

2 用語の説明

この報告書で用いた主な用語を解説する。

外植体：培養に用いた部位の総称，茎頂，新梢のシュート，成熟胚などがある

茎 頂：ここでは主に芽の中にある成長点を含む周辺組織のことであるが，一部には伸長中の枝先の成長点を含む周辺組織をさす場合もある

腋芽を含む周辺組織：キハダでは粘液が多く，茎頂の摘出は困難であるため，腋芽を含んだ 5 mm 程度を外植体として用いている

シュート：ここでは主に外植体から伸びた小さな幹のことをいう，今回は 0.5cm または 1 cm 以上伸長したものをシュートして数えた

マルチプルシュート：多くの芽を持つ塊（多芽体）のこと

初代培養：外植体を培地に置床して培養すること

継代培養：初代培養において外植体から得られたシュートを用いて培養すること，これを繰り返すことにより大量増殖が出来る

節部切片：伸びたシュートを小さな芽を持つ節部に切り分けたもの。これを培養すると新たなシュートが伸びてくる

培地：植物の組織培養において，栄養素を入れて外植体に生育環境を提供するもの。固体培地と液体培地があるが，ここでは固体培地である寒天培地を用いた。本書では木本用に開発された WPM を用いたが，一部の樹種では SH 培地を用いた。培地の pH は 5.6 ～ 5.8 である。

成長調節物質：植物成長調節物質で，サイトカイニン，ジベレリン，オーキシンの種類がある

BAP：6-ベンジルアミノプリンのこと，植物の成長を刺激する合成サイトカイニン，サイトカイニン (cytokinin) とは植物ホルモンの一種

GA：ジベレリンのこと，植物ホルモンの一種

NAA：アルファナフタレン酢酸で，植物ホルモンの一群であるオーキシンと同じ作用をする合成オーキシンである

IBA：インドール-3-酪酸，植物ホルモンの一種で，天然に存在するオーキシン

次亜塩素酸ナトリウム溶液：次亜塩素酸(NaClO)の水溶液で，外植体の表面殺菌に用いる，希釈された水溶液はアンチホルミンとも呼ばれる

過酸化水素水 (H₂O₂)：外植体の表面殺菌に用いる

塩化第二水銀(HgCl₂)：水に溶かして外植体の表面殺菌に用いる

発 根：シュートから根を出させること，またはシュートから根が出ること

順 化：発根までは無菌状態の容器の中で培養しているが，発根したシュートを容器から取り出し，外の環境に慣らすこと

3 組織培養の手順

組織培養を行う場合、まず最初に外植体（茎頂及び茎頂を含む周辺組織、胚など）を採取し、表面殺菌を行う。

次に外植体からシュートを伸ばさせるのだが、当场では主に以下の2つの方法で行った。

- ①外植体からシュートを伸ばさせ、そのシュートを節部に切り分け、そこからさらにシュートを出させ、これを繰り返すことにより、大量増殖を行う方法（図-1）
- ②外植体から多くの芽を含んだ多芽体（含む苗状原基）をつくり、これを切り分けてさらに多くの多芽体を増殖させ、それぞれの芽からシュートを伸ばさせ、大量増殖を行う方法（図-2）

シュートが伸びたらそれを根元から切断し、発根させる。ここまでは通常無菌状態で行う。

その後、容器から取り出し、育苗箱やプラグなどの容器に移植し、外の空気に馴らす作業（順化、馴化という）を行う。順化した苗木は一般的な苗木と同じように育苗する。

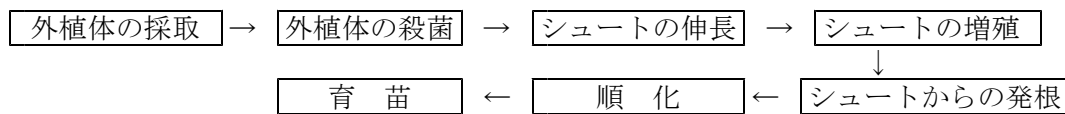


図-3-1 節部切片による大量増殖法

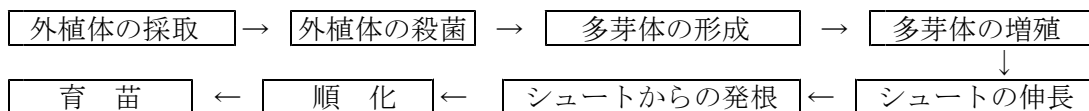


図-3-2 多芽体(マルチプルシュート)による大量増殖法

以下に例として節部切片の培養について記す。

まず、培養の第1段階である殺菌は、通常エチルアルコールで30秒間ほど表面殺菌を行い、その後1%次亜塩素酸ナトリウム溶液で10～15分程度行うが、樹種によってはこの方法では殺菌が難しいことがある。その場合、殺菌時間を長くしたり、過酸化水素水、塩化第二水銀などを用いることがある。

表面殺菌した外植体からクリーンベンチ内において無菌的に培養する部分（茎頂など）を取り出して、寒天培地または液体培地で培養する。樹種毎に用いた培地と成長調節物質を記してあり、培地毎の成分は「6 使用した培地の成分組成表」(P.67)に掲載してある。

培養開始後、数日～数週間でコンタミ（雑菌汚染）があるかどうか判明するので、殺菌が出来たかどうか分かる。

殺菌が出来た培養物からは速いものでは2週間程度からシュートが伸長する。シュートの伸長の判定は一般に培地に置床してから2～3ヶ月経過後に行った。シュートとは5 mm以上、または1 cm以上伸長したものとした。シュートの伸長には主に基本的な培地と添加する成長調節物質の種類と濃度が係わっている。なお、以下茎頂などの外植体の培養を初代培養と呼ぶことにする。

次に、シュートの増殖は、シュートを根元から切断し、1芽以上を含む節部切片に切断し、培地に置床する。その後約1ヶ月ほどで節部切片から新たなシュートが伸長する。これを何回も繰り返すことにより、短期間に大量増殖が可能となる。しかし、節部切片から新たなシュートが伸長しない場合もある。なお、繰り返し増殖する作業を継代培養と呼ぶことにする。

その後増殖したシュートを根元から切断し、発根培地に移植し、発根させる必要がある。一般に寒天培地で発根させることが多いが、種類によってはバーミキュライトなどに挿して発根させる場合もある。シュートが増殖しても、発根が難しければ大量増殖はできない。

発根したシュートを容器などから取り出し、育苗箱やプラグなどに移植し、育苗する。苗木がある程度成長すると、路地に下ろし、実生苗と同じように育苗する。

4 組織培養を行った樹種と増殖状況

当場でこれまで組織培養の実験を行った樹種は 24 科 75 種だが、品種・系統などを含めると 140 種類以上にもなる。

これを

- ①殺菌が可能か、
- ②シュートが伸びるか（多芽体を形成できるか）、
- ③伸びたシュートからシュートを増やせるか（多芽体が増殖しシュートが伸長するか）、
- ④シュートから発根するか

について、各樹種毎に取りまとめ、表 4-1-1, 2 に示した。

（1）大量増殖が可能となった樹種

エゾヤマザクラ、チシマザクラ、サクラ登録品種「大雪」、チシマザクラ登録品種「国後陽紅」、ナナカマド、シラカンバ、アロニア・メラノカルパ、ヤチヤナギなどササ類 3 種、草本 2 種を含む 33 種とサクラ登録品種 3 種である。

さらにエゾヤマザクラでは 18 個体、チシマザクラでは 22 個体、ハンノキバノザイフリボクでは 11 個体など、多くの個体・系統の培養に取り組んでおり、サクラ類は三笠遺伝資源集植所に植栽し、遺伝子の保存に努めている。

また、これらの樹種の増殖技術のほとんどは民間企業や町営の組織培養施設などに技術移転をしている。

（2）シュートが伸長し、発根も可能であったが、技術移転には至らなかった樹種

カラマツ、グイマツ、グイマツ雑種 F1、サトザクラ 5 品種など 10 種があげられる。

カラマツ、グイマツ、グイマツ雑種 F1 では、茎頂や成熟胚からの植物体の再生は可能であったが、培養苗は成長が緩慢であり、しかも成長しても通直な幹とはならないことから、技術移転は行えなかった。

サトザクラ 5 品種では「福祿寿」だけが大量増殖は可能であったが、その他の 4 品種は増殖率が低いものが多く、さらなる培地の検討が必要である。

また、シュートの増殖率が低いものや発根率が低いものがあり、実用化するためには増殖率や発根率が高い培地の検索が必要である。

（3）シュートの増殖は可能であったが、発根しなかった樹種

アカエゾマツ、ダフリカサンザシ、アラゲアカサンザシがあり、実用化するためには発根用培地の検索が必要である。

（4）シュートが伸びたが、シュートの増殖に至らなかった樹種

ウラジロナナカマド、セイヨウスモモ、キミノエゾニワトコ、ニセアカシア、ブルーベリーである。実用化するためには各段階における培地の検索が必要である。

（5）殺菌は可能であったが、シュートが伸長しなかった樹種

トドマツ、キハダ、イタヤカエデ、クロビイタヤ、セイヨウトチノキなど 19 樹種である。

実用化するためには各段階における培地の検索が必要である。

（6）殺菌が出来なかった樹種

カシワ、カラコギカエデ、ガマズミ、ニオイガマズミであり、今後実験をする場合は、材料の採取時期や殺菌方法から検討しなければならない。