塊茎分割によるシクラメンの栄養繁殖 (第2報)

シクラメン塊茎の再生に及ぼす頭部切除の位置及び分割の大きさの影響

中 山 昌 明

(信州大学農学部)

Vegetative Propagation of Cyclamen by Notching of Tuber

II. Effect of Scooping Site and Notching Size on the
Regeneration of Cyclamen Tuber

Masaaki NAKAYAMA

Faculty of Agriculture, Shinshu University, Ina, Nagano 396

Summary

In the previous paper of 1979, the author reported that cyclamen could be vegetatively propagated by means of notching on the cut surface after the upper part of the planted tuber was scooped.

In the present paper, the suitable site of tuber scooping and size of tuber notching for the vegetative propagation are examined. And the initial points of the adventitious buds developed on the scooping surface of the tuber and its margin, and of the adventitious bud occurring on the epidermis of the tuber are further observed from an anatomical viewpoint.

The results are as follows:

1. The site of scooping and the size of notching.

It seems to be suitable for this propagation that the tuber was scooped at one third of the upper part and the cut surface notched into one centimeter squares.

2. The point of initiation of adventitious bud primordia.

In the case of adventitious buds growing from the scooping surface, the original body of the bud occurred in the vascular cut end and its periphery. On the other hand, in the case of adventitious buds growing from the margin of the scooping surface, the original body occurred in the meristematic layer, where old periderm and new wound-periderm joined together. And moreover, in the case of adventitious buds growing from the epidermis, the leaf primordia of the bud originated from the neighborhood of the cork cambium in the periderm.

緒 言

前報(5)において、塊茎分割組織における不定芽形成のための土壌湿度、温度及び相対湿度について、また分割によって得られた個体の栽培適性について報告した。本報は塊茎頭部切除の位置及び頭部切除後の分割の大きさが再生にどのように影響するかを栄養繁殖の立場から検討するとともに、不定芽の発生位置とうについて解剖的観察を行ったので、その結果を報告する。

本実験は 1968 年 5～9 月に室温下で予備的に試行し、その結果に基づき再度 1970～71 年の両年定温室内において行ったものである。

材料及び方法

実験 1 塊茎頭部切除の位置と再生作用

1968 年 9 月には種し、慣行によってはち (15 cm 素焼ばち) 栽培したシクラメン品種「フェールパーク」の 24 個体を '70 年 5 月 23 日に選んで用いた。これらの個体は開花終了約 2 カ月後のもので、塊茎の大きさが横径で約 6.5 cm、高さが約 3 cm であった。方法は全個体のはち内土壌湿度を前報の結果に基づいて pF 2.71～2.75 に調節してから、塊茎部分を露出させ、第 1 図に示すように塊茎上部を球高の 1/6、1/3、1/2 及び 2/3 の 4 つの深さ (区) にそれぞれ切除した。供試個体数は 1 区 4 個

1979 年 9 月 20 日 受理

Fig. 1. Diagram of longitudinal and transverse sections of cyclamen tuber. Left: longitudinal section of center in tuber. Right: transverse sections, from above to below, 1/6, 1/3, 1/2, 2/3 in height of tuber, respectively.

C: Cortex, En: Endodermis, Ep: epidermis,
P: Petiole, R: Root, VB: Vascular bundle.

体とした。ただし 1/3 区及び 2/3 区はそれらに更に 4 個体を加え、実験 2 の不定芽の解剖観察に用いた。頭部切除後は温度約 20℃、相対湿度約 60% に調節された定温室で 100 日間、更にその後は温室内（最低 10℃）に移して約 5 か月間管理した。頭部切除後のはち内土壌湿度は前報にしたがって調節した。調査は頭部切除時に各区の塊茎切断面における維管束の分布状態を観察した。また頭部切除 30 日後から 5 日間隔で 120 日間で不定芽の形成経過を調べた。更に切除 150 日後の不定芽を形成した位置によって塊茎切断面、切断面周縁部及び塊茎表皮面のそれぞれに分けて数え、不定芽総数に対する位置別不定芽数の%で表示した。

実験 2 不定芽分化の解剖観察

材料は実験 1 の 1/3 区及び 2/3 区のそれぞれ 4 個体を用いた。方法は形成された位置によって下記の 3 つに分けて観察した。第 1 は塊茎切断面に生ずる不定芽の場合で、頭部切除 30～60 日後の 1/3 区の材料を使って観察した。第 2 は切断面周縁部に生ずる不定芽の場合で、切除 50～90 日後の 1/3 区及び 2/3 区の材料で観察した。

第 3 は塊茎表皮面に現れる不定芽の場合で、切除 70～120 日後の 2/3 区の材料で観察した。観察は不定芽の発達段階に応じて小片試料を反復採取し、徒手ミクロトームで切片をつくり、サフラニン 1% 水溶液で染色してからグリセリンで封入し、40～100 倍で検鏡した。

実験 3 塊茎分割の大きさと再生率

実験 1 で用いた材料と同様にして栽培した品種‘フェールバーク’の 16 個体を '70 年 5 月 26 日に選んで用いた。これらの個体は塊茎の横径が約 5.9 cm、高さが約 2.9 cm であった。方法は実験 1 の場合と同様、はち内土壌湿度を調節してから塊茎部分を露出させ、塊茎上部 1/3 を切除し、その横断面を第 2 図に示すように基盤

Fig. 2. Cyclamen tubers notched by various size after one third of the upper part was scooped. Size, from left to right, 0.5, 0.75, 1.0, 1.5 in cm squares, respectively.

の目状に 0.5, 0.75, 1.0 及び 1.5 cm の 4 つの大きさ(区)に分割した。1 区当たりの供試数は 4 個体とした。また各区の総分割数は第 3 表に示すとおりである。分割後は約 20℃、RH 約 60% に調節された定温室で 100 日間、更にその後は温室内に移して約 5 か月間管理した。調査は分割 30 日後から 5 日間隔で 120 日間、再生数及び枯死数を数えた。なお枯死したものはその都度抜きとって処分した。分割 8 か月後('71 年 1 月 22 日)に再生個体をはちから土ごと抜きとり、各個に分離して、各区それぞれ 20 個体につき葉数、根数及び生体重を測定した。

実験結果

実験 1 塊茎頭部切除の位置と再生作用

頭部切除時の塊茎切断面に現れた維管束の分布状態を示したのが第 1 図右である。全体として量的に大きな維管束が中心方向に、また量的に小さな維管束は内皮方向に多環状に分布しているのがみられた。位置別では頭部切除が最も浅い 1/6 区は大型及び中型の維管束が主で、小型のものは少なかった。しかし切除の位置がそれより

Table 1. Effect of site of scooping on the adventitious bud formation in cyclamen tuber.

Site of tuber scooped	Mean number of adventitious buds		
	A	B	C
1/6	3.5±1.3	5.8±1.3	5.8±1.3
1/3	4.3±1.0	13.5±2.1	14.5±1.9
1/2	0.8	9.5±2.6	13.6±2.4
2/3	0	4.5±1.3	11.5±3.5

A : 50 days after scooping, B : 100 days after scooping, C : 150 days after scooping, ± : Standard error.
The number of tubers examined was 4 in each treatment.

Table 2. Relationship between the site of scooping and of adventitious bud formation in cyclamen tuber.

Site of tuber scooped	Mean number of adventitious buds with each site		
	On the cut surface	Margin of cut surface	On the epidermis
1/6	5.8(100)	0 (0)	0 (0)
1/3	13.0 (90)	1.5(10)	0 (0)
1/2	10.3 (76)	3.3(24)	0 (0)
2/3	2.0 (17)	5.8(50)	3.8(33)

The results was shown in data of 150 days after scooping. Figures in parentheses indicate the percentage as total number of adventitious in each treatment was 100.

も深くなるにつれて大・中型維管束は小型化する傾向がみられた。切断面に現れた維管束の数は 1/3 区及び 1/2 区が比較的多かった。

第 1 表は頭部切除 50 日, 100 日及び 150 日後の不定芽数を示したものである。不定芽形成の時期は切除位置が低くなるについて遅れる傾向がみられた。特に 2/3 区においてその傾向が著しかった。切除 150 日後の不定芽数は 1/3 区が最も多く, ついで 1/2 区, 2/3 区, 1/6 区の順であった。

切除 150 日後における不定芽の形成位置と切除位置との関係を示したのが第 2 表である。それによると, 1/6 区では切断面でのみ不定芽形成がみられ, 他の位置からは全く認められなかった。1/3 区及び 1/2 区では切断面と切断面周縁部の両位置で形成された。両位置の不定芽数の比は 1/3 区が約 9 : 1, 1/2 区が約 3 : 1 であった。2/3 区では切断面, 切断面周縁部及び表皮面の 3 つの位置で形成された。それらの位置の不定芽数の比は約 2 : 5 : 3 であった。なお塊茎表皮面に現れる不定芽は最初 1 枚の不定葉 (Adventitious leaf) として分化発達するが, その後葉柄の基部に生長点を分化して正常な芽となった。第 3 図は頭部切除 8 カ月後の各区の再生状態を示したものである。

実験 2 不定芽分化の解剖観察

Fig. 3. Regeneration of cyclamen tubers scooped by various site. From A to D, 1/6, 1/3, 1/2, 2/3 in height of tuber, respectively. Photograph was taken after eight months from scooping.

塊茎切断面に現れる不定芽：第 4 図は切断面に現れる不定芽の発達経過を示したものである。Stage-A は維管束切口上に生じた原基が傷い周皮細胞を押し拡げて隆起した状態を示す。Stage-B は Stage-A から約 10 日経過した葉原基の分化開始期を示す。Stage-C 及び Stage-D は Stage-B から更に 10~15 日経過した葉分化の初期段階を示す。この第 4 図の例は内皮方向に近い比較的小型な維管束上に生じた場合で, 中心方向に近い比較的大型な維管束の場合はその切口またはその周辺が広く隆起し, そこに 1 つまたはそれ以上の不定芽の分化が認められた。

塊茎切断面の周縁に発達する不定芽：この場合は既存の周皮と切断面に発達した傷い周皮とが連結した位置の分裂層から生じた。原基の発達速度は切断面に現れる不定芽の場合よりも遅いが, 発生後約 1 か月で葉原基の分化が認められ, 新芽の中心部からは維管束形成層が中心方向に皮層内を斜め下方に分化するのが観察された。

塊茎表皮面に現れる不定芽：第 5 図は表皮面に現れる不定葉の発達経過を示したものである。Stage-A 及び B はコルク形成層の近傍に生じた葉原基がコルク層を押し破って盛り上った状態を示す。Stage-C は Stage-B から約 15~20 日経過して原基が突起状に発達した状態を示す。この突起は第 6 図のように表皮面に多数発生する。Stage-D は Stage-C から更に 20 日以上経過して

Fig. 4. Diagrammatic sections of the developmental stages of adventitious bud arose on the scooping surface of cyclamen tuber. A: Original stage of an adventitious bud pushing through the wound-periderm developed around the vascular cut end. B-D: Initial stages in the differentiation of shoot.

vp: Vascular bundle, wp: Wound-periderm.

Fig. 5. Diagrammatic sections of the developmental stages of adventitious leaf occurred on the epidermis of cyclamen tuber. A and B: Original stages of an adventitious leaf rising from the neighborhood of the cork cambium in the periderm. C: Stage developing in the form of protuberance. D: Initial stage in the differentiation of leaf.

cvb: Connecting vascular bundle, p: Periderm.

葉身及び葉柄分化の初期段階に達した状態を示す。この段階では新葉の中央部附近から求心方向に形成層の分化が進行し、既存の維管束と通ずる連絡維管束の発達が観察された。なお、第6図に示す多くの突起のうち、連絡維管束の形成にまで進んだものはわずかで、突起の多くは途中で座止し、休眠状態となった。

実験3 塊茎分割の大きさと再生率

第3表は分割50日、100日及び150日後の各区の不定芽形成率（再生率）及び枯死率を示したものである。分割の大きさが1.5 cm及び1.0 cmの両区では枯死率

は極めて低く、150日後の再生率は95%以上であった。0.75 cm区では分割50日後で約32%、100日後で約40%の枯死率を示し、その結果150日後の再生率は約53%にとどまった。0.5 cm区では枯死率が50日後で約72%、100日後には約80%に達し、150日後の再生率はわずか12%に過ぎなかった。再生の速さは1.5 cm及び1.0 cmの両区が早く、ついで0.75 cm区、0.5 cm区の順であった。

分割8カ月後の再生個体の葉数、根数及び生体重は第4表に示すとおりである。根数及び生体重は分割の大き

Table3. Effect of size of notching on the adventitious bud formation on segments in cyclamen tuber.

Size of tuber notched (cm squares)	Number of segments	50 days after notching			100 days after notching			150 days after notching		
		Budded percent	Without buds percent	Dead percent	Budded percent	Without buds percent	Dead percent	Budded percent	Without buds percent	Dead percent
0.50	356	0	27.8	72.2	8.7	10.1	81.2	12.4	3.0	84.6
0.75	139	20.8	46.8	32.4	50.3	9.4	40.3	53.2	1.4	45.4
1.00	93	50.4	49.6	0	92.5	7.4	0	95.8	2.1	2.1
1.50	47	48.9	51.1	0	100.0	0	0	100.0	0	0

Fig. 6. Protuberances formed on the epidermis of tuber in which two thirds of the upper part was scooped. Photograph was taken at 110 th day after scooping.

Table4. Effect of size of notching on the growth of regenerated segments in cyclamen tuber.

Size of tuber notched (cm squaras)	Mean number of leaves	Mean number of roots	Mean fresh weight of plant (g)
0.50	2.3±0.6	1.2±0.4 (0)	2.85±1.54
0.75	2.5±0.7	2.1±0.7 (0.1)	4.42±1.23
1.00	4.1±0.7	5.9±1.0 (2.3)	6.87±1.15
1.50	4.3±1.1	9.1±1.3 (2.7)	11.85±1.98

The results was shown in data of eight months after notching. ±: Standard error. Figures of parentheses indicate the number of root formed after notching. The number of plants examined was 20 in each treatment.

さに比例して増大する傾向がみられた。葉数は 1.5 cm と 1.0 cm の両区及び 0.75 cm と 0.5 cm の両区の間には明らかな差はみられなかった。しかし、前 2 者と後 2 者との間では前 2 者が明らかに多かった。なお、根数については、1.5 cm 及び 1.0 cm の両区では分割後に形成されたとみられる根が個体当たり 2〜3 本認められたが、0.75 cm 及び 0.5 cm の両区ではそれはほとんどみられなかった。第 7 図は分割 8 か月後の各区の生育状態を示

Fig. 7. Growth of the regenerated plants affected by size of tuber notching. Photograph was taken after eight months from notching. From A to D : 0.5, 0.75, 1.0, 1.5 in cm squares, respectively.

したものである。

考 察

シクラメンの塊茎は胚軸の肥大した茎の部分で、その発達経過に関しては安井ら(7)によって組織学的に観察が行われている。ところで、塊茎はその上部が人為的に切除されると幼苗期ではその切断面周囲下の表皮面に不定葉を、また成体期では切断面の中心部附近に不定芽を生ずることは Goebel(2), Hill(3) らによって指摘されている。

本実験では十分肥大充実したとみられる成体期の塊茎を用いて、頭部切除の位置及び分割の大きさと再生作用について、また不定芽の分化位置並びに不定芽の発達について観察を行った。以下それらの結果について考察する。

塊茎頭部切除の位置と再生作用：不定芽の形成時期は、切除の位置が球高の 1/3 までであるとほぼ同時期にみられるが、その位置が球高の 1/2 またはそれ以上になると著しく遅れる。また形成後の不定芽の発育も 1/2 以上になると好ましくない。これは切除による塊茎自身の量的減少が再生作用に影響した結果と考えられる。一方、切除の位置が低くなるにつれて切断面からの不定芽形成率は低下し、逆に切断面周縁部または表皮面からの形成率が高くなっている。特に球高の 2/3 が切除された場合には塊茎底部に近い位置の表皮面からも不定芽の形

成がみられている（第6図）。これは切除の位置が低くなるにつれて切断面における再生機能が低下する結果生じた現象とみられる。しかし、この機能低下の原因が切断面の茎根遷移部への接近にあるのか、それとも不定芽形成の極性的性質の乱れによるものであるのかは不明である。

以上のことから、塊茎分割を行う際の頭部切除の位置は球高の 1/3 を目標に行うのが望ましいと考える。

塊茎分割の大きさと再生率：分割の大きさは直接繁殖能率にかかわる重要な問題である。まず分割の大きさと不定芽形成時期との関係から、分割の大きさが 0.75 cm 方形またはそれ以下では形成時期は著しく遅れる。また形成後の生育も 1.0 cm 方形またはそれ以上のものと比べてよくない。これは分割を細かくすることによって1分割当りの養分保有量が減少し、再生への力が弱まるためではないかと考える。一方、再生率は分割の大きさが 1.0 cm 方形またはそれ以上であればほぼ 100% に近い。しかし分割が 1.0 cm 方形以下となると枯死率が高まって再生率は低下する。たとえば、0.5 cm 方形で分割した場合その再生率は 13% に満たない。この原因は主として分割の際の根の切断または切傷による乾燥害ではないかと考える。ちなみに、塊茎1分割当りの根数を筆者の調査(4)から推定すると、開花を終えた当代球では 1.5 cm 方形に分割した場合で 8.8 本、1.0 cm 方形で 3.9 本、0.75 cm 方形で 2.1 本、0.5 cm 方形で 1.0 本となる。したがって分割の大きさが細くなるにつれて根の痛められる確率は増大する。しかも切傷の影響は致命的なものとなる可能性が高い。

再生能率をみるために、塊茎 10 cm² 当たりの再生数と分割の大きさととの関係を示したのが第8図である。10 cm² 当たりの再生数の最も多いのは 1.0 cm 方形の 96 個体、ついで 0.75 cm 方形の 94 個体、0.5 cm 方形の 49 個体、最も少ないのが 1.5 cm 方形の 44 個体である。このことは分割の大きさを 1.0~0.75 cm 方形以下に細かくしても再生率は必ずしも高くはならないことを意味している。

以上から、頭部切除後の分割の大きさは約 1.0 cm 方形を目標に分割するのが好ましいのではないかと考える。

不定芽分化の解剖観察：これまでにシクラメンの塊茎組織に形成される不定芽を組織学的に研究した例として、頭部を切除した幼苗期の塊茎に生ずる不定芽の維管束分化に関する Boodle の報告(1)がある。Boodle の結果は本実験で観察された塊茎表皮面に生じた不定芽または塊茎切断面の周縁部に生じた不定芽の発達経過と一致

Fig. 8. Relationship between the size of notching and the number of segments with adventitious buds per 10 cm² in area of transverse section in cyclamen tuber.

している。しかし本実験で観察された塊茎切断面の維管束切口及びその周辺に生ずる不定芽については Boodle は何もふれていない。これは恐らく用いた塊茎が幼苗期のものであったためにそのような位置からの不定芽形成は起こらなかったものと推察される。Priestrey(6) は解剖学的見地から栄養繁殖に関する広範な関係文献を要約して解説しているが、その中で切り離された茎節間に形成される不定芽の位置は一般的に傷いカルスから生ずる。しかし皮層または表皮から生ずる場合もあるし、またまれには頂端の直接維管束から生ずる場合もあると解説している。頭部を切除したシクラメン塊茎の維管束切口又はその周辺に外生的に生ずる不定芽の場合も、その数少ない例の中に入るものかも知れない。

摘 要

前報において、シクラメンは植付けた状態の塊茎の上部を切除したのち、その切断面を分割することによって栄養的に繁殖が可能であることを報告した。

本報では、繁殖のための適正な塊茎頭部切除の位置及び分割の大きさについて検討した。また、塊茎切断面及びその周縁部から発達する不定芽並びに塊茎表皮面に生ずる不定芽の発生位置を解剖的に観察した。

1. 塊茎頭部切除の位置及び分割の大きさ

塊茎上部3分の1を切除してから、その横断面を1 cm 方形に分割することが当繁殖に最も適合した。

2. 不定芽原基の発生位置

切断面からの場合、不定芽原基は切断した維管束の切口及びその周辺に発生した。切断面の周縁部からの場合、原基は周皮と傷い周皮が連結する位置の分裂層に生じた。また表皮面に現れる不定芽の葉原基はコルク形成層近傍から発生した。

謝 辞 本研究を行うに際し、ご指導をいただいた信州大学農学部高橋敏秋教授に対して厚く感謝の意を表します。

引用文献

1. BOODLE, L. A. 1920. The mode of origin and the vascular supply of the adventitious leaves of cyclamen. *Ann. Bot.* 34 : 431—437.

2. GOEBEL, K. 1902. Ueber Regeneration im Pflanzenreich. *Biolog. Centralbl.* 22 : 435—438, 481—487.
3. HILL, A. W. 1920. Studies in seed germination. Experiment with cyclamen. *Ann. Bot.* 34 : 417—430.
4. 中山昌明. 1978. 9月まきシクラメンの生育経過と2・3の体内成分の消長. 長野県園芸研究会第9回講演要旨. 54—55.
5. 中山昌明. 1979. 塊茎分割によるシクラメンの栄養繁殖. 園芸研究集録第9輯. 93—99.
6. PRIESTREY, J. H., and C. F. SWINGLI. 1929. Vegetative propagation from the stand-point of plant anatomy. *U. S. Dept. Agric. Tech. Bull.* 151 : 1—98.
7. 安井公一・宮田啓一・小西国義. 1974. シクラメン塊茎の肥大に関する組織学的研究. 園芸学会昭和49年度秋季大会研究発表要旨. 348—349.