

フランス海岸松の生長調整物質および挿穂の発根について

小笠原 隆 三 (鳥取大学農学部造林学研究室)

Studies on the Growth Regulating Substances and the Rooting
of the Cuttings in *Pinus quinaster* AITON

Ryuzo OGASAWARA

(Laboratory of Silviculture, Faculty of Agriculture, Tottori University)

1961年1月31日受理

緒 言

マツ類の挿木による無性繁殖は品種改良の面からも望まれていることである。

しかし、マツ類は一般に挿穂の発根が困難である。何故挿穂の発根が困難であるかについては未だ決定的な解明がなされていない。

筆者は挿穂の発根に生長調整物質も大きく関係し、なにかんづく、生長抑制物質が発根の困難性と何らかの関係を持っているものと考えている。

今回、フランス海岸松に存在する生長調整物質及びそれと挿穂の発根との関係について調べてみた。

実験方法

生長調整物質の抽出調製

生長調整物質は試料をエーテルで抽出し、酸性区分および中性区分にわけ、それぞれ、ペーパー・クロマトグラフィとアベナ伸長試験で定性、定量した。

フランス海岸松(10年生位)の芽20gを凍結後これをすりつぶし、エーテルを加えて0°Cで20時間抽出した。エーテルは4回交換し、総量150mlとした。エーテル抽出液に2%重曹溶液75mlを3回に分けて加え、酸性物質を抽出した。エーテル層は蒸発濃縮して、これを中性区分とした。重曹溶液層は15%酒石酸溶液でPH2.9にした後90mlのエーテルで3回にわけて抽出し、このエーテル層を蒸発濃縮して酸性区分とした。

ペーパー・クロマトグラフィは東洋ろ紙 No. 50 (2×40cm)を用い、室温下で上昇法により約20cm展開した。展開溶媒として、イソプロパノール—28%アンモニア—水、8:1:1 (v/v)を用いた。尚別に合成インドール醋酸 (IAA) を試料に加えて同時に展開し、風乾後 EHRlich 試薬で発色させそのRfを確認した。

鳥農学報, X III

アベナ伸長試験は試料を展開して得たクロマトグラムを風乾後展開した距離を10等分して、各紙片を小型管瓶に移し、各々に2%蔗糖液2mlを加えて0°C暗所で2.5~3.0cmまで育成されたアベナの先端3mmを除いた次の2.3mmを10ヶずつを入れ、25°C暗所に20時間おいて、その伸長を測定した。対照区として試料をつけないで展開したる紙を用い、同じ方法でアベナの伸長を測定した。尚クロマトグラム上の化合物の判定として紫外線による蛍光およびEHRlich 試薬 (P-dimethylaminobenzaldehyde 2g+20ml HCl+80ml abs. ethanol,) MITCHELL & BRUNSTETTER 試薬 (KNO₂-HNO₃: 1g-200ml) による呈色反応を利用した。

生長抑制物質のネコヤナギの挿穂に及ぼす影響 総量200gの芽から前記同様な方法で得られたエーテル抽出物を展開して得られたクロマトグラムの一部を呈色反応またはアベナ伸長試験で生長抑制物質のRfを確かめ、生長抑制物質の部分を取り、水道水300ccに入れて1昼夜溶出した。溶出後ろ紙を取除き、芽および葉を取除いたネコヤナギの挿穂(長さ約12cm, 末径0.8-1.0cm) 14~20を浸して、25°C暗所に2週間おいて、その発根状態を調べた。尚対照区としては、水道水を用い、同様な挿木試験を行った。

フランス海岸松の挿木試験

鳥取大学農学部苗畑に植栽されている2年生フランス海岸松を用いた。挿穂は長さ7×8cmとし、葉は基部から3/5程取除いた。基部の切口は直角切りとした。

8月1日に15本の挿穂をパーミキュライトの挿床に4cm程の深さに挿付し、それに日覆をした。挿付後2週間は雨天以外は毎日1回灌水した。

尚フランス海岸松と同時にアカマツ(5年生)、スギ(6年生)の挿穂を15本づつ同様な方法で挿付した。掘取は挿付後3ヶ月後の11月1日に行つて、発根状態を

調べた。

結 果

10月10日フランス海岸松の芽の生長調整物質をエーテルで抽出し、ペーパー・クロマトグラフィーで分離後アvena伸長試験を行った結果を示せば Fig. 1 に示す如くである。即ち、酸性区分において Rf0.0~0.4 に生長促進物質が、Rf0.4~0.8 に生長抑制物質がみられた。中性区分では生長促進物質は殆んど認められず、生長抑制物質はRf0.3~0.8 に認められた。

同時に展開した別のクロマトグラムに紫外線を当てて蛍光物質が存在するかどうか、又 EHRlich 試薬および MITCHELL & BRUNSTTER 薬等による呈色反応を調べた結果は Table 1 に示すごとくである。EHRlich 試薬を用いた場合、酸性区分においては生長促進のみられる Rf0.0~0.4 に3つの発色するスポットがみられ、また生長を抑制のみられる部分では Rf0.43~0.82 に可成長い発色帯が認められた。このことは3種類の生長促進物質と1種類の生長抑制物質が存在することを示していると考えられる。尚合成インドール醋酸を試料に加えて展開したクロマトグラムに同様な呈色反応を行うと、インドール醋酸の反応は3つの生長促進物質より Rf が高位のところのみられた。また呈色反応も異なることから試

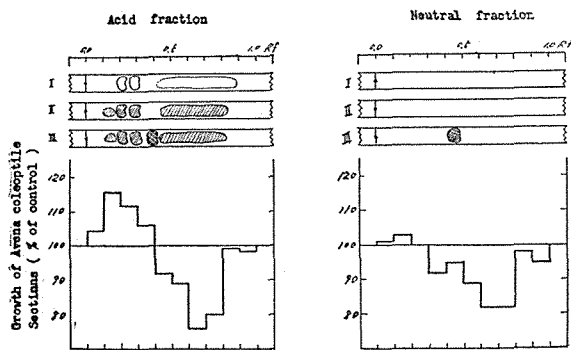


Fig. 1 Paper chromatograms of ether extracts assayed by Avena straight growth test. (from the buds of *Pinus pinaster* AITON (on 10th of October)

- I : Fluorescence in ultraviolet light on chromatogram of ether extract.
- II . Reactions of chromatogram of ether extract by EHRlich reagent.
- III . Reactions of guide chromatogram adding synthesized IAA to ether extract by EHRlich reagent.

料中の3つの生長促進物質はインドール醋酸以外のものであることを示している。

中性区分にみられる生長抑制物質は紫外線による蛍光が不明瞭で呈色反応は陰性であった。

8月1日に挿付したフランス海岸松、アカマツ、スギの挿穂を11月1日に掘取つて、その発根状態を調べたが、スギで66.7%の発根率を示したに対してフランス海岸松、アカマツでは全く発根をみなかつた。フランス海岸松も恐らくは挿木の容易な樹種ではないものと思われる。

発根が容易でないことは生長抑制物質の存在もその原因の一つとして関係しているものと考え、11月10日に200gの芽から得に生長抑制物質のネコヤナギの挿穂の発根に及ぼす影響をみれば Table 3 に示す如くである。

酸性区分にみられる生長抑制物質で処理したものは対照区が100%の発根率を示すに対し、57.1%と低下しており、平均発根本数も対照区が5.1本に対して2.0本と少なくなっている。中性区分にみられる生長抑制物質の場合も大体類似した結果を示した。

これらのことからフランス海岸松の芽に存在する生長抑制物質はネコヤナギの挿穂に対して発根阻害作用を持つことは明らかである。

Table 1. Color reactions of growth stimulators and growth inhibitor in acid fraction on chromatogram

Substance	Ultraviolet fluorescence	Color with EHRlich reagent	Color with MITCHELL & BRUNSTTER reagent
Substance A: Rf around 0.18	None	Orange red	None
Substance B: Rf around 0.22	Blue	Green	Yellow
Substance C: Rf around 0.27	Blue	Blue	Yellow
Substance D: Rf 0.43-0.82	Yellowish green	Pink	Yellowish green ?
Indoleacetic acid (IAA)	Yellow	Bluish red	Pink

Table 2. Rooting of cuttings of *Pinus pinaster*, *Pinus densiflora* and *Cryptomeria japonica* in 3 months.

Kind of tree	Age of tree	No. of cuttings	No. of rooted cuttings	% of rooted cuttings
<i>Pinus pinaster</i>	2	15	0	0.0
<i>Pinus densiflora</i>	5	15	0	0.0
<i>Cryptomeria japonica</i>	6	15	10	66.7

Table 3. Rooting of cuttings of *Salix gracilistyla* MiQ. steeped in growth inhibitors of ether extract from buds of *Pinus Pinaster* AITON

Treatment	No. of cuttings	No. of rooted cuttings	% of rooted cuttings	No. of roots per rooted cuttings
Acid fraction Rf 0.43-0.82	14	8	57.2	2.0
Control	14	14	100.0	6.1
Neutral fraction Rf 0.3-0.8	20	16	80.0	1.7
Control	20	20	100.0	3.9

考 察

生長促進物質は細胞伸長、新根の誘発等多くの形態的あるいは組織的变化の誘発を行う生理的活性を持つことが知られている。生長抑制物質もまたこれらと何らかの関係を持つているものと考えられる。

今回フランス海岸松の芽に含まれる生長調整物質について調べたが、酸性区分において3種類の生長促進物質と1種類の生長抑制物質が認められ、また中性区分ではRf 0.3—0.8に生長抑制物質が認められた。生長促進物質はいづれも未知の物質と考えられるが、EHRlich 試薬等で陽性を示すことから、恐らくはインドール化合物と思われる。これらのうち、Rf 0.22, Rf 0.27にみられる物質はクロマト¹⁰⁾およびアカマツ(未発表)にみられるものとRf値、呈色反応、紫外線による蛍光とがほぼ同じであることから同じ物質と考えられる。

酸性区分にみられる生長抑制物質はBENNET-CLARK等²⁾のいわゆる inhibitor-β に類似している。

VARGA等¹⁵⁾は *Phaseolus vulgaris* の inhibitor-β zone に数ヶの活性物質を認めたという。フランス海岸松の場合、Rf 0.44—0.82にみられる物質は呈色反応がほとんど同じであることから同一物質と思われる。恐らく、この物質は tailing したものであるが、あるいは基本構造は同じでも末端的に多少の違いのある物質がいくつか含んでいるということも考えられる。

SHIBAOKA等¹³⁾はヒマワリの葉に3種類の生長抑制物質を認めたが、そのうちの2つは Chlorogenic acid および Isochlorogenic acid としている。HENDERSHOTT等³⁾はモモの休眠花芽において、未知の生長抑制物質は Naringenin (5,7,4'-trihydroxyflavanone) であることがほぼ確認されたという。フランス海岸松の酸性区分にみられる生長抑制物質は EHRlich 試薬等で陽性を示

すことからインドール化合物と考えられ、上記物質とは異なるものと思われる。

尚中性区分の生長抑制物質は呈色反応は陰性で紫外線による蛍光が明らかではなく酸性区分のそれと異なる物質と思われるが明らかにはわからない。

挿木の発根の難易にC-N率が関係していることは知られているが、しかし、最も関係が深いと考えられているのは生長促進物質であろう。これは合成生長促進物質を与えると発根能力の低かつた挿穂の発根が促進されることから明らかである。しかし、マツ類または比較的発根容易な樹種でも老朽木の如く生長促進物質を与えても全く発根が促進されないものもあり、生長物質のみでは説明できない場合がある。塚本¹⁴⁾は61種類の植物で挿木の難易と含有物質との関係を調べたが、タンニンに比して澱粉含有量の高いものは、概ねよく発根し、成長素処理による発根促進がいちじるしいが、澱粉含有量低く、タンニン含有量の大きいものは、概して発根わるく、成長素処理の効果も不良であつたと報告している。大山は、^{5,6,7)}ヤマモモ、アカマツ、スギ等の挿穂の浸出液が発根阻害作用を示すことから、これらの挿穂に発根阻害作用が存在するとしている。しかし、それがどのような物質であるか具体的にわかつていないようである。

小笠原⁹⁾はアカマツの樹令と生長調整物質との関係を調べた結果から、親木の年令が高まるにつれ挿木の発根能力が低下するのは生長促進物質の減少と生長抑制物質の増加とも関係があるものと推定した。

今回、フランス海岸松の挿木を行つたがアカマツ同様発根を見ることができなかつた。発根が容易でなかつたことは生長抑制物質とも関係あるものと考えられ、200gの芽から得た生長抑制物質のネコヤナギの挿穂の発根に及ぼす影響を調べたが酸性区分、中性区分のいずれの生長抑制物質もネコヤナギの挿穂に対して発根阻害作用を示した。これらの生長抑制物質は恐らくはフランス海岸松の挿穂においても発根阻害作用を持ち、挿木を困難にしている原因の一つになつているものと推定する。

要 約

フランス海岸松の生長調整物質と挿穂の発根とについて調べた結果を報告する。

生長調整物質はエーテルで抽出し、ペーパー・クロマトグラフィーとアベナ伸長試験で定性、定量した。フランス海岸松の芽の酸性区分において、3種類の生長促進物質 (Rf 0.18, Rf 0.22, Rf 0.27) と1種類の生長抑制物質 (Rf 0.43—0.82) が存在することが認められた。これらはいづれも未知の物質であるが、EHRlich 試薬等で

陽性を示すことから恐らくはインドール化合物と考えられる。

中性区分では生長促進物質は殆んどみられず、生長抑制物質は Rf 0.3-0.8 にみられた、この物質についてはどのようなものであるか明らかでない。

フランス海岸松の挿穂はアカマツ同様全く発根をみなかった。酸性区分、中性区分のいずれの生長抑制物質もネコヤナギの挿穂に対して発根阻害作用を示すことから、これらの生長抑制物質は、恐らくはフランス海岸松の挿穂でも発根阻害作用をもち、挿木を困難にしている原因の一つになっているものと推定する。

文 献

1. ALLEN, R. M. : *Physiologia Plantarum*, 13(3) : 555-558 1960
2. BENNET-CLARK, T. A. and KEFFORD, N. P. : *Nature* 171 : 645-647 1953
3. HENDERSHOTT, C. H. and WALKER D.R. : *Science* 130;798-800 1959 (園学誌, 29(1)1960抄録による)
4. MARINOS, N.G. and HEMBERG, T. : *Physiologia Plantarum* 13 (3) 571-581 1960
5. 大山浪雄 : 林試京都支場, 業務報告10:91~132 1958
6. 大山浪雄 : 日林関西支講集 8: 51~52 1958
7. 大山浪雄 : 林試研報 99 1957
8. 小笠原隆三 : 日林講集 70 : 211~213 1960
9. 小笠原隆三 : 日林誌 42 (10) : 356~358 1960
10. 小笠原隆三 : 日林誌 43 (2) : 50~54 1961
11. 斎藤雄一・小笠原隆三 : 日林誌 42 (9) 331~334 1960
12. SEN, S. P. and LEOPOLD A. C. : *Physiologia Plantarum*, 7 : 98-108 1954
13. SHIBAOKA, H. and IMASEKI, H. : *Bot. Mag. Tokyo* 70 : 362-369 1957
14. 塚本洋太郎 : 園芸研究 集録, 第4輯 51~59 1949
15. VARGA, MAGDOLNA and ERZSEBET KOVES : *Acta Biol. Acad. Sci. Hungaricae* 9 (4) : 369-378 1959 (*Plant Sciences* 35 (8) 1960 による)

Summary

Growth regulating substances and rooting of the cuttings in *Pinus pinaster* AITON were investigated.

Growth regulating substances were extracted with ether and measured by the paper chromatography and Avena straight growth method.

Three different growth stimulators and one growth inhibitor were found in acid fraction of ether extracts obtained from the buds of *Pinus pinaster* AITON.

On chromatographing in isopropanol-28% ammonia-water, 8 : 1 : 1, growth stimulators have the following Rf values ; 0.18, 0.22 and 0.27, and growth inhibitor has detected with Rf values 0.43-0.82.

It may be suggested that they are indole compounds, judging from showing positive reactions by spraying EHRlich reagent.

In neutral fraction, growth inhibitor (Rf 0.3-0.8) has been detected, but the chemical nature of this substance is not yet established.

Rooting of the cuttings of *Pinus pinaster* AITON was difficult.

Acid growth inhibitor and neutral growth inhibitor inhibited rooting of Willow (*Salix gracilistyla* MIQ.) cuttings.

It may be suggested that one of the causes of low rooting ability of cuttings in *Pinus Pinaster* AITON is the high content of growth inhibitors in the cuttings.