



Title	ユリのりん片培養における培地条件が器官分化に及ぼす影響の種間差異
Author(s)	富田, 正徳; TOMITA, Masanori; 蝶野, 秀郷 他
Citation	北海道大学農学部邦文紀要, 16(1), 1-10
Issue Date	1988-03-31
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/12083
Type	departmental bulletin paper
File Information	16(1)_p1-10.pdf



ユリのりん片培養における培地条件が器官 分化に及ぼす影響の種間差異

富田正徳・蝶野秀郷・筒井 澄

(北海道大学農学部花卉・造園学教室)

(昭和62年10月5日受理)

Interspecific Differences in the Effects of Medium Conditions on Organogenesis in the Micropropagation of Some Lilies

Masanori TOMITA, Hidesato CHONO
and Kiyoshi TSUTSUI

(Laboratory of Floriculture and Landscape Architecture,
Faculty of Agriculture, Hokkaido University,
Sapporo, 060, Japan

緒 言

ユリ類は、木子やりん片挿しによって比較的容易に増殖できるが、育成された新品種やウイルス・フリー・クローンを増殖するに当っては、さらに能率的な大量急速増殖法の開発が望まれる。これに応えうるものとして、組織培養による増殖法が、ユリ類についても研究されてきた^{1,2,21)} これらのうちでは、りん片を子球形成に支障のない大きさに分割し、それぞれの切片に、できるだけ数多くのかつ大きい子球を形成させ、必要に応じて形成された子球りん片を再分割し継代培養するのが、きわめて能率的であり、変異もほとんど起こらない優れた方法である^{3,19,23)}。この場合、それぞれの種類について、培地や培養の最適条件を見出す必要があるが、これらを構成する要因はきわめて多岐にわたる。

いっぽう、ユリ属は、わが国に自生する15種をはじめとして90種に近い多数の種が北半球温帯に分布し、いずれも観賞価値が高く、広く栽培される花卉であり、しかも近年数多くの種間交雑による新品種が続々と育成されつつある。このような多数の種、品種について、培養条件を構成する多数の要因を検討するには多大な労力を要する。もし、それぞれの要因に対するユリの種類間における反応の共通性、逆には特異性が明らかにされれば、特異的要因について検討すれば済むことになり、大幅に能率化できることになろう。

本研究では、このような観点から、比較的性質の異なる

数種のユリについて、りん片培養における培地要因として、ショ糖濃度、オーキシン・サイトカイニン濃度、無機塩濃度および組成をとりあげ、それぞれの最適条件を求めるとともに、それらの種特異性の有無について検討した。

材料及び方法

実験1ではスカシユリ *Lilium* Mid-Century Hybrid ‘北の星’、テッポウユリ *L. longiflorum* Thunb. ‘ジョージア’、カノコユリ *L. speciosum* Thunb. ‘内田’を用いた。実験2以降ではさらにリーガル・リリー *L. regale* Wilson, 朝鮮ヒメユリ *L. concolor* Salisb. var. *pulchellum* Regel を加えた5種を用いた。培養に用いたりん片は、球根から分離後、水道水で洗浄し、有効塩素0.5%の次亜塩素酸ナトリウム水溶液で15分間殺菌の後、数回滅菌水ですすぎ、無菌条件下で5×5mmの外植体を調製した。

培養地はMURASHIGE and SKOOG¹⁵⁾の無機塩類および有機物に寒天7g/lを添加したものを基本培地とし、培地に添加するショ糖、NAA、BAの濃度、培地の無機多量要素の濃度およびイオン組成について検討を行った。詳細については各実験結果の冒頭に示した。培地はすべてpH 5.5に調整の後、25mlずつ100ml容三角フラスコに分注し、オートクレーブで殺菌を行った。

実験1, 2, およびすべての‘北の星’は、24時間日長、25°C、他は16時間日長、24±1°Cの条件下で、45日間

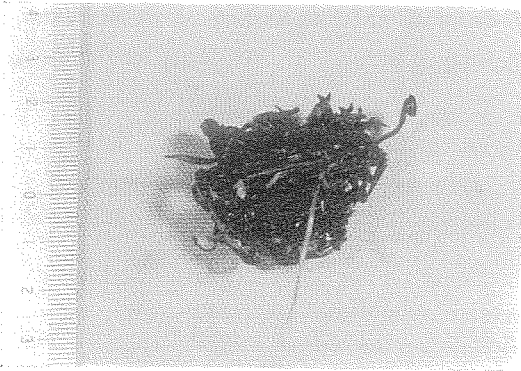


Fig. 1. Aberrant bulblets differentiated on the MS medium with 10^{-6} M NAA and 10^{-6} M BA.

培養を行った。なお、両条件が子球形成に与える影響に差はないと考えられる^{14,18)}。

培養期間終了後、1外植体当りの子球数、平均子球重、1外植体当りの葉の数と重量、発根数と根重、およびカルスの重量を調査した。異常発育したシュート (Fig. 1) はカルスに含めた。

結 果

実験1 培地のショ糖濃度が器官分化に及ぼす影響

基本組成に NAA 1.0 mg/l, BA 0.1 mg/l を添加し、ショ糖を 0~120 g/l の範囲で添加した培地を調製し、実験に用いた。結果を Table 1 にあげた。

ショ糖無添加区では、3種とも再分化しなかった。添加するショ糖濃度の上昇に伴い、平均子球重は増大した。子球数は、'内田' の3%濃度区でやや劣っていた他は、無添加区を除き、濃度による影響はなかった。'内田' は出葉しなかったが、'北の星' と 'ジョージア' では、ショ糖濃度の上昇は出葉を刺激した。3種とも、ショ糖濃度の上昇と共に発根が増大した。

培地のショ糖濃度の上昇は、子球重を増加させると同時に、出葉と発根も促進する。特に、根重の増加は著しかった。しかし、器官分化の反応には、培地のショ糖濃度の変化に対応した種間差はみられなかった。

本実験の結果より、ショ糖高濃度区では根の分化が著しいので、以降の実験では基本培地にショ糖 60 g/l を添加した培地を用いることとした。

実験2 NAA・BA が器官分化に及ぼす影響

培地に NAA・BA を 0~ 15^{-5} M の範囲の種々の濃度

Table 1. Effect of sucrose concentration on the formation of organs in some *Lilium* species

	Sucrose concentration (%)	No. of bulblets	Mean bulb wt. (mg)	No. of leaves	Wt. of leaves (mg)	No. of roots	Wt. of roots (mg)
<i>L. Mid-Century</i>	0	—	—	—	—	—	—
Hybrid 'Kitanohoshi'	3	4.1 ^a	11.6 ^a	1.0 ^b	4.2 ^b	1.3 ^c	2.0 ^b
	6	4.9 ^a	20.0 ^a	1.7 ^a	6.5 ^{ab}	3.1 ^b	5.5 ^b
	9	4.6 ^a	42.1 ^a	1.8 ^a	14.0 ^a	5.1 ^a	19.0 ^a
	12	5.5 ^a	51.2 ^a	2.7 ^a	10.0 ^a	5.0 ^a	24.6 ^a
<i>L. longiflorum</i>	0	—	—	—	—	—	—
Thunb. 'Georgia'	3	3.1 ^a	13.2 ^c	1.8 ^{ab}	8.7 ^b	0.5 ^c	2.0 ^d
	6	3.7 ^a	24.0 ^b	1.2 ^b	16.5 ^{ab}	1.5 ^{bc}	8.0 ^c
	9	4.0 ^a	45.1 ^a	3.1 ^{ab}	15.5 ^{ab}	2.5 ^{ab}	18.6 ^b
	12	3.8 ^a	50.9 ^a	3.7 ^a	25.0 ^a	6.1 ^a	29.7 ^a
<i>L. speciosum</i>	0	—	—	—	—	—	—
Thunb. 'Utida'	3	0.5 ^b	10.0 ^c	—	—	0.6 ^b	3.2 ^c
	6	1.3 ^a	18.0 ^b	—	—	2.4 ^b	9.3 ^c
	9	1.7 ^a	38.0 ^a	—	—	6.4 ^a	49.1 ^b
	12	2.3 ^a	59.0 ^a	—	—	11.5 ^a	146.2 ^a

Means separation within species in columns by DUNCAN's multiple range test at 5% level.

Table 2. Effect of NAA and BA at various concentrations on the formation of organs in *Lilium* Mid-Century Hybrid 'kitanohoshi'

Concentration (mol)		No. of bulblets	Mean bulb wt. (mg)	Wt. of leaves (mg)	Wt. of roots (mg)	Wt. of callus (mg)
BA	NAA					
0	0	1.2 ^{de}	10.3 ^{bc}	— ^b	0.5 ^b	0.5 ^c
	10 ⁻⁷	1.3 ^{de}	9.5 ^{bc}	— ^b	2.5 ^a	1.0 ^{bc}
	10 ⁻⁶	2.8 ^{bc}	11.6 ^b	3.5 ^a	3.0 ^a	2.5 ^b
	10 ⁻⁵	0.5 ^{de}	18.8 ^a	— ^b	— ^b	— ^b
10 ⁻⁷	0	1.4 ^{cde}	6.3 ^c	— ^b	— ^b	3.6 ^c
	10 ⁻⁷	2.8 ^{bc}	9.9 ^{bc}	— ^b	0.6 ^b	1.9 ^{bc}
	10 ⁻⁶	2.7 ^{bc}	7.3 ^c	3.6 ^a	0.5 ^b	0.7 ^c
	10 ⁻⁵	2.4 ^c	7.5 ^c	— ^b	— ^b	3.7 ^b
10 ⁻⁶	0	2.2 ^{cde}	5.5 ^c	6.9 ^a	— ^b	— ^c
	10 ⁻⁷	2.1 ^{cde}	8.3 ^c	4.0 ^a	0.1 ^b	9.4 ^a
	10 ⁻⁶	8.0 ^a	9.2 ^{bc}	— ^b	2.0 ^a	— ^c
	10 ⁻⁵	2.6 ^{bc}	6.8 ^c	— ^b	— ^b	6.2 ^{ab}
10 ⁻⁵	0	0.5 ^{de}	9.7 ^{bc}	5.4 ^a	— ^b	1.1 ^{bc}
	10 ⁻⁷	1.4 ^{cde}	9.3 ^c	6.1 ^a	— ^b	6.2 ^{ab}
	10 ⁻⁶	4.0 ^b	5.6 ^c	7.2 ^a	— ^b	— ^c
	10 ⁻⁵	— ^e	— ^d	— ^b	— ^b	7.4 ^{ab}

Mean separation within columns by DUNCAN's multiple range test at 5% level.

Table 3. Effect of NAA and BA at various concentrations on the formation of organs in *Lilium longiflorum* Thunb. 'Georgia'

Concentration (mol)		No. of bulblets	Mean bulb wt. (mg)	Wt. of leaves (mg)	Wt. of roots (mg)	Wt. of callus (mg)
BA	NAA					
0	0	2.0 ^{bc}	5.3 ^c	4.0 ^c	6.6 ^b	— ^b
	10 ⁻⁷	2.0 ^{bc}	8.5 ^b	12.0 ^b	10.7 ^{ab}	— ^b
	10 ⁻⁶	1.0 ^c	6.4 ^{bc}	— ^c	18.0 ^c	— ^b
	10 ⁻⁵	— ^c	— ^c	— ^c	— ^c	— ^b
10 ⁻⁷	0	1.3 ^c	4.0 ^c	— ^c	— ^c	1.6 ^b
	10 ⁻⁷	2.5 ^{bc}	4.3 ^c	— ^c	— ^c	3.5 ^b
	10 ⁻⁶	2.3 ^b	11.9 ^b	5.0 ^b	12.7 ^{ab}	— ^b
	10 ⁻⁵	— ^c	— ^c	— ^c	— ^c	— ^b
10 ⁻⁶	0	2.2 ^b	12.0 ^{ab}	10.8 ^b	3.5 ^b	— ^b
	10 ⁻⁷	4.3 ^a	10.7 ^{ab}	11.1 ^b	4.0 ^b	— ^b
	10 ⁻⁶	6.0 ^a	18.5 ^a	24.0 ^a	— ^c	— ^b
	10 ⁻⁵	— ^c	— ^c	— ^c	— ^c	— ^b
10 ⁻⁵	0	2.8 ^b	10.0 ^b	— ^c	— ^c	— ^b
	10 ⁻⁷	— ^c	— ^c	— ^c	— ^c	15.0 ^a
	10 ⁻⁶	— ^c	— ^c	— ^c	— ^c	18.4 ^a
	10 ⁻⁵	— ^c	— ^c	— ^c	— ^c	— ^b

Mean separation within columns by DUNCAN's multiple range test at 5% level.

Table 4. Effect of NAA and BA at various concentrations on the formation of organs in *Lilium speciosum* Thunb. 'Utida'

Concentration (mol)		No. of bulblets	Mean bulb wt. (mg)	Wt. of leaves (mg)	Wt. of roots (mg)	Wt. of callus (mg)
BA	NAA					
0	0	2.0 ^{ab}	2.8 ^b	—	3.6 ^c	— ^c
	10 ⁻⁷	2.1 ^{ab}	3.7 ^{ab}	—	15.4 ^{ab}	— ^c
	10 ⁻⁶	3.0 ^a	4.7 ^{ab}	—	17.4 ^{ab}	— ^c
	10 ⁻⁵	— ^c	— ^c	—	20.1 ^a	— ^c
10 ⁻⁷	0	2.3 ^{ab}	3.0 ^{ab}	—	9.8 ^{bc}	— ^c
	10 ⁻⁷	3.1 ^a	5.2 ^a	—	10.0 ^b	— ^c
	10 ⁻⁶	2.5 ^a	3.2 ^{ab}	—	13.5 ^{ab}	— ^c
	10 ⁻⁵	1.4 ^b	5.3 ^{ab}	—	19.3 ^a	— ^c
10 ⁻⁶	0	— ^c	— ^c	—	— ^d	6.3 ^b
	10 ⁻⁷	— ^c	— ^c	—	8.0 ^{bc}	9.5 ^b
	10 ⁻⁶	— ^c	— ^c	—	— ^d	14.0 ^a
	10 ⁻⁵	— ^c	— ^c	—	— ^d	9.0 ^b
10 ⁻⁵	0	— ^c	— ^c	—	— ^d	4.9 ^b
	10 ⁻⁷	— ^c	— ^c	—	— ^d	16.8 ^a
	10 ⁻⁶	— ^c	— ^c	—	— ^d	13.0 ^a
	10 ⁻⁵	— ^c	— ^c	—	— ^d	14.1 ^a

Mean separation within columns by DUNCAN's multiple range test at 5% level.

Table 5. Effect of NAA and BA at various concentrations on the formation of organs in *Lilium regale* Wilson

Concentration (mol)		No. of bulblets	Mean bulb wt. (mg)	Wt. of leaves (mg)	Wt. of roots (mg)	Wt. of callus (mg)
BA	NAA					
0	0	2.0 ^{ab}	3.2 ^{ab}	1.6 ^{NS}	2.7 ^{bc}	— ^c
	10 ⁻⁷	2.3 ^a	3.2 ^{ab}	0.4	5.5 ^a	4.0 ^{bc}
	10 ⁻⁶	2.4 ^a	6.4 ^a	—	4.7 ^{ab}	27.0 ^a
	10 ⁻⁵	— ^d	— ^b	—	4.7 ^{ab}	2.5 ^c
10 ⁻⁷	0	1.0 ^{dc}	5.5 ^a	1.4	0.5 ^c	1.0 ^c
	10 ⁻⁷	1.6 ^{abc}	2.9 ^{ab}	1.9	2.0 ^{bc}	7.0 ^b
	10 ⁻⁶	2.0 ^{ab}	4.0 ^{ab}	—	1.5 ^{bc}	5.0 ^b
	10 ⁻⁵	— ^d	— ^b	—	2.2 ^{bc}	5.0 ^b
10 ⁻⁶	0	0.8 ^c	1.5 ^{ab}	—	0.5 ^c	— ^c
	10 ⁻⁷	2.5 ^a	6.0 ^a	0.9	2.0 ^{bc}	4.1 ^b
	10 ⁻⁶	1.0 ^{abc}	6.6 ^a	1.5	0.5 ^c	— ^c
	10 ⁻⁵	— ^d	— ^b	—	— ^c	5.4 ^c
10 ⁻⁵	0	— ^d	— ^b	—	— ^c	— ^c
	10 ⁻⁷	— ^d	— ^b	—	0.6 ^c	24.1 ^a
	10 ⁻⁶	— ^d	— ^b	—	— ^c	2.2 ^c
	10 ⁻⁵	— ^d	— ^b	—	— ^c	— ^c

Mean separation within columns by DUNCAN's multiple range test at 5% level.

Table 6. Effect of NAA and BA at various concentrations on the formation of organs in *Lilium concolor* Salisb. var. *pulchellum* Regel

Concentration (mol)		No. of bulblets	Mean bulb wt. (mg)	Wt. of leaves (mg)	Wt. of roots (mg)	Wt. of callus (mg)
BA	NAA					
0	0	0.5 ^b	3.0 ^b	1.0 ^b	— ^d	— ^d
	10 ⁻⁷	0.7 ^b	3.5 ^b	2.1 ^b	1.5 ^d	— ^d
	10 ⁻⁶	0.4 ^b	14.0 ^a	1.5 ^b	6.3 ^b	— ^d
	10 ⁻⁵	1.0 ^{ab}	3.1 ^b	1.0 ^b	1.0 ^d	— ^d
10 ⁻⁷	0	1.6 ^a	2.6 ^b	1.0 ^b	4.5 ^{bc}	— ^d
	10 ⁻⁷	2.3 ^a	5.0 ^b	1.6 ^b	4.0 ^{bc}	— ^d
	10 ⁻⁶	1.0 ^b	16.5 ^a	1.2 ^b	9.0 ^b	— ^d
	10 ⁻⁶	0.7 ^b	6.4 ^b	— ^b	8.0 ^b	— ^d
10 ⁻⁶	0	2.0 ^a	15.8 ^a	2.6 ^{ab}	5.5 ^b	— ^d
	10 ⁻⁷	0.5 ^b	15.0 ^a	3.5 ^a	2.3 ^d	4.0 ^c
	10 ⁻⁶	1.0 ^b	15.4 ^a	4.5 ^a	10.9 ^a	2.1 ^{cd}
	10 ⁻⁵	1.2 ^b	3.3 ^b	— ^b	2.8 ^d	21.9 ^b
10 ⁻⁵	0	1.3 ^b	6.0 ^b	1.5 ^b	— ^d	— ^d
	10 ⁻⁷	1.5 ^b	5.3 ^b	— ^b	— ^d	16.2 ^b
	10 ⁻⁶	— ^b	— ^b	— ^b	— ^d	44.3 ^a
	10 ⁻⁵	0.2 ^b	3.1 ^b	— ^b	— ^d	54.1 ^a

Mean separation within columns by DUNCAN's multiple range test at 5% level.

で添加し、器官分化に及ぼす影響を調査した。結果を Table 2~6 に示した。

子球の分化には、NAA・BA は必須ではなかった。

NAA 10⁻⁶ M 添加区までは、その濃度の上昇に伴い、外植体当りの子球数は増大する傾向があった。NAA 10⁻⁵ M 添加区は、'北の星'、'内田'、朝鮮ヒメユリでは子球分化数が減少し、'ジョージア'とリーガル・リリーでは全く子球分化しなかった。BA は、高濃度で子球分化に抑制的であった。抑制の程度は種によって異なり、'内田'とリーガル・リリーが強い影響を受け、BA 10⁻⁵ M 添加区では全く分化しなかったのに対し、他の3種ではこの影響はやや小さかった。平均子球重については、NAA・BA の影響は明らかではなかった。

'内田'を除く4種で出葉した。また、すべての種で発根とカルスの発生があった。出葉数と葉重、発根数と根重が同傾向であったので、表では出葉数と発根数を省略した。

出葉に対する、添加した NAA・BA の影響の程度は種によって異なっていた。'ジョージア'と朝鮮ヒメユリでは、10⁻⁶ M までの範囲で、NAA・BA の濃度が上昇す

ると、出葉は増大する傾向があった。'北の星'は、他3種が出葉の抑制を受けた BA 10⁻⁵ M 添加区でも出葉し、なおかつ最大値を示した。リーガル・リリーに対する NAA・BA の影響は他3種ほど明瞭ではなかった。

発根とカルスの発生については、NAA は発根を促進するのに対し、BA は、正常な発根を抑制し、カルスの発生を誘導する傾向があった。'内田'と朝鮮ヒメユリが、BA 無添加、10⁻⁷ M 添加区で全くカルスを発生しなかったのに対し、'北の星'とリーガル・リリーは BA が低濃度であっても強くカルス誘導を受けた。

以上の様に、培地に添加した NAA・BA に対するユリのりん片由来外植体の反応は、全体的な傾向は同じであるが、NAA・BA によって受ける影響の程度は、種によって異なっていた。

それぞれの種について、子球増殖に最も効果的と考えられる NAA・BA の濃度は、次のようであった。

'北の星'	NAA 10 ⁻⁶ M・BA 10 ⁻⁶ M
'ジョージア'	NAA 10 ⁻⁷ M・BA 10 ⁻⁶ M
'内田'	NAA 10 ⁻⁷ M・BA 10 ⁻⁷ M
リーガル・リリー	NAA 10 ⁻⁷ M・BA 10 ⁻⁶ M

Table 7. Effect of nutrient concentration on the formation of organs in some *Lilium* species

	Nutrient concentration (×MS)	No. of bulblets	Mean bulb wt. (mg)	No. of leaves	Wt. of leaves (mg)	No. of roots	Wt. of roots (mg)	Wt. of callus (mg)	
<i>L. Mid-Century</i>	1/4	5.5 ^{ab}	11.0 ^b	— ^b	— ^c	1.7 ^a	6.2 ^a	0.5 ^b	
	Hybrid	1/2	5.7 ^{ab}	15.5 ^{ab}	0.1 ^b	1.4 ^{bc}	0.4 ^b	1.2 ^b	0.7 ^b
'Kitanohoshi'	1	7.4 ^a	21.6 ^a	1.4 ^{ab}	6.2 ^{ab}	0.1 ^b	0.4 ^b	— ^b	
	2	4.1 ^b	20.0 ^a	2.8 ^a	8.7 ^a	0.2 ^b	1.1 ^b	68.4 ^a	
<i>L. longiflorum</i>	1/4	1.1 ^b	10.4 ^b	0.4 ^b	4.0 ^c	3.2 ^a	15.0 ^a	0.2 ^b	
	'Georgia'	1/2	2.5 ^{ab}	11.3 ^b	1.4 ^b	8.0 ^{bc}	3.6 ^a	24.7 ^a	0.3 ^b
	1	4.6 ^a	16.5 ^{ab}	2.5 ^b	16.0 ^{ab}	3.0 ^a	14.0 ^a	1.4 ^b	
	2	2.1 ^{ab}	22.1 ^a	5.2 ^a	28.0 ^a	— ^b	— ^b	32.5 ^a	
<i>L. speciosum</i>	1/4	2.1 ^b	3.4 ^b	—	—	4.0 ^c	24.0 ^d	— ^b	
	'Utida'	1/2	2.6 ^{ab}	4.2 ^b	—	6.2 ^{bc}	42.0 ^c	0.3 ^b	
	1	3.9 ^a	7.0 ^b	—	—	8.4 ^b	60.0 ^b	0.2 ^b	
	2	3.2 ^{ab}	14.1 ^a	—	—	11.6 ^a	216.0 ^a	5.0 ^a	
<i>L. regale</i> Wilson	1/4	1.0 ^a	2.9 ^b	0.1 ^a	0.2 ^a	1.4 ^a	2.1 ^a	— ^a	
	1/2	1.3 ^a	3.2 ^{ab}	0.9 ^a	1.1 ^a	2.8 ^a	3.6 ^a	1.5 ^{bc}	
	1	2.8 ^a	6.4 ^{ab}	0.2 ^a	0.4 ^a	2.0 ^a	4.0 ^a	11.0 ^b	
	2	1.0 ^a	7.5 ^a	0.8 ^a	4.0 ^a	0.9 ^a	1.1 ^a	22.3 ^a	
<i>L. concolor</i> Salisb. var. <i>pulchellum</i> Regel	1/4	— ^b	— ^b	— ^b	— ^b	1.5 ^{ab}	4.0 ^a	0.8 ^b	
	1/2	2.1 ^a	8.4 ^a	1.6 ^a	3.5 ^a	1.6 ^{ab}	4.1 ^a	0.2 ^b	
	1	2.6 ^a	11.6 ^a	1.5 ^a	2.1 ^a	1.1 ^b	3.0 ^a	— ^b	
	2	2.0 ^a	13.5 ^a	0.9 ^a	4.1 ^a	2.4 ^a	4.5 ^a	9.0 ^a	

Mean separation within species in columns by DUNCAN's multiple range test at 5% level.

朝鮮ヒメユリ NAA 無添加・BA 10^{-6} M

以下の実験では、基本培地に、それぞれの種に対応した NAA・BA を添加して実験を行った。

実験 3 培地の無機塩濃度が器官分化に及ぼす影響

上述の結果に基づいて修正した MS 基本培地の無機多量要素の濃度を、基本培地を 1 として、1/4, 1/2, 2 倍に変更した培地を調製し、子球増殖に好適な培地の無機多量要素の濃度を調査した。結果は Table 7 に示した。

子球数は、1 倍濃度区が優れていた。平均子球重は、濃度と共に増加する傾向があった。

'内田'を除く 4 種で出葉がみられ、濃度の上昇と共に増大する傾向があった。

発根は、種によってやや異なる反応を示した。'北の星'と'ジョージア'が濃度の上昇と共に抑制を受けたのに対し、'内田'では逆に促進された。リーガル・リリーは前者、朝鮮ヒメユリは後者に近い傾向を示したが、受け

た影響は小さかった。'内田'の 2 倍濃度区では、根が異常に発達した (Fig 2)。カルスおよび異常なシュートの発生は、特に 2 倍濃度区で顕著であった。

子球増殖に適切な培地の無機塩濃度は、5 種とも常法

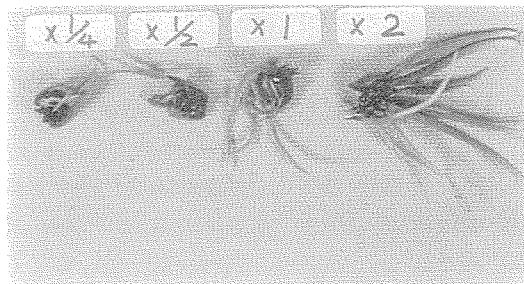


Fig. 2. Effect of nutrient concentration on the formation of organs in *Lilium speciosum* 'Utida'.

Table 8. Compositions of nutrient solutions having different Cation/Anion ratio. The total concentration of nutrient solutions is equal to MS (MURASHIGE & SKOOG 1962) medium

Medium	Percent of Cationic sum			Percent of Anionic sum		
	K ⁺	Ca ²⁺	NH ₄ ⁺	NO ₃ ⁻	H ₂ PO ₄ ⁻	SO ₄ ²⁻
A	60	20	20	90	7	3
B	20	60	20	90	7	3
C	20	20	60	90	7	3
D	44	12	44	60	20	20
E	44	12	44	20	60	20
F	44	12	44	20	20	60
MS	44	12	44	90	7	3

Table 9. Effect of Cation/Anion ratio on the formation of organs in some *Lilium* species

	Medium	No. of bulblets	Mean bulb wt. (mg)	Wt. of leaves (mg)	Wt. of roots (mg)	Wt. of callus (mg)
<i>L. Mid-Century</i> Hybrid 'Kitanohoshi'	A	7.4 ^{ab}	23.8 ^a	0.7 ^a	0.7 ^c	—
	B	7.1 ^{abc}	18.0 ^{bcd}	2.5 ^a	2.4 ^b	—
	C	6.2 ^{bcd}	20.6 ^{ab}	— ^a	0.7 ^c	—
	D	8.3 ^a	16.8 ^{cd}	— ^a	5.3 ^a	—
	E	5.5 ^{cd}	16.0 ^d	— ^a	3.1 ^b	—
	F	4.3 ^d	18.3 ^{bc}	— ^a	1.7 ^{bc}	—
<i>L. longiflorum</i> Thunb. 'Georgia'	A	4.6 ^{ab}	21.0 ^b	15.8 ^{ab}	40.5 ^a	—
	B	4.2 ^{abc}	28.0 ^a	22.0 ^a	17.5 ^b	—
	C	5.3 ^a	22.6 ^{ab}	13.2 ^{abc}	19.7 ^b	—
	D	4.4 ^{ab}	21.2 ^{ab}	7.0 ^{bc}	17.4 ^b	—
	E	3.6 ^{bc}	24.9 ^{ab}	6.9 ^c	13.5 ^b	—
	F	3.1 ^c	22.9 ^{ab}	3.9 ^c	9.6 ^b	—
<i>L. speciosum</i> Thunb. 'Utida'	A	3.6 ^a	15.8 ^a	—	312.1 ^a	—
	B	3.7 ^a	17.4 ^a	—	131.7 ^{bc}	—
	C	2.8 ^{abc}	16.7 ^a	—	304.5 ^{ab}	—
	D	2.9 ^{ab}	23.0 ^a	—	112.0 ^c	—
	E	2.5 ^{bc}	12.4 ^a	—	45.5 ^c	—
	F	2.1 ^c	9.6 ^a	—	31.9 ^c	—
<i>L. regale</i> Wilson	A	3.2 ^a	5.8 ^b	— ^c	5.6 ^b	— ^b
	B	2.3 ^a	8.9 ^b	12.0 ^a	14.0 ^a	— ^b
	C	2.8 ^a	7.9 ^b	5.2 ^b	3.4 ^c	25.0 ^a
	D	— ^b	— ^c	— ^c	— ^d	22.7 ^a
	E	0.3 ^b	16.6 ^a	8.6 ^{ab}	0.9 ^d	— ^b
	F	0.2 ^b	4.5 ^{bc}	0.2 ^c	0.6 ^d	21.1 ^a
<i>L. concolor</i> Salisb. var. <i>pulchellum</i> Regel	A	1.4 ^{ab}	10.2 ^{ab}	4.7 ^a	1.6 ^{bc}	—
	B	0.9 ^{abc}	10.8 ^a	2.6 ^{bc}	2.2 ^b	—
	C	2.8 ^a	10.2 ^{ab}	4.6 ^{ab}	10.9 ^a	—
	D	0.9 ^{bc}	9.5 ^{ab}	1.9 ^{cd}	2.7 ^b	—
	E	0.5 ^c	6.4 ^b	0.9 ^d	2.1 ^{bc}	—
	F	— ^c	— ^c	— ^d	— ^c	—

Mean separation within species in columns by DUNCAN's multiple range test at 5% level.

のMS培地の濃度であった。

実験4 培地の無機塩のイオン組成が器官分化に及ぼす影響

前述の結果に基づいた修正培地の無機多量要素のイオン組成を、HOMÈSの系統的変量法の考え方^{4,5,6,7)}をもとにして、高野²⁴⁾に従い、Table 8に示したように変化させた培地を調製した。

培地のイオン組成の調製は、200 meq/lのKNO₃、KH₂PO₄、NH₄H₂PO₄、Ca(NO₃)₂、CaCl₂、MgSO₄、K₂SO₄、Mg(NO₃)₂を用いて行った。この際、Mg⁺とCl⁻がイオン群内に占める割合はMS処法のそれと等しくし、リン酸はすべて1価のイオンとみなした^{9,10)}。結果をTable 9に示した。

‘北の星’——陽イオン群内に占めるK⁺比の高いA区で子球数と平均子球重が多かった。培地の無機陰イオン群の群内イオン比を変更したD、E、Fの3区でやや多く、陽イオン比を変えたA、B、C区で発根が少なくなる傾向があった。出葉は、A、B区で観察されたが、出葉しなかった区と有意差はなかった。

‘ジョージア’——SO₄²⁻比の高いF区が、A、C、D区より子球数が抑制を受けた。平均子球重は、A、B両区間に有意差が認められたが、他の処理区間に有意差はなかった。出葉数は、陽イオン比を変えたA、B、C区が陰イオン比を変えたD、E、F区よりも多かった。葉重もほぼ同傾向だった。発根は、K⁺比の高いA区で多かった。

‘内田’——F区は、A、B、C3区より子球数が少なかった。平均子球重については、処理区間に有意差は認められなかった。発根は、A、B、C、Dの4区が多く、特にK⁺比の高いA区で著しかった。

リーガル・リリー——C、D、F区で、カルスが発生した。D区は、正常な植物体の分化がなかった。子球の分化は、陽イオン比を変えたA、B、Cの3区が優った。出葉は、Ca²⁺比の高いB区が高い値を示した。発根も、子球の分化と同様に、A、B、C区が高い値を示した。

朝鮮ヒメユリ——F区では全く器官分化しなかった。子球数はC区、平均子球重はB区がやや高かった。出葉は、K⁺比の高いA区で最も多かった。発根は、B区とC区が多かった。

いずれの種においても、陽イオン変量群(A、B、C)の成績が陰イオン変量群(D、E、F)のそれを上回る傾向があった。イオン組成に対応した種特異的な器官分化反応はないと考えられる。

処理の結果を、MS培地で培養を行った実験3の結果と比較すると、子球の分化については、陽イオン変量群

はMSとほぼ同じであり、陰イオン変量群はやや劣っていた。特に、SO₄²⁻比の高いF区の値が低かった。陰イオン変量群では、出葉・発根も抑制を受ける傾向があった。‘北の星’や‘ジョージア’、朝鮮ヒメユリでは、陽イオン変量群で、発根数、根重いずれもMSとほぼ同じであったが、‘内田’とリーガル・リリーではやや優っていた。

これらの影響が、主に陰陽両イオン群内のイオンの交互作用によって発生しているとする、りん片からの植物体の分化は、陰イオン群により強い影響を受けていると考えられる。特に、高SO₄²⁻比の培地での分化の抑制は著しかった。

考 察

培養条件の中では、培地のシヨ糖濃度が子球の形成と増殖のための重要な要素であった。TRAN THANH VAN²⁸⁾は、同じオーキシン/サイトカイニン比のもとでは、器官形成が炭水化物の量および質によって変化することを指摘した。TAKAYAMA and MISAWA²⁶⁾は、カノコユリとヤマユリ(*L. auratum* Lindl.)では、培地のシヨ糖濃度の上昇に伴い、子球重および根の分化、生育が良好になると報告している。今回供試した3種のユリも同様の傾向を示し、ユリの、培地のシヨ糖濃度に対する反応には、種間差はないと考えられる。

サイトカイニンが通常芽の形成を促進し、その効果が、オーキシンが低濃度で存在する際にしばしば高められることはよく知られている²²⁾。対照的に、オーキシンが植物体形成を促進し、サイトカイニンはオーキシン存在下で僅かに効果があるという報告もある²⁰⁾。ユリの場合は、子球形成にNAAが重要であり、BAの影響はごく僅かであるという報告^{16,17)}や、NAAは、低濃度で促進的、高濃度で抑制的に子球形成に対して作用するといった報告²⁾があり、本報の結果は後者に近い。また、根の形成について、オーキシンが促進し、サイトカイニンが阻害したという報告^{25,27)}がある。これは、今回の結果とよく一致する。しかし、供試5種のうち、‘内田’とリーガル・リリーに対しては、他の3種よりもBAによる子球分化の抑制が著しいなど、NAA・BAの濃度に対する反応は、種によって微妙に異なっている。ユリの子球増殖に好適なオーキシン・サイトカイニン濃度は、NAA・BAともに無添加～10⁻⁶Mの範囲まで、種ごとに検討する必要がある。

MS培地の無機塩濃度は、りん片培養による子球増殖に適当な濃度であると考えられる。濃度を下げると、根

の形成が促進され、上げると異常生長が多くみられた。‘内田’のみ、無機塩濃度が高い培地で発根数並びに根重が増大したが、形成された根は明らかに異常であるので、根の健全な発育は、全ての種で阻害されたとみなすこともできる。TAKAYAMA²⁵⁾は、MS培地の無機塩濃度の上昇によって、りん片上に分化する子球数は直線的に増加したと報告しているが、彼らが増殖材料として好ましいと判断した、いわゆる葉原基状のりん片は、本実験では、異常発育したものと考え、カルスの項に繰り入れたものである。

培地の無機多量要素のイオン組成の変更は、子球の形成・生長より、発根や出葉に対しての影響が強かった。ICHIHASHI^{8,10,11,12,13)}は、ラン実生の発育において、培地の陽イオン組成は、高NH₄⁺比、もしくは高Ca²⁺比の場合を除き、ほとんど影響しないことを報告している。本実験でも、陽イオンより陰イオン、特にSO₄²⁻の抑制効果が際立っていた。ただ、上里^{29,30)}やICHIHASHI^{11,12,13)}が指摘したように、生長の制御にはNH₄⁺/NO₃⁻比も関連していると予想される。NH₄⁺の水準は、シュート形成のためには高く、根の生長のためには低い方が好ましい。陰イオン変量群で根の生長を抑制した要因の1つとして、NH₄⁺に対するNO₃⁻比が小さかったことも当然考えられる。

今回の実験では、ユリのりん片からの器官分化の反応に、培地の無機塩の濃度および組成の変化に対応した種間差はないと考えられた。

摘 要

ユリ類の組織培養による繁殖を効率的に進めるため、数種のユリについて、りん片組織の培養に用いる培地の諸条件を検討するとともに、それぞれの条件に対する反応の種特異性の有無について検討した。

糖は、植物体の器官分化に必須であった。培地のショ糖濃度120 g/lまで、その上昇により子球および根の形成が促進された。しかし、その影響に本質的な種間差は認められなかった。

子球分化に対して、NAAは低濃度で促進的、高濃度で抑制的に作用した。BAは、低濃度でNAAの作用を僅かに促進したが、出葉・カルスの増加も促し、高濃度では子球分化を抑制した。NAA・BAの最適濃度条件は、種によって異なっていたので、種類ごとの検討が必要であると考えられた。

MS培地の無機塩濃度は、りん片からの子球増殖を目的とする場合、変更の必要はなかった。

無機多量要素のイオン組成の変更は、それなりに器官形成に影響し、特にSO₄²⁻比の上昇により、出葉・発根が抑制を受けた。しかし、変更してもMS処方より特に優れた結果は得られなかった。また、培地の濃度やイオン組成変更に対する反応に、特徴的な種間差は認められなかった。

引用文献

1. ANDERSON, W. C. 1977: Rapid propagation of *Lilium* cv. 'Red Carpet'. *In Vitro*. **13**: 145
2. AARTRIJK, J. Van. and G. J. BLOM-BARNHOORN, 1979: Some influence of α -naphthylacetic acid on the differentiation of meristems of *Lilium speciosum* 'Rubrum' nr. 10. *in vitro*. *Acta Horticulturae*. **91**: 269-279
3. AARTRIJK, J. Van. and G. J. BLOM-BARNHOORN, 1983: Adventitious bud formation from bulb-scale explants of *Lilium speciosum* Thunb. *in vitro*. *Z. Pflanzenphysiol.* **110**: 355-363
4. HOMÈS, M. V. 1955: A new approach to the problem of plant nutrition and fertilizer requirement. Part I Soils and Fertilizers. **18**: 1-4
5. HOMÈS, M. V. 1955. A new approach to the problem of plant nutrition and fertilizer requirement. Part II Soils and Fertilizers. **18**: 101-103
6. HOMÈS, M. V. 1961: Systematic methods in the differentiation of nutrient requirement of plants. *Annales de Physiologie Vegetale* (Bruxelles). **6**: 99-136
7. HOMÈS, M. V. 1971: Toxicity of mineral salts on plants and plant sells. *Annales de Physiologie Vegetale* (Bruxelles). **16**: 55-90
8. 市橋正一 1977: カトレヤ類の組織培養培地の無機塩組成に関する研究. *愛教大研報*, **26**: 85-91
9. ICHIHASHI, S. and M. YAMASHITA, 1977: Studies on the media for orchid seed germination. I. *J. Jap. Soc. Hort. Sci.* **45**(4): 403-407
10. ICHIHASHI, S. 1978: Studies on the media for orchid seed germination. II. *J. Jap. Soc. Hort. Sci.* **46**(4): 521-529
11. ICHIHASHI, S. 1979: Studies on the media for orchid seed germination. III. *J. Jap. Soc., Hort. Sci.* **47**(4): 524-536
12. ICHIHASHI, S. 1979: Studies on the media for orchid seed germination. IV. *J. Jap. Soc. Hort. Sci.* **48**(3): 345-352
13. 市橋正一 1981: 組織培養における培地の新しい考

- え方. 新花卉, 110: 115-120
14. LESHEM, B., H., LILIEN-KIPNIS and B. STEIN-
NITZ, 1982: The effect of light and of explant
orientation on the regeneration and subseg-
ment growth of bulblets on *Lilium longiflorum*
Thunb. bulb-scale sections cultured *in vitro*.
Scientia Horticulturae. 17: 129-136
 15. MURASHIGE, T. and F. SKOOG, 1962: A revised
medium for rapid growth and bio-assays with
tobacco tissue culture. *Physiol. Plant*. 15: 473-
497
 16. NIIMI, Y. and T. ONOZAWA, 1979: *In vitro*
bulblet formation from leaf segments of lilies,
especially *Lilium rubellum* Baker. *Scientia*
Horticulturae. 11: 379-389
 17. NIIMI, Y., 1984: Bulblet productivity of
explants from scales, leaves, stems, and tepals
of *Lilium rubellum* Baker. *Scientia Horticul-*
turae. 22: 391-394
 18. NIIMI, Y., 1985: Factors affecting the regen-
eration and growth of bulblets in bulb-scale
culture of *Lilium rubellum* BAKER. *J. Jap.*
Soc. Hort. Sci. 54(1): 82-86
 19. NOVAK, F. J. and E. PETRU, 1981: Tissue
culture propagation of *Lilium* hybrids. *Scien-*
tia Horticulturae. 14: 191-199
 20. RINGE, F. and J. P. NITSCH, 1968: Conditions
leading to flower formation on excised *Begonia*
fragment cultured *in vitro*. *Plant. Cell. Physiol.*
9: 639-652
 21. ROBB, S. M., 1957: The culture of excised
tissue from bulb-scales of *Lilium speciosum*
Thunb. *J. Exp. Bot.* 8: 348-352
 22. SKOOG, F. and C. O. MILLER, 1957: Chemical
regulation of growth and organ formation in
plant tissue cultured *in vitro*. *Symp. Soc. Exp.*
Biol. 11: 118-130
 23. STIMART, D. P. and P. D. ASCHER, 1978:
Tissue culture of bulb scale sections for asex-
ual propagation of *Lilium longiflorum* Thunb.
J. Amer. Soc. Hort. Sci. 103: 182-184
 24. TAKANO, T. and F. KAWAZOE, 1973: Balanced
nutrient solution for vegetable crops deter-
mined by HOMÈS' method of systematic varia-
tions. I. Sand culture. *Sci. Rept. Fac. Agr.*
Meijo. Univ. 9: 7-15
 25. 高山眞策・三沢三愛 1979: 組織培養によるユリの
繁殖に関する研究. 第3報 園学要旨. 昭54春:
346-347
 26. TAKAYAMA, S. and M. MISAWA, 1979: Differ-
entiation in *Lilium* bulb-scales grown *in vitro*.
Effect of various cultural conditions. *Physiol.*
Plant. 46: 184-190
 27. TAKAYAMA, S. and M. MISAWA, 1980: Differ-
entiation in *Lilium* bulb-scales grown *in vitro*.
Effect of activated charcoal, physiological age
of bulbs and sucrose concentration on differ-
entiation and scale leaf formation *in vitro*.
Physiol. Plant. 48: 121-125
 28. TRAN THANH, VAN. K., 1977: Regulation of
morphogenesis. In plant tissue culture and its
bio-technological application. Springer-Verlag,
ISBN: 367-385
 29. 上里健次 1974: *Dendrobium nobile* 幼苗の生育
に及ぼす培地における窒素濃度の影響. 琉球大農学
報, 21: 73-81
 30. 上里健次 1975: *Cattleya* 幼苗の生育に及ぼす炭
素源の影響. 琉球大農学報, 22: 79-84

Summary

The effect of medium conditions on organ formation of scale explants *in vitro* was investigated in some *Lilium* species, and the presence of interspecific differences in the effects was examined.

Sugar was essential for organ formation. The formation of bulblets and roots was enhanced with the increase of sucrose concentration in the medium up to 120 g/l. However, no interspecific difference was observed in the effects.

NAA enhanced the bulblet formation at low concentrations but inhibited it at high concentrations. BA at low concentration slightly stimulated the effect of NAA, and it simultaneously stimulated the formation of roots and callus; but at high concentrations it inhibited the bulblet formation. Since differences in the optimum combinations of NAA and BA concentrations were observed among *Lilium* species, it will be necessary to clarify this with all species not yet examined.

Changes in the total ionic concentration of MS formula did not bring about improvement as far as the bulblet formation was concerned. Changes in the ionic composition of major mineral elements affected the organ formation in their own ways, especially the increase of SO_4^{2-} ratio inhibited the formation of shoots and roots, but they did not give any advantageous results than MS formula. No difference in the responses to ionic concentrations and no specific compositions to species were observed.