

桑培養シュートの効率的増殖法

藤田 智博・池田 忠幸

(福島県蚕業試験場)

Conditions of Efficient Proliferation on Shoot Culture in Mulberry.

Satohiro FUJITA and Tadayuki IKEDA

(Fukushima Sericultural Experiment Station)

1 はじめに

桑新品種は1968年に農林省育成作物新品種命名登録規定が交布されてから現在まで16品種が登録されている。

しかし、桑苗生産が接木法等によりおこなわれているため、新品種の登録から普及現場への短期間の供給が困難である。

近年、桑における組織培養の研究は著しく発展し、腋芽等の分離芽から得られた個体の発根が可能となっている。今後、これらの技術を用いることで短期間に大量の優良桑苗の生産が可能になると考えられる。

そこで、本試験では桑シュートの効率的な増殖法について検討した。

2 試験方法

材料は冬芽を初代培養し、得られたシュートを継代して供試した。培地はMurashige & Skoogの基本培地にベンジルアミノプリン1 mg/lと蔗糖30 g/lを添加した後、pHを5.8に調整し、ゲランガム2 g/l加えた。これを1フラスコ当り40ml分注し、121°Cで10分間高圧滅菌した。

培養条件は温度が27°C、照明は1,000luxで12時間明、12時間暗とした。なお、培養容器は直径50mm、高さ92mmのガラス容器を用いた。

調査は新鮮重についてはカルスを含めた重量を測定し、シュートは茎葉の伸長が認められたものについて、シュート数及びシュート長を調査し、その平均値で示した。

試験は次の6項目について実施した。

(1) 培養期間とシュートの増殖率

供試品種はしんいちのせ、しんけんもち、おおゆたか、みつしげりの4品種について3週間及び4週間ごとにシュートを継代培養し、シュートの増殖率を調査した。

(2) 継代時のシュートの長さとのシュート形成状況

みつしげりの継代時のシュート長を5mmと15mmに調整し、24日間培養してシュート形成状況を調査した。

(3) 継代時のシュートの切断とシュート形成状況

おおゆたかの15mm以上のシュートを切断し、5mmの頂部と下部シュートに分割した。これを無切断のシュートと比較した。なお、1フラスコ当りのシュート置床数は頂部が5本、下部シュートは横伏し4本とした。無切断は3本を縦挿した。培養期間は29日間とした。

(4) 継代時のシュートの置床法とシュート形成状況

みつしげりのシュートの頂芽を除去し3芽に調整した。シュートの縦挿、横伏についてそれぞれ着葉シュートと摘葉シュートを設けた。1フラスコ当り3本置床して、28日間培養した。

(5) 培地の量とシュート形成状況

1フラスコ当りの培地量を15mlと45mlとし、おおゆたかのシュートを30日間培養し、シュート形成状況を比較した。

(6) フラスコ当りのシュート置床数とシュート形成状況

おおゆたかのシュートを1フラスコ当たり2本と5本とし、培養期間を20日と32日間としてシュート形成状況を調査した。

3 試験結果及び考察

(1) 培養期間とシュートの増殖率

培養期間が3週間ではおおゆたかの増殖率が高く、みつしげりが低かった。4週間ではおおゆたかとしんいちのせの増殖率が高く、みつしげりは低かった。しかし、培養期間を一定(12週間; 3週間の場合は4回継代、4週間の場合は3回継代)とした場合、おおゆたかとしんけんもちでは3週間が4週間と比較して増殖率が高かったのに対し、みつしげりでは4週間が高かった。また、肉眼観察ではみつしげりは他の3品種と比較してシュートの伸長が良好なものの節間が長く腋芽の発芽が少なかった。

(2) 継代時のシュートの長さとのシュート形成状況

シュート長が5mmではシュート数が1.7本に対し、15mm

表1 培養期間とシュート増殖率※

供試品種	培養期間		培養期間12週間	
	3週間 (%)	4週間 (%)	3週間ごと (%)	4週間ごと (%)
しんいちのせ	225	295	2,563	2,567
しんけんもち	216	239	2,176	1,365
おおゆたか	280	301	6,147	2,727
みつしげり	161	202	655	824

※ 継代培養後のシュート数/供試シュート数×100

表2 シュートの長さとのシュート形成状況

試験区	供試数 (本)	シュート形成個体 (本)	同形成率 (%)	新鮮重 (mg)	平均シュート長 (mm)	シュート数 (本)
シュート長5mm	25	25	100	236	16.0	1.7
シュート長15mm	25	25	100	392	18.1	2.2

供試品種: みつしげり 培養期間: 24日間

表3 シュートの切断とシュート形成状況

試験区	供試数 (本)	シュート 形成個体 (本)	同 形成率 (%)	新鮮重 (mg)	平均 シュート長 (mm)	シュート数 (本)
切断シュート				911	14.0	4.9
頂部シュート	14	14	100	488	13.2	2.0
下部シュート	14	12	86	422	14.6	3.3
無切断シュート	18	18	100	888	14.6	4.4

供試品種：おおゆたか 培養期間：29日間

表4 シュートの置床法とシュート形成状況

試験区	供試数 (本)	シュート 形成個体 (本)	同 形成率 (%)	新鮮重 (mg)	平均 シュート長 (mm)	シュート数 (本)
摘葉・横伏	21	20	95	419	13.2	2.4
摘葉・縦挿	21	20	95	395	17.4	2.2
着葉・横伏	21	19	90	596	16.4	3.1
着葉・縦挿	21	21	100	586	16.4	2.5

供試品種：みつしげり 培養期間：28日間

では2.2本であった。これは継代時のシュート長が長いと着生腋芽数が多くなるため腋芽からのシュート発生が多くなったと考えられた。

(3) 継代時のシュートの切断とシュート形成状況

頂部のシュート数が2.0本、下部シュートは3.3本で、切断前の1シュート当りでは4.9本に対し、無切断では4.4本と少なかった。着生腋芽数が同数の場合、頂部の切断により下部シュート着生腋芽の発芽が促進されたためではないかと考えられた。

(4) 継代時のシュートの置床法とシュート形成状況

着葉・横伏が新鮮重、シュート数が良く、次いで着葉・縦挿が良かった。着葉と摘葉を比較した場合、着葉が良く、シュートの置床法では横伏が縦挿よりも良かった。

シュート置床方法では縦挿よりも横伏がよく、これは培地と接する面が多いと養分吸収がしやすいためとされ¹⁾、本試験においても同様の傾向が見られた。さらに、着葉が摘葉に比べてもシュート数が多いことから、外植体の接地面積がシュートの増殖に影響を及ぼすものと考えられた。

(5) 培地の量とシュート形成状況

1フラスコ当りの培地量は45mlが15mlよりも新鮮重、シュート数が良かった。生育量の変化は培地量に影響される¹⁾ことが本試験でも確認された。

(6) 1フラスコ当たりのシュート置床数とシュート形成状況

シュートの置床数が2本と5本では20日間で新鮮重、シュート数ともに差がなかった。しかし、32日間では2本が5本と比較して新鮮重、シュート数が良かった。

培養期間が20日間では2本と5本に差がなく、32日間では差が認められたことから、本容器の置床数は20日間では

表5 培地の量とシュート形成状況

試験区	供試数 (本)	シュート 形成個体 (本)	同 形成率 (%)	新鮮重 (mg)	平均 シュート長 (mm)	シュート数 (本)
15ml	25	25	100	360	15.1	2.0
45ml	25	25	100	772	15.8	2.4

供試品種：おおゆたか 培養期間：30日間

表6 シュートの置床数とシュート形成状況

試験区	供試数 (本)	シュート 形成個体 (本)	同 形成率 (%)	新鮮重 (mg)	平均 シュート長 (mm)	シュート数 (本)
2本 20日間培養	20	20	100	207	10.2	2.1
5本 20日間培養	30	30	100	193	10.6	2.1
2本 32日間培養	20	20	100	436	12.8	3.1
5本 32日間培養	30	30	100	278	11.4	2.8

供試品種：おおゆたか

2本よりも5本が適当と考えられた。また、32日間では5本では新鮮重、シュート数の増加に伴い40mlの培地量では養分不足が懸念されるため、2本程度の置床数とすることで効率的な増殖が可能になると推察された。

桑のシュートの増殖率は品種により異なった。また、一定期間内で培養期間を異にした場合においても品種によってその傾向に差が認められた。さらに、同一品種でも継代時のシュート長が異なるとシュートの形成に差が生じることが確認された。このことは、桑のシュート形成率が腋芽からのシュートの発生割合とともにシュートの着生腋芽数に左右されていると考えられた。

みつしげりは他の3品種と異なりシュートの伸長は良好であるが節間が長く、着生腋芽数が他の品種より少なかった。このため、腋芽からのシュート発生が少なくなりシュートの増殖率が低かったと考えられた。

また、同一腋芽数でもシュートを切断し、頂部と下部シュートに分割することでシュートの増殖率が高まった。

シュートの置床方法は縦挿より横伏で着葉とすることで養分の吸収が多くなり、増殖率が高くなると考えられた。

培地の量によってもシュートの増殖に影響があった。さらに、シュートの置床数によって差が認められた。本容器においては3週間の培養期間では1フラスコ当りの置床数が2本よりも5本が適当と考えられ、4週間の培養ではおおゆたか等の増殖率の高い品種では2本が適すると考えられた。

引用文献

1) 片瀬雅彦. 1993. クワの腋芽培養における培養条件とシュートの増殖. 日蚕雑 62: 152-161.