

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月25日現在

機関番号：24403

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21380157

研究課題名（和文） 樹木の環境応答を利用した高効率クローン苗生産の開発に関する基礎的研究

研究課題名（英文） A fundamental study of the high-performance woody-plant propagation system based on the environmental responses

研究代表者

渋谷 俊夫（SHIBUYA TOSHIO）

大阪府立大学・大学院生命環境科学研究科・准教授

研究者番号：50316014

研究成果の概要（和文）：低気温下で樹木挿し穂の基部を加温する処理が発根及びその後の成長におよぼす影響を調査した。低温下で加温されたカロリナポプラ挿し穂は、処理せずに挿し木した対照区に比べて根の発達は促進され、葉の傷害は抑制された。休眠枝に加温処理を低温貯蔵中に施したところ、加温処理によって、加温しない挿し穂または貯蔵しない挿し穂よりも、発根または萌芽がそれぞれ促進された。本技術は、最小限の炭水化物の消費で挿し穂を発根直前の状態にすることができることから、樹木挿し穂の増殖効率を高める方法として有用と考えられる。

研究成果の概要（英文）：We investigated effects of warming the basal ends of woody-plant cuttings at controlled low-air-temperature on their root growth and consequent growth after planting. Root development was greater and leaf damage evaluated with intensities of necrosis was less in the warmed Carolina-poplar leafy-cuttings than in control cuttings which was planted without the treatment. When the warming treatment was applied to cuttings with dormant terminal bud during low temperature storage, The both rooting and sprouting was improved in warmed cuttings, whereas the only rooting or spouting was improved in non-stored or non-warmed cuttings, respectively. The warming technology would improve the cutting propagation of woody plants, because it would ensure that the cuttings are ready to develop roots with a minimum loss of carbohydrates, regardless of the weather.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	8,000,000	2,400,000	10,400,000
2010年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2011年度	1,400,000	420,000	1,820,000
総計	11,600,000	3,480,000	15,080,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農業工学・農業環境工学

キーワード：挿し木、栄養繁殖、発根、貯蔵、閉鎖型苗生産システム、ポプラ、スギ、キョウチクトウ

## 1. 研究開始当初の背景

現在、森林バイオテクノロジー分野では、環境・エネルギー問題の解決を目的とした品種の育成が急速に進められている。たとえば、国内においては、CO<sub>2</sub>固定能力の高いポプラや無花粉のスギなどの有用な形質を持つ樹木品種が育成されつつある。しかし、このよ

うな高機能樹木の需要は最近数年で急速に高まってきたものであり、それらの樹木品種を大量増殖し、広域に植林するためには、より効率的な苗生産システムの確立が不可欠である。

## 2. 研究の目的

本研究の最終目標は、局所環境制御を用い

た新しい植物繁殖技術によって樹木クローン苗生産の効率化を図ることにある。研究代表者らは、低気温の貯蔵環境下で挿し穂の基部に局所加温を施すことで発根を促進する新技術(ボトムヒート貯蔵, 図1)を開発し、トマト、ナス、キュウリなどの野菜や、キク、バラなどの花きの園芸苗生産の効率化に取り組んできた。ボトムヒート貯蔵では低気温制御下で安定して発根を促すことができることから、発根までの期間が比較的長い樹木の栄養繁殖において特に有効であると考えられる。ボトムヒート貯蔵では、低気温で呼吸による消耗や蒸散による水損失を抑制することができることから、光照射や加温、それともなう空調負荷を少なくでき、従来よりも低コストで発根を促し、独立した植物体をつくることできる。この方法は、これまで野菜や花きなどの園芸分野でその実用性が実証されてきたが、樹木についての実用性に関する知見は十分ではない。また、落葉樹においては一定の低温期間を経験したあとに適温におかれると休眠を打破し萌芽が促進されることから、ボトムヒート貯蔵を用いてシュートと発根部位を別々に温度制御することで、発根促進しつつ低温による萌芽促進効果を得られることが期待できる。本研究では、ボトムヒート貯蔵を樹木クローン苗生産に適用するための基礎データを得ることを目的として、ボトムヒート貯蔵による発根促進のための物理的環境条件の検討を、主にカロリナポプラ (*Populus × canadensis*) をモデル的な材料として行い、さらにボトムヒート貯蔵のコスト面での実用性の評価を行った。

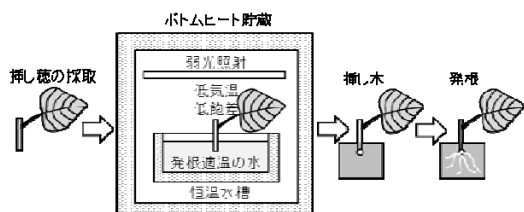


図1 ボトムヒート貯蔵の概要

### 3. 研究の方法

#### (1) ボトムヒート貯蔵の最適温度の評価 (実験1)

ボトムヒート貯蔵の最適温度を求めるために、単葉を持つカロリナポプラの挿し穂(長さ: 約 30 mm)を用いて、数段階の処理温度で発根を調べた。気温 10°C の低温庫において、挿し穂の基部 10mm を、10°C, 20°C, 25°C, 30°C, 35°C または 40°C の水に浸けた(図2)。水温は恒温水槽を用いて制御した。挿し穂は、水に浮かべた発泡スチロール板に空けた穴に挿すことで支持した。蛍光灯を用いて光合成有効光量子束密度 (PPFD) 10

$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  で連続照射を行った。この PPFD は、ポプラ葉における光補償点付近である。処理開始 14 日目に、各処理温度における挿し穂の発根率、挿し穂あたりの発根数および根部乾物重を求めた。同様の実験を、キョウチクトウ (*Nerium indicum*) を用いて行った。



図2 ボトムヒート貯蔵の様子

#### (2) ボトムヒート貯蔵による発根促進・傷害抑制効果の評価 (実験2)

実験の概要を図2に示す。実験材料には単葉を持つカロリナポプラの挿し穂を用いた。気温 10°C の低温庫において、挿し穂を 30°C に加温した水に浸ける試験区(加温区)と、加温しない水に浸ける試験区(無加温区)を設けた。相対湿度は制御しなかった。相対湿度の平均値は 75%, 飽差は 0.3 kPa であった。蛍光灯を用いて PPFD  $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  で連続照射を行った。挿し穂の支持は、実験1と同様の方法で行った。これらの処理は 8 日間継続した。これは処理開始 7 日目に加温区において発根の兆候が確認されたためである。処理後に、加温区および無加温区の挿し穂を気温 30°C のグロースチャンバーにおいて水挿しを行い、8 日間育成した。実用性の検証には、処理後は固形培地に挿し木することが望ましいが、本実験では発根の様子を定期的に観察するために育成用培地として液体を用いた。育成時の PPFD は  $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  の連続照射とした。相対湿度は 90%, 飽差は 0.4 kPa に制御した。対照区として、挿し穂収穫後すぐに、気温 30°C のグロースチャンバーにおいて水挿しを行い、16 日間育成する試験区も設けた。実験開始後に発根の様子を毎日観察した。実験開始 8 および 16 日後に、挿し穂のネクロシスの状態から、各挿し穂の葉傷害率を Druge and Kadner (2008) の方法によって求めた。同様の実験を、スギ (*Cryptomeria japonica*) 挿し穂(長さ: 約 100 mm)を実験材料にして行った。ボトムヒート貯蔵条件は気温 10°C, 基部温度 25°C, PPFD  $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  とし、処理期間は 28 日間とした。この基部温度はスギにおける発根の最適温度である(佃ら, 2010)。処理後にパーミキュライトに挿し木して気温 25°C, PPFD  $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  のグロースチャンバーにおいて 28 日間育成した後に発根率を調べた。対照区として、挿し穂収穫直後にパーミキュライトに挿し木

してグロースチャンパーにおいて 56 日間育成する対照区を設けた。

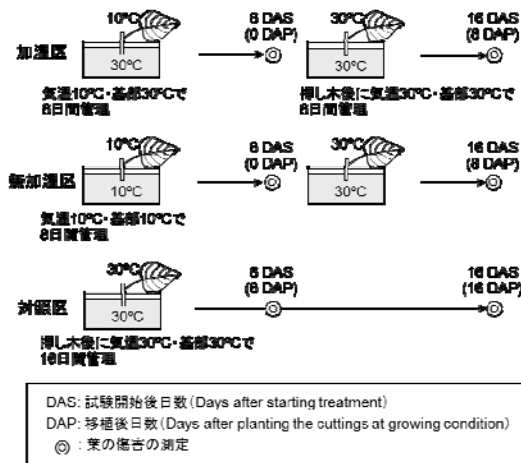


図3 発根促進・傷害抑制効果の評価方法 (実験2)

(3) ボトムヒート貯蔵による休眠枝の萌芽・発根促進 (実験3)

実験の概要を図4に示す。実験材料には頂芽を持つカロリナポプラの休眠枝(12月下旬採取)を用いた。気温5°Cの低温庫において挿し穂を46日間貯蔵し、貯蔵開始から18日間に挿し穂を30°Cに加温した水に浸ける試験区(加温区)と、加温処理を行わない試験区(無加温区)を設けた。低温処理の温度・期間は、一般にポプラ類の休眠打破に必要とされる温度・期間(永田, 1981)にもとづいて決定した。加温処理期間は、挿し穂基部から発根がみられるまでの期間とした。貯蔵中に蛍光灯を用いてPPFD10  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ で連続照射を行った。挿し穂の支持は、実験1と同様の方法で行った。低温処理後、挿し穂を水挿ししたまま気温25°Cのグロースチャンパーに移し、63日間育成した。育成中は、蛍光灯を用いてPPFD100  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ で連続照射を行った。低温処理を行わずに、挿し穂採取直後からグロースチャンパーで育成する対照区も設けた。各試験区における挿し穂の発根率および萌芽率を定期的に測定した。

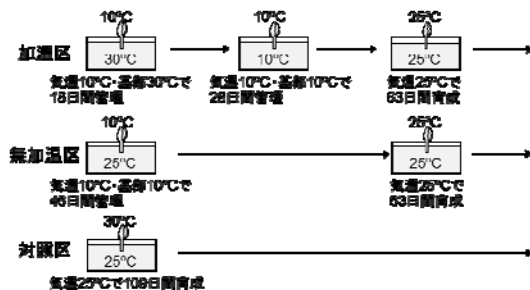


図4 休眠枝の萌芽・発根促進効果の評価方法 (実験3)

(4) ボトムヒート貯蔵のエネルギーコストの算定

ボトムヒート貯蔵に必要なエネルギーコストを、本研究で用いた処理装置の消費電力の実測値と貯蔵庫の熱的特性などから大山・古在(1998)の方法を用いて算定した。貯蔵施設の大きさは、長さ8.4 m、奥行き10.2 m、高さ3.0 mとし、天井、壁面、床面は断熱材によって構成されていることを想定した。構造材および断熱材の熱貫流係数  $ht$  は  $0.38 \text{ W m}^{-2} \text{ K}^{-1}$  であり、貯蔵施設の壁面は熱容量が小さいと考え、定常的に扱った。換気はないものとした。外気温は35°Cと仮定した。貯蔵施設内には、1.2 m 間隔で3つのキャビネットがあり、キャビネットは5段のボトムヒート処理モジュール(長さRL: 1.2 m、奥行きRW: 9.0 m、高さRH: 0.5 m)で構成されていると仮定した。モジュール内の天井、壁、床面における反射率は、それぞれ80, 70, 10%とする。1つのモジュールには水とヒーターを入れた貯水槽(1.2 × 9.0 × 0.15  $\text{m}^3$ )を設置し、穴の開いた発泡スチロール(熱伝導率:  $0.035 \text{ W m}^{-1} \text{ K}^{-1}$ , 厚さ: 0.02 m, EPS)を浮かべて3600本  $\text{m}^2$ の栽培密度で挿し穂を挿すことを想定した。ボトムヒート処理の貯水槽の周りは同様のEPSで覆って断熱することを想定した。気温10°C、ボトムヒート処理温度は25°C、処理期間は28日間とした。光照射は白色蛍光灯で、PPFDを  $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の連続照射とした。これとは別に、同様の施設で通常の育苗を行った場合に必要な消費電力量を、PPFD100  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 気温25°Cを想定して、他の条件については、貯水槽の加温を行わないこと以外はボトムヒート貯蔵の場合と同一にして試算した。

4. 研究成果

(1) ボトムヒート貯蔵の最適温度の評価 (実験1)

処理開始後における発根率、発根数および根部乾物重は、30°Cまでは増大し、それ以降は低下する傾向がみられた。処理温度10°Cおよび40°Cでは発根がみられなかった。これらのことから、カロリナポプラにおけるボトムヒート貯蔵における最適な加温温度は30°C付近であることが示された。同様の方法で、キョウチクトウの最適温度は35°Cであり、樹種による違いがみられた。このような最適温度の違いは、各樹種の自生地の気候条件によるものと推察される。

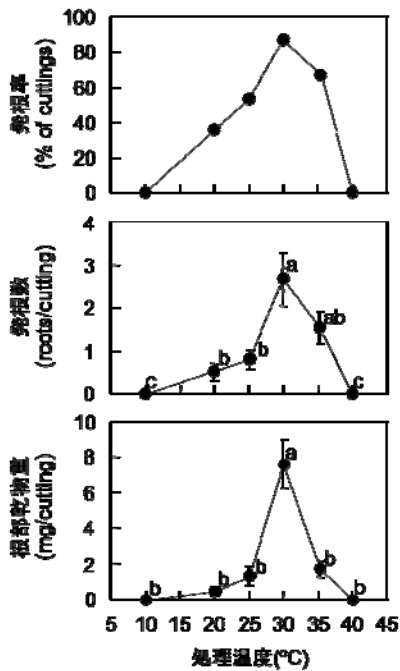


図5 処理温度がカロリナポプラの発根率，発根数，根部乾物量に及ぼす影響（実験1）．発根率は15個体で発根した挿し穂の百分率を示す．平均値±標準誤差（n=15）

(2) ボトムヒート貯蔵による発根促進・傷害抑制効果の評価（実験2）

挿し穂からの発根は加温区と対照区では試験開始7日目にほぼ同時に観察されたが，無加温区は約6日間発根が遅れた．ボトムヒート貯蔵中に発根してしまうと移植時に根が傷つくことが考えられるため，ボトムヒート貯蔵は発根直前で終了することが望ましい．したがって，本実験結果からカロリナポプラのボトムヒート貯蔵に必要な期間は6日間程度と考えられる．発根率は加温区および対照区においてほぼ同じ傾向で直線的に増加した．一般に挿し穂の発根は気温の影響を大きく受けるといわれているが，この結果から，本実験条件では気温が発根に及ぼす影響はほとんどなかったと考えられる．育成条件に移してからの日数で比較すると，対照区では発根が7日目（試験開始7日目）にみられたのに対して，無加温区では5日目（試験開始13日目）にみられた．このことは，気温10°Cにおいて水挿しを行うことで，発根が促進されることを意味する．これは水に浸けることで根原基の形成が促進されるというこれまでの報告（Petersen and Phipps 1976; Desrochers and Thomas 2003）と一致する．試験開始8日目における葉損傷率は，加温区および無加温区では0%であったのに対して，対照区では43%であった（表1）．試験開始16日目における葉の損傷は，対照区において加温区よりも大きかった（表1，図6）．

加温区において葉の損傷が抑制されたのは，加温区ではボトムヒート貯蔵期間中に低気温・低飽差条件で蒸散および老化を抑制しつつ，発根準備をさせることができたため，育成条件に移してから発根が対照区よりも早く，それによって水ストレス・老化が軽減されたためと考えられる．これと同様の実験を，葉4枚を含むカロリナポプラの挿し穂を用いて行ったところ，加温区において挿し木後の落葉が有意に抑制されたことを確認している．スギを用いた実験では，挿し木28日後における発根率は，ボトムヒート貯蔵を行ってから挿し木した試験区で約30%，ボトムヒート貯蔵を行わずに挿し木した対照区では約10%であった．カロリナポプラにおいては，発根率は基部温度のみに影響される結果であったが，スギにおいては，基部以外の温度を低気温にさらすことで発根が促進される結果となった．このような樹種による温度影響の違いについては，本研究では明らかにできなかったが，スギにおいては温度差によって基部における体内成分が変化し，そのことが発根に影響したことが考えられる．

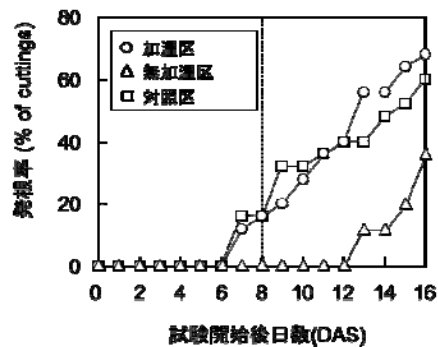


図5 試験開始後における発根率の推移（実験2）  
各試験区あたり25個体で発根した挿し穂の百分率を示す．

表1 試験開始8および16日目における各試験区の葉損傷率（実験2）

試験区	DAS	DAP	葉損傷率(%)
加温区	8	0	0±0 b
無加温区	8	0	0±0 b
対照区	8	8	43±9 aA
加温区	16	8	16±6 aB
無加温区	16	8	33±8 abAB
対照区	16	16	46±9 a

DAS：試験開始後日数．DAP：移植後日数．葉損傷率は Druge and Kadner's (2008) の方法 にもとづいて，各葉におけるネクロシスを生じた面積割合から算定した．値は，平均値 ± 標準誤差（n=25）で示す．異なる小文字または大文字のアルファベットは，それぞれ同じ DAS または DAP において有意差があることを示す

(Tukey-Kramer test,  $P < 0.05$ ).

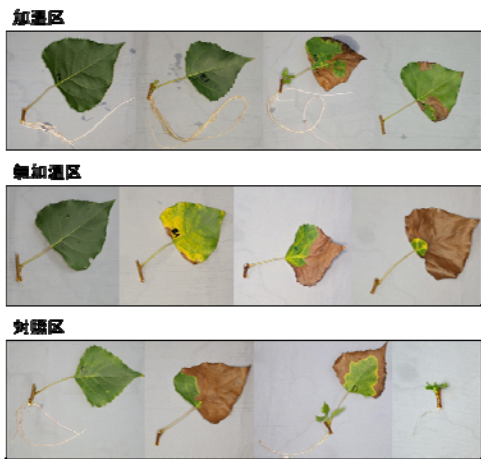


図6 試験開始16日後におけるポプラの外観(実験2)

(3) ボトムヒート貯蔵による休眠枝の萌芽・発根促進(実験3)

挿し穂からの発根は、試験開始18日目に加温区でみられ、試験開始46日目(低温処理終了時)では、無加温区においても発根がみられたのに対して、対照区では発根がみられなかった(図7)。試験開始109日目の発根率は、加温区でもっとも高く(37%)、続いて無加温区(21%)、対照区(14%)の順であった。加温区において対照区よりも最終的な発根率が大きかったことから、低温処理による休眠打破が育成条件に移した後の発根を促進した可能性がある。これは、スギにおけるボトムヒート貯蔵効果と類似している。頂芽の萌芽は、対照区において試験開始46日目に観察され、対照区最終的な萌芽率は41%であった。このことから、試験開始時に低温要求が満たされていた挿し穂が40%程度は存在していたことが考えられる。加温区および無加温区では、育成条件に移してから萌芽が始まった。試験開始109日目における加温区および無加温区の萌芽率は、それぞれ91%および97%であり、対照区よりも高かった。加温区の萌芽率が無加温区よりも低い傾向であったのは、加温処理によって挿し穂体内の温度が高くなり(加温区は4.8°C、無加温区は2.6°Cであった)、低温処理の効果が小さくなったためと考えられる。加温区では、試験開始69日目に挿し穂基部から不定芽の形成がみられ、試験開始109日目における不定芽形成率は43%であった。挿し穂の基部における不定芽形成は加温区のみでみられたことから、ボトムヒート貯蔵によって頂芽と基部に温度差を付けたことによって、何らかの生理的な変化が挿し穂基部に生じたことが推察される。

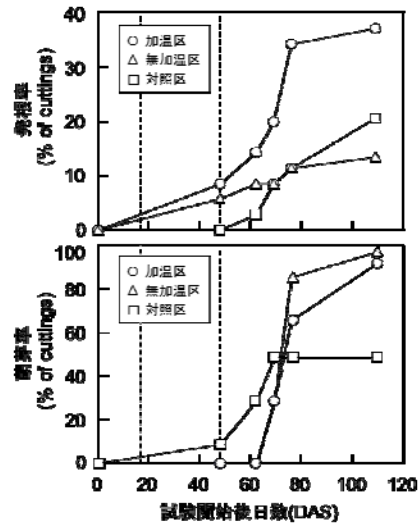


図7 試験開始後におけるカロリナポプラ休眠枝の発根率および萌芽率(実験3)



図8 挿し木109日目における萌芽の様子

(4) ボトムヒート貯蔵に必要なエネルギーコストの算定

ボトムヒート貯蔵に必要なエネルギーコストの試算の結果、夏季を想定したときのボトムヒート貯蔵に必要な挿し穂1本あたりのエネルギーコストは約0.5円であった(22円/kWhで算定した)。冬季を想定した場合でも、エネルギーコストは夏季に比べて6%程度しか低減しなかった。全必要エネルギーに占める温水加温用ヒーター、空調および照明の割合はそれぞれ50%、33%および17%となり(表2)、ボトムヒート処理における温水の加温に必要なエネルギーが最も大きかった。した

がって、ボトムヒート貯蔵装置の実用化においては加温用温水を溜める部分の断熱性を十分に検討する必要がある。ボトムヒート貯蔵に必要なエネルギーは、閉鎖型育苗の約42%と試算された。この試算ではボトムヒート貯蔵と閉鎖型育苗とでは同じ植栽密度にしているが、ボトムヒート貯蔵は挿し穂の状態、高密度で管理できることから、ボトムヒート貯蔵と閉鎖型育苗での必要エネルギーの差はより大きくなる可能性がある。

表2 ボトムヒート貯蔵と閉鎖型育苗における電力消費量の試算結果

	電力消費量 (kW h/plant)			計
	貯水槽の加温	空調	照明	
ボトムヒート貯蔵	11.2	7.2	3.8	22.2
閉鎖型育苗	—	15.6	37.8	53.4

#### (5) まとめ

ボトムヒート貯蔵によって、低気温・低飽差条件で安定的に発根を促すことで、挿し木後のカロリナポプラの水ストレスおよび老化を軽減できることが示され、スギにおいては基部以外を低温とすることで発根が促進されることが示された。さらに、ボトムヒート貯蔵をカロリナポプラの休眠枝に適用することで、発根と萌芽を同時に促進できることが明らかになった。現在、樹木クローン苗生産のほとんどは、挿し木や接ぎ木技術によって、一部は組織培養技術にもとづいて行われており、工学的手法を用いたシステムの高度化は十分に検討されていない。ボトムヒート貯蔵は、あえて植物にとっての最適環境を求めずに、局所的な環境制御を行うことで低コスト化、省力化を図る新しい技術であり、植物の栄養繁殖において汎用性が高いことから、生産効率の向上に大きく貢献できる可能性がある。その一方、樹種の特長、挿し穂の採取時期や採取部位、低温処理の影響など、樹木特有の解決すべき課題がいくつか残されており、本技術を樹木クローン苗生産に応用する際には、樹種に応じた挿し穂の環境応答特性の解明が必要と考えられる。

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計2件)

- ① Shibuya, T., Tsukuda S., Tokuda A., Shiozaki, S., Endo, R., Kitaya, Y. Effects of warming basal ends of Carolina poplar (*Populus × canadensis* Moench.) softwood cuttings at controlled low-air-temperature on their root growth and leaf damage after planting. *Journal of forest research*. 査読有, 印刷中, 2012. DOI: 10.1007/s10310-012-0343-4
- ② 渋谷俊夫, ボトムヒート貯蔵を用いた樹

木クローン繁殖の効率化, 林木の育種, 査読無, No. 243, 2012, 13-16.

③ [学会発表] (計3件)

- ① Shibuya, T., Shimizu-Maruo, K., Kawara, T., Tsuchiya, K., Douzono, M., Acclimatization of grafted-cuttings with warming graft union at controlled low-air-temperature, *Grafting 2011*, 2011年10月3日, Viterbo, Italy.
- ② Shibuya T., Tsukuda, S., Shiozaki, S., Endo, R., Kitaya, Y., Improving the early growth of woody cuttings by warming the basal end at low air temperature, *ASHS Annual Conference 2011*, 2011年9月26日, Waikoloa, USA.
- ③ 佃 修平・渋谷俊夫・塩崎修志・谷口 亨・土屋 和・遠藤良輔・北宅善昭, 低気温下でのボトムヒート処理を用いた樹木クローン苗生産技術の開発, 日本農業気象学会2010年全国大会, 2010年3月19日, 名城大学.

#### 6. 研究組織

##### (1)研究代表者

渋谷 俊夫 (SHIBUYA TOSHIO)

大阪府立大学・大学院生命環境科学研究科・准教授

研究者番号: 50316014

##### (2)研究分担者

塩崎 修志 (SHIOZAKI SHUJI)

大阪府立大学・大学院生命環境科学研究科・准教授

研究者番号: 10235492

##### (3)連携研究者

谷口 亨 (TANIGUCHI TORU)

独立行政法人森林総合研究所・森林バイオ研究センター・研究室長

研究者番号: 00360470