



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	園芸作物の無ウイルス個体作出に関する研究 : (第1報) 食用ユリの生長点培養におけるオーキシンならびに pH の影響
Author(s)	原田, 隆; HARADA, Takashi; 八鍬, 利郎 他
Citation	北海道大学農学部邦文紀要, 13(4), 559-563
Issue Date	1983-07-11
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/11998
Type	departmental bulletin paper
File Information	13(4)_p559-563.pdf



園芸作物の無ウイルス個体作出に関する研究

(第1報) 食用ユリの生長点培養における
オーキシンならびに pH の影響

原田 隆・八 鍬 利 郎

(北海道大学農学部果樹・蔬菜園芸学教室)

武 藤 浩

(日高東部地区農業改良普及所)

(昭和 58 年 2 月 28 日受理)

Studies on the Method of Obtaining Virus-free Horticultural Crops

1. Effect of auxins and pH in media in the growing point culture of an edible lily

Takashi HARADA and Toshiro YAKUWA

(Department of Horticulture, Faculty of Agriculture,
Hokkaido University, Sapporo, Japan)

Hiroshi Muro

(Hidaka-Tobu Agricultural Extension Station,
Urakawacho, Hokkaido, Japan)

緒 言

園芸作物においても、近年組織培養法による形態形成の研究が重要視されており、栄養繁殖および無ウイルス個体作出などに応用されつつある^{2,6,7,8,9,10,11})。たとえば、食用ユリにおいては、ウイルス病が多発して生産量ならびに品質の著しい低下をもたらしており、無ウイルス個体作出のための有効な方法を確立することが望まれている。その方法の一つに、他の植物においても広く用いられつつある生長点培養法がある。この場合重要なことは、第一に微細な生長点部組織を無菌的に培養して確実に器官を形成させ幼植物を再生させることであり、第二には得られた植物体が無ウイルスの状態となっていることである。

本研究では、食用ユリの生長点培養における器官形成についての基礎的な知見を得るため、とくに、培養基に添加したオーキシンの種類および濃度、ならびに培養基 pH の影響について検討を加えた。

材料および方法

材料の調製法、培養基の組成などの培養条件について

実験の課題ごとに述べるとつぎのとおりである。

1. 葉状りん片の形成ならびに根の分化に及ぼすオーキシンの種類および濃度の影響

用いた食用ユリは、コオニユリ (*Lilium leichtlinii* HOOK. f. var *maximowiczii* BAK.) の一系統である‘渡辺’で、培養組織片は、りん片繁殖を行って形成させた子球(長さ約 5 mm)の生長点部組織を約 1 mm の大きさに無菌的に取り出したものである。子球の表面殺菌はつぎの方法によって行った。根など微生物が多く付着していると思われる部分は取り除き、殺菌剤による害が生長点部組織にまで及ばない程度に外部のりん片を 2~3 枚除去したのち、次亜塩素酸ナトリウム溶液(有効塩素 1%)で約 10 分間表面殺菌を行った。

培養基はつぎのように調製した。無機塩類およびアミノ酸、ビタミンなどの有機物質は、Murashige & Skoog の処方により添加し、さらに、Fig. 1. に示す 3 種のオーキシンおよびしょ糖 20 g/l、寒天 8 g/l を加え、pH を 5.5 に調整(NaOH または HCl を用いて加圧滅菌前に調整)したのち、1 kg/cm²、120°C で約 10 分間加圧滅菌した。

培養基は 1 試験管当たり 10 ml 加え、これに 1 個ずつ生長点部組織片を置床した。また 1 区当たり組織片数は

15とした。植込み後は、25°C、16時間日長（白色蛍光灯、約4,000 lx）の条件下で培養を行った。

2. 葉状りん片の形成ならびに根の分化に及ぼす培養基 pH の影響

材料の種類および調製法などは1.で述べたものと同じである。培養基の組成については添加したオーキシンを NAA 0.1 mg/l としたほかは、すべて1.で述べたものと同様であり、また pH の調整に当たっても、Fig. 4 に示したように、3.0, 4.0, 5.0, 5.5, 6.0 および 7.0 の6段階としたほかは1.と同様とした。その他の培養条件については1.において述べたとおりである。

結果および考察

1. 葉状りん片の形成ならびに根の分化に及ぼすオーキシンの種類および濃度の影響

(1) 葉状りん片の形成・発育：培養を始めてから5日後に、組織片が緑色を帯び、発育を始め、やがて葉状りん片を形成した。

この場合、発育した地上部においては、いわゆる根生状となって基部から葉状の器官が伸長した。この根生した葉状のものは、松尾らの定義⁵⁾による「葉状りん片」(foliage scale)に相当するものである。したがって、本報告においては、普通葉と区別するため、以下「葉状りん片」を用いることとし、さらに葉状りん片の上部の葉状となっている部分については「葉状部」、下部のりん片状となっている部分については「りん片状部」を便宜的に用いることとした。

本実験においては、抽出茎の形成は認められず、葉状りん片のみを形成した。培養初期における葉状りん片の形成は、NAA の濃度が比較的低いところで良好であったが、その後は、それよりやや高いところで形成が旺盛になった。培養9週間の結果は Fig. 1 に示したとおりである。

置床した組織片の発育はオーキシン添加の有無にかかわらずすべての区において認められ、葉状りん片の形成がみられた。葉状りん片の数については、NAA 0.1~1.0 mg/l および IAA 1.0 mg/l で促進作用が認められ、また長さについては、NAA 0.1~1.0 mg/l, IAA 0.1~1.0 mg/l および 2,4-D 0.1 mg/l で同じく促進作用がみられた。NAA および 2,4-D では 0.1 mg/l のところで、また、IAA では 1.0 mg/l のところで生長は良好で、葉状りん片の数および長さともに最も大きな値を示した。IAA の至適濃度は、NAA または 2,4-D のそれより高かったが、これは、IAA のほうが、オーキシンとしての

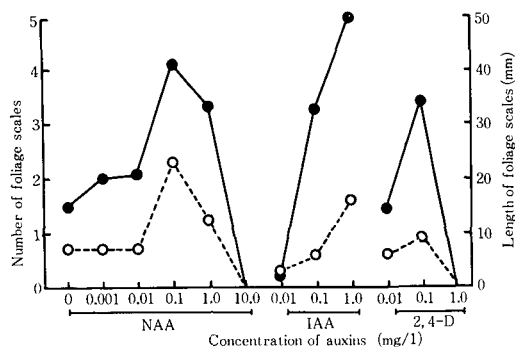


Fig. 1. Effect of auxins on development of foliage scale (after 9 weeks of culture).

○---○: Number of foliage scales.
●—●: Length of foliage scales.

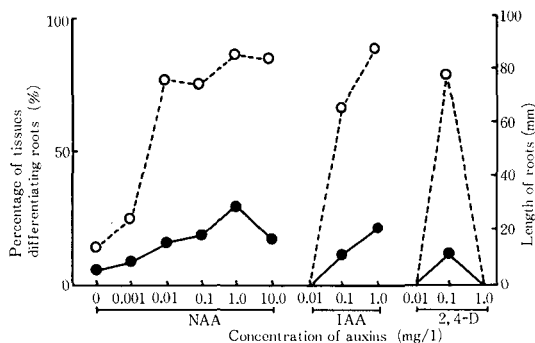


Fig. 2. Effect of auxins on root differentiation (after 9 weeks of culture).

○---○: Percentage of tissues differentiating roots.
●—●: Length of root.

作用が弱いことによるものと思われる。また、NAA では、1.0 mg/l で葉状りん片の生長が認められ、10.0 mg/l では全くみられなかった。これに対し、2,4-D では 1.0 mg/l ですでに葉状りん片の生長がみられなくなっていることから、2,4-D の適濃度限界は NAA のそれより低いところにあるものと思われる。なお、葉状りん片の生長に対する IAA の濃度限界については今後さらに検討する必要がある。

(2) 根の分化：根の分化は葉状りん片の生長に比べてやや遅れ、培養開始後4週間で観察された。根数はほとんどの場合、2本以上で、多いものでは20本以上のものもあった。根分化組織片率および根の長さについては、Fig. 2 に示したとおりである。まず、根分化組織片率についてみると、NAA 0.01~10.0 mg/l, IAA 0.1~1.0

mg/l, 2, 4-D 0.1 mg/l で促進作用が認められ、比較的高い値を示した。つぎに根の長さについてみると、NAA 0.01~10.0 mg/l, IAA 1.0 mg/l などでも明らかな促進作用が認められ、根の伸長が良好であった。NAA では、葉状りん片の生長に対する至適濃度の範囲に比べ、根の分化・発育に対するその方がやや広い傾向が認められた。

2. 葉状りん片の形成ならびに根の分化に及ぼす培地 pH の影響

(1) 葉状りん片の形成・発育：培養開始後 5~6 日で、すべての置床組織片において、葉状りん片の形成が認められた。葉状りん片の数ならびに長さについては Fig. 3 に示したとおりで、数、長さとも pH 4.5~7.0 で比較的高い値を示した。このことから、食用ユリの生長点部組織片を培養した場合の葉状りん片の生長には、培地 pH は 4.5~7.0 で充分であり、その至適範囲もかなり広いものと考えられる。pH 3.0 では、葉状りん片の形成は全くみられなかった。in vitro の培養における好適な pH 値の範囲が比較的小さい植物と大きな植物とがあるが、本実験で用いた、コオニユリの一系統である '渡辺' は後者のほうに属するものと思われる。

(2) 根の分化：根の分化は、培養 4 週間で始まった。根分化組織片率は Fig. 4 に示したとおりで、pH 4.5~7.0 では 80% 以上であり、かなり広い範囲で高い値を示した。pH 4.0 ではかなり低く、3.0 では根の分化は全くみられなかった。根の長さについては、pH 4.5~5.0 で、比較的大きな値を示したが、この場合、至適範囲がやや狭い傾向が認められた。

以上の結果から、葉状りん片の形成・生長および根の分化の両面からみて、NAA では 0.1~1.0 mg/l, IAA では 1.0 mg/l 近傍、さらに 2, 4-D では 0.1 mg/l 近傍の濃度が適当であると考えられる。これまでも、NAA で

は 0.1 mg/l, IAA では 1.0 mg/l を好適濃度として用いた例^{1,3,4)}があるが、本実験の結果もこれと同様であった。なお、本実験においては、NAA 0.1 mg の場合などに、葉状りん片の基部のいわゆるりん片状部がかなり肥大したものが観察された。前述のように、得られた植物体は、地上部についてみると葉状りん片が基部で集塊となった形となっており、地下部については根が多数発生している状態で、いわゆる、地中型植物 (Hypogeous Type Plant) となった。これを、鉢上げし、生育させると、や

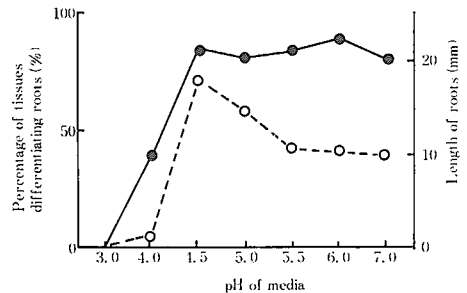


Fig. 4. Effect of pH of medium on root differentiation (after 9 weeks of culture).

- : Percentage of tissues differentiating roots.
- : Length of roots.

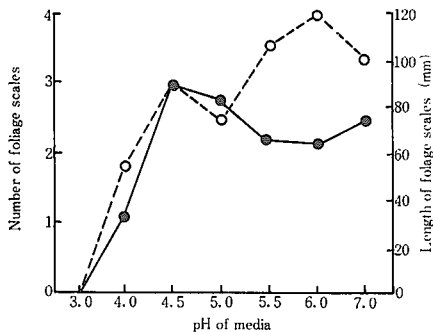


Fig. 3. Effect of pH of medium on development of foliage scale (after 9 weeks of culture).

- : Length of foliage scales.
- : Number of foliage scales.

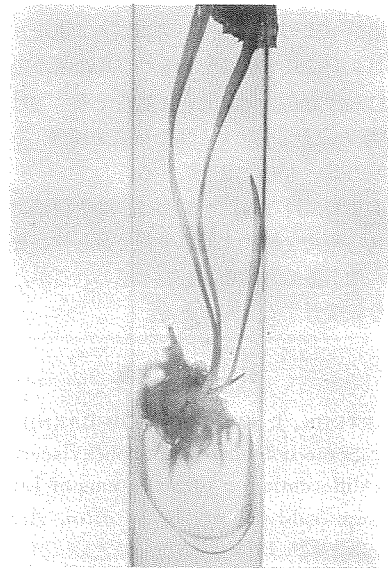


Fig. 5. A plantlet obtained from small tissues with a growing point of bulblets developing on scales of a edible lily (*Lilium leichtlinii* HOOK. f. var. *maximowiczii* BAK. cv. 'WATANABE')

がて抽台して基盤から茎が伸長して普通葉が着き、地上型植物となるものと思われるが、これについては今後検討する予定である。

摘 要

コオニユリ (*Lilium Leichtlinii* HOOK, f. var. *maximowiczii* BAK.), の一系統である‘渡辺’を用い、そのりん片に形成された子球の生長点部組織 (長さ約1 mm) を培養し、器官形成に及ぼすオーキシンの種類・濃度ならびに培地 pH の影響について検討した。培養基は、MS 培地、しょ糖 2%, 寒天 0.7% およびオーキシシン (NAA では 0.001~10.0 mg/l, IAA では 0.01~1.0 mg/l, 2, 4-D では 0.01~1.0 mg/l とした) を含むものを用いた。培養は、25°C, 1日16時間照明 (白色蛍光灯, 4,000 lx) の条件下で行った。結果は概略つぎのとおりである。

1. 置床組織片の発育は、NAA, IAA, 2, 4-D のすべての区において認められ、葉状りん片が形成された。NAA および 2, 4-D では 0.1 mg/l において、IAA では 1.0 mg/l で良好な発育がみられ、葉状りん片の数ならびに長さともに大きな値を示した。

2. 根分化組織片率に及ぼす影響については、NAA 0.01~10.0 mg/l, IAA 0.1~1.0 mg/l, 2, 4-D 0.1 mg/l で促進作用が認められ、根分化組織片率は約 80% であった。

3. 培地 pH の影響についてみると、葉状りん片の発育は pH 4.5~7.0 で良好で、その至適範囲は比較的広いものと思われる。また、根分化組織片率は pH 4.5~7.0 で約 80% となり、葉状りん片の場合と同様、その至適範囲は比較的広いものと考えられる。

4. 本実験で得られた幼植物は、地中型植物となったが、これは生長を続けた後、やがて茎が伸び普通葉が着生して、地上型植物になるものと思われるが、これについては今後検討する予定である。

引 用 文 献

1. AARTRIJK, J. van and BLOM-BARNHOORN, G. J.: Some influence of α -naphthylacetic acid on the differentiation of meristems of *Lilium speciosum* 'rubrum' nr. 10 *in vitro*, *Acta Hort.*, **91**: 269-279. 1979
2. ALLEN, T. C.: Production of virus-free lilies, *Acta Hort.*, **36**: 235-239. 1974
3. CHUNG, J. D., CHUN, C. K., SUH, Y. K. and PARK, J. K.: *In vitro* culture of bulbil scales of *Lilium lancifolium*. I. Effect of auxins on

- bulblet formation and seedling growth, *J. Korean Soc. Hort. Sci.*, **22**: 131-138. 1981
4. GUPTA, P. P., SHARMA, A. K. and CHATURVEDI, H. C.: Multiplication of *Lilium longiflorum* Thunb. by aseptic culture of bulb scales and their segments, *Indian J. Exp. Biol.*, **16**: 940-942. 1978
5. 松尾英輔・有隅健一: ユリに関する用語 (1), 園芸学会昭和 50 年秋季大会講演要旨, 280-281. 1975
6. 新美芳二・渡辺宏和: 組織培養によるヒメサユリ (*Lilium rubellum* Baker) の繁殖. 特に茎切片の子球形成について, 園芸学会雑誌, **51**: 344-349. 1982
7. 大沢勝次: 栄養繁殖性作物における無病苗の作出技術. 農業および園芸, **55**: 199-206. 1980
8. STIMART, D. P. and ASCHER, P. D.: Tissue culture of bulb scale sections for asexual propagation of *Lilium longiflorum* Thunb., *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **103**: 182-184. 1978
9. STIMART, D. P. and ASCHER, P. D.: Foliar emergence from bulblets of *Lilium longiflorum* Thunb. as related to *in vitro* generation temperatures, *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **106**: 446-450. 1981
10. TAKAYAMA, S. and MISAWA, M.: Differentiation in *Lilium* bulb scales grown *in vitro*. Effects of activated charcoal, physiological age of bulbs and sucrose concentration on differentiation and scale leaf formation *in vitro*, *Physiol. Plant.*, **48**: 121-125. 1980
11. TAKAYAMA, S. and MISAWA, M.: Regulation of organ formation by cytokinin and auxin in *Lilium* bulb scales grown *in vitro*, *Plant and Cell Physiol.*, **23**: 67-74. 1982

Summary

Small tissues (1 mm in length) with a growing point of bulblets developed on the scales of an edible Maximowicz's lily (*Lilium leichtlinii* HOOK. f. var. *maximowiczii* BAK. cv. 'WATANABE') were cultured aseptically to clarify the effect of the auxins and pH in media on organogenesis in the *in vitro* culture.

The media used contained inorganic and organic substances of Murashige & Skoog's medium, 2% sucrose, 0.7% agar and various concentrations of NAA, IAA or 2, 4-D. The cultures were maintained under 25°C and 16-hour illumination of 4,000 lx per day.

The results obtained are summarized as follows.

1. Growth of the tissues was observed after 5 days of culture, and foliage scales were formed and elongated. At 0.1 mg/ℓ of NAA, 1.0 mg/ℓ of IAA and 0.1 mg/ℓ of 2, 4-D, good formation of foliage scales was observed, and the number and length of them were comparatively larger.

2. Root differentiation was observed after 4 weeks of culture. NAA of 0.01 to 10.0 mg/ℓ, IAA of 0.1 to 1.0 mg/ℓ and 2, 4-D of 0.1 mg/ℓ enhanced root differentiation and gave a higher percentage (80%) of the tissues differentiating roots.

3. Concerning the effect of pH of the media,

formation of foliage scales was good at pH 4.5 to 7.0, and allowed limit of pH may be comparatively larger. Percentage of tissues with roots was 80% at pH 4.5 to 7.0, and the allowed limit of pH suitable for root differentiation seemed to be comparatively larger.

4. The plantlets obtained were akin to a hypogeous type plant which have foliage scales with an apical foliar part elongating from a basal scaly part. It may be that the plantlets grew to become a epigeous type plant.