

ホウレンソウの低シュウ酸含量品種育成に関する研究 (VII) —順化および紫外線照射株の育成について—

太田和子

岐阜女子大学 家政学部健康栄養学科

(2015年11月20日受理)

Studies on the Breeding of Some Varieties of Spinach (*Spinacia oleracea* L.) with Low Level Oxalic Acid. (VII) —Acclimating of Non-symbiotic Cultured Plantlets and Culturing of Plantlets irradiated with ultraviolet rays—

Department of Health and Nutrition, Faculty of Home Economics,
Gifu Women's University, 80 Taromaru, Gifu, Japan (〒501-2592)

OTA Kazuko

(Received November 20, 2015)

要 旨

ホウレンソウ (*Spinacia oleracea* L.) の低シュウ酸含量品種の育成を目的にした組織培養系の確立の一環として、培養植物体の非無菌環境下への順化について検討した。無菌播種し発芽した実生より切り取った根片を、MSIG+ABA 液体培地 (インドール酪酸, ジベレリン A₃, アブシシン酸を含むムラシゲ&スクーグ培地) に入れ、回転培養と振盪培養を行い、根集塊を形成させた。根集塊から形成されたカルスや不定胚集塊等を寒天再生培地に移植し、不定芽が伸長したものをパーパーウィック法による発根用培地で培養した。順調に生育したものを滅菌したバーミキュライトを入れた鉢に移植した。鉢を水の入った容器に入れポリラップをして少しずつ開けていく方法で順化に成功した。その後、鉢やプランターに移植しビニールハウスで栽培した。次に変異を起こす割合を高めるために根集塊から形成されたカルスや小さな不定胚集塊等に紫外線を照射し、再分化、順化させる系を検討した。そして、順化に成功した株のシュウ酸含量を測定した。2008年度に紫外線を照射あるいはコントロールとしてそのまま置床した細胞塊を再分化し、2009年度に順化した株のシュウ酸含量を測定したところ、31株中5株でシュウ酸含量が低かった。

緒言

ホウレンソウは栄養価の高い野菜である

が、味や健康に好ましくない成分であるシュウ酸の含量が高い。そこで著者らは、ホウレンソウの低シュウ酸含量品種の育成を目的

に、研究を進めてきた^{1)~3)}。

前報³⁾では、組織培養を用いて育種を進めるために、ホウレンソウの組織培養系の確立を目指して植物体の再分化について検討した。その後、1998~2001年度に前回報告した系を用いて、培養器外への順化に成功したので報告する。

また、組織培養系を利用した育種ではカルス形成による変異を利用するが、更に変異の確率を高めるため2002~2007年度にカルスや不定胚集塊等への紫外線照射を行い、その後植物体を再分化または不定胚を成長させ、さらに培養後順化を行い、順化ホウレンソウのシュウ酸含量を測定したので報告する。

子が手に入らなくなったので、2004年度よりミンスターランド丸種、晩抽パルク、アクティオン、マジックを用いた。

2. 培養の概要

基本的な培養の概要を図1に示す。無菌播種し発芽した実生より切り取った根片を、MSIG+ABA 液体培地による回転培養と振盪培養に用いた。そこから形成されたカルスや不定胚集塊等をそのまま、または紫外線を照射して、寒天再生培地に移植した。不定芽が伸長したものをペーパーウィック法による発根用培地で培養した。順調に生育したものをバーミキュライトに移植して順化し、成功した株をハウス内へ移植した。

培養は人工気象器 (NKsystem LH-200-RDCT および LH-45-RDS, (株) 日本医化器械) を用い、昼夜20℃で明期8時間 (1200~3600 Lux) 暗期16時間に設定した。

材料および方法

1. 供試品種

1998~2003年度まではミンスターランド針種を用いた。その後、この品種の新しい種

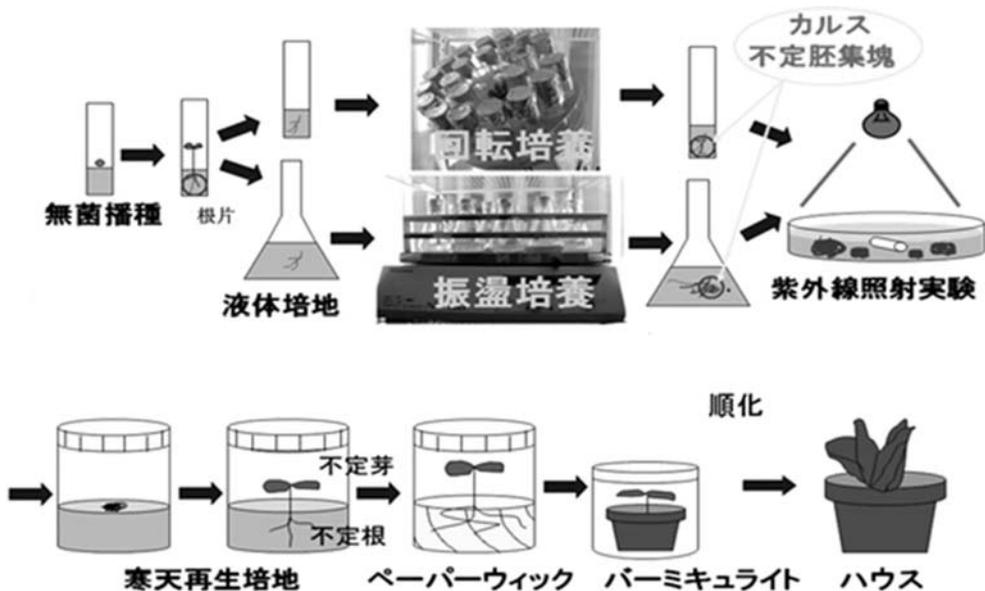


図1 培養の概要

3. 無菌播種

供試種子を濃硫酸に15~30分浸漬させた後、濃硫酸をよく切ってから流水(水道水)で1時間水洗いした。その後、電気定温乾燥器内(80℃)で10分間乾燥させた。70%アルコールに数秒間浸漬させた後、0.5%次亜塩素酸ナトリウムに30分間浸漬後クリーンベンチ内にて滅菌水で3回すすいだ。

殺菌済種子をクリーンベンチ内で0.9%寒天培地に1粒ずつ播種した。明条件または暗条件下で発芽させた。

4. 根集塊の培養

無菌播種し発根したホウレンソウの根をクリーンベンチ内で切り取り、この根片をMSIG+ABA液体培地(3%のショ糖、15 mg/Lのインドール酪酸(IBA)、0.5 mg/Lのアブシシン酸(ABA)、2 mg/LジベレリンA₃(GA₃)を含むムラシゲ&スカーグ(MS)培地)を入れた培養用平底試験管または培養用三角フラスコに移植した。

試験管に移植した方は、回転培養器(ROTATOR RT-5(株)タイテック)にセットし、3回/分で回転培養を行った。三角フラスコに移植した方は、振とう培養器(TRIPLE SHAKER NR-80(株)タイテック)に置いて100回/分で振とう培養した。

無菌発芽からの幼根以外に、寒天再生培地やペーパーウィック培地などで生育していた培養植物体の根も植付材料として用いた。

また、2000~2001年度には、MSIG+ABA液体培地中のIBAをインドール酪酸(IAA)またはナフチル酪酸(NAA)に置き換えた区を作り再分化について検討した。

5. 紫外線照射実験

回転培養または振盪培養で形成された不定根集塊より発生したカルスおよび不定胚集塊

等をクリーンベンチ内で取り出し、約30 mlのMSIG+ABA液体培地の入ったシャーレに入れた。

大きなカルスや不定胚集塊は、カッターで1 mm程度に細かく切った。

クリーンベンチ内でマグネチックスターラーを用いて細胞塊を回しながら殺菌用の紫外線ランプを照射した。照射前に紫外線強度計(UVX デジタル式J-221型、センサーUVX-25, UVP INC.)を用いて、紫外線強度を測定し、紫外線ランプからシャーレまでの距離を調節した。照射時間を乗じて紫外線量を計算した。照射した紫外線量は78 μJ/cm²~3.89 J/cm²であった。

カルスおよび不定胚集塊に紫外線照射を行わず紫外線照射実験と同じ時期に同様に寒天再生培地へ移植を行ったものをコントロールとした。

2002年度は紫外線照射後に液体培地で振とう培養した後、不定芽が分化した細胞塊を寒天再生培地へ移植していた。しかし、この時期の汚染が多いので、2003年度より、紫外線照射後すぐに寒天再生培地へ移植した。

6. 再分化株の培養

回転培養または振盪培養により形成された不定根集塊より発生したカルスおよび不定胚集塊を寒天再生培地(ショ糖2%、寒天0.9%を含むホルモンフリーのMS培地)を入れたマヨネーズビンに植え付けた。ビンの蓋には直径1 cmの穴を開け、通気を良くするためにミリシールを貼り付けた³⁾。

紫外線照射の実験でも、照射実験後あるいはコントロールの細胞塊を同様の寒天再生培地に1ビンにつき1~5個ずつ植え付けた。

寒天再生培地でシュートが生育した株を、ペーパーウィック法による発根用培地(2%のショ糖と5 μMのNAAを含むMS液体培

地)に移植した。ペーパーウィックは、90 mm のろ紙 (No. 2) に均等に3 cm ずつ8ヶ所切り込みを入れ、同じ方向にすべて折り、足の部分を作った。マヨネーズ瓶内に入れ、ペーパーウィックの足が浸かるように発根用培地を約30 mL 注いだ。蓋には、寒天培地と同様にミリシールの通気口を付けた。

7. 順化

1998~2000年度はプラスチック製の培養器や角形ジーフィーポットにバーミキュライトを入れて順化を行ったが、成功しなかった。2001年度より岐阜県生物産業技術研究所でアドバイスを受け、以下の方法で順化を行った。

小型の素焼き鉢の底に網を置きバーミキュライトを入れ、蒸留水をかけ、アルミ箔で包んだ。オートクレーブ (121℃, 15分) で滅菌した。鉢と用土が冷めた後、クリーンベンチ内でペーパーウィック法による発根用培地からペーパーウィック上の根を痛めないように注意してはがし、鉢に移植した。移植後、鉢をビーカー又はポリ容器に入れ、なるべく葉にかけないようにして蒸留水を注いだ。ビーカーまたはポリ容器の上にポリラップをかけ、輪ゴムで止めた。

人工気象器内に容器を置き、用土の表面が乾いたら蒸留水を与えた。ビーカーまたはポリ容器にかけたポリラップに培養有柄針を用いて毎日6つくらいずつ穴を開け、1週間程様子を見ながら徐々に順化させていった。1週間経って枯死やカビの発生がなければ、ポリラップを徐々に開けていき、最終的にはポリラップをすべてはがした。

株が枯れ始めた時は、ラップを閉じ、もう一度徐々にラップを開けていった。カビが発生した時は、ピンセットで汚染部位を取り除き、70% エタノールで鉢等を殺菌した。

バーミキュライトを入れた鉢で順化した株をプランターまたは大鉢に移植した。用土はプライムミックス (TKS-2サカタ (株)) を用いた。ビニールハウスに置き、慣行栽培を行った。

8. シュウ酸の定量

2003年度は過マンガン酸カリウム滴定法とHPLC (高速液体クロマトグラフィー) 法を行った。HPLC法の方が過マンガン酸カリウム滴定法よりシュウ酸含量値がやや高くなったが、簡便で採取試料が少なくても分析できるので、2004年度からはHPLC法で分析した。各区3連で実験を行った。

過マンガン酸カリウム滴定法では試料5 g を秤量した。蒸留水20 mL と共にミキサーで磨砕後、蒸留水50 mL でミキサーをきれいに洗浄しながら、三角フラスコに全液を入れた。このとき消泡剤イソアミルアルコールを1~2滴加えた。6 N 塩酸12.5 mL を加え、湯浴中で15分間煮沸した。冷却後、蒸留水を加え、粕と共に100 mL に定量した後、よく振って、ろ紙 (No. 2) でろ過した。ろ液を25 mL 取り、100 mL 三角フラスコに注入し、燐タンゲステン酸試薬5 mL を加え、よく振盪した。その後1日冷却し、ろ紙 (No. 6または5 C) でろ過した。ろ液20 mL を取り、遠心管に注入し、1 N-アンモニアでpH 4~4.5に調整した。そこに塩化カルシウム含有酢酸緩衝液5 mL を加え、一夜冷所で放置した。これを遠心分離 (2000 rpm, 10分間) 後、沈殿物を遠心管に残すようにして、上澄みをろ紙 (No. 6または5 C) に流し込んだ。次に受器を200 mL 三角フラスコに変えて、沈殿の残った遠心管とろ紙にそれぞれ硫酸溶液 (1:9) 5 mL を加えて沈殿を溶解し、フラスコへ注入した。その後それぞれを蒸留水で洗浄し、蒸留水を加えフラスコの液量を100 mL 前後にした。

三角フラスコを沸騰しているウォーターストームに入れ、70～80℃に加熱し、0.01 N-過マンガン酸カリウムで微紅色を呈し30秒で消えなくなるように、滴定を行った。

HPLC法では、試料をはさみで細かく刻んだ後よく混ぜ合わせ、各試料を0.1 gずつ秤量した。この試料を平底試験管に入れ、2 N-HCl 1 mlを加えて、アルミ箔で蓋をし、ウォーターストームで30分間煮沸した。冷却後、蒸留水を少量加え、ろ紙(No. 2)でろ過した。ろ液をメスフラスコで100 mlに定量し、そのうち約10 mlをメンブレンフィルター(0.45 μm)を付けたガラス注射器でろ過した。これをHPLC用分析試料とした。HPLCの分析条件としては、カラムはShim-Pack SCR-102 H(内径8 mm×長さ30 cm, 島津製作所)を40℃で用いた。移動相は0.1%リン酸水溶液を流速1.0 mL/minで流した。圧力は約70 kg/cm²であった。検出器は、紫外線分光光度検出器SPD-6 A(島津製作所)を用い、波長210 nm, ABS倍率0.01に設定した。試料注入量は25 μLとし、標準のシュウ酸を測定しピークの高さを比例計算して、試料のシュウ酸濃度を求めた。

統計ソフトSPSS(Base 11.5 J)(エス・ピーエスエス(株))を用いて、t検定、一元配置分散分析を行った。

結果および考察

1. 培養系の確立

ミンスターランド針種を使った1998～2001年度の根集塊からのカルスまたは不定胚等の形成率は0～71%であった(表1)。回転培養と振とう培養を比較すると1998～2000年度は振とう培養の方が形成率は高かったが、2001年度は回転培養の方が高くなった。不定胚等の形成数は形成率が最大だった1999

年度の振とう培養で最多の310個となった。形成率と同様に1998～2000年度は振とう培養の方が多く、2001年度は回転培養の方が多くなった。

不定根集塊からは、葉原基と根原基を両方持つ不定胚や葉原基だけまたは芽に成長した不定芽、根原基のみの不定根、そして赤色や緑色のカルスが形成された(図2)。2008年度にミンスターランド丸種と晩抽パルクで、それぞれの形成割合をまとめたものを図3に示す。回転培養、振とう培養ともにミンスターランド丸種の方が、置床根数あたりの合計の形成数が多かった。どちらの品種でも、回転培養では不定芽の割合が多く、振とう培養ではカルスの形成割合が高くなった。また不定胚はミンスターランド丸種で見られ、晩抽パルクでは見られなかった。

2004年度に根片を置床したミンスターランド丸種、晩抽パルク、アクティオン、マジックの4品種で不定根集塊からのカルスまたは不定胚等の形成を比較したところ、ミンスターランド丸種で1年目に回転培養、振とう培養とも形成率が100%と最も高くなった(図4)。2年目の形成率は半分以下となった。次に晩抽パルクが高かった。晩抽パルクの回転培養では2年目の方が1年目より形成率が高くなった。置床数あたりの形成数はミンスターランド丸種が多く、2年目の振とう培養が18.8個と形成割合は低かったのに、形成数は最も多くなった(図5)。

2000～2001年度にMSIG+ABA液体培地中のIBAをIAAまたはNAAで置き換えて、根片を培養したところ、根の増加の割合は、IBA, IAA, NAAの順で高く、IBAでしかカルスまたは不定芽等は形成されなかった。

前報³⁾ではミンスターランド針種を用い、振とう培養のみを検討し、3カ月までで78.6%の不定胚集塊等の形成率であった。それに

表1 回転培養および振とう培養からのカルスまたは不定胚等の形成 (1998~2001年)

形成率は置床した根集塊あたりのカルスまたは不定胚等を形成した根集塊の割合を示す。品種はミンスターランド針種

年度	回転培養			振とう培養		
	置床数	形成率 (%)	不定胚等形成数	置床数	形成率 (%)	不定胚等形成数
1998	12	16.7	不明	10	50.0	292
1999	24	50.0	72	21	71.4	310
2000	24	0	0	21	52.4	15
2001	8	50.0	54	8	12.5	30



図2 根集塊から形成された不定胚, 不定芽, カルス

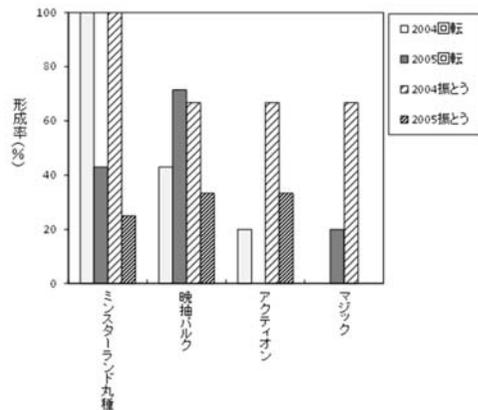


図4 各品種の不定胚等の形成率

2004年度に置床した根集塊において2004年並びに2005年度に不定胚等を形成したものの割合。

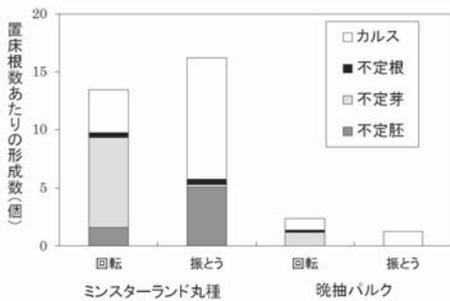


図3 不定胚および不定芽, 不定根, カルスの形成数 (2008年度)



図6 順化に成功しハウスに移植したハウレンソウ (移植3か月後)

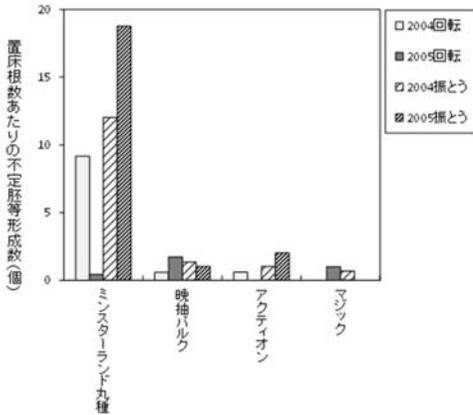


図5 各品種の不定胚等形成数

2004年度に置床した根集塊から2004ならびに2005年度に形成された不定胚等をカウントし、それぞれの置床根数で割った数値。

比べると1998～2001年度の不定胚等の形成率は低かった。しかし、2004年度のミンスターランド丸種は振とう培養と回転培養で100%の形成率となった。毎年度の置床数が限られ、また培養技術の未熟から汚染を起こすこともあり、形成率はいろいろな要因で左右されると考えられる。また品種によっても異なる(図4)。この系では、培地中の植物成長調整物質の濃度を一定でしか行っていないので、品種により最適な濃度が異なる可能性も高い。ホウレンソウのカルス形成や再分化に関する報告では、様々な植物成長調整物質の組み合わせが用いられている。Komaiら⁴⁾は、次郎丸の根組織片を用い、NAAを10～

30 μM 、 GA_3 を0.01～100 μM の組み合わせで前培養し、4週間後にホルモンフリーの培地に移植すると小植物体が多数形成されることを報告している。Satohら⁵⁾は、サンライト胚軸からのカルス誘導にNAA 7 mg/L添加培地を用い、不定芽形成にはIAA 0.1 mg/L添加培地で前培養した後、ホルモンフリー培地に移植している。また、再分化植物体をカルスより得るのに、IAA 1～5 mg/L、 GA_3 0.1～1 mg/Lを含む培地で前培養したことを報告している。一方、GotoとMiyazaki⁶⁾は、次郎丸の葉肉プロトプラストから形成したカルスから不定芽を再分化させるのに、1～5 mg/LBAと5～10 mg/LNAAを組み合わせたカルス形成培地で1ヵ月培養後、5 mg/LBAまたは1または5 mg/LカイネチンまたはBA、ゼアチンを含む培地で培養している。

その後の再分化株の培養経過を表2に示した。1998～2000年度は300以上を寒天再生培地に植えたが、発根用培地への移植率は半分以下で、順化まで到達できた株はわずかであった。しかし、2001年度は寒天再生培地に植えた数は少なかったが、次の発根用培地への移植率は60.5%と高く、37株を順化できた。

2001年度は順化を行った37株中3株が順化に成功し、ビニールハウスで慣行栽培できるまでに育った。そのうち、2株は旺盛に生育し、1株は生育不良であった(図6)。

表2 再分化株の培養経過(1998～2001年)

年度	置床数		移植率(%)	順化数(株)
	寒天再生培地	発根用培地		
1998	367	155	42.2	2
1999	322*	85*	26.4	6
2000	335*	22*	6.6	1
2001	81	49	60.5	37

*は容器数、他は株数

2001年度は順化できた株数が多かったことと順化方法を改良したため成功したと考えられる。このように無菌播種から根片を切り取り培養し、根集塊を形成させ、そこから不定芽やカルスを形成させ、寒天再生培地、発根用培地と移植して、バーミキュライト培地で順化させて、その後、鉢やプランターに移植しビニールハウスで栽培する全体の系が完成した。

2. 紫外線照射株の育成とシュウ酸含量

2002年度からは、根集塊から形成されたカルスや不定胚集塊等に変異を起こさせる割合を高めるために紫外線を照射し、その後再分化、順化させる系を検討した。

紫外線照射実験の培養経過を表3に示す。各年度により置床数は異なり、2008年度に大量に置床することができた。各年度とも前年度に紫外線照射して引き継いだ株はこの表には含まれず、年度内の経過のみをまとめたも

表3 紫外線照射実験の培養経過

その年度内に移植できた容器数でカウントしている。

年度	寒天再生培地		発根用培地		バーミキュライト順化		ビニールハウス	
	コントロール	紫外線照射	コントロール	紫外線照射	コントロール	紫外線照射	コントロール	紫外線照射
2002	13	73	2	42	0	12	0	4
2003	45	169	6	120	4	18	2	3
2004	12	54	6	27	4	27	0	4
2005	25	58	11	37	2	11	0	1
2006	29	126	34	45	7	11	0	0
2007	90	228	34	9	10	2	0	0
2008	576	1303	242	243	138	138	81	60
2009	0	325	0	24	0	0	0	0

表4 各段階から次の段階への移植率

単位は%、「寒天」は寒天再生培地、「発根」は発根用培地、「バーミ」はバーミキュライトでの順化、「ハウス」はビニールハウスを示す。

年度	寒天→発根	発根→バーミ	バーミ→ハウス
2002	51.2	27.3	33.3
2003	58.9	17.5	22.7
2004	50.0	93.9	12.9
2005	57.8	27.1	7.7
2006	51.0	22.8	0.0
2007	13.5	27.9	0.0
2008	25.8	56.9	51.1
2009	7.4	0.0	—

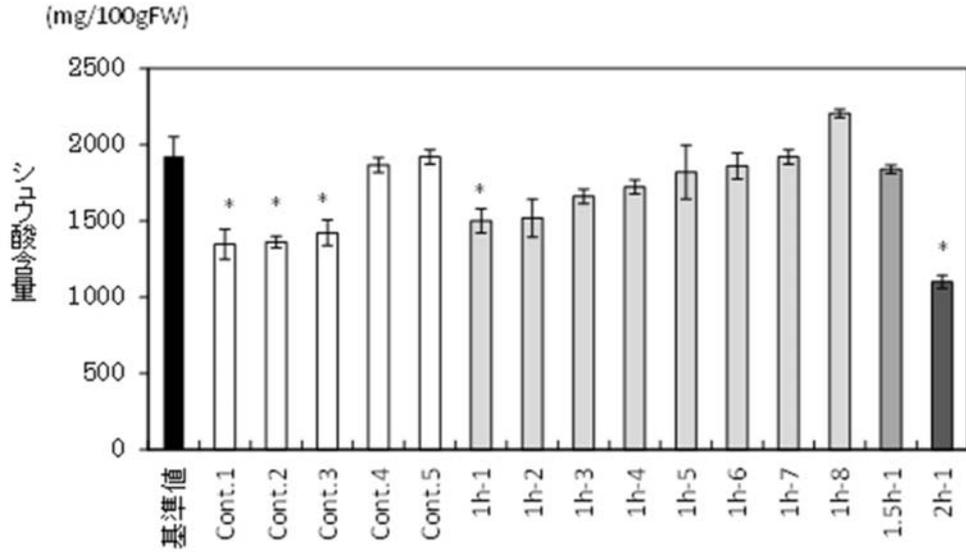


図7 2008年度順化に成功した株のシュウ酸含量

基準値はビニールハウスで播種し慣行栽培したミンスターランド丸種のシュウ酸含量。*印は一元配置分散分析のDunnettの検定で基準値と5%水準で有意に低かった区。

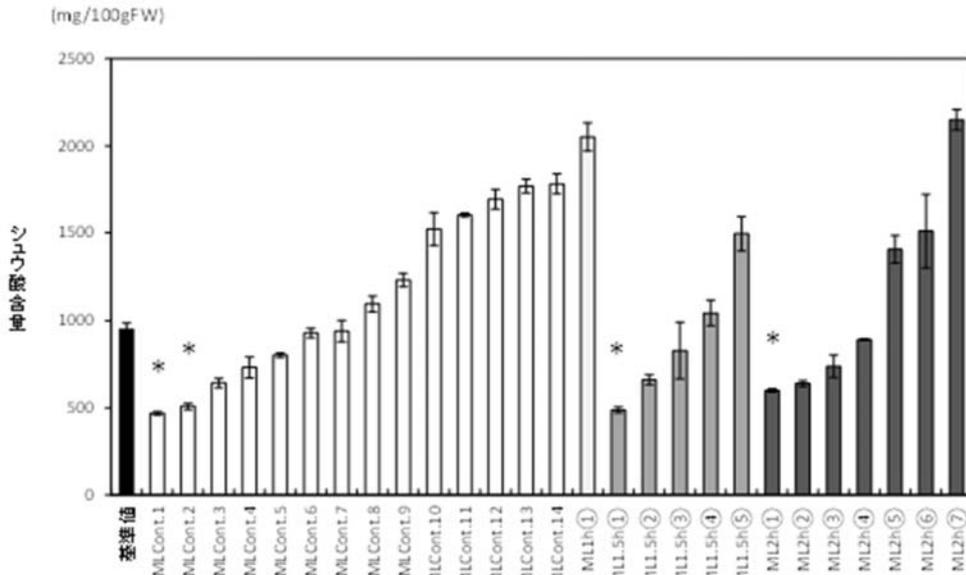


図8 2009年度に順化に成功したミンスターランド丸種より再分化した株のシュウ酸含量

基準値はビニールハウスで播種し慣行栽培したミンスターランド丸種のシュウ酸含量。*印は一元配置分散分析のDunnettの検定で基準値と5%水準で有意に低かった区。

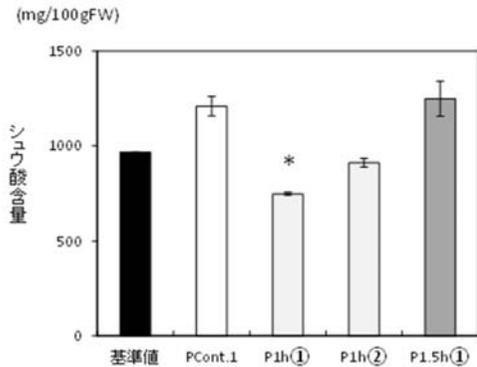


図9 2009年度に順化に成功した晩抽パルクより再分化した株のシュウ酸含量

基準値はビニールハウスで播種し慣行栽培した晩抽パルクのシュウ酸含量。*印は一元配置分散分析のDunnettの検定で基準値と5%水準で有意に低かった区。

のである。コントロール区と紫外線照射区に大きな違いはみられなかった。

そこで次の段階への移植率をコントロール区と紫外線照射区を合計して、計算してみたのが表4である。2002～2006年度は寒天再生培地から発根培地への移植率が50%以上であったが、2007年度からは低下した。紫外線照射する前に細胞塊をナイフでより細かく切ったことが影響していると考えられる。また、根集塊からのカルス等の形成時期が遅いと紫外線照射時期も遅くなり、年度末になっても寒天再生培地でまだ培養中であるという時期遅れの問題もあると思われる。発根培地からバーミキュライトへの移植率が低い年度が多かったが、2004年度は高い移植率であった。また、2008年度は後半の順化の段階で高い移植率となり、たくさんの順化株が得られた。

2002～2007年度に紫外線を照射し、順化に成功し、その後順調に生育した株のシュウ酸含量を計16株、コントロール区を計5株測定したが、ビニールハウスで種子から慣行栽培した株に比べて、シュウ酸含量が低いもの

が見いだせなかった。

2008年度にミンスターランド丸種に紫外線照射し、同年度内にビニールハウスまで移植できた株が10株、コントロール区が5株あり、そのシュウ酸含量を測定した。ビニールハウスにおいて秋播きで慣行栽培したミンスターランド丸種のシュウ酸含量を基準にすると、5株で有意にシュウ酸含量が低かった(図7)。コントロール区でも低いものがみられた。しかし、シュウ酸の絶対量は、最も低い2時間照射区の株でも1000 mg/100 gFW以上であり、一般的には低いレベルではなかった。

2008年度にミンスターランド丸種に紫外線照射し、2009年度に順化に成功した株は13株、紫外線を照射しなかったコントロール区が14株となり、多数の株のシュウ酸分析を行うことができた。コントロール区で2株、1.5時間照射区で1株、2時間照射区で1株、ハウスで種子から慣行栽培したミンスターランド丸種に比べて有意に低いと評価された株があつた(図8)。

2008年度に晩抽パルクに紫外線を照射して、2009年度に順化、シュウ酸含量測定を行ったものでは、1時間照射の区で1株慣行栽培の晩抽パルクより低いものが見出された(図9)。

ミンスターランド丸種では、紫外線照射をしなかったコントロール区でも低シュウ酸の株があつたので、カルス形成による変異もみられたのではないかと考えられる。非常に多くの細胞塊の中からわずかな割合しか順化できなかったもので、偶然の要因もあるし、この系で生き残ってくるための様々な選択圧がかかっていると考えられる。順化した株は、むしろシュウ酸含量が高いものが多かった。

また、Murakamiら⁷⁾は、ハウレンソウ品種「新日本」を変異原化学物質で処理することにより、シュウ酸含量100～200 mg/100 gFW

レベルのホウレンソウを作出したと報告している。それに比べると今回報告したシュウ酸含量の最低の株は468 mg/100 gFWで、まだ十分には低くない。しかし、今回の測定は、最もシュウ酸含量の高い外側の葉の一部を用いているので、植物体全体を分析するともう少し低くなると思われる。

謝辞

ホウレンソウの順化方法について御指導をいただきました元岐阜県生物産業技術研究所の沢野定憲氏に感謝します。

本実験の一部を担当された専攻生の関 (旧姓黒田) 恵里那さん、櫛 (旧姓久野) さやかさん、礪波由佳理さん、坪井かずみさん、和田 (旧姓大谷) 景子さん、小原由香さん、磯貝 (旧姓中村) 知恵さん、宮川資津代さん、原依子さん、守屋美保さん、高木伸子さん、槌田 (旧姓日比野) 友美さん、小川 (旧姓小池) 那菜さん、堀部恵里さん、三村千恵さん、野田明日馨さん、上野里美さん、酒田七絵さん、道江春華さん、平尾綾さん、田畑 (旧姓稲熊) 利紗さん、大塚 (旧姓川合) 理絵さん、河野有美子さん、清水 (旧姓竹内) 由美子さん、野崎順子さん、松山渚さんに感謝します。

参考文献

1) 太田和子・香川彰, ホウレンソウの低シュウ

酸含量品種育成に関する研究 (IV) 実生の子葉, 根切片からの植物体再分化について, 岐阜女子大学紀要, 25, 1996, 121-126

- 2) 香川彰・太田和子, ホウレンソウの低シュウ酸含量品種育成に関する研究 (V) —花粉のX線照射が交雑後代のシュウ酸含量に及ぼす影響について—, 岐阜女子大学紀要, 26, 1997, 59-64
- 3) 太田和子・香川彰, ホウレンソウの低シュウ酸含量品種育成に関する研究 (VI) —根集塊からの植物体再分化について—, 岐阜女子大学紀要, 28, 1999, 19-23
- 4) Komai F., Okuse I. and Harada T., Histological Identification of Somatic Embryogenesis from Excised Root Tissues of Spinach (*Spinacia oleracea* L.), Plant Tissue Culture Letters, 12 (3), 1995, 313-315
- 5) Satoh T., Abe T. and Sasahara T., Plant Regeneration from Hypocotyl-derived Calli of Spinach (*Spinacia oleracea* L.) and Anatomical Characteristics of Regenerating Calli, Plant Tissue Culture Letters, 9 (3), 1992, 176-183
- 6) Goto T. and Miyazaki M., Plant Regeneration from Mesophyll Protoplasts of *Spinacia oleracea* L., Plant Tissue Culture Letters, 9 (1), 1992, 15-21
- 7) Murakami K., Edamoto M., Hata N., Itami Y. and Masuda M., Low-oxalate Spinach Mutant Induced by Chemical Mutagenesis, J. Japan. Soc. Hort. Sci., 78 (2), 2009, 180-184

