

スギ, ヒノキ, アカマツ穂木を用いた-10度の冷凍貯蔵試験

田淵 和夫*・藤澤 義武**

Kazuo TABUCHI * and Yoshitake FUJISAWA **

Developing a freeze storage process of twigs applicable to *Cryptomeria japonica*,
Chamaecyparis obtusa and *Pinus densiflora*

要旨：厳寒期に採取した穂木を用い，3ヶ月から8ヶ月間まで-10℃で長期冷凍保存した。作業の労務分散を考慮して貯蔵期間の異なるさし木，つぎ木による栄養繁殖実験を2回にわたって行った。

その結果，スギさし木の発根率は，3ヶ月貯蔵では1回目が10~65%，2回目が75~100%を示し，対照のとりざしを含めたクローン化はさしつけ時期の早いほど発根率は高かった。5ヶ月貯蔵は15~55%に低下し，8ヶ月貯蔵では全て枯損した。ヒノキのさし木発根率は，3ヶ月貯蔵で1回目が10~25%と低く，2回目は75~100%と高い値を示した。6ヶ月貯蔵の夏ざしは5%及び15%と低下し，8ヶ月貯蔵は全く発根しなかった。また，同時に行ったつぎ木手法は3ヶ月貯蔵では，1回目がヒノキ，アカマツとも平均70%以上を示し，2回目が80%以上の高い活着率を示した。5ヶ月貯蔵になるとヒノキの腹つぎは全て枯損し，アカマツの割つぎは0~60%に低下した。この結果から，スギとアカマツは6ヶ月まで穂木の活性はみられるが，ヒノキは3ヶ月が限度であった。穂木の乾燥防止を含めた冷凍保存技術の改良，ヒノキの夏つぎ以降は環境の改善が必要になる。

1 はじめに

林木育種センター庁舎の移転に伴う移転補償として，保存中の精英樹クローンを含む育種素材の大量移転作業が発生した。センター内に設定していた試験園等の小型材料は，根回しによる造園業の手法によって移植可能であるが，育種素材保存園等の大径木は再度クローン養成が必要になった。これらの系統管理された膨大なコピー苗の養成作業，すなわち，約8千系統19.4万本の養成は，我が国では今までに経験したこともその事例もない。

茨城県から委託された(株)林木育種協会では，限定された期間内に大量の苗木を生産することは物理的に困難なため，移植作業に対応し穂木の保存によって作業の分散を図る必要性があった。コピー苗の養成は，移転業務と並行

* 林木育種センター西表熱帯林育種技術園

〒907-1433 沖縄県八重山郡竹富町南風見仲36-5

Iriomote Tropical Tree Breeding Technical Garden, Forest Tree Breeding Center

36-5 Haeminaka, Taketomi, Yaeyama, Okinawa 907-1433 Japan

** 林木育種センター

〒319-1301 茨城県多賀郡十王町伊師3809-1

Forest Tree Breeding Center

3809-1 Ishi, Juo, Tago, Ibaraki 319-1301 Japan

して実施するため、この課題は短期間に結論を得て早急に情報を提供する必要があった。このため、主要樹種のスギ、ヒノキ及びアカマツを対象に種々の特別処理は行わず、保存期間は可能な限り低温に保ち、生理活性を低下させることで長期保存の可能性を検討した。

2 材料と方法

従来、選抜や創出によって得られた育種素材の栄養系繁殖法は、生体の休眠期に採穂して3～5℃の低温貯蔵を行っているが、つぎ木、さし木用の穂木の保存期間は3ヶ月が限度であった。このような枝葉を長期冷凍保存し、無性繁殖によりクローンを養成した報告は見当たらない。実験は、栄花 茂前育種部長（現、中国湖北省林木育種計画プロジェクトリーダー）の示唆により、育種課第二研究室が指導課育種技術系の協力を得て図1及び表1に示す方法で行った。

実験にはスギ、ヒノキ及びアカマツの精英樹等クローンをを用い、通常実施されている冬季間に荒穂の採取を行った。スギは採穂園、ヒノキ及びアカマツは採種園から1993年2月10日に採穂し、CTMの箱に入れたものを4℃の冷蔵庫に保管した。採穂した穂木は翌日30～40cmに切り揃え、乾燥防止のため湿った水苔で切口を包み、それぞれの樹種について各処理別に2重にしたファスナー付き小型ビニール袋に空気を除いて入れ、温度調節可能な冷蔵庫（日本フリーザー製6801、-30～+60℃）に-10℃で凍結保存した。

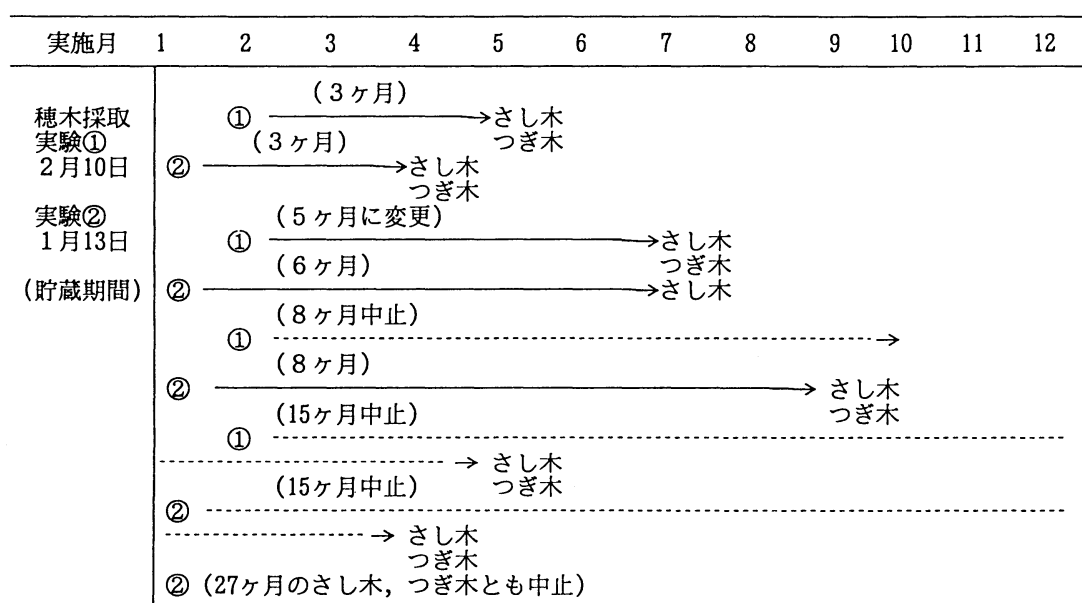


図1. 厳寒期の採穂による冷凍穂木の保存期間と実施月（実験1，2）

スギ、ヒノキのさし付けは、ファイロンハウス内の鹿沼土を入れたプラントベットに3ヶ月貯蔵は5月中旬、6ヶ月貯蔵は実験計画を1ヶ月繰り上げて7月上旬に行った。灌水は2～3日間隔で土壌表面の乾燥時に手動により行った。また、つぎ木用の台木は前年にヒノキ、アカマツとも採種園産実生苗を㎡当たり25本を苗畑に床替した2年生苗を用い、さし木と同時期につぎ木も行った。ヒノキは腹つぎ、アカマツは割つぎによった。つぎ木後は保湿

表 1. さし木、つぎ木の供試クローン

さし木*		つぎ木**	
スギ精英樹	ヒノキ耐寒風	ヒノキ精英樹	アカマツ精英樹
筑波 1 (87~100%)	東京営23(90%)	箱根 1	吉田 1
双葉 2 (69~93)	東京営33(85)	丹沢 8	大野 6
喜多方 1 (52~85)	東京営58(95)	妻籠 1	那珂 40

*: さし穂はクローン当たり10本×2反復×4時期=80本, 合計80本×3クローン=240本とし, それぞれの時期に対照として10本×3クローン×4時期=120本のとりざしを行う。

さし穂の長さはスギ, ヒノキとも15cmとする。括弧書は今まで実施された発根率を示す。

** : つぎ穂はヒノキ 5 cm, アカマツ 3 cmで樹勢が強く枝葉の多い材料を用い, クローン当たり原則として各10本×3時期=30本, 合計30本×3クローン=90本の腹つぎ, 割つぎとする。

用に小型ポリエチレン袋を掛け, 寒冷紗による日覆いを1ヶ月間行った。発根率の調査は1993年11月下旬に堀取り, 生存本数及び発根本数の調査と苗高調査を, つぎ木も同日行ったが活着状態とつぎ穂の活力をみるための成長量も調査した。ヒノキは年枝界の判定が困難であったため, 伸長量はつぎ穂を含む長さを, アカマツは当年の主軸成長量を調査した。

なお, 実験途中の1993年7月2日、冷蔵庫の突然の故障により庫内温度が+16℃に上昇し, 穂木の急激な融解で保存が不可能になったため, 6ヶ月貯蔵(実際には1ヶ月繰り上げて5ヶ月間貯蔵)までのさし木(実験1, 8ヶ月貯蔵で9月予定のつぎ木は繰上げて実施)を行い, それ以降の8ヶ月, 15ヶ月貯蔵の実験は中止した。これにより翌年同じ個体を利用して1月13日に再度採穂貯蔵を行い, 図1の計画に27ヶ月貯蔵を追加して再度実験2を行った。

3 結果と考察

3. 1 第1回目のスギ, ヒノキの冷凍穂木を用いたさし木発根性(実験1, 1993年)

通常, 低温保存されているさし穂は, 庫内施設からとり出し後, 穂作りによって切口を流水に浸されるが, 厳寒期に採穂した人工凍結保存の枝葉は赤褐色で保存期間の長いほど水分の吸引力, 活性化は低下すると考えられる。凍結保存の枝葉はスギ, ヒノキ, アカマツとも樹皮, 形成層など細胞内部の組織的な調査は行っていないが, 利用時の貯蔵穂木は乾燥気味で柔らかく, 針葉はしなやかな状態であった。

ファイロンハウス内の鹿沼土に長さ15cmでさし木を行い, 秋の堀取り調査によるスギ, ヒノキの発根率を図2に示した。5月中旬にさし付けたスギ3ヶ月貯蔵(貯蔵穂木は斜線で示す)では, 65%を示した筑波1が最も発根率が高く, 喜多方1は予想に反して著しく低い値で10%の発根率であった。これと同時に採穂し対照に用いた(網掛けで示す)とりざしでさし付けた場合も筑波1は80%の高い値を示すが, 他の2クローンは50%以下で, 特に双葉2は貯蔵穂木より25%も低い値を示している。これは, 採穂時又はさし付け環境が適正条件でなかったかも知れない。従来のクローン増殖を目的に行われた表1の発根率に比較すると全体的に低くなっている。

次に、5ヶ月貯蔵の穂木についてみると、供試クローンは3ヶ月貯蔵の発根率を若干下回り15～55%を示してクローンの順位は変わらないが、双葉2のとりざし対照区については発根する個体は認められなかった。これは全て

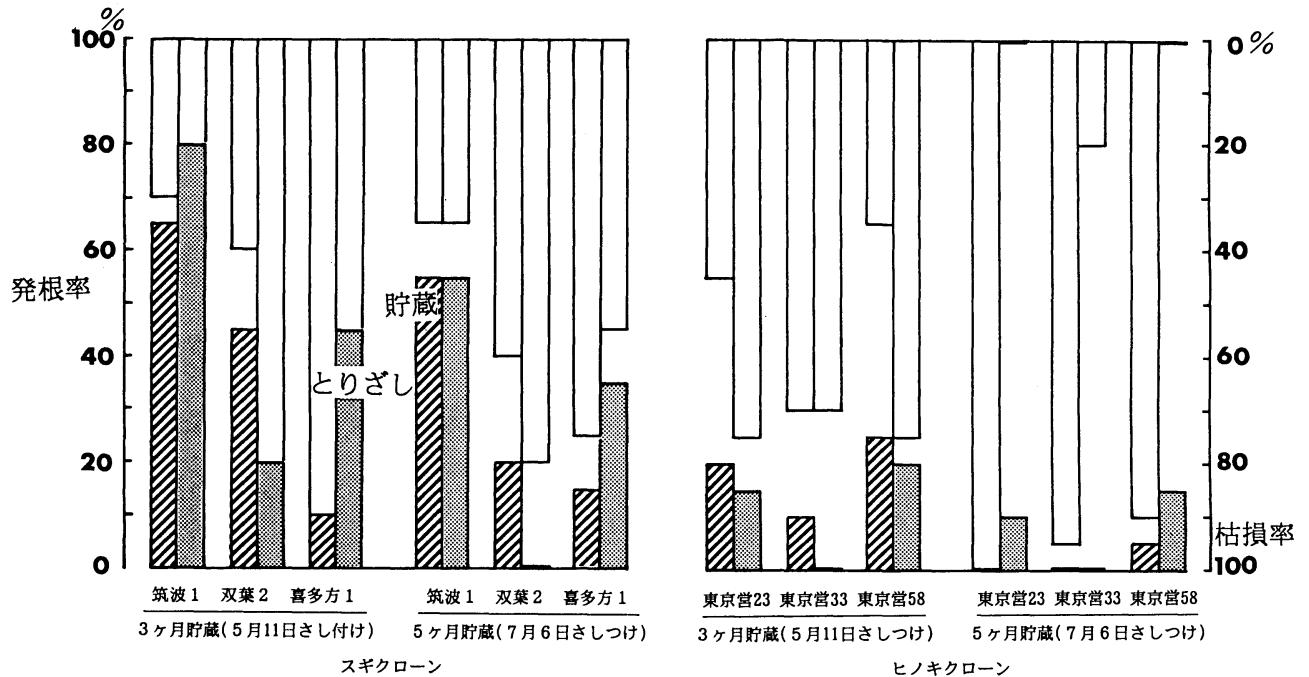


図2. 冷凍保存期間の異なるスギ、ヒノキの発根性と枯損率（1993年）

貯蔵穂木は斜線、対照とりざしは網掛けでそれぞれ発根率を、枯損は白抜きで示し、その他の生存個体は空欄で示す。

採穂台木から発生した萌芽枝を用いたが、前回の5月中旬のさし付けと同様、採穂部位によるものか、さし付け後の管理による差異かは現在のところ不明である。さし付けされた穂木は一般的にカルス形成ほかの生存個体はオキシベロン、100ppmのIBAなどホルモン処理によって発根率の反応が異なり、供試材料によって発根促進は可能であるが、本実験では冷凍保存された期間の長さによってさし穂の発根、生存がどの程度可能か、また、枯損率（白抜きで示す）が異なるかを図2に逆目盛で示した。

これをみると3ヶ月、5ヶ月とも保存期間で大きな差はみられないが、クローンによっては枯損率の大きくなることが判明した。したがって、スギの冷凍保存は3ヶ月の発根率を若干下回るが5ヶ月貯蔵の夏さしまで可能になり、特に発根率の高い筑波1についてはとりざしと遜色のない低い枯損率を示し、生存率は高い結果にあった。

図2の右欄に示したヒノキについては、スギの発根率よりも著しく低い値になっている。3ヶ月貯蔵は10～25%で、元々無処理で高い発根性を示す材料を選択したにもかかわらず、とりざしの発根率は貯蔵穂木よりも低い値であった。また、貯蔵穂木の枯損率は、対照のとりざしと比較するとやや少ない傾向にあった。5ヶ月貯蔵では3クローンとも90%以上の枯損が発生し、わずか1クローン（耐寒風東京営58）が5%の発根率を示したにすぎなかった。これは、春先の3ヶ月貯蔵に比べ5ヶ月に及ぶ穂木の凍結保存は、生理活力の低下、梅雨明けの夏日に近い外気の急激な気温上昇により、さしつけ時の高温多湿の環境変化に耐えることが困難かもしれない。5月中旬の対照に比較すると、7月上旬のとりざしは各クローンとも低い枯損率の傾向にあり、発根率は低くなっているがカルス

形成により生存個体の多い結果になっている。ヒノキの夏ざしについてはスギより枯損率が高くなったことから、5ヶ月以上の保存は現状で行うこのような保存法でのクローン化は生存率を高くしない限り困難かもしれない。

また、床替え養苗に関するさし木苗の発根本数を表2に示す。これによると、スギは3ヶ月よりも長く保存した5ヶ月貯蔵で夏ざしを含めて3割程度減少しているが、クローン苗養成の可能性を示している。しかし、ヒノキについては発根本数が少量であるため、床替後の管理に注意を払う必要はあるが、育苗管理が十分であっても5本未満の根量では成長は望めず、夏季の乾燥時には根系の発達及早まらなければ枯損の危険性が伴うと推定される。

ヒノキさし付け後の観察によると、冬季鱗片葉の赤褐色が1週間余で急速に鮮やかになり、1ヶ月を経過すると葉緑素の増加で濃緑色に変わり、先端部は伸長するが枝葉の保存期間が長いほど下枝の活性は低く、枯死・落葉す

表2. 冷凍穂木のさし木による発根本数 (1993年)

樹種	クローン名	5月11日さしつけ		7月6日さしつけ	
		3ヶ月貯蔵		5ヶ月貯蔵	
		とりざし	とりざし	とりざし	とりざし
スギ	筑波1	12.4	17.9	8.5	12.2
	双葉2	5.8	8.5	7.3	0.0
	喜多方1	9.0	10.9	2.7	11.9
	平均	9.1	12.4	6.2	8.0
ヒノキ	東京営23	3.3	9.3	0.0	9.5
	東京営33	4.0	0.0	0.0	0.0
	東京営58	2.6	6.0	2.0	1.3
	平均	3.3	5.1	0.7	3.6

る個体が多かった。また、穂作り時に白色(淡黄色含む)であった形成層を剥皮してみると、師部・形成層とも褐色から暗褐色に進行するさし穂が多かった。このことから、切枝保存の処理法、凍結温度の最適条件、融解方法とさし付け環境の改善など解決を必要とする多くの課題が残った。

3.2 第2回目のスギ、ヒノキの冷凍穂木を用いたさし木発根性(実験2, 1994年)

当初の図1に示した実験計画においては、冷凍穂木を長期保存の予定であったが、8ヶ月及び15ヶ月の貯蔵は冷蔵庫のトラブルにより不可能になったことから中止した。このため、再実験として冬季間、再度同じクローンをを用いてさし穂の貯蔵を行い、前年に続いて同様の手法により実験を行った。これらのスギさし木発根率と枯損率(逆目盛)を図3に示した。

採穂時期は前年より早く、1月13日に-10℃で冷凍保存を開始したため、さし付け時期もそれぞれ約1ヶ月早くなり3ヶ月貯蔵で4月13日になっている。このため、前年の3ヶ月貯蔵のさし木発根率10~65%に比較すると、供試した3クローンとも実験2の枯損率(白抜きで示す)は低く、貯蔵穂木の発根率(斜線で示す)は70%以上に上昇した。特に発根率の高い筑波1は、対照に用いたとりざし(網掛けで示す)よりも良好な成績を示している。6

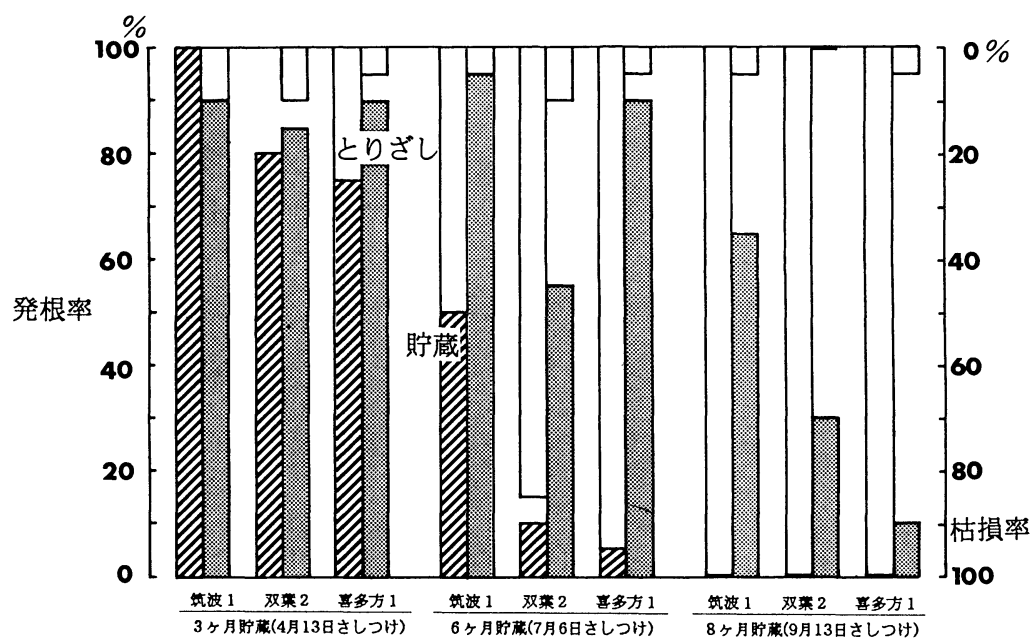


図3. 冷凍保存した穂木によるスギさし木発根性 (1994年)

貯蔵穂木は斜線, 対照とりざしは網掛け, 枯損は白抜きで示し, その他の生存は空欄で示す。

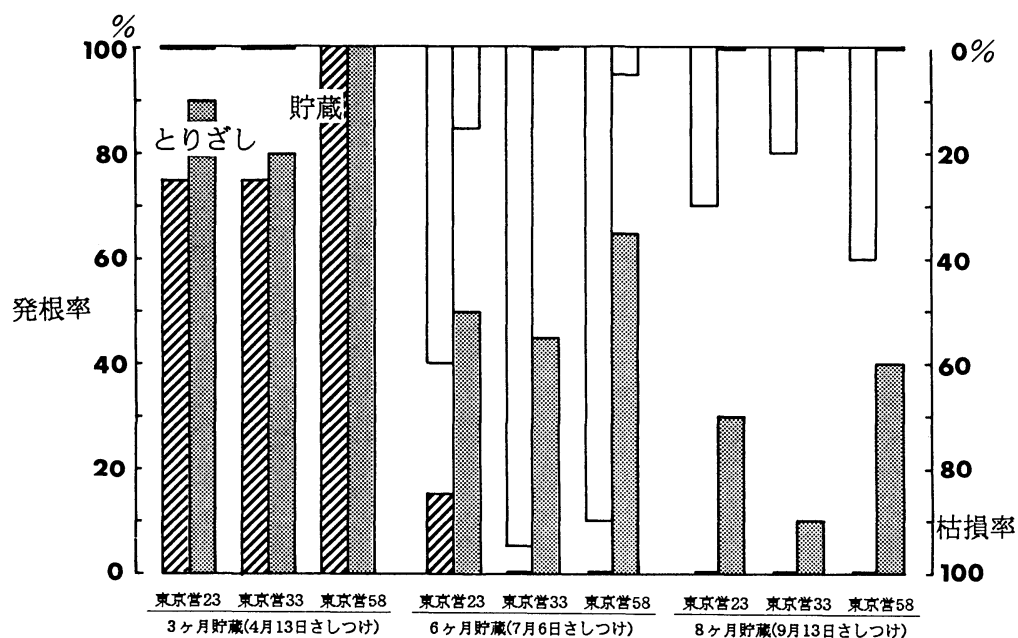


図4. 冷凍保存した穂木によるヒノキサシ木発根性 (1994年)

貯蔵穂木は斜線, 対照とりざしは網掛け, 枯損は白抜きで示し, その他の生存は空欄で示す。

ヶ月貯蔵の穂木を用いた7月6日の夏ざしでは, 前年よりも筑波1を除いて若干低い発根率であるがクローン化には成功した。9月13日に行った8ヶ月貯蔵の秋ざしになると, カルス形成など生存している個体もなく全て枯損したため, 発根する個体は認められなかった。これらのさし穂は, 冷凍保存中は採穂時の緑色から緑褐色であるが,

庫内のビニール袋内で乾燥気味になっており、さし付け後2, 3週間ほどで先端部は成長するが、やがて時間の経過とともに褐色から赤褐色に変色枯死する過程のものが多い結果になった。

次に図4に示したヒノキについてみると、3ヶ月貯蔵の穂木からさし付けた発根率は75~100%で前年よりも著しく高い発根率を示し、対照に用いたとりぎしの値と遜色はなかった。しかし、6ヶ月貯蔵になると東京営23の1クローンのみ15%の発根率で、他のクローンのさし穂は生存個体はみられるが発根するものは認められなかった。夏ざしの対照は前年さし木の倍以上の発根率を示していることから、さし付け環境は良好であったと考えられる。8ヶ月貯蔵になると、さし穂の先端部は緑枝がみられ成長を示すが中部以下の枝葉は赤褐色に変色し、鱗片葉の落葉も発生して半枯れ状態になり、カルスを含む生存個体は認められるが全てのクローンで発根は認められなかった。秋ざしは地中温度の上昇期間が短いため保温不足も考えられる。

このように、実験1, 及び実験2を通してスギ、ヒノキとも6ヶ月貯蔵まではさし付け条件の改良によりクローン化に成功したが、8ヶ月以上の冷凍保存を行う場合、2回の実験を通して乾燥防止のための穂木の処理法や保存温度（推定温度-8℃~-15℃範囲内）の決定などが課題になった。なお、1995年3月には林木育種センター庁舎の移転に伴って、水戸市笠原町から県北十王町に冷蔵庫を移動したため実験2の凍結保存中の冷凍穂木が融解し、15ヶ月、27ヶ月貯蔵の実験を中止した。

3.3 第1回目のヒノキ・アカマツの冷凍穂木を用いたつぎ木活着率（実験1, 1993年）

永年性作物の木本類の栄養繁殖は、一般に発根容易な樹種はさし木で、それが困難なものについてはつぎ木によって実用化されている。落葉果樹についても台木は休眠ざし、緑枝ざし、とり木等によって養成され、春先の3月~4月のつぎ木は切りつぎで、8月~9月の秋にかけては芽つぎや腹つぎ手法で増殖が実施されている。

今回用いたヒノキ、アカマツのつぎ木法は、林木育種事業の基本的な増殖技術として春先の実施で確立されているが、切枝の冷凍保存による夏から秋の実験例は今まで行われたことはなく初めてである。育種目標によって選抜された優良木のクローン増殖技術は重要で、つぎ木、さし木の成果がみられない場合、組織培養技術に頼る傾向にあるが、同じ育種素材の無性繁殖でクローン養成の成果が得られるのであればランニングコストの低い手法が実用的になる。

事業的には3月~4月につぎ木作業は行われるが、それぞれ冷凍穂木を用いた1993年の実験結果を図5に示した。3ヶ月貯蔵のつぎ穂をみると、-10℃の保存状態はさし穂と同様外観的には何ら障害は認められなかった。時間的には5月中旬のつぎ木作業はやや遅いとみられるが、ヒノキの腹つぎを行ってみるとクローンによって異なるが、50~92%の高い活着率を示し、成長も良好であり、冷凍保存がつぎ穂の活力の低下に影響を与えることは少ないと判断した。

当初、秋つぎの8ヶ月貯蔵も計画したが、さし木の項目でも前述したように、実験計画で6ヶ月貯蔵の予定は冷蔵庫の故障によって夏つぎの繰上げ変更した5ヶ月貯蔵（ヒノキ、アカマツとも8ヶ月、15ヶ月貯蔵は計画変更により中止）では、寒冷紗の日覆効果も低く、つぎ木後1ヶ月程度はつぎ穂の先端部の成長はみられたが、外気温の急激な上昇によって活着は困難になり、秋には全てのクローンで枯損した。これは冷凍保存中及びとり出し後、つぎ穂の組織的な調査は行っていないが、形成層、師部に何らかの障害で活力の低下があったかもしれない。

また、5月中旬に行った3ヶ月貯蔵のアカマツ割つぎでは、75~100%の活着を示し、事業で行うクローン養成の成績と同程度であった。5ヶ月貯蔵になると全て枯損したヒノキの不成績と異なり、1クローンの枯損を除いて

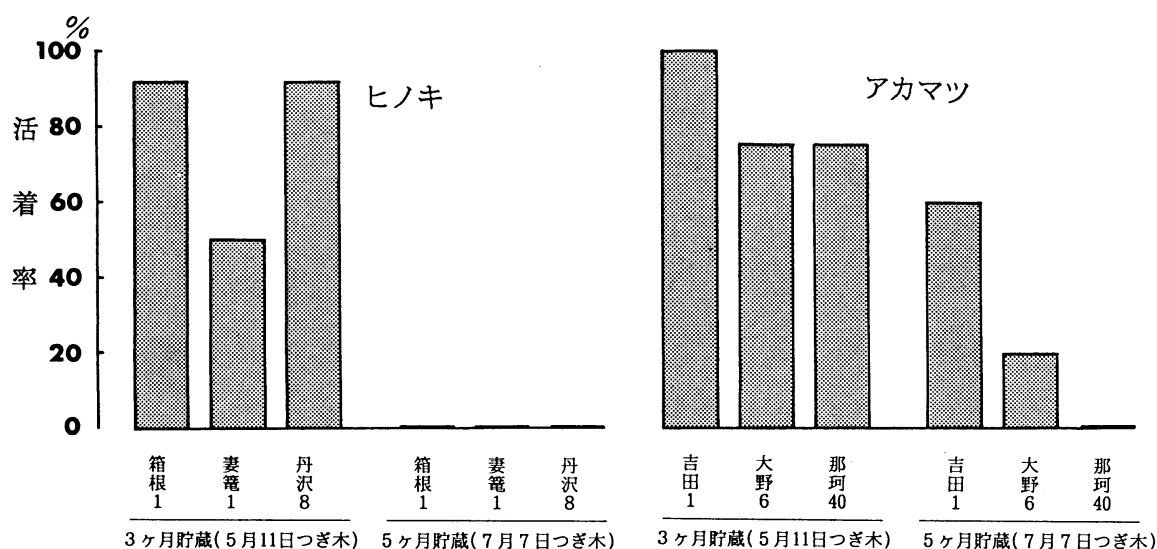


図5. 冷凍保存期間の異なるヒノキ、アカマツクロンのつぎ木活着率 (1993年)

は20～60%の低い活着率であるが成功している。この夏つぎ台木のアカマツつぎ木部位は、前年に成長部の木化が進んでいるためこの部分の割つぎ作業が不相当であり、当年伸長した輪生枝から3～5cm上位の主幹新梢部で緑つぎの状態に変更して行った。したがって、つぎ穂の貯蔵技術を改善した場合には少なくとも5ヶ月までは生存することから、その間までは、クローン増殖の可能性があることが判明した。

3.4 第2回目のヒノキ、アカマツの冷凍穂木を用いたつぎ木活着率(実験2, 1994年)

冷凍穂木の8ヶ月、15ヶ月貯蔵の長期保存が前年の実験で中止になったことから、再度厳寒期の1月13に採穂し、同様の手法でつぎ木実験2を行った。つぎ木活着率を図6に示す。

前年の冬季間よりも貯蔵穂木を採取した時期が約1ヶ月余早いため、さし木時期と同様ヒノキ、アカマツともつぎ木作業は早まっている。ヒノキの3ヶ月貯蔵は4月中旬に腹つぎを実施した結果、活着率は83～91%の高い値を示している。しかし、秋つぎを行った8ヶ月貯蔵では全てのクローンで枯損したことから、前年の5ヶ月貯蔵でも活着しなかったことを考えると、ヒノキの冷凍保存は現在の-10℃で貯蔵する保存技術を改善しない限り困難と考えられる。したがって、それ以降の15ヶ月、新たに追加した27ヶ月貯蔵のつぎ穂の保存はアカマツも含め、林木育種センター庁舎移転に伴う機械器具の搬出と貯蔵温度の上昇により穂木の腐敗が発生したので実験を打切った。

アカマツについても3ヶ月貯蔵は65～100%の活着率を示したが、ヒノキと同様8ヶ月貯蔵では全て枯損した。アカマツの前年の活着率は5ヶ月貯蔵までは60%を示すクローンもあることからクローン養成の可能性はみられるが、秋つぎまでの長期冷凍保存は現在のところ困難であり、保存技術の改善と高温抑制等、つぎ木環境の改良が必要になった。

なお、今回行った実験1, 2でつぎ木の過程で得られた養成苗の成長量を表3に示した。つぎ木用台木及びつぎ穂の活力が影響を与える活着率と成長量は作業年によって異なり、ヒノキ当年生では約20cmであるが、2年生になると48cmで2.45倍の成長を示した。アカマツは当年生13cmから翌年には54cm、4.12倍まで成長したが、実験1の5ヶ月貯蔵で夏つぎ当年生のつぎ木苗は2クローンの平均で約9cmを示し、春つぎに比較して成長点は翌年の

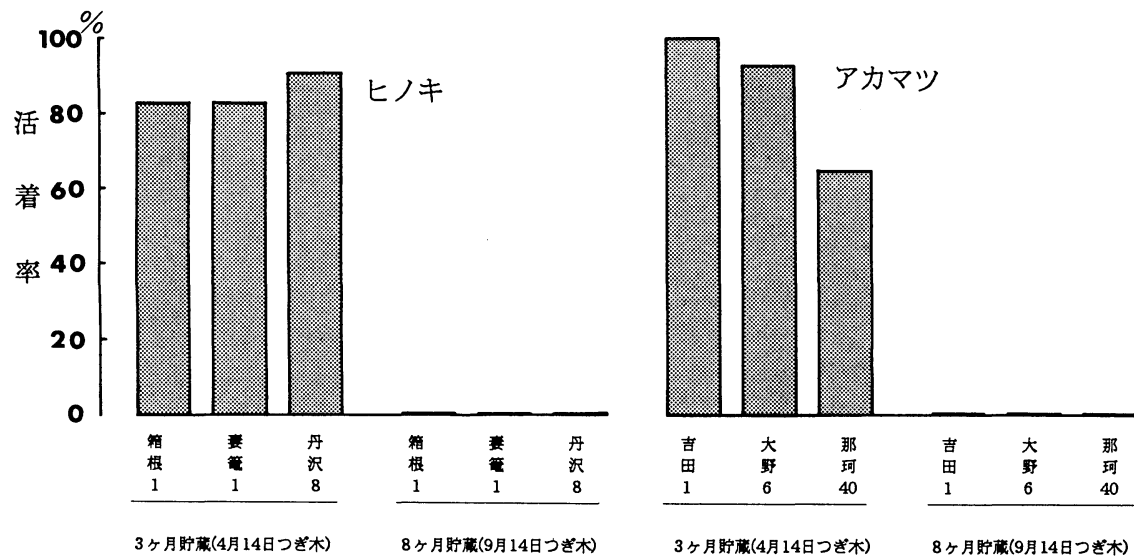


図6. 冷凍保存期間の異なるヒノキ、アカマツクローンのつぎ木活着率（1994年）

表3. つぎ穂の冷凍保存とつぎ木苗の成長量（1993年）

(単位: cm)

樹種	クローン名	3ヶ月貯蔵			5ヶ月貯蔵		
		当年生	2年生	成長倍率	当年生	2年生	成長倍率
ヒノキ	箱根 1	18.8(35.8)	48.9	2.60	-		
	妻籠 1	20.5(36.1)	51.8	2.53	-		
	丹沢 8	19.5(34.4)	43.6	2.24	-		
	平均	19.6(35.4)	48.1	2.45			
アカマツ	吉田 1	13.0(24.6)	53.8	4.14	9.7	55.3	5.70
	大野 6	10.8(24.8)	48.4	4.48	8.0	35.5	4.40
	那珂 40	15.9(28.7)	60.9	3.83	-		
	平均	13.2(26.0)	54.4	4.12	8.9	45.4	5.10

注) つぎ穂の長さはヒノキ 5 cm, アカマツ 3 cm で実施し, 成長両はヒノキは全長を, アカマツはつぎ穂部分を除く成長量。括弧書は, 翌1994年(実験2) つぎ木を行った当年生の成長量を示す。

冬芽を早く形成するため苗高の低くなる傾向にあった。このことから, つぎ木苗の養成期間は台木の枝葉剪除を行い, 春つぎの早い時期ほど2年生で山出し可能になると考えられる。

4 ま と め

厳寒期に採穂した育種素材の冷凍穂木を用い、春先に集中する作業の労務分散を考慮するとともに、貴重な材料から穂木（針葉樹の生体）の保存が可能かどうか、3ヶ月から27ヶ月までの保存を計画し、保存期間の異なるさし木、つぎ木によりクローン増殖の可能性を検討した。

その結果、 -10°C で凍結保存した3ヶ月貯蔵のスギのさし木発根率は10～65%を示し、5ヶ月貯蔵は15～55%であった。同じ手法で翌年行った発根率は3ヶ月貯蔵で75～100%を示し、根量も床替可能な本数であった。6ヶ月貯蔵は5～50%に低下し、同様に行った対照のとりざしよりも発根率は低下した。8ヶ月貯蔵の秋ざしは全て枯損した。また、長期にわたる15ヶ月、27ヶ月貯蔵は冷蔵庫の故障により実験を中止した。

ヒノキのさし木発根率は3ヶ月貯蔵で10～25%、5ヶ月貯蔵は0～5%を示し、対照のとりざしを含めスギよりも発根は悪かった。しかし、翌年実施したさし木の3ヶ月貯蔵は75～100%を示し、とりざしと同様に高い発根率であった。6ヶ月貯蔵の夏ざしになると0～15%で前年と同様に著しく低下し、さらに8ヶ月貯蔵の秋ざしは生存する個体は認められるがスギと同様全く発根は認められなかった。したがって、冷凍穂木の保存技術をさらに改善した場合、スギ、ヒノキとも6ヶ月間までは穂木の生体保存は可能で、クローン増殖のできる可能性があると考えられた。

つぎ木については一般に初春に実施されるが、ヒノキの3ヶ月貯蔵は腹つぎの結果が50～92%で、翌年1ヶ月早く行った活着率は83～91%を示し、著しく高い結果になった。続いて行った5ヶ月貯蔵の夏つぎ及び8ヶ月貯蔵の秋つぎは全て枯損して成功しなかった。アカマツの割つぎについては3ヶ月貯蔵で75～100%、5ヶ月貯蔵では0～60%に低下して、翌年の8ヶ月貯蔵では全く活着は認められないことから、アカマツはつぎ木時期が早いほど活着率と当年伸長量は良好になった。6ヶ月以上の貯蔵穂木を用いた秋つぎは現在のところクローン増殖は困難と判断された。

このように穂木の長期保存を行った栄養繁殖を可能にさせるためには、凍結温度の決定、生体穂木の乾燥防止を含めた保存法の改良、生理活性の回復、さし木・つぎ木環境の改善により枯損率を低下させることが今後の課題になる。さらに、冷凍穂木の長期保存技術が開発された場合には、有性繁殖の困難な樹種や希少、絶滅に類する樹種など林木の遺伝資源の保存、増殖技術にも応用できると期待された。