ササユリ (*Lilium japonicum* Thunb.) 未熟種子の発芽特性と種子処理による発芽促進

稲垣栄洋*・寺田吉徳**・山本美智子***・大塚寿夫・本間義之****

静岡県農業試験場 438-0803 静岡県磐田郡豊田町富丘 678-1

Effects of Various Seed Treatments on the Hypogeal Germination of Immature Seeds in *Lilium japonicum* Thunb.

Hidehiro Inagaki, Yoshinori Terada, Michiko Yamamoto, Hisao Otsuka and Yoshiyuki Honma

Shizuoka Agricultural Experiment Station, Shizuoka 438-0803

Summary

Methods of promoting the germination of immature seeds in *Lilium japonicum* Thunb. at various stages of their development were investigated.

1. Although seeds and embryos reached their final sizes 2 months after pollination, they were immature but 80% of them germinated one month later.

2. The germination rate of immature seeds, harvested 3 months after pollination, then exposed to 30 °C for 50 days, and then cooled to 15 °C for 30 days were unaffected, whereas it increased one month later.

3. The germination rate of immature seeds, 3 months after pollination, improved significantly after 1) removing the seed coat; 2) scarification; 3) soaking in NaOH; and 4) treatment with NaClO.

Key Words: hypogeal germination, immature seeds, *Lilium japonicum*, seed treatment.

緒 言

ササユリ (*Lilium japonicum* Thunb.) は中部地方以西に自生し、古くから親しまれている日本固有のユリである。現代でもその園芸的価値は高いが、栽培が困難であり、市場への供給は山採りに依存しているのが現状である (竹田, 1993)。

過度の採取や自生地の環境変化によりササユリ自生地が減少する中で、近年自生地の回復や園芸利用を目的として、各地で組織培養による増殖が試みられている。増殖を目的とした組織培養では、りん片が有効な外植体として利用されてきた (新美, 1990; 浅尾ら, 1992; 市川, 1993; 水口ら, 1994; 水口ら, 1995; Niimi, 1995)。しかしユリ類では園芸種や自生種の多くがウイルスに感染しているといわれており (河原林・浅平, 1989; 西沢・西, 1966), 母りん片へのウイルス感染が懸念されることから、生長点培養によるウイルスフリー化が試みられている (河原林・浅平, 1988; Fukui ら, 1989; 松古ら,

1996)。また、培養によって得られた鱗茎 (以下、球と表記する) を開花させるまでに数年の養成期間が必要であることから、短期間で開花球を養成するための技術が求められている (春木ら, 1996)。

簡易にウイルスフリー個体を得る観点からは、種子の利用が有力と考えられる (清水, 1987; 古谷・表崎, 1997)。しかし、ササユリ種子は地下遅発芽性であるため、実生から開花球に生育するまでに 5~7 年を必要とする。このことはササユリの園芸化を阻害する一要因である (清水, 1954, 1987)。

ササユリは受精から種子の成熟まで 5 ヶ月、さらに種子をまいてから地上発芽するまでに 17 ヶ月の計 22 ヶ月間を必要とする。ササユリ種子の利用については、これまでもほ場レベルで試みられており、パーミキュライトを充てんした袋に種子を埋設し、短期間の高温処理と低温処理により休眠打破する温度処理法 (鎌田, 1987) が一般的に用いられている。同法により、秋にまいた種子を翌春に地上発芽させ、自生地より一年早く子球を得ることが可能となった。しかし、開花の早期化という本来の目的は十分に達成されておらず、また自然条件での発芽と比較して発芽率が低下する等の課題が残されている。

一方、ササユリ種子の発芽率は、交配後 4 ヶ月以降に一度低下して、その後再び高まることが示されている (荒井ら, 1998)。このことから、未熟種子の利用によって、よ

2000年11月22日 受付。2001年6月25日 受理。

*Corresponding author.

本報告の一部は平成11年度春季園芸学会大会において発表した。

**現在: 静岡県静岡工業技術センター 421-1298 静岡市牧ヶ谷

***現在: 700-092 岡山市東古松

****現在: 静岡県中遠農林事務所 438-8558 磐田市見付

り高率に発芽を誘導できる可能性が示唆される。しかし、未熟種子の発芽特性についてはこれまで明らかにされておらず、未熟種子を用いた増殖法についてはほとんど検討されていない。筆者らは、未熟種子を用いて早期にかつ高率に球形成を誘導し、さらに、引き続いて球の養成培養を行うことによって、種子から開花までの期間短縮を図れないかと考えた。そこで、未熟種子を用いた培養に関する基礎的知見を得ることを目的として、未熟種子の発芽能力と種子処理が未熟種子の発芽に及ぼす影響について検討を行った結果、物理的な種子処理法によって未熟種子の発芽率が高まることを明らかにしたので報告する。

材料および方法

実験 1. 未熟種子の発芽能力

供試種子は静岡県森町に自生するササユリ群落より採取した。交配後 1 ヶ月より完熟種子が得られた 5 ヶ月後まで、1 ヶ月毎に 5 回にわたって熟度の異なるさく果を 6 果ずつ採取し、種子を取り出して種子長、胚の長さ、胚乳の状態を調査した。さらに、交配後月数の異なるそれぞれの種子について、発芽率の調査を行った。発芽実験には 90 mm 直径のシャーレを用い、3% グルコースを添加した MS (Murashige・Skoog) 培地に $2.5 \text{ g} \cdot \text{liter}^{-1}$ の Gellam Gum を加えてオートクレーブした後、シャーレ 1 枚当たり 20 ml ずつ分注した。種子はシャーレ 1 枚当たり 16 粒ずつ置床し、1 区 12 シャーレとした。光条件は $74 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{sec}^{-1}$ 、16 時間照明とした。

試験区は、鎌田 (1987) の温度設定に従って 30°C 50 日間の高温処理後 15°C 恒温とした高温処理区と、 20°C 恒温とした対照区の 2 処理区とした。1 処理区は 6 シャーレとした。

実験 2. 付傷処理の影響

実験 1 と同様の静岡県森町の自生地より、交配 3 ヶ月後と 4 ヶ月後に採取した未熟種子をそれぞれ供試し、実験 1 と同様の培地および培養条件下で発芽率の調査を行った。

試験区は、実験 1 と同様の高温処理の有無と、置床前にメスで種子の一部を切除した付傷処理の有無とを組合わ

せた 4 処理区とした。種子はシャーレ 1 枚当たり 16 粒ずつ置床し、1 処理区は 10 シャーレとした。

実験 3. 未熟種子への前処理

実験 1 と同様の静岡県森町の自生地より、交配 3 ヶ月後に採取した未熟種子を供試した。処理区は前処理法の違いにより、種皮を取り除き胚乳を露出させた剥皮処理区、種子の一部をメスで切除した付傷処理区の 2 処理区に、無処理区を加えた 3 処理区とした。供試種子は前処理後、実験 1 と同様の培地および培養条件下で定期的に発芽調査を行った。種子はシャーレ 1 枚当たり 16 粒ずつ置床し、1 処理区は 6 シャーレとした。

実験 4. 薬品浸漬処理による早期発芽法

実験 1 と同様の静岡県森町の自生地より、交配 3 ヶ月後に採取した未熟種子を供試した。処理区は前処理方法の違いにより、0.5% 水酸化ナトリウム (NaOH) に 20 分間浸漬した水酸化ナトリウム区、0.5% 次亜塩素酸ナトリウム (NaClO) に 20 分間浸漬した次亜塩素酸ナトリウム区、種子の一部をメスで切除した付傷処理区の 3 処理区に無処理区を加え、計 4 処理区とした。種子は前処理後、実験 1 と同様の培地および培養条件下で定期的に発芽調査を行った。種子はシャーレ 1 枚当たり 20 粒ずつ置床し、1 処理区は 8 シャーレとした。

結 果

実験 1. 未熟種子の発芽能力

種子長および胚の長さは、交配後 2 ヶ月まで大きくなるが、それ以降はほぼ一定となり、その後の変化は認められなかった (第 1 図)。胚乳の状態は交配後 2 ヶ月ではゲル状であり、交配後 3 ヶ月ではゲル状のものと固形状のものが観察されたが、交配後 4 ヶ月では調査種子の全てが固形状であった。

第 2 図には、交配後月数の異なる種子の MS 培地上における発芽率を示した。未熟種子は交配後 2 ヶ月から発芽が認められ、発芽能力を有していることが明らかとなった。また、置床 200 日後の発芽率は交配後の月数が長いほど高い傾向にあり、交配後 5 ヶ月の完熟種子では 76.8% と最も高かった。しかし、発芽開始時期は交配後 4 ヶ月種

Fig. 1. Growth curves of lily seeds and embryos.

Fig. 2. Effect of maturity on germination in *Lilium japonicum*.

Table 1. Effect of exposing immature lily seeds harvested at different developmental stages to 30/15 °C for 50/30 days, respectively on germination. Control seeds were kept at a constant 20 °C².

Months after pollination	Percent germination	
	Temperature treatment	Control
1	0.0	0.0
2	1.0	0.0
3	4.2	0.0
4	53.8	1.0
5	55.9	0.0

²Data were taken after 80 days of culture.

Fig. 3. Effect of high temperature treatment and scarification on the germination rate of immature seeds. The growth chamber was kept at 30 °C for 50 days and then 15 °C for 30 days; control seeds were kept at 20 °C. Data were taken after 120 days of culture.

□ Temperature treatment+scarification
 ▨ Temperature treatment+intact
 ▩ Control+scarification
 ■ Control+Intact

子で早く、置床 120 日後の発芽率は完熟種子が 9.5%，交配後 3 ヶ月種子が 6.3%であるのに対し、交配後 4 ヶ月種子では 30.2%と高かった。

第 1 表には交配後月数の異なる種子の発芽率に及ぼす高温処理の影響を示した。高温処理区では、交配後 4 ヶ月種子、同 5 ヶ月種子で高い発芽率を示したが、交配後 3 ヶ月までの種子では高温処理による発芽率の向上は認められなかった。

実験 2. 付傷処理の影響

第 3 図には、各試験区における置床 120 日後の発芽率を示した。交配後 3 ヶ月および 4 ヶ月の未熟種子では、付傷処理により発芽率が高まる傾向が認められた。交配後 4 ヶ月の未熟種子では、高温処理により付傷処理と同様の発芽率を示したが、交配後 3 ヶ月種子では高温処理による発芽率の向上は認められなかった。

Fig. 4. Effect of peeling (removing the seed coat) and scarification on the germination rate of immature seeds, 3 months after pollination.

Fig. 5. Effect of chemical treatments and scarification on the germination rate of immature seeds, 3 months after pollination.

実験 3. 未熟種子への前処理

交配後 3 ヶ月種子の発芽開始時期は剥皮処理で最も早く、置床 40 日後には 39.6%の発芽率を示した(第 4 図)。また、剥皮処理、付傷処理では無処理区に比して発芽率が高まる傾向が認められた。置床 200 日後の発芽率は、剥皮処理で最も高く 89.6%であり、付傷処理で 75.0%であった。

実験 4. 薬品浸漬処理による早期発芽法

異なる前処理法が発芽に及ぼす影響について第 5 図に示した。いずれの前処理法においても、無処理と比較して発芽率は向上した。発芽率は付傷処理で最も高く推移した。水酸化ナトリウム処理、次亜塩素酸ナトリウム処

Table 2. Effects of seed treatments on germination and bulb formation after 200 days of culture.

Seed treatment	Percent germination (%) (A)	Percent bulb formation (%) (B)	Ratio of bulb formation to germination (%) (B/A)	Percent callus formation ² (%)
NaClO ^y	73.1a ^x	50.0a	68.4b	3.8ab
NaOH ^y	89.4a	58.1a	65.0b	8.8a
Scarification	94.4a	58.8a	62.3b	10.6a
Control	45.0a	38.8b	86.2a	0.6b

²Seeds formed callus without germination.^ySeeds were soaked for 20 min.^xDifferent letters indicate significance by Tukey's multiple range test at 5% level.

理では付傷処理よりもやや低い発芽率であったが、無処理に比して高い発芽率が認められた。

各試験区における置床 200 日後の発芽率と球形成率、カルス化率を第 2 表に示した。付傷処理、水酸化ナトリウム処理、次亜塩素酸ナトリウム処理では、カルス形成により正常な小球が形成されない種子が無処理に比べて多く出現する傾向にあった。また、これらの処理区では、発芽種子当たりの球形成率は無処理よりもやや低くなるものの、その発芽率向上によって、は種数当たりの球形成率自体は高くなった。

考 察

本試験において、交配後月数の異なる未熟種子の最終発芽率は、交配後月数が進むにつれて高くなり、交配後 5 ヶ月の完熟種子で最も高いことが明らかとなった(第 2 図)。しかし、発芽開始時期は完熟種子よりも交配後 4 ヶ月種子で早く、置床 120 日後の発芽率は交配後 4 ヶ月種子で高い傾向にあった。本試験において、交配後 5 ヶ月の完熟種子で発芽開始時期が遅かったことから、完熟種子に比べて未熟種子の利用によってより短期間で発芽を誘導できる可能性が示唆される。荒井ら(1998)は採種時期の異なるササユリ種子の発芽率について、交配後 4 ヶ月までは種子の発育とともに高まるが、その後の登熟に伴って低下し、完熟種子では発芽率が低いことを指摘している。これらのことから、交配後 4 ヶ月以降の登熟過程で休眠程度が深まることが推察されるが、完熟種子で発芽開始時期が遅い要因については今後の検討を要する。

ユリ類種子の発芽タイプは、地上速発芽、地上遅発芽、地下速発芽、地下遅発芽の 4 タイプに分類される(清水, 1954, 1987)。ササユリは地下で発芽した子葉が地中で小球を形成する地下発芽を行い、さらに発芽に一定の休眠を必要とする地下遅発芽型を示すユリである。地下遅発芽性ユリ類の発芽ステージは、主に温度反応の違いによって、は種から本葉の伸展までが、地下発芽誘導期、地下発芽期、小球形成期、低温感応期、展葉期の 5 段階に分類されている(歌田・鈴木, 1973)。この 5 段階のうち、夏

季高温により種子の休眠打破が進行する地下発芽誘導期と、冬季低温により球の休眠打破が進行する低温感応期は、それぞれ長期間を要することから、この期間の短縮が地上発芽を早める上で有効である(歌田・鈴木, 1974)。ササユリは、開花 5 ヶ月後の秋季に完熟種子を形成し、翌年の夏季の高温によって地下発芽誘導期を経過する。その後小球を形成し、その年の冬季の低温によって低温感応期を経過し、種子形成から 17 ヶ月後の翌々春に地上発芽することになる。地下発芽誘導と低温感応期は、自然条件下ではそれぞれ夏季高温と冬季低温によって経過することから、完熟種子では、高温処理と低温処理とによって発芽ステージを進めることが可能である(鎌田, 1987)。本試験の結果からは、交配後 4 ヶ月以降の種子では高温処理により発芽率が高まるが、交配後 3 ヶ月以前の未熟種子では高温に対する反応が認められなかった(第 1 表)。すなわち、高温処理による休眠覚醒は交配後 4 ヶ月以降の種子で有効と考えられる。

一方、ササユリの完熟種子では付傷処理による発芽率の向上が認められているが(平田・田村, 1973)、本試験では交配後 3 ヶ月、同 4 ヶ月の未熟種子についても同様に、付傷処理により発芽率が高まることが明らかとなった(第 3 図)。さらに交配後 3 ヶ月種子に対する実験から、剥皮処理によっても発芽率が高まる傾向が認められた(第 4 図)。サクユリやヒメサクユリでは剥皮処理による発芽促進効果が報告されている(保谷・関谷, 1973; 歌田・鈴木, 1974)。また、ササユリ種子の休眠性については胚培養により発芽率が高まることから、種皮中の発芽抑制物質の可能性が指摘されている(古谷, 1999)。未熟種子についても付傷処理や剥皮処理によって発芽率が高まったことから、今後の詳細な検討を要するものの、ササユリ種子の休眠は、種皮が有する酸素や水の不透性の解除や、発芽抑制物質の種子外への溶出によって打破されるものと推察される。

本試験では交配後 3 ヶ月と 4 ヶ月の未熟種子が休眠打破方法の違いによって異なった発芽反応を示した。すなわち、付傷処理では交配後 3 ヶ月、同 4 ヶ月の未熟種子とも

に発芽率の向上が認められたのに対し、高温処理では交配後3ヵ月種子の発芽率の向上が認められなかった(第3図)。このことから、高温処理は交配後4ヵ月以降のある程度成熟の進んだ種子に対してのみ発芽促進に有効であるのに対して、付傷処理は交配後3ヵ月のより未熟な種子に対しても効果があると考えられる。

早期に発芽と球形成を誘導する観点からは、温度処理は長期間を必要とするため不向きである。また、本試験では付傷処理によって交配後3ヵ月種子が同4ヵ月種子と同程度の高い発芽率を得ることが明らかになり、より早期に球形成を誘導するためには交配後3ヵ月の種子を用いることが望ましい。しかし、付傷処理や剥皮処理では種子処理に多大な労力を必要とするため、大量の種子を処理するには不適である。本試験で、水酸化ナトリウム処理、あるいは次亜塩素酸ナトリウム処理によって発芽率を高めることができたので(第5図)、薬品浸漬処理は付傷処理の代替処理として有効な省力的な方法であると考えられる。本試験の範囲では、薬品浸漬処理は付傷処理に比してやや発芽率は劣る傾向にあったことから、さらに高率で安定的に発芽を誘導するための浸漬処理の薬品濃度や浸漬時間について、今後の検討を必要とすると考えられる。

摘 要

ササユリ子球生産期間の短縮を目的として、ササユリ未熟種子の発芽能力と発芽を促進する方法について検討し、以下の結果を得た。

1. 種子および胚の大きさは、交配後2ヵ月でほぼ一定値に達した。ササユリ未熟種子は交配後2ヵ月で発芽能力を有し、交配後3ヵ月の未熟種子は80%以上の高い発芽能力を有していた。

2. 交配後4ヵ月の未熟種子では高温処理により発芽率が高まったが、交配後3ヵ月種子では高温処理に対する反応は認められなかった。

3. 交配3ヵ月後の未熟種子は、付傷処理により発芽率が高まった。また、水酸化ナトリウム(NaOH)や次亜塩素酸ナトリウム(NaClO)への浸漬処理によっても、未熟種子の発芽率を高めることが可能であった。

謝 辞 本実験の遂行にあたり、静岡県農業試験場南伊豆分場長水戸喜平氏に適切なご助言をいただいた。また、本論文の作成に当たり、静岡大学農学部教授大川清博士にご校閲いただいた。記して感謝の意を表する。

引 用 文 献

- 荒井 滋・岡田恵子・浅尾浩史. 1998. ササユリの種子発芽に及ぼすは種時期の影響. 近畿中国農研 95: 59-60.
- 浅尾浩史・松谷幸子・田中恵子・荒井 滋. 1992. りん片培養によるササユリの大量増殖. 奈良農試研報 23: 1-6.
- Fukui, H., N. Adachi, T. Hara and M. Nakamura. 1989. In vitro growth and rapid multiplication of *Lilium japonicum* Thunb. Plant Tissue Cult. Lett. 6: 119-124.
- 古谷 博. 1999. 組織培養を利用した希少自生植物の種苗生産技術. 第2報. ササユリ (*Lilium japonicum* Thunb.). 広島農技セ研報 67: 51-60.
- 古谷 博・表崎崇樹. 1997. ササユリの種子発芽および種子からの大量増殖について. 園学中四国支部要旨 36: 50.
- 春木和久・山田員人・細木高志・太田勝巳. 1996. 液体振とう培養におけるササユリ小球根の生育に及ぼす糖および温度の影響. 園学雑 65: 363-371.
- 平田良樹・田村輝夫. 1973. ユリ種子の発芽改善について. 園学要旨昭 48 秋: 340-341.
- 保谷昌美・関谷治男. 1973. ヒメサユリの発芽促進に関する研究. 園学要旨昭 48 春: 312-313.
- 市川 健. 1993. 長期間無継代培養によるササユリりん茎の増殖. 静岡農試研報 37: 103-111.
- 河原林和一郎・浅平 端. 1988. ユリ茎端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: 258-268.
- 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: 195-209.
- 鎌田慶三. 1987. ユリの実生法. p.132-136. 清水基夫編著. 日本のユリ, 原種とその園芸種. 誠文堂新光社. 東京.
- 松古裕樹・武藤正義・沢野定憲. 1996. 苗条原基誘導法によるハカタユリおよびササユリの大量増殖技術の開発. 岐阜農総研セ研報 9: 1-6.
- 水口 茂・大川勝徳・池川哲郎. 1994. ササユリの母りん片由来白色カルスの生長とそのカルスからの子球形成に及ぼすナフタレン酢酸とベンジルアデニンの影響. 園学雑 63: 131-137.
- 水口 茂・山下理恵子・大川勝徳. 1995. 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. 園学雑 64: 605-610.
- 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.
- Niimi, Y. 1995. In vitro propagation and post-*in vitro* establishment of bulblets of *Lilium japonicum* Thunb. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 63: 843-852.
- 西沢正洋・西 泰道. 1966. 組織培養法によるウイルス罹病ユリの無毒化に関する研究. 九州農試彙報 12: 139-157.
- 清水基夫. 1954. 笹百合の栽培と種間雑種. 農業及び園芸. 29: 57-60.
- 清水基夫. 1987. 日本のユリ, 原種とその園芸種. p.53-56. 誠文堂新光社. 東京.
- 竹田 義. 1993. 種類別栽培技術. ササユリ. p.185-194. 国重正昭編著. 花専科 育種と栽培 ユリ. 誠文堂新光社. 東京.
- 歌田明子. 鈴木基夫. 1973. ユリの繁殖に関する研究 II. ヤ

マユリ, カノコユリおよびパシフィック・ハイブリッド種子の発芽特性に関する研究. 園試報告 A. 12: 135-148.
歌田明子, 鈴木基夫. 1974. ユリの繁殖に関する研究Ⅲ. 種

子処理および採種後の環境条件がサクユリおよび‘パシフィック・ハイブリッド’種子の発芽と本葉展開に及ぼす影響. 野菜試報告 A. 1: 173-184.