

# 液体振とう培養によるかんしょ多芽体の形成

農産園芸研究所

作物部 林田英一

生物資源部 田中正美

## 緒 言

本県の青果用かんしょの栽培は、皮色、形状、食味、貯蔵性等から「高系14号」や「高系14号」から派生した数種の系統が主に栽培されている。

これらの系統は、带状粗皮病に罹病し易く、近年皮色や形状等の外観に関する品質の低下が著しくなったため、生産現場では茎頂培養由来のウイルスフリー苗が利用され、外観品質の改善が顕著にみられるようになった。

しかし、反面種苗費が増加するため、ウイルスフリーかんしょの増殖効率の向上を図る研究の必要性が高まってきた。

かんしょは栄養繁殖性作物であるため種苗の増殖率が低く、そのため種苗生産にかかるコストや労働時間も大きい。従来から組織培養等による増殖法改善の必要性が高い品目とされてきたが<sup>1) 2)</sup>、他の園芸作物等に比較して、効率的な再分化系の作出の報告は少なく、組織培養において再分化が難しい品目の一つとされてきた<sup>3) 4) 5) 6) 7) 8) 9)</sup>。

しかし近年になって、かんしょの内在サイトカイニンの存在が注目されるようになり<sup>1)</sup>、サイトカイニンの働きを抑制するアブシジン酸 (ABA) を添加することにより、カルスからの不定胚発生が報告されるようになった<sup>2) 5) 6) 8) 10)</sup>。

ここでは、これまでかんしょの組織培養では、報告が少なかった旋回振とう培養を用い、高い振とう数で培養を行うことにより、簡易に短期間で多芽体を得ることが可能となり、さらに得られた多芽体から植物体を得ることが出来たので報告する。

なお、この研究は平成元年度から平成3年度にかけて、「バイオテクノロジー手法導入による畑作物の品質向上」の課題の中で行ったものである<sup>1)</sup>。

### 1 かんしょ多芽体形成のための効率的な培地条件

かんしょ多芽体形成のための効率的な培地条件について検討する。

### 材料及び方法

#### 実験 1.

供試材料は、茎頂培養で作出し、無菌的に養成した「高系14号」の葉、葉柄及び茎 (腋芽付き) である。各供試材料は、約1 cmに切断 (茎は必ず腋芽を持つように切断) し培地上に置床した。

カルス化培地には、MSの基本培地にしょ糖30 g/lを加え、これに0.5, 1, 2, 4 mg/lの4種類の濃度の2,4-ジクロロフェノキシ酢酸 (2,4-D) と0.1, 5, 10 mg/lの4種類の濃度のアブシジン酸 (ABA) を組み合わせて加えた16種類の培地とし、pHを5.8に調整した。さらに寒天を8 g/l添加した固定培地 (管ビン) と液体培地 (100 ml三角フラスコ) を作製した。

このようにして作製した培地に、外植片を1ビン当たり1個植付け、固体培地は5反復、液体培地は1反復で供試し、培養温度25℃、暗黒条件において固体培地は静置し、液体培地は、旋回振とう培養 (振とう数130 rpm) で培養を行った。

再分化のための培地は、MSの基本培地にしょ糖30 g/l、ABA 1 mg/lを加え、pHを5.8とし、寒天8 g/lを加えた固体培地と、液体培地を作製した。これらの再分化培地に、カルス化したもの及びカルス化していないものいずれも外植片を含めて、寒天培地は寒天培地に、液体培地は液体培地に移植した。

培養条件は、固体培地、液体培地共にカルス化培地と同じ条件で行った。

#### 実験 2.

旋回振とう培養により多芽体が形成されたため最適培地を確認するための追試を行った。

供試材料は、高系14号の茎 (腋芽付き) を用い、カルス化培地はMS培地にしょ糖30 mg/lを加えたものに、2,4-D 1, 2, 4, 8 mg/l及びABA 1, 5, 10, 15 mg/lを組み合

わせて添加した16種類の培地を作製し60日間培養した後、再分化培地に移植した。培養条件や再分化培地組成は実験1と同じとした。

**結果及び考察**

**実験1.**

寒天培養では、カルス化が早く、カルス化培地置床後4～5日でカルス化が始まり、20日目には一部のカルスに褐変が始まったため再分化培地に移植した。

カルス化培地で形成されたカルスは、いずれも黄白色の柔らかいカルスで、移植後2ヵ月程度で褐変した。

巡回振とう培養では、カルス化培地によるカルス化は寒天培養に比べ緩慢であった。このため、カルス及び外植片の再分化培地への移植時期は、ほとんどの区でカルス化がみられた置床後60日目とした。

多芽体の形成は、茎を供試した区でみられ、再分化培地移植後60日において、2,4-D 4 mg/ℓ、ABA 5 mg/ℓを含むカルス化培地由来のカルスから1～1.5cmに生長した多数の芽を持つ多芽体が2個みられた。更に、

移植70日後2,4-D 2 mg/ℓ、ABA 10mg/ℓを含むカルス化培地由来のカルスから2個の同様な多芽体の形成がみられた(第1表)。

得られた多芽体の芽数は、個体差がみられたが、多いもので50～60以上の芽数を含むと推察された。

**実験2.**

再分化培地移植後30日において、カルス化培地組成が、2,4-D、2～8 mg/ℓと、ABA、5～15mg/ℓの組合せの各区において、金平糖状の苗条原基様カルスがみられた(第2、3表)。

多芽体の形成は、カルス化培地組成2,4-D 2 mg/ℓ、ABA 5 mg/ℓ、2,4-D 4 mg/ℓ、ABA 10mg/ℓ及び2,4-D 4 mg/ℓ、ABA 15mg/ℓの組合せでみられた(第4表)。

これら2つの実験により、かんしょ「高系14号」の多芽体形成のためのカルス化培地の最適ホルモン組成は、2,4-D 2～4 mg/ℓ、ABA 5～10mg/ℓを組み合わせた範囲と考えられた(第5表)。

**第1表 カルス化培地のホルモン組成及び培養法が多芽体形成に及ぼす影響**

カルス化培地		再分化培地	寒天培養			液体振とう培養		
2,4-D	ABA	ABA	葉	葉柄	茎	葉	葉柄	茎
mg/ℓ	mg/ℓ	mg/ℓ						
0.5	0	1	C*	C	C	-	-	C
0.5	1	1	C	C	C	X	C	C
0.5	5	1	C	C	C	C	C	C
0.5	10	1	C	C	C	C	C	C
1	0	1	C	C	C	-	-	C
1	1	1	C	C	C	C	C	C
1	5	1	C	C	C	C	C	C
1	10	1	C	C	C	C	C	C
2	0	1	C	C	C	-	-	C
2	1	1	C	C	C	C	C	C
2	5	1	C	C	C	C	C	C
2	10	1	C	C	C	C	C	C,多芽体(2)*
4	0	1	C	C	C	-	-	X
4	1	1	C	C	C	C	C	C
4	5	1	C	C	C	C	C	C,多芽体(2)
4	10	1	C	C	C	C	C	C

\* C:カルス X:コンタミ -:供試せず ( )数は1フラスコ内の多芽体の数

**第2表 カルス化培地のホルモン組成が苗条原基様カルスの形成に及ぼす影響**

2,4-D	ABA mg/ℓ			
	1	5	10	15
1	0/5*	0/5	0/5	0/5
2	0/4	2/5	2/3	0/5
4	0/3	0/5	2/4	2/5
8	0/5	0/5	1/4	0/5

\* (苗条原基様カルスを含むフラスコ数/供試フラスコ数)

**第3表 カルス化培地のホルモン組成が再分化培地移植後のカルスの状態に及ぼす影響**

2,4-D	ABA mg/ℓ			
	1	5	10	15
1	Y,多*	Y,多	Y,W,中	Y,多
2	Y,多	Y,中	Y,W,中	Y,W,中
4	W,少	W,少	Y,W,少	Y,W,少
8	W,少	W,少	W,少	W,少

\* Y:黄色 W:白 多、中、少:カルスの量

**第4表 カルス化培地のホルモン組成が再分化培地での多芽体の形成に及ぼす影響**

2,4-D	ABA mg/ℓ			
	1	5	10	15
1	0/5*	0/5	0/5	0/5
2	0/4	1/5	0/3	0/5
4	0/3	0/5	2/4	1/5
8	0/5	0/5	0/4	0/5

\* (多芽体を含むフラスコ数/供試フラスコ数)

**第5表 巡回振とう培養におけるカルス化培地のホルモン組成が再分化培地での多芽体の形成に及ぼす影響(実験1と実験2の計)**

2,4-D	ABA mg/ℓ			
	1	5	10	15
1	0/6*	0/6	0/6	0/5
2	0/5	1/6	1/4	0/5
4	0/4	1/6	2/5	1/5
8	0/5	0/5	0/4	0/5

\* (多芽体を含むフラスコ数/供試フラスコ数)

2 かんしょの多芽体形成に及ぼす巡回振とう培養の振とう数の影響

振とう培養において再分化系の確立を目指すにあたり、一般的に用いられる振とう数は、60から100rpm程度が多く、巡回培養において130rpmという高い振とう数は、カルスの増殖を行う目的以外で用いられることは少ない。

今回、かんしょ「高系14号」の多芽体が、このような高い振とう数において形成されたため、巡回振とう培養において振とう数がかんしょの多芽体に及ぼす影響について検討を行った。

材料及び方法

供試材料は無菌培養で養成した「高系14号」の葉及び葉柄を取り除いた茎頂及び茎（腋芽付き）を1cm程度に切断したものをを用いた。

カルス化培地は、MS培地にしょ糖30g/lを加え、2,4-D 4mg/l、ABA 5mg/lを添加した液体培地とし、60日間培養した後カルス及び外植片を再分化培地に移植した。

再分化培地は、MS培地にしょ糖30gを加え、ABA 1mg/lを添加した液体培地を用いた。

培地は、100mlの三角フラスコに20ml分注し、茎頂及び茎を入れ、暗黒、25℃で80及び130rpmで巡回振とうを行った。供試数は、80rpmは5本、130rpmは10本とした。

結果及び考察

振とう数130rpmでは、再分化培地移植後30日で、最初の多芽体が形成され移植後60日までに供試数の40~50%で多芽体の形成がみられた。

供試部位別では、茎頂及び茎のいずれにおいても多芽体の形成がみられた。

再分化培地移植後のカルスは、黄色で量が少なくコンパクトであった。多芽体を形成するカルスは、多芽体形成前に金平糖状となった。

振とう数80rpmでは、再分化培地移植後70日に茎頂を供試した区から1個だけ多芽体の形成がみられた。

しかし、振とう数130rpmに比べ形成時期が遅く、形成率も低かった。また、再分化培地移植後のカルスは黄白で量が多く、柔らかかった。

これらのことから、巡回振とう培養の振とう数は、かんしょ多芽体の形成に影響し、80rpmに比較し130rpmの早い振とう数で促進されることが分かった。また、茎頂及び腋芽付きの茎のいずれにおいても多芽体の形成は可能であった。(第6表)。

3 かんしょ多芽体形成のためのカルス及び外植片の移植時期

巡回振とう培養による多芽体形成期間を短縮するため、カルスの形成法と、再分化培地へのカルス及び外植片の移植時期について検討した。

材料及び方法

供試材料は無菌培養で養成した「高系14号」の茎を腋芽を含むように1cm程度に切ったものをを用いた。カルス化培地は、MS培地にしょ糖30g/lを加え、2,4-D 4mg/l、ABA 5mg/lを添加した液体培地と、寒天8g/lを加えた固体培地を用いた。

これらの培地に外植片を入れた後、培養温度25℃、暗黒条件で固形培地は静置、液体培地は巡回振とうで培養を行い、固体培地は5,10,15,20,30及び60日目に、液体培地は10,20,30,60日目に再分化培地に移植した。

再分化培地は、MS培地にしょ糖30g/l、ABA 1mg/lの液体培地とし、暗黒、25℃、130rpmで巡回振とう培養を行った。

結果及び考察

カルス化培地におけるカルスの形成は寒天培養で早く、カルス化培地置床後4~5日目には、カルス化がみられた。寒天培養で得られたカルスは、白色で柔らかいカルスであった。液体振とう培養ではカルス化が寒天培養に

第6表 液体振とう培養における外植片の種類及び振とう数が多芽体形成及びカルスの状態に及ぼす影響

振とう数	供試部位	供試数	多芽体	カルスのまま	カルスの状態		
					色	量	状態
rpm		本	本	本			
80	茎頂	5	1(2)*	4	黄白	多	F*
80	茎	5	0	5	黄白	多	F
130	茎頂	10	4(7,1,1,1)	6	黄	少	C
130	茎	10	5(5,2,1,1,1)	5	黄	少	C

\* ( ) 数は、1フラスコ内の多芽体数 F: friable C: compact

比べ遅く、カルス化培地置床後10日から20日程度では、まだカルス化していない外植片もみられたが、そのような個体では外植片のみを再分化培地に移植した。

再分化培地移植後は寒天培養由来のカルスではカルスの増殖が著しく、黄色の大粒～微粒のカルスがいきまじった懸濁液となった。また、液体振とう培養由来のカルスでも、移植時期が10～30日では、カルスの増殖が著しく、寒天培養同様の傾向がみられたが移植時期60日では、カルス化が緩慢で、再分化培地は透明なままであった。

多芽体の形成は、カルス化を液体振とう培養で行い、培養60日で再分化培地に移植した区において再分化培地移植後60日で多芽体が形成された(第7表)。

第7表 カルスの形成法と再分化培地への移植時期が多芽体形成に及ぼす影響

カルス培養法	移植時期	供試数	多芽体	多芽体形成カルス	カルス		
					色	量	状態
寒天培養	5	5	0	0	Y*	多	F*
	10	5	0	0	Y	多	F
	15	5	0	0	Y	多	F
	20	5	0	0	Y	多	F
	30	5	0	0	Y	多	F
	60	5	0	0	Y	多	F
液体振とう培養	10	5	0	0	Y	多	F
	20	5	0	0	Y	多	F
	30	5	0	0	Y	多	F
	60	5	1	1	Y	少	C

\* Y: yellow F: friable C: compact

#### 4 かんしょ多芽体の増殖法

多芽体の効率的な増殖法について、回転培養及び旋回振とう培養を用いて検討した。

##### 材料及び方法

無菌培養で育成した「高系14号」の腋芽を持つように1 cm程度に切断した茎から旋回振とう培養によって得られた多芽体を2から3 mmの大きさに切断し、回転培養及び旋回振とう培養で培養した。

増殖培地は、MS培地にしよ糖30 gを加え、ABAを0, 0.2, 0.6, 1.5 mg/l 添加しpH5.8とした5種類の培地を用いた。培養温度は25℃とし光条件は、回転培養が明及び暗条件、旋回振とう培養は暗条件とした。また回転培養や旋回振とう培養の速度は、回転培養が3 rpm、旋回振とう培養が130rpmとした。

##### 結果及び考察

多芽体の増殖は、旋回振とう培養が優れ、2～3 mmに分割された多芽体(1～2本の多芽体を含む)から25日後には、芽数50以上の多芽体を含めて培養フラスコ1本

当たり5.3～1.7個の多芽体が形成された。

旋回振とう培養における培地では、ABA濃度0～1.0 mg/lにおいて高い増殖率を示したが、ABA濃度0～0.6 mg/lにおいて、やや発根がみられた。

回転培養においても多芽体の増殖はみられたが増殖率は、旋回振とう培養に比べ劣った。

これらより、多芽体増殖のための培養法は、旋回振とうによる暗条件での培養が優れ、25日程度で50倍以上の増殖が可能であった(第8表)。

第8表 培地の組織と培養法が多芽体の増殖に及ぼす影響

ABA	mg/l	多芽体色	芽長mm	発根本/本	芽数別多芽体数(個/培養ビン1本平均)				合計
					≥50	49-20	19-5	5>	
回転培養(明)	0	緑	3-7	0	0.5	0.5	0	0	1.0
	0.2	緑	3-4	0	1.5	0	0.5	0	2.0
	0.6	緑	1-2	0	0.5	0.5	2.5	0	3.5
	1.0	緑	2-3	0	1.0	0	1.0	0	2.0
	5.0	緑	2-3	0	0.5	0	0.5	0	1.0
旋回振とう培養(暗)	0	白	1-3	0	0	1.0	0	0	3.0
	0.2	白	2-3	0	0	0	2.0	0	1.0
	0.6	白	2-5	0	1.0	0.5	0	0	2.0
	1.0	白	3-4	0	0	0	1.5	0	1.0
	5.0	白	3-4	0	0	1.0	1.5	0	1.5
旋回振とう培養(明)	0	白	2-5	1.7	0.3	0.7	0.7	0	1.7
	0.2	白	1-3	0.3	0.3	0.7	1.0	0.7	2.7
	0.6	白	2-3	0.3	0.7	0.7	2.0	1.0	4.4
	1.0	白	2-5	0	0.3	2.0	1.7	1.3	5.3
	5.0	白	1-8	0	0.3	1.3	1.0	0	2.6

\* 芽数別多芽体数は、三角フラスコまたは試験管1本平均の芽数規模別の多芽体数

#### 5 かんしょ多芽体のshoot伸長のための培地条件

かんしょ多芽体からのshoot伸長のための培地条件について検討した。

##### 材料及び方法

供試材料は、「高系14号」の茎(腋芽付き)から形成した多芽体を増殖培地で20日間暗黒条件で旋回振とう培養(130rpm)したものを用いた。

多芽体増殖培地は、MS培地にしよ糖30及びABA 0, 0.2, 1.0 mg/lを加えた3種類の培地とした。

村田ら<sup>2)</sup>によれば、かんしょの多芽体からの植物体の再生には、ろ紙による乾燥処理をおこなうことが有効であり、乾燥による刺激を与えることにより、細胞中に蓄積された多糖類であるデンプンがエネルギー源として利用され、茎葉の分化を促進するという。

このため、多芽体を滅菌したろ紙入りのプラントボックスに入れ、25℃、8000Luxの照明下で、2日間乾燥処理を行った。

これらの多芽体は、5 mm程度に分割した後、増殖培地の由来別に植物体再生培地に置床した。

植物体再生培地としては、MSの基本培地にしよ糖 30

g/ℓ及びゲルライト2g/ℓを加え、オーキシシン2種類 (IAA 0.1mg/ℓ、NAA 0.1mg/ℓ) とサイトカイニン4種類 (GA<sub>3</sub> 1mg/ℓ、BA 1mg/ℓ、KIN 1mg/ℓ、ゼアチン 1mg/ℓ) を組み合わせた8種類及びホルモンフリーの合計9種類の培地を供試した。

**結果及び考察**

植物体再生培地における多芽体の伸長は、前段階の培養で用いた多芽体増殖培地のABA濃度の影響が大きく、前培養でのABA濃度が高いと生育が劣り、奇形葉となり易かった。

多芽体植付後20日において、伸長した芽数が最も多かったのは、ホルモンフリー培地で培養した多芽体をIAA

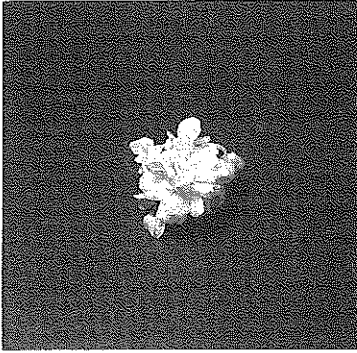
0.1mg/ℓとGA<sub>3</sub> 1mg/ℓの組合せの培地で培養した場合であり、芽の伸長と併せて発根及び根の伸長もみられた。

これらのことから、ABAはかんしょ多芽体の形成や増殖には、促進的に関与するが、多芽体から植物体への再生には、抑制的に影響し、多芽体から植物体の再生を行う場合、ABAを含まない培地で前培養を行う必要があると考えられた。

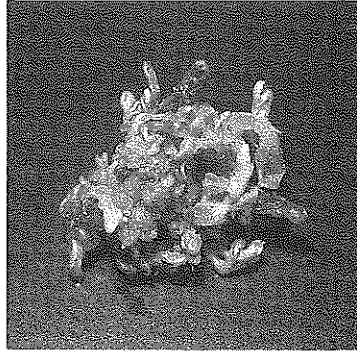
植物体再生培地では、IAA 0.1mg/ℓとGA<sub>3</sub> 1.0mg/ℓの組合せが優れ、5mm程度に細断された多芽体の少片から20日間の培養で5本の植物体の再生が可能であった (第9表)。

**第9表 増殖用培地及び再生用培地のホルモン組成が多芽体から植物体の再生に及ぼす影響**

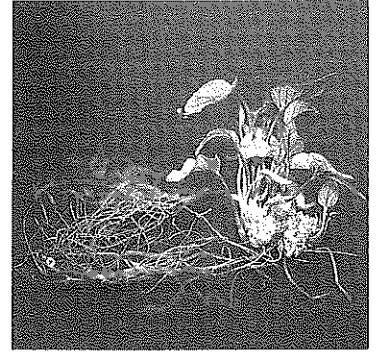
多芽体 増殖培地	植物体 再生培地		芽の伸長	奇形葉	カルス化	発根	地上部の色	1つの多芽体から 伸長した芽の数
ABA 0 0.2 1.0	IAA 0.1 0.1 0.1	GA <sub>3</sub> 1.0 1.0 1.0	○			+++	G	5
				○		-	G	0
				○		-	W, G	0
ABA 0 0.2 1.0	IAA 0.1 0.1 0.1	BA 1.0 1.0 1.0		○		+	G	0
				○		-	G	0
				○		-	G	0
ABA 0 0.2 1.0	IAA 0.1 0.1 0.1	KIN 1.0 1.0 1.0	○			++	G	2
				○		-	G	0
			○			+	G	1
ABA 0 0.2 1.0	IAA 0.1 0.1 0.1	ゼアチン 1.0 1.0 1.0		○		-	G	0
				○		-	G	0
				○		-	G	0
ABA 0 0.2 1.0	NAA 0.1 0.1 0.1	GA <sub>3</sub> 1.0 1.0 1.0		○		+	G	0
				○		+	G	0
				○		+	G, W	0
ABA 0 0.2 1.0	NAA 0.1 0.1 0.1	BA 1.0 1.0 1.0	○			-	G	1
				○		-	G	0
			○			-	G	1
ABA 0 0.2 1.0	NAA 0.1 0.1 0.1	KIN 1.0 1.0 1.0	○			++	G	2
				○		-	G	0
				○		+	G	0
ABA 0 0.2 1.0	NAA 0.1 0.1 0.1	ゼアチン 1.0 1.0 1.0			○	+	G	0
				○		-	G	0
			○			-	G	1
ABA 0 0.2 1.0	0 0 0	0 0 0	○			++	G	2
				○		+	G	0
					○	-	G	0



第1図 「高系14号」から得られた多芽体



第2図 「高系14号」の多芽体の伸長



第3図 多芽体から得られた植物体

## 摘 要

1 かんしょ「高系14号」の茎（腋芽付き）を2,4-DとABAを加えたMS培地を用い、暗黒、25°C、130rpmで旋回振とう培養し、カルスをABAを含むMS培地に移植して同条件で培養を続けると、培養開始から90日で多芽体が形成された。

2 多芽体形成に適するカルス化培地組成は、MS培地にしよ糖30gを加え、2,4-D 2~4 mg/ℓとABA 5~10mg/ℓの範囲での組合せであった。

再分化培地は、MS培地にしよ糖30g及びABAを1mg/ℓ加えた培地を使用した。

3 旋回振とう培養の振とう数が多芽体形成に及ぼす影響は顕著で、80rpmに比べ130rpmで多芽体の形成率が著しく高まり、多芽体の形成期間も短くなった。

4 多芽体形成のためのカルス形成は、液体培地による旋回振とう培養が適し、培養期間は60日間が必要であった。

5 多芽体の形成率は、腋芽付きの茎を外植片とし、2,4-D 4 mg/ℓ, ABA 5 mg/ℓのカルス化培地を用いた場合、50%であった。

6 供試部位は、茎の他に葉柄を切除し1 cm程度に切断した茎頂でも多芽体の形成がみられ、茎と同程度の多芽体形成率が得られた。

7 多芽体を形成するカルスは、黄色で硬く緻密であり、カルスの形成量は少なかった。また、形状は丸く、表面に多数の丸い突起を持ち金平糖状であった。

カルス化培地の2,4-D濃度が低いと、黄色であるが柔らかいカルスが多量に形成され懸濁状となり、2,4-D濃度が高いとカルスは形成されないか、もしくは白色のカルスが少量形成され、このような条件で多芽体が形成さ

れることは希であった。

8 得られた多芽体の芽数は、個体差が大きかったが、観察では多いものは50から60以上の芽数を持っていた。

9 多芽体の増殖も、暗黒条件における旋回振とう培養が優れ、MS培地にしよ糖30g/ℓを加え、ABAを0.2~1 mg/ℓ添加した培地で、25日で50倍以上の増殖が可能であった。

10 多芽体からの植物体再生では、前培養のABAが阻害的に影響を及ぼした。このため、植物体再生では、ABAを含まない培地で前培養を行う必要があると考えられた。

11 多芽体からの植物体再生は、MS培地にしよ糖30g/ℓを加え、IAA 0.1mg/ℓとGA<sub>3</sub> 1 mg/ℓを添加した培地が優れ、5 mm程度に細断された多芽体の小片から20日間の培養で5本の植物体が再生可能であった。

## 謝 辞

本報告をまとめるにあたり適切な御助言と御校閲をいただいた当農業研究センター特別研究員新関宏夫氏に深く感謝します。

## 引用文献

- 1) 橋本昭彦、林田英一、松本峯士  
熊本県農業研究センター畑作物関係試験成績書  
(1991)
- 2) 村田達郎、福岡壽夫  
サツマイモの茎カルスからの植物体再分化と回転培  
養による大量増殖、九州東海大農紀要、10:37-44  
(1991)
- 3) 山口俊彦、中島哲夫  
サツマイモの塊根組織を起源とするカルスの培養条  
件について、日作紀、41 531-532 (1972)
- 4) 山口俊彦  
甘藷塊根の培養組織における植物体復原に関する研  
究、大阪府立大学紀要、農学・生物、30 55-88  
(1978)
- 5) Liu, J.R. and Cantliffe, D.J.  
Somatic embryogenesis and plant regeneration  
in tissue culture of sweet potato, Plant Cell  
Reports 3, 112-115, (1984)
- 6) 大沢勝次  
組織培養による種苗の増殖、農業及び園芸、63 92-  
96 (1988)
- 7) 谷口研至、田中隆荘  
苗条原基利用による種苗の大量増殖技術、農業及び  
園芸、63 1279-1283 (1988)
- 8) 小牧克巳、久木村久  
野菜の組織・細胞培養の実際 (サツマイモ)、最新  
バイオテクノロジー全書、100-112 (1990)
- 9) 小牧克巳、久木村久  
カンショの不定胚形成の品種間差異、九州農業研究、  
(1988) 50-51
- 10) 小牧克巳、レイモンド・シー、ダニエル・カントリ  
フ  
フロリダ大学におけるかんしょ人工種子の開発、農  
業技術、46 204-207 (1989)