

〔栄養繁殖系作物のウイルスフリー苗作出と大量増殖法の開発〕

ブバルディア第2期有望系統の培養法の確立

～初代培養，シュート増殖および発根に及ぼす培地のホルモン濃度の影響～

大槻優華・小坂井宏輔*・宮下智人

(園芸技術科) *現島しょセ大島

【要 約】第2期品種候補6系統のうち5系統は，低濃度と高濃度のどちらのホルモン培地でも成長点培養と増殖が可能で，発根シュートを得られる。1446-5 など4系統のシュートの増殖効率は「ヨホホワイト」と同程度で，第1期3品種より低い傾向である。

【目 的】

大島の基幹品種ブバルディアの第2期品種候補として選抜した系統について，迅速な現地普及のためにウイルスフリー化・増殖に適した培養条件を明らかにする必要がある。そこで本試験では，初代培養，継代培養および挿し木順化において，培地のホルモン濃度がシュートの伸長，増殖および発根に及ぼす影響を評価する。

【方 法】

第2期品種候補として選抜された12系統(2019年当時)中，6系統を供試した。挿し木苗の茎頂を採取し，常法で殺菌した後，成長点を摘出し，初代培地に置床した(表1)。培地はB1(対照)と低ホルモン濃度のB3とした。操作・調査内容は以下の通り。

1. 初代培養：置床から1ヵ月後に雑菌汚染率，2ヵ月後にシュート伸長率等を調査した。
2. 継代培養：初代培養から2ヵ月後のシュートを節ごとに切り分けて同培地に継代し，増殖した。その後は1ヵ月ごとに継代し，培養開始から3ヵ月後に増殖本数を調査した。
3. 挿し木順化：培養開始から3ヵ月後のシュートを長さ2～3cmの挿し穂に調整してバーミキュライトに挿した。その後は順化し(表1)，2ヵ月後に発根率等を調査した。

【成果の概要】

1. 初代培養：成長点培養から2ヵ月後のシュート伸長率は両区で18～57%であり，いずれの系統でも培養シュートが得られた(表2)。
2. 継代培養：15D203-3のB3区は培養中に全シュートが枯死した(図1)。増殖本数の平均値はいずれの系統もB1区の方が有意に大きかった。1446-5など4系統はB1区で平均40～100本のシュートが得られた。これは大島在来品種「ヨホホワイト」(約60本，H30成果情報)と同程度であり，第1期3品種(約200～300本，R1成果情報)より少なかった。15D203-3と15P403-17の2系統は両区とも20本を下回ることから，他系統に比べて培養適性が著しく低いと考えられた。
3. 挿し木順化：15D203-3のB3区以外のすべての系統および培地で発根シュートが得られた。15D111-11は，両区とも発根率が36%以上で，発根程度も0.9以上と，発根が比較的良好であった(表3)。

【残された課題・成果の活用・留意点】

15D111-11と15P303-6は第2期品種として最終選抜され，各々「東京ダブルスター サニーレッド，同 スノーピンク」として2021年9月に出願公表された。今後はこの2品種の各区の培養苗について奇形花発生等を評価し，好適な培養法を確立する。第2期品種候補12系統のうち，本試験で供試しなかった6系統は別途評価を行う。

表1 培養および挿し木順化の条件

殺菌処理	中性洗剤 5分→70%エタノール10秒→0.5%次亜塩素酸ナトリウム水溶液 5分
基本組成	MS+2%ショ糖+0.3%ゲランガム, pH5.8
培地	ホルモン 濃度
	B1培地: BA 1.0mg/L, NAA 0.01mg/L B3培地: BA 0.2mg/L, NAA 0.01mg/L
環境	共通 24℃, 24時間明条件
設定	光強度 初代・継代培養: $80 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 以上 挿し木順化: $35 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$

表2 初代培養に及ぼす培地のホルモン濃度の影響

系統	培地	雑菌汚染率 (%)	生存率 (%)	シュート ^a 伸長率 (%)	内生菌 ^b 感染率 (%)	雑菌・内生菌非感染シュートの割合 (%)
1446-5	B1	51 ± 8	47 ± 4	35 ± 8	2 ± 2	60 ± 10
	B3	47 ± 9	34 ± 3	29 ± 4	3 ± 2	82 ± 12
15D111-11	B1	29 ± 14	47 ± 7	47 ± 7	0 ± 0	90 ± 5
	B3	24 ± 11	60 ± 9	47 ± 7	0 ± 0	95 ± 4
15D203-3	B1	19 ± 12	62 ± 7	57 ± 3	5 ± 5	100 ± 0
	B3	35 ± 13	24 ± 12	21 ± 11	0 ± 0	100 ± 0
15P303-6	B1	28 ± 6	60 ± 4	36 ± 4	0 ± 0	89 ± 9
	B3	11 ± 4	48 ± 6	26 ± 10	0 ± 0	100 ± 0
15P305-4	B1	38 ± 2	57 ± 8	38 ± 9	0 ± 0	71 ± 7
	B3	38 ± 9	35 ± 6	18 ± 4	0 ± 0	83 ± 9
15P403-17	B1	8 ± 5	68 ± 4	54 ± 7	3 ± 4	100 ± 0
	B3	3 ± 4	64 ± 11	25 ± 4	0 ± 0	100 ± 0

脚注) 成長点培養は2019年12月～2020年10月にかけて行った。成長点の摘出サイズは概ね直径0.3mmとした。供試数は1区あたり5～20本×3～4反復とした。±標準誤差 a) 5mm以上伸長成長したシュートが発生した割合 b) 内生菌感染の有無をカルスおよび培地の外観から判断した

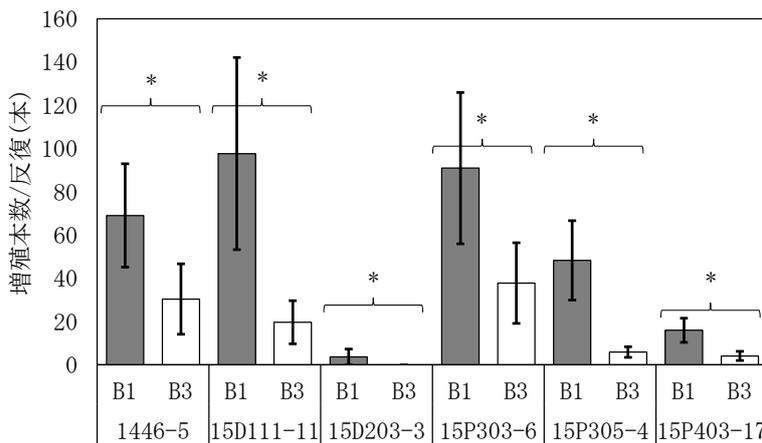


図1 継代培養開始から3ヵ月後のシュート増殖本数

供試数は8～19反復。表中のエラーバーは標準誤差を示す。log₁₀(x+)変換して二元配置の分散分析を行った結果、すべての系統において培地間で有意差があった(*)。またTukeyの多重比較を行った結果、5%水準で15D203-3のみ、他の系統よりも有意に値が低かった。

表3 シュートの発根に及ぼす培地のホルモン濃度の影響

系統	培地	生存率 (%)	発根率 (%)	発根程度 ^a
1446-5	B1	-	-	-
	B3	-	-	-
15D111-11	B1	100 ± 0	51 ± 15	1.4 ± 0.4
	B3	87 ± 1	36 ± 4	0.9 ± 0.2
15D203-3	B1	87 ± 4	8 ± 3	0.2 ± 0.1
15P303-6	B1	98 ± 2	32 ± 23	0.6 ± 0.4
	B3	-	-	-
15P305-4	B1	99 ± 2	63 ± 4	1.4 ± 0.3
	B3	-	-	-
15P403-17	B1	82 ± 2	45 ± 11	1.1 ± 0.3
	B3 ^b	32	70	2.0

脚注) 継代培養で10本以上のシュートが得られた区を順化に供試した。供試数は12～266本×1～7反復, ±標準誤差。-: 発根シュートは得られたがデータ欠測 a) 生存した各シュートについて、発根量を0(無)から3(多)の4段階で評価した。発根程度 = Σ(発根量指数×指数ごとの発根シュート本数)/生存本数 b) 無反復のため標準誤差無し