

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.)

古谷 博

キーワード：希少自生植物，ササユリ，組織培養，未熟胚培養，種苗生産

ササユリは日本原産のユリで、清楚な花型に薄いピンク色の花弁と芳香を有し、中部地方以西の近畿、中国、四国に自生している¹⁷⁾。広島県内でも、かつては中国山地のいたるところに自生していたが、最近では次第に個体数が少なくなっている。近年、ササユリが自生している町村からは、ササユリを地域の活性化に役立てるため、群落を再創出して観光資源とすること、また、切り花や鉢花等の園芸的利用を目的として、本種の増殖ならびに育苗法の確立等、種苗生産への強い要望が出ていた。

ササユリの組織培養に関する研究報告の大部分は、大量増殖を目的として行なわれており、自生株球根を利用したりん片培養での子球形成^{1, 3, 6, 13)}ならびに子球肥大の培養条件の解明^{9, 10, 12)}等である。また、液体振とう培養⁴⁾や、液体通気培養⁷⁾による球肥大の促進と省力化、スケールアップが検討されているが実用化された例は少ない。

その理由は、りん片培養では培養が長期間にわたる^{4, 6)}こと、培養材料に自生株球根を利用するため培養過程での雑菌による汚染が問題¹⁴⁾であること、また、液体培養では専用の培養機器類と高度の培養手法を要すること、更に、ササユリの栽培が平地では難しいこと^{16, 19)}等が考えられる。

本報では、培養材料として入手が容易な未熟種子を用いた増殖試験の結果について報告する。

材料および方法

供試したササユリの種子は、1996年と1997年に広島県山県郡大朝町の自生株の開花期（6月上中旬）に授粉して結実したさく果を、各試験の実施時期に採取し、有効

本報告の一部は、1997、1998年の園芸学会中四国支部会において発表した。

平成11年2月15日受理

塩素濃度0.5%の次亜塩素酸ナトリウム溶液で15分間振とう滅菌した後、クリーンベンチ内で取り出した未熟種子を用いた。試験の構成を表1に示した。

1. 未熟種子の発芽促進

恒温処理温度と処理期間が胚珠の発芽促進に及ぼす影響の検討には、9月上旬に採取したさく果の未熟種子（胚珠）を供試した。

ショ糖3%、寒天0.8%を添加した Murashige and Skoog(1962)¹¹⁾培地（以下MS）をpH5.7に調整し、径20×高さ90mmの試験管に分注（培地量6ml）して作成した培地を用いた。1試験管に胚珠を2粒ずつ置床して1区22本（44粒）供試し、18、25、30℃の恒温器（暗所）で1、2か月間温度処理を行なった後、18℃、3,000lx、16時間照明の人工気象室で1か月間培養後に発芽率を調査した。

2. 未熟胚培養による増殖

未熟種子から実生苗（子球）を効率良く得る方法を検討するため、さく果の採取時期（未熟胚の培養時期）および植物ホルモンの添加が未熟胚の発芽および子球形成に及ぼす影響について試験した。

培地は、MSを基本としてショ糖3%、寒天0.8%と所定の植物ホルモンを添加してpH5.7に調整した後、100ml広口三角フラスコに30ml分注して作成した。未熟胚は、各試験ともフラスコ1個に5個体ずつ置床した。

1) 植物ホルモンの組合せと添加濃度

9月上旬に採取したさく果の胚珠から無菌的に摘出した胚を供試し、植物ホルモンのサイトカイニンはベンジルアデニン（BA）をオーキシンは1-ナフタレン酢酸（NAA）と2,4-ジクロロフェノキシ酢酸（2,4-D）を用い、その添加濃度（0, 0.01, 0.1, 1.0mg/l）を組合わせた28試験区を設けて試験した。1区1個のフラスコ

表1 試験の構成

試験の構成	外植体	試験項目：試験区
1. 未熟種子の発芽促進	胚珠	温度：18, 25, 30℃, 期間：1, 2か月
2. 未熟胚培養による増殖		
植物ホルモンの組合せと添加濃度*	胚	BA+NAA, BA+2,4-D
培養時期とNAA添加濃度*	胚	培養時期：授粉54, 70, 95日後
オーキシンの種類と添加濃度*	胚	種類：NAA, 2,4-D
未熟胚の分割置床とNAA添加濃度	胚	分割の有無, NAA濃度：0, 0.01, 0.05, 0.1mg/l
3. 未熟胚からの器内大量増殖		
胚由来カルスの増殖と子球形成	カルス	BA+NAA, 濃度：0, 0.2, 2.0mg/l
胚由来実生球根のりん片培養	実生球根	BA+NAA, 濃度：0, 0.2, 2.0mg/l

(注) *濃度：0, 0.01, 0.1, 1.0mg/l

(5胚)を供試した。

2) 培養時期とNAA添加濃度

未熟胚の発芽および子球形成に及ぼすさく果の採取時期の検討には、授粉54, 70, 95日後にさく果から摘出した未熟胚をそれぞれNAAを0, 0.01, 0.1, 1.0mg/l添加した4試験区に置床し、1区2～3個のフラスコ(計10～15胚)を供試した。

3) オーキシンの種類と添加濃度

未熟胚の発芽および子球形成に及ぼすオーキシンの種類と添加濃度の検討には、授粉66日後と98日後にさく果から摘出した未熟胚を、オーキシンのNAAと2,4-Dをそれぞれ0, 0.01, 0.1, 1.0mg/l添加した7試験区に置床し、1区3個のフラスコ(計15胚)を供試した。

4) 未熟胚の分割置床とNAA添加濃度

授粉72日後のさく果から摘出した未熟胚を供試した。未熟胚は、胚分割の有(メスで横断2分割)、無(対照)とNAAの添加濃度0, 0.01, 0.05, 0.1mg/lの8試験区を設け、径20×高さ90mm試験管内の上記培地(培地量6ml)に胚1個(分割区は2切片)を置床し、1区17本(17胚)を供試した。

なお、培養は全て25℃, 3,000lx, 16時間照明の人工気象器内で100日間行なった後、未熟胚の発芽および形態変化について調査した。

3. 未熟胚からの器内大量増殖

未熟胚から誘導したカルスおよび未熟胚から育成した実生球根(無菌植物)を供試した。

1) 胚由来カルスの増殖と子球形成

未熟胚から誘導したカルスを10mm大に分割し、BAとNAAを各々0, 0.2, 2.0mg/l添加したMS培地の9試験区に移植して下記方法で培養した。

カルス増殖培養は径25×高さ100mmの試験管(培地量10ml)4個を供試し、各試験管に10mm大のカルス集塊1個を移植して2か月間増殖培養した。その後、増殖カルスを再度10mm大に3分割(各試験区12個のカルス集塊)し、ホルモンプリーのMS培地に移植して2か月間継代培養した後、子球形成数を調査した。

2) 胚由来実生球根のりん片培養

未熟胚から養成した実生球根のりん片を1枚ずつ剥がし、BAとNAAを各々0, 0.2, 2.0mg/l添加したMS培地の9試験区に置床して2か月間培養した後、子球形成数を調査した。りん片培養は、径20×高さ90mm試験管(培地量6ml)を用い、1試験管に1個のりん片を置床し、1区10本(10りん片)の2反復を供試した。

なお、培養は1), 2)とも25℃, 3,000lx, 16時間照明の人工気象器内で行なった。

結 果

1. 未熟種子の発芽促進

恒温処理温度と処理期間が未熟種子(胚珠)の発芽に及ぼす影響について検討した結果を表2に示した。

9月11日に採取したササユリ未熟種子の発芽率は、30℃1か月間処理区と2か月間処理区が、それぞれ73%, 82%と高率であった。しかし、25℃1か月間処理区では27%と低く、また、全期間18℃で培養した対照区では発芽個体は見られなかった。

2. 未熟胚培養による増殖

1) 植物ホルモンの組合せと添加濃度

未熟胚を植物ホルモン添加培地で培養した結果を表3に示した。

植物ホルモン無添加培地に置床した未熟胚は、発芽した後シュートの伸長と共に子球が形成し、5個の未熟胚から7個の子球が得られた。形成した子球の肥大は良く置床100日後には球径3～5mmとなった。

植物ホルモン添加培地に置床した未熟胚は、オーキシン無添加のBA0.01mg/l区では子球を形成したが、BA0.1～1.0mg/l区ではカルス化したものが多く子球形成数は少なかった。オーキシン単独添加では、NAAと2,4-Dの反応は異なりNAA添加では0.01mg/l区で、また、2,4-D添加は0.01～0.1mg/l区で未熟胚からの子球形成が認められた。NAA0.1～1.0mg/l区と2,4-D1.0mg/l区ではすべてカルス化し、カルスから多芽体(multiple shoot)が伸長した後、多数の子球が形成した(写真E)。

BAにNAAまたは2,4-Dを組合せて添加した区に置床した未熟胚では、子球形成とカルス形成の両方が見られ、添加濃度の高い1.0mg/l区では形成したカルスの肥大が大きかった(写真F)が、褐変枯死個体も多かった。

2) 培養時期とNAA添加濃度

授粉54, 70, 95日後のさく果から摘出した未熟胚をNAA添加培地で培養した結果を表4に示した。

未熟胚の発芽率は、全培養時期を通じて0.1mg/l区は

80～100%、0.01mg/l区は73～90%と高かったが、1.0mg/l区は13～40%と低かった。添加区の発芽率は70～90%と培養時期が遅いほど高い傾向が見られた。

授粉54日後の培養では、NAA添加培地に置床した未熟胚はカルス化した後、0.1mg/l区で90%、0.01, 1.0mg/l区は40%の個体で多芽体(multipule shoot)の形成が認められた。しかし、その後の培養時期では多芽体形成は低くなり、70日後の培養では、0.1mg/l区の27%と0.01mg/l区の7%であったが、90日後の培養では全区とも0%であった。

子球形成についてみると、無添加区の形成率は培養時期により60, 87, 80%と差が見られ、培養時期の早い授粉54日後の培養が少し低かった。NAA添加培地での形成率は、0.01mg/l区と0.1mg/l区は培養時期による一定した傾向は見られず、全般的には無添加区と大差なかった。1.0mg/l区のみ全期間通じて7～30%と低かった。子球形成数は、全培養時期とも0.01mg/l区が胚当たり2～3個と他区に比べて多かった。従って、子球形成率と胚当たりの形成数から換算した種子100粒当たりの子球形成数も、無添加区の54～113個に比べて0.01mg/l区は161～270個と多かった。

表2 恒温処理温度と処理期間がササユリ未熟種子の発芽に及ぼす影響(1996)

処理温度(°C)	25°C	30°C	30°C	対照
処理期間	1か月	1か月	2か月	(全期間18°C)
発芽率(%)	27	73	82	0

(注) 供試数：1区11本(2粒/試験管、計22粒播種)、2反復、試験開始時期：9月11日、恒温処理後は、18°C、3,000lx、16時間照明の人工気象室で1か月培養後に調査した。

表3 サイトカイニンとオーキシンの組合せがササユリ未熟胚の生育及び子球形成に及ぼす影響(1996)

サイトカイニン オーキシン	BA (mg/l)			
	無添加	0.01	0.1	1.0
無添加	B B B B B 7	B B B B B 5	B C C C C 2	B B C C C 5
NAA 0.01	B B C C - 3	B B B B - 6	B B B C C 3	B C C C C 1
(mg/l) 0.1	C C C C C 1 (M)	B B B C C 3	B B B C C 3	C C C C C 0
1.0	C C C C C 0 (M)	C × × × × 0	C C C × × 1	C × × × × 1
2,4-D 0.01	B B B B - 5	B B B B × 5	B B × × × 4	B C C C C 1
(mg/l) 0.1	B B B B B 7	B B B B × 4	B B B B × 4	B C C × × 1
1.0	C C C C C 1 (M)	C C C C C 0	C C C C × 0	C C C × × 2

(注) 培養時期：9月11日、1区5個体供試、置床100日後の調査結果、B：子球形成、C：カルス形成、×：褐変枯死、-：生存、変化なし、数字は各試験区の子球形成数の合計、(M)：カルスからの多芽体形成

表4 ササユリ未熟胚の培養時期とNAA添加濃度が胚の生育及び子球形成に及ぼす影響 (1997)

培養時期 (授粉後日数)	NAA (mg/l)	発芽率 (%)	多芽体形成率 (%)	子球形成率 (%)	子球形成数(個)	
					／外植体	／種子100粒*
54日	0	70	0	60	0.9	54
	0.01	90	40	90	3.0	270
	0.1	100	90	70	1.6	112
	1.0	40	40	20	1.0	20
70日	0	87	0	87	1.3	113
	0.01	73	7	67	2.5	168
	0.1	80	27	47	0.7	33
	1.0	13	0	7	1.0	7
95日	0	90	0	80	1.3	104
	0.01	90	0	70	2.3	161
	0.1	100	0	80	1.6	128
	1.0	40	0	30	2.3	69

(注) 培養時期：54日区は7月28日，70日区は9月1日，95日区は9月19日，供試数：54，95日区は1区10個，70日区は1区15個，*：種子100粒当たりの子球形成数は，子球形成率と胚当たりの子球形成数から換算した数値で示した。

3) オーキシンの種類と添加濃度

授粉66，98日後のさく果から摘出した未熟胚を，オーキシンのNAAまたは2,4-D添加培地で培養した結果を図1に示した。

NAA添加培地に置床した未熟胚は，0.01mg/l区が発芽率87%，子球形成率77%とともに高く，次いで，0.1mg/l区がそれぞれ75%，70%であったが，無添加区の発

芽率80%，子球形成率70%と大差がなかった。これに対し，2,4-D添加培地では，発芽率92～95%，子球形成率84～90%と非常に高く，添加濃度による差はなかった。

未熟胚当たりの子球形成数は，NAA添加培地では，0.01mg/l区が1.9～2.0個，2,4-D添加培地では，1.0mg/l区が2.8～3.1個と多かった。従って，子球形成率と胚当たりの形成数から換算した種子100粒当たりの子球形

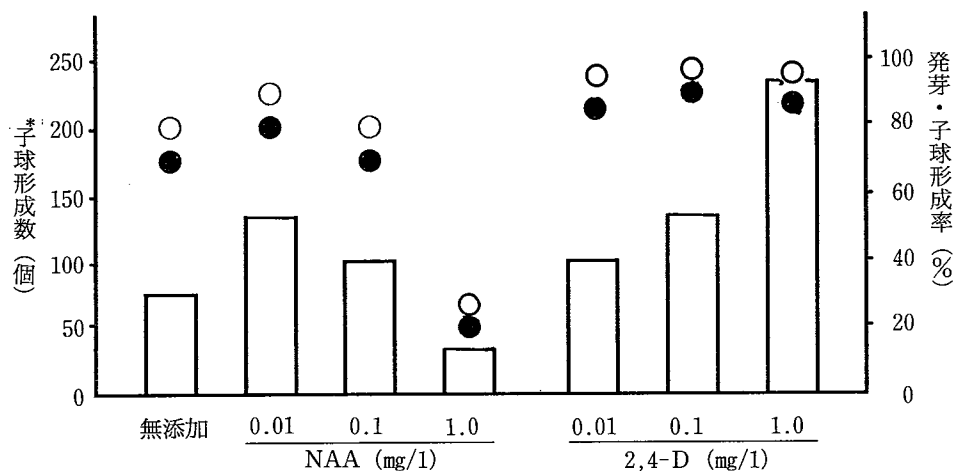


図1 オーキシンの種類と添加濃度がササユリ未熟胚の子球形成に及ぼす影響 (1997)

(注) □子球形成数，○発芽率，●子球形成率，供試数：1区15個，2反復

*：子球形成数は，子球形成率と胚当たりの子球形成数から種子100粒当たりに換算した数値で示した。

成数は、NAA 添加培地では0.01mg/1区が137個、2,4-D添加培地では1.0mg/1区が246個と、2,4-D添加培地の方が多かった。なお、無添加区の種子100粒当たりの子球形成数は73個であった。

4) 未熟胚の分割置床と NAA 添加濃度

授粉72日後にさく果から摘出した胚の大きさは約5mmであった。この未熟胚を2分割し、NAA 添加培地に置床して3か月間培養後の調査結果を表5に示した。

分割した未熟胚培養では、NAA0.05mg/1区は発芽率53%であったが、他の添加濃度は18~38%と低かった。子球形成率は無添加区の24%に対し、NAA 添加区では41~53%と少し高かった。外植体(1/2胚)当たりの子球形成数は、NAA0.05mg/1区が4.4個と多かった。子球形成率と外植体当たりの形成数から換算した種子100粒当たりの子球形成数は、0.05mg/1区が440個と多く、0.1mg/1区は222個、0.01mg/1区は158個であった。

これに対し、無分割胚の培養では、無添加区およびNAA0.01mg/1区の発芽率が77~65%、子球形成率が77~71%、外植体(胚)当たりの子球形成数は1.8~2.1個であった。子球形成率から換算した種子100粒当たりの子球形成数は138~148個で分割胚のNAA 添加区より少なかった。なお、3か月間培養後の胚の生育(出葉数および生体重)は、胚の分割の有無に関係なくNAA0.05mg/1区が一番大きく、次いで0.1mg/1区、0.01mg/1区、無添加区の順であった。

3. 未熟胚からの器内大量増殖

1) 胚由来カルスの増殖と子球形成

胚由来カルスを植物ホルモン添加培地で2か月間増殖

培養後、ホルモンフリー培地に移植して継代培養した結果を図2に示した。

増殖カルスからの子球形成率は、BA, NAA 添加区および無添加区ともに92~100%と高かった。カルス集塊(試験管)当たりの子球形成数(径2mm以上)は、BA0+NAA2.0mg/1区およびBA0.2+NAA0.2mg/1区が6.0~5.6個と他区に比べて多かった。

2) 胚由来実生球根のりん片培養

未熟胚から養成した実生球根のりん片培養の試験結果を図3に示した。

りん片からのカルス形成は、BA 無添加区では見られなかったが、BA0.2+NAA0.2mg/1区とBA2.0+NAA0~0.2mg/1区では90~100%の形成率であった。子球形成率は、BA, NAA 添加区、無添加区のすべての試験区で80~100%と高かった。りん片当たりの子球形成数は、BA0+NAA0.2mg/1区およびBA0.2+NAA0.2mg/1区が3~4個と他区に比べて多かった。

考 察

近年、県内の中山間地域に自生しているササユリは個体数が非常に減少し、このままでは絶滅の恐れがある。この現状の中で自生株の球根を培養材料として用いることは、雑菌による汚染等の問題があり、大量増殖や園芸化を目的とした種苗生産法としては好ましくない。そこで、本試験では培養材料として入手が容易で、しかも自生株を保護しながら種苗増殖が可能な方法として、開花株に授粉して得た未熟種子を利用した組織培養法の開発に取り組んだ。

表5 ササユリ未熟胚の分割とNAA添加濃度が生育および子球形成に及ぼす影響(1997)

胚の分割 有無	NAA (mg/l)	発芽率 (%)	出葉数 (枚)	生体重 (mg)	子球形成率 (%)	子球形成数(個)	
						/外植体	/種子100粒*
有(1/2)	0	18	4.5	91	24	1.1	52
	0.01	38	4.3	195	53	1.5	158
	0.05	53	8.6	451	50	4.4	440
	0.1	32	7.2	207	41	2.7	222
無	0	77	3.8	84	77	1.8	138
	0.01	65	5.0	113	71	2.1	148
	0.05	35	10.0	388	35	3.7	131
	0.1	12	6.5	239	24	4.5	106

(注) 培養時期：9月3日，供試数：1区17本(胚1個/試験管)，*：種子100粒当たりの子球形成数は、子球形成率と胚当たりの子球形成数から換算した数値で示した。

未熟種子の発芽

ササユリの種子は、地下遅発芽性という発芽習性を有するため、自然環境下では地上への発芽までに1年半を要する。そこで、湿らせたパーミキュライトに袋播きして温度処理を行なうと発芽（子球形成）促進効果が得られる¹⁷⁾（写真C）。

ササユリの無菌播種に関しては、Fukui ら³⁾は、20℃では発芽率が低く、培養系が確立できなかったことを報告し、荒井ら²⁾は、20℃で培養した場合、8月下旬まで

に採取した種子は発芽しないが、9月下旬以降に採種した種子では発芽能が確認され、11月下旬には発芽率が80%以上と最高になると報告している。この結果は本試験で9月中旬に採種して無菌播種した未熟種子（胚珠）は18℃では発芽しなかったことと一致する。

しかし、未熟種子を一定期間恒温処理を行い、18℃で培養した種子からは発芽個体が得られた。その恒温処理温度および処理期間と発芽率との関係は、25℃1か月処理区では27%、30℃1か月処理区は73%、同2か月処理

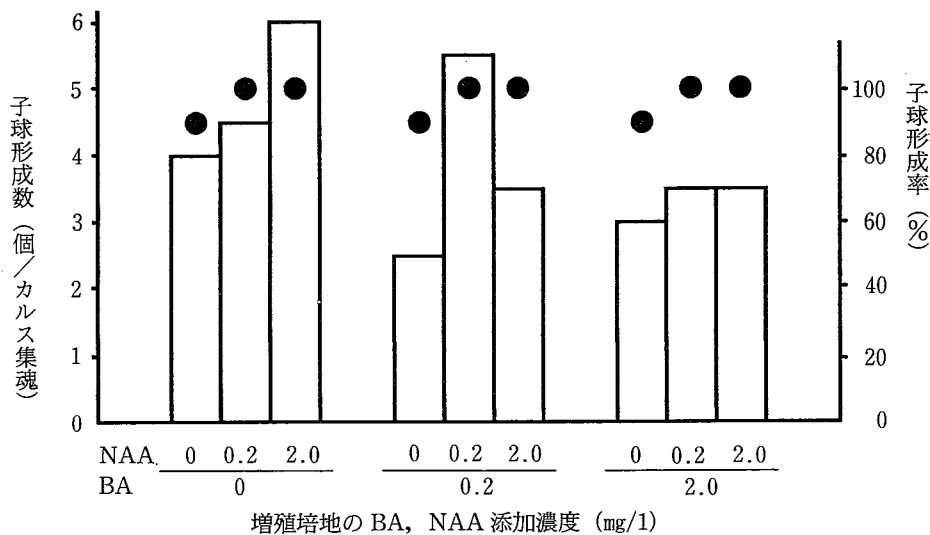


図2 BAとNAAがササユリ未熟胚由来カルスの子球形成に及ぼす影響（1996）

（注）□子球形成数，●子球形成率

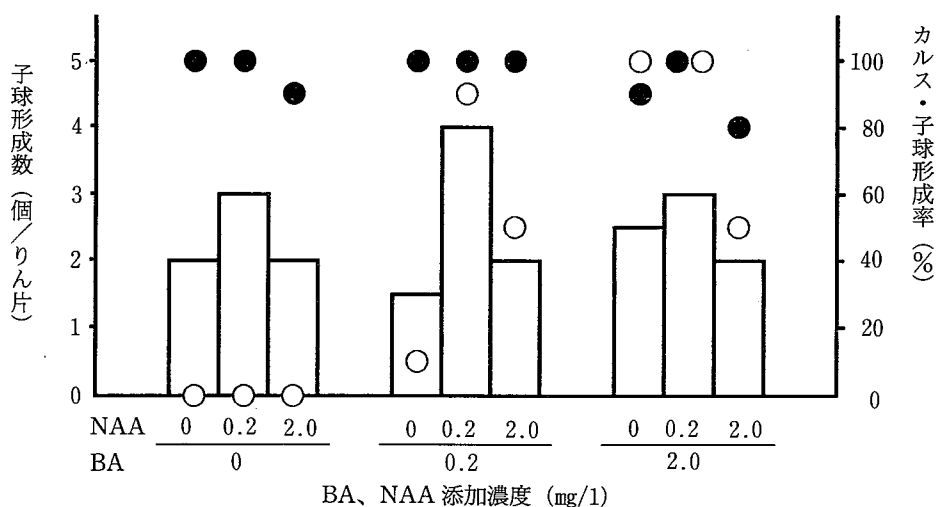


図3 BAとNAAがササユリ実生球根のリン片培養における子球形成に及ぼす影響（1996）

（注）□子球形成数，○カルス形成率，●子球形成率

区は82%あったことから、温度は30°C、処理期間は2か月が発芽促進に有効であることが認められた。

高橋ら¹⁸⁾は、ヤマユリの種子は高温処理前に種皮を全部除去すると地下発芽が著しく促進されることを認めている。本試験でも後述するように、未熟種子から胚を摘出して寒天培地に置床し、18~25°Cで培養するとほとんどの個体が発芽して子球を形成した。従って、ササユリの未熟種子には発芽抑制物質が種(珠)皮に含まれていることが推察された。

未熟胚培養による増殖・育苗

ササユリのさく果の成熟日数は140~150日、さく果1個中の稔実種子数は100~200粒である¹⁷⁾。本試験では、自生地開花株に6月中旬の授粉を行い、2~3か月後にさく果を採取して胚珠内の未熟胚を培養材料(外植体)として供試した。この時の未熟胚の大きさは3~5mmであった。

本試験で行なった未熟胚培養は、結実したさく果から無菌的に胚珠を採取し、その中から未熟胚を摘出して培地に置床して培養する方法である。その培養時期は、試験した授粉後54~98日の範囲内では培養時期が早いとNAA0.1~1.0mg/lまたは2,4-D1.0mg/l添加培地でmultiple shootを形成し、多数の子球が得られた。胚を2分割して培養すると褐変枯死する外植体(1/2胚)もあったが、NAA0.05mg/l添加培地で生存した外植体からはカルス経由の多数の子球が得られた。また、ホルモフリー培地に置床した未熟胚からも複数の子球形成が認められたが、NAA0.01mg/l又は2,4-D1.0mg/l添加培地では、培養時期にかかわらず1個の胚から複数の子球が得られた。

この1個の未熟胚から複数の子球が形成した原因については詳細は分からないが、次のことが考えられる。

植物の胚は根、茎、葉の三つの器官の基であるが、受精した卵細胞は極性により不均等分裂を行なう。この極性は重力と関係があり、胚形成の初期段階で上下を逆にすると、基部細胞の側から幼芽をつくることがある⁸⁾。また、オーキシンは切り口から容易に植物体内に入るという性質を有し、植物の受ける重力方向が変化した時には、オーキシンは極性移動を行わずに横方向へ移動する⁵⁾。以上のことから、本試験では、胚珠から摘出した未熟胚を寒天培地に置床したことが、極性により不均等分裂を促したと考えられる。また、胚摘出の際のピンセットによる附傷や、胚分割の切り口にできたカルスにオーキシンが働き、その生理作用(縦方向の伸長生長)により不定芽が形成したことも考えられる。

未熟胚からの器内大量増殖

次に、未熟胚を利用した器内大量増殖について検討する。胚培養で得た子球は、置床3か月後には球径5mm大に肥大し、数枚のりん片を有する実生球根となる。この球根のりん片を剥がして培養すれば、1枚のりん片から新たに複数の子球が得られた。また、授粉後早い時期に未熟胚をBAとNAA添加培地で培養した結果、カルス形成が認められた。このカルスをBAとNAA添加培地で増殖後、ホルモフリー培地へ移植すると子球を形成し、植物体に再生できたことから、器内大量増殖が可能となった。

Fukuiら³⁾は、ササユリの茎頂組織からNAA10⁻⁶M添加培地で子球を、BA10⁻⁵M添加培地ではカルス塊を得ている。このカルス塊をBA10⁻⁵M添加培地で継代培養して増殖した後、NAA10⁻⁶M添加培地に移植すれば多数の子球が形成する。次に、形成した子球のりん片を培養すれば新たな子球の分化が認められたと報告している。また、水口ら¹⁰⁾は、ササユリのりん片由来カルスの生長はNAA0.01+BA1.0ppm添加が最も良く、子球形成はホルモフリーまたは低濃度のNAAを含む培地が好条件であると云う。

本試験では、未熟胚由来カルスからの子球形成はホルモフリー区およびBA+NAA(各0.2, 2.0mg/l)添加区とも、形成率は何れも90~100%と高かったが、カルス塊(試験管)当たりの子球形成数はNAA2.0mg/l添加区が5~6個と多かった。また、未熟胚から養成した実生球根のりん片培養では、BA0.2+NAA0.2mg/l区が子球形成率100%、りん片当たりの子球形成数は4個と、ホルモフリー区の1~2個より多かった。

このように、本試験のさく果から摘出した未熟胚の培養でも、茎頂培養や球根のりん片培養での上記報告とほぼ同様の結果が得られササユリの培養器内での大量増殖が可能となった。

種苗生産体系と今後の課題

以上の結果から、ササユリの未熟胚培養による種苗生産と器内大量増殖法を図4に示すように体系化した。

すなわち、ササユリの開花株に授粉して得たさく果を2~3か月後に採種し、無菌的に胚珠から5mm大に生育した未熟胚を摘出してMS培地で培養すれば、胚は発芽して子球を形成する。未熟胚置床3~4か月後には、径5mm大の数枚のりん片を有する実生球根となり(写真I)、従来の慣行法による実生(写真C)に比べると、生育が促進し育苗期間の短縮と共に1個の胚から複数の子球が得られる利点がある。従って、ササユリ1個のさ

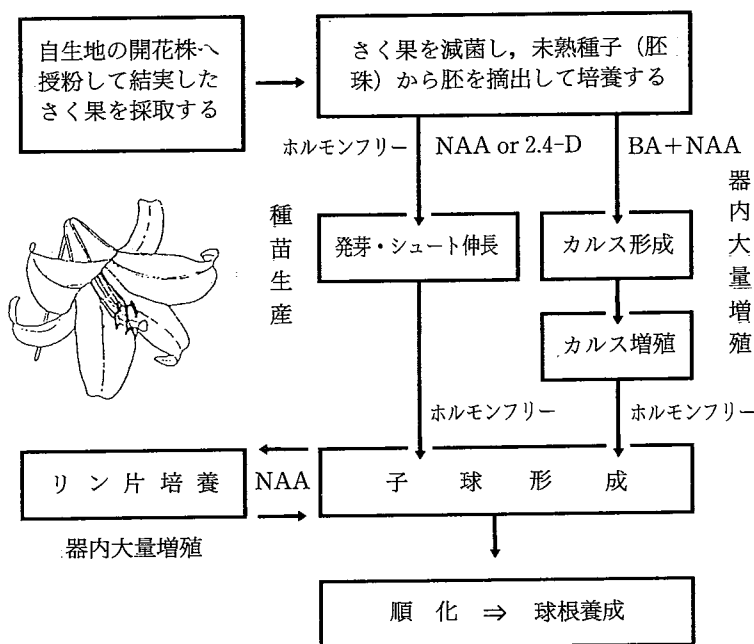


図4 ササユリの未熟胚培養による大量増殖と種苗生産体系のフロー

く果（花）中の未熟胚100個を培養すれば250～300個の子球が得られる種苗生産体系を確立した。

一方、未熟胚培養で育成した実生球根のりん片を剥がして培養すれば、1枚のりん片から新たに複数の子球が得られ、自生地球根を用いる方法に比べて雑菌による汚染が少ない。また、授粉後、早い時期に採取した未熟胚を植物ホルモンを添加した培地に置床して未熟胚から直接カルス形成を図り、継代培養によりカルス増殖を行なった後に子球形成を図る器内大量増殖体系を確立した。

この方法は、自生株の保護が可能なることから、希少自生植物の種苗生産手段として新しい発展の可能性を示すものである。しかし、ササユリは気温の高い平地では自生せず¹⁵⁾、圃場での栽培は難しく¹⁹⁾、山掘りした球根も数年経過すると消失する¹⁶⁾。従って、確立した培養技術を利用してササユリの園芸的利用を図るためには、今後、自生地の環境条件を利用した低コストで実用的な球根養成法等についての検討が必要である。

摘 要

広島県内に自生する希少植物、ササユリの組織培養による種苗生産体系を確立するため、未熟種子の発芽と未

熟胚培養による増殖法について検討した。

1. 授粉2～3か月後に採取したさく果内の未熟種子（胚珠）は、30℃の高温処理を1～2か月間行なった後に18℃で培養すると発芽した。
2. 胚珠から3～5mm大に発育した未熟胚を摘出し、ホルモンフリーのMS培地に置床して25℃で培養すると発芽した後に子球を形成した。
3. 未熟胚をNAA0.01mg/lあるいは2,4-D1.0mg/l添加培地で培養すると、1個の胚から複数の子球形成が認められた。従って、1個の花に授粉して得た1さく果中の100粒の未熟種子からは、250～300個の実生球根が得られた。
4. 未熟胚から形成した実生球根のりん片を剥がし、BAとNAAを0.2mg/l添加した培地で培養すると各りん片に新たに複数の子球が形成し、継代培養による大量増殖が可能であった。
5. この方法は、自生株に授粉して得た種子を培養材料として用いるため、種の保護に役立つと共に、種苗の安定供給も可能となり園芸的利用を目的とした種苗生産手段として有効である。

謝 辞

本研究を実施するにあたり、大朝町大朝の脇本大六氏には試験材料の提供を頂いた。また、1997年の試験については、広島県立西条農業高等学校の里譲治教諭と広島県山県郡芸北町産業振興課の表崎宗樹技師の協力を得て行なった。ここに記し各位に対し厚くお礼申し上げる。

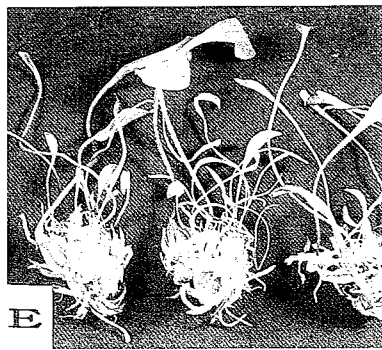
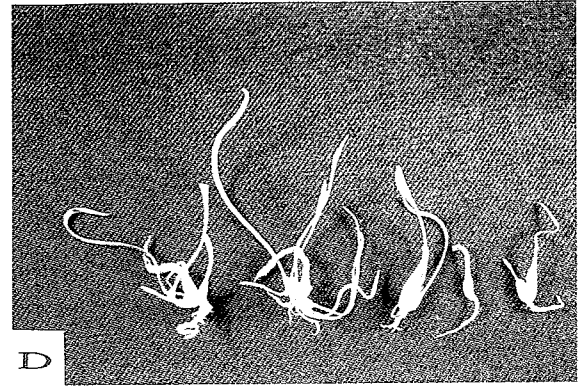
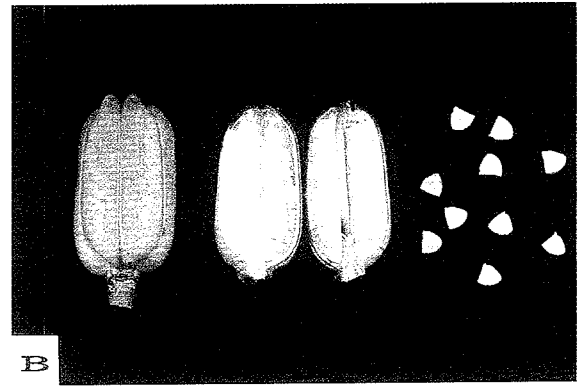
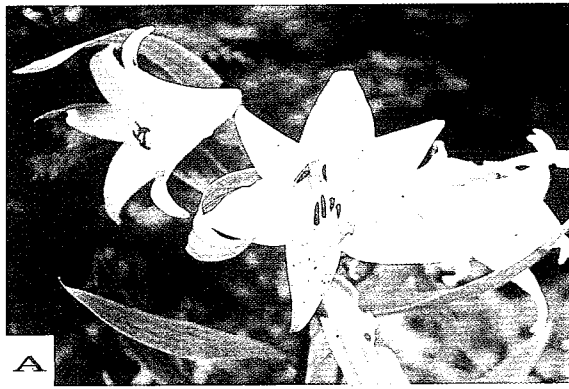
引用文献

- 1) 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.
- 2) 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採種時期の影響. 近畿中国農研. 95 : 59-60.
- 3) Fukui, H., N. Adachi, T. Hara and M. Nakamura: 1989. *In Vitro* Growth and Rapid Multiplication of *Lilium japonicum* Thunb. 植物組織培養. 6(3): 119-124.
- 4) 春木和久・山田員人：1992. 液体培養によるササユリ (*Lilium japonicum* Thunb.) 球根の生育促進. 園学中四国支部要旨. 平成4年度: 64.
- 5) 賀来章輔・倉石 晋：1980. 植物の生長と発育. p66-67. 共立出版. 東京.
- 6) 市川 健：1993. 長期無継代培養によるササユリ (*Lilium japonicum* Thunb.) りん茎の増殖. 静岡農試研報. 37 : 103-111.
- 7) 河原林和一郎：1993. 組織培養によるササユリ子球生産の実用化. 園学雑. 62(3) : 611-618.
- 8) 小西国義：1982. 植物の生長と発育. p13-15. 養賢堂. 東京.
- 9) Maesato, K., K. S. Sarma, H. Fukui and T. Hara: 1991. *In vitro* bulblet induction from shoot apices of *Lilium japonicum*. HortScience. 26(2): 221.
- 10) 水口 茂・大川勝徳：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(1) : 131-137.
- 11) Murashige, T. and F. Skoog: 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 15: 473-497.
- 12) 永瀬 幸・福井博一・中村三夫：1990. *In vitro* でササユリの子球肥大に関する研究. 岐阜大農研報. 55: 137-142.
- 13) 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.
- 14) 大川勝徳・水口 茂・松田秀明：1990. ササユリのりん片培養に関する研究. 第1報 雑菌汚染に関するTBZの防止効果. 園学雑. 59(別2) : 638-639.
- 15) 野村 正：1955. 山口県に於けるササユリ (*Lilium japonicum* Thunb.) の自生地分布に就て. 山口農試研報. 5: 30-36.
- 16) 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.
- 17) 清水基夫：1987. 日本のユリ 原種とその園芸種. p132-136. 誠文堂新光社. 東京.
- 18) 高橋英明・原 靖英：1994. ヤマユリ種子の発芽促進に関する研究. 山形大学紀要(農学). 12(1) : 7-14.
- 19) 山村 清・久保田 保：1985. ササユリの栽培技術体系の確立に関する研究. 第2報 ササユリの生育試験及び市場性について. 園学中四国支部要旨. 昭和60年度: 48.

Method of the Seeding Production of Rare Native Plants with *in Vitro* Culture2. *Lilium japonicum* Thunb.

Hiroshi FURUYA

Key Ward: rare native plants, *Lilium japonicum* Thunb., *in vitro* culture, immature embryo culture, seeding production



A: 自生地の開花株, B: 授粉により結実したさく果と未熟種子, C: 慣行法による実生, D: 未熟胚培養による実生, E: 未熟胚から誘導した多芽体 (multiple shoot), F: 未熟胚から誘導したカルス, G: カルスからの子根形成, H: 未熟胚置床3か月後の培養状態, I: 未熟胚培養により育成した子球 (置床4か月後)

写真: ササユリ