

カンラン (*Cymbidium kanran* Makino) のライゾーム形成 誘導に及ぼすオーキシシンとエチレンの影響

島崎一彦

高知大学農学部

(〒783 南国市物部乙200番地)

(1992年12月24日受付)

(1993年2月18日受理)

カンランのシュートからのライゾーム形成はエテフォン処理で促進された。シュートをアミノエトキシビニルグリシン (AVG) とナフトレン酢酸 (NAA) を添加した培地で培養すると、ライゾームの形成は NAA 単独処理区で促進されたが、これに AVG を組合わせて処理すると抑制された。シュートのエチレン放散量は NAA 処理で増加し、AVG 処理で減少した。

1. 緒言

温帯性シンビジウムの多くは、種子発芽後、プロトコームを形成し伸長成長を始めてライゾームを形成する。ライゾームは分枝と伸長成長を継続してライゾーム塊を作り、それからシュートを分化して幼植物を形成する。また、成熟した植物体において、老化した偽球茎は環境条件の急激な変化に遭遇すると、時には成育過程の序列が逆転し、偽球茎の腋芽からライゾームを形成することがある。ライゾームの成長及びシュートの分化に及ぼすサイトカイニンとオーキシシンの作用¹⁾及びエチレン²⁾の影響についてはすでに報告した。

本研究では、カンランのシュートからのライゾーム形成に及ぼすオーキシシンとエチレンの影響について検討した。

2. 材料および方法

【実験1】 熊本県で採取したカンランを1977年11月6日に自家受粉を行い、得られた種子を1987年からKano培地³⁾で培養した。MS培地中の硝酸アンモニウムを412.5 mg/l (1/4倍)、硝酸カリウムを950 mg/l (1/2倍)に減らし、ショ糖20 g/l、ゲルライト2 g/lを添加した成長調整物質無添加の修正MS培地(MMS培地)⁴⁾で2カ月おきに継代培養してライゾームを増殖し、その茎頂部に形成された長さ約1 cmのシュートを外植体とした。MS培地の塩類組成にショ糖20 g/l、ゲルライト2 g/lを添加した培地を使用し、外植体置床後

にエチレン遊離剤であるエテフォンを0, 1, 10及び100 mg/lの濃度で水溶液として培地上に1 ml滴下した。培地のpHは5.5に調整し、殺菌は120°Cで15分間行った。エテフォン水溶液はpH 5.5に調整し、フィルター(マイレクスGV, 日本ミリポア工業製)を通して濾過滅菌後添加した。培養容器には100 ml三角フラスコを用い、培地量は1容器当たり30 mlとした。外植体は各処理区3個の培養容器に各々5個置床した。培養は、16時間照明、約25 µE/m²s, 25±1°Cの人工照明室で7週間行った。

【実験2】 MS培地に0, 0.1, 1及び10 mg/lのNAA及びエチレン生合成阻害剤であるアミノエトキシビニルグリシン(AVG)を単独に、または組合わせて添加し、外植体を培養した。AVGはフィルターで濾過滅菌後、培地が固化する直前に添加した。培養は実験1と同様の条件下で行った。

【実験3】 実験2と同様な条件下で培養したシュートを、培養10日目に培養容器から取り出してエチレン放散量の測定を行った。各処理区の2個のシュートを滅菌水で水洗後、内容量20 mlのシリンジバイアルに入れ、25 µE/m²・s, 16時間日長, 25±1°Cの人工照明室に24時間静置した後、気相のエチレン量をガスクロマトグラフで測定した。ガスクロマトグラフは島津製作所製のGC14Aを使用し以下の条件で分析した。カラム: 活性炭アルミナを充填した長さ1 mのステンレスアラム, カ

ラム温度：150°C，注入口温度：100°C，検出器：FID.
分析は3反復行った。

3. 結果

【実験1】 エテフォンを滴下した培地で7週間培養後のシュートからのライゾーム形成数及び形成率を **Table 1** に示した。全ての処理区でライゾームの形成が認められた。ライゾーム形成数はエテフォン処理区で2以上であり，無処理区より多かった。ライゾーム形成率は対照区で40%，エテフォン処理区では全て100%であった。

【実験2】 AVG及びNAAを添加した培地で7週間培養後のシュートからのライゾームの形成数及び形成率を **Table 2** に示した。AVG 0.1, 1, 10 mg/lを単独に添加

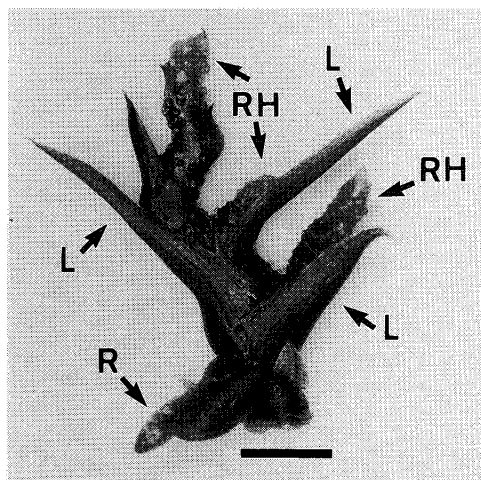


Fig. 1 Rhizome formation from a shoot cultured on MS medium supplemented with NAA 10 mg/l.

RH: rhizome, L: leaf, R: root. Bar=5 mm

Table 1. Effect of ethephon on rhizome formation in shoot cultures.

Ethephon (mg/l)	Number of rhizome* ¹	Rate of rhizome formation (%) ^{*2}
0	0.6±0.4	40
1	2.3±0.4	100
10	2.0±0.2	100
100	2.0±0.4	100

*¹ Number of rhizomes per shoot ± SE

*² (Number of shoots forming rhizome/Number of shoots inoculated) × 100

Table 2. Effect of AVG and NAA on rhizome formation in shoot cultures.

Treatment (mg/l)		Number of rhizome* ¹	Rate of rhizome formation (%) ^{*2}
AVG	NAA		
0	0	0.6±0.4	40
0	0.1	1.0±0.4	75
0	1	1.3±0.7	63
0	10	2.6±0.8	100
0.1	0	0	0
0.1	0.1	0.6±0.3	40
0.1	1	0.3±0.3	25
0.1	10	1.0±0.3	88
1	0	0	0
1	0.1	0	0
1	1	0.5±0.3	27
1	10	1.4±0.3	80
10	0	0	0
10	0.1	0	0
10	1	0	0
10	10	0	0

*¹ Number of rhizomes per shoot ± SE

*² (Number of shoots forming rhizome/Number of shoots inoculated) × 100

した処理区，AVG 1 mg/l と NAA 0.1 mg/l とを組合わせて添加した処理区及び AVG を 10 mg/l と NAA を組合わせて添加した処理区ではシュートの頂芽及び腋芽からのライゾームの形成が抑制された。ライゾームの形成数及び形成率は NAA 10 mg/l を単独に，または AVG 0.1 または 1 mg/l と組合わせて添加した処理区で最大値を示した。シュートの腋芽からの新たなシュート形成は AVG 0.1 mg/l を単独に，または NAA 0.1 mg/l と組合わせて添加した処理区と AVG 1 mg/l と NAA 0.1 または 1 mg/l を組合わせて添加した処理区で各々 15 培養体中 1 個体で認められた。 **Fig. 1** には NAA 10 mg/l を添加した培地でシュートの頂芽及び腋芽からライゾームを形成した培養体を示した。

【実験3】 シュートを AVG を単独に，または NAA 10 mg/l を組合わせて添加した培地で 10 日間培養した後のエチレン放散量を **Fig. 2** に示した。シュートのエチレン放散量は，AVG 濃度の増加に伴い減少し，AVG 10 mg/l の処理により対照区の約 48% に減少した。NAA 10 mg/l を組合わせて添加するとエチレン放散量が増加したが，AVG 濃度が高くなると減少し，AVG 10 mg/l と NAA 10 mg/l を組合わせて添加した処理区では NAA 10 mg/l 単独処理の約 47% に減少した。また，データには示していないが NAA 0.1 及び 1 mg/l を組合わせて添加した処理区のエチレン放散量は NAA 10 mg/l を組合わせて添加した処理区と同様な傾向を示した。

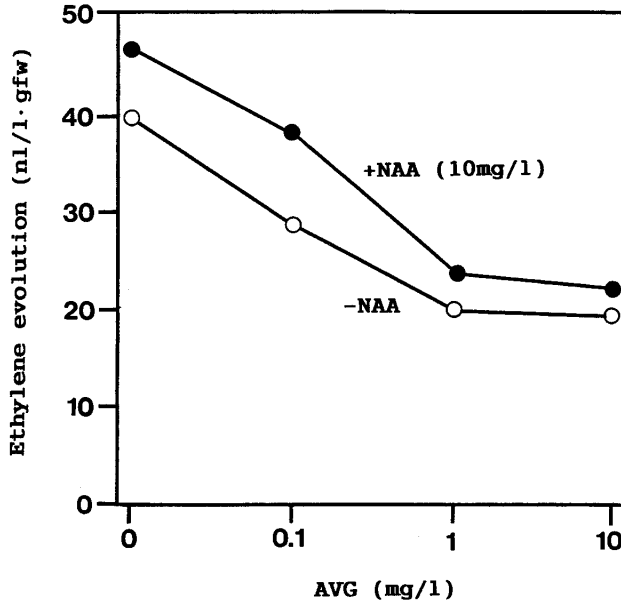


Fig. 2 Effect of AVG and NAA on the evolution of ethylene from shoot cultures (10 days of culture).

4. 考 察

以前の報告で、カンラン及び *C. goeringii* Reifenchbach fil. (シュンラン) の前年生偽球茎にオーキシンを処理すると、偽球茎腋芽からのライゾーム形成が誘導されること¹⁾、シュンランの未発達花芽を *in vitro* で培養した場合も、同様のライゾームの形成が認められ²⁾、ライゾームの形成は外与のオーキシンで制御できることを示した。本実験でもカンランのシュートからのライゾーム形成はオーキシンによって促進されることが確認できた。Fisher⁶⁾ は *Cordyline terminalis* (コルディリネ) の茎の切断面にオーキシンのラノリンペースト処理を行い、高濃度のオーキシン処理区ではライゾームの形成を認めており、本実験と同様の結果を得ている。なお、シベレリンはコルディリネのシュート及びライゾーム形成のいずれにも影響しないことが報告されている⁶⁾が、カンランのシュートでも同様の結果が得られた (未発表)。

本研究ではエテフォン及び AVG を用いた実験結果からカンランのライゾーム形成誘導にはエチレンが重要な

役割を果たしていることが示唆された。一方、高濃度のオーキシン処理は種々の植物体からエチレンの放散を促進することが明らかにされており⁷⁾、カンランのシュートでも同様な結果が得られた。オーキシン処理によってライゾーム形成が促進されるのはこの処理によって誘導されるエチレン生成が関与していることが明らかになった。

文 献

- 1) Shimasaki, K., S. Uemoto, 1987. J. Fac. Agr., Kyushu Univ., **32**: 31-39.
- 2) 島崎一彦, 1992. 植物組織培養, **9**: 202-205.
- 3) Shimasaki, K., S. Uemoto, 1990. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, **22**: 237-244.
- 4) Kano, K., 1971. Mem. Fac. Agr. Kagawa Univ., No. 20.
- 5) Shimasaki, K., S. Uemoto, 1991. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, **25**: 49-52.
- 6) Fisher, J. B., 1972. Amer. J. Bot., **59**: 1000-1010.
- 7) Abeles, F. B., 1973. Ethylene in Plant Biology, p. 58-67.

Summary

Effect of Auxin and Ethylene on Rhizome Formation from Shoot Cultures of *Cymbidium kanran* Makino

Kazuhiko SHIMASAKI

*Department of Subtropical Agriculture, Kochi University,
Monobe B200, Kochi, 783 Japan*

Application of Ethephon promoted rhizome formation from shoot cultures of *Cymbidium kanran*. Naphthaleneacetic acid (NAA) in the culture medium enhanced rhizome formation from shoot cultures, whereas simultaneous addition of aminoethoxyvinylglycine (AVG) suppressed rhizome formation.

Ethylene evolution from shoot cultures was enhanced by NAA, but reduced by AVG. The role of ethylene for rhizome formation was discussed.