

ササユリ未熟種子の胚から効率的に実生を育成するための組織培養条件の検討

古谷 博^{1,3}・細木高志^{2,3*}¹広島県立農業技術センター 739-0151 東広島市八本松町原 6869²島根大学生物資源科学部 690-8504 松江市西川津町 1060³鳥取大学大学院連合農学研究科 680-0945 鳥取市湖山町Study on the *In Vitro* Culture Conditions for Raising Seedlings from Embryos Excised from Immature Seeds of *Lilium japonicum* Thunb.Hiroshi Furuya^{1,3} and Takashi Hosoki^{2,3*}¹Hiroshima Prefectural Agriculture Research Center, 6869, Hachihonmatsu-cho, Higashihiroshima, Hiroshima 739-0151²Faculty of Life and Environmental Science, Shimane University, 1060, Nishikawatsu-cho, Matsue, Simane 690-8504³United Graduate School of Agricultural Sciences, Tottori University, Koyama, Tottori 680-0945

Summary

The effects of various such culture conditions as culture temperature, and concentration of sucrose, gelling reagents and plant growth regulators on the growth and development of embryos excised from immature seeds of *Lilium japonicum* Thunb. were examined. The embryos as cultured explants were obtained from the capsule in early September. Embryos with 3 - 5 mm in length were cultured *in vitro* on Murashige and Skoog medium (pH 5.7) under controlled lighting conditions ($45 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 16/8 hr: light/dark). The optimal temperature for germination, growth and bulb formation was 20~25°C. The plantlets were effectively established on MS hormone-free medium containing 3% sucrose and gelled with 0.8% agar or 0.4% gellan gum. Further-more, 1~10 μM of exogenous Kinetin or BA promoted embryo growth within 30 days of culture. 1~10 μM of exogenous IAA promoted multiple bulblet formation. The results indicate that our *in vitro* method for successfully raising plantlets can be efficiently applied to mass seedling propagation of *Lilium japonicum* Thunb.

キーワード： 培養条件, 胚培養, *in vitro*, ササユリ, 植物生長調節物質

緒言

ササユリは日本原産のユリで、中部、近畿、中国、四国地方に自生している(清水, 1987)。本種は、清楚な花型に薄いピンク色の花弁と芳香を有する特性から鑑賞価値が高い。一方、近年自生地ほとんどで個体数が減少しており、種の保護が求められている。これらの理由を背景に、1990年頃から組織培養による大量増殖に関する研究が多く行われた。報告として、りん片培養での子球形成(浅尾ら, 1992; Fukuiら, 1989; 市川, 1993; 新美, 1990; Niimi, 1995)、子球肥大の培養条件(Maesatoら, 1991; 水口・大川, 1994; 永瀬ら, 1990)、液体振とう培養や通気培養による球肥大促進およびスケールアップ(春木・山田, 1992; 河原林, 1993)等はあるが実用化されている例は少ない。

一方、実生繁殖も可能であるが、ササユリ種子は地下遅発芽性であるため、種子を播いてから地上発芽するまでに1年以上の期間を必要とする。種子の発芽促進法としては、パーミキュライトを充填したビニール袋に種子を埋没し、一定期間の高温処理とその後の中・低温処理により休眠打破する温度処理法が一般的に用いられている(鎌田, 1987)。この方法により、秋に採取した種子から翌春遅くには子球を得ることが可能であるが、温度処理法は年により子球形成率が不安定である。

ササユリは受精から種子の成熟まで5か月を要し、種子の発芽率は、交配後4か月以降に一度低下した後再び高まる(荒井ら, 1998)。また、交配3か月後の未熟種子は、付傷処理を行えば、無処理より発芽率が高まる(稲垣ら, 2002)。古谷(1997)は、ササユリ未熟種子内の胚が胚培養によって高率に発芽し、小球を形成することを見出し、未熟種子を使用したササユリの安定的種苗生産の可能性について報告した。本実験では、より発育したササユリ実生個体を効果的に獲得することを目的として、未熟種子

2005年2月9日 受付。2005年4月25日 受理。

* Corresponding author. E-mail: hosoki@life.shimane-u.ac.jp

から摘出した胚の発芽・発育と小球形成に及ぼす種々の *in vitro* 培養条件, すなわち, 培養温度, 培地内のシヨ糖濃度, 固化剤および植物生長調節物質の種類と添加濃度の影響について検討した。

材料および方法

広島県山県郡大朝町(現北広島町)に自生するササユリの開花株に, 2004年5月下旬に授粉して結実させたさく果(径約3 cm, 長さ約5 cm: 未熟種子数150~200粒)を, 2004年9月10日に採取した。水洗後, 有効塩素濃度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さく果から, クリーンベンチ内で未熟種子をピンセットで摘出した。さらに, その種子から摘出した胚(大きさ3~5 mm)を外植体として供試し, 以下の実験を行った(第1図)。

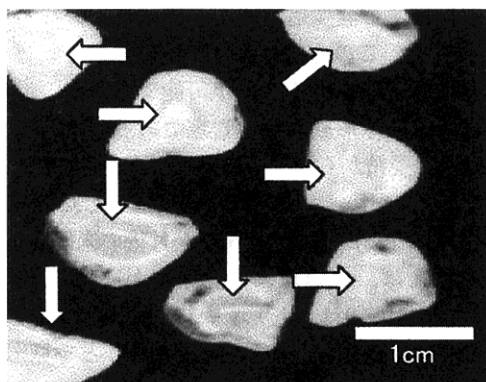
実験1. 培養温度の影響

*In vitro*における培養温度が胚の生育に及ぼす影響を検討した。3%シヨ糖を添加し, pH 5.7に調整したMurashige・Skoog(以下MS)培地(1962)に0.8%寒天を加えて溶解した。その後, 培養容器(高さ100 mm×径25 mm試験管)あたり培地10 mlを注入し, オートクレーブで滅菌($1.2 \text{ kg} \cdot \text{cm}^{-2}$, 121°C , 15分間)して胚培養に用いた。

光条件は, $45 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (白色蛍光ランプ: FL40SW, 三菱電機オスラム(株)製), 16時間照明とし, 試験区として温度勾配人工気象器内で10, 15, 20, 25, 30°C の5区を設けた。容器あたり2個の外植体を置床し, 試験区あたり20容器(外植体40個)を供試した。外植体置床1か月後に, 本葉伸長(発芽)個体数, 根伸長個体数, 小球形成個体数の供試数に対する割合(%)を算出した。

実験2. 培地の固化剤の種類とシヨ糖添加量の影響

MS培地に加える固化剤の種類と添加濃度およびシヨ糖添加量が胚の生育に及ぼす影響を検討した。固化剤として寒天とゲランガムの2種類を用い, 寒天0.4, 0.8, 1.2, 1.6%濃度区, ゲランガム0.1, 0.2, 0.3, 0.4%濃度区



第1図 授粉3.5か月後のササユリのさく果から摘出した未熟種子。矢印は未熟種子内の胚を示す。

の計8試験区を設け, シヨ糖3%添加培地で試験を行った。また, シヨ糖添加量の検討は, 1.5, 3, 6, 9%の4試験区を設け, 寒天0.8%培地を用いて試験を行った。

固化剤の種類と添加濃度, 培養容器および培地の量以外は, 実験1と同様の条件で培地を作成した。培地30 mlを注入した100 ml広口フラスコ(柴田ハリオ製)培養容器に, 容器あたり外植体5個を置床し, 試験区あたり10容器(外植体50個)を供試した。培養は, 25°C , $45 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 16時間照明下(白色蛍光ランプ)の培養室内で行った。外植体置床3か月後に実験1と同様の生育調査を行った。

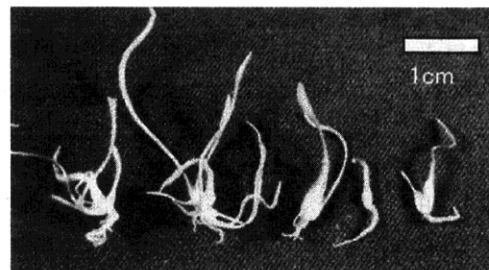
実験3. 胚の発育に及ぼす植物生長調節物質の種類と添加濃度の影響

植物生長調節物質として, オーキシンの indole-3-acetic acid (IAA)と α -naphthaleneacetic acid (NAA), およびサイトカイニンの kinetinと6-benzyladenine(BA)の4種類を供試した。いずれの植物生長調節物質にも, 1, 5 および $10 \mu\text{M}$ の3濃度区を設け, これに植物生長調節物質無添加区を加えた計13区で試験した。植物生長調節物質を添加後pH 5.7に調整し, 0.8%寒天を加えて溶解したMS培地を高さ100 mm×径25 mm試験管に10 mlずつ分注し, 実験1と同様にオートクレーブで滅菌して試験に用いた。容器あたり外植体1個を置床し, 試験区あたり20容器(外植体20個)を供試して実験2と同じ培養室で培養した。外植体置床30日後に, 培養体の大きさを測定し, 生存数と小球形成数の供試外植体数に対する割合(%)を算出した。また, 外植体置床100日後に, 植物体再生数, 小球形成数, カルス形成数を調査し, 供試外植体数に対する割合(%)を算出すると共に, 再生個体の草丈(シュート長), 外植体当たり小球形成数および球径(最大直径)を調査した。

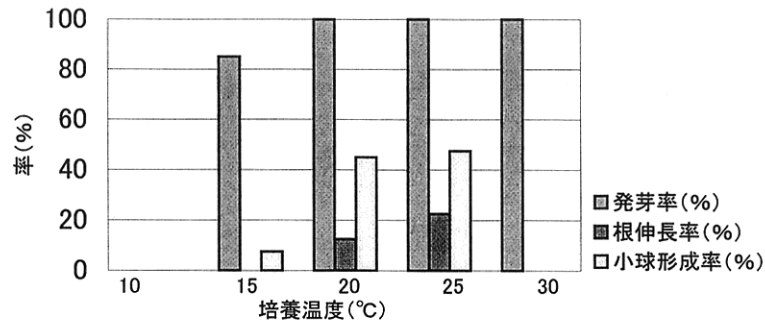
結果および考察

実験1. 培養温度の影響

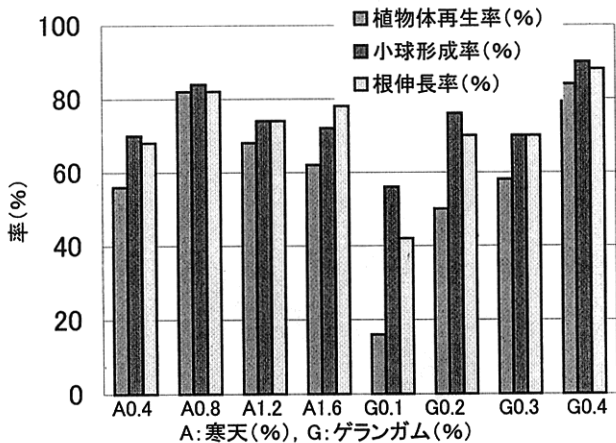
ユリ類のうち, ササユリ, ヤマユリ, オトメユリなどの種子は地下遅発芽の習性を有し, 播種から地上発芽まで1年半を要する(鎌田, 1987)。ヤマユリの種子は, 6週間の高温処理で休眠打破効果が大きく認められるが, 高温処理前に種皮を全て除去すると地下発芽が著しく促進



第2図 ササユリの未熟種子から摘出した胚の培養によって得られた幼植物体



第3図 培養温度がササユリの未熟種子より抽出した胚の発芽および発育に及ぼす影響



第4図 培地の固形化剤の種類と添加濃度がササユリの未熟種子より抽出した胚の発芽および発育に及ぼす影響

される(高樹・原, 1994). 著者は, ササユリでは種子に対する 30°C, 2か月間の温度処理が発芽促進に有効であること(古谷, 1997), また, 未熟種子から抽出・培養した胚が容易に発芽し, 実生個体(第2図)が得られることを報告した(古谷, 1999). これらの結果を踏まえて, 本実験ではササユリの胚培養において胚の発芽・発育に及ぼす種々の *in vitro* 培養条件について検討した.

温度についてみると, 20, 25, 30°C区での発芽率は100%であったが, 15°Cでは82.5%と少し劣った(第3図). 10°Cでは発芽個体は全く認められなかった. 根が伸長した個体の割合(根伸長率)は, 20°C区で42.5%, 25°C区で42.5%, 15°C区で5%であり, 5°C区と30°C区では発根しなかった. また, 小球形成率は, 20°C区と25°C区でそれぞれ17.5~20.5%と良好であった. 以上の結果は, 地下遅発芽性ユリであるオトメユリ, ヤマユリの種子の地下発芽・小球形成期の最適温度は20~21°Cであるとする報告(新田ら, 1984; 高樹・原, 1994)と一致していた.

実験2. 培地の固形化剤の種類とシヨ糖添加量の影響

植物組織培養の固形培地作成時のゲル化剤には, 寒天を用いる場合が多く, その一般的な添加量は0.8%である. また, MS培地の標準シヨ糖添加量は3%である. 本実験において, 培地の固形化剤の種類と添加量およびシヨ糖添加量の違いが外植体の生育に及ぼす影響について検討した結果, 培地へ添加する固形化剤の種類と濃度に

より胚の生育は異なった. すなわち, 胚の発芽率, 小球形成率および根の伸長率とも, 寒天0.8%区とゲランガム0.4%区はほぼ同等であり, 最も良好であった(第4図). また, 寒天培地では添加量による発芽・発育の差はほとんど見られなかったが, ゲランガム培地では添加濃度が低いと全体的に生育が著しく劣る傾向にあった(第4図).

0.2%ゲランガム(W/V)培地の硬さ(ゲル強度)は1%寒天(W/V)培地と同等である(下村・鎌田, 1986). 本実験では, 寒天とゲランガムとでは胚の発育に及ぼすゲル強度の影響が異なることが認められたことから, *in vitro* 培養における胚の発育には培地の硬さだけではなく, 両者の成分の違いが影響したものと思われる.

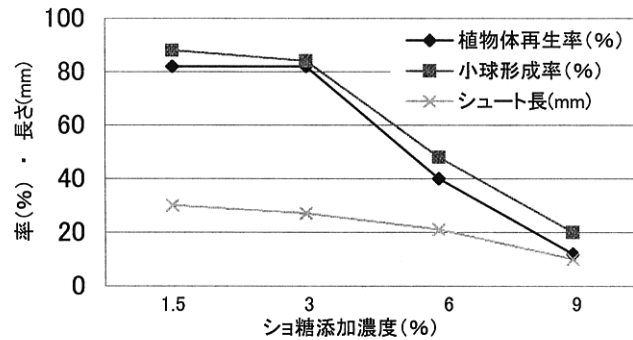
次に, シヨ糖1.5%区と3%区では, 植物体再生率および小球形成率ともに80~85%と高かった(第5図). しかし, 6%以上の添加区では植物体再生率, 小球形成率は低下し, ショートの伸長も低下した. なお, 3か月間培養後の幼植物体の生育(生体重)は, 3%区が最も良く, 本葉および根の伸長は他の試験区の発芽個体に比べて優れていた(データ省略).

ユリの種間雑種作出を目的に行う子房培養では, 10%シヨ糖添加培地が適しており(森本・鴻野, 1990), ササユリのリン片培養でもシヨ糖の添加量10%が子球肥大を促進することが報告されている(永瀬ら, 1990). しかし, 本実験におけるササユリの胚培養ではシヨ糖濃度を高めると発芽率が著しく低下した. その原因として, シヨ糖添加量の増加に伴う培地の浸透圧の上昇による胚の発育停止あるいは枯死が考えられる.

実験3. 胚の発育に及ぼす植物生長調節物質の種類と添加濃度の影響

前項の実験結果から, MS寒天培地に胚(外植体)を置床して培養すれば高率にしかも安定して実生個体が得られることが明らかとなった. その際, 1個の外植体から複数の小球形成が認められた. そこで, 胚の発芽促進および小球形成と肥大促進における植物生長調節物質の影響を, オーキシンとサイトカイニン各2種類の計4種類を供試して検討した.

外植体置床30日後の生存率は, 無添加区で100%であったのに対し, NAA 5 μ M区と10 μ M区では10%以下と低かった(第1表). その他の試験区ではいずれも70%



第5図 培地のシヨ糖添加濃度がササユリの未熟種子より抽出した胚の発芽および発育に及ぼす影響

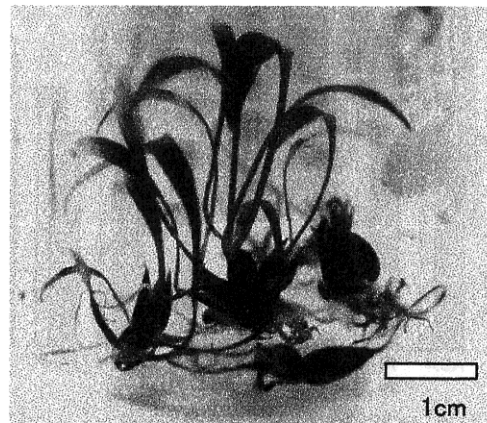
第1表 培地への植物生長調節物質の添加が胚の生育に及ぼす影響^z

植物生長調節物質	添加濃度 (μM)	生存率 (%)	胚の大きさ (mm)	小球形成率 (%)
IAA	1	95	$6.6 \pm 0.4b^{yx}$	0
	5	90	$5.7 \pm 0.4b$	0
	10	70	$6.2 \pm 0.7b$	0
NAA	1	80	$4.8 \pm 0.3c$	0
	5	10	5.0	0
	10	0	-	0
Kinetin	1	95	$12.1 \pm 0.8a$	30
	5	90	$11.5 \pm 1.0b$	25
	10	95	$12.0 \pm 0.9a$	0
BA	1	85	$10.1 \pm 1.2b$	40
	5	100	$12.1 \pm 1.3a$	0
	10	95	$9.4 \pm 1.1b$	0
無添加	-	100	$8.0 \pm 0.9b$	30

^z 胚置床30日後に調査^y 平均値 \pm SE (n=14~20)^x 異なるアルファベット間には5%水準で有意差あり (Tukey-Kramer test)

以上の外植体が生存しており, kinetin 1~10 μM 区と BA 1 μM 区および 5 μM 区の外植体(胚が生長した培養体)の大きさは無添加区よりも大きかった。また, IAA 1~10 μM 区および NAA 1 μM 区では外植体の大きさは小さい傾向にあった。なお, NAA 5および 10 μM 区に置床した外植体はほとんど生育せず, 枯死する個体が多かった。小球形成は, kinetin 5~10 μM 区, BA 1 μM 区で認められ, その形成率は 25~40%と無添加区の 30%とほぼ同様であった。

培養開始 100 日後の外植体からの植物体再生率および小球形成率は, IAA 1~5 μM 区と kinetin 1~10 μM 区とも無添加区の 84%とほぼ同等であった(第2表)。外植体あたりの小球形成数は, 無添加区は 1.1 個であったが, IAA 1~10 μM 区と NAA 1 μM 区では 2.7~3.6 個となり無添加区に比べ有意に多かった(第2表, 第6図)。なお, NAA 5 μM 区と 10 μM 区では, 外植体からのカルス形成が認められ, 植物体再生および小球形成個体ともほとんど得られなかった。培地置床後の胚の初期生育が優れていた kinetin 添加培地における植物体再生率および小球形成率は試験区による違いはみられず, 無添加区とも大



第6図 IAA 添加培地で培養した胚から得られた幼植物体

差はなかった。BA 添加培地では, 生育反応の試験区間差が大きかった。すなわち, BA 1 μM 区ではシュート形成率が 45%と最低であるにもかかわらず, 植物体再生率および小球形成率はともに 45%と最大となった。一方, BA 5 μM 区と BA 10 μM 区でのシュート形成率は 75~60%と高かったが, ほとんどの外植体がカルスを形成したため, 小球形成率は 15~10%と低かった。なお, 形成した小球の大きさ(最大球の直径)は, 無添加区に対して, kinetin 添加培地で少し大きくなる傾向がみられたが, 他の試験区では無添加区とほぼ同じ大きさであった(第2表)。

以上の様に, ササユリ未熟種子から抽出した胚の生長は, 培養初期(胚置床 30 日後)の段階ではサイトカイニンの kinetin か BA 添加によって促進されることが明らかとなった。その一方で, 培養後期(胚置床 100 日後)の胚生育後からみられる小球形成は, オーキシンの IAA 添加によって促進された。なお, NAA 添加は外植体のカルス化を招き, その結果, 生育抑制あるいは個体枯死が多く発生し, 無添加培地より生育が悪かった。

一般に, 交雑種子胚から雑種植物を得るために行う胚培養において, オーキシンやサイトカイニンは胚のカルス化を促進し, 生育を阻害するので, 添加されない。一方, 発生初期の胚を培養する場合にはオーキシンやカゼイン加水分解物などを添加しないと胚が正常に生育しな

第2表 培地への植物生長調節物質の添加が胚からの植物体再生および幼植物体の生育に及ぼす影響²

植物生長 調節物質	添加濃度 (μM)	植物体 再生率 (%)	シュート長 (cm)	小球形成率 (%)	小球形成数 (個/外植体)	球径 最大直径 (mm)	カルス 形成率 (%)
IAA	1	95	2.8 \pm 0.4b ^{xy}	95	2.7 \pm 0.3a ^{xy}	2.1 \pm 0.2b ^{xy}	0
	5	90	3.3 \pm 0.3a	90	3.6 \pm 0.4a	2.4 \pm 0.2b	0
	10	70	2.6 \pm 0.4b	60	2.7 \pm 0.4a	1.8 \pm 0.3b	0
NAA	1	75	3.5 \pm 0.5a	70	2.9 \pm 0.4a	2.6 \pm 0.3b	30
	5	10	0.9	0	-	-	30
	10	0	-	0	-	-	15
Kinetin	1	90	2.7 \pm 0.3b	90	1.1 \pm 0.1b	3.0 \pm 0.3a	0
	5	80	2.6 \pm 0.3b	80	1.3 \pm 0.1b	3.0 \pm 0.2a	0
	10	90	2.3 \pm 0.3b	90	1.2 \pm 0.1b	2.9 \pm 0.2a	0
BA	1	45	1.1 \pm 0.4c	45	1.2 \pm 0.2b	2.1 \pm 0.3b	30
	5	75	3.6 \pm 0.4a	10	1.5	3.5	85
	10	60	2.3 \pm 0.5b	15	3.3	2.3	80
無添加	-	85	2.5 \pm 0.3b	85	1.1 \pm 0.4b	2.6 \pm 0.2b	0

²胚置床 100 日後に調査^y平均値 \pm SE (n=14~19)^x異なるアルファベット間には5%水準で有意差あり(Tukey-Kramer test)

い場合も多い(鎌田・原, 1989)。ユリの胚培養は、通常交配後40~70日後の長さ0.4~0.5 mm以上の胚を摘出して培養されるが(浅野・明道, 1985)、植物体を得るための胚の長さは1 mm以上であることが必要であり、1 mm未満の幼胚では、カルスを形成させた後、再分化させ交雑植物体を得られる。この場合、NAA0.02mg \cdot L⁻¹+BA0.2mg \cdot L⁻¹添加培地を用いるとカルス形成率が高く、枯死率が低い(森本, 1990)。本実験に供試した胚は、受粉3.5か月後の長さ3~5 mmの比較的大きな胚である。この時期の種子は、荒井ら(1998)、稲垣ら(2002)によれば発芽可能であり、本実験においても未熟種子の種皮を取り除いて培養するだけで十分に発芽したことから完全に成熟した胚であった。この胚をIAA添加培地で培養すれば、発芽率には影響はみられなかったが、再生した植物体はシュートの生育が優れ、小球形成が促進され、1個の胚から複数の小球が形成することが認められた。その理由として、オーキシンの生理作用である極性移動(倉石, 1976)により、培地に添加したIAAやNAAが影響して外植体から複数の不定芽を形成した可能性が考えられるが、無添加区でも低率ではあるが同じ現象が得られていることから原因は明らかではない。

従来の大量増殖を目的に行うりん片培養では、NAA 0.1 mg \cdot L⁻¹+BA 0.01 mg \cdot L⁻¹添加培地がササユリの子球形成および生長に適し(Niimi, 1995)、子球の肥大にはNAA 1 μ M添加培地が適する(永瀬ら, 1990)。また、ヒメサユリでは、NAA 1.0 mg \cdot L⁻¹以上の濃度は子球形成を阻害する(Niimi, 1985)。本実験においても、NAA添加培地に置床した胚はカルス形成あるいは高濃度では枯

死個体の発生が多く認められ、同じオーキシンのIAAとは反応が異なった。なお、kinetinおよびBA添加培地に置床した胚は、培養初期には胚の発育促進効果は認められたが、再生植物体の生長に及ぼす影響は小さかった。

以上の結果、1~10 μ M濃度のIAAを添加し、0.8%寒天または0.4%ゲランガムを加えて固化したMS培地に、未熟種子から摘出した胚を置床した後、20~25 $^{\circ}$ Cの温度条件下で培養するだけで小球を形成した実生個体が確実に、しかも安定して得られる。また、この手法を用いれば、1個のさく果(未熟種子数150~200個)から450~600個の実生個体が養成できることが明らかとなった。従来のりん片培養も大量増殖の面では有効である。しかしながら、全国的に希少植物となっている自生地のササユリ球根をりん片培養の材料として用いることは、自然条件下で種子繁殖する個体を減少させるので、できるだけ避けたい。また、開花時に授粉して得たさく果を用いる本手法は、りん片培養に比べるとコンタミの危険も少なく、無菌操作を修得しさえすれば誰にでも行える極めて簡単な方法である。従って、ササユリの胚培養による増殖技術は種を保存しつつ種苗を安定供給する手段として大変有効な方法である。

摘 要

ササユリ未熟種子から摘出した胚の生育に及ぼす培養温度、培地内のシヨ糖濃度、固形化剤および植物生長調節物質の種類と添加濃度の影響について検討した。

自然開花時に授粉して結実したさく果を9月上旬に採取し、長さ3~5 mmに生長した胚を無菌的に摘出し、MS

培地に置床して $45 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 16時間照明下で培養した。胚の発芽, 生育および小球形成に及ぼす培養温度は $20\sim 25^\circ\text{C}$ が良く, 培地へのショ糖添加量は 3%, 固化剤は 0.8% 寒天あるいは 0.4% ゲランガムが再生植物体の生育に適していた。植物生長調節物質についてみると, 無添加培地でも植物体再生は可能であるが, Kinetin および BA 添加培地では胚の初期発育が促進された。IAA 添加培地では再生植物の小球形成が進み, 1個の胚から複数の小球が形成された。従来の実生繁殖に比べ効率的に再生植物が得られる本手法は, ササユリの持続的で安定的な種苗養成法として有効である。

引用文献

- 浅野義人・明道 博. 1985. ユリの胚培養と育種への応用. p. 266-283. 加古舜治編著. 増補/園芸植物の器官と組織の培養. 誠文堂新光社. 東京.
- 浅尾浩史・松谷幸子・田中恵子・荒井 慈. 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.
- 荒井 慈・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.
- 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: 119-124.
- 古谷 博. 1997. ササユリの種子発芽及び種子からの大量増殖について. 園学中四国支部要旨. 36: 50.
- 古谷 博. 1999. 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.). 広島農技セ研報. 67: 51-60.
- 春木和久・山田貝人. 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. 31: 64.
- 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.
- 稲垣栄洋・寺田吉徳・山本美智子・大塚寿夫・本間義之. 2002. ササユリ未熟種子の発芽特性と種子処理による発芽促進. 園学雑. 71: 133-138.
- 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: 611-618.
- 鎌田慶三. 1987. ユリの実生法. p. 132-136. 清水基夫編著. 日本のユリ原種とその園芸種. 誠文堂新光社. 東京.
- 鎌田 博・原田 宏. 1989. 胚, 胚珠, 子房培養および試験管内受粉, 受精. p. 114-116. 原田 宏・駒嶺 穆編集. 植物細胞組織培養. 理工学社. 東京.
- 倉石 晋. 1976. 植物ホルモン. p. 34-42. 東京大学出版会. 東京.
- Maesato, K., K. S. Sarma, H. Fukui and T. Hara. 1991. *In vitro* bulblet induction from shoot apices of *Lilium japonicum*. HortScience. 26: 221.
- 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トレン酢酸とベンジルアデニンの影響. 園学雑. 63: 429-437.
- 森本泰史. 1990. ユリの品種育成のための子房培養・胚培養法及び交雑植物同定法. 農業技術. 45: 361-366.
- 森本泰史・鴻野信輔. 1990. ユリ属の子房培養に関する研究. 岡山農試研報. 8: 19-24.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 15: 473-497.
- 永瀬 幸・福井博一・中村三夫. 1990. *In vitro* でのササユリの子球肥大に関する研究. 岐阜大農研報. 55: 137-142.
- Niimi, Y. 1985. Factors affecting the regeneration and growth of bulblets in bulb-scale cultures of *Lilium rubellum* Baker. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 54: 82-86.
- 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.
- 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.
- 新田 齊・安斉正典・沼 宋三. 1984. オトメユリ, ヤマユリの実生栽培に関する研究. 第1報. オトメユリ, ヤマユリ種子発芽および実生球の肥大について. 福島農試研報. 23: 81-93.
- 清水基夫. 1987. 日本のユリ原種とその園芸種. p. 53-56. 誠文堂新光社. 東京.
- 下村謙一郎・鎌田 博. 1986. 植物組織培養における培地固型化剤の役割. 植物組織培養. 3: 38-41.
- 高樹英明・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: 7-14.