

試験管内での食用ユリ増殖に及ぼす 生長調節物質と照明時間の影響

海野芳太郎*・我妻尚広**

The Effects of a Growth Regulator and of Day length on the *in vitro* Propagation of Edible Lily

Yoshitaro Un-no and Takahiro Wagatsuma

(Sept. 1994)

緒 言

近年、栄養繁殖を行う栽培植物ではウイルスによる汚染が蔓延し、品種や系統の維持さえ困難となる場合もあり、大きな問題になっている。食用ユリでも CMV, LSV, TBV などの病原ウイルスによる生育不良や減収などの被害が甚だしい¹²⁾。志賀ら⁸⁾は食用ユリの茎頂培養によるウイルスフリー植物育成を報告し、小田ら⁷⁾はウイルスフリー化した食用ユリの生育や生産力を調査し、その有効性を報告している。

一方、ウイルスフリー子球の試験管内増殖に関しては新見^{5,6)}や Takayama and Misawa¹⁰⁾の報告など実用的視点に立った研究が多くなされている。しかし、これらは花ユリに関するものであり、食用ユリに関する試験管内でのウイルスフリー子球増殖の報告は少ない。

そこで、食用ユリのウイルスフリー子球を効率よく増殖し、安定的に供給できる体系を確立する目的で、試験管内増殖に及ぼす生長調節物質や培養時の照明時間の影響を検討したので報告する。

材料および方法

本実験には食用ユリ品種「白銀」(オニユリとコオニユリの中間種)を用いた。培養材料のりん片は次のような茎頂培養⁹⁾で得た。まず、慣行のりん片繁殖²⁾によって得られたりん片子球を水洗し、次亜塩素酸ナトリウム溶

液(有効塩素 1%)で 10 分間、浸漬殺菌した。滅菌水で 3~5 回洗浄した後、双眼実体顕微鏡下で茎頂組織(葉原基 1~2 枚含む)を摘出し、培地に置床した。培地は MS 基本培地に、生長調節物質 NAA を 0.1 mg/l, BA を 0.01 mg/l, ショ糖 30 g/l, ゲランガム 2 g/l を添加し、pH 5.8 に調整したものを用いた。培地は試験管(φ 25 mm×120

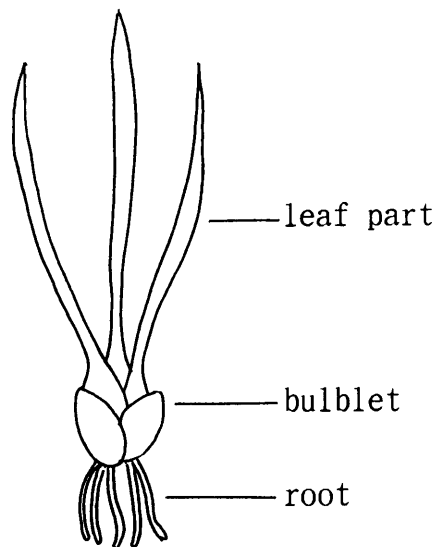


Fig. 1. Names of parts of plantlet derived from scale culture.

* 北海道文理科短期大学, 酪農科 (植物育種学)

Department of Dairy Science (Plant Breeding), Hokkaido College of Arts and Science, Ebetsu, Hokkaido 069, Japan.

** 幌加内町役場 幌加内町農業研究センター

Horokanai-cho Agriculture Research Center, Horokanai Town Office, Horokanai, Uryuu-gun, Hokkaido 074-04, Japan.

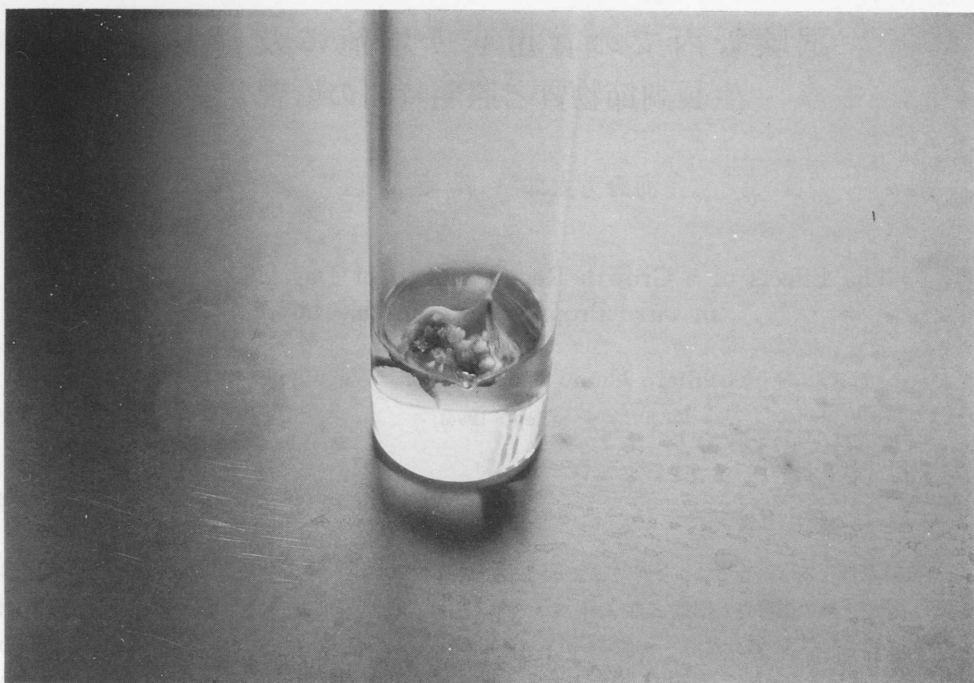


Fig. 2. Bulblet primodil derived from scale culture.

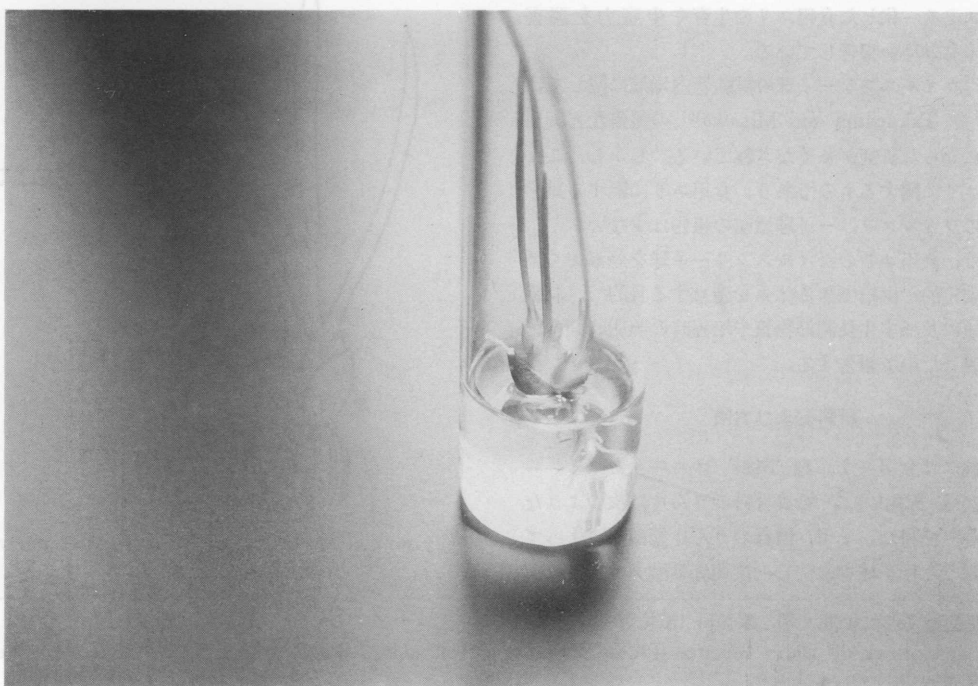


Fig. 3. Bulblet derived from scale culture.

mm) に 10 ml ずつ分注した後、高圧蒸気滅菌 (1.2 気圧, 120°C, 15 分間) を行った。培養条件は $25 \pm 1^\circ\text{C}$, 2,000 lux, 16 時間照明で 12 週間とした。これらの操作で植物体が得られた。その植物体を葉部, 子球, 根に分類し (Fig. 1), その後の調査はこの分類にしたがった。得られた植物体のうち子球の直径が 7 mm 程度のものを選び, 外側りん片を供試した。

実験では培地中の生長調節物質と照明時間に関する処理を加えた。各処理ごとに 100 りん片を供試し, りん片は試験管あたり 1 枚置床した。各処理以外の培地及び培養条件は前述の茎頂培養と同様の方法で行った。なお, 処理条件の詳細は結果の各項で述べる。実験でりん片から分化した組織はそれらの外見的構造から子球原基 (コブ状の組織: Fig. 2) と子球 (葉が展開した子球も含む: Fig. 3) に分類した。また, 培養 12 週目に子球原基を分化したりん片数, 子球を分化したりん片数及び形成された子球数, 子球重, 葉部重, りん片数を調査し, 子球原基分化率 (子球原基を分化したりん片数/置床りん片数), 子球分化率 (子球を分化したりん片数/置床りん片数), 子球生産量 (子球数 \times 子球重) を算出した。

結果および考察

1. 生長調節物質の影響

MS 基本培地に生長調節物質 NAA と BA を各 0 mg/l, 0.01 mg/l, 0.1 mg/l, 0.3 mg/l の濃度で組み合わせて添加した培地 (16 種類) にりん片を置床し, 培養 12 週目に先に述べた形質を調査した。

生長調節物質の添加の有無に関わらず, 子球分化の見られないものから子球原基の形成にとどまるもの, さらに完全な子球体が分化したものまで認められた。

子球原基および子球の分化に及ぼす NAA の影響を Table 1 に示す。子球原基分化率は無添加培地では 0%, NAA 0.01 mg/l 添加培地では 3%, NAA 0.1 mg/l 添加培地では 2%, NAA 0.3 mg/l 添加培地では 0% で NAA 濃度との間には一定の傾向が認められなかった。一方,

Table 1. Influence of growth regulator (NAA) on the bulblet formation of edible lily.

growth regulator NAA	BA	formation rate of bulblet primordil (%)	formation rate of bulblet (%)	No. of bulblets per scale segment
(mg/l)	(mg/l)			
0	0	0	20	0.45
0.01	0	3	42	1.46
0.1	0	2	75	3.12
0.3	0	0	78	3.17

子球分化率は無添加培地では 20%, NAA 0.01 mg/l 添加培地では 42%, NAA 0.1 mg/l 添加培地では 75%, NAA 0.3 mg/l 添加培地では 78% と NAA 濃度が高くなるにともない向上する傾向が認められた。また, りん片から分化する子球数にも同様の傾向が認められた。このことから, NAA の添加はりん片からの子球の分化を促進するものと考えられる。

また, 分化した子球形質に及ぼす NAA 濃度の影響を Table 2 に示す。子球重は無添加培地では 114.8 mg, NAA 0.01 mg/l 添加培地では 79.0 mg, NAA 0.1 mg/l 添加培地では 53.9 mg, NAA 0.3 mg/l 添加培地では 78.8 mg となった。葉部重でも無添加培地では 230.3 mg, NAA 0.01 mg/l 添加培地では 213.7 mg, NAA 0.1 mg/l 添加培地では 205.8 mg, NAA 0.3 mg/l 添加培地では 227.5 mg となった。りん片数は無添加培地では 6.3 枚, NAA 添加培地ではいずれも 5.3 枚であった。これらの結果は NAA の添加が子球の生長に抑制的に働くことを意味するものと思われる。一方, 子球生産量は無添加培地では 52, NAA 0.01 mg/l 添加培地では 115, NAA 0.1 mg/l 添加培地では 168, NAA 0.3 mg/l 添加培地では 249 となり, 培地中の NAA 濃度の上昇にともない向上した。

Table 2. Influence of growth regulator (NAA) on the growth of edible lily bulblet.

growth regulator		average F. W. of bulblets	average F. W. of leaf part	average gross No. of product scales	
NAA	BA				
(mg/l)	(mg/l)	(mg)	(mg)		
0	0	114.8	230.3	6.3	52
0.01	0	79.0	213.7	5.3	115
0.1	0	53.9	205.8	5.3	168
0.3	0	78.8	227.5	5.3	249

子球原基および子球の分化に及ぼす BA の影響を Table 3 に示す。子球原基分化率は無添加培地では 0%, BA 0.01 mg/l 添加培地では 7%, BA 0.1 mg/l 添加培地では 4%, BA 0.3 mg/l 添加培地では 4% と BA 添加で子球原基の分化は促進される。また, 子球分化率は無添加培地では 20%, BA 0.01 mg/l 添加培地では 20%, BA 0.1 mg/l 添加培地では 25%, BA 0.3 mg/l 添加培地では 38% と BA 濃度上昇にともない向上した。また, りん片から分化する子球数にも同様の傾向が認められた。しかし, それは NAA に比較し顕著とはいえず, 明確な促進効果とは認められない。また, 分化した子球形質に及ぼす BA の影響を Table 4 に示す。子球重は無添加培

Table 3. Influence of growth regulator (BA) on the bulblet formation of edible lily.

growth NAA	regu- lator BA	formation rate of bulblet primordil	formation rate of bulblet	No. of bulblets per scale segment
(mg/l)	(mg/l)	(%)	(%)	
0	0	0	20	0.45
0	0.01	7	20	0.43
0	0.1	4	25	0.72
0	0.3	4	38	0.83

Table 4. Influence of growth regulator (BA) on the growth of edible lily bulblets.

growth NAA	regu- lator BA	average F. W. of bulblets	average F. W. of leaf part	average gross No. of product scales	
(mg/l)	(mg/l)	(mg)	(mg)		
0	0	114.8	230.3	6.3	52
0	0.01	93.9	237.7	5.6	40
0	0.1	88.0	130.3	4.9	63
0	0.3	93.9	185.1	5.4	77

地では 114.8 mg に対して BA 添加培地では 90 mg 程度と減少した。葉部重でも無添加培地では 230.3 mg, BA 0.01 mg/l 添加培地では 237.7 mg, BA 0.1 mg/l 添加培地では 130.3 mg, BA 0.3 mg/l 添加培地では 185.1 mg となった。りん片数は無添加培地では 6.3 枚, BA 0.01 mg/l 添加培地では 5.6 枚, BA 0.1 mg/l 添加培地では 4.9 枚, BA 0.3 mg/l 添加培地では 5.4 枚となった。これらのことから BA 添加は NAA ほど顕著ではないが、子球の生長に抑制的に働くことが明らかになった。一方、子球生産量は BA 濃度との間に一定の傾向が見られず、大差も認められなかった。

子球原基及び子球分化に及ぼす NAA と BA を混用した影響を Table 5 に示す。子球原基分化率は NAA と BA の添加培地では NAA 単独使用に比較し向上したが、BA 単独使用に比較すると一様の傾向が見られず、明確な促進効果は認められなかった。また、子球分化率は 0.01 mg/l の NAA と BA を混用した場合には向上したが、0.3 mg/l の NAA と BA を混用した場合には低下した。一方、りん片から分化する子球数は NAA と BA を添加した培地ではいずれも NAA 単独使用に比較し減少した。また、分化した子球形質に及ぼす NAA と BA を混用した影響を Table 6 に示す。子球重は NAA と少量の BA を混用した場合に増加した。葉部重は NAA と BA の混用で抑制された。りん片数でも同様の

Table 5. Influence of growth regulator (NAA, BA) on the bulblet formation of edible lily.

growth NAA	regu- lator BA	formation rate of bulblet primordil	formation rate of bulblet	No. of bulblets per scale segment
(mg/l)	(mg/l)	(%)	(%)	
0	0	0	20	0.45
0.01	0.01	7	43	1.12
0.01	0.1	7	48	1.22
0.01	0.3	4	67	1.36
0.1	0.01	6	78	2.88
0.1	0.1	2	75	2.40
0.1	0.3	5	59	2.11
0.3	0.01	1	45	1.83
0.3	0.1	8	40	1.60
0.3	0.3	5	49	2.19

Table 6. Influence of growth regulator (NAA, BA) on the growth of edible lily bulblets.

growth NAA	regu- lator BA	average F. W. of bulblets	average F. W. of leaf part	average gross No. of product scales	
(mg/l)	(mg/l)	(mg)	(mg)		
0	0	114.8	230.3	6.3	52
0.01	0.01	82.0	202.9	5.8	91
0.01	0.1	74.0	163.3	5.7	90
0.01	0.3	56.9	128.2	4.8	77
0.1	0.01	74.7	191.5	5.1	215
0.1	0.1	51.4	166.2	4.9	123
0.1	0.3	52.8	136.6	4.7	111
0.3	0.01	81.6	190.9	5.2	149
0.3	0.1	79.2	146.3	5.1	126
0.3	0.3	43.8	152.6	4.6	95

傾向が見られた。一方、0.1 mg/l の NAA と 0.01 mg/l の BA を混用した場合に子球生産指数は 215 と向上した以外、減少する傾向が認められた。

このことから、食用ユリの試験管内増殖において NAA は子球の生長を抑制するが、子球の分化を促進することが明らかになった。また、BA は子球原基の分化を促進した。この結果は Takayama and Misawa¹¹⁾ のヤマユリのりん片培養や河原林ら⁴⁾ のテッポウユリなどのりん片培養の報告と一致した。また、NAA と少量の BA を混用することで NAA 単独使用に比べ、子球分化は抑制されるが子球重を増加させる傾向が認められた。しかし、子球原基の分化は促進されなかった。この結果

は、テッポウユリによるオーキシン類とサイトカイニン類の濃度を適当に組み合わせることによって子球原基の分化促進が可能とした Hackett¹⁾ の報告と結果を異にした。一方、食用ユリの試験管内増殖における適当な生長調節物質の濃度は子球分化率、りん片から分化する子球数および子球生産指数等から見て、NAA 0.3 mg/l または NAA 0.1 mg/l, BA 0.01 mg/l と考えられる。この結果は志賀ら^{8,9)} の報告に一致した。

2. 照明時間の影響

照明時間を 0 時間 (暗所)、8 時間、16 時間とし、その後の生長を調査した。

子球原基および子球分化に及ぼす照明条件の影響を Table 7 に示す。子球原基分化率および子球分化率は照明時間によって大きな差は見られなかったが、りん片から分化する子球数は 0 時間照明では 1.41 個、8 時間照明では 1.59 個、16 時間照明で 2.93 個と照明時間が長くなるにともない増加した。特に、16 時間照明では顕著に増加した。

一方、分化した子球形質に及ぼす照明時間の影響を Table 8 に示す。子球重は 0 時間照明では 178.3 mg、8 時間照明では 102.4 mg、16 時間照明で 76.2 mg と照明時間が長くなるにしたがい減少した。葉部重は 0 時間照明で減少し、りん片数は 8 時間照明で増加した。また、子球生産指数は 0 時間照明で 251 と高まった。

これらの結果から、0 時間照明は子球の生長を促進し、16 時間照明は子球分化を促進することが明らかになった。

Table 7. Influence of day length on the bulblet formation of edible lily.

day length (hour)	formation rate of bulblet primodil (%)	formation rate of bulblet (%)	No. of bulblets per scale segment (%)
0	7	74	1.41
8	6	72	1.59
16	4	80	2.93

Table 8. Influence of day length on the growth of edible lily.

day length (hour)	average F. W. of bulbles (mg)	average F. W. of leaf part (mg)	average No. of scales	gross product
0	178.3	59.0	5.1	251
8	102.4	174.4	6.6	202
16	76.2	184.1	5.1	223

た。ユリ類の組織培養における照明時間の影響はテッポウユリの茎頂培養において河原林ら³⁾ が報告をしているが議論が少なく、慣行的に連続または 16 時間照明で行われている。しかし、本報告の結果は照明時間が子球の分化や生長に影響を及ぼし、試験管内で食用ユリの子球増殖をコントロールする重要な要因であることが明らかになった。

以上の結果を総合すると、食用ユリの試験管内における増殖効率を高めるには生長調節物質 (NAA 0.3 mg/l または NAA 0.1 mg/l, BA 0.01 mg/l) を含む培地を用い、照明時間は子球の分化が進むまで 16 時間照明とし、その後暗黒下に移し、子球の生長を促す方法が良いと考えられる。

一方、試験管内で効率的に子球が増殖されたとしても、順化時の死亡率が高かったり、生育の停滞・不揃いが多ければ子球の安定供給にはつながらない。増殖された子球が確実に生育してこそ意味がある。ユリ類における順化後の生育は順化時の子球の大きさと関係があり、子球が大きいほど順調な生育を示す (未発表)。このことからユリ類の培養を利用した種球生産では、試験管内における子球の増殖率を高めるとともに子球の肥大率を高めることが安定的な生産効率を高める上で重要である。さらに、河原林ら⁴⁾ は試験管内増殖では供試りん片の切断が増殖率を向上させると報告している。このことから、より増殖率を高めるには切断可能な大きさのりん片を得るためにも子球肥大を促進する必要がある。

今後、試験管内で増殖された子球を効率よく肥大させる方法を検討していく必要があると考えられる。

摘 要

食用ユリの試験管内増殖法を確立するために、子球分化と生長に及ぼす生長調節物質や照明時間の影響を検討した。

その結果、りん片培養時には完全な子球形成が行われる場合と子球原基の形成にとどまる場合とが認められた。NAA (オーキシン) の添加はりん片からの子球の分化を促進した。また、BA (サイトカイニン) は子球原基の分化に効果を示した。さらに、NAA に少量の BA を添加すると子球の生長が促進された。

一方、照明時間に関しては、暗黒条件は子球の生長を促進した。また、16 時間照明は子球分化を促進した。このことから、照明時間が子球の分化や生長をコントロールする重要な要因であることがわかった。

以上の結果、食用ユリにおける試験管内増殖は生長調節物質や照明時間を調節することで、より効率的にする

ことができた。

引用文献

- 1) Hacket, W. P., 1969: Aseptic multiplication of lily bulblets from bulb scales. Proc. Int. Plant Prop. Soc., 19: 105-108.
- 2) 穂坂八郎, 横井政人, 1959: ユリの鱗片繁殖に関する研究. 千葉大園芸学部学術報告, 7: 45-55.
- 3) 河原林和一郎, 浅平 端, 1988: ユリ茎頂部組織の生育に及ぼす培地組成及び培養条件の影響. 園学雑, 57(2): 258-268.
- 4) 河原林和一郎, 浅平 端, 1989: ウイルスフリーユリ球根の *in vitro* における増殖. 園学雑, 58(1): 195-209.
- 5) 新美芳二, 1983: 組織培養による花き球根植物の栄養繁殖ユリを中心として. 農及園, 58(4): 531-542.
- 6) 新美芳二, 1990: ササユリの成球生産に関する研究 (第1報) 母植物の鱗片, 葉, 茎の各切片の試験管内での子球形成能力. 園学雑, 59 別(1): 614-615.
- 7) 小田義信, 三浦豊雄, 1987: 北海道における園芸作物の組織培養 ウイルスフリー化食用ユリの生育・生産力ならびに増殖法について. 北農, 54(1).
- 8) 志賀義彦, 日下孝人, 1981: 組織培養による園芸作物の繁殖技術確立に関する試験 (1) 食用ユリの効率的培養技術確立に関する試験. 昭55野試成概要 (北海道・東北), 34.
- 9) 志賀義彦, 1986: 北海道における園芸作物の組織培養 V ユリの組織培養. 北農, 53(9): 25-36.
- 10) Takayama, S. and M. Misawa, 1982: A scheme for mass propagation of *Lilium* *in vitro*. Scientia Hort., 18: 353-362.
- 11) Takayama, S. and M. Misawa, 1982: Regulation of organ formation by cytokinin and auxin *Lilium* bulb scales grown *in vitro*. Plant Cell Physiol., 23: 67-74.
- 12) 北海道農務部, 1988: ゆりのウイルス病の種類とその簡易検定法に関する試験. 昭和63年度普及奨励ならびに指導参考事項: 219-223.

Summary

The effect of a growth regulator and day length on bulblet formation and growth were examined to establish mass propagation of edible lily *in vitro*.

In the scale culture, complete bulblet or primordium of bulblet was achieved. The addition of NAA (auxin) promoted bulblet formation. BA (cytokinin) affected the formation of the bulblet primordium. Moreover, when a small amount of BA was added to NAA, the bulblet growth was promoted.

Concerning day length, a darkness promoted bulblet growth. The 16 hours of light promoted bulblet formation.

Day length is an important factor for the control of the bulblet formation and growth.