

# カラマツの苗条からの不定芽形成における植物成長調節物質の検討と順化後の再生植物体の育成

那須 仁弥<sup>(1)</sup>・板鼻 直栄<sup>(2)</sup>

Jinya NASU and Naoei ITAHANA

## Examination of Formation of Adventitious Buds from Shoots and Growth of Regenerated plants after Acclimatization in *Larix kaempferi*

要旨：カラマツの組織培養にあたって、その増殖効率を高めるため、冬芽由来の苗条からの不定芽形成における植物成長調節物質の種類と濃度について検討した。その結果、苗条を分割した場合の不定芽数は、BA、NAAフリーの培地で多く、BA単独またはBAとNAAを組み合わせで添加した培地では少なかった。また、胚および冬芽に由来する再生植物体の順化後の野外における生育を調べた結果、由来の異なる再生植物体の生存率と樹高に違いがみられた。この違いには、野外植栽時における再生植物体の大きさや根数が影響していると思われる。

### 1 は じ め に

カラマツの材は、含水率の低下に伴って材のねじれ狂いを生じやすい欠点がある<sup>1,7,8,9)</sup>。特に未成熟材部の比率の高い間伐材等小径木では、この傾向が顕著に現れる<sup>16)</sup>。この欠点を改良するため、成長が良く、ねじれなどの少ない個体が材質優良木として選抜された<sup>12)</sup>。この繁殖にあたって、採種園方式では望ましい個体の出現率が27%前後と低いことから、材質優良木あるいは材質優良木間の交配家系から選抜された個体の無性繁殖が必要とされている<sup>13)</sup>。しかし、カラマツはさし木増殖の困難な樹種の一つであり、10年生以上の母樹では発根率が30%以下と低い<sup>2,18,19)</sup>。これらのことから、組織培養による増殖技術の確立が望まれていた。

組織培養において、茎頂培養や芽培養による増殖過程は、外植体からの健全な苗条の育成、増殖、発根、順化からなる。これまでに、カラマツについて、板鼻によって確立された過程は、次の三つである。すなわち、1. 外植体からの苗条の育成<sup>3)</sup>、2. 苗条の発根<sup>4)</sup>、3. 順化<sup>5)</sup>である。しかし、苗条の増殖については十分な成果を得るまでには至らなかった<sup>6)</sup>。

今回、苗条の増殖効率の向上を図る目的で、植物成長調節物質の種類と濃度が冬芽由来の苗条からの不定芽形成に及ぼす影響について検討した。また、順化後の野外における胚および冬芽それぞれに由来する再生植物体の生育を調べた。

(1) 林木育種センター 東北育種場

(2) 林木育種センター 北海道育種場

## 2 材料と方法

### 2. 1 冬芽由来の苗条からの不定芽形成における植物成長調節物質の検討

1990年6月に、予め冬季に採取し貯蔵しておいたカラマツ18年生個体の1年生枝を表面殺菌し、その冬芽を摘出した。これを、MS培地<sup>14)</sup>の硝酸アンモニウム、硝酸カルシウムおよび塩化カルシウムを1/2濃度に改変した培地（以下では、改変MS培地という）に3-インドール酪酸（IBA）0.2mg/ℓ、ショ糖30g/ℓおよび寒天6g/ℓを添加してから置床した。その後、9月に培養物を3-インドール酪酸（IAA）1.0mg/ℓ、ショ糖30g/ℓおよび寒天6g/ℓを添加した改変MS培地に移植して苗条を伸長させ、この苗条を供試材料とした。

1990年11月に、これらの苗条を培養器から取り出して3分割し、培地に移植した。培地は改変MS培地に、6-ベンジルアデニン（BA）1.0mg/ℓ、3.0mg/ℓと $\alpha$ -ナフタレン酪酸（NAA）0mg/ℓ、0.01mg/ℓを組み合わせて添加した4種の培地およびBA、NAAフリーの計5種類の培地とし、いずれもショ糖30g/ℓと寒天6g/ℓを添加した。

実験開始後5週目に、各培地における半数の培養物をBA、NAAフリーの培地に移植し（以下では、処理Aという）、残りの半数は移植前の培地と同じ組成をもつ培地に移植した（以下では、処理Bという）。さらに、5週間後、処理Aおよび処理Bのすべての培養物をBA、NAAフリーの培地に移植した。これら2度の移植の際には、展開した不定芽を培養物から切り離した。

培養温度は25℃で、照明は白色蛍光灯を用い4500～4800luxで全日連続照明とした。実験開始後16週目に培養物の生存数と培養期間中に形成された不定芽数を調査した。

### 2. 2 順化後の野外における胚および冬芽に由来する再生植物体の生育

1989年4月に、カラマツの胚および16年生個体の冬芽から再生した幼植物体を用意し、ビートモスとパーミキュライトを1:1に混合した用土を入れたポットに移植した。その後、培養室または温室で約50日間育成し、順化した。順化された再生植物体は胚由来のものが89個体、冬芽由来のものが38個体であった。これらの再生植物体を供試材料とした。

1989年6月に再生植物体をポットとともに苗畑に移植し、10月に掘取って仮植した。その後1992年、1993年の春に床替えし、1994年6月に東北育種場内の試験地に定植した。樹高調査は1989年6月と10月、1990年11月および1990年7月に行い、1989年10月および1990年11月には樹高とともに根数も調査した。

## 3 結果と考察

### 3. 1 冬芽由来の苗条からの不定芽形成における植物成長調節物質の検討

培養物の生存数と不定芽数をTable 1に示した。

Table 1. カラマツ苗条からの不定芽形成におけるBA, NAAの影響  
Effects of BA and NAA on formation of adventitious bud from the shoot of *Larix kaempferi*

| BA<br>(mg/ℓ) | NAA<br>(mg/ℓ) | 苗条数<br>No. of<br>shoots | 培養数 <sup>1)</sup><br>No. of<br>samples | 処 理<br>Treatment | 培養物の生存率<br>Survival rate<br>of cultrues<br>(%) | 不定芽数<br>No. of<br>adventitious buds | 苗条1本あたりの不定芽数<br>No. of<br>adventitious buds<br>per shoot |
|--------------|---------------|-------------------------|----------------------------------------|------------------|------------------------------------------------|-------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| 0.0          | 0.0           | 5                       | 15                                     | A <sup>2)</sup>  | 86.7                                           | 38                                  | 7.6                                                      |
|              |               | 5                       | 15                                     | B <sup>3)</sup>  | 86.7                                           | 32                                  | 6.4                                                      |
| 1.0          | 0.0           | 5                       | 15                                     | A                | 66.7                                           | 21                                  | 4.2                                                      |
|              |               | 5                       | 15                                     | B                | 66.7                                           | 13                                  | 2.6                                                      |
| 3.0          | 0.0           | 5                       | 15                                     | A                | 53.3                                           | 10                                  | 2.0                                                      |
|              |               | 5                       | 15                                     | B                | 20.0                                           | 1                                   | 0.2                                                      |
| 1.0          | 0.01          | 5                       | 15                                     | A                | 60.0                                           | 15                                  | 3.0                                                      |
|              |               | 5                       | 15                                     | B                | 80.0                                           | 24                                  | 4.8                                                      |
| 3.0          | 0.01          | 5                       | 15                                     | A                | 53.3                                           | 19                                  | 3.8                                                      |
|              |               | 5                       | 15                                     | B                | 46.7                                           | 11                                  | 2.2                                                      |

注 1):培養物は苗条を3分割したものを用了。

2):実験開始後5週目にBA, NAAフリーの培地に移植し, さらに5週目に新たに作ったBA, NAAフリー培地に移植した。

3):実験開始後5週目に移植前の各培地と同じ組成の培地に移植し, さらに5週目に新たに作ったBA, NAAフリーの培地に移植した。

Note 1):The shoot was divided into three pieces.

2):Transplanted to the BA and NAA free medium in fifth week and transplanted to BA and NAA free medium again in tenth week.

3):Transplanted to same media containing BA and NAA or BA single or BA and NAA free in fifth week and transplanted again to the BA and NAA free medium in tenth week.

培養物の生存率は、BA、NAAフリーでは、処理A、処理Bとも86.7%と最も高く、BAの濃度が高い程低下し、BA 3.0mg/ℓでNAAフリーとした処理Bでは20.0%と最も低かった。苗条1本あたりの不定芽数についても同様な傾向がみられ、BA、NAAフリーの培地の処理Aでは7.6個と最も多く、BA濃度が高くなるにつれて減少し、BA 3.0mg/ℓでNAAフリーとした処理Bでは0.2個と最も少なかった。

このことから、培養物の生存率および苗条からの不定芽形成において、BAは阻害的に作用したものと考えられる。一方、BAとNAAを同時に添加した場合には処理Aでは一定の傾向はみられなかったが、処理Bでは培養物の生存率および苗条からの不定芽形成はBA単独の添加よりも多くなり、NAAはBAの阻害的な作用を緩和したものと考えられる。

培養物の生存率および不定芽数について、BA1.0mg/ℓとNAA0.01mg/ℓの培地では処理Bの方が処理Aの方よりも多かった。しかし、これ以外の培地ではすべて処理Aの方が多かった。処理Aと処理Bでは、BA、NAAフリーの培地に移植した時期が異なっている。このことから、苗条から不定芽を形成する過程でBA添加の培地で培養する期間についてさらに検討する必要があると考えられる。

黒丸らは、ゲイマツ雑種F1の芽ばえの上部を、BA3.0mg/ℓを添加したSCHENK and HILDEBRANDT培地<sup>15)</sup>に1週間間隔の移植で8週間培養し、多数の不定芽が形成され、この不定芽を植物成長調節物質フリーのWoody Plant medium培地<sup>11)</sup>に移植したことによって苗条への伸長と発根が認められた<sup>10)</sup>と報告している。

今回の実験で、苗条からの不定芽は形成されたが、苗条に伸長した不定芽は全体で7個に過ぎなかった。苗条の増殖にあたって、BA添加培地における培養期間の検討とあわせて、不定芽から苗条への伸長に適する培養条件についても検討する必要があると思われる。

### 3. 2 順化後の野外における胚および冬芽に由来する再生植物体の生育

1989年6月、10月、1990年11月および1994年7月の樹高、1989年10月および1990年11月の根数をTable 2に示し、これらの生存率の経過をFig. 1に示した。

1989年6月（順化直後）では、平均樹高は、胚由来の個体で2.6cmであり、冬芽由来の個体では1.2cmであった。同年10月（順化4ヶ月後）では、胚由来の個体の生存率は70%で、平均樹高は18.8cmであった。冬芽由来の個体の生存率は63%で、平均樹高は8.8cmであった。また、平均根数は胚由来の個体で5.4本、冬芽由来の個体では4.9本であった。1990年11月（順化2年後）では、胚由来の個体の生存率は58%で、平均樹高は30cmであった。また、冬芽由来の個体の生存率は48%で、平均樹高は18cmであった。

カラマツ山行苗（1回床替え2年生）の規格は樹高24cm以上とされている<sup>17)</sup>。この山行苗の規格に適合する個体数は、胚由来の個体では71%（37本）、冬芽由来の個体では16%（3本）で、胚由来の個体の方が多かった。また、胚由来の個体は平均樹高が高く、平均根数も多い傾向にあり、胚由来の個体の方が冬芽由来の個体よりも生育が良かった。

1994年7月（順化5年後）では、胚由来の個体の生存率は48%で、順化2年後からは10%程度の低下にとどまった。しかし、冬芽由来の個体の生存率は5%に低下した。このように、苗畑に移植した後の生存率は、両者の間で大きく異なった。また、胚由来の個体、冬芽由来の個体の順化5年後における樹高は、平均値でそれぞれ145cm、136cmであり、冬芽由来の再生個体の樹高に対する胚由来の再生個体

Table 2. カラマツ再生植物体の順化後における樹高  
Height growth of regenerated plants after acclimatization in *Larix kaempferi*

| 母 材<br>Sources<br>of<br>regenerated<br>Plant | 調 査 年<br>Year/Month                      |                                   |                                          |                                   |                          |                                          |                                   |                          |                                          |                                   |
|----------------------------------------------|------------------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------------|-----------------------------------|--------------------------|------------------------------------------|-----------------------------------|--------------------------|------------------------------------------|-----------------------------------|
|                                              | '89/6 <sup>1)</sup>                      |                                   | '89/10 <sup>2)</sup>                     |                                   |                          | '90/11 <sup>3)</sup>                     |                                   |                          | '94/7 <sup>4)</sup>                      |                                   |
|                                              | 個 体 数<br>No. of<br>regenerated<br>plants | 樹 高<br>Height                     | 個 体 数<br>No. of<br>regenerated<br>plants | 樹 高<br>Height                     | 根 数<br>No. of root       | 個 体 数<br>No. of<br>regenerated<br>plants | 樹 高<br>Height                     | 根 数<br>No. of root       | 個 体 数<br>No. of<br>regenerated<br>plants | 樹 高<br>Height                     |
|                                              |                                          | <u>average<br/>range<br/>(cm)</u> |                                          | <u>average<br/>range<br/>(cm)</u> | <u>average<br/>range</u> |                                          | <u>average<br/>range<br/>(cm)</u> | <u>average<br/>range</u> |                                          | <u>average<br/>range<br/>(cm)</u> |
| 胚                                            | 89                                       | <u>2.6</u>                        | 62                                       | <u>18.8</u>                       | <u>5.4</u>               | 52                                       | <u>30.0</u>                       | <u>8.5</u>               | 43                                       | <u>145.0</u>                      |
| Embryo                                       |                                          | 0.5~9.5                           |                                          | 1.5~40.0                          | 2~13                     |                                          | 8.0~70.0                          | 5~13                     |                                          | 85.0~217.0                        |
| 冬 芽                                          | 38                                       | <u>1.2</u>                        | 24                                       | <u>8.8</u>                        | <u>4.9</u>               | 19                                       | <u>18.0</u>                       | <u>5.6</u>               | 2                                        | <u>136.0</u>                      |
| Winter-bud                                   |                                          | 0.5~7.0                           |                                          | 1.0~36.5                          | 2~8                      |                                          | 1.0~37.0                          | 3~10                     |                                          | 125.0~145.0                       |

注 1) : 順化直後

2) : 順化4ヶ月後

3) : 順化2年後

4) : 順化5年後

Notel) : Just after accclimazation

2) : 4 months after acclimatization

3) : 2 years after acclimatization

4) : 5 years after acclimatization

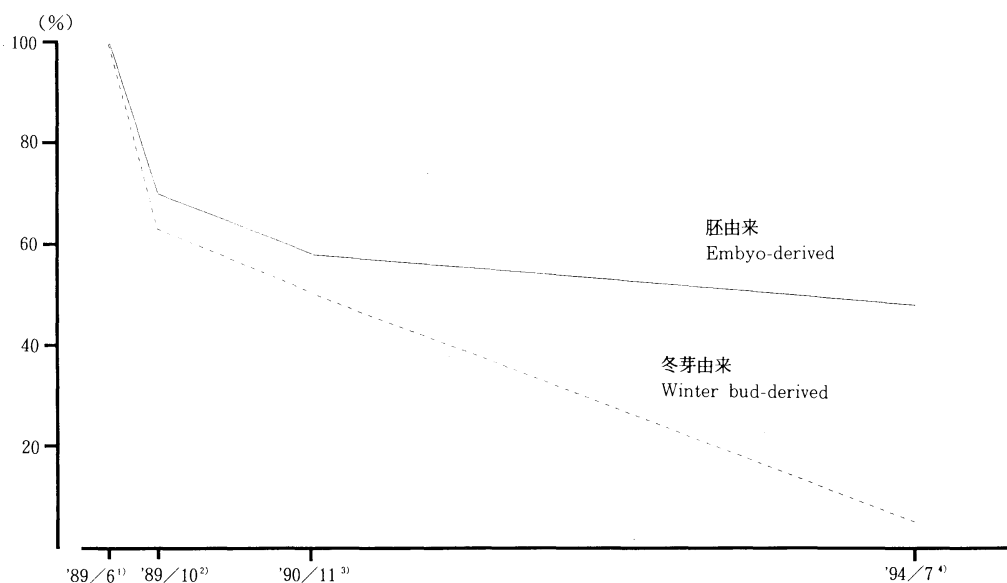


Fig. 1 カラマツ再生植物体の順化後の生存率

The survival rate of regenerated plants after acclimatization in *Larix kaempferi*

- 注 1): 順化直後  
 2): 順化4ヶ月後  
 3): 順化2年後  
 4): 順化5年後

Note 1): Just after acclimatization  
 2): 4 months after acclimatization  
 3): 2 years after acclimatization  
 4): 5 years after acclimatization

の樹高の比は年月の経過に伴い小さくなる傾向がみられる。このことには、順化した再生植物体の樹高や根などの形質が強く影響し、一定の規格に達した再生植物体のみが生存したためであると思われる。このことから、順化過程において十分生育した再生植物体を育成する必要があると考えられる。

## 引用文献

- 1) 半澤道郎・澤田 稔: カラマツ材の性質と利用, 北方林業会, 札幌, pp.207, (1969)
- 2) 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)
- 3) 板鼻直栄: カラマツの芽培養による可能性, 日林東北支誌, 38, 88~89, (1986)
- 4) 板鼻直栄: 芽培養により育成されたカラマツ苗条の発根, 日林東北支誌, 40, 73~74, (1988)
- 5) 板鼻直栄: カラマツ幼植物体の順化, 102回日林論, 373~374, (1991)
- 6) 板鼻直栄: カラマツの芽培養による幼植物体の再生と順化, 林育研報, 11, 17~36, (1993)
- 7) 加納 孟: 林木の材質, 日林協, 東京, pp.168, (1973)

- 8) 加納 孟・中川伸策・斉藤久夫・小田正一：カラマツの用材品質について（Ⅰ），用材品質におよぼす立木素材および角材の条件，林試研報，**162**，1～44，（1964）
- 9) ———・———・———・———・重松頼生：カラマツの用材品質について（Ⅱ），用材品質におよぼす立地条件の影響，林試研報，**182**，113～147，（1965）
- 10) 黒丸亮：組織培養によるゲイマツ雑種F1の芽ばえの幼植物体再生，日林誌，**69**，355～358，（1987）
- 11) LLOYD, G.B. and McCOWN B.H.: Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. Proc. Int. Plant Prop. Soc. **30**: 421-427, (1980)
- 12) 三上 進：からまつ材質育種事業—事業計画と事業実施の5か年の成果—，林育研報，**4**，1～28（1986）
- 13) 三上 進：カラマツの材質育種に関する研究，—旋回木理の遺伝的改良—，林育研報，**6**，47～152，（1988）
- 14) MURASHIGE, T. and SKOOG, F.: A revised medium for rapid growth and bio-assays with tabacco tissue culture, Physiol. Plantarum, **15**, 437～497, (1962)
- 15) SCHENK, R. U. and HILDEBRANDT, A.C.: Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures. Can. J. Bot. **50**: 199-204, (1972)
- 16) 重松頼生・安本善次：カラマツ材質試験（Ⅴ），未成熟材における旋回木理の現れ方，日林中支講，**21**，56～60，（1972）
- 17) 高橋松尾：カラマツ林業総説，日本林業技術協会，pp.381，（1960）
- 18) 山手広太：カラマツのさし木について，長野林友，昭和36年（4），末尾30～33，（1966）
- 19) 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）

## Examination of Formation of Adventitious Buds from Shoots and Growth of Regenerated Plants after Acclimatization in *Larix kaempferi*

Jinya NASU<sup>(1)</sup> and Naoei ITAHANA<sup>(2)</sup>

### Summary

The effects of BA and NAA on adventitious buds formation on the winter bud-derived shoot were tested on modified MS medium and growth of acclimatized two types of regenerated plants in the field were checked in Japanese Larch (*Larix kaempferi*). One type was embryo-derived plant, other type was winter buds-derived plants. Adventitious buds were most formed on the shoots cultured on BA and NAA free medium. The addition of BA was inhibitive for adventitious bud formation. The addition of NAA with BA was alleviative to the influence of BA on adventitious buds formation in treatment B.

Embryo-derived regenerated plants showed higher survival ratio and better height growth compared with winter bud-derived ones. The difference of both survival ratio and height growth might be attributed to the size of regenerated plants and to the number of roots on regenerated plant at the acclimatization.

---

(1) Tohoku breeding office of National

Forest Tree Breeding Center , Takisawa-mura, Iwate, 020-01.

(2) Hokkaido breeding office of National Forest Tree Breeding Center , Ebetsu-shi,  
Hokkaido, 069