

- (38) カラマツ (*Larix leptolepis*)
 (39) グイマツ (*Larix gmelinii* var. *japonica*)
 (40) グイマツ雑種 F1 (*L. gmelinii* var. *japonica* × *L. leptolepis*)

培養部位：①短枝芽・長枝芽の茎頂
 ②成熟胚

実施時期：1～12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

苗条原基の誘導と増殖用培地：SH 液体培地 + ショ糖 20g/L (pH5.75)

苗条原基からの不定芽の分化と不定芽の発根用培地：改変 WPM + ショ糖 20g/L + 寒天 7.25g/L
 （改変 WP 寒天培地：次の成分を基準量から改変した。NH₄NO₃ 400 mg/L → 1200 mg/L,
 KH₂PO₄ 170 mg/L → 340 mg/L, MnSO₄・H₂O 16.9 mg/L → 22.3 mg/L）

植物成長物質：

苗条原基の誘導と増殖：BAP (0, 0.2, 2.0, 4.0 mg/L) と NAA (0, 0.02mg/L)

不定芽の分化と増殖：BA 0.2mg/L

不定芽の発根：NAA 0, 0.75mg/L

培養条件：苗条原基の誘導と増殖：25℃, 24h/0h（明期/暗期時間）, 回転培養（5rpm）

不定芽の誘導：25℃, 16h/8h（明期/暗期時間）

不定芽の発根：25℃, 0h/24h（明期/暗期時間）+ 2h/1h（明期/暗期時間）+ 6h/2h（明期/暗期時間）+ 16h/8h（明期/暗期時間）

結果

- ①短枝芽・長枝芽の茎頂, 成熟胚ともに, 殺菌率はすべて 100%であった。
 ②茎頂を採取する樹木の齢は, 苗条原基誘導の成否とは関係がなかった。
 ③茎頂の採取時期は, 12～2 月が適期であった。
 ④短枝芽・長枝芽の茎頂, 成熟胚ともに, 苗条原基の誘導には, BA 0.2mg/L 添加した培地が最も適しており, 苗条原基 1 個当たりからの不定芽の増殖数率は 80～120 倍/月であった。
 ⑤発根では, 光条件として明期培養 2 時間, 暗期培養 1 時間が適していた。

結論

成木の茎頂および種子の成熟胚から苗条原基を経由して, 苗木の大量増殖が可能であることが分かった。しかしこの方法で生産した苗木は傾斜重力屈性を呈し通直な幹とならないことから, 実用化にはさらなる検討が必要である。

文献・資料

- 黒丸 亮・佐藤孝夫 1987 組織培養によるグイマツ雑種 F 1 の芽ばえからの植物体再生 日林誌 69 (9) : 355～358
 黒丸亮・錦織正智 1994 グイマツ雑種 F1 の大量増殖—技術開発の現状と課題— 北海道の林木育種 37 (1) : 8～14
 黒丸亮 1995 組織培養によるグイマツ雑種 F1 の大量増殖法に関する研究 林木の育種 176 : 9～12
 錦織正智・黒丸亮 1994 優良グイマツ雑種 F 1 の大量増殖とコストダウン 林業技術研究発表論文集 1994 : 78～79
 錦織正智 1996 グイマツ雑種 F 1 の組織培養による大量増殖の現状と課題 林業技術研究発表論文集 1996 : 62～63
 錦織正智・黒丸亮・佐藤俊彦・大島紹郎 1993 優良グイマツ雑種 F 1 の大量増殖法 林業技術研究発表論文集 1992 : 134～135
 錦織正智 1995 グイマツ雑種 F 1 の胚由来の苗条原基からの苗化法 特開平 7-222536
 錦織正智・黒丸亮 1994 カラマツ属種間雑種 F 1 (*Larix gmelinii* × *L. leptolepis*) の苗条原基からの植物体作出不定芽の発根とシュート伸長過程における光周期の検討 育種学雑誌巻 44 : 114 特殊号別冊 1
 錦織正智 1998 カラマツ属 2 種における成木茎頂と成熟胚からの苗条原基誘導 第 16 回日本植物細胞分子生物学会大会・シンポジウム講演要旨集 p122

(担当：錦織正智)

(41) ミズナラ (Quercus crispula)

1) ミズナラ 1

培養部位：水挿し幹からの伸長したシュート

滅菌方法：① 70%エチルアルコールに数秒間浸漬

② 次亜塩素酸ナトリウム（有効塩素濃度 1%）で殺菌

③ 滅菌水で 5 分間ずつ 3 回洗浄

増殖用培地：WPM + BAP(1.5mg/L) + ショ糖 20g/L + 寒天 8 mg/L

発根用培地：1/2WPM + IAA(0 ~ 0.8mg/L) または IBA(0 ~ 0.8mg/L) + NAA(0.02 ~ 0.08mg/L)

+ ショ糖 20g/L + 寒天 8 mg/L

結果

① 温室内で発生させた萌芽枝の脇芽の殺菌試験では、最適時間は 20 分であった。

② 培養期間中に外植体が枯死するものが多かったが、4 ~ 5 週間で発根試験に用いられるシュートが得られた。

③ 発根率は 0 ~ 4 % と、いずれも低かった。

結論

ミズナラ成木から組織培養によって増殖する方法は一応明らかになったが、特に樹齢の高い個体では萌芽枝の発生が少なく、伸長段階での歩留まりもきわめて低くいうえに、発根率もきわめて低かった。当面はシュートの増殖法を検討する必要がある。

文献・資料

昭和 62, 63 年度(1987, 1988) 北海道林業試験場年報「ミズナラの増殖」

平成元, 2 年度(1989, 1990) 北海道林業試験場年報「ミズナラの増殖」

(担当：育種科・樹芸樹木科)

2) ミズナラ 2

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 ~ 10.0mg/L), NAA(0, 0.6mg/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 0% であった。

結論

殺菌方法の検討から必要である。

文献・資料

平成 10 年度 (1998) 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)

(42) カツラ (Cercidiphyllum japonicum)

供試個体：乙部町「縁カツラ」

培養部位：茎頂

実験時期：11月中旬

滅菌方法：①小枝を、冬芽を含んだ長さ2cm程度に切断

②流水で30分

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を0.1～10.0 μM, NAAを0, 1.0 μM (NAA 1.0 μM = 0.19mg/L, BAP 1.0 μM = 0.23mg/L)

発根培地：WPM + 成長調節物質 + ショ糖 20g/L

成長調節物質：NAA (0, 10.0 μM), IBA (1.0, 10.0 μM) (NAA 1.0 μM = 0.19mg/L, IBA 1.0 μM = 0.24mg/L)

培養条件：25℃, 約7000ルクス, 16時間照明

結果

①殺菌率は91.7%であった。

②初代(培養)茎頂では、シュート分化ではBAP 1.0 μMを含む培地で多くのシュートが得られた(表-5-41-1)。

③継代培養では、シュートの増殖率ではBAP 1.0 μMのみの場合では1.2倍, BAP 1.0 μM + NAA 1.0 μMでは1.4倍であった(表-5-41-2)。

④発根培地について、BAP 1.0 μM + NAA 1.0 μMを含む培地から得られたシュートをNAA 10.0 μMまたはIBA 10.0 μM含む培地に移植した場合に、約1ヶ月で根原基の形成が認められたが、いずれの場合も根原基形成のみで地上部は枯死した。

結論

増殖技術は確立できていない。今後はより増殖率の高い培地や発根率の高い培地の検索が必要である。

表-5-41-1 カツラの茎頂培養

| NAA (μM) | BAP (μM) | 茎 頂 数 | | |
|-------------|-------------|--------|-------|----|
| | | シュート形成 | 芽吹きのみ | 枯死 |
| 0 | 0.1 | | 1 | 17 |
| 0 | 1.0 | 5 | 5 | 10 |
| 0 | 10.0 | | 12 | 8 |
| 1.0 | 0.1 | | | 18 |
| 1.0 | 1.0 | 7 | 3 | 8 |
| 1.0 | 10.0 | | 5 | 11 |

表-5-41-2 カツラの継代培養における増殖率

| 成長調節物質の濃度 | 茎頂数 | 伸長シュート数 | 増殖率(倍) |
|-------------------------|-----|---------|--------|
| BAP 1.0 μM | 5 | 6 | 1.2 |
| BAP 1.0 μM + NAA 1.0 μM | 7 | 10 | 1.4 |

文献・資料

平成12～14年度(2000～2002)北海道林業試験場年報「変異個体を利用した緑化樹の品種育成」

(担当：脇田陽一)

(43) サトザクラ 5 品種 (Cerasus lannesiana)

供試品種：「白妙」, 「福祿寿」, 「普賢像」, 「関山」, 「御衣黄」

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 70 %エタノールで 30 秒間表面殺菌

③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

④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

発根培地：パーミキュライト + WPM + ショ糖 20g / L

成長調節物質：BAP 2 mg / L, IBA0.1mg / L

培養条件：25 °C, 16 時間照明

供試数：5 ~ 10 個

結果

①冬芽の殺菌はいずれも可能であった。

②シュートの増殖率（シュート数 / 供試数）は 1.3 ~ 5.7 倍であり、これらはシュートの増殖は行わず、すぐに発根培地へ移植した。

③シュートの発根率は 12.5 ~ 75.0 %であったが、発根率が低い品種が多く、供試数に対する増殖率（発根数 / 供試数）は 0.3 ~ 3.0 倍であった（表 - 5 - 42 - 1）。

結論

①これまでサトザクラ類は接ぎ木によって増殖されてきたが、組織培養による増殖も可能であることがわかった。

②今回の実験では「普賢像」は増殖率が高いことから、実用化は可能である。

③しかし、その他の 4 品種については、シュート伸長や増殖のための最適培地、および発根率の高い培地の検索が必要である。

④当场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 - 42 - 1 サトザクラ 5 品種の茎頂培養

| 品種名 | 供試数 | シュート数 | 発根数 | 増殖率 (倍) |
|-----|-----|-------|-----|---------|
| 白 妙 | 10 | 13 | 3 | 0.3 |
| 福祿寿 | 6 | 34 | 18 | 3.0 |
| 普賢像 | 10 | 24 | 3 | 0.3 |
| 関 山 | 8 | 19 | 3 | 0.4 |
| 御衣黄 | 5 | 8 | 6 | 1.2 |

文献・資料

佐藤孝夫 1992 組織培養でサクラをふやす 光珠内季報 87 : 21 ~ 24

(担当 : 佐藤孝夫)

(44) ハマナス類登録2品種 (Rosa spp.)

供試個体：ハマナス類登録品種「コンサレッド」「北彩」

培養部位：茎頂

実験時期：11月中旬

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95.8%

②初代(茎頂)培養では、BAP0.2mg/Lまたは2.0 mg/L添加した培地でマルチプルシュートが形成された(表-5-43-1)。

③継代培養では、「北彩」をBAP 2.0mg/L添加した培地で培養すると、1ヵ月当たりの増殖率は1.1倍であった。「コンサレッド」は未測定。

④「北彩」, 「コンサレッド」とともにNAAを1.0mg/L添加した培地での発根率は60%だった。

結論

ハマナス類登録2品種もと組織培養による増殖法は確立していない。今後はマルチプルシュート形成率の高い培地, 増殖率の高い培地を検索する必要がある。

表-5-43-1 ハマナス類登録2品種の茎頂培養

| NAA (mg/L) | BAP (mg/L) | コンサレッド | | | | 北彩 | | |
|---------------|---------------|--------|------|-------|----|--------|------|----|
| | | シュート形成 | MS形成 | カルス形成 | 枯死 | シュート形成 | MS形成 | 枯死 |
| 0 | 0.2 | 2 | 1 | | 1 | 5 | 1 | 1 |
| 0 | 0.6 | 3 | 1 | | | 5 | | 2 |
| 0 | 2.0 | 1 | | | 3 | 2 | 1 | 4 |
| 0.6 | 0.2 | | | 2 | 2 | | | 7* |
| 0.6 | 0.6 | | | 2 | 2 | 1 | | 6 |
| 0.6 | 2.0 | | | 2 | 2* | | | 7 |

MS：マルチプルシュート

*：コンタミ(雑菌汚染)を含む

文献・資料

平成13, 14年度(2001, 2002)北海道林業試験場年報「ハマナス類交雑種の品種登録と苗木増殖実用化試験」

平成14年度(2002)重点研究報告書「ハマナス類交雑種の品種登録と苗木増殖実用化試験」

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)

(45) オオミサンザシ (Crataegus pinnatifida)

供試個体：林業試験場三笠遺伝資源集植地植栽木（ロシア産母樹からの実生木）

培養部位：茎頂

実験時期：7月に採取

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を含む培地で多くのシュートが得られ、0.6mg/Lまたは2.0mg/Lを含む培地及び、BAP2.0mg/LとNAA0.6mg/Lを組み合わせて添加した培地において、マルチプルシュートが形成された（表-5-44-1）。

③継代培養では、伸長したシュートを同組成の培地（BAP 2.0mg/L）に移植したところ、1ヵ月当たりの増殖率は1.59倍であった。

④得られたシュートを135本を発根用培地に植え付けたところ、発根個体わずかに2本（発根率1.48%）であった。

結論

茎頂培養による大量増殖法は確立されておらず、今後は増殖率の高い培地や発根培地を検索する必要がある。

表-5-44-1 オオミサンザシの茎頂培養

| 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 | 5 | | | |
| 0 | 0.6 | 3 | 2 | | |
| 0 | 2.0 | | 5 | | |
| 0.6 | 0.2 | | | 5 | |
| 0.6 | 0.6 | | | 5 | |
| 0.6 | 2.0 | | 3 | 2 | |

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)

(46) クロミサンザシ (Crataegus chlorosarca)

供試個体：林業試験場構内植栽木

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：IBA 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を含む培地において多くのシュートが得られ、0.6mg/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-5-45-1)。

③継代培養では、伸長したシュートを同組成の培地(BAP 0.6mg/L)に移植したところ、1ヵ月当たりの増殖率は2.1倍であった。

④得られたシュートを110本を発根用培地に植え付けたところ、発根個体わずかに1本(発根率0.9%)であった。

結論

茎頂培養による大量増殖法は確立されておらず、今後はもっと増殖率の高い培地や発根培地を検索する必要がある。

表-5-45-1 クロミサンザシの茎頂培養

| 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 | 2 | | | 1 |
| 0 | 0.6 | | 1 | | 2 |
| 0 | 2.0 | 4 | | | 1 |
| 0.6 | 0.2 | | | 2 | 3 |
| 0.6 | 0.6 | | | 2 | 3 |
| 0.6 | 2.0 | | | 2 | 3 |

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)

(47) エゾノウワミズザクラ (Padus padus)

培養部位：茎頂

実験時期：11月中旬，2月下旬

殺菌方法：①小枝を冬芽1～2個を含んだ長さ2 cm程度に切断

②70%エタノールで30秒間表面殺菌

③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

④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 0.25～4 mg/L，ジベレリン 4mg/L，IBA 0.1mg/L

培養条件：25℃，16時間照明

発根培地：バーミキュライト + WPM + ショ糖 20g/L

供試数：10～16個

結果

①11月採取の茎頂1個だけがコンタミ（雑菌汚染）したが，その他はいずれもみられなかった。よって冬芽の殺菌は可能であるといえる。

②茎頂からのシュートの伸長は，11月中旬ではBAP 1 mg/Lのみでみられ，2月下旬では0.25～1 mg/Lでみられた。

③シュート数が少なかったため，そのまま発根培地へ移植したが，発根数は13本数9本で，約70%であった。しかし，供試数に対する増殖率は0.2～0.3倍と低かった（表-5-46-1）。

結論

茎頂からの個体の再生は可能であったが，増殖率が低いことから，今後最適培地を検索する必要がある。

表-5-46-1 エゾノウワミズザクラの茎頂培養

| 実験時期 | BAP濃度 | 供試数 | 殺菌数 | シュート伸長数 | 発根数 | 発根率(%) | 増殖率(倍) |
|-------|----------|-----|-----|---------|-----|--------|--------|
| 11月中旬 | 0.5mg/L | 16 | 16 | 0 | — | — | 0 |
| | 1 mg/L | 16 | 15 | 6 | 4 | 66.7 | 0.25 |
| | 4 mg/L | 12 | 12 | 0 | — | — | 0 |
| 2月下旬 | 0.25mg/L | 10 | 10 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | 0.5mg/L | 10 | 10 | 4 | 3 | 75 | 0.3 |
| | 1 mg/L | 10 | 10 | 2 | 2 | 100 | 0.2 |
| | 2 mg/L | 10 | 10 | 0 | — | — | 0 |
| | 4 mg/L | 10 | 10 | 0 | — | — | 0 |

*：5 mm以上伸長したものをシュートとして数えた

**：増殖率は「発根数/供試数」とした

文献・資料

北海道立林業試験場・北海道造園緑化建設業協会十勝支部 1998 十勝地方に適した未利用緑化樹の開発研究 40p.

(担当：佐藤孝夫)

(48) ヒッポファエ (シーベリー) (Hippophae rhamnoides)

供試個体：ロシア産実生苗 2 個体

培養部位：茎頂

実験時期：7～9 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

培養条件：25 °C, 約 7000 ルクス, 16 時間照明

結果

①殺菌率は 98.6%

②初代（茎頂）培養では、BAP (0.2 ~ 2.0mg/L) を添加した培地でシュートが得られたが、マルチプルシュートの形成は認められなかった（表-5-47-1）。また、BAP0.2mg/L 含む培地において、発根する個体が多く認められた。

③シュートの増殖や発根試験はおこなわなかった。

結論

まだ大量増殖方法は確立されていないが、今後需要が見込まれることから、シュート増殖用培地や発根培地の検索が必要である。

表-5-47-1 ヒッポファエの茎頂培養

| 個体 No. | NAA (mg/L) | BAP (mg/L) | 茎 頂 数 | | |
|--------|---------------|---------------|--------|-------|-----|
| | | | シュート形成 | カルス形成 | 枯 死 |
| No.1 | 0 | 0.2 | 1 7 | | 2 |
| | 0 | 0.6 | 9 | 3 | 7 |
| | 0 | 2.0 | 9 | 3 | 7 |
| | 0.6 | 0.2 | 1 | 1 0 | 8 |
| | 0.6 | 0.6 | | 1 0 | 9 |
| | 0.6 | 2.0 | | 1 2 | 7 |
| No. 2 | 0 | 0.2 | 4 | | |
| | 0 | 0.6 | 2 | | 2 * |
| | 0 | 2.0 | 1 | | 3 |
| | 0.6 | 0.2 | | | 4 * |
| | 0.6 | 0.6 | | 2 | 2 |
| | 0.6 | 2.0 | | 2 | 2 |

*：雑菌による汚染を含む

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)

(49) アカエゾマツ (*Picea glehnii*)

培養部位：①茎頂

②種子の成熟胚

実施時期：茎頂培養は6, 7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

増殖用培地：WPM + ショ糖 20g/L + 寒天 7.25g/L

植物成長物質：BAP(0 ~ 10.0mg/L)と, NAA(0, 0.6mg/L)

発根用培地には NAA 0 ~ 2.0mg/L を添加

培養条件：25 °C, 16h/8 h (明期/暗期時間)

供試数：① 10 茎頂/処理区

② 10 種子/処理区

結果

①殺菌率は、茎頂、成熟胚ともに 100%であった。

②茎頂培養では、すべての茎頂は培地に植床すると、樹液を滲出し、褐変した後に枯死した。

③成熟胚の培養では、マルチプルシュートの誘導には、BAP 0.2, 0.6, 2.0mg/L が有効であったが、NAA は阻害的な効果が有った。

④同組成の培地へ継代培養すると不定芽の増殖は可能であったが、成長と増殖は緩慢であった。

⑤不定芽からの発根率は、すべての処理区で 0%であった。

結論

①茎頂培養では、培養に適した培地が見つからず、技術開発には至らなかった。

②成熟胚の培養では、増殖速度が緩慢で不定芽からの発根も困難であり、実用化には至らなかった。

文献・資料

平成 10 年度 (1998) 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)

(50) トドマツ (*Abies sachalinensis*)

実施時期：5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

苗条原基の誘導と増殖用培地：SH 液体培地+ ショ糖 20g/L

植物成長物質

苗条原基の誘導と増殖： BAP (0, 0.2, 2.0, 4.0 mg/L), NAA (0, 0.02mg/L)

供試数：10 茎頂/処理区

培養条件：苗条原基の誘導と増殖：25 °C, 24h/0h (明期/暗期時間) , 回転培養 (5rpm)

結果

①殺菌率は、すべての採取時期において 100%であった。

②植物成長物質を含まない培地では、茎頂はすべて枯死し、植物成長物質を含む培地ではすべての処理区でカルスになり、苗条原基へ分化するものは無かった。

結論

苗条原基を分化させるには、材料の採取時期と培地組成について検索する必要がある。

(担当：錦織正智)

(51) ダフリカサンザシ (Crataegus dahurica)

供試個体：林業試験場三笠遺伝資源集植地植栽木（ロシア産母樹からの実生）

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0.1, 1.0, 2.0, 4.0mg/L, IBAを0.1, 1.0mg/L, IAA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添加の培地ではいずれも多くシュートが得られた。とくにBAP0.6mg/Lを添加した培地およびBAP 2.0mg/LとNAA 0.6mg/Lを組み合わせて添加した培地でマルチプルシュートが形成された(表-5-50-1)。

③継代培養では、伸長したシュートを同組成の培地(BAP 0.6mg/L)に移植したところ、1ヵ月当たりの増殖率は2.2倍であった。

④伸長したシュートを発根培地に移植したが、今回用いた培地すべて(NAA: 0.1, 1.0, 2.0, 4.0mg/L, IBA: 0.1, 1.0mg/L, IAA: 1.0mg/L)において、発根個体は得られなかった。

結論

茎頂培養による大量増殖法は確立されておらず、今後はもっと増殖率の高い培地や発根培地を検索する必要がある。

表-5-50-1 ダフリカサンザシの茎頂培養

| NAA (mg/L) | BAP (mg/L) | 茎 頂 数 | | |
|---------------|---------------|--------|------|----|
| | | シュート形成 | MS形成 | 枯死 |
| 0 | 0.2 | 5 | | |
| 0 | 0.6 | 3 | 2 | |
| 0 | 2.0 | 5 | | |
| 0.6 | 0.2 | 5* | | |
| 0.6 | 0.6 | 5* | | |
| 0.6 | 2.0 | 4* | 1 | |

MS：マルチプルシュート

*：基部がカルス化

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」

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)

(52) アラゲアカサンザシ (Crataegus maximowiczii)

供試個体：ロシア産母樹からの実生（林業試験場三笠遺伝資源集植地植栽木）

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：IBA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初代培養では、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（表-5-51-1）。

③継代培養では、BAP 2.0mg/Lを添加した培地で1ヵ月当たりの増殖率は2.03倍であった。

④得られたシュートを16本を発根用培地に植え付けたが、発根個体は得られなかった。

結論

大量増殖法は確立されておらず、今後は継代培養において増殖率の高い培地や発根用培地の検索が必要である。

表-5-51-1 アラゲアカサンザシの茎頂培養

| 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 | 2 | | | 3 |
| 0 | 0.6 | 2 | | | 3 |
| 0 | 2.0 | | 4 | | 1* |
| 0.6 | 0.2 | | | 2 | 3 |
| 0.6 | 0.6 | | | 2 | 3 |
| 0.6 | 2.0 | | | 2 | 3 |

MS：マルチプルシュート

*：雑菌によるコンタミ

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)

(53) ウラジロナナカマド (Sorbus matsumurana)

培養部位：茎頂

実験時期：7月

外植体の種類：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, 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茎頂の殺菌率は96.7%

②初代（茎頂）培養では、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（表-5-52-1）。

③継代培養では、シュートの増殖は見られなかった。

結論

茎頂培養による増殖方法は確立できなかった。シュート伸長用、発根用培地の検索が必要である。

表-5-52-1 ウラジロナナカマドの茎頂培養

| 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 | 5 | | | |
| 0 | 0.6 | 5 | | | |
| 0 | 2.0 | 2 | 2 | | 1* |
| 0.6 | 0.2 | 2 | | 3 | |
| 0.6 | 0.6 | 1 | | 1 | 3 |
| 0.6 | 2.0 | | | 3 | 2 |

MS：マルチプルシュート

*：雑菌によるコンタミ

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」

(担当：脇田陽一)

(54) セイヨウスモモ (Prunus domestica)

供試個体：新十津川町栽培個体

培養部位：茎頂

実験時期：7～10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88.9%

②初代(茎頂)培養では、BAP0.6mg/L または 2.0mg/L 含む培地でマルチプルシュートが形成された(表-5-53-1)。

③シュートの増殖およびシュートからの発根率については未調査である。

結論

組織培養による大量増殖法はまだ確立していないが、マルチプルシュートは得られている。今後需要が高まれば、シュートの増殖や発根培地などを検討する必要がある。

表-5-53-1 セイヨウスモモの茎頂培養

| 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 | | | |
| 0 | 0.6 | | 3 | | |
| 0 | 2.0 | | 2 | | 1* |
| 0.6 | 0.2 | | | | 3 |
| 0.6 | 0.6 | 1 | | | 2 |
| 0.6 | 2.0 | | | | 3 |

MS：マルチプルシュート

*：雑菌によるコンタミ

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」

(担当：脇田陽一)

(55) ニセアカシア 2 品種 (Robinia pseudoacacia)

供試個体：ニセアカシア「フリシア」, 「アルトドルフ」の 2 園芸品種

培養部位：茎頂

実験時期：7～10 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

培養条件：25 °C, 約 7000 ルクス, 16 時間照明

結果

① 園芸品種「フリシア」では、茎頂の殺菌率は 96.7 %, 「アルトドルフ」では 90.0 %であった。

②初代（茎頂）培養では、2 品種とも、シュートは得られるもののカルス化が顕著であった（表－5－54－1）ため、さらに低濃度で植物ホルモンを用いるべきであると示唆された。

結論

茎頂培養法による大量増殖法は確立していない。シュート伸長や増殖のための最適培地の検索が必要である。

表－5－54－1 ニセアカシア 2 園芸品種の茎頂培養

| NAA (mg/L) | BAP (mg/L) | 園芸品種「フリシア」 | | | 園芸品種「アルトドルフ」 | | |
|---------------|---------------|------------|-------|-----|--------------|-------|-----|
| | | 茎 頂 数 | | | 茎 頂 数 | | |
| | | シュート形成 | カルス形成 | 枯 死 | シュート形成 | カルス形成 | 枯 死 |
| 0 | 0.2 | 2 | 3 | | 1 | 4 | |
| 0 | 0.6 | 1 | 3 | 1* | 1 | 4 | |
| 0 | 2.0 | 3 | 2 | | | 3 | 2* |
| 0.6 | 0.2 | 1 | 4 | | | 2 | 2* |
| 0.6 | 0.6 | | 5 | | 1 | 4 | |
| 0.6 | 2.0 | | 5 | | 1 | 5 | |

*：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」

(担当：脇田陽一)

(56) ブルーベリー (ヌマスノキ) (Vaccinium corymbosum)

供試個体：品種名不詳の1個体

培養部位：茎頂

実験時期：7～10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

培養条件：25℃, 約7000ルクス, 16時間照明

結果

①殺菌率は90.0%

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シュートが得られたが、マルチプルシュートの形成は認められなかった(表-5-55-1)。

結論

大量増殖方法はまだ確立されていない。シュート増殖のための培地などでの検索が必要である。

表-5-55-1 ブルーベリーの茎頂培養

| 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 | | | 4 | 1 |
| 0.6 | 0.6 | 1 | | 3 | 1* |
| 0.6 | 2.0 | | | 3 | 2 |

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」

(担当：脇田陽一)

(57) キミノエゾニワトコ (Sambucus sieboldiana var. miquelii f. aureocarpa)

供試個体：自生木 1 個体

培養部位：茎頂

実験時期：7～10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有効塩素濃度 1 %の次亜塩素酸ナトリウム水溶液中で 15 分間の攪拌殺菌では、ほとんど全ての外植体がカビの汚染により枯死してしまったため、有効塩素濃度 3 %の次亜塩素酸ナトリウム水溶液中で 15 分間殺菌処理することにより、カビの汚染をおおむね抑えることができた。それでも植え付けた茎頂 30 個のうち、8 個の茎頂が雑菌の汚染により枯死した。殺菌率は 73.3 %であった。

②初代（茎頂）培養では、の結果を表 1 に示す。BAP(0.2 ~ 2.0mg/L)を添加した培地で多くのシュートが得られ、0.6 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（表-5-56-1）。

③シュートの増殖、シュートからの発根試験はおこなわなかった。

結論

エゾニワトコの果実は通常赤色であり、黄色い個体を増やすには組織培養やさし木しか方法がない。今後はシュートの増殖や発根用培地の検索が必要である。

表-5-56-1 キミノエゾニワトコの茎頂培養

| 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 | 2 | | | 3* |
| 0 | 0.6 | 2 | 1 | | 2* |
| 0 | 2.0 | | 3 | | 2* |
| 0.6 | 0.2 | 1 | | 3 | 1 |
| 0.6 | 0.6 | | | 3 | 2* |
| 0.6 | 2.0 | | | 3 | 2* |

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」

(担当：脇田陽一)

(58) ケシヨウヤナギ (Salix arbutifolia, Chosenia arbutifolia)

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

②70%エタノールで30秒間表面殺菌

③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

④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 0.5mg, 1 mg, 2mg/L, ジベレリン 4mg/L, IBA 0.1mg/L

培養条件：25℃, 16時間照明

供試数：各10個

結果

①殺菌は可能で、コンタミ（雑菌汚染）はみられなかった（表-5-57-1）。

②殺菌できた茎頂からはシュートの伸長はいずれもみられなかった。

結論

現在までのところ、茎頂培養による増殖は確立されていない。今後は成長調節物資の種類や量だけでなく、基本培地も検索し、増殖に適した培地を見つける必要がある。

表-5-57-1 ケシヨウヤナギの茎頂培養

| BAP濃度 | 供試数 | コンタミ数 | 殺菌数 | シュート伸長数 |
|---------|-----|-------|-----|---------|
| 0.5mg/L | 10 | 0 | 10 | 0 |
| 1 mg/L | 10 | 0 | 10 | 0 |
| 2 mg/L | 10 | 0 | 10 | 0 |

文 献

北海道立林業試験場・北海道造園緑化建設業協会十勝支部 1998 十勝地方に適した未利用緑化樹の開発研究 40p.

(担当：佐藤孝夫)

(59) エゾノキヌヤナギ (Salix pet-susu)

材料：王子製紙の選抜個体

培養部位：茎頂

実施時期：4～8月

殺菌方法：①中性洗剤 500 倍液で 30 分間攪拌洗浄

②70%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：BAPO, 0.2, 0.6mg/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40～100%であった。殺菌率と材料の採取時期の間には、明瞭な関係は見られなかった。

②茎頂は、培地上で成育しなかった。

結論

茎頂からマルチプルシュートが形成されず、培養系の開発には至らなかった。

(担当：錦織正智)

(60) クリ 4 品種 (Castanea crenata)

供試個体：クリ品種「オオウラ」「コバリ」「タンバ」「ハヤシ」「フジワラ」

培養部位：茎頂

実験時期：7～10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

培養条件：25℃, 約7000ルクス, 16時間照明

結果

①クリ「オオウラ」とクリ「コバリ」では殺菌率100%, クリ「フジワラ」では殺菌率90%, クリ「タンバ」とクリ「ハヤシ」では殺菌率80%であった。

②5品種とも6種類の培地ではシュートの形成は認められず, NAAを含む処理区でわずかにカルスが形成されたのみであった(表-5-59-1)。

結論

現段階ではクリ5品種の組織培養による増殖技術は開発されていない。今後さらに, 基本培地の種類, 植物ホルモンの種類と濃度等について詳細に検討する必要がある。

表-5-59-1 クリ5品種の茎頂培養

| NAA (mg/L) | BAP (mg/L) | ク リ 品 種 名 | | | | | | | | | |
|---------------|---------------|-----------|----|-----|----|-----|----|-----|----|------|----|
| | | オオウラ | | コバリ | | タンバ | | ハヤシ | | フジワラ | |
| | | カルス | 枯死 | カルス | 枯死 | カルス | 枯死 | カルス | 枯死 | カルス | 枯死 |
| 0 | 0.2 | | 5 | | 5 | | 5 | | 5* | | 5 |
| 0 | 0.6 | | 5 | | 5 | | 5 | | 5 | | 5* |
| 0 | 2.0 | | 5 | | 5 | | 5 | | 5* | | 5 |
| 0.6 | 0.2 | 2 | 3 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3* | 1 | 4* |
| 0.6 | 0.6 | | 5 | 4 | 1 | | 5 | | 5* | 1 | 4 |
| 0.6 | 2.0 | 4 | 1 | 4 | 1 | | 5* | 4 | 1 | 2 | 3* |

*: コンタミ(雑菌汚染)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」

(担当: 脇田陽一)

(61) クロイチゴ (Rubus mesogaeus)

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, 0.6mg/L

供試数：3 個/処理区

培養条件：25 °C, 24h/0h（明期/暗期時間）

結果

①茎頂の培地上での反応が緩慢なことから、成績を評価できなかった。

結論

供試数を増やして、改めて検証する必要がある。

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オテクによる保存と増殖技術の開発」

（担当：錦織正智）

(62) カワシロナナカマド (Sorbus × kawashiro)

培養部位：茎頂

実施時期：5, 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 ~ 10.0mg/L), NAA(0, 0.6mg/L)

不定芽の発根：NAA 0 ~ 2.0 mg/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 20 ~ 100 %であった。

②茎頂は、植物成長物質の種類と濃度に関わらず、茎頂は、培地上で成長せずに枯死した。

結論

茎頂の採取時期や培地組成に関わらず、マルチプルシュートが形成されなかったことから、培養系の開発は困難であった。

文献・資料

平成 11 年度(1999)地域先端技術共同研究開発推進会議「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」資料

（担当：錦織正智）

(63) バラ (品種名不明) (Rosa spp.)

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：BAP 0.6mg/L

供試数：5 茎頂/処理区

結果

- ①殺菌率は 100%であった。
- ②茎頂は、培地上への置床後に枯死した。

結論

茎頂からマルチプルシュートが形成されず、培養系の開発には至らなかった。

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)

(64) サンショウ (Zanthoxylum piperitum)

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：BAP 0.6mg/L

供試数：5 茎頂/処理区

結果

- ①殺菌率は 100%であったが、茎頂は培地上で成育しなかった。

結論

茎頂からマルチプルシュートが形成されず、培養系の開発には至らなかった。

(担当：錦織正智)

(65) キハダ (Phellodendron amurense)

培養部位：腋芽を含む周辺組織

実施時期：2月，3月，6月，7月

殺菌方法

- ①水挿しにより伸長したシュート 次亜塩素酸ナトリウム溶液（有効塩素1%）10分
- ②屋外採取の枝 次亜塩素酸ナトリウム溶液（有効塩素1%）10分
- ③屋外採取の枝 次亜塩素酸ナトリウム溶液（有効塩素1%）20分
- ④屋外採取の枝 塩化第二水銀(0.1%) 3分

*前処理としていずれもエタノール70%で5秒間表面殺菌

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 0.05mg, 0.2mg, 0.5mg, 1mg/L, IBA 0.05mg/L

培養条件：25℃，16時間照明

結果

- ①腋芽を含む周辺組織の殺菌は非常に難しかったが，水挿しにより伸長したシュートの殺菌率は100%であった（表-1）。
- ②2～3月の材料では，次亜塩素酸ナトリウム溶液10分でも殺菌率は約90%であった。
- ③6～7月の材料では，塩化第二水銀3分での殺菌率は65～90%であったが，次亜塩素酸ナトリウム溶液ではすべて雑菌汚染した。
- ④いずれの時期，いずれの培地ともシュートの伸長はみられなかった。

結論

材料の殺菌は可能であることがわかったが，シュートの伸長には至らなかった。

今後はシュート伸長のための培地の検索が必要であるが，WPMでは1本もシュートが見られなかったことから，かなり難しいと思われる。

文献・資料

平成2年度(1990)北海道林業試験場年報「組織培養による優良種苗の大量増殖技術の開発」

平成3年度(1991)北海道林業試験場年報「組織培養による緑化樹種の増殖技術の開発」

平成4年度(1992)北海道林業試験場年報「組織培養による薬用樹キハダの増殖技術」

(担当：佐藤孝夫)

(66) セイヨウヒイラギ (Ilex aquifolium)

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

②70%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：BAP0, 0.2, 0.6mg/L

供試数：10茎頂/処理区

結果

- ①殺菌率は100%であった。
- ②茎頂は，培地上で育成しなかった。

結論

茎頂からマルチプルシュートが形成されず，培養系の開発には至らなかった。

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)

(67) マユミ (Euonymus sieboldianus)

実施時期：5～9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(0～10.0mg/L), NAA(0, 0.6mg/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茎頂は、培地上で成長せずに枯死した。

結論

茎頂からマルチプルシュートが形成されず、培養系の開発には至らなかった。

文献・資料

平成 12, 13, 15 年度 (2000, 2001, 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)

(68) イタヤカエデ (Acer mono)

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(0～10.0mg/L), NAA(0, 0.6mg/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茎頂は伸長し、シュートを形成したが、このステージに至るとシュートチップネクロシスが生じて、すべて枯死した。

結論

培養系の開発には至らなかった。新たな培地を検索する必要がある。

文献・資料

平成 10, 13, 15 年度 (1996, 2001, 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)

(69) ヤマモミジ (Acer palmatum var. matsumurae)

培養部位：茎頂

実施時期：不明

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：BAP 0.6mg/L

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茎頂は、培地上で成長せずに枯死した。

結論

茎頂からマルチプルシュートが形成されず、培養系の開発には至らなかった。

(担当：錦織正智)

(70) クロビイタヤ (Acer miyabei)

培養部位：茎頂

実験時期：2 月下旬

殺菌方法：①小枝を冬芽を含んだ長さ 2 cm 程度に切断

② 70%エタノールで 30 秒間表面殺菌

③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

④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 ~ 2 mg/L, ジベレリン 4mg/L, IBA0.1mg/L

培養条件：25℃, 16 時間照明

供試数：10 個

結果

①殺菌できた茎頂は 15 / 40 個 (37.5%) で、コンタミが多かった (表-5-69-1)。

②殺菌できた茎頂からはシュートの伸長はいずれもみられなかった。

結論

現在までのところ、茎頂培養による増殖は確立されていない。一部の茎頂では殺菌が可能であったことから、シュートの伸長に適した培地を見つければ、組織培養による増殖も可能性はあると思われる。

文献・資料

北海道立林業試験場・北海道造園緑化建設業協会十勝支部 1998 十勝地方に適した未利用緑化樹の開発研究 40p.

表-5-69-1 クロビイタヤの茎頂培養

| BAP 濃度 | 供試数 | コンタミ数 | 殺菌数 | シュート伸長数 |
|------------|-----|-------|-----|---------|
| 0.25mg / L | 10 | 7 | 3 | 0 |
| 0.5mg / L | 10 | 7 | 3 | 0 |
| 1 mg / L | 10 | 6 | 4 | 0 |
| 2 mg / L | 10 | 5 | 5 | 0 |

(担当：佐藤孝夫)

(71) シダレカエデ (品種名不詳) (Acer spp.)

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：BAP 0.6mg/L

供試数：5 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茎頂は、培地上で成長せずに枯死した。

結論

茎頂からマルチプルシュートが形成されず、培養系の開発には至らなかった。

(担当：錦織正智)

(72) セイヨウトチノキ (Aesculus hippocastanum)

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：BAP 0.6mg/L

供試数：10 茎頂/処理区

結果

①殺菌率は 100%であった。

②茎頂は、培地上への置床後に枯死した。

結論

茎頂からマルチプルシュートが形成されず、培養系の開発には至らなかった。

文献・資料

平成 14, 15 年度 (2002,2003) 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)

(73) ポポー (Asimina triloba)

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：BAP 0.6mg/L

供試数：5 茎頂/処理区

結果

①殺菌率は 100%であった。

②茎頂は、培地上で成育しなかった。

結論

茎頂からマルチプルシュートが形成されず、培養系の開発には至らなかった。

(担当：錦織正智)

(74) エゾムラサキツツジ (Rhododendron dauricum)

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：BAP 0.6mg/L

供試数：5 茎頂/処理区

結果：

①殺菌率は 100%であった。

②茎頂は、培地上への置床後に枯死した。

結論

茎頂からマルチプルシュートが形成されず、培養系の開発には至らなかった。

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)

(75) キバナシャクナゲ (Rhododendron aureum)

供試個体：キバナシャクナゲ登録品種「雪王」

培養部位：茎頂

実験時期：7～10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

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、今回用いた培地ではシュート及びカルス形成は全く認められなかった。

結論

大領増殖方法はまだ確立されていない。

文献・資料

平成14, 15年(2002, 2003)度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」

(担当：脇田陽一)

(76) カシワ (Quercus dentata)

培養部位：茎頂

実施時期：2月

殺菌方法：①中性洗剤500倍液で30分間攪拌洗浄

②70%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：BAP(0.2, 0.6, 2.0mg/L)と2iP(0.2, 0.6, 2.0mg/L)

培養条件：25℃, 16h/8h（明期/暗期時間）

供試数：5茎頂/処理区

結果

①殺菌率は0%であった。

結論

殺菌方法の検討が必要である。

(担当：錦織正智)

(77) カラコギカエデ (Acer ginnala)

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：BAP 0.6mg/L

供試数：5 茎頂/処理区

結果

①殺菌率は 100%であった。

②茎頂は、培地上への置床後に枯死した。

結論

茎頂からマルチプルシュートが形成されず、培養系の開発には至らなかった。

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）

(78) ガマズミ (Viburnum dilatatum)

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：BAP (0 ~ 10.0mg/L)

培養条件：25℃, 16h/8 h (明期/暗期時間)

供試数：10 茎頂/処理区

結果

①内生菌に起因する汚染を解決することができず、殺菌率は材料の採取時期に関わらず 0%であった。

結論

殺菌が難しく、培養系開発には至らなかった。

（担当：錦織正智）

(79) ニオイガマズミ (Viburnum × carlcephalum)

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：BAP(0～10.0mg/L)

培養条件：25℃, 16h/8 h (明期/暗期時間)

供試数：10 茎頂/処理区

結果

①内生菌に起因する汚染を解決することができず、殺菌率は材料の採取時期に関わらず 0%であった。

結論

殺菌が難しく、培養系開発には至らなかった。

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)