

## 試験管内における食用ユリ子球の肥大

海野芳太郎\*・我妻尚広\*\*

### *In Vitro* Enlargement of Edible Lily Bulblets

Yoshitaro Un-no and Takahiro Wagatsuma

(Sept. 1994)

#### 緒 言

培養を利用した種苗生産は多くの植物で試みられている。この方法では従来の方法に比べ短期間に大量の苗が得られることが明らかになっている<sup>12)</sup>。しかし、この生産方法が従来に比較して有効であるためには、得られた苗が確実に生育することが必要である。つまり、順化効率がその有効性を決める重要なポイントとなる。

ユリ類でもこの方法を用いて、種球生産が試みられている<sup>4,6,8,9)</sup>。また、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し(未発表)、順化効率は高くなる。このことは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生産効率を高める上で重要である。

そこで、本報告では食用ユリを用い、試験管内で培養された子球を効率的に肥大させる方法を検討した。

#### 材料および方法

供試品種は「白銀」(オニユリとコオユリの間中種)とした。培養材料となる子球は次のような茎頂培養<sup>7)</sup>で得た。慣行のりん片繁殖によって得られたりん片子球を水洗後、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。培地は試

験管(φ25 mm×120 mm)に10 mlずつ分注し、高圧蒸気釜(1.2気圧, 120°C, 15分間)で滅菌した。培養は照明条件が昼光色蛍光灯による16時間照明、培養温度が25±1°Cで16週間行った。得られた植物体(Fig. 1)から葉部と根を切断し、子球重が70 mg程度の子球を選別した。

実験では子球に所定の処理を加え12週間培養した。なお、処理条件の詳細は結果の各項で述べる。特に述べなければ、培養は前述の茎頂培養と同様の条件で行った。

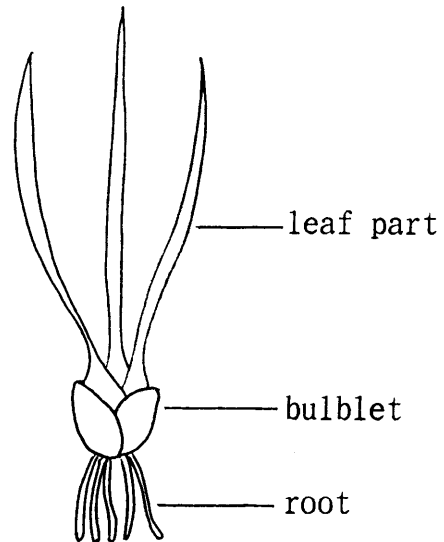


Fig. 1. Names of parts of plantlet derived from shoot-tip culture.

\* 北海道文理科学短期大学, 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, Urynu-gun, Hokkaido 074-04, Japan.

各処理区とも100子球を供試し、培養開始前後の子球重、葉部重、りん片数を調査した。

### 結果および考察

#### 1. ショ糖濃度の影響

ショ糖濃度を3, 4, 5, 6, 7, 8%とした培地で子球を培養し、肥大等に関する諸形質を比較した。

Table 1に示すように、子球重の増加は3%区で培養開始時の2.9倍であったのに対し、4%区では4.5倍、5%区では4.3倍と明らかに肥大効率が良好となる。しかし、5%を超える濃度区では3%区よりも子球肥大は良好であったものの、濃度上昇にともない肥大効率は低下する傾向を示した。葉部重はショ糖濃度が高まると抑制される傾向がみられ、特に8%区で52mgと顕著となった。りん片数は8%区で3.4枚と減少するものの、他は5.3~4.8枚と大差が認められなかった。このことから、培養に用いるショ糖濃度は4%が適当であると思われる。また、りん片数には8%区以外で差が見られないことから、ショ糖濃度の変化による子球重の増加は1りん片重の増加によると考えられる。

**Table 1.** Influence of saccharose concentration on the enlargement of edible lily bulblets.

Saccharose concentration (%)	Average F. W. of bulblets (mg)		B/A	Average F. W. of leaf parts (mg)	Average No. of scales
	A	B			
3	72	212	2.9	200	5.3
4	71	321	4.5	162	5.1
5	72	312	4.3	179	4.9
6	72	282	3.9	121	4.8
7	70	233	3.3	122	5.1
8	71	221	3.1	52	3.4

F. W.: Fresh Weight

A: F. W. at start of culture

B: F. W. after 12 weeks of culture

ショ糖濃度に関して、河原林ら<sup>3)</sup>は4%が適当とし、福井ら<sup>1)</sup>は6~10%で良好となると報告している。本結果は前者と一致した。また、Takayamaら<sup>10,11)</sup>は培地中の糖濃度の上昇にともない子球の休眠化傾向が見られると報告している。本実験でもショ糖濃度が高まるにともない伸長するりん片葉数が減少し、休眠に近い生理状態になっていることが推測できた。一方、組織培養における植物は独立栄養で十分な生長ができないのが普通で

ある。そこで、培地には分化・生長のエネルギー源として糖類を添加した。一般的に組織培養に用いられる糖濃度は2~3%であるが、本実験の場合多少高めの濃度で良い結果が得られている。このことはユリ類の主要な貯蔵物質がデンプンであることから、糖類は分化・生長のエネルギー源としてだけでなく、子球肥大に関しても重要な役割をはたしているものと推測される。

#### 2. カサミノ酸添加の影響

培地にカサミノ酸を2g/l添加し、無添加区と比較した。

Table 2に示すように、子球重の増加は無添加区で培養開始時の3.1倍に対し、カサミノ酸添加区では4.4倍と顕著に子球肥大が促進された。また、葉部重は無添加区の211mgに対し、カサミノ酸添加区の259mgとカサミノ酸添加区で約1.2倍に増加した。一方、りん片数でも同様に無添加区の5.2枚に対し、カサミノ酸添加区で6.5枚と約1.2倍に増加した。このことから、培地へのカサミノ酸添加は子球の肥大に促進に有効なことが明らかとなった。

**Table 2.** Influence of addition of casamino acids on the enlargement of edible lily bulblets.

Treatment	Average F. W. of bulblets (mg)		B/A	Average F. W. of leaf parts (mg)	Average No. of scales
	A	B			
control	72	219	3.1	211	5.2
casamino	71	319	4.4	259	6.5

F. W.: Fresh Weight

A: F. W. at start of culture

B: F. W. after 12 weeks of culture

培地に添加したカサミノ酸が子球重、葉部重、りん片数を増加させ、子球の分化・生長を促進したものと考えられる。筆者らはバレイショにおいてカゼインなどのタンパクを培地に添加することで塊茎形成力や生育を促進すると報告<sup>12)</sup>した。カサミノ酸はカゼインの分解物であり、同様の効果を示したものと推察される。

#### 3. 照明条件の影響

照明時間を0時間(暗所)、8時間、16時間とし、その影響を比較した。

Table 3に示すように、子球重の増加は0時間区で培養開始時の4.8倍、8時間区で3.9倍、16時間区で3.1倍と照明時間が長くなるにしたがい低下した。また、0時間区では葉部が白くほとんど伸長しなかったため、葉部

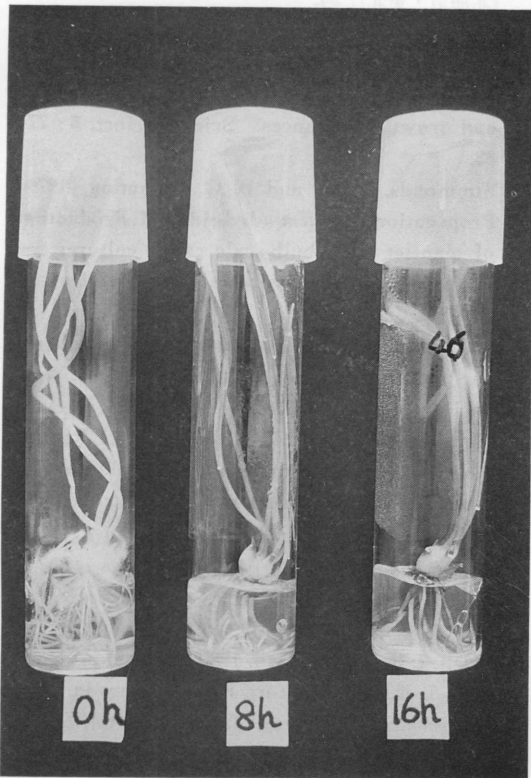
**Table 3.** Influence of day length on the enlargement of edible lily bulblets.

Day-length	Average F. W. of bulblets (mg)		B/A	Average F. W. of leaf parts (mg)	Average No. of scales
	A	B			
0	70	342	4.8	192	4.3
8	71	281	3.9	385	6.1
16	70	217	3.1	342	4.9

F. W.: Fresh Weight

A: F. W. at start of culture

B: F. W. after 12 weeks of culture



**Fig. 2.** Influence of day length on the enlargement of edible lily.

0h 0 hours light (darkness)  
8h 8 hours light  
16h 16 hours light

重は他区の半分程度であった。8時間区と16時間区では葉部重に大きな差は見られなかったが、8時間区では細い葉が多数形成され、16時間区では大きな葉が形成された (Fig. 2)。りん片数は8時間区で6.1枚と他区の1.5倍に増加した。

このことから、0時間照明 (暗黒下) で培養すると子球肥大が良好となることが明らかになった。また、この条件で培養された子球から伸長するりん片葉数は減少する傾向が認められ、休眠に近い生理状態になっていることが推測される。

我妻ら<sup>14)</sup>は照明時間を短くすると子球肥大は促進されるがりん片葉の生育は抑制されることを報告している。本報告でも同様の結果が得られた。

**4. 培養温度の影響**

培養温度を22±1°C, 25±1°C, 28±1°Cとしたときの子球の肥大について調査・検討を行った。

Table 4に示すように、子球重の増加は22°C区で培養開始時の2.8倍、25°C区で3.1倍、28°C区で3.6倍と培養温度の上昇にともない子球肥大が促進される。しかし、葉部重やりん片数は28°C区で抑制される傾向を示した。このことから、28±1°Cで培養すると葉部の生長やりん片の分化は抑制されるが、りん片の肥大は良好となり、子球重は増加することが明らかになった。また、この温度で形成される子球は葉部の生長が抑制されていることから、成熟が進み休眠に近い状態にあることがうかがえた。これらの結果は河原林ら<sup>3)</sup>の報告に一致した。

**Table 4.** Influence of culture temperature on the enlargement of edible lily bulblets.

Temperature	Average F. W. of bulblets (mg)		B/A	Average F. W. of leaf parts (mg)	Average No. of scales
	A	B			
22±1°C	72	201	2.8	198	5.0
25±1°C	70	220	3.1	205	5.1
28±1°C	70	252	3.6	169	4.8

F. W.: Fresh Weight

A: F. W. at start of culture

B: F. W. after 12 weeks of culture

以上の結果、比較的高いショ糖濃度 (4%)、カサミノ酸の添加 (2g/l)、0時間照明 (暗黒下)、比較的高温 (28±1°C) での培養が子球肥大を促進することがわかった。これらの条件による子球肥大は培地へのカサミノ酸の添加の場合を除いて、いずれの場合も葉部の生長やりん片の分化が抑制され、貯蔵器官であるりん片が肥大した。この現象は栄養繁殖をする植物が休眠に向かい貯蔵物質の栄養体への転流を促進する現象に極めて類似している。このことは培養時の子球肥大と休眠の関連性が深い

ことを示唆している。また、比較的高いシヨ糖濃度、0時間照明、比較的高い温度などの培養条件が培養時の子球に何らかの刺激をあたえ、休眠を誘引し、りん片への貯蔵物質の転流を促進させたものと予測できる。さらに、培養中の栄養体の肥大と休眠の関係を示唆する報告<sup>2,5)</sup>もいくつか見られるが、本実験では培地中のシヨ糖濃度、照明時間や培養温度と子球の休眠との関係について詳細な検討を行っていないため、今後この点を明確にしていく必要があると考えられる。

一方、本実験によって子球肥大を促進する条件が明らかとなり、休眠との関連性が示唆された。効率的に子球生産を行う場合、子球の休眠が深まることはマイナス要因となるため、今後は培養子球の休眠打破に関しても検討を加える必要があると思われる。

### 要 約

培養を利用した生産は従来の方法に比較し、大量の種苗を生産することができる。しかし、順化段階で種苗のロスが大きければ有効な生産方法とはいえない。ユリ類における順化後の生育は順化段階の子球の大きさと関係がある。また、試験管内での子球の肥大率を高めることが生産効率を高める上で重要である。そこで、試験管内で子球を肥大させる条件について検討した。

その結果、子球肥大に適当なシヨ糖濃度は4%である。培地へのカサミノ酸の添加は子球肥大を促進する。0時間照明(暗黒下)での培養は子球肥大を促す。28°Cの培養温度が子球肥大に適当であることが明らかになった。

### 文 献

- 1) 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. 園学雑, 59 別 (1): 612-613.
- 2) 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.
- 3) 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.

- 4) 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.
- 5) 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. 園学雑, 53(1): 59-65.
- 6) 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.
- 7) 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.
- 8) Simmonds, J. A. and B. G. Cumming, 1976: Propagation of *Lillium* hybrids. Dependence of bulblet production on time of scale removal and growth substances. *Scientia Hort.* 5: 77-83.
- 9) Simmonds, J. A. and B. G. Cumming, 1976: Propagation of *Lillium* hybrids. II. Production of plantlet from bulb-scale callus cultures for increased propagation rates. *Scientia Hort.* 5: 161-170.
- 10) Takayama, S. and M. Misawa, 1982: A scheme for mass propagation of *Lillium* *in vitro*. *Scientia Hort.* 18: 353-362.
- 11) Takayama, S. and M. Misawa, 1982: Regulation of organ formation by cytokinin and auxin *Lillium* bulb scales grown *in vitro*. *Plant Cell Physiol.* 23: 67-74.
- 12) 海野芳太郎, 我妻尚広, 土橋慶吉, 1990: パレイシヨ培養植物における培養節位と添加タンパクの影響. 育雑, 40 別 (2): 88-89.
- 13) Vasil, I. K. and V. Vasil, 1980: Clonal propagation. I. K. Vasil (editor), *Perspectives in plant cell and tissue culture*. *Int. Rev. Cytol. Suppl.* 11A. Academic Press.: 145-173.
- 14) 我妻尚広, 海野芳太郎, 土橋慶吉, 1992: 試験管内における照明時間が食用ユリの子球分化・生育に及ぼす影響. 園学雑, 61 別 (2): 290-291.

### Summary

Tissue-culture propagation can produce more seeds and seedlings than traditional methods. However, if loss of seeds and seedlings at the acclimatization stage is large, it isn't an effective production method. After acclimatization of lilies, lilies' growth relates to the size of bulblet at the acclimatization stage. Also, the size of the bulblet enlargement rate *in vitro* is important in raising the reproductive efficiency. Therefore, we examined the enlargement conditions of bulblets

*in vitro.*

As a result, we estimate some suitable conditions for bulblet enlargement : a 4% concentration of saccharose, addition of casaminoacid to the medium, and culturing in darkness and at 28°C in bulblet culture.