

# ハナノキの繁殖

2526 鈴木友彩 2617 園原実花

カエデ科に属するハナノキは、岐阜県東濃地域のごく限られた湿地帯に分布し、近年個体数が減少しており、絶滅危惧種Ⅱ類に分類されている。ハナノキに関する研究は少なく、その生活環境は明らかにされていない。ハナノキの繁殖と種の保存を目的として本実験を行った。実験は実生繁殖、挿し木による栄養繁殖、カルスの分化による細胞培養を行った。実生実験では低温処理による発芽促進は確認できず、処理期間が足りないと考えた。栄養繁殖では、通気性の良い土壌による比較を行った。細胞培養では培地の種類と培養する植物部位、植物ホルモンの濃度を変え、適正な培養条件を見つける実験を行っている。

キーワード ハナノキ、低温処理、挿し木、カルス

## 1. 目的

カエデ科に属するハナノキは雌雄異株の落葉高木であり、岐阜県の恵那山を中心とするごく限られた地域に分布している。土地開発等による生息域の減少により、現在個体数は減少し、絶滅危惧種Ⅱ類に登録されている。そんなハナノキの繁殖と種の保存を目的として研究を行う。

## 2. 実験1

### 2-1 仮説

ハナノキは落葉樹であるため、冬になると種子を落とし、低温な地面の中に埋もれ、種子の内部で成長を促進するホルモンが作られる。このことから意図的に種子を低温下に保存する、低温処理によって発芽率が上がると考える。

### 2-2 使用した器具・装置

ハナノキの種子、冷蔵庫、ジップロックペーパータオル、シャーレ、土

### 2-3 研究・実験の手順

低温処理の温度を【常温、5℃、0℃、-18℃】の4通り、期間を【1週間、2週間、8週間、12週間】の4通りに設定し、以下の手順で実験を行う。

- ①ハナノキの種子を採集する。
- ②ジップロックに濡らしたペーパータオルとハナノキの種子を入れ、各温度と期間の条件を満た

すまで保存する。

③1つのシャーレにつき種子を7個ずつまく。

④各温度と期間の条件ごとに発芽が見られたかどうか記録する。



写真1 シャーレの様子

### 2-4 結果

表1 低温処理実験の結果

	1週間	2週間	8週間	12週間
常温	発芽なし	発芽なし	発芽なし	発芽なし
5℃	発芽なし	発芽なし	発芽なし	発芽なし
0℃	発芽なし	発芽なし	発芽なし	発芽なし
-18℃	発芽なし	発芽なし	発芽なし	発芽なし

## 2-5 考察

ハナノキと同じカエデ科のイロハモミジを用い、同様の実験を行った「モミジ種子の低温処理による発芽促進」という論文では、8週間以上の低温処理によって、発芽率が高くなっていた。ハナノキが分布する東濃地域の冷涼な気候をふまえると、より長い期間の低温処理が必要な可能性がある。また、種子をまいた後に、一定以上の発芽温度が必要な可能性も考えられる。

## 3. 実験2

### 3-1 仮説

挿し木に適した土壌での発根による繁殖が可能であり、保水性、通気性がともに優れた土を用いることで、発根に必要な水分と酸素を供給できるため発芽しやすくなると考える。また、挿し木の際、シュート（発芽部位）が少ないほうが、栄養を発根に集中させることができ、発根率が上がると考える。

### 3-2 使用した器具・装置

ハナノキの枝、土（赤玉土、鹿沼土、パーライト）、ポット、発根促進剤（ルートン）

### 3-3 研究・実験の手順

挿し木をするときの条件としてシュートの数を【シュート2つ、シュート4つ】の2通りに、用いる土を【赤玉土、鹿沼土、パーライト】の3通りに設定し、以下の手順で実験を行う。

- ①ハナノキの枝をシュートの下で切り取り、1時間ほど切り口を水につける。
- ②枝を各条件の実験区に枝を挿す。発根促進剤を用いる場合は、発根促進剤を切り口につけてから挿す。
- ③各土とシュートの条件ごとに発根が見られるかどうか記録する。

## 3-4 結果

表2 挿し木の結果 発根促進剤なし

	赤玉土	鹿沼土	パーライト
シュート 2つ	発根なし	発根なし	発根なし
シュート 4つ	発根なし	発根なし	発根なし

表3 挿し木の結果 発根促進剤あり

発根促進剤 使用	赤玉土	鹿沼土	パーライト
シュート 2つ	発根なし	発根なし	発根なし
シュート 4つ	発根なし	発根なし	発根なし



写真2 挿し木の様子

### 3-5 考察

すべてのハナノキの挿し木で発根が見られなかった原因として発根に必要な条件が十分に整っていなかったことが考えられる。挿し木では根がまだない状態で葉から水分が失われやすいため、高い湿度を保つことが重要である。しかし本実験では、湿度管理が不十分であったことや、残した葉の表面積が大きかったことなどが原因で蒸散によって挿し木が水分不足になった可能性がある。土壌についても赤玉土、鹿沼土、パーライトをそれぞれ単独で使用したため、保水性や通気性のバランスが十分でなかったと考えられる。（赤玉土や鹿沼土は水分を保持しやすい一方、通気性が低下しやすく、パーライトは通気性が良いが水分を保持しにくい。そのため、これらの土壌の適切な混合比について考える必要がある。）

## 4. 実験3

### 4-1 仮説

カルス\*を特定の条件で分化させ、新しい個体を再生させることによる繁殖が可能であると考ええる。また分裂能力の違いから、用いるハナノキの部位や、培地中の栄養分の有無によってカルスの形成のしやすさが異なると考える。さらに、根に分化させる働きをもつオーキシシンと根や茎に分化させる働きをもつサイトカイニンの濃度比によって、カルスの増殖のしやすさや、再生可能な組織の豊富さが異なると考えられる。

\*カルスとは：1つの細部から全体を再生する能力をもつ細胞のことであり、植物ホルモンを適切に用いることで、植物の一部分から全体を再生することが可能になる。

### 4-2 使用した器具・装置

寒天の粉、MS培地の粉、電子天秤、純水、試験管、ビーカー、メスシリンダー、ガラス棒、三角フラスコ、薬さじ、薬包紙、アルミホイル、ピンセット、エタノール、ハイター、クリーンベンチ、シャーレ、ナフタレン酢酸（オーキシシン）、カイネチン（サイトカイニン）、駒込ピペット、マイクロピペット、注射器

### 4-3 研究・実験の手順

カルス形成および分化が起こりやすい条件を明らかにするため、用いる植物の部位（芽、維管束、種子）、培地の種類（MS培地、標準培地）、ならびに植物ホルモンの濃度比（【A:ナフタレン酢酸 3.0(mL/L)、カイネチン 0.2(mL/L)】、【B:ナフタレン酢酸 3.5(mL/L)、カイネチン 0.2mL/L】C:ナフタレン酢酸 3.0(mL/L)、カイネチン 0.5mL/L)）を変化させ、以下の手順で実験を行う。

#### ・寒天培地を作り、滅菌する

（分量：MS培地、標準培地各 20 本分）

- ①寒天と MS 培地の粉を電子天秤で、純水をビーカーで測る。
- ②片方の三角フラスコには、標準寒天培地

(9.4g)と純水(400mL)、もう片方には寒天(9.4g)とMS培地(1.8g)、純水(400mL)を入れる。

- ③三角フラスコを静かにゆすって純水と粉をよく混ぜ、鍋に入れて透明になるまで加熱する。
- ④試験管に 20mL ずつ加熱した寒天を分注し、アルミホイルで二重にふたをする。
- ⑤寒天の入った試験管をオートクレーブにいれ、2時間滅菌する。
- ⑥クリーンベンチの中で、滅菌した試験管を半日冷ます。

#### ・寒天に植物の部位を入れる

- ①ハナノキの芽、維管束、種子を切り出す。
- ②切り出した部位をハイター、エタノールで消毒する。
- ③クリーンベンチでそれぞれの寒天培地に各部位を1つずつ入れる。



写真3 クリーンベンチでの作業の様子

（寒天にハナノキの各部位を入れる作業は異物が混入するコンタミネーションを避けるため完全に滅菌された空間で作業を行う。）

#### ・植物ホルモンを添加する

植物ホルモンの添加方法として、培地調整時に培地へ直接混合する方法と、植物組織を入れた後に培地へ添加する方法の2条件を設定した。

- ①駒込ピペット、マイクロピペットを使い植物ホルモンをメスシリンダーに入れる。
- ②純水を入れ、500mLの植物ホルモン溶液を作る。
- ③溶液のうち、400mLは寒天を作る段階で純水の代わりに用い、培地に直接混合する。100mLは、そのままビーカーに入れてオートクレーブで滅菌する。

④クリーンベンチの中で、滅菌した植物ホルモン溶液を注射器で1mLを測り、先端に針をつけ、アルミホイルに刺して試験管の中に注入する。

⑤再度アルミホイルをかぶせる。

#### 4-4 結果

計 116 本中 69 本にカビや、大腸菌による汚染が確認された。また、カルスの形成が確認できた試験管はなかった。



写真4 カビや大腸菌の繁殖が見られた試験管

表4 カルス実験の様子(標準培地)

濃度比	植物の部位	添加の時期	カルス形成	コンタミ
A	種子	事前	0/3	0/3
A	種子	後処理	0/7	3/3
A	維管束	事前	0/3	3/3
A	維管束	後処理	0/5	5/5
A	芽	事前	0/4	4/4
A	芽	後処理	0/3	3/3
B	種子	事前	0/3	0/3
B	種子	後処理	0/6	3/6
B	維管束	事前	0/3	3/3
B	維管束	後処理	-	-
B	芽	事前	0/4	4/4
B	芽	後処理	0/6	6/6
C	種子	事前	0/3	1/3
C	種子	後処理	0/6	6/6
C	維管束	事前	0/3	0/3
C	維管束	後処理	-	-
C	芽	事前	0/4	4/4
C	芽	後処理	-	-
計			0/59	41/59

表5 カルス実験の様子(MS培地)

濃度比	植物の部位	添加の時期	カルス形成	コンタミ
A	種子	事前	0/3	0/3
A	種子	後処理	0/6	0/6
A	維管束	事前	0/3	1/3
A	維管束	後処理	0/4	3/3
A	芽	事前	0/4	4/4
A	芽	後処理	0/6	6/6
B	種子	事前	0/3	1/3
B	種子	後処理	0/6	2/6
B	維管束	事前	0/3	3/3
B	維管束	後処理	-	-
B	芽	事前	0/4	4/4
B	芽	後処理	-	-
C	種子	事前	0/3	0/3
C	種子	後処理	0/6	0/6
C	維管束	事前	0/3	1/3
C	維管束	後処理	-	-
C	芽	事前	0/3	3/3
C	芽	後処理	-	-
計			0/57	28/57

-:植物ホルモン添加前にコンタミ

#### 4-5 考察

消毒不足や、切り口の雑菌侵入などが原因で、カビや大腸菌の繁殖が見られたと考える。また、樹種特性として、ハナノキの細胞分裂能力が低く、カルスの形成が難しい可能性がある。設定した植物ホルモンの濃度比や、量、種類などがハナノキのカルス形成に適していないという可能性も考えられる。

#### 5. 考察まとめ

本研究では、ハナノキを対象に低温処理、挿し木、カルス誘導の3つの方法を試みたが、いずれも明確な発芽、発根、カルス形成を得ることはできなかった。これらの結果からハナノキは一般的なカエデ科の樹木と比べて、繁殖力が低く、外部環境条件の影響を強く受ける可能性がある樹種であることが示唆される。そのためハナノキが分

布する東濃地域の、気温、季節変動、日照条件、  
土壌の条件などの詳しい情報が必要になる。

## 6. 展望

低温処理の実験について処理期間を長くし、精密な温度管理のもと同様の実験を行う。挿し木とカルスの実験については引き続きの管理、観察を行う。同時にカルス実験について、作業環境や実験設定を見直し、カルス形成に適した方法を模索しつつ、カルスの形成が確認でき次第、植物ホルモンの濃度比を変えて、根や芽が分化する条件を見つける。

## 7. 謝辞

実験にご協力いただいた丹羽先生、市川先生に深く感謝いたします。

## 8. 参考文献

・ 国立研究開発法人森林研究・整備機構

<https://www.ffpri.go.jp>

(2025年5月7日 閲覧)

・ 「モミジ種子の低温処理による発芽促進」

(2020年) 大阪府立園芸高等学校寺田亜都

<https://osaka-engei.ed.jp>

(2025年10月30日 閲覧)

・ マイナビ農業 <https://agri.mynavi.jp>

(2025年9月17日 閲覧)

・ バイオメディカルサイエンス

<https://www.bmsci.com>

(2025年 10月1日閲覧)

・ WDB カルス誘導とは | 研究用語辞典

<https://www.wdb.com> (2025年9月24日閲覧)

・ Sigma-Aldrich 植物培養培地

<https://www.sigmaaldrich.com>

(2025年9月24日閲覧)

・ Garden Story (ガーデンストーリー)

<https://gardenstory.jp>

(2025年9月24日閲覧)

・ 二訂版ニューステージ生物図表

(2025年11月13日閲覧)