

氏名	かわらばやし わいちろう 河原林 和 一 郎
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学位記番号	論 農 博 第 2058 号
学位授与の日付	平 成 8 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	組織培養による球根の大量増殖法を利用したユリ生産体系の実用化に関する研究

論文調査委員	(主 査) 教 授 矢 澤 進 教 授 杉 浦 明 教 授 行 永 壽 二 郎
--------	--

### 論 文 内 容 の 要 旨

重要な園芸植物であるユリ類の栄養繁殖系の種類では、ウイルス汚染による切り花品質の低下や球根収量の減少が栽培上大きな問題となっている。本研究は、このような問題点を解決するため、優良な形質を持つ品種の無病種球を簡便な組織培養法で効率よく大量増殖し、さらに、これら培養球根の栽培における生育特性を明らかにすることによって、実用的なユリ生産技術を開発しようとしたものである。

第Ⅰ章では、ウイルスフリー球根を大量に増殖するための第1段階として、ユリ属13種の茎頂組織の培養を行ない、*in vitro*での増殖に用いる肥大りん片を多数有する小球根を短期間で形成させる種々の条件について検討した。さらに、茎頂培養に由来する植物体のウイルスの保毒状態について調査した。茎頂組織からの発根や形成された葉条基部の肥大・りん片化を促進するためには、Murashige・Skoog (MS) 培地の主要塩類組成に NAA  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{liter}^{-1}$ 、シヨ糖  $40 \text{ g} \cdot \text{liter}^{-1}$  を添加し、pH を 5.7 を中心として 4.7 から 6.7 に調整した培地が適することを明らかにした。カノコユリやヤマユリなどの種 (species) では、サイトカニン類の添加によって、小さな不定芽を多数分化する‘不定芽塊’の形成が促進された。培養温度は  $23^{\circ}\text{C}$  程度が葉条や根の生育に適し、一般に、培養温度が高くなると葉の伸長が抑制され、りん片の肥大は促進されることが認められた。培養中の照明は葉の伸長を促し、りん片の形成・肥大には、 $1,500 \sim 4,000 \text{ lx}$  での  $18 \sim 24$  時間照明が適した。植物体葉汁の電子顕微鏡によるウイルス粒子の観察およびタカサゴユリ実生苗への接種によるウイルス検定は、鉢上げした被検定植物の比較的早い生育段階での紐状ウイルスの検出に利用できることを明らかにし、茎頂培養に由来する子球がウイルスフリーであることを確認した。

第Ⅱ章では、得られたウイルスフリー子球を *in vitro* で効率よく増殖する条件を明らかにするとともに、培養球根の鉢上げ後の生育特性について調査した。りん片を培養材料として利用することが子球の増殖に最も適し、りん片の切断片を培養することによって増殖効率が向上した。子球の分化に適した培養条件は、茎頂培養の場合と同様であったが、分化した子球の肥大には、培地中のシヨ糖濃度を  $60 \sim 120 \text{ g} \cdot \text{liter}^{-1}$  とし、培養温度を  $27 \sim 28^{\circ}\text{C}$  に高めると著しい効果が認められた。これらの培養球根は、生育旺盛であり、

休眠の期間は *in vivo* のものと同様であった。シンテッポウユリやトサヒメユリのような実生系・小球性のユリでは、培養球根鉢上げ後第1作目で切り花を得ることが可能であった。

第Ⅲ章では、ササユリをモデルとして、このりん片培養の工程を省力化し、かつ、スケールアップする方法を確立するとともに、得られた球根による成球生産を試みた。比較検討した培養方法の中で実的なものとして、液体通気培養法を選定し、前章で得た培養条件を若干修正して、大気を通気することによって効率よく子球を増殖した。さらに、子球の簡易切断用具とコンテナボックスで作製した簡易培養槽を用いることで、簡便な組織培養による球根の大量増殖に成功した。これらの液体通気培養球根も、固形培地で得られた球根と同様の生理的特性を示した。低温処理や  $GA_3$  処理を利用することによって、開花株までの栽培期間を大幅に短縮でき、ササユリでは早いものでは栽培1年で鉢花や切り花を生産できることを明らかにした。

第Ⅳ章では、本論文の総括を行ない、組織培養による球根の大量増殖法を基本としたユリ類の生産体系の実用化技術の問題点を整理し、その解決法を明示した。

### 論文審査の結果の要旨

ユリ類の栽培では、栄養繁殖系の種類でのウイルス汚染による切り花品質の低下や種球の収量の減少が問題となっている。本論文は、これらの問題点を解決するために、優良な形質を持つ品種のウイルスフリーの種球を組織培養を利用して、簡便で効率的に大量増殖する実用的技術の開発について研究したもので、成果として評価すべき点は次の通りである。

*In vitro* でのウイルスフリー球根を大量増殖するために、ユリ属13種についての茎頂培養法を確立した。さらに、増殖に用いる肥大りん片を多数有する小球根を短時間で形成させるための諸条件について検討した。その結果、Murashige・Skoog 培地の主要塩類組成に植物生長調節物質 NAA を加えてシヨ糖濃度を  $40 \text{ g} \cdot \text{liter}^{-1}$  とし、pH を 4.7 から 6.7 の間に調整した培地が適することを明らかにした。培養温度は  $27 \sim 28^\circ\text{C}$  でりん片の形成・肥大を促進し、光条件としては  $1,500 \sim 4,000 \text{ lx}$  で  $18 \sim 24$  時間照明が適していた。また、カノコユリやヤマユリでは、サイトカイニン類の培地への添加によって‘不定芽塊’の誘導に成功し、これを用いることにより、さらに効率よく肥大りん片を持つ植物体を作り出すことが可能であることを認めている。これらの培養条件を組み合わせることにより、*in vitro* での大量増殖のための外植体りん片が容易に、かつ、短期間で多数得られることが明らかになった。電子顕微鏡による検鏡法および新たに開発したタカサゴユリ実生苗に対する葉汁接種法を用いて、培養由来球根はウイルスフリーであることを確認している。

次に、りん片に直接小球根を *in vitro* で分化させ、これを種球として利用するための諸条件について検討した。その結果、切断りん片を用いることにより多数の小球根をつくることに成功し、従来の方法にくらべて増殖効率が著しく高まることを認めた。球根の肥大は、培地のシヨ糖濃度を  $60 \sim 120 \text{ g} \cdot \text{liter}^{-1}$  とし、 $27 \sim 28^\circ\text{C}$  で培養することにより促進された。このようにして得られた培養肥大球根は、鉢に植え付け後の生育も旺盛でいくつかの種 (species) では第1作目で良品質の切り花を得ることができ、培養球根の実際栽培への利用が可能であることを明らかにした。

培養工程をさらに省力化，スケールアップするために，大気を通す簡便で実用的な液体培養法を開発して，ササユリの種球の大量増殖に成功し，この方法は生産地で実用化が進められている。加えて，培養球根は低温処理や GA<sub>3</sub> 処理を行なうことで開花株までの球根養成期間を著しく短縮することを認めている。

以上のように本論文は，ウイルスフリー種球生産のための大量増殖法の実用化技術を確立したもので，花卉園芸学並びに園芸種苗生産の実際に寄与するところが大きい。

よって，本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお，平成 8 年 2 月 19 日，論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果，博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。