

北海道農研
研 報

Res. Bull.
NARO
Hokkaido Agric.
Res. Cent.

北海道農業研究センター研究報告

第197号

RESEARCH BULLETIN
OF THE
NARO HOKKAIDO AGRICULTURAL RESEARCH CENTER

Number 197 August, 2012

National Agriculture and Food Research Organization
Hokkaido Agricultural Research Center
Hitsujigaoka, Sapporo, Japan



農研機構 北海道農業研究センター

NARO HOKKAIDO AGRICULTURAL RESEARCH CENTER (NARO/HARC)

北海道農業研究センター研究報告 第197号

所長	天野哲郎				
編集委員長	仁平恒夫				
編集委員	須藤賢司	牛木純			
	細山隆夫	奥村健治			
	安藤哲	梅本貴之			
	藤野賢治	永田修			
	井上聡	津田昌吾			
	阿部英幸				

RESEARCH BULLETIN
OF THE
NARO HOKKAIDO AGRICULTURAL RESEARCH CENTER

Number 197

Tetsuro Amano, *Director General*

Editorial Board

Tsuneo NIHEI, *Chairman*

Kenji SUDO	Jun USHIKI
Takao HOSOYAMA	Kenji OKUMURA
Satoshi ANDO	Takayuki UMEMOTO
Kenji FUJINO	Osamu NAGATA
Satoshi INOUE	Shogo TSUDA
Hideyuki ABE	

北海道農業研究センター研究報告 第197号

目 次

低温処理によるテンサイ子葉への可溶性糖の蓄積

..... 松平 洋明・吉田みどり・佐藤 裕

... 1-7

アルストロメリア野生種8種の開花に及ぼす栽培夜温と長日処理の影響

..... 篠田 浩一・村田 奈芳

... 9-19

RESEARCH BULLETIN
OF THE
NARO HOKKAIDO AGRICULTURAL RESEARCH CENTER
No.197 (August, 2012)

CONTENTS

- Accumulation of Maltose in the cotyledons of sugar beet in response to low temperature
.....Hiroaki MATSUHIRA, Midori YOSHIDA and Yutaka SATO
..... 1-7
- Effects of night temperature and day length on the flowering of eight *Alstroemeria* species
.....Koichi SHINODA and Naho MURATA
..... 9-19

低温処理によるテンサイ子葉への可溶性糖の蓄積

松平洋明・吉田みどり・佐藤裕

I. 緒 言

テンサイ (*Beta vulgaris* L.) は、ヨーロッパを中心に、北米、ロシアならびに北海道等で広く栽培されており、全世界で生産される砂糖原料の約3割を占めている(農畜産業振興機構『需給関係資料』)。我が国においても近年では国産糖の8割以上がテンサイを原料に製造される(てん菜糖業年鑑, 2011)。我が国におけるテンサイの栽培は北海道の畑作地帯において輪作体系に組み込まれて行われており、地域には製糖業界をはじめ関連する産業も多く、極めて重要な作物となっている。

北海道でのテンサイ栽培は現在のところ9割以上が移植栽培である(てん菜糖業年鑑, 2011)。1~2ヶ月施設内で育苗することにより、十分な初期生育量を確保できることから、北海道のテンサイ収量の増加と安定化に大きく貢献している。しかしながら、今後想定される輸入テンサイ糖との競争を考えれば、低コスト化に大きく寄与できる直播栽培が不可欠である。

北海道において直播栽培を困難にしている問題点の一つとして、播種後の晩霜害があげられる。テンサイの主産地では、播種後の子葉が展開した直後の4月下旬から5月上旬にかけての時期に夜間に氷点下となることが少なからぬ頻度で起こり、霜が降りることによって幼苗が凍結・枯死してしまうため、播き直しが必要となる場合もある(角田・戸田, 2009)。この問題に対する解決策として耐凍性の高い品種の育成が挙げられるが、これまでに耐凍性育種が行われたことはない。テンサイは冬期間に栽培される植物ではないが、開花には春化を要求することから、低温馴化能(氷点以上の低温下にさらされることにより、耐凍性を獲得する能力(THOMASHOW, 1999))をもつことが推察される。しかしながら、テ

ンサイにおいては、耐凍性についてごく僅かな報告があるのみであり(WOOD *et al.*, 1950; WOOD, 1952)、幼苗の低温応答や低温馴化に関して生理学的な知見は得られていない。そこで、テンサイの耐凍性を高める技術を開発するためには幼苗の低温応答に関する基礎的なデータを蓄積する必要があると考えられる。

低温馴化の過程では、遺伝子発現(VOGEL *et al.*, 2005; HANNAH *et al.*, 2005)や代謝(GUY *et al.*, 2008)に大きな変化が生じ、それにもなつて膜構造の変化(UEMURA and STEPONKUS, 1994; UEMURA *et al.*, 1995)や水分含量の低下(KACPERSKA, 1993)、プロリン等のアミノ酸や可溶性糖の増加(ALBERDI and CORCUERA, 1991)といった数多くの変化が引き起こされる。これらは細胞外氷結による物理的傷害の低減や脱水耐性向上に働くとされる。

これらの変化のうち、可溶性糖の蓄積は広範な植物種で確認されており、耐凍性に密接な関係がある(STITT and HURRY, 2002)。多くの場合、凍結保護剤として働くスクロース、フルクトースならびにグルコースなどの可溶性糖が低温にさらされることによって蓄積する。冬コムギや多くのイネ科牧草ではフルクタン(YOSHIDA and TAMURA, 2011)が、シロイヌナズナや耐塩草類である *Distichlis spicata* (Saltgrass)、ならびにアルファルファ等のマメ科牧草は、低温馴化の際にラフィノース、スタキオース等のラフィノース族オリゴ糖が蓄積し、耐凍性に寄与することが知られている(CASTONGUAY *et al.*, 1995; KLOTKE *et al.*, 2004; SHAHBA *et al.*, 2003)。これらのオリゴ糖は浸透圧を調節する適合溶質として、あるいは膜成分の保護などの働きによって耐凍性を高めると考えられている(LIVINGSTON *et al.*, 2009)。また、シロイヌナズナにおいて β -アミラーゼをコードする *BMV7* および *BMV8* 遺伝子、ならびに α -Glucan/Water Dikinase をコードする *SEX1* が低温に応答して働き、デンプンを分解してマル

トースおよびマルトオリゴ糖を蓄積することが知られている(KAPLAN and GUY *et al.*, 2004; YANO *et al.*, 2005)。これらのマルトースおよびマルトオリゴ糖も凍結保護剤としての機能が知られている(CROWE *et al.*, 1990)。

以上のような、植物の低温応答として一般的である可溶性糖の蓄積について、量的な変化や構成成分についてテンサイ幼苗で明らかにすることは、テンサイの低温応答の生理学的な基礎知見となり、これまでに確立されていない幼苗期の低温馴化能を評価するための耐凍性検定法の開発にも寄与すると期待される。そこで本研究では、子葉期のテンサイ幼苗における低温応答について、糖蓄積に注目して解析した。

II. 材料および方法

1. 供試材料

北海道農業研究センターで育成されたテンサイ系統「NK-219mm-O」(以下、「NK-219」と称する)を本研究に用いた。本系統は葉片のカルス化およびカルスからの植物体再性の能力が極めて高いことが知られ、遺伝子導入実験を行う上で利用価値が高い。培養土(サカタスーパーミックス A)に播種後、21℃、16時間日長下で育成した。播種後2週間の子葉が十分に展開し、かつ本葉が出現していない(子葉期)植物体を5℃、10℃、15℃もしくは20℃に設定したグロースチャンバーに移して16時間日長で7日間育成した。

2. 可溶性糖の抽出と分析

上記の温度処理を施した植物体から、処理0日(無処理)、1日、3日、5日ならびに7日後にそれぞれ3個体から子葉を採取し、子葉の約5倍量の超純水を加えて1時間ボイルすることにより可溶性糖を抽出した。可溶性糖抽出物は0.45 μ mのシリンジフィルターで濾過した後、糖分析に用いた。それぞれのサンプルの抽出液には、液体クロマトグラフィーの内部標準物質として、プロピレングリコール(最終濃度1 mg/ml)を添加した。

可溶性糖の含量は、フルクトース、グルコース、二糖およびオリゴ糖についてYOSHIDAら(1998)に基づきShodex KS-802およびKS-803カラム(Shodex, Tokyo, Japan)を連結した高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で分画し、屈折率検出器で検出す

ることで内部標準および標準物質との比較を行い定量した。より詳細な糖の構成成分については、Carbo Pac PA-1 anion-exchange columnを装着したパルスアンペロメトリック検出器付き高速陰イオン交換クロマトグラフィーDX 500(Dionex, CA, USA)(HPAEC)により同定した。HPAECの分離は150mM NaOH/酢酸ナトリウムグラジエントを流速1 ml/minで用いた。酢酸ナトリウムグラジエントは、0-1min, 25mM; 1-2min, 25-50mM; 2-20min, 50-200mMの通りに行った。スクロースとマルトースの同定にはHPAECを用い、各々の含量は、HPLCで測定した二糖の含量をHPAECで測定したスクロースとマルトースのピーク面積の比で割ることによって求めた。

3. グルコアミラーゼアッセイ

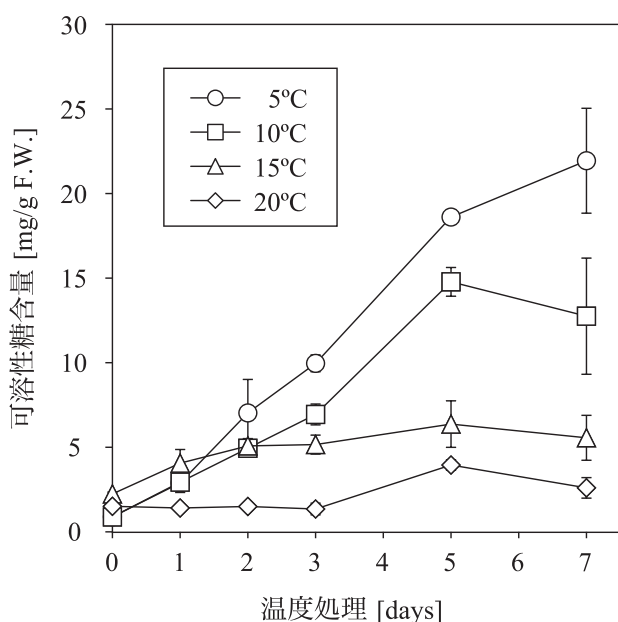
グルコアミラーゼ反応液(100mM酢酸ナトリウム緩衝液(pH4.5)、6 mg/mlグルコアミラーゼ(和光純薬工業))と可溶性糖サンプルを等量ずつ混合し、40℃で15分間反応した。反応物は上記と同様にHPAECで分析した。

III. 結 果

1. テンサイ子葉の温度処理に応じた可溶性糖の蓄積

5～15℃の低温に対するテンサイの応答を、子葉に含まれる糖含量の変化に着目して分析した。低温処理を行う前(0日目)は、子葉に含まれる可溶性糖の含量は、生重量1 gあたり1～2 mgと極めて少ないが、処理温度に応じて総糖含量の変化が見られた(第1図)。5℃処理では、子葉に含まれる可溶性糖は顕著に増加し、7日間の処理により、0.9mg/gF.W.から21.9mg/gF.W.まで増加した。10℃処理では5日目までに0.9mg/gF.W.から14.8mg/gF.W.まで増加したが、その後は顕著な増加は見られなかった。なお、5℃および10℃処理での糖蓄積については反復実験により同様の結果を得ている(データは示さない)。一方、15℃および20℃処理では、可溶性糖の含量はわずかに増加するか、もしくはほとんど変化がみられなかった(第1図)。

15℃および20℃処理では本葉がやや展開する程度の生長が見られたが、5℃および10℃処理では、植物体はほとんど生長しなかった。

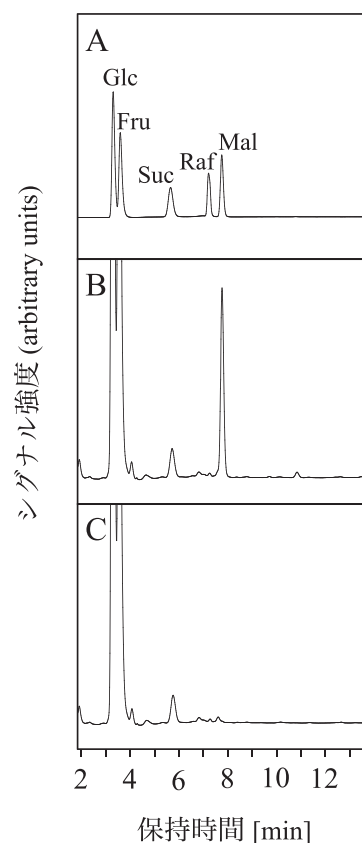


第1図 テンサイ子葉に蓄積する総可溶性糖含量の温度処理による変化

5°C, 10°C, 15°Cもしくは20°Cで1週間処理した幼苗から子葉を採取し、可溶性糖含量をHPLCにより測定した。バーは標準誤差(n=3)を示す。

2. 低温応答で蓄積する糖の同定

低温処理によってテンサイ子葉に蓄積する可溶性糖の構成成分を、HPAECで詳細に調べた。5°C, 5日間処理した子葉サンプルの典型的な結果を第2図に示す。低温処理によって蓄積量が増加する主な可溶性糖は単糖(フルクトースおよびグルコース)であり、残りのほとんどは二糖であった。二糖では、スクロースに対応する5.8min(Retention time)のピークとは別に、7.9minに顕著なピークを検出した(第2図B)。標準物質(第2図A)との比較により、7.9minのピークはマルトースであると推定されるが、低温処理によって植物体にマルトースが蓄積する事例は極めて少ない。そこで、子葉で検出された7.9minのピークがマルトースである確証を得るため、グルコアミラーゼ反応により検証した。グルコアミラーゼはグルコース分子が重合した α -グルカンに存在する α (1-4)および α (1-6)グリコシド結合を加水分解する活性を持ち、デンプンやマルトオリゴ糖をグルコースに加水分解する。グルコアミラーゼ反応の結果、7.9minのピークが消失した。したがって、ここで見出された7.9minのピークはマルトースと同定した。

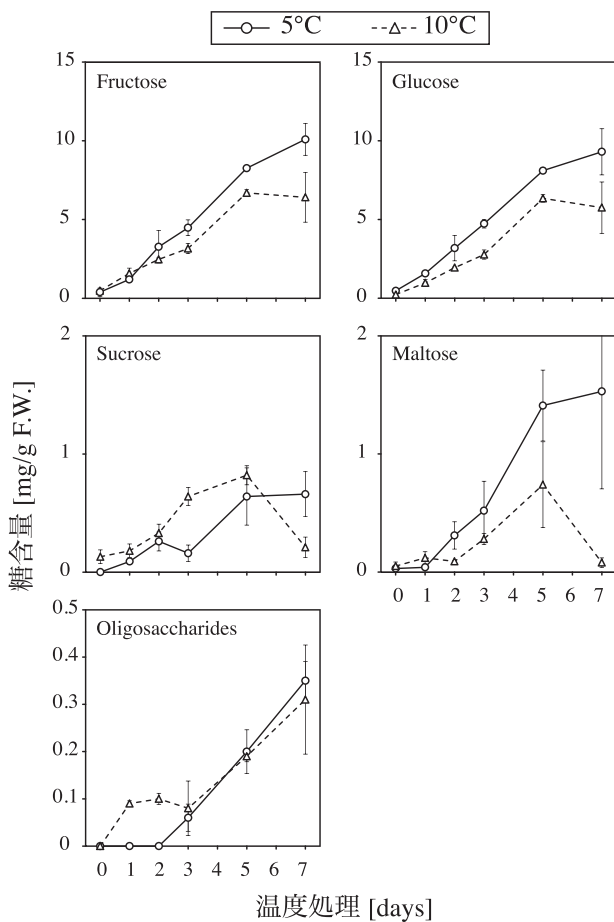


第2図 高速陰イオン交換クロマトグラフィー (HPAEC) によるテンサイ子葉に蓄積した可溶性糖の分析

(A)標準物質, (B)5°C, 5日間処理した植物体の子葉に含まれる可溶性糖のクロマトグラム, (C)グルコアミラーゼ処理。(B)と同一のサンプルを3mg/mlグルコアミラーゼ, 50mM酢酸ナトリウム緩衝液(pH4.5)中で40°C, 15分間反応した。Fru, フルクトース;Glc, グルコース;Suc, スクロース;Raf, ラフィノース;Mal, マルトース。

3. 低温処理による可溶性糖構成成分の変動

5°Cおよび10°C処理により増加する可溶性糖の各構成成分について、処理日数による変化を分析した(第3図)。フルクトースおよびグルコースは5°C処理時間に応じて顕著に増加し、フルクトースで0.4mg/gF.W.から10.1mg/gF.W., グルコースでは0.5mg/gF.W.から9.3mg/gF.W.まで増加した。これらの単糖は子葉に蓄積した可溶性糖の約90%を占める。10°C処理では、グルコースとフルクトース含量の増加は処理後5日目まで認められた。二糖であるマルトースとスクロースも同様に5°C処理で蓄積量が増加したが、マルトース含量がスクロース含量の約2倍であった(第3図)。一方、10°Cでは最初の5日でマルトースとスクロース含量は増加するもの



第3図 低温処理によってテンサイ子葉に蓄積した可溶性糖各構成成分の変化

5°C (○, 直線)および10°C (△, 破線)処理によって子葉に蓄積したフルクトース, グルコース, スクロース, マルトースならびにオリゴ糖の蓄積量の変化を示す。バーは標準誤差(3個体)を示す。

の, 5日目から7日目の間では減少した。オリゴ糖含量は主に2日目以降に増加した。

IV. 考 察

本研究では, 子葉への可溶性糖の蓄積に注目してテンサイ幼苗の低温応答特性を解析した。フルクトース, グルコース, スクロース, マルトースおよびオリゴ糖の蓄積が5°Cと10°Cの双方の処理で見られたのに対し, 15°Cおよび20°Cでは見られなかった(第1図, 第3図)。よって, テンサイの幼苗が低温応答するのは15°Cよりも低い温度であると考えられる。

緒言でも述べたように, 低温馴化能をもつ植物は一般にスクロース, グルコース, フルクトースを蓄

積する。これらのうち, テンサイの子葉は, 低温下では単糖(フルクトースとグルコース)が主に蓄積し, 全体の約9割に達する。ほとんどの植物ではこれらの単糖に加え, 凍結保護剤として働く二糖のスクロースが低温馴化の過程で蓄積する(STITT and HURRY, 2002)。例えば低温馴化したキャベツの幼苗は本葉に含まれるスクロース, グルコースならびにフルクトースの合計が約3 mg/gF.W. から約18 mg/gF.W. まで増加する(SASAKI *et al.*, 1996)。ライムギの低温馴化では総糖含量は10.3mg/gF.W. から24.7mg/gF.W. に増加する(KOSTER and LYNCH, 1992)。また, シロイヌナズナは1°Cでわずか1日間の処理でも低温馴化を示すが, その間に可溶性糖含量は約5 mg/gF.W. から約20mg/gF.W. に増加する(WANNER and JUNTILA, 1999)。耐凍性の向上は可溶性糖の蓄積以外にも多くの要素に関わるために単純な比較は難しいが, 5°C, 7日間の処理でテンサイの子葉に蓄積する可溶性糖含量はこれらの事例とも近い値であり, 耐凍性の向上にある程度寄与していると考えられ, 今後実験的に明らかにする必要がある。

興味深いことに, テンサイの子葉が5°Cの低温に応答する時に優先して蓄積する二糖はスクロースよりも, むしろマルトースであることが明らかとなった(第2図, 第3図)。単糖であるフルクトースおよびグルコースは温度変化に応じてほぼ同様の反応を示すのに対して, 二糖であるスクロースとマルトースを比較した場合, マルトースの方がより低温に反応して蓄積することが示された。蓄積量は単糖よりもはるかに少ないものの, マルトースはトレハロースと同様に凍結保護効果の高い凍結保護剤として働くという報告もあり(CROWE *et al.*, 1990), 低温下でテンサイ子葉に蓄積するマルトースには耐凍性への寄与等, 重要な生理学的機能が推測される。

植物において一般的にマルトースはデンプンの分解によって生じるとされている。低温処理に応答したマルトースおよびマルトオリゴ糖の蓄積は, シロイヌナズナでも既に報告されている(KAPLAN and GUY, 2004, 2005)。β-アミラーゼ(デンプンを分解してマルトースを生じる)をコードする *BM7* および *BM8* 遺伝子は低温ショックに応答して発現量が増加し, それにともなってマルトースの蓄積が見られる(KAPLAN and GUY, 2004)。また, 低温によるマルトースの蓄積にβ-アミラーゼ遺伝子が関与

していることはRNA interferenceによる*BMY8* 遺伝子の発現抑制実験からも裏付けられている(KAPLAN and GUY, 2005)。さらに、低温によって生じる光合成装置への障害の低減に、直接あるいは間接的にマルトースの蓄積が関わることを示唆された(KAPLAN and GUY, 2005)。また、低温馴化の耐凍性が低下する*STARCH EXCESS1 (SEX1)*変異体では、マルトオリゴ糖の蓄積能が損なわれていた(YANO *et al.*, 2005)。これらの報告では、マルトースはデンプンの分解によって生じるとされている。

一方で、植物における単糖からのマルトースの*de novo* (新規)合成は、ホウレンソウの子葉のみでしか報告例がない。SCHILLING(1982)によって2分子の α -D-グルコース-1-リン酸から1分子のマルトースを*de novo*合成するマルトースシンターゼ活性が報告されている。テンサイとホウレンソウがいずれも分類上ヒユ科に属しており両者が比較的近縁であることから、テンサイの子葉においてもマルトースシンターゼが働いている可能性がある。テンサイにおける上述のマルトース代謝経路の低温応答をさらに解析することにより、テンサイの低温馴化機構を明らかにすることができるものと期待される。また、マルトースを始めとする各種可溶性糖の蓄積量と耐凍性との関係を明らかにすることにより、糖類の蓄積量による低温馴化能の評価手法開発に応用可能である。

V. 摘 要

1. テンサイ幼苗の低温応答について生理学的な知見を得るため、低温処理によって子葉に蓄積する可溶性糖を分析した。
2. 10℃、および5℃で子葉では可溶性糖が徐々に蓄積したが、15℃および20℃ではほとんど糖含量に変化が見られなかった。つまり、テンサイは10℃～15℃の間に低温応答を開始する温度があると考えられる。
3. 低温処理によって蓄積する可溶性糖の約9割が単糖(フルクトースおよびグルコース)であり、残りのほとんどは二糖(スクロースおよびマルトース)であった。
4. 低温応答によって主に蓄積する二糖は多くの植物の場合スクロースであるが、テンサイの子葉ではマルトースも蓄積し、特に5℃処理ではマルトースがスクロースよりも顕著に蓄積した。

5. 以上の結果から、テンサイ子葉における低温応答するマルトース代謝はテンサイ幼苗の低温馴化機能に関わる可能性が示唆された。

引用文献

- 1) ALBERDI M. and CORCUERA L.J.(1991) : Cold acclimation in plants. *Phytochemistry*, 30, 3177-3184.
- 2) CASTONGUAY Y., NADEAU P., LECHASSEUR P. and CHOUINARD L.(1995) : Differential Accumulation of Carbohydrates in Alfalfa Cultivars of Contrasting Winterhardiness. *Crop Sci.*, 35, 509-516.
- 3) CROWE J.H., CARPENTER J.F., CROWE L.M. and ANCHORDOGUY T.J.(1990) : Are freezing and dehydration similar stress vectors? A comparison of modes of interaction of stabilizing solutes with biomolecules. *Cryobiology*, 27, 219-231.
- 4) GUY C., KAPLAN F., KOPKA J., SELBIG J. and HINCHA D.K.(2008) : Metabolomics of temperature stress. *Physiol. Plant.*, 132, 220-235.
- 5) HANNAH M.A., HEYER A.G. and HINCHA D.K.(2005) : A Global Survey of Gene Regulation during Cold Acclimation in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS Genetics*, 1, e26.
- 6) KACPERSKA A.(1993) : Water potential alterations - prerequisite or triggering stimulus for the development of freezing tolerance in overwintering herbaceous plants? In : *Advances in Plant Cold Hardiness* (PH Li and L Christersson, eds), CRC Press, Boca Raton, 73-91.
- 7) KAPLAN F. and GUY C.L.(2004) : β -Amylase induction and the protective role of maltose during temperature shock. *Plant Physiol.*, 135, 1674-1684.
- 8) KAPLAN F. and GUY C.Y.(2005) : RNA interference of *Arabidopsis* beta-amylase 8 prevents maltose accumulation upon cold shock and increases sensitivity of PSII photochemical efficiency to freezing stress. *Plant J.*, 44, 730-743.

- 9) KLOTKE J., KOPKA J., GATZKE N. and HEYER A.G.(2004) : Impact of soluble sugar concentrations on the acquisition of freezing tolerance in accessions of *Arabidopsis thaliana* with contrasting cold adaptation – evidence for a role of raffinose in cold acclimation. *Plant Cell Environ.*, 27, 1395-1404.
- 10) KOSTER K.L., LYNCH D.V.(1992) : Solute Accumulation and Compartmentation during the Cold Acclimation of Puma Rye. *Plant Physiol.*, 98, 108-113.
- 11) LIVINGSTON III D.P., HINCHA D.K. and HEYER A.G.(2009) : Fructan and its relationship to abiotic stress tolerance in plants. *Cell Mol. Life Sci.*, 66, 2007-2023.
- 12) 農畜産業振興機構・『需給関係資料』。 http://sugar.alic.go.jp/japan/data/jd_data.htm.
- 13) SASAKI H., ICHIMURA K., ODA M.(1996) : Changes in Sugar Content during Cold Acclimation and Deacclimation of Cabbage Seedlings. *Ann. Bot.*, 78, 365-369.
- 14) SCHILLING N.(1982) : Characterization of maltose biosynthesis from α -D-glucose-1-phosphate in *Spinacia oleracea*. *L. Planta*, 154, 87-93.
- 15) SHAHBA M.A., QIAN Y.L., HUGHES H.G., KOSKI A.J. and CHRISTENSEN D.(2003) : Relationships of Soluble Carbohydrates and Freeze Tolerance in Saltgrass. *Crop Sci.*, 43, 2148-2153.
- 16) STITT M. and HURRY V.(2002) : A plant for all seasons: alterations in photosynthetic carbon metabolism during cold acclimation in *Arabidopsis*. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 5, 199-206.
- 15) THOMASHOW M.F.(1999) : Plant Cold Acclimation : Freezing Tolerance Genes and Regulatory Mechanisms. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 50, 571-599.
- 16) 角田恵造、戸田義久(2009) : てん菜直播栽培の普及状況について(3) ～幕別町の事例～. 砂糖類情報 2月号, 16-23.
- 17) てん菜糖業年鑑(2011) : 北海道てん菜協会発行.
- 18) UEMURA M., JOSEPH R.A. and STEPONKUS P.L.(1995) : Cold Acclimation of *Arabidopsis thaliana* (Effect on Plasma Membrane Lipid Composition and Freeze-Induced Lesions). *Plant Physiol.*, 109, 15-30.
- 19) UEMURA M. and STEPONKUS P.L.(1994) : A contrast of the plasma membrane lipid composition of oat and rye leaves in relation to freezing tolerance. *Plant Physiol.*, 104, 479-496.
- 20) VOGEL J.T., ZARKA D.G., van BUSKIRK H.A., FOWLER S.G. and THOMASHOW M.F.(2005) : Roles of the CBF2 and ZAT12 transcription factors in configuring the low temperature transcriptome of *Arabidopsis*. *Plant J.*, 41, 195-211.
- 21) WANNER L.A., JUNTTILA O.(1999) Cold-Induced Freezing Tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 120, 391-400.
- 22) WOOD R.R., BREWBAKER H.E. and BUSH H. L.(1950) : Cold resistance in sugar beets. The Proceedings of the 6th General Meeting of American Society of Sugar Beet Technologist, 117-121.
- 23) WOOD R.R.(1952) : Selection for Cold Tolerance and Low Temperature Germination in Sugar Beets. The Proceedings of the 7th General Meeting of American Society of Sugar Beet Technologist, 407-410.
- 24) YANO R., NAKAMURA M., YONEYAMA T. and NISHIDA I.(2005) : Starch-related α -glucan/water dikinase is involved in the cold-induced development of freezing tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.*, 138, 837-846.
- 25) YOSHIDA M., ABE J., MORIYAMA M. and KUWABARA T.(1998) : Carbohydrate levels among winter wheat cultivars varying in freezing tolerance and snow mold resistance during autumn and winter. *Physiol. Plant.*, 103, 8-16.
- 26) YOSHIDA M. and TAMURA K.(2011) : Research on Fructan in Wheat and Temperate Forage Grasses in Japan. *JARQ.* 45, 9-14.

Accumulation of Maltose in the Cotyledons of Sugar Beet in Response to Low Temperature

Hiroaki MATSUHIRA, Midori YOSHIDA and Yutaka SATO

Summary

In northern regions such as Hokkaido (Japan) , sugar beet seedlings soon after germination often suffer from extensive frost damage in spring, resulting in serious loss of yield. Enhancement of freezing tolerance at the early seedling stage is necessary for sugar beet cultivation. However, little is known about physiological responses of sugar beet to low temperatures and the ability of sugar beet to acquire freezing tolerance. Cold acclimation is enhancement of freezing tolerance by exposure to low, nonfreezing temperatures. In order to investigate the physiological responses of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) seedlings at the cotyledon stage to low temperatures, we analyzed

contents of soluble carbohydrates in cotyledons during incubation at low temperatures. The total amount of soluble carbohydrates remarkably increased during incubation for 7 days at 5°C or 10°C , though only a slight increase or no increase was observed at 15°C or 20°C . Identification of the individual components of carbohydrates revealed that the amount of maltose was two-times larger than that of sucrose in sugar beet cotyledons treated at 5°C . This finding will facilitate an understanding of the physiological response of sugar beet seedlings to a low temperature and the ability of sugar beet seedlings to acquire freezing tolerance.

アルストロメリア野生種8種の開花に 及ぼす栽培夜温と長日処理の影響

篠田浩一・村田奈芳

I. 緒言

アルストロメリア属(*Alstroemeria* L.)はユリ科に近縁のアルストロメリア科に属し、チリやブラジルを中心とする南アメリカ大陸に60種以上が分布している(KRISTIANSEN, 1995)。アルストロメリアの野生種は1700年代にヨーロッパにもたらされたが、その栽培は長く一部に留まり、1950年代以降になって種間交雑による切花用品種の育成と営利生産が始まった。我が国では、1980年前後にオランダの種苗会社が育成した品種を用いた切花生産が本格化し、現在では長野県、北海道、愛知県、山形県等で年間約6,000万本の切花が出荷されている(農林水産省, 2011)。

アルストロメリアの園芸品種については育成経過が不明なものが多いが、チリ原産の *A. aurea*(= *A. aurantiaca*)や *A. pelegrina*, ブラジル原産の *A. psittacina*(= *A. pulchella*)など比較的少ない種間の交雑により育成されたものと推定されている(KRISTIANSEN, 1995; 土井, 2005)。このため、未利用野生種の活用による花色、花型、芳香性および耐暑性等の新形質の導入が期待されており、種間雑種を獲得するための胚珠培養法の検討(BUITENDIJK *et al.*, 1992; LU and BRIDGEN, 1996; ISHIKAWA *et al.*, 1997)や交雑親和性の解析(BUITENDIJK *et al.*, 1995; DE JEU and JACOBSEN, 1995; 篠田・村田, 2003)、コルヒチン処理による種間雑種の倍数化法の開発(ISHIKAWA *et al.*, 1999)、ボマレア属(*Bomarea* Mirb.)との属間交雑の試み(KASHIHARA *et al.*, 2011a, 2012)、種間雑種個体を用いた形質転換体の作出(HOSHINO *et al.*, 2008)が検討されている。また、新規アントシアニンの同定やアントシアニン構成と花色との関係の解析(TATSUZAWA *et al.*, 2001, 2002, 2003; 立澤ら, 2003, 2004)、花の形質の評

価(KASHIHARA *et al.*, 2011b)等についてもさまざまな研究が行われている。

アルストロメリアの野生種は春から夏に開花するものが多いが、種間交雑により育成された現在の切花用品種はほぼ周年にわたり開花する特性を有しており、今後育成される品種においても周年開花性は経営的に重要な特性と考えられる。アルストロメリアの開花反応についての研究(HEINS and WILKINS, 1979; HEALY and WILKINS, 1982a,b; HEALY *et al.*, 1982; LIN and MOLNAR, 1983; VONK NOORDEGRAAF, 1975)において、‘レジナ’や‘オーキッド’の花芽分化には低温が必要であり、さらに長日条件で開花が促進されることが明らかにされている。両品種間において、低温要求量や日長反応性に差異が認められることから、品種育成に関与した野生種の性質が反映しているものと考えられている(大川, 1994)。しかしながら、野生種の開花特性については、*A. ligu*(植松, 1994; 鈴木・筒井, 2001)を除きほとんど明らかにされていない。そこで本研究では、アルストロメリアの種間交雑育種を進める上での基礎的知見を得るため、アルストロメリア野生種8種を供試し、栽培夜温並びに長日処理が開花に及ぼす影響について検討した。

II. 材料および方法

1. 供試材料

農業・食品産業技術総合研究機構北海道農業研究センター(札幌市)の温室内で養成したアルストロメリア野生種8種(第1表)を供試した。根茎は定植前日あるいは定植当日に掘り上げ、調製後プランター(60×15×20cm)に各4株を定植した。定植に当たっては赤玉土(小粒)、鹿沼土(中粒)、腐葉土、パーミキュライト(小粒GS)を容量比で3:1:1:1の割合で混合した培地を用い、1プランター当たり80gの被覆燐硝安加里424-270(ロング270)を施用した。

第1表 供試した野生種とその自生地

No.	種名	自生地 ¹⁾	
		緯度(南緯) (度)	標高 (m)
1	<i>A. ligtu</i> L.	33-38	0-800
2	<i>A. magenta</i> Bayer	31-32	0-700
3	<i>A. pelegrina</i> L.	32-33	0-50
4	<i>A. pulchra</i> Sims	32-34	0-1000
5	<i>A. versicolor</i> Ruiz & Pavon	34-36	250-1700
6	<i>A. aurea</i> Graham	36-47	200-1800
7	<i>A. hookeri</i> Loddiges	35-37	0-300
8	<i>A. magnifica</i> Herbert	29-32	0-200

¹⁾ BAYER(1987)による

2. 試験方法

1999年9月上旬の定植直後から最低夜温を5, 10, 15℃に設定したガラス室内で管理して、開花時期並びに切花形質の調査を行った。また、日長の影響を検討するために、夜温15℃のガラス室内に長日区(4時から20時までを明期とする16時間日長, 100Wの白熱灯をプランターの直上80cmに設置)と自然日長区(季節により明期時間が8.6時間から14.5時間の範囲で推移)の2区を設けた。なお電照が自然日長区に影響を及ぼさないよう、電照中は両区の間には遮光幕を設置した。ガラス室は20℃換気に設定したが、定植直後の9月および翌年の4月以降は日中気温が20℃を超える日が多くなった。第1図に月別

の平均気温の推移を示した。試験には1処理当たり2プランター(計8株)を供試し、プランター単位(4株)で調査を行った。

3. 採花調査および調査項目

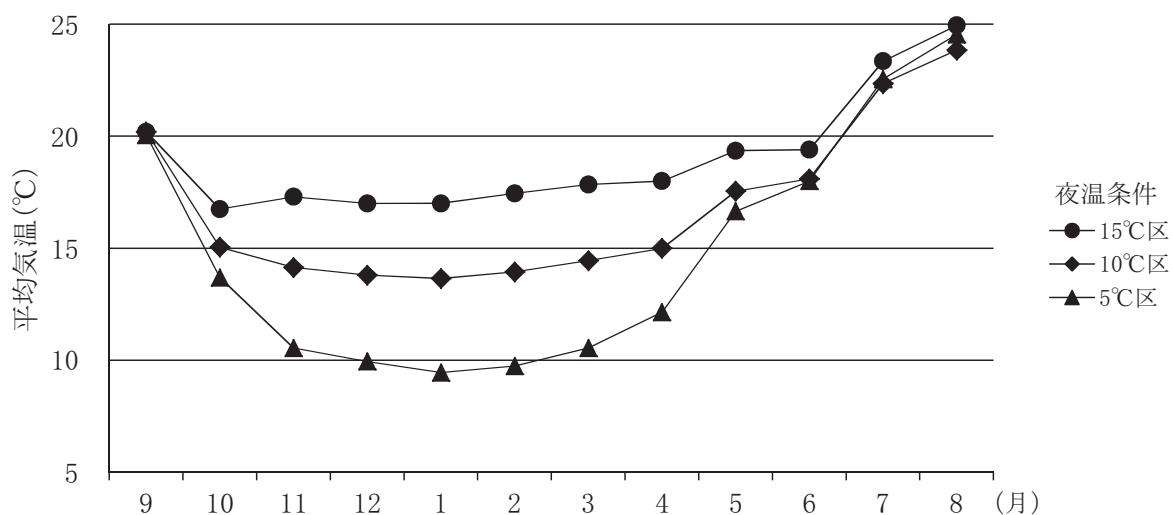
採花は第一花蕾(最下部の花蕾)が開花した時にを行い、地際部で切断し切花形質の調査を行った。ブラインド等により開花しなかった花茎は採花本数には加えていない。主な調査項目は以下の通りである。

平均採花日：採花日の平均値

採花始：各試験区で一番最初に採花した日

採花終：各試験区で一番最後に採花した日

採花期間：採花始から採花終までの日数



第1図 ガラス室の月別平均気温の推移

採花本数：採花した1プランター当たりの切花の本数
 切花長：茎の最下部より切花先端までの長さ
 切花重：切花の新鮮重。下葉の調整はしていない
 茎径：切花中央部の茎の直径
 花梗数：散形花序の分枝数
 花蕾数：花蕾の数。黄化・枯死した蕾は除外
 節数：切り口から花梗基部までの節数
 統計処理：各処理区に2反復を設け、栽培夜温の影響については Tukey の多重検定による有意差を、日長の影響については t 検定による有意差を示し

た。なお、各処理区の総サンプル数は採花本数の2倍と同じ値である。

Ⅲ. 結 果

1. *A. ligtu* の開花反応

15℃自然日長区では、5月上旬に開花が始まり、5月に集中的に開花した後、6月中旬には開花が終了した。採花期間は32日であった。10℃区および5℃区も5月に集中的に開花し、採花期間はそれぞれ31日、28日と短かった。採花本数への夜温の影響は認められなかった(第2表)。切花形質は、5℃区で切

第2表 栽培夜温が開花に及ぼす影響(自然日長)

種名	夜温 (℃)	平均 採花日 (月/日)	採花始 (月/日)	採花終 (月/日)	採花 期間 (日)	採花 本数 ¹⁾ (本)	月別採花本数						
							1月 (本)	2月 (本)	3月 (本)	4月 (本)	5月 (本)	6月 (本)	7月 (本)
<i>A. ligtu</i>	15	5/23 a ²⁾	5/10 a	6/11 a	32 a	16 a	0	0	0	0	13	3	0
	10	5/21 a	5/ 4 a	6/ 4 a	31 a	15 a	0	0	0	0	13	2	0
	5	5/24 a	5/14 a	6/11 a	28 a	19 a	0	0	0	0	15	4	0
<i>A. magenta</i>	15	4/15 b	3/16 b	5/29 b	74 a	13 b	0	0	4	6	3	0	0
	10	4/21 ab	3/18 b	6/ 8 a	82 a	18 a	0	0	3	10	3	2	0
	5	5/ 8 a	4/17 a	6/12 a	56 a	23 a	0	0	0	6	14	3	0
<i>A. pelegrina</i>	15	4/28 b	3/13 a	7/ 4 a	113 a	41 b	0	0	6	18	13	4	1
	10	4/19 b	3/19 a	5/18 b	61 b	35 b	0	0	6	21	9	0	0
	5	5/10 a	3/31 a	6/29 a	90 ab	53 a	0	0	1	12	35	5	0
<i>A. pulchra</i>	15	5/ 1 a	4/17 a	5/19 a	32 a	15 b	0	0	0	6	9	0	0
	10	5/ 3 a	4/18 a	5/17 a	30 a	27 a	0	0	0	9	18	0	0
	5	5/10 a	4/29 a	6/ 8 a	40 a	23 ab	0	0	0	1	21	1	0
<i>A. versicolor</i>	15	6/ 5 a	5/19 a	6/20 a	32 a	4 b	0	0	0	0	1	3	0
	10	6/ 9 a	5/23 a	6/26 a	34 a	8 b	0	0	0	0	2	6	0
	5	6/ 9 a	5/24 a	6/16 a	39 a	18 a	0	0	0	0	4	14	0
<i>A. aurea</i>	15	6/ 6 a	4/27 b	7/18 a	82 a	20 b	0	0	0	1	7	9	3
	10	6/14 a	5/25 a	7/10 a	46 b	29 a	0	0	0	0	3	24	2
	5	6/12 a	5/26 a	7/12 a	47 b	27 a	0	0	0	0	6	18	3
<i>A. hookeri</i>	15	6/27 a	6/10 a	7/ 8 a	28 a	13 c	0	0	0	0	0	7	6
	10	6/26 a	6/12 a	7/ 8 a	27 a	26 b	0	0	0	0	0	17	9
	5	6/23 a	6/ 6 a	7/19 a	43 a	61 a	0	0	0	0	0	48	13
<i>A. magnifica</i>	15	5/ 6 a	4/12 a	6/14 a	64 a	16 b	0	0	0	4	11	1	0
	10	5/ 2 a	4/11 a	5/21 b	40 b	22 b	0	0	0	10	12	0	0
	5	5/ 7 a	4/18 a	6/ 6 ab	50 ab	32 a	0	0	0	6	24	2	0

¹⁾ 1プランター当たりの採花本数

²⁾ 各アルストロメリア種の処理区において異なる英文字間に Tukey の多重検定により5%水準の有意差あり

第3表 栽培夜温が切花形質に及ぼす影響(自然日長)

種名	夜温 (°C)	切花長 (cm)	切花重 (g)	花梗数 (個)	花蕾数 (個)	節数 (節)
<i>A.ligtu</i>	15	112.6 a ¹⁾	47.6 a	9.8 a	18.8 a	78.7 a
	10	111.8 a	51.0 a	9.0 ab	20.3 a	71.1 a
	5	77.3 b	35.4 a	8.0 b	17.2 a	52.2 b
<i>A.magenta</i>	15	60.7 a	12.3 b	2.3 a	6.2 a	26.2 a
	10	66.2 a	20.9 a	2.8 a	7.2 a	28.0 a
	5	46.1 b	17.9 ab	2.6 a	5.6 a	14.4 b
<i>A.pelegrina</i>	15	49.7 b	11.6 a	2.1 b	2.5 b	38.5 ab
	10	58.8 a	15.1 a	2.5 a	3.5 a	47.1 a
	5	32.9 c	10.9 a	2.3 ab	3.7 a	33.0 b
<i>A.pulchra</i>	15	91.4 a	15.2 b	4.0 a	7.5 b	79.5 a
	10	85.0 a	14.3 b	3.9 a	8.7 b	88.3 a
	5	56.1 b	19.8 a	4.8 a	14.0 a	50.2 b
<i>A.versicolor</i>	15	27.3 a	3.8 b	4.6 a	8.3 a	22.4 a
	10	28.8 a	4.8 ab	3.5 a	10.2 a	25.7 a
	5	23.6 a	5.2 a	3.9 a	9.3 a	21.0 a
<i>A.aurea</i>	15	77.2 b	16.4 a	3.1 a	5.2 a	47.7 a
	10	88.9 a	12.9 a	2.7 a	4.2 a	45.0 a
	5	82.5 ab	15.7 a	3.0 a	4.5 a	36.3 a
<i>A.hookeri</i>	15	27.6 a	2.9 a	3.6 a	4.1 a	31.2 a
	10	32.6 a	3.5 a	3.7 a	4.7 a	29.4 ab
	5	29.3 a	4.1 a	3.5 a	4.9 a	22.4 b
<i>A.magnifica</i>	15	65.3 a	17.3 a	2.8 a	6.2 a	53.3 a
	10	56.1 b	16.1 a	2.4 a	6.4 a	34.9 ab
	5	50.9 b	16.9 a	2.1 a	7.0 a	21.1 b

¹⁾ 各アルストロメリア種の処理区において異なる英文字間に Tukey の多重検定により 5% 水準の有意差あり

花長が短く、節数、花梗数も減少した(第3表)。

長日区では採花始が3月下旬と自然日長区より45日早く、開花ピークは4月で採花期間は55日と長くなった。また、長日区で採花本数が増加した。(第4表)。切花形質は、花梗数が長日区で有意に減少したものの、他の形質への影響は小さかった(第5表)。

2. *A. magenta* の開花反応

15℃自然日長区では、3月中旬に開花が始まり、5月下旬には開花が終了し、採花期間は74日であっ

た。10℃区は同様に開花したが、5℃区は採花始、開花ピークとも遅れる傾向を示した。採花本数は10℃区および5℃区で増加した(第2表)。切花形質は、5℃区で切花長が短く、節数も減少した(第3表)。

長日区では採花始が1月下旬と自然日長区より50日早く、4月中旬には開花が終了した。採花本数は、長日区で少なかったが有意差は認められなかった(第4表)。また、長日区では切花長は有意に長いものの節数は少ない傾向にあり、徒長気味の生育を示した(第5表)。

第4表 日長条件が開花に及ぼす影響(栽培夜温15℃)

種名	日長 ¹⁾	平均採花日 (月/日)	採花始 (月/日)	採花終 (月/日)	採花期間 (日)	採花本数 ²⁾ (本)	月別採花本数						
							1月 (本)	2月 (本)	3月 (本)	4月 (本)	5月 (本)	6月 (本)	7月 (本)
<i>A. ligtu</i>	長日	4/11	3/26	5/20	55	23	0	0	2	16	2	0	0
	自然	5/23	5/10	6/11	32	16	0	0	0	0	13	3	0
	有意差 ³⁾	**	**	n. s.	*	*							
<i>A. magenta</i>	長日	2/21	1/26	4/15	80	8	2	4	1	1	0	0	0
	自然	4/15	3/16	5/29	74	13	0	0	4	6	3	0	0
	有意差	*	**	n. s.	n. s.	n. s.							
<i>A. pelegrina</i>	長日	4/18	2/24	7/ 2	130	34	0	1	14	6	6	6	1
	自然	4/28	3/13	7/ 4	113	41	0	0	6	18	13	4	1
	有意差	n. s.	**	n. s.	n. s.	n. s.							
<i>A. pulchra</i>	長日	4/26	3/29	5/29	62	26	0	0	1	12	13	0	0
	自然	5/ 1	4/17	5/19	32	15	0	0	0	6	9	0	0
	有意差	n. s.	*	n. s.	*	**							
<i>A. versicolor</i>	長日	5/16	3/31	6/30	91	11	0	0	1	3	2	4	0
	自然	6/ 5	5/19	6/20	32	4	0	0	0	0	1	3	0
	有意差	**	**	n. s.	*	**							
<i>A. aurea</i>	長日	6/ 2	4/ 9	7/26	108	33	0	0	0	9	6	9	9
	自然	6/ 6	4/27	7/18	82	20	0	0	0	1	7	9	3
	有意差	n. s.	**	n. s.	*	*							
<i>A. hookeri</i>	長日	4/22	4/ 3	6/23	82	19	0	0	0	14	4	1	0
	自然	6/27	6/10	7/ 8	28	13	0	0	0	0	0	7	6
	有意差	**	**	n. s.	**	*							
<i>A. magnifica</i>	長日	3/21	1/31	5/22	112	20	2	2	9	5	2	0	0
	自然	5/ 6	4/12	6/14	64	16	0	0	0	4	11	1	0
	有意差	*	*	n. s.	*	n. s.							

1) 長日：16時間日長 自然：8.6～14.5時間日長

2) 1プランター当たりの採花本数

3) t検定により n.s. は有意差なし、*は5%水準、**は1%水準で有意差あり

3. *A. pelegrina* の開花反応

15℃自然日長区では、3月中旬に開花が始まり、4月の採花本数が多く、その後徐々に採花本数が減少し、7月上旬に開花が終了した。採花期間は113日であった。10℃区は15℃区とほぼ同様に開花したが、採花終わりが早く、採花期間は61日と短かった。5℃区は採花始、開花ピークとも遅れる傾向を示した。採花本数は5℃で増加した(第2表)。切花形質は、5℃区で切花長が短く、節数も減少した。また、5℃区および10℃区で花梗数と花蕾数が増加する傾向がみられた(第3表)。

長日区では採花始が2月下旬と早まり、開花ピークも早まる傾向を示した。採花期間や採花本数には有意な差は認められなかった(第4表)。長日処理により節数は増加したが、他の切花形質への影響は小さかった(第5表)。

4. *A. pulchra* の開花反応

15℃自然日長区では、4月中旬に開花が始まり、5月中旬には開花が終了し、採花期間は32日であった。10℃区は同様に開花したが、5℃区は採花始、開花ピークとも遅れる傾向を示した。採花本数は

第5表 日長条件が切花形質に及ぼす影響(栽培夜温15℃)

種名	日長 ¹⁾	切花長 (cm)	切花重 (g)	花梗数 (個)	花蕾数 (個)	節数 (節)
<i>A. ligtu</i>	長日	122.7	42.2	7.1	16.6	69.3
	自然	112.6	47.6	9.8	18.8	78.7
	有意差 ²⁾	n. s.	n. s.	*	n. s.	n. s.
<i>A. magenta</i>	長日	76.5	14.7	1.7	4.9	17.7
	自然	60.7	12.3	2.3	6.2	26.2
	有意差	*	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.
<i>A. pelegrina</i>	長日	56.5	13.3	2.1	2.7	48.3
	自然	49.7	11.6	2.1	2.5	38.5
	有意差	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.	*
<i>A. pulchra</i>	長日	139.0	21.6	4.0	11.4	90.9
	自然	91.4	15.2	4.0	7.5	79.5
	有意差	*	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.
<i>A. versicolor</i>	長日	37.1	7.0	4.0	13.1	25.1
	自然	27.3	3.8	4.6	8.3	22.4
	有意差	*	*	*	*	*
<i>A. aurea</i>	長日	71.8	12.9	2.7	4.3	42.2
	自然	77.2	16.4	3.1	5.2	47.7
	有意差	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.
<i>A. hookeri</i>	長日	44.9	3.0	3.8	6.9	32.2
	自然	27.6	2.9	3.6	4.1	31.2
	有意差	*	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.
<i>A. magnifica</i>	長日	85.8	16.4	2.2	6.7	45.6
	自然	65.3	17.3	2.8	6.2	53.3
	有意差	*	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.

¹⁾ 長日：16時間日長 自然：8.6～14.5時間日長

²⁾ t検定により n.s. は有意差なし、*は5%水準、**は1%水準で有意差あり

10℃区および5℃区で増加した(第2表)。切花形質は、5℃区で切花長が短く、節数も減少したが、切花重および花蕾数は増加した(第3表)。

長日区では採花始が3月下旬と自然日長区より19日早く、採花期間は62日と長くなった。また、長日区で採花本数は有意に増加した(第4表)。長日処理により切花長が長くなった。また切花重、花蕾数、節数は長日区で増加したが、有意差は認められなかった(第5表)。

5. *A. versicolor* の開花反応

15℃自然日長区では、5月中旬に開花が始まり、6月中旬には開花が終了し、採花期間は32日であった。10℃区および5℃区もほぼ同時期に開花した。採花本数は5℃区で増加した(第2表)。切花形質は、切花重が10℃区と5℃区で増加したが、他の切花形質への影響は小さかった(第3表)。

長日区では採花始が3月下旬と自然日長区より49日早く、採花期間も91日と長かった。採花本数は長日条件で増加した(第4表)。切花形質は、長日区で切花長、切花重、花蕾数および節数が有意に増加し、

花梗数は減少した(第5図)。

6. *A. aurea* の開花反応

15℃自然日長区では、4月下旬に開花が始まり、5月と6月の開花数が多く、7月中旬に開花が終了した。採花期間は82日であった。10℃区および5℃区の採花始は5月下旬と15℃区に比べ1か月遅く、6月に集中して開花し、採花期間は50日弱と短くなった。採花本数は10℃区および5℃区で増加した(第2表)。切花長以外の切花形質への夜温の影響は小さかった(第3表)。

長日区では開花が4月上旬と自然日長区より18日早く、4月から7月にかけてほぼ均等に開花し、採花期間も108日と長かった。また、長日処理により採花本数も増加した(第4表)。切花形質への日長の影響は認められなかった(第5表)。

開花終了後供試野生種の多くは地上部が枯死し休眠状態となったが、本種は8月以降も花蕾のない栄養茎が発生し、夏でも休眠しない常緑性を示した。

7. *A. hookeri* の開花反応

15℃自然日長区の採花始は6月上旬と供試8種の中では最も遅く、7月上旬には開花が終了し、採花期間は28日と短かった。10℃区および5℃区もほぼ同様に開花した。採花本数は夜温が低いほど増加し、特に5℃区は15℃の4.7倍多かった(第2表)。節数以外の切花形質への夜温の影響は小さかった(第3表)。

長日区では採花始が4月上旬と自然日長区より68日早く、採花期間も82日と長かった。また、採花本数も増加した(第4表)。さらに、長日処理により切花長が長くなった(第5表)。

8. *A. magnifica* の開花反応

15℃自然日長区では、4月中旬に開花が始まり、6月中旬には開花が終了し、採花期間は64日であった。10℃区および5℃区もほぼ同様に開花したが、採花期間はやや短かった。採花本数は5℃区で増加した(第2表)。切花形質は、10℃区および5℃区で切花長が短く、節数も減少した(第3表)。

長日区では採花始が1月下旬と自然日長区より72日も早く、採花期間は112日と、自然日長区よりも長くなった。採花本数への影響は認められなかった(第4表)。また、長日処理により切花長が長くなっ

た(第5表)。

IV. 考 察

今回供試した野生種はいずれもチリを原産とするものであるが、その自生地は第1表に示したように多様である。すなわち、*A. aurea* が南緯36度～47度で標高200～1800mの低温多雨地帯に広く分布しているのに対し、*A. magnifica* は南緯29度～32度の低地、*A. pelegrina* は南緯32度～33度の海岸付近、*A. ligtu* は南緯33度～38度で標高0～800m地帯(BAYER, 1987)と分布域は水平的並びに垂直的な差異がみられる。

15℃自然日長区での開花をみると、採花始は*A. pelegrina*, *A. magenta* が3月と最も早く、次いで*A. pulchra*, *A. magnifica*, *A. aurea* が4月、*A. ligtu*, *A. versicolor* が5月、*A. hookeri* は6月と最も遅かった。自生地との関係では、低緯度地帯に分布する野生種で開花時期が早い傾向が認められた。採花期間は*A. pelegrina*, *A. magenta*, *A. aurea* が70～110日程度と長かったのに対し、*A. ligtu*, *A. pulchra*, *A. versicolor*, *A. hookeri* は30日前後と短く、短期間に集中して開花した。これらのうち、*A. pelegrina* は開花が最も早く、4～5月に開花ピークとなるが、7月まで長期間にわたって開花した。また、*A. aurea* は採花始は*A. ligtu* よりやや早い、開花ピークは6月と遅く7月にも開花がみられた。

夜温が開花に及ぼす影響をみると、8種とも5、10、15℃のいずれの条件下でも開花しており、花芽の分化や発達に特に強い低温要求を示す野生種は認められなかった。ただし、採花本数は低温条件で多くなる傾向があり、花芽分化は15℃よりも5あるいは10℃の低温条件で促進されるものと思われた。アルストロメリアの花芽分化には低温が不可欠であり(VONK NOORDEGRAAF, 1975)、土井ら(1998)は園芸品種の低温感応温度上限を‘レジナ’で15℃、‘カルメン’で17～18℃、‘ウィルヘルミナ’で19～20℃と、品種改良の進んだ四季咲き性の強い品種ほど上限温度が高いとしているが、今回供試した野生種の低温感応の上限温度は15℃よりは高いものと判断された。なお、日中の高温により夜間に受けた低温の効果が打ち消されることがコムギ(CHUJO, 1966)やダイコン(施山・高井, 1982)、カリフラワー(FUJIME and HIROSE, 1980)、デンドロビウム(篠田ら, 1988)などで報告されている。今回行った試験では冬期間

の昼温はほぼ20℃以下で推移しており、強い高温に遭遇しなかったことも夜温15℃という比較的高温条件下で花芽分化した要因の一つと考えられた。

夜温条件が開花時期に及ぼす影響をみると、*A. ligtu*, *A. versicolor* および *A. hookeri* においてはその影響はほとんど認められなかったが、*A. magenta*, *A. pelegrina* および *A. aurea* は低夜温条件で開花が顕著に遅れた。この3種も低夜温条件で採花本数が増加していることから、これら3種の花芽分化は低温条件で促進されるが、その後の花茎の伸長は低温条件では抑制されるものと考えられた。花茎の伸長について土井ら(1998)は、開花に必要な低温要求が充たされて発達した花茎は、その後高気温に遭遇しても低温の効果は打ち消されず、むしろ高気温下ほど花茎の発達がすみやかで、早く開花するとしている。同様に、5℃で6～8週間低温処理した‘レジナ’は、その後13℃一定条件で栽培するより21/18℃(昼/夜)条件の方が開花は早まることが報告されている(HEALY and WILKINS, 1982b)。なお、切花長については、*A. ligtu*, *A. magenta*, *A. pelegrina*, *A. pulchra* および *A. magnifica* の5種で低夜温条件で短くなる傾向が認められた。これは低温のため伸長が抑制された花茎が、春以降の気温の上昇とともに短期間で伸長・開花したためと考えられた。

長日処理を行うことにより、供試野生種全てで開花促進効果が認められた。ただし、促進程度には種間差があり、採花始は *A. ligtu*, *A. magenta*, *A. versicolor*, *A. hookeri* および *A. magnifica* で45～72日と著しく早まったのに対し、*A. aurea*, *A. pelegrina* および *A. pulchra* では18～19日早い開花に留まった。採花期間は長日処理により長くなる傾向があり、また、*A. ligtu*, *A. pulchra*, *A. versicolor*, *A. aurea*, *A. hookeri* の5種は採花本数が増加し、*A. magenta*, *A. pulchra*, *A. versicolor*, *A. hookeri*, *A. magnifica* の5種は切花長が長くなった。なお、自然日長区で強い一季咲き性を示した *A. ligtu* については長日処理により開花は早まり採花期間も長くなったものの、その大部分は4月に集中して開花した。一方、*A. ligtu* 同様自然日長区で強い一季咲き性を示した *A. hookeri* と *A. versicolor* は開花が2か月程度早まるとともに採花期間が大幅に長くなっており、*A. ligtu* とは異なる反応が認められた。

園芸品種の栽培環境に対する生育・開花反応は、品種改良に使われた野生種の自生地の気象を反映し

ている(大平, 1994)ことから、今後野生種の開花特性を踏まえて交配親を選択することにより、開花における温度反応性や日長反応性の異なる品種の育成が可能と思われる。

本試験の結果、*A. aurea* は長期開花性と常緑性、*A. pelegrina* は早期開花性と長期開花性、*A. magenta* は早期開花性と長日開花性(長日処理による開花促進)、*A. ligtu*, *A. hookeri*, *A. magnifica*, *A. versicolor* は長日開花性といった特性を有することが明らかとなった。これらのことは、今後アルストロメリアの種間交雑育種を進める上で有益な情報となる。

V. 摘要

アルストロメリア野生種8種の開花に及ぼす栽培夜温と長日処理の影響を検討した。

15℃自然日長区での採花始は種類により大きく異なり、*A. pelegrina*, *A. magenta* が3月と最も早く、次いで *A. pulchra*, *A. magnifica*, *A. aurea* が4月、*A. ligtu*, *A. versicolor* が5月であり、*A. hookeri* は6月と最も遅かった。採花期間は *A. pelegrina*, *A. magenta*, *A. aurea* が70～110日程度と長かったのに対し、*A. ligtu*, *A. pulchra*, *A. versicolor*, *A. hookeri* は30日前後と短かった。

最低夜温を5, 10, 15℃条件で栽培したところ、低夜温条件で採花本数が増加した。*A. ligtu*, *A. versicolor*, *A. hookeri* では夜温条件が開花時期に及ぼす影響は認められなかったが、*A. pelegrina*, *A. magenta*, *A. aurea* は低夜温条件で開花が顕著に遅れた。切花長は、*A. ligtu*, *A. magenta*, *A. pelegrina*, *A. pulchra*, *A. magnifica* の5種で低夜温条件で短くなる傾向を示した。

長日処理を行うことにより、供試野生種全てで開花促進効果が認められた。長日処理による開花促進効果は *A. ligtu*, *A. magenta*, *A. versicolor*, *A. hookeri*, *A. magnifica* で大きく、*A. aurea*, *A. pelegrina*, *A. pulchra* で小さかった。採花期間は長日処理により長くなる傾向が認められ、また、*A. ligtu*, *A. pulchra*, *A. versicolor*, *A. aurea*, *A. hookeri* の5種は採花本数が増加し、*A. magenta*, *A. pulchra*, *A. versicolor*, *A. hookeri*, *A. magnifica* の5種は切花長が長くなった。

引用文献

- 1) BAYER, E. (1987) : Die Gattung *Alstroemeria* in Chile. Mitt. Bot. Staatssammlung Munchen, 24, 1-362.
- 2) BUITENDIJK, J. H., RAMANNA, M. S. and JACOBSEN, E. (1992) : Micropropagation ability : towards a selection criterion in *Alstroemeria* breeding. Acta Hort., 325, 493-498.
- 3) BUITENDIJK, J. H., PINSONNEAUX, N., VAN DONK, A. C. RAMANNA, M. S. and VAN LAMMEREN, A. A. M. (1995) : Embryo rescue by half-ovule culture for the production of interspecific hybrids in *Alstroemeria*, Scientia Hort., 64, 65-75.
- 4) CHUJO, H. (1966) : The effect of diurnal variation of temperature on vernalization in wheat. Proc. Crop Sci. Soc. Japan, 35, 187-194.
- 5) DE JEU, M. J. and JACOBSEN, E. (1995) : Early postfertilization ovule culture in *Alstroemeria* L. and barriers to interspecific hybridization. Euphytica, 86, 15-23.
- 6) 土井元章(2005) : アルストロメリア. 球根類の開花調節 56種類の基本と実際. 今西英雄編. p.51-61. 農山漁村文化協会. 東京.
- 7) 土井元章、陳 忠英、辻 雅之、今西英雄(1998) : アルストロメリアの気温および地温に対する開花反応. 園学雑, 67, 965-969.
- 8) FUJIME, Y. and HIROSE, T. (1980) : Studies on thermal conditions of curd formation and development in cauliflower and broccoli II Effects of diurnal variation of temperature on curd formation. J. Japan. Soc. Hort. Sci., 48, 217-227.
- 9) HEALY, W. E. and WILKINS, H. F. (1982a) : Responses of *Alstroemeria* 'Regina' to temperature treatments prior to flower inducing temperatures. Scientia Hort., 17, 383-390.
- 10) HEALY, W. E. and WILKINS, H. F. (1982b) : The interaction of temperature on flowering of *Alstroemeria* 'Regina'. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 107, 248-251.
- 11) HEALY, W. E., WILKINS, H. F. and CELUSTA, M. (1982) : Role of light quality, photoperiod, and high-intensity supplemental lighting on flowering of *Alstroemeria* 'Regina'. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 107, 1046-1049.
- 12) HEINS, R. D. and WILKINS, H. F. (1979) : Effect of soil temperature and photoperiod on vegetative and reproductive growth of *Alstroemeria* 'Regina'. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 104, 359-365.
- 13) HOSHINO, Y., KASHIHARA, Y., HIRANO, T., MURATA, N. and SHINODA, K. (2008) : Plant regeneration from suspension cells induced from hypocotyls derived from interspecific cross *Alstroemeria pelegrina* × *A. magenta* and transformation with *Agrobacterium tumefaciens*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 94, 45-54.
- 14) ISHIKAWA, T., TAKAYAMA, T., ISHIZAKA, H., ISHIKAWA, K. and MII, M. (1997) : Production of interspecific hybrids between *Alstroemeria ligtu* L. hybrid and *A. pelegrina* L. var. *rosea* by ovule culture. Breeding Sci., 47, 15-20.
- 15) ISHIKAWA, T., TAKAYAMA, T. and ISHIZAKA, H. (1999) : Amphidiploids between *Alstroemeria ligtu* L. hybrid and *A. pelegrina* L. var. *rosea* induced through colchicine treatment and their reproductive characteristics. Scientia Hort., 80, 235-246.
- 16) KASHIHARA, Y., HIRANO, T., MURATA, N., SHINODA, K., ARAKI, H. and HOSHINO, Y. (2011a) : Evaluation of pre-fertilization barriers by observation of pollen tube growth and attempts for overcoming post-fertilization barriers in intergeneric hybridization between *Alstroemeria* and *Bomarea* by ovule culture. Acta Hort., 855, 159-164.
- 17) KASHIHARA, Y., SHINODA, K., MURATA, N., ARAKI, H. and HOSHINO, Y. (2011b) : Evaluation of horticultural traits of genus *Alstroemeria* L. and genus *Bomarea* Mirb. (Alstroemeriaceae). Turkish J. Botany, 35, 239-245.

- 18) KASHIHARA, Y., SHINODA, K., ARAKI, H. and HOSHINO, Y. (2012) : Towards intergeneric hybridization between *Alstroemeria* L. and *Bomarea* Mirb. *Floriculture and Ornamental Biotechnology*. (in press)
- 19) KRISTIENSEN, K. (1995) : Interspecific hybridization of *Alstroemeria*. *Acta Hort.*, 420, 85-88.
- 20) LIN, W. C. and MOLNAR, J. M. (1983) : Effect of photoperiod and high intensity supplementary lighting on flowering of *Alstroemeria* 'Orchid' and 'Regina'. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 180, 914-917.
- 21) LU, C. and BRIDGEN, M. P. (1996) : Effects of genotype, culture medium and embryo developmental stage on the in vitro responses from ovule cultures of interspecific hybrids of *Alstroemeria*. *Plant Sci.*, 116, 205-212.
- 22) 農林水産省(2011) : 平成22年産花きの作付(収穫)面積及び出荷量.
http://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/sakumotu/sakkyou_kaki/index.html.
- 23) 大平民人(1994) : 品種の分類と特性. 育種と栽培 アルストロメリア. 大川清編著. p.36-46. 誠文堂新光社. 東京.
- 24) 大川 清(1994) : 栽培の基礎技術. 育種と栽培 アルストロメリア. 大川清編著. p.70-78. 誠文堂新光社. 東京.
- 25) 施山紀男、高井隆次(1982) : ダイコンの抽台に及ぼす昼温の影響. *野菜試報*, B.4, 47-60.
- 26) 篠田浩一、須藤憲一、原 幹博、青木正孝(1988) : デンドロビウムの開花に及ぼす昼夜温の影響. *野菜茶試研報*, A.2, 279-290.
- 27) 篠田浩一、村田奈芳(2003) : アルストロメリア野生種15種の交雑親和性. *園学雑*, 72, 557-561.
- 28) 鈴木亮子、筒井佐喜雄(2001) : リグツ系アルストロメリアの秋切り栽培法・北海道立農試集報, 80, 65-68.
- 29) TATSUZAWA, F., MURATA, N., SHINODA, K., SAITO, N., SHIGIHARA, A. and HONDA, T. (2001) : 6-Hydroxycyanidin 3-malonylglucoside from the flowers of *Alstroemeria* 'Tiara'. *Heterocycles*, 55, 1195-1199.
- 30) TATSUZAWA, F., SAITO, N., MURATA, N., SHINODA, K., SHIGIHARA, A. and HONDA, T. (2002) : Two novel 6-hydroxyanthocyanins in the flowers of *Alstroemeria* 'Westland'. *Heterocycles*, 57, 1787-1792.
- 31) TATSUZAWA, F., SAITO, N., MURATA, N., SHINODA, K., SHIGIHARA, A. and HONDA, T. (2003) : 6-Hydroxypelargonidin glycosides in the orange-red flowers of *Alstroemeria*. *Phytochem.*, 62, 1239-1242.
- 32) 立澤文見、村田奈芳、篠田浩一、鈴木亮子、斉藤規夫(2003) : アルストロメリア45品種における花色とアントシアニン組成について. *園学雑*, 72, 243-251.
- 33) 立澤文見、村田奈芳、篠田浩一、三宅 勇、斉藤規夫(2004) : 6ヒドロキシペラルゴニジン色素を含む黄赤色系アルストロメリア品種における花色とアントシアニン組成について. *園学研*, 3, 7-10.
- 34) 植松盾次郎(1994) : リグツハイブリッドの生育開花習性と栽培. 育種と栽培 アルストロメリア. 大川清編著. p.113-122. 誠文堂新光社. 東京.
- 35) VONK NOORDEGRAAF, C. (1975) : Temperature and daylength requirements of *Alstroemeria*. *Acta Hort.*, 51, 267-274.

Effects of Night Temperature and Day Length on the Flowering of Eight *Alstroemeria* Species

Koichi SHINODA and Naho MURATA

Summary

We investigated the effects of night temperature and day length on the flowering of eight *Alstroemeria* species.

When *Alstroemeria* plants were grown with a night temperature of 15°C and a natural day length, the date of the first flower significantly varied; *i.e.*, the first flower appeared in March for *A. pelegrina* and *A. magenta*, April for *A. pulchra*, *A. magnifica* and *A. aurea*, May for *A. ligu* and *A. versicolor*, and June for *A. hookeri*. The flowering period was 70 to 110 days for *A. pelegrina*, *A. magenta* and *A. aurea* and about 30 days for *A. ligu*, *A. pulchra*, *A. versicolor* and *A. hookeri*.

When the plants were grown with night temperatures of 5, 10 and 15°C and a natural day length, the number of flowering shoots increased with the low night temperature conditions. Low

night temperatures delayed flowering conspicuously for *A. pelegrina*, *A. magenta*, and *A. aurea*. On the other hand, night temperature had no effect on flowering time for *A. ligu*, *A. versicolor*, or *A. hookeri*. Flower stem length was shorter under low night temperature conditions for *A. ligu*, *A. magenta*, *A. pelegrina*, *A. pulchra* and *A. magnifica*.

A long day length (16 hours) promoted flowering in all species. This tendency was more noticeable in *A. ligu*, *A. magenta*, *A. versicolor*, *A. hookeri* and *A. magnifica* than in *A. aurea*, *A. pelegrina* and *A. pulchra*. Long days also increased flower production in *A. ligu*, *A. pulchra*, *A. versicolor*, *A. aurea* and *A. hookeri*, and increased flower stem length in *A. magenta*, *A. pulchra*, *A. versicolor*, *A. hookeri* and *A. magnifica*.