



チューリップの栄養繁殖に関する研究（第3報）：
培養リン片の不定芽形成におよぼす温度の影響

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2012-11-07 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 西内, 義男 メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.32150/00002703

チューリップの栄養繁殖に関する研究（第3報）
培養リン片の不定芽形成におよぼす温度の影響

西 内 義 男
北海道教育大学旭川分校農学研究室

Studies on Vegetative Propagation of Tulip
III. Effect of Temperature on the Adventitious Bud Formation
of Excised Bulb Scales Cultured *in vitro*

Yoshio NISHIUCHI
Agricultural Laboratory, Asahikawa College, Hokkaido University of Education,
Asahikawa 070

Summary

During the entire period of growing and storing stages of tulip bulbs, their developmental aspect is known to be fully dependent on environmental conditions like temperature. The present work arises out of our attempts to know the favorable ambient temperature condition to bear the adventitious bud of cultured bulb scales. In addition, the curing and chilling treatments of bulb preparatory for *in vitro* culture were also examined.

1) Culturing excised scales of tulip bulbs *in vitro*, initiation of the bud formation was pronouncedly affected by cultural temperature. An optimal temperature for the bud formation was 23°C when cultured in the presence of 1.0 mg/l kinetin plus 1.0 mg/l 2,4-D. When cultured at 15°C, the stimulative effect of 2,4-D on the bud formation was intensified by raising the kinetin concentration to 2 mg/l. On the other hand, both of 5°C and 30°C were apparently detrimental to bud formation which failed to ensue further development.

2) The cultures were divided into three groups and each group was continuously subjected to a chilling treatment at 5°C lasting for 9 weeks. All of them were continued to culture at room temperature throughout 27 weeks except the chilling periods. A marked retardation of bud formation occurred due to the first 9-week treatment compared with the control culture, whereas no appreciable delay and inhibition of the bud formation resulted in the cultures treated with the second 9-week chilling treatment. Contrarily, the last treatment produced a signifi-

cant stimulation of bud formation and further development.

3) It was possible to bring about a distinct increase in the bud formation ratio of the cultured scale segments when the bulbs were subjected to cure at room temperature immediately after lifting. In contrast, it resulted in lowering the ratio unless freshly harvested bulbs were treated by curing before starting culture. Therefore, a necessity for curing to initiate the adventitious bud formation of the cultured scales seems to be unmistakable.

結 言

培養リン片から形成される不定芽は培養の時期によって大きく左右され、'Apeldoorn' では8月、T. hageri では5月に培養を始めると良く形成されるが、これ以外の時期に培養を行なっても不定芽はほとんど形成されない。また、不定芽の形成には auxin と kinetin の共存が必要であるが、不定芽形成に要する kinetin 濃度は時期的変化がみられる (Nishiuchi, 1979)。ランの組織培養では、内生サイトカイニンのレベルが shoot 形成の難易の差を生ずる一つの原因として知られているが (Ueda, and Torikata, 1970)、'Apeldoorn' のリン片培養における不定芽形成の季節的な変動においても、リン片組織のサイトカイニンのレベルが何らかの影響をおよぼしているものと考えられる。一方チューリップの発育には生育段階に応じて、その生育に適する温度は異なり、促成切花栽培では球根の冷蔵処理が必須の条件である。また低温処理によってリン片葉中のある特定タンパク質の消失が知られている (樋口, 1967)。すなわち球根の温度処理はリン片組織の生理活性に影響をおよぼし、このことがリン片培養における不定芽の形成に何らかの影響をおよぼすものと思われる。そこで、リン片培養における不定芽形成の難易にかかわる要因をさぐる一助とするために、各種の温度条件によって培養した。

本研究に際し、ご指導をいただいた北海道大学農学部明道博教授ならびに岡沢養三教授に深謝の意を表す。

実験材料および方法

実験材料には本学農場で収穫した *Tulipa gesneriana*. cv. 'Apeldoorn' の 12 cm 球を使用した。前報 (Nishiuchi, 1979) に準じて Murashige と Skoog の修正培地を用い、2, 4-D 1.0 mg/l, kinetin 1.0 mg/l, しょ糖 2%, 寒天 0.7% を加え、pH 5.0 に調整し、これを基本培地とした。培養を開始後9週間は室内暗所で、その後は室内明所で行なった。また恒温器および低温室で必要な培養温度を得た。1つの実験区に 30~40 個のリン片を用いた。なお培養リン片から 1 個以上の不定芽が形成されたものは多数の不定芽が形成されているリン片と同等に不定芽形成リン片とみなした。

実験結果および考察

これまで同一の培地条件下でリン片培養を行なっても培養を行なった年度により不定芽の形成には差異がみられ、形成率が著しく低い場合もみられた。これは球根の個体差あるいは球根の生育条件

Table 1. Effect of different temperatures in combination with growth regulators on the adventitious bud formation of bulb scale segments cultured in vitro.

Temperature (C)	Growth regulators (mg/L)		Percent of bud formation
	Kinetin	2,4-D	
5	0	1.0	0
	1.0	1.0	0
	1.5	1.0	0
	2.0	1.0	0
15	0	1.0	0
	1.0	1.0	13.3
	1.5	1.0	31.1
	2.0	1.0	35.0
23	0	1.0	0
	1.0	1.0	48.7
	1.5	1.0	33.2
	2.0	1.0	26.6
30	0	1.0	0
	1.0	1.0	0
	1.5	1.0	0
	2.0	1.0	0

Culture started at Aug. 30, 1978 and data show the results of 13 weeks after inoculation.

などの影響も考えられるが、これまでの培養は室内で行なっていたため、気温の高低による影響も大きいものと考えられる。そこで今回は恒温器や低温室を使用し、培養温度を一定に保ち、不定芽形成におよぼす培養温度の影響について調べた。第1表のごとく、5℃下ではカルスの形成はわずかにみられるが、不定芽は全く形成されなかった。15℃では、kinetin濃度が高い場合に不定芽の形成は良好であり、23℃では15℃の場合とは逆に、kinetin 1.0 mg/lの場合に不定芽の形成は良好であり、2.0 mg/lでは低下した。30℃では培養の初期にカルスの形成がみられるが、不定芽は形成されず、やがて培養リン片は全て褐変枯死した。不定芽形成にとって温度条件が極めて重要であることは *Begonia x cheimantha* (Fonnesbech, 1974 a, b), *Heloniopsis orientalis* (Kato and Ozawa, 1979), *Strestocarpus* (Appelgren and Heide, 1972) などで知られており、温度が高ければ不定芽数は減少し、温度が低ければカルスの生育が抑制されるが、'Apeldoorn' では23℃が不定芽形成の適

Table 2. Effect of 5°C treatment on the adventitious bud formation of cultured scale segments.

Culture periods (weeks)				Percent of bud formation	Bud development
0	9	18	27		
				12.5	+
				41.7	+++
				67.3	+++
				48.0	+

Culture started at Aug. 25, 1977 and data show the result of 27 weeks after inoculation. Solid bars indicate the period of 5°C and open bar indicate that of room temperature.

温と思われる。5°Cのような低温はチューリップ種子の発芽に必須の条件であるが、不定芽形成の場合には低温要求性はみられない。また不定芽形成のみられる15°Cと23°Cの場合、リン片組織の不定芽形成に必要な kinetin レベルは15°Cでは高く、23°Cでは低いことが、それぞれ auxin の不定芽形成にたいする促進効果を高め、培養温度の違いによる不定芽形成能の差異となるものと考えられる。チューリップの光合成の最高値がみられる温度は早咲き品種のレッドエンペラーでは10~15°C、遅咲き品種のレッドエンペラーでも15~20°Cであり(折谷, 山崎, 1975), 早春の比較的低温が生育適温であることからみて、30°Cで培養したものは生育に適さない温度条件であるために枯死したものと思われる。一方5°Cで培養したリン片は、その後室温に移して培養を続けると不定芽を形成した。

そこでリン片培養中の各時期に低温処理を行なって、その不定芽形成におよぼす影響をみたところ、第2表のごとく、培養後直ちに5°C処理を9週間続け、その後室温で培養すると不定芽形成率は著しく低く、かつ不定芽形成の時期も遅かった。次に培養9週後に5°C9週間処理を行なうと、無処理の場合に比し、わずかに不定芽の形成は劣るが、不定芽の生長は良好であった。また培養18週後に5°C処理を行なうと不定芽の形成は促進され、生長も良好であった。すなわち 'Apeldoorn' のリン片培養を8~9月に行なうと培養後9週目で不定芽の原基が形成され、次の9週間でそれがわずかに伸長生長をはじめが、培養後直ちに5°C処理を行なうと不定芽の原基の形成が抑制され、室温に移した後はじめて形成されるものと思われる。室内貯蔵した球根を11~12月にリン片培養しても不定芽が全く形成されないことを合せ考えると、室内貯蔵球根は8月から11~12月にかけてリン片の生理活性が著しく低下するか、あるいは抑制物質の蓄積などのために不定芽が形成されなくなるが、培養直後の5°C9週間処理はリン片の不定芽形成に適さない抑制物質の増加、あるいは生理活性の低下を遅らせることにより、12月においても不定芽が形成されるものと考えられる。また培養9~18週の間で不定芽の原基は極めて多数みられるが、これらが全て不定芽になることは少ない。培養18週以降における低温処理はこれら不定芽原基の生育を促すものと考えられる。

次に培養を行なう以前の球根の状態が不定芽の形成におよぼす影響について調べたところ、第3表のごとく、6月20日に球根を収穫と同時に5°Cで9週間キュアリングを行なった後、リン片培養

Table 3. Effect of bulb curing on the adventitious bud formation of cultured scale segments.

Pretreatment of curing	Growth regulators (mg/L)		Percent of bud formation
	Kinetin	2,4-D	
5°C - 9 weeks	0	1.0	0
	1.0	1.0	17.5
	1.2	1.0	23.3
	1.6	1.0	52.5
	1.8	1.0	51.1
Room temp.- 9 weeks	0	1.0	0
	1.0	1.0	55.2
	1.2	1.0	52.0
	1.6	1.0	67.5
	1.8	1.0	72.4
No - curing	0	1.0	0
	1.0	1.0	7.3
	1.2	1.0	5.5
	1.6	1.0	12.2
	1.8	1.0	20.4

After the period of 9 weeks curing, culture started at Aug. 20, 1978 and data show the results of 13 weeks after inoculation. In the case of no curing, culture started at June 20, data show the results of 22 weeks.

すると kinetin 濃度が 1.0~1.2 mg/l の場合は不定芽の形成率は低かったが、1.6~1.8 mg/l にすると形成率は高まり、室温でキュアリングすると不定芽形成率はさらに高まった。一方、キュアリングをしないで直ちに培養を行なうと不定芽形成率は著しく低かった。収穫後の球根は休眠状態にあるといわれているが、球根内部では shoot の発育が進み、これに伴ないリン片内の糖含量や窒素含量の顕著な変動がみられ(西内, 奥山, 1972), 内生ジベレリン活性も低下する(Aung, and DeHertogh, 1967), Begonia x cheimantha において、15°C あるいは 18°C で 2~4 週間の前処理は不定芽数を増加させ(Fonnesbech, 1974), Heloniopsis orientalis では 16°C で 7~21 日の前処理により不定芽形成の増加がみられる(Kato, and Ozawa, 1979). すなわち収穫後の球根のキュアリングにより不定芽形成能の高まりは、リン片組織の生理活性の変動と関連があるものと考えられる。

摘 要

チューリップリン片の組織培養において、不定芽の形成は培養開始時期によって顕著な影響をうけ、また不定芽の形成に要する kinetin 濃度は時期的変化がみられる(1)。これらの現象が球根の生理活性によるものか、あるいは外的要因として重要である温度条件によるものかを知るため、本研究では不定芽形成におよぼす温度の影響について調べた。

- 1) リン片培養における不定芽の形成は培養温度の影響をうけ、5°C では不定芽はみられないが、15°C では培地の kinetin 濃度が 2 mg/l で不定芽の形成は良好であり、1 mg/l では形成率は低下した。23°C では kinetin 濃度が 1 mg/l で良好であり、2 mg/l にすると形成率は低下した。
- 2) 培養期間中の前期に 5°C 処理を行なうと不定芽の形成は遅れ、かつ形成率も低いが、培養の後期に 5°C 処理を行なうと不定芽の形成は促進された。
- 3) 収穫後の球根を室温でキュアリングすると、リン片培養における不定芽の形成は著しく高まるが、キュアリングをしないで収穫後直ちに培養すると形成率は低かった。

引用文献

- 1) Nishiuchi, Y. (1979), Studies on vegetative propagation of tulip II. Formation and development of adventitious buds in the excised bulb scale cultured in vitro. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 48 (1): 99-105.
- 2) Ueda, H. and H. Torikata. (1970), Organogenesis in the meristem cultures of cymbidiums. IV. Study on cytokinin activity in the extracts from the protocorms. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 39 (2): 104-107.
- 3) 樋口春三・志佐誠 (1967) 低温処理によるチューリップの球根の鱗片葉タンパク質の変化に関する血清学的分析 園学雑, 第36巻第4号 427-432頁。
- 4) Fannesbech, M. (1974), The influence of, NAA, BA and temperature on shoot and root development Begonia x cheimantha petiole segments grown in vitro. Physiol. Plant. 32: 49-54.
- 5) Fannesbech, M. (1974), Temperature effects on shoot and root development from Begonia x cheimantha petiole segments grown in vitro. ibid. 32: 282-286.
- 6) Kato, Y. and N. Ozawa. (1979), Adventitious bud formation on leaf and stem segments of *Helioopsis orientalis* grown at various temperatures. Plant & Cell Physiol. 20 (3): 491-497.
- 7) Appelgren, M. and O. M. Heide, (1972), Regeneration of *Streptocarpus* leaf discs and its regulation by temperature and growth substances. Physiol. Plant. 27: 417-423.
- 8) 折谷隆志, 山崎良春 (1975), チューリップの生育と発育に関する生理学的研究 (第1報) チューリップの光合成と呼吸について, 富山県立技術短大研究報告第8巻 77-82頁。
- 9) 西内義男・奥山清 (1972), チューリップの発育相に関する生理形態学的研究, 第2報, 貯蔵中のチューリップ球根に対する低温の影響, 北教大紀要 (第2部B) 第23巻第1号 32-39頁。
- 10) Aung, L. H. and A. A. DeHertogh. (1967), The occurrence of gibberellin-like substances in tulip bulbs (*Tulipa* sp.). Plant & Cell Physiol. 8: 201-205.