

採取時期の異なるクワ冬芽の液体窒素保存後のシュート形成

八 鍬 春 美 ・ 新 野 孝 男 ・ 野 尻 邦 雄 ・ 岡 成 美

(農業生物資源研究所遺伝資源第二部)

Optimum Sampling Times for the Shoot Formation from

Mulberry Winter Buds Stored in Liquid Nitrogen

Harumi YAKUWA, Takao NIINO, Kunio NOJIRI and Seibi OKA

(Department of Genetic Resources II, National
Institute of Agrobiological Resources)

1 は じ め に

クワのベースコレクションの方法として、冬芽凍結保存法が利用できることは既に報告した^{1,2)}。本試験では凍結保存するための材料の冬芽を採取する時期とシュート形成について2年間にわたり調査し、冬芽を採取する最適時期について明らかにした。

2 試 験 方 法

用いたクワ品種は「剣持」で、春切り枝条を1988~90年の2年間にわたって、9月~4月の毎月始めに採取し(10, 11月は15日にも採取)、その冬芽を凍結材料とした。冬芽は枝条部分が一部付着したものを調整し、穴あきポリバイアルにいれ、これをキャニスターに入れて後の作業を行った。予備凍結の方法は0℃, -5℃, -10℃, -20℃に各1日ずつ置いて行う区(A区)と、0℃, -5℃に各7日ずつ置いた後-10℃, -20℃に各1日置いて行う区(B区)を設けた。対照区として採取日当日に冬芽茎頂を植付けた区(無処理区)を設けた。予備凍結を行った冬芽は、液体窒素に少なくとも1日以上浸漬した。融解は37℃の温水中に5分間浸漬する急速融解を行った。融解後、70%アルコールに1分間、次亜塩素酸ナトリウム10%液に30分間浸漬する殺菌処理を行い、1.5mm程度の大きさの冬芽茎頂を切出し、培地上に1区25芽ずつ置床した。培地はMS基本培地に1 mg/l BA, 果糖2%を添加し、寒天0.8%, pH 6.0に調整したものである。

調査は植付け4週間後に行い、シュートが明瞭に形成したものをシュート形成とした。

3 結 果 及 び 考 察

冬芽を採取した1989~90年の2年間の旬別最低気温を図1に示した。耐凍性を向上させると考えられる0℃以下の温度は平年では、12月上旬より見られ4月上旬までの約4か月間続き、この間2月上旬に最低気温を記録する。実験を行った1988~89年は、0℃以下の温度は11月下旬から3月上旬まで続いたが平年に比べ、最低気温は高めに推移した。1989~90年は、0℃以下の温度は12月上旬から2月中旬と平年に比べ短かったが、1月下旬からの20日間の最低

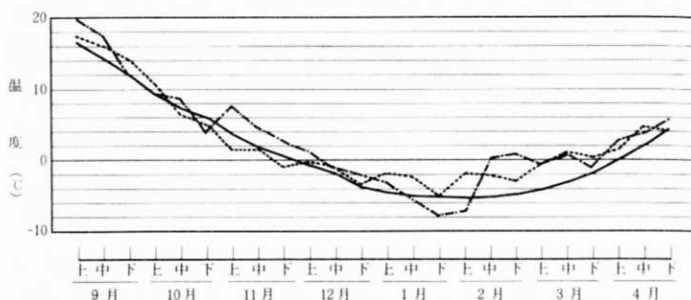


図1 9月から4月の旬別最低気温

注、—— 平年旬別最低気温
----- 1988~89年旬別最低気温
-.-.- 1989~90年旬別最低気温

気温は平年値以下であった。このように、全体的には材料を採取した年は0℃以下の期間が短く平年より暖冬ぎみに経過していた。

挿し木法を用いた休眠覚醒試験の結果(図2)を見ると両年とも10月15日から約1か月間発芽は抑制される傾向にあったが1988~89年では11月下旬, 1989~90年では12月中旬に50%以上の冬芽が休眠覚醒したと考えられる。この間の枝条の水分率をみると(図3), 両年とも9月は60%くらいでその後漸減し, 1~3月に約45%と最低値を示し, 4月に上昇し始める経過を示した。

このような条件の中で、冬芽の液体窒素保存後のシュート形成率を調べた結果が図4, 図5である。無処理のシュート形成率は1988~89年では約70%, 1989~90年では約50%を試験期間中おおむね維持している。しかし、液体窒素保

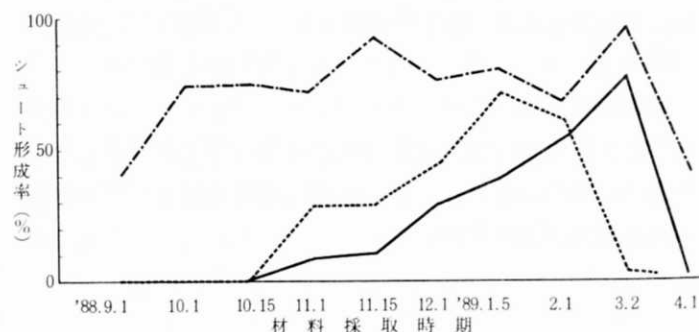


図2 材料採取時期別のクワ冬芽の液体窒素保存・融解後のシュート形成率(1988~1989)

注、—— 0℃1日→-5℃1日→-10℃1日→-20℃1日→LN₂ (A区)
----- 0℃7日→-5℃7日→-10℃1日→-20℃1日→LN₂ (B区)
-.-.- 無処理

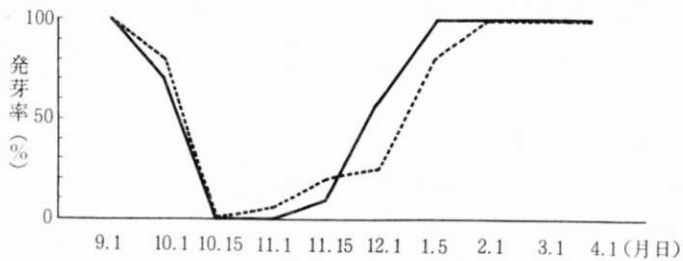


図3 挿し木法による冬芽の休眠状況

注. — 1988～89年
- - - 1989～90年

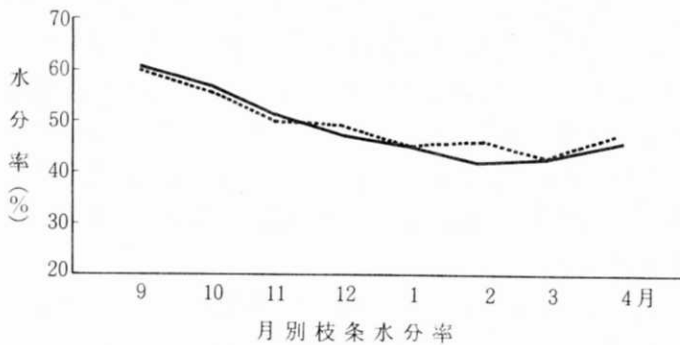


図4 月別枝条水分率

注. — 1988～89年
- - - 1989～90年

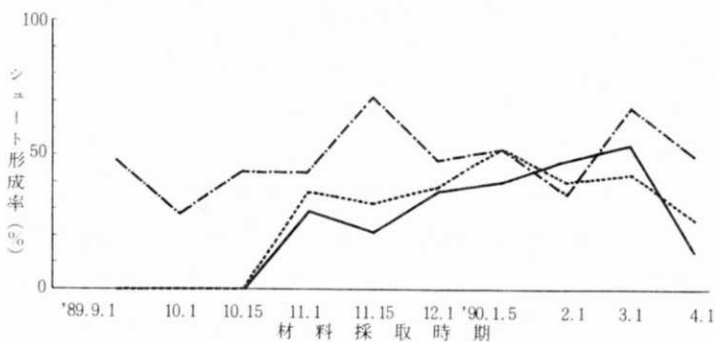


図5 材料採取時期別のクワ冬芽の液体窒素保存・融解後のシュート形成率 (1989～1990)

注. — 0℃1h→-5℃1h→-10℃1h→-20℃1h→LN₂ (A区)
- - - 0℃7h→-5℃7h→-10℃1h→-20℃1h→LN₂ (B区)
- · - 無処理

存した冬芽では9月では生存するものすら見られず、10月以降で初めて生存茎頂が見られ、シュート形成となると11月以降でないと見られなかった。このことは、冬芽は休眠期以降に耐凍性を増すように内部的変換をし、休眠の覚醒以後低温に遭遇することで耐凍性を増していくよう考えられる。凍結冬芽茎頂のシュート形成率は11月以降漸増し、1～3月に最も高い値を示した。ハードニングを行ったB区としないA区は、両年とも11月から1月の期間はB区でシュート形成率が高く、2月から3月はA区で高い値が得られた。このことは、冬芽の水分率が大きく関わっていると考えられる。すなわち、水分率の高い時期の冬芽を凍結するためには、ハードニングによる脱水をある程度する必要があるが、水分率が低くなる2～3月ではハードニングする必要がないと考えられる。冬芽凍結の場合、凍結時の水分は鱗片間に器官外凍結し、茎頂組織の脱水を行いその耐凍性を高めるが、液体窒素浸漬後シュート形成をさせるためには予備凍結における脱水効果と茎頂部分の凍結生存可能な水分率への到達が一致している必要があると考えられる。

両年にわたって実験した結果、採取する年により凍結保存後のシュート形成率は若干異なったが、これは冬芽自体の耐凍性、充実度が気象条件にかなり左右されること、冬芽茎頂の水分の多少が大きく反映することによるものと考えられる。

4 ま と め

冬芽凍結保存をするための材料採取時期はA区の方法では2～3月、ハードニングを行うB区の方法では1月がよいと考えられた。

引 用 文 献

- 1) 新野孝男, 八鍬春美, 佐藤喜美雄, 岡 成美. 1989. クワ冬芽の液体窒素保存実用化のための長期保存及び品種試験. 日蚕講要 59: 5.
- 2) Yakuwa, H.; Oka, S. 1988. Plant regeneration through meristem culture from vegetative buds of mulberry (*Morus bombycis* Koidz.) stored in liquid nitrogen. Ann. Botany 62: 79-82.