。また、20℃区では、形成された塊茎数は少ないものの、塊茎の肥大は促進され、平均塊茎生体重は最も高い値を示した。一方、25および30℃区では、20℃区よりも多数の塊茎が得られたものの、その平均生体重はやや低い値を示した。

考 察

球根植物のシュート形成に及ぼす温度の影響に関して、アルストロメリアにおいては8～18℃までの範囲内で温度を上昇させるとシュート数は増加したと報告されている⁽¹⁰⁾。グロリオサのマイクロプロパゲーションに及ぼす温度の影響についてはこれまで報告されていなかったが、本研究の結果、15℃では明らかに外植体からの

Table 1. Effects of temperature on the *in vitro* shoot formation of *Gloriosa*.

| Temperature (°C) | Percent explants forming shoot | No. of shoots per explants forming shoots | No. of shoots per explants cultured | Percentage of abnormal shoots | Height of normal shoot |
|------------------|--------------------------------|---|-------------------------------------|-------------------------------|------------------------|
| 15 | 40.6±28.1 | 1.00±0.00 | 0.41±0.28 | 43.2±6.8 | 1.3±0.6 |
| 20 | 87.5± 0.0 | 1.36±0.22 | 1.19±0.19 | 7.7±1.4 | 9.1±0.7 |
| 25 | 84.4± 3.1 | 1.89±0.04 | 1.60±0.10 | 13.1±5.4 | 10.5±0.3 |
| 30 | 87.5± 0.0 | 2.58±0.27 | 2.25±0.25 | 21.0±8.0 | 11.7±0.3 |

Table 2. Effects of temperature on the *in vitro* tuber formation of *Gloriosa*.

| Temperature (°C) | Percent explants forming tuber | No. of tubers per explants forming tubers | No. of tubers per explants cultured | Percentage of shoots forming tubers | Fresh weight of tuber |
|------------------|--------------------------------|---|-------------------------------------|-------------------------------------|-----------------------|
| 15 | 84.4± 3.1 | 1.22±0.22 | 1.03±0.22 | 61.4±11.4 | 147.1±21.9 |
| 20 | 65.7± 3.2 | 1.20±0.10 | 0.78±0.03 | 63.8±11.2 | 317.1±11.7 |
| 25 | 84.4± 3.1 | 1.30±0.01 | 1.10±0.04 | 62.8± 0.3 | 249.1±20.4 |
| 30 | 59.4±15.6 | 2.13±0.13 | 1.29±0.41 | 47.5±13.1 | 270.9± 9.9 |

シュート形成が抑制されることが示された。また、多くのシュートが二次シュートであったものの、高温区でより多くのシュートが形成されることが示され、グロリオーサの*in vitro*でのシュートの形成には30℃が適していることが示唆された。

一方、グロリオーサの塊茎の大きさと*in vivo*での植物体の生育に関して、植え付けた塊茎が重い場合に植物体の伸長が促進され、開花が早くなったと報告されており⁽⁴⁾、*in vitro*でグロリオーサのクローン苗を生産する場合には、塊茎の肥大促進も重要な要素であると考えられる。チューリップでは、温度を12℃まで低下させると子球重が増加し⁽¹²⁾、ササユリでは、子球の生育および肥大には23℃が適していると報告されている⁽¹³⁾。このように、それぞれの植物において球根の肥大に適した温度が存在するが、本研究の結果、グロリオーサの塊茎肥大には20℃が適している可能性が示唆された。これらのことから、グロリオーサのマイクロプロパゲーションにおけるシュート形成のステージと塊茎形成のステージとでは最適温度条件が異なり、効率的なマイクロプロパゲーションと優良クローン苗の生産のためには、前者のステージでは30℃、後者のステージでは20℃とそれぞれの培養ステージで異なる温度で培養することが有効であると推測される。しかしながら、本研究においては、25および30℃区ではより多くの塊茎が二次シュートを形成したために塊茎が肥大しなかった可能性がある。また、ジャガイ

モでは温度によって塊茎形成速度が異なることが報告されているが⁽¹⁴⁾、グロリオーサの*in vitro*での塊茎形成においても温度が影響し、高温区で塊茎形成速度が高まるとともに、二次シュートの形成が促進された可能性もある。したがって、グロリオーサのマイクロプロパゲーションによる種苗生産を効率化するためには、今後*in vitro*での塊茎形成様式に及ぼす温度の影響についてさらに詳しく調査したうえで、シュート増殖に適した培養条件と様式ならびに塊茎生産に適した培養条件と様式をそれぞれ検討する必要がある。

摘 要

グロリオーサのシュート基部切片を外植体としたマイクロプロパゲーションにおけるシュートおよび塊茎の形成と生長に及ぼす温度の影響を調査した。その結果、シュート基部切片からのシュート形成は低温区で抑制される傾向が認められ、外植体から形成されたシュート数は、30℃区で最大の値を示した。なお、高温区、特に30℃区では、*in vitro*で形成された塊茎が萌芽して形成された二次シュートが多く認められた。また、シュートの基部に形成された塊茎は20℃で最も大きく肥大した。これらの結果から、グロリオーサのマイクロプロパゲーションにおいては、シュート形成と塊茎肥大に適した温度が異なる可能性が示唆された。

引 用 文 献

- (1) 吾妻浅男：グロリオーサ 暖地・中間地における栽培技術。農耕と園芸／林 角郎編，切り花栽培の新技术球根 下巻。pp.108-114。新文堂新光社 東京 (1988)。
- (2) CUSTERS, J. B. M. and ERGERVOET, J. H. W. : Micropropagation of *Gloriosa* : Towards a practical protocol. *Scientia Hortic.* 57 : 323-334 (1994)。
- (3) 五井正憲，郭志剛，田中道男，犬伏貞明：器内における塊茎形成によるグロリオーサの繁殖。園芸学会中四国支部平成元年度大会要旨：50 (1989)。
- (4) 澤 完，砥上勝幸：Gloriosaの組織培養による増殖。園学要旨。昭62春：441-412 (1987)。
- (5) FINNIE, J. F. and VAN STADEN, J. : In vitro propagation of *Sandersonia* and *Gloriosa*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 19 : 151-158 (1989)。
- (6) SOMANI, V. J., JOHN, C. K. and THENGANC, R. J. : In vitro propagation and corm formation in *Gloriosa superba* L. *Indian J. Exp. Biol.* 27 : 578-579 (1989)。
- (7) SAMARAJEWA, P. K., DASSANAYAKE, M. D. and JAYAWARDENA, S. D. G. : Clonal propagation of *Gloriosa superba* L. *Indian J. Exp. Biol.* 31 : 719-720 (1993)。
- (8) 五井正憲：グロリオーサの組織培養による増殖。新美芳二 編，図解 花の組織培養技術 増殖・育種とその関連技術。p.28 新文堂新光社 東京 (1992)。
- (9) MURASHIGE, T. and SKOOG, F. : A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15 : 473-497 (1962)。
- (10) BOND, S. and ALDERSON, P. G. : The effect of explant density, temperature and light on rhizome growth *in vitro* of *Alstroemeria*. *J. Hort. Sci.* 68 : 855-859 (1993)。
- (11) 堀川照男：3. 球根切り花等の品質向上技術の開発。(3)グロリオーサの定植後の温度条件と品質。千葉県地園芸試験地花き研究室，花き試験成績：217-220 (1991)。

- (12) CUSTERS, J. B. M., EIKELBOOM, W., BERGERVOET, J. H. W. and VAN EIJK J. P. : In ovulo embryo culture of tulip (*Tulipa L.*) ; effect of culture conditions on seedling and bulblet formation. *Scientia Hortic.* 51 : 111-122 (1992).
- (13) 河原林和一郎 : ササユリ球根のin vitroにおける増殖
及ぼす液体に通気培養条件の影響. 園学雑. 62 : 197-205 (1993).
- (14) MARGARETHA, G. M. and MENGE, I. : Potato shoot and tuber cultures in vitro. *Physiol. Plant.* 7 : 637-649 (1954).

(2001年9月28日受理)