

アスパラガスの不定胚形成による大量増殖

第1報 実生組織からの不定胚の形成と植物体再生

甲村 浩之・長久 逸・池田 好伸

キーワード：アスパラガス、不定胚、胚様体、大量増殖

近年、アスパラガス (*Asparagus officinalis* L.) は健康食品として需要が増加している。価格も比較的安定しており、本県においても水稲の転作作物として普及促進を図っている。しかし、側芽培養法 (lateral bud culture)^{1,2,3,4)} による増殖では、馴化時の活着の善し悪しに大きく影響する白色根^{5,6)}の発生率が低いこと及び、増殖のために側芽を1本ずつ切って移植するなどの作業に手間がかかるという問題があり、これらの解決が急がれている。このため、農林水産省の助成事業である地域バイオテクノロジー研究開発促進事業のうち、胚様体・苗条原基の利用法の開発に参画し、その一環としてアスパラガスの不定胚(胚様体)利用技術の開発に取り組んだ。

本実験では、実生組織から embryogenic callus を誘導し、不定胚を形成後容易に植物体を再生し、大量増殖の可能性が見いだされたので報告する^{7,8)}。

まず、不定胚を大量に形成させる前提として、embryogenic callus (embryogenic cell 集塊) を誘導する必要がある。最初に不定胚の形成が報告されたニンジンでは、種々の植物ホルモンが培地に添加され、多くの場合オーキシン単独処理が有効である⁹⁾。筆者らは、アスパラガスを用いた予備実験でオーキシンの NAA (ナフタレン酢酸) 及び 2, 4-D (2, 4-ジクロロフェノキシ酢酸) を用いてカルスを誘導したが、NAA では不定芽・不定根の分化が激しく、embryogenic callus の誘導には不适当であった。一方、2, 4-D は一般的に embryogenic callus 誘導に極めて効果的であると報告されており¹⁰⁾、実験1としてアスパラガスの embryogenic callus 誘導における 2, 4-D 濃度について検討した。また、得られたカルスが embryogenic callus かどうかを確認するために、多くの場合 2, 4-D 無添加の培地に移植することが有効であることから^{9,11)}、同培地に移植して不定胚形成と植物体再生について検討した。さらに、ニンジンでは embryogenic callus の効率的増殖に液体振盪培養が有効で、同調化技術導入も

可能であることから^{11,12,13)}、アスパラガスについても液体振盪培養により効率的に増殖するかどうかを検討するとともに、液体振盪培養の不定胚形成への有効性についても検討した。

また、不定胚を利用した大量増殖には、実験1で得られた embryogenic callus を誘導することが重要と推測されたため、実験2として embryogenic callus 誘導としよ糖濃度の関係および embryogenic callus を効率的に誘導する培養部位について検討した。

材料および方法

1. 材料の養成：品種はポールトム (サカタ種苗・昭和60年採種) を用いた。種子をよく水洗した後、70%エタノールに数秒、有効塩素1%のアンチホルミン液に15分浸漬振盪滅菌した。これを滅菌水で洗浄した後、MS培地 (Murashige & Skoog, 1962¹⁴⁾) に播種し、1500lx・25℃の12時間照明下で生育させた。発芽した実生第1次茎の草丈が、2~4cm、根長3cm程度 (播種後約25~30日) の時点で材料とした。
2. 培地の調整：基本培地として、実験1ではMS培地、実験2ではLS培地 (Linsmaier & Skoog, 1965¹⁵⁾) を用いた。これらに植物ホルモンおよびしよ糖を添加し、HCl または KOH を用いて pH 5.8 に調整した。固形培地では寒天を添加し、加熱溶解後口径20mm、長さ100mmの試験管に6mlずつ分注した。また、液体培地では100ml三角フラスコに30ml分注した。これらは、アルミホイルで密栓した後、オートクレーブで120℃・1kg/cm²・15分間加圧殺菌した。

3. 実験方法、培養及び馴化条件：

実験1. Embryogenic callus 誘導と2,4-D濃度、不定胚形成と植物体再生及び液体振盪培養の効果

1) Embryogenic callus の誘導と2,4-D濃度

MS基本培地にしよ糖2%、寒天1%を加えたものに、

2, 4-Dを 10^{-4} ~ 10^{-8} Mの5水準で添加し、頂芽から2 cm以内の茎切片を置床してカルス誘導を検討した。

2) 不定胚形成と植物体再生

茎切片をカルス誘導培地に移植して90日目のカルスを2, 4-D無添加のMS培地に移植して不定胚の形成を検討した。また、不定胚あるいは不定胚様の組織を形成したものは、新たに2, 4-D無添加のMS培地に移植して植物体再生について検討した。

3) 液体振盪培養によるカルスの増殖と不定胚形成

1) で得られたカルスの一部約30mgを2, 4-D 10^{-6} M添加のMS液体培地(しよ糖2%)に移植し、 $25^{\circ}\text{C} \cdot 500\text{lx}$ 連続照明下で旋回式振盪培養器(NewBrunswick Scientific社・ModelG33)を用い、100rpmで30日間の振盪培養による増殖を試みた。増殖したカルスは2)と同様に不定胚の形成を検討し、また、2, 4-D無添加の液体培地に移植して振盪培養を続けて得られた水浸状の不定胚様組織については、2, 4-D無添加のMS固形培地に移植して植物体再生を検討した。

実験2. Embryogenic callus の誘導としよ糖濃度および供試部位

2, 4-Dを 10^{-5} M添加したLS培地(寒天0.8%)を基本として、しよ糖を0, 1, 2, 3, 5%の5水準の濃度で添加し、実生の各部位(茎節間部、頂芽・側芽を含む茎節部、根端部)約5mmを置床して培養した。実生の場合、分裂組織を持ち茎節間部に比べて生理活性が高いと考えられる頂芽・側芽を含む茎部と根端部を供試した。特に草丈4cm程度の実生では側芽は少ないが、後に側芽培養法増殖茎切片を利用することを目的に側芽も供試した。

培養および馴化条件

実験1, 2共に、供試組織片は1試験管当たり2本または3本置床とし、 $25^{\circ}\text{C} \cdot$ 暗黒下でカルスを誘導した。誘導したカルスのうち、径2mm以上のものを計数した。

カルスの2, 4-D無添加培地移植後は $25^{\circ}\text{C} \cdot 1500\sim 3000\text{lx} \cdot 12$ 時間照明下に移して培養を続けた。

なお、再生した幼植物はポリエチレン製の鉢(黒ポリ鉢)にパーミキュライトを用いて移植し、鉢の底が水に浸るように透明蓋付きの容器内に並べた(fig 1.)。これを約 $23^{\circ}\text{C} \cdot$ 湿度60%に保った馴化室(1/5自然光遮光)内に置き1~3週間養成後、4号素焼鉢に床土を用いて移植した。

実験結果

実験1. Embryogenic callus 誘導と2, 4-D濃度, 不定胚形成と植物体再生及び液体振盪培養の効果

1) Embryogenic callus誘導と2, 4-D濃度

移植60日後の結果(table 2.)では、2, 4-D 10^{-6} M区で全カルス形成率は90%以上と高く、またカルス径でみた増殖率は最も高く、黄色半透明でコンパクト(compact, 塊状で少し固め)なカルスが得られた。2, 4-D

Table 1 Composition of MS and LS basic medium.

Constituent	Concentration (mg/l)	
	MS	LS
KNO ₃	1900	1900
NH ₄ NO ₃	1650	1650
MgSO ₄ ·7H ₂ O	370	370
CaCl ₂ ·2H ₂ O	440	440
KH ₂ PO ₄	170	170
MnSO ₄ ·4H ₂ O	22.3	22.3
KI	0.83	0.83
H ₃ BO ₃	6.2	6.2
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8.6	8.6
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.025	0.025
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.25	0.25
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.025	0.025
Fe(III)-EDTA	42.1	42.1
Myo-Inositol	100	100
Thiamine-HCl	0.1	0.4
Nicotinic acid	0.5	—
Pyridoxine-HCl	0.5	—
Glycine	2.0	—

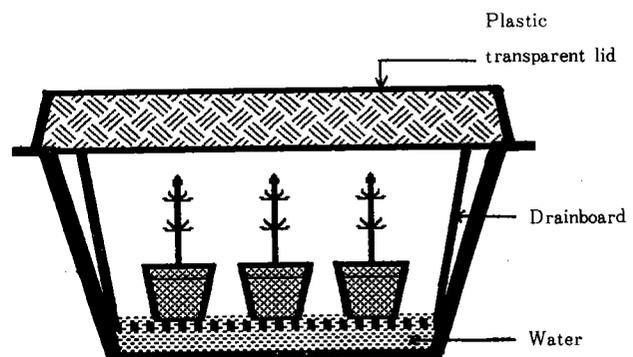


Fig 1. Method of habituation.

10⁻⁵M区ではカルス形成率40%とあまり高くなかったが、不定胚様組織と黄白色でフライアブル (friable, もろい) なカルスを形成した。なお、この不定胚様組織は茎切片を培地に置床後30日目には出現し、白色透明な紡錘型の組織が放射状に形成していた(写真A)。さらに40日目頃から基部より黄白色でフライアブルなカルスが形成され(写真B)、90日目には径15mmに生長した。このフライアブルなカルスはエンジンの組織培養中に観察された不定胚を形成する embryogenic callus と酷似していた。

2) 不定胚形成と植物体再生

1)で得られたカルスを2, 4-D無添加のMS培地に移植した結果、2, 4-D10⁻⁶M区から移植したコンパクトなカルスでは、増殖後不定芽・不定根が分化しただけであったが、2, 4-D10⁻⁵M区で得られたフライアブルなカルスは、移植後すぐに同様なフライアブルなカルスあるいは前胚状の組織を増殖し、その中から半分緑化した白色不透明な紡錘型あるいはバナナ型不定胚様の組織

を形成した(写真C)。この組織は白色根を発生後、苗条を伸長し植物体を再生した(写真D)ため不定胚と認めフライアブルなカルスは embryogenic callus と確認した。

3) 液体振盪培養によるカルスの増殖と不定胚形成

1)で得られたカルスの一部を2, 4-Dを10⁻⁶M添加したMS液体培地に移植し30日間振盪培養した結果では、黄色透明でコンパクトなカルスは塊状に増殖し、まれに分離増殖が良好でも2, 4-D無添加のMS培地に移植後は、黄色半透明の短い根様の組織が分化しただけであった。これに対し、embryogenic callusと認められたフライアブルなカルスは分離増殖も良好で、30日後には約10倍の300mg程度に増殖した(写真E)。これを2, 4-D無添加のMS固形培地に移植するとさらに増殖し、不定胚を形成し植物体に再生した。しかし、2, 4-D無添加のMS液体培地に移植して振盪培養したものでは、5~10mm長の白色透明の水浸状のバナナ型不定胚様組織は形成された(写真F)が、培養20日後に2, 4-D無添加のMS

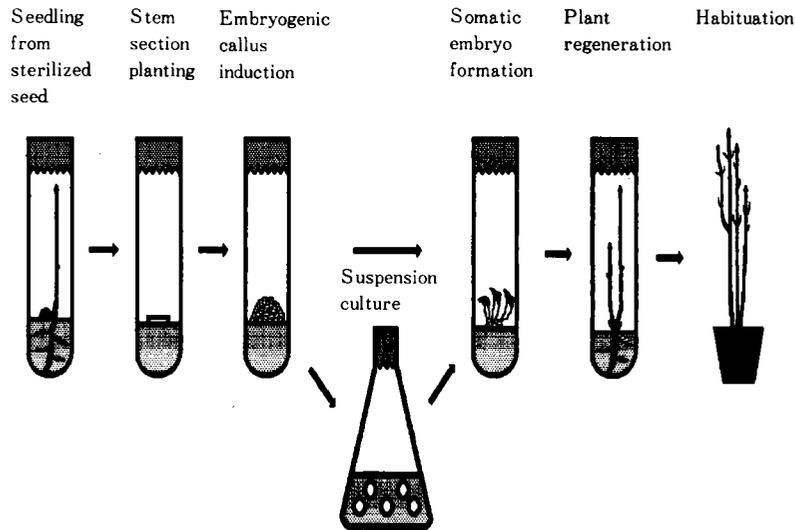


Fig 2. Micropropagation technique of Asparagus through somatic embryogenesis.

Table 2 Effect of 2, 4-D concentration on callus induction from young primary shoot.

2,4-D (M)	Number of explant	Number of callus induction	Callus induction (%)	Number of induction		Callus diameter (mm)	Adventitious shoot formation (%)
				Embryogenic callus	Adventitious shoot		
10 ⁻⁴	15	0	0	0	0	0	0
10 ⁻⁵	15	6	40.0	1 *	0	2.2	0
10 ⁻⁶	15	14	93.3	0	1	3.2	6.7
10 ⁻⁷	15	10	66.7	0	1	2.3	6.7
10 ⁻⁸	15	3	6.7	0	0	0.6	0

After 60 days culture. * : Creamy colored friable callus was induced with somatic embryo.

固形培地に移植しても数個体で白色根の発生がみられたが、多くは伸長するだけで植物体を再生しなかった。

なお、実験1を通して、2, 4-D 10^{-5} M添加培地で得られた最初の1つの embryogenic callus から、100本以上の不定胚由来の再生幼植物を得た。この時点で既に径2~3mmの白色の貯蔵根をもつものも多く、移植時に根を切らない限り順調に生育した。これらはガラス室に移動後、11月下旬には黄化したため、茎を刈り取り時々灌水しながら翌春まで置いたところ4月には再び萌芽し、正常な生育を示した。なお、不定胚形成から植物体再生に至る一連の糸を fig 2. に示した。

実験2. Embryogenic callus の誘導としょ糖濃度および供試部位

切片移植60日後の結果 (table 3.) では、コンパクトなカルスはしょ糖無添加区を除き全ての区で誘導した。embryogenic callus は茎切片と側芽を含む茎切片で、しょ糖濃度が2ないし3%区で最も良く誘導した。根端部切片では、しょ糖濃度5%で誘導した。また、不定胚は茎切片と頂芽部を含む茎切片で、しょ糖濃度が2, 3,

5%区で形成した。

考 察

不定胚利用技術の研究は、Steward ら¹⁶⁾とReinert¹⁷⁾(1958)が各々ニンジン組織の培養中に受精胚と同様の形態変化を経て、植物体に再生する現象を報告したことに始まる。現在、わが国でもニンジンをを用いて植物の発生分化や大量増殖に向けての基礎的な研究が進められている。アスパラガスの不定胚形成に関する報告は、Wilm¹⁸⁾を初めとして、Harada¹⁹⁾, Bui Dang Ha²⁰⁾, Reuther²¹⁾など数例みられる。しかし、わが国における報告は見当らず、筆者らはわが国で栽培されている品種の実生を材料として不定胚利用による大量増殖系を確立する研究を行った。

1. 不定胚利用技術による大量増殖の有効性

水田転作作物として有望なグリーンアスパラガスの特産化のため広島農試では優良品種を育成している。しか

Table 3 Effect of sucrose concentration on embryogenic callus induction from seedling.

Cultured portion	Sucrose (%)	Number of explant	Rate of induction (%)		
			Callus*	Embryogenic callus	Somatic embryo
Stem (Internode)	0	46	0	0	0
	1	46	26.1	4.3	0
	2	46	97.8	4.3	2.1
	3	43	83.7	16.3	7.0**
	5	43	72.1	0	7.0
Stem with apical bud	0	7	0	0	0
	1	7	71.4	0	0
	2	7	42.8	0	14.2
	3	7	42.8	0	0
	5	7	57.1	0	14.2
Stem with lateral bud	0	7	0	0	0
	1	7	57.1	0	0
	2	7	71.4	28.6	0
	3	7	57.1	28.6	0
	5	5	80.0	0	0
Apical root	0	7	0	0	0
	1	7	28.6	0	0
	2	7	28.6	0	0
	3	7	14.3	0	0
	5	5	20.0	20.0	0

After 60 days culture.

*: Percentage of callus induction including embryogenic callus.

** : Somatic embryo was formed with embryogenic callus simultaneously.

し、雌雄異株のため交配による増殖はできない。今のところ増殖は株分けに頼り、栄養繁殖的な増殖法として期待された側芽培養法も発根率が低いなどの理由で実用化されていない。早期普及のためには、従来の側芽培養法に替わる大量増殖法として不定胚利用技術が有望なため、この方法の技術開発に取り組み、**embryogenic callus**の誘導、不定胚の形成ならびに植物体再生条件について検討した。

実験1で得られた培養系では、2, 4-D添加培地で茎切片からフライアブルなカルスを誘導し、2, 4-D無添加培地に移植して不定胚様組織を形成後植物体を再生した。このため不定胚様の組織は不定胚と確認され、不定胚を形成したカルスが**embryogenic callus**であることを認めた。

この結果、アスパラガスの不定胚形成を利用した大量増殖の可能性が示唆された。また、不定胚利用法は先にも述べたように、従来の側芽培養法では白色根の発生率が低いという問題を解決できると考えられる。側芽培養法では苗条形成は旺盛であるが、発根率の不安定さが問題である²²⁾。また、側芽培養では、透明な短い根の発生が多く馴化が困難である。最近、根を少量の水あるいはしょ糖水(5%)浸漬処理により透明根を白色根に変化させる方法²³⁾も報告されているが、不定胚による方法では、正常な不定胚を形成すれば白色根を発生し馴化も容易であることから、側芽培養法と比較して有利な方法であると考えられる。

2. 液体振盪培養の有効性と課題

実験1-3)で明らかのように、液体振盪培養を用いることにより**embryogenic callus**は効率的に増殖し、また不定胚形成能の維持も可能である。しかし、増殖したカルスを2, 4-D無添加のMS固形(寒天)培地に移植すると白色の不定胚を形成するのに対し、寒天を除く同組成の液体培地に移植した場合は、水浸状の不定胚様組織は形成するが植物体に再生しないなど問題が残った。また、固形培地上で3mm程度に生長した不定胚は培地接触部にはほとんどみられず、カルス上部表面に多くみられたことから、不定胚の正常な生長は栄養の制限及び乾燥等とも関係すると考えられた。

なお、先のHarada¹⁹⁾は、ホルモン無添加の液体培養中で数週間培養すると、不定胚形成後茎頂および根が形成され、半固形培地に移植することで植物体に再生したと報告しているが、本実験では不定胚様組織が根状に伸長するだけで再生には至らず、この点の解明が急がれる。

3. Embryogenic callus誘導と糖濃度、培養部位

実験2では、実生第1次茎の茎切片以外の頂芽・側芽を含む節部や根端など多くの部位から**embryogenic callus**や不定胚が誘導できた。このため、側芽培養で継代中の優良株増殖茎にも応用できると考えられる。しかし、本実験のように培養材料として実生を用いる場合、茎切片以外の組織は供試数が限られる。そのため、頂芽や側芽を含む茎切片や根端を含む切片からの有効な**embryogenic callus**の誘導条件は確認していない。また、添加しょ糖濃度の違いによる**embryogenic callus**誘導率の差については、添加した2, 4-D濃度が $10^{-5}M$ と高かったこともあり、**embryogenic callus**誘導に明白な効果が認められなかったと考えられる。しかし、茎切片におけるカルス誘導としょ糖濃度の関係を見ると、カルス全体の誘導率は、しょ糖濃度2%区を最大値として他は低い値を示すが、**embryogenic callus**誘導には、しょ糖濃度3%区で最も高い値を示し、さらにしょ糖濃度5%区では不定胚だけが作出された。嵯峨ら²²⁾はニンジンで植物ホルモンを用いず、しょ糖濃度を高めただけで不定胚を誘導したと報告しており、これらのことから、しょ糖は炭素源としての役割の他に、その濃度による培地浸透圧が不定胚の形成や**embryogenic callus**誘導に寄与すると考えられる。

以上の結果、アスパラガスの不定胚を利用した大量増殖が可能であることが示唆された。しかし、この技術の開発には、**embryogenic callus**の効率的誘導および増殖条件、不定胚からの植物体再生条件、馴化条件、培養変異の確認など多くの課題が残されている。

摘 要

アスパラガスの不定胚利用による大量増殖技術を開発するため、品種ポルトムの実生を材料とし、**embryogenic callus**の誘導と不定胚の形成、植物体再生について検討した。

1. 実生の茎切片を2, 4-D $10^{-5}M$ 添加のMS培地に置床し、黄白色でフライアブルなカルスを誘導した。フライアブルなカルスは、2, 4-D無添加のMS培地に移植すると、半分緑化した白色不透明な2~3mmの不定胚と考えられる組織を形成した。この組織は、白色根を発生し植物体に再生した。このため、このカルスを**embryogenic callus**と認めた。

2. **embryogenic callus**は、2, 4-D 10^{-6} 添加のMS液体培地に移植して振盪培養すると効率的に増殖し、

30日後に2, 4-D無添加のMS固形培地に移植すると不定胚を形成し植物体に再生した。

3. **embryogenic callus** や不定胚は、頂芽・側芽・根端を含む切片からも誘導できた。特に茎切片では、しょ糖は単に炭素源としてだけでなく濃度により **embryogenic callus** や不定胚の形成が制御されると考えられた。

4. 不定胚から再生した幼植物は、白色の貯蔵根をもちパーミキュライトに移植して容易に馴化できた。

アスパラガスの不定胚利用技術は、従来の側芽培養法に比べ白色根の発生が容易であることから有望な大量増殖法であると考えられる。

謝 辞

本研究を進めるにあたり広島大学総合科学部倉石晉教授、同理学部谷口研至講師、農林水産省生物資源研究所大澤勝次室長、筑波大学生物学系鎌田博助教授から有益な御指導と御助言をいただいた。また当農業試験場の生物資源開発部および園芸部諸氏にも御助言、御協力をいただいた。ここに深く感謝の意を表する。

引用文献

- 1) MATSUBARA, S. and W. J. CLORE: 1974. Vegetative propagation of asparagus from lateral buds. *Sci. Rep. Fac. Agric. Okayama Univ.* **43**:19-26.
- 2) YANG, H. J. and W. J. CLORE: 1973. Rapid vegetative propagation of asparagus through lateral bud culture. *HortScience*. **8**:141-143.
- 3) ———: 1974. Development of complete plantlets from moderately vigorous shoots of stock plants of asparagus *in vitro*. *HortScience*, **9**:138-140.
- 4) ———.: 1975. *In vitro* reproductiveness of asparagus stem segments with branch-shoots at a node. *HortScience*: 411-412.
- 5) 佐藤 洋・原田 隆・八嶽利郎: 1983. 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.
- 6) 八嶽利郎・原田 隆・飛世昌江: 1983. 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. 北大邦文紀. **14**:174-186.
- 7) 甲村浩之・長久 逸・池田好伸: 1987. アスパラガスの体細胞不定胚形成による大量増殖 第1報 不定胚の誘導法と植物体再生. 園学雑. **56**別2:254-255.
- 8) ———: 1988. アスパラガスの胚様体利用による大量増殖. 農業技術. **43**(3): 115-119.
- 9) 鎌田 博: 1980. 高等植物における不定胚形成の制御. 植物の化学調節. **15**(2): 62-78.
- 10) ———・原田 宏: 1982. 不定胚形成. 細胞工学. **1**(3): 29-34.
- 11) FUJIMURA, T., A. KOMAMINE: 1979. Synchronization of somatic embryogenesis in a carrot suspension culture. *Plant. Physiol.* **64**:162
- 12) KAMATA, H., H. HARADA: 1981. Changes in the endogenous level and effect of abscisic acid during somatic embryogenesis of *Daucus carota* L. *Plant cell physiol.* **22**(8):1423-1429
- 13) 大山勝夫・高谷昌紀・平松純子: 1986. エンジン胚様体形成の同調化とプロトプラスト培養. 植物の化学調節. **121**(1): 58-62.
- 14) MURASHIGE, T., F. SKOOG: 1962. A Revised medium for rapid growth and bioassays with Tobacco tissue cultures. *Physiol. plant.* **15**:473-497
- 15) LINSMAIER, E. M., F. SKOOG: 1965. Organic growth factor requirements of Tobacco tissue cultures. *Physiol. plant.* **18**:100-127
- 16) STEWARD, F. C., S. M. CAPLIN and K. MEARS: 1958. Growth and organized development of culture cells. II. Organization in cultures grown from freely suspended cells. *Amer. J. Bot.* **45**:705-708
- 17) REINERT, J.: 1958. Untersuchungen über die Morphogenese an Gewebekulturen. *Ber. Dtsch. Bot. Ges.* **71**:15.
- 18) WILMAR, C., M. HELLENDOORN: 1968. Growth and morphogenesis of asparagus cells cultured *in vitro*. *Nature*. **217**:369-370
- 19) HARADA, H.: 1973. Differentiation of Shoots, Roots and Somatic Embryos in Asparagus Tissue Culture. *Proc of 4th EUCARPIA Cong. on Asparagus Breeding held at CNRA, INRA, Versailles, France*: 163-170
- 20) BUI DANG HA, D: 1975. Regeneration of *Asparagus officinalis* L. through Callus Cultures Derived from Protoplasts. *J. Exp. Bot.* **26**(91):263-270
- 21) REUTHER, G: 1977. Adventitious organ formation and somatic embryogenesis in callus of

asparagus and iris possible application. Acta Horticulturae. 78:217-224

22) 浦上敦子：1988. アスパラガスの組織培養による増殖とその育種の利用. 農及園. 63(2) : 271—273

23) 浦上敦子・永井 信：1987. アスパラガス組織培

養における透明根からの白色根の誘導. 園学雑別 56(2): 258—259.

24) 嵯峨 均・鎌田 博・原田 宏：1985. 第9回植物組織培養シンポジウム講演要旨集. :161.

Micropropagation of Asparagus through Somatic Embryogenesis

1. Somatic embryogenesis and plant regeneration from seedling

Hiroyuki KOMURA, Suguru CHOKYU and Yoshinobu IKEDA

Summary

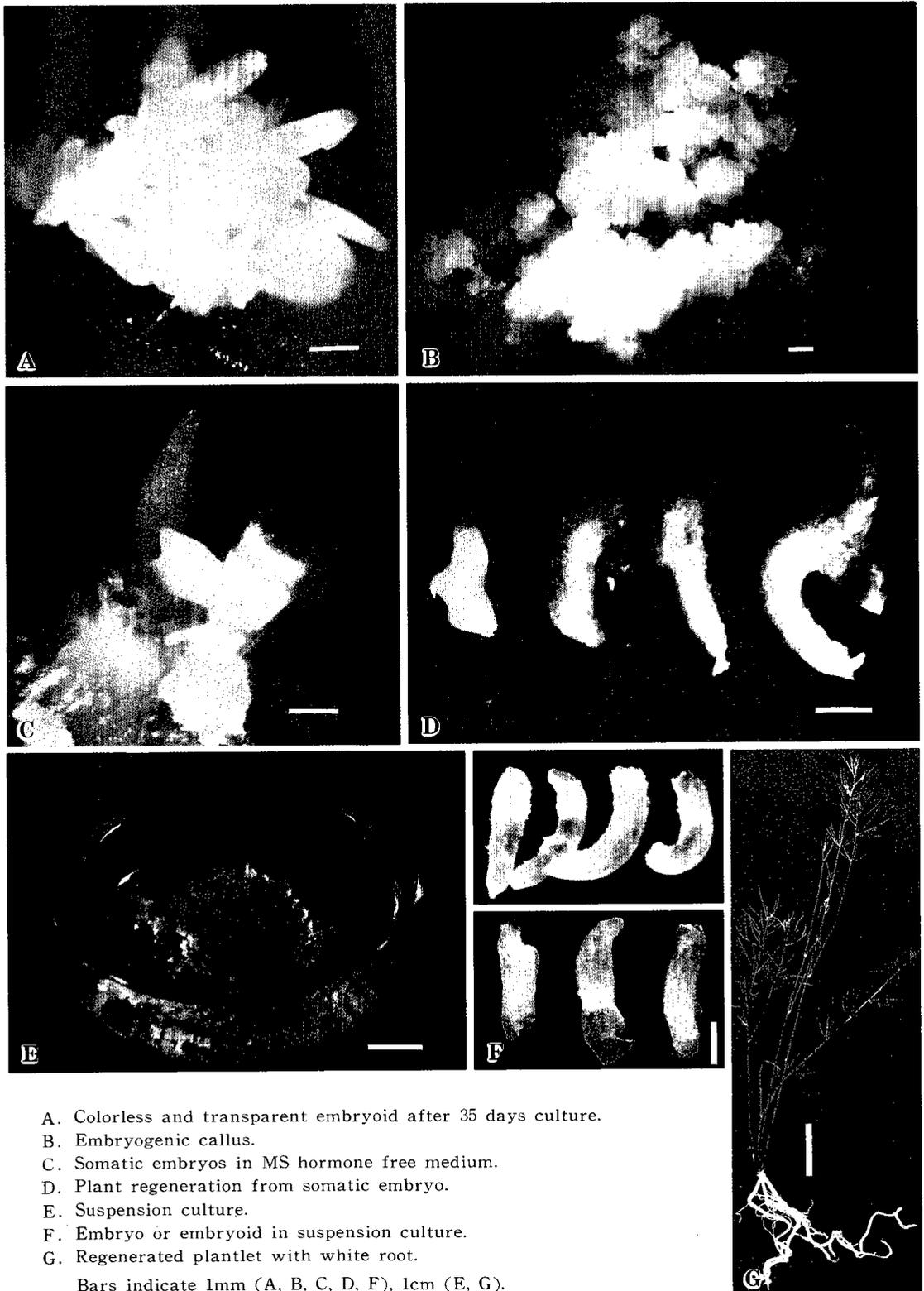
In order to develop Micropropagation of *Asparagus officinalis* cv Poultom, conditions of embryogenic callus induction, somatic embryo formation and plant-regeneration were investigated. Friable callus (embryogenic callus) was induced in MS medium supplemented with 10^{-5} M 2,4-D from young primary shoot. The somatic embryo was formed from the friable callus in MS hormone free medium. Plantlet regenerated from somatic embryo had white root.

Embryogenic callus was propagated in MS suspension culture supplemented with 10^{-6} M 2,4-D for 30 days. Somatic embryo was formed from this propagated callus in MS hormone free medium. Many plantlets regenerated from somatic embryo.

Optimum concentration of sucrose for embryogenic callus induction was 2-3%. Somatic embryos was only formed in 5% sucrose. Embryogenic callus was induced from stem with lateral bud and apical root.

Regenerated plants had white storage root, so they easily habituated in polyethylene pot containing vermiculite at 23°C, 60% humidity in green house.

Key words : Asparagus, somatic embryogenesis, embryoid, micropropagation



- A. Colorless and transparent embryoid after 35 days culture.
 B. Embryogenic callus.
 C. Somatic embryos in MS hormone free medium.
 D. Plant regeneration from somatic embryo.
 E. Suspension culture.
 F. Embryo or embryoid in suspension culture.
 G. Regenerated plantlet with white root.

Bars indicate 1mm (A, B, C, D, F), 1cm (E, G).