

In vivoとin vitroでのヒガンバナ (*Lycoris radiata* Herb) の増殖

浅尾浩史・前田茂一

In vivo and in vitro Propagation of *Lycoris radiata* Herb

Hiroshi ASAO and Shigeichi MAEDA

Key Words : *Lycoris radiata* Herb, propagation, *in vivo*, *in vitro*

緒言

中国から約2,500年前に伝わったと言われている日本のヒガンバナ(*Lycoris radiata* var. *radiata* Herb)は、3倍体($2n=3x=33$)で不稔であり、3つのゲノムは遺伝的に同一であるとされているが、細胞学的¹⁾あるいはDNAレベル⁴⁾の見地から、通常と同質3倍体ではないとされている。一方、中国には二倍体で結実する種(*L. radiata* var. *pumira* Hort)が存在する。ヒガンバナの花芽分化は4月下旬に開始され、5月下旬から6月中旬に葉が枯れて、9月中・下旬に開花する⁵⁾、⁶⁾、⁷⁾。6月以降に葉が枯れるのは高温によるプログラム細胞死によることが示唆されている²⁾。開花後に出葉し、冬から春にかけて活発に光合成を行って球根にデンプンを蓄積する。一方、我が国においては脱石油の一環としてバイオエタノール生産が緊急課題となっており、冬季のバイオマスとしてヒガンバナ球根のデンプンに期待がもてる。さらに、ヒガンバナは奈良県の景観植物として重要であるにもかかわらず、昨今減少していることから効率的な増殖技術が確立されれば、遺伝資源の保存や耕作放棄地の有効利用としても期待できる。そこでヒガンバナの球根生産を行うにあたって、球根の肥大特性と*in vitro*での増殖における培養条件を検討したので報告する。

材料および方法

実験1 定植時の球根重量が球根の肥大に及ぼす影響

奈良県農業総合センター内(橿原市)に自生しているヒガンバナ球根を開花後に掘上げて球周を測定して、2007年10月1日に培養土(ピートモス:パーミキュライト:パーライト=2:2:1)を入れた5寸鉢へ47球定植し、2008年6月7日に球根を掘上げ球周を測定した。元肥として緩効性固形肥料を培養土1ℓあたりに2g施肥した。なお、別途根部を取り除いた球根を用いて、球周から球根重量を求

める推定式を導いた。

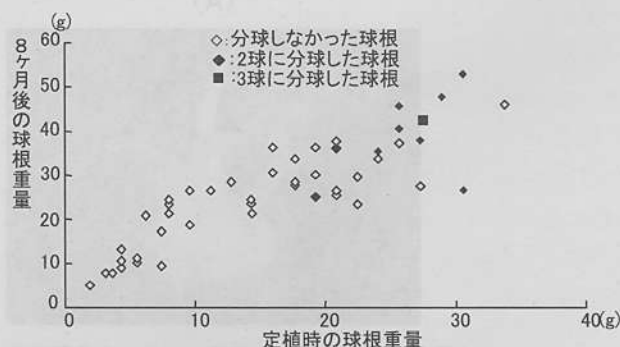
実験2 りん片切片からの再分化における培地条件の検討

ヒガンバナ球根のりん片切片から再分化個体を獲得するため、培地の検討を行った。球根のりん片切片を2, 4-ジクロロフェノキシ酢酸(2, 4-D) (0.1mg/ℓ, 0.5mg/ℓ)とチアジアズロン(TDZ)あるいは6-ベンジルアミノプリン(BA) (0.1mg/ℓ, 0.5mg/ℓ, 1.0mg/ℓ)と組み合わせたMurashige and Skoog(MS)培地⁸⁾(シヨ糖3%, 寒天0.8%, pH5.8)へ置床し、培養2ヶ月後にカルスと不定芽の形成について調査した。なお、1シャーレあたり9切片として、1試験区あたり36切片あるいは180切片を置床し、25℃, 29.1 μmols⁻¹ m⁻², 16時間日長で培養した。

結果および考察

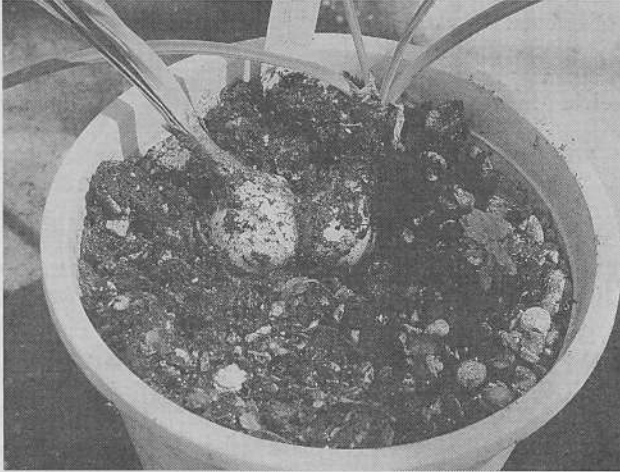
実験1 定植時の球根重量が球根の肥大に及ぼす影響

球周から球根重量を求める推定式は、球周が8cm以上の場合、球根重量(g)=5.16×球周(cm)-33.39, ($r^2=0.97$), 球周が8cm未満の場合、球根重量(g)=1.94×球周(cm)-7.57, ($r^2=0.99$)であった。これらの推定式を用いて球根重量を推定したところ、定植時の球根重量の平均は16.3



第1図 冬季8ヶ月の栽培によるヒガンバナ球根重量の増加
Fig. 1. Increase of bulb weight of *Lycoris radiata* Herb by cultivation for 8 months in winter

$g \pm 1.30 g$ で、8ヶ月後の球根重量の平均は $26.8 g \pm 1.70 g$ であり、約1.6倍に増加した。また、定植時の球根重量が25g以上の場合、70%の球根が2球以上に分球した(第1図、第2図)。これまでに、ヒガンバナの球根重量の増



第2図 ヒガンバナ球根の分球
Fig. 2. Bulb separation of *Lycoris radiata* Herb

加についての詳細な報告はなく、今後、最適な球根生産のための栽培試験を行う上で、本報での栽培結果は基礎となるデータになるであろう。

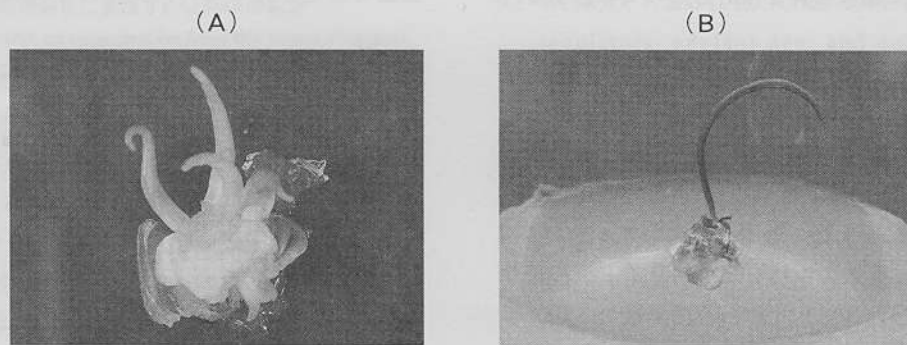
実験2 りん片切片からの再分化における培地条件の検討

2, 4-DとBAを組み合わせた培地では、球根のりん片切片からのカルスや不定芽の形成は全く認められなかったが、2, 4-D0.1mg/lとTDZ0.1mg/l, 0.5mg/l, 1.0mg/lを組み合わせた3つの培地で不定芽が形成された。特に、2, 4-D0.1mg/lとTDZ1.0mg/lを添加した培地での不定芽形成率は11.1%と最も高かった(第1表)。さらに、不定芽を植物ホルモンを添加していない1/2 MS培地へ移植すると発根して、植物体を得ることができた(第3図)。ヒガンバナ科植物については、アマリリス³⁾の培養に関する報告はあるが、ヒガンバナ組織からの再分化については、これまで検討されていない。本研究において、ヒガンバナ組織からの再分化にサイトカイニンとしてTDZが有効であることが判明し、さらに、10%以上の再分化率が得られたことから、

第1表 ヒガンバナ球根のりん片からの再分化に及ぼす植物ホルモンの影響
Table 1. Effect of plant hormone on regeneration from scales of *Lycoris radiata* Herb

2,4-D (mg/l)	TDZ (mg/l)	BA (mg/l)	置床数	カルスのみ形成 切片数	不定芽形成 切片数	総不定芽数	不定根形成 切片数
0.1	0.1		180	1 (0.6%)	17 (9.4%)	26	59 (32.8%)
0.1	0.5		180	0	3 (1.8%)	4	54 (31.8%)
0.1	1.0		180	37 (20.6%)	20 (11.1%)	33	82 (48.2%)
0.5	0.1		36	4 (11.1%)	0	0	0
0.5	0.5		36	0	0	0	0
0.5	1.0		36	4 (11.1%)	0	0	0
0.1		0.1	36	0	0	0	0
0.1		0.5	36	0	0	0	0
0.1		1.0	36	0	0	0	0
0.5		0.1	36	0	0	0	0
0.5		0.5	36	0	0	0	0
0.5		1.0	36	0	0	0	0

基本培地: MS培地 (3%ショ糖、0.8%寒天、pH5.8)



第3図 ヒガンバナ球根りん片からの再分化
Fig. 3. Regeneration from scal of *Lycoris radiata* Herb
TDZ 1.0mg/lと2,4-D 0.1mg/lを含むMS培地での不定芽形成(A)、1/2 MS培地での植物体再生(B)。

本手法は大量増殖や遺伝子導入による育種において、利用可能な技術になることが期待される。

引用文献

1. Biao, M., I. Tarumoto and T. Morikawa. 2000. Cytological studies on selfed plants and interspecific crosses produced in four species of genus *Lycoris* (Amaryllidaceae). *Sci. Rep. Coll. Agric. Osaka Pref. Univ.* 52 : 13-18.
2. Boonyaritthongchai, P. · S. Kanlayanarat · 中村考志 · 岡本繁久 · 松尾友昭. 2003. 春の温度上昇がリコリス植物の葉においてプログラム細胞死を引き起こすのか?. *園学雑.* 72(別2) : 554.
3. 藤野守弘 · 塩飽邦子 · 稲垣国昭 · 森 俊人. 1986. 組織培養によるアマリリスのウイルス・フリー球育成. *兵庫農総七研報.* 34: 85-90.
4. Hayashi, A., T. Saito and T. Mori. 2005. Genetic variations in *Lycoris radiata* var. *radiata* in Japan. *Genes and Genet. Syst.* 80(3) : 199-212.
5. 森 源治郎 · 坂西義洋. 1977. ヒガンバナ科 (Amaryllidaceae) の球根植物の生育習性に関する研究 (第1報). *園学雑.* 45(4) : 389-396.
6. Mori, G. and Y. Sakanishi. 1988. Effect of temperature on flower initiation and leaf emergence in *Lycoris radiata* and *L. squamigera*. *Bull. Univ. Osaka Pref.* 40: 11-17.
7. 森 源治郎 · 今西英雄 · 坂西義洋. 1990. *Lycoris* 属の開花に及ぼす温度の影響. *園学雑.* 59(2) : 377-382.
8. Murashige, T and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco cultures. *Physiol. Plant* 15: 473-497.
9. Tarumoto, I., M. Biao and T. Ogawa. 2006. Studies on speciation in genus *Lycoris* using interspecific hybrids and selfed plants produced through embryo rescue. *JARQ.* 40(4) : 317-326.