

食用ユリの子球形成・肥大と順化後出葉に 対する培養時日長の影響

海野芳太郎*・我妻尚広**

Effect of Day-Length in vitro on Bulblet Formation in Edible Lily,
Bulblet Enlargement, and Leaf Emergence from Bulblets in Vivo

Yoshitaro UN-NO and Takahiro WAGATSUMA

(June 1996)

緒 言

組織培養における培養時の日長条件の影響はブドウの薬からのカルス増殖効率¹⁰⁾、ミョウガ莖頂培養時の発根および莖葉伸長の調節¹⁾、ニンニクの莖頂培養における栄養体の肥大率¹⁷⁾などに関する報告があり、その重要性が指摘されている。さらに、パレイショでは生長調節物質を使用せず日長条件と温度調節で塊茎形成をコントロールできるとの報告¹⁶⁾もある。

一方、ユリ類の組織培養はウイルス病の蔓延などによる栽培面積の減少を契機に、優良種球生産を目的に研究が始められ、莖頂培養^{4,12)}や大量増殖^{6,9,11,18,19)}に関して、実用的な報告が数多くなされている。しかし、これらの報告は培地組成に関するものが多く、培養時の日長条件などに関する報告は少ない。また、筆者らはこれまでに培養時の日長条件と子球形成・肥大の関係について検討を加え、培養時の日長条件が子球形成・肥大に影響をおよぼすことを示唆した。

そこで、本報では食用ユリの培養時における日長条件が子球形成・肥大におよぼす影響を重ねて検討するとともに順化後の出葉に与える影響も検討した。

材料及び方法

1. 供試材料の培養過程

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。培養材料の子球は次のような莖頂培養¹³⁾で得た。まず、慣行のりん片繁殖³⁾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莖頂組織（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NAA(1-naphthaleneacetic acid)を0.1mg/l, BA(6-benzylamino purine)を0.01mg/l ショ糖30g/l, ゲランガム2g/lを添加し、pH5.8に調整したものをを用いた。培養条件は25±1℃, 2,000 lux, 連続照明で12週間とした。得られた幼植物を葉部、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て行った。得られた植物体のうち子球の直径が7mm程度のものを300個体選び、実験に供試した。

2. 実験1 りん片培養への影響

実験では培養時の日長条件を暗黒下、短日（8時間照明）、長日（16時間照明）の3種の処理とした。材料には

* 北海道文理科短期大学 植物育種学

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.

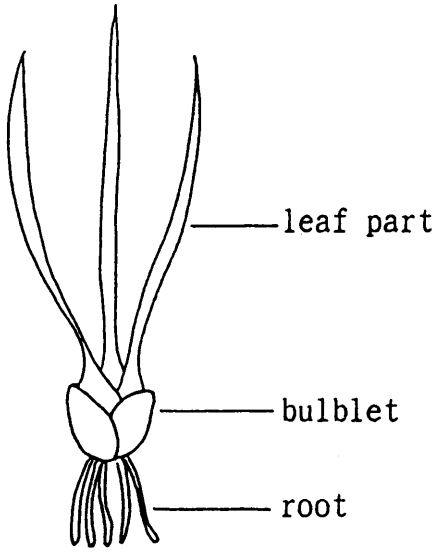


Fig. 1 Names of parts of plantlet derived from shoot apex culture.

供試子球から外側のりん片を1枚はがして用いた。各処理区とも100りん片を供試し、りん片は試験管あたり1枚、置床した。処理以外の培地および培養条件は前述の莖頂培養と同様の方法で行った。調査では前報²¹⁾にしたがい、りん片から分化した組織をそれらの外見的構造から子球原基と子球に分類した。また、培養20週目に子球原基を形成したりん片数、子球を形成したりん片数および形成された子球数、子球重、葉部重、りん片数を調査し、子球形成率（子球を形成したりん片数／置床りん片数）、子球原基形成率（子球原基を形成したりん片数／置床りん片数）、子球生産量（子球数×子球重）を算出した。

3. 実験2 子球培養への影響

実験には実験1で供試したりん片採取後に残った子球を用い、実験1と同様の培地および培養条件で培養を行った。

調査は培養前後の子球重を調査し、肥大率（培養後の子球重／培養前の子球重）を算出したほか、培養20週目の葉部重、りん片数、根重を調査した。

4. 実験3 順化後の出葉への影響

子球培養によって得られた子球は葉部の切除後、パーミキュライトを入れた育苗箱（360×450×100mm）に深さ約2cmに移植した。移植後、日長条件ごとに0、1および4週間の低温処理（4±1℃、暗黒下）を加え、それぞれを無処理区、1週間区、4週間区とし、各区30子球を供試した。処理後は最低夜温10℃の温室で育成し、1週間ごとに3回、出葉した子球数を調査し、出葉率を算出した。

結 果

1. りん片培養への影響

りん片培養ではすべての日長条件でりん片の基部に子球や子球原基が認められたものの、それらの形成率には差が認められなかった。しかし、形成された子球数やその諸形質には日長条件で差が生じた。形成された子球数は暗黒下の2.6球に比較し、短日で3.8球、長日で4.1球とそれぞれ高い値を示した（Table 1）。しかし、子球重は暗黒下の254mgに比べ、短日で134mg、長日で122mg、と低い値を示した。葉部重は短日および長日で増加し、特に短日では暗黒下の3倍となった。また、りん片数は暗黒下および長日で6.6～6.8枚と差が見られないのに対し、短日では8.0枚と増加した。一方、子球生産

Table 1. Influence of day-length in vitro on bulblet formation in edible lily from scale culture.

Day-length (hour)	Formation rate of bulblet	Formation rate of bulblet primordia	No. of bulblets per scale segment
0	98a*	2 a	2.6a
8	98a	2 a	3.8b
16	96a	4 a	4.1b

Scale was cultured for 20 weeks on MS medium supplemented with 0.1mg/ℓ NAA, 0.01mg/ℓ BA.

* Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

Table 2. Influence of day-length in vitro on bulblet enlargement in edible lily from scale culture.

Day-length (hour)	Fresh weight of bulblets(mg)	Fresh weight of leaf parts(mg)	No. of scales	Gross product
0	254a*	56a	6.6a	660.4a
8	134b	164c	8.0b	509.2b
16	122b	102b	6.8a	500.2b

Scale was cultured for 20 weeks on MS medium supplemented with 0.1mg/ℓ NAA, 0.01mg/ℓ BA.

Gross Product : No. of bulblets per scale segment × Fresh weight of bulblets.

* Duncan's multiple range test (p<0.05).

Table 3. Influence of day-length in vitro on bulblet enlargement in edible lily from bulblets culture.

Day-length	Fresh weight of bulblets(mg)		B/A	Fresh weight of leaf part	No. of scales	Fresh weight of roots
	A	B				
0	40a	442a	11.1a	231a	5.8a	238a
8	42a	324b	7.7b	449c	9.1b	438b
16	40a	317b	7.9b	326b	6.3a	501b

Bulblet was cultured for 20 weeks on MS medium supplemented with 0.1mg/ℓ NAA, 0.01mg/ℓ BA.

A : Fresh weight at start of culture. B : Fresh weight at end of culture.

* Duncan's multiple range test (p<0.05).

量は短日および長日で500程度なのに比べ、暗黒下で660.4と増加した (Table 2)。

2. 子球培養への影響

子球培養ではりん片培養と異なり、新たな子球や子球原基は認められず、置床した子球の肥大が認められた。子球肥大率は短日および長日で7.7～7.9であったのに比較し、暗黒下で11.1倍と高い値となった。また、葉部重は短日及び長日で増加し、特に短日では暗黒下の2倍程度になった。りん片数は短日で9.1枚と他に比べ高い値となった。これらの結果はりん片培養時に形成された子球の諸形質と同様の傾向を示した。一方、根重は暗黒下の238 mgに比較し、短日で438 mg、長日で501 mgと高い値となった (Table 3)。

3. 順化後の出葉への影響

培養時の日長条件で子球からの出葉傾向に違いが認められた。無処理区では暗黒下で培養した子球からの出葉

が遅れ、出葉率が2週間目に40%と他区の1/2以下であった。しかし、1週間区では無処理区で認められた暗黒下で培養した子球からの出葉が遅れる傾向は見られず、いずれの区も同様の出葉傾向を示した。さらに、この出葉傾向は無処理区の短日および長日で培養した子球からの出葉傾向に類似した。一方、無処理区および1週間区の出葉率は常に短日および長日の出葉率が暗黒下のそれを上回るのに対し、4週間区では暗黒下での出葉率が上回った。また、無処理区および1週間区で処理後3週目までにほぼ100%となったが、4週間区では40～60%と低下した (Fig. 2)。

考 察

実験の結果、りん片培養における子球形成は暗黒下に比べ短日および長日で促進されることが明らかとなった。

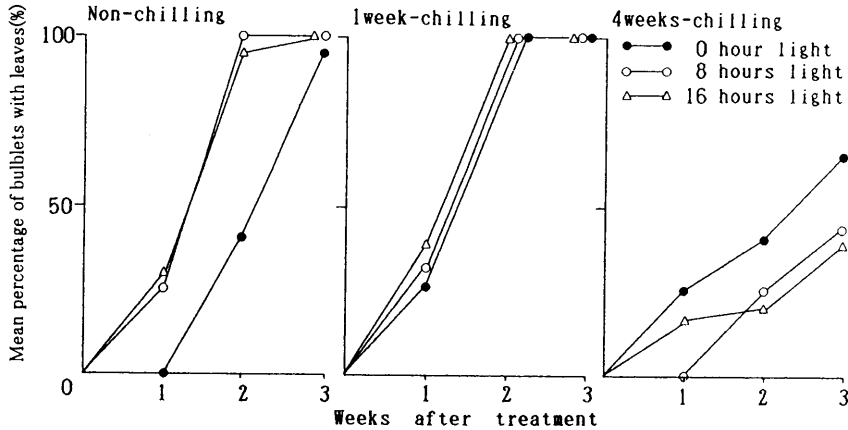


Fig. 2 Influence of day-length in vitro on leaf emergence from bulbets in vivo after treatment. Bulbets were stored at $4 \pm 1^\circ\text{C}$ for different durations (non-chilling, 1- and 4 weeks chilling, respectively).

子球培養における子球肥大は暗黒下で良好となった。暗黒下で子球肥大が良好となる傾向はりん片培養で形成された子球でも認められた。これらの結果は海野・我妻²⁰⁾のこれまでの報告に一致した。また、テッポウユリなどを用いた河原林・浅平⁵⁾やヒメサユリを用いた新見⁷⁾の報告と類似した結果であった。また、子球肥大に関し、ササユリを用いた福井ら²⁾の報告とも一致した。一般に、子球部の肥大はりん片数の増加による場合とりん片の肥厚による場合があるが、暗黒下で子球部が肥大する反応は後者のものであって、貯蔵物質がりん片（貯蔵器官）に蓄積されたものと考えられる。このような現象は栄養繁殖を行う植物が休眠に向かう場合の物質転流に類似している。

また、本実験の結果、暗黒下で培養した子球からの出葉が遅れることが明らかになった。この出葉の遅れは1週間の低温処理では認められなくなることから、暗黒下で培養された子球が休眠に近い生理状態にあったものと考えられる。培養子球の休眠打破に関してはヒメサユリで新美ら⁸⁾が、テッポウユリでStimartら^{14,19)}が報告している。これらの結果を比較すると、 4°C の低温処理で休眠打破が起こる点では一致しているが、処理期間が異なっており、ユリ類でも休眠の深さに大きな違いがあるものと思われる。

これらの子球肥大や子球からの出葉に見られた現象はいずれも暗黒下で培養された子球が休眠に近い生理状態にあったことをうかがわせた。これまでに、鉢上げした子球の活着や出葉率を左右することから、培地や培養条件が子球の休眠の深さに影響するとの報告が見られる^{14,15,22)}。これらの報告に従えば、食用ユリにおいても

培養時の日長条件が子球の休眠の深さに影響をおよぼしたものと考えられる。しかし、ユリ類における休眠や休眠打破にともなう生理的変動に関し、十分な解明がなされておらず、これらの関係については今後の課題である。

一方、培養時の日長条件は培養時の子球形成や肥大ばかりでなく、順化後の子球からの出葉にも影響した。このことは子球増殖や子球肥大さらに順化前といった培養目的に応じた日長条件を組み合わせることで、より効率的な培養が可能になることを明らかにした。

摘 要

食用ユリの組織培養による大量増殖をより効率化するため、培養時の日長条件が子球形成と肥大および順化後の出葉におよぼす影響を検討した。

1. りん片培養での子球形成は暗黒下に比較して、短日および長日で促進された。
2. 子球培養での子球肥大は暗黒下で良好となった。
3. 暗黒下での培養は子球からの出葉を抑制し、出葉の抑制は1週間の低温処理（ $4 \pm 1^\circ\text{C}$ ）で回復できた。

以上の結果、培養目的に応じた日長条件を用いることでより効率的な培養が可能となることが明らかになった。

引用文献

- 1) 遠藤柳子, 庄子孝一, 1987. ミョウガの茎頂培養法. ; 東北農業研究. 40 : 285-286.
- 2) 福井博一, 永瀬幸, 中村三夫, 1990. in vitro でのササユリ (*Lillium japonicum* Thunb) の球根肥大

- に関する研究. 園芸学雑; **59** (別1): 612-613.
- 3) 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.
 - 4) 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. 園芸学雑; **57**(2): 258-268.
 - 5) 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. 園芸学雑; **58**(1): 195-209.
 - 6) 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. 農業及び園芸; **58**(4): 531-542.
 - 7) 新美芳二, 1984. ナフトレン酢酸, ベンジルアデニン及び明・暗条件が試験管内でのヒメサユリ(*Lillium rubellum* Baker) の子球の発達と圃場における子球の出葉に及ぼす影響. 園芸学雑; **53**(1): 59-65.
 - 8) 新美芳二, 遠藤由紀夫, 有坂英一, 1988. ヒメサユリ培養子球の休眠打破に及ぼす低温および GA₃ 処理の効果. 園芸学雑; **57**(2): 250-257.
 - 9) 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. 園芸学雑; **59**(別1): 614-615.
 - 10) 新美善行, 1987. ブドウの薬培養における光条件および低温処理がカルス形成に与える影響. 広島農短大研報; **21**(2): 337-340.
 - 11) 大川清, 1982. ヤマユリの組織培養による急速増殖. 研究ジャーナル; **5**(7): 34-37.
 - 12) 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. 昭和55年度野菜試験成績概要 (北海道・東北); **34**
 - 13) 志賀義彦, 1986. 北海道における園芸作物の組織培養 ユリの組織培養. 北農; **53**(9): 25-36.
 - 14) Stimart, D. P., P. D. Ascher and H. F. Wilkins, 1982. Overcoming dormancy in *Lillium longiflorum* bulblets produced in tissue culture. J. Amer. Soc. Hort. Sci.; **107**(6): 1004-1007.
 - 15) Stimart, D. P., P. D. Ascher and H. F. Wilkins, 1983. Axis elongation from tissue-culture-generated bulblets of *Lillium longiflorum* Thund. J. Amer. Soc. Hort. Sci.; **108**(1): 99-101.
 - 16) 菅原之浩, 永島聡, 伊槻康成, 1988. 組織培養による馬鈴薯の塊茎形成について. 育種学雑; **38**(別2): 176-177.
 - 17) 高樹英明, 1992. ニンニクの茎頂培養における小植物の栄養生長と球の形成・肥大に及ぼす培養光源の影響. 山形大紀要 (農学); **11**(3): 523-527.
 - 18) Takayama, S. and M. Misawa, 1982. A scheme for mass propagation of *Lillium in vitro*. Scientia Hort.; **18**: 353-362.
 - 19) Takayama, S. and M. Misawa, 1982. Regulation of organ formation by cytokinin and auxin *Lillium* bulbscales grown *in vitro*. Plant Cell Physiol.; **23**: 67-74.
 - 20) 海野芳太郎, 我妻尚広, 1995. 試験管内における食用ユリの肥大. 酪農学園大学紀要; **19**: 423-427.
 - 21) 海野芳太郎, 我妻尚広, 1995. 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. 酪農学園大学紀要; **19**: 429-434.
 - 22) Ziv, M., 1979. Transplanting *Gladiolus* plants propagated *in vitro*. Scientia Hort.; **11**: 257-260.

Summary

The effect of day-length *in vitro* on the bulblet formation, bulblets enlargement and leaf emergence from bulblet *in vivo* were examined to establish mass propagation of edible-lily.

The 8 and 16 hours of light promoted bulblet formation for scale culture.

The darkness promoted bulblet enlargement for bulblet culture. The darkness inhibited leaf emergence from bulblet *in vivo*. It was recovered chilling treatment ($4 \pm 1^\circ\text{C}$) at 1 week.

Day-length *in vitro* is an important factor for the control of bulblet formation from scale, bulblet enlargement and leaf emergence bulblet *in vivo*.