HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	アスパラガスの形態形成に関する研究 : 第９報　培養茎の茎頂ならびに節部切片の培養における器官形成
Author(s)	八鍬, 利郎; 原田, 隆; 飛世, 昌江
Citation	北海道大学農学部邦文紀要, 14(2), 174-186
Issue Date	1984-10-18
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/12014
Type	bulletin (article)
File Information	14(2)_p174-186.pdf

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

アスパラガスの形態形成に関する研究

第9報　培養茎の茎頂ならびに節部切片の培養における器官形成

八鍬利郎・原田　隆・飛世昌江
(北海道大学農学部果樹・蔬菜園芸学教室)

(昭和59年3月28日受理)

Studies on the Morphogenesis of Asparagus

IX Organ formation of the apices and the segments with a node excised from the stock shoots

Toshiro YAKUWA, Takashi HARADA
and Masae TOBISE
Department of Horticulture, Faculty of Agriculture,
Hokkaido University, Sapporo, 060, Japan

緒　言

前報[10]で報告したとおり若茎頭部の小側枝，小側枝の茎頂部組織，若茎中間部の輪切り切片を培養した場合，いずれの部位の組織片からも茎と根の分化が認められ，一部再生植物体も得られたが，大量増殖に用いるには増殖率がやや低かった。

そこで，栄養繁殖を目的とする場合は，試験管の中でまず茎だけを効率よく増やし，その培養物の茎の切片を移植して植物体を再生させる方法のほうが増殖率ははるかに高まり有利であると考えられる。この場合，前報で述べたとおり，茎を発生させることは比較的容易であるので，本報では培養物の茎を材料として，その茎頂部および節部切片を培養した場合の器官分化について検討した。

なお，節部切片の培養についてはNAAおよびIBAを種々の濃度で単独に，またはBAと組み合わせて添加した培地を用いて予備実験を行った。その結果をみると，培地上で培養を続けた場合，根の分化率が低く，幼植物の再生率はいずれの培地組成においてもきわめて低かった。一方，ある期間生長調節物質を含む液体，または固形培地で培養した後，生長調節物質無添加の固形培地に移植して培養すると，かなり発根率が高まることが認められた。したがって，本報告では生長調節物質を含む液体培地で前培養を行った後，固形培地に移植した場合の器官形成について検討した。

材料および方法

前報[10]と同様の方法で若茎頭部の小側枝を培養し，小側枝から叢生した径1mm程度の分枝茎の茎頂部および節部切片を用いて，次に示す四つの小実験を行った。

I.　培養物に発生した茎の茎頂部組織の培養

実験1.　茎頂 (0.5 mm) からの器官分化に及ぼすIBAおよびNAAの影響

(1)　培養組織片：‘メリーワシントン500’の8年生株の若茎小側枝の培養によって得られた叢生状の分枝から直径1mm程度のものを選び，解剖顕微鏡下で長さ0.5mmの茎頂を取り出し，培養に供した。

(2)　培地組成：前報同様，無機塩類およびアミノ酸，ビタミンなどの有機物質はMURASHIGE and SKOOGの処方にしたがい，これにしょ糖2.0%と所定の生長調節物質を添加した後，pHを5.5に調整した。さらに粉末寒天6 g/ℓを加えて加熱溶解したのち20×120mmの試験管に10 mℓずつ分注し，アルミホイルで封じた。滅菌は120°C，1 kg/cm²で15分間行った。生長調節物質としてはIBAとNAAを用い，それぞれの5段階の濃度 (10^{-7}, 5×10^{-7}, 10^{-6}, 5×10^{-6} および 10^{-5} M) の単用と無添加の合計11区を設けた。

(3)　培養条件：上記の茎頂部組織片を1試験管あたり1個ずつ置床し，25°C，1,000 lx (白色蛍光灯使用)，1日16時間照明の条件下で培養した。1容器当たり25組織片とした。

(4) 調査方法： 培養開始2週後から2週間ごとに茎の発育，カルス形成，根の分化・発育について調査を行った。

なお，実験2以降で特記しない部分は実験1と同様とした。

実験 2. 茎頂培養における組織片の大きさと器官分化

(1) 培養組織片： 茎頂部組織片の大きさを0.2～0.4 mm，0.5～1.0 mmおよび，3.0～5.0 mmの3段階としたほかは実験1と同様とした。

(2) 培地の調製： 生長調節物質をIBA 10^{-6} M単用としたほかは実験1と同様とした。

なお，培養条件，調査方法はすべて実験1と同様である。

II. 培養物に発生した茎の節部切片の培養

実験 3. IBAを含む液体培地での前培養と移植の効果

(1) 培養組織片： 若茎小側枝の培養で得られた茎(直径1 mm程度)から取り出した節部をもつ長さ約1 cmの切片を用いた。

(2) 培地組成： 実験1と同様，無機塩類およびアミノ酸，ビタミンなどの有機物質はMURASHIGEとSKOOGの処方にしたがい，しょ糖2.0%，所定の生長調節物質を加えた後pH 5.5に調整した。添加した生長調節物質の種類，濃度ならびに処理法はTable 1に示すとおりである。すなわち，最初からIBA 10^{-6} Mを含む寒天培地に置床して培養を続けたA区のほかは，最初の1日，3日または7日間をIBA 10^{-5} M単用またはこれにBA 10^{-6} Mを組み合わせて添加した液体培地で前培養した。その後C～Hの6区は生長調節物質を除いた寒天培地に移植した。また，B区はIBA 10^{-6} Mを加えた寒天培地に移植した。

(3) 培養条件： 培養は25°C，1,000 lx，16時間日長の条件下で行なった。なお，容器は100 mℓ容三角フラスコを用い，前培養では1容器当たり30 mℓの培養液に20組織片ずつ入れ，移植後寒天培地上で培養する場合は1容器あたり4組織片ずつ置床した。この場合，1区当たり10～11容器，40～44組織片とした。

実験 4. NAAを含む液体培地での前培養と移植の効果

(1) 培養組織片： 実験3と同様の培養茎から取り出した節部をもつ，長さ約7 mmの切片を用いた。

(2) 培地組成と処理法： 移植前の培養(前培養)に用いた培地の組成については，生長調節物質はTable 2に示すようにBAとNAAを組み合わせたA～Fの6通りとし，他は実験3と同様の液体培地とした。これらの培地で3日，7日または14日間前培養した後，生長調節物質を含まない固形培地に移植して培養を続けた。

また，比較のために，最初からそれぞれの培地組成の固形培地に植え込んで，移植を行わずに培養を継続した区も設けた。

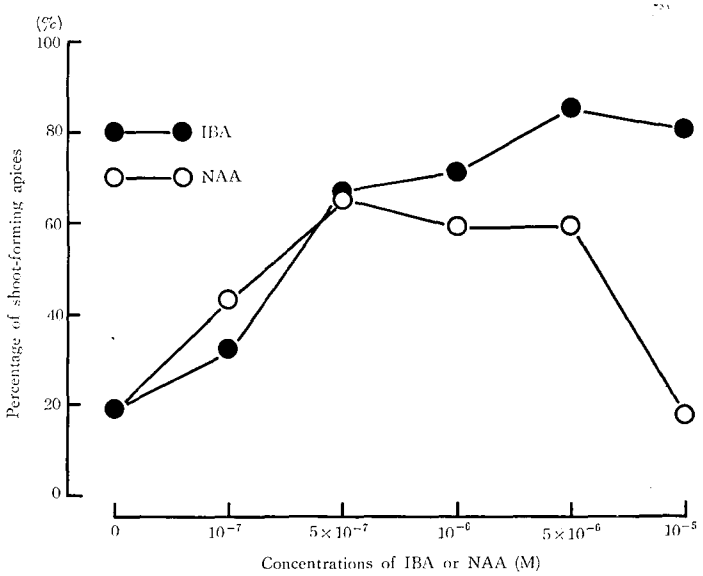

Fig. 1. Effect of growth regulators on shoot formation in culturing 0.5 mm-length apices excised from the stock shoots (after 12 weeks of culture in Expt. 1).

(3) 培養条件：上記の節部切片を前培養では1容器あたり30片ずつ，固形培地では5片ずつ置床し，25°C，4,000 lx，16時間日長の条件下で静置培養を行った。個体数は1区あたり55組織片（11容器）とした。

実験結果

I. 培養物に発生した茎の茎頂部組織の培養

実験1. 茎頂（0.5 mm）からの器官分化に及ぼすIBAおよびNAAの影響

茎の発育は早いもので培養2週後ごろよりはじまったが，かなり遅れて発育するものもあった。培養12週後における茎発育個体率はFig. 1のとおりで，オーキシン無添加では20%に止まったが，IBAの5×10^{-7}～10^{-5} Mで65～80%，NAAの5×10^{-7}～5×10^{-6} Mでは60～65%とかなり高かった。また，茎が発育した個体についての平均茎本数は2～6本であったが，オーキシンの種類ならびに濃度による明瞭な差は認められなかった（Fig. 2）。

根の分化は各区とも培養3～4週ごろにはじまり，徐々に分化個体数が増加した。12週後の調査結果はFig. 3

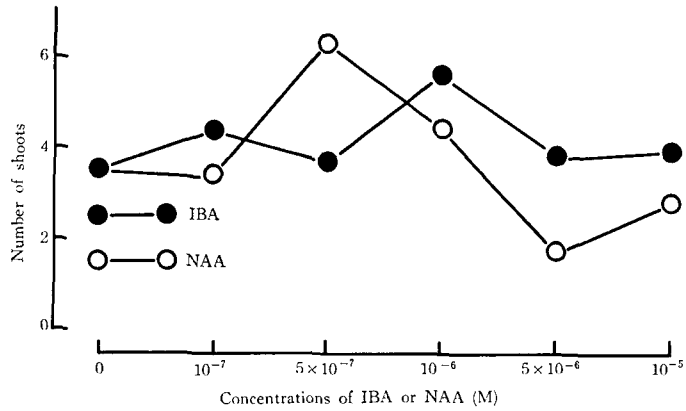

Fig. 2. Effect of growth regulators on shoot growth in culturing 0.5 mm-length apices excised from the stock shoots (after 12 weeks of culture in Expt. 1).

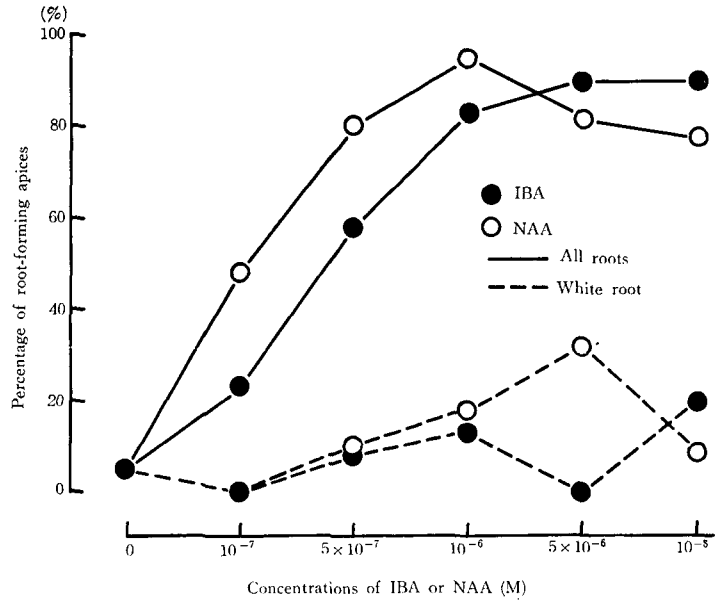

Fig. 3. Effect of growth regulators on root formation in culturing 0.5 mm-length apices excised from the stock shoots (after 12 weeks of culture in Expt. 1.).

のとおりで根の分化率は IBA 10^{-6}～10^{-5} M, NAA 5×10^{-7}～10^{-5} M でほぼ80% 以上に達した。しかし，白色根の分化率はそれほど高くならず，最高で NAA 5×10^{-6} M 区の約30% であった (Fig. 3, 4)。

カルス形成率は Fig. 5 に示すとおりでオーキシン低濃度で低いが，濃度が高まるにつれて高くなった。しかし，5×10^{-7}～10^{-6} M では，NAA 添加区で70～90% の組織片がカルスを形成したのに対し，IBA 添加区では10% 以下の形成率で，両者の間に明瞭な差が認められた。さらに濃度が高まり，5×10^{-6}～10^{-5} M になると NAA, IBA はともに80% 以上のカルス形成率でほとんど差は認められなくなった。

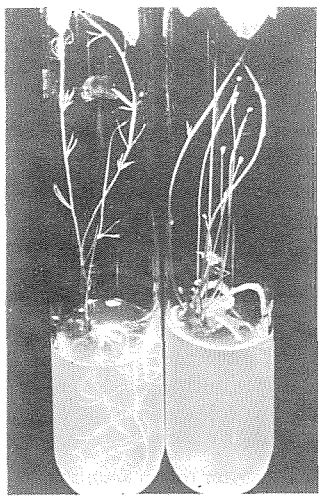

Fig. 4. Shoot and root formation from the 0.5 mm-length apices excised from the stock shoots in Expt. 1.

実験 2. 茎頂培養における組織片の大きさと器官分化

培養 12 週後における調査結果は Fig. 6 のとおりで，茎発育率は 60～70% の範囲であり，組織片の大きいほうがわずかではあるが茎の発育率が高い傾向が認められたが，茎数は組織片が小さいほど明らかに多かった。また，植物体再生に不可欠な根の分化率も明らかに組織片の小さい区で高かった。しかし，白色根の分化率は概して低く，最も小さい組織片 (0.2～0.4 mm) で 20% 程度であった。

II. 培養物に発生した茎の節部切片の培養

実験 3. IBA を含む液体培地での前培養と移植の効果

茎の発育は植込み 1 週間後より始まったが，根の分化はそれよりかなり遅れ 4～5 週後より始まった。培養 10 週後の調査結果は Table 1 のとおりで，茎の発育は概して良好であったが，根の分化率は特に高いという区は認められない。これらのうち，根の分化率の最も高いのは H 区 (32.1%) で，B 区 (22.5%) がこれに次いでいた。

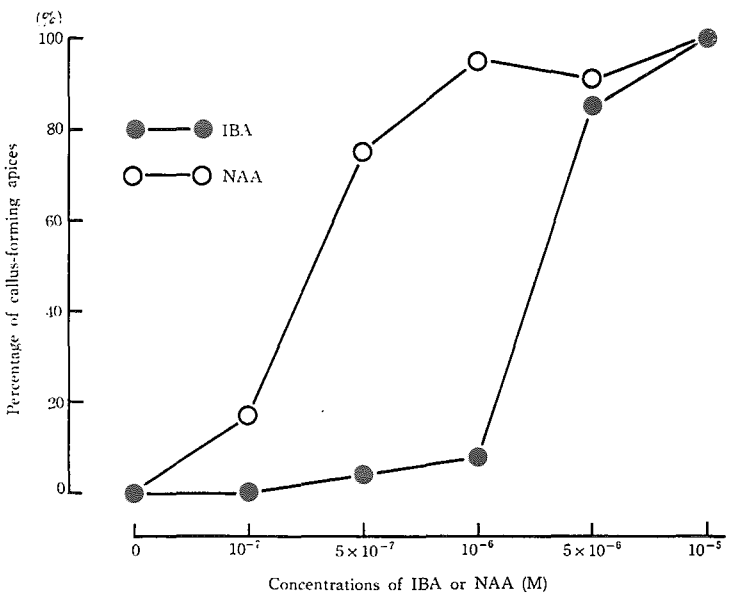

Fig. 5. Effect of growth regulators on callus formation in culturing 0.5 mm-length apices from the stock shoots (after 12 weeks of culture in Expt. 1).

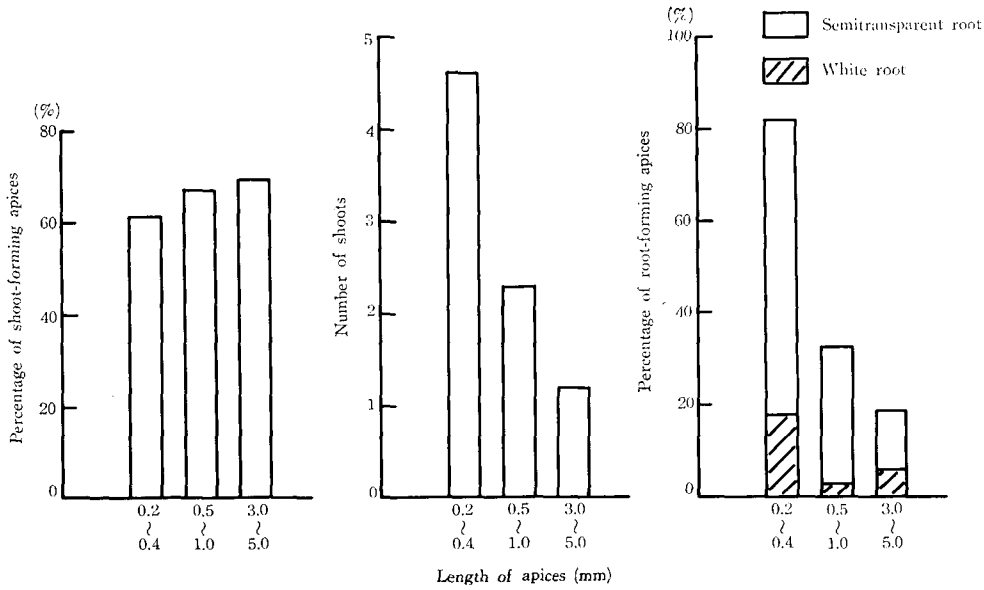

Fig. 6. Effect of size of apices on organ formation in culturing the apices excised from the stock shoots (after 12 weeks of culture in Expt. 2).

Table 1. Effect of the growth regulators and transferring on organ formation in culturing 1 cm-length shoot segments with a node excised from the stock shoots (after 10 weeks of culture in Experiment 3)

Mark of batches	Conc. of growth regulators in liquid medium used in preculture		Culture period in pre-culture	Conc. of growth regulators in solid medium after transfer		Percentage of shoot-forming segments	Number of shoots per segment	Length of shoots	Percentage of root-forming segments	Number of roots per segment	Length of roots
	BA (M)	IBA (M)	(day)	BA (M)	IBA (M)	(%)		(cm)	(%)		(cm)
A	—	—	—	0	10^{-6}	90.0	5.3	7.8	0	—	—
B	0	10^{-5}	7	0	10^{-6}	37.5	4.7	5.3	22.5	2.3	1.9
C	0	10^{-5}	1	0	0	75.0	4.5	7.5	2.3	1.0	2.0
D	0	10^{-5}	3	0	0	60.0	5.4	6.4	10.0	1.5	1.5
E	0	10^{-5}	7	0	0	45.0	3.0	4.0	7.5	1.0	1.3
F	10^{-6}	10^{-5}	1	0	0	79.5	5.4	6.0	2.3	1.0	0.5
G	10^{-6}	10^{-5}	3	0	0	97.5	7.3	7.3	12.5	1.6	1.0
H	10^{-6}	10^{-5}	7	0	0	96.4	4.4	7.3	32.1	4.8	2.3

Table 2. Concentrations of BA and NAA in each medium in preculture before transfer in Experiment 4

Growth regulator	Mark of media					
	A	B	C	D	E	F
BA (M)	0	0	0	10^{-6}	10^{-5}	10^{-5}
NAA (M)	0	10^{-6}	10^{-5}	10^{-5}	10^{-5}	5×10^{-5}

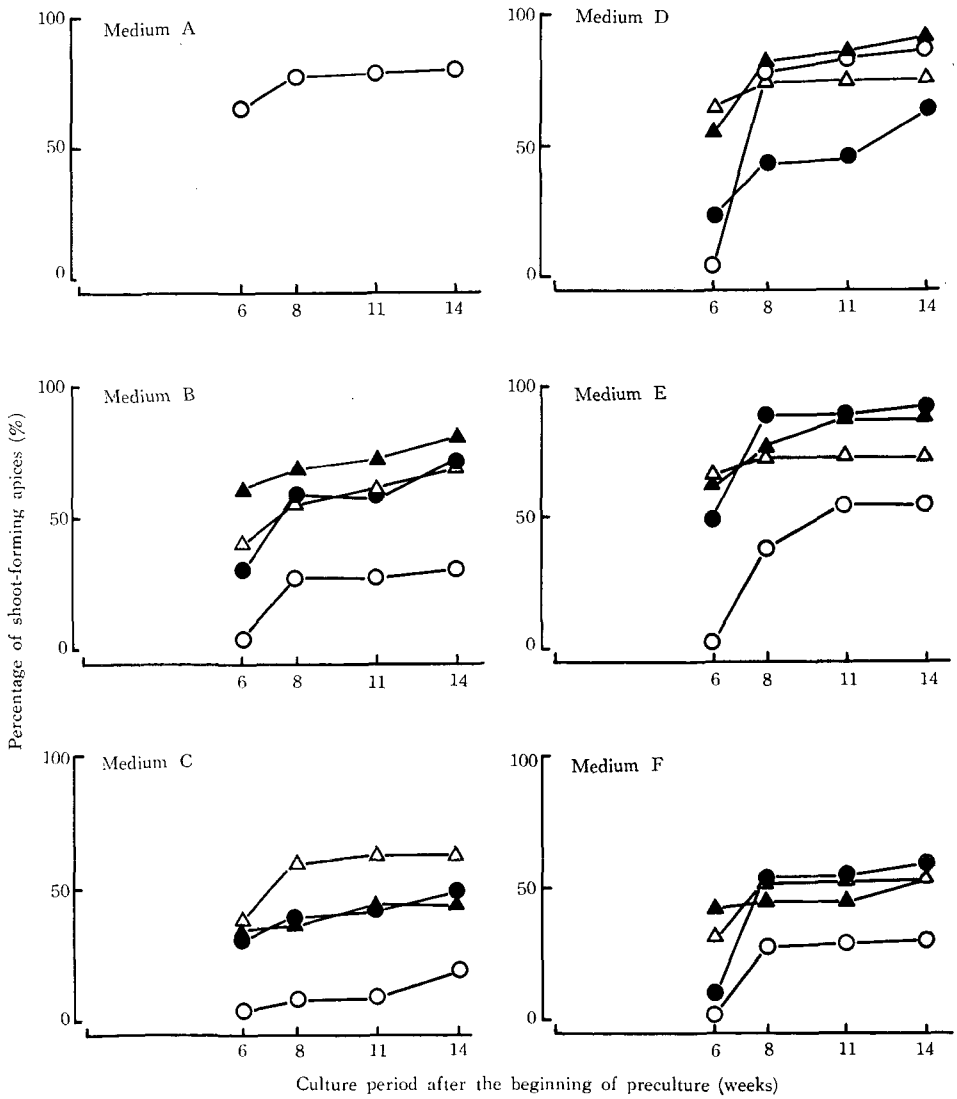

Fig. 7. Effect of the growth regulators and transferring on shoot formation in culturing 7 mm-length segments with a node excised from the stock shoots.

○——○ long-term culture without transferring ●——● 3-day preculture
△——△ 7-day preculture ▲——▲ 14-day preculture

これらはいずれも液体培地で7日間前培養後に寒天培地に移植した区であり，培養液中の生長調節物質はH区がBA 10^{-6} M とIBA 10^{-5} M の両方を含み，B区はIBA 10^{-5} M 単用であった。また，移植後の固形培地は，H区の場合生長調節物質を含まず，B区はIBA 10^{-6} M のみを添加したものである。なお，本実験においては直接寒天培地に置床したA区では発根が認められなかった。

実験4. NAAを含む液体培地での前培養と移植の効果

茎および根の発育開始期は実験3とほぼ同様で，茎は植込み1週後より，根は4～5週後よりそれぞれ分化，発育が始まった。各区の茎の発育，カルス形成，根の分化についての経時的変化は Fig. 7, 8, 9, 10 に示すとおりであった。

まず，最初から生長調節物質無添加の固形培地に植え

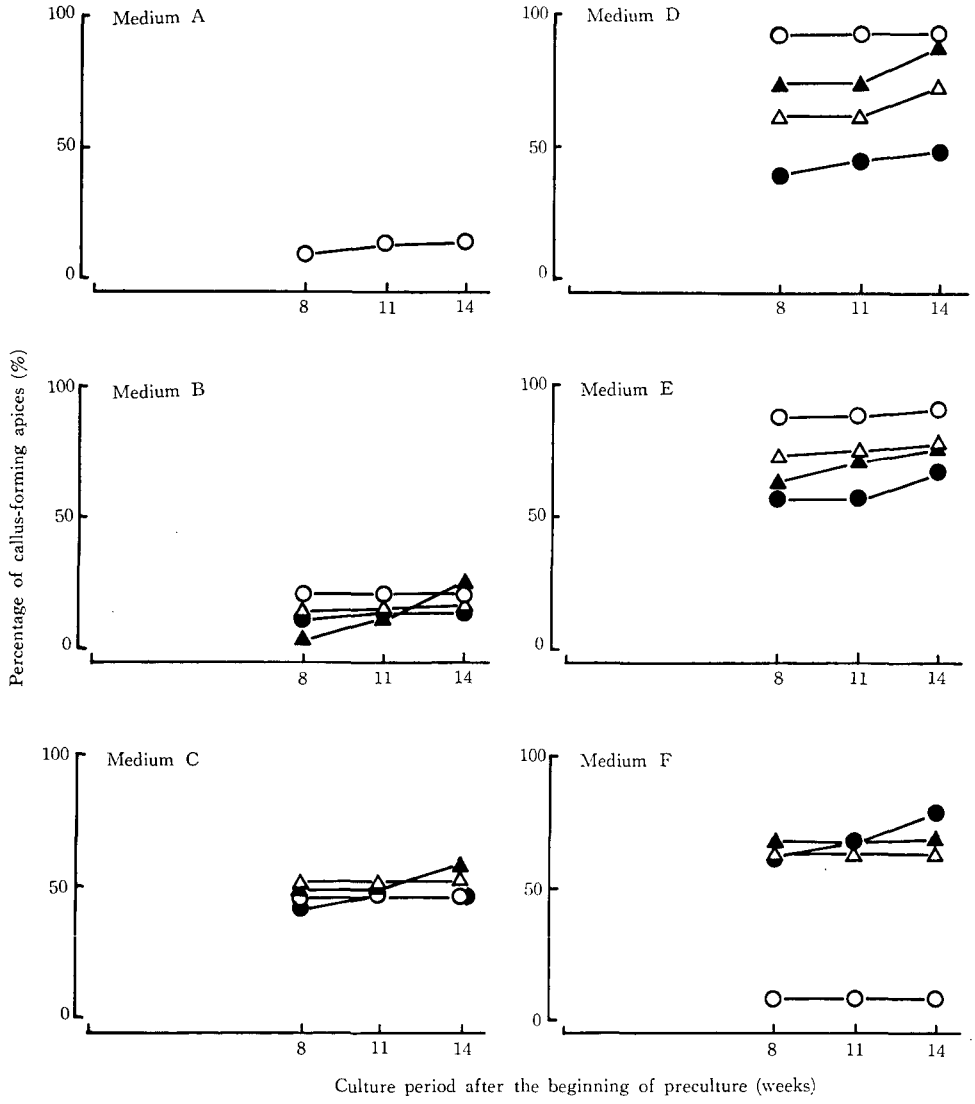

Fig. 8. Effect of the growth regulators and transferring on callus formation in culturing 7 mm-length segments with a node excised from the stock shoots.

○——○ long-term culture without transferring　●——● 3-day preculture
△——△ 7-day preculture　▲——▲ 14-day preculture

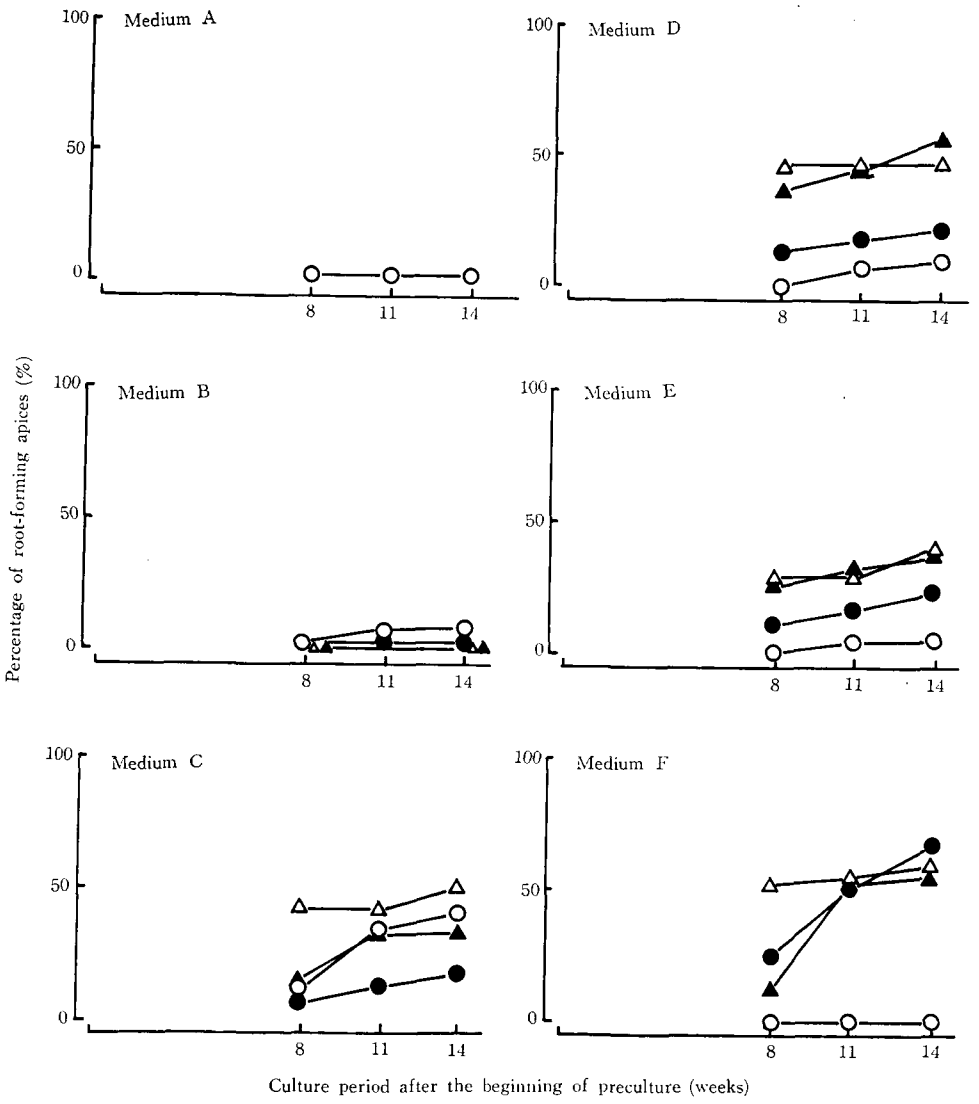

Fig. 9. Effect of the growth regulators and transferring on root formation in culturing 7 mm-length segments with a node excised from the stock shoots.

○——○ long-term culture without transferring ●——● 3-day preculture
△——△ 7-day preculture ▲——▲ 14-day preculture

込んだ Medium A (Fig. 7, 8, 9, 10 の左上) をみると，茎の発育は 80% に達したが，カルスの形成率，根の分化率はともにきわめて低かった。次に NAA のみを 10^{-6} M 添加した Medium B (Fig. 7, 8, 9, 10 の左側の中段) では，茎の発育は液体培地に 14 日間浸漬した後，生長調節物質無添加の固形培地に移植した区で 80% 程度で最も高く，最初から固形培地上で培養を継続した区は約 30% で最低であった。カルスの形成と根の分化は移植の有無に関係なく，すべての区で低かった。以上の 2 種の培地に比べると Medium C (NAA 10^{-5} M のみ添加), Medium D (BA 10^{-6} M, NAA 10^{-5} M 添加), Medium E (BA 10^{-5} M, NAA 10^{-5} M 添加, Medium F (BA 10^{-5} M, NAA 5×10^{-5} M 添加) の 4 種の培地の中では，茎の発育だけではなく，カルス形成率や根の分化率もか

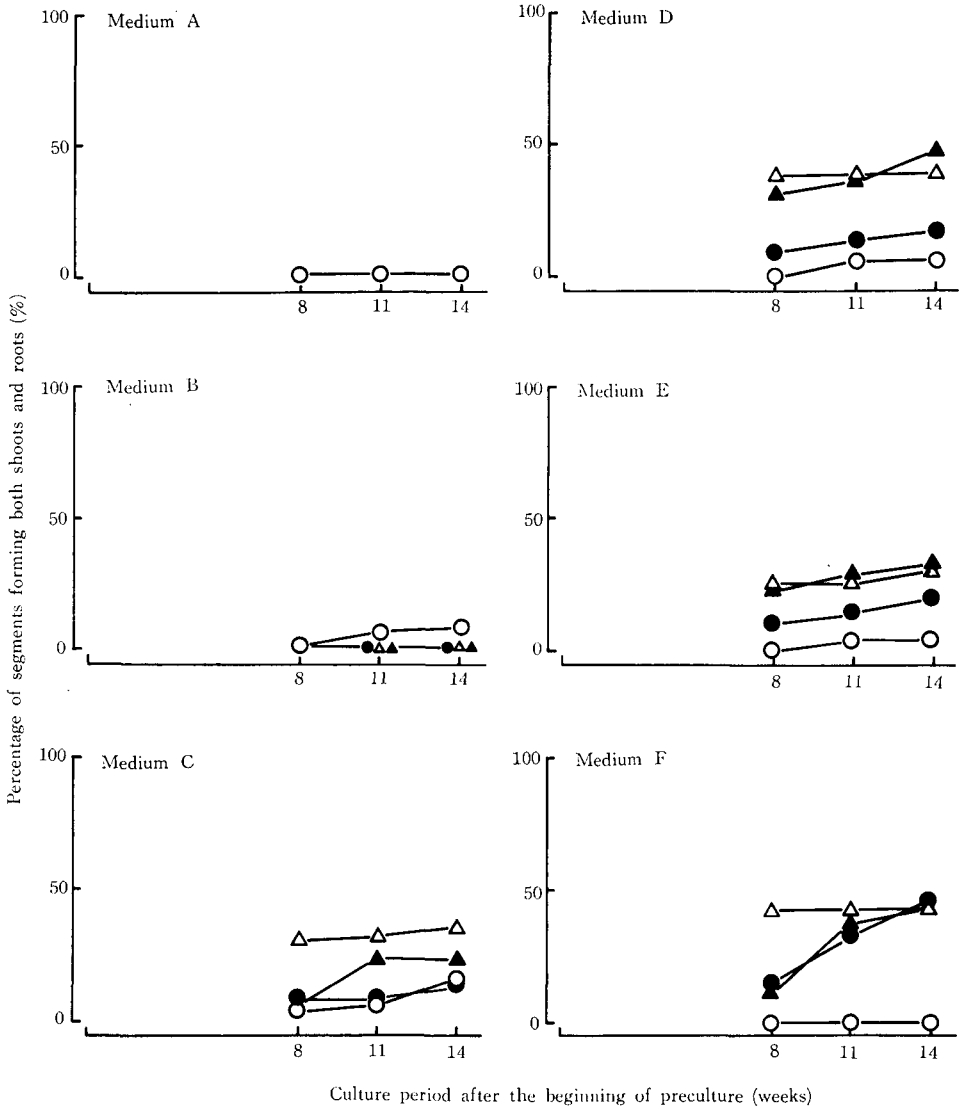

Fig. 10. Effect of the growth regulators and transferring on the shoot and root formation in culturing 7 mm-length segments with a node excised from the stock shoots.

○——○ long-term culture without transferring ●——● 3-day preculture
△——△ 7-day preculture ▲——▲ 14-day preculture

なり高い区が認められた。これらのうち，カルス形成率は Medium D と Medium E の無移植区で特に高かったが，植物体再生に関係の深い根の分化率は，全般を通じて移植区が高く，移植の効果が認められた。なお，これらの区のうち，茎と根の両方を分化した組織片率が最終的にほぼ50% に達したのは Medium D (BA 10^{-6} M, NAA 10^{-5} M) で14日間前培養した区と Medium F (BA 10^{-5} M, NAA 5×10^{-5} M) で3日，7日および14日間前培養した区であった (Fig. 11)。また，茎の前培養開始後，茎と根の両方を分化するのが比較的早かったのは Medium C (BA 無添加，NAA 10^{-5} M) で7日間前培養した区，Medium D で7日および14日間前培養した区，Medium E (BA 10^{-5} M, NAA 10^{-5} M) で7日または14日間前培養した区および Medium F で7日

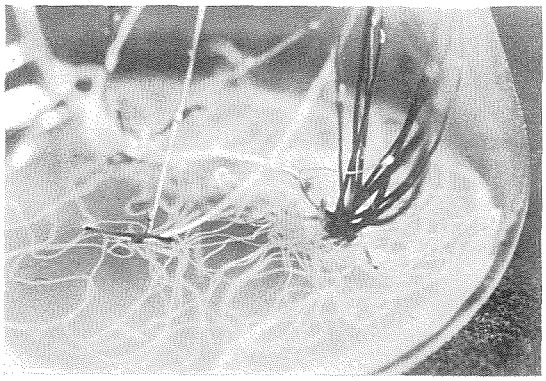

Fig. 11. Shoot and root formation from the 7 mm-length stem segments with a node excised from the stock shoots in Expt. 4.

間前培養した区などであった。

考　　察

アスパラガスの栄養繁殖を目的として組織培養を行った報告は少なくないが，これらをみると二つの方法が試みられている。その一つは植物体のある部位の組織片を培養し，これから直接植物体を再生させる方法で ANDREASSEN と ELLISON[1], CHIN, C. K.[2], GALSTON[3], GORTER[4], GREINER[5], HASEGAWA ら[6], MURASHIGE ら[9], 佐藤ら[10], STEWARD と MAPES[11], TAKATORI ら[12] などが試みている。第二の方法は，ある部位の組織片を培養して多量の茎 (stock plants) を形成させ，その茎の切片を培養して多数の植物体を再生させる方法で，INAGAKI ら[7], MATSUBARA と CLORE[8], YANG と CLORE[15),16),17] などが報告している。本報告では第二の方法について検討するため，培養茎を材料として，その茎頂と節部切片の培養における器官形成について四つの小実験を行った。

まず，茎頂培養を行った実験1の結果についてみると，茎の発育も根の分化もオーキシン無添加区より，適濃度のオーキシンを添加した区で良好であった。すなわち，茎の発育に対する適濃度は IBA で 5×10^{-7}～10^{-5} M, NAA で 5×10^{-7}～5×10^{-6} M と考えられ，根の分化に対しては IBA で 10^{-6}～10^{-5} M, NAA で 5×10^{-7}～10^{-5} M が適濃度の範囲と考えられた。

この結果をみると茎の発育に対する適濃度の範囲は IBA のほうが NAA よりやや広く，根の分化に対しては NAA のほうが適濃度の範囲がやや広いことになる。いずれにしてもアスパラガスの培養茎の茎頂培養においては器官形成に適するオーキシンの濃度範囲はかなり広いということができる。また，茎頂部の組織片の大きさについて検討した実験2の結果では組織片が小さいほど発育する茎数が多く，根の分化率も高かった。GREINER[5] や MURASHIGE ら[9] も同様のことを認めているが組織片が小さ過ぎると生存率が低いので，その点も考慮すべきであろう。

前報[10] でも述べたようにアスパラガスの組織培養を行う場合，分化する根には透明な根と白色の根があり，白色根のほうが概してよく伸長し，分岐根を発生しやすく，根の機能は明らかに透明根より旺盛である。したがって栄養繁殖を目的とする場合は白色根の分化が特に望まれるところである。実験1, 2の結果をみると，発根率はかなり高かったが白色根の分化率は高い場合で30%程度であった。

さらに茎頂培養の場合は切断面から根が分化するため，根の発生する部位と芽の原基とが離れていることが多く，両者の組織的つながりができにくい傾向が認められ，植物体再生の際の問題点と考えられた。すなわち，アスパラガスの株が発育して完全な植物体となるためには鱗芽群をもった地下茎ができ，その下部から白色根が発生するといういわゆる地下茎の体制が整う必要がある (Fig. 12)。したがって，植物体の再生率を高めるためには，ただ単に茎と根の発生率を高めるだけではなく，地

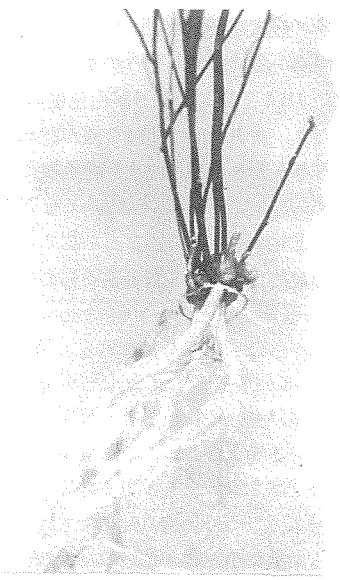

Fig. 12. A whole asparagus plantlet with a rhizome developed from the stem segment with a node.

下茎の体制を如何に整えるかという点が重要な課題となる。

以上の点から考えると節部切片の培養は茎頂培養に比べ地下茎体制をとり易い傾向が認められた。すなわち，節部切片を培養した場合に節部に生ずるいわゆる節根は白色根である場合が多く，節部から発育する茎と組織的に早くつながり，鱗芽群や地下茎の形成も比較的容易であった。節部切片の培養においては，生長調節物質を含む固形培地上で長期間培養を継続するよりは，最初生長調節物質を含む液体培地で7～14日間培養して適当量の生長調節物質を取り込ませた後，生長調節物質を含まない寒天培地に移植して培養した場合のほうが根の分化率がはるかに高かった。このような移植の効果についてはすでに2，3の報告[13),17)]で認められており，節部切片の培養を行う場合に適用できる方法と考えられる。この場合，前培養を液体培地で行うか，固形培地で行うか，また，前培養に使用する培地組成，とくに生長調節物質の種類と適濃度，さらに前培養の期間についてはいくつかの報告もみられるがさらに充分な検討を行うことによって，より高率で確実な植物体再生の方法が確立されるものと思われる。

つぎに，オーキシンの種類について，これまで筆者らが行った実験を本報告のみでなく既報および未発表のものも含めて総合的に検討してみると，IBAは組織片からの直接的発根を促すことが多いのに対し，NAAは低濃度でもカルス形成をともない，カルスからの再分化根が多くなる傾向が認められる場合が多かった。しかし，必ずしも常にIBAを用いたほうが白色根の発根率が高いわけではなく，両者の間に明瞭な差が認められない場合や，むしろNAAを用いたほうが白色根の分化率が高い場合も認められ，結論としてはIBAもNAAもともにオーキシンとして利用できることが認められた。

栄養繁殖の最終目的である培養茎からの植物体再生率は，各実験を平均すると20～30%と必ずしも満足できるものではなかった。しかし，これらの調査打ち切り後，さらに2～3か月放置しておくとかなりの切片が白色根を分化して，充分に移植できる再生植物体の状態にまで発育している場合も多い。これらの成績を含めると再生率はかなり高まることも予想される。

筆者らは目下，二つの目的のためにアスパラガスの組織培養による栄養繁殖を行っている。その一つは雄性系統の花粉親となる超雄株（MM系）と，母本として用いるための優良形質を有する雌株を急速に増殖することであり，他の一つは肥培管理に関する試験を行なうための形質の揃った栄養系を増殖するためである。なお，後者についてはすでに1株から約250株のクローンを育成して砂耕による肥料試験の材料に供し，好成績を修めている（Fig. 13）。

Fig. 13. A cloned plants propagated from a male plant through tissue culture.

摘　　要

アスパラガス若茎の小側枝を培養して得た直径1mm程度の培養茎を材料として，その茎頂部および節部切片を培養し，器官形成に及ぼす生長調節物質，組織片の大きさ，移植の影響などについて検討し，つぎのような結果を得た。

1. 0.5mmの茎頂を培養した結果ではIBA 5×10^{-7}～10^{-5}M，NAA 5×10^{-7}～5×10^{-6}Mの範囲で茎の発育が良く，根の分化はIBA 10^{-6}～10^{-5}M，NAA 5×10^{-7}～10^{-5}Mで良好であった。

2. 茎頂組織片の大きさについての比較では，茎の発育は組織片の大きいほうがわずか良かったが，根の分化は組織片の小さい区で明らかに良好であった。

3. 節部切片の培養においては，生長調節物質（BA，IBA）を含む液体培地に浸漬してから固形培地に移植した場合に移植の効果が認められた。これらのうち，根の分化率の最も高かったのはBA 10^{-6}MとIBA 10^{-5}Mを含む液体培地に7日浸漬した後，生長調節物質を除いた固形培地に移植した区であった。

4. 節部切片をBAとNAAを含む液体培地に浸漬処理した後，生長調節物質を除いた固形培地に移植した場合でも，全般を通じて移植区の根の分化率が高かった。なお，茎と根の両方を分化した組織片率が50%以上に達したのはBA 10^{-6}M，NAA 10^{-5}Mに14日間浸漬した区と，BA 10^{-5}M，NAA 5×10^{-5}Mに3日，7日，14日間浸漬した区であった。

引 用 文 献

1. ANDREASSEN, D. C. and ELLISON, J. H.: Root initiation of stem tip cuttings from mature asparagus plants, *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **90**: 158-162. 1967
2. CHIN, C. K.: Promotion of shoot and root formation in asparagus *in vitro* by ancymidol, *HortScience*, **17**: 590-591. 1982
3. GALSTON, A. W.: On the physiology of root initiation in excised asparagus stem tips, *Amer. J. Bot.*, **35**: 281-287. 1948
4. GORTER, C. J.: Vegetative propagation of *Asparagus officinalis* by cuttings, *J. Hort. Sci.*, **40**: 177-179. 1965
5. GREINER, H. D.: Vegetative Vermekrung von Spargel (*Asparagus officinalis* L.) durch die Kultur von Sproßspitzen, *Gartenbauwissenschaft*, **39**: 549-554. 1974
6. HASEGAWA, P. M., MURASHIGE, T. and TAKATORI, F. H.: Propagation of asparagus through shoot apex culture II. Light and temperature requirements, transplantability of plants, and cytological characteristics, *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **98**: 143-148. 1973
7. INAGAKI, N., HARADA, T. and YAKUWA, T.: Studies on the anther culture of horticultural crops VI. Regeneration of plantlets from shoots obtained through the anther culture of *Asparagus officinalis* L., *J. Fac. Agr. Hokkaido Univ.*, **60**: 275-283. 1982
8. MATSUBARA, S. and CLORE, W. J.: Vegetative propagation of asparagus from lateral buds, *Sci. Rep. Fac. Agr. OKAYAMA Univ.*, **43**: 19-26. 1974
9. MURASHIGE, T., SHABDE, M. N., HASEGAWA, P. M. TAKATORI, F. H. and JONES, J. B.: Propagation of asparagus through shoot apex culture I. Nutrient medium for formation of plantlets, *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **97**: 158-161. 1972
10. 佐藤 洋・原田 隆・八鍬利郎： アスパラガスの形態形成に関する研究（第8報）若茎各部位の組織培養における器官形成，北大邦文紀，**14**: 76-89. 1983
11. STEWARD, F. C. and MAPES, M. O.: Morphogenesis and plant propagation in aseptic cultures of asparagus, *Bot. Gaz.*, **132**: 70-79. 1971
12. TAKATORI, F. H., MURASHIGE, T. and STILLMAN, J. I.: Vegetative propagation of asparagus through tissue culture, *HortScience*, **3**: 20-22. 1968
13. WEI-YAN, Z. and XIN-FA, M.: A study on the propagation of asparagus clones from explanted axillary buds, *Acta Agri. Univ. Pekinensis*, **7**: 89-94. 1981
14. YAKUWA, T., HARADA, T. and TSUJI, H.: Studies on the morphogenesis of asparagus IV. The effect of transplanting on callus and organ formation of stem segment cultured *in vitro*, *J. Fac. Agr. Hokkaido Univ.*, **61**: 151-159. 1982
15. YANG, H. J. and CLORE, W. J.: Rapid vegetative propagation of asparagus through lateral bud culture, *HortScience*, **8**: 141-143. 1973
16. YANG, H. J. and CLORE, W. J.: Development of complete plantlets from moderately vigorous shoots of stock plants of asparagus *in vitro*, *HortScience*, **9**: 138-140. 1974
17. YANG, H. J. and CLORE, W. J.: *In vitro* reproductiveness of asparagus stem segments with branch-shoots at a node, *HortScience*, **10**: 411-412. 1975

Summary

The apices and 7-10 mm length segments with a node excised from the stock shoots developed from the predeveloping lateral shoots of spears were aseptically cultured *in vitro* to obtain a fundamental knowledge for establishing a vegetative propagation method of asparagus. The media contained MS medium, 2.0% sucrose, auxins and cytokinin and were solidified with 0.6% agar after pH adjustment to 5.5. The cultures were maintained at 25°C under artificial light (1,000-4,000 lx with white fluorecent lamps, 16-hour day length). Four experiments were carried out and the results are summarized as follows:

1. In culturing 0.5 mm-length apices, good shoot formation was recognized at $5\times10^{-7}\sim10^{-5}$ M of IBA or $5\times10^{-7}\sim5\times10^{-6}$ M of NAA, and the percentage of the apices developing roots was higher than 80% at $10^{-6}\sim10^{-5}$ M of IBA or $5\times10^{-7}\sim10^{-5}$ M of NAA.

2. With regard to the size of apices, shoot development was slightly better in large apices than small ones, while the percentage of root-differentiating apices was clearly higher in small apices than in large ones.

3. In culturing the shoot segments with a node, the effectiveness of transferring on root formation was clearly recognized. Namely, the highest percentage of root formation was obtained in the batch in which the segments were precultured for 7 days in liquid medium containing both 10^{-6} M of BA and 10^{-5} M of IBA, and then they were transferred onto the solid medium without growth regulators.

4. Effectiveness of transferring on organ formation was recognized also in the experiment using liquid medium containing BA and NAA for preculture. In this case, the percentage of segments forming both shoots and roots was over 50% in the batches of 14-day preculture in the medium containing 10^{-6} M of BA and 10^{-5} M of NAA, and 3, 7 and 14-day preculture in the medium containing 10^{-5} M of BA and 5×10^{-5} M of NAA.