

ヒアシンス球根のりん片切片の子球形成に及ぼす 切れ目処理と培養環境の影響

梁川 正¹⁾・新村健太郎¹⁾

Effects of Cutting Treatments and Culture Conditions on Bulblet
Regeneration of Bulb-scale Explants of *Hyacinthus* in vitro

Tadashi YANAGAWA and Kentaro SHINMURA

抄録：ヒアシンス球根の増殖効率を高めるために、球根から採取した切片の子球形成に及ぼす切れ目処理と培養環境の影響について検討した。切片の種類と子球形成能力を比較した結果、りん片切片の子球形成能力が最も高かった。りん片切片の子球形成に及ぼす培地に添加された植物生長調節物質の NAA と BA の影響をみたところ、子球形成については供試したいずれの添加培地においても、すべての切片に子球が形成されたが、1 mg/l の BA が培地に添加された区では子球数の増加が認められた。一方、NAA が添加された培地ではほとんどすべての切片にカルスの形成が認められた。明暗両条件での子球形成を比較したところ、明暗の培養条件の影響は認められなかった。りん片切片に切れ目を入れて培養した結果、切れ目を入れた区の子球形成数が増加した。貯蔵球と栽培球から切片を採取して、子球形成との関連を調べた結果、両者に明確な差は認められなかった。

キーワード：ヒアシンス、りん片切片、子球形成、切れ目処理、培養環境

Abstract

The effects of cutting treatments and culture conditions on bulblet regeneration of bulb-scale explants of *Hyacinthus orientalis* in vitro was investigated. A higher regenerative rate was found for bulb-scale explants than for leaf-base explants and flower stalk explants. Bulblet regeneration was stimulated by supplementing with 1.0 mg/l BA and cutting treatments to the explants. Illumination was not necessarily required for bulblet regeneration. No clear dependence on orientation of explants and conditions of mother bulbs was shown.

Key Words: *Hyacinthus*, bulb-scale explant, bulblet regeneration, cutting treatment, culture conditions.

1) 京都教育大学

I. はじめに

水栽培などでよく知られるヒアシンスは身近な草花であり、園芸的に重要な秋植え球根の一つである。ヒアシンスの繁殖にはスクーピングやノッチングなどの底盤部傷つけ処理やアマリリスと同様な切片繁殖が知られているが、近年、多くの植物について組織培養の手法を用いて増殖能率を向上するための研究が行われており、ヒアシンスについても球根のりん片切片を用いて組織培養による増殖効率の検討が行われている^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10)}。

本研究ではヒアシンス球根の増殖効率を高めるために、球根から種々の切片を採取して組織培養を行い、りん片切片の子球形成に及ぼす切れ目処理と培養環境の影響について検討した。

II. 材料及び方法

ヒアシンス (*Hyacinthus orientalis* L.) の品種ピンクパール[®]の球根を10月に平和園から購入して入手後、実験の開始まで、京都教育大学附属環境教育実践センターの実験圃場に植え付けて栽培し、一部は室温下で貯蔵した。

培養実験への供試球根は水道水で十分に洗浄後、球根の上部及び底盤部の基部を切り取って調整し、70%エタノールに10秒間、0.5%アンチホルミンに10分間、さらに、10%サラシ粉水溶液に15分間浸漬して消毒した。この球根をクリーンベンチ下で4等分に縦断し、この縦断切片を、さらに、5%サラシ粉水溶液に10分間浸漬して消毒した後、滅菌水で洗った。この縦断切片から、底盤部をつけた1枚のりん片の部分、底盤部をつけた1枚の未展開の葉の部分及び底盤部をつけた1本の花茎の部分それぞれを厚さに切り出し、これから、一辺約6mmの大きさに、それぞれ底盤部を一部ついたりん片切片、葉切片及び花茎切片を作成した。作成された切片は培地に垂直に立てて植え付けた。なお、一部の実験ではこの切片に基部側から切片全長の1/2の長さに入れ目を入れる処理を行った切片も作成した。

培地として、White¹²⁾の培地に植物生長調節物質であるベンジルアデニン (BA) と α -ナフタレン酢酸 (NAA) を添加し、20 g/lのショ糖と8 g/lの寒天を加えたものを供試した。培地の pH は5.8に調整し、18×140 mmの硬質試験管に10ml ずつ分注後、アルミホイルで栓をした。培地はオートクレーブによって、120℃、1.2気圧で15分間滅菌した

培養は25℃の恒温室内で3000ルクスの蛍光灯連続照明下で行うことを基準とした。

III. 結果及び考察

1. 種々の切片における子球形成

BA 0.1mg/l, NAA 0.01mg/l 及び BA 0.01mg/l, NAA 0.01mg/l を添加した White の培地で、球根から採取した底盤部をつけた種々の切片を培養した結果、りん片切片の子球形成切片率は99%を示し、葉切片の場合の60%や花茎切片の4%に比べてかなり高かった。一方、カルスの形成は供試した80%以上の切片で認められた (第1表)。本実験では、培養したりん片切片からの子球形成はこれまでの報告^{5, 6, 10)}と同様に高率で認められ、子球の形成位置はいずれの切片の場合でも、それぞれ底盤部に接するりん片の部分、葉の部分及び花茎の部分の最基部であった。りん片切片の培養実験では子球の形成位置について言及する報告^{6, 10)}があり、本実験の観察はこれらの結果と同様にりん片の最基部側であった。花茎切片からの子球形成についてはスイセンにおいて報告がみられ、花茎切片由来の球根増殖スキームが確立されている³⁾が、ヒアシンスの場合には子球形成能力が著しく低い結果であった。ヒアシンスの展開葉を用いた葉挿しによる再生については Krause⁴⁾の報

告があり、養分の含まれない挿し床でも葉からの再生が認められるが、球根内における未展開葉から採取した葉切片からの子球形成の報告はこれまではみられず、本実験においてヒアシンスの場合には未展開葉の葉切片からも子球形成が認められることがわかった。これらのことから、葉切片では1つの球根から採取できる切片の数が限られて、葉が薄いので採取操作が難しいのに対し、りん片切片では比較的多く採取でき、りん片は葉よりも肉厚であるので切り出す作業が容易であり、しかも、りん片切片が高い子球形成能力を持っているので、以下の実験ではりん片切片を用いることとした。

第1表 球根から採取した種々の切片における子球形成

切片の種類	供試切片数	生存切片数	子球形成 切片数(%)	切片当たり 子球数	発根切片数 (%)	カルス形成 切片数(%)
りん片切片	80	80	79 (99)	1.2	15 (19)	79 (99)
葉切片	27	25	15 (60)	1.5	15 (56)	23 (92)
花茎切片	29	24	1 (4)	1.0	3 (13)	20 (83)

BA 0.1mg/l, NAA 0.01mg/l 及び BA 0.01mg/l, NAA 0.01mg/l を添加した White の培地で培養後100日目の結果。

2. りん片切片の子球形成に及ぼす培養環境の影響

りん片切片の子球形成に及ぼす培地に添加された植物生長調節物質である BA と NAA の影響をみたところ、子球形成については供試したいずれの濃度の添加培地においてすべての切片に子球が形成された。切片当たりの子球数について比較した結果、1 mg/l の BA が培地に添加された区では他の区に較べて子球数の増加が認められた。一方、NAA が添加された培地ではほとんどすべての切片にカルスの形成が認められた (第2表)。

ヒアシンスのりん片切片の子球形成に及ぼす培地環境とくに培地に添加した植物生長調節物質の影響については、Pierik ら⁷⁾ はインドール酢酸 (IAA) とインドール酪酸 (IBA) が促進的であったと報告し、田村¹⁰⁾ は IAA と BA の添加が、水谷ら⁹⁾ はカイネチンの添加が形成促進に効果的であったとしている。Saniewski⁸⁾ は子球の培養において BA と NAA の添加が顕著に子球形成を促したと述べている。梁川ら^{15, 16)} もテッポウユリやヒアシンス (品種レディーダービー) のりん片切片の培

第2表 りん片切片の子球形成に及ぼす BA と NAA の影響

BA mg/l	NAA mg/l	供試 切片数	生存 切片数	子球形成 切片数(%)	切片当たり 子球数	発根切片数 (%)	カルス形成 切片数(%)
0	0	15	15	15 (100)	1.0	3 (0)	3 (20)
0.01	0.01	20	20	20 (100)	1.3	3 (15)	20 (100)
0.1	0.01	20	20	20 (100)	1.3	10 (50)	19 (95)
0.1	0.1	15	15	15 (100)	1.3	0 (0)	15 (100)
1.0	0.1	15	15	15 (100)	1.9	0 (0)	15 (100)

培養後65日目の結果。

養において、BA と NAA の添加が無添加に比べて子球形成に明かな促進効果を認めたと報じている。本実験ではBA, NAA 無添加区でも子球形成切片率は添加区と同様で、子球数が添加区に比べてやや少ない結果であり、さほど明瞭な添加効果は認められなかった。本実験ではヒアシンスの品種ピンクパールを用いており、この違いについては、品種や培養時期などの違いによる影響が考えられる。

上述の実験は照明条件下での培養結果であるが、りん片切片を培養する環境条件として、照明条件のほか、暗黒条件下でのりん片切片における子球の形成状態を比較したところ、暗黒下でもほとんどの切片に子球形成及びカルス形成が認められ、明暗の培養条件の影響は認められなかった（第3表）。

培養環境については、植物の種類によって異なった反応を示すことが認められている。明暗両条件下でのアマリリス球根切片の培養において、梁川¹³⁾は光の存在は子球の発育を促すが、子球形成そのものには明暗の差が認められなかったと報告している。本報ではふれていないが、光の存在はヒアシンス子球の生長も促すことを認めている。一方、田中¹⁴⁾は培養中の光の強さについて、ファレノプシスの葉片培養では、通常培養環境として供試される2000ルクスから1000ルクス程度の照度よりも170ルクスという低照度下での培養においてPLB 形成率が高いことを報告している。

第3表 明暗両培養条件で培養したりん片切片における子球形成

培 養 条 件	BA mg/l	NAA mg/l	供 試 切片数	生 存 切片数	子 球 形 成 切片数 (%)	切片当たり 子 球 数	発根切片数 (%)	カルス形成 切片数 (%)
照明下	0.1	0.01	20	20	20 (100)	1.3	10 (50)	19 (95)
	0.01	0.01	20	20	20 (100)	1.3	3 (15)	20 (100)
暗黒下	0.1	0.01	20	20	20 (100)	1.0	1 (5)	19 (95)
	0.01	0.01	20	20	19 (95)	1.2	1 (5)	20 (100)

培養後100日目の結果。

3. りん片切片に対する切れ目処理と切片を採取する母株の状態がりん片切片の子球形成に及ぼす影響

りん片切片に切れ目を入れて培養した結果、切れ目の有無にかかわらず供試したすべての切片に子球形成が認められ、無処理の切片に比べて切れ目の本数が増加するにつれて形成された子球数が増加した。なお、切片の植え付け方向がりん片切片の子球形成に及ぼす影響については認められなかった（第4表）。

切片を採取する母球根の条件として、室内での乾燥貯蔵球と圃場での栽培球に区別して切片を採取して、子球形成との関連を調べた結果、栽培球での子球形成切片率がやや低かったが、貯蔵球と栽培球の両者から採取した切片の子球形成能力に明確な差は認められなかった（第5表）。

りん片切片に対する切れ目処理による形成子球の増加はテッポウユリ¹⁵⁾やアマクリナム¹⁷⁾などで認められており、切れ目処理は子球の増殖のための有効な方法であるといえる。

培養に用いる母球根の条件について、ヒガンバナ科やユリ科の17種類の球根の栽培球を用いて、周年にわたって培養開始時期を変えて培養比較を行った結果では、季節による大きな差は認められ

第4表 りん片切片の子球形成に及ぼす切れ目処理と植え付け方向の影響

切れ目の 処理数	植え付け 方向	供 試 切片数	生 存 切片数	子 球 形 成 切片数 (%)	切片当たり 子 球 数	発根切片数 (%)	カルス形成 切片数 (%)
0	基部を上	20	20	20 (100)	1.3	10 (50)	19 (95)
1	基部を上	20	20	20 (100)	1.4	9 (45)	20 (100)
2	基部を上	20	20	20 (100)	1.9	13 (65)	20 (100)
1	基部を下	20	20	20 (100)	1.8	9 (45)	18 (90)
2	基部を下	20	20	20 (100)	2.2	8 (40)	20 (100)

BA 0.1mg/l, NAA 0.01mg/l を添加した White の培地で培養後100日目の結果。

第5表 種々の条件にある母球から採取されたりん片切片の子球形成

母球の状態	供 試 切片数	生 存 切片数	子 球 形 成 切片数 (%)	切片当たり 子 球 数	発根切片数 (%)	カルス形成 切片数 (%)
室内乾燥貯蔵	36	36	35 (97)	1.2	4 (11)	34 (94)
30日間圃場栽培	34	34	28 (82)	1.4	0 (0)	26 (76)
60日間圃場栽培	13	13	11 (85)	1.5	2 (15)	12 (92)

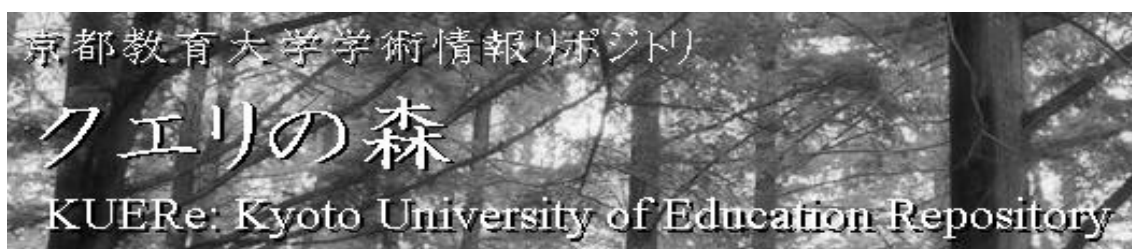
BA 0.1mg/l, NAA 0.01mg/l を添加した White の培地で培養後65日目の結果。

なかった¹⁴⁾。本実験では秋から年内にかけての時期でのみの比較を行った結果であるが、養分を保っているりん片切片を栄養培地で培養する場合にはさほど大きな培養の季節差は生じにくいものと思われる。

IV. 引用文献

1. Amaki, W., Y. Shinohara, Y. Hayata, H. Sano and Y. Suzuki. 1984. Effects of bulb desiccation and storage on the in vitro propagation of hyacinth. *Scientia Hort.* 23: 353-360.
2. Hussey, G. 1975. Propagation of hyacinths by tissue culture. *Scientia Hort.* 3: 21-28.
3. Hosoki, T. and T. Asahira. 1980. In vitro propagation of *Narcissus*. *Hort Science* 15 (5): 602-603.
4. Krause, J. 1980. Propagation of hyacinth by leaf cuttings. Histological changes in leaf cuttings of *Hyacinthus orientalis*. *Acta Horticulturae* 109: 271-277.
5. 水谷信雄・今江俊秀. 1984. ヒヤシンスの栄養繁殖に関する研究. りん片の切片培養による不定芽形成 (予報) 農業及び園芸 59: 1054-1056.
6. Pierik, R. L. M. and M. A. Ruibing. 1973. Regeneration of bulblets on bulb scale segments of hyacinth in vitro. *Neth. J. Agric. Sci.* 21: 129-138.
7. Pierik, R. L. M. and H. H. M. Steegmans. 1975. Effect of auxins, cyto-kinins, gibberellins, abscisic acid and ethephon on regeneration and growth of bulblets on excised bulb scale segments of hyacinth. *Physiol. Plant.* 34: 14-17.

8. Saniewski, M., J. Nowak and R. Rudnicki. 1974. Studies on the physiology of hyacinth bulbs (*Hyacinthus orientalis* L.) IV. Hormonal regulation of induction of roots and bulblets in *Hyacinthus orientalis* L. grown in culture. Plant Science Letters 2: 373-376.
9. Takayama, S., T. Amo and M. Fukano. 1991. Rapid clonal propagation of *Hyacinthus orientalis* bulbs by shake culture. Scientia Hortic. 45: 315-321.
10. 田村 親. 1978. ヒヤシンスの培養りん片における不定芽形成. 園芸学会雑誌 46: 501-508.
11. 田中道男. 1987. 組織培養によるファレノプシスの栄養繁殖に関する研究. 香川大学農学部紀要 49: 1-85.
12. White, P. R. 1943. A Handbook of Plant Tissue Culture. The Jacques Cattell Press, Lancaster, Pennsylvania.
13. 梁川 正・坂西義洋. 1977. アマリリスのりん茎のしゅじゅの部位から採取した組織の培養片における子球形成. 園芸学会雑誌 46(2): 250-260.
14. 梁川 正. 1986. ヒガンバナ科及びユリ科植物の有皮りん茎切片における子球形成に関する研究. 大阪府立大学博士論文.
15. 梁川 正・森山 潤. 1993. バイオテクノロジーに関する教材の開発(第3報) テッポウユリのりん片培養における子球形成. 日本農業教育学会誌 24: 1-9.
16. 梁川 正・薮 敏行. 1993. バイオテクノロジーに関する教材の開発(第4報) ヒヤシンスのりん片培養による子球形成法. 日本農業教育学会誌 24: 143-149.
17. Yanagawa, T. 1993. In vitro propagation of *Amarcrinum* bulbs. J. Regional Education Center (REC), Agricultural Technology. 2: 1-8.



この文献は、国立情報学研究所において電子化されたものを、本学でテキスト加工したものです。

