

5 各樹種毎の実験結果

(1) エゾヤマザクラ (Cerasus sargentii)

1) 林試構内選抜個体

培養部位：茎頂

実験時期：1～12月

殺菌方法：①小枝を冬芽を含んだ長さ2 cm程度に切断

②流水で1時間

③70%エタノールで30秒間表面殺菌

④次亜塩素酸ナトリウム溶液(有効塩素1%)で15分間表面殺菌

⑤滅菌水で3回濯ぐ

基本培地：WPM + 成長調節物質 + ショ糖 20g/L + 寒天 8g/L

成長調節物質：BAP0.25～4 mg/L, IBA0.1mg/L, GA0～4 mg/L

発根培地：① WPM + パーミキュライト + ショ糖 20g/L

② WPM + ショ糖 20g / L + 寒天 8 g/L

培養条件：25℃, 約3000ルクス, 16時間照明

結果

①殺菌はほぼ100%可能であった。

②1年を通じて茎頂培養を行った結果、増殖率が高かった時期は2月と6月であった。

③いずれの培地ともジベレリンを添加したほうが、シュート(1cm以上)の増殖が良いことがわかった。

④茎頂をBAP 4 mg/Lで1ヶ月培養し、1 mg/Lに下げた場合が、もっとも増殖率が高かった。茎頂からの増殖率は2ヶ月間で最大4.2倍であった。

⑤継代培養では初期培地で2週間培養後、移植培地に移すと、1ヶ月毎に増殖ができ、増殖率もきわめて高かった。

⑥各月のシュートの増殖率を累計すると、1年間で1つの茎頂から最大783億本以上のシュートが得られた。

⑧シュートからの発根率はいずれの方法とも80%以上であった。

⑦寒天培地で発根させた根は太くて分岐が少なく、パーミキュライトで発根させた根は分岐が多く、細根が多いこと、また発根に培地には成長調節物質を含まなくても良いことがわかった。

結論

①エゾヤマザクラ林試構内選抜個体の大量増殖に初めて成功した。

②基本培地にはWPMを用い、シュートの伸長や増殖には成長調節物質としてBAPやジベレリンを添加すると有効であった。

③初代培養に2ヶ月、その後毎月継続してシュートの増殖が可能であった。

④増殖率を単純に累計すると、1茎頂から1年間に得られるシュート数は730億本以上になった。

⑤当场で増殖した個体の一部は、当场構内および三笠遺伝資源集植所に保存してある。

文献・資料

佐藤孝夫 1988 茎頂培養によるエゾヤマザクラ成木からの植物体再生 日本林学会北海道支部論文集 36: 84～86

佐藤孝夫 1991 エゾヤマザクラの組織培養における茎頂の採取時期と増殖率 日本林学会北海道支部論文集 39: 17～19

佐藤孝夫 1994 茎頂培養法によるエゾヤマザクラの大量増殖 北林試研報 31: 77～86

表-5-1 エゾヤマザクラの茎頂培養

	初代培養 (茎頂培養)	継代培養									
		1代目	2代目	3代目	4代目	5代目	6代目	7代目	8代目	9代目	10代目
増殖率(倍)	4.2	10.8	11.7	6.3	8.1	9.0	15.5	11.8	9.7	15.1	12.0
累計	4.2	45.4	530.7	3343	2.7万	24.3万	378万	4458万	4.3億	65.2億	783億
通算期間	2ヶ月	3ヶ月	4ヶ月	5ヶ月	6ヶ月	7ヶ月	8ヶ月	9ヶ月	10ヶ月	11ヶ月	12ヶ月

(担当：佐藤孝夫)

2) 各地のエゾヤマザクラの培養

- ①道内からの選抜して接ぎ木で増殖した4個体（グリーンプール植栽木）
- ②旧静内町二十間道路桜並木選抜木9個体
- ③和寒町の濃紅色1個体
- ④留萌管内海岸近くの4個体（天塩産・遠別町産各1個体，初山別産2個体）
- ⑤中国北京市玉淵潭公園のエゾヤマザクラ5個体
- ⑥厚岸町国泰寺の老桜樹（エゾヤマザクラ）

培養部位：茎頂

実験時期：2月上旬～3月上旬

殺菌方法：①小枝を冬芽を含んだ長さ2 cm程度に切断

②流水で1時間

③70%エタノールで30秒間表面殺菌

④次亜塩素酸ナトリウム溶液（有効塩素1%）で15分間表面殺菌

⑤滅菌水で3回濯ぐ

基本培地：WPM + 成長調節物質 + ショ糖 20g/L + 寒天 8 g/L

成長調節物質：BAP 0.25 ~ 4 mg/L, IBA 0.1mg/L, GA 0 ~ 8 mg/L

* 茎頂は初期培地で1ヶ月培養後，BAP濃度を下げた培地に移植した

* 継代培養でも2週間後にBAP濃度を下げた培地に移植した

発根培地：WPM + パーミキュライト + ショ糖 20g/L

培養条件：25℃，約3000ルクス，16時間照明

結果

①グリーンプールに植栽してある接ぎ木で増殖した4個体

ア 道内各地から選抜し接ぎ木で増やしたエゾヤマザクラの中から再選抜した4個体。

イ 初代培養における2ヶ月後の増殖率は0.3～3.8倍（3ヶ月後では0.7～5.6倍）であった。

ウ 増殖率が高かった初期培地は，BAP濃度4mg/Lで1ヶ月培養したのち，BAP濃度を1 mg/Lに下げた培地に移植した場合が3個体，0.5mg/Lに移植した場合が1個体であった。

エ 4個体における継代培養1ヶ月間でもっとも高い増殖率は4.2～9.8倍であった。

オ 増殖率は個体間に差があったが，いずれの個体とも茎頂培養法による増殖が可能であった。

②静内町（当時）二十間道路桜並木選抜木9個体

ア 二十間道路の桜並木の中から選抜した花付きの良い9個体。

イ 6個体の培養開始から2ヶ月後の茎頂からのシュートの増殖率は0.2～4.3倍（5ヶ月後の累計では4.8～7.3倍）であった。

ウ 増殖に適したBAP濃度は個体により異なり，初期培地が4 mg/Lで培養したものが4個体，1 mg/Lのものが4個体であったが，1個体では差がなかった。

エ 継代培養（節部切片培養）では，継代1～3代目における最大増殖率は1ヶ月間で1.5～19.4倍であった。

オ シュートからの発根率は平均80%以上であった。

③和寒町産濃紅色の1個体

ア 和寒町内の個人宅に植栽されている濃紅色のエゾヤマザクラ

イ 茎頂の初代培養における2ヶ月後の増殖率は0.7倍であった

ウ 継代培養における増殖率は1ヶ月間で最大9.8倍であった

エ シュートからの発根率は80%以上であった。

④留萌管内海岸近くの4個体（天塩産・遠別町産各1個体，初山別産2個体）

ア 海岸近くから選抜した自生木2個体と植栽木2個体。

イ 茎頂の初代培養における2ヶ月後の増殖率は0.4～2.6倍であった

ウ 継代培養における増殖率は1ヶ月間で最大6.6～13.5倍であった

エ シュートからの発根率は80%以上であった。

⑤中国北京市玉淵潭公園のエゾヤマザクラ 5 個体

- ア 遠軽町開基 100 周年事業の一環として遠軽町から中国に送られたエゾヤマザクラの里帰り事業として、現地で選抜した 5 個体。
- イ 殺菌率は 80 % 以上、5 個体とも茎頂からのシュートが形成された。
- ウ この中から増殖率の高い 3 個体を選び、継代培養で増殖を行った。増殖率は 1 ヶ月当たり約 3 ～ 6 倍であった。
- エ シュートからは容易に発根した。
- オ 順化した苗木 200 本を遠軽町に返還するとともに、遠軽町農業技術センターに技術移転を行った。その後培養苗 500 本が新たに増殖され、遠軽町内の「国際友好の森」に植栽された。

⑥厚岸町国泰寺の老桜樹（エゾヤマザクラ）

- ア 老桜樹は厚岸町の天然記念物に指定されており、町からの依頼により増殖を試みた。
- イ 殺菌率は 90 % 以上、多く茎頂からはシュートが形成された。
- ウ シュートの増殖率は 1 ヶ月当たり 2.8 倍であり、シュートからの発根率は 53 % であった。
- エ 培養苗はすべて厚岸町に返還され、現地で育苗されたのち町内に植栽された。

結論

- ①エゾヤマザクラではいずれの個体でも茎頂からシュートの伸長がみられ、初代培養において増殖率が低くても、継代培養の増殖率が高ければ、大量のシュートが得られることがわかった。
- ②増殖率の高い培地は個体によって異なったので、個体毎の増殖に最適な培地を検索する必要がある。
- ③静内町（当時）二十間道路桜並木選抜木からの培養苗は静内町に、和寒町産濃紅色の個体からの培養苗は桜の木の所有者と和寒町に、留萌管内海岸近くの 4 個体の培養苗は留萌支庁林務課（当時）に、中国の植栽木から増殖した培養苗は遠軽町に、老桜樹は厚岸町に返還された。
- ④増殖した培養苗の一部は当場の三笠遺伝資源集植所にも植栽してある。

文献・資料

- 佐藤孝夫 1993 エゾヤマザクラの茎頂培養法における増殖率の母樹間の差異 日本林学会大会発表論文集 104 : 603 ～ 604
- 西村和浩・山内和雄・佐藤孝夫 1996 組織培養増殖によるエゾヤマザクラの契約栽培 平成 7 年度北海道林業研究発表大会論文集 : 120 ～ 121
- 平成 7, 8 年度 (1995, 1996) 北海道林業試験場年報「組織培養による優良サクラ類の増殖技術の開発」

(担当 : 佐藤孝夫・脇田陽一)

(2) エゾヤマザクラ「クシロヤエ」(さくら登録品種) (Cerasus sagentii 'Kushiro-yae')

培養部位：茎頂

実験時期：2月中旬～3月上旬

殺菌方法：①小枝を冬芽を含んだ長さ2 cm程度に切断

②流水で1時間

③70%エタノールで30秒間表面殺菌

④次亜塩素酸ナトリウム溶液(有効塩素1%)で15分間表面殺菌

⑤滅菌水で3回濯ぐ

基本培地：WPM + 成長調節物質 + ショ糖 20g/L + 寒天 8 g/L

成長調節物質：BAP0.25～4 mg/L, IBA0.1mg/L, ジベレリン0～8 mg/L

* 茎頂は初期培地で1ヶ月培養後、BAP濃度を下げた培地に移植した

* 継代培養でも2週間後にBAP濃度を下げた培地に移植した

発根培地：WPM + バーミキュライト + ショ糖 20g/L

培養条件：25℃, 約3000ルクス, 16時間照明

結果

①殺菌率は90%以上。

②茎頂の初代培養における2ヶ月後の増殖率は0.6倍であった。

③継代培養における増殖率は1ヶ月間で最大3.7倍であった。

④シュートから発根率は未調査であるが、植物体の再生には成功した。

結論

茎頂培養からの植物体の再生には成功している。しかし品種登録をした生産者への配慮から、民間への技術移転は行っていない。

(担当：佐藤孝夫)

(3) カスミザクラ (Cerasus verecunda)

培養部位：茎頂

実験時期：3月上旬

殺菌方法：①小枝を冬芽を含んだ長さ2 cm程度に切断

②流水で1時間

③70%エタノールで30秒間表面殺菌

④次亜塩素酸ナトリウム溶液(有効塩素1%)で15分間表面殺菌

⑤滅菌水で3回濯ぐ

基本培地：WPM + 成長調節物質 + ショ糖 20g/L + 寒天 8 g/L

成長調節物質：BAP0.25～4 mg/L, IBA0.1 mg/L, ジベレリン0～4 mg/L

発根培地：WPM + バーミキュライト + ショ糖 20g/L

培養条件：25℃, 約7000ルクス, 16時間照明

結果

①殺菌率は90%以上。

②多くの茎頂からシュートが形成された。

③シュートの増殖率は1ヶ月あたりは約5倍であった。

④シュートからの発根率は約70%であった。

結論

カスミザクラの茎頂培養による増殖が可能となった。今後鑑賞価値の高い個体が選抜されれば、技術移転を行いたい。

(担当：脇田陽一)

(4) チシマザクラ (Cerasus nipponica var. kurilensis)

供試個体：根室産16個体，幌加内町産6個体

培養部位：茎頂

実験時期：2～3月

殺菌方法：①小枝を冬芽を含んだ長さ2 cm程度に切断

②流水で1時間

③70%エタノールで30秒間表面殺菌

④次亜塩素酸ナトリウム溶液(有効塩素1%)で15分間表面殺菌

⑤滅菌水で3回濯ぐ

基本培地：WPM+成長調節物質+ショ糖20g/L+寒天8g/L

成長調節物質：BAP0.25～4 mg/L, IBA0.1mg/L, ジベレリン0～4 mg/L

発根培地：WPM+バーミキュライト+ショ糖20g/L

培養条件：25℃，約3000ルクス，16時間照明

結果

- ①初代培養における増殖率は，培養開始から2ヶ月後で0～5.2倍であり，シュートの伸長がみられない個体が1個体あった。
- ②初代培養で増殖率が高かった培地は個体により異なるが，BAP1mg, 2mg, 4 mg/Lで1ヶ月培養後0.5mg/Lに移植したものが高かった。
- ③根室産13個体，幌加内産6個体の継代培養での増殖率は，1.0～14.0倍であり，2倍以下の低い個体が3個体，10倍以上が6個体あった。
- ④継代培養では，BAP0.5mgまたは1 mg/Lで2週間培養後0.25mg/Lまたは0.5mg/Lに移植したものが増殖率が高かった。
- ④発根率は平均80～90%であった。

結論

- ①チシマザクラもエゾヤマザクラ同様，茎頂培養法により大量増殖が可能であることが示唆された。しかし一部には増殖率が低く，大量増殖できない個体もみられた。
- ②基本培地にはWPMを用い，シュートの伸長や増殖には成長調節物質としてBAPやジベレリンを添加すると有効であった。
- ③すべての個体に共通して増殖率の高い培地はなく，とくにBAPの濃度は個々の個体毎に最適濃度を検索する必要がある。
- ④茎頂の初代培養において増殖率が低くても，継代培養の増殖率が高ければ，大量のシュートが得られることがわかった。
- ⑤当场で増殖した個体の一部は，当场構内および三笠遺伝資源集植所に保存してある。
- ⑥根室産の個体の中から花弁が濃紅色の個体を「国後陽紅」として品種登録を行った。

表-5-3 茎頂培養法によるチシマザクラの増殖率(倍)

個体名	初代培養	継代培養	個体名	初代培養	継代培養
根室1	0.5	12.8	根室12	2.6	10.1
根室2	2.0	10.8	根室13	2.6	7.0
根室3	1.0	3.3	根室14	0.7	1.0
根室4	0.1	2.3	根室15	3.7	9.3
根室5	0	—	根室16	1.0	4.7
根室6	1.9	6.8	幌加内1	1.1	9.6
根室7	0.8	—	幌加内2	0.8	1.4
根室8	4.8	9.4	幌加内3	0.9	1.0
根室9	1.4	5.1	幌加内4	1.8	10.0
根室10	1.9	5.3	幌加内5	5.2	14.0
根室11	0.2	—	幌加内6	1.2	10.2

初代培養は2～3ヶ月間の増殖率，継代培養は1ヶ月間の最大増殖率

文献・資料

佐藤孝夫 1999 茎頂培養法によるチシマザクラ優良個体の大量増殖 北海道林業試験場研究報告 36 : 1～9 (担当：佐藤孝夫)

(5) チシマザクラ「国後陽紅」(さくら登録品種) (Cerasus nipponica var. kurilensis 'Kunashiri-yoko')

培養部位：茎頂

実験時期：2月下旬

滅菌方法：①小枝を、冬芽を含んだ長さ2cm程度に切断

②中性洗剤500倍液で30分間攪拌洗浄

③70%エタノールで30秒間表面殺菌

④次亜塩素酸ナトリウム溶液(有効塩素1%)で15分間表面殺菌

⑤滅菌水で3回濯ぐ

基本培地：WPM + 成長調節物質 + ショ糖 20g/L + 寒天 8g/L

成長調節物質：BAPを0.5, 1.0mg/L, ジベレリンを0, 4.0mg/L

*茎頂は初期培地で1ヵ月培養後、BAP濃度を下げた培地に移植した

*継代培養でも2週間後にBAP濃度を下げた培地に移植した

発根培地：WPM + 成長調節物質 + ショ糖 20g/L

WPM + バーミキュライト + ショ糖 20g/L

1/2WPM + 成長調節物質 + ショ糖 20g/L

(1/2WPM: WPMの全成分(ショ糖と寒天を除く)を1/2濃度に調整した培地)

成長調節物質：NAAを1.0mg/L, GA₃を4.0mg/L

培養条件：25℃, 約7000ルクス, 16時間照明

結果

①殺菌率は93.3%であった。

②初代(茎頂)培養ではBAP1.0mg/LとBAP0.5mg/Lを添加した培地で増殖率は高かった(表-4-4-1)。

③継代培養では、BAP1.0mg/L+GA₃ 4.0mg/Lを添加した培地では1ヶ月当たりの増殖率は7.0~10.0倍、BAP0.5mg/L+GA₃ 4.0mg/L添加した培地では14.0~15.0倍と高い増殖率であった(表-4-4-2)。

④WP寒天培地および1/2WP寒天培地にNAAを1.0mg/L添加した場合の発根率は96~98%と高かったが、得られた根は太く枝分かれのない単純な形状であった。そのためバーミキュライトの培地にしたところ、数多く枝分かれした複雑な形状の根を持つ苗木が得られた。

結論

当場のサクラ品種登録個体で、組織培養による大量増殖法が確立し、民間に技術移転を行った。

表-4-4-1 チシマザクラ「国後陽紅」の初代培養における増殖率

成長調節物質の濃度	供試数	伸長シュート数	増殖率(倍)
BAP 1.0mg/L + GA 4.0mg/L	10	47	4.7
BAP 0.5mg/L + GA 4.0mg/L	10	31	3.1

表-4-4-2 チシマザクラ「国後陽紅」の継代培養における増殖率

継代数	植物ホルモンの種類と濃度					
	BAP 1.0mg/L+GA ₃ 4.0mg/L			BAP 0.5mg/L+GA ₃ 4.0mg/L		
	供試数	増殖数	増殖率(倍)	供試数	増殖数	増殖率(倍)
1代目	5	50	10.0	5	75	15.0
2代目	5	35	7.0	5	75	15.0
3代目	5	45	9.0	5	70	14.0

文献・資料

平成15, 16年度(2003, 2004)北海道林業試験場年報「チシマザクラの品種開発と実用的増殖試験」

平成16年度(2004)重点研究報告書「チシマザクラの品種開発と実用的増殖試験」

脇田陽一 2006 濃紅色のチシマザクラ新品种「国後陽紅(くなしりようこう)」北方林業58-12:16

脇田陽一 2006 チシマザクラの品種開発と実用的増殖試験 公立林業試験研究機関研究成果選集3:51~52

(担当:脇田陽一)

(6) サクラ登録品種「大雪」 (Cerasus 'Taisetsu')

培養部位：茎頂

実験時期：2月中旬

殺菌方法：①小枝を冬芽を含んだ長さ2 cm程度に切断

②流水で1時間

③70%エタノールで30秒間表面殺菌

④次亜塩素酸ナトリウム溶液（有効塩素1%）で15分間表面殺菌

⑤滅菌水で3回濯ぐ

基本培地：WPM + 成長調節物質 + ショ糖 20g/L + 寒天 8g/L

成長調節物質：BAP0.5 ~ 4 mg/L, IBA0.1mg/L, ジベレリン 4 mg/L

発根培地：WPM + バーミキュライト + ショ糖 20g/L

培養条件：25℃, 約3000ルクス, 16時間照明

供試数：14 ~ 15個/培地

結果

①茎頂からのシュートの増殖率はBAPの濃度にかかわらず、増殖率は5.8 ~ 6.8倍と高かった（表-5-5-1）。

②継代培養（節部切片培養）による増殖率も5.4 ~ 9.5倍と高かった（表-5-5-2）。

③シュートからの発根率はバーミキュライトにWPM溶液とショ糖20g/Lを加えただけの培地で発根率は高かった。

結論

①登録品種サクラ「大雪」は茎頂培養による増殖が容易であることがわかった。

②サクラ「大雪」の増殖方法は風連町（当時）に技術移転され、茎頂培養によって増殖された苗は町内全戸に配布されると共に、一部販売が行われた。

③当場で増殖した個体の一部は、三笠遺伝資源集植所に保存してある。

表-5-5-1 初代培養におけるシュートの増殖率(倍)

BAPの濃度		供試数	増殖率
初期培地	移植培地		
1 mg/L	0.5mg/L	14	5.8
2 mg/L	1.0mg/L	14	6.8
4 mg/L	0.5mg/L	14	6.4
4 mg/L	1.0mg/L	15	5.9

*初期培地で1ヶ月培養し、その後1ヶ月毎に移植

培地へ移植、シュートの増殖率は4ヶ月後までの累計

表-5-5-2 継代培養におけるシュートの増殖率(倍)

継代数	BAPの濃度		増殖率
	初期培地	移植培地	
1代目	0.5mg/L	0.25mg/L	5.4
	1.0mg/L	0.5mg/L	3.1
2代目	0.5mg/L	0.25mg/L	6.4
	1.0mg/L	0.5mg/L	5.4
3代目	0.5mg/L	0.25mg/L	9.5

*初期培地で2週間培養後、移植培地へ移植しさらに2週間~1ヶ月後に調査

文献・資料

佐藤孝夫・西村和浩 1994 茎頂培養法によるサクラ登録品種「大雪」の増殖 日本林学会北海道支部論文集 42: 55 ~ 57

西村和浩・佐藤孝夫 1994 サクラの登録品種「大雪」の茎頂培養による増殖技術の確立 北海道園芸談話会会報 27: 62 ~ 63

(担当：佐藤孝夫)

(7) ナナカマド (Sorbus commixta)

培養部位：茎頂

実施時期：5～9月

殺菌方法：①中性洗剤 500 倍液で 30 分間攪拌洗浄

② 70%エチルアルコールに数秒間浸漬

③次亜塩素酸ナトリウム（有効塩素濃度 1%）で 15 分間殺菌

④滅菌水で 5 分間ずつ 3 回洗浄

基本培地：WPM + ショ糖 20g/L + 寒天 7.25g/L

植物成長物質：マルチプルシュートの誘導と不定芽の増殖：BAP(0～10.0mg/L), NAA(0, 0.6mg/L)

不定芽の発根：NAA 0, 0.5, 0.75, 1.0, 2.0 mg/L

培養条件：25℃, 16h/8h (明期/暗期時間)

供試数：8～50 茎頂/処理区

結果

①殺菌率は 5 月に採取した芽では、ほぼ 100%。6 月以降の芽では殺菌することができなかった。

②マルチプルシュートの誘導には、BAP 0.2, 0.6, 2.0mg/L を添加した培地で誘導することができた。

NAA はマルチプルシュートの誘導に阻害的な効果が有った。

③不定芽の増殖率、同組成の培地へ切り分けた不定芽を継代培養することで可能で、増殖率は約 7～9 倍/不定芽/月であった。

④発根率は、NAA 0.5～2.0 mg/L を添加した培地ではほぼ 100%であったが、NAA 濃度が高くなるほど、発根と並行してカルスが肥大することから、NAA 濃度は 0.5, 0.75 mg/L が適していた。

結論

不定芽の増殖率と発根率は高く、経済的にも実用的な培養系である。すでに民間への技術移転を行い、苗木の営利生産に活用されている。

文献・資料

北海道立林業試験場・美唄市農業共同組合 2002 組織培養によるナナカマドクローン苗木の生産技術の開発に関する研究. 共同研究報告書

錦織正智 2000 緑化樹木の組織培養—ナナカマドとシラカンバについて— 北海道の林木育種 43 : 27～30

錦織正智 2008 組織培養を活用したナナカマドの枝物産地の形成—花き生産者と取り組んだ 10 年の歩み— 光珠内季報 152 : 14～18

錦織正智 2000 組織培養による緑化樹木の苗木生産 全国林業試験研究機関協議会会誌 34 : 36

錦織正智・岸定 2001 組織培養によるナナカマドの苗木生産 道立林試と美唄市農業協同組合との共同研究から 林業技術研究発表論文集 2000 : 90～91

錦織正智・市川裕章 2008 園芸用苗木における生産者育種と組織培養 国際植物増殖者会議日本支部第 15 回茨城大会講演要旨集 : 65

(担当：錦織正智)

(8) シラカンバ (*Betula platyphylla* var. *japonica*)

培養部位：①茎頂

②幼雄花

実施時期：①茎頂 5～8月

②幼雄花 8月

殺菌方法：①中性洗剤 500 倍液で 30 分間攪拌洗浄

② 70%エチルアルコールに数秒間浸漬

③次亜塩素酸ナトリウム（有効塩素濃度 1%）で 15 分間殺菌

④滅菌水で 5 分間ずつ 3 回洗浄

基本培地：WPM + ショ糖 20g/L + 寒天 7.25g/L

植物成長物質：マルチプルシュートの誘導と不定芽の増殖：BAP (0～2.0mg/L), NAA (0, 0.6mg/L)

不定芽の発根：NAA 0, 0.75mg/L

培養条件：25℃, 24h/0h（明期/暗期時間）

供試数：①茎頂：10 茎頂/処理区

②幼雄花：20 個/処理区

結果

①殺菌率は茎頂は材料の採取時期に関わらず 100%，幼雄花もほぼ 100%であった。

②茎頂からのマルチプルシュートの誘導には，BAP 0.2, 0.6, 2.0mg/L，幼雄花からは BAP 0.6 mg/L が有効であった。NAA はマルチプルシュートの誘導に阻害的な効果が有った。

③不定芽の増殖は，同様の組成の培地へ不定芽を継代培養することで可能であった。茎頂からの不定芽の増殖率は，約 4～8 倍/月，幼雄花からは約 5 倍/月であった。

④不定芽からの発根率は NAA を 0.75mg/L を添加した培地で 100%であった。

結論

不定芽の増殖率と発根率は高く，経済的にも実用的な培養系であり，民間への技術移転を行った。

文献・資料

平成 13 年度重点領域特別研究報告書「シラカンバ花粉症対策に向けた優良個体の選抜と花粉飛散予測技術の開発」

錦織正智・脇田陽一 2002 品種開発でシラカンバ花粉症に挑む 光珠内季報 126：5～10

錦織正智・市川裕章 2008 園芸用苗木における生産者育種と組織培養 国際植物増殖者会議日本支部第 15 回茨城大会講演要旨集：65

錦織正智 2000 緑化樹木の組織培養—ナナカマドとシラカンバについて— 北海道の林木育種 43—1：27～30

錦織正智 2000 組織培養による緑化樹木の苗木生産 全国林業試験研究機関協議会会誌 34：36

平成 11, 14 年度（1999, 2002）北海道林業試験場年報 「有用遺伝資源植物のバイオテクによる保存と増殖技術の開発」

（担当：錦織正智）

(9) アロニア・メラノカルパ (Aronia melanocarpa)

供試個体：ロシア産樹木の実生苗

培養部位：茎頂

実験時期：10～12月

滅菌方法：①小枝を、芽を含んだ長さ2cm程度に切断

②中性洗剤500倍液で30分間攪拌洗浄

③70%エタノールで30秒間表面殺菌

④次亜塩素酸ナトリウム溶液(有効塩素1%)で15分間表面殺菌

⑤滅菌水で3回濯ぐ

基本培地：WPM＋成長調節物質＋ショ糖20g/L＋寒天8g/L

成長調節物質：BAPを0.2, 0.6, 2.0mg/L, NAAを0, 0.6 mg/L

発根培地：WPM＋成長調節物質＋ショ糖20g/L

成長調節物質：NAAを1.0 mg/L, IBAを4.0mg/L

培養条件：25℃, 約7000ルクス, 16時間照明

結果

①茎頂の殺菌率は93.3%

②初代(茎頂)培養では、BAPを0.6あるいは2.0mg/L含む培地ではマルチプルシュートが形成された(表-5-8-1)。

③継代培養では、1ヶ月当たりの増殖率は平均8.4倍であった。

④伸長したシュートをNAAを1.0mg/LおよびIBAを4.0mg/L添加した発根用培地に植え付けたところ、発根率はいずれも95%以上であった(表-5-8-2)。

⑤発根した植物体の順化方法を検討したところ、「ビニールによる密閉法」と黒い寒冷紗を掛けた「べた掛け法」ではともに90%以上の順化率を示した(表-5-8-3)が、操作性の簡便さから「べた掛け法」が最も良い方法であると示唆された。

結論

茎頂培養による大量増殖法は確立し、技術移転した民間会社ではすでになえぎの生産・販売が行われている。

表-5-8-1 アロニア・メラノカルパの茎頂培養

NAA (mg/L)	BAP (mg/L)	茎頂数		
		シュート形成	MS形成	枯死
0	0.2	3		1
0	0.6	1	3	
0	2.0		5	
0.6	0.2	5*		
0.6	0.6	5*		
0.6	2.0	5*		

MS：マルチプルシュート, *：基部がカルス化

表-5-8-3 アロニア・メラノカルパの順化率

処理方法	順化2ヶ月後の生存数			順化率 (%)
	反復1	反復2	反復3	
無処理	37	35	28	66.7
ビニール密閉法	49	50	48	98.0
べた掛け法	46	50	44	93.3

50本/処理区, 3反復

表-5-8-2 アロニア・メラノカルパのシュートからの発根率

成長調節物質	供試数	発根数	発根率(%)
NAA1.0mg/L	125	119	95.2
IBA4.0mg/L	100	100	100

文献・資料

平成14, 15年度(2002,2003)北海道林業試験場年報「組織培養による緑化樹木の苗木生産システムの開発」

平成15年度(2003)共同研究報告書「組織培養による緑化樹木の苗木生産システムの開発」

平成14～18年度(2002～2006)北海道林業試験場年報「樹木植栽による石炭灰堆積地の環境修復技術開発について」

平成18年度(2006)重点研究報告書「樹木植栽による石炭灰堆積地の環境修復技術開発について」

脇田陽一 2004 アロニア・メラノカルパを組織培養で増やすー千歳市森林組合との共同研究からー光珠内季報135:15～20

(担当：脇田陽一)

(10) ヤチヤナギ (Myrica gale var. tomentosa)

培養部位：茎頂

実験時期：2, 3, 4, 6, 7, 8 月

滅菌方法：①小枝を、芽を含んだ長さ 2 cm 程度に切断

②中性洗剤 500 倍液で 30 分間攪拌洗浄

③ 70 %エタノールで 30 秒間表面殺菌

④次亜塩素酸ナトリウム溶液（有効塩素 1 %）で 15 分間表面殺菌

⑤滅菌水で 3 回濯ぐ

基本培地：WPM + 成長調節物質 + ショ糖 20g/L + 寒天 8g/L

成長調節物質：BAP (0.2, 0.6, 2.0mg/L), NAA (0, 0.6 mg/L)

発根培地：WPM + 成長調節物質 + ショ糖 20g/L

成長調節物質：IBA (0.1 ~ 10.0 mg/L), NAA (0.75 mg/L)

培養条件：25 °C, 約 7000 ルクス, 16 時間照明

結果

①殺菌率は 97.2 %

②初代（茎頂）培養では、BAP を添加した培地で多くのシュートが得られたが、BAP0.6mg/L 含む培地でマルチプルシュートが形成された（表-5-9-1）。

③継代培養では BAP 0.6mg/L を添加した培地で 1 ヶ月当たりの増殖率は約 5 倍であった（表-5-9-2）。

④ 6 種類の発根用寒天培地に移植した結果、発根率は 40 ~ 96.6 % であった（表-5-8-3）。

⑤発根したシュートの順化率は 43.1 ~ 65.1 % であった。

結論

ヤチヤナギの大量増殖技術が開発され、民間に技術移転がなされている。また、共同研究を行った民間会社からヤチヤナギから抽出したエキスをを用いた製品の開発がなされている。

表-5-9-1 ヤチヤナギの茎頂培養

NAA mg/L	BAP mg/L	茎 頂 数			
		シュート 形成	MS 形成	カルス 形成	枯 死
0	0.2	27	5	1	7
0	0.6	14	19	2	5
0	2.0	8	14	13	5
0.6	0.2	6	2	7	5
0.6	0.6	7		11	2
0.6	2.0	6		12	2

MS：マルチプルシュート

表-5-9-2 ヤチヤナギの継代培養における増殖率

継代数	供試数	増殖シュート数	増殖率
1 代目	40 本	232	5.8
2 代目	40	220	5.5
3 代目	40	197	4.9

表-5-9-3 ヤチヤナギのシュートからの発根率

成長調節物質の濃度	供試シュート数	発根数	発根率
NAA 0.75mg/L	950	918	96.6%
IBA 0.1mg/L	50	32	64.0
IBA 0.4mg/L	50	27	54.0
IBA 1.0mg/L	50	28	56.0
IBA 4.0mg/L	50	20	40.0
IBA 10.0mg/L	50	48	96.0

文献・資料

平成 17, 18 年(2005,2006)度北海道
林業試験場年報「ヤチヤナギの
増殖技術の開発」

平成 18 年度(2006)受託研究報告書
「ヤチヤナギの増殖技術の開発」

平成 19, 20 年度(2007, 2008)北海

道林業試験場年報年報「ヤチヤナギにおける増殖技術の高度化とリラクゼーション効果の検証」

平成 20 年度(2008)受託研究報告書「ヤチヤナギにおける増殖技術の高度化とリラクゼーション効果の
検証」

平成 21 年度(2009)JST 報告書「木本性植物の香りのブランド化に関する研究」

平成 21, 22 年度(2009, 2010)北海道林業試験場年報「芳香成分を有する樹木の機能性評価及び効率的
な苗木生産技術の開発」

脇田陽一ほか 2012 ヤチヤナギの増殖技術開発及びリラクゼーション効果の検証 北方森林 60: 85
~ 87

(担当：脇田陽一)

(11) クラブアップル4品種 (Malus spp.)

供試個体：園芸品種「レモイネ」「ホーパ」「ジョンダウニー」「スノークラウド」

実験時期：1～3月，6～8月

培養部位：茎頂

滅菌方法：①小枝を，芽を含んだ長さ2cm程度に切断

②中性洗剤500倍液で30分間攪拌洗浄

③70%エタノールで30秒間表面殺菌

④次亜塩素酸ナトリウム溶液（有効塩素1%）で15分間表面殺菌

⑤滅菌水で3回濯ぐ

基本培地：WPM＋成長調節物質＋ショ糖20g/L＋寒天8g/L

成長調節物質：BAPを0.2, 0.6, 2.0mg/L

発根培地：WPM＋成長調節物質＋ショ糖20g/L

成長調節物質：NAAを0.75mg/L，IBAを0.1～10.0mg/L

培養条件：25℃，約7000ルクス，16時間照明

結果

①殺菌率は23%程度

②初代（茎頂）培養ではBAPを添加（0.2～2.0mg/L）した培地でシュートが得られたが，マルチプルシュートが形成されたのは「レモイネ」と「ホーパ」で，ともにBAP濃度は2.0mg/Lであった（表-5-10-1，2）。

③継代培養では，「レモイネ」と「ホーパ」の伸長したシュートをBAP2.0mg/Lで培養を行ったところ，1ヵ月当たり増殖率は「レモイネ」で1.7倍，「ホーパ」で3.0倍であった（表-5-10-3）。

④シュートからの発根率はレモイネが85%，ホーパでは67%であった。

結論

園芸品種「ホーパ」では，大量増殖は可能であるが，その他の園芸品種では殺菌方法の改良，増殖率の高い培地の検索が必要である。

表-5-10-1 クラブアップル2園芸品種の茎頂培養（1）

BAP (mg/L)	園芸品種「レモイネ」				園芸品種「ホーパ」			
	茎頂数				茎頂数			
	シュート形成	S形成	雑菌汚染	枯死	シュート形成	MS形成	雑菌汚染	枯死
0.2	2		24	4	3		22	5
0.6	4	1	19	6	4		23	3
2.0	2	5	21	2	3	2	23	2

MS：マルチプルシュート

表-5-10-2 クラブアップル2園芸品種の茎頂培養（2）

BAP (mg/L)	園芸品種「ジョンダウニー」				園芸品種「スノークラウド」			
	茎頂数				茎頂数			
	シュート形成	MS形成	雑菌汚染	枯死	シュート形成	MS形成	雑菌汚染	枯死
0.2	2		40	8			43	7
0.6	6		40	4	2		35	13
2.0	4		41	5	3		37	10

MS：マルチプルシュート

表-5-10-3 クラブアップル2園芸品種の継代培養における増殖率

品 種	供試シュート数	伸長シュート数	増殖率（倍）
レモイネ	30	52	1.7
ホーパ	30	91	3.0

文献・資料

平成18，19年度(2006，2007)北海道林業試験場年報「ハンノキバノザイフリボク及びクラブアップルの園芸品種の増殖技術開発」

平成19年度(2007)受託研究報告書「ハンノキバノザイフリボク及びクラブアップルの園芸品種の増殖技術開発」

(担当：脇田陽一)

(12) ハンノキバノザイフリボク (Amelanchier alnifolia)

供試個体：林業試験場構内の植栽木（実生苗）と園芸品種 10 種

培養部位：茎頂

実験時期：1月，2月，3月，6月，7月，8月

滅菌方法：①小枝を，芽を含んだ長さ 2 cm 程度に切断

②中性洗剤 500 倍液で 30 分間攪拌洗浄

③ 70 % エタノールで 30 秒間表面殺菌

④次亜塩素酸ナトリウム溶液（有効塩素 1 %）で 15 分間表面殺菌

⑤滅菌水で 3 回濯ぐ

基本培地：WPM + 成長調節物質 + ショ糖 20g/L + 寒天 8g/L

成長調節物質：BAP を 0.2, 0.6, 2.0mg/L

発根培地：WPM + 成長調節物質 + ショ糖 20g/L

成長調節物質：NAA を 0.75 mg/L, IBA を 0.1 ~ 10.0 mg/L

培養条件：25 °C, 約 7000 ルクス, 16 時間照明

結果

①茎頂の平均殺菌率は 85 % 程度

②初代（茎頂）培養では，BAP（0.2 ~ 2.0mg/L）を添加した全て培地において多くのシュートが得られた。BAP を 2.0mg/L 添加した培地では，多数のマルチプルシュートが形成された（表-5-11-1）。

③マルチプルシュートの形成において，茎頂の採取時期による違いは認められなかったが，冬季の材料の方が，芽が大きく操作が容易である一方，花芽が多いため，茎頂摘出は 6 月下旬が最適であると思われた。

④継代培養では，伸長したシュートを BAP 2.0mg/L で培養したところ，増殖率は園芸品種によって異なるが，1 ヶ月当たり 1.4 ~ 5.2 倍であった（表-5-11-2）。

⑤シュートからの発根率は品種によって発根率は大きな差が見られ，4 ~ 68 % であった。

結論

増殖率や発根率の高い園芸品種は民間に技術移転しているが，増殖率や発根率が低い品種に関しては，さらに最適培地を検索する必要がある。

文献・資料

平成 18, 19 年度(2006, 2007)北海道林業試験場年報「ハンノキバノザイフリボク及びクラブアップルの園芸品種の増殖技術開発」

平成 19 年度(2007)受託研究報告書「ハンノキバノザイフリボク及びクラブアップルの園芸品種の増殖技術開発」

（表-5-11-1 は次ページに掲載）

表-5-11-2 ハンノキバノザイフリボク園芸品種別の継代培養における増殖率

園芸品種名	供試シュート数	伸長シュート数	増殖率 (倍)
(実生苗)	15	75	5.0
スモーキー	15	28	1.9
チャーセン	15	31	2.1
ネルソン	15	30	2.0
ハニーウッド	15	30	2.0
ピュアソン2	15	24	1.6
ピンクフルーテンド	15	31	2.1
フロリダ	15	30	2.0
ペンビナ	15	21	1.4
リージェント	15	78	5.2

表-5-11-1 ハンノキバノザイフリボクの茎頂培養

園芸品種名 (実生苗)	BAP (mg/L)	茎 頂 数			
		シュート形成	MS 形成	雑菌汚染	枯 死
	0.2	6		8	1 6
	0.6	1 4	6	4	6
	2.0	6	1 8	6	
オベリスク	0.2	2 2	3	8	1 2
	0.6	1 7	1 2	8	8
	2.0	5	2 9	3	8
スモーキー	0.2	1 4		8	8
	0.6	1 5	8	2	5
	2.0	7	1 9	3	1
チャーセン	0.2	1 2		6	1 2
	0.6	8	1 4	4	4
	2.0	2	2 0	4	4
ネルソン	0.2	1 8		3	9
	0.6	1 5	6	3	6
	2.0	9	1 8		3
ハニーウッド	0.2	1 6		5	9
	0.6	1 7	8	5	
	2.0		1 8	7	5
ピュアソン2	0.2	1 8			1 2
	0.6	1 2		1 5	3
	2.0	9	1 8		3
ピンクフルーテンド	0.2	2 0			1 0
	0.6	1 0	5	1 0	5
	2.0	5	1 7	3	5
フロリダ	0.2	1 5		3	1 2
	0.6	1 2	3	3	1 2
	2.0	6	1 8		6
ペンビナ	0.2	2 1		6	1
	0.6	9	1 2	6	5
	2.0		2 3	7	3
リージェント	0.2	2 6		3	1
	0.6	1 0	5	1 0	5
	2.0	5	2 2		3

MS : マルチプルシュート

表-5-11-3 ハンノキバザイフリボク園芸品種別のシュートからの発根率

園芸品種	成長調節物質別の発根率 (%)					
	NAA 0.75mg/L	IBA 0.1mg/L	IBA 0.4mg/L	IBA 1.0mg/L	IBA 4.0mg/L	IBA 10mg/L
(実生苗)		1 0				
スモーキー				1 0		
チャーセン	1 2	4	1 2	5 6	1 2	1 6
ネルソン	1 2		1 8	2 4	2 1	6
ハニーウッド				1 0		1 0
ピュアソン2					4 0	
ピンクフルーテンド	4					
フロリダ	1 0	2 0	3 0		1 0	1 0
ペンビナ	3					
リージェント	4 5	6 5	6 3	6 8	4 3	5 3

(担当：脇田陽一)

(13) アメリカザイフリボク (Amelanchier canadensis)

培養部位：茎頂

実施時期：7, 8月

殺菌方法：①中性洗剤 500 倍液で 30 分間攪拌洗浄

② 70%エチルアルコールに数秒間浸漬

③次亜塩素酸ナトリウム（有効塩素濃度 1%）で 15 分間殺菌

④滅菌水で 5 分間ずつ 3 回洗浄

基本培地：WPM + ショ糖 20g/L + 寒天 7.25g/L

植物成長物質：マルチプルシュートの誘導と不定芽の増殖：BAP0, 0.2, 0.6mg/L

不定芽の発根：NAA 0, 0.75mg/L

培養条件：25 °C, 24h/0h（明期/暗期時間）

結果

①マルチプルシュートは BAP 0.2, 0.6mg/L で誘導することができた。

②不定芽の増殖は、同組成の培地へ切り分けた不定芽を継代培養することで可能であった。

③不定芽からの発根は NAA を 0.75mg/L を添加した培地において、発根率 100 %であった。

結論

大量増殖技術が開発され、民間への技術移転が行われている。

文献・資料

平成 15 年度（2003）北海道林業試験場年報 「有用遺伝資源植物のバイオテクによる保存と増殖技術の開発」

錦織正智・市川裕章 2008 園芸用苗木における生産者育種と組織培養 国際植物増殖者会議日本支部第 15 回茨城大会講演要旨集：65

（担当：錦織正智）

(14) ズミ (Malus sieboldii)

培養部位：当年枝の茎頂

実施時期：6～8月上旬

殺菌方法：①中性洗剤 500 倍液で 30 分間攪拌洗浄

② 70%エチルアルコールに数秒間浸漬

③次亜塩素酸ナトリウム（有効塩素濃度 1%）で 15 分間殺菌

④滅菌水で 5 分間ずつ 3 回洗浄

基本培地：WPM + ショ糖 20g/L + 寒天 7.25g/L

植物成長物質：マルチプルシュートの誘導と不定芽の増殖 BAP 0～2.0mg/L

不定芽の発根：NAA 0～1.0mg/L

培養条件：25 °C, 16h/8 h（明期/暗期時間）

供試数：10 茎頂/処理区

結果

①殺菌率は、6, 7 月に採取した材料では 100 %であったが、8 月中旬以降のものは約 50%であった。

②マルチプルシュートは、BAP0.2, 0.6, 2.0mg/L を添加した培地で誘導することが出来た。

③不定芽の増殖は、同組成の培地へマルチプルシュートから切り分けた不定芽を継代培養することで可能であった。

④不定芽からの発根率は、NAA 0.5, 0.75, 1.0mg/L を添加した培地で 100 %であった。

結論

不定芽の増殖率と発根率は高く、経済的にも実用的な培養系である。民間への技術移転を行った。

文献・資料

平成 12, 15 年度（2000, 2003）北海道林業試験場年報 「有用遺伝資源植物のバイオテクによる保存と増殖技術の開発」

（担当：錦織正智）

(15) キミノズミ (Malus sieboldii f. arborescens)

供試個体：林業試験場構内植栽木

培養部位：茎頂

実験時期：3月

滅菌方法：①小枝を、芽を含んだ長さ2cm程度に切断

②中性洗剤500倍液で30分間攪拌洗浄

③70%エタノールで30秒間表面殺菌

④次亜塩素酸ナトリウム溶液(有効塩素3%)で15分間表面殺菌

⑤滅菌水で3回濯ぐ

基本培地：WPM + 成長調節物質 + ショ糖 20g/L + 寒天 8g/L

成長調節物質：BAP を 0.2, 0.6, 2.0mg/L, NAA を 0, 0.6 mg/L

発根培地：WPM + 成長調節物質 + ショ糖 20g/L

成長調節物質：NAA を 1.0mg/L

培養条件：25℃, 約7000ルクス, 16時間照明

結果

①殺菌率は100%

②初代(茎頂)培養では、BAPを添加した培地において多くのシュートが得られ、2.0mg/L 添加した培地でマルチプルシュートが形成された(表-5-14-1)。

③継代培養では、伸長したシュートを同組成の培地(BAP2.0mg/L)に移植したところ、1ヵ月当たりの増殖率は4.2倍であった。

④得られたシュートを990本を発根用培地に植え付けたところ、発根個体は63本(発根率6.4%)であった。

結論

発根率の高い培地が見つければ、大量増殖法は確立される。

表-5-14-1 キミノズミの茎頂培養

NAA (mg/L)	BAP (mg/L)	茎 頂 数			枯 死
		シュート形成	MS 形成	カルス形成	
0	0.2	3			7
0	0.6	4			6
0	2.0	3	1		6
0.6	0.2			1	9
0.6	0.6			1	9
0.6	2.0			2	8

MS：マルチプルシュート

文献・資料

平成16～18年度(2004～2006)北海道林業試験場年報「新たな緑化樹における組織培養による増殖技術及び実用化のための順化技術の開発」

(担当：脇田陽一)

(16) ミヤマナナカマド (Sorbus sambucifolia var. pseudogracilis)

培養部位：茎頂

実施時期：5月下旬，6月

殺菌方法：①中性洗剤 500 倍液で 30 分間攪拌洗浄

② 70%エチルアルコールに数秒間浸漬

③次亜塩素酸ナトリウム（有効塩素濃度 1%）で 15 分間殺菌

④滅菌水で 5 分間ずつ 3 回洗浄

基本培地：WPM + ショ糖 20g/L + 寒天 7.25g/L

植物成長物質：マルチプルシュートの誘導と不定芽の増殖：BAP 0, 2.0mg/L

不定芽の発根：NAA 0, 0.5, 0.75, 1.0 mg/L

培養条件：25 °C，16h/8h（明期/暗期時間）

供試数：10 茎頂/処理区

結果

①芽の周囲に粘液が分泌しているものは，殺菌することができなかった。

②マルチプルシュートは BAP2.0mg/L を添加した培地で誘導することができた。

③不定芽の増殖は，同組成の培地へ切り分けた不定芽を継代培養することで可能であった。。

④不定芽からの発根は NAA を 0.5 ~ 1.0 mg/L を添加した培地で発根率 100 %であった。

結論

不定芽の増殖率と発根率は高く，経済的にも実用的な培養系である。

文献・資料

平成 15 年度（2003）北海道林業試験場年報「有用遺伝資源植物のバイテクによる保存と増殖技術の開発」

（担当：錦織正智）

(17) ヨーロッパキイチゴ（品種名不詳）(Rubus idaeus)

培養部位：茎頂

実施時期：5月下旬，6月

殺菌方法：①中性洗剤 500 倍液で 30 分間攪拌洗浄

② 70%エチルアルコールに数秒間浸漬

③次亜塩素酸ナトリウム（有効塩素濃度 1%）で 15 分間殺菌

④滅菌水で 5 分間ずつ 3 回洗浄

基本培地：WPM + ショ糖 20g/L + 寒天 7.25g/L

植物成長物質：マルチプルシュートの誘導と不定芽の増殖：BAP0, 0.2, 0.6mg/L

不定芽の発根：NAA 0 ~ 1.0mg/L

培養条件：25 °C，16h/8h（明期/暗期時間）

供試数：10 茎頂/処理区

結果

①マルチプルシュートは BAP 0.2, 0.6mg/L で誘導することができた。

②不定芽の増殖は，同組成の培地へマルチプルシュートから切り分けた不定芽を継代培養することで可能であった。

③不定芽の発根は NAA を 0.75mg/L を添加した培地において，発根率 100 %であった。

結論

大量増殖技術が開発され，民間への技術移転が行われている。

文献・資料

錦織正智・市川裕章 2008 園芸用苗木における生産者育種と組織培養 国際植物増殖者会議日本支部第 15 回茨城大会講演要旨集：65

（担当：錦織正智）

(18) Rubus fruticosus (品種名不詳)

培養部位：茎頂

実施時期：5月下旬，6月

殺菌方法：①中性洗剤 500 倍液で 30 分間攪拌洗浄

② 70%エチルアルコールに数秒間浸漬

③次亜塩素酸ナトリウム（有効塩素濃度 1%）で 15 分間殺菌

④滅菌水で 5 分間ずつ 3 回洗浄

基本培地：WPM + ショ糖 20g/L + 寒天 7.25g/L

植物成長物質：マルチプルシュートの誘導と不定芽の増殖：BAP0, 0.2, 0.6mg/L

不定芽の発根：NAA 0, 0.5, 0.75, 1.0mg/L

供試数：10 茎頂/処理区

培養条件：25 °C，24h/0h（明期/暗期時間）

結果

①殺菌率は 100 %であった。

②マルチプルシュートは BAP 0.2, 0.6mg/L で誘導することができた。

③不定芽の増殖は，同組成の培地へ切り分けた不定芽を継代培養することで可能であった。

④不定芽からの発根は，NAA 0.5, 0.75, 1.0mg/L を添加した培地で 100 %であった。

結論

大量増殖技術が開発され，民間への技術移転が行われている。

文献・資料

錦織正智・市川裕章 2008 園芸用苗木における生産者育種と組織培養 国際植物増殖者会議日本支部第 15 回茨城大会講演要旨集：65

(担当：錦織正智)

(19) ナワシロイチゴ (Rubus parvifolius)

培養部位：茎頂

実施時期：5月下旬，6月

殺菌方法：①中性洗剤 500 倍液で 30 分間攪拌洗浄

② 70%エチルアルコールに数秒間浸漬

③次亜塩素酸ナトリウム（有効塩素濃度 1%）で 15 分間殺菌

④滅菌水で 5 分間ずつ 3 回洗浄

基本培地：WPM + ショ糖 20g/L + 寒天 7.25g/L

植物成長物質：マルチプルシュートの誘導と不定芽の増殖：BAP 0, 0.2, 0.6mg/L

不定芽の発根：NAA 0 ~ 1.0mg/L

培養条件：25 °C，16h/8 h（明期/暗期時間）

結果

①殺菌率は 100 %であった。

②マルチプルシュートは BAP 0.2, 0.6mg/L で誘導することができた。

③不定芽の増殖は，同組成の培地に継代することで可能であった。

④不定芽からの発根は，NAA 0.5, 0.75, 1.0mg/L を添加した培地で 100 %であった。

結論

大量増殖技術が開発され，民間への技術移転が行われている。

(担当：錦織正智)

(20) ユリノキ (品種名不詳) (*Liriodendron tulipifera*)

培養部位：茎頂

実施時期：8月，9月

殺菌方法：①中性洗剤 500 倍液で 30 分間攪拌洗浄

② 70%エチルアルコールに数秒間浸漬

③次亜塩素酸ナトリウム (有効塩素濃度 1%) で 15 分間殺菌

④滅菌水で 5 分間ずつ 3 回洗浄

基本培地：WPM

植物成長物質：マルチプルシュートの誘導と不定芽の増殖：BAP0, 0.2, 0.6mg/L

不定芽の発根：NAA 0 ~ 2.0mg/L

培養条件：25 °C 16h/8h (明期/暗期時間)

供試数：10 茎頂/処理区

結果

①殺菌率は 100%であった。

②マルチプルシュートは，WPM に BAP0.2, 0.6mg/L を添加した培地で誘導することができた。

③不定芽の増殖は，切り分けた不定芽を継代培養することで可能であり，WPM が適していた。

④不定芽の増殖率は，BAP0.6 ~ 1.0mg/L を添加した培地で培養すると約 2 ~ 3 倍/月であった。

⑤不定芽からの発根には WPM に NAA 0.5 ~ 1.0mg/L を添加した培地が適しており，発根率は 90%以上であった。

結論

大量増殖技術は開発された。

文献・資料

錦織正智 2004 独立行政法人国際協力機構 組織培養分野専門家業務報告書 (日中協力林木育種科学技術センター計画)

(担当：錦織正智)

(21) *Betula utilis* var. *jacquemontii*

実施時期：5，6月

培養部位：茎頂

殺菌方法：①中性洗剤 500 倍液で 30 分間攪拌洗浄

② 70%エチルアルコールに数秒間浸漬

③次亜塩素酸ナトリウム (有効塩素濃度 1%) で 15 分間殺菌

④滅菌水で 5 分間ずつ 3 回洗浄

基本培地：WPM + ショ糖 20g/L + 寒天 7.25g/L

植物成長物質：マルチプルシュートの誘導と不定芽の増殖：BAP 0.2, 0.6, 2.0mg/L

不定芽の発根：NAA 0.75mg/L

培養条件：25 °C, 16h/8 h (明期/暗期時間)

供試数：10 茎頂/処理区

結果

①殺菌率は採取時期に関わらず 100%であった。

②マルチプルシュートの誘導には BAP 0.2, 0.6, 2.0mg/L を添加した培地が有効であった。

③不定芽の増殖は，同組成の培地で継代培養することで可能であった。

④不定芽からの発根率は NAA を 0.5 ~ 1.0 mg/L 添加した培地で 100 %であった。

結論

不定芽の増殖率と発根率は高く，民間への技術移転を行い，苗木の営利生産に活用されている。

文献・資料

前川健二郎・錦織正智・松村幹了・堀川洋 2004 *Betula utilis* var. *jacquemontii* の組織培養による大量増殖 日本林学会北海道支部論文集 52 : 48 ~ 50

(担当：錦織正智)

(22) アマチャ (*Hydrangea macrophylla* var. *thunbergii*)

培養部位：茎頂

実施時期：5月下旬，6月

殺菌方法：①中性洗剤 500 倍液で 30 分間攪拌洗浄

② 70%エチルアルコールに数秒間浸漬

③次亜塩素酸ナトリウム（有効塩素濃度 1%）で 15 分間殺菌

④滅菌水で 5 分間ずつ 3 回洗浄

基本培地：WPM + ショ糖 20g/L + 寒天 7.25g/L

植物成長物質：マルチプルシュートの誘導と不定芽の増殖：BAP0, 0.2, 0.6mg/L

不定芽の発根：NAA 0 ~ 1.0mg/L

培養条件：25 °C 16h/8h（明期/暗期時間）

結果

①マルチプルシュートは，BAP 0.2 と 0.6, mg/L を添加した培地で誘導することができた。

②不定芽の増殖は，同組成の培地へ切り分けた不定芽を継代培養することで可能であった。

③不定芽からの発根率は，NAA 0.5, 0.75, 1.0mg/L を添加した培地では 100 %であった。

結論

大量増殖技術が開発され，民間への技術移転が行われている。

文献・資料

錦織正智 2006 園芸用苗木作りの話—テラーメイド型苗木生産システムの構築と実践— 光珠内季報 144 : 13 ~ 18

(担当：錦織正智)

(23) トカチスグリ (*Ribes triste*)

培養部位：茎頂

実施時期：6 ~ 8 月

殺菌方法：①中性洗剤 500 倍液で 30 分間攪拌洗浄

② 70%エチルアルコールに数秒間浸漬

③次亜塩素酸ナトリウム（有効塩素濃度 1%）で 15 分間殺菌

④滅菌水で 5 分間ずつ 3 回洗浄

基本培地：WPM + ショ糖 20g/L + 寒天 7.25g/L

植物成長物質：マルチプルシュートの誘導と不定芽の増殖：BAP (0 ~ 2.0mg/L), NAA (0, 0.6mg/L)

不定芽の発根：NAA 0 ~ 1.0mg/L

培養条件：25 °C 16h/8h（明期/暗期時間）

結果

①マルチプルシュートは，BAP 0.2 mg/L を添加した培地で誘導することができた。

②不定芽の増殖は，同組成の培地へマルチプルシュートから切り分けた不定芽を継代培養することで可能であった。

③不定芽からの発根率は，NAA 0.5, 0.75, 1.0mg/L を添加した培地で 100 %であった。

結論

不定芽の増殖率と発根率は高く，経済的にも実用的な培養系である。民間への技術移転を行い，苗木の営利生産と生産者育種に活用されている。

文献・資料

組織培養によるトカチスグリの増殖 2004 グリーントピックス 30 号

平成 14 年度（2002）北海道林業試験場年報「有用遺伝資源植物のバイテクによる保存と増殖技術の開発」

(担当：錦織正智)

(24) クロスグリ (Ribes nigrum)

供試個体：ハバロフスク産実生苗

培養部位：茎頂

実験時期：2～4月，6～8月

滅菌方法：①小枝を，芽を含んだ長さ2cm程度に切断

②中性洗剤500倍液で30分間攪拌洗浄

③70%エタノールで30秒間表面殺菌

④次亜塩素酸ナトリウム溶液（有効塩素1%）で15分間表面殺菌

⑤滅菌水で3回濯ぐ

基本培地：WPM＋成長調節物質＋ショ糖20g/L＋寒天8g/L

成長調節物質：BAPを0.2, 0.6, 2.0mg/L，NAAを0, 0.6mg/L

発根培地：WPM＋成長調節物質＋ショ糖20g/L

成長調節物質：IBAを0.1, 0.4mg/L

培養条件：25℃，約7000ルクス，16時間照明

結果

①殺菌率は96.7%

②初代（茎頂）培養では，BAPを添加した培地で多くのシュートが得られたが，BAPを0.6mg/L含む培地でマルチプルシュートが形成された（表－5－23－1）。

③継代培養では，BAP 0.6mg/Lを添加した培地で行うと1ヵ月当たりの増殖率は約4倍であった（表－5－23－2）。

④シュートをIBAを0.4mg/L含む発根用寒天培地に移植した結果，発根率は98%であった。

⑤発根した植物体の順化率は35.9%であった。

結論

クロスグリの組織培養による大量増殖技術は確立され，すでに民間へ技術移転が行われ，苗木が生産されている。

表－5－23－1 クロスグリの茎頂培養

NAA (mg/L)	BAP (mg/L)	茎 頂 数			枯 死
		シュート形成	MS形成	カルス形成	
0	0.2	6	3		1
0	0.6	5	5		
0	2.0	5	2	3	
0.6	0.2	1		7	2
0.6	0.6			7	3
0.6	2.0			7	3

MS：マルチプルシュート

表－5－23－2 クロスグリの継代培養における増殖率

継代数	供試数	増殖シュート数	増殖率
1代目	20本	78	3.9
2代目	20	63	3.2
3代目	20	86	4.3

表－5－23－3 クロスグリのシュートからの発根率

成長調節物質の濃度	供試シュート数	発根数	発根率
IBA 0.1mg/L	1,000	789	78.9
IBA 0.4mg/L	50	48	98.0

文献・資料

平成14～18年度(2002～2006)北海道林業試験場年報「樹木植栽による石炭灰堆積地の環境修復技術開発について」

平成18年度(2006)重点研究報告書「樹木植栽による石炭灰堆積地の環境修復技術開発について」
(担当：脇田陽一)

(25) サルナシ (*Actinidia arguta*)

供試個体：サルナシ 4 個体

培養部位：茎頂

実験時期：3～8月

滅菌方法：①小枝を、芽を含んだ長さ 2 cm程度に切断

②中性洗剤 500 倍液で 30 分間攪拌洗浄

③ 70 %エタノールで 30 秒間表面殺菌

④次亜塩素酸ナトリウム溶液（有効塩素 1 %）で 15 分間表面殺菌

⑤滅菌水で 3 回濯ぐ

基本培地：WPM + 成長調節物質 + ショ糖 20g/L + 寒天 8g/L

成長調節物質：BAP を 0.2, 0.6, 2.0mg/L, NAA を 0, 0.6 mg/L

発根培地：WPM + 成長調節物質 + ショ糖 20g/L

成長調節物質：NAA を 1.0 mg/L

培養条件：25 °C, 約 7000 ルクス, 16 時間照明

結果

①殺菌率は 100 %

②初代（茎頂）培養では、BAP2.0mg/L を添加した培地で多数の不定芽を持つ細胞塊「マルチプルシュート」が形成された（表－5－24－1）。NAA を添加した培地ではシュートの形成はほとんど見られなかった。

③継代培養での増殖率は未測定だが、継代培養により多くのシュートが得られている。

④シュートからの発根率は 1 個体（構内 1）では 52 %であったが、1 個体（「道南 1」）で 96 %、2 個体（「道南 2」, 「秋田 1」）では 100 %であった（表－5－24－2）。

⑤寒冷紗の「べた掛け法」による順化を行ったが、順化率は 42～96%であり、個体により差が見られた（表－5－24－3）。しかし、この値は事業レベルでは問題ないと考えられる。

結論

サルナシの茎頂培養による大量増殖技術は確立され、すでに民間へ技術移転が行われ、苗木が生産されている。

表－5－24－1 サルナシ 4 個体の茎頂培養

BAP (mg/L)	構内 1			道南 1			道南 2			秋田 1		
	茎頂数			茎頂数			茎頂数			茎頂数		
	S形成	M形成	枯死	S形成	M形成	枯死	S形成	M形成	枯死	S形成	M形成	枯死
0.2	5			5			3		2	5		
0.6	5			5			5			5		
2.0	2	3		3	2		1	4		4	1	

S 形成：シュート形成, M 形成：マルチプルシュート形成

表－5－24－2 サルナシのシュートからの発根率

個体	供試数	発根数	発根率
構内 1	25 本	13 本	52 %
道南 1	25	24	96
道南 2	25	25	100
秋田 1	25	25	100

表－5－24－3 サルナシ培養苗の順化率

個体	供試数	順化数	順化率
構内 1	13 本	11 本	85 %
道南 1	24	10	42
道南 2	25	16	64
秋田 1	25	24	96

文献・資料

平成 16, 17 年度(2004, 2005)北海道林業試験場年報「サルナシ類の増殖技術の開発」

平成 17 年度(2005)受託研究報告書「サルナシ類の増殖技術の開発」

脇田陽一 2006 サルナシ類の苗木を大量にふやす 光珠内季報 142 : 5～8

(担当：脇田陽一)

(26)ミヤマタタビ (Actinidia kolomikta)

供試個体：ミヤマタタビ 4 個体

培養部位：茎頂

実験時期：3～8月

滅菌方法：①小枝を、芽を含んだ長さ 2 cm程度に切断

②中性洗剤 500 倍液で 30 分間攪拌洗浄

③ 70 %エタノールで 30 秒間表面殺菌

④次亜塩素酸ナトリウム溶液（有効塩素 1 %）で 15 分間表面殺菌

⑤滅菌水で 3 回濯ぐ

基本培地：WPM + 成長調節物質 + ショ糖 20g/L + 寒天 8g/L

成長調節物質：BAP を 0.2, 0.6, 2.0mg/L, NAA を 0, 0.6 mg/L

発根培地：WPM + 成長調節物質 + ショ糖 20g/L

成長調節物質：NAA を 1.0 mg/L

培養条件：25 ℃, 約 7000 ルクス, 16 時間照明

結果

①殺菌率は 100 %

②初代（茎頂）培養では、BAP を 2.0mg/L 含む培地で、マルチプルシュートが形成された（表-5-25-1）。NAA0.6mg/L を添加した培地では、シュートの形成が一部認められたが、マルチプルシュートが形成された茎頂は見られなかった。

③継代培養での増殖率は未測定だが、継代培養により多くのシュートが得られている。

④個体「鹿追1」のシュートからの発根率は 72 %であった（表-5-25-2）。

⑤寒冷紗の「べた掛け法」による順化をおこなったが、順化率は 61 %であった（表-5-25-3）。

結論

ミヤマタタビの茎頂培養による大量増殖技術は確立され、すでに民間へ技術移転が行われ、苗木が生産されている。

表-5-25-1 ミヤマタタビ 4 個体の茎頂培養

BAP (mg/L)	構内 1			構内 2			鹿追 1			置戸 1		
	茎	頂	数	茎	頂	数	茎	頂	数	茎	頂	数
0.2	4		1	5			4		1	5		
0.6	5			5			5			4		1
2.0	2	3		3	2		4	1		2	3	

S 形成：シュート形成, M 形成：マルチプルシュート形成

表-5-25-2 ミヤマタタビのシュートからの発根率

個体	供試数	発根数	発根率
鹿追 1	25 本	18 本	72 %

表-5-25-3 ミヤマタタビ培養苗の順化率

個体	供試数	順化数	順化率
鹿追 1	18 本	11 本	61 %

文献・資料

平成 16, 17 年度(2004, 2005)北海道林業試験場年報「サルナシ類の増殖技術の開発」

平成 17 年度(2005)受託研究報告書「サルナシ類の増殖技術の開発」

脇田陽一 2006 サルナシ類の苗木を大量にふやす 光珠内季報 142 : 5 ~ 8

(担当：脇田陽一)

(27) イッサイコクワ (Actinidia 'Issai-Kokuwa')

供試個体：雌 1 個体

培養部位：茎頂

実験時期：3～8月

滅菌方法：①小枝を、芽を含んだ長さ 2 cm 程度に切断

②中性洗剤 500 倍液で 30 分間攪拌洗浄

③ 70 %エタノールで 30 秒間表面殺菌

④次亜塩素酸ナトリウム溶液（有効塩素 1 %）で 15 分間表面殺菌

⑤滅菌水で 3 回濯ぐ

基本培地：WPM + 成長調節物質 + ショ糖 20g/L + 寒天 8g/L

成長調節物質：BAP を 0.2, 0.6, 2.0mg/L, NAA を 0, 0.6 mg/L

発根培地：WPM + 成長調節物質 + ショ糖 20g/L

成長調節物質：NAA を 1.0 mg/L, IBA を 0.4, 1.0mg/L

培養条件：25 °C, 約 7000 ルクス, 16 時間照明

結果

①殺菌率は 100 %

②初代（茎頂）培養では、BAP2.0mg/L を添加した培地でマルチプルシュートが形成された（表－5－26－1）。

③継代培養での増殖率は未測定だが、継代培養により多くのシュートが得られている。

④増殖したシュートからの発根率は 96～100 % と高かった（表－5－26－2）。

⑤寒冷紗の「べた掛け法」による順化をおこなったところ、順化率は 88 % であった（表－5－26－3）。

結論

イッサイコクワの茎頂培養による大量増殖技術は確立され、すでに民間へ技術移転が行われ、苗木が生産されている。

表－5－26－1 イッサイコクワの茎頂培養

NAA (mg/L)	BAP (mg/L)	茎 頂 数			
		シュート形成	MS 形成	カルス形成	枯 死
0	0.2	3			2
0	0.6	5			
0	2.0		5		
0.6	0.2			5	
0.6	0.6			5	
0.6	2.0	2		3	

MS：マルチプルシュート

表－5－26－2 イッサイコクワのシュートからの発根率

添加した成長 調節物質の濃度	供試数	発根数	発根率
NAA1.0mg/L	25 本	25 本	100 %
IBA0.4mg/L	50	48	96
IBA1.0mg/L	50	48	96

表－5－26－3 イッサイコクワ培養苗の順化率

供試数	順化数	順化率
25 本	22 本	88%

文献・資料

平成 16, 17 年度(2004, 2005)北海道林業試験場年報「サルナシ類の増殖技術の開発」

平成 17 年度(2005)受託研究報告書「サルナシ類の増殖技術の開発」

脇田陽一 2006 サルナシ類の苗木を大量にふやす 光珠内季報 142：5～8

(担当：脇田陽一)

(28) *Actinidia coriacea*

培養部位：茎頂

実施時期：5月，6月

殺菌方法：①中性洗剤 500 倍液で 30 分間攪拌洗浄

② 70%エチルアルコールに数秒間浸漬

③次亜塩素酸ナトリウム（有効塩素濃度 1%）で 15 分間殺菌

④滅菌水で 5 分間ずつ 3 回洗浄

基本培地：WPM + ショ糖 20g/L + 寒天 7.25g/L

植物成長物質：マルチプルシュートの誘導と不定芽の増殖：BAP0, 0.2, 0.6mg/L

不定芽の発根：NAA 0 ~ 1.0mg/L

培養条件：25 °C，16h/8 h（明期/暗期時間）

供試数：10 茎頂/処理区

結果

①マルチプルシュートは BAP 0.2, 0.6mg/L を添加した培地で誘導することができた。

②不定芽の増殖は，同組成の培地へシュートを継代することで可能であった。

③不定芽の発根率は NAA 0.5, 0.75, 1.0mg/L を添加した培地で 100 %であった。

結論

不定芽の増殖率と発根率は高く，経済的にも実用的な培養系であり，民間への技術移転を行った。

（担当：錦織正智）

(29) アオダモ (*Fraxinus lanuginosa*)

培養部位：①茎頂

②種子の成熟胚

実施時期：①茎頂：2，7月

②成熟胚：9月

殺菌方法：①中性洗剤 500 倍液で 30 分間攪拌洗浄

② 70%エチルアルコールに数秒間浸漬

③次亜塩素酸ナトリウム（有効塩素濃度 1%）で 15 分間殺菌

④滅菌水で 5 分間ずつ 3 回洗浄

基本培地：1/2WPM + ショ糖 20g/L + 寒天 7.25g/L

植物成長物質：マルチプルシュートの誘導：BAP0 ~ 4.0mg/L

不定芽の増殖：BAP 0 ~ 8.0mg/L

不定芽の発根：NAA 0 ~ 2.0 mg/L

培養条件：25 °C，24h/0h（明期/暗期時間）

供試数：茎頂，種子とも 10/処理区

結果

①殺菌率は茎頂，種子とも 100%

②2月に採取した茎頂からマルチプルシュートを誘導できたが，7月のものは誘導できなかった。

③マルチプルシュートは，茎頂，種子ともに BAP0.2, 0.6, 2.0, 4.0mg/L を添加した培地で誘導することができた。

④同組成の培地へマルチプルシュートから切り分けた不定芽を継代培養すると，茎頂由来，成熟胚由来ともに BAP 0.2 ~ 8.0mg/L を添加し培地で増殖率は約 2 ~ 3 倍/月であった。

⑤不定芽の発根率は，NAA 0.2, 0.6, 1.0, 2.0 mg/L を添加した培地で約 80%であった。

⑥茎頂と成熟胚から誘導した不定芽からの増殖率・発根率に両者の差異は無かった。

結論

増殖率は個体間に大きな差があり，実用化に向けてはこの点を明らかにする必要がある。

文献・資料

東暁史・錦織正智・松村幹了・堀川洋 2004 アオダモ (*Fraxinus lanuginosa* Koidz.) における組織培養系の確立 日本林学会大会学術講演 Vol.115 : 19

（担当：錦織正智）

(30) ムラサキハシドイ (Syringa vulgaris)

供試個体：濃紫色の1個体（園芸品種名不詳）

培養部位：茎頂

実験時期：7月

滅菌方法：①小枝を、芽を含んだ長さ2cm程度に切断

②中性洗剤500倍液で30分間攪拌洗浄

③70%エタノールで30秒間表面殺菌

④次亜塩素酸ナトリウム溶液（有効塩素1%）で15分間表面殺菌

⑤滅菌水で3回濯ぐ

基本培地：WPM＋成長調節物質＋シヨ糖20g/L＋寒天8g/L

成長調節物質：BAPを0.2, 0.6, 2.0mg/L, NAAを0, 0.6 mg/L

発根培地：WPM＋成長調節物質＋シヨ糖20g/L

成長調節物質：NAAを1.0mg/L

培養条件：25℃, 約7000ルクス, 16時間照明

結果

①殺菌率は100%

②初代（茎頂）培養では、BAP(0.2～2.0mg/L)を添加した培地では多くのシュートが得られ、2.0mg/L含む培地において、マルチプルシュートが形成された（表-5-29-1）。

③継代培養では、BAP 2.0mg/Lを添加した培地でおこなったところ、1ヵ月当たりの増殖率は1.97倍であった。

④伸長したシュート190本を発根培地に移植したところ144本に発根が見られ、発根率は75.8%であった。

結論

培養に用いた個体については、すでに民間に技術移転されている。

表-5-29-1 ムラサキハシドイの茎頂培養

NAA (mg/L)	BAP (mg/L)	茎 頂 数			
		シュート形成	MS形成	カルス形成	枯死
0	0.2	4			
0	0.6	3			1
0	2.0	3	1		
0.6	0.2			4	
0.6	0.6			4	
0.6	2.0			4	

MS：マルチプルシュート

文献・資料

平成16～18年度(2004～2006)北海道林業試験場年報「新たな緑化樹における組織培養による増殖技術及び実用化のための順化技術の開発」

(担当：脇田陽一)

(31) クロミノウグイスカグラ (ハスカップ) (Lonicera caerulea var. emphylocalyx)

供試個体：収量の多い選抜個体

培養部位：茎頂

実験時期：6～10月

滅菌方法：①小枝を、芽を含んだ長さ2cm程度に切断

②中性洗剤500倍液で30分間攪拌洗浄

③70%エタノールで30秒間表面殺菌

④次亜塩素酸ナトリウム溶液(有効塩素1%)で15分間表面殺菌

⑤滅菌水で3回濯ぐ

基本培地：WPM＋成長調節物質＋ショ糖20g/L＋寒天8g/L

成長調節物質：BAPを0.2, 0.6, 2.0mg/L, NAAを0, 0.6 mg/L

発根培地：WPM＋成長調節物質＋ショ糖20g/L

成長調節物質：NAAを1.0 mg/L

培養条件：25℃, 約7000ルクス, 16時間照明

結果

①殺菌率は93.3～100%

②初代(茎頂)培養では、BAP(0.2～2.0mg/L)を添加した培地において多くのシュートが得られ、0.6mg/Lあるいは2.0mg/L含む培地においてマルチプルシュートが形成された。NAAを含む培地で、カルスの形成が見られたが、NAAの有無に大きな違いは認められなかった(表-5-30-1)。

③不定芽の増殖は、同組成の培地へ継代培養することで可能であり、1ヶ月当たりの平均増殖率は2.3倍であった。

④発根処理には不定芽を伸長させた2節を持つシュートを用い、下位の節の直下に切り口をすることで、この部位から容易に発根したが、発根率については未測定。

⑤寒冷紗の「べた掛け法」による順化では、15個体のうち13個体が生存し、順化率は86.7%であった。

結論

クロミノウグイスカグラ(ハスカップ)の茎頂培養はすでに北海道大学などでも成功しているが、今回の選抜個体の増殖方法については民間に技術移転した。

表-5-30-1 クロミノウグイスカグラの茎頂培養

NAA (mg/L)	BAP (mg/L)	茎 頂 数			枯 死
		シュート形成	MS形成	カルス形成	
0	0.2	5			
0	0.6	2	1	1	1*
0	2.0	4	1		
0.6	0.2	3		2	
0.6	0.6	3		1	1*
0.6	2.0	3		1	1

MS：マルチプルシュート

*：雑菌によるコンタミを含む

文献・資料

平成14, 15年度(2002, 2003)北海道林業試験場年報「組織培養による緑化樹木の苗木生産システムの開発」

平成15年度(2003)共同研究報告書「組織培養による緑化樹木の苗木生産システムの開発」

平成16～18年度(2004～2006)北海道林業試験場年報「新たな緑化樹における組織培養による増殖技術及び実用化のための順化技術の開発」

平成15～17年度(2004～2006)受託研究報告書 ベリー類の適応調査と増殖方法の確立

錦織正智 2009 ハスカップ栽培の歩みー北海道の場合, 海外の場合ー 光珠内季報156:7～11

(担当：脇田陽一・錦織正智)

(32) スモークツリー (品種名不明) (Cotinus coggygria)

培養部位：茎頂

実施時期：5月下旬～9月上旬

殺菌方法：①中性洗剤 500 倍液で 30 分間攪拌洗浄

② 70%エチルアルコールに数秒間浸漬

③次亜塩素酸ナトリウム (有効塩素濃度 1%) で 15 分間殺菌

④滅菌水で 5 分間ずつ 3 回洗浄

基本培地：WPM + ショ糖 20g/L + 寒天 7.25g/L

植物成長物質：マルチプルシュートの誘導と不定芽の増殖：BAP0, 0.2, 0.6mg/L

不定芽の発根：NAA 0～1.0mg/L

培養条件：25℃, 16h/8h (明期/暗期時間)

供試数：10 茎頂/処理区

結果

①殺菌率は、材料の採取時期に関わらず 100%であった。

②マルチプルシュートは、BAP0.2, 0.6, mg/L を添加した培地で誘導することができた。

③材料の殺菌過程に置いて、切り分けた小片から多くの樹液が出る場合は、流水中に長く置くことで、初代培養での枯死率が低くなり、マルチプルシュートの分化する率が高くなった。

④不定芽の増殖は、同組成の培地へ切り分けた不定芽を継代培養することで可能であった。

⑤不定芽からの発根率は、NAA 0.5, 0.75, 1.0mg/L を添加した培地で 100%であった。

結論

大量増殖技術が開発され、民間への技術移転が行われている。

文献・資料

平成 15 年度 (2003) 北海道林業試験場年報「有用遺伝資源植物のバイオテクによる保存と増殖技術の開発」

(担当：錦織正智)

(33) ミヤコザサ (Sasa nipponica)

培養部位：成熟胚

実施時期：6 月

殺菌方法：①中性洗剤 500 倍液で 30 分間攪拌洗浄

② 70%エチルアルコールに数秒間浸漬

③次亜塩素酸ナトリウム (有効塩素濃度 1%) で 15 分間殺菌

④滅菌水で 5 分間ずつ 3 回洗浄

基本培地：WPM + ショ糖 20g/L + 寒天 7.25g/L

植物成長物質：胚の発芽とシュートの伸長：NAA (0, 0.06mg/L)

不定芽の発根：NAA 0.6mg/L

培養条件：25℃, 0h/24h, 16h/8h (明期/暗期時間)

結果

①殺菌率は 100%であった。

②成熟胚は、暗黒条件下において、NAA を添加した培地で発芽し、シュートが伸長した。

③伸長したシュートは、節ごとに切り分けて、再度、暗黒下で、同じ組成の培地に植え継ぐことで、シュートの伸長を繰り返し、増殖が可能であった。

④シュートから切り分けた節を、16h/8h (明期/暗期時間) 環境下に置くと、シュートの伸長が鈍化し、下位の節から発根し、植物体に再生させることが出来た。

結論

増殖技術が開発され、民間への技術移転が行われている。

(担当：錦織正智)

(34) クマイザサ (Sasa senanensis)

培養部位：①成熟胚

②地下茎

③茎頂

実施時期：①成熟胚：6月，7月

②地下茎：5～9月

③茎頂：5～10月

殺菌方法：①中性洗剤 500 倍液で 30 分間攪拌洗浄

② 70%エチルアルコールに数秒間浸漬

③次亜塩素酸ナトリウム (有効塩素濃度 1%) で 15 分間殺菌

④滅菌水で 5 分間ずつ 3 回洗浄

基本培地：WPM + ショ糖 20g/L + 寒天 7.25g/L

植物成長物質：胚の発芽とシュートの伸長：BAP (0～4.0 mg/L)，NAA (0, 0.06mg/L)

不定芽の発根：NAA 0, 0.6mg/L

培養条件：25℃，0h/24h，16h/8h (明期/暗期時間)

供試数：①成熟胚：10 種子/処理区

②地下茎：10 個/処理区

③茎頂：10 茎頂/処理区

結果

①成熟胚および茎頂の殺菌率は 100%であったが、地下茎は、材料の採取時期に関わらず 0%であった。

②成熟胚の初代培養では、光は発芽に抑制的な効果があった。BAP は、成熟胚の成長に阻害的な効果が有った。

③成熟胚は、暗黒条件下において、NAA を添加した培地で発芽し、シュートが伸長した。

④伸長したシュートは、節ごとに切り分けて、再度暗黒下で同組成の培地に植え継ぐことで、シュートの伸長を繰り返し、増殖が可能であった。

⑤増殖率は、約 2～5 倍/節/月だった。

⑥シュートから切り分けた節を、16h/8h (明期/暗期時間) 環境下に置くと、シュートの伸長が鈍化し、下位の節から発根し、植物体に再生させることが出来た。

⑦地下茎の培養では、殺菌ができないことから、培養系の開発には至らなかった。

⑧茎頂の培養では、培地上で成育しなかったため、培養系の開発には至らなかった。

結論

大量増殖技術が開発され、民間への技術移転が行われている。

文献・資料

錦織正智・金沢博・市川裕章 2005 組織培養によるクマイザサの個体再生 日本植物際眉宇分子生物学会京都大会・シンポジウム講演要旨集：85

錦織正智・山田健四・清水一・棚橋生子 特許第 3893476 号 (2004)

錦織正智 2007 道路法面緑化における在来緑化植物の活用-ササにみる在来緑化植物の供給体制の構築- 光珠内季報 148：15～19

錦織正智・市川裕章 2008 園芸用苗木における生産者育種と組織培養 2008 国際植物増殖者会議 日本支部第 15 回茨城大会講演要旨集：65

錦織正智ほか 2008 ササのセル成形苗生産供給システムと道路法面での成育経過. ELR2008 福岡講演要旨集：85

平成 12,13 年度 (2000, 2001) 北海道林業試験場年報「ササ苗の生産技術と法面等への導入技術の開発」

(担当：錦織正智)

(35) チシマザサ (*Sasa kurilensis*)

培養部位：成熟胚

実施時期：6月

殺菌方法：①中性洗剤 500 倍液で 30 分間攪拌洗浄
② 70%エチルアルコールに数秒間浸漬
③次亜塩素酸ナトリウム（有効塩素濃度 1%）で 15 分間殺菌
④滅菌水で 5 分間ずつ 3 回洗浄

基本培地：WPM + ショ糖 20g/L + 寒天 7.25g/L

植物成長物質：胚の発芽とシュートの伸長：NAA (0, 0.06mg/L)

不定芽の発根：NAA 0.6mg/L

培養条件：25 °C, 0h/24h, 16h/8h (明期/暗期時間)

結果

- ①殺菌率は 100%であった。
- ②成熟胚は、暗黒条件下において、NAA を添加した培地で発芽し、シュートが伸長した。
- ③伸長したシュートは、節ごとに切り分けて、再度、暗黒下で同組成の培地に植え継ぐことで、シュートの伸長を繰り返し、増殖が可能であった。
- ④シュートから切り分けた節を、16h/8h (明期/暗期時間) 環境下に置くと、シュートの伸長が鈍化し、下位の節から発根し、植物体に再生させることが出来た。

結論

増殖技術が開発され、民間への技術移転が行われている。

(担当：錦織正智)

(36) エゾクサイチゴ (草本) (*Fragaria yezoensis*)

培養部位：茎頂

実施時期：6月

殺菌方法：①中性洗剤 500 倍液で 30 分間攪拌洗浄
② 70%エチルアルコールに数秒間浸漬
③次亜塩素酸ナトリウム（有効塩素濃度 1%）で 15 分間殺菌
④滅菌水で 5 分間ずつ 3 回洗浄

基本培地：WPM + ショ糖 20g/L + 寒天 7.25g/L

植物成長物質：マルチプルシュートの誘導と不定芽の増殖 BAP 0 ~ 2.0mg/L

不定芽の発根：NAA 0, 0.75 mg/L

培養条件：25 °C, 16h/8 h (明期/暗期時間)

結果

- ①殺菌率は 100 %であった。
- ②マルチプルシュートは BAP 0.2, 0.6, 2.0mg/L で誘導することができた。
- ③不定芽の増殖は、同組成の培地へ切り分けた不定芽を継代培養することで可能であった。。
- ④不定芽からの発根は、NAA 0.75mg/L を添加した培地で 100 %であった。

結論

大量増殖技術が開発され、民間への技術移転が行われている。

(担当：錦織正智)

(37) ホロムイイチゴ (草本) (Rubus chamaemorus)

実施時期： 6～7月

培養部位：茎頂

殺菌方法：①中性洗剤 500 倍液で 30 分間攪拌洗浄

② 70%エチルアルコールに数秒間浸漬

③次亜塩素酸ナトリウム (有効塩素濃度 1%) で 15 分間殺菌

④滅菌水で 5 分間ずつ 3 回洗浄

基本培地：WPM + ショ糖 20g/L + 寒天 7.25g/L

植物成長物質：マルチプルシュートの誘導と不定芽の増殖 BAP0, 0.2, 0.6mg/L

不定芽の発根：NAA 0, 0.75 mg/L

培養条件：25 °C, 16h/8 h (明期/暗期時間)

結果

①殺菌率は 100 %であった。

②マルチプルシュートは BAP 0.2, 0.6, 2.0mg/L で誘導することができた。

③不定芽の増殖は、同組成の培地へ切り分けた不定芽を継代培養することで可能で、増殖率は約 5 倍/月であった。

④不定芽からの発根は、NAA 0.75mg/L を添加した培地で 100 %であった。

結論

大量増殖技術が開発され、民間への技術移転が行われている。

文献・資料

錦織正智 2006 ベリーでマチおこしー中川町の取り組みー 光珠内季報 142 : 14 ~ 19

ホロムイイチゴの増殖技術の開発 グリーントピックス No.41

平成 17 年度 (2005) 受託研究報告書 ベリー類の適応調査と増殖方法の確立

(担当：錦織正智)