

サルビア及びカンパニュラ切片の器官形成に及ぼす 培地環境の影響

梁川 正¹⁾・米澤 秀一¹⁾

Effects of Medium Conditions on Organogenesis of Explants Excised
from *Salvia splendens* and *Campanula medium* plantlets in Vitro

Tadashi YANAGAWA and Shuichi YONEZAWA

抄 録：種子繁殖性植物であるサルビアとカンパニュラ・メディウムを用いて、茎や葉の切片の組織培養を行うことによって、器官形成に及ぼす培地環境の影響について検討した。両種の茎切片、葉切片及びカルス切片を培養した結果、培地に添加した植物生長調節物質の種類と濃度に応じて、不定芽や不定根の形成が認められ、栄養的に苗を得るための方法が示された。得られた結果は、新しい品種の改良が行われた際などに、組織培養の手法を用いた苗の栄養繁殖や培養容器内での品種保存などのための資料になると考えられた。

キーワード：サルビア、カンパニュラ・メディウム、植物生長調節物質、培地環境、器官形成

I. 緒 言

植物体の中で、自らを再生しうる能力を本来持っている部位は茎頂と胚の2カ所である。茎頂や胚を用いずに、個体を再生する方法は、組織培養によって人為的に胚を誘導し、得られた胚をそのまま発育させる方法と、培養によって人為的に茎頂（不定芽）を誘導させる方法である。多くの植物では植物体から採取された茎頂を含む種々の切片を培養して、培養後に形成された不定芽から個体を再生する増殖法が確立している。

本報告では、種子繁殖性植物であるために、組織培養を用いた増殖技術がこれまでに報告されていないサルビア及びカンパニュラ・メディウムを用い、これらの植物体から採取した茎や葉の切片の器官形成に及ぼす培地環境の影響について検討した。

II. 材料及び方法

実験1 植物切片からの器官形成に及ぼす植物生長調節物質の影響

材料にはサルビア（品種‘ホットジャズスペシャル’）及びカンパニュラ・メディウム（品種‘メイパープル’）の *in vitro* で無菌的に発芽、生育させた植物体（播種後約3ヶ月）を用いた。これらの無菌植物から約10mm長の節を含まない茎切片及び5mm四角の葉身切片を作成した。供試培地にはMurashige and Skoog (MS) の培地¹⁾に植物生長調節物質である α -ナフタレン酢酸

1) 京都教育大学

(NAA) 及び 6-ベンジルアデニン (BA) をそれぞれ 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0ppm の濃度で組み合わせた10区の添加区を作成し、それぞれの区に 20g/ℓ のショ糖及び 8g/ℓ の寒天を添加した。培地は pH5.8 に調整し、処定の各成分を溶解した後、18×140mm の硬質試験管に 10ml ずつ分注してオートクレーブ滅菌した。作成された切片は、1 切片ずつ培地に突き刺して垂直に立てて置床した。培養条件は 25±1℃、湿度 60±10%、照度 3,000lux、16 時間日長とした。

実験 2 種々の採取部位が切片の器官形成に及ぼす影響

供試材料は実験 1 と同様な方法で得られた無菌植物体を、茎切片の採取部位の比較を行うために、先端部側（茎頂より約 5cm）と基部側（培地面より約 5cm）とに切り分け、それぞれから約 1cm 長の節を含まない茎の先端部の切片と基部の切片を作成した。また、葉については、葉柄を含む部分と葉身部のみの部分に区別して 2 種類の葉切片を作成した。

供試培地には、サルビア切片の培養のためには実験 1 の結果より、不定芽形成に最も効果のあった NAA2.0ppm と BA1.0ppm の添加培地を用いた。カンパニュラ切片の場合には NAA0.5ppm と BA0.5ppm の添加培地を用いた。なお、培養条件は実験 1 と同じとした。

実験 3 切片に形成されたカルスからの再器官形成に及ぼす植物生長調節物質の影響

供試材料には実験 1 で茎切片より形成された培養開始後 30 日目のカルスから、大きな塊の切片（10mm 四角）と小さな塊の切片（5mm 四角）の 2 種類の大きさのカルス塊切片を作り再器官形成させるための培養実験に供試した。培地には、実験 1 で不定芽形成に比較的效果がみられた植物生長調節物質添加培地を用い、サルビアでは 5 種類の培地、カンパニュラでは 4 種類の培地を用いた。なお、培養条件については実験 1 と同じとした。

III. 結 果

実験 1 植物切片からの器官形成に及ぼす植物生長調節物質の影響

サルビアでは、NAA を 2.0ppm 添加した区以外の試験区において、培養開始後 20 日目までに葉切片はすべて枯死した。また、茎切片もこれらの区では枯死する切片が非常に多く、生存している切片は、培養開始後 10 日目頃よりカルスを形成し始め、培養後 30 日目頃までにすべての切片でカルス形成が認められた。不定芽形成、不定根形成については、培養後 10 日目頃までに一度カルスを形成し、その後、これらのカルスから不定芽、不定根が形成された。そして、培養後 50 日目以上経った切片には器官形成はみられなかった。生存切片率、不定芽形成切片率、切片あたりの不定芽数を考慮すると、茎切片からの不定芽形成には NAA0.5ppm と BA2.0ppm を添加した区、または NAA2.0ppm と BA1.0ppm 添加区がここでは最も適した培地であると考えられた。不定根形成には NAA2.0ppm と BA0.5ppm を添加した培地が適していると考えられた。一方、葉切片ではいずれの添加区においても不定芽、不定根の形成を観察することはできなかった（第 1 表）。

カンパニュラでは、植物生長調節物質を加えた培地において、生存切片率、カルス形成切片率がともに 100% で、培養開始後 10 日目頃よりカルス形成がみられ、培養後 20 日目までにすべての切片でカルスが形成された。不定芽は培養後 20 日目頃よりカルスから形成がみられ、いずれの培地においても比較的高い形成率を示した。なかでも NAA0.5ppm と BA0.5ppm を添加した区で不定芽形成切片率、切片あたりの不定芽数がともに最も高かった。しかし、不定根形成は NAA1.0ppm と BA1.0ppm を添加した区で茎切片を培養した場合以外ではいずれの区でも不定根形成切片率は低かつ

第1表 サルビアの茎及び葉切片の器官形成に及ぼす植物生長調節物質の影響

植物生長調節物質 濃度	切片の 種類	供試 切片数	生存 切片数	カルス形成 切片数(%) ¹⁾	不定芽形成 切片数(%) ¹⁾	不定根形成 切片数(%) ¹⁾	切片あたりの 不定芽数	切片あたりの 不定根数
NAA 0ppm	茎	16	8	0(0)b ²⁾	4(50)bc ²⁾	6(75)b ²⁾	1.8a ³⁾	2.0a ³⁾
BA 0ppm	葉	24	0	0(0)b	—	—	—	—
NAA 0.5ppm	茎	16	4	16(100)a	2(50)bc	2(50)bc	1.0a	1.0a
BA 0.5ppm	葉	24	0	24(100)a	—	—	—	—
NAA 0.5ppm	茎	24	24	24(100)a	12(50)bc	6(25)c	2.3a	3.0a
BA 1.0ppm	葉	16	0	16(100)a	—	—	—	—
NAA 0.5ppm	茎	24	22	24(100)a	16(73)b	6(27)c	1.8a	3.3a
BA 2.0ppm	葉	16	0	16(100)a	—	—	—	—
NAA 1.0ppm	茎	24	24	24(100)a	8(33)c	20(83)ab	1.8a	4.4a
BA 0.5ppm	葉	16	0	16(100)a	—	—	—	—
NAA 1.0ppm	茎	16	2	16(100)a	2(100)a	2(100)a	1.0a	2.0a
BA 1.0ppm	葉	24	0	24(100)a	—	—	—	—
NAA 1.0ppm	茎	24	10	24(100)a	8(80)ab	0(0)d	1.8a	—
BA 2.0ppm	葉	16	0	16(100)a	—	—	—	—
NAA 2.0ppm	茎	24	24	24(100)a	4(19)c	20(83)ab	1.0a	7.1a
BA 0.5ppm	葉	14	14	14(100)a	—	—	—	—
NAA 2.0ppm	茎	24	24	24(100)a	14(58)bc	8(33)c	1.1a	1.0a
BA 1.0ppm	葉	16	16	16(100)a	—	—	—	—
NAA 2.0ppm	茎	24	24	24(100)a	2(8)c	10(42)c	1.0a	2.4a
BA 2.0ppm	葉	14	12	12(100)a	—	—	—	—

培養後50日目の結果

¹⁾ 生存切片に対する器官形成切片の割合²⁾ Z検定による結果 (5%レベル)³⁾ ダンカンの多重検定による結果 (5%レベル)

同一英小文字間については有意差がないことを示す。

第2表 カンパニュラの茎及び葉切片の器官形成に及ぼす植物生長調節物質の影響

植物生長調節物質 濃度	切片の 種類	供試 切片数	生存 切片数	カルス形成 切片数(%) ¹⁾	不定芽形成 切片数(%) ¹⁾	不定根形成 切片数(%) ¹⁾	切片あたりの 不定芽数	切片あたりの 不定根数
NAA 0ppm	茎	18	10	0(0)b ²⁾	7(70)ab ²⁾	4(40)a ²⁾	3.0a ³⁾	6.8a ³⁾
BA 0ppm	葉	22	0	—	—	—	—	—
NAA 0.5ppm	茎	22	22	22(100)a	20(91)a	2(9)b	2.9a	2.0b
BA 0.5ppm	葉	18	18	18(100)a	16(89)a	4(22)ab	3.1a	1.5b
NAA 0.5ppm	茎	16	16	16(100)a	10(63)ab	0(0)c	1.4b	—
BA 1.0ppm	葉	24	24	24(100)a	8(33)b	2(8)b	2.0ab	2.0b
NAA 0.5ppm	茎	16	16	16(100)a	8(50)ab	0(0)c	1.3b	—
BA 2.0ppm	葉	24	24	24(100)a	14(58)ab	0(0)c	2.1ab	—
NAA 1.0ppm	茎	16	16	16(100)a	12(75)ab	2(13)ab	1.8ab	2.0b
BA 0.5ppm	葉	24	24	24(100)a	8(33)b	2(8)b	3.0a	3.0b
NAA 1.0ppm	茎	16	16	16(100)a	12(75)ab	9(56)a	1.8ab	2.3b
BA 1.0ppm	葉	24	24	24(100)a	10(42)b	6(25)ab	3.2a	2.0b
NAA 1.0ppm	茎	16	16	16(100)a	10(63)ab	0(0)c	2.2ab	—
BA 2.0ppm	葉	24	24	24(100)a	6(25)b	0(0)c	2.3ab	—
NAA 2.0ppm	茎	24	24	24(100)a	18(75)ab	0(0)c	1.2b	—
BA 0.5ppm	葉	16	16	16(100)a	4(25)b	2(13)ab	1.5ab	5.0a
NAA 2.0ppm	茎	16	24	16(100)a	8(50)ab	0(0)c	1.0b	—
BA 1.0ppm	葉	24	16	24(100)a	8(33)b	0(0)c	1.0b	—
NAA 2.0ppm	茎	22	22	22(100)a	10(46)b	2(9)b	2.2ab	1.0b
BA 2.0ppm	葉	18	18	18(100)a	0(0)c	0(0)c	—	—

培養後50日目の結果

¹⁾ 生存切片に対する器官形成切片の割合²⁾ Z検定による結果 (5%レベル)³⁾ ダンカンの多重検定による結果 (5%レベル)

同一英小文字間については有意差がないことを示す。

第3表 採取部位を異にしたサルビア切片の器官形成

切片の 種類	供試 切片数	生存 切片数	カルス形成 切片数(%) ¹⁾	不定芽形成 切片数(%) ¹⁾	不定根形成 切片数(%) ¹⁾	切片あたりの 不定芽数	切片あたりの 不定根数
茎の先端部	12	12	12(100)a ²⁾	9(75)a ²⁾	8(67)a ²⁾	1.3a ³⁾	2.1a ³⁾
茎の基部	12	12	12(100)a	8(67)a	7(58)a	1.1a	2.0a
葉の葉柄部	12	11	11(100)a	2(18)b	3(27)b	1.0a	1.7a
葉の葉身部	12	9	9(100)a	0(0)c	0(0)c	—	—

MS(NAA0.5ppm+BA0.5ppm) 培地で培養後70日目の結果

¹⁾ 生存切片に対する器官形成切片の割合²⁾ Z検定による結果(5%レベル)³⁾ ダンカンの多重検定による結果(5%レベル)

同一英小文字間については有意差がないことを示す。

第4表 採取部位を異にしたカンパニュラ切片の器官形成

切片の 種類	供試 切片数	生存 切片数	カルス形成 切片数(%) ¹⁾	不定芽形成 切片数(%) ¹⁾	不定根形成 切片数(%) ¹⁾	切片あたりの 不定芽数	切片あたりの 不定根数
茎の先端部	12	12	12(100)a ²⁾	12(100)a ²⁾	11(92)a ²⁾	3.2a ³⁾	2.4a ³⁾
茎の基部	12	12	12(100)a	11(92)a	7(58)a	2.8a	2.0a
葉の葉柄部	12	12	12(100)a	10(83)ab	9(75)ab	2.4a	2.2a
葉の葉身部	12	10	10(100)a	7(70)b	0(0)c	2.4a	—

MS(NAA0.5ppm+BA0.5ppm) 培地で培養後70日目の結果

¹⁾ 生存切片に対する器官形成切片の割合²⁾ Z検定による結果(5%レベル)³⁾ ダンカンの多重検定による結果(5%レベル)

同一英小文字間については有意差がないことを示す。

た(第2表)。

実験2 種々の採取部位が切片の器官形成に及ぼす影響

採取部位を変えて、茎と葉の切片の器官形成の様相を比較しても、サルビア、カンパニュラともに葉切片よりも茎切片の方が不定芽形成切片率は高かった。茎の先端部切片と基部切片との比較では、いずれの種類も先端部切片の方が、わずかに不定芽形成切片率は高いという結果が得られたが、統計処理の結果によると有意な差はみられなかった。また、サルビアでは、葉の葉柄部分から採取した切片であれば不定芽を形成させることができた(第3表)。カンパニュラの葉切片では、葉身部分の切片よりも葉柄部分の切片の方が、不定芽形成切片率は高かった(第4表)。

実験3 切片に形成されたカルスからの再器官形成に及ぼす植物生長調節物質の影響

サルビアの茎切片を培養して得られたカルス切片を培養した結果、培養開始後20日目頃より、不定芽、不定根を形成し始め、培養後50日目までに供試したカルス切片の半分以上で再器官形成をさせることができた。また、新たに器官を形成しなかったカルス切片については培養後40日目頃より枯死し始めた。培養後50日目の結果によると、大きい塊にしたカルス切片を培養した場合に実験1で最も効果のあったNAA0.5ppmとBA2.0ppmを添加した培地、またはNAA2.0ppmとBA1.0ppmを添加した培地において、不定芽形成率は100%となり、小さい塊のカルス切片でも80%以上の高い不定芽形成切片率を示した(第5表)。

カンパニュラの茎切片から得られたカルス切片を培養した場合も、サルビアと同様、培養開始20日目頃より不定芽、不定根を形成し始め、培養後50日目までには、不定芽形成切片率が平均90%を

第5表 サルビア切片のカルスからの再器官形成に及ぼす植物生長調節物質の影響

植物生長調節物質 濃度	カルスの 大きさ	供試 切片数	生存 切片数	不定芽形成 切片数(%) ¹⁾	不定根形成 切片数(%) ¹⁾	切片あたりの 不定芽数	切片あたりの 不定根数
NAA 0.5ppm	大	12	12	12(100)a ²⁾	4(33)b ²⁾	1.3a ³⁾	1.5a ³⁾
BA 2.0ppm	小	12	8	7(88)b	2(25)b	1.4a	1.5a
NAA 1.0ppm	大	12	12	10(83)b	1(8)c	1.5a	1.0a
BA 2.0ppm	小	12	9	6(67)bc	1(11)b	1.7a	1.0a
NAA 2.0ppm	大	12	12	7(58)c	6(50)a	1.7a	1.3a
BA 0.5ppm	小	12	10	4(40)c	0(0)d	1.8a	—
NAA 2.0ppm	大	12	12	12(100)a	5(42)a	2.0a	1.6a
BA 1.0ppm	小	12	12	10(83)b	2(17)b	1.8a	2.0a
NAA 2.0ppm	大	12	12	7(42)c	3(25)b	1.3a	1.0a
BA 2.0ppm	小	12	12	5(42)c	1(8)c	1.6a	2.0a

培養後50日目の結果

¹⁾生存切片に対する器官形成切片の割合²⁾Z検定による結果(5%レベル)³⁾ダンカンの多重検定による結果(5%レベル)

同一英小文字間については有意差がないことを示す。

第6表 カンパニュラ切片のカルスからの再器官形成に及ぼす植物生長調節物質の影響

植物生長調節物質 濃度	カルスの 大きさ	供試 切片数	生存 切片数	不定芽形成 切片数(%) ¹⁾	不定根形成 切片数(%) ¹⁾	切片あたりの 不定芽数	切片あたりの 不定根数
NAA 0.5ppm	大	12	12	12(100)a ²⁾	10(83)a ²⁾	3.5a ³⁾	1.3a ³⁾
BA 0.5ppm	小	12	12	12(100)a	8(67)ab	3.3a	1.3a
NAA 0.5ppm	大	12	12	10(83)b	8(67)ab	2.9a	1.8a
BA 1.0ppm	小	12	12	9(75)b	5(42)b	2.7a	1.2a
NAA 1.0ppm	大	12	12	11(92)ab	9(75)ab	2.7a	1.2a
BA 0.5ppm	小	12	12	11(92)ab	5(42)d	2.5a	1.0a
NAA 1.0ppm	大	12	12	12(100)a	7(59)ab	3.4a	1.3a
BA 1.0ppm	小	12	12	10(83)b	6(50)b	2.6a	1.2a

培養後50日目の結果

¹⁾生存切片に対する器官形成切片の割合²⁾Z検定による結果(5%レベル)³⁾ダンカンの多重検定による結果(5%レベル)

同一英小文字間については有意差がないことを示す。

越えるほどの高い値を示した。なかでも培養後50日目の結果では、NAA0.5ppmとBA0.5ppmを添加した培地で不定芽形成切片率、切片当たりの不定芽数が最も高い値を示した。また、カンパニュラの場合にはカルス切片の大きさによる器官形成に顕著な差は認められなかった(第6表)。

IV. 考 察

サルビア及びカンパニュラは種子繁殖性植物であるので、組織培養による器官形成に関する報告はみられないが、本実験では新しい品種の改良が行われた際などに組織培養の手法を用いて栄養的に大量に苗を増殖するための方法や培養容器内での品種の保存などのための資料を得る目的で、両種の茎や葉の切片を組織培養して器官形成のための培地環境について検討した。

その結果、不定芽形成切片率に差がみられたものの、いずれの植物も容易に不定芽を形成させることができた。不定芽、不定根の誘導には本実験で用いたNAAなどのオーキシンとBAなどのサイトカイニンのバランスによって制御されることがSkoog and Miller¹¹⁾によって見いだされており、この実験が基礎となり、その後、若干の例外があるもののオーキシンの濃度がサイトカイニンの濃度よりも高くなると不定根が、逆にオーキシンの濃度がサイトカイニンの濃度よりも低くなると不

定芽が形成される例が200を越える植物種で確認されている。本実験で供試したサルビア、カンパニュラについても、若干これに当てはまらない試験区があったが、オーキシシンとサイトカイニンのバランスにより、不定芽や不定根が形成されたことを認めた。このように植物切片を培養する際の培地環境は非常に重要で、器官形成の方向を決定づけ、増殖目的で利用する場合には不定芽を効率的に得るための培地環境を検討することが必要である。本実験の結果より、組織培養により茎頂や胚などの摘出が困難な部位を必ずしも用いなくとも、サルビア及びカンパニュラの茎や葉の切片から効率よく不定芽を育成するための培地環境として、サルビアではNAA0.5ppmとBA2.0ppmの組み合わせまたはNAA2.0ppmとBA1.0ppmを組み合わせ添加したMS培地、カンパニュラではNAA0.5ppmとBA0.5ppmを添加したMS培地を示すことができた。

培地環境の他に、植物体から採取する切片の部位も多く不定芽を得るために検討することが必要な要因で、母株の齢、切片の齢、季節的変動など、多くの要因が関与することが知られている。一般に、若い植物あるいは若い器官から採取した切片では古いものに比べて不定芽形成が容易である場合が多い。本実験でも、サルビア及びカンパニュラの茎の切片では、ともに基部の切片よりも先端部の切片の方が器官形成率は高かった。これは基部よりも先端部の方が、若い組織であることによると考えられる。

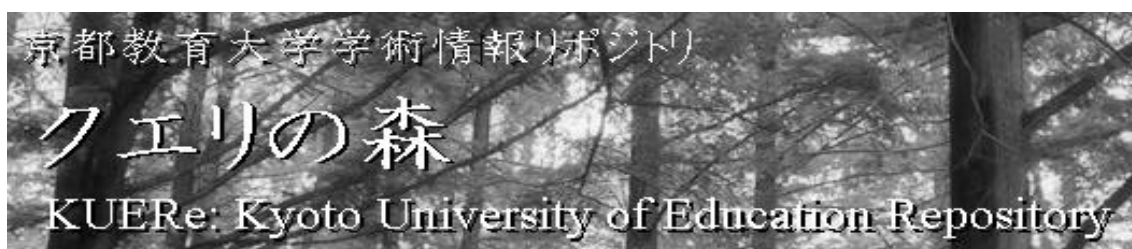
葉切片の培養については、園芸植物の中では再生が難しい種類が多く、器官形成に成功した報告にはキク、ストック、ショウジョウバカマ、トルコギキョウ、セントポーリアなどがある^{1,2,4,3,5)}。葉切片の場合、母株の植物体上の採取する切片の位置も器官形成に重要な要素で、葉のどの部分から採取した切片が器官形成能が高いかという点については、種類によって異なった結果が報告されている。例えば、ストックでは中央脈に近い葉身の中心部の切片の不定芽形成率が高く²⁾、一方、シクラメンでは葉身切片では全く形成されずに、葉柄切片にのみ形成がみられ、しかも、明所で育った普通葉から採取した葉柄切片に比べ、黄化させた葉柄の切片は著しく不定芽形成率が高まる³⁾ことが報告されている⁶⁾。葉が養分を蓄えて変形した球根植物のりん片から採取されたりん片切片の培養でも、カノコユリ、ヒアシンズやヒガンバナ科の球根植物ではりん片上部から採取した切片に対して、基部から採取した切片で不定芽形成能が著しく高くなる^{10,8,9,12,13)}ことが認められている。本実験でも葉身部の切片と葉柄部分の切片とで器官形成に対する反応は著しく異なった。

なお、本実験では無菌状態を維持するために、オートクレーブで培地を滅菌し、クリーンベンチ内で無菌操作を行ったが、梁川の方法¹⁴⁾にしたがい、塩素殺菌剤を培地に加用したり、切片を植え付けた後に塩素殺菌剤を噴霧することにより、上記の設備を使わなくても上述の実験を行えることを確認している。それらの結果については別に取りまとめる予定である。

引用文献

- 1) 深井誠一. 1986. キクの葉片培養におけるカルスの生長と器官形成におよぼす糖の影響. 植物組織培養 3:71-77.
- 2) 福住久代. 1992. ストックの葉片培養. 花のバイオ技術 (新美芳二編) 誠文堂新光社 東京 pp.74-75.
- 3) 古川 一・岸田国興・深井誠一. 1988. トルコギキョウの葉片からの植物体再生. 植物組織培養 5:96-97.
- 4) Kato, Y. and S. Kawahara. 1972. Bud formation in leaves, leaf fragments and midrib pieces of *Heloniopsis orientalis* (Liliaceae). Planta 107:111-120.
- 5) 箱崎美義. 1993. セントポーリアの葉外植片のカルス形成およびシュート形成に及ぼすオーキシシンおよびサイトカイニンの影響. 明治大農研報. 96:27-41.

- 6) Murasaki, K. and H. Tsurushima. 1988. Improvement on clonal propagation of cyclamen in vitro by the use of etiolated petioles. *Acta Hort.* 226:721-724.
- 7) Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15:473-479.
- 8) Pierik, R.L.M. and J. Woets. 1971. Regeneration of isolated bulb scale segments of hyacinth in vitro. *Acta Hort.* 23:423-428.
- 9) Pierik, R.L.M. and M.A. Ruibing. 1973. Regeneration of bulblets on bulb scale segments of hyacinth in vitro. *Neth. J. Agric. Sci.* 21:129-138.
- 10) Robb, S.M. 1957. The culture of excised tissue from bulb scales of *Lilium speciosum* Thunb. *J. Exp. Bot.* 8:348-352.
- 11) Skoog, F. and C.O. Miller. 1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured in vitro. *Symp. Soc. Exp. Biol.* 11:118-130.
- 12) 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. *園芸学会雑誌* 46:250-260.
- 13) 梁川 正・坂西義洋. 1980. 有皮りん茎の組織培養による子球形成(第1報) りん茎の各部位における個体再生能力. *園芸学会雑誌* 49:495-502.
- 14) 梁川 正. 1997. 植物用培地または植物用培養液. 公開特許公報(A)特開平 9-235208.



この文献は、国立情報学研究所において電子化されたものを、本学でテキスト加工したものです。

