

# クワの培養腋芽による増殖

及川直人・壽正夫

(岩手県蚕業試験場)

Propagation of Mulberry by Tissue Culture of Axillary Bud

Naoto OIKAWA and Masao KOTOBUKI

(Iwate Sericultural Experiment Station)

## 1 はじめに

組織培養を利用したクワの培養技術としては、冬芽・頂芽・腋芽などの分離芽を用いた培養法がほぼ確立され、個体育成も行われている<sup>3)</sup>。また、筆者らは試験管内で培養したクワの分離芽を馴化・露地移植して苗木の育成も行っている<sup>1)</sup>。この苗木育成では、増殖培地で培養したシュートを切り取り発根培地に植え替えるが、残った腋芽は増殖にあまり役立っていない。

そこで、この培養腋芽を有効利用して増殖効率の向上を図るため液体培地による振盪培養と培養腋芽の植替え方法について検討したので報告する。

## 2 試験方法

「ゆきしのぎ」の冬芽を既報<sup>2)</sup>の方法で初代培養し、得られたシュートの頂芽を継代培養して材料を育成した。

### (1) 試験1 養液培養の増殖効果

培地は、Murashige - Skoog (以下MS) の基本組成にベンジルアデニン (BA) と果糖を添加した後 pH を 5.8 に調整し、寒天 0.8% を添加した寒天培地と寒天を加えない液体培地とした。培養容器は寒天培地が 100 ml コニカルビーカー、液体培地は 300 ml 三角フラスコを用い、それぞれ 20 ml, 100 ml の培地を入れ、120℃で15分間高圧滅菌した。

継代培養したシュートから頂芽を採取し、1容器当たりコニカルビーカーには3芽、三角フラスコには5芽を置床し、培養条件を温度は27℃±1℃、照明は3,000~4,000 lxで12時間明12時間暗とし、養液培養では80~90回/分の水平振盪をした。調査は、培養40日目に実施した。

### (2) 試験2 培養クワ腋芽の植替え方法別増殖状況

継代培養した8~9開葉時のシュートを図1のとおり発根培地への移植部位(2~3枚の展開葉付き先端部、以下同じ)を除き、残ったシュートを節間で切断して1芽及び3芽の腋芽付きシュートに調整し材料とした。

寒天培地はMSを基本にBA 1.0 mg/l と果糖 3% を添加し pH 5.8 に調整した後寒天 0.8% を加えて試験1と同じく分注・滅菌した。液体培地もMSにBA 0.05 mg, 0.1 mg/l と果糖 2%, 3% を添加し、pH 5.6 に調整した後試験管(直径24mm・長さ150mm)に20ml, 三角フラスコ(300ml)には100mlを分注し、高圧滅菌した。

培養条件は試験1と同様であるが、液体培地の振盪方法

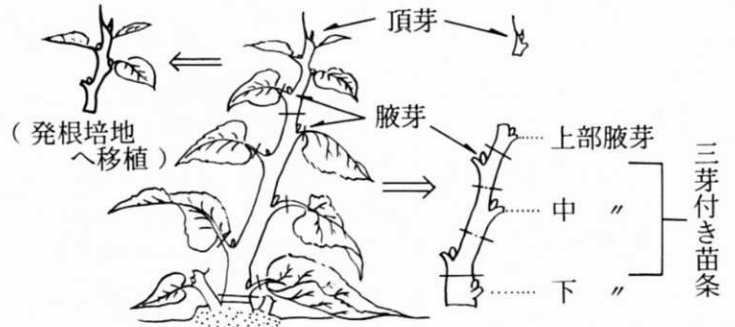


図1 供試苗条の形態

は試験管が3.3回/分の回転振盪、三角フラスコは80~90回/分の水平振盪で行った。また、1容器当たりの培養腋芽数は試験管が2芽、コニカルビーカーと三角フラスコは3芽とし、培養20~40日目に調査した。

## 3 試験結果及び考察

### (1) 試験1 養液培養の増殖効果

一般に組織培養では寒天培地に比べ液体培地で培養物の生育が早いと言われている。そこで、液体培地の培養効果を確認するために、寒天培地と液体培地で「ゆきしのぎ」の培養頂芽を培養したところ表1に示す結果が得られた。すなわち、両培地とも外植片すべてにシュートが確認されたものの、シュートには生育差があり、本数では寒天培地が勝り、長さや展開葉数では液体培地が勝った。特に液体培地の伸長は良好で、それに伴い展開葉数も増加したが、節間も長く、シュート長の差に比べ展開葉数の差は小さかった。これらのシュートの先端から発根培地への移植部位(展開葉3枚)を除き、残った腋芽数(展開葉数)を外植片1個当たりで見ると、寒天培地に対し液体培地のBA 0.1 mg/l で160%であった。

表1 培地別クワ頂芽の発育状況(培養40日目)

培地	培養	シュート確認芽数(芽)	シュートの状況(平均)			1個体当たり腋芽数(芽)	先端3葉を除いた腋芽数(芽)
			本数(本)	長さ(mm)	開葉数(枚)		
寒天(%)	BA (mg/l) 果糖 (%)	芽数(芽)					
0.8	1.0 3	15	2.1(100)	27(100)	5.6(100)	11.8(100)	5.5(100)
液体	0.05 2	15	1.0(48)	67(248)	6.6(118)	6.6(56)	3.6(65)
	0.1 2	15	1.7(81)	94(348)	8.2(146)	13.9(118)	8.8(160)
	0.1 3	15	1.7(81)	110(407)	8.2(146)	13.9(118)	8.8(160)

これらのことから、液体培地による振盪培養は寒天培地に比べ培養物の生育が早いことを追認するとともに、増殖効率も高いことを確認した。

(2) 試験2 培養クワ腋芽の植替え方法別増殖状況

寒天培地に1芽付きシュート(以下1芽付き)と3芽付きシュート(以下3芽付き)を置床し培養したところ、表2のとおりシュートの数・長さ・展開葉数・着生腋芽数とも3芽付きが勝り、これを培養腋芽1芽当たりの着生腋芽数でみると、1芽付きに対し3芽付きは245%となり、頂芽を培養した場合と同程度の増殖がみられた。

表2 寒天培地における置床方法別増殖状況 (培養30日目)

置床方法	培養芽数(芽)	シ確認1芽ト数(芽)	シュートの状況(平均)			1り個腋体芽当数た(芽)
			本数(本)	長さ(mm)	開葉数(枚)	
腋芽 1芽付き苗条縦挿し	15	15	1.1(100)	12(100)	2.8(100)	3.1(100)
腋芽 3芽付き苗条横置き	15	15	1.9(173)	17(142)	4.0(143)	7.6(245)
頂芽付き苗条縦挿し	15	15	1.8(163)	21(175)	4.3(154)	7.7(248)

液体培地で図1に示す着生部位別腋芽の1芽付きと3芽付きを振盪培養したところ、表3のとおり1芽付きは着生部位による生育差は小さいが、各部位とも3芽付きに比べ生育状況、シュートの状況とも劣った。また、3芽付きの

増殖は頂芽の増殖に比べシュートの長さでは劣ったが、本数・展開葉数では大差なく、培養1芽当たりの着芽数で比較すると、3芽付きに対し頂芽108%であった。

表3 養液培養における部位別苗条の増殖状況 (培養22日目)

苗条	培養芽数(芽)	生育状況(芽)			シュートの状況(平均)			1個体当たり腋芽数(芽)
		A	B	C	本数(本)	長さ(mm)	開葉数(芽)	
腋芽3芽付き	30	30	0	0	1.0(100)	15.7(100)	2.5(100)	2.5(100)
上部位腋芽1芽付き	20	12	4	4	0.6(60)	13.8(88)	2.3(92)	1.4(56)
	20	14	3	3	0.7(70)	11.2(71)	2.2(88)	1.5(60)
	20	11	4	5	0.6(60)	12.9(82)	2.3(92)	1.4(56)
	平均	20	12.3	3.7	4.0	0.6(60)	12.6(80)	2.3(92)
頂芽付き	20	20	0	0	1.0(100)	19.2(122)	2.7(108)	2.7(108)

注. 生育状況: Aはシュートが確認された芽数, Bは葉の展開のみでシュートの伸長が見られない芽数, Cはほとんど発育の見られない芽数

BA及び果糖の添加量の異なる液体培地で1芽付きと3芽付きを振盪培養した結果、表4のとおりBAでは0.05mg/lに比べ0.1mg/lの生育が良く、果糖はBAが0.05mg/lで2%が、0.1mg/lでは3%が良い傾向を示した。また、培養腋芽の形態別ではいずれの培地でも1芽付きに比べ3芽付きが勝った。総合的にはBA 0.1mg/l・果糖3%・3芽付きが最も良好な増殖状況を示した。

表4 養液培養におけるクワ腋芽の培地別・植替え方法別増殖状況 (培養40日目)

BA (mg/l)	果糖 (%)	培養苗条	培養芽数(芽)	シュート確認芽数(芽)	シュートの状況(平均)			1個体当たり腋芽数(芽)	先端3葉除き腋芽数(芽)
					本数(本)	長さ(mm)	開葉数(枚)		
0.05	2	1芽付き	15	15)	1.0(100)	55(100)	6.8(100)	6.8(100)	3.8(100)
		3"	15	15)	1.0(100)	73(133)	7.3(107)	7.3(107)	4.3(113)
	3	1芽付き	15	12)	0.8(100)	53(100)	6.8(100)	5.4(100)	1.9(100)
		3"	15	15)	1.0(125)	55(104)	7.0(103)	7.0(130)	4.0(211)
0.1	2	1芽付き	15	11)	0.7(100)	35(100)	4.0(100)	2.8(100)	0.7(100)
		3"	15	15)	1.0(143)	128(366)	9.3(233)	9.3(332)	6.3(900)
	3	1芽付き	15	15)	1.0(100)	60(100)	6.0(100)	6.0(100)	3.0(100)
		3"	15	15)	1.0(100)	120(200)	9.7(162)	9.7(162)	6.7(223)

4 まとめ

増殖用培地で培養したシュートを発根培地へ植え替える場合は頂芽を含む2~3枚の展開葉を付けた部位で切り取り植え替えが行われる。また、培養シュートの継代培養は頂芽を置床させる方法が一般的である。これらの場合残った腋芽はあまり増殖に役立っていない。そこで、この腋芽を利用し増殖の効率化を図るために、「ゆきしのぎ」の培養腋芽を材料にして寒天培地と液体培地で培養を試みた。

その結果、両培地ともすべての腋芽を有効利用でき、液体培地の振盪培養及び複数腋芽付きシュートの培養は、寒

天培地、1芽付きシュートによる培養に比べ生育が早く効率の良い増殖方法であることが認められた。

引用文献

- 1) 壽 正夫, 高木武人, 及川直人. 1985. 組織培養による桑苗生産. 東北蚕糸研究報告 10:33.
- 2) 及川直人, 榎本末夫, 大山勝夫. 1985. 組織培養を利用したクワの大量増殖法における基礎研究. 東北蚕糸研究報告 10:31.
- 3) 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.