

イチョウイモの多芽体培養による繁殖

松原幸子・大森誉一^{a)}・小正富知美^{a)}・高田裕子^{a)}

(生物機能・遺伝資源開発学講座)

Received November 1, 1991

Multiplication of Chinese Yam 'Ichouimo' (*Dioscorea batatus* Decne.) by Multiple Buds Culture

Sachiko MATSUBARA, Yoichi OHMORI, Tomomi KOMASADOMI
and Hiroko TAKADA

(Department of Biological Function and Genetic Resources Science)

Most Chinese yam 'Ichouimo' (*Dioscorea batatus* Decne.) plants are known to be infected with virus, because of their vegetative reproduction. In general, seed bulbs are expensive due to low multiplication. However, to increase bulb size and yield, it is desirable to produce virus-free plants.

In the present paper, conditions for the propagation of disease-free bulbs by multiple buds culture were studied.

Plants were grown on the basal medium consisted of Murashige & Skoog (MS) medium plus various combinations of gelling agents, phytohormones and various concentrations of sucrose and incubated at 25°C under 16h daylength supplied with 20 $\mu\text{mol/s/m}^2$ of artificial light.

Formation of multiple buds: Aerial bulbils grown on nodule of plants were cultured on the basal medium, and shoots with 3 ~ 4 leaves grown on them were used to obtain explants. Each nodular sections with a lateral bud were dissected as explants and cultured on the aqueous basal medium with 20mg/ℓ ancymidol for 47days. Multiple buds were formed on the medium.

Multiplication of multiple buds: Multiple buds were separated and cultured in the basal medium with or without 10mg/ℓ ancymidol by rotary or shaking culture for 40days. Multiple buds were further multiplied in all lots, and multiplying rate was high in the basal medium with ancymidol by shaking culture.

Seven cycles of subculturing of multiple buds: Multiple buds were separated to a single bud, and cultured in the aqueous basal medium containing 10mg/ℓ ancymidol and 2% sucrose by shaking. They were subcultured at the intervals of 46days. Multiplying rate at every subculture were about 30 times constantly, and the multiplied buds were also in the similar size.

Acclimatization of multiple buds: Each bud separated from multiple buds was cultured on the basal medium containing 0.6 or 1% agar, or 0.1 or 0.2% gelrite for 10, 20 or 30days, and they were then acclimatized. Plantlets in all lots were survived. The longer the culturing period, the faster the rooting. Rooting of plantlets on the medium with gelrite

a) 神戸女子大学バイオテクノロジー研究センター (Kobe Women's University, Biotechnology Research Center)

was faster than that on the agar medium.

Aerial bulbil(s) formation on plantlets: Each bud separated from multiple buds was cultured on the basal medium containing 0.2% gelrite and 3% sucrose. Two and a tenth minitubers per shoot were formed at nodal section or shoot base after 2~3 month at room temperature. In winter season, shoots were died, and sprouting from minitubers started in spring season. After shoots grew, new minitubers were formed at stem section and shoot base.

Plantlets of 30⁷ were multiplied from one bud by multiple buds culture and three minitubers were formed from one shoot during one year.

緒 言

ヤマイモ類 (*Dioscorea* spp.) は栄養繁殖するので、殆どがウイルスに罹病し、年々収量が減少する傾向が見られる。またヤマイモ類は繁殖率が比較的低いのに、種イモとして植え付ける分を残せば収量は更に低くなる。そこで近年培養による無病苗の生産が試みられ、ヤマイモ類に関しては茎頂培養^{1,3,6,11}、多芽体培養^{4,7,9}、ムカゴ培養^{2,6,11}、カルス培養¹⁰等の技術による増殖が成功している。

ヤマイモ類は、その形によりナガイモ、イチョウイモ、ヤマトイモ、ダイショ等々の幾つかのグループに分けられており、その一つにイチョウイモ (*D. batatas* Decne.) がある⁵)。イチョウイモの培養による繁殖についてはまだ報告が無く、ヤマイモと同様な方法で可能であるかどうかを調べる必要がある。本実験においては、イチョウイモの多芽体培養による増殖を試み、多芽体の継代による増殖率の変化、形成された不定芽からの苗条再生及び多芽体からの球形形成について調査した結果を報告する。

材 料 及 び 方 法

市販のイチョウイモを購入し、実験に用いた。本実験に用いた基本培地は、Murashige & Skoog⁸)に3% ショ糖、0.7% 寒天を添加し、寒天無添加のものを液体培地とし、異なるショ糖濃度、ゲル化剤、さらに添加植物ホルモンについては、実験毎に述べる。培養物は25℃、2000 lx 人工光による16時間日長の人工気象室においた。

1. 多芽体の形成

ツクネイモでは10~30mg/l アンシミドール添加培地で苗条原基の誘導が可能である⁹)。そこでイチョウイモでもこのような培地で苗条原基、ないしはそれに準ずる組織(茎葉の分化しかかっている分裂細胞の集塊で、ある条件を与えることにより苗条になり得るもの)の誘導の可能性を調べた。

1989年7~8月に瀬戸町の神戸女子大学バイオテクノロジー研究センター敷地内で栽培中の、イチョウイモの蔓に着生したムカゴを殺菌し、プラントボックス内の基本培地に植え付け、2~3か月後に展開葉3~4枚になった植物を供試した(Fig. 1)。基本培地に20mg/l アンシミドールを添加した培地を、100mlのフラスコ中に30ml入れ、2外植体を植え付けた。外植体は、前述の小植物体から1腋芽を付けた茎切片を切り出したもので、2芽

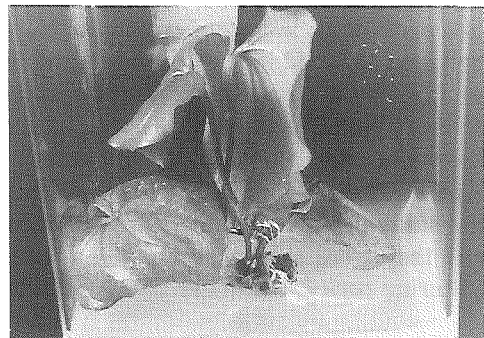


Fig. 1 Plantlets grown from a bulbil and used for Experiment 1.

が接近しており切り分けるのが困難な時は、2芽付けたまま切り出した。植え付けは、外植体を垂直に立てたもの7フラスコと、水平においたもの8フラスコとした。47日間培養を行った。

2. 多芽体の増殖及び苗条化

ツクネイモでは、苗条原基を10mg/ℓアンシミドール添加基本液体培地で回転培養(66 rpm)することにより増殖を行い、アンシミドール無添加培地に移植することで苗条化が可能である、との報告がある⁹⁾。そこで本実験でも同様な方法で増殖及び苗条化を見た。

実験1で得られた多芽体を約5mmに切り分けたものを、材料として用いた。この外植体は根も葉も含んでいた。4外植体を1フラスコに、または1外植体を1試験管に植え付けた。培地は、基本液体培地に、アンシミドールを0又は10mg/ℓ添加した2種類とした。なおアンシミドール添加培地は、ショ糖を2%とした。培養は、フラスコは60 rpmの振盪培養で、試験管は40 rpmの回転培養で、40日間行った。培地毎に8フラスコと5試験管を用いた。

3. 継代培養による増殖率の変化

実験2でフラスコ内で増殖した多芽体を、同様の方法でさらに6代、計7代継代培養をした。実験2で得た多芽体を、葉柄の付いた葉を3~4枚含む外植体に切り分けた。このとき頂部の外植体は殆ど根を含まないが、基部側のものは4~5本の根を含むものもあった(Fig. 2)。これらの外植体を、基本培地のショ糖を2%とし、10mg/ℓアンシミドール添加の液体培地内で60 rpmで振盪培養し、第1代は40日、その後の継代は46日間隔で培養を繰り返した。そして7代の継代培養中の増殖率の変化を調べた。乾燥重は組織を乾熱滅菌器中で90℃に1時間おいた後、70℃に45時間おいて乾燥し、直ちに測定した。乾燥量/生体重×100により乾物率を求めた。また調査時の葉数を、植え付け時の葉数(3.5枚)で割った値を増殖率とした。葉1枚のついた節には腋芽が1つ付くので、1芽があれば増殖可能なためである。

4. 多芽体の苗条化及び順化

多芽体の増殖は可能であることがわかったので、次にそれらの多芽体を苗条化し発根させ、順化し、定植可能なポット苗にする為の種々の条件を調べた。

多芽体の苗条化：実験3で3代目に増殖した多芽体を材料とした。多芽体を無菌条件下で3~4葉を含む外植体に実験3の様に切り分けた。培地は基本培地、基本培地の寒天を0.3%としたもの、寒天の代わりに gelrite を0.1又は0.2%添加したもの、の4種類とした。培養期間は10, 20, 30日間とした。

苗条の順化、育苗：上記の培地と培養期間を組み合わせた12種類の区からそれぞれ苗条を取り出した。根についた培地を流水で洗い流し、パーミキュライトを容れた水切籠に植え付け、25℃、16時間日長、相対湿度90%の人工気象室内に置いた。その後、幼苗の状態を見ながら徐々に湿度を70%まで下げた。植物体から新葉が出始めると、人工気象室から出し、散光の当る窓際に1~2週間置いた。自然光に慣れた頃を見計らい、50%遮光ハウスに移した。この時から週1回、0.5g/ℓハイポネックス溶液を根元へ施与した。1~2週間後、植物体の生長が盛んになったものから遮光寒冷紗を取り除き、直射日光にあてた。

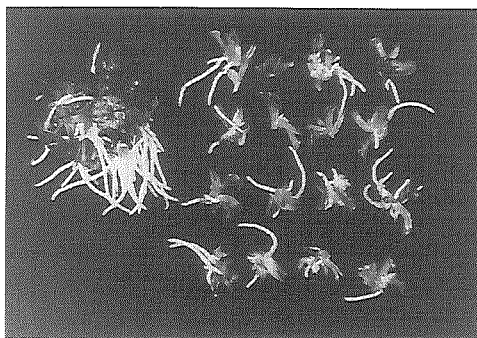


Fig. 2 Explants used for Experiment 3.
Left: Multiple buds formed in MS medium+10mg/ℓ ancymidol.
Right: Explants separated from multiple buds.

さらに1～2週間後、十分発根し新葉が次々出るようになったものから1株ずつポットに移植した。培土は、畑土3：川砂1：籾殻1の混合土と、畑土3：川砂1：パーク堆肥2の混合土を約1か月置いたもの、の2種類を用いた。

5. 多芽体からのムカゴ形成

1990年6月12日に実験3で出来た多芽体を、3～4芽を含む切片に切り分け、1培養瓶あたり10外植体植え付けた。培地は基本培地に2g/l gelrite と30g/l ショ糖を添加したものとした。培養物は植え付け後9月一杯までは25℃16時間日長の人工気象室においた。その後調査時までは散光の窓際に放置した。この間冬季(11月～3月)には昼夜暖房した。約1年後の1991年6月24日に収穫したイモの内、直径2mm以上のイモ及び苗条について調査した。

結 果

1. 多芽体の形成

植え付けた総ての腋芽から、多芽体が誘導できた。その大きさもほぼ一定で10～20mmの4～5枚の展開葉と多数の芽を含むもので、植え付け時の1外植体に含まれた芽の数による差は殆んど見られなかった。

2. 多芽体の増殖及び苗条化

培養40日後の結果を Table 1 に示した。基本培地に植え付けたものは、振盪培養(フラスコ)(Fig. 3)、回転培養(試験管)(Fig. 4)のいずれも植物体で一杯になり、特に試験管内ではホルモンフリー区でも増殖率が10.6とフラスコ内の7.1と比較して高かった(Fig. 5)。一方アンシミドール添加培地上では、増殖率がフラスコ内13.8、試験管内11.4と基本培地上と比較して、振盪培養区で非常に高かった(Fig. 6)。生体重、乾燥重は地上部、地下部とも試験管内ホルモンフリー区で最も重く、次いでフラスコ内のフリー区で重かった。葉柄長、根長はアンシミドール区よりもホルモンフリー区で、回転培養区より振盪培養区で長かった。アンシミドール区では葉数、根数が多かったが、やや小さく軽かった。

3. 継代培養による増殖率の変化

7代の継代培養による増殖率及びそれぞれの継代時における植物体の生長の状態を Table 2 に示した。増殖率は第1代の13.8倍を除いていずれも30倍以上であるが、例外として4代で27.1倍であった。増殖率の低い時は1植物が大きい傾向が見られた。地上部の生長量は代が変わっても殆ど変わらなかったが、地下部は継代を重ねるにつれて減少し、5代目以降は安定した。また最大葉柄長、最大根長とも、継代を重ねるにつれて短くなり、5代目以降は安定して短くなった。

4. 多芽体の苗条化及び順化

多芽体の苗条化：寒天培地で10日間培養したもので発根が見られなかった以外は、他の総ての区で発根し、すべての植物体で苗条化が可能であった。寒天培地より gelrite 区で植物体の生長が早く、発根も良かった。

苗条の順化、育苗：全植物体で順化が可能であった(Table 3)。寒天培地で30日間、gelrite 培地で20、30日間培養した区では、順化後の植物体の生長も順調で、7～10日間で十分活着した。寒天培地で20日間、gelrite 培地で10日間培養した区では、活着に14～20日間必要であった。発根が殆ど見られなかった寒天培地で10日間培養した区でも、約1か月間高湿度に保つことにより発根し、活着した。寒天培地より gelrite 培地の方が、培養期間が短かった区においても活着が早く、寒天培地より gelrite 培地が、さらに gelrite 濃度の低いほど根についた培地が洗い流し易く、根を痛めにくかった。水切り籠を人工気象室から出した後、ポットに移植するまでに要した期間は、活着に要した期間の短い植物程短く、約3週間で、

Table 1 Formation and multiplication of multiple buds from lateral bud

Culture method	Supplement of Ancyimidol	No. of leaves (a)	Multi-plication [※] (a/3.5)	Longest petiole (mm)	No. of root	Longest root length (mm)	Fresh weight (mg)		Dry weight (mg)	
							Top	Root	Top	Root
Shaking	Without	25.0 _b ^{※※}	7.1	41.6 _a	32.2 _{ab}	103.4 _a	1695.6 _a	971.7 _a	101.7 _{ab}	20.0 _{ab}
	With	48.4 _a	13.8	11.2 _c	50.2 _a	37.4 _a	1443.9 _a	639.9 _{ab}	73.3 _b	16.3 _{ab}
Rotary	Without	37.2 _{ab}	10.6	26.6 _b	37.4 _{ab}	83.8 _a	1903.1 _a	1008.8 _a	146.9 _a	28.0 _a
	With	39.8 _{ab}	11.4	8.5 _c	22.0 _b	23.2 _b	1587.6 _a	148.5 _b	122.1 _{ab}	6.3 _b

[※] Ratio of total leaf number after 40days culture to 3.5 leaves at start of culture.

^{※※} Means within a column followed by the same letter are not significantly different at the 1% level (Duncan's multiple range test).

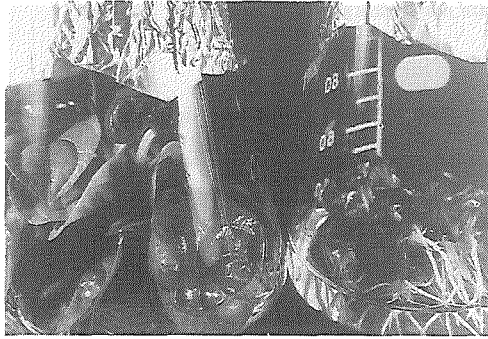


Fig. 3 Shaking culture of multiple buds in MS medium with (right) or without (left) 10mg/l ancyimidol.

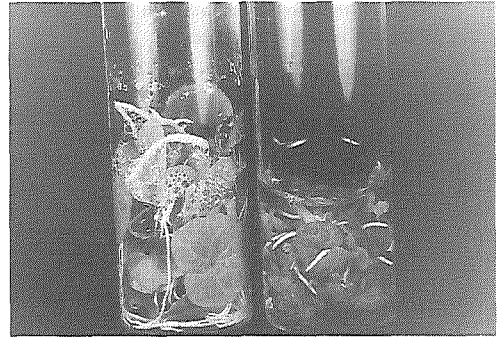


Fig. 4 Rotary culture of multiple buds in MS medium with (right) or without (left) 10mg/l ancyimidol.

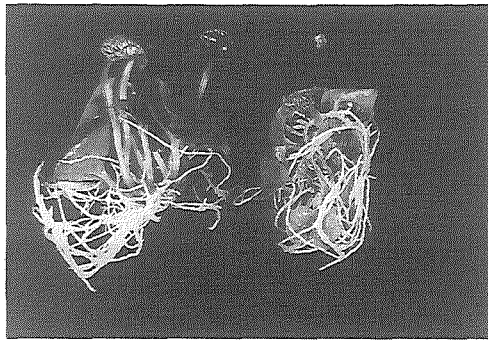


Fig. 5 Multiple buds in MS medium by rotary culture with test tube (right) and shaking culture with flask (left).



Fig. 6 Multiple buds formed in MS medium + 10mg/l ancyimidol by rotary culture with test tube (right) and shaking culture with flask (left).

その間の生長も旺盛であった。一方、順化に長期間要した植物体では6週間要するものもあった。また地上部の生長状態にあまり関係なく、順化後の育苗期間が長くなると、地下部にイモができるものもあった。ポットに移植後は、糞殻混合土よりバーク堆肥混合土の方が葉の色も濃く、生長が良かった。

畑に定植時には、糞殻混合土はポットから出す時崩れてしまい、バーク混合土の方が根を痛めなかった。畑で栽培したものは平均55gのイモが得られ、プランターで栽培した株から

Table 2 Growth of multiple buds during 7 subcultures

Generation of subculture	No. leaf /explant (a)	Multi- plication (a/3.5)*	Longest petiole (mm)	No. of roots	Longest root length(mm)	Fresh weight(mg)		Dry weight(mg)	
						Top	Root	Top	Root
1	48.4 ^{c**}	13.8	11.2 _a	50.2 _a	37.4 _a	1443.9 _{ab}	639.9 _a	75.3 _b	16.3 _a
2	120.4 _{ab}	34.4	10.5 _a	52.9 _a	10.9 _c	1284.2 _{ab}	308.3 _{bc}	90.7 _{ab}	12.6 _{ab}
3	122.0 _{ab}	34.9	7.0 _b	29.2 _b	10.8 _c	1322.7 _{ab}	128.8 _c	106.1 _a	8.0 _b
4	94.9 _b	27.1	10.7 _a	54.7 _a	19.8 _b	1636.4 _a	393.0 _b	112.6 _a	15.9 _a
5	109.0 _{ab}	31.1	6.3 _b	29.8 _b	8.0 _c	1299.6 _{ab}	148.5 _c	92.1 _{ab}	7.1 _b
6	128.1 _{ab}	36.6	5.9 _b	38.7 _{ab}	7.9 _c	1555.3 _{ab}	198.0 _c	116.4 _a	9.5 _b
7	135.7 _a	38.8	6.6 _a	30.8 _b	9.5 _c	1141.1 _b	151.1 _c	100.7 _{ab}	6.7 _b
mean	108.4	31.0	8.3	40.9	14.9	138.3	281.1	99.1	10.9

* See Table 1.

** Means within a column followed by the same letter are not significantly different at the 5 % level (Duncan's multiple range test) ,

Table 3 Necessary culture period before acclimatization under the high humidity condition

Gelling agent	Days of culture		
	10	20	30
	Necessary culture period (days)		
Agar	30	14~20	7~10
Gelrite	14~20	7~10	7~10

は、10~30 g のイモが出来た。

こうしてできたイモのうち、平均55 g のイモを、翌春農家の畑に植え付け、秋に収穫したところ、平均600 g のイモとなっていた (Fig. 7)。品質的には今後検討する必要があるが、大きさからは、通常の収穫物とかわらない。

5. 多芽体からのムカゴ形成

得られた結果を Table 4 に示した。数値は瓶毎の平均値である。6月に植え付けて植物体が伸長し、培養2~3か月後ミニチューバーが苗条の地際及び節に形成されると冬季には植物体が枯れた (Fig. 8)。翌年の3~4月にミニチューバーから萌芽が始まった。そこから苗条が伸長し、さらに新しくミニチューバーが形成した。1外植体に1990年に形成されたミニチューバーは平均2.1、大きさは直径7.3mm、生体重206.4mgであった。1瓶当たりの着生数が少ないものほど各チューバーは大きかった。1990年に着生したチューバー当たりの苗条数は1.1、葉数は3.5枚であった。1991年にはそのチューバー当たり0.4のミニチューバーが着生した。その大きさは直径4.0mm、生体重34.6 mgであった。新しくミニチューバーが出来、肥大し始めると、これらの前年度に形成されたミニチューバーは消耗されてしまうが、この調査時期にはまだ新しいミニチューバーが出来始めたところで、古いチューバーは消耗

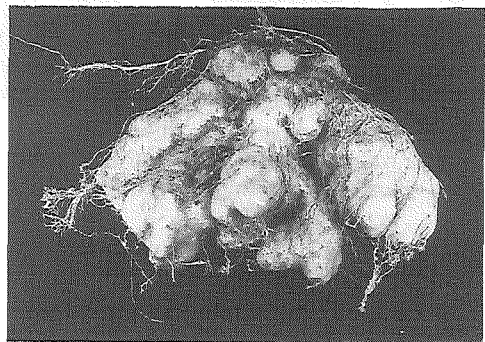


Fig. 7 Bulb formed from seed bulbil. Planting of seed bulbil at April, 1991. Harvest of bulb at the end of October, 1991.

Table 4 Bulbil formation on shoots grown from multiple buds

Culture lot	Aged tubers* from 1 explant				Young tubers** from 1 tuber*				No. of Shoot*** per tuber*	per one shoot		
	No.	Dia. (mm)	Fresh wt. (mg)	Dry wt. (mg)	No.	Dia. (mm)	Fresh wt. (mg)	Dry wt. (mg)		Leaf no.	Fresh wt. (mg)	Dry wt. (mg)
1	2.2	6.8	168.8	8.9	0.4	4.1	38.7	5.6	1.0	3.1	275.9	21.0
2	2.9	5.9	108.0	5.1	0.1	3.8	20.6	1.8	1.1	3.0	208.9	13.8
3	2.4	6.9	183.1	10.1	0.5	3.8	43.4	6.4	1.1	2.7	180.3	13.8
4	1.2	9.0	292.0	13.9	0.3	3.9	20.7	14.5	1.2	5.1	578.8	39.8
5	1.7	7.8	280.1	16.8	0.6	4.2	49.4	7.2	1.1	2.1	306.7	24.7
mean	2.1	7.3	206.4	11.0	0.4	4.0	34.6	7.1	1.1	3.2	310.1	22.6

* Minitubers formed before February 1991 from explants planted at June 1990.

** Miniubers formed since May 1991 from minitubers* sprouted at March to April 1991.

*** Shoots from minitubers* sprouted and survived at June, 24, 1991.

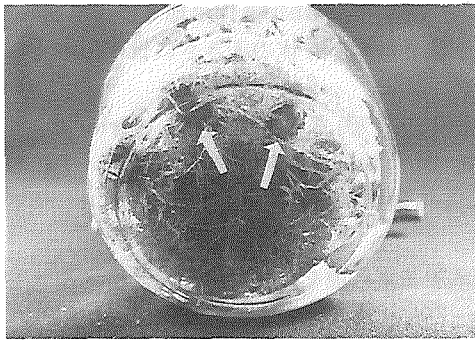


Fig. 8 Bulbils formed at the shoot base observed from jar bottom. ↑: bulbil.

されてしまっていた。

論 議

ヤマイモ類は近年殆どがウイルス罹病株となっているため収量や品質に問題が出て来ている。そのため茎頂培養による無病株の育成が進められているが、茎頂培養では大量増殖に結び付かない。そのため、より効率の高い節培養やカルス培養等も試みられて来た。しかし最近さらに大量増殖に結び付く方法として多芽体培養が多く作物で試みられ出した。

Dioscorea 属の大量増殖の為に多芽体培養を最初に利用したのは *D. deltooides* において

であり⁷⁾、ムカゴをココナツミルクや2,4-D, NAA, kinetin, BA などの添加培地で培養することによって成功している。またツグネイモでは茎頂や節をアンシミドール10mg/l 添加により50%が微細突起で覆われた塊状組織になり、その後この塊状組織を切断して10mg/l アンシミドール添加培地で培養することにより、100%が多芽体になった⁹⁾。本実験のイチョウイモでも全く同様にアンシミドール10~20mg/l 添加により多芽体になり、1.5か月で30倍という高能率で増殖された。また7代の継代中の増殖率を調べたデータは今までに無いが、本実験でみるごとく増殖率は全く減少しなかったことは実用化に大いに結び付く結果であった。多芽体を苗化するものは他の植物と比較してもそれほど困難ではなく、殆ど100%の確率で成功する。この点からも多芽体培養による増殖が効果的な植物である。

外植体については、ムカゴや茎頂、節などがよく用いられているが、成熟胚¹⁰⁾や、葉柄、葉片⁴⁾を利用することが出来る。つまり植物体全部からの増殖が可能であるので、増殖率は更に高くなる。多芽体の1芽から1年に1.5か月に1回の継代で30⁷⁾に増殖する計算になるので、植物体全部が利用出来れば1年で無限に増殖可能である。ただヤマイモ類は、培養で出来たような小イモが食用なり苗薯になるためには2年位が必要になるので、その間無病状態で栽培出来る環境を整えることが必要となる。またヤマイモ類は遺伝的にヘテロなものが多く、よく選抜された純系種を外植体に用いる必要がある。せっかく選抜された良品質の種薯から無病イモを育成しても、栽培時に水の管理に気を付けないと、きれいな正しい形のイモが収穫されない、等の点にも気を付けるべきである。

要 約

ヤマノイモ類は栄養繁殖されるのでウイルス罹病株が多く、かつ繁殖率が低いので苗薯が高価である。そのため無病のイチョウイモ (*Dioscorea batatas* Decne) の多芽体培養による増殖を試みた。Murashige & Skoog 培地を基本培地とし、種々の支持体や植物ホルモンを添加し、ショ糖濃度も変えた。培養条件は、25°C、2000lx人工光による16時間日長とした。

多芽体形成のために、栽培植物のムカゴを無菌培養し、発芽してきた小植物の、1腋芽を付けた茎切片を外植体とした。20mg/ℓアンシミドール添加基本培地に植え付けたところ、多芽体が形成された。

この多芽体を切り分け、アンシミドール0又は10mg/ℓ添加に植え付け、40日間振盪又は回転培養を行ったところ、いずれの方法でも多芽体が形成され、特にアンシミドール添加培地の振盪培養区で増殖率が高く、無添加培地では苗条が伸長した。

この多芽体を切り分け、10mg/ℓアンシミドール、2%ショ糖添加液体培地で振盪培養し、46日間隔で継代培養を7回繰り返した。増殖率、形成された多芽体の大きさに世代毎の大きな差は見られず、増殖率はほぼ30倍前後であった。

これらの多芽体を苗化するため、切り分けた外植体を寒天0.3または0.7%、gelrite 0.1または0.2%添加基本培地のいずれかに植え付け、10、20、30日間培養後、順化した。いずれの区でも順化した。培養期間が長い程発根が早く、gelrite 培地の方が短期間の培養でも早く発根した。

多芽体を切り分け、0.2% gelrite と 3%ショ糖添加基本培地を入れた培養瓶に植え付け室内に放置しておいた処、2～3か月後にミニチューバーが出来、冬季に一度地上部が枯れた後、春になって既に出ていたミニチューバーが発芽し、それからの苗条が伸長し、その基部や節にまたミニチューバーが形成された。

以上イチョウイモでは多芽体培養により、1年で30本の小植物を増殖出来、さらに1芽より1年で約1個のミニチューバーが出来る事が分かった。

文 献

- 1) 堀本圭一・荒井 滋：組織培養を用いたヤマイモの種イモ生産について。園学雑，59別2，322—323(1990)
- 2) 稲垣 昇・速水良一・前川 進・寺分元一：やまといも (*Dioscorea opposita* Thunb) のつる節部切片からのむかご形成および幼植物再生に及ぼすNH₄⁺/NO₃⁻比の影響。園学雑，59別2，320—321(1990)
- 3) 景山幸二・矢部和則・飯田孝則・鷲田純彦：ジネンジョの茎頂からの植物体再生および順化。植物組織培養，5，11—14(1988)
- 4) 甲村浩之：組織培養によるヤマイモの増殖に関する研究。園学雑，60別1，220—221(1991)
- 5) 熊沢三郎・二井内清之：やまのいも，熊沢三郎監修：蔬菜園芸各論，養賢堂，東京 227—236(1971)
- 6) 松原幸子・石原正利：ヤマイモのウイルス・フリー株の育成と栄養繁殖。岡山大農学報，72，19—26(1988)
- 7) Mascarenhas, A. F., R. R. Hendre, A. L. Nadgir, D. D. Ghugale, D. A. Godbole, and V. Jagannathan: Development of plantlets from cultured tissues of *Dioscorea deltooides* Wall. Indian J. Exp. Biol. 14, 604—606(1976)
- 8) Murashige, T. and F. Skoog: A revised medium for the rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 914, 473—479(1962)
- 9) 信森達也・内藤恭典：組織培養によるツグネイモの大量増殖。園学要旨，昭62秋，260—261(1987)
- 10) 山下英雄・荒木 肇・八畝利郎：ヤマノイモ属野生種の成熟胚由来のカルス形成と液体振盪培養による分裂細胞の維持。園学要旨，昭62秋，252—253(1987)
- 11) 柳田雅芳：ナガイモの増殖技術。農及園，63，155—158(1988)