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

春木和久¹・山田員人²・細木高志¹・太田勝巳¹

¹島根大学生物資源科学部 690 島根県松江市西川津町

²島根県農業試験場 693 島根県出雲市芦渡町

Effects of Sugar and Temperature on the Growth of Miniature Bulbs of *Lilium japonicum* Thunb.
Cultured on a Rotary Shaker.

Kazuhisa Haruki¹, Kazuto Yamada², Takashi Hosoki¹ and Katsumi Ohta¹

¹Faculty of Life and Environmental Science, Shimane University, Nishikawatsu-cho, Matsue, Shimane 690

²Shimane Agricultural Experiment Station, Ashiwata-cho, Izumo, Shimane 693

Summary

We investigated conditions which promote bulb enlargement of *Lilium japonicum* Thunb. cultured on a horizontal rotary shaker before transplanting in the soil.

Sucrose, maltose or glucose was added to the liquid Murashige Skoog's (MS) medium, and their utilization by the bulbs was monitored. Sucrose was hydrolyzed into glucose and fructose, which resulted in an increase in osmotic pressure and subsequent suppression of bulb growth. Little maltose was absorbed by the bulbs, and therefore it was useless for bulb growth. A 3% glucose medium was optimum for bulb growth.

Bulb growth, as measured by fresh weight increase, in the shaking medium kept at 20 °C was better than that kept at 25 °C. However, cumulative absorption by the bulbs of NH_4^+ , NO_3^- and glucose from the medium at 25 °C was almost equal to that at 20 °C. It suggested that the consumption of sugar at 25 °C was greater than that at 20 °C.

More bulbs which were cultured in the MS medium with glucose, chilled at 0 °C, potted, and planted in the greenhouse sprouted and bolted at 20 °C than did those kept at 25 °C. The chilling period for maximum sprouting and bolting was three months.

緒 言

中部地方以西に広く分布するササユリ (*Lilium japonicum* Thunb.) は自生地環境変化や採取によりその数は減少しつつあり、自生地の回復あるいは園芸植物としての利用を目的として各地でその増殖が試みられている。ササユリは実生によって開花するまでに4~5年を要する(清水, 1987; 水口・大川, 1995)ことから組織培養による急速な増殖法の研究が行われている(Fukui ら, 1989; Tanaka ら, 1991; 浅尾ら, 1992; 市川, 1993; 水口ら, 1994; Niimi, 1995)。しかしながら、得られた球根を開花させるためにはさらに

数年の養成期間を要する。養成期間を短縮するためには培養時にできるだけ大きな球根を短期間で養成することが必要である。

ヤマユリやヒメサユリの培養においては小球の生育が固形培地よりも液体培地で促進されることが明らかにされている(高山, 1984; 新美・斉藤, 1990)。ササユリについては、液体通気培養による省力的な増殖法が開発されており(河原林, 1993)、球根肥大を促進するためにショ糖濃度あるいはオーキシンなどの植物ホルモンについて固形培地で検討されている(福井ら, 1990; 水口・大川, 1994)。また、筆者らはササユリを液体振とう培養することによって固形培地より球根が早く肥大する可能性を指摘した(春木・山田,

1992).

培養においてエネルギー源として糖は重要な働きをしており、培地中の糖濃度変化を知ることは、培養条件を検討するうえで重要であると考えられる。しかしながら、これらに関する報告は、ササユリ（河原林，1992），オリエンタルハイブリッド系ユリ（加藤ら，1994）などでショ糖について検討されているにすぎない。そこで、培養中の糖の種類と濃度の変化について検討したところ、とくにブドウ糖の添加が球根肥大に対して顕著な促進効果のあることが明らかとなったので、その結果を中心に報告する。また、培養温度は糖の吸収、消費と関連していることが示されており（山岸，1991），球根の肥大促進を検討する上で重要な条件と考えられるので、併せてブドウ糖を用いた液体振とう培養における培養温度の影響についても述べる。

材料および方法

1. 糖の種類と球根の肥大

島根県吉田村で採取した実生1個体からりん片繁殖させたササユリ球根のりん片切片をホルモンフリーの Murashige-Skoog (MS) 培地（Murashige・Skoog, 1962）で培養して得られた0.1~0.3 gの小球を材料として用いた。各種の糖を添加したホルモンフリー MS 培地を250 ml 入れた500 ml 容三角フラスコに20個の小球を入れ、直径10 mmの除菌フィルターをついたサンキャップシート（岩城硝子）でふたをし、20℃暗黒条件、100 rpm（旋回式）で液体振とう培養を行った。添加する糖は、3%ブドウ糖、3%または6%ショ糖、3%または6%マルトースとし、フラスコは各区2個ずつ用いた。培地の更新は、培養5および9週間後に行い、13週間後まで培養を続けた。培地更新時と培養終了時に球根重量を、また培養終了時に乾物重を測定し、りん片数を調査した。また、培養中に10日間隔で培養液の糖濃度を測定した。

乾物重は、試料を120℃の乾燥器に入れ、重量変化がなくなった時点での重量を測定して求めた。糖濃度はHPLC（LCモジュール1，日本ウォーターズ・リミテッド）を用いて測定した。カラムはマイクロボンダスフェアー（5 μ NH₂ 100 Å 15 cm 規格，日本ウォーターズ・リミテッド）を，溶離液はアセトニトリル：水=80：20（V/V）とし，カラム温度は40℃，流速は1.0 ml/分として，示差屈折計で測定した。

2. ブドウ糖濃度と球根の肥大

液体培地に添加する糖を1.5，3.0，4.5および6.0%のブドウ糖として，1. で用いた0.1~0.3 gの

小球を培養した。150 mlの培地を入れた300 ml 容三角フラスコに10個の小球を入れ，フラスコを各区3個ずつ用いて上記と同様にして実験を行った。培地更新は培養6，10週間後に行い，13週間後まで培養し，培地交換時および培養終了時に球根重量とブドウ糖濃度を調査した。ブドウ糖濃度の測定は，臨床血液検査用の試薬グルコースCⅡテストワコー（和光純薬）によって測定した。

3. 温度条件と球根の肥大

ブドウ糖3%を添加したMS培地200 mlを入れた500 ml 容三角フラスコに0.1~0.2 gの小球を30個入れ，暗黒条件で液体振とう培養を行った。培養温度は20℃および25℃とし，各区3個のフラスコを用いて同様の実験を行った。また，各区とも小球を入れないフラスコを同じ条件で液体振とう培養し，blankとした。培養16週間後に球根重量を調査し，1 g以上に肥大していた球根を各区4個のフラスコにほぼ同数ずつ移植してさらに6週間同じ条件で培養を続けた。培地の交換は，培養12週間後までは4週間間隔，その後は2週間間隔で行った。培地交換時に培地中のブドウ糖，NH₄⁺ およびNO₃⁻の濃度，フラスコ内に残っている培地の残存量を測定した。

ブドウ糖濃度の測定は上記実験と同様にして行い，NH₄⁺ はイオンクロマトグラフィー（DX-100，日本ダイオネックス）によって測定した。NO₃⁻の測定はHPLC（LCモジュール1）を利用した。カラムはIC-Pak Anion（日本ウォーターズ・リミテッド）を，溶離液はカラム取扱説明書に従ってBorate/Gluconate溶離液を用い，214 nmで吸光度を測定して定量した。

得られた球根はホルモンフリー MS 固形培地に移植し，フラスコに入れたまま0℃暗黒条件で1~3か月間低温処理を行った後，バーミキュライトを入れた10号素焼鉢（30 cm 径）に植え付けた。また，定植前に重量，球径を調査し，定植3か月後に発芽および抽だいを調査した。

結 果

1. 糖の種類と球根の肥大

各種の糖を培地に添加した場合の球根の肥大状況を第1図に示した。球根重量はブドウ糖およびショ糖添加区では5週間後には約2倍に増加した。その後，ブドウ糖3%添加区では球根重量が急速に増加したのに対して，ショ糖3%添加区では球根重量は増加したものの，その増加割合はブドウ糖3%添加区より低かった。ショ糖6%添加区では9週間後までは球根重量が

わずからず増加したが、その後はほとんど変化がなかった。マルトース添加区では3%, 6%添加区とも球根の重量増加はごくわずかであり、9週間後から11週間後の間はほとんど増加しなかった。

培養終了時の乾物重およびりん片数を第1表に示した。乾物重はブドウ糖添加区で最高値を示したのに対して、マルトース添加区では0.06~0.07 gで他の区に劣った。また、球根の充実度を示す乾物重と生体重の比 (DW/FW) はショ糖およびブドウ糖添加区ではほぼ同程度でマルトース添加区では低かった。りん片数はブドウ糖添加区において約10枚であるのに対して、球根重量の最も小さいマルトース添加区で約8枚であり、その差はわずかであった。

培地中の糖の濃度変化を第2図に示した。ブドウ糖濃度は培養期間の経過とともに減少し、球根の重量増加とともにその減少量が大きくなった。ショ糖添加区では、ショ糖濃度が急速に減少し、ブドウ糖および果

糖濃度が増加した。その際、ブドウ糖と果糖の濃度はほぼ等しかった。ショ糖3%添加区では、培養終了時にはショ糖はほぼなくなり、ブドウ糖および果糖に変わっていた。ショ糖6%添加区でも同様にショ糖濃度が減少したが、ブドウ糖および果糖の増加量が多く、糖の合計量は培地交換時とほとんど差がなく、糖の吸収量は少なかった。マルトースは培養期間中にほとんど減少しておらず、吸収量がごくわずかであることが明らかとなった。

2. ブドウ糖濃度と球根の肥大

培地に添加したブドウ糖の球根重量に及ぼす影響を第3図に示した。球根重量はブドウ糖3.0%添加区で最も良好な増加を示し、1.5%, 4.5%添加区がこれに次いだ。6.0%添加区では重量増加が少なく、3.0%添加区に比べて培養終了時の重量が半分以下であった。培地更新前後の培地中の残存ブドウ糖濃度を第2表に示した。各区とも培地更新時には培養開始時の1/2以上のブドウ糖が残存していた。ブドウ糖濃度の減少量は第一回目の培養では4.5%区が最も多く、6.0%, 3.0%, 1.5%区の順になったが、2回目以降は球根重量増加の良好な区で多く、6.0%区で最低となった。

3. 温度条件と球根の肥大

20℃および25℃で培養した場合の球根重量の変化を第4図に示した。培養8週間後までは両者の間に差はほとんどみられなかったが、その後20℃培養区では球根の肥大速度が徐々に増加し、16週間後の平均重量は25℃培養区に比べて20%程度大きくなった。この時点で1g以下の球根を取りのぞき、新しいフラスコに移植して培養密度を下げて培養を続けた。移植約4週間後までは両区ともほぼ同様な球根重量の増加を示したが、その後20℃培養区ではひきつづき球根重量が増加したのに対して、25℃培養区では重量増加がほぼ停止した。また、培養終了時には25℃区で

Fig. 1. Growth curves (F. W.) of lily bulbs as affected by sugars. The medium was renewed each time the bulbs were weighed. Different letters indicate significant differences by Duncan's multiple range test (5% level).

Table 1. Effect of different sugars on dry weight gains by *Lilium japonicum* bulbs and the number of bulb scales which developed in the liquid - shaking culture medium.

Sugar	Concentration (%)	Dry weight (g)	DW / FW	Number of bulb scales
Glucose	3.0	0.37 a ^z	0.24	10.8 a ^z
Sucrose	3.0	0.20 b	0.23	9.7 a
Sucrose	6.0	0.16 b	0.26	7.6 b
Maltose	3.0	0.06 c	0.18	8.1 b
Maltose	6.0	0.07 c	0.19	8.0 b

^z Different letters indicate significant differences by Duncan's multiple range test (5% level).

Fig. 2. Changes in sugar concentrations during bulb growth. Analyses were made at 10-day intervals.

Fig. 3. Effect of glucose concentration on bulb growth (F.W.). Different letters indicate significant differences by Duncan's multiple range test (5% level).

はりん片が褐変する球根が多数観察された。

20℃および25℃における培養16週間後(移植時)と22週間後(培養終了時)における球根重量の度数分布を第5図に示した。16週間後の度数分布のピークは、20℃区では1.9g付近にみられたが、25℃区では1.5g付近と0.5g付近の2か所にみられた。22週間後の度数分布は、20℃区では1~5gまでの広範囲に分布したが、25℃区では2.5g付近をピークとする分布となった。

培地からのブドウ糖、 NH_4^+ 、 NO_3^- の吸収量を比較するために、球根の入ったフラスコとブランクにおける濃度および培養液の残存量から各成分の吸収量を算出し、培養期間中の球根1球当たりの累積吸収量を求めた。この結果を第6図に示したが、各成分の吸収量は両温度区ともほとんど差はなかった。

Table 2. Changes of glucose concentrations in the medium.

Concentration (%)	Subcultures	Culture period (weeks)	Start ^z (%)	Termination ^y (%)	Difference (Start - termination)
1.5	Initial	6	1.50	1.03 ± 0.05	0.47
	First	4	1.50	1.16 ± 0.23	0.34
	Second	3	1.59	0.87 ± 0.05	0.72
3.0	Initial	6	2.89	2.38 ± 0.01	0.51
	First	4	3.33	2.29 ± 0.12	1.04
	Second	3	3.02	2.23 ± 0.04	0.79
4.5	Initial	6	4.80	3.94 ± 0.03	0.86
	First	4	5.03	4.43 ± 0.26	0.60
	Second	3	4.50	4.09 ± 0.21	0.41
6.0	Initial	6	6.44	5.83 ± 0.13	0.61
	First	4	6.68	6.53 ± 0.55	0.15
	Second	3	6.09	5.75 ± 0.38	0.34

^z Values indicate glucose concentration in the medium at the start of culture.^y Values indicate mean ± standard error in the medium at the termination of culture.

Fig. 4. Effect of temperatures on bulb growth (F. W.). The arrow indicates the time of transplanting bulbs heavier than 1g. Vertical bars indicate standard error. Mean separations were significantly different by t-test (5% level).

培養温度を変えて得られた球根の定植後の生育状況を第3表に示した。低温処理開始時の平均球根重量は20℃培養区では約3.1g、25℃培養区では約2.8gであったが、低温処理中の球根はわずかつづ肥大する傾向があり、定植時には処理期間の長いものの球根重量が大きくなった。1か月低温処理区では発芽は全くみられず、3か月低温処理区で最も発芽率が高かった。また、20℃培養区は25℃培養区に比べて発芽率が高かった。抽だい率は20℃培養3か月低温処理区で最も高く68%となった。この区について更に栽培を続けたところ、翌年には25個体中2個体が開花した。

考 察

ササユリ球根の培養においては一般にショ糖が用いられており、他の糖については検討されていない。そこで、液体振とう培養に用いる糖としてショ糖以外にブドウ糖、マルトースを用いたところ、ブドウ糖で球根の肥大が最も良好であった。

ショ糖を利用した場合には3%の濃度で比較的肥大が良好であるのに対して、6%では肥大が悪くなることが認められた。新美・斎藤(1990)はヒメサユリを用いた実験で培地の浸透圧について考察し、ショ糖濃度5%が子球生長の限界であると推定しており、筆者らのササユリに関する実験でもこれに矛盾しない結果が得られた(第1図)。

植物の種子や球根の貯蔵養分は主としてデンプンで

Fig. 5. Frequency distribution of weight of fresh bulb cultured at 20 or 25 °C.

Fig. 6. Cumulative absorption of glucose, NH_4^+ and NO_3^- based on the medium volume and the concentration of each component in culture flasks.

あり、これは一般に酵素によってマルトースやブドウ糖に分解されて利用されている。ショ糖を培地に用いた場合には、その一部がブドウ糖と果糖に分解後利用されることが明らかとなっており（山岸，1991；河原林，1992；加藤ら，1994），筆者らも、球根の生育状況には関係なくショ糖が分解されていることを認めた。

ショ糖 3% 添加区と 6% 添加区を比較すると球根肥大の劣る 6% 添加区の方がショ糖の分解量が多くなっている（第 2 図）。ショ糖 3% 添加区では培養開始時の糖のモル濃度は 0.09 M であり、終了時の 0.11 M とほとんど差がないのに対して、6% 添加区では培養開始時には 0.18 M で終了時には 0.31 M となり、約 2

Table 3. Effects of liquid medium shaking culture temperatures and subsequent chilling (0 °C) periods in vitro on growth of *Lilium japonicum* after transplanting in soil.

Temp. (°C)	Chilling period (months)	Numver of treated bulbs	Bulb size at planting		After 3 months	
			Wiegth (g)	Diameter (mm)	Sprouting (%)	Bolting (%)
20	1	34	3.4 ± 0.17 ^z	22 ± 0.43 ^z	0	0
20	2	20	3.6 ± 0.16	22 ± 0.40	50	30
20	3	25	4.0 ± 0.17	24 ± 0.80	92	68
25	1	28	2.8 ± 0.13	23 ± 0.57	0	0
25	2	15	2.9 ± 0.13	23 ± 0.41	60	0
25	3	25	3.3 ± 0.17	24 ± 0.68	60	8

^z Values indicate means ± standard error

倍にモル濃度が上昇している。これは、3%添加区では分解と吸収がほぼ均衡しているのに対して、6%添加区では吸収される以上に分解が進んだためと考えられる。さらに、これによって6%添加区では培地の浸透圧が上昇していると推定される。これに対して、ブドウ糖3%添加区では培養開始時に0.17 Mで終了時には0.07 Mとなり濃度が大幅に低下し、それにとともに浸透圧も低下していると考えられる。ブドウ糖添加量の実験においては、3%添加区で最も肥大が良好で、6%添加区で肥大が抑制されることが示されたが(第3図)、6%添加区の培養開始時モル濃度0.33 Mは、球根肥大が抑制されたショ糖6%添加区の培養終了時の糖のモル濃度0.31 Mとほぼ等しく、球根肥大が高浸透圧によって抑制されることが推定される。

これらの結果から、ショ糖6%添加区において培養後期に球根肥大が停滞するのは、ショ糖が分解されて培地の浸透圧が上昇し、養分吸収量が低下して肥大速度が低下し、そのために糖の吸収がさらに低下して浸透圧が上昇するという悪循環に陥るためであると推察される。したがって、ショ糖を培地に用いる場合には吸収量と分解量が均衡するように培地の量、糖濃度、球根の数量を調節する必要があると考えられる。加藤ら(1994)も、オリエンタルハイブリッド系ユリにおいて同様のことを指摘している。これに対してブドウ糖を用いる場合には培養過程で糖の分解による浸透圧の上昇を考慮する必要はなく、培地に利用する糖としてブドウ糖が適していると考えられる。

マルトースはササユリ球根の液体培養ではほとんど利用されないことが明らかとなった。マルトースで培養した場合、球根の生体重はわずかに増加するものの、乾物重の増加はさらに微少であることから、生体重の

増加は水分を吸収したためであると考えられる。

新美・斎藤(1990)はヒメサユリ子球の充実度を示す乾物率を調査し、約20%であることを明らかにしているが、ササユリにおいてもブドウ糖あるいはショ糖を用いた場合23~26%の値を示しており(第1表)、ほぼ同程度の値といえる。なお球根の充実度を比較するために、別途に固形培地で培養したものあるいは土壌中で栽培した球根のDWとFWの比の値を調査したところ、固形培地では0.24、土壌中のものは0.33であった。ブドウ糖あるいはショ糖を用いた液体振とう培養で得られた球根は土壌中のものと比べるとやや小さな値となったが、固形培地とは大きな差はなかった。したがって、ササユリの液体振とう培養でも水分吸収ばかりでなく乾物重の増加を伴った肥大が行われていることが明らかとなった。しかし、球根重量の大きなグルコース添加区と球根重量の小さなマルトース添加区において、重量の差に比べてりん片数の差が小さいことから(第1表)、重量増加がりん片数増加よりもむしろりん片への養分蓄積の結果であると考えられ、今後りん片数と定植後の生育について検討する必要がある。

培養中の温度については25 °Cより20 °Cが適当であり、22週間の培養で条件が良い場合には約3 gの球根が得られることが明らかとなった。浅尾ら(1992)は固形培地においてショ糖濃度、培養環境を検討して、150日後に約1.5 gの球根を得ている。しかし、筆者らの実験では液体培地を利用することにより、この約2倍の球根を得ることが可能であった。

山岸(1991)は固形培地を用いた実験で、26 °Cでは外側のりん片が褐変する現象を認め、その原因が呼吸量の増加にあることを示している。筆者らも、25

℃の培養区においてりん片の褐変を観察した。また、培養中のブドウ糖、 NO_3^- 、 NH_4^+ の吸収量はほぼ同じ値を示しているにもかかわらず（第6図）、球根重量は20℃区で優れていた（第4図）。従って、液体培養において20℃区に比べて25℃区の球根肥大が劣るのは、25℃区では呼吸量が大きく、吸収したブドウ糖を呼吸で消費したためであると推察される。

また、25℃培養区では、16週間後の調査で順調に肥大する球根と肥大が抑制された1g以下の球根に分かれることが示されており（第5図）、このために培養終了時に得られる球根数が20℃区に比べて少なくなった。培養初期の段階で肥大が停止する球根はいずれも褐色あるいは黒変していた。ユリの培養は一般に25℃で行われているが、ササユリの液体振とう培養においては、25℃では生育障害が発生することが明らかとなった。

ササユリ球根は培養中に休眠に入るため、定植前に低温処理が必要であり（Niimi, 1995）、20℃培養球では0℃で約3か月の処理で休眠が打破できることが明らかとなった（第3表）。25℃培養球ではさらに長期間が必要であると考えられる。最も発芽および抽だい率の高かった20℃培養3か月低温処理区では定植時に重量約4g、直径約24mmとなっており、半数以上が抽だいし、さらに翌年には8%が開花した。Niimi (1995) は試験管内で0.4g以上に生長した球根を用い、開花するまでに少なくとも2年の栽培が必要であるとしている。水口・大川（1995）は約0.045gに生長した培養球を用い、3年目に開花したことを報告しており、更に球周長が約12cm以上になるとほぼ100%が開花することを示している。したがって、液体振とう培養によって得られた球根は、今後、定植後の栽培管理法を検討することによって開花率を向上させることができるものと考えられる。

摘 要

培養によって増殖したササユリ小球を定植してから開花までの期間を短縮するために、液体振とう培養において、球根肥大を促進する条件、とくに培地に添加する糖および培養温度について検討した。

ショ糖、マルトースおよびブドウ糖をMS培地に添加して球根肥大を調査した。ショ糖は吸収される前に培地中でブドウ糖と果糖に分解され、ショ糖6%添加区ではブドウ糖と果糖の生成量がその吸収量より多いため培地の浸透圧が上昇し、球根の肥大を阻害する現象がみられた。マルトースはほとんど吸収されず、球

根の肥大もほとんどみられなかった。培地に用いる糖としては、ブドウ糖が最も適しており、3%が適量であった。

培養温度については25℃に比べて20℃で肥大が良好であった。これは25℃では、吸収した糖を呼吸により消費したためであると考えられる。

20℃で培養した球根を0℃で3か月間低温処理した後定植すると、発芽率および抽だい率が高かった。

引用文献

- 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 Culture Letters 6(3): 119-124.
- 福井博一・永瀬 幸・中村三夫. 1990. In vitro でのササユリ (*Lilium japonicum* Thunb.) の球根肥大に関する研究. 園学誌 59 (別 1): 612-613.
- 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. 平成四年度園学中四国支部要旨 31: 64.
- 市川 健. 1993. 長期間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.
- 加藤香織・石破知加子・田村文男・田辺賢二・角田真子. 1994. ユリオリエンタル系ハイブリッド大量増殖システムの開発 (第3報) 振とう培養時の糖濃度と植付量が培養小球の肥大に及ぼす影響. 園学雑. 63 (別 1): 524-525.
- 河原林和一郎. 1992. ササユリ球根の大量増殖技術の開発 (第3報) 液体培養における培地組成の継時変化, 子球の生長に及ぼす培養温度の影響. 園学雑. 61 (別 1): 446-447.
- 河原林和一郎. 1993. ササユリ球根の in vitro における増殖に及ぼす液体通気培養の影響. 園学雑. 62: 197-205.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15: 473-497.
- 水口 茂・大川勝徳・池川哲郎. 1994. ササユリの母りん片由来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・大川勝徳. 1994. ササユリの母りん片白色カルス由来の子球の発育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: 429-437.
- 水口 茂・大川勝徳. 1995. ササユリのりん片培養による再生子球由来の球根の発育に関する研究. 生物環境調節. 33: 23-29.
- 新美芳二・斉藤 勲. 1990. ヒメサユリの成球生産に

- 関する研究 試験管内で増殖した子球の生育改善.
園学雑. 59 : 635-640.
- 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.
- 清水基夫. 1987. 日本のユリ. p. 53-56. 誠文堂新光社. 東京.
- Tanaka, A., Y. Hoshi, K. Kondo and K. Taniguchi. 1991. Induction and rapid propagation of shoot primordia from shoot apices of *Lilium japonicum*. Plant Tissue Culture Letters 8 : 206-208.
- 高山真策. 1984. 液体振とう培養による種苗生産の効率化. 植物組織培養. 1 : 8-13.
- 山岸真澄. 1991. 培養温度がササユリ球根の肥大, 形態, 呼吸量, 糖の吸収に及ぼす影響. 園学雑. 60 (別 2) : 562-563.