自生ササユリ球根の発育とりん片培養による子球形成との関係

水口 茂¹・山下理恵子²・大川勝徳^{1,2}

¹金沢大学自然科学研究科 920-11 金沢市角間町

²金沢大学教育学部 920-11 金沢市角間町

Relationship between Bulb Growth of *Lilium japonicum* Thunb. in the Field and Bulblet Formation on In Vitro Cultured Scales

Shigeru Mizuguchi¹, Rieko Yamashita² and Masanori Ohkawa^{1,2}

¹Department of Molecular Physiology, Division of Life Science and Technology, Kanazawa University, Kakuma, Kanazawa 920-11

²Faculty of Education, Kanazawa University, Kakuma, Kanazawa 920-11

Summary

Experiments were conducted to clarify the relationship between seasonal changes in bulb growth of *Lilium japonicum* Thunb. in the field under natural conditions and bulblet formation on in-vitro cultured scales.

When scales are detached from a bulb, vestiges of stems from past years are detectable on the basal plate. The year, the scales were formed, was identified by the positions of the residual stems on the basal plate. Each year, a new daughter bulb, consisting of about 7 scales, which develops within the mother bulb and the growth of the new shoot, which occurs between April and July, consume 3 to 4 outer-scales of the mother bulb.

The bulbs were collected on 10 March, 1 July and 14 October, and their scales cultured for 13 weeks. The rate of bulblet formation on the scales collected on 10 March was fastest. The formation rate and fresh weight gain of the regenerated bulblets, which formed on the outer scales, were faster than those on the inner scales.

We conclude that to regenerate bulblets by in-vitro scale culture, early spring is the optimum time to collect the bulbs.

緒 言

ササユリ (*Lilium japonicum* Thunb.) の球根はりん片数が少なく、また種子は地下遅発芽性のため播種後開花するのに約5年を要することから、その繁殖率は悪いとされている (清水, 1987)。一方山掘りした球根は圃場で栽培しても数年経過すると消失する (仙頭, 1971)。このように、本ユリの増殖や圃場での栽培は非常に困難であった。

近年組織培養法によるササユリの増殖が試みられており、母球のりん片 (水口・大川, 1994; 新美, 1990) が子球増殖のための有効な外植体として利用されてきた。しかし、母りん片は雑菌による汚染が著し

く、in vitro での培養が困難なことから、これまで球根の採取時期や球根中のりん片の着生位置などと培養りん片上の子球形成との関係は不明であった。

本実験は、自生ササユリの球根の生長を調査するとともに、球根の採取時期や盤茎上のりん片の着生位置 (齢) などと培養りん片上の子球形成やその発育との関係を明らかにする目的で行われた。

材料および方法

1. りん片の形成年度の判別

1989年5月30日に石川県七尾市の雑木林に自生している球根を採取し、水洗いした後、本実験に供した。盤茎上の下位のものは齢の古いりん片、上位のものは新しいりん片なので、盤茎上に着生しているりん片をメスで外側から順番に1枚ずつ分離して、盤茎上にあ

る茎跡や残部からりん片の形成年度を判定した。

2. りん片の形成年度とその消長

1 と同一の場所で、球根を 1990 年 3 月 10 日（出芽前）7 月 1 日（開花終了後）および 10 月 14 日（地上部枯死後）に 15 球ずつ採取した。そのうち生体重が約 10 g で、形のそろった球根 10 個を本実験に供した。球根を水洗した後、1 の方法でりん片を分離し、りん片を形成年度ごとに分別した。そして採取時期別球根の盤茎上に着生しているりん片の消耗程度や形成された新球のりん片枚数などを調査した。

3. 球根の採取時期と培養りん片上の子球形成などの関係

球根の採取時期と場所は 2 と同一である。1990 年 3 月 10 日と 7 月 1 日採取の球根は中部りん片を、また 10 月 14 日の球根では中部および内部りん片を本実験に供した。各りん片の先端部と周縁部を除去し、70% アルコールで 15 秒間、3.0% 次亜塩素酸ナトリウム (Cl 含量 0.3%) で 15 分間滅菌した後、滅菌水で 3 回洗浄した。それらのりん片を約 5×5 mm に切断して外植体とした。

基本培地は MS 培地 (Murashige・Skoog, 1962) で、これに 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid 1.0 ppm, Kinetin 1.0 ppm およびショ糖 3.0% を添加し、pH 5.8 に調整後、0.8% の寒天を加えた。外植体を植え付ける直前に 0.2% TBZ 溶液 (Thiabendazole, エスエス製薬 ON 147) に浸漬処理した (Ohkawa・Mizuguchi, 1994)。外植体は背軸面が培地に一部埋まるように置床した。培養切片数は 3 月 10 日、7 月 1 日および 10 月 14 日でそれぞれ 343, 204 および 229 である。培養は 25℃, 2,000 lx 連続照明下で 13 週間行った。

培養後 2 週間ごとに球状体 (不定芽原基)、子球および根を形成した子球などを形成した外植体の数を調べ、それらが外植体総数に対して占める割合をパーセントで表わした。外植体に球状体が形成した場合は球状体形成外植体、球状体や子球等が混在する場合は子球形成外植体および未分化のものを未分化外植体とした。

4. 盤茎上のりん片着生位置とそのりん片上の子球形成や発育との関係

球根の採取時期と場所は 2 と同一である。生育のそろった球根を 5 個ずつ本実験に供した。3 月 10 日と 7 月 1 日採取の球根は 1988 年と 1989 年に形成されたりん片、また 10 月 14 日の球根は 1989 年と 1990 年に形成されたりん片である。りん片を 1 枚ずつ盤茎上の茎の残部を目印にして分離し、各年度ごとの盤茎上の最

上位のりん片を 1 番とし、それより下位の 7 番までのりん片を糸でつないでりん片の着生位置を明確にして滅菌処理した。外植体の滅菌と培養方法は上述の 3 と同様で、培地には植物ホルモンを添加しなかった。着生位置ごとに培養した外植体数は 5、合計 95 個供試した。培養 8 週間後に外植体に形成された子球数とその生体重などを調査した。

結 果

1. りん片の形成年度の判別

解剖した球根中のりん片と茎の残部を形成年度別に第 1 図に示した。盤茎上に着生するりん片を下位から順番に分離すると、各年度に形成された茎の痕跡や残部を確認できた。りん片をすべて分離した結果、最上位の茎は 1989 年に伸長したものであり、以下順番に下位の茎へ移るに従い、抽茎年度をさかのぼることができ、したがって茎とりん片の形成年度を明らかにすることができた。またりん片は茎を軸に互生していた。

2. りん片の形成年度とその消長

出芽前 (3 月 10 日)、開花終了後 (7 月 1 日) および地上部枯死後 (10 月 14 日) に採取した各球根の年度ごとのりん片数を第 1 表に示した。りん片は 1 年に約 7 枚形成されており、出芽前の球根は 1987, 1988 および 1989 年に形成されたりん片から構成されていた。しかし 1990 年の新球は出芽前にはまだ形成されていなかった。1987 年に形成された母球の外部りん片の一部には病害虫などによる外傷が認められた。しかし 1988 年と 1989 年に形成されたりん片には外傷がなく、りん片は硬く、白色ないし乳白色を呈していた。

開花終了後 (7 月 1 日) の球根は出芽前の球根と同様、各年度に形成されたりん片数は約 7 枚であった。そして 10 月 14 日では、1987 年に形成された外部りん片は腐敗ないし消失していたため、その正確なりん片数は確認できなかった。一方 1990 年に形成された新球のりん片数は約 6 枚であった。

採取時期別のりん片の消長を第 2 図に示した。出芽前の球根 (A) を茎の残部を目印にして分別した結果、外部 (O)、中部 (M) および内部 (I) りん片はそれぞれ 1987, 1988 および 1989 年に形成されたものであった。開花終了後の球根 (B) では、盤茎の最上部に直径約 4 mm の新球が形成されていた。1987 年に形成された外部りん片は半透明で縮退し、約半数は消費していた。地上部枯死後の球根 (C) では、外部りん片が球根の基部に一部残存したのみで、大部分はなくなっていた。一方中部と内部りん片は生長しており、新

Fig. 1. Photographs showing scales and stems formed each year in a bulb of *Lilium japonicum* collected on 30 May 1989. The scales were formed in 1988 (A), 1987 (B) and 1986 (C), respectively. Arrows in the photographs indicate bolting shoots in 1989 (a), 1988 (b) and 1987 (c), respectively.

Table 1. Scale development in bulbs collected in 1990.

Collected date	Number of scales developed in			
	1987	1988	1989	1990
10 March	7.3±0.9 ^z	7.0±0.6	7.3±0.8	— ^y
1 July	7.8±0.4	6.8±0.2	7.0±0.5	* ^x
14 October	0 ^w	7.0±0.0	6.9±0.2	6.3±0.5

^z Mean±SE.

^y Undifferentiated.

^x Uncounted.

^w No scale.

球は直径約7 mmに肥大していた。

3. 球根の採取時期と培養りん片上の子球形成などの関係

球根の採取時期と培養りん片上の子球などの関係を第3図に示した。

出芽前の球根のりん片の培養では (A), 培養3週間後に外植体の表面が隆起し, 球状体を含む不定芽原基が認められた。培養5週間後では, 直径0.5~1.0 mmの球状の不定芽原基を形成した外植体の割合は28.9%, 子球を形成した外植体の割合は子球から幼根が発生したものの9.3%を加えて42.5%であった。そして未分化の外植体の割合は28.8%であった。培養期間が長くなるにつれて未分化の外植体の割合は漸次低

下し, 逆に子球を形成した外植体の割合は増加した。培養9週間後では, 子球のみや幼根を発生した子球を加えた割合は75.5%となり, その割合は培養13週間まではほぼ一定であった。

開花終了後 (B) の球根では, りん片上に小突起や球状の不定芽原基が認められたが, 出芽前の球根の場合と比較して, それらは褐色で貧弱な突起であった。培養13週間後では, 子球を形成した外植体の割合は1.8%で, 幼根を発生した子球では3.6%と少なく, さらに外植体に褐変が多く認められた。

地上部枯死後の球根においては (C), 培養9週間後の子球形成率は13.9%で, 開花終了後のものより若干増加した。その割合は培養13週間まではほぼ一定に推移した。なお各採取時期における培養開始5週間後の雑菌汚染率は3月10日で10.0%, 7月1日で13.0%および10月14日で9.0%であった。

4. 盤茎上のりん片着生位置とそのりん片上の子球形成や発育との関係

採取時期を異にする球根の盤茎上のりん片着生位置とりん片上の子球形成との関係を第4図に示した。

出芽前の球根 (3月10日) では, 1988年に形成された4番目のりん片に6.6個の子球が形成された。そしてそれより上位のりん片に移るにつれて, 子球形成数は減少した。また1989年のりん片の子球形成数は

Fig. 2. Seasonal changes in scales in a bulb of *Lilium japonicum*. Bulbs were collected on 10 March (A), 1 July (B) and 14 October (C) 1990, respectively. O; outer scale, M; middle scales, I; inner scales, NB; new bulb, BP; basal plate, SC; scale, ST; stem, STr; stem trace, CS; consumed scale.

Fig. 3. Relationship between sampling dates of bulb of *Lilium japonicum* and bulblet formation on scales cultured in vitro. Bulbs were collected on 10 March (A), 1 July (B) and 14 October (C) 1990, respectively. Formation rate expressed as percentage of explant formed adventitious bud (▨), bulblet (▧), bulblet with radicles (▩) and undifferentiated explant (■) to total explants.

1~4 番目で約 2 個, 7 番目で 5.8 個であった。

開花終了後 (7 月 1 日) の球根では, 1988 および 1989 年のいずれの位置のりん片とも子球形成は少なかった。地上部枯死後 (10 月 14 日) の球根において, 1989 年のすべてのりん片と 1990 年に形成された新球の 7 番目のりん片では, 子球形成がまったく認められなかった。しかし 1990 年に形成された 6 番目から最上位までのりん片には 1~2 個の子球が形成された。

出芽前の球根のりん片上に形成された子球の生体重を第 5 図に示した。1988 年に形成された 3~4 番目のりん片では, 形成された子球の生体重は約 65 mg であり, 以下上位のりん片へ移るにつれ子球の生体重は漸次減少した。1989 年に形成された 1~7 番目のりん片では, 子球の生体重が 20~35 mg と小型であった。

考 察

開花終了後の球根では, 3 年前に形成されたりん片

Fig. 4. Relationship between the position of scale on the basal plate in a bulb and bulblet formation on the scale cultured in vitro. Bulbs were collected on 10 March (○), 1 July (●), and 14 October (△) 1990. Vertical bars represent SE.

Fig. 5. Relationship between the position of scale on the basal plate in a bulb and growth of bulblets formed on the scale cultured in vitro. Bulbs were collected on 10 March 1990. Vertical bars represent SE.

中の貯蔵養分が出芽・抽だい、開花および新球の形成(6月下旬)などにより消費されることが判明した(第2図)。そして地上部枯死後の球根では、1987年に形成された大部分のりん片中の養分は枯渇したが、1988年と1989年に形成された中部と内部のりん片は発育し、その結果球根自体は肥大した。

自生ササユリの球根は1年間に約7枚のりん片を有する新球を内部に形成するとともに(第1表)、過年度に形成された外部りん片は地上部の生長や新球形成のために利用されるものと思われる。

自然条件下において、新球のりん片形成数や過年度形成のりん片の消費数などは球根の生育場所の土壌の肥よく度や気象条件などの影響を受け、その結果球根の大小が生ずる。ササユリの近縁種であるヒメサユリの場合、1年間のりん片形成数は7~9枚で、新球のりん片は3~5年で球根の最外部りん片となると報告されている(池田, 1971)。

第2図に示したりん片の消費、形成、肥大の様子からみると、りん片中の貯蔵養分や生理的条件は地上部の生育にともなって変わるものとみられる。したがって母りん片培養を行う際、子球形成に最も適する球根の採取時期を知る必要がある。カノコユリの培養りん片上の子球形成率は春、夏、秋および冬で、それぞれ77.0、2.0、52.5および0%と報告されている(Robb, 1957)。ササユリでもこの報告と類似した傾向がみられ、3月採取の球根の培養りん片上の子球形成率は75.5%、7月で5.4%、そして10月では13.9%であった(第3図)。

このような子球形成率の季節的変動は次のような理由によるものと思われる。すなわち、出芽前の球根は

りん片にデンプンなどの養分を十分に蓄えて栄養条件が良好なこと、また冬の低温に遭遇した結果、生長抑制物質の分解とオーキシシンやサイトカイニンなどの植物ホルモンの活性が高まり休眠が打破されたことなどが考えられる(塚本, 1971)。

7月上旬では抽だいや開花・結実および新球形成などにより、球根は縮退し、りん片中の貯蔵養分が消費されたものと考えられる。この時期のりん片を培養すると、不定芽原基の形成まで進むが、子球形成率は激減した。そして冷涼な10月中旬になると、子球形成率は若干回復の傾向がみられた。それは内部りん片や新球りん片が肥大するとともに貯蔵養分の蓄積によるものと考えられる。

次に子球形成率が最も高かった出芽前の球根について、盤茎上のりん片着生位置(齢)と培養りん片上の子球形成との関係を検討した結果、1りん片当たりの子球形成数は1988年に形成された下位りん片に多数形成され、1989年に形成された齢の若い上位りん片へ移るにつれて、その数は低下することが明らかになった(第4図、第5図)。ヒメサユリ球根の圃場でのりん片挿しの場合、その子球形成は最外部の大きいりん片で良く、内部では悪く(池田, 1971)、また同様の結果はテッポウユリでも認められ、さらに外部りん片に形成された子球からは抽だいがみられた(Matsuo・Arisumi, 1978; 松尾・Van Tuyt, 1987)。

本実験の結果はこれらの報告とほぼ一致するが、さらにin vitro培養によれば盤茎上の上位の小型のりん片にも子球が形成された(第4図)。テッポウユリの場合、外側りん片では、非還元糖、デンプンなどの含量が高いと報告されており(明道・久保, 1952)、ササユリの場合も、今後りん片中の成分の季節的変動を調べ、貯蔵養分と子球形成との関係を解明する必要がある。

以上のことから、in vitroでのササユリ球根のりん片培養により効率的に子球を増殖するには、春季の出芽前に球根を採取し、中部のりん片を用いるのが良い。

摘 要

本実験は、自生ササユリ球根のりん片の季節的消長を明らかにし、球根の採取時期やりん片の盤茎上の着生位置の違いと培養りん片上の子球の形成やその発育との関係など明らかにする目的で行った。

1. 球根からりん片を分離した結果、盤茎上に過年度の茎の残部や痕跡が存在し、それらを目印にしてりん片の形成年度を判別することができた。

2. 球根の内部に約7枚を有する新球が6月下旬形

成された。7月採取の球根のりん片では、茎の伸長や開花・結実および新球形成などにより、外部りん片中の貯蔵養分が利用され、その約半数が消費していた。

3. 球根を3月(出芽前)、7月(開花終了後)および10月(地上部枯死後)に採取したところ、培養りん片上の子球形成率は3月採取の球根が最も高かった。

4. 3月採取球根の盤茎上のりん片着生位置(齢)と培養りん片上の子球形成数やその発育との関係を見ると、りん片の着生位置が下位から上位へ移るに従って子球形成数は減少し、かつ子球は小型になった。

引 用 文 献

- 池田幸弘. 1971. ヒメサユリに関する研究. (第2報) 異ならびに園芸品種としての利用について. 新潟園試研報. 6: 42-70.
- Matsuo, E. and K. Arisumi. 1978. Studies on growth and development of bulbs in the Easter lily (*Lilium longiflorum* Thunb.). VII. Scale position-dependence of the effect of the hot water treatments on the growth behaviour of the scale bulblets. Mem. Fac. Agr. Kagoshima Univ. 14: 69-76.
- 松尾英輔・J. M. Van Tuyt. 1987. テッポウユリりん片の着生部位がりん片繁殖球根の生産に及ぼす影響. 園学雑. 56: 202-207.
- 水口 茂・大川勝徳. 1994. ササユリの母りん片培養における切断および植物ホルモン処理の子球形成に及ぼす影響. 生物環境調節. 32: 239-243.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15: 473-497.
- 明道 博・久保 貞. 1952. 鉄砲百合の鱗片繁殖に就いて. 主として催芽部の解剖的観察. 北海道大学農学部邦文紀要. 1: 175-180.
- 新美芽二. 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.
- Ohkawa, M. and S. Mizuguchi. 1994. Effect of thiabendazole on prevention of contamination in scale culture of mother bulb of *Lilium japonicum* Thunb. in vitro. Bull. Fac. Edu. Kanazawa Univ. Natl. Sci. 43: 25-28.
- 清水基夫. 1987. 日本のユリ. P. 132-136. 誠文堂新光社. 東京.
- Robb, S. M. 1957. The culture of excised tissue from bulb scales of *Lilium speciosum* Thunb. J. Exp. Bot. 8: 348-352.
- 仙頭照康. 1971. 四国地方におけるササユリに関する研究. (第1報) 自生状況について. 愛媛大学農場報告. 2: 25-29.
- 塚本洋太郎. 1971. 花きにおける低温処理効果の類別. 園芸学会46年秋シンポジウム要旨. : 61-70.