

野生ヒメサユリ (*Lilium rubellum*) の葉片培養における サイアミンの影響

樋浦 巖*・篠原 亘**・鈴木 洋***・今西 茂****

*山形大学名誉教授・**長野県農業大学校・

山形大学農学部農業生産学講座・*生物機能調節学講座
(平成6年9月1日受理)

Effects of Thiamine in the Leaf Blade Culture of *Lilium rubellum*

Iwao HIURA*, Wataru SHINOHARA**, Hiroshi SUZUKI***,
Sigeru IMANISHI****

*Professor emeritus Yamagata University, **Nagano Prefectural

Agriculture College, ***Section of Agricultural Production

and ****Section of Bioprocess Engineering,

Faculty of Agriculture,

Yamagata University, Tsuruoka 997, Japan

(Received September 1, 1994)

Summary

Effects of thiamine, NAA and BA in the modified MS('62) media for the leaf blade culture of *Lilium rubellum* were analyzed.

1. Explants of leaf blade in the young growth stage (1.5~2.5 cm length) brought about higher frequency of redifferentiation.
2. Explants from the regions near the base site of leaf blade proved successful in redifferentiations.
3. Redifferentiation percentages were better by the size at 2 mm length of explants.
4. Redifferentiations were blocked by supplemented thiamine quantities at 1 and 2 ppm.
5. The culture by the code of thiamine-HCl 0.2 ppm, NAA 1ppm, BA 0.5ppm supplemented to modified MS medium presented better redifferentiations.

key words: *Lilium rubellum*, leaf blade culture, thiamine

緒 言

組織培養の培養培地の内容成分のうち微量元素についての作用性の検討報告は多くない。中でも有機物要素のビタミン類については多くの種類の培地に用いられ、その添加量は、0.1~30mg/lにわたっているが、培養

キーワード: 野生ヒメサユリ, 葉片培養, サイアミン

に当たっての作用性を問題にしているものは殆ど見当たらない。ただ、LINSMAIER et al.⁶⁾は幾多のビタミン類についてその作用性を検討した結果、サイアミンのみが培養に際してタバコのカルス形成に必須であるとの報告をしている。

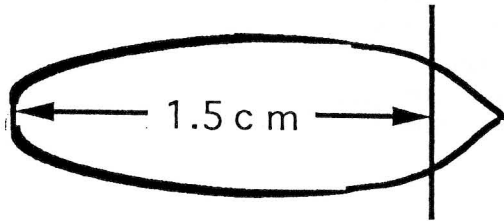
筆者らはこのサイアミンに焦点を合わせ、これまでにハナショウブ³⁾、イワタバコ²⁾の培養実験を行ってきた。本研究もその一連のものである。実験供試のヒメサユリ

(*Lilium rubellum*)はわが国原産で、山形・福島・新潟の諸県に自生しているが、本県にあつては飯豊山系の海拔200~800 mの中山間丘陵地帯に分布し、5~6月に草丈50~60 cmの桃色の可憐な花を咲かせ早くから注目されてきた。しかし、繁殖率が低い上に近年の乱獲から急激な資源的減少が問題視されるようになった。NIMI et al.⁷⁾は繁殖法として組織培養による報告をしているが、本研究はこの報告における培養培地条件を参考にして、サイアミンを中心とした植物生長調整物質のオーキシン類・サイトカイニン類との作用性を検討し併せて葉片培養による繁殖法を求めようとしたものである。また、得られた再生個体については、順化处理に移行した。

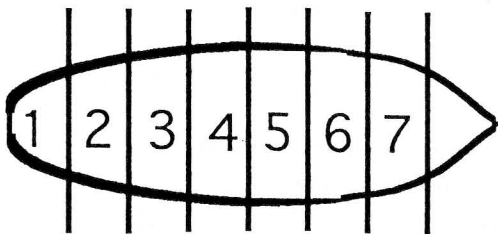
材料および方法

1. 供試材料

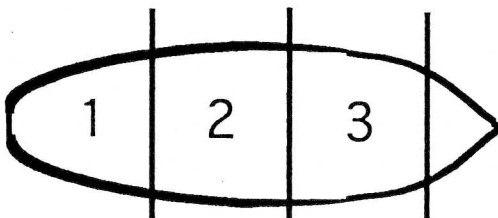
日本たばこ産業・郡山原料本部より移譲されたもの



Sampling region of explant



Explant of 2mm in length



Explant of 5mm in length

Fig. 1 Sampling regions of explants in leaf blade.

(実験Ⅰ)と本学圃場で増殖したもの(実験Ⅱ)の2種類に分けて用いた。

2. 方法

外植体の殺菌

中性洗剤：5分間浸漬，70%エタノール：1分間浸漬，カルキ過飽和水：7分間浸漬の組合せ処理を添着剤を用いて行った。

実験Ⅰ

大葉片：展開直後の長さ3.0~6.5 cm（開花1週間前：5月24日）の葉片を用い，Fig. 1に示すように葉柄部を切除した葉片の基部から約1.5 cmの範囲の部位のものについて，2 mmと5 mmの2種類の長さに区別して外植体の採取を行い，これらの外植体については葉片基部から始まる番号をつけて区別した。基本のMS('62)に対して，ショ糖：5%，寒天：0.7%を添加し，pHは5.5に調整した。培地添加有機物として，サイアミン類はthiamine-HClを用い，試験区は培養開始時1 ppm，次いで第1回培地植え継ぎ時以降0.1 ppmとしたものと，培養開始時2 ppm，次いで第1回培地植え継ぎ時以降0.2 ppmとしたものとの2区とし，オーキシン類は

Table 1. Organic constitutions supplemented to the modified MS media used for leaf blade culture in Exp. I

Basal medium : MS ('62)	Supplemented components		
	thiamine (ppm)	NAA (ppm)	BA (ppm)
sucrose : 5 %	1	0.25	0.02
agar : 0.7%			0.1
pH : 5.5			0.5
			0.02
			0.1
		1	0.02
			0.1
			0.5
			2
			0.25
	0.5	0.02	
		0.1	
		0.5	
		1	
		0.02	
	1	0.02	
		0.1	
		0.5	
		0.02	
		0.5	

NAA を使い、試験区は 0.25 ppm, 0.5 ppm, 1 ppm の 3 区とし、サイトカニン類は BA を使い、試験区は 0.02 ppm, 0.1 ppm, 0.5 ppm の 3 区とした (Table 1). 培養は試験管の斜面培地に外植体を 1 個ずつ置床する方法をとり、培地の植え継ぎは 30 日ごととした。培養環境は 25℃・暗黒とし、再分化の開始したのから順次 18 時間日長, ca. 2300lux 条件下に移して順化処理を行った。

実験 II

小葉片：展開直後の長さ 1.5~3.0 cm (開花 2 週間前：6 月 9 日)の葉片を用いた。その他の実験手順は実験 I と同様であったが、培地添加有機物の thiamine-HCl の試験区は 0.05 ppm, 0.1 ppm, 0.2 ppm の 3 区, NAA の試験区は 0.25 ppm, 1 ppm の 2 区, BA の試験区は 0.02 ppm, 0.1 ppm, 0.5 ppm の 3 区を設けた (Table 2).

結 果

実験 I (Table 3)

供試外植体 110 個のうち再分化したものは 2 個のみで、

Table 2. Organic constitutions supplemented to the modified MS media used for leaf blade culture in Exp. II

Basal medium : MS ('62) sucrose : 5 % agar : 0.7 % pH : 5.5	Supplemented components		
	thiamine (ppm)	NAA (ppm)	BA (ppm)
	0.05	0.25	0.02
			0.1
			0.5
		1	0.02
			0.1
			0.5
	0.1	0.25	0.02
			0.1
			0.5
		1	0.02
			0.1
			0.5
0.2	0.25	0.02	
		0.1	
		0.5	
	1	0.02	
		0.1	
		0.5	

Table 3. Effect of different media components on redifferentiation of leaf blade culture, after 120 days of plating (Exp. 1)

Explant length (mm)	Supplemented components			Number of plating	No. of explant had any redifferentiation
	Thiamine (ppm)	NAA (ppm)	BA (ppm)		
2mm	1	0.25	0.02	3	2
			0.1	3	
			0.5	3	
		0.5	0.02	3	
			0.1	3	
			0.5	3	
		1	0.02	3	
			0.1	5	
			0.5	3	
	2	0.25	0.02	3	
			0.1	3	
			0.5	3	
		0.5	0.02	3	
			0.1	3	
			0.5	3	
		1	0.02	3	
			0.1	5	
			0.5	3	
total				56	2
5mm	1	0.25	0.02	3	
			0.1	3	
			0.5	3	
		0.5	0.02	3	
			0.1	3	
			0.5	3	
		1	0.02	3	
			0.1	3	
			0.5	3	
	2	0.25	0.02	3	
			0.1	3	
			0.5	3	
		0.5	0.02	3	
			0.1	3	
			0.5	3	
		1	0.02	3	
			0.1	3	
			0.5	3	
total				54	0
Grand total				110	2

それは外植体 2mm 長区によるもので、試験区は thiamine-HCl : 1 ppm → 0.1 ppm, NAA : 1 ppm, BA : 0.1 ppm の組合せ条件のものであったが、この実験では何れもサイアミンの高濃度 (1 ppm, 2 ppm) による培養生育に対する阻害的影響が推定される結果が見られた。

Table 4. Effect of different media components on callus formation of leaf blade culture, after 10 days of plating (Exp. II)

Explant length (mm)	Supplemented components			Number of plating	Number of explant formed only callus
	Thiamine (ppm)	NAA (ppm)	BA (ppm)		
2mm	0.05	0.25	0.02	4	3
			0.1	4	
			0.5	4	
			0.02	4	
			0.1	4	
	0.1	0.25	0.02	4	
			0.1	4	
			0.5	4	
			0.02	4	
			0.1	4	
	0.2	1	0.02	4	
			0.1	4	
			0.5	4	
			0.02	4	
			0.1	4	
total				60	9
5mm	0.05	0.25	0.02	4	0
			0.1	4	
			0.5	4	
			0.02	4	
			0.1	4	
	0.1	0.25	0.02	4	
			0.1	4	
			0.5	4	
			0.02	4	
			0.1	4	
	0.2	1	0.02	4	
			0.1	4	
			0.5	4	
			0.02	4	
			0.1	4	
total				72	0
Grand total				132	9

※ : No redifferentiation occurred in this period.

実験 II

供試外植体131個中再分化したものは19個で再分化率は 14.8%であった。培養経過は次のようであった。

(1) 外植体の生育：培養置床後10, 20, 40, 60, 120日ごとの経過をカルス化、再分化程度について調査した結

Table 5. Effect of different media components on callus formation of leaf blade culture, after 20 days of plating (Exp. II)

Explant length (mm)	Supplemented components			Explants had no response	Number of explant formed only callus
	Thiamine (ppm)	NAA (ppm)	BA (ppm)		
2mm	0.05	0.25	0.02	4	3
			0.1	4	
			0.5	4	
			0.02	4	
			0.1	4	
	0.1	0.25	0.02	4	
			0.1	4	
			0.5	1	
			0.02	4	
			0.1	4	
	0.2	1	0.02	3	
			0.1	2	
			0.5	4	
			0.02	3	
			0.1	4	
0.2	0.25	0.02	4		
		0.1	4		
		0.5	3		
		0.02	4		
		0.1	4		
total				50	10
5mm	0.05	0.25	0.02	4	1
			0.1	3	
			0.5	3	
			0.02	3	
			0.1	3	
	0.1	0.25	0.02	3	
			0.1	3	
			0.5	3	
			0.02	4	
			0.1	4	
	0.2	1	0.02	4	
			0.1	4	
			0.5	4	
			0.02	3	
			0.1	4	
0.2	0.25	0.02	4		
		0.1	4		
		0.5	4		
		0.02	4		
		0.1	3		
0.2	1	0.02	4		
		0.1	4		
		0.5	3		
		0.02	4		
		0.1	4		
total				65	7
Grand total				115	17

Table 6. Effect of different media components on callus formation and redifferentiation of leaf blade culture, after 40 days of plating(Exp. II)

Explant length (mm)	Supplemented components			Explants had no response	Number of explant formed only callus	No. of explants had any redifferentiation							
	Thiamine (ppm)	NAA (ppm)	BA (ppm)			Adventitious							
						Bud	Root	Bud+Root					
2mm	0.05	0.25	0.02	4	1	3							
			0.1	4									
			0.5	4									
		1	0.02	4									
			0.1	4									
			0.5	1									
	0.1	0.25	0.02	4		1	1	2					
			0.1	4									
			0.5	3									
		1	0.02	2									
			0.1	4									
			0.5	3									
	0.2		0.02	4		1	3						
			0.1	4									
			0.5	1									
total				50		7	2	0					
5mm	0.05	0.25	0.02	4	6			1					
			0.1	3									
			0.5	3									
		1	0.02	3					1	1			
			0.1	3									
			0.5	3									
	0.1	0.25	0.02	4		1	1						
			0.1	4									
			0.5	3									
		1	0.02	4									
			0.1	3									
			0.5	4									
	0.2	0.25	0.02	4		1	1						
			0.1	4									
			0.5	3									
1		0.02	3	1	1								
		0.1	4										
		0.5	4										
total						63		1	2			0	
Grand total						113		8	4				

Table 7. Effect of different media components on callus formation and redifferentiation of leaf blade culture, after 60 days of plating (Exp. II)

Explant length (mm)	Supplemented components			Explants had no response	Number of explant formed only callus	No. of explants had any redifferentiation		
	Thiamine (ppm)	NAA (ppm)	BA (ppm)			Bud	Root	Bud+Root
2mm	0.05	0.25	0.02	4				
			0.1	4				
			0.5	4				
		1	0.02	4				
		0.1		4				
		0.5		1		2		1
	0.1	0.25	0.02	4				
			0.1	4				
			0.5	3		1		
		1	0.02	2				2
		0.1		4				
		0.5		3		1		
	0.2	0.25	0.02	4				
			0.1	4				
0.5			1					
0.5			1		1		2	
total				50	2	3	5	
5mm	0.05	0.25	0.02	4				
			0.1	3				1
			0.5	3				1
		1	0.02	3		1		
		0.1		3			1	
		0.5		3			1	
	0.1	0.25	0.02	4				
			0.1	4				
			0.5	3		1		
		1	0.02	4				
		0.1		3				1
		0.5		4				
	0.2	0.25	0.02	4				
			0.1	4				
0.5			3		1			
0.5			3			1		
total				63	3	1	2	3
Grand total				113	5	4	2	8

Table 8. Effect of different media components on callus formation and redifferentiation of leaf blade culture, after 120 days of plating (Exp. II)

Explant length (mm)	Supplemented components			Explants had no response	Number of explant formed only callus	No. of explants had any redifferentiation						
	Thiamine (ppm)	NAA (ppm)	BA (ppm)			Bud	Adventitious Root	Bud+Root				
2mm	0.05	0.25	0.02	4	1	2		1				
			0.1	4								
			0.5	4								
			0.02	4								
			0.1	4								
			0.5	1								
	0.1	0.25	0.02	4		3	1					
			0.1	4								
			0.5	3								
			1	0.02				2	4	2		
				0.1				4				
				0.5				3				
				0.2				0.25			0.02	4
			0.1						4			
0.5	1											
total			50		1	2	7					
5mm	0.05	0.25	0.02		4	0	1			1		
			0.1		3					1		
			0.5	3	1							
			0.02	3	1							
			0.1	3	1							
			0.5	3	1							
	0.1	0.25	0.02	4	4		1					
			0.1	4								
			0.5	3								
			1	0.02				4	3	1		
				0.1				3				
				0.5				4				
	0.2	0.25		0.02	4		4	1				
			0.1	4								
			0.5	3								
			1	0.02	3				4	1		
				0.1	4							
				0.5	3							
0.02	3	1										
0.1	4	1										
0.5	4											
total			63	0	1	8						
Grand total			113	1	3	15						

果は次のようであった。

1：10日目の生育状態（Table 4）

外植体 2mm 長区にあっては基部側の切り口に肉眼でカルス化の兆候が認められたが、外植体 5mm 長区にあっては検鏡による組織的变化は観察されたものの肉眼ではカルス化の兆候とは認められない程度のものであった。

2：20日目の生育状態（Table 5）

外植体 2mm 長区に切り口部にカルス組織（Phot. 1）が観察されるようになったが、肥大生長したカルスは見られなかった。カルス化とサイアミン添加量との関係は明瞭でなかった。また、5mm 長区も同様のカルス化発生の傾向が見られたが、一般的に 2mm 長区のものより発生数は少なかった。

3：40日目の生育状態（Table 6）

外植体 2mm 長区にあっては 3 試験区に形成されたカルスに、それぞれ不定芽（Phot. 2）あるいは不定根の発生が見られたが、3 試験区の中の再分化傾向については明瞭な差異は見られなかった。

また、外植体 5mm 長区にあってはサイアミン 0.05 ppm 区に不定根形成の 2個と、0.1 ppm 区に不定芽形成の 1 個が観察されたのみであった。

4：60日目の生育状態（Table 7）

外植体 2mm 長区にあっては更に再分化程度は進み不定芽・不定根の両者を形成する個体が観察されるようになった。そして、この傾向は外植体 5mm 長区にも認められるようになったが、再分化個体数は少なかった。なお、この時期までに再分化状態を示さなかった外植体は緑色を失い枯死した。

5：120日目の生育状態（Table 8）

この時期までに外植体の再生現象は終了していた。

そして、再生現象を示した外植体のうち完全な再生個体とはならず不定芽形成をみるのみで不定根形成に至らなかったものが外植体 2mm 長区に 2 個、外植体 5mm 長区に 1 個それぞれ観察された。

(2) 培養最終期に於ける再分化程度

1：大葉片区と小葉片区の比較（Fig. 2）

小葉片由来の外植体での再分化率 28.8% に対して、大葉片由来のものでは 5.2% と低かった。

2：外植体の大きさ別の比較（Fig. 3）

外植体 2mm 長区と外植体 5mm 長区との間の再分化率には大葉片区、小葉片区ともに大きな差異は認められなかった。

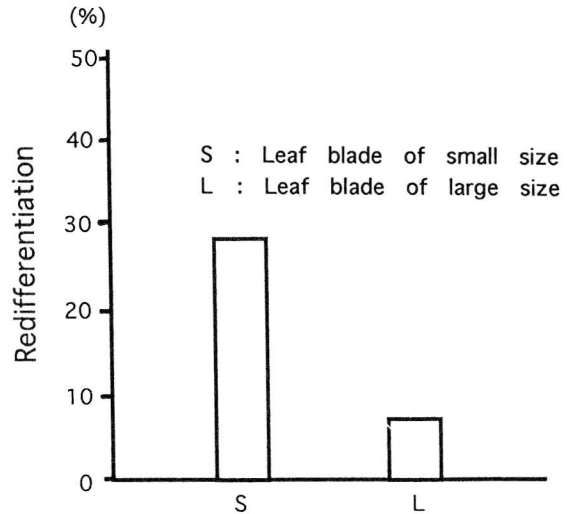


Fig. 2 Effects of leaf blade size on the bud redifferentiation.

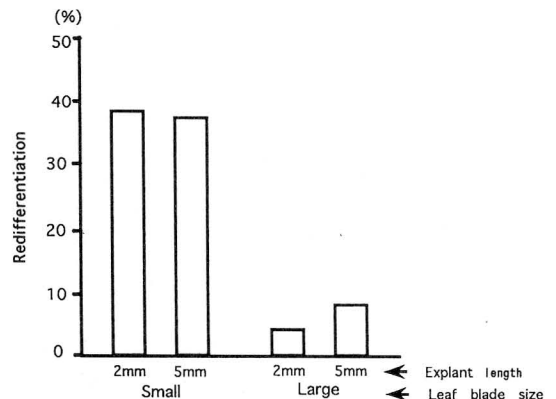


Fig. 3 Effects of origin and size in explants on the bud redifferentiation.

3：外植体の葉片採取部位別の比較

a. 再分化個体形成（Fig. 4）

再分化個体形成率は、まず、小葉片由来の外植体にあっては 2mm 長区の採集部位 No.1~3 及び 5mm 長区の採集部位 No. 1 に相当する葉片基部に属するものが 94% と高かったのに対して、葉片基部から離れた先端部位に属するものは極端に低くなっていた。

一方、大葉片由来の外植体にあってはその大きさ及び採集部位の違いによって再分化個体の形成率に大きな差異は認められず、その上全般的に再分化個体形成率は 50% 以下と低かった。

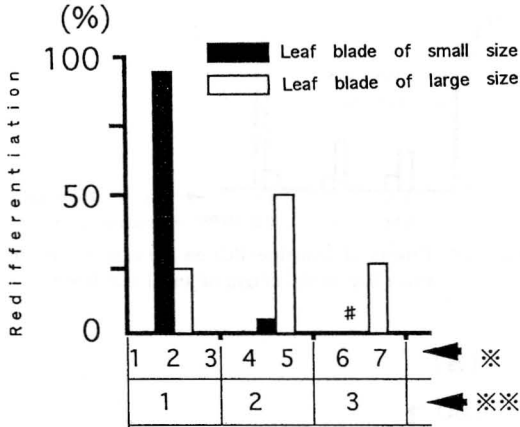


Fig. 4 Changes in the bud redifferentiation by the difference from origin and sampling regions of explants.

※; Mark number of a explant of 2mm in length
 ※※; Mark number of a explant of 5mm in length
 #; Explants remained as calli

b. 不定芽・不定根形成

まず、不定芽形成数についてはFig. 5-1に示すように小葉片由来の場合には外植体 2mm 長区が 5mm 長区より多い傾向が見られた。一方、大葉片由来の場合には 2mm 長区の不定芽は見られず、5mm 長区に形成が観察されたのみであった。しかし、形成された不定芽を形態別にみるとFig. 5-2に示すように鱗茎状を呈するもの(B型と呼称, Photo.3)とシュート状形成のもの(S型, Photo.4)が区別され、それぞれの型の発生は小葉片由来のものにあつては外植体 2mm 長区は S 型、5mm

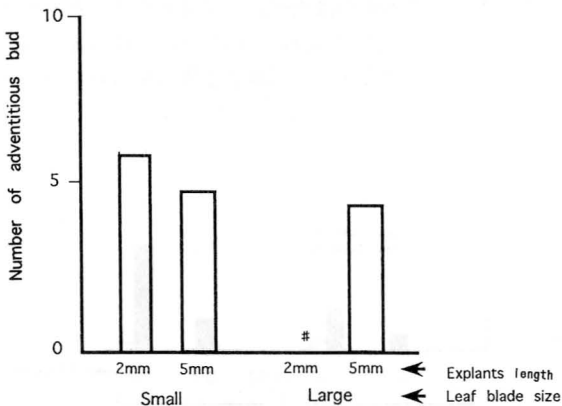


Fig. 5-1 Effects of origin and size in explants on the adventitious bud formation.
 #; Explants formed only calli

長区は B 型を多く形成する傾向が見られた。一方、大葉片由来の 5mm 長区にあつては両型について同程度の発生が見られた。次に、不定根形成については、Fig. 5-3に示すように小葉片由来の 5mm 長区が 2mm 長区に勝る傾向が見られた。

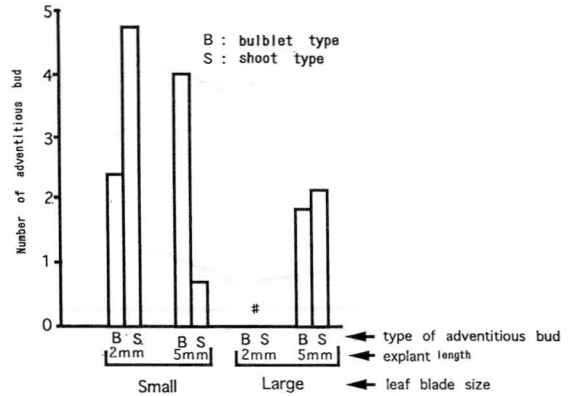


Fig. 5-2 Effects of origin and size in explants on the type of the adventitious bud formation.
 #; Explants formed only calli

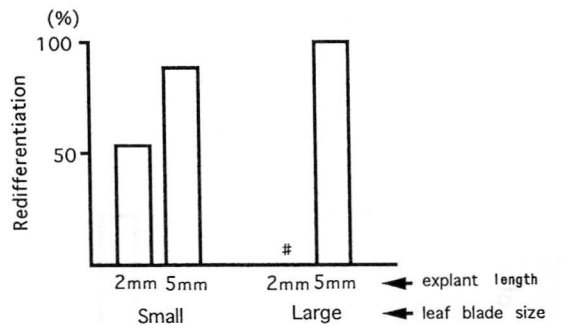


Fig. 5-3 Effects of explants origin and size on the adventitious root formation.
 #; Explants formed only calli

4: サイアミン濃度と再分化程度

Fig. 6に示すように小葉片由来のものが大葉片由来のものに比べて高い再分化率を示した。そして、不定芽形成数については Fig. 7-1に見られるようにサイアミン濃度の最も高い0.2ppm 区が最も多く、その上、Fig. 7-2に示すように形態別にみると不定芽形態の S 型が殆どであった。一方、その他の濃度区では B 型が多く現れていたが、形成数は少なかった。

また、不定根形成率については、Fig. 8に示すようにサイアミン濃度の最も高い 0.2 ppm 区が最も高かった。

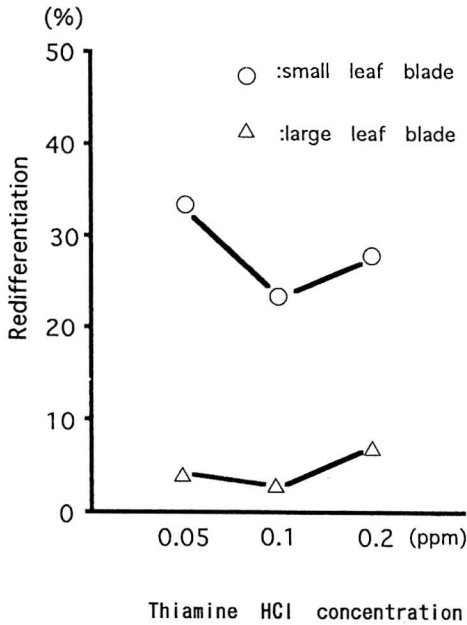


Fig. 6 Changes in the bud redifferentiation with the concentration of thiamine-HCl in the modified MS medium.

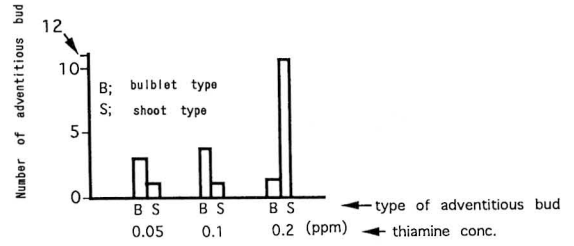


Fig. 7-2 Effects of thiamine-HCl on the type of adventitious bud in the origin of small leaf blade.

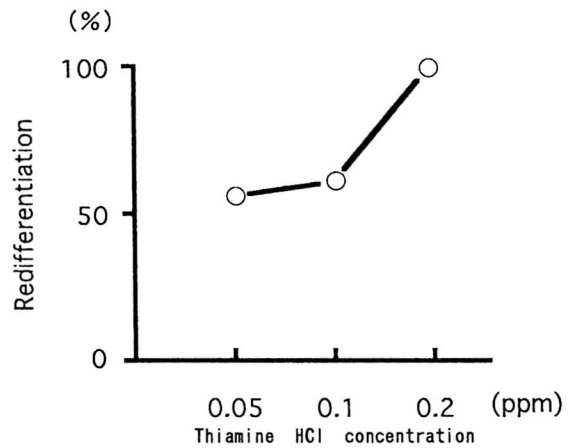


Fig. 8 Adventitious root formation in the small leaf blade origin on the modified MS medium with thiamine-HCl.

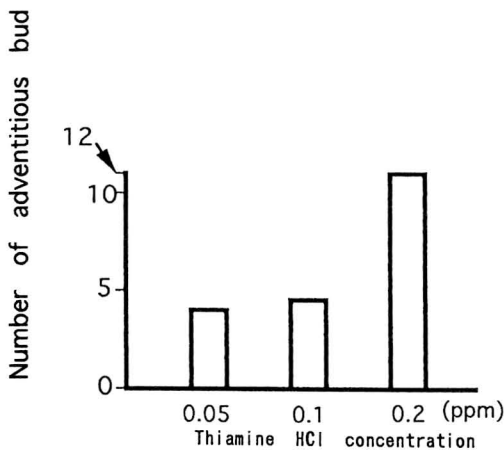


Fig. 7-1 Effects of thiamine-HCl on the adventitious bud formation in the small leaf blade origin.

5 : NAA, BA 濃度と再分化程度

小葉片由来と大葉片由来の外植体の間にあつては、Fig. 9に示すように小葉片由来の場合には NAA, BA の組合せについて、添加濃度の高い NAA 1 ppm, BA 0.5 ppm の組合せ試験区が高い再分化率を示したが、大葉片由来のものにはこのような明瞭な関係は認められな

かつた。そして、不定芽の形態別にみた形成の状態は図 10に示すように、上記の添加濃度の高い試験区にあつて S 型が多く、その他の濃度組合せ試験区では、殆どが B 型であつた。また、不定根形成については NAA : BA 組合せの各試験区について明瞭な差異は見られなかつた (Fig. 11)。

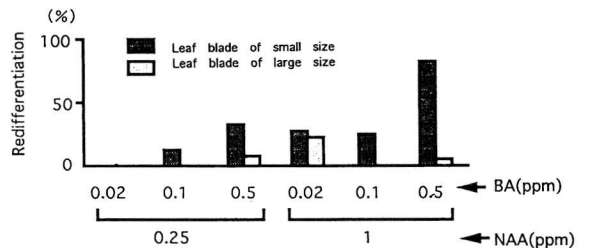


Fig. 9 Effects leaf blade size, NAA and BA on bud redifferentiation.

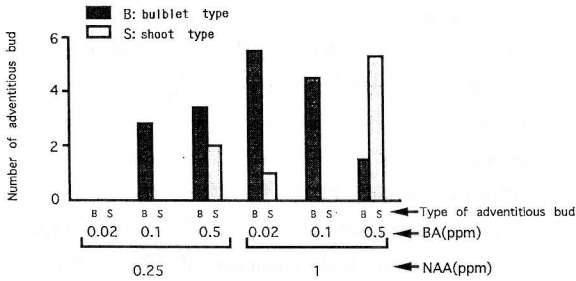


Fig. 10 Effects of concentrations of NAA and BA on the type of adventitious bud in the small leaf blade origin.

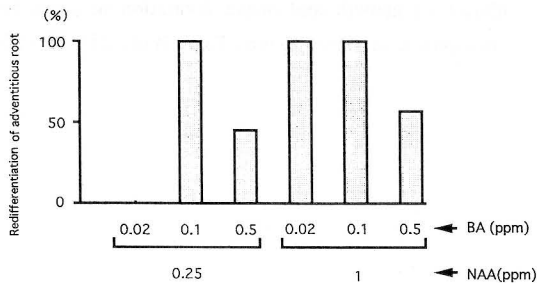


Fig. 11 Effects of concentrations of BA and NAA on the adventitious root formation in the small leaf blade origin.

考 察

再分化についての総括結果では、供試葉片の葉長が1.5~2.5 cmの小葉片由来の外植体による場合が明らかに良い結果を示していた。これら小葉片は形成初期のものか、あるいは植物体の上部に着生する展開間もないもので、いずれも葉令の若いものであった。また、外植体の採取部位別から再分化の結果をみると、供試葉片の葉柄基部に近い部位から採取されたものから良好な再分化結果が得られた。これら採取部位は何れも細胞分裂能の高い組織であることは、今後外植体採取の条件として充分配慮されるべきことであろう。

次に、培養培地の添加要素の作用性については、まずNAA, BAの組合せ関係については外植体2 mm長区にあっては、添加濃度の高い組合せ試験区に再分化個体が多く形成されたのに対して、外植体5 mm長区にはそのような関係はみられなかった。これには葉令の違いによる生理的反応の違いが考えられよう。また、サイアミンについては、再分化率について添加濃度の違いによる差異はみられなかったが、不定芽の形成形態には顕著な違いが見られ、サイアミン添加濃度の高い0.2 ppm区に

S型が多く出現した。今後の検討対象となるであろう。

摘 要

ヒメサユリの葉片培養について、その培養培地条件のうち添加有機微量元素のサイアミンを中心としてNAA, BAの組合せを検討した結果は次のようであった。

1. 外植体は葉長1.5~2.5 cmの若い葉令の葉片から採取したものが高い再分化率を示した。
2. 葉片基部から約5 mmの部位を外植体とした場合再分化率が高かった。
3. 外植体の長さ2 mmの切片からが培養の好適結果が得られた。

4. サイアミンの添加濃度は1 ppm, 2 ppmでは阻害的作用が見られ、0.05~0.2 ppm添加濃度で、良好な再分化結果が得られた。そして、この濃度の範囲内では濃度の違いにより形成される不定芽の形態に違いが見られ、濃度の高い0.2 ppm試験区にあっては、シュート状形成(S型)が多く見られ、鱗茎状(B型)のものが少なかった。

5. MS('62)培地を基本として、サイアミン0.2 ppm, NAA 1 ppm, BA 0.5 ppmの組合せの微量元素を添加することにより良好な再分化形成が観察された。

謝辞：材料の準備にご援助を頂いた日本たばこ産業株式会社郡山原料本部、南原料事務所の方々に深謝の意を表します。

引用文献

- 1) CONGER, B. V. : 1981. Cloning agricultural plants via in vitro techniques. CRC Press. 12~57
- 2) 樋浦 巖, 山崎英優, 鈴木 洋, 今西 茂 : 1993. イワタバコ (*Conandron ramondioides*) の葉片培養. 山形大学紀要 (農学) 11 : (4)717~725
- 3) 樋浦 巖, 鈴木 洋, 今西 茂, 後藤由紀子, 鏡 恵, 武藤安己余, 山口千草 : 1993. 葉片培養によるキショウブ (*Iris pseudacorus*) の植物体再生とハナショウブ (*I. ensata*) のシュート再生. 山形農林学会報 50 : 55~61
- 4) 鎌田 博, 原田 宏 : 1985. 植物のバイオテクノロジ- . 中公新書 : 15~22
- 5) 神吉久遠 : 1989. 植物の培養における順化を考えるー寒天培地の除去は必要かー. 農及園 64 : 1414
- 6) LINSMAIER, E. M. and SKOOG, F. : 1965. Organic growth factor requirements of tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 18 : 100~112
- 7) NIIMI, Y. and ONOZAWA, T. : 1979. In vitro bulblet formation from leaf segments of lilies, especially *Lilium rubellum*, Baker. *Scientia Hortic.* 11 : 379~389
- 8) SKOOG, F. and MILLER, C. O. : 1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues grown in vitro. *Symp. Exp. Biol.* 11 : 18~26

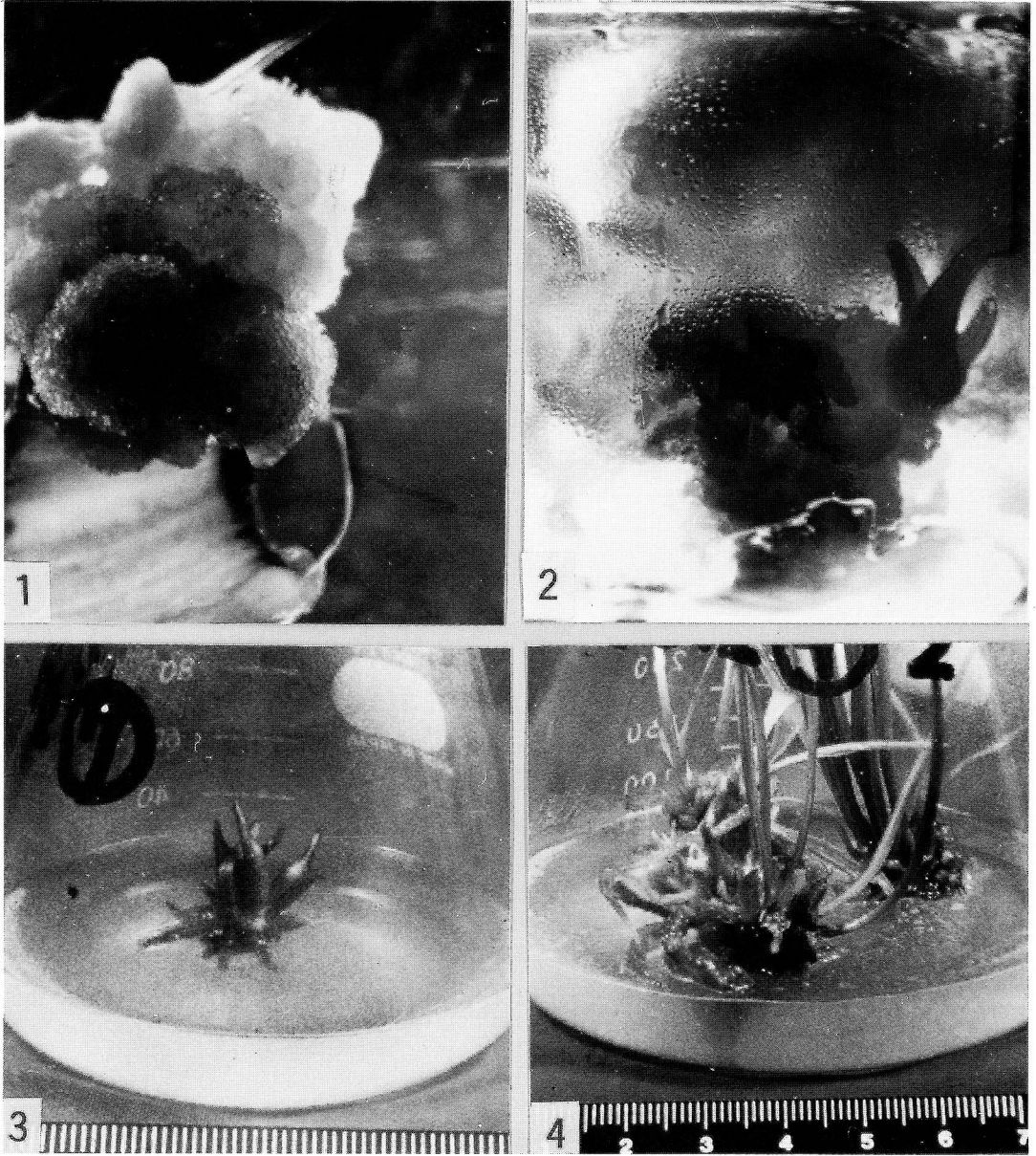


Photo. 1 Calli on the base of explant
Photo. 2 Adventitious bud differentiated on callus
Photo. 3 Bulblet (B) type of adventitious bud
Photo. 4 Shoot (S) type of adventitious bud