

桑培養シュートの低温保存と発根

藤田 智博・池田 忠幸

(福島県蚕業試験場)

Preservation at Low Temperatures Affects Rooting of Shoot Culture in Mulberry

Satohiro FUJITA and Tadayuki IKEDA

(Fukushima Sericultural Experiment Station)

1 はじめに

桑苗の生産方法として、近年組織培養の技術を利用した方法が開発されている。この手法は年間を通じて短期間に大量の苗の生産が可能とされている。

しかし、桑培養シュートの増殖と発根及び馴化のそれぞれについて、異なった資材と加温施設を必要としており、これらに要する期間も異なっている。このため、桑苗生産の生産時期及び生産量の融通性を高めるために材料の貯蔵法を検討する必要がある。

一方、桑培養シュートの保存法については超低温保存³⁾のほかに低温による保存⁴⁾がある。そこで、本試験では桑培養シュートを低温保存し、その後のシュートの増殖と発根について調査した。

2 試験方法

供試品種はしんいちのせで、冬芽を常法により初代培養し、得られたシュートの頂芽(5~15mm)を継代、増殖し、材料とした。

培地組成はMURASHIGE and SKOOGの基本培地で、ベンジルアミノプリン1ppm、蔗糖3%、ゲランガム0.2%を添加した。なお、培地は1フラスコ当り40mlで、シュートを5本置床し、本培養と同一の培地組成で、3~4週間培養後のシュートを用いた。

保存方法は前培養を実施したシュートを培養フラスコごと5℃の冷蔵庫に入れ、暗条件下で保護した。保存期間は49, 127, 147, 198, 234, 295, 367日及び387日である。また、対照として0日(前培養後ただちに供試)を設定した。

調査はシュートの生存率を肉眼で調査し、緑色のシュートを生存とした。そして、生存の確認されたシュートを新しい培地に移植し、21日間培養して、シュートの形成等を調査した。

同様に発根についても、生存の確認されたシュートを用い、池田・藤田²⁾の方法により発根処理を実施して、25日後に発根率を調査した。

なお、培養、発根条件は温度27℃、日長16時間明、8時間暗とした。また、シュート数、シュート長及び新鮮重は茎葉の伸長が認められた個体を調査対象とした。

3 試験結果及び考察

保存後の桑培養シュートの状態は保存期間が198日まででは緑色を呈していたが、それ以降については萎凋したシュートも認められ、約1年後の367日と387日では多くのシュートが茶褐色になった。また、培地では127日後から茶褐色となり、234日以降では一部の培地で褐色の細菌の発生が認められた。

シュートの生存は保存期間が147日まではシュートの生存率も86~100%と高かったが、その後は減少し、367日では25%、387日では16%と低かった(表1)。

表1 保存期間とシュートの生存状況

保存期間 (日)	供試数 (本)	生存数 (本)	同率(A) (%)
0	78	78	100
49	56	55	98
127	57	49	86
147	42	42	100
198	89	65	73
234	59	34	58
295	38	23	61
367	40	10	25
387	32	5	16

注. 供試品種: しんいちのせ

培養後のシュート形成個体率は保存期間が147日まで92~100%と高かったが、その後急激に減少し、367日と387日ではシュート形成が認められなかった。また、新鮮重は198日まで400mg程度であったが、その後減少した。シュート長についても同様な傾向が見られた(表2)。

シュートの発根率は保存期間が対照の0日の80%に対し、49日でも56%と低く、198日ではわずか1個体の3%しか認められず、234日では全く発根個体が認められなかった(表3)。

5℃の低温、暗条件化で桑培養シュートを保存した場合、保存後のシュートの生存は保存期間が198日以降は次第に減少する傾向にあった。一方、培地の変化は保存127日では褐色を呈し、以後暗色化する傾向にあった。秋葉・中井¹⁾は植物体内に存在している内生菌の繁殖が苗条枯死の原因とされている。本試験でも細菌の発生した保存234日以降のシュートの生存が急激に低下していることから、これが主な原因と考えられた。しかし、保存後、生存が確認され

表2 保存期間とシュート形成状況

保存期間 (日)	供試数 (本)	生存数 (本)	シュート 形成個体数 (本)	同 率 (B) (%)	(B×A) (%)	平 均 新 鮮 重 (mg)	平 均 シュート長 (mm)	平 均 シュート数 (本)
0	35	35	35	100	(100)※	460	18.7	3.2
49	25	25	25	100	(98)	336	15.5	2.8
127	25	25	23	92	(79)	424	16.7	3.3
147	25	25	25	100	(100)	388	14.7	3.3
198	25	15	12	48	(35)	379	17.9	3.4
234	25	16	11	44	(26)	171	12.2	2.1
295	22	1	1	5	(3)	240	10.5	4.0
367	10	0	—	—	(—)	—	—	—
387	5	0	—	—	(—)	—	—	—

注. ※: () 内はシュート形成個体率×生存率

表3 保存期間と発根状況

保存期間 (日)	供試数 (本)	生存数 (本)	発根数 (本)	同率	
				(C) (%)	(C×A) (%)
0	46	42	37	80	(80)
49	32	27	18	56	(55)
127	18	14	9	50	(43)
147	16	15	11	69	(69)
198	32	1	1	3	(2)
234	29	0	0	—	(—)

注. ※: () 内はシュート発根率×生存率

たシュートの培養を実施し、枯死した個体では、細菌の発生は確認されなかった。

保存後の桑培養シュートの増殖は保存期間が147日までシュート形成個体率、シュート数等が高く、これ以降急激に低下して、シュートの生存状況とよく似た傾向を示した。すなわち、保存前の1シュート当りのシュート形成率が198日以降では35%以下となった。一方、秋葉・中井¹⁾はフラクトースと寒天を添加した培地で2週間培養したシュートを1年間低温保存し、シュートの生存と増殖を報告している。しかし、本試験と同様に低温保存の251日以降のシュートの生存、増殖が低かった。

桑培養シュートの低温保存を実施した場合の実際のシュート形成個体率は形成率×生存率(B×A)となり、保存198日は35%で、それ以降についても著しく劣る傾向が認められた(表2)。これは低温保存後のシュートの生存率と増殖後のシュート形成個体率ともに低く推移したためである。

このため、桑培養シュートの低温保存は147日が限度と考えられた。

一方、シュートの発根は保存期間が対照の0日では80%であったのに対し、保存を実施したシュートの発根率は短期間の保存で低下した。このため、保存後の発根処理は適さないと思われた。

4 ま と め

桑培養シュートを5℃の暗条件で保存したところ295日の保存でもシュートの増殖能率が確認された。しかし、198日以降ではシュートの生存、増殖が低下する傾向にあることから、桑培養シュートの低温保存の実用範囲は5か月程度と考えられた。

また、保存後のシュートの発根について対照と比較して劣るため、発根に当っては、再度培養を実施した後、発根処理を行うのが適当と思われた。

引 用 文 献

- 1) 秋葉芳男, 中井律佳. 1992. 培養中の桑苗条に対する低温保存. 埼玉蚕試研報 65: 1-3.
- 2) 池田忠幸, 藤田智博. 1992. 桑培養シュートの発根および馴化について. 東北蚕糸研究 17: 84.
- 3) 新野孝男, 岡 成美. 1990. 培養したクワ茎頂からの液体窒素保存後の植物体再生. 日蚕雑 59(2): 111-117.
- 4) 岡 成美, 八鍬春美. 1988. クワ培養シュートの低温保存. 東北農業研究 41: 339-340.