

ケヤキ・アカマツ・クロマツ・ヒノキの組織培養による増殖の試み

誌名	愛媛県林業試験場研究報告
ISSN	03892875
著者	余吾, 初徳
巻/号	18号
掲載ページ	p. 73-82
発行年月	1997年2月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



ケヤキ・アカマツ・クロマツ・ヒノキの組織培養による増殖の試み

余 吾 初 徳

Propagation of *Zelkova serrata*, *Pinus densiflora*, *Pinus thunbergii*, and *Chamaecyparis obtusa*, by tissue culture

Hatsunori Yogo

ケヤキ成木を材料にした初代培養では、MSまたはmDL(modified DL)にBAP 5×10^{-6} mol, IBA 10^{-6} mol \sim 0を添加したものが適していると思われた。WPMの無機塩とショ糖の濃度を $\frac{1}{2}$ 濃度に減じ、ピリドキシン塩酸とグリシンを除いた培地にNAA 5.37×10^{-6} mol添加したもので、13%の発根率が得られた。継代培養における硝酸銀処理の効果はほとんどみられなかったが、mDL区では、硝酸銀処理の有無に関わらず、トレグリン支持体区の方が寒天支持体区より伸長がよいように思われた。マツノザイセンチュウ抵抗性個体「小浜24」「大分142」「大分166」において、 NH_4NO_3 , KNO_3 , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 を $\frac{1}{2}$ 濃度に減じたLPに、BAP 10^{-5} mol, IBA 10^{-7} mol添加した培地でごく少数のみに葉束基部から展葉するものがみられた。ヒノキ成木を材料にした初代培養では、CDにBAP 8.88×10^{-6} mol添加したものが、上長成長にはCDにBAP 4.44×10^{-7} mol添加したものが比較的良好である傾向がみられた。また、CDにNAAを 10^{-5} mol \sim 0添加し80日間培養後基部のカルスを除去し、CDにIBAを 4.92×10^{-7} mol添加した培地で130日間培養した結果45%の発根率を得た。

1. 緒言

近年、森林の公益的機能に対する要請や広葉樹が見直されたことなどから、有用広葉樹への関心が高まっており、特にケヤキについては玉杻を有するものや枝張りの小さいものなど特徴的な性質を持つ苗の供給が期待されている。しかしながら、これら特定個体の特性が正しく把握されるのは成木になってからであり、優良系統として認められているものは樹齢の高いものや老齢化のため衰弱の進んでいるものが多く、さし木等の従来からのクローン増殖はきわめて困難である。

アカマツ、クロマツは松くい虫被害跡地の復旧を行う上で欠くことのできない樹種であり、現在松くい虫被害跡地造林には、アカマツ、クロマツのさし木が困難であるため抵抗性品種の実生苗を用いているところであるが、抵抗性個体からのクローン苗の増殖についても意義があるものと考えられる。

本県の主要な造林樹種であるヒノキの精英樹については、現在16品種を選抜し次代検定を行っており、新たに選抜に取り組んでいるところである。しかし、ヒノキのクローン増殖については、近年さし木技術の改良によりさし木増殖も可能となったものの、品種によっては発根率が悪くさし木法では大量増殖が困難なものもあり、組織培養に期待するところは大きい。

これらを背景に、成木の組織を材料として用い、組織培養を利用してこれら樹木の増殖方法の検討を行ったので報告する。

なお、この試験は、林業試験研究情報調査(国補)で、「優良木種苗増殖技術の開発」を森林総合研究所と全国18の公立林業試験研究機関において、共同研究として実施したものである。

2. 材料と方法

2.1 ケヤキ

2.1.1 幼若化方法の検討

2月下旬に現地より成木(約100年生)の枝を採取し、長さ約50cm、径1~8cmに切断・調整した。それを、約3cm程度水に浸してガラス温室内で水ざしした(伊東・松尾1988)。ガラス温室の温度は最低で5℃以下にならないようにし、水ざし用の水は水道水を用い1日数回入れ替えた。

2.1.2 表面殺菌方法及初代培養培地組成の検討

2.1.1の水ざし枝から発生した萌芽枝よりえき芽を含む茎軸小片を採取し、70%エタノール1分、1%次亜塩素酸ナトリウム10分、水洗3回、または70%エタノール90秒、水洗3回で殺菌処理した後、WPM(Lloyd, G. and McCown, B. H. 1981)、BTM(Chalupa, V. 1984)、無機塩濃度を $\frac{1}{2}$ 濃度に減じたMSにそれぞれざし付けた。次に、初代培養で健全であったシュートを材料に、MSおよびWPMを基本培地に用い継代培養を行った。

2.1.3 初代培養および継代培養培地組成の検討

2.1.1の水ざし枝から発生した萌芽枝のえき芽を含む茎軸小片を材料にし、HH2(原口1991a)、MS(Murashige, T. and Skoog, F. 1962)、WPM、DL(Durzan, D. J. and Lopushanski, S. M. 1975)、H2(原口1991b)のそれぞれを基本培地に用い初代培養における培地の適応性を調査した(表-1)。さらに、MS、DL、mDL(原口1991a)、H2で追試を行った。植物成長調節物質の濃度は表-2のとおり。

表-1 各培地番号に対する成長調節物質の濃度 (HH2, MS, WPM, DL, mDL, H2共通)

IBA/BAP	10^{-5} mol	5×10^{-6} mol	10^{-6} mol
10^{-6} mol	No. 1	No. 4	No. 7
5×10^{-7} mol	No. 2	No. 5	No. 8
0	No. 3	No. 6	No. 9

※mDLはDLからCasein hydrolysateを除いたもの

表-2 各培地番号に対する成長調節物質の濃度 (MS, DL, mDL, H2共通)

IBA/BAP	5×10^{-6} mol
10^{-6} mol	No.10
10^{-7} mol	No.11

また、初代培養試験で15mm以上に伸長したシュートを用い継代培養試験を行った。基本培地には、BAP 5×10^{-6} mol、IBA 10^{-6} molを添加したmDL、同植物成長調節物質を添加し無機塩濃度を $\frac{1}{2}$ 濃度に減じたMSを使用した。ざし付けにあたっては、シュートの最先端部を切断した残りを培地にざし付ける方法で行った。

2.1.4 初代培養日別シュート発生量

2.1.1の水ざし枝から発生した萌芽枝のえき芽を含む茎軸小片を材料にし、BAP 5×10^{-6} mol、IBA 10^{-6} molを添加したMS、mDLのそれぞれを基本培地に用い初代培養日別シュート発生量を調査した。

2.1.5 培養に用いる容器の検討

2.1.4の初代培養で健全であったシュートを利用して、クヌギの組織培養でシュートの増殖および伸長に効果があった(余吾・森ら1992)通気性容器(キノコ袋栽培用通気性フィルターを取り付けたポリカーボネイト製容器)と非通気性容器(フィルターを取り付けていない同容器)で継代培養時の枯損防止効果と上長成長効果を観察した。使用培地は、MSにBAP 5×10^{-6} mol、IBA 5×10^{-7} molとした。

2.1.6 支持体の検討

2.1.4の初代培養で健全であったシュートを利用して、支持体をポリエステル繊維を固めたトレグリンと寒天で、植え付け後の成長状況を観察した。使用培地は、MSにBAP 5×10^{-6} mol、IBA 10^{-6} molとした。

2.1.7 発根試験

継代培養1回目で発根試験を行い発根率を調査した。使用した培地は表-3のとおり。

2.1.8 継代培養における硝酸銀処理、支持体、培地の検討

初代培養で健全であったシュートを利用して、硝酸銀処理、支持体、培地を組み合わせ成長状況を調査した。培地はmDLと、無機塩とショ糖を

表-3 発根試験に使用した培地と発根率

初代培地	発根培地	置床数 発根数 発根率		
		本	本	%
1/2MS				
BAP 5×10^{-6} mol	WPM+NAA 10^{-7} mol	10	0	0
IBA 5×10^{-7} mol				
	MS+NAA 10^{-7} mol	10	1	10
m D L				
BAP 5×10^{-6} mol	WPM+NAA 10^{-7} mol	10	0	0
IBA 5×10^{-7} mol				
	MS+NAA 10^{-7} mol	10	0	0
	1/2WPM+NAA 5.37×10^{-6} mol	30	4	13

1/2濃度に減じたMSにBAP 5×10^{-6} mol、NAA 10^{-8} mol添加したものを使用した。硝酸銀処理は、1,000ppmの溶液にシュートの切り口を3秒間浸漬して行った。支持体は、トレグリンと寒天で比較した(表-4)。

2.2 マツ

2.2.1 幼若化方法の検討

アカマツについては、マツノザイセンチュウ抵抗性クローン15クローン30本のつぎ木苗を作成し、鉢上げしてガラス温室で管理した。クロマツについては、以前に鉢上げしてガラス温室で管理しているものを使用した。

2.2.2 初代培養培地組成の検討(1)

当年に伸長したクロマツの葉束を材料として、 NH_4NO_3 、 KNO_3 、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 KH_2PO_4 を1/2濃度に減じたLP(Aitken-Christie, J. 1984)を基本培地に用い、初代培養におけるBAP濃度について検討した。供試したクローンは表-5 マツノザイセンチュウ抵抗性クローンで、BAPの組み合わせは表-6のとおりである。

表-5 供試クローン

三崎90 小浜24 小浜30 大瀬戸12 吉田2 夜須37

表-6 BAPの組み合わせ

基本培地	BAP濃度
改変LP	10^{-6} mol
"	5×10^{-6} mol
"	10^{-5} mol
"	5×10^{-5} mol
"	10^{-4} mol

表-4 処理別供試シュート数

基本培地	支持体	硝酸銀処理	無処理
m D L	寒天	18	18
	トレグリン	18	18
1/2MS	寒天	18	18
	トレグリン	20	21

BAP 5×10^{-6} mol NAA 10^{-6} mol
硝酸銀1,000ppm 3秒間切り口浸漬処理

また、クロマツ冬芽を用い培養試験を行った。供試したクローンは表-7 マツノザイセンチュウ抵抗性クローンである。

表-7 供試クローン

三崎90 志摩64 小浜30 吉田2 夜須37 波方37
大分8 田辺54 津屋崎50 土佐清水63

2.2.3 初代培養培地組成の検討(2)

クロマツについては、3.2.2で唯一展葉がみられた「小浜24」を、また、アカマツについては、マツノザイセンチュウ抵抗性個体の「大分142」、「大分166」を用い初代培養試験を行った。培養の材料には当年に伸長した葉束を用いた。基本培地には、LP、 NH_4NO_3 、 KNO_3 、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 KH_2PO_4 を1/2濃度に減じたLP、および無機塩濃度を1/2濃度に減じたSH (Schenk, R. U. and Hildebrandt, A. C. 1972)を用い、BAP 10^{-4} mol、IBA 10^{-7} mol添加とBAP 10^{-5} mol、IBA 10^{-7} mol添加区で比較した。

2.3 ヒノキ

2.3.1 幼若化方法の検討

精英樹6クローン、耐やせ地性個体5クローンの計23本についてつぎ木苗を作成し鉢上げしてガラス温室で管理した。

2.3.2 初代培養および発根用培地組成の検討

耐やせ地性個体の当年に伸長した葉束を材料にして、WPM、CD(Campbell, R. A. and Durzan, D. J. 1974)、無機塩濃度を1/2濃度に減じたMSを基

表-8 基本培地とBAPの組み合わせ

基本培地	BAP	基本培地	BAP	基本培地	BAP
MS-1	4.44×10^{-7} mol	WPM-1	4.44×10^{-7} mol	CD-1	4.44×10^{-7} mol
MS-2	2.22×10^{-6} mol	WPM-2	2.22×10^{-6} mol	CD-2	2.22×10^{-6} mol
MS-3	4.44×10^{-6} mol	WPM-3	4.44×10^{-6} mol	CD-3	4.44×10^{-6} mol
MS-4	8.88×10^{-6} mol	WPM-4	8.88×10^{-6} mol	CD-4	8.88×10^{-6} mol
MS-5	1.78×10^{-5} mol	WPM-5	1.78×10^{-5} mol	CD-5	1.78×10^{-5} mol

本培地として用い初代培養におけるBAP濃度について検討した。各基本培地とBAPの組み合わせは表-8のとおりである。次に、成長を続けているシュートを使って発根試験を行った。第1段階として基本培地にCDを用い、NAAを0、 10^{-7} mol、 10^{-6} mol、 10^{-5} molの4水準添加して80日間培養した。第2段階として、同じくCDを用い、IBAを0、 4.92×10^{-8} mol、 4.92×10^{-7} mol、 4.92×10^{-6} mol、 9.84×10^{-6} molの5水準添加して培養した。

また別試験として、基本培地にCDを用い、ノーマル、無機塩およびショ糖濃度をそれぞれ $\frac{1}{2}$ 、 $\frac{1}{3}$ 、 $\frac{1}{4}$ 濃度に減じた培地の4水準で発根試験を行った。

3. 結果と考察

3.1 ケヤキ

3.1.1 幼若化方法の検討

水ざし枝150本で、えき芽を含む茎軸小片2,118個を培養用材料として供試した。獲得できた茎軸小片の数は総数で3,000個を越えており、幼若化した材料の確保はできたと考えられた。

3.1.2 表面殺菌方法と初代培養培地組成の検討

すべての培地で、エタノールと次亜塩素酸ナトリウムを併用した場合は枯死する割合が高く(図-1, 3, 4, 5)、エタノールのみ殺菌の方が健全率が高い傾向がみられ(図-2)、実用的にはエタノールのみ殺菌が効率的であると思われた。また、初代培養における各培地での健全率は無機塩濃度を $\frac{1}{2}$ 濃度に減じたMSで、 $BAP10^{-5} \sim 10^{-6}$ mol、 $NAA10^{-8}$ mol添加したものが高かった。第1回目の継代培養では、使用した培地の種類に関わらず $BAP10^{-5}$ mol、 $NAA10^{-7}$ mol添加した培地

での健全率が高かった(図-6)。第2回目以降の継代培養は、基本培地に $BAP10^{-5}$ mol、 $NAA10^{-7}$ molを添加して培養を継続したが、両培地とも伸長するシュートの茎が細くなり継代5回目ですべて枯死した。

3.1.3 初代培養および継代培養培地組成の検討

WPMは全体に枯死する個体が多く、DLとH2はシュートが伸長する個体数が少ないため、本試験に供したケヤキの初代培養には不適当な培地であると思われた。HH2、MS、mDLについては、全般的に健全に成長する個体数も多く、シュートの伸長数も多い結果になった。中でも、培地番号4、5、6が培養には適していると思われた(図-7~12)。さらに、MS、DL、mDL、H2で追試を行ったが、先の結果と同様に、MS、mDLが適していると思われた(図-13)。

継代培養試験の結果は、どの区においてもシュートの上長成長および茎の肥大成長とも不良で、時間の経過とともに枯死する傾向にあった。

3.1.4 初代培養日別シュート発生率

4月前半に初代培養を行うより4月後半から5月にかけて行う方がシュート発生率が高い傾向があった。このことから、組織が軟弱である4月前半より固まった4月後半の材料が培養に適していると思われた(図-14)。

3.1.5 培養に用いる容器の検討

枯損防止と上長成長について、両容器の間に明確な差はみられなかった。

3.1.6 支持体の検討

植え付け後30日目では、両容器とも培養物の成長に明確な差はみられなかった。

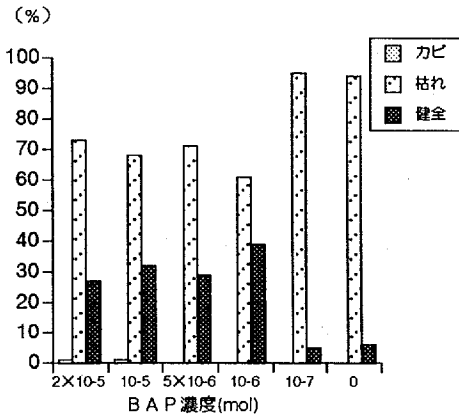


図-1 初代培養における $\frac{1}{2}$ MSでのBAP濃度別健全率の違い
(NAAは 10^{-8} molで一定)

殺菌: 70%エタノール1分 1%次亜塩素酸10分、水洗3回

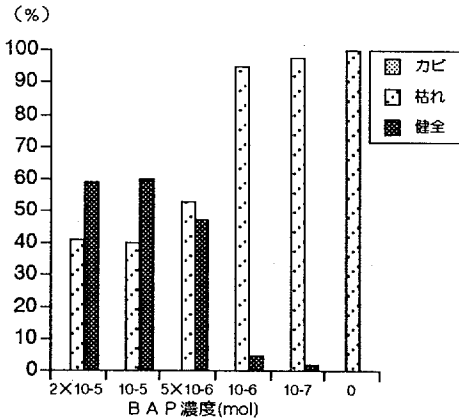


図-3 初代培養におけるWPMでのBAP濃度別健全率の違い
(NAAは 10^{-8} molで一定)

殺菌: 70%エタノール1分 1%次亜塩素酸10分、水洗3回

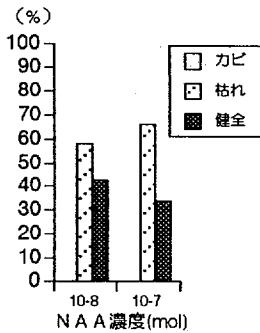


図-5 初代培養における $\frac{1}{2}$ MSでのNAA濃度別健全率の違い
(BAPは 10^{-5} molで一定)

殺菌: 70%エタノール1分 1%次亜塩素酸10分、水洗3回

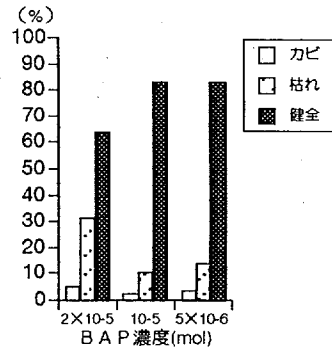


図-2 初代培養における $\frac{1}{2}$ MSでのBAP濃度別健全率の違い
(NAAは 10^{-8} molで一定)

殺菌: 70%エタノール90秒 水洗3回

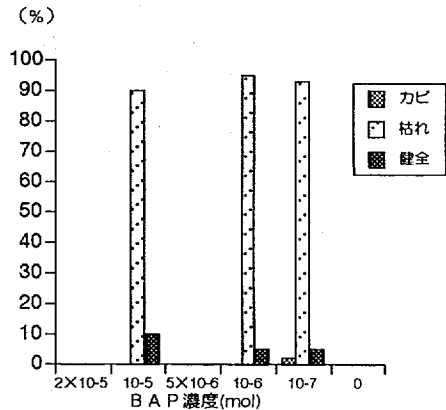


図-4 初代培養におけるBTMでのBAP濃度別健全率の違い
(NAAは 10^{-8} molで一定)

殺菌: 70%エタノール1分 1%次亜塩素酸10分、水洗3回

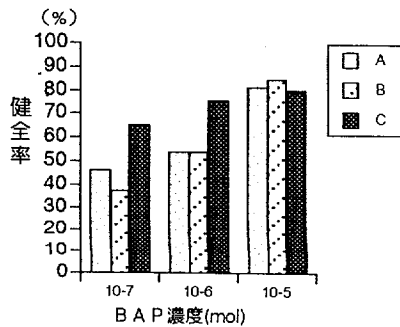


図-6 継代培養(1回目)におけるBAP濃度別健全率の違い
(NAAは 10^{-7} molで一定)

A: 無機塩のみ $\frac{1}{2}$ 濃度のMS
B: NH_4NO_3 , KNO_3 のみ $\frac{1}{2}$ 濃度のMS
C: WPM

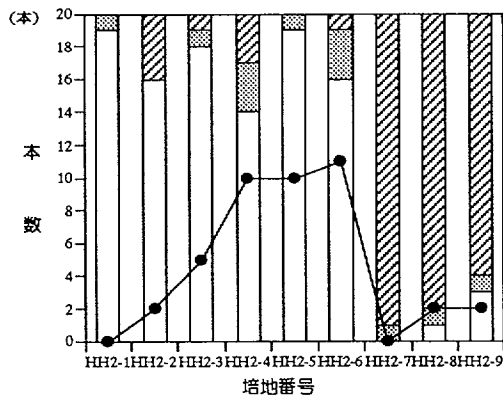


図-7 初代培養における培地の適応性 (H H 2)

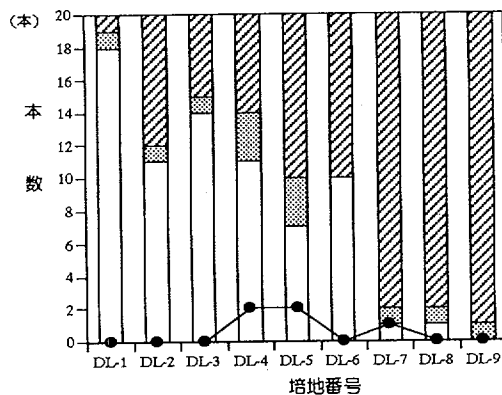
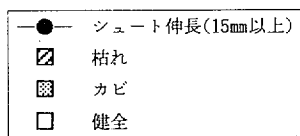


図-10 初代培養における培地の適応性 (D L)

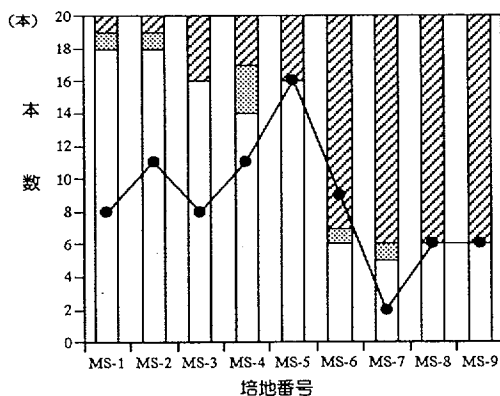


図-8 初代培養における培地の適応性 (M S)

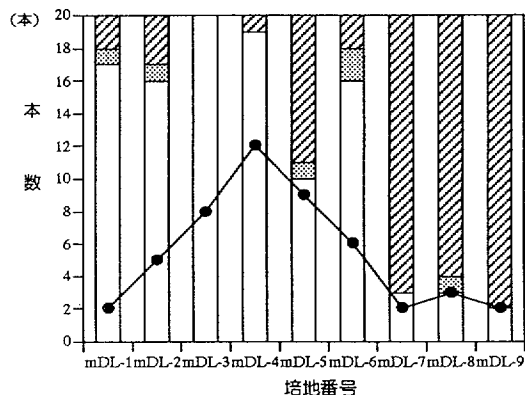


図-11 初代培養における培地の適応性 (m D L)

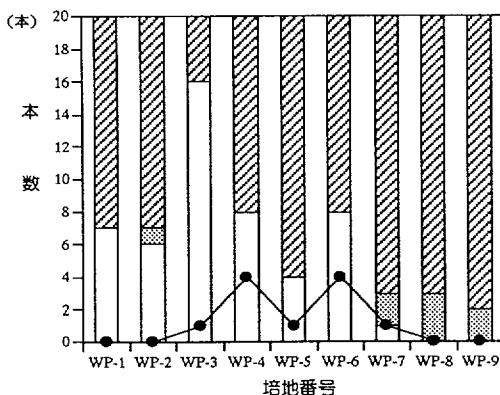


図-9 初代培養における培地の適応性 (W P M)

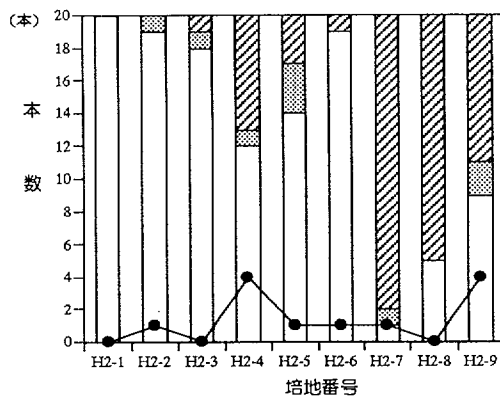


図-12 初代培養における培地の適応性 (H 2)

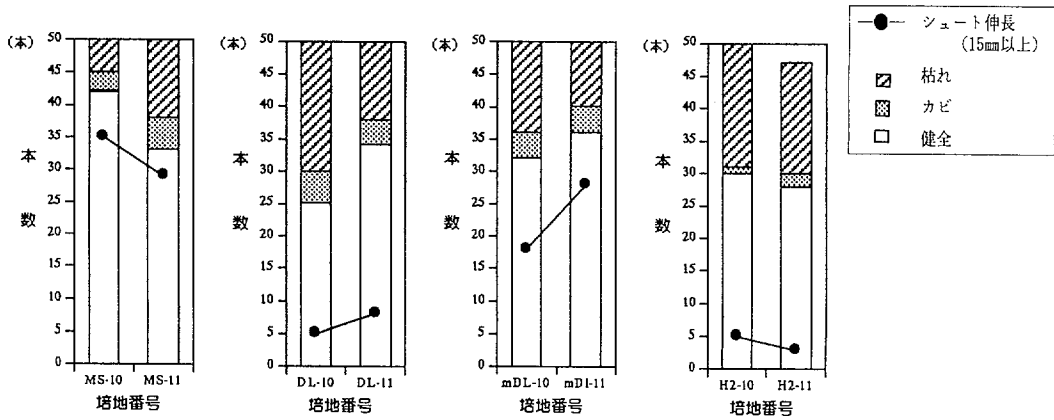


図-13 初代培養における培地の適応性 (追試)

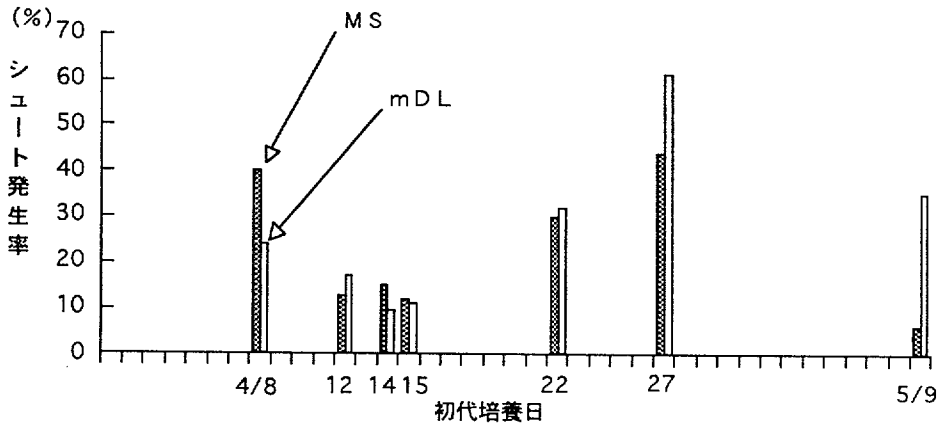


図-14 初代培養日別シュート発生率

3.1.7 発根試験

WPMの無機塩とショ糖の濃度を $\frac{1}{2}$ 濃度に減じ、ピリドキシン塩酸とグリシンを除いた培地にNAA 5.37×10^{-6} mol添加したもので、13%の発根率が得られた(表-3、写真-1)。

3.1.8 継代培養における硝酸銀処理、支持体、培地の検討

各区とも硝酸銀処理の効果はほとんどみられなかったが、mDL区では、硝酸銀処理の有無に関わらず、トレグリン支持体区の方が寒天支持体区より伸長がよいように思われた(写真-2、3)。MS区でもmDL区と同様の伸長傾向を示したが、

シュートの伸長や分株数が多い傾向があった(写真-4、5)。以後、硝酸銀処理なしでトレグリンと寒天の支持体で継代を続けたが、308日後の生存は、トレグリン区のみで、シュート数は11本であった。

3.2 マツ

3.2.1 幼若化方法の検討

春の展葉時期に葉束を材料として採取した後、伸長部分をせん定し再度萌芽させることにより萌芽枝を利用でき、さらに冬期には冬芽の一部も材料として利用することが可能となった。

3.2.2 初代培養培地組成の検討(1)

外植体の殺菌は、70%エタノール90秒、水洗3回で行ったが、カビ等による汚染はほとんど生じず、この殺菌法が効果的であると思われた。培養の結果は、さし付け時点とほとんど変化なしに成長しないまま枯死するものが多かったが、「小浜24」だけにBAP 10^{-5} mol添加区で成長の目安となる葉束基部の膨らみが生じ展葉するものもみられた(写真-6)。これらのことからクローン間の栄養要求性の差異が非常に大きいと思われた。展葉した「小浜24」を用い、ホルモンフリーの基本培地、BAP 10^{-5} mol添加培地と交互に培養を繰り返した結果、継代3回目ですべて枯死した。

クロマツ冬芽を用い、前述の「小浜24」で成績のよかったBAP 10^{-5} mol添加の改変LP培地で培養を行った。外植体の殺菌は、冬芽の毛を除去した後、70%エタノール10秒、水洗3回とした。その結果、カビ等による汚染率は0~50%となり、葉束の場合には及ばないものの比較的汚染率を低く押さえられることがわかった。冬芽の成長は、さし付け時点とほとんど変化がなく、培養1カ月ですべて枯死した。

3.2.3 初代培養培地組成の検討(2)

それぞれの個体とも、改変したLPにBAP 10^{-5} mol、IBA 10^{-7} mol添加した区でごく少数、葉束基部の膨らみが生じ展葉するものもあったがそれ以降の成長はみられなかった。

3.3 ヒノキ

3.3.1 幼若化方法の検討

春の新葉条伸長時期に葉条を材料として利用することが可能となった。

3.3.2 初代培養および発根用培地組成の検討

成長は、えき芽の発生にはCD-4(BAP 8.88×10^{-5} mol添加)が、上長成長にはCD-1(BAP 4.44×10^{-7} mol添加)が比較的良好である傾向がみられた。

発根試験の第1段階は、80日間培養を継続したが、どの区においても基部にカルスは生じるが発根する個体はなかった。基部のカルスを除去した後第2段階の培養を行った結果、培養後130日目の結果は、IBAを 4.92×10^{-7} mol添加した区で発根率が45%と一番高かった(図-15、写真-7、8)。また、ホルモンフリーで培養したものについては、130日経過しても発根するものがみられなかった。

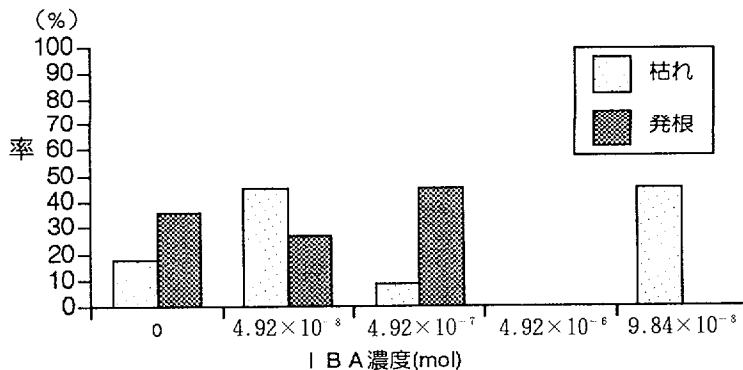


図-15 CD培地でのIBA濃度別枯れ・発根率の違い

この試験は、ケヤキ、アカマツ、クロマツ、ヒノキの組織培養による増殖の足がかりとなったが、個々に、継代培養が進むにつれて枯死するシュートが多いことや、クローン間の栄養要求性の差などにより増殖が安定しない、高い発根率が得られないなど問題点も残った。今後は、効率的な継代培養シュートの確保と発根率の向上、各クローンについての最適培養条件等の検討を行いたい。

参考文献

- Aitken—Christie, J. and Thorpe, T. A. (1984) Clonal propagation: Gymnosperm. In: Cell culture and somatic cell genetics of plants, Vol.1, pp.82—95. Academic Press Inc., London.
- Campbell, R. A. and Durzan, D. J. (1974) Induction of multiple buds and needles in tissue cultures of *Picea glauca*. Can. J. Bot. 53 : 1652—1657.
- Chalupa, V. (1984) In vitro Propagation of Oak (*Quercus robur* L.) and Linden (*Tilia cordata* Mill.). Biologia Plant. (Praha) 26 : 374—377.
- Durzan, D. J. and Lopushanski, S. M. (1975) Propagation of American elm via cell suspension cultures. Can. J. For. Res. 5 : 273—277.
- 原口雅人(1991a) 樹齢800年生アカケヤキの萌芽枝からの植物体再生. 日林関東支論 42 : 63-64.
- 原口雅人(1991b) 樹齢800年生アカケヤキの萌芽枝取り木の節間培養. 日林関東支論 42 : 61-62.
- 伊東祐道・松尾文昭(1988) クヌギの組織培養による増殖—成木丸太由来の萌芽枝を用いた培養の試み—. 日林関西支論 39 : 229-232.
- Lloyd, G. and McCown, B. H. (1981) Commercially feasible micropropagation of mountain laurel (*Kalmia latifolia*) by use of shoot tip culture. Proc. Int. Plant Prop. Soc. 30 : 421—427.
- Murashige, T. and Skoog, F. (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15 : 473—497.
- Schenk, R. U. and Hildebrandt, A. C. (1972) Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cellcultures. Can. J. Bot. 50 : 199—204.
- 余吾初徳・森格良・仲田幸樹(1992) 組織培養による優良個体の増殖技術の開発. 愛媛県林試研報 13 : 44-56.

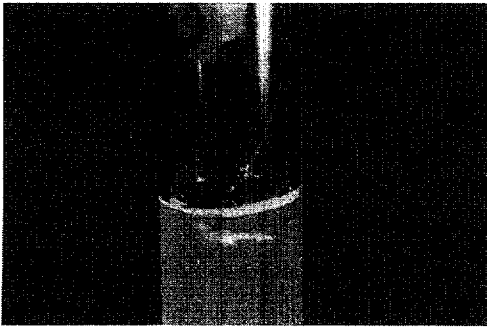


写真-1 発根状況
(発根培養開始後16日目の状況)

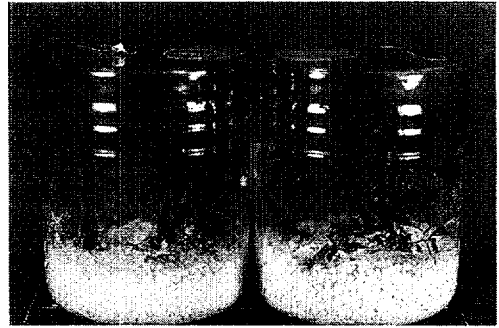


写真-2 mDLトレグリン区の成長状況
(左がAgNo₃未処理区、右が処理区)

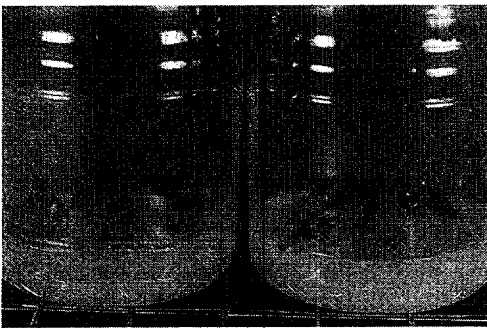


写真-3 mDL寒天区の成長状況
(左がAgNo₃未処理区、右が処理区)

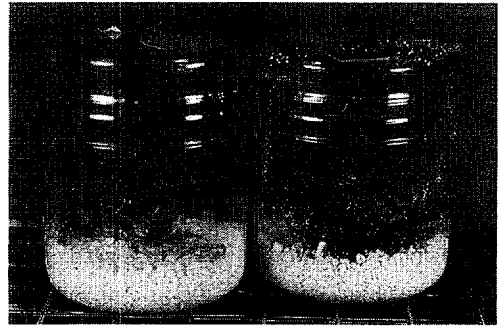


写真-4 MSトレグリン区の成長状況
(左がAgNo₃未処理区、右が処理区)

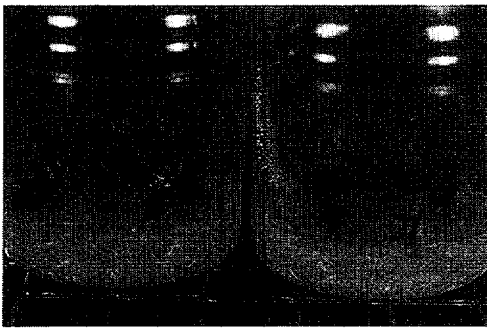


写真-5 MS寒天区の成長状況
(左がAgNo₃未処理区、右が処理区)

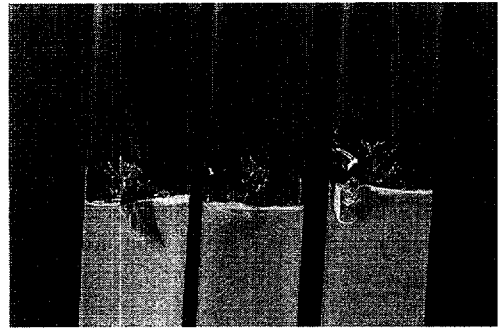


写真-6 葉束からの芽生え
(初代培養後49日目の状況)

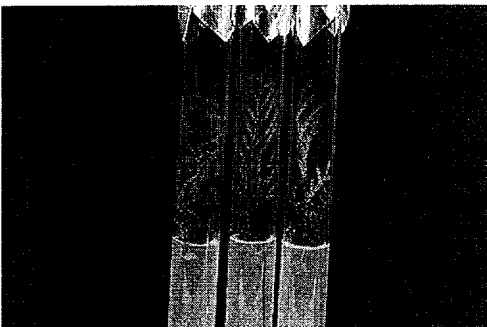


写真-7 発根培養開始後55日目の状況



写真-8 発根培養開始後130日目の状況