

カラマツの芽培養による幼植物体の再生と順化

板 鼻 直 栄⁽¹⁾

Naoei ITAHANA : Plantlet Regeneration by Tissue Culture and it's Acclimatization in *Larix kaempferi*

要旨：カラマツの冬芽の培養による苗条の成長、苗条の発根に影響する要因、ならびに幼植物体の順化について検討した。頂芽から摘出した芽は苗条に成長したが、側芽の芽では茎が伸長しなかった。10月から4月までの期間では芽の採取日が遅いほど芽は長い苗条に成長した。また、芽から苗条への成長はオーキシンの種類と濃度の影響を受け、ゼアチン0.02 mg/ℓと組合せた場合、苗条はIBA0.1または0.3 mg/ℓで最も良好であった。NAAとBAを添加した培地で芽から不定芽が誘導でき、NAA 0.01 mg/ℓとBA10 mg/ℓの組合せが有効であった。不定芽は成長調節物質を添加しない培地に移植後葉を伸長したが、茎は伸びなかった。NAAまたはIBAにより根が形成された。根の形成には、NAAがIBAより有効であり、NAA0.3 mg/ℓとIBA0.3 mg/ℓの組合せが最も有効であった。根を形成した苗条を、オーキシンフリーの培地に移植することは、根の伸長に有効であった。芽からの幼植物体の再生は母樹の年齢の影響を受け、年齢の高い母樹の芽は短い苗条に成長し、発根率が低かった。幼植物体は、ポットに移植し培養室で育てた後温室に移すことにより90%が活着した。

I は じ め に

カラマツは成長、適応性、材の強度と耐朽性に優れているが、乾燥にともなって材がねじれ狂いを生じることが利用上の欠点である¹⁹⁾。そこで、この欠点を改良するために、北海道、東北、中部地方の人工林から成長が良くねじれの小さい個体239本が材質優良木として選抜されている¹⁸⁾。材質優良木を素材として、ねじれ形質の優れた苗を生産するためには、採種園方式では望ましい個体の出現頻度が27%前後と低いことから、材質優良木あるいは材質優良木クローン間の交配家系から繊維傾斜度で早期検定した個体の無性繁殖が必要になってくる⁹⁾。

林木の無性繁殖は、さし木、つぎ木、根伏せなどにより行われているが、つぎ木は高価な材料や試験材料の増殖に使用されることが多い。また、根伏せはキリ、ハリギリなどの特定の樹種で行われ、多量に苗木を必要とする場合はさし木で増殖される。しかし、カラマツはさし木の困難な樹種の1つであり、35年生の母樹でも80%の発根率が得られた例⁹⁾があるが、10年生以上の母樹では発根率が30%以下と低い^{10) 22 23)}。また、若い実生個体を低木型の採穂木に仕立てると採穂木としての能力を比較的長く維持できるが¹⁷⁾、この場合も加齢にともなう発根能力低下の問題が残る¹⁹⁾。

組織培養によりカラマツの増殖が可能になれば、材質優良木あるいは早期検定された個体の遺伝子型を直接利用できる。そのため、筆者は、カラマツの冬芽を材料として組織培養によって、冬芽から健全な苗条を育成し、発根・順化させることができた。また、外植体の採取時期や母樹の年齢の影響も明らかにできた。そこで、本論文ではこれらの実験結果をとりまとめた。

(1) 林木育種センター北海道育種場

(林木育種センター東北育種場)

II 芽培養による苗条の育成

組織培養による増殖では、最初に野外に生育する個体から目的の部位を採取して無菌的に培養することにより、培養器内に健全な苗条を得なければならない。この過程では、野外の雑菌が付着している個体を材料とすることから、雑菌を除くための表面殺菌の方法や培養目的に適した外植体とその採取時期、培養に用いる培地の組成を明らかにする必要がある。このため、冬芽を材料に用いて表面殺菌の方法、外植体の大きさと採取適期、培地に添加するオーキシンなどについて検討した。

1. 冬芽から摘出した大きさの異なる外植体の成長

(1) 材料と方法

1987年2月中旬に林木育種センター東北育種場内に植栽されている精英樹盛岡2号から、1年生枝の頂芽を含む1～2cmの先端部を採取し、流水で10分間洗浄した。その後塩化ベンザルコニウム1%液で10分間浸漬、次いで70%エチルアルコールに1分間浸漬、さらに3%過酸化水素水10分間浸漬、最後に滅菌水で5回洗浄という手順で、それぞれマグネチックスターラーで攪拌しながら表面殺菌を行った。その後、クリーンベンチ内で先端部から樹皮と芽りんを無菌的に切り除いて Table 1 に示す外植体をそれぞれ30個摘出し、寒天培地に植付けた。培地は、MURASHIGEとSKOOG培地(MS培地)¹⁶⁾の硝酸

Table 1. カラマツの頂芽から摘出した外植体
Various explants excised from terminal buds
of 1 year old branches in *Larix kaempferi*

記号 Symbol	外植体 Explant	長さ Length (mm)
a	茎 頂 Shoot apex	0.1
b	稚葉数枚を付けた茎頂 Shoot apex with several young leaves	0.3
c	芽 の 上 部 Upper part of primordial shoot	0.5
d	芽 Primordial shoot	1.5
e	軸 を 付 け た 芽 Primordial shoot with barked branch	3.0

アンモニウム、硝酸カルシウム及び塩化カルシウムを1/2濃度に改変し、IBA 0.3mg/l、ショ糖30g/l、寒天7g/lを添加した培地を用いた。また、培地は、ショ糖を溶解した後 pHを5.2～5.7に調整し、24mmx90mmの試験管に10mlづつ分注し、オートクレーブで10分間滅菌した。培養は、温度が25℃、白色蛍光灯による4,000～6,000ルクスの照度で連続照明下で行った。

なお、以下の実験でも、材料の採取と調整、表面殺菌、外植体の摘出、培地の調整は同じ手順で行った。

(2) 結 果

茎頂では、2 日後から褐変枯死する現象がみられ、生存している茎頂でもあまり変化は見られなかった。一方、芽及び木部を付けた芽では、数日後から葉が伸び始め、1 か月後には多数の葉が展開した。その後、茎が伸び苗条に成長した。

Table 2 に培養開始後 2 か月めの生育状況を示した。

Table 2. カラマツの頂芽から摘出した外植体の生育
Growth of various explants excised from terminal buds after
2 months culture in *Larix kaempferi*

外植体 Explant	植付数 No. of explant	雑菌汚染率 Percentage of contami- natin (%)	培 養 数 No. of explant without contamination	形 態 form				生 存 率 Survival ratio (%)	苗条の割合 Percentage of shoot (%)	平均苗条長 Average shoot length (mm)
				枯死 Dead	葉未展開 Without flush	葉展開 flush	苗条 Shoot			
a	30	3	29	11	17	0	0	59	0	
b	30	10	27	7	13	7	0	74	0	
c	30	7	28	6	9	6	7	79	25	2.8
d	30	13	26	1	0	4	21	96	80	5.5
e	30	13	26	1	0	3	22	96	84	8.4

Explant : a ~ e Table.1参照 Refer to Table.1

雑菌による汚染率は、茎頂では 3 % と低かったが、最も大きい木部を付けた芽でも 13 % にすぎなかった。一方、外植体が大きいほど、生存率及び苗条に成長した外植体の割合が高く、葉の展開が良く、苗条が長かった。

2. 芽の採取時期の影響

(1) 材料と方法

林木育種センター東北育種場内に植栽されている精英樹盛岡 2 号を供試した。1987 年 10 月 12 日から 1988 年 4 月 22 日まで、11 ~ 32 日間隔で 11 回樹冠上部の 1 年生枝を採取した。採取した日に、頂芽または側芽を含むように枝を 1 ~ 2 cm の長さに切り取り、表面殺菌を行った。その後、木部を付けた芽を摘出して培地に植付けた。培地は、硝酸アンモニウム、硝酸カルシウム及び塩化カルシウムを 1/2 濃度に改変した MS 培地に、3-インドール酪酸 (IBA) 0.2 mg/l、ショ糖 30 g/l、寒天 6 g/l を添加した培地を用いた。植付けた芽の数は、頂芽では 1 時期 20 ~ 36 個で合計 321 個、側芽では 20 ~ 33 個合計 255 個であった。なお、最も遅い 4 月 22 日には、頂芽の一部と側芽は既に開舒していたので、側芽は供試しなかった。培養は、温度が 25℃、白色蛍光灯による 4,000 ~ 6,000 ルックスの 16 時間日長下で行った。

(2) 結 果

カラマツの冬芽には、長枝になる芽と短枝になる芽があり、前者は 1 年生長枝の頂芽及び先端部の側芽に多く、後者は短枝の頂芽及び 1 年生長枝の下部の側芽に多い¹⁾。長枝になる側芽と短枝になる側芽を外観から区別することは困難であったが、芽りんを取り除いた状態では可能であった。雑菌汚染率は、頂芽では 3 % であった。一方、長枝になる側芽、短枝になる側芽ではそれぞれ 6 %、7 % であり、頂芽の

約2倍であった。また、頂芽及び長枝になる側芽は葉と茎をつけた苗条に成長したが、短枝になる側芽は葉を展開したが茎の伸長は認められなかった。

Fig. 1に、摘出時期別の芽の生存率を示した。なお、ここでは、長枝になる側芽は1時期0～3個と少ないので除いてある。

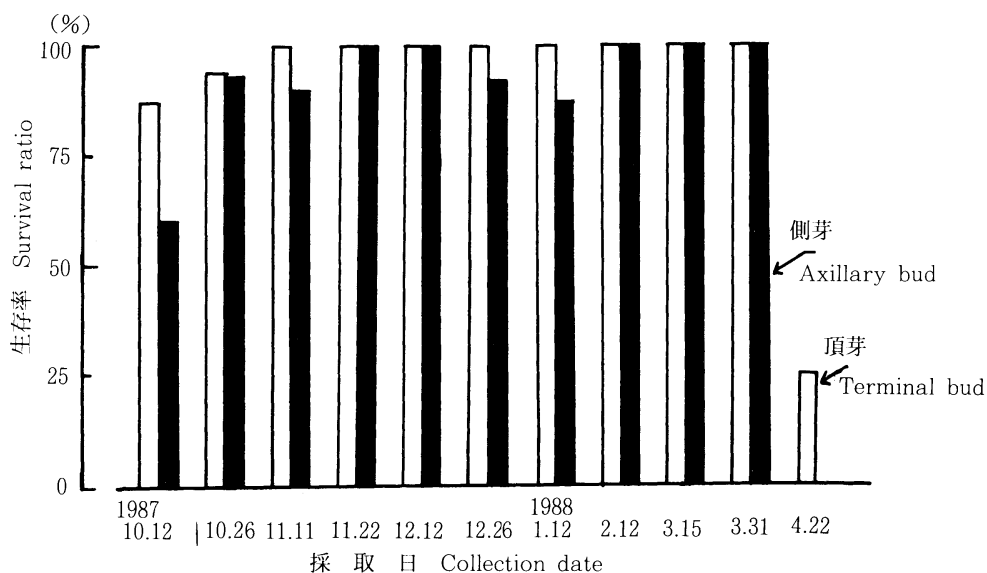


Fig.1. カラマツの頂芽及び側芽から摘出した芽の生存率
Effect of collection date on survival percentage of primordial shoots
excised from terminal buds and axillary buds after 60 days culture
in *Larix kaempferi*

生存率は、頂芽では10月12日に87%、10月26日に94%であり、11月11日には100%に達した。その後3月31日まで全て生存していたが、4月22日には25%に低下した。側芽では、10月12日に60%で頂芽の場合よりやや低かったが、その後は頂芽の場合と同様に生存率は高かった。4月22日に頂芽から摘出した芽の生存率が特に低かったのは、芽が開舒始めていたため表面殺菌の過程で殺菌液が芽の内部まで達したことによると考えられる。

Fig. 2に、頂芽から成長した苗条の長さを示した。苗条は、摘出時期が遅いほど長い傾向があり、10月12日の3.4mmから3月31日の9.6mmまでだいに長くなり、4月22日の採取では18.6mmに達した。

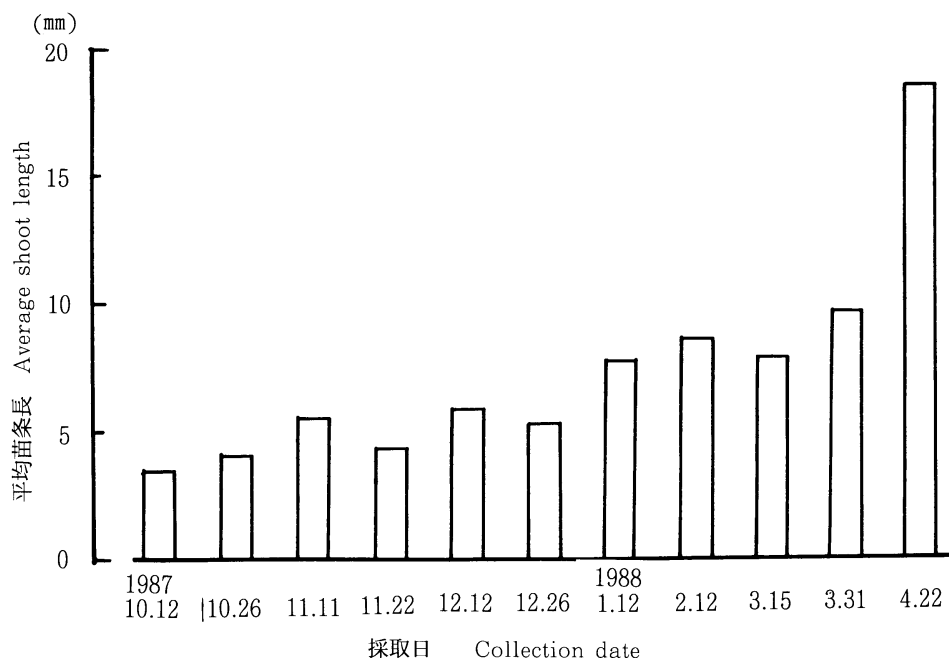


Fig.2. カラマツの頂芽から摘出した芽の成長
Effect of collection date on growth of primordial shoots
excised from terminal buds and axillary buds after 60 days
culture in *Larix kaempferi*

3. オーキシンの種類と濃度の影響

(1) 材料と方法

東北育種場内に植栽されている26年生採種木大槌3号から、1987年2月17日に1年生枝の先端部を採取し、表面殺菌した。表面殺菌した先端部から木部を付けた芽を摘出し、オーキシンの種類と濃度が異なる培地に植付け、3か月間培養した。培地は、MS培地の無機多量要素をWoody Plant Medium (WPM)¹⁵⁾の無機多量要素に改変し、オーキシン0~10mg/l、ゼアチン0.02mg/l、ショ糖30g/l及び寒天7.5g/lを添加した培地である。添加したオーキシンは、3-インドール酢酸(IAA)、IBA、2,4ジクロロフェノキシ酢酸(2,4-D)及び α -ナフタレン酢酸(NAA)の4種類であり、濃度は0.1, 0.3, 1.0, 3.0及び10.0mg/lの5水準とし、オーキシンを加えない培地を対照とした。植付けた芽の数は、各培地に10個づつとし、合計210個であった。培養は、温度が25℃、白色蛍光灯による4,000~6,000ルクスの照度で16時間日長下で行った。

(2) 結果

雑菌により汚染された芽は15個(7%)であった。これらの芽を除いて、培地別に培養後の芽の形態と芽から成長した苗条の長さをTable 3に示した。

Table 3. カラマツの芽培養におけるオーキシンの種類と濃度の影響
Effect of auxin's types and their concentration on shoot growth
from primodial shoots after 3 months culture in *Larix kaempferi*

オーキシン Type of auxin	濃 度 Concent- ration (mg/ℓ)	培養数 No. of explants	形 態 form		10mm以上の 苗条の割合		平均苗条長 Average shoot length (mm)	
			枯 死 Dead	葉展開 Flush	苗条			Percentage of shoot over 10 mm (%)
					Under	shoot		
					10mm	10 mm		
control ¹⁾	0	9	-	-	1	8	89	15.8
IAA	0.1	10	-	-	2	8	80	19.3
	0.3	8	-	-	2	6	75	18.0
	1.0	9	-	-	2	7	78	17.5
	3.0	9	-	-	1	8	89	21.9
	10.0	10	-	-	2	8	80	19.4
IBA	0.1	9	-	-	1	8	88	25.4
	0.3	10	-	-	1	9	90	25.5
	1.0	9	-	-	2	7	78	18.3
	3.0	10	-	-	9	1	10	7.4
	10.0	10	-	-	9	1	10	7.4
2,4-D	0.1	8	1	1	6	-	0	5.5
	0.3	9	1	3	6	-	0	5.0
	1.0	10	2	5	3	-	0	4.7
	3.0	9	2	7	-	-	0	0.0
	10.0	9	8	1	-	-	0	0.0
NAA	0.1	9	-	-	1	8	89	15.7
	0.3	9	-	-	7	2	22	9.0
	1.0	9	-	-	9	-	0	5.3
	3.0	10	-	10	-	-	0	0.0
	10.0	10	9	1	-	-	0	0.0

1) オーキシン無添加 Auxin free

対照ではすべての芽が苗条に成長し、89%が10mm以上の苗条であった。IAAでは濃度による違いがなく、いずれの濃度でもすべての芽が苗条に成長し、75～89%が10mm以上の苗条であった。IBAでもすべての芽が苗条に成長し、1.0mg/ℓ以下では78～100%が10mm以上の苗条であった。しかし、3.0mg/ℓ以上では10mm以上の苗条は少なかった。2,4-Dでは、どの濃度でも10mm以上の苗条はなく、濃度が高いほど、葉を展開した芽あるいは枯死した芽が多くなり、10mg/ℓではほとんどの芽が枯死した。NAAでは、10mm以上の苗条は0.1mg/ℓで対照と同じ89%であったが、3.0mg/ℓ以上では茎の伸長は認められなかった。

苗条の長さは、対照では平均15.8mmであった。IAAでは濃度の増加に伴う一定の傾向が認められず、17.5～21.9mmであった。IBAでは0.1、0.3mg/ℓで最も長い約25mm、1.0mg/ℓで18.3mm、3.0mg/ℓ以上で約7mmであり、濃度が高いほど短かった。2,4-DでもIBAと同様に濃度が高いほど短い、最も低い0.1mg/ℓの場合でも5.5mmで対照の約3分の1にすぎなかった。NAAでは濃度の影響が明確にあらわれ、最も低い0.1mg/ℓでは対照と同程度の15.7mmであったが、濃度の増加とともに急激に短くなった。

4. 不定芽の形成

(1) 材料と方法

1988年12月24日に林木育種センター東北育種場内に植栽されている17年生採穂木から1年生枝の先端部を採取し、表面殺菌を行った後、木部を付けた芽を摘出して培地に植付けた。培地は、硝酸アンモニウム、硝酸カルシウム及び塩化カルシウムを1/2濃度に改変したMS培地に、NAA 0または0.03mg/ℓ、6-ベンジルアデニン(BA) 1.0~10.0mg/ℓ、ショ糖30g/ℓと寒天 6g/ℓを添加した培地であり、それぞれの培地に10個、合計100個の芽を植付けた。

11週間後に、培養物をNAA, BAを除いた上記の培地に移植した。培養は、温度が25℃、白色蛍光灯による4,000~6,000ルクスの照度で16時間日長下で行った。

(2) 結果

培養した芽は、葉が伸びないまま水平方向に肥大し、7週間後には一部の芽で数個の不定芽またはカルスが形成された。その後、芽の肥大とカルスの発達が進む一方で、不定芽の数が増加した。不定芽は、水平方向に肥大した培養物、あるいは水平方向に肥大し周辺部にカルスが形成された培養物にみられ、培養開始当初の芽の周囲に位置していた(Photo 1)。

Table 4 に、培養を開始してから11週間後の不定芽の形成状況を示した。

芽の生存率は、BAだけを添加した場合、5 mg/ℓ 以下では90%以上であった。しかし、10mg/ℓ では20%と低く、生存していた培養物でも褐変した部分が見られた。一方、NAAをBAと合せて添加した場合には、生存率はBA 10mg/ℓ でも高く、いずれのBA濃度でも生存率は90%以上であった。

不定芽は、生存率の低いBA 10.0mg/ℓ だけを添加した場合を除いて、すべての培地で形成され、BA濃度が高いほど不定芽形成率が高く、不定芽数が多い傾向が認められた。また、NAAを添加した場合には、無添加の場合より不定芽形成率が高く、不定芽数が多かった。

NAA, BAとも無添加の培地に移植後、

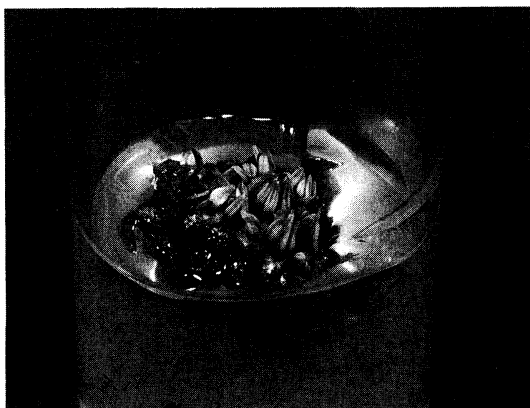


Photo.1. カラマツの芽に形成された不定芽
Adventitious buds formed on a primordial shoot
excised from terminal bud in *Larix kaempferi*

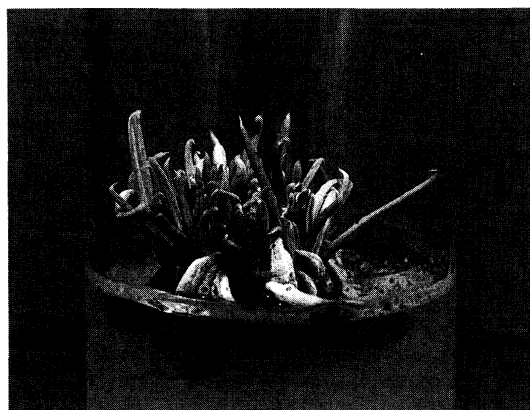


Photo.2. 葉を展開したカラマツの不定芽
Adventitious buds developing on a primordial
shoot in *Larix kaempferi*

Table 4. カラマツの芽からの不定芽形成におけるNAA及びBAの影響
Effect of NAA and BA on adventitious buds formation after 11 weeks
culture of bud used as explants in *Larix kaempferi*

NAA	BA	生存率 Survival percentage	不定芽形成率 Percentage of adventitious bud forming explants	平均不定芽数 Ave. No. of adventitious bud / adventitious bud forming explants	平均芽数 ¹⁾ Ave. No. of buds including original bud / adventitious buds forming explants
(mg/ℓ)	(mg/ℓ)	(%)	(%)		
0.0	1.0	100	20	2.0	3.2
	3.0	90	22	3.0	5.5
	5.0	100	50	4.4	6.8
	10.0	20	0	-	-
0.03	1.0	100	70	2.8	4.3
	3.0	100	90	4.1	7.7
	5.0	90	78	4.0	7.3
	10.0	90	100	6.4	9.6

1) NAA及びBA無添加の培地に移植後7週間後(計18週間後)

7 weeks after transplanting to medium without NAA and BA(After 18 weeks in total)

不定芽及び植付当初の芽の多くは葉を展開したが、一部は枯死した。一方、移植後に新たに形成された不定芽もみられた。移植後7週間後には、培養物は短い苗条の塊になった(Photo 2)。移植後7週間後の平均芽数は移植前より若干増加したが、移植前と同様に、BA濃度が高いほど多く、NAAを添加した場合に多かった。これらの短い苗条を再度移植したが、伸長は認められず、茎が確認できる大きさの苗条に成長しなかった。

このように、NAA、BAを添加した培地で芽を培養することにより、不定芽が形成され、NAA 0.03mg/ℓ及びBA 10mg/ℓ添加した場合に、不定芽数は多かった。しかし、不定芽は、葉を展開したが伸長しなかった。

Ⅲ 発 根

個体の増殖を目的とする場合、苗条を発根させて幼植物体を再生することが必要である。また、発根に適した培地条件は樹種により異なるため、カラマツの苗条に適した培地条件を明らかにする必要がある。発根の促進にはNAA、IBAなどのオーキシンが用いられることが多いことから、NAA、IBAを組合せた培地で苗条を培養し、発根方法を検討するとともに、幼植物体の再生が母樹の年齢に影響されるかどうかを検討した。

1. 根原基の形成と発根

(1) 材料と方法

1988年2月10日に、長さ10~20mmの苗条を63本用意し、基部1~2mmを切除してから、硝酸アン

モニウム、硝酸カルシウム及び塩化カルシウムを1/2濃度に改変したMS培地にIBA, NAA, ショ糖30g/lと寒天6g/lを加えた培地に植付けた。NAA濃度及びIBA濃度は、それぞれ0, 0.3, 1.0 mg/lとした。用意した苗条は16年生個体の1年生枝の頂芽を約2か月間培養して得られた苗条であり、植付け数は培地ごとに7本とした。

苗条を植付けてから10日後にはNAAを添加した培地では苗条の基部にカルスが認められた。また、19日後から主にカルスに赤色の点が認められ、この点から根が伸長した。細胞学的な観察は行っていないが、ここでは、この赤色の点を根原基とする。

35日後の3月28日に、NAAを添加した培地で根原基を形成した苗条を培地ごとに2～3本、計15本を無作為に選び、上記の培地からオーキシンを除いた培地に移植した。他の根原基を形成した苗条は、移植しないで同じ培地で培養を続けた。

(2) 結 果

Table 5 に、根原基の形成経過を示した。

Table 5. カラマツの苗条の根原基形成経過
Root primordia formation on various concentration of
NAA and IBA containing medium in *Larix kaempferi*

NAA (mg/l)	IBA (mg/l)	苗条数 No. of shoot	根原基形成苗条数 No. of root primordia forming shoot					平均根原基数 ¹⁾ No. of root primordia /shoot with root primordia
			培養日数 19	21	28	35	49	
0.0	0.0	7	0	0	0	0	0	-
	0.3	7	0	0	1	1	1	1.0
	1.0	7	0	0	0	1	1	1.0
0.3	0.0	7	0	1	5	5	6	6.2
	0.3	7	0	2	5	6	7	6.8
	1.0	7	1	4	6	6	6	4.0
1.0	0.0	7	0	3	4	6	6	3.8
	0.3	7	0	1	1	5	5	2.6
	1.0	7	0	1	4	5	5	2.8
計	total	63	1	12	26	33	34	

1) 35日後 after 35 days in culture

根原基はNAA 0.3mg/lとIBA 1.0mg/lの組合せで最も早い19日後に認められた。その後しだいに他の培地でも形成され、35日後には42本の苗条のうち33本(79%)に形成された。49日後までにさらに1本の苗条に根原基が形成されたが、その後に根原基を形成した苗条はなかった。

根原基を形成した苗条数は、NAAの有無によって異なり、IBAだけを添加した培地では、根原基を形成した苗条は2本と少なく、根原基は22日後以後に形成された。NAAを添加した場合には、根原基を形成した苗条はどの培地でも21日後には認められ、35日後には5本または6本であり、NAA 0.3 mg/lでは、1.0mg/lより根原基が早く形成された。

平均根原基数は、NAA無添加では1個であったが、NAA添加では2.6個以上であった。また、根原基数はNAA 1.0mg/lより0.3mg/lで多く、IBA 0.3mg/l組合せた場合に最も多い6.8個であった。

一方, NAA 1.0mg/ℓ では IBA 無添加の培地で多かった。

Table 6 に, 根原基を形成した苗条の根の伸長状況を示した。

Table 6. カラマツの根原基からの根の伸長におけるオーキシンのフリーの培地への移植の効果
Effect of transplantation shoot with root primordia to auxin free medium
on root growth in *Larix kaempferi*

根原基形成 苗 条 数 No. of shoots with root primordia	根原基の形成に用いた N A A 及び I B A の濃度 Concentration of auxin used for root primordia formation		根 原 基 数 ¹⁾ No. of root primordia ／shoot with root primordia	処 理 treatment	発根苗条数 ²⁾ No. of shoot with root	根 数 ²⁾ No. of root ／plantlet	最長根長 ²⁾ Max. length of root ／plantlet (mm)
	N A A	I B A					
	(mg／ℓ)	(mg／ℓ)					
	未移植						
1	0.0	0.3	1.0	not transplanted	1	1	10
1		1.0	1.0	〃	1	1	30
3		0.0	6.0	〃	1	1	12
3	0.3	0.3	6.0	〃	1	3	7
3		1.0	4.7	〃	0		
3		0.0	3.3	〃	1	1	5
3	1.0	0.3	3.7	〃	0		
3		1.0	3.3	〃	0		
オーキシンフリーの培地に移植 transplanted to auxin free medium							
15 ³⁾	0.3, 1.0	0～1.0	4.5		9 (60%)	3.9	14

1): 35日後 After 35 days in culture

2): 65日後 After 65 days in culture

3): NAA 0.3, 1.0mg/ℓ と IBA 0~1.0mg/ℓ を添加した培地で根原基を形成した苗条から15本を無作為に抽出
15 shoots with root primordia were sampled randomly among shoots with root primordia on
NAA 0.3, 1.0mg/ℓ and IBA 0~1.0mg/ℓ containing media

苗条を移植しなかった場合, NAA を添加しない培地で根原基を形成した苗条は, 2 本とも根が伸長した。しかし, NAA を添加した培地で根原基を形成した苗条18本のうち, 根が伸長した苗条は3本(16%) だけであり, 残り15本ではカルスが発達し, 根原基が認められなくなった。一方, NAA を添加した培地で根原基を形成した苗条15本をオーキシンを除いた培地に移植した場合には, 9 本(60%)の苗条で根が伸長し, 7 本の苗条では根原基が認められなくなった。また, NAA を添加した培地で根原基を形成した苗条を移植した場合幼植物体の根は, 移植しなかった場合の幼植物体より多くしかも長かった。

このように, NAA を添加した培地では, カルスが形成された後根原基が形成され, NAA 濃度が 0.3mg/ℓ は1.0mg/ℓ より根原基が多くまた早く形成された。また, 根原基を形成した苗条を移植しない場合にはカルスが発達し根が伸びにくい, 苗条を移植することにより根が伸長し, オーキシン無添加の培地への移植は根原基からの根の伸長に有効であった。

2. 発根におけるNAA及びIBAの影響

(1) 材料と方法

精英樹盛岡2号の1年生枝の頂芽を培養して得られた7mm以上の苗条163本を実験に用いた。1988年3月28日に, 苗条の基部数mmを切除したのち, MS培地の無機多量要素を1/2濃度に改変し,

I B A, N A A, ショ糖30g/ℓと寒天6g/ℓを加えた培地に植付けた。N A A, I B Aは、Table 7に示す濃度とし、それぞれ10～11本の苗条を植え付けた。なお、N A A濃度は、実験1の結果から1.0mg/ℓより0.3mg/ℓで根原基の形成が優れていたもので、0.3mg/ℓ以下とした。

植付け後49日を経過した5月16日に、根原基を形成した苗条を上記の培地からオーキシンを除いた培地に移植した。また、5月17日以後に根原基を形成した苗条については、根原基が認められた時点でオーキシンを除いた培地に移植した。培養は、温度が25℃、白色蛍光灯による4,000～6,000ルクスの照度で18時間日長下で行った。

(2) 結 果

植付け後33日に、7本(4%)の苗条で、苗条基部に形成されたカルスに根原基が認められ、オーキシンを除いた培地に移植を開始した49日後には、45本(28%)の苗条に根原基が認められた。その後根原基を形成した苗条は、78日後の73本(48%)まで増加し、79日後以後に新たに根原基を形成した苗条はなかった。また、移植した苗条の多くは、根原基から根が伸び幼植物体に成長したが、4本の苗条では、カルスが発達し、根原基が認められなくなった。

Table 7に、苗条の発根におけるN A A及びI B Aの影響を示した。

Table 7. カラマツの苗条の発根におけるN A A及びI B Aの影響
Effect of various concentration of NAA and IBA on rooting of shoot in *Larix kaempferi*

N A A	I B A	苗条数 No of shoot	根原基形成率 Percentage of shoot with root primordia		平均根原基 形成日数 ²⁾ Ave. term for root primordia formation ²⁾	発根率 ²⁾ Rooting percentage ²⁾	発根根数 ²⁾ No.of roots /plantlet ²⁾	最長根長 ²⁾ Max. length of roots /plantlet ²⁾
			49日後 ¹⁾ After 49days in culture ¹⁾	78日後 After 78days in culture				
(mg/ℓ)	(mg/ℓ)		(%)	(%)	(日, days)	(%)		(mm)
0.00	0.0	11	0	0	-	0	-	
	0.3	11	9	18	59	18	1.0	6.0
	1.0	11	27	45	53	45	1.5	11.3
0.01	0.0	11	0	0	-	0	-	
	0.3	11	9	36	66	36	1.8	7.3
	1.0	11	18	36	56	36	2.3	8.8
0.03	0.0	11	18	45	56	45	2.7	13.5
	0.3	11	27	45	46	45	2.0	12.6
	1.0	11	27	36	41	36	1.8	10.3
0.10	0.0	11	18	55	55	55	2.5	12.3
	0.3	10	40	60	49	60	2.7	9.3
	1.0	11	45	73	49	63	2.5	8.0
0.30	0.0	11	64	73	44	64	3.8	12.5
	0.3	10	70	90	45	80	3.6	12.6
	1.0	11	55	64	44	55	2.3	10.9

1) 根原基を形成した苗条をオーキシン無添加の培地に移植を開始

Transplantation of shoots with root primordia to auxin-free medium was started after 49 days in culture

2) オーキシン無添加の培地に移植開始後30日(計80日後)

30 days after start of transplantation to auxin-free medium (after 80 days in total)

根原基は、NAA、IBAとも無添加の培地とNAA 0.01mg/ℓだけを添加した培地では形成されなかった。

NAA濃度が高いほど根原基形成率は高く、根原基は短い期間に形成された。また、NAA濃度が高いほど発根率も高く、発根数が多かった。根の長さについてはNAA濃度にとまなう一定の傾向はなかった。一方IBAの効果は、NAAが0.01mg/ℓ以下の低い濃度の場合に明確にあらわれ、IBA濃度の高い培地で、根原基形成率、発根率が高く、根は多かった。

最も根原基形成率、発根率が高かったのは、NAA 0.3mg/ℓとIBA 0.3mg/ℓを添加した培地であり、49日後の根原基形成率は70%であった。その後、新たに根原基を形成した苗条がある一方で、移植後に根原基が消滅した苗条があり、発根率は80%であった。また、この場合、苗条は、平均3.6本の根をもち、最長根長の平均も13mmであり、発根状況も優れていた(Photo 3)。

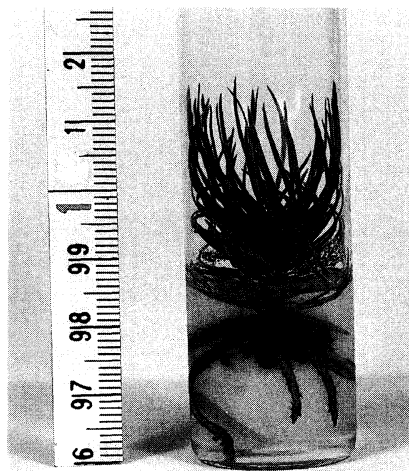


Photo.3. カラマツの芽から再生された幼植物体
Plantlet regenerated from a primordial shoot
of terminal bud in *Larix kaempferi*

3. 発根における母樹の年齢の影響

(1) 材料と方法

1988年1月下旬に、1, 2年生苗各3家系、及び6~39年生個体各3個体から1年生枝を採取した。1年生枝から先端部を切り取り、表面殺菌した後、家系・個体別に15個の木部を付けた芽を摘出し、硝酸アンモニウム、硝酸カルシウム及び塩化カルシウムを1/2の濃度に改変したMS培地(初代培養用培地)に植付けた。4月10日に、初代培養用培地にNAA 0.3mg/ℓ及びIBA 0.3mg/ℓを添加した培地(根原基形成用培地)へ苗条を移植した。その後、基部に根原基が形成された時点で、初代培養と同じ組成の培地(根伸長用培地)に苗条を移植した。根原基形成用培地に移植してから10週間後に発根数と最も長い根の長さ(最長根長)を測定した。培養は、温度が25℃、白色蛍光灯による4,000~6,000ルクスの照度で18時間日長下で行った。

(2) 結果

植付けた芽の総数は360個であったが、雑菌に汚染された芽が19個(5.3%)、基部が培地から離れた芽が20個(5.6%)あった。以下の検討ではこれらを除いた。

また、根原基形成用培地に移植後16日から、苗条基部のカルスに赤色の根原基が形成され始めた。根原基を形成した苗条は201本(63%)であり、根伸長用培地に移植後そのうちの177本(88%)が発根した。残りの24本(12%)ではカルスがさらに発達し根原基は消滅した。

Table 8に幼植物体の再生における母樹の年齢の影響を示した。

Table 8. カラマツの頂芽からの幼植物体の再生における母樹の年齢の影響
Effect of age of mother trees on plantlet regeneration from
terminal buds of long shoots in *Larix kaempferi*

母樹の年齢(年) Age of mother tree (yrs.)	平均苗条長 ¹⁾ Ave. shoot length ¹⁾				平均根原基形成期間 ²⁾ (日) Ave. term for root primordia formation ²⁾ (days)				発根率 ³⁾ Rooting percentage ³⁾			
	(mm)								(%)			
	母 樹 Mother tree			平均 Ave.	母 樹 Mother tree			平均 Ave.	母 樹 Mother tree			平均 Ave.
	1	2	3		1	2	3		1	2	3	
1 ⁴⁾	11.4	7.9	8.7	9.3	31	23	21	25	80	92	89	87
2 ⁴⁾	5.8	5.7	6.9	6.1	30	25	27	27	77	67	66	70
6	3.9	4.9	6.9	5.2	38	41	40	40	57	50	73	60
10	5.0	3.6	4.7	4.4	40	48	-	44	73	62	0	45
16	5.5	5.4	4.8	5.2	38	47	32	39	47	67	43	52
20	4.1	2.9	7.9	5.0	44	37	33	38	71	60	29	53
31	2.8	2.9	3.3	3.0	47	58	51	52	73	39	43	52
39	3.2	2.8	2.9	3.0	-	-	52	52	0	0	86	29

1) 2か月60後 After 2 months in culture.

2) 根原基形成培地に移植後の日数 Days after transplantation to root primordia initiation medium, containing IBA 0.3mg/ℓ and NAA 0.3mg/ℓ.

3) 根原基形成培地に移植後10週後 After 10 weeks in culture on root primordia initiation medium. Shoots with root primordia was transplanted to auxin-free medium when observed

4) 3家系から頂芽を採取し、各家系を1母樹とした Terminal buds were collected from 3 families and each family was dealt as 1 mother tree.

平均苗条長は 1年生が9.3mmと最も長く、2年生では6.1mm、6年生～20年生では 5mm前後、31年生以上では 3.0mmとなり、年齢が高いほど短い傾向が認められた。しかし、6年生で 3.9mm、20年生で7.9mmの場合もあり、家系・個体による違いも大きかった。平均根原基形成期間は、1, 2年生の母樹では21～31日と短かったが、6年生以上の母樹ではこれより長く、31年生以上の母樹では1, 2年生母樹の約2倍の50日前後であった。また、発根率は、母樹の年齢が高いほど低下する傾向が認められた。しかし、発根率では10年生でも0%の場合がある一方、39年生でも85.7%と高い場合があった。このように、芽からの幼植物体の再生では、年齢が高いほど、芽から成長した苗条の長さ、発根率が低下し、根原基の形成が遅く、母樹の年齢の影響が認められたが、同じ年齢でも母樹により芽から苗条への成長や発根状況が異なった。

IV 幼植物体の順化

試験管内と野外では温度・湿度条件、光条件、雑菌の有無などが著しく異なる。このため、試験管の中の幼植物体を苗木に育てるためには、幼植物体を試験管から取り出して用土に移植し、これらの環境の変化を緩和し、野外の自然環境にならすことが必要である。ここでは、幼植物体を用土に移植後、培養室、温室、野外の順に移すことにより、順化できるかどうかを検討した。

1. 材料と方法

1989年4月15日に16年生個体由来の幼植物体20本を用意し、試験管から取り出して根に付着した寒天を洗い落としてから、ピートモスとバーミキュライトの混合物(1:1)を入れたジフィーポットに1本ずつ移植した。その後滅菌水で灌水してからポリプロピレン製容器にポットを入れて透明なポリエチレンで密閉し、培養室内の温度25℃、3,000~4,000ルクスの照度で16時間日長の条件下に置いた。ポットに移植前の幼植物体の茎の長さは5~37mm、根数は1~7本、最も長い根は7~40mmであった。ポットへの移植操作はクリーンベンチの中で行い、あらかじめポット及び用土はオートクレーブで滅菌し、容器は70%エタノールで消毒した。

5月1日(16日後)にポリプロピレン製容器からポットを取り出してガラス温室に移し、6月3日(33日後)にポットのまま野外の苗床に移植した。

温室では、幼植物体を移植したポットを棚に並べ、7時~18時まで20分間隔で1分間の噴霧灌水を行った。また、苗床では、上部(地上高70cm)及び側方を寒冷紗で覆った。相対照度は、上部及び側方を寒冷紗で覆った場合には35%、上部だけの場合は40%であった。6月30日に、梅雨の期間内に野外の自然環境にならすため側方の寒冷紗を除去し、7月14日に上部の寒冷紗を除去した。

10月5日に苗を掘り取って根の発達状況を調査した後、苗床に斜めに仮植した。また、1990年4月下旬に仮植した苗を苗床に移植し、11月上旬に苗を掘り上げて根の発達状況を調査した。

2. 結果

培養室では、幼植物体を移植した1個のポットで壁面が点状に雑菌に汚染されたが、幼植物体は汚染をまねがれ枯死しなかった。また培養室では、幼植物体に変化はあまり見られなかったが、温室に移してから葉がやや厚くなり、ポットの表面に根が露出した幼植物体(Photo 4)、主軸先端に冬芽を形成した幼植物体が観察された。野外に移してから冬芽を形成した幼植物体は増加した。

Fig. 3 に、幼植物体の生存率、苗高、冬芽の形成率の経過を示した。

生存率は7月1日まで95%以上であったが、その後しだいに低下し9月8日には65% (13本)となった。7月17日以後の生存率の低下は、梅雨の期間に野外の自然環境にならすため寒冷紗を除去したことにより、結果的に真夏の乾燥・高温条件に苗を置いたことが原因と考えられる。

また、苗高は、野外に移すまで緩慢に伸び、野外に移してから7月中旬まで、順調に伸びた。しかし、7月中旬から8月中旬にかけて緩慢になった。8月中旬以後は再度しだいに伸び、10月5日には11cmになった。

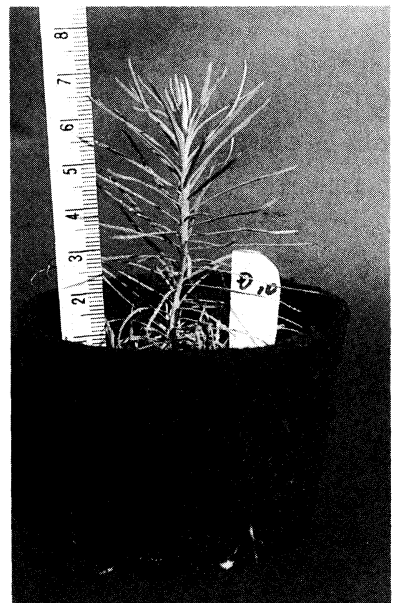


Photo.4. 苗床へ移す直前の幼稚植物体
Plantlet just before transfer to nursery
bed in *Larix kaempferi*

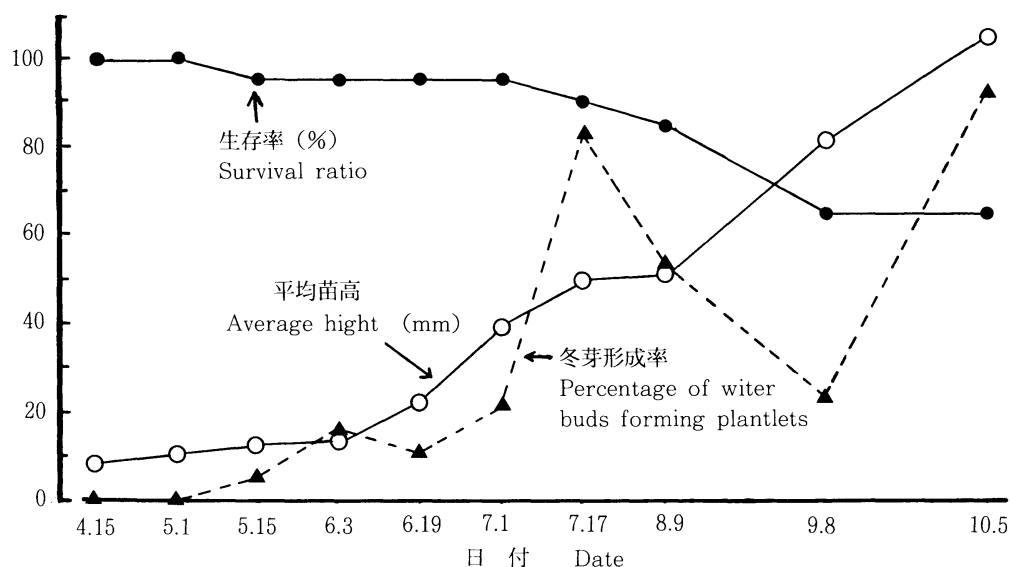


Fig.3. カラマツ幼植物体の順化経過
Procedure of acclimatization of plantlets in *Larix kaempferi*

一方、冬芽の形成は5月15日から始まり、冬芽形成率は7月中旬に最も高い83%に達した。その後、冬芽形成率は9月8日の20%まで低下した後、10月5日に90%に上昇した。野外で苗高が緩慢に伸びた時期は、冬芽形成率のピークと一致することから、緩慢な伸長は冬芽の形成による伸長停止、また、その後の伸長は冬芽の開舒によるものである。

幼植物体の周囲の気温は、培養室では最低24℃、最高26℃であり、温室では最低18～20℃、最高28～30℃であった。一方、苗床では、野外に幼植物体を移植した6月上旬には最高最低ともこれらより5～10℃低く、7月下旬にようやく温室と同程度になった。また、寒冷紗を設置した場合の苗床の相対照度は35%であった。

野外の自然環境では、カラマツは7月中旬に主軸先端に冬芽を形成することは少ない。また、野外の苗床では温室と比較すると温度が下がり、照度が低下した。このような温度条件、光条件の低下に反応して冬芽が形成され、回復とともに開舒したと考えられる。

1990年4月に移植した苗13本のうち3本は5月になっても芽が開舒せず枯死した。これらはいずれも前年10月の苗高が3cm以下の苗であった。その後枯死した苗はなく、11月上旬には順化を開始した時点の幼植物体の50%にあたる10本の苗が得られた。苗高は、9～39cmで30cm以上は2本であった。また、苗の根の数は4本～10本、最も長い根は18～48cmであった。

V 考 察

一般に外植体が大きいのほど雑菌による汚染が多く、小さいほど培養は困難になる³⁾。カラマツの冬芽を用いた場合もこの傾向が認められ、最も大きい木部を付けた芽は、苗条への成長が良く、雑菌汚染率は茎頂の3%よりやや高い13%であり、茎頂など小さな外植体より容易に摘出できた。冬芽を材料とした場合の雑菌汚染率は、グイマツF₁ではほとんどみられない¹²⁾。また、ミズメでは20~57%³⁾であり、カラマツの雑菌汚染率は、グイマツF₁と大差ないと思われ、ミズメより低かった。

カラマツの頂芽と側芽から芽を摘出して培養した結果、頂芽は苗条に成長し、側芽の大多数は葉を展開したが苗条には成長しなかった。また、頂芽は採取時期が遅くなるほど長い苗条に成長した。グイマツF₁においても長枝になる芽から苗条が得られるが、短枝になる芽では培養に供しうる苗条が得られないことが報告されている¹³⁾。1年生枝では、長枝になる芽は頂芽及び先端部の側芽に多く、短枝になる芽は下部の側芽に多い⁴⁾。また、長枝になる芽は胚的枝条の軸生域をもち自然状態の開芽・成長過程で髄状組織の成長が認められるが、短枝になる芽は軸生域がなく、髄状組織の発達はほとんどみられない⁴⁾。このような内部構造と成長型の違いにより、頂芽は苗条に成長し、側芽は苗条に成長しなかったと考えられる。

カラマツは、自然状態では8月中旬から冬芽を形成し、頂芽は11月上旬に休眠状態に入り始め、2月初旬に自発休眠を終了して他発休眠の状態になる¹⁾。その後気温の上昇にともなって3月中旬に冬芽内の葉原基が変化し始め、4月になると葉原基が伸長成長を開始して冬芽がふくらみ、開舒が始まる¹⁾。また、ヨーロッパカラマツで、10月下旬以後に採取された枝を水挿しした場合、開芽に必要な日数が次第に少なくなる²⁰⁾。このような休眠や冬芽内での成長の状態が、採取時期により異なるため、採取時期が遅いほど芽は成長が良かったと考えられ、10月中旬の頂芽からでも苗条を育成できるが、芽が膨らみ始めてから開舒する直前までが、芽の採取適期と判断される。一方、広葉樹で冬芽を用いる場合、モモでは、萌芽し始めた頃にはりん片を剥がしやすく成長も良好とされているが²⁾、ウダイカンパでは、10月下旬~3月下旬の期間では採取時期が遅いほど苗条への成長が悪くなることが報告されている⁹⁾。

芽から苗条への成長は、0.02mg/lのゼアチンと組合せた場合、オーキシンの種類と濃度により異なった。IBA、2,4-D及びNAAでは濃度が高いほど芽の生育が悪く、苗条が短かかった。また、IAAでは濃度間で芽の生育の違いは認められなかった。最も苗条への成長が良かったのは、IBA 0.1~0.3mg/l添加した場合であり、すべての芽が苗条に成長し、苗条は他のいずれの培地より長かった。したがって、カラマツの芽から苗条を育成するには4種のオーキシンの中では、0.1~0.3mg/lのIBAが最も有効と判断される。

カラマツ属樹種では、芽培養により不定芽、多芽体などが形成されている。CHESICKら²⁾は、20年生のヨーロッパカラマツの長枝芽を0~100μMのBAを添加した培地で培養して多芽体を誘導し、BA 5μM(1.1mg/l)が最も有効であるとしている。また、BONGAら¹⁾は、8月~4月まで14回、カラマツ属4樹種で30年生個体の長枝芽をBA 2mg/l添加した培地で3週間培養後成長調節物質無添加の培地で培養して不定芽を誘導し、カラマツはヨーロッパカラマツ、カラマツとヨーロッパカラマツの雑種よ

り不定芽を形成しにくいこと、不定芽の形成は8～9月及び3～4月に採取した材料で多いことを報告している。一方、LALIBERTEら¹⁴⁾は、12年生のヨーロッパカラマツとカラマツの雑種の短枝芽をBA 0.25～10 μ Mを添加した培地で培養して caulogenic callus を誘導し、1または2.5 μ M (0.23または0.56mg/l) のBAで苗条数が多いことを報告している。

本試験では、12月に実験を開始したので、不定芽を形成しにくい時期の芽を材料としたことになるが、NAA、BAを添加した培地で芽を培養することにより、不定芽が形成され、BAだけを添加した場合、これらの報告で有効とされる濃度よりやや高い5mg/lで不定芽は多く形成された。また、NAA 0.01mg/lの添加により不定芽の形成が促進され、不定芽数はBA10mg/lとの組合せで最も多かった。

グイマツF₁の芽生え由来の苗条では、オーキシン無添加の培地で平均48%の発根率が得られ¹¹⁾、12年生のヨーロッパカラマツの雑種の短枝に由来する苗条では、成長調節物質を添加しない培地で発根させることが可能である¹⁴⁾。しかし、カラマツでは、16年生個体、精英樹を母樹とする苗条のいずれもオーキシン無添加の培地では発根しなかった。

一方、ヨーロッパカラマツの成熟胚由来の苗条でピートとパーミキュライト混合物を支持体とする液体培地では、発根率はIBA10 μ M(2.0mg/l)では40%、NAA10 μ M (1.86mg/l)60～100%であり、NAAはIBAより優れていること、NAA10 μ M(1.86mg/l)では5～10個の根原基が形成され、5 μ M(0.9mg/l)では1～2個であること⁶⁾が報告されている。また、グイマツF₁の芽培養による苗条では、発根に適したオーキシン濃度は0.4mg/l (NAAとBA等量) 付近の家系が多い¹³⁾。カラマツでこれらの濃度よりやや低い1.0mg/l以下で実験した結果、ヨーロッパカラマツと同じく発根にはNAAはIBAより発根に有効であったが、根原基数はNAA 1.0mg/lでは、0.3mg/lより少なく、グイマツの場合に近いNAA0.3mg/lとIBA0.3mg/lを組合せた場合に最も多かった。また、根原基形成後にオーキシン無添加の培地に移植することが根の伸長に有効であった。

組織培養による個体の再生は、一般に母樹の年齢が高いほど困難になる。カラマツの冬芽からの幼植物体の再生においても、母樹の年齢が高いほど苗条の長さ、発根率が低下し、母樹の年齢の影響が大きいことが明らかになった。しかし、20年生母樹の芽でも1年生の母樹の芽と大差ない成長がみられ、39年生母樹の苗条でも発根率が86%と高い場合があり、同じ年齢でも芽から苗条への成長や発根状況は母樹とした個体により異なった。

グイマツ×カラマツの芽生え由来の幼植物体の順化では、温室のさしつけ床にほとんどの個体が活着し¹¹⁾、スギの芽生え由来の幼植物体では畑土を詰めた苗箱に90%以上が活着している²¹⁾。また、ヨーロッパカラマツでは胚由来の幼植物体を、1～2週間20℃で硬化した後、ピート・パーライト混合物に移植し約1か月間直射光をさけて高湿に保つことで80%が活着したことが報告されている⁶⁾。カラマツでも、温室から野外に移植した時点の生存率は90%であり、これらの場合と同様に高い割合で用土に活着した。しかし、活着した幼植物体を野外に移した後の寒冷紗の除去が早すぎたため生存率が低下した。また、野外に移した後に、自然状態では形成されない時期に冬芽が形成され、苗の成長が抑制された。このような冬芽の形成はグイマツF₁の芽生え由来の幼植物体でも認められ¹²⁾、幼植物体を温室の挿しつけ床に移植するとほとんどの個体は移植時期に関係なく冬芽を形成するが、翌春から正常な成長がみられ、1シーズンで30cm以上の苗木になる。しかし、今回の試験では、苗高30cm以上の苗は、2本にすぎなかつ

た。

以上のように、カラマツで冬芽から苗条を育成し、発根させることができた。また、幼植物体を用土に移植後培養室、温室、野外の順に移すことにより順化できた。一方、冬芽の培養により不定芽が形成されたが、不定芽は葉を展開したものの茎の伸長は認められなかった。

茎頂培養・芽培養による増殖は、外植体からの健全な苗条の育成、苗条の増殖、発根、順化の過程からなるが、苗条の増殖以外の過程については技術的に可能となった。しかし、年齢の高い母樹では得られる苗条が短く発根率が低いこと、順化過程で冬芽が形成されることから、さらに培養条件、順化方法の検討が必要である。また、増殖については芽培養により形成される不定芽数の向上、不定芽の伸長をはかることが必要である。

引用文献

- 1) BONGA, J. M. and POND, S. E.: Adventitious shoot formation in cultures of 30-year-old *Larix desidua*, *L. leptolepis*, *L. laricina* trees, Plant cell, tissue and organ culture, **26**, 45~51, (1991)
- 2) CHESICK, D. E. BIDDERBACK, D. E. and BLAKE, G. M.: In vitro multiple bud formation by 20-year-old western larch buds and stems, HortScience, **25**, 114~116, (1990)
- 3) 福島 勉: ミズメの組織培養-冬芽と腋芽の培養による植物体再生-, 島根林技研報, **43**, 1~10, (1992)
- 4) 藤本征司: カラマツの枝条形成に関する研究, 北大演報, **35**, 1~28, pl. I ~ VIII (1977)
- 5) 原田宏・駒峰隆: 植物組織培養-実際・応用・展望, 理工学社, 東京, pp.436, (1982)
- 6) HARRY I. S., THOMPSON M. R. and THORPE T. A.: Regeneration of plant-let from mature embryos of western larch, In Vitro Cell. Dev. Biol., **27**, 89~98, (1991)
- 7) 堀内昭作: モモ, 植物組織培養の世界-専門家のためのその技法と実際, 255~256, 柴田ハリオ, 東京, (1988)
- 8) 井出雄二・山本茂樹: ウダイカンパとダケカンパの冬芽の培養による植物体再生-培養開始時期および冬芽の枝上の位置の影響, 東大演報, **85**, 27~42, (1991)
- 9) 石川広隆: カラマツのさし木に関する研究 (I), 林試研報, **135**, 47~52, pl.1~2, (1962)
- 10) 石川広隆: カラマツのさし木でみられた2, 3の問題点について, 72回日林講, 223~226, (1962)
- 11) 黒丸 亮・佐藤孝夫: 組織培養によるグイマツF₁の芽ばえからの幼植物再生, 日林誌, **69**, 355~358, (1987)
- 12) 黒丸 亮: (グイマツ×カラマツ) F₁, 木本植物の増殖と育種(最新バイオテクノロジー全書編集委員会編), 76~80, (1989)
- 13) 黒丸 亮: 芽培養によるグイマツF₁の優良家系からの植物体再生, 102回日林講要旨集, p.95, (1991)

- 14) LALIBERTE, S. and LALONDE, M.: Sustained caulogenesis in callus cultures of *Larix × euolepis* initiated from short shoot bud of a 12-years-old tree, Amer. J. Bot., **75**, 767~777, (1988)
- 15) LLOYD, G. and McCOWN, B.: Commercially-feasible micropropagation of moutainlaurel (*Kalmia latifolia*) by use of shoot tip culture. Inter. Plant Prop. Soc., **30**, 421~427, (1981)
- 16) MURASIGE, T. and SKOOG, F.: A revised medium for rapid growth and bioassys with tabacoo tissue culture. Physiol. Plantarum, **15**, 437~497, (1962)
- 17) 三上進・佐々木文夫・渡辺操: カラマツのさし木増殖試験, 日林東北支誌, **30**, 204~205, (1979)
- 18) 三上 進: からまつ材質育種事業—事業計画と事業実施5か年の成果—, 林育研報, **4**, 1~28, (1986)
- 19) 三上 進: カラマツの材質育種に関する研究, 林育研報, **6**, 47~152, (1988)
- 20) 那須賀常夫: 樹木の休眠に関する研究—トドマツ, オウシュウカラマツの低温要求度について, 日林北支論, **17**, 64~65, (1968)
- 21) 佐藤 亨: 樹木の器官・カルス培養の基礎的研究, 森林総研研報, **360**, 35~119, (1991)
- 22) 山手広太: からまつさし木について, 長野林友, 昭和36年(4), 末尾30~33, (1961)
- 23) 柳沢聡雄: カラマツのさし木, 中村賢太郎監修さし木の実際, 全苗連, 東京, 69~81, (1958)

Plantlet Regeneration by Tissue Culture and it's Acclimatization in *Larix kaempferi*

Naoei ITAHAN¹⁾

Summary

Factors affecting shoot growth from primordial shoots of buds and adventitious root formation were investigated and plantlets acclimatization was carried out in *Larix kaempferi*. Explants excised from terminal buds showed shoot elongation but ones from axillary buds showed only needle elongation. In a comparative study of collection date from October to April, there was a seasonal trend for shoot elongation of explants. The response was high in explants excised later. Shoot elongation varied with auxin's types and their concentration in the presence of 0.02mg/ℓ of Zeatin, 0.1mg/ℓ or 0.3 mg/ℓ of IBA were most effective. Explants from terminal buds produced adventitious buds when grown in medium containing BA 1-5mg/ℓ, BA 1-10mg/ℓ + NAA 0.01 mg/ℓ. The combination of NAA 0.01mg/ℓ + BA 10mg/ℓ was most effective. Adventitious buds showed needle elongation but did not show shoot elongation after transfer to growth regulator free medium. Root were formed in the presence of NAA or IBA. NAA was superior to IBA. The most effective combination of NAA and IBA was NAA 0.3mg/ℓ and IBA 0.3mg/ℓ. Transfer shoots with roots to growth regulator free medium was effective on roots elongation. Primordial shoots from adult trees grew shorter shoots and showed lower rooting percentages than those from young trees. Plantlets transplanted into pots were hardened in a culture room and transferred to a green house, which gave a 90 % survival percentage.

(1) Hokkaido Breeding Office.
(Tohoku Breeding Office.)