エラチオール・ベゴニア（*Begonia* × *hiemalis* Fotsch）の組織培養におよぼす培地の植物生長調節物質と無機成分濃度の影響

三浦泰昌・玉田　剛*・後藤政昭**・北浦健生

Tissue Culture of *Begonia* × *hiemalis* Fotsch: Influence of Plant Growth Regulators and Concentration of Mineral Elements in Media.

Yasumasa MIURA, Tuyoshi TAMADA, Masaaki GOTOU, Takeo KITAURA

緒　言

エラチオール・ベゴニア（*Begonia* × *hiemalis* Fotsch）は，4倍体品種のキュウコン・ベゴニア（*B. tuberhybrida* Voss）と2倍体品種のベゴニア・ソコトラーナ（*B. socotorana* Hook）との交雑によって育成された3倍体品種であるために不稔性であり，'葉挿し'による栄養繁殖が行われている。

一方，栽培品種の多くはヨーロッパから導入されたものであるが，品種登録されたものについては苗購入代金に登録使用料が加算されるために，これが生産費を押上げ，経営を圧迫する一因となっている。その対策として，県内の生産者も独自に新品種育成を開始しており，すでに新品種を種苗登録した者も現れている。

これらの新品種が市場での優位性を確立するためには，短期間に生産量を拡大し，市場占有率を高める必要があり，そのためには苗の供給力が問題となる。その対策として組織培養による急速増殖法が注目されてきた。ベゴニア類の組織培養についてはすでに多くの報告があり[1,2,4,5,6,7,8]，エ・ベゴニアについてもPIERIKら[6]の初代培養，継代培養におけるBAとNAAの影響についての，固形培地を用いての基本的な研究や，高山ら[7]の液体振とう培養による大量増殖法についての報告がある。固形培地による増殖では移植時の培地除去などの操作が煩雑であり，液体振とう培養では増殖率は高いが，培養過程での培地交換や培養装置が高価な点で問題がある。また増殖率を高めるために継代培養を繰り返すと，突然変異の発生率が高まるとのWESTERHOFら[9]の報告もある。

そこで本県の，家族労力中心で数千～1万鉢程度のベゴニア生産農家を対象として，農家が利用可能な，比較的簡易でかつ安定した培養技術の確立を目標に，固形培地と液体静置培養の組合せによる新しい培養法を検討した。その結果，実用可能と考えられる技術が得られたので，ここに取りまとめて報告する。

本試験を行うについては，平塚市広川の窪田敬一氏に供試品種の提供をいただくとともに，種々助言をいただいた。記して謝意を表する。

材料及び方法

1．固形培地の植物成長調節物質が葉片からの苗条形成に及ぼす影響

培地はMURASHIGE & SKOOG（以下MS）の標準培地を用い，植物ホルモンとしてαナフタレン酢酸（以下NAA）の0.1，0.5，1.0ppmとベンジル・アデニン（以下BA）の0.5，1.0，1.5ppmの各3水準を組み合わせた9区を作った。ショ糖20g／ℓと寒天9g／ℓを加えてpHを5.70に調整後，試験管（内径18mm×長さ110mm）に10mℓを分注し，ア

*　国際協力事業団，在ブラジル
**　国際協力事業団，在ウルグアイ

ルミホイルで密栓してオートクレーブで滅菌した。

1987年2月10日に，5号プラスチック鉢植えの4品種'Nana' 'Najade' 'New elfe' 'Ilona'の開花株から成葉を取り，エチルアルコール70%液に10秒間，次亜塩素酸ナトリウム1%液に10分間浸漬して，滅菌水で洗浄後，葉身を約1㎠に切り取って試験管内の培地に置床した。

培養は25±1℃，明期14時間とし，明期の照度を試験管直上部で3000luxとした。培養は'87年8月10日まで行い，カルス及び苗条形成率を調査した。

2．外植体に及ぼす殺菌剤の種類とその組合せの影響

試験1において，培地に置床後比較的短期間内に黒変して枯死する外植体（葉片）が多かった。またその枯死率は品種によって異なった。そこで枯死率の低かった'Nana'と比較的高かった'Ilona'を用いて以下の試験を行った。

殺菌剤の種類と処理法については，従来のエチルアルコール70%液に10秒間浸漬(1)，次亜塩素酸ナトリウム1%液に10分間浸漬(2)の他に，Bigot[1]の方法に従い次亜塩素酸カルシウム5%液に40分間浸漬(3)と，(1)+(2)，(1)+(3)，(2)+(3)の6区とした。

'89年8月8日に成葉を取り，上記の殺菌液に浸漬後滅菌水で洗浄して，葉身を約1㎠に分割して試験管内の培地に置床した。培地はMS標準にNAA0.1ppmとBA0.5ppmを加え，さらにショ糖20g／ℓと寒天9g／ℓを加えて，pHを5.70に調節後試験管に分注し，アルミホイルで密栓してオートクレーブで滅菌した。

外植体の変化については培養開始10日後に，黒変枯死，細菌の繁殖，カビの繁殖，健全の4つに分類して調査した。

3．苗条からの個体誘導に及ぼす液体培地の無機成分と植物生長調節物質の影響

発根後の移植操作を簡便にするために，液体培地による苗条からの個体誘導条件について検討した。培地の無機成分の中で濃度の高い硝酸カリウム，硝酸アンモニウム，リン酸2水素カリウムと，植物生長調節物質のNAAとインドール酪酸（以下IBA）及びジベレリン（以下GA_3）の濃度について第1表に示す各々3水準を設定し，L'27直交表に割りつけた27種類の培地を作った。他の成分はMS標準とし，ショ糖20g／ℓを加え，pHを5.70に調節した。一方，試験管（長さ110㎜×内径18㎜）に，ろ紙No.2を短冊状（長さ50㎜×幅12㎜）に切って入れたペーパーウィックを作り，これに液体培地10㎖を分注してアルミホイルで密栓後，オートクレーブで滅菌した。

植物体は，試験1で得られた3品種'Nana' 'Ilona' 'New elfe'の苗条を'87年8月12日から'88年2月9日まで継代培養したものを用いた。継代培養の条件は次の要領で行った。すなわち，培地はMS標準にショ糖20g／ℓ，寒天9g／ℓ，NAA1.0ppmを加え，pHを5.70に調節した。この培地50㎖を300㎖容の培養フラスコに分注し，アルミホイルで密栓してオートクレーブで滅菌した後，試験管内の苗条を移植した。培養は気温25±1℃，14時間日長，明期の照度3,000luxの条件下で行った。

継代培養によって培養フラスコ内に密に繁殖した苗条塊を，'88年2月10日に取出し，3～5芽の塊りに分割して上記のペーパーウィックに置床した。なお，試験管は1区5本とし，培養温度は25±1℃，日長14時間，照度は試験管直上部で3,000luxとした。培養は'88年3月24日まで行い，茎葉と根の生育状態を調査した。

4．開花株における花色の変異について

'88年3月25日に，'Nana' 'Ilona' 'New elfe'の3品種について，茎葉及び根が発育し独立栄養への移行が可能と考えられたものを試験管から取出し，3号の黒色ポリポットに移植した。培養土は褐色火山灰下層土と腐葉土を容積比1：1とし，蒸気消毒（100℃，30分）したものを用いた。追肥はハイポネックス200倍液を2週間に1回施した。'88年9月13日に4号，'89年4月20日に5号，同9月1日に6号プラスチック鉢に移植して，11月1日から開花株について順次花色を調査した。

花色は開花直後の最も外側の花弁の内側の色を，日本園芸植物標準色票を用いて調査した。

結　　果

1．培地の植物生長調節物質が苗条形成に及ぼす影響

カルスの形成率と肥大およびカルスからの苗条形成率は品種によって異なり，'Ilona'と'Nana'で高く，'Najade'と'New elfe'で低かった。また，このようにカルス形成率の低い品種では，培地に置床後，短期間で外植体の切断

第1表　培地内成分の種類と水準別の濃度

列名	成分	濃度の水準（ppm） 1	2	3
(1)	NAA	1	2	3
(2)	IBA	1	2	5
(5)	GA_3	1	2	5
(14)	KNO_3	300	1000	3000
(17)	NH_4NO_3	1000	2000	3000
(20)	KH_2PO_4	100	200	300

面やその内側が斑点状に黒変し，やがて全体が黒変するものが多かった（第2表）。

カルスの肥大と苗条形成との間には密接な関係が認められ，'Ilona'と'Nana'では苗条形成率が高かった。一方，カルス形成率の低かった'Najade'と'New elfe'でも，カルス形成の進んだものからは苗条が形成され，その後の生育も順調であった。苗条形成と同様にカルスからの発根率にも品種間差があり，'Nana'が全カルスの60%と高かったのに対して，'Najade'は2.2%と低かった。また，'Najade'では苗条を形成したカルスからの発根は認められず，発根のみのカルスが認められた。

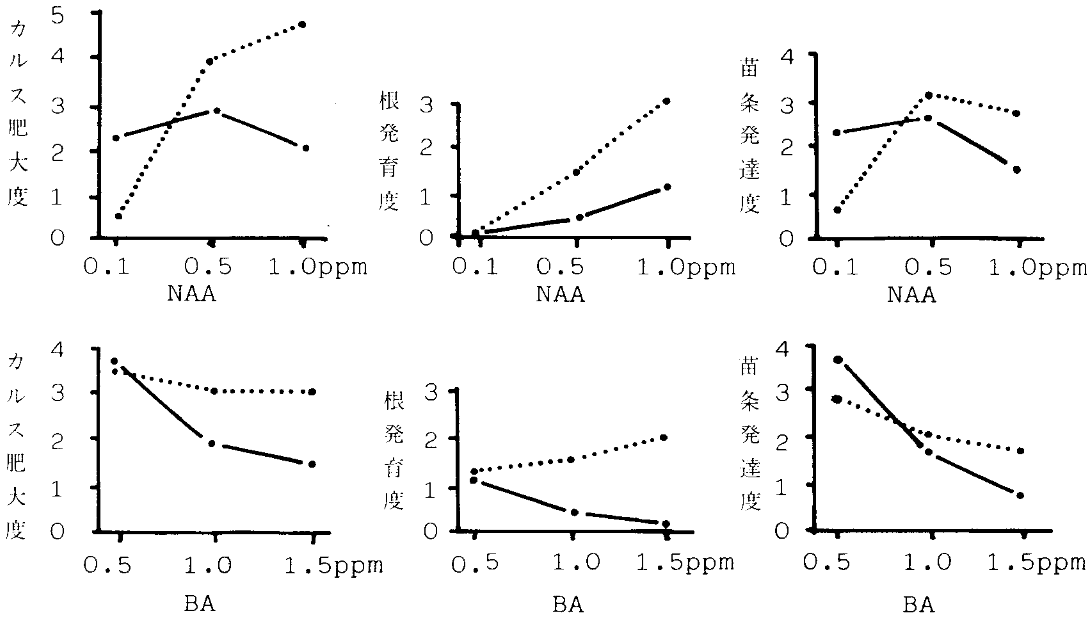
カルスの肥大度，苗条形成及び発根とNAA，BAの濃度との関係を第3表に示し，その中で苗条形成率の高かった'Nana'と'Ilona'について第1図に示した。NAA濃度に対する反応にも品種間差が認められ，'Nana'では0.5～1.0ppmでカルス肥大度，根の生育，苗条形成率が高かった。一方，'Ilona'ではカルス肥大度，苗条形成率ともにNAA濃度間に明らかな差は認められなかった。ただし，根の生育は1.0ppmでやや優れた。

BA濃度の影響も'Nana'と'Ilona'でやや異なったが，カルス肥大度と苗条形成率は，BA0.5ppmから1.5ppmに上昇するにつれて低下する傾向を示した。ただし，'Nana'の根

第2表　外植体からのカルス形成と不定根及び苗条形成率の品種間差異

品　種	カルス形成率	枯死率	カルス肥大度	不定根形成率	苗条形成率	不定根と苗条形成率
	%	%		%	%	%
Ilona	88.9	11.1	2.55	26.6	84.4	26.6
Nana	84.4	15.6	3.61	60.0	86.7	60.0
Najade	17.8	82.2	1.25	4.4	13.3	0
New elfe	44.4	55.6	1.05	2.2	51.1	2.2

注）カルス肥大度：カルスが形成された後，肥大の全く認められなかったものを0，最大に肥大したものを5として，6段階に分別した品種別の平均値を示す



第1図　NAAとBAの濃度がカルス、不定根及び苗条の発達に及ぼす影響

•———• : Ilona,　　•········• : Nana

第3表　カルスの肥大度，根の生育度及び苗条の発達度に及ぼす植物生長調節物質の影響

NAA (ppm)	BA (ppm)	Ilona			Nana			Najade			New elfe		
		カルス	根	苗条	カルス	根	苗条	カルス	根	苗条	カルス	根	苗条
0.1	0.5	3.6	0	4.0	0.8	0	0.8	0	0	0	0	0	0
	1.0	1.6	0	1.6	0.6	0	0.8	0	0	0	0	0	0
	1.5	1.2	0	0.6	0.6	0	0.6	0.2	0	0.4	0.4	0	0.2
0.5	0.5	4.4	0.8	4.0	4.0	1.4	3.8	0.8	0	0.2	0.6	0	1.0
	1.0	2.8	0.4	2.8	3.8	1.2	2.8	0	0	0	0.6	0	0.4
	1.5	1.2	0	1.0	3.8	1.2	2.6	0.2	0	0.4	0.6	0	0.4
1.0	0.5	2.6	2.6	2.6	4.8	2.2	3.4	0.4	0.6	0	0.8	0.2	1.0
	1.0	1.2	0.8	0.8	4.4	2.6	2.4	0.2	0	0.4	0.4	0	0.8
	1.5	1.8	0	0.6	4.6	4.2	2.4	0.2	0	0	0.8	0	0.8

注）カルス肥大度，根及び苗条の発達度：Min.0～Max.5，カルスの測定：3月8日，根と苗条の測定：3月24日

第4表　殺菌剤の外植体におよぼす影響と制菌力の比較

品種名	薬剤名	処理時間	健全	カビ	細菌	黒変
New elfe	(1)：エチルアルコール70%	10秒	10%	80%	10%	0%
	(2)：次亜塩素酸ナトリウム1%	10分	0	0	60	40
	(3)：次亜塩素酸カルシウム5%	40分	30	50	20	0
	(4)：(1)+(2)		0	90	0	10
	(5)：(1)+(3)		50	50	0	0
	(6)：(2)+(3)		0	20	0	80
Nana	(1)：エチルアルコール70%	10秒	10	60	0	30
	(2)：次亜塩素酸ナトリウム1%	10分	40	60	0	0
	(3)：次亜塩素酸カルシウム5%	40分	30	70	0	0
	(4)：(1)+(2)		0	70	30	0
	(5)：(1)+(3)		100	0	0	0
	(6)：(2)+(3)		40	0	30	30

の生育は濃度の上昇につれて促進される傾向にあった。

2．外植体に及ぼす殺菌剤の種類とその組合せの影響

滅菌処理後の培養中に2品種ともに細菌とカビの繁殖が認められたが，‘Nana’ではカビが優先し，‘New elfe’ではカビと細菌の両方が認められた。殺菌剤と菌の繁殖との関係をみると，単用の場合はいずれも制菌効果が低かったが，エチルアルコール70%液に10秒＋次亜塩素酸カルシウム5%液に40分の処理では，2品種ともに生存率が高く，‘New elfe’で50%，‘Nana’で100%に達した。

外植体の黒変との関係についてみると，発生症状は2品種とも試験1に類似したが，‘New elfe’では次亜塩素酸ナトリウムの単独または，これを併用した区で発生した。一方，‘Nana’ではエチルアルコール単独区と，次亜塩素酸ナトリウム＋次亜塩素酸カルシウム区で黒変が認められた。ただし次亜塩素酸ナトリウムと次亜塩素酸カルシウムの単用区では発生が認められなかった。

3．苗条からの個体誘導に及ぼす培地の無機成分と植物生長調節物質の影響

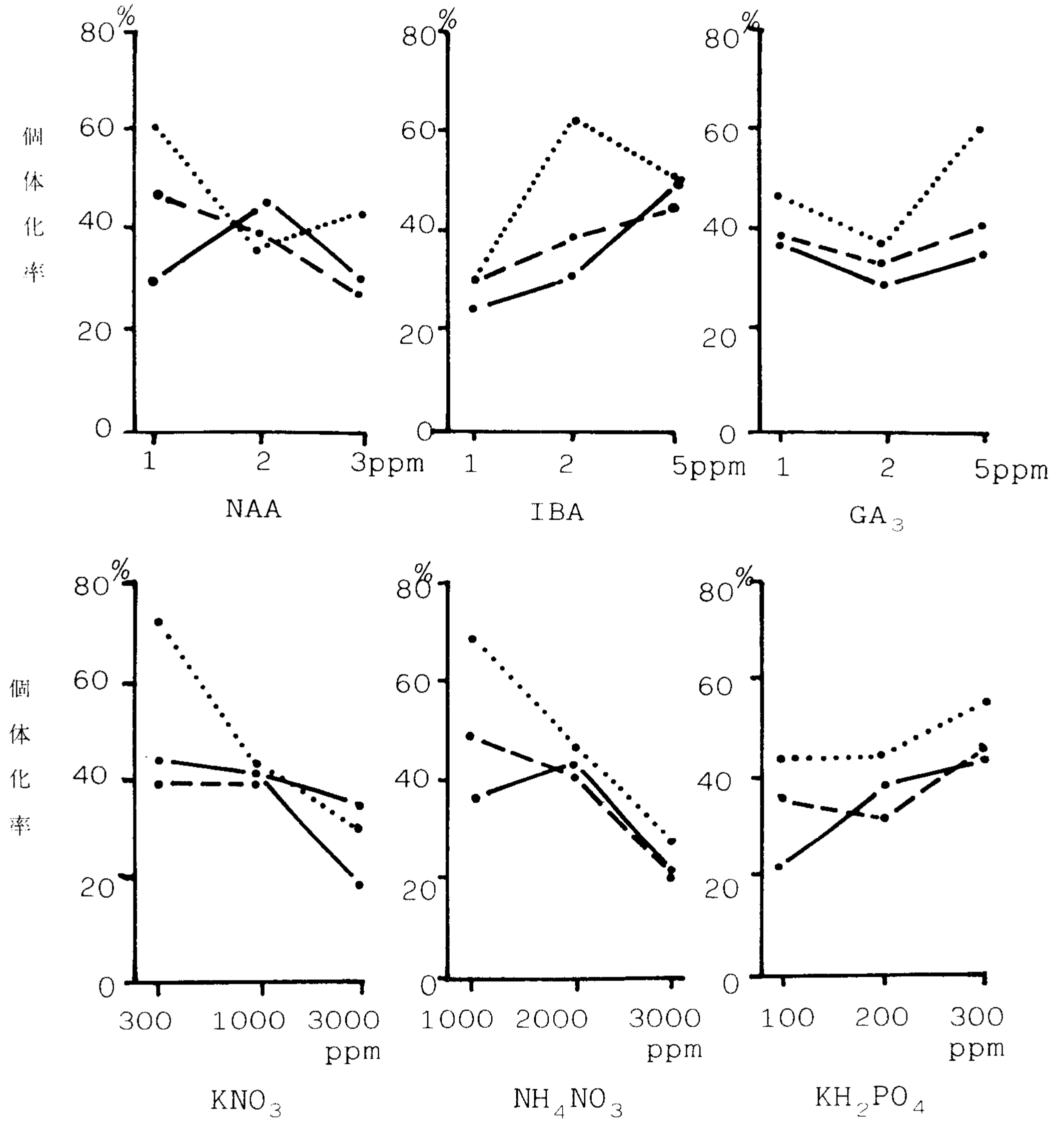
培地の無機成分濃度と個体化（苗条から茎葉と根が発達し，苗として独立栄養への移行が可能なもの）の関係は第2図のように，硝酸カリウム，硝酸アンモニウムでは，濃度の上昇につれて個体化率が低下した。これに対

してリン酸2水素カリウムでは品種によりやや違いがあるが，100, 200ppmに比較して300ppmの個体化率が高かった。

無機成分の影響を品種別にみると，'Ilona'は硝酸カリウム300ppm及び硝酸アンモニウム1000ppmで70％前後の高い個体化率を示したのに対して，'Nona'と'New elfe'は40～50％の比較的低い値を示した。ただし，硝酸カリウム1000ppm以上，硝酸アンモニウム2000ppm以上では，3品種とも個体化率が顕著に低下した。

次にNAA, IBA, GA_3の影響をみると，NAAの1～3ppmの間では濃度の上昇につれて個体化率がやや低下する傾向にあった。ただし，品種によってその傾向は異なり，'Nana'では2ppm, 'New elfe'と'Ilona'では1ppmで個体化率が高かった。また，IBAでは1ppmから5ppmまで濃度の上昇につれて個体化率が高まる傾向にあったが，'Ilona'では2ppmで高かった。GA_3についてみると，3品種とも2ppmでやや低く5ppmで高まる傾向にあったが，有意な差は認められなかった。

全区の成分別の濃度水準と品種別の個体化率を第3図



第2図 液体培地の成分濃度と品種別の個体化率の関係

•———• Nana, •— — —• New elfe, ••••••• Ilona

に取りまとめた。第18，19，20区では発根が全く認められず，したがって個体は得られなかった。一方，No.9区では‘Nana’と‘Ilona’が100%，‘New elfe’が75%個体化し，No.15，16区でも比較的高い個体化率を示した。これらの個体化率の高い区ではIBAが5ppmと高く，硝酸カリウムが300～1000ppm，硝酸アンモニウムが1000～2000ppmと低いことが共通的であった。

4．開花株における花色の変異について

‘Nana’117株，‘Ilona’159株，‘New elfe’90株について，開花直後の花色を日本園芸植物標準色票により調査した。結果は第6表のように‘Nana’では全株ともコードNo.2704（明緑黄）であり，また，‘New elfe’はコードNo.0105（鮮ピンク）で，両品種では花色の変異が認められなかった。一方，‘Ilona’では159株中の156株はコードNo.0704（黄ピンク）であったが，2株がNo.1304（明橙），1株がNo.1004（鮮黄ピンク）であった。

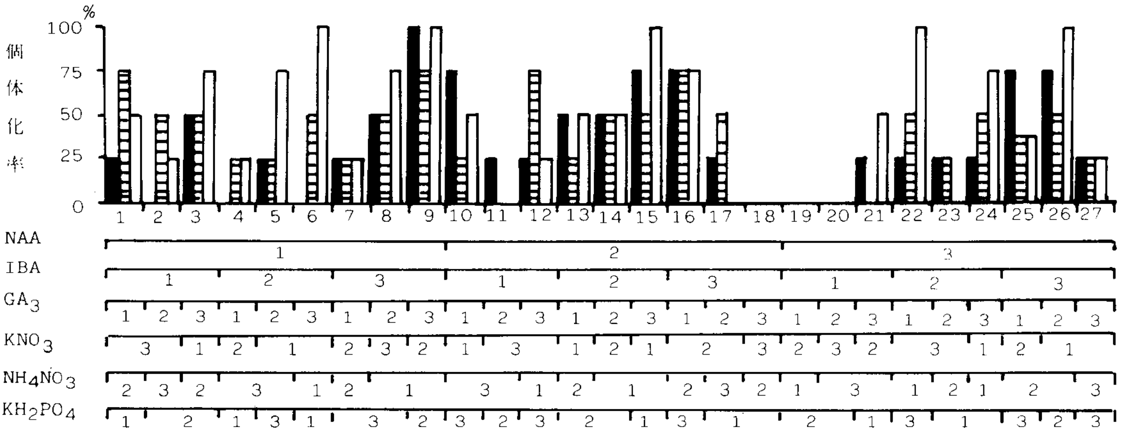
考　　　察

初代培養では，苗条形成率において品種間差が大きく，その原因は培養初期の外植体の枯死に由来した。外植体枯死の原因については，枯死率の高かった‘Najade’と‘New elfe’でも，残存した外植体からの苗条形成は他の品種と比較して差が認められなかったことから，培地や培養環境の影響とは考えられない。一方，試験2において殺菌剤の種類と外植体の黒変枯死との関係をみると，‘New elfe’では次亜塩素酸ナトリウムの単用又は，その併用区で発

第5表　培地の成分別の分散分析表

要　因	f	V	Fo	F'o
(A)　NAA	2	280.4	0.45°	
(B)　BA	2	1059.1	1.69	2.36
(C)　GA_3	2	380.3	0.61°	
(A×B)	4	719.5	1.15	1.60
(A×C)	4	711.2	1.14	1.59
(B×C)	4	485.1	0.78°	
(D)　KNO_3	2	1307.0	2.09	2.91*
(E)　NH_4NO_3	2	1929.9	3.09	4.30**
(F)　KH_2PO_4	2	503.3	0.81°	
(A×D)	4	319.1	0.51°	
(A×E)	4	330.1	0.53°	
(A×F)	4	395.3	0.63°	
e	8	625.2°		
e'	30	448.3		

注）e'は°印の丸め，＊：10%水準，
＊＊：5%水準で有意



第3図　27区の培地濃度の水準と品種別の個体化率

■：Nana，▤：New elfe　□：Ilona

第6表　品種別の花色とその変異

品　種	調査株数	花色別株数	花色* コードNo.	花色* 系統色名
Nana	117	117	2704	明緑黄
New elfe	90	90	0105	鮮ピンク
Ilona	159	156	0704	黄ピンク
		2	1304	明橙
		1	1004	鮮黄ピンク

注）＊　日本園芸植物色票による

生している。このことから，‘Najade’と‘New elfe’では次亜塩素酸ナトリウムに対する感受性が高かったと推測される。Bigot[1]は，次亜塩素酸カルシウム50g／ℓの上澄液に葉身を5～10分間浸漬して，順調に苗条を誘導した。しかし，本試験では次亜塩素酸カルシウム処理のみでは，菌汚染の防止が十分でなく，カビの発育が認められた。これに対してエチルアルコール処理＋次亜塩素酸カルシウム処理では黒変枯死は認められず，生存率も高まった。したがって，この2種類の殺菌剤の併用が有効と考えられる。ただし，この組合せにおいても完全には菌の繁殖が抑制されていないことから，今後は外植体の殺菌法のみでなく，これら菌の種類とその生理生態を明らかにするとともに，培地への抗菌剤の添加などの，より合理的な菌抑制法を開発する必要がある。

苗条形成と植物生長調節剤との関係についてはBigot[1]はNAA0.3～0.5ppm，Peckら[5]はNAA1.0＋BA0.5ppm，Takayamaら[7]はBA0.3ppm＋Kinetin0.1ppmで好結果を得ている。本試験の結果では品種によりやや異なった傾向を示したが，ほぼこれらの結果に一致し，NAA1.0ppm，BA0.5ppm以下が苗条形成の好適濃度と推測される。

次に継代培養による苗条からの個体誘導には，多くの場合MSが基本培地として試験に用いられているが，[2,4,5,6,8]各成分ごとの好適濃度についての検討は行われていない。そこで本試験では主要無機成分濃度について多因子要因実験により好適濃度を推測した。その結果，硝酸カリウム濃度間に10%，硝酸アンモニウム濃度間に5%水準の有意性があった。両成分とも濃度が高まるほど個体化率が低下したことからみて，MS基本培地を液体培地として用いるには濃度がやや高く，好適濃度は硝酸カリウム300ppm＋硝酸アンモニウム1000ppm＋リン酸水素2カリウム300ppm前後にあると推測された。

なお，エラチオール・ベゴニアの施肥について，富士原[3]は元肥にはマグアンプKなどの緩効性のものがよく，追肥にはN200～300ppm，P100～150ppm，K60～200ppmの，比較的低い濃度がよいとしており，本試験の結果は，このような肥料要求特性に由来するものと考えられる。

植物生長調節剤と個体化の関係については，Bigot[1]はIBA2.0ppm，Peckら[5]はNAA1.0ppm＋BA1.0ppmさらにIBA2.0ppm液への10日間浸漬が有効としている。Takayamaら[7]は糖濃度とNAA濃度間には密接な関係があり，糖濃度30g／ℓではNAA1.0ppmで高いシュート形成率を得られることを明らかにした。本試験ではIBA濃度間に多少の差が認められたが，NAA濃度間には明らかな差が認められなかった。生長調節剤と他の成分との関係についてはさらに検討する必要があるが，これらの試験結果を総合的に判断すれば，NAA1.0ppm＋IBA2.0ppm程度が適値と考えられる。

花色の変異については，‘Nana’と‘New elfe’では認められなかったが，‘Ilona’では約2%の高い発生率であり，また花色変異の方向も明らかでなかった。突然変異の発生率に，品種間差はあるにしても，実用化のためには十分な配慮が必要である。この点についてはWesterhofら[9]が指摘しているように，継代培養の繰返しは変異個体数を増加させる危険性があり，技術上問題である。むしろ初代培養において外植体数を多く取り，1回の継代培養によって個体化させるのが，変異個体数の増加を抑える方法として有効と考えられる。またこれによって初代培養開始から鉢植えまでの期間を，本試験の13か月から，6か月程度に短縮可能と考えられる。

以上の結果，苗条形成過程を固形培地とし，個体化の過程を液体培地とする本方法は，その簡便性から生産者が十分に利用可能な技術と考えられる。

摘　　要

1．外植体の殺菌法及び苗条形成試験

エラチオール・ベゴニア ‘Nana’ ‘Ilona’ ‘New elfe’ ‘Najade’の成葉をエチルアルコール70%液に10秒間，続いて次亜塩素酸ナトリウム1%液に10分間または，次亜塩素酸カルウシム5%液に40分間浸漬した。葉身を約1 cm^2に切り，試験管内の固形培地に置床した。固形培地の成分はMS標準濃度とし，これにBA濃度0.5，1.0及び1.5ppmの各3段階にNAAの0.1，0.5，1.0ppmを組合せた。

(1)外植体（葉身）の殺菌剤については，次亜塩素酸ナトリウムでは品種により薬害による黒変枯死が認められ

たが，次亜塩素酸カルシウムでは認められず，さらに，エチルアルコール70％液と次亜塩素酸カルウシム５％液の組合せでは，汚染微生物に対する抑制効果が高かった。

(2)BA濃度0.5ppmの条件下でNAA0.5～1.0ppmの場合に，苗条形成が良好であった。BA1.0ppm以上では苗条形成に対して抑制的に作用した。

２．苗条からの茎葉と根の誘導及び生育試験

液体培地の硝酸カリウム，硝酸アンモニウム，リン酸２水素カリウム，NAA，IBA及びGA_3の濃度が苗条からの個体化に及ぼす影響を，L'27直交表を用いた多因子要因実験法により検討した。なお培地の他の成分については，MS標準濃度とした。

(1)硝酸カリウム濃度が300ppmから3000ppmに高まると，また硝酸アンモニウム濃度が1000ppmから3000ppmに高まると，茎葉の誘導及び生育は直線的に低下した。一方，リン酸２水素カリウムでは100ppmから300ppmに高まるにつれて上昇した。

(2)IBA1.0～5.0ppm，NAA1.0～3.0ppm，$GA_3$1.0～5.0ppmの範囲では，茎葉の生育に対して有意差は認められなかった。ただし，IBA1.0～5.0ppmの範囲では，濃度上昇とともにゆるやかに上昇し，NAA1.0～3.0ppmでは，濃度上昇につれてゆるやかに低下した。

(3)本試験の結果から，液体培地中の，硝酸カリウム濃度300ppm＋硝酸アンモニウム1000ppm＋リン酸２水素カリウム300ppm＋NAA1.0ppm＋IBA5.0ppm＋他のMS標準成分濃度が，茎葉の誘導と生育促進に好適と推測された。

(4)４品種の中で'Ilona'の約２％の個体に花色の変異が認められたが，他の品種では認められなかった。

引　用　文　献

1）BIGOT,C. (1982) Plant Tissue Culture 1982, TOKYO' pp695.

2）藤野守弘（1986）各種植物のクローン増殖法，クローン植物大量生産の実際技術（田中隆荘監修），シーエムーシー（東京），pp77～85.

3）富士原健三（1986）ベゴニア，花卉園芸の事典（阿部定夫・岡田正順・小西国義・樋口春三編），朝倉書店（東京），pp438～442.

4）MIKKELSEN,E.P. and K.C.SINK (1978) HortScience, 13: 242～244.

5）PECK,D.E. and B.G.CUMMING (1984) HortScience, 19: 395～397.

6）PIERIK,R.L.M. and F.A.A. TETTEROO (1987) Plant Cell, Tissue, Organ Culture, 10: 135～142.

7）TAKAYAMA,S. and M.MISAWA (1982) Scientia Hortic., 16: 65～75.

8）八木聡明・笹原宏之・多田邦雄（1988）ベゴニア，植物組織培養の世界（樋口春三監修），柴田ハリオ（東京）pp238～239.

9）WESTRHOF,J.,F.A.HAKKART and J.M.A.VERSLUIJS (1984) Scientia Hortic., 24: 67～74.

SUMMARY

1. Experiments on the organogenic callus induction and on the surface-sterilization of the explants.

Mature leaves of four cultivars i.e. Nana, Ilona, Najade and New elfe were surface-sterilized for 10 seconds in 70% ethanol and then for 10 min. in 1% sodium hypochlorite or for 40 min. in 5% calcium hypochlorite. Segments of the leaves (about 1cm²) were placed on the specified solid media in test tubes: contained three levels of NAA 0.1, 0.5 and 1.0ppm to the each level of BA 0.5, 1.0, and 1.5ppm. All media also contained MS elements at full strength.

(1) Sensitivity of the segments to sodium hypochlorite was different in the cultivars; though Najade and New elfe were highly sensitive but Nana and Ilona were slightly sensitive. On the other hand, sensitivity to calcium hypochlorite was significantly low in all of the four cultivars, and combination of 70%ethanol and 5%calcium hypochlorite was most effective against contaminants without injury to the leaves.

(2) Organogenic callus was highly induced at 0.5 to 1.0ppm NAA with lower than 0.5ppm BA; BA higher than 1.0ppm had negative effect to the organogenic callus induction.

2. Experiment on the induction and development of the shoots with root from the callus.

The influence of various concentration levels of KNO_3, NH_4NO_3, KH_2PO_4, NAA, IBA and GA_3 in liquid medium was examined by the method of factorial experimental desighn which was applied to the L'27 orthogonal arreys. Another elements in the medium were equivarent to MS full strength.

(1) The induction and development of the shoots were decreased strightly by rising KNO_3 levels 300 to 3000ppm, and also NH_4NO_3 levels of 1000 to 3000ppm. On the other hand in levels of KH_2PO_4, those were increased with rising of 100 to 300ppm.

(2) In the levels of 1 to 5ppm IBA, 1 to 3ppm NAA, and 1 to 5ppm GA_3 differences of the shoots induction and development were not significant; though the development was slightly increased with rising IBA levels of 1 to 5ppm and decreased by rising NAA levels of 1 to 3ppm.

(3) Our results indicate that 300ppm KNO_3, 1000ppm NH_4NO_3, 300ppm KH_2PO_4, 1ppm NAA and 5ppm IBA are the optimum concentration in the liquid medium for the shoots induction and development.