

シソ科ハーブ類のカルス培養および植物体再分化

松原 幸子・猪 雅人・村上 賢治・鎌田真由美
石原 泉

(生物機能・遺伝資源開発学講座)

Callus Formation and Plant Regeneration of Herbs in *Perilla* Family

Sachiko Matsubara, Masato Ino, Kenji Murakami,
Mayumi Kamada and Izumi Ishihara

(Department of Biological Function and Genetic Resources Science)

Effective methods of callus culture of herbs were studied to establish basic techniques for cell fusion and gene engineering. Eight basil cultivars, five species of *Perilla* family and a sweet basil were used, and following results were obtained.

1: Effects of phytohormones on callus formation.

Callus formed effectively from hypocotyls and cotyledons of sterile seedlings cultured on MS medium supplemented with 0.1 mg/l 2,4-D and BA.

Plantlets succeeded in regenerating from callus cultured on MS medium supplemented with 0.1 mg/l NAA and BA, but callus formation on a similar medium was inferior to that on MS medium supplemented with 2,4-D and BA.

Callus formed best on MS medium supplemented with 2ip, among other cytokinins, but only BA actually induced regeneration of plantlets from callus.

2: Effects of age and different organs of explants on callus formation.

Callus with similar weight formed from hypocotyls of young seedlings about 1-3 weeks after germination. The heaviest callus formed from cotyledons, followed by hypocotyls and roots.

3: Callus formation and regeneration of adventitious buds in eight basil cultivars.

Calli formed from cotyledons of lettuce basil, Anise basil, lemon basil, bush basil, sweet basil, purple raffles basil, dark opal basil and cinnamon basil, in descending order of weight, on MS medium supplemented with 2,4-D and 2ip. Callus from lettuce basil was three times as heavy as that from cinnamon basil.

Callus formed on MS medium supplemented with NAA and BA from cotyledons of all cultivars, but adventitious buds regenerated only from sweet basil, dark opal basil and bush basil.

4: Callus formation from six *Perilla* herbs.

Callus formed from hypocotyls and cotyledons of sweet basil, red perilla, green perilla, lemon balm, peppermint and sweet majoram in descending order of weight.

Key words : callus culture, plant regeneration, *Perilla* family, phytohormone, sweet basil

緒 言

近年ハーブ類は食生活の多様化から香辛料としてよく用いられるようになったが、飲料、薬用、香料、化粧品などとしても需要が増加している。これらの芳香や効力をもたらす有効成分は、揮発性オイルの精油成分である^{1-3),9),10)}。精油成分は種、品種によってもその含有量や構成成分、または成分比率などが異なる事により植物独自のものとなっており、また植物の令¹⁾、日長、照度、温度、湿度や栽培土壌などの環境要因によっても微妙に変化する⁵⁾。

ハーブには多くの種類があり独自の風合があるが、新しい精油成分を持つ新しい植物を育成するには交雑という手段がある^{8),10)}。しかし交雑可能なのは近縁の種または品種間に限られ、遠縁の種間のみならず属間以上になると交雑は不可能となる。最近、細胞融合による遠縁植物間の体細胞雑種、遺伝子工学による優良遺伝子の導入、細胞選抜による変異の選抜などの技術により、交雑では得られない新しい植物育成の可能性が開けてきた。これら技術の基礎になるのは茎頂や苗条培養^{2,4)}やカルス培養であり^{6,7,9)}、プロトプラスト培養である。本研究では、まずシソ科ハーブ類のカルス培養の技術について検討した。

シソ科ハーブは、ハーブの中でも最もポピュラーで種類も多く、特に日本人に好まれるものが多い。その中で最もよく栽培されているスイート・バジルを中心に、上述の技術を検討しさらにバジル以外の数種類のハーブについても検討した。

カルス培養を行う目的として、1)カルスを増殖して細胞培養またはプロトプラスト培養の材料とする、2)カルスを増殖して、それから植物体を再生する、などがある。そのいずれにおいても、脆くて再生力の強いカルスや胚的カルス (embryogenic callus, EC) を形成することが望ましいが、1)と2)では培地が異なるので、それぞれについて検討する。またカルス形成のための外植体によっても反応が異なるので、種々の材料について検討した。最初はスイートバジルについてのみの反応をみ、次にバジルの8品種、最後に5種・6種類のシソ科植物についてカルス形成条件を検討した。

材料と方法

本実験では無菌播種し、2週間後の実生の胚軸(2

mm)、子葉(2mm²平方)および根(2mm)を、Murashige and Skoog (1962) (以後 MS とする) 培地を基本培地とし、種々の植物ホルモンを添加した培地に植え付け、25°C、1500 lx、16時間日長で1か月培養し、形成されたカルス及び不定芽、不定根の形成を見た。外植体を植え付ける培地は、特記しない限り MS を基本培地とし、3%ショ糖と0.2%ゲルライトを添加した。

実験1：カルス形成と植物ホルモンの効果

a) 2,4-D と BA の効果

この実験にはスイートバジルのみを供試した。Table 1に示したごとく、2,4-D と BA をそれぞれ0、0.1 および1.0mg/lの濃度で、6種の組合せで添加した培地で培養した。カルスはプロトプラスト培養の材料としても用いられる。そのため柔らかく、脆いカルスを得ようとして、Table 2に示したような、3mg/l 2,4-D 添加培地へ2回継代を繰り返してみた。

b) NAA と BA の効果

この実験もやはりスイートバジルのみを供試した。Table 3に示したごとく、2,4-D を NAA に替えて NAA と BA を0~1mg/lの濃度で5種の組み合わせで添加した。1か月後の胚軸と子葉由来のカルスの生体重および不定芽と不定根の再分化率を調べた。NAA と BA を添加した培地で形成させたカルスを、NAA を無添加または0.1mg/lに BA を0.1または1mg/l添加した4組み合わせの培地に継代し、1か月後に不定芽および不定根の再分化率を測定した。

c) 種々のサイトカイニンの効果

発芽後1週間令のスイートバジルの胚軸を材料とし、0.1mg/lの2,4-Dと種々のサイトカイニンを添加したMSおよび1/2MS培地に植え付けた。サイトカイニンとして、BA, kinetin, zeatin, 2ip(2-isopentenyladenine)を用いた。1か月後、得られたカルスの計量をした。

実験2：培養に用いる材料の差異

a) 異なる植物の令の差異

スイートバジルを無菌播種し、発芽後1、2、3週間令の実生の胚軸を材料とし、0.1mg/lの2,4-DとBAを添加したMS培地で1か月培養し、形成されたカルスの重量をみた。

b) 異なる植物体部位によるカルス形成の差異

スイートバジルの発芽後1週間令の無菌実生の胚

軸, 根, 子葉を, 0.1mg/l の 2,4-D と BA を添加した MS 培地に植え付け, 1 か月後の生体重, 乾物重について計量した。

実験 3 : バジル 8 品種のカルス形成と不定芽再生の差異

今までの実験は, スイートバジルのみについてであったが, バジルには他に多くの品種があり, 一般によく栽培されているのは次の 8 品種である。それらについての研究は殆ど行われておらず, 同じバジルであっても品種間差があるものと思われるので, それぞれのカルス形成と植物体の再分化について見てみた。供試したのは, アニスバジル, シナモンバジル, スイートバジル, ダークオパールバジル, パープルラフレสบジル, ブッシュバジル, レタスバジル, レモンバジルの 8 品種である。各品種の無菌播種した発芽後 1 週間令の実生の胚軸を 2 mm の切片とし, 0.1mg/l の 2,4-D と 2ip を添加した 1/2 MS 培地に置床した。1 か月培養後, カルスの計量をした。

実験 4 : 6 種類のシソ科ハーブのカルス形成

実験 3 において 8 種のバジルのカルス形成と植物体の再分化について見たが, バジル種以外のシソ科ハーブは多く, そのいずれもカルス培養についてあまり検討されていない。そこでレモンバーム, ペパーミント, スイートマジョラム, 青ジソ, 赤ジソおよび比較としてスイートバジルを加えた 6 種類のハーブについてカルス形成を検討した。無菌播種したこれらの植物の胚軸と子葉を外植体とし, 0.1mg/l 2,4-D と BA, 3% ショ糖, 0.2% ゲルライトを添加した MS 培地に植え付け, 1 か月後に観察した。

結果および考察

実験 1 : カルス形成と植物ホルモンの効果

a) 2,4-D と BA の効果

胚軸, 子葉由来のいずれも 0.1mg/l の 2,4-D と BA 添加培地でカルスの生体重が最も重かった (Table 1, Fig. 1)。胚軸と子葉では子葉由来が 2 倍以上重く, 子葉を用いるのが効率的であるのが分った。しかしいずれにしても脆いカルスではなかった。柔らかく, 脆いカルスを得ようとして, Table 2 に示したような, 3 mg/l 2,4-D に 0.1mg/l BA を添加した培地で継代を 2 回繰り返したところ, 胚軸, 子葉共継代を繰り返すごとに生体重が重くなった。いずれも褐色がかかった緑白色で盛り上がった形状のカルスで, 比較的柔らかく増殖も速かったが, プロトプラストの単離に適した脆いカルスにまではならなかった。しかしカルス増殖には 2,4-D と BA 添加培地が適する様に思われた。

b) NAA と BA の効果

胚軸または子葉由来にかかわらず, カルス形成と同時に不定芽や不定根が再分化した。特に, 不定根は NAA と BA を 1 mg/l 添加した培地以外のすべてで分化し, 不定芽は NAA 0.1mg/l に BA を 1.0mg/l

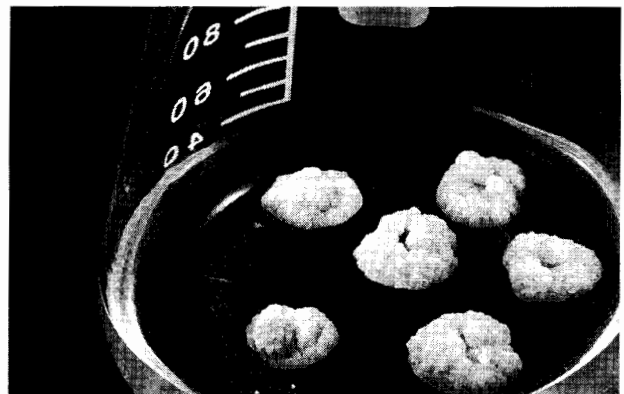


Fig. 1 Callus from sweet basil cotyledon cultured on MS medium supplemented with 0.1 mg/l 2,4-D and BA.

Table 1 Effect of 2,4-D and BA on callus formation in sweet basil

Concentration		Fresh wt. per explant from	
2,4-D	BA	Hypocotyl	Cotyledon
(mg/l)	(mg/l)	(mg)	(mg)
1.0	1.0	47.2	126.4
1.0	0.1	59.2	127.8
1.0	0	52.0	108.2
0.1	1.0	70.6	200.0
0.1	0.1	138.6	308.3
0	1.0	3.0	100.8

Table 2 Effect of 2,4-D and BA on callus formation in sweet basil subcultured

Subculture	Concentration		Fresh wt. per explant from	
	2,4-D	BA	Hypocotyl	Cotyledon
	(mg/l)	(mg/l)	(mg)	(mg)
1	3	0.1	187.0	304.0
2	3	0.1	424.0	541.0

ℓ 添加した培地で胚軸または子葉で、さらに BA を 0.1mg/ℓ 添加した培地では胚軸で分化した (Table 3, Fig. 2).

NAA と BA 添加培地で形成させたカルスを NAA 0.1mg/ℓ または無添加に BA を 1 または 0.1mg/ℓ 添加した培地で継代すると、Table 4 に示すごとく 100% の外植体で不定根を再分化するが、不定芽は



Fig. 2 Regeneration of adventitious buds and roots from sweet basil cotyledon callus cultured on MS medium supplemented with 0.1 mg/l NAA and BA.

胚軸由来のカルスで 62.5% まで分化することが出来た。

以上から、NAA と BA 添加培地は、カルスのみの増殖には適さず、植物体再分化のための培地として適することが分かり、特に初代培地を 0.1mg/ℓ の NAA と BA を添加した培地、継代に BA 1 mg/ℓ のみを添加した培地で不定芽の形成が高かった。

c) 種々のサイトカイニンの効果

カルス形成率はいずれのサイトカイニン添加培地でも 100% であった。基本培地の濃度にかかわらず、その中で 2ip を添加した培地で最も生体重の重いカルスが得られた (Table 5)。基本培地としては 1/2 MS の方がカルスの増殖がよかった。BA と kinetin を添加した培地では偏平で堅いカルスを形成した。一方、zeatin と 2ip を添加した培地では円形または楕円形の厚みのあるドーム形のカルスを形成した (Fig. 3)。1/2 の濃度の培地では色が薄く、白色に近かった。以上よりカルス形成には 2ip が適していると思われるが、脆い embryogenic callus は出来なかった。

不定芽形成を見るために、NAA と種々のサイトカイニンを添加した MS および 1/2 MS 培地に植え付け

Table 3 Effect of NAA and BA on callus formation and plant regeneration in sweet basil

Concentration		Hypocotyl explant			Cotyledon explant		
NAA (mg/l)	BA (mg/l)	Fresh wt. (mg)	Bud ^{a)} (%)	Root ^{b)} (%)	Fresh wt. (mg)	Bud ^{a)} (%)	Root ^{b)} (%)
1.0	1.0	101.4	0	0	352.5	0	0
1.0	0.1	176.5	0	100	428.2	0	100
1.0	0	244.6	0	100	641.3	0	100
0.1	1.0	258.4	20	100	939.5	17	100
0.1	0.1	444.4	30	100	446.3	0	100

a) Percentage of explants regenerating adventitious buds.

b) Percentage of explants regenerating adventitious roots.

Table 4 Effect of NAA and BA supplemented to initial and subculture media on plant regeneration in sweet basil

Initial culture		Subculture		Hypocotyl explant		Cotyledon explant	
NAA (mg/l)	BA (mg/l)	NAA (mg/l)	BA (mg/l)	Bud ^{a)} (%)	Root ^{b)} (%)	Bud ^{a)} (%)	Root ^{b)} (%)
0.1	1.0	0.1	1.0	0	100	12.5	100
		0	1.0	0	100	0	100
0.1	0.1	0.1	0.1	37.5	100	—	—
		0	1.0	62.5	100	—	—

a) Percentage of explants regenerating adventitious buds.

b) Percentage of explants regenerating adventitious roots.

Table 5 Effect of cytokinins on callus formation from hypocotyls in sweet basil

Basal medium ^{a)}	Cytokinin (0.1mg/l)	Weight per one explant		Dry wt./Fresh wt. (%)
		Fresh wt. (mg)	Dry wt. (mg)	
MS	BA	386	26.2	6.8
	kinetin	466	31.2	6.8
	zeatin	499	31.2	6.3
	2ip	550	33.5	6.1
1/2MS	BA	333	28.3	8.5
	kinetin	511	31.4	6.2
	zeatin	564	32.2	6.3
	2ip	588	34.3	5.8

a) 0.1mg/l 2,4-D was supplemented.

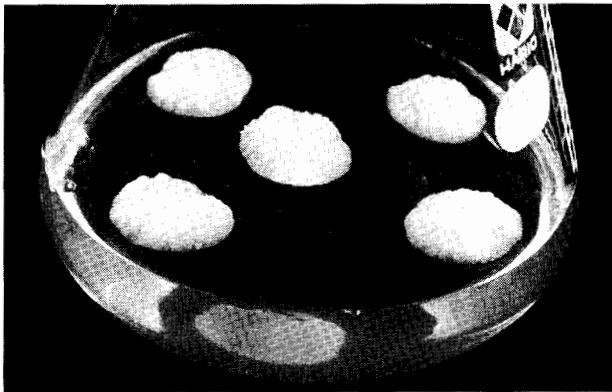


Fig. 3 Callus from sweet basil hypocotyl cultured on a half strength of MS medium supplemented with 0.1 mg/l 2,4-D and 2ip.

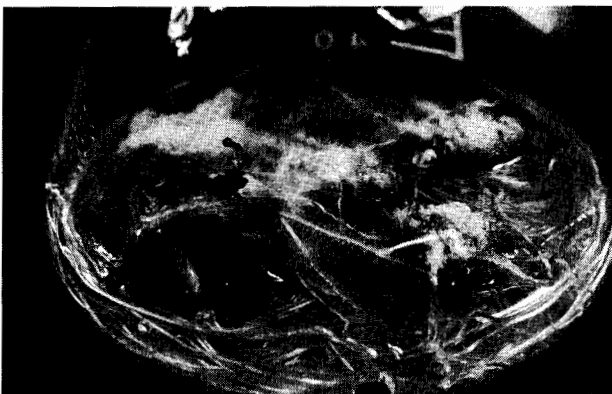


Fig. 4 Regeneration of adventitious buds and roots from sweet basil hypocotyl callus cultured on MS medium supplemented with 0.1 mg/l NAA and BA.

たところ、カルス形成率はいずれも100%であった。基本培地の濃度にかかわらず、BA 添加培地でのみ不定芽を再生した(Fig. 4)。不定芽は2週間後から再生を始め、やや水浸状で、スイートバジルの香が

Table 6 Callus formation from different explants in sweet basil

Explant organ	Weight of callus per explant		Dry wt./Fresh wt. (%)
	Fresh wt. (mg)	Dry wt. (mg)	
Root	105	7.7	7.3
Hypocotyl	363	23.4	6.5
Cotyledon	685	47.7	7.0

した。不定芽を切り取り、MS 培地に移植すると、苗条の伸びているものは発根し、苗条はさらに伸長した。不定根はいずれの培地でも見られたが、BA 添加培地ではやや遅く発根し、太い根毛の多い状態であった。以上の様に、不定芽が形成されたのは BA 添加培地のみであった。

実験2：培養に用いる材料の差異

a) 異なる植物の令によるカルス形成の差異

カルス形成率はいずれの令の外植体も100%で、生体重は1外植体あたり368~409mgで大きな差は認められなかった。カルスも楕円~円形で堅く、扁平であり、バジルの香はしなかった。以上より1~3週間程度の令の差ではカルス形成にあまり大きな影響を及ぼさないと考えられる。

b) 異なる植物体部位によるカルス形成の差異

カルス形成率はいずれの器官からも100%であり(Table 6)、子葉、胚軸、根由来の順に軽くなった。カルスは胚軸と子葉由来のものは見たところ殆ど同じであったが、根由来のものは円形で透明感のある薄い黄色であった。いずれのカルスもバジルの香はしなかった。以上の結果から、根はカルス形成には適さないが、胚軸か子葉か、ということになれば子葉の方が生体重は重い。

実験3：バジル8品種のカルス形成と不定芽再生の差異

カルス形成率はいずれの品種も100%であった (Table 7). 生体重はレタスバジルが最も重く (774 mg/外植体), 次いでアニスバジル, レモンバジル, ブッシュバジルで, 最も軽いのはシナモンバジル (236 mg) であった. いずれも偏平でかなり堅いカルスを形成したが, レタスバジルは緑色で他のものと比較して大きく, 堅いものと脆いものがあった. 色はスイートバジル, レモンバジルは淡黄色, シナモンバジルは緑白色, ブッシュバジルは黄緑色, アニスバジル, パープルラフレスバジルは紫色と白色が混在し, ダークオパールバジルは紫色であった. 以上, 特にレタスバジルは脆いカルスが出来たことから, プロトプラストの材料になり得るかもしれない. またダークオパール, パープルラフレス, アニスの3バジルは, 今後食用色素の抽出に利用出来る可能性もある.

次に不定芽再生を見るため, 同じ外植体を NAA と BA を添加した MS 培地に植え付けたところ, 1か月後にいずれの品種でもカルスが100%形成され, 色は 2,4-D と 2ip を添加した場合と同じであった (Fig. 5). 生体重はレタスバジル (947mg) で最も重

く, シナモンバジル (417mg) は最も軽く, 2,4-D と 2ip を添加したときと同じ傾向であった. 中間のものは順序が異なるが, 差は前より小さかった. 不定芽を形成したのはスイートバジル, ダークオパールバジル, ブッシュバジルであった. 特にダークオパールバジルは紫色の葉が分化した. 一方, 不定根は80%から100%の範囲でいずれの種でも再生した. 植物体はいずれもバジルの香はしなかった. 再生した不定芽の状態及び不定根の再生率について, スイートバジル, ダークオパールバジル, ブッシュバジルについては, Table 8に示した. よく生長したのはスイートバジルで葉数も苗条数も多かったが, ダークオパールバジルは茎が伸長せず, 葉数も少なかった. 特にダークオパールバジルは紫色の葉が分化した. 一方, 不定根は100%でいずれの種でも再生した. 植物体はいずれもバジルの香はしなかった.

実験4：6種類のシソ科ハーブのカルス形成

Table 9に示したごとく, スイートマジョラムの胚軸由来の40%以外は, いずれも100%のカルス形成率で, 子葉由来のものはすべての種類で100%のカルス形成率であった. カルス生体重は, 胚軸と子葉由来に拘らず種によって同じ傾向が見られ, スイート

Table 7 Effect of 2,4-D and 2ip^{a)} supplemented to MS medium on callus formation in eight cultivars of basil

Basil cultivar	Fresh weight per explant (mg)	Dry weight per explant (mg)	Dry wt./Fresh wt. (%)
Anise	435	29	6.6
Cinnamon	236	18	7.8
Sweet	313	21	6.7
Dark Opal	253	18	7.0
Purple Raffles	312	26	8.2
Bush	357	28	7.7
Lettuce	774	60	7.7
Lemon	394	23	5.9

a) 0.1mg/l 2,4-D and 2ip were supplemented.

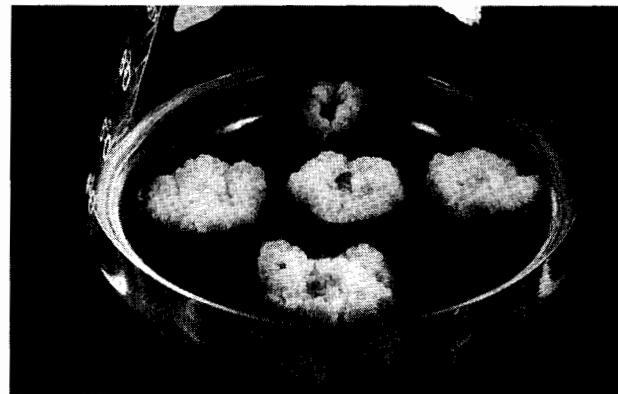


Fig. 5 Callus from lettuce basil hypocotyl cultured on a half strength of MS medium supplemented with 0.1 mg/l 2,4-D and 2ip.

Table 8 Regeneration of adventitious buds and roots from hypocotyl callus in three basil cultivars cultured on MS medium supplemented with 0.1 mg/l NAA and BA

Basil cultivar	Percent regenerating	Adventitious bud		Fresh wt. (mg)	Dry wt. (mg)	Adventitious root Percent regenerating
		No. shoots regenerated	No. leaves per explant			
Sweet	15	0.7	10	233	17.6	100
Dark Opal	10	0.0	1	27	0.8	100
Bush	5	1.0	5	33	2.5	100

Table 9 Effect of explants on callus formation in six *Perilla* herbs

Plant	Hypocotyl explant		Cotyledon explant	
	% of callus formed ^{a)}	Fresh weight ^{b)} of callus (mg)	% of callus formed ^{a)}	Fresh weight ^{b)} of callus (mg)
Sweet basil	100	780	100	723
Lemon balm	100	92	100	81
Pepper mint	100	24	100	33
Sweet majoram	40	3	100	4
Red perilla	100	268	100	637
Green perilla	100	104	100	120

a) Percentage of explants formed callus to all explants plated.

b) Fresh weight per one explant.

Table 10 Effect of 2,4-D and BA supplemented to MS medium on callus formation in sweet basil and lemon balm

Concentration		Sweet basil		Lemon balm	
2,4-D (mg/l)	BA (mg/l)	% of explants formed callus ^{a)}	Fresh weight ^{b)} of callus (mg)	% of explants formed callus ^{a)}	Fresh weight ^{b)} of callus (mg)
1.0	1.0	100	470	100	127
1.0	0.1	100	582	100	81
1.0	0	100	508	100	90
0.1	1.0	100	1065	100	175
0.1	0.1	100	1225	100	100
0	1.0	100	199	0	—

a) Percentage of explants formed callus to all explants plated.

b) Fresh weight per one explant.

バジルが最も重く、次いで赤シソで、スイートマジョラムは非常に軽かった。次にスイートバジル、レモンバームの2種の植物の子葉を用い、添加する2,4-DとBAの濃度を種々組み合わせることでカルス形成に及ぼす効果を見たのがTable 10である。スイートバジルでは両ホルモンが0.1mg/lの時最も重くなり、次いで2,4-DとBAがそれぞれ0.1と1.0mg/lの時であった。一方レモンバームでは、0.1と1.0mg/lの時であるが濃度による大きな差は見られなかった。シソでカルス形成に用いられた培地は、1.0mg/l 2,4-D, 5.0mg/l kinetin, 30 g/l ショ糖を添加したMSで、kinetinの濃度が本実験に比較して高濃度である⁹⁾。

要 約

ハーブの新しい植物育成のための細胞融合や遺伝子導入の基礎技術として、カルス培養の方法を検討した。材料として、カルス培養の為に、8品種のバジルおよび6種類のシソ科ハーブを用いて実験した。

得られた結果は次の様であった。

1: 植物ホルモンの効果

カルスは、無菌実生の胚軸および子葉をMS培地に0.1mg/lの2,4-DとBAを添加した培地で培養することにより効果的に形成され、また同じ組成の培地または3mg/l 2,4-Dと0.1mg/l BA添加培地で継代することにより高い増殖率を示したが、植物体は再分化しなかった。

植物体の再分化は、上記の材料を0.1mg/lのNAAと0.1または1.0mg/lのBAを添加した培地で培養することにより、カルスおよび不定根または不定芽を再分化することができたが、カルス形成は2,4-D添加培地に及ばなかった。

培地添加サイトカニンとしては、カルス形成のためには2ipが大きなカルスを形成したが、植物体の再分化のためにはBAしか効果がなかった。

2: 植え付け外植体の差

無菌培養した実生の発芽1から3週間後の胚軸を外植体とした時、カルス形成には大きな差は見られ

なかった。

無菌実生の1週間後の胚軸、根、子葉を外植体とした時、子葉が最も重いカルスを形成し、次いで胚軸であった。

3：8品種のバジルのカルス形成と不定芽再生

2,4-Dと2ip添加培地でカルスの形成が最もよかったのはレタスバジルで次いでアニスバジル、レモンバジル、ブッシュバジル、スイートバジル、パープルラフレสบジル、ダークオパールバジル、シナモンバジルの順で、レタスバジルはシナモンバジルの3.3倍の重さがあった。

NAAとBA添加培地では、カルスはいずれの品種でも形成されたが、不定芽が再生されたのはスイートバジル、ダークオパールバジル、ブッシュバジルであった。

4：6種類のシソ科ハーブのカルス形成

いずれの種類もカルスは形成されたが、スイートバジルに比較して生体重は軽く、アカジソがかろうじて匹敵するくらいで、アオジソ、レモンバーム、ペパーミント、スイートマジョラムの順に軽くなり、特にスイートマジョラムは形成外植体率も低かった。

謝 辞

この研究は、平成5年度から平成6年度までの2年間に亘る浦上食品・食文化振興財団の研究助成金により行ったものである。記して感謝の意を表する。

文 献

1) 麻田清一・長坂忠良・井上弘明・高橋文次郎：青ジソの

生育ステージにおける精油成分の変化。園学雑, 62別1, 272-273 (1993)

- 2) Asai, I., K. Yoshihira, T. Omoto, N. Sakui and K. Shimomura : Growth and monoterpene production in shoot culture and regenerates of *Mentha arvensis*. Plant Tissue Letters. 11, 218-225 (1994)
- 3) Charles, D. J. and J. E. Simon : Comparison of extraction methods for the rapid determination of essential oil content and composition of basil. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 115, 458-462 (1990)
- 4) Calvo, M. C. and J. Segura : In vitro propagation of lavender. HortScience 24, 375-376 (1989)
- 5) 市村 史・木村正典・富高弥一平：スイートバジルの生育と葉中精油濃度に及ぼす温度と日長の影響。園学雑, 60別, 338-339 (1991)
- 6) 松原幸子・石原 泉・村上賢治：ハーブの培養による高精油成分植物の増殖と育成(第1報)スイートバジルのカルス培養。園学雑, 62別2, 264-265 (1993)
- 7) 松原幸子・猪 雅人・鎌田真由美・村上賢治：シソ科ハーブのカルス培養および植物体再分化。園学中四国支部要旨 34, 40 (1995)
- 8) Nation, R. G., J. Janick and J. E. Simon : Estimation of outcrossing in basil. HortScience 27, 1221-1222 (1992)
- 9) Sugisawa, H. and Y. Ohnishi : Isolation and identification of monoterpenes from cultured cells of perilla plant. Agr. Biol. Chem. 40, 231-232 (1976)
- 10) 櫻井昭夫・森清麻衣美・安田一江・山本正典：バジルの品種及び系統間交配に伴う精油組成の変化。園学雑, 62別2 (1993)