

組織培養によるクワの増殖

—— 発根培養 ——

立 岩 剛

(宮城県蚕業試験場)

Propagation of Mulberry by Tissue Culture

— Root initiation culture —

Tsuyoshi TATEIWA

(Miyagi Sericultural Experiment Station)

1 はじめに

桑苗生産の一手段として、分離芽の培養による増殖を検討した。増殖システムは冬芽又は腋芽から大量のシュートを発生させ、ある程度生長したものを基部から摘出し、発根培地で発根させ、更に順化して圃場に移し、把大伸長させて苗木にしようとするものである。

シュート増殖法としては、横伏せ法、振とう培養法及び継代培養法がある。本県³⁾の継代培養法では1か月ごとの培地更新で3か月で1芽から12~16本のシュートを得ている。また他県でも成果が得られ、シュート増殖には一応のめどがついたように考えられる。

「組織培養によるクワの増殖」では増殖したシュートが効率よく発根し順化に移せることが一つの問題点であり、実用化に近づく条件であると思われる。岩手県¹⁾では改良返産、しんけんもちでNAA(ナフタレン酢酸)0.1mg/l、山形県²⁾では剣持でNAA0.01mg/lで良好であったと報告されている。本県においても、実用的な3品種についてオーキシン濃度を変えた場合の発根率、経時的な発根状況について、またシュート増殖培養でのサイトカニン濃度と発根率との関係について試験したところ、知見が得られたので報告する。

2 試験方法

供試品種はしんけんもち、あおばねずみ、しんいちのせで、2.5℃で貯蔵した枝条の冬芽をMS基本培地で3~4か月継代培養して発生したシュート(2~3cm)を無菌的に摘出し供試した。発根培地はMS培地にオーキシンとしてナフタレン酢酸を所定量、シュート伸長を良くするためにサイトカニンとしてBA(6ベンジルアミノプリン)を0.01mg/l、フラクトース又はシュークロースを3%、寒天を0.8~1.3%添加し、pHを5.8に調整した。容器は100又は200ml三角フラスコを使用し、この中に3~6本シュートを挿した。培養は27℃、3,000lx、12時間明-12時間暗に設定した陽光恒温器で行った。

3 結果及び考察

まず、NAAを0.5, 1.0, 2.0mg/lの3段階に設定し、

シュークロース3%、寒天0.8%の培地で培養したところ、品種間差異が認められ、あおばねずみは発根割合が高かったが、しんけんもちも中程度、しんいちのせは全く発根が見られなかった。なお、しんけんもち、あおばねずみの発根したものは根が培地から突出し、上向きに発生する現象が見られ、細く、短い状態であった。このことはNAA濃度が高すぎて起きた現象とみられ、0.5~2.0mg/lの濃度は不適切であると考えられた。

表1 NAA濃度別発根状況(昭和62年9月30日挿し、56日目)

品 種	NAA濃度 (mg/l)	供 試 シュート数 (本)	発 根 個 体 数 (本)	発根割合 (%)
しんけんもち	0.05	6	5	83.3
	0.1	3	3	100.0
	0.2	5	2	40.0
あおばねずみ	0.05	12	12	100.0
	0.1	14	11	78.6
	0.2	20	19	95.0
しんいちのせ	0.05	8	3	37.5
	0.1	6	1	16.7
	0.2	8	0	0.0

次に、NAAを0.05, 0.1, 0.2mg/lの3段階に設定し、フラクトース3%、寒天1.3%の培地で培養したところ(表1)、発根割合はあおばねずみではNAAの3段階とも79~100%であり、しんけんもちでは0.05~0.1mg/lで83~100%で発根が良好であった。しかし、しんいちのせは3段階とも発根割合が0~38%で不良であり、濃度が高くなると発根割合が低くなる傾向を示した。

更にNAA濃度を $\frac{1}{10}$ に下げて 5×10^{-3} , 10^{-2} , 2×10^{-2} mg/lの3段階に設定し、フラクトース3%、寒天1.3%の培地で培養し、経時的な発根を調べたところ、次の結果を得た(表2)。発根培地に移してから12日目には各品種とも発根が一部に認められ、しんけんもちの 10^{-2} 、あおばねずみの 5×10^{-3} 及び 2×10^{-2} 、しんいちのせの 10^{-2} mg/lで50%を超える発根がみられた。31日目になると、大部分が発根し、しんけんもちの 2×10^{-2} mg/lとしんいちのせの 2×10^{-2} mg/lを除き80~90%台の発根割合を示した。した

表2 経時的発根状況 (昭和63年1月22日挿し)

品 種	NAA濃度 (mg/L)	供 シュート数 (本)	発根個体数 (上段,本) と発根割合 (下段,%)		
			12日目	31日目	61日目
しんけんもち	5×10^{-3}	15	5 33.3	13 86.7	15 100.0
	10^{-2}	15	10 66.7	13 86.7	14 93.3
	2×10^{-2}	9	4 44.4	7 77.8	7 77.8
あおばねずみ	5×10^{-3}	15	10 66.7	13 86.7	13.7 86.7
	10^{-2}	15	6 40.0	12 80.0	13 86.7
	2×10^{-2}	12	7 58.3	11 91.7	11 91.7
しんいちのせ	5×10^{-3}	15	6 40.0	12 80.0	12 80.0
	10^{-2}	17	9 52.9	16 94.1	16 94.1
	2×10^{-2}	22	9 40.9	17 77.3	19 86.4

がってこの12~31日間に大部分が発根するものと考えられた。また61日目になると、しんけんもちの $5 \times 10^{-3} \text{ mg/l}$ で100%の発根割合を示し、他もほとんど80~90%の発根割合で根もしっかりと発生した。更に31日目と比較して増加する区もあったが、ほとんどは差が無かった。このため発根は1か月くらいで出そろることが分かった。しかし31日目の根の状態は品種により短く、細いので寒天を流し落して順化に移すには根がしっかりとしていないと切れてしまうということから更に培養を継続する必要があり、61日目くらいの根が適切であると思われた。なお、しんいちのせは当初、他の2品種より経過が遅れる傾向を示したが、後半に追いつき、80~90%台の発根割合を示した。

以上の3試験を通じてNAAの好適な濃度の範囲はあおばねずみが最も広く、次いでしんけんもち、しんいちのせの順で、しんいちのせは他の2品種に比べ低濃度で発根が良好であることが確認された。

一般にサイトカイニンとオーキシンは拮抗作用があり、サイトカイニンの濃度が高いと発根が抑えられることが認められているが、シュート増殖培養で、サイトカイニンとしてのBAを 2 mg/l 使用したときに、発根培養ではどのような影響が出るかをみるために次の試験を行った。

前培養のBAを1又は 2 mg/l にしたしんいちのせのシュートを用いてNAA濃度を 10^{-2} 及び $2 \times 10^{-2} \text{ mg/l}$ の2段階に設定し、シュークロス3%、寒天1.3%を用いた培地で発根状況を調査した。その結果(表3)、 $\text{NAA}10^{-2}$

表3 BA濃度(前培養)と発根との関係(昭和63年2月26日挿し, 49日目)

NAA濃度 (mg/L)	BA (前培養) (mg/L)	供 シュート数 (本)	発根 個体数 (本)	発根割合 (%)	平均
10^{-2}	1	26	23	88.5	90.9
	2	29	27	93.1	
2×10^{-2}	1	19	19	100.0	100.0
	2	29	29	100.0	

注. 品種: しんいちのせ

mg/l でBA 1 mg と 2 mg の間に4.6%の差がみられたが、 $\text{NAA} 2 \times 10^{-2} \text{ mg/l}$ では差が全く無く、全体としては前培養のBA濃度と発根とは無関係であることが分かった。また本県³⁾ではシュート増殖のための継代培養法はBAを 2 mg/l 使用するのが適切であるとしたが、このことは、発根に何ら影響を及ぼさないものと確認された。

4 ま と め

シュート発根はMS培地にNAAを加えることで可能とされたが、品種間差異が認められ、NAA濃度でしんけんもちは $5 \times 10^{-3} \sim 10^{-1} \text{ mg/l}$ 、あおばねずみは $5 \times 10^{-3} \sim 2 \times 10^{-1} \text{ mg/l}$ 、しんいちのせは $5 \times 10^{-3} \sim 2 \times 10^{-2} \text{ mg/l}$ で発根割合80~90%という良好な成績があげられ、発根培養の実用化に近づいたものと思われた。

次に10日目ごろから発根が始まり、30日目には出そろることが確認されたが、順化過程に順調に移しうる発根培養の期間は60日前後必要と考えられた。

また前培養のBA濃度とシュートの発根割合とはBA濃度 $1 \sim 2 \text{ mg/l}$ の範囲では無関係であり、BA 2 mg/l によるシュート増殖が有効と判断された。

なお、培養にフラクトース又はシュークロースを使用したか、これらによる発根率の差は認められず、どちらを使用しても発根は可能であった。

今後の問題点としては、発根に有効なシュート長の限界を出してシュートを有効に使用すること、シュート摘出作業の省力化、発根完了期間短縮化のための環境条件の明確化、順化に移すのに容易な容器の開発等があげられる。

引 用 文 献

- 1) 壽 正夫, 高木武人, 及川直人. 1986. 組織培養による桑苗生産. 岩手蚕試要報 9: 3-5.
- 2) 工藤哲朗, 伊藤聡子. 1987. クワにおける組織培養技術の用途開発に関する研究. 山形蚕試要報 22: 7-13.
- 3) 立岩 剛. 1987. 組織培養によるクワの増殖. 東北蚕糸研究報告 12: 50.