

## 食用きのこ栽培用原木の育種に関する研究

昭和63年度～平成4年度 (単県)

平 山 一 木  
竹 内 英 男  
中 山 学

## 要 旨

コナラ成木腋芽からの培養について検討し、植物体を再生することができた。恒温器の中で水さしした丸太から発生した萌芽枝を材料とすることにより、70%エタノール 1分と 3%過酸化水素水 5~10分程度の殺菌で雑菌による汚染率を低くおさえることができた。また、水さし用の丸太は冷蔵庫での保存が可能なので通年的な実験が可能になった。初代培養にはBTM及びWPM培地にBAPを0.5~1.0mg/l加えた培地がよく、発根培地には無機塩を2分の1にしたBTM培地及びWPM培地にIAAとIBAを加えた培地が適していた。そして、発根した植物体は根をよく洗い寒天をおとし、パーミキュライト等を入れた鉢に植え替え、最初はビニールの袋で覆い、その後ビニール袋に穴を開け徐々に大きくしていくことで順化することができた。

## I. はじめに

食用きのこ栽培用原木に適しているコナラは、挿木や接木などによる栄養繁殖が困難で、優良な形質を持った個体の増殖が望まれている。そこでバイオテクノロジーを利用したコナラ優良個体の大量増殖法を検討した。

## II. 材料及び方法

## 1. 供試材料の準備

## 1) 供試材料の通年化

成木の幹や枝の玉切り丸太から萌芽枝を誘導し、通年的に実験を行うために、萌芽枝の発生量及び萌芽枝長を調査した。1988年11月及び1990年2月に、当センター試験林内のコナラを伐倒し、伐倒後90cmの長さの丸太に玉切りして冷蔵庫で保存した。実験を行なう際には、その丸太を30cmに玉切

りして25°Cの恒温器内に水さしし、その後発生する萌芽枝について調査した。

## 2) 各種雑菌類の実験系からの除去の検討

野外の材料あるいは恒温器の中で萌芽させた材料を用い、各種殺菌剤の効果及び処理時間について検討した。また、ポリフェノール性の物質による褐変防止法についても検討した。

## 2. 培地組成の検討

## 1) 外植体の培養に適した培地組成の検討

BTM (Broad-leaved Tree medium) ・ WPM (Woody plant medium) ・ ER (Economou and Read) を基本培地 (培地組成は表-1のとおり) とし、植物ホルモンとしてBAP (6-ベンジルアミノプリン) ・ NAA ( $\alpha$ -ナフトレン酢酸) ・ GA<sub>3</sub> (ジベレリン酸) を加えた培地を使用した。当センター試験林内の10個体を供試材

料として、それらの個体の水さし丸太からの萌芽枝を植え付けた。植え付けてから約1ヶ月後に雑菌汚染数、枯死数、生存数、シュートが5mm以上伸長した数、シュート伸長量、継代培地あるいは発根培地へ植え代えた数を調査した。

2) 苗条体の発根に適した培地の検討

初代培養により得られたシュートを切り取り発根培地へ植え付け、その発根率を調査した。発根培地には無機塩の濃度を2分の1にしたBTM培地及び、同じく無機塩の濃度を2分の1にしたWPM培地を基本培地(培地組成は表-1のとおり)とし、植物ホルモンとしてIAA(3-インドール酢酸)を0.2~0.5mg/lとIBA(3-イン

ドール酪酸)を0.4~0.7mg/l加えた培地を用いた。また、活性炭を加えた培地も使用し、活性炭がシュートの発根に及ぼす影響についても調査した。

3. 幼植物体の環境順化の方法

発根した個体は、培地を水道水でよく洗い流した後、パーミキュライトあるいは鹿沼土あるいはそれらを1:1で混ぜ合わせた鉢へ移植した。鉢上げ後、最初はビニール袋で鉢を覆い、そして、穴を開け徐々にその穴を大きくして馴化を行なった。

表-1 培養に用いた培地の組成

組成	BTM	WPM	ER	1/2BTM	1/2WPM
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	165	400	400	82.5	200
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	240		132	120	
KNO <sub>3</sub>	190		202	95	
KCl					
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	860	990		430	495
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	44	96	440	22	48
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	640	556		320	278
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	370	370	370	185	185
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170	170	408	85	85
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O					
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	27.8	27.8		13.9	13.9
Na <sub>2</sub> -EDTA	37.3	37.3		18.65	18.65
Fe-EDTA					
FeNa-EDTA			42.1		
MnSO <sub>4</sub> ·4H <sub>2</sub> O	22.3	22.3	16.9	11.15	11.15
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6.2		6.2	3.1	
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>					
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	8.6	8.6	8.6	4.3	4.3
CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.02		0.025	0.01	
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0.25	0.25	0.025	0.125	0.125
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.25	0.25	0.25	0.125	0.125
KI	0.15			0.075	
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>		6.2			3.1
ニコチン酸	0.5	0.5		0.5	0.5
塩酸ピリトキシン	0.5	0.5		0.5	0.5
塩酸チアミン	1	1	0.4	1	1
マイノシトル	100	100	100	100	100
L-グルタミン	2	2		2	2
L-グルタミン	2			2	
シヨ糖	20,000	20,000	20,000	20,000	20,000
寒天	8,000	8,000	8,000	8,000	8,000

表-2 コナラ丸太からの萌芽調査結果

個体番号	採取高 (m)	丸太長 (cm)	直径 (cm)	萌芽 個所数	萌芽数	萌芽長(cm)		合計	採取 腋芽数
						最大	平均		
306 - 1	0.3	30.5	7.5	0	0	0	0.0	0	0
306 - 2	0.6	29.0	7.3	1	5	17	10.5	52	8
306 - 3	0.9	29.0	7.0	4	20	17	8.0	156	15
306 - 4	1.2	29.0	7.0	0	0	0	0.0	0	0
306 - 5	1.5	29.5	6.7	1	1	13	13.0	13	0
306 - 6	1.8	29.0	6.5	5	22	16	7.0	158	24
306 - 7	2.1	29.5	6.2	1	4	20	10.5	42	6
306 - 8	2.4	29.5	6.0	4	8	17	12.0	96	9
306 - 9	2.7	29.5	5.5	3	6	19	12.5	75	9
306 - 10	3.0	29.5	5.5	0	0	0	0.0	0	0
306 - 11	3.3	28.0	5.3	2	8	12	9.5	74	8
306 - 12	3.6	30.0	5.2	0	0	0	0.0	0	0
平均				1.8	6.2			55	7
310 - 1	0.3	29.0	11.0	1	8	18	10.5	85	13
310 - 2	0.6	30.0	11.0	5	18	35	17.0	304	53
310 - 3	0.9	28.5	10.0	4	24	30	12.5	299	43
310 - 4	1.2	28.5	8.0	6	20	35	10.5	212	30
310 - 5	1.5	29.5	8.0	2	8	19	7.5	59	7
310 - 6	1.8	29.5	7.0	1	4	28	19.5	77	14
310 - 7	2.1	30.0	6.5	5	7	23	16.5	116	25
310 - 8	2.4	29.0	6.0	0	0	0	0.0	0	0
310 - 9	2.7	29.0	6.0	5	5	23	18.5	92	18
310 - 10	3.0	28.5	5.0	3	12	28	11.5	140	19
310 - 11	3.3	29.5	4.7	9	29	21	10.5	243	38
310 - 12	3.6	28.0	4.5	0	0	0	0.0	0	0
310 - 13	3.9	28.5	4.0	3	14	19	9.0	124	17
平均				3.4	11.0			135	21
194 - 1	0.3	31.0	8.0	5	15	32	15.0	227	33
194 - 2	0.6	31.0	7.5	6	17	29	11.5	196	26
194 - 3	0.9	31.0	7.5	2	15	35	16.5	249	49
194 - 4	1.2	31.0	6.7	5	12	30	18.0	214	19
194 - 5	1.5	29.5	6.0	3	27	56	9.0	243	24
194 - 6	1.8	31.0	5.5	2	5	31	13.5	67	6
194 - 7	2.1	30.0	5.5	1	1	16	16.0	16	4
194 - 8	2.4	30.0	5.0	0	0	0	0.0	0	0
194 - 9	2.7	29.0	4.7	1	2	24	17.5	35	4
平均				2.8	10.4			139	18
161 - 1	0.3	30.5	7.0	5	26	30	14.0	305	54
161 - 2	0.6	30.5	6.5	7	17	27	13.5	232	36
161 - 3	0.9	30.0	6.0	8	20	28	17.0	343	44
161 - 4	1.2	30.5	5.5	8	33	22	9.0	298	26
161 - 5	1.5	30.5	5.5	10	22	26	11.5	252	32
161 - 6	1.8	29.5	4.5	5	32	18	8.0	259	20
161 - 7	2.1	31.0	4.0	4	16	19	9.0	144	11
平均				7.1	23.7			270	32
131 - 1	0.3	31.5	7.5	8	15	30	16.0	243	38
131 - 2	0.6	31.0	7.0	5	9	21	13.5	121	21
131 - 3	0.9	30.5	7.0	0	0	0	0.0	0	0
131 - 4	1.2	29.5	6.5	4	5	14	8.5	42	4
131 - 5	1.5	29.5	6.5	3	10	24	13.0	130	17
131 - 6	1.8	29.5	6.0	10	12	22	16.5	198	33
131 - 7	2.1	29.5	5.5	5	7	28	16.5	115	21
131 - 8	2.4	30.0	5.5	7	19	33	16.5	212	33
131 - 9	2.7	30.0	5.5	6	14	30	14.0	199	32
131 - 10	3.0	30.0	5.0	0	0	0	0.0	0	0
131 - 11	3.3	30.5	5.0	0	0	0	0.0	0	0
131 - 12	3.6	31.0	4.5	0	0	0	0.0	0	0
131 - 13	3.9	30.0	4.5	4	6	11	7.5	46	3
131 - 14	4.2	30.0	4.5	6	10	21	15.0	151	0
平均				4.1	7.2			104	14
132 - 1	0.3	29.5	6.1	10	17	22	14.0	234	38
132 - 2	0.6	30.0	5.5	4	18	17	9.5	173	30
132 - 3	0.9	30.5	5.2	5	12	27	8.0	97	7
132 - 4	1.2	29.0	4.9	7	22	30	11.0	247	34
132 - 5	1.5	30.0	4.2	6	32	25	10.0	312	47
132 - 6	1.8	30.5	4.2	5	37	21	8.5	307	52
132 - 7	2.1	30.5	3.8	4	10	23	8.5	87	11
平均				5.9	21.1			208	31
135 - 1	0.3	30.5	6.4	11	33	20	12.0	394	46
135 - 2	0.6	30.0	5.8	8	27	19	10.5	284	34
135 - 3	0.9	30.0	5.5	7	19	20	9.5	178	14
135 - 4	1.2	30.0	5.5	6	16	19	10.5	167	19
135 - 5	1.5	30.0	5.3	7	19	16	10.0	190	24
135 - 6	1.8	30.0	5.2	4	20	17	10.0	201	46
135 - 7	2.1	30.0	4.7	4	20	20	11.0	216	34
135 - 8	2.4	30.6	3.5	6	15	24	12.0	183	30
平均				6.6	21.1			227	31
747 - 1	0.3	30.5	6.0	0	0	0	0.0	0	0
747 - 2	0.6	31.5	5.3	2	20	23	12.5	251	39
747 - 3	0.9	30.0	5.0	6	9	30	12.5	114	21
747 - 4	1.2	29.5	4.7	4	20	19	9.5	186	28
747 - 5	1.5	29.5	4.7	7	16	29	13.0	208	27
747 - 6	1.8	30.0	4.2	4	17	28	10.0	167	16
747 - 7	2.1	31.5	3.7	5	19	23	11.0	208	34
747 - 8	2.4	30.0	3.7	5	15	23	11.5	173	25
747 - 9	2.7	30.0	3.7	8	17	32	13.0	217	31
平均				4.6	14.8			169	25

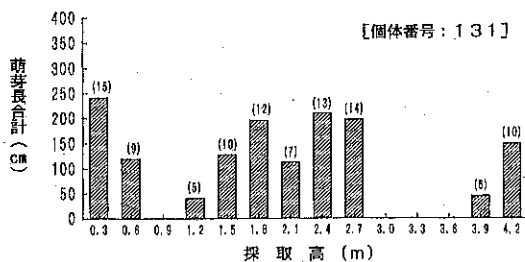


図-1-1 コナラ丸太の採取高別萌芽長合計  
注: ( ) 書きは萌芽数

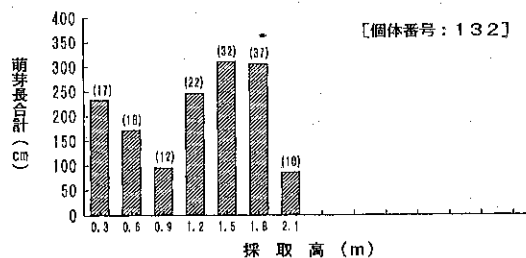


図-1-2 コナラ丸太の採取高別萌芽長合計  
注: ( ) 書きは萌芽数

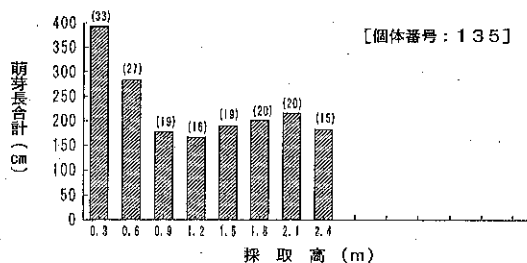


図-1-3 コナラ丸太の採取高別萌芽長合計  
注: ( ) 書きは萌芽数

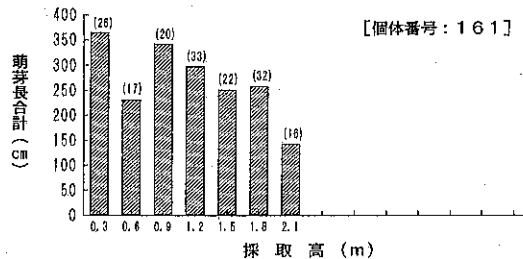


図-1-4 コナラ丸太の採取高別萌芽長合計  
注: ( ) 書きは萌芽数

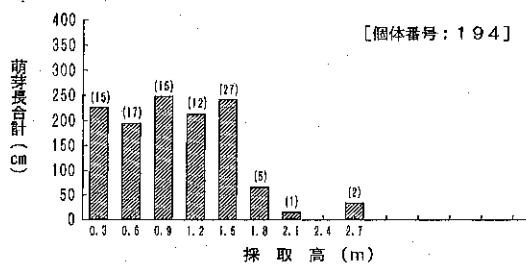


図-1-5 コナラ丸太の採取高別萌芽長合計  
注: ( ) 書きは萌芽数

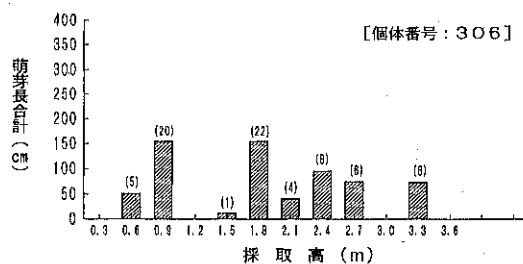


図-1-6 コナラ丸太の採取高別萌芽長合計  
注: ( ) 書きは萌芽数

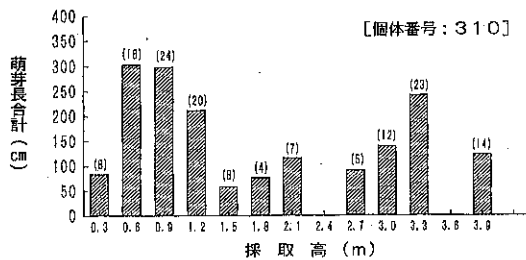


図-1-7 コナラ丸太の採取高別萌芽長合計  
注: ( ) 書きは萌芽数

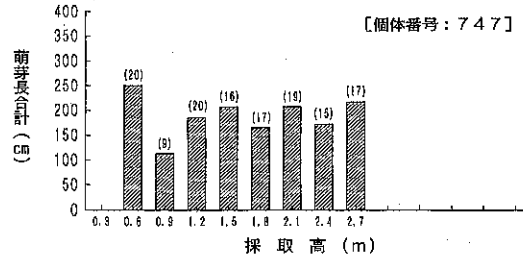


図-1-8 コナラ丸太の採取高別萌芽長合計  
注: ( ) 書きは萌芽数

### Ⅲ. 結果と考察

#### 1. 供試材料の準備

##### 1) 供試材料の通年化

恒温器内の水さし丸太はおよそ2～3週間で萌芽し始めた。表-2には、恒温器内で水さし丸太から発生した萌芽の発生箇所数・萌芽数・最大萌芽長・最小萌芽長・平均萌芽長・萌芽長合計・採取腋芽数を、採取高別に計8個体について示した。この表より、個体あるいは採取高による違いはあるが、ほとんどの丸太から萌芽が発生し、培養に用いることのできる腋芽が採取できることがわかる。培養可能な腋芽を全く採取できない丸太もあるが、平均で21個多いものでは50個以上採取できた。また、個体および採取高による萌芽発生量を比較するため、図-1-1～図-1-8にそれぞれ萌芽長合計を示した。採取高に関係なくどの丸太からもほとんど同じように萌芽が発生する個体もあれば、採取高により萌芽の発生量が全く違ってくる個体もある。採取高による萌芽発生量の明

らかな傾向はないようである。それよりも個体差による違いが大きく、個体番号[135][161]ではどの高さから採取した丸太からも多くの萌芽が発生するが、個体番号[131][194][306]では全く萌芽が発生しない丸太があったり、萌芽が発生してもその量が非常に少ない丸太もある。しかし、30cm1本の丸太からの平均萌芽発生量が多い個体で23.7本、270cm、少ない個体で6.2本、55cmであった。コナラの枝あるいは幹を伐倒玉切りした丸太を水さしすることにより、数週間で多くの萌芽が発生し培養に用いる腋芽が採取できることがわかった。また、コナラ丸太は冬季に伐倒玉切りし、冷蔵庫に保存しておけば、季節を問わず通年的に実験を行なうことが可能である。

##### 2) 各種雑菌類の実験系からの除去の検討

室内で丸太を水さしし、そこから発生させた萌芽枝の腋芽、および野外の当年生伸長枝から得た腋芽の、初代培養における雑菌汚染の程度を比較

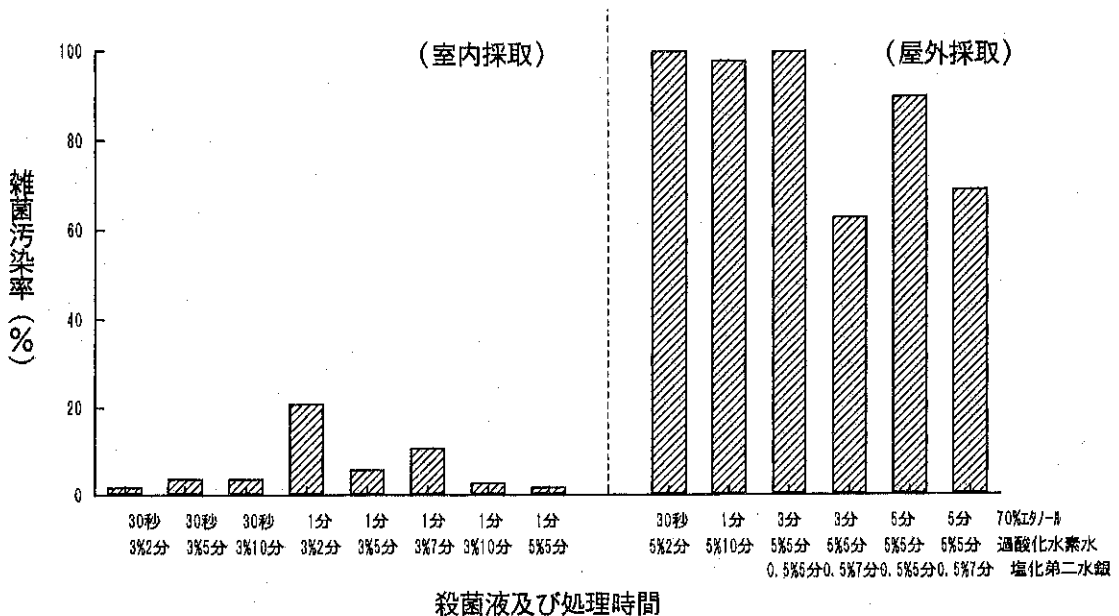


図-2 材料採取方法による雑菌汚染率の違い

した。萌芽枝あるいは当年生伸長枝から葉柄の一部を含むように15~20mm程度に切断し、70%エタノールに浸漬後、過酸化水素水あるいは塩化第二水銀で殺菌した。殺菌はスターで攪拌しながら行なった。その他にも界面活性剤を殺菌液に加えたり、減圧しながらの殺菌処理も行なった。殺菌処理後の材料はクリーンベンチ内に移し滅菌水で洗浄したのち、滅菌ろ紙上で風乾し切口を1~2mm程度切り落とし、滅菌した培地へ植え付けた。初代培養の前の表面殺菌の程度、及び雑菌汚染率を図-2に示した。野外から採取した材料を用いた場合、かなり強烈的な殺菌をしたにもかかわらず、雑菌汚染率は63~100%と高かった。一方室内で丸太を水さしし、その萌芽枝を材料とした場合、かなり軽度の殺菌でも雑菌による汚染はほとんどなかった。コナラ腋芽培養の際は、水さし丸太からの萌芽枝を材料とし、表面殺菌は70%エタノールで1分、3%過酸化水素水で5~10分行うのがよいと考えられる。このように水さし丸太から発生した萌芽枝を実験材料に用いることは、通年的な実験を行うためだけでなく、雑菌による汚染を除去するという観点からも非常に有効な手段であると言える。また、この方法で材料を準備した場合、培養中のポリフェノール性物質による褐変はあまりなかった。

## 2. 培地組成の検討

### 1) 外植体の培養に適した培地組成の検討

まず基本培地による違いと個体差について検討するため、BTM・WPM・ERを基本培地とし、8個体を材料にした時のシュートの伸長量をそれぞれ図-3-1、図-3-2、図-3-3に示した。それぞれの培地にはNAAを0.002mg/ℓとBAPを0.23あるいは0.71mg/ℓ加えた。全体的にみるとBTMとWPMはあまり違いがなく、E

Rが少し劣るようである。植え代え可能本数についても同様であった。しかし個体別にみても [131] [135] はBTM培地がよく、[132] [306] [310] はWPM培地がよく、そして[161]ではERが良かった。このようにER培地がよい個体もあつたり、[194] [308] のようにどの培地を用いた場合でもシュートの伸長が悪い個体があつたり、個体差が大きいことがわかる。このことから、初代培養には、通常はBTM培地あるいはWPM培地を基本培地として使い、その中であまり調子の良くない個体については他の培地を検討することがよいと思われる。また、BAP濃度については、0.23mg/ℓと0.71mg/ℓとではあまり顕著な差はみられなかった。

次に、NAA及びGA<sub>3</sub>を加えることがシュートの伸長に及ぼす影響を調査するため、BTM培地を基本培地として、個体番号[50]を用い、植物ホルモンをBAPのみの場合、BAPとNAAを加えた場合、BAPとGA<sub>3</sub>を加えた場合でシュートの伸長量を比較した。BAPは0.1, 0.5, 1.0, 5.0mg/ℓの4水準、NAAは0.01mg/ℓ、GA<sub>3</sub>は1.0mg/ℓ加えた。その結果を図-4に示した。これによるとBAPのみの場合とそれにNAAを加えた場合とではあまり違いはなかった。GA<sub>3</sub>を加えた場合は、BAPのみの場合よりも平均のシュート伸長量は低くなってしまった。しかし、シュートが50mm以上も伸長するものもあつた。このように今回の場合、NAAやGA<sub>3</sub>を加える効果があらわれなかったが、特にGA<sub>3</sub>は、加えることによりシュートの伸長が促進されたものもあり、濃度等を検討すれば、その効果が期待できるのではないと思われる。BAPの濃度についてはどの場合も0.5~1.0mg/ℓが良いよう

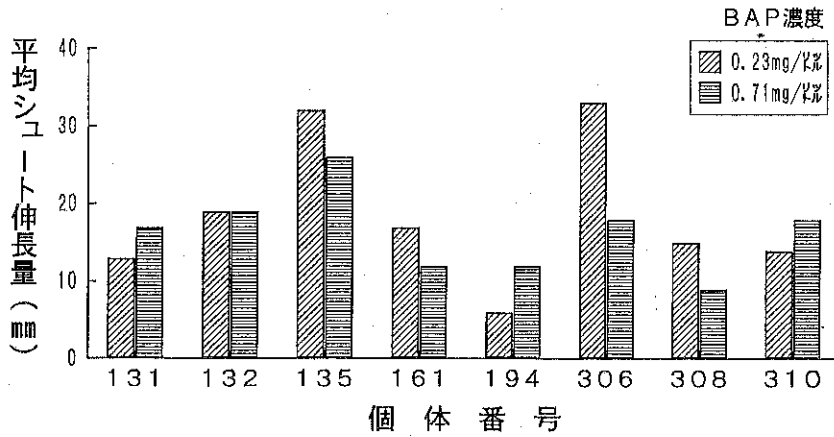


図-3-1 BTM培地を基本培地としたときの平均シュート伸長量

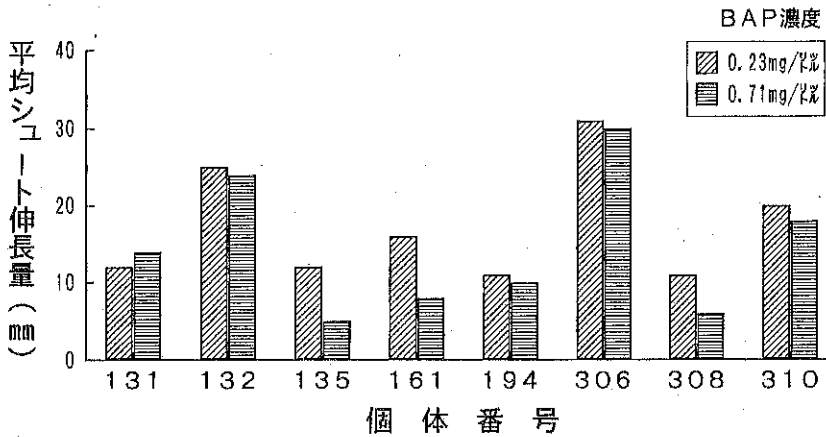


図-3-2 WPM培地を基本培地としたときの平均シュート伸長量

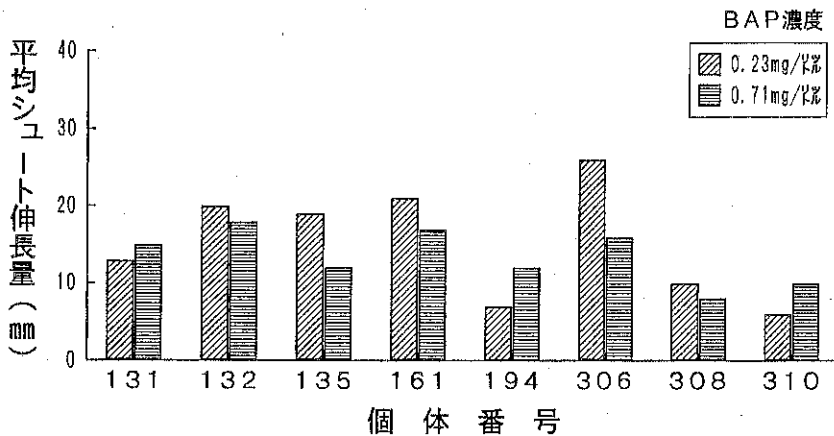


図-3-3 ER培地を基本培地としたときの平均シュート伸長量

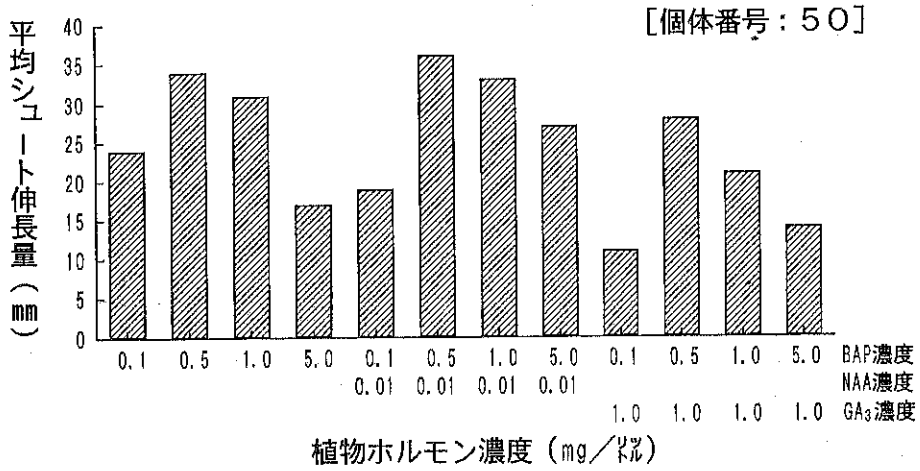


図-4 NAA及びGA<sub>3</sub>がシュートの伸長に及ぼす影響

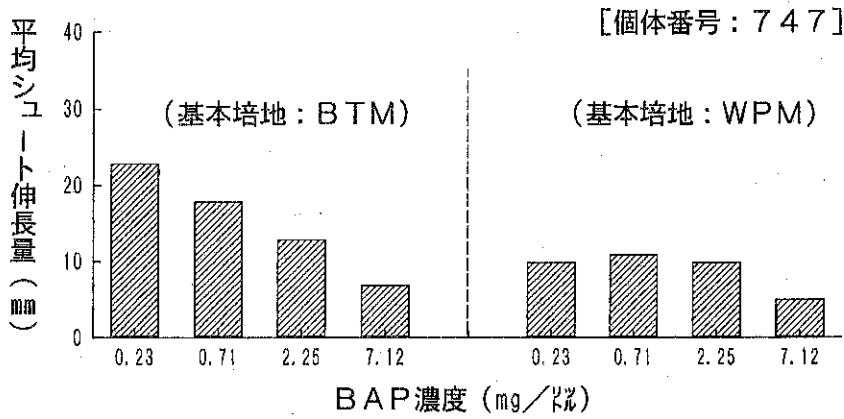


図-5 BAP濃度がシュートの伸長に及ぼす影響

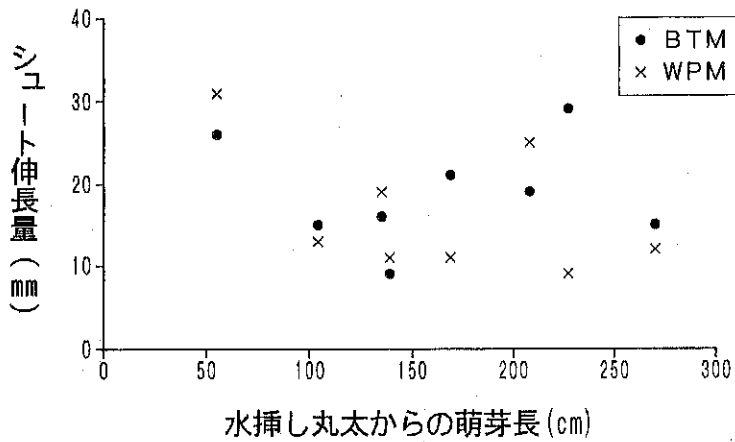


図-6 水挿し丸太からの萌芽発生量とシュート伸長量の関係



ついでにはどの場合も 0.5~1.0mg/l が良いようである。そこで、もう少し BAP の濃度を検討するため他の個体を使ってシュートの伸長量を比較した。基本培地は BTM・WPM 両培地を用い、個体番号 [747] を使った。BAP は 0.23, 0.71, 2.25, 7.12mg/l の 4 水準加えた。その結果を図-5 に示した。この個体はシュートの伸長はあまり良くない個体であったが、BTM 培地の方が WPM 培地より良い結果を示し、BAP 濃度では上述の結果と同じく低い濃度の方がシュートの伸長が良かった。以上のことをまとめると、コナラの初代培養には BTM あるいは WPM を基本培地とし、植物ホルモンとしては BAP を単独で 0.5~1.0mg/l 程度加えた培地を使えば、ある

程度のシュートの伸長があり、継代及び発根培地へ移すための材料が得ることが出来る。増殖率は多いものでも 1~2 ヶ月で 5 倍程度であった。しかし、これ以上の増殖率を期待するには NAA や GA<sub>3</sub> を加え、その濃度の検討が必要である。また、個体差があるので、BTM 培地や WPM 培地で増殖が困難な個体については ER 等他の培地で検討することも必要である。

材料の採取段階で増殖の難易が判定できればより効率的な増殖が可能になる。成木からの材料採取能力と培養の難易に関係があるかないかを確認するため、水さし丸太からの萌芽発生量と培養段階でのシュート伸長量を比較した。図-6 にその関係を示した。回帰分析の結果、萌芽伸長量と B

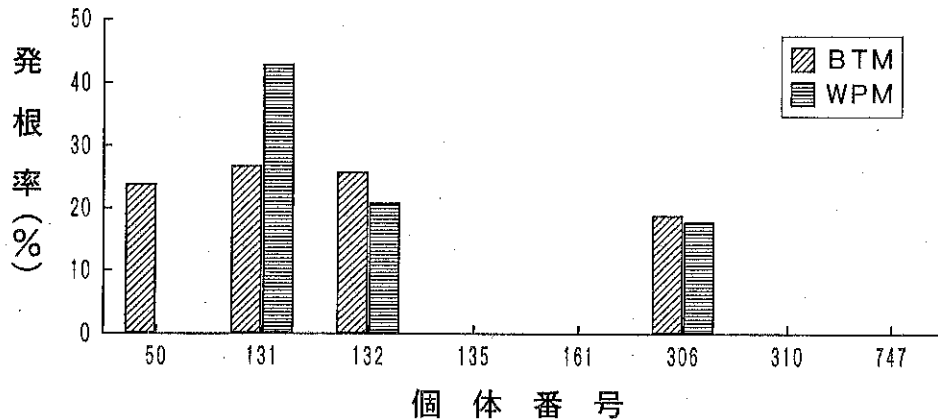


図-7 コナラ個体別発根率 (培地に活性炭を加えた場合)

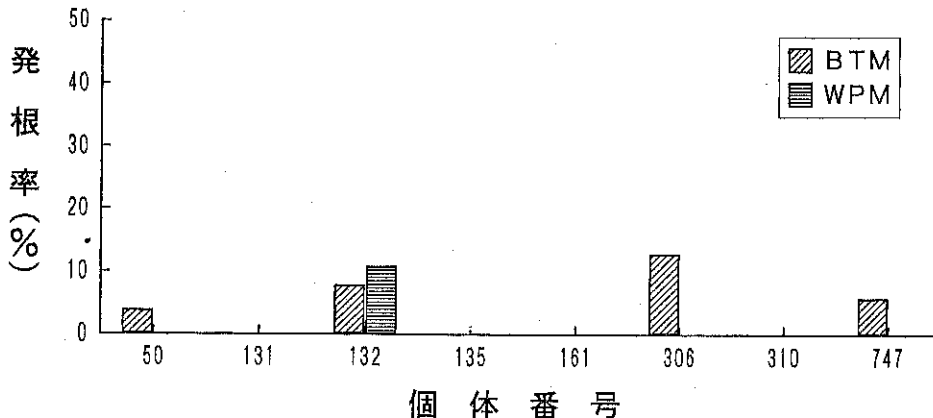


図-8 コナラ個体別発根率 (培地に活性炭を加えない場合)

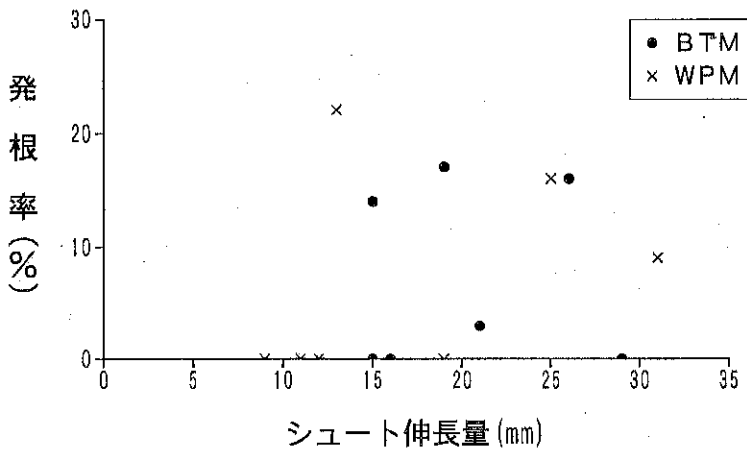


図-9 シュート伸長量と発根率の関係

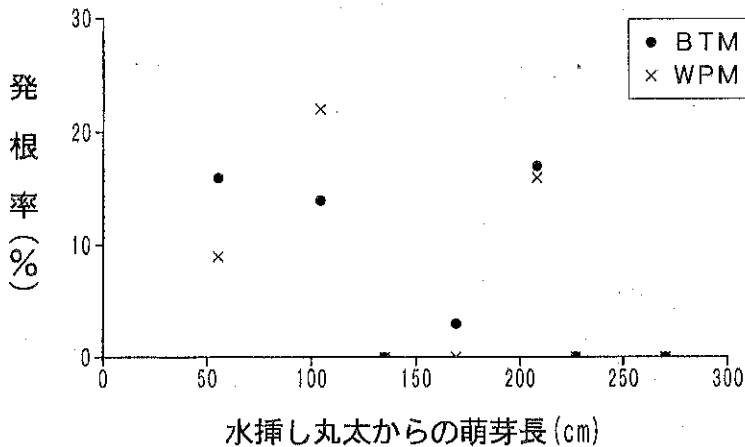


図-10 水挿し丸太からの萌芽発生量と発根率の関係

TM培地を用いた場合のシュート伸長量の関係、及び萌芽伸長量とWPM培地を用いた場合のシュート伸長量との関係には、どちらも有意な相関は認められなかった。萌芽の発生量により培養のしやすい個体を捜し出すのはいまのところ困難である。

2) 苗条体の発根に適した培地の検討

初代培養により伸長したシュートを発根培地に植え付け、その発根率を個体別に比較したのが、図-7 (活性炭を発根培地に加えた場合) 及び図-8 (活性炭を培地に加えない場合) で、活性炭

を加えることにより発根率が良くなることがわかる。また、活性炭を加えた培地で個体別に比較してみると、個体番号 [50] [131] [132] [306] では20%程度の発根率があるが、[135] [161] [310] のように全く発根しなかった個体もある。最も発根率が高かったのが個体番号 [131] を使い、WPM培地に植え付けたもので43%の発根率があった。個体番号 [50] についてはBTM培地のみを使い、WPM培地に植え付けた場合との比較はできないので、[50] を除いて比較すると、BTMとWPM培

地を使った場合の違いはあまりないと言える。それよりも、材料の個体差や植物ホルモン及び活性炭を加えることによる影響の方が大きかった。初代培養における培養難易と発根率の関係を検討するため、初代培養でのシュート伸長量と発根率を図-9により比較した。回帰分析の結果、両者の間に有意な相関関係は認められなかった。また、初代培養の結果と同様に材料の採取段階で、発根率のよい個体を選抜できるかどうかを確かめるため、水さし丸太からの萌芽発生量とその個体を培養に用いたときの発根率を図-10に示した。この場合も、回帰分析の結果、両者の間には有意な相関関係は認められなかった。以上のことより、材料を準備する段階でその個体の初代培養から発根まで含めた培養難易を判定することはできなかった。しかし、発根可能な個体であれば、2分の1のBTM培地あるいは2分の1のWPM培地に、植物ホルモンとしてIAA及びIBAを加え、さらに活性炭を加えた培地を発根培地とすることにより20%程度の発根率が期待できることがわかった。

### 3. 幼植物体の環境順化の検討

発根した植物体は、順化を行い、その後温室へ移し現在は苗畑に植えてある。試験管の中ですでに弱っていたものを除けば、ほとんど順化に成功した。しかし、苗畑に移して2年目で、同じく組織培養により実生稚苗の腋芽から得られ、順化した苗と比較すると生長が悪く、上に伸びないものが多い。もう少し順化個体を増やし、それらの特徴をとらえる必要がある。

## IV. 参考文献

1. Chalupa, V.: In vitro propagation of oak (*Quercus robur* L.) and linden (*Tilia cordata*

Mill.), *Biologia Plantarum* (Praha), 26:374~377, 1984

2. Economou, A. S. and Read, P. E.: In vitro shoot proliferation of Minnesota deciduous azaleas, *Hort. Sci.*, 19:60~61, 1984

3. 伊藤祐道: クヌギ成木の組織培養に用いる外植体採取の周年化—水さし丸太由来の萌芽枝の利用—, 林木の育種No.151, 9~14, 1989

4. 小山真澄: コナラ萌芽枝の腋芽の培養による植物体の再生, 100回日林論, 490~510, 1989

5. 小山真澄: コナラの腋芽培養における不定芽の増殖試験, 林木の育種特別号, 6~8, 1990

6. Lloyd, G. and McCown, B.: Commercially feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot tip culture, *Comb. Proc. Int. Plant Propagator's Assoc.*, 30: 421~427, 1980

7. 最新バイオテクノロジー全書編集委員会 (編): 木本植物の増殖と育種, 農業図書, 1989

8. 佐々木恵彦: 森林のバイオテクノロジー入門, 創文, 1987

9. 白川正・宮本健治: コナラ成木腋芽培養による苗木育成, 和歌山県林業センター研究報告第3号, 1992

### 普及指導上の留意点

萌芽枝の腋芽からシュートを伸長させ切り離し、発根培地に継代する事により植物体を再生することはできるようになった。この方法により得られた植物体は現在当センター苗畑で生育しており、継続して成長調査を行っている。しかし、増殖率・発根率ともにまだ低く、個体差もかなりある。安定した個体の増殖法、順化方法の確立が必要である。