ヒヤシンスの培養リン片における不定芽形成

田 村 親

(新潟大学農学部)

Adventitious Bud Formation from Excised Hyacinth Bulb Scale *in vitro*

Shin TAMURA

Faculty of Agriculture, Niigata University, Niigata

Summary

The present study was carried out in order to pursue some medium constitution and plating method and also the meaning of the difference in the localization about the adventitious bud formation of the hyacinth bulb scale culture.

Commercial varieties, i.e. 'La Victoire', 'Delft Blue', 'Lady Derby', and 'Jan Bos' were used.

The following results were obtained :

Hyacinth bulb scales cultured on Murashige and Skoog basic medium, same basic medium plus 0.001 to 0.005 mg/l, 2,4-D and also containing IAA and BA 0.5 mg/l respectively showed good adventitious bud formation. In regard to the concentration of 2,4-D on organogenesis, adventitious bud formation was observed between 0 to 0.1 mg/l, especially at very low concentration, and adventitious root formed between 0.001 to 0.5 mg/l, especially at 0.01 mg/l, whereas callus formed when the concentration was considerably higher, especially at 0.5 mg/l.

The adventitious bud usually formed on the epidermis of the outside of the scale in hyacinth and this feature was contrary in the case of lily where the bud formed on the epidermis of the inside of the scale.

By the histological observation of adventitious bud formation processes there seemed to be initial cell or cells in the epidermis. However, when the epidermis alone, which was stripped from the scale, was cultured, it showed no bud formation by itself on all the medium used, and the remaining scale without the epidermis formed callus or adventitious root.

When the method of plating was altered, whether the outside epidermis was on the upper side or bottom side, the bud forming response differed in connection with the constitution of media. Therefore, the localization of endogenous auxins and cytokinins would have an important role in the adventitious bud formation on hyacinth bulb scales, and it was considered that the polarity would exist morphogenetically between the outside epidermis and the inside epidermis, and it can be broken down by some inducing substance.

緒 言

ヒヤシンスのリン片における不定芽、不定根およびカールの形成に関しては既に PIERIK ら(8,9), HUSSEY (1), 田村ら(12,13)によって報告されているが、これらによれば、従来のノッチング、スクーピングなどの方法による繁殖に比し効率的に新球を育成する可能性が期待できる。すなわち、ごく低濃度のオーキシンを含む培地上でリン片を無菌培養することにより容易にリン片表面より不定芽が形成され、これを他に移植して発根させる

ことにより多数の新個体の再生をはかることが可能であるというものである。しかしながら、不定芽形成を組織学的に観察した報告は少ない。著者が以前に一部を報告したごとく、ヒヤシンスリン片に不定芽が形成される場合、リン片外側(背軸側)よりのみ生ずること、ならびにその起源が外側表皮系にあると考えられる。この点を追究する目的で以下のような実験を行なったのでその結果について報告し、若干の考察を加えた。

実験材料および方法

以前の実験において花色のことなる 10 品種を供試し

1976 年 12 月 6 日 受理

た結果、カルス、不定芽および不定根の形成はピンクないし赤色の有色系統が良好であったので、今回は 'La Victoire', 'Delft Blue', 'Lay Derby', 'Jan Bos' の 4 品種を用いた。

リン片の滅菌方法として、以前はオスパン、アンチホルミンで消毒し、最終的には無菌室内で切断した組織片を、さらに 3% 過酸化水素で消毒する方法を述べたが、良好な生産地の材料を十分注意して用いれば、比較的簡単にアンチホルミンによる消毒のみでも満足すべき結果の得られることが判明したので、以後はすべてその方法による滅菌を行なった。温度条件は 19°C とし、インキュベーターあるいは同条件の培養室内で培養した。

基本培地としては Murashige and Skoog の処方にてアミン 0.5 mg/l、イノシット 100 mg/l、蔗糖 30 g/l、寒天 8 g/l を加えたものとし、オーキシンとしては 2, 4-D 0 および 0.005 mg/l を主とし、他に β -インドール酢酸 (以下 IAA) ならびに 6-ベンジルアミノプリン (以下 BA) を各 0.5 mg/l を添加した培地を用いた。

組織の観察については FAA 固定、常法によりパラフィン切片を作成し、デラフィードヘマトキシリンで染色検鏡した。リン片表面よりの不定芽形成についての観察では、比較対照としてカノユリのリン片を同一条件で培養し、不定芽形成部位の組織観察を行なった。次に不定芽形成における表皮系の役割を調べる目的で、ヒヤシンスリン片より表皮をはぎとり、その表皮と残存部とを別々に培養してその結果を調べ、さらにリン片の置床方法を異にした場合の器官形成の差異を比較した。

実験結果

(1) 不定芽、不定根およびカルスの形成と 2,4-D 濃度の関係、ならびに不定芽よりの発根について

ヒヤシンスリン片の外側を上として、各種濃度の 2,4-D を含む Murashige and Skoog 培地上に置床し培養した結果、置床後約 2 週間ないし 4 週間のうちに上側表皮部より、1 組織片 (約 15 mm²) あたり 1 個ないし数個の不定芽が形成された。この過程を詳細に観察すると、最初は表皮上に微細な隆起が現れるが、約 10 日で直径 1 mm 程度の球状となり、置床後約 5 週間で明らかに幼芽の形態を呈してきた。これを明所に移したところ、bulbil 状の内部より緑葉が伸長してきた。さらに不定芽のリン片接着部附近から 2 次的に不定根を形成するものも見られた。しかし不定芽として発育しながらも不定根の形成がおこらない場合もかなり見られた。このような場合でもある程度まで bulbil 状に発育したものをリン片より切りとり、別の発根用培地、すなわち、 β -インドール酪

第 1 表 IBA 添加による不定芽よりの発根

IBA 濃度	個 体 No.										総数	平均本数
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
10 mg/l	7	12	7	3	8	7	10	12	8	11	85	8.5
20 mg/l	3	4	8	3	3	8	11	5	3	5	53	5.3

(注) 1. 供試品種: Lady Derby
2. 置床後 45 日までの結果

第 2 表 リン片組織片におよぼす 2,4-D 濃度の影響

2,4-D 濃度 (mg/l)	0	0.001	0.01	0.1	0.5	1.0	1.5	2.0	4.0	6.0
カルス形成	—	—	—	卅	卅	卅	卅	卅	±	—
不定芽形成	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—
不定根形成	—	±	卅	+	±	—	—	—	—	—

(注) 1. 供試品種: La Victoire
2. 不定芽、不定根はそれぞれ独立して生じたもの

A : Jan Bos

B : Delft Blue

第 1 図 リン片より形成された不定芽

A：不定芽形成の initial cell

B：10 細胞程度に分裂した像

C：Bよりさらに発達した段階

D：肉眼的に認められる状態に発達

第2図 リン片よりの不定芽形成の組織的観察

酸（以下 IBA）それぞれ 10 mg/l および 20 mg/l を基本培地に添加したものに移植すると第1表に示したように容易に不定根を形成することが判った。この結果では不定根形成状況は IBA 濃度が 10 mg/l の場合が 20 mg/l よりも1個体当たり発根数が大であった。

不定芽、不定根およびカルスの形成と 2,4-D 濃度との関係は第2表に示した。これによると、リン片表面よりの不定芽形成は 2,4-D 濃度が 0 から 0.1 mg/l までの間に認められ、特に濃度のごく低い場合に良好であった。また不定根形成は 0.001 mg/l から 0.5 mg/l の間で認められ、特に 0.01 mg/l 附近でもっとも盛であった。しかし、カルスの形成は前2者に比しやや高濃度の 2,4-D を含む培地で多く認められ、特に 0.5 mg/l でもっとも旺盛であった。第1図はリン片切片に形成された不定芽の生長した状態を示したものである。これらの実験では、リン片はいずれも外側を上にして置床したものであって、不定芽は常にこの上側の表皮より形成し、培地側すなわちリン片の内側よりの形成は全く見られなかった。

(2) 組織的観察

置床後3週間から5週間までのリン片を標本としてブ

第3図 表皮細胞の第1回目の periclinal な分裂

レパラートを作成し、その縦断面を鏡したものを第2図に示した。これによるとヒヤシンスにおいては球根の外側にあたるリン片の表皮細胞が periclinal な分裂を開始し、単層の表皮細胞の一部が分裂始源細胞に変化するもののように見えた。この分裂がさらに進行し、次第にその部分が隆起して不定芽を形成するもののごとく観察された。第2図A, Bはそれのごく初期の様相で、この程度の段階では不定芽の分化としては肉眼的にほとんど識別することはできない。第3図はこの段階の表皮を

拡大したもので、表皮層中にある1細胞が第1回目の periclinal な分裂を行って2細胞となった姿を示すと見られ、これが不定芽形成の initial であると考えられた。しかし、果して単一の initial cell のみがこれにかかわっているか否かを断定することはできなかった。第2図Cは表皮細胞をもととする分裂がやや進行した段階を示しており、不定芽原基は表皮層から内部組織にまで発達していることが判る。第2図Dではさらに発育して、明らかに他の組織との間に明確な境界を画している状態が観察される。これらが明らかに不定芽として発育し、通常の芽の形態を示すにいたったものが第4図である。図でaの部分は明所では緑色葉として発達するが、bの部分はいわゆる“はかま”（鞘葉）となり全く白色の状態にとどまる場合と、第1図に示したように緑色あるいは品種特有の赤紫色の斑点を示す場合とが見られた。

第5図は比較対照に供試したカノコユリにおける不定芽形成の状況を示したものである。この場合単層の表皮より不定芽が形成される様相はヒヤシンスの場合と同じであるが、カノコユリではリン片の内外表皮のうち、内側（向軸側）の表皮からのみ不定芽が形成される点がヒヤシンスと逆であって、その状態を示したのが第5図Bである。

(3) 不定芽形成に関する表皮の役割

ヒヤシンスおよびカノコユリにおいてリン片よりの不定芽形成には表皮が重要な役割をもつものと考えられた

第4図 発育したヒヤシンス不定芽の断面

- a : 緑色葉となる部分
- b : 鞘葉となる部分

ので、リン片からはぎとった表皮とその残存部とを別個に培養し、それぞれの器官形成に関するちがいを検討した。この場合、前の実験の結果から不定芽形成が良好と認められた2,4-D 無添加の基本培地と2,4-D 0.005 mg/l 添加培地および IAA 0.5 mg/l と BA 0.5 mg/l を添加した3種類の培地を用いた。滅菌したリン片は無菌箱内で約15 mm²の大きさに切断して蔗糖溶液を入れたシャーレ内に置き、1個ずつピンセットで表皮をはぎとり培地上に置床した。残存部リン片はその都度別の培地上に置床した。

この際ピンセットで挟んだ部分は僅かの内層部をつけていたが、大部分は単層の表皮だけとなった。上記の表皮薄層は表側を上とし、また残存リン片は表皮を除いた面が上となるように置床した。各培地上に置床された組織片を約40日後にその変化について観察した。第3表にその結果を示した。これによると基本培地区、2,4-D 区、IAA、BA 添加区共に表皮薄片には全く変化は見られなかった。また表皮層を除去した残存リン片は、基本培地区では全く形成物は見られず、大部分はネクロシスを起したが、2,4-D 区では過半数がカルスを形成した。リン片に表皮の存在する場合は、カルス形成は組織片の

A : ヒヤシンスと同じく不定芽は表皮より形成

B : ヒヤシンスと反対に内側表皮より形成された不定芽原基

第5図 カノコユリ表皮よりの不定芽形成

第3表 表皮ストリップと残存リン片の培養結果

培 地 種 類	置床 数	表皮スト リップ			残存リン片		
		カル ス	不定 芽	不定 根	カル ス	不定 芽	不定 根
MS 基 本 培 地	24	0	0	0	0	0	0
MS+2,4-D 0.005 mg/l	24	0	0	0	15	0	0
MS+IAA·BA 各 0.5 mg/l	24	0	0	0	2	0	6

(注) 供試品種：Lady Derby

切り口面に限られているのが通例であるが、この場合はカルスは側面切り口部のみでなく、表皮が除去されたあとの表面からも多数形成されるのが観察された、IAA·BA 添加区ではカルス形成と共に不定根をも形成するのが認められたが、不定根は表面からでなくすべて側部切り口より発生した。

(4) リン片の置床方法と不定芽形成との関係

これまでの実験でリン片の外側を上向きにして置床した場合、不定芽はすべてその表面に形成されたことから、ヒヤシンスでは果してリン片の外側(背軸側)表皮にのみ不定芽形成能力が存在するのか否かの点が問題になる。これを確認する目的で、リン片の切片を置床する際に、外側を上にした場合と内側(向軸側)を上にした場合について、上記の3種類の培地で培養を行なった。この結果を第4表に示した。これによると外側を上向きに置床した場合、3種類の培地共にリン片表面に多数の不定芽が形成されたが、2,4-D 0.05 mg/l 区ならびに IAA·BA 添加区では不定芽と共にカルスも形成することが比較的多かった。一度形成されたカルスは培養を続けるうちに根を分化する例が多く見られたが、IAA·BA 添加区はカルスを経過することなく切り口部より直接不定根を形成する例も多く見られた。リン片の外側を下向きに置床した場合には、すべての培地において、下側すなわち培地内に位置する面に不定芽を形成する例が圧倒的に多かった。この場合、不定芽形成数は基本培地と2,4-D 区で多く、IAA·BA 添加区ではやや少なかった。

興味深いことに、2,4-D 区では供試個体 34 個のうち、僅か1個ではあるが上側すなわちリン片内側の表皮

面から不定芽が形成され、また IAA·BA 添加区では内側表皮面よりの不定芽形成数はさらに多く外側表皮からの形成数とはほぼ同数に達した。次に不定根の形成に関しては、2,4-D 区および IAA·BA 添加区で認められたが、この場合も外側を上向きに置床したときと同じく側面のリン片切り口から生じたものが多かった。置床後 40 日での観察では2,4-D 区に比較して IAA·BA 添加区の方が不定根の発生数は多かった。しかしながら、2,4-D 区の場合でも、調査時には未分化のカルスとしてしか認められなかったものが、培養を続けるうち後になってカルスから不定根を分化する例が見られた。これに対して IAA·BA 添加区の場合は、形成された不定根はその発生初期から白色の根毛を有する通常の根の形態をそなえていた。

ここで注目すべき事実は、たまたま置床過程で重なったままの2枚のリン片を置床した場合の不定根形成の様相である。この2重となった組織片は基本培地で3例、IAA·BA 添加区で4例あったが、重なり合った2枚のリン片のうち、一方のリン片の外側に不定芽が形成された場合、これに接する他方のリン片の内側表皮で前者で不定芽の生じた対称の位置に不定芽が形成されたことである。これを模式図として示したのが第6図Aである。しかしながら一方に不定芽が形成された場合でも第6図Bに示した関係位置であると不定芽形成は見られなかった。

このような例は基本培地で2例、IAA·BA 添加培地では4組織片中5個が観察された。

考 察

球根リン片よりの不定芽形成は、効率のよい増殖法と

第6図 二重の状態のまま置床されたリン片における不定芽形成

(注) 太線はリン片の外側、細線は内側を示す

第4表 リン片の置床方法と組織・器官の分化

培 地 種 類	外側表皮を上向きに置床				外側表皮を下向きに置床			
	置床数	カルス	不定芽	不定根	置床数	カルス	不定芽	不定根
MS 基 本 培 地	24	0	6	0	18	0	11	0
MS+2,4-D 0.005 mg/l	36	17	15	0	34	10	19(1)	1
MS+IAA·BA 各 0.5 mg/l	30	2	17	9	24	2	11(6)	15

(注) 1. 供試品種：Lady Derby

2. ( ) 内はリン片の内側表皮より形成した数

としての応用面と、形態形成に関する興味ある問題を提供するものである。ヒヤシンスに関しては NAYLOR(6)は切除された葉片よりの個体再生を報告しているし、HUSSEY(1)、PIERIKら(8,9)の報告もみられる。ユリ類では、ROBB(10)、明道ら(3)、SCHERIDAN(11)の報告があり、最近では森ら(4)によるフリージア、ZIVら(16)のグラジオラス、MIIら(2)のアマリリス、さらに西内ら(7)によるチューリップのリン片培養などがあげられる。

本研究では Murashige and Skoog RM-1964 培地を基本培地とし、これにオーキシンとして 2,4-D をごく低濃度に加えた培地、あるいは IAA, BA を各 0.5 mg/l 程度添加した培地上で、ヒヤシンス球根リン片に容易に不定芽を形成させることに成功した。2,4-D 濃度を種々に変えた場合、0 から 0.1 mg/l の濃度では主として不定芽が形成されるが、濃度を増加するに従って不定芽の形成は抑制されカルス化が盛になった。このことは HUSSEY(1)の報告とも一致している。2,4-D 0.005 mg/l の培地では不定芽形成が良好であったが、これをそのまま同一培地上で培養を続けた場合、一度形成した不定芽が脱分化してカルス化する場合や、正常な芽としての発育をすることなく不定根状の突起に転化する例も観察された。これらのことから不定芽を正常に発育させるためには 2,4-D を全く含まないか、あるいは 0.001 mg/l 程度の濃度とし、不定芽基部より 2 次的に発根させることが妥当ではないかと考えられた。また 2,4-D を欠き IAA, BA 各 0.5 mg/l を添加した培地でも同様にリン片の外側表皮上に多数の不定芽形成がみられたが、側面切り口からの不定根の発生もしばしば見られた。

しかしながら、これらの不定芽と不定根の発生はそれぞれ起源組織が異なるものであるから、増殖を目的とする場合の意義は小さいものと考えられる。

不定芽形成はすべてのリン片外側表皮で行われる事実から、不定芽の initial cell が表皮中に存在するか否かという点は形態形成上の興味ある問題である。多くの植物種で報告された培養による個体の再生は、一度いわれる組織の脱分化により形成されたカルスを培養する間に、カルス中に不定胚が形成され、これが発達して不定芽を形成する場合がもっとも多いが、既成組織がカルス化をすることなく直接組織片より不定芽を形成する例としては、ヒヤシンス、ユリなどの球根リン片や、中田ら(5)によるタバコの薬培養における半数体植物の形成などが報告されている。元来、表皮系は植物の分化の完結とみられる組織であることから、表皮中に新たに不定芽が分化することはカルスからの不定芽の分化にくらべ

て特殊な現象というべきで注目すべき問題を提供するものと考えられる。この点に関して表皮系におけるその形成過程をみるため、リン片の断面を鏡した結果、外観上は全く識別はできない場合でも、拡大することにより不定芽形成のごく初期の状態と考えられる細胞分裂の姿を確認することができた。ヒヤシンスのリン片は最外側に単層の小型の細胞の列からなる表皮が存在するが、ここでは通常 anticlinal な分裂しかみられない。ところが不定芽の形成時には一部に periclinal な分裂が起こり、その後ランダムな方向への分裂が繰り返される過程の像が観察された。筆者(12)は以前イネの種子起源カルスよりの芽の形成について報告したが、その場合はカルス表面の活発な anticlinal な分裂により表面に著しい切れこみを生ずることに始まった。イネとヒヤシンスにおける形態形成を比較した場合、前者が一旦カルス化を経過して芽を形成するのに対し後者では表皮より直接不定芽が形成されるものであって組織学的にも全く異なった経過が見られる。

ヒヤシンスの場合、オーキシンプリーの培地あるいは 2,4-D 0.001~0.005 mg/l 程度の濃度の培地において不定芽を形成する場合、その形成個所は必ずリン片の外側(背軸側)に限られる。これに対し、ユリにおいてもまた表皮上に容易に不定芽が形成されるが、その場合の形成個所は第5図Bに示したようにすべてリン片の内側(向軸側)にのみ見られる。このことは不定芽形成に関してリン片の外側、内側の表皮系の間に形態形成条件の差異が存在し、かつ、それらの関係がヒヤシンスとユリでは全く逆であることを示しているものと考えられる。外側と内側の表皮系の間の差異の実態に関してはいまだ不明であるが、組織レベルでの極性、内生オーキシンあるいはサイトカイニンなどの生長物質の濃度勾配が関与していることは当然想像される。しかしながらこの実験の結果だけでは特定の不定芽形成の initial cell が外側表皮中にのみ存在するということを証明することはできなかった。また、一個の initial cell が単独に totipotency を発現すると結論づけるような知見も得られなかった。現在若干の例を除き一般には単細胞の培養が未だに困難であること、また分化の完結した組織よりの再分化を追究しようとするとき、多くの技術的問題が残されているし、organize された植物体内での個々の細胞あるいは細胞群と他の部位との間の生理的あるいは形態形成的な相互関係については未解決な点が大部分である。このことから TRAN THANK VAN ら(15)は高等植物における実験系を簡素化する目的で *Nautilocalyx* その他の材料を用いて表皮あるいは表皮下の層よりなる

薄片を培養する thin layer culture を提唱し、数種類の植物について形態形成過程を調べている。

今回の実験ではヒヤシンスのリン片の表皮をはぎ取って培養したが、用いたすべての培地において表皮層のみからなる培養物には全く変化はみられなかった。一方、表皮を除いた残存リン片は培地組成いかんによって結果は異なっており、基本培地ではカルス、不定芽、不定根とも全く形成されず大部分は壊死状態を示したが、2,4-D 0.005 mg/l 添加の培地では過半数がカルスを形成し、その形成部位は側面切り口部と表面の表皮下層組織の双方であった。IAA・BA 各 0.5 mg/l 添加培地ではカルスの形成は 2,4-D 区より少なかったが、不定根の形成が認められた。しかし、いずれの培地においても不定芽の形成は全く認められなかった。このことはリン片よりの不定芽形成には表皮の存在が必要条件であること、ならびにカルスや不定根の形成には表皮の存在しない場合でも可能であることを示している。また、表皮に不定芽形成の initial cell が存在する場合、その形態形成能の発現は下層組織との相互関係に依存することを示すものとも考えられる。さらにヒヤシンスの不定芽は通常リン片の外側（背軸側）にのみ生じることが、置床の際、上下を逆にした場合でも、リン片の外側すなわち培地側にのみ形成された事実は、この特性が重力に関連することなく組織レベルでの極性の存在することを示しているといえよう。ただし、培地内で生じた不定芽は発育不全で奇型のなもの、あるいは小突起のまま発育停止や退化するものが多かったが、それは培地内に位置するという条件が原因であると考えられる。IAA・BA を添加した場合、上向きの置床では外側表皮にのみ多数の不定芽が形成され、下向きの置床では外側表皮、内側表皮のいずれから不定芽を生じたことは、不定芽形成に生長物質が重要な役割をもつことを示すと共に、内生生長物質に関して複数の生長物質の量的ならびに比率に差異のあることを示唆するものと考えられる。

最後に本実験では偶然ではあったが、形態形成に対する新しいアプローチを示唆するような事実が得られたことは幸であった。それは、たまたま組織片が重なり合ったままで置床された場合、通常では見られることのない内側の表皮に不定芽が形成されたことである。しかも、この場合は先に生じている外側表皮における不定芽と全く対称的な位置にのみ生じるという結果が見られた。このことはその位置に形態形成する物質が存在したものか、あるいは何等かの代謝に関しての相互作用が働いたかということを示唆するものといえよう。

摘 要

本研究はヒヤシンスの増殖におけるリン片の組織培養の利用に関し、培地条件、置床の方法および不定芽形成の部位による差異とその意味するところを検討する目的で行われた。

1. 供試のヒヤシンス球根のリン片は MURASHIGE and SKOOG 処方による基本培地、2,4-D 0.001~0.005 mg/l を含む培地ならびに IAA・BA 各 0.5 mg/l 添加の培地のいずれでも容易に不定芽（あるいは bulbil）を形成した。

2. 不定芽の形成はヒヤシンスではリン片外側の表皮から生じ、ユリの場合とは全く逆であった。

3. 不定芽形成過程の切片を組織学的に調べた結果、単層の表皮中に始源細胞あるいは始源細胞群が存在するものと見られたが、表皮のみの培養では不定芽は全く形成されなかった。

4. 不定芽の形成には内生オーキシン、サイトカイニン類の部位的な差異が関連するものとみられた。

5. 不定芽の形成には組織レベルの極性が存在するものと考えられるが、それは未知の誘起物質により打破される可能性も考えられた。

謝 辞 本実験に際し貴重なお助言をいただき、また原稿のご校閲をたまわった新潟大学農学部園芸学研究室萩屋薫教授に深謝の意を表す。

引用文献

1. HUSSEY, G. 1975. Propagation on Hyacinths by Tissue Culture. *Scientia Hort.* 3: 21—28.
2. MII, M., T. MORI, and N. IWASE. 1974. Organ formation from the excised bulb scale of *Hippeastrum hybridum in vitro* (Research Note). *J. Hort. Sci.* 49: 241—244.
3. 明道 博・久保 貞. 1952. 鉄砲百合のリン片繁殖について。主として催芽部の解剖学的観察。北大農邦文紀要。1: 175—180.
4. 森 泰・長谷川 喜・狩野 邦雄. 1975. 組織培養によるフリージアの繁殖に関する研究。園学雑。44: 294—302.
5. 中田和男・田中正雄. 1968. 葯の組織培養による花粉からのタバコ植物の分化。遺伝雑。43: 65—71.
6. NAYLOR, E. 1940. Propagation of *Hyacinthus* by leaf cuttings. *Bull. Torrey Bot. Club.* 67: 602—606.
7. 西内義男・明道 博. 1976. チューリップの栄養繁殖に関する研究（第1報）培養リン片における器官形成について。園学雑。45: 59—64.
8. PIERIK, R. L. M. and J. WOETS. 1971. Regeneration of isolated bulb scale segments of hyacinth. *Acta Hort.* 23: 425—428.
9. ——— and M. A. RUBING. 1973. Regener-

- ation of bulblets on bulb scale segments of hyacinth *in vitro*. Neth. J. Agr. Sci. 21 : 129—138.
10. ROBB, S. M. 1957. The culture of excised tissue from bulb scale of *Lilium speciosum* Thun. J. Exp. Bot. 8 : 348—352.
11. SCHERIDAN, W. F. 1968. Tissue culture of the Monocot *Lilium*. Planta 82 : 189—192.
12. 田村 親. 1969. イネ発芽種子起源カルの培養とカルスからの器官の再分化. 新潟農林研究 21 : 43—51.
13. ———・嘉部博康. 1971. ヒヤシンスの組織培養 (1). 農業および園芸. 46 : 519—524.
14. ———・———. 1971. ——— (2). 同誌 46 : 784—788.
15. TRAN THAN VAN, H. CHLYAH, and A. CHLYAH. 1974. Regulation organogenesis in thin layers of epidermal and sub-epidermal cells. Tissue Culture and Plant Science. pp. 101—139. Academic Press.
16. ZIV, M., A. H. HALEVY, and R. SHILO. 1970. Organs and plantlets regeneration of *Gladiolus* through tissue culture. Ann. Bot. 34 : 671—676.