チャの試験管内挿木における培地条件の改良 (2) 植物生長調節物質の最適条件の検討

静岡県茶業試験場*

倉貫幸一・柴田真里子**

(平成5年4月5日受理)

Improvement of Medium Components for *in vitro* Cuttings of Tea Plant

(2) Optimum Concentration of Plant Growth Regulator

Yukikazu KURANUKI and Mariko SHIBATA¹⁾

Shizuoka Tea Experiment Station

1706 Kurasawa, Kikugawa-cho, Ogasa-gun, Shizuoka 439, Japan

1) Present address, Shizuoka Hokuen Agriculture and Forestry Office

559 Kajima, Futamata-cho, Tenryu-city, Shizuoka 431-33, Japan

The medium of *in vitro* cuttings of tea plant was studied to find the optimum of concentrations and combinations of plant growth regulator (PGR). Tea cuttings were grown largest on the medium with addition to IBA 0.01 mg/l, BA 1.0 mg/l and GA₃ 5.0 mg/l or IAA 1.0 mg/l, kinetin 1.0 mg/l and GA₃ 5.0 mg/l. Callus formed at the base of cultures was grown larger in size as concentrations of PGR were higher.

From the result of further test for various concentrations from 1 to 50 mg/l of GA₃, shoots of cuttings were largest on medium with 50 mg/l, but in concentration of above 20 mg/l leaves of cuttings grew abnormally narrow like a willow, and numbers of leaves decreased slightly. Therefore, it was recognized that the concentration of GA₃ 10 mg/l was critical.

It was appear that the propagation of *in vitro* cuttings of tea was accomplished on medium with IBA 0.01 mg/l, BA 1.0 mg/l and GA₃ 10 mg/l. The shoot grew 43 mm in length and had 6 leaves at 7 weeks old after culture.

I は じ め に

組織培養による増殖法として、茎頂培養法、不定芽・不定根誘導法、不定胚誘導法（体細胞胚誘導法）と苗条原基増殖法があり、種々の植物¹⁾で利用されている。

チャにおいて、茎頂培養は中村²⁾と倉貫³⁾により、茎切片からの根の誘導は中村⁴⁾により、カルスからの不定根誘導は土井⁵⁾により、茎由来カルスからの不定芽誘導はKATO⁶⁾と倉貫⁷⁾により、また子葉からの体細胞胚の誘導はKATO⁸⁾と中村⁹⁾による報告がある。苗条原基に関しては松元¹⁰⁾が報告

している。

品種の増殖を目的とした場合、不定芽と不定胚の誘導は、品種の組織からカルスを経由せずに直接分化することが必要で、しかも分化率が高いことが望ましい。しかし、それらの方法は安定した技術になっておらず、現時点では利用できない。チャで大量増殖を行う場合は茎頂培養に始まる試験管内挿木が最も適した方法であると考えられる。

チャの試験管内で増殖を目的とした挿木は、中村ら¹¹⁾が報告した。当試験場では、試験管内挿木による大量増殖と他の組織培養試験の材料供給を迅速に行うために、培養植

*〒439 静岡県小笠郡菊川町倉沢1706

** 現 静岡県北遠農林事務所

物の生長が早い培地と植物生長調節物質の条件との再検討を行っている。

今回、チャの試験管内挿木におけるオーキシン、サイトカイニンとジベレリンを組合せて試験を行い、それぞれの効果と最適条件が明かとなったので報告する。

II 材 料 と 方 法

1 オーキシン、サイトカイニンとジベレリンの組合せ効果

供試材料には‘やぶきた’子葉由来の培養植物を用いた。約2か月間培養した個体の中央部を一芽一節(5~10mm)に調整して使用した。培地はMURASHIGE & SKOOG(1962)の無機塩類を1/2にした培地(1/2 MS)を基本とし、植物生長調節物質としてインドール酪酸(IBA)の0~1 mg/l、ベンジルアデニン(BA)の0~10 mg/lとジベレリンA₃(GA₃)の0~5 mg/lを組合せたものと、インドール酢酸(IAA)の0.1~5 mg/l、カイネチンの1, 5 mg/lとGA₃の0.5~5 mg/lを組合せたものを用いた。培地のショ糖はIBA, BAとGA₃の組合せに3%, IAA, カイネチンとGA₃の組合せに5%を加え、pHを5.8に調整した後、ジュランガムを0.4%加えて、直径24 mm、高さ115 mmの培養瓶に10 mlを入れ、1気圧加圧下、120℃で20分間オートクレーブで滅菌した。

調査は培養1か月後または2か月後に芽長、葉数、芽数とカルスの大きさについて行なった。

2 ジベレリンの添加効果

供試材料は‘やぶきた’の茎頂培養により得られた培養植物を用いた。約2か月間培養した個体の中央部を一芽一節(5~10mm)に調整して使用した。培地は柴田ら¹²⁾の報告に基づきMSを基本とし、植物生長調節物質としてIBA 0.01 mg/lとBA 1.0 mg/lを組合せたものとIAA 0.1 mg/lとカイネチン1.0 mg/lを組合せたものに、GA₃ 1~50 mg/lを加えて処理した。培地はショ糖を3%加え、pHを5.8に調整した後、ジュランガムを0.3%加えて、直径24 mm、高さ115 mm

の培養瓶に10 mlを入れ、1気圧加圧下、120℃で15分間オートクレーブで滅菌した。

調査は培養3週間~7週間後まで、芽長、葉数について行なった。

3 試験個体数と培養方法

試験は各培養瓶に4本植え付け、1処理12~20本の培養植物について実施した。培養条件は27℃、白色蛍光灯による3000 Luxの24時間照明下であった。

III 結 果

1 オーキシン、サイトカイニンとジベレリンの組合せ効果

1.1 IBA, BA と GA₃の組合せ

培養1か月後の調査結果は表1(左)に示す通りである。芽長はNo.8が9.2 mmと最も長く、No.17が5.9 mmと長かったが、一方、No.24と25が1.0 mm以下と短かった。葉数はNo.8が3.4枚と多く、No.17と30も3.1枚と多かったが、No.21が0.2枚と著しく少なく、No.11, 24, 25, 18, 19, 22と23が1枚以下と少なかった。芽数はNo.10が2.2本、No.17が2.1本と多かったが、No.1, 4, 11, 12と21~25が1.0本と少なかった。発根はNo.21にみられ、発根率は25%であった。培養1か月後で最も良く生育していたのがNo.8であった。

培養2か月後の調査結果は表1(右)に示す通りである。芽長はNo.8が38.3 mmと最も長く、No.17が19.8 mm、No.14が14.7 mm、No.7が13.7 mmと長かった。しかし多くの処理区で10 mm以下と短かく、特にNo.25が0.6 mm、No.21が0.8 mmと短かった。葉数はNo.8が7.5枚と最も多く、No.7と14が6.3枚、No.17が5.9枚と多かった。多くの処理区では3~4枚であったが、No.21が1.7枚と特に少なく、No.11も2.9枚と少なかった。芽数はNo.3と20が3.1本、No.10, 18と19が3.0本と多く、No.22と24で0.9本と少なく、芽が生長しない処理区もみられた。培養体基部のカルスはNo.29が7.4 mmと最も大きく、No.28も7.0 mmと大きかったが、No.11は1.3 mmと最

表1 試験管内挿木における IBA, BA と GA₃ が生育に及ぼす効果

No.	植物生長調節物質			培養1か月後の生育				培養2か月後の生育				
	(mg/l)			芽長 (mm)	葉数 (枚)	芽数 (本)	発根率 (%)	芽長 (mm)	葉数 (枚)	芽数 (本)	カルス径 (mm)	発根率 (%)
	IBA	BA	GA ₃									
1	0	0.1	0	1.3	1.5	1.0	0	2.7	3.3	1.1	2.3	0
2	0	1.0	0	2.7	2.1	1.5	0	7.1	4.5	1.8	3.2	0
3	0	10.0	0	1.5	1.1	1.5	0	7.5	3.9	3.1	3.0	0
4	0.01	0.1	0	1.4	1.3	1.0	0	3.4	3.5	1.0	2.1	0
5	0.01	0.1	1.0	2.9	2.6	1.1	0	4.8	4.6	1.1	1.8	0
6	0.01	1.0	0	3.0	2.2	1.3	0	7.4	4.6	1.5	3.0	0
7	0.01	1.0	1.0	4.1	2.7	1.3	0	13.7	6.3	1.5	3.4	0
8	0.01	1.0	5.0	9.2	3.4	2.0	0	38.3	7.5	2.4	3.4	0
9	0.01	10.0	0	2.1	1.8	1.5	0	8.4	4.8	1.9	3.1	0
10	0.01	10.0	1.0	2.8	1.6	2.2	0	10.6	5.5	3.0	5.0	0
11	0.1	0	0	1.2	0.6	1.0	0	3.4	2.9	1.0	1.3	6
12	0.1	0.1	0.1	2.0	1.2	1.0	0	6.0	4.4	1.3	2.9	0
13	0.1	0.1	1.0	2.3	1.6	1.1	0	5.9	5.3	1.0	3.3	5
14	0.1	0.1	5.0	2.8	2.0	1.1	0	14.7	6.3	1.2	3.6	0
15	0.1	1.0	0.1	3.6	2.6	1.4	0	9.0	5.5	1.5	4.8	0
16	0.1	1.0	1.0	3.8	2.4	1.2	0	9.5	5.5	1.3	4.1	0
17	0.1	1.0	5.0	5.9	3.1	2.1	0	19.8	5.9	2.3	4.4	0
18	0.1	10.0	0.1	1.2	0.8	1.7	0	6.3	4.0	3.0	4.9	0
19	0.1	10.0	1.0	1.6	0.8	1.4	0	6.7	4.8	3.0	4.8	0
20	0.1	10.0	5.0	2.6	1.3	1.9	0	8.4	4.7	3.1	5.0	0
21	1.0	0	0	1.1	0.2	1.0	25	0.8	1.7	1.0	2.6	40
22	1.0	0.1	0.1	1.2	0.8	1.0	0	2.3	3.3	0.9	4.4	0
23	1.0	0.1	0.1	1.2	0.8	1.0	0	2.3	3.3	1.0	4.4	5
24	1.0	0.1	5.0	0.8	0.7	1.0	0	9.8	5.1	0.9	4.6	0
25	1.0	1.0	0.1	0.9	0.7	1.0	0	0.6	3.0	1.0	3.8	0
26	1.0	1.0	1.0	2.3	2.1	1.2	0	3.6	4.7	1.3	5.5	0
27	1.0	1.0	5.0	4.1	2.7	1.2	0	7.9	5.2	1.3	5.6	0
28	1.0	10.0	0.1	2.9	1.8	1.5	0	5.7	5.4	1.7	7.0	0
29	1.0	10.0	1.0	3.7	2.4	1.6	0	4.6	4.3	1.5	7.4	0
30	1.0	10.0	5.0	4.7	3.1	1.5	0	8.8	4.7	1.6	6.4	0

注) 各処理 20 本調査した。カルスは長径を測定した。

も小さかった。発根は No.11, 13, 21 と 23 でみられ、発根率は No.21 で 40 % と高く、他は 5, 6 % であった。培養 2 か月後で最もよく生育していたのは No.8 であった。

IBA, BA と GA₃ の組合せについて、培養 1 か月後と 2 か月後の生長量を各植物生長調節物質について濃度ごとに集計したのが図 1 である。芽長 (図 1-A) は IBA の 0.01 mg/l で最も長く、0.1 mg/l がそれに次ぎ、1.0 mg/l で最も短くなった。BA では 1.0 mg/l が最も長くなり、10 mg/l と 0.1 mg/l がそれ

につぎ、無添加が著しく短かった。GA₃ では 5.0 mg/l が著しく長く、無添加と 0.1 mg/l がともに短かった。芽長の伸長は培養 1 か月後よりも 2 か月後に大きく、各植物生長調節物質とも培養 1 か月後と 2 か月後の同じ濃度で長かった。葉数 (図 1-B) は芽長と同じ傾向を示し、IBA の 0.01 mg/l, BA の 1.0 mg/l と GA₃ の 5 mg/l で多かった。葉数についても芽長と同様で、培養 1 か月後よりも 2 か月後に増加した。芽数 (図 1-C) は IBA の無添加～0.1 mg/l で差はなかったが、

図1 IBA, BA とジベレリンの各濃度における芽長, 葉数, 芽数とカルスの大きさ (培養1か月と2か月後)
 注) Aは芽長, Bは葉数, Cは芽数, Dはカルスの大きさである。■培養1か月後 □培養2か月後の生長量を表す。

1.0 mg/l で減少した。BA では無添加と 0.1 mg/l で少なかったが, 1.0 mg/l で増加し, 10.0 mg/l で著しく増加した。GA₃ では培養1か月後には濃度が高い処理で芽数の増加が多く, その後の1か月間ではすべての濃度で同じ増加量を示し, 5 mg/l で多かった。カルス (図1-D) についての調査は培養2か月後のみで, その大きさはIBA とBA の濃度が高いと大きく, IBA は1.0 mg/l, BA は10 mg/l で最大であった。GA₃ を培地に添加するとカルスが大きくなり, 濃度との関係はみられなかった。

1.2 IAA, カイネチンと GA₃ の組合せ

培養2か月後の調査結果は表2に示す通りである。培地のショ糖濃度が5%と高いために生育は劣ったが, 芽長はNo. 3が10.8 mmと最も長く, No. 15が9.5 mm, No. 9が8.4 mmと長かった。一方, No. 13は3.4 mmと最も短く, No. 2と5も短かった。葉数はNo. 10, 9で4.9, 4.8枚と多く, No. 13で2.8枚と少なかった。生育が最も良かったのはNo. 3で, 次いでNo. 15, No. 9の順

であった。

各植物生長物質について濃度ごとに集計したのが図2ある。芽長はIAAの1 mg/l, カイネチンの1 mg/lとGA₃の5 mg/lで長かった。葉数は各植物生長物質とも芽長の長い濃度で多い傾向にあった。

2 ジベレリンの添加効果

培養3週間後の芽長と葉数に7週間後までの各週の生長量を加えて表わしたのが図3である。IBA とBA の組合せについての芽長 (図3-A) は, GA₃ の各濃度とも培養3週間後までの芽長に対し, 第4週以降の生長量が大きく, 特にGA₃の濃度の増加にともない生長量も増加した。IAA とカイネチンの組合せでの芽長の生長量はIBA とBA の組合せより劣ったが, GA₃ 10 mg/l 以上の処理区では第7週が最も大きい生長量を示した。7週間後の芽長はIBA とBA の組合せが長く, GA₃ の50 mg/l で最も長くなった。IAA とカイネチンの組合せではGA₃ の20 mg/l で芽長が最も長くなった。

葉数 (図3-B) について, IBA とBA の

表2 試験管内挿木におけるIAA、
カイネチンとGA₃が生育に及ぼす効果

No.	植物生長調節物質(mg/l)			芽長 (mm)	葉数 (枚)
	IAA	カイネチン	GA ₃		
1	0.1	1.0	0.5	4.6	3.7
2	0.1	1.0	1.0	4.3	4.5
3	0.1	1.0	5.0	10.8	4.6
4	0.1	5.0	0.5	4.6	4.5
5	0.1	5.0	1.0	4.3	3.3
6	0.1	5.0	5.0	7.1	3.7
7	1.0	1.0	0.5	6.5	4.0
8	1.0	1.0	1.0	6.8	4.0
9	1.0	1.0	5.0	8.4	4.8
10	1.0	5.0	0.5	6.6	4.9
11	1.0	5.0	1.0	5.0	4.0
12	1.0	5.0	5.0	7.1	4.1
13	5.0	1.0	0.5	3.4	2.8
14	5.0	1.0	1.0	6.7	4.3
15	5.0	1.0	5.0	9.5	4.3
16	5.0	5.0	0.5	4.7	3.7
17	5.0	5.0	1.0	4.9	3.3
18	5.0	5.0	5.0	7.4	3.7

注) 培地のショ糖濃度は5%である。調査は培養2か月後である。

組合せでは、培養3週間後まではGA₃の50 mg/lで多かったが、第4週以降の増加はGA₃の10, 20 mg/lで多くなり、培養7週間後には50 mg/lより多くなった。調査した期間中の葉数増加は第4週に多かった。IAAとカイネチンの組合せは、IBAとBAの組合せより葉数は減少した。GA₃の濃度が増加すると葉数も増加し、20 mg/lで最大となった。調査した期間中の葉数の増加は第4週が最も大きくなった。ただし両組合せともGA₃濃度の20と50 mg/lでは葉が細く異常な生育となった(写真1)。

IV 考 察

大量増殖の方法としては、茎頂培養、不定芽誘導、体細胞胚誘導が多くの植物で実施されている。チャにおいて、不定芽誘導についての報告があるが、著者⁷⁾が追試したところ安定した高い頻度で不定芽が得られなかった。体細胞胚誘導は子葉からの報告^{8,9)}はあ

図2 IAA、カイネチンとジベレリンの組合せ濃度が芽長と葉数に及ぼす効果(培養2か月後)
■は芽長、□は葉数を表す。

図3 IBAとBA, IAAとカイネチンの組合せでの芽長と葉数に対するジベレリンの効果

注) Aは芽長, Bは葉数である。

■ 3週間後まで □ 第4週 ▨ 第5週 ▩ 第6週 □ 第7週の増加量を示す。

るが、ヘテロであるチャの子葉からの不定胚は親と遺伝的に同一でなく大量増殖には利用できない。現在までのところ、茎頂培養から始まる試験管内挿木が最も有効な手段となっている。チャの大量増殖については中村¹¹⁾により、試験管内挿木でオーキシンとサイトカイニンについての最適組合せと最適濃度についての報告がある。本報では、オーキシンの中で生長に効果的であるIBAとIAA、サイトカイニンのBAとカイネチンならびに

GA₃を組合せた。

各植物生長調節物質の濃度試験の結果から、IBAは芽長の伸長と葉数の増加について、0.01 mg/lが適していた。このIBA濃度は中村が報告した¹¹⁾濃度(0.1 mg/l)より低く、莖頂培養での芽長の伸長と葉数の増加に最も適した濃度であり、胚軸培養での芽長の伸長に適した濃度でもある。芽数については無添加～0.1 mg/lまでは側枝が発生し多かったが、1.0 mg/lでは側枝の発生がなく、芽数は少なかった。このことは胚軸培養の場合と共通した結果であった¹³⁾。カルスの生長はIBA濃度に影響され、濃度の増加にともない生長量も増加した。莖頂培養³⁾の場合、培養切片が0.5 mm程度と試験管内挿木に比べて著しく小さいことからIBA濃度の0.1 mg/lで大きなカルスになる。したがって試験管内挿木でIBA濃度が0.1 mg/lでも培養体が小さくなるとカルス化が著しくなるものと考えられた。

BAは芽長の伸長と葉数の増加に1.0 mg/lが最も効果が認められた。莖頂培養や胚軸培養、またカルスからの不定芽誘導等チャの培養で芽を生育させるための最適濃度であると考えられた。芽数の増加はBAの濃度による効果が大きく、中村¹¹⁾も同様の内容を報告している。また莖頂培養と胚軸培養でもBA濃度が芽数の増加に効果的に作用した。中村¹¹⁾はカルス化率とカルスの生長はBA濃度が1.0 mg/lに比べ0.1 mg/lで効果が大きいと報告しているが、本報の結果ではカルスはBAの濃度が増加するほど大きくなり、前者の結果と異なった。莖頂培養ではBA濃度1.0 mg/lでカルスが最も大きくなるが、培養切片が著しく小さいことから、BA 10 mg/lでは生存率が極端に低く、カルスの初期生育に悪影響すると考えられる。試験管内挿木では莖頂培養と比較して、大きな培養切片を使用するためBA濃度が高くなるとカルスも大きくなるものと考えられた。

GA₃について、芽長の伸びは5 mg/lが他の濃度に比べて著しく良く、葉数も多く、処理した範囲内では最適濃度であると考えられ

た。

IAA、カイネチンとGA₃の組合せについて、IAAは1 mg/l処理で芽長の伸びと葉数が多く、最も適した濃度であると考えられた。この結果は中村¹¹⁾がIAAの最適濃度は0.1 mg/lであるとした結果と異なった。

カイネチンについて、1 mg/lと5 mg/lでは1 mg/lが芽長の伸びと葉数とも優れていた。カイネチンについて中村¹¹⁾は1 mg/l以上が適するとしたので、1 mg/lがより適した濃度であるものと考えられた。

GA₃について、IBA、BAとGA₃の組合せと同様に、5 mg/lで芽長の伸長が著しく、葉数もやや多く、処理した範囲内では最も適した濃度と考えられた。

GA₃濃度については、IBAとBAの組合せとIAAとカイネチンの組合せとも、高い濃度(5 mg/l)処理で生育が最も良かったことから、さらにGA₃の濃度を高めて試験した。その結果、IBAとBAの組合せとIAAとカイネチンの組合せとも、芽長は50 mg/lの高濃度で最も長くなり、芽長の伸長効果は著しかった。一方、葉数は10 mg/lと20 mg/lで最大となったが、処理間での差は最大で1枚程度であることから、葉数増加効果はそれほど大きくなかった。一芽一節で増殖する場合、芽長が伸びることと葉数が増加することが大切であり、この場合、10 mg/lと20 mg/lが最も適した濃度であると考えられた。しかし、IBAとBAの組合せとIAAとカイネチンの組合せの両者とも、20 mg/lと50 mg/lの高い濃度では生長しているチャ芽の葉の形態が柳のように細く、異常な生育となったためにGA₃の限界濃度は10 mg/lであると考えられた。

以上のことから、試験管内挿木を行う場合の植物生長調節物質の最適な組合せ濃度はIBA 0.01 mg/l、BA 1.0 mg/lとGA₃ 10 mg/lで、培養7週間後には芽長が43 mm、葉数が6枚以上になり、試験管内挿木による大量増殖に最も適した培地条件であると考えられた。さらにIAA 1.0 mg/l、カイネチン 1.0

mg/l と GA_3 10mg/l も大量増殖に利用できるものと考えられた。

V 摘 要

1 試験管内挿木を行う培養培地の検討を行い、生育が良好である培地の植物生長調節物質の濃度が明らかになった。

2 IBA, BA と GA_3 の組合せ試験の結果、IBA 0.01 mg/l, BA 1.0 mg/l と GA_3 5.0 mg/l が生育が最も良好であった。

3 培養体基部に形成されるカルスの大きさは BA 濃度が高くなるにともない大きくなった。

4 IAA, カイネチンと GA_3 の組合せ試験の結果、IAA 1.0 mg/l, カイネチン 1.0 mg/l と GA_3 5.0 mg/l が生育が良好であった。

5 GA_3 の濃度についてさらに試験した結果、生育は GA_3 50 mg/l が最も良かったが、20, 50 mg/l では葉が細くなる異常な生育を示し、葉数がやや減少することから、10 mg/l が最も適した濃度であることが明らかとなった。

6 チャの試験管内挿木による大量増殖のためには、IBA 0.01 mg/l, BA 1.0 mg/l と GA_3 10 mg/l を加えると培養 7 週間後に 6 葉以上で 43 mm の生育が期待できる。

VI 引 用 文 献

- 1) 西村繁夫 (1991) : 組織培養による大量増殖, 農林水産研究文献解題—植物バイオテクノロジー編, 農林水産技術会議事務局編, pp7-37.
- 2) 中村順行 (1987) : チャ ‘やぶきた’ の茎頂培養. 茶研報, No. 65, 1-7.
- 3) 倉貫幸一・柴田真里子 (1992) : チャの茎頂培養における植物生長調節物質の濃度の違いが生長に及ぼす影響 静岡茶研報, No. 16, 1-6.
- 4) 中村順行 (1985) : チャの器官別および茶期別, 節間別茎切片の培養における根の分化とその品種間差異, 茶研報, No. 62, 1-5.
- 5) 土井芳憲 (1983) : チャの葯培養におけるカルス誘導率および根の分化率の品種間差異. 茶研報, No. 57, 13-17.
- 6) KATO M. (1985) : Regeneration of Plantlets from Tea Stem Callus. Japan. J. Breed., 35, 317-322.
- 7) 倉貫幸一 (1991) : チャの茎由来カルスからの不定芽形成に及ぼす植物生長調節物質の効果. 第12回植物組織培養学会大会・シンポジウム講演要旨集, 143.
- 8) KATO M. (1986) : Micropropagation through Cotyledon Culture in *Camellia japonica* L. and *C. sinensis* L.. Japan. J. Breed., 36, 31-33.
- 9) 中村順行 (1988) : チャ等のツバキ属植物の子葉培養における不定胚分化率の向上. 茶研報, No. 67, 1-12.
- 10) 松元 哲・川田真佐枝・近藤貞昭 (1990) : チャ苗木原基様カルスの作出とその形態について. 茶研報, No. 27 (別冊), 40-41.
- 11) 中村順行・柴田真里子 (1990) : 試験管内挿木法を用いたチャの大量増殖—腋芽の生育に及ぼす各種ホルモンの効果—. 茶研報, No. 72, 9-17.
- 12) 柴田真里子・倉貫幸一 (1993) : チャの試験管内挿木における培地条件の改良—(1) MS 培地の基本成分の希釈度ならびに WP 培地との比較—. 茶研報, No. 77, 39-45.
- 13) 倉貫幸一 (1992) : チャ胚軸培養における採取時期, 摘出胚軸の乾燥ならびに植物生長調節物質の効果. 茶研報, No. 76, 1-8.

写真1 GA_3 濃度の違いによる生育の差異（培養3か月後）
左から 1 mg/l, 5 mg/l, 10 mg/l, 20 mg/l, 50 mg/l,
MS培地+ショ糖3%, IBA 0.01 mg/l, BA 1.0 mg/l
20 mg/lと50 mg/lでは葉が細い。