

# 林業試験場における組織培養のあゆみ

佐藤 孝夫

## 林業試験場における木本類の組織培養

組織培養は野菜や穀物などの分野では、今ではごく一般的な増殖方法として利用されており、かなり以前から増殖方法の開発研究が行われてきました。一方、林業の分野では1970年代には国立林業試験場（現森林総合研究所）ですでに組織培養の研究は行われていましたが、実用化はなかなか難しいとされていました。しかし、1980年代半ば頃から公立の試験研究機関でも木本類の組織培養による増殖方法への関心が高まり、いくつかの県では試験研究への取り組みが始まりました。

北海道立林業試験場（当時）でも1985（昭和60）年から組織培養による増殖の試験研究を始めました。最初は当時の育種科1名、樹芸樹木科1名の研究職員が北海道立中央農業試験場（当時）において約3ヶ月間、その後国立林業試験場や北海道大学などで2～3ヶ月間の研修を受け、培養技術を習得しました。

育種科では主に林業用樹種であるグイマツ雑種 $F_1$ を、樹芸樹木科（途中で樹木科、応用樹木科に名称変更）では緑化樹であるエゾヤマザクラを中心に、木本類の増殖技術の開発を行ってきました。1999（平成11）年に林業試験場に緑化樹センターが新たに設置されると、組織培養に関する試験研究は主に緑化樹センターが行うようになり、現在に至っています。

それらの成果は、当場の研究報告への投稿や学会発表のほか、光珠内季報、各種報告書などに発表を行うとともに、市町村や民間企業などへ技術移転を行ってきました。

しかし、諸般の事情によりまだ未発表となっている樹種も多数あり、また外植体の殺菌すらできなかった樹種や、植物体再生に至らなかった樹種もあります。これらも貴重なデータと考え、これまで当場で取り組んできたすべての樹種についての試験結果をまとめましたので、その概要について紹介します。

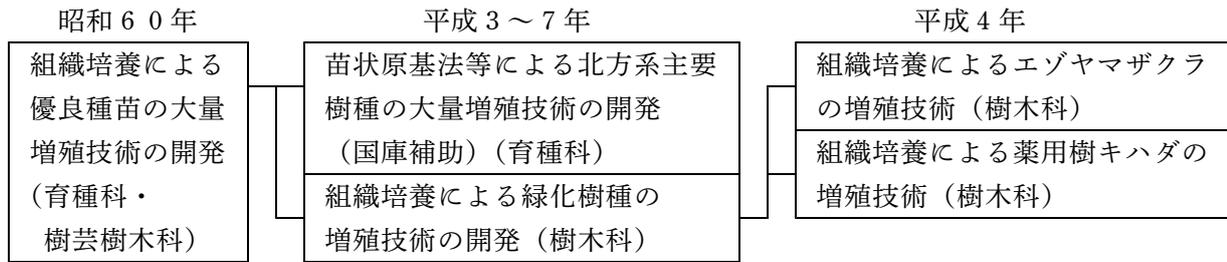
## 組織培養で取り組んだ課題の推移

1985（昭和60）年度から2011年度まで取り組んできた組織培養による増殖技術の開発を含む課題の一覧を図-1に示します。

当初は、育種科と樹芸樹木科がプロジェクトを組んで「組織培養による優良種苗の大量増殖技術の開発」という課題で始まりました。対象樹種は育種科がカラマツやグイマツ雑種 $F_1$ 、樹芸樹木科がエゾヤマザクラ、薬用樹キハダでした。1991（平成3）年から課題はそれぞれの科に別れ、育種科は「苗状原基法等による北方系主要樹種の大量増殖技術の開発」と樹芸樹木科の「組織培養による緑化樹種の増殖技術の開発」となりました。さらに1992（平成4）年度にエゾヤマザクラとキハダに分かれ、この年で課題は一旦終了しました。

1993（平成5）年からは「組織培養による優良サクラ類の増殖技術の開発」へと発展させ、エゾヤマザクラの大量増殖に成功しました。その後エゾヤマザクラの多くの個体のほか、チシマザクラやサトザクラなどの増殖にも取り組みました。さらに組織培養で増殖した苗木の中から優良個体を選抜し、三笠苗畑に植栽しました。その後開花特性を調査行い、花卉が濃紅色の個体を、「チシマザクラ国後陽紅」として2007年に品種登録を完了しております。

また、1996（平成8）～2003年（平成15）まで育種科が中心となって取り組んだ国庫補助課題「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」の中では数多くの樹種について組織培養技術の開発に取り組み、増殖技術が開発された樹種では民間へ技術移転を行いました。



- 昭和61～平成2年 ミズナラの増殖(育種科)
- 平成5～8年 組織培養による優良サクラ類の増殖技術の開発(樹木科)
- 平成7～11年 グイマツ雑種 F<sub>1</sub>培養苗の大量増殖実用化試験(育種科)
- 平成8～9年 十勝地方に適した未利用緑化樹の開発研究(民間共研)(応用樹木科)
- 平成8～15年 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(国庫補助)(育種科、応用樹木科→道北支場)
- 平成11～13年 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(民間共研)(生産技術科)
- 平成12～14年 組織培養による緑化樹木の苗木生産システムの開発(民間共研)(生産技術科)
- 平成14～15年 ササ苗の適応性調査と増殖方法の確立(委託試験)(管理技術科、道北支場)
- 平成15～16年 チシマザクラの品種開発と実用的増殖試験(生産技術科)
- 平成15～17年 ベリー類の品種開発と実用的増殖試験(委託試験)(道北支場)
- 平成16～17年 サルナシ類の増殖技術の開発(委託研究)(生産技術科)
- 平成16～18年 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(国庫補助)(生産技術科)
- 平成17～18年 ヤチヤナギの増殖技術の開発(受託研究)(生産技術科)
- 平成18～19年 ハンノキバノザイフリボク及びクラブアップルの増殖技術の開発(生産技術科)
- 平成19～20年 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(受託研究)(生産技術科、保健機能科)
- 平成21～25年 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(緑化G、機能G)

図-1 林業試験場における組織培養に関する課題の一覧

さらに（平成16）年からは民間業者に協力してもらって全道 5 カ所で培養苗の順化試験を行うと共に、培養苗の扱いについて指導しました。その間、民間との共同研究や受託研究などでこれまでナナカマド、サルナシ類、ヤチヤナギなど多くの組織培養に取り組んできております。

現在は「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」（2009～2013）の中ではチョウセンゴミシやオオバクロモジなどの増殖技術の開発に取り組んでいます。また、「道産桜における芳香成分等の新たな利用方法の開発」中で、これまでに開発した技術を用いて「花の香りが良いチシマザクラ」など特徴あるサクラ個体の増殖に取り組んでいます。

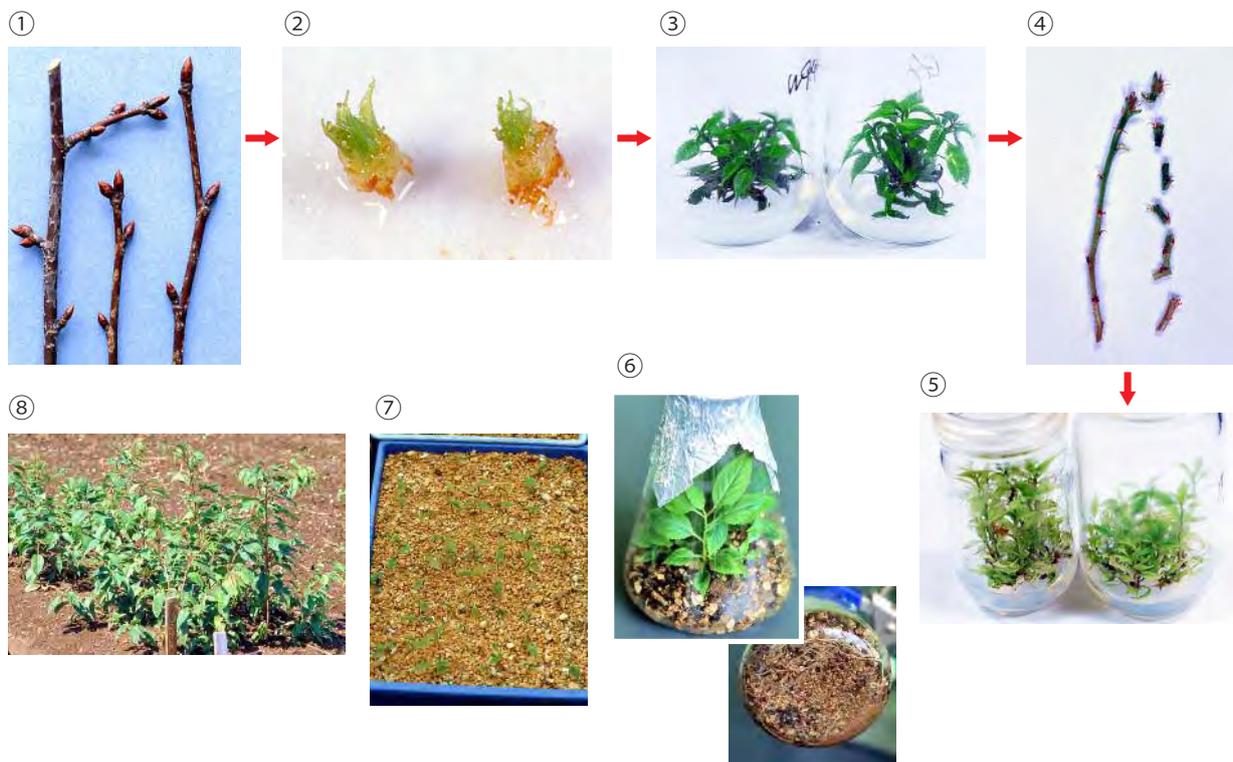
### 組織培養の手順

まず組織培養の手順を簡単に説明しておきます。

組織培養には、冬芽や種子、葉などを材料として用いますが、多くは冬芽の中にある茎頂を使います。以下に、サクラ類の茎頂を用いた組織増殖の手順を述べます（図 1 参照）。

- ①冬芽を採取し、1 芽ずつ切り分け、殺菌剤で表面殺菌を行う
- ②殺菌した冬芽を無菌の機器の中で、茎頂を取り出し、それを栄養分の入った寒天（培地）の上に置く
- ③寒天の上で茎頂からシュートが伸びる（初代培養という）
- ④約 2 ヶ月後にシュートを根元から切断し、小さな切片に切り分け、それを再び培地の上に置く
- ⑤切片からシュートが伸びてくるので、約 1 ヶ月後に再度小さな切片に切り分け、培地の上に置く。これを繰り返すことにより、大量増殖が可能となる（継代培養）
- ⑥ある程度のシュートが得られたら、それを根元から切断し、発根させる
- ⑦発根したら容器から取り出し、外の空気に馴らす（順化、馴化という）
- ⑧順化した苗はタネから増やした苗と同じように育てる

なお、樹種によっては茎頂などから多くの芽を含んだ多芽体をつくり、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、大量増殖を行う場合もあります。



写真－1 サクラ類の茎頂培養の手順

### 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種ですが、品種・系統などを含めると140種類以上にもなります。

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 1 に示しました。

#### (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種であります。

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ます。

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されています。



写真-2 継代培養によるシュートの増殖

なお、大量増殖に成功した樹種では、増殖率は低いもので2倍以上、高いものは10倍以上になっております。継代培養による増殖率が2倍としても、培養開始からの1年間で1茎頂当たり2000本以上も増殖します。

ちなみに最初に大量増殖に成功したエゾヤマザクラでは、茎頂からの増殖率は4～5倍、その後1ヶ月毎に繰り返される継代培養は平均10倍程度の増殖があり、培養開始から増殖率を単純に積算していくと、6ヶ月後に1茎頂から増殖したシュート数は約2万本、1年後には最大783.5億本に達しました。その後培養開始から2年以上も継代培養が可能であることも確認しております。

#### (2) シュートが伸長し、発根も一部可能であった樹種

カラマツ、グイマツ、グイマツ雑種F<sub>1</sub>、サトザクラ5品種など10種があげられます。

カラマツ、グイマツ、グイマツ雑種F<sub>1</sub>では、茎頂や成熟胚からの植物体の再生は可能でしたが、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、技術移転は行えませんでした。

サトザクラ5品種では「福祿寿」だけが大量増殖は可能でしたが、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す。

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す。

**(3) シュートは増殖したが、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す。

**(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、ブルーベリーです。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す。

**(5) シュートの増殖に至らなかった樹種**

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樹種です。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す。

**(6) 殺菌できなかった樹種**

カシワ、カラコギカエデ、ガマズミ、ニオイガマズミです。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りません。

表-1 組織培養を行った樹種と増殖状況

増殖状況	樹種名(変種, 品種も含む)
大量増殖が可能となった樹種(含む技術移転)	エゾヤマザクラ エゾヤマザクラ「釧路八重」 カスミザクラ チシマザクラ チシマザクラ「国後陽紅」 サクラ「大雪」 ナナカマド シラカンバ アロニア ヤチヤナギ クラブアップル4品種 ズミ キミノズミ ハンノキバノザイフリボク11品種 アメリカザイフリボク ユリノキ ミヤマナナカマド ヨーロッパキイチゴ ナワシロイチゴ アマチャ Rubus fruticosus Betula utilis var. jacquemontii トカチスグリ クロスグリ サルナシ ミヤママタタビ イッサイコクワ Actinidia coriana アオダモ ムラサキハシドイ(ライラック) スモークツリー クロミノウグイスカグラ(ハスカップ) ミヤコザサ クマイザサ チシマザサ エゾノクサイチゴ(草本) ホロムイイチゴ(草本)
シュートが伸長し、発根も一部可能であった樹種	カラマツ グイマツ グイマツ雑種F <sub>1</sub> ミズナラ カツラ サトザクラ5品種 ハマナス類登録2品種 オオミサンザシ クロミサンザシ エゾノウワミズザクラ ヒップファエ
シュートは増殖したが発根しなかった樹種	アカエゾマツ トドマツ ダフリカサンザシ アラゲアカサンザシ
シュートの増殖には至らなかった樹種	ウラジロナナカマド セイヨウスモモ ニセアカシア2品種 ブルーベリー キミノエゾニワトコ
シュートが伸長しなかった樹種	トドマツ ケショウヤナギ エゾノキヌヤナギ クリ4品種 クロイチゴ カワシロナナカマド バラ(品種名不詳) サンショウ キハダ セイヨウヒイラギ マユミ イタヤカエデ ヤマモミジ クロビイタヤ カエデ(品種名不詳) セイヨウトチノキ ポポー エゾムラサキツツジ キバナシャクゲゲ「雪王」
殺菌できなかった樹種	カシワ カラコギカエデ ガマズミ ニオイガマズミ

### 養技術の技術移転および遺伝資源の保全に取り組んだ主な事例

サクラを中心として、これまで現場で取り組んだ主な組織培養の事例を紹介しましょう。

#### サクラ登録品種「大雪」

北海道で2番目に品種登録されたサクラ「大雪」は、和寒町（当時）がその権利保持しています。風連町ではこのサクラを増やし、町内全戸に配布したいと云うことで、上川支庁を（当時）通じて組織培養による増殖ができないかという話がきました。そこで、優良遺伝資源保存のために、現場で茎頂培養を行い、増殖が可能になった段階で、風連町農業振興センター（現名寄市農業振興センター）に技術移転しました。

風連町農業振興センターでは、その後8,000本以上の苗木を生産し、町内全戸に無料配布するとともに、一部は一般販売を行いました。



写真-3 サクラ「大雪」

#### チシマザクラ「国後陽紅」

エゾヤマザクラの大量増殖に成功したあと、根室産のチシマザクラの培養を行いました。現地の協力のもとに花に特徴のある数個体を選抜しました。いずれも苗木を得ることができましたが、その中にひときは濃い花色のものがあ、三笠遺伝集植所に定植しました。花が開花してから数年後に花の特性調査を行い、2007年に正式に登録品種として認定されました。

その後許諾契約を結んだ民間会社2社において、苗木の生産・販売が行われています。



写真-4 チシマザクラ「国後陽紅」

#### 清隆寺のチシマザクラ

清隆寺のチシマザクラはもっとも有名なチシマザクラであります。明治2年に檀家の方が国後島から持ち帰り、清隆寺に寄贈されたものです。そのサクラの枝先数本をいただいてきて、茎頂培養をしました。できた苗木は三笠の遺伝資源集植所に植栽するとともに、15本を清隆寺にお返ししております。

また、この技術は清隆寺さんの承諾を得て民会社2社に技術移転し、苗木の生産が行われております。



写真-5 清隆寺のチシマザクラの培養苗

#### 厚岸町国泰寺の老桜樹

厚岸町の国泰寺にあり、1830年に宮城県石巻市から移植したとされる桜です。厚岸町の天然記念物に指定されています。町からの依頼を受けて、優良遺伝資源保存のために増殖に取り組みました。できあがった苗木は数十本は厚岸町へお返ししております。

### 遠軽町の日中友好の桜の里帰り

日中国交回復記念として1972年に日本から中国へ贈られたエゾヤマザクラがあります。この桜は遠軽町で養成されたもので、遠軽町開基100周年事業の一環として、その木を里帰りさせようという運動が提案されました。そこで中国北京市の公園に植栽されている個体から枝を採取し、培養を行いました。茎頂からの培養は林業試験場で行い、シュートの増殖は遠軽町農業技術センターで行いました。できあがった苗木は町内の国際友好の森に植栽されています。

### 静内町（現新ひだか町）二十間道路のエゾヤマザクラ

エゾヤマザクラの桜並木として有名な二十間道路ですが、木によって花の色や花の量、木の生育状況などに個体差が見られます。そこで、当時の静内町では桜並木の将来の補植用にと、現存するサクラの中から生育が良好で、花付きが良い個体を選び、組織培養で増やしたいという要望がきました。そこで、優良遺伝資源保存のために優良個体を選抜し、培養苗をつくりました。それを数十本静内町にお返ししております。

### 小果樹アロニア・メラノカルパ

北アメリカ原産の低木ですが、果実の利用目的でロシアの極東地方で栽培されています。旧ソビエト連邦時代の1989年に筆者がハバロフスク市郊外の植栽木からタネを採取し、北海道に持ち帰って苗木を養成しました。当场でも良好な生育を示したことから、その中から優良個体を選抜し、組織培養で大量増殖に成功しました。その技術は民会会社に移転し、苗木の生産・販売が行われています。



写真-6 アロニアの果実

### 花粉の作らないシラカンバ

全国的にはスギの花粉症が問題となっていますが、道内ではシラカンバによる花粉症が問題となっています。しかし、シラカンバは北国の景観を形成する上で、きわめて重要な樹木です。そこで、花粉を作らないシラカンバを見つけ、組織培養による増殖方法を確立しました。培養苗は当场の三笠遺伝資源集植所や支場構内に植栽し、開花状況を観察していますが、今のところ雄花（雄果穂）は作られておりません。この技術は民間の種苗会社へ移転し、現在苗木の生産が行われております。

なお、全樹種の殺菌方法、培地の成分、成長調節物質の種類と添加量、増殖状況などについては、「北海道総合研究機構林業試験場における組織培養のとりまとめ」（2012年3月発行）に記載されております。PDF形式にしたものが、CDに納めてありますので、希望される方は、林業試験場緑化樹センターまたは普及課までお問い合わせください。

（森林環境部部長）