

クワの培養シュートから発根を促す基本培地及びオーキシン濃度

工藤 哲朗・伊藤 聡子

(山形県蚕業試験場)

Effects of Concentrations of Basal Medium and Auxin on Root Formation from Cultured Shoots of Mulberry

Tetsuro KUDO and Toshiko ITO

(Yamagata Sericultural Experiment Station)

1 はじめに

クワの組織培養技術については、その応用の一つとして桑苗の大量増殖法が検討されているが、初代増殖培養系はほぼ確立されつつあるものの、発根馴化系については必ずしも十分とはいえない。

今回は、増殖培養を数回繰り返して、得られた培養シュートから発根を促す培地条件として、基本培地とオーキシンの濃度について検討したので報告する。

2 試験方法

(1)供試材料

品種剣持の冬芽を常法により、Murashige-Skoog (MS) 基本培地にベンジルアデニン (BA) 1 mg/l, しょ糖 3%, 寒天 0.4% を加用した培地で初代培養し、発生したシュートを元にして増殖を図った。

増殖培養は、MSにBA 1~2 mg/l, しょ糖 3%, 寒天 0.4% の加用培地に、シュートの茎頂部及び葉を切断した茎付き腋芽を培地に横置床する方法を用い、それを繰り返すことによりシュートを確保した。

(2)供試シュートの調整

基本培地濃度の検討には、3回継代増殖培養後のシュートを、茎長30~40mm, 展開葉4~5枚に調整して用い、また、オーキシンの種類と濃度の検討には、6回継代増殖培養後のシュートを、茎長20~30mm, 展開葉3~4枚に調整して用いた。いずれも、培養株から切り取り後に、シュート基部を滅菌水で洗浄して用いた。

(3)培地条件

基本培地はMS培地とし、無機塩類、ビタミン類、有機微量成分について、その所定濃度 (MS), 又は半分の濃度 (1/2MS) とした。

オーキシンの種類は、3-インドール酢酸 (IAA), 1-ナフトレン酢酸 (NAA), 3-インドール酪酸 (IBA), 2,4-ジクロロフェノキシ酢酸 (2,4-D) とし、その添加濃度は、0, 0.1, 0.01 mg/l とした。

その他の培地条件については、いずれも果糖 1%, 寒天 0.6% を加え、pH5.6 に調整し、管瓶 (φ25mm × L120mm) に10ml分注し、1気圧15分間の滅菌処理をした。

(4)培養条件

27 ± 2 °C, 12L/12D, 約2,000lx人工照明

3 結果及び考察

(1)基本培地濃度の検討

供試90個体のうち88個体で発根し、発根個体数割合では区間の差はみられなかったが、発根状況やシュートの生育等に差がみられた (表1)。基本培地単独のオーキシン無添加培地でも発根したが、基本培地の所定濃度より1/2濃度で明らかに発根良好な個体が多かった。また、NAA0.1 mg/l 添加培地では、基本培地の所定濃度と1/2濃度との間で発根にほとんど差がみられなかったが、0.01 mg/l 添加培地では、明らかに基本培地の所定濃度より1/2濃度で発根良好な個体が多かった。

発根培養後の馴化育苗を考慮し、発根培養完了の一応の目安を個体当たり総根長20cm以上の個体とすると、培養30日目には、NAA添加区も含めて基本培地濃度が所定の区では20個体、1/2濃度の区で33個体もあった。

表1 基本培地濃度と発根 (培養30日)

培地条件 (mg/l)	発根個体数 (本)	平均発根数 (本)	根長別個体数				平均シュート長 (mm)	平均展開葉数 (枚)
			<5	5-10	10-20	20<cm		
MS	15	6.8	1	3	8	3	71	7.8
MS+NAA 0.1	15	8.5	2	0	4	9	80	8.9
MS+NAA 0.01	14	8.1	1	0	5	8	84	8.6
1/2MS	15	9.9	1	2	0	12	83	9.5
1/2MS+NAA 0.1	14	10.2	0	0	6	8	81	9.6
1/2MS+NAA 0.01	15	10.7	0	1	1	13	88	9.9

注. 発根数はシュート基部に形成された1mm以上のもので、根長はその直根の総長である。  
供試数: 各区15シュート

また、基本培地を1/2濃度にすることにより、発根数が多くなり、根長の個体間のばらつきも少なくなり、展開葉数も多くなる傾向にあった。

このことから、基本培地の濃度は、所定濃度よりも1/2濃度が適するものと考えられた。

(2)オーキシンの種類と濃度の検討

培養過程における発根状況の推移(表2)をみると、培養10日目では各区とも30%以上の個体で発根し、各オーキシンとも、添加濃度は0.1mg/lより0.01mg/lで発根個体数割合が高かった。なかでも、0.01mg/lのNAAが73%、0.01mg/lの2.4-Dが60%で、いずれも不定根の誘導が早かった。培養20日目になるとほとんどの個体が発根した。

培養30日目の発根状況(表3)をみると、オーキシンの添加濃度が0.1mg/lでNAA、IBAが他よりもやや劣ったものの、0.01mg/lではオーキシン間の大きな差はみら

表2 培養経過と発根状況

培地条件 (mg/l)	発根個体数割合(%)			平均発根数(本)		
	10日	20日	30日	10日	20日	30日
無添加	47	100	100	5.0	8.8	9.9
IAA 0.1	33	87	93	7.4	9.0	9.0
NAA 0.1	33	87	93	4.6	8.8	9.1
IBA 0.1	40	87	93	4.0	7.8	8.9
2.4-D 0.1	47	93	93	4.9	8.4	9.0
IAA 0.01	53	100	100	5.4	8.0	9.9
NAA 0.01	73	93	93	6.3	9.9	10.9
IAA 0.01	53	100	100	7.0	9.1	10.0
2.4-D 0.01	60	100	100	4.8	8.9	9.1

注. 各区とも基本培地は1/2MSである。  
発根数はシュート基部に形成された1mm以上のもので、根長はその直根の総長である。  
供試数：各区15シュート

表3 オーキシンの種類及び添加濃度と発根(培養30日)

培地条件 (mg/l)	発根個体数 (本)	平均発根数 (本)	根長別個体数				平均シュート長 (mm)	平均展開葉数 (枚)
			<5	5-10	10-20	20<cm		
無添加	15	9.9	0	11	1	3	68	7.5
IAA 0.1	14	9.0	2	5	3	4	74	8.3
NAA 0.1	14	9.1	5	2	5	2	63	7.8
IBA 0.1	14	8.9	6	5	3	0	79	8.4
2.4-D 0.1	14	9.0	2	4	4	4	66	8.5
IAA 0.01	15	9.9	1	4	4	6	72	8.3
NAA 0.01	14	10.9	0	5	4	5	72	7.8
IBA 0.01	15	10.0	2	5	3	5	71	8.2
2.4-D 0.01	15	9.1	0	5	6	4	84	8.3

注. 表2と同じ

れなかった。個体当たり総根長20cm以上の個体数は、0.1mg/lの区で10個体、0.01mg/lの区で20個体あった。シュート長、展開葉への影響は判然としなかった。

このことから、オーキシンの添加濃度は、0.1mg/lよりも0.01mg/lというごく微量の添加が適するものと考えられた。

4 ま と め

剣持の冬芽の分離培養で発生したシュートを元に、継体増殖培養を繰り返した後に、その培養シュートから発根を促す培地条件として、MS基本培地の濃度とオーキシンの種類及び濃度を検討した。

その結果、基本培地では所定濃度より1/2濃度が、オーキ

シンの添加濃度では0.1mg/lより0.01mg/lが適するものと考えられた。培養初期には0.01mg/lのNAA又は2,4-Dで発根誘導が早かったが、その後の発根状況やシュートの生育への影響については、オーキシン間に顕著な差はみられなかった。

シュートの生育ステージ、特に展開葉数等の条件が発根の難易に影響するものと推察されるので、今後、品種間差の問題とともに検討を要するものと考えられた。

引用文献

- 1) 岡 成美. 1985. クワにおける芽の分離培養と器官形成に関する研究. 蚕試報 29: 747-852.