

アミプロフォスメチルおよびコルヒチンによるビワ四倍体の作出

八幡茂木^{1*}・佐藤三郎¹・小原 均²・松井弘之²

¹千葉県農業総合研究センター暖地園芸研究所 294-0014 館山市山本

²千葉大学園芸学部 271-8510 松戸市松戸

Induction of Tetraploid in Loquat with Amiprofos-methyl and Colchicine

Shigeki Yahata^{1*}, Saburo Sato¹, Hitoshi Ohara² and Hiroyuki Matsui²

¹Southern Prefectural Horticulture Institute, Chiba Prefectural Agriculture Research Center, Tateyama, Chiba 294-0014

²Faculty of Horticulture, Chiba University, Matsudo, Chiba 271-8510

Summary

This experiment was conducted to artificially induce loquat tetraploids by applying amiprofos-methyl (APM) and colchicine for chromosome doubling agents to diploid loquat shoot apex.

Germinated shoot tips from the seeds of the diploid loquat 'Kusunoki' were immersed in aqueous solutions of APM or colchicine, and one tetraploid was produced by either immersing 14 shoot tips in a 0.2% colchicine solution for 14 days, 48 shoot tips in a 2% colchicine solution for 4 days, or 30 shoot tips in a 0.005% APM solution for 14 days. Young intact on-tree shoot tips of an 11-year-old diploid loquat 'Tomifusa' were immersed in a 0.005% APM solution for 14 days, one tetraploid was obtained from 50 shoots treated. 'Kusunoki' seeds on growing young roots were planted on a culture plate containing 0.005% APM solution for 14 days, and one tetraploid was obtained from 50 seeds treated. Apical meristems removed from young intact on-tree shoots of 'Kusunoki' cultured on Murashige and Skoog (MS) agar medium for 14 days were treated with APM by transplanting on MS agar medium containing 0.005% APM for 7 days. By this treatment, one tetraploid was obtained from 21 meristems treated.

キーワード: アミプロフォスメチル, ビワ, 茎頂, コルヒチン, 三倍体, 四倍体

緒言

ビワ栽培品種(二倍性)の果実は可食部分に比べて種子の占める割合が大きいため、各種植物生長調節物質を用いた無種子化の研究が古くから行われてきた。しかし、いずれの報告においても形成された無種子果は小さく、商品価値のある果実は得られていない(大畑・広瀬, 1962; 千葉県農業試験場安房分場, 1963; 松井・菅沼, 1971; 湯田ら, 1987; 谷ら, 1991; 松本ら, 1993)。

著者らは「田中」実生由来の三倍体を用いて無種子果の誘起を試み、開花期と開花後の2回、ジベレリン(GA₃)とホルクロルフェニユロン(CPPU)とを混用処理すると、「田中」果実と同等の大きさの無種子果生産が可能なることを明らかにした(八幡・橘, 1998)。しかし、既存の田中実生由来の三倍体を用いた場合、得られた果実糖度が低下する傾向が見られ、この技術を用いて無種子果の実用生産を図るためには、優れた果実品質特性を発揮する三

倍性品種の育成が急務と考えられた。

一般に、三倍体は四倍体と二倍体との交雑によって得られることが知られている。交雑によって優れた三倍性品種を育成するためには、優れた形質を備え、かつ遺伝的に変化に富んだ四倍体を育成することが必要となる。三倍性品種の育成に用いることができる四倍体ビワは、村西(1979)が発芽種子にコルヒチン処理して育成した「田中」実生の人為四倍体のみであるが、この育成経過は明らかでない。

ビワの倍加処理に関する知見としては、福田ら(2001)による茎頂培養系を用いたコルヒチン処理による四倍体作出の報告があるが、茎頂培養から育成した場合、倍加個体の発根処理あるいは培養系からの馴化作業が伴うために着花・結実までに時間を要することが想定される。他方、茎頂を植物体から切り離さずに、直接新梢に染色体倍加剤を処理する方法もある。これは、倍加した個体が着花するまでの所要期間が比較的短いことから倍数体育種年限の短縮に極めて有利で、また簡易に処理できる長所がある。

コルヒチンは染色体倍加剤として多くの植物で利用さ

2004年2月4日 受付. 2004年6月3日 受理.

* Corresponding author. E-mail: s.yht@mc.pref.chiba.jp

れており、園芸作物の人為四倍体のほとんどがコルヒチン処理によって作出されたものである(渡辺, 1982)。果樹においては, Derman (1947a, 1947b)がモモ苗やナシ苗の新梢先端部に対する滴下処理で、また山根・栗原(1980)がブドウの新梢腋芽に対する滴下処理で、それぞれ四倍体を作成した。さらに、生山(1992)は小さく切り取ったカンキツ類の腋芽にコルヒチン処理を行い、カラタチ幼苗台木にそれを茎頂接ぎ木することにより四倍体の作出に成功している。このように、ブドウ、カンキツ類などでは、新梢の先端部または腋芽に対するコルヒチン処理による四倍体作出の報告例がある。

他方、除草剤として用いられている有機リン系のアミプロホスメチル(APM)はコルヒチンと同様に紡錘体微小管の合成に影響して、細胞分裂を阻害することが知られている(斉藤・中野, 1999)。しかし、これまで果樹の育種上でAPMが染色体数の倍加のために用いられた報告はない。そこで、APMおよびコルヒチンの2薬剤を用いて、三倍体ビワを利用した無種子品種育成のための育種材料となる四倍体ビワの作出を、2~3の処理方法によって試みた。

材料および方法

本実験では、染色体倍加剤としてコルヒチン(和光純薬工業(株))およびAPM(日本特殊農薬製造(株))を供試し、処理液には展着剤としてアプローチBI(0.5~1%)を加用した。また、倍数性の検定は、それら薬剤処理個体の最上葉からチョッピング法(Galbraithら, 1983)により核の単離溶液(植物用核の単離溶液とDNA染色溶液キット(Portec CyStain UV precise P (PARTEC社))中で核を遊離させた後、蛍光色素DAPI(4', 6-ジアミジノ-2-フェニルインドール)で染色し、フローサイトメーター(プロイディアナライザー, PARTEC社)を用いて染色した核の蛍光強度の違いによるDNA含量の差異を解析することによって行った。

倍數化に供試する品種として、'楠'(1876)と'富房'(1989)を用いた。'楠'は'瑞穂'(1936), '大房'(1936), '里見'(1981), '房姫'(1995)の交雑親として食味性に優れた遺伝特性を有し、また'富房'は大果性と良食味性を併せ持つことから、いずれも倍數化によって大果、良食味の三倍性品種の育成に大きく寄与すると考えられる。

実験1. 実生幼植物の茎先端部を用いた四倍体の作出

1998年7月から8月に、鹿沼土を入れた直径6cmのビニルポットに'楠'の自家受粉果から採取した種子を1粒ずつ播種した。発芽後茎の長さが3~10cmに達した実生を適宜選り供試材料とした。実生は実験室内に置き、茎頂部の葉原基を2~3個残して他の幼葉をすべて摘除した。培土がこぼれ出ないようにビニル袋でポット部分のみを硬く包んだ後、ポットごと斜め下方に傾け、第1表に示した処理区に従って調製したAPMまたはコルヒチン溶液

0.5 mlを含む1.5 mlのマイクロチューブ内に茎の先端部を湾曲させて挿入し、浸漬した。処理期間中の室温は20℃に保ち、マイクロチューブ内の処理液は3~4日おきに交換した。処理後30~60日間隔で最上葉を2回採取し、倍数性を検定した。

実験2. 成木の新梢先端部を用いた四倍体の作出

ビニル被覆の加温ハウス内栽植の11年生'富房'を4樹供試した。供試する新梢を確保するために、1998年6月に樹上の側枝をほとんど切除する強せん定を施し、主枝および亜主枝上に不定芽の発生を促した。1999年および2000年の2月から4月の春枝および7月から9月の夏枝の発芽・伸長期に、基部直径3~6mm、長さ10~50cmの新梢を選び、実験材料とした。第2表にはAPMおよびコルヒチンの処理区を示した。処理方法および検定は実験1に準じて行った。

実験3. 発根種子を用いた四倍体の作出

2000年7月上旬に、'楠'種子の外皮を取り除き、1%次亜塩素酸ナトリウム溶液中に10分間浸漬して滅菌した後、水道水で十分洗浄し、蒸留水で湿らせたろ紙を敷いた直径9cmのガラスシャーレ内に播種した。乾燥を防いで発芽させた後、幼根の長さが3~4cmに達した実生を適宜選りて実験材料とした。第3表に示した処理区に従って異なる濃度のAPM溶液を調製し、ろ紙を敷いたガラスシャーレ内にそれぞれ20mlずつ入れ、その中に発根種子を置床して実験室内で所定の期間処理した。処理期間中の室温は20℃に保ち、倍数性の検定は実験1に準じて行った。

実験4. 茎頂培養系を用いた四倍体の作出

2000年および2001年にそれぞれ23年生、24年生'楠'樹の4月から5月の春枝の発芽期および7月から9月の夏枝の発芽期に新梢をそれぞれ採取した。幼葉をすべて取り除き、その後1%次亜塩素酸ナトリウム溶液中で10分間浸漬して滅菌した後、滅菌水で十分洗浄し、実体顕微鏡下で新梢先端から1~2mmの葉原基を2~3個含む茎頂組織を切り取った。切り取った茎頂組織は、直ちに1ppmベンジルアミノプリンを添加した1/2無機塩類濃度のMS培地に置床し、2週間馴化培養した。

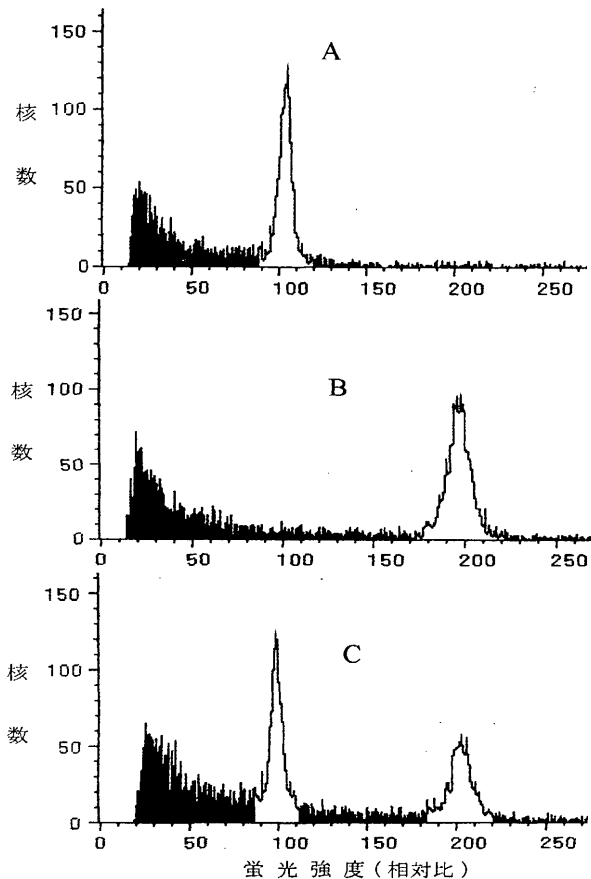
その後、定着状態の良好な茎頂組織を適宜選り、第4表に示した処理区に従ってAPMおよびコルヒチンを添加した同培地に移植した。所定の期間処理した後は再び処理薬剤無添加の同培地に移植した。なお、培養は室温23℃、光量子束密度 $12.5 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ の連続照明下で行った。発芽した個体については、実験1に準じて倍数性を検定した。

結 果

実験1. 実生幼植物の茎先端部を用いた四倍体の作出

APMおよびコルヒチンの処理濃度と処理期間が'楠'実生の茎先端部の生存率および倍数性に及ぼす影響を第

1表に示した。両薬剤処理ともに生存率は処理濃度が高いほど有意に低下し、また処理期間が長くなるほど低下する傾向にあった。すなわち、APM処理では、0.005%で14日間処理区の生存率は60%で、供試した30個体から四倍体が1個体得られた(第1図・B)。また、0.01~0.05%で7~10日間処理区の生存率は6~16%と低かったが、合計37供試個体から2x+4xのキメラが1個体得られた(第1図・C)。



第1図 フローサイトメータによるピロ倍数性の測定
A: 二倍体, B: 四倍体, C: キメラ (2x+4x)

一方、コルヒチン処理では、0.2%で14日間処理区および2%で4日間処理区の生存率はそれぞれ43%、56%で、それぞれの処理区の14および48供試個体の中から2x+4xのキメラが1個体ずつ得られた。また、1%で3日間処理区の生存率は78%と最も高くなり、46供試個体の中から2x+4xのキメラが2個体得られたが、四倍体は得られなかった。

実験2. 成木の新梢先端部を用いた四倍体の作出

APMおよびコルヒチン処理が‘富房’成木の新梢先端部の生存率および倍数性に及ぼす影響を第2表に示した。APM処理では、0.005%で21~35日間処理区の生存率は53~55%となり、コルヒチン処理による生存率の最高値よりも高く、21日間処理区では供試した19個体から四倍体が1個体、27~35日間処理区では供試した42個体から2x+4xのキメラが1個体得られた。しかし、0.01%で20日間処理区では供試した20個体すべてが枯死した。APM処理による生存率は、処理濃度が高いほど有意に低下した。

コルヒチン処理では、0.5%で20日間処理区の生存率は45%と最も高く、供試した29個体から2x+4xのキメラが3個体得られた。1%および2%で10日間処理区の生存率はそれぞれ30%、33%で、両処理区合わせて97供試個体から2x+4xのキメラが3個体得られたが、四倍体は得られなかった。また、コルヒチン処理での生存率は、処理濃度が高いほどあるいは処理期間が長いほど有意に低下した。

実験3. 発根種子を用いた四倍体の作出

‘楠’発根種子に対するAPMの処理濃度と処理期間が生存率および倍数性に及ぼす影響を第3表に示した。0.005%で14日間処理区の生存率は16%で、供試した50個体から四倍体が1個体、2x+4xのキメラが3個体得られた。しかし、他の処理区ではいずれも四倍体および2x+4xのキメラは得られなかった。ただし、生存率は処理濃度が高いほど、また処理期間が長いほど有意に低下

第1表 アミプロフォスメチルおよびコルヒチンによる‘楠’発芽実生の新梢処理が倍数体の誘起に及ぼす影響

処 理 区			供試 個体数	生存 個体数	生存率 (%)	倍 数 性		
薬 剤	濃度(%)	期間(日)				2x	2x+4x	4x
アミプロフォスメチル (AMP)	0.005	14	30	18	60	17	0	1
	0.01	7~10	19	3	16	2	1	0
	0.05	7~10	18	1	6	1	0	0
コルヒチン	0.2	7	15	10	67	10	0	0
	0.2	14	14	6	43	4	1	1
	0.5	7	30	22	73	22	0	0
	1.0	3	46	36	78	34	2	0
	2.0	4	48	27	56	25	1	1
	2.0	5	34	11	32	11	0	0
	2.0	6	17	4	24	4	0	0
有意性								
アミプロフォスメチル (処理濃度)						*	NS	NS
アミプロフォスメチル (処理期間)						NS	NS	NS
コルヒチン (処理濃度)						*	NS	NS
コルヒチン (処理期間)						NS	NS	NS

NS, *: クロス集計の χ^2 検定(P<0.05)による有意性を示す

第2表 アミプロフォスメチルおよびコルヒチンによる‘富房’樹上の新梢処理が倍数体の誘起に及ぼす影響

処 理 区			供試 個体数	生存 個体数	生存率 (%)	倍 数 性		
薬 剤	濃度(%)	期間(日)				2x	2x+4x	4x
アミプロフォスメチル(AMP)	0.005	21	19	10	53	9	0	1
	0.005	27-35	42	23	55	22	1	0
	0.01	20	9	0	0	0	0	0
コルヒチン	0.5	20	29	13	45	10	3	0
	1.0	10	27	8	30	7	1	0
	1.0	20	24	3	13	3	0	0
	2.0	10	70	23	33	21	2	0
	2.0	20	10	0	0	0	0	0
有意性								
アミプロフォスメチル (処理濃度)					**		NS	NS
アミプロフォスメチル (処理期間)					NS		NS	NS
コルヒチン (処理期間20日における濃度)					**		NS	NS
コルヒチン (濃度2%における処理期間)					**		NS	NS

NS, *: クロス集計の χ^2 検定 ($P < 0.01$) による有意性を示す

第3表 アミプロフォスメチルによる‘楠’発根種子の浸漬処理が倍数体の誘起に及ぼす影響

処 理 区			供試 個体数	生存 個体数	生存率 (%)	倍 数 性		
薬 剤	濃度(%)	期間(日)				2x	2x+4x	4x
アミプロフォスメチル(AMP)	0.005	7	50	12	24	12	0	0
	0.005	14	50	8	16	4	3	1
	0.01	7	50	8	16	8	0	0
	0.01	14	50	2	4	2	0	0
有意性								
処理濃度					*		NS	NS
処理期間					*		NS	NS

NS, *: クロス集計の χ^2 検定 ($P < 0.05$) による有意性を示す

第4表 アミプロフォスメチルおよびコルヒチン添加培地での‘楠’の茎頂培養が倍数体の誘起に及ぼす影響

処 理 区			供試 個体数	生存 個体数	生存率 (%)	倍 数 性		
薬 剤	濃度(%)	期間(日)				2x	2x+4x	4x
アミプロフォスメチル(AMP)	0.005	7	30	9	30	6	3	0
	0.005	14	30	6	20	5	1	0
	0.01	7	62	6	10	4	1	1
コルヒチン	1.0	3	31	3	10	2	1	0
	1.0	7	68	1	1	1	0	0
有意性								
薬剤					*		NS	NS
アミプロフォスメチル (処理濃度)					*		NS	NS
アミプロフォスメチル (処理期間)					NS		NS	NS

NS, *: クロス集計の χ^2 検定 ($P < 0.05$) による有意性を示す

した。

実験4. 茎頂培養系を用いた四倍体の作出

茎頂培養における培地の APM およびコルヒチン濃度が‘楠’の茎頂組織の生存率および倍数性に及ぼす影響を第4表に示した。茎頂組織に APM を処理した場合、0.005% で7日間処理区および14日間処理区の生存率はそれぞれ30%, 20%で、両処理区で供試した60個体から2x+4xのキメラが4個体得られた。また、0.01% で7日間処理区では、生存率は10%と低かったが、供試した62個体から四倍体が1個体と2x+4xのキメラが1個体得られた。

一方、1%コルヒチンを処理した場合、生存率は3日間処理区では10%で、2x+4xのキメラが1個体得られたが、7日間処理区では茎頂が著しく褐変し、ほとんどの個体が枯死して四倍体および2x+4xのキメラは得られなかった。

考 察

自然界の二倍性植物集団の中で、倍数体が自然に生じることがあるが、その中では同質四倍体の割合が多いことが知られている(渡辺, 1982)。果樹の例をみると、ブドウでは枝変わりから得られた四倍体の品種群が確立されており(山根・栗原, 1980)、またカンキツ類では多胚性品種の中から珠心胚実生由来の四倍体系統が育成され、育種に利用されている(生山, 1992)。しかし、ビワでは枝変わりなどの突然変異による四倍体系統は見出されていない。

果樹の新梢を用いたコルヒチンによる染色体倍加処理では、腋芽に処理する方法と先端部の茎頂(生長点)に処理する方法とがある。Barrett (1974)はカンキツ類の新梢腋芽に1日2回、5日間連続してコルヒチン滴下処理を行ったが、四倍体は獲得できなかったと報告している。ま

た、山根・栗原(1980)はブドウ3品種の新梢腋芽に処理の間隔と回数を変え0.25%コルヒチンを滴下処理した結果、‘ネオ・マスカット’で0~4.9%、‘甲州三尺’で0%、‘トムソン・シードレス’で0~9.1%の獲得率(四倍体獲得個体数/供試個体数×100)で四倍体を得たが、次年度の同処理では四倍体は得られなかったとしている。

新梢先端部の処理に関しては、Derman(1947a, 1947b)はモモ、ナシ苗に1%コルヒチンを1~2日の間隔で数回滴下処理をして高率で四倍体を獲得した。近年になって、山根・栗原(1980)は、ブドウ成木の新梢先端部を0.2%コルヒチンに浸漬処理したが、四倍体は得られなかったことを報告している。その原因として、先端部には幼葉と托葉が多く着生しており、それらがコルヒチンの浸透を妨げたことと処理濃度が低かったことを挙げている。

このように、木本性の果樹の新梢の腋芽または先端部に対するコルヒチン処理に関する報告例をみると、四倍体獲得率は概して低く、種類、品種、環境条件、処理方法、年度によっても大きな差異がみられる。

ビワは頂芽優勢性が強く、通常腋芽は休眠状態にある。そこで、本実験では、播種後間もない実生及び成木樹上の新梢先端部のみにAPMまたはコルヒチン処理を行い、処理効果を高めるために浸透促進効果が期待される展着剤も加用し、茎頂の幼葉は摘除し、葉原基を2~3個残した状態で3~35日間連続して浸漬処理を行った。

その結果、設定した処理条件では、実生幼植物を用いた場合、APM処理では0.005%の濃度で14日間の浸漬処理により、供試した30個体から四倍体が1個体得られた(獲得率3.3%)。また、コルヒチン処理では、0.2%の濃度で14日間および2%の濃度で4日間浸漬処理することにより、前者では供試した14個体から1個体(獲得率7.1%)、後者では48個体から1個体(獲得率2.1%)の四倍体を得られた。

また、成木の新梢を用いた場合をみると、APM処理では0.005%の濃度で21日間浸漬処理することにより供試した19個体から四倍体が1個体(獲得率5.3%)得られたが、コルヒチン処理では四倍体は得られなかった。山根・栗原(1980)はブドウ新梢の先端部処理よりも腋芽処理の方が四倍体獲得率が高いことを示していることから、獲得率をさらに向上させるためには、ビワにおいても腋芽を強制的に発芽させた上で染色体を倍加させる処理方法を検討する必要がある。

一方、発根種子および茎頂培養系を用いた染色体倍加法は、根あるいは茎頂組織の基部から染色体倍加剤を吸収させる方法である。APM処理では、前述した新梢先端部を浸漬処理する方法より生存率は低くなったものの、0.005%濃度で14日間処理することにより、発根種子を用いた処理では、供試した50個体から1個体(獲得率2.0%)、茎頂培養系を用いた処理では、62個体から1個体

(獲得率1.6%)の四倍体を得ることができた。しかし、コルヒチン処理した茎頂培養系では、1%コルヒチン処理における生存率は処理期間により1~10%と極めて低くなり、四倍体を得ることができなかった。福田ら(2001)がビワの茎頂の継代培養系を用いた0.05~0.1%コルヒチン処理で四倍体を得ていることから、本実験で四倍体は得られなかったのは処理濃度が高く薬剤の致死作用が強く表れたことが大きな原因と考えられる。

先に述べたように、他の果樹の知見では四倍体の獲得率は概して高いとはいえず、このことは木本性の植物体における倍加個体作出の困難さを示すものと考えられるが、本実験のビワに関しても、得られた四倍体は各処理区1個体であり、獲得率にすれば1.6~7.1%と低く、他の知見を上回る結果は得られなかった。

しかし、本実験の手法の特徴は、茎頂培養法を除けば、簡易に多くの個体を処理できることと倍加後の育苗が容易なことである。また、フローサイトメーターを用いることによって迅速かつ早期にビワの倍数性の識別が可能であった。検定作業に係わる労力が大幅に軽減されるので、それだけ処理個体数を増やすことができる。両者の併用によって、得られる個体は少ないものの、確実な四倍体の獲得と育成が期待できる。

また、APMに関しては、果樹に対して染色体倍加効果を検討した報告はなく、本研究においては、APMを用いた4つの倍加処理実験においてそれぞれ1個体ずつ四倍体を獲得できたことから、APMはコルヒチンと同様に果樹の倍数性育種のための染色体倍加剤として有効であることが明らかとなった。

一般に、コルヒチンには茎頂組織を褐変させる作用があることが知られており、本実験でも浸漬処理の期間が長くなるに従って褐変に由来する枯死が目立った。一方、APMはコルヒチンに比べて組織の褐変が少ないことが認められ、ビワに関しては7~35日の比較的長期間の連続した浸漬処理が可能で、これによって四倍体を得ることができた。また、四倍体作出のためにはAPMはコルヒチンに比べて極めて低濃度で処理する必要があるが、茎頂培養系を用いる場合は実生幼植物および成木の新梢先端部および発根種子を用いる場合よりその処理期間を短くする必要があると考察された。

摘 要

三倍体ビワを利用した無種子品種育成のための育種材料となる四倍体ビワの作出を、アミプロホスメチル(APM)およびコルヒチンの2薬剤を用いて、いくつかの処理方法により試みた。その結果、APMの処理により4個体、コルヒチンの処理により2個体の四倍体を得た。

1. ‘楠’実生の長さ3~10 cmに達した新梢先端部に対する0.005%APMの14日間の浸漬処理および0.2%コルヒチンの14日間の浸漬処理、2%の4日間の浸漬処理に

より四倍体をそれぞれ1個体得た。

2. ‘富房’成木の発芽・伸長期の新梢先端部に対する0.005%APMの14日間の浸漬処理により四倍体を1個体得た。

3. 幼根の長さが3~4 cmの‘楠’発根種子の根に対する0.005%APMの14日間の浸漬処理により、四倍体を1個体得た。

4. 2週間 APM 無添加 MS 培地で馴化培養した23~24年生‘楠’成木の新梢茎頂組織を0.005%APMを含むMS培地に移植し、7日間処理することにより四倍体を1個体得た。

引用文献

- Barrett, H. C. 1974. Colchicine-induced polyploidy in citrus. Bot. Gaz. 135: 29-41.
- 千葉県農業試験場安房分場. 1963. ジベレリンによるビワの無核果の造成. 昭和35年度, 昭和36年度, 昭和37年度果樹試験成績: 30-38.
- Derman, H. 1947a. Inducing polyploidy in peach varieties. J. Hered. 38: 77-82.
- Derman, H. 1947b. Polyploidy pears. J. Hered. 38: 189-192.
- 福田伸二・稗園直史・寺井理治. 2001. ビワの茎頂培養系の確立と同質四倍体の作出. 園学雑. 70(別1): 64.
- Galbraith, D. W., K. R. Harkins, J. M. Maddox, N. M. Ayres, D. P. Sharma and E. Firoozabady. 1983. Rapid flow cytometric analysis of the cell cycle in intact tissues. Science 220: 1049-1051.
- 松井鏑一郎・菅沼広美. 1971. ビワの単為結実について. 農及園 46: 529-530.
- 松本和紀・大庭義材・矢羽田二郎. 1993. 開花期前後のジベレリン処理によるビワの無核果作出. 福岡農 総試研報. B-12: 61-64.
- 村西三郎. 1979. 枇杷の人為倍数体に関する研究(第1報)ジベレリン処理無核果形成について. 園学要旨. 昭54秋: 68-69.
- 大畑徳輔・広瀬和栄. 1962. ジベレリン処理がビワの無核果形成に及ぼす影響. 園学要旨. 昭37秋: 4.
- 生山 巖. 1992. カンキツ類の倍数性育種に関する研究-主として四倍性育種素材の作出について-. 果樹試報. 特3: 1-68.
- 斉藤宏之・中野 優. 1999. ヘメロカリスの懸濁培養細胞におけるDNA合成阻害剤および紡錘糸形成阻害剤処理が微小核形成に及ぼす影響. 育種学研究1(別1): 226.
- 谷 秀樹・堀内昭作・段 正則・加藤彰宏. 1991. ビワ無種子果実生産に関する研究. 近畿中国農研. 81: 35-38.
- 渡辺好郎. 1982. 育種における細胞遺伝学. p. 71. 養賢堂. 東京.
- 八幡茂木・橘 温. 1998. 生育調節剤が三倍体ビワの無核果実の形質に及ぼす影響. 園学雑. 67(別2): 199.
- 山根弘康・栗原昭夫. 1980. ブドウの倍数性に関する研究Ⅱコルヒチン処理による四倍体の育成. 果樹試報. E3: 1-13.
- 湯田英二・石谷雅子・中川昌一. 1987. ビワ果実の肥大に及ぼすジベレリン補助物質の添加効果. 園学要旨. 昭62秋: 116-117.