有皮りん茎の組織培養における子球形成 (第2報)

りん葉片における子球形成過程の形態観察

梁 川 正*・坂 西 義 洋

(大阪府立大学農学部)

Regenerative Studies on the Excised Bulb Tissue of Various Tunicated-bulbous Ornamentals

II. Morphological Observations on Bulblet Formation from Bulb-scale Segments

Tadashi YANAGAWA and Yoshihiro SAKANISHI

College of Agriculture, University of Osaka Prefecture, Sakai, Osaka 591

Summary

In the basal part of bulb-scale of 17 genera (20 species) in the Amaryllidaceae and 2 genera (4 species) in the Liliaceae, the vascular system consists of a number of parallel abaxial strands. Opposite to that, the system in 8 genera (11 species) belonging to the Liliaceae is composed of the adaxial ones.

When the basal parts were cultured aseptically on nutrient medium without growth regulators, the cultures from the former genera and the latter ones formed bulblets mostly on the abaxial side and the adaxial side, respectively, of the proximal end of the scale, though both sides had the capacity to regenerate bulblets.

Morphological observations of the scale base with the genera in the both families indicated that the bulblets were predominantly arised from the epidermal and sub-epidermal cells in the nearest location to each vascular strand.

The results suggest that the cells nearest to the strand contain more cell division stimuli, which move basipetally in the vascular tissue, than the cells at a distance from the strand.

緒 言

ヒガンバナ科の8属9種及びユリ科の3属4種の有皮りん茎のりん葉基部組織を生長調節物質無添加の培地で無菌培養したところ、ヒガンバナ科の属はすべて主として培養片の背軸面の下端部に、ユリ科の2属の3種は主として向軸面の下端部に子球を形成した(19, 18).

個体再生を行う葉やりん葉において、再生能力についての背腹性 (Dorsiventrality) があり、高い再生能力を示す面が属によって異なることが多くの植物で認められている。この背腹性を支配する原因について論及した報告はみられないが、葉や茎の組織からの不定芽形成に維管束が関係していることを認めた報告は多い。例えば、*Saintpaulia*(10)、*Begonia*(17)、*Zamioculcus*(4)、*Heloniopsis*(9)、*Sinningia* (8) の葉片では、葉脈に沿っ

て不定芽が形成されると報告されており、Caruso(2, 3) は *Verbascum* と *Ailanthus* の維管束を含む茎切片と含まない茎切片を無菌培養し、前者のみが不定芽を生じたことを認め、維管束組織中におけるサイトカイニンのような細胞分裂刺激物質が不定芽形成に働いたのであろうと推測している。

単子葉植物であるヒガンバナ科やユリ科の葉身やりん葉部の維管束は縦に平行して走っている。Denne(5) は *Narcissus* におけるこれらの主維管束は葉やりん葉の背軸面寄りに平行して求頂的に発達することを認めているが、属によって主維管束の走行面が異なり、これが個体再生面に関係するのではないかと考えられる。

本報は種々のりん葉における維管束走行の背腹的位置関係を確かめて、子球形成面との関連を求め、更に、培養片における子球の形成過程を両科の一部の属を選んで形態学的に追跡した結果をまとめたものである。

1979年10月18日 受理

* 現在京都教育大学教育学部

材料及び方法

りん葉の横断面における維管束の分布位置を、ヒガンバナ科の 17 属 20 種及びユリ科の 10 属 15 種について調べたが、これらの種のうち、ヒガンバナ科の 8 属 9 種及びユリ科の 3 属 4 種は、前報においてそのりん葉の培養片における子球形成状態を報告したものである。いずれの種についても、りん葉基部から厚さ約 0.5

mm の横断切片を手で切り出し、直ちに 54℃ の 75% 乳酸液中に透明化するまで浸漬した後、スライドグラスにのせグリセリンで封入して光学顕微鏡で検鏡した。培養片における子球の形成過程の形態観察は、ヒガンバナ科の *Hymenocallis speciosa* とユリ科の *Ornithogalum arabicum* について行った。これらのりん葉基部の培養片を White(16) の無機塩類及びビタミン類に 2

Table 1. Dorsiventrality in the position of vascular strand as seen in transverse section of bulb-scale bases.

Species	Distance from the periphery of main vascular strand		A/B*	Major regenerative side on scale base segment
	to abaxial epidermis (A) (mm)	to adaxial epidermis (B) (mm)		
Amarillidaceae				
<i>Amaryllis belladonna</i>	0.19±0.04	0.40±0.11	0.48	—**
<i>Chlidanthus fragrans</i>	0.14±0.06	0.52±0.14	0.27	—
<i>Crinum powellii</i>	0.17±0.02	0.58±0.07	0.31	Abaxial
<i>Cyrtanthus mackenii</i>	0.18±0.01	0.27±0.05	0.68	Abaxial
<i>Eucharis grandiflora</i>	0.50±0.08	0.62±0.08	0.81	—
<i>Habranthus robustus</i>	0.23±0.06	0.42±0.09	0.53	Abaxial
<i>Hippeastrum gracilis</i>	0.24±0.06	0.47±0.07	0.51	—
<i>Hippeastrum hybridum</i>	0.40±0.07	1.03±0.11	0.39	Abaxial
<i>Hymenocallis speciosa</i>	0.50±0.05	0.99±0.04	0.51	Abaxial
<i>Leucojum aestivum</i>	0.23±0.03	0.42±0.10	0.55	—
<i>Lycoris incarnata</i>	0.27±0.03	0.49±0.16	0.55	—
<i>Lycoris radiata</i>	0.19±0.01	0.37±0.02	0.53	Abaxial
<i>Lycoris squamigera</i>	0.26±0.03	0.35±0.04	0.71	Abaxial
<i>Narcissus hybridus</i>	0.25±0.07	0.50±0.16	0.50	—
<i>Nerine hybrida</i>	0.21±0.05	0.48±0.17	0.44	—
<i>Rhodophiala bifida</i>	0.17±0.05	0.54±0.14	0.31	—
<i>Sprekelia formosissima</i>	0.26±0.02	0.56±0.09	0.47	Abaxial
<i>Sternbergia lutea</i>	0.33±0.05	0.42±0.04	0.79	Abaxial
<i>Vallota speciosa</i>	0.26±0.09	0.65±0.09	0.40	—
<i>Zephyranthus candida</i>	0.32±0.10	0.60±0.12	0.53	—
Liliaceae				
<i>Albuca nelsonii</i>	1.85±0.22	0.32±0.09	5.78	—
<i>Camassia cusickii</i>	0.65±0.03	0.35±0.10	1.86	—
<i>Dipcadi ciliare</i>	0.63±0.09	0.17±0.05	3.71	—
<i>Eucomis punctata</i>	0.49±0.08	0.25±0.06	1.96	—
<i>Eucomis undulata</i>	0.53±0.01	0.23±0.06	2.30	—
<i>Galtonia candicans</i>	0.50±0.02	0.32±0.08	1.66	Adaxial
<i>Ipheion uniflorum</i>	0.16±0.03	0.34±0.04	0.47	—
<i>Notholirion thomsonianum</i>	1.16±0.21	0.35±0.10	3.31	—
<i>Ornithogalum arabicum</i>	0.79±0.09	0.34±0.13	2.16	Adaxial
<i>Ornithogalum thyrsoides</i>	0.62±0.03	0.20±0.07	2.94	Adaxial
<i>Ornithogalum umbellatum</i>	0.91±0.14	0.46±0.06	1.98	—
<i>Scilla amethystina</i>	0.27±0.06	0.35±0.10	0.77	—
<i>Scilla hyacinthoides</i>	0.36±0.10	0.45±0.10	0.79	Abaxial
<i>Scilla peruviana</i>	0.51±0.12	0.82±0.24	0.62	—
<i>Veltheimia capensis</i>	0.78±0.20	0.58±0.14	1.34	—

The thickest portion of each circular scale base was observed. Average of 10 measurements each is given.

* A/B ratio of 1, more than 1, and less than 1 show that the vascular strands run in the middle, the abaxial side, and the adaxial side of the scale base, respectively.

** No segments have been cultured.

% のしょ糖と 0.8% の寒天を加えた固型培地に立てて置床し、25℃ の暗黒下で無菌培養した。培養開始後 3～4 日おきに培養片を取り出し、FAA（ホルマリン：酢酸：50% エタノール＝5：5：90）で固定しておいた材料を用い、光学顕微鏡下で解剖観察するとともに、培養片の表皮に子球原基のふくらみが生じた後は、走査型電子顕微鏡を用いて子球の初期発育の外部形態観察を行った。

光顕観察のためのプレパラートは、固定材料をエタノール、*n*-ブタノール シリーズで脱水し、パラフィン包埋後厚さ 14 μm に縦断及び横断し、Sakai(13)の方法にしたがってトリジンブルー 0 で染色を行い、オイキットで封入して作成した。

走査電顕による観察には、固定材料をエタノール、アセトン シリーズで脱水した後、酢酸イソアミルに置換して、HCP-1 型臨界点乾燥装置で乾燥を行い、IB-3 型イオン コーターで材料表面に金を蒸着した。観察及び

撮影は MSM 4 C-202 型走査電顕を用いて加速電圧 10 kV で行った。

結 果

りん葉における維管束の走行位置

供試各りん葉の基部横断面における背軸側表皮及び向軸側表皮から主維管束の外周までの距離と、これらの距離の比を第 1 表に示した。距離の比が 1 の場合は維管束がりん葉の中心部を走行し、1 以下の場合は背軸面寄りに、1 以上の場合は向軸面寄りに走行していることを示す。

ヒガンバナ科では属によって程度の差はあるが、すべての属において、維管束が背軸面寄りに走り、ユリ科では *Ipheion uniflorum*, *Scilla amethystina*, *S. hyacinthoides*, *S. peruviana* の 2 属 4 種の維管束がやや背軸面寄りであることを除き、他はいずれも向軸面寄りであった。

りん葉の組織培養を行った 11 属 13 種についてみる

Fig. 1. Origin and development of *Hymenocallis* bulblet on the segment of bulb-scale base with basal plate tissue.

A, B : Longitudinal and transverse sections showing the formation of meristematic region from epidermal and subepidermal cells nearest to vascular strand, 6 days after planting. In the figures, the meristematic region begins to form protuberance from the abaxial surface.

C, D : Longitudinal section and scanning electron micrograph showing differentiation of the first leaf from the protuberance, 10 days after planting.

E : Scanning electron micrograph showing differentiation of the second leaf, 15 days after planting.

F : Scanning electron micrograph showing differentiation of the third leaf, 20 days after planting.

Key to labelling : ab=abaxial surface ; ad=adaxial surface ; b=basal plate tissue ; l₁=first leaf ; l₂=second leaf ; l₃=third leaf ; p=protuberance ; s=bulb-scale ; vs=vascular strand.

Marker lines=200 μm.

と、維管束からの距離の短い方の面での子球形成能力が他方の面よりも大であった。このことから、高い再生能力を有する面は維管束の走行位置の如何によって左右されると考えられ、未培養の属においても、ヒガンバナ科の属ではたぶん背軸面での子球形成が多く、ユリ科の多くの属では向軸面での形成が多いのではないかと予想される。

りん葉組織の培養片における子球の形成過程

(1) りん葉基部に底盤組織がついている培養片の場合

背軸面寄りに維管束が走行しているヒガンバナ科の *Hymenocallis* では、置床後6日目ごろにりん葉下端の背軸側柔組織内で維管束に最も近い部分の表皮及び表皮下数層の細胞が分裂を始め、背軸面にふくらみをもたらした(第1図A-B)。10日目ごろにはこのふくらみがかなり大となり、母りん葉の先端方向に当たる側から第1葉を分化した(第1図C-D)。15日目ごろには第2葉を(第1図E)、20日目ごろには第3葉を(第1図F)分化し、子球初期の形態をとった。

向軸面寄りに維管束が走行しているユリ科の *Ornithogalum* では、置床後20日目ごろにりん葉基部の向軸側柔組織の底盤組織に接する部分よりやや上で、維管束に最も近い位置にある表皮及び表皮下数層の細胞が分裂を始め、向軸面にわずかなふくらみをもたらした(第2図A-B)。30日目ごろにはこのふくらみが外観的に明瞭に認められる大きさに達し(第2図C)、間もなく、母りん葉の基部方向に当たる側から第1葉を分化した(第2図D-E)。40日目ごろには第2葉を(第2図F)、50日目ごろには第3葉を分化し、子球初期の形態を示した。分裂ゾーンが向軸側に出現する点及び子球の第1葉が母りん葉の基部方向に当たる側から分化する点が前者の子球の形成過程と異なっている。

なお、両者において、子球原基に当たるふくらみから分化してくる最初の2~3の葉はその後葉身部を発達させず、りん葉のままでとどまるが、その後引き続いて分化してくる葉は葉身部を発達させた。

(2) 底盤組織をつけないりん葉基部の培養片の場合

培養開始後、りん葉下端の切口付近で維管束に最も近

Fig. 2. Origin and development of *Ornithogalum* bulblet on the segment of bulb-scale base with basal plate tissue.

A, B: Longitudinal and transverse sections showing the formation of meristematic region from epidermal and subepidermal cells nearest to vascular strand, 20 days after planting. In the figures, the meristematic region begins to form protuberance from the adaxial surface.

C: Scanning electron micrograph showing the growing protuberance, 30 days after planting.

D, E: Longitudinal and transverse sections showing differentiation of the first leaf from the protuberance, 35 days after planting.

F: Scanning electron micrograph showing differentiation of the second leaf, 40 days after planting.

Fig. 3. Development of *Hymenocallis* bulblet on the segment of bulb-scale base without basal plate tissue.

- A : Longitudinal section showing the formation of meristematic region, 15 days after planting. In the figure, the meristematic region begins to form protuberance from the abaxial surface.
- B : Scanning electron micrograph showing the growing protuberance, 20 days after planting.
- C : Longitudinal section showing differentiation of the second leaf, 30 days after planting.
- D : Scanning electron micrograph showing differentiation of the third leaf, 40 days after planting.

い位置の表皮及び表皮下数層の細胞が分裂を始めてから子球形成に至るまでの過程は1の場合と同様で当たが、形成の各段階の経過はこれより約1～2週間遅れていた。

すなわち、*Hymenocallis* では、子球原基に当たるふくらみの出現は置床後15日目ごろに観察された（第3図A）。20日目ごろにはこのふくらみが大となって（第3図B）、間もなく第1葉が分化し、第2葉（第3図C）、第3葉（第3図D）はそれぞれ30日目、40日目ごろに分化してきた。

Ornithogalum では、ふくらみの出現（第4図A）、ふくらみの発達（第4図B）、第1葉の分化（第4図C）、第2葉の分化（第4図D）はそれぞれ置床後30、35、40、50日目ごろに観察された。

（3） 底盤組織に2枚のりん葉基部をつけた培養片の場合

このような培養片で2枚のりん葉片が合わさっている部位では、母球の外側（下位節位）のりん葉の向軸側と内側（上位節位）のりん葉の背軸側とが向い合っている。いずれの属においても、子球形成はこの2枚のりん葉片にはさまれた部位で優勢的であった。しかし、この部位における分裂ゾーンの出現位置及び子球の形成経過は底盤組織に1枚のりん葉基部をつけた培養片の場合とほぼ同様であった。

すなわち、*Hymenocallis* では内側（上位節位）のりん葉の背軸側に（第5図）、*Ornithogalum* では外側（下位節位）のりん葉の向軸側に（第6図）子球原基が出現し、いずれも2りん葉の間からりん葉を押しやるかたちで子球が発達してきた。

Fig. 4. Development of *Ornithogalum* bulblet on the segment of bulb-scale base without basal plate tissue.

- A : Scanning electron micrograph showing emergence of protuberance from the adaxial surface, 30 days after planting.
 B : Longitudinal section showing the growing protuberance, 35 days after planting.
 C : Scanning electron micrograph showing differentiation of the first leaf from the protuberance, 40 days after planting.
 D : Scanning electron micrograph showing differentiation of the second leaf, 50 days after planting.

考 察

ヒガンバナ科のりん葉の主維管束（葉脈）は背軸面寄りに平行に走行し、ユリ科のそれは *Ipheion* 及び *Scilla*

を除き、他は向軸面寄りに走行している。りん葉基部の培養片における不定的な子球の形成はともに維管束に近い方の面で優勢に行われることが確かめられた。有皮りん茎を持つ植物はヒガンバナ科及びユリ科に属するものがほとんどである。ヒガンバナ科は子房下位、ユリ科は子房上位という点で区別されているが、花の構造や生態型は類似し、ヒガンバナ科をユリ科に含める分類学者もあり、ユリ目全体として分類学上の位置や類縁関係などまだ再検討すべき点が多いと考えられている。本研究で認められたような両科のりん葉における葉脈の走行位置の違い及びその成因についての論及はみられないが、Hara (7) は双子葉植物の葉の発生段階における次周縁始原細胞 (Submarginal meristem) の細胞分裂において、将来維管束に発達する前形成層が向軸側につくられるタイプ、背軸側につくられるタイプ及び中央の層からつくられるタイプに区別されることを明らかにし、通常、同一種の植物の葉では一定のタイプを持つが、変化性がある場合でもその変化様式が比較的一定していることを認め、このような発達のタイプは単子葉植物でもありうると述べている。本研究の対象としたりん葉は同化葉の葉鞘に当たる部分であるが、この維管束形成においても、このような発生過程の違いがあるのではなかろうか。

さて、葉片における個体再生の部位別能力と維管束の位置との関係については、前書きでもふれたように、従来、もっぱら葉の幅の方向すなわち葉の表面からみた葉脈と葉脈間の部分における再生能力の比較がなされ、不定芽形成は主として葉脈直上の位置で認められるとの報告のみであったが、本研究において葉の厚さの方向すなわち向軸、背軸の関係においても維管束に近い方の面に再生能力が高いことがわかった。なお、反対側の面からも率は低いが生じ時に子球が出現する。りん葉片を縦に2分

Fig. 5. Longitudinal sections showing development of *Hymenocallis* bulblet on the segment containing two bulb-scale bases attached to basal plate tissue.

- A : Emergence of protuberance from the abaxial surface of inner scale base (is), 8 days after planting.
 B : Differentiation of the first leaf from the protuberance, 12 days after planting.
 C : Differentiation of the second leaf, 16 days after planting.

Fig. 6. Longitudinal sections showing development of *Ornithogalum* bulblet on the segment containing two bulb-scale bases attached to basal plate tissue.

A : Emergence of protuberance from the adaxial surface of outer scale base (os), 20 days after planting.

B : Growing protuberance, 30 days after planting.

C : Differentiation of the second leaf, 40 days after planting.

して培養すると、維管束を含まない方の培養片は生存率は低いが、生存培養片には子球が形成される。このことは反対側の面も再生能力を有するが、より能力の高い面の存在によって多くの場合形成が抑制されていることを示唆している。維管束が片側寄りに縦走り、基本的にその側で子球形成が行われることはりん茎りん茎であるユリ類のりん片についてもいえる。ユリのりん片挿しによる子球形成は向軸面で行われることが一般に認められているが、筆者らが *Lilium longiflorum* 及び *L. laricina* のりん片の維管束の走行位置を観察したところ、いずれも向軸面寄りであった。

横断及び縦断切片の観察において、不定子球の始原体である分裂細胞の発生は表皮及び表皮下細胞に由来し、しかも維管束に最も近い位置にあるこれらの細胞が優勢的に分裂細胞ゾーンを形成してゆくことが認められた。多くの植物において、葉からの不定芽は一般的に表皮または表皮下細胞に由来するようである。すなわち、Bajaj and Mäder(1) は *Anagallis arvensis* の葉及び子葉の組織培養、Naylor and Johnson(10) は *Saintpaulia* の葉挿し、Naylor(11) は *Hyacinthus* の葉挿し、田村(14) は *Hyacinthus* のりん葉片培養、Walker(15) や Godden and Watson(6) はユリのりん片挿しにおいて、いずれも不定芽は表皮または表皮下細胞が起源になっていることを認めている。また、Prevot(12) はしゅじゅの植物の葉組織からの器官形成に関する報告をまとめ、ほとんどの場合、不定芽は表層の組織、不定根はより深層の組織から分化していると述べている。

結局、維管束を通じて移動する栄養物質や細胞分裂刺激物質が、不定芽形成の起源となる表皮及び表皮下の柔組織のうち、幅の方向、厚さの方向において、ともに維管束に最も近い位置の細胞により多く供給され、ここで個体再生能力が他より大になるのではないかと考えられ

る。

表皮及び表皮下細胞の分裂が開始されると表面にふくらみを生じ、次第に大きくなってこれから葉が分化し子球の形態をとってゆくが、その第1葉の分化位置はりん葉の背軸面に生じたふくらみの場合は母りん葉の先端方向の側、向軸面に生じたふくらみではこれと反対の側であった。このことはともに母球の茎軸側に分化することを示している。この点については、形態形成上興味あることではあるが、その原因については不明である。

形成された子球と母りん葉の維管束を連絡する新しい維管束の明瞭な形成は、本観察打ち切り時の2~3葉を分化した段階の子球でもまだ認められなかった。りん葉表面でのふくらみが大きくなった段階で前形成層の分化が認められた標本もあったが、観察打ち切り時まで認められなかったものも多く、標本によってかなり異なっていた。母りん葉と子球の維管束のつながりの有無については異説がある。すなわち、Walker(15) は *Lilium longiflorum* と *L. candidum* のりん片挿しにおける子球の維管束系は母りん葉のそれとは連絡せずに独立していると述べ、一方、Godden and Watson(6) は *Lilium* の Olympic, Fiesta及び Bellingham hybrids で、両者が連絡していると報告している。

本研究では、培養後18週目に子球の葉が若干枚分化した時点で培養を打ち切っているが、この時まで底盤組織を含む培養片で底盤組織からの発根はみられたが、子球からの直接の発根はいずれの培養片でもみられなかった。子球から比較的早期に根が出現すれば、養分吸収の点で母りん葉との維管束連絡は必ずしも要しないと考えられるが、培養片自体からの発根が比較的早期に行われ、一方、子球からの発根が遅い場合には、維管束の連絡があれば子球の発育に役立つであろう。この点については今後の検討が必要である。

摘 要

ヒガンバナ科の 17 属 20 種, ユリ科の 10 属 15 種の有皮りん茎について, りん葉基部における維管束の走行位置を観察したところ, ヒガンバナ科の属ではすべて背軸面寄りに, ユリ科の属では 2 属の 4 種を除き他は向軸面寄りに平行に縦走していた。

りん葉基部の切片を組織培養すると, 不定的子球がこれの下端部に形成されるが, 前者では背軸面, 後者では向軸面の葉脈沿いの位置に出現する率が高かった。したがって, 維管束からの距離が最も短い部位の個体再生能力が他より大であると考えられる。

両科の一部の属について, 培養中のりん葉基部組織の内部及び外部形態観察を行い, 維管束に最も近い位置の表皮及び表皮下細胞が培養後分裂を開始して新生長点をつくり, 葉を分化しながら子球の形態をとってゆく過程を明らかにした。

引用文献

- BAJAJ, Y. P. S. and M. MÄDER. 1974. Growth and morphogenesis in tissue cultures of *Anagallis arvensis*. *Physiol. Plant.* 32 : 43—48.
- CARUSO, J. L. 1971. Bud formation in excised stem segments of *Verbascum thapsus*. *Amer. J. Bot.* 58 : 429—431.
- CARUSO, J. L. 1974. *In vitro* bud formation in stem segments of *Ailanthus altissima*. *New Phytol.* 73 : 441—443.
- CUTTER, E. G. 1962. Regeneration in *Zamioculcas* : an experimental study. *Ann. Bot.* 26 : 55—70.
- DENNE, M. P. 1960. Leaf development in *Narcissus pseudonarcissus* L. II. The comparative development of scale and foliage leaves. *Ann. Bot.* 24 : 32—47.
- GODDEN, B. F. and D. P. WATSON. 1962. An anatomical study of the origin and development of the bulblets on the scale leaves of lily bulbs. *Mich. Quarterly Bull.* 45 : 45—54.
- HARA, N. 1959. Marginal growth of leaves. *Nature* 183 : 1409—1410.
- JOHNSON, B. B. 1978. *In vitro* propagation of gloxinia from leaf explants. *HortSci.* 13 : 149—150.
- KATO, Y. and S. KAWAHARA. 1972. Bud formation in leaves, leaf fragments and midrib pieces of *Heloniopsis orientalis* (*Liliaceae*). *Planta* 107 : 111—120.
- NAYLOR, E. E. and B. JOHNSON. 1937. A histological study of vegetative reproduction in *Saintpaulia ionantha*. *Amer. J. Bot.* 24 : 673—678.
- NAYLOR, E. 1940. Propagation of *Hyacinthus* by leaf cuttings. *Bull. Torrey Bot. Club* 67 : 602—606.
- PREVOT, P. 1976. Ségrégation et néoformation. *Bull. Soc. Bot. Fr.* 123 : 113—118.
- SAKAI, W. S. 1973. Simple method for differential staining of paraffin embedded plant material using toluidine blue O. *Stain Technol.* 48 : 247—249.
- 田村 親. 1978. ヒヤシンスの培養リン片における不定芽形成. 園学雑. 46 : 501—508.
- WALKER, R. I. 1940. Regeneration in the scale leaf of *Lilium candidum* and *L. longiflorum*. *Amer. J. Bot.* 27 : 114—117.
- WHITE, P. R. 1943. *A Handbook of Plant Tissue Culture*. The Jacques Cattell Press, Lancaster, Pennsylvania.
- WIRTH, K. 1960. Experimentelle Beeinflussung der Organbildung an in vitro kultivierten Blattstücken von *Begonia rex*. *Planta* 54 : 265—293.
- 梁川 正・坂西義洋. 1977. アマリリスのりん茎のしゅじゅの部位から採取した組織の培養片における子球形成. 園学雑. 46 : 250—260.
- 梁川 正・坂西義洋. 1980. 有皮りん茎の組織培養における子球形成(第1報) りん葉の各部位における個体再生能力. 園学雑. 48 : 495—502.