

(原著論文)

ブバルディアの成長点培養苗の生産に及ぼす 培地の植物ホルモン濃度の影響

大槻優華^{1*}・小坂井宏輔¹・鈴木克彰²・宮下智人¹

¹ 東京都農林総合研究センター

² 現 東京都島しょ農林水産総合センター

摘 要

東京都大島町の特産花きブバルディア (*Bouvardia* spp.) について、現地の生産者組織では基幹 2 品種のウイルスフリー苗の生産を培養企業に委託しているが、雑菌汚染により培養苗の増殖効率が著しく低下して苗供給が滞ったため、培養技術の改善が必要となった。そこで培養技術の改変を行ったところ増殖効率は改善したが、従来苗に比べて奇形花が多発する傾向であった。奇形花の発生は培養中の植物ホルモン濃度の影響による培養変異に起因し、培地中のホルモン濃度を低くすることにより低減できると考えられた。これを検証するためにはまず、ブバルディアの培養に適用できる低ホルモン濃度の培地条件を明らかにする必要がある。そこで本研究では、ブバルディアの成長点培養に適した培地の植物ホルモン濃度を検討した。

従来の B 1 培地 (MS 培地 + BA1.0mg/L, NAA0.01mg/L) よりも植物ホルモン濃度を低減した B 2 および B 3 培地で成長点培養を行ったところ、B 3 培地 (MS 培地 + BA0.2mg/L, NAA0.01mg/L) で伸長シュートを得ることができた。次に B 3 培地の培養苗の増殖効率を評価するため、計 7 品種を用いて B 1 および B 3 培地で成長点培養を行った。その結果、すべての品種で両培地由来の培養苗を得ることができた。ただし、B 3 培地における培養苗の生産効率は B 1 培地の 1/4 ~ 1/10 程度にとどまった。今後は B 3 培地で作出した培養苗について、奇形花の発生程度や収量性などを評価する必要がある。

キーワード : アカネ科, ウイルスフリー苗, オーキシン, サイトカイニン, マイクロプロパゲーション

簡略表題 ブバルディアの組織培養

東京都農林総合研究センター研究報告 19 : 41-50, 2024

* 著者連絡先 : 大槻優華 Email : y-otsuki@tdfaff.com

緒言

ブバルディア (*Bouvardia spp.*) はアカネ科の低木であり、農業生産的には主に切り花や鉢物として利用されている。

ブバルディアは挿し木で容易に増殖できるため、国内主要産地である東京都大島町において、生産用の苗は自家増殖が一般的であった。しかし1980年代後半に同生産者圃場でキュウリモザイクウイルス (CMV) によるモザイク病が多生し、大きな問題となった (栄森, 1995)。本病対策のため、東京都はMS培地 (Murashige and Skoog, 1962) に植物ホルモンを添加した培地における成長点培養、シュート増殖によるウイルスフリー苗作出の基礎技術を確立し (小林, 1995)、その手法を用いて生産者にウイルスフリー苗を供給する事業を実施した (東京都農業試験場, 1991; 東京都農業試験場, 1998)。本事業では当時の大島町における基幹品種である‘チェリーピンク、ハイブリットホワイト、ヨホホワイト’の種苗を配布し、事業終了後は‘チェリーピンク、ヨホホワイト’のウイルスフリー苗の生産を民間企業に移行した。しかし雑菌汚染により増殖率が著しく低下し、苗供給が滞ったため、培養技術の改善が必要となった。

ブバルディアの組織培養は、葉や茎、根などの組織培養 (Fernández and Jiménez, 1982) や茎頂培養 (信太, 1992) で実施例がある。しかし雑菌汚染や増殖効率に関する詳細な知見は乏しい。

そこで鈴木ら (2013) は従来の培養系を用い、殺菌法の検討や初代培養時の詳細な観察を行った結果、ブバルディア組織内に感染した内生菌の存在と、感染した培養シュートの増殖効率の低下を確認した。また、内生菌に非感染のシュートの判別技術を確立したことで、雑菌汚染率と培養苗の増殖効率は改善した。一方、本法で作出した苗を本圃で栽培したところ、長年挿し木で継代維持していた苗に比べて奇形花 (図版1) が多発する傾向であった (未発表)。そのため奇形花を低減するための新たな培養法の確立が必要となった。

一般に高濃度の植物ホルモンは突然変異を引き起こす要因となる (Marum ら, 2009)。ブバルディアは、植物ホルモンに対して感受性が高い可能性があり、低ホルモン濃度の培地で培養することで奇形花 (培養変異) を低減できると考えた。これを検証す

るためにはまず、ブバルディアの培養に適用できる低ホルモン濃度の培地条件を明らかにする必要がある。また、大島町では、近年、東京都育成の新品種 (宮下ら, 2021; 宮下ら, 2022) の導入が進んでいるが、これらの培養特性はまだ明らかでない。そこで本研究では、まずブバルディアの成長点培養に適した低ホルモン濃度の培地条件を明らかにし、次いで育成新品種を含めた複数品種を供試し、低ホルモン濃度の培地の適用性を評価した。なお、本報告の一部は園芸学会令和5年度春季大会で発表したものである。

材料および方法

1. 供試品種

試験には、‘チェリーピンク、ヨホホワイト’、東京都育成品種‘東京スター シルキーホワイト (以下、シルキーホワイト)、東京スター クリアピンク (以下、クリアピンク)、東京スター パールピンク (以下、パールピンク)、東京ダブルスター サニーレッド (以下、サニーレッド)、東京ダブルスター スノーピンク (以下、スノーピンク)’の計7品種を用いた。いずれも直径9 cmのポットで育成 (栽培) した挿し木増殖苗で、東京都立川市圃場のガラス温室において最低温度15°Cで栽培管理したものを、後述の成長点培養の供試材料とした。

2. 培地の植物ホルモン濃度の検討 (試験1)

‘チェリーピンク’を供試し、植物ホルモン濃度を従来より低減した培地 (以下、低減培地) について、成長点培養 (以下、初代培養) が可能な濃度条件を検討した。東京都農林総合研究センターで2012年からブバルディアの培地として使用している従来培地 (以下、B1培地; 鈴木・宮下, 2012) を対照とし、これに対して植物ホルモン濃度を低減した2種類の培地としてB2, B3培地を設計した。培地の基本組成はMS培地 (Murashige and Skoog, 1962) で、これにショ糖2%, ゲランガム0.3%を加えてpH 5.8に調整した。植物ホルモンは、サイトカイニンとしてベンジルアミノプリン (以下、BA), オーキシシンとしてナフタレン酢酸 (以下、NAA) を用いた。培地ごとの濃度は、B1培地ではBA1.0mg/L, NAA0.01mg/L, B2培地ではBA0.2mg/L, NAAなし, B3培地ではBA0.2mg/L, NAA0.01mg/Lとした。培地は直径3 cmのガラス試験管に約10mLの培地液

を充填し、斜面状に固めたものを使用した。これら3培地で初代培養を行った。

外植体は茎頂および腋芽として、母株から新梢を採取し、葉を切除して1節ごとに分割する調整を行った。殺菌処理は、調整した外植体を中性洗剤溶液で5分、70%エタノール溶液で10秒、有効塩素0.5%の次亜塩素酸ナトリウム溶液で5分間それぞれ攪拌し、その後クリーンベンチ内において、滅菌蒸留水で2回洗浄した。殺菌後、実体顕微鏡下で茎頂または腋芽から直径0.3~0.5mmの成長点を摘出した。摘出した成長点を培地に置床し、24°C設定・光強度 $35\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、24時間照明の恒温器で約2ヵ月間培養した。試験は2014年に、時期を変えて計2回実施した。各試験区の供試数は2回の合計で20個以上を用いた。供試数が培地により異なるのは、供試植物の状態により採取可能な成長点数が異なったためである。培養開始から2ヵ月後に雑菌汚染率、生存率、無菌シュート伸長率（供試した成長点に対する、雑菌・内生菌の感染がなくシュートが伸長した成長点の割合）を調査し、実施した2回の平均値を求めた。

3. 低減培地での培養苗生産効率の評価（試験2）

低減培地における培養苗の生産効率を評価するため、対照のB1培地および試験1で供試したB3培地で初代培養、継代増殖、発根・順化（図版2）を行い、培養苗生産効率の評価指標として最終的な成苗獲得数を算出した。前述の7品種を供試し、2017~2020年に実施した。初代培養は1つの品種について時期を変えて複数回実施した。各品種で供試した成長点の数と実施回数は、‘ヨホホワイト’は22~45×4回、‘クリアピンク、パールピンク、シルキーホワイト’は17~30×2回、‘サニーレッド、スノーピンク’は7~16×3~4回とした。なお、‘チェリーピンク’は試験1で作出した初代培養の伸長シュートを継代培養以降の工程にそのまま使用したため、試験2での初代培養は省略した。供試数と統計処理については、試験1と同様に1つの実施回を1つの集団として平均値の算出と統計処理を行った。また初代培養の培地、操作方法、調査内容も試験1と同様である。さらにシュート伸長率、無菌シュートの伸長率を調査した。また初代培養開始から2ヵ月後、得られた伸長シュートを1節ごとにメスで切り分けて継代培地に植え替えた。この時に得られたシュート本数を初代培養終了時のシュート増

殖本数とした。

次に継代培養の繰り返しによる増殖を行った。継代培養の培地組成は初代培養と同様とし、直径8cmのガラス製培養瓶に約30mLの培養液を充填し、水平に固めたものを使用した。培地へ定植後、初代培養と同一の環境で培養した。ブバルディアの培養苗は、事前の同様の試験において、同一母株の異なる成長点に由来する培養苗で奇形花の発生程度が異なる事例があったことから（未発表）、継代培養の供試数は、初代培養で得られたシュートを初代培養で摘出した成長点ごとに1系統として扱い、‘チェリーピンク’は2系統、‘ヨホホワイト’は10系統、‘パールピンク、シルキーホワイト’は5系統、‘クリアピンク’は3系統、‘サニーレッド’は13系統、‘スノーピンク’は8系統を供試した。なお、品種によって供試系統数が異なるのは、初代培養で得られた伸長シュート数が異なるためである。以降、1ヵ月ごと3ヵ月目まで同様の継代操作を繰り返し、各月の増殖本数から増殖倍率（継代培養における、1ヵ月で増殖したシュート本数の前月比）を算出した。継代培養開始時のシュート本数は初代培養終了時のシュート増殖本数とした。

3回目の継代培養から約3週間後に馴化を行った。培地から取り出したシュートを水洗した後、1節以上を含み、長さ2~3cmになるようにハサミで切り分けた。各節の葉は残し、切断面は斜めになるようにカットして、バーミキュライトを充填した200穴セルトレイの培地に挿し木した。底面に水を張ったプラスチック容器にセルトレイを入れて食用ラップで容器の開口部を覆い、約2ヵ月の間にラップの穴を徐々に増やすことで馴化を行った。馴化は25°C、光強度 $150\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、24時間照明のクリーンルームで行った。馴化した供試数は、‘ヨホホワイト’は40~80本×5系統、‘パールピンク、シルキーホワイト’は20~80本×5系統、‘クリアピンク’は20~80本×3系統、‘サニーレッド’は13~50×3系統、‘スノーピンク’は26~28×2系統（ただしB3区は欠測）とした。ただし、チェリーピンクでは15~20本×2系統×8反復（2系統を分割して各8集団繰り返し）とした。馴化開始から2ヵ月後にシュートの生存率、発根率（発根したシュートの割合）、発根程度を調査した。発根程度は、生存した各シュートについて発根量を0（無）、1（少）、2（中）、3（多）の4段階で評価し、次の式により算出した；発根程度 = Σ （発根量指数

×指数別本数) / 生存本数で評価)。得られたデータについて、品種と培地の影響の程度を評価するため分散分析を行った。ただしスノーピンクのB3培地は欠測のため、分散分析はそれ以外の品種で行った。

最終的な培養苗の生産効率を評価するため、成苗獲得数を算出した。成苗獲得数はそれぞれの品種および培地において、1個の成長点から培養で得られる発根シュート本数を示し、次の計算方法で算出した；成苗獲得数(本) = 初代培養における無菌シュートの実質伸長率(%) × 1/100 × 継代培養3ヵ月目の増殖本数(本) × 馴化後の発根率(%) × 1/100。

結果

1. 培地の植物ホルモン濃度の検討(試験1)

‘チェリーピンク’を植物ホルモン濃度の異なる培地で初代培養を行った結果、低減培地のB3で生存率が46%と、ほかの培地より比較的高い傾向にあった。シュート伸長率は、B1およびB3培地において、それぞれ22%、17%であり、伸長したシュートはすべて無菌シュートであった(表1)。一方、B2培地では伸長シュートがまったく得られなかった。

表1 チェリーピンクの成長点培養に培地中の植物ホルモン濃度が及ぼす影響

培地	BA濃度 (mg・L)	NAA濃度 (mg・L)	供試数 (個)	雑菌 汚染率 (%)	生存率 (%)	シュート 伸長率 (%)	無菌 シュート 伸長率 (%)
B1(従来法)	1.0	0.01	23	43	22	22	22
B2	0.2	-	21	33	29	0	0
B3	0.2	0.01	24	38	46	17	17

2. 低減培地でのシュートの生産効率の評価(試験2)

植物ホルモン濃度の異なる培地で7品種の初代培養を行ったところ、いずれの品種もB1とB3の両培地で伸長シュートが得られた(表2)。また初代培養終了時のシュート増殖本数は、‘チェリーピンク、クリアピンク、パールピンク、サニーレッド’の4品種で、B3培地よりもB1培地のほうが有意に多かった。

継代培養における増殖本数は、反復間のばらつきが大きいものの、各品種および時期の培地間で比べると、B1のほうが有意に多いか、両培地で同程度であった。(表3)。各月の増殖本数は、‘シルキーホワイト、クリアピンク、パールピンク、スノーピンク’でB1培地の方が有意に高い月があり、全期間の平均の増殖倍率は‘シルキーホワイト、クリアピンク、パールピンク’でB1培地のほうが有意に高くなった。

伸長シュートの馴化後、すべての品種および培地で発根シュートを得ることができた(表4)。培地と品種間で分散分析を行ったところ、品種の要因でいずれの項目でも有意差があり、培地よりも品種特性のほうが培養苗の発根に与える影響は大きかった。

1個の成長点の培養から得られる成苗獲得数を算出したところ、いずれの品種でもB3培地よりB1培地の方が多く、その差は約1/4～1/10であった(表5)。

考察

培養増殖はウイルスフリー苗を生産する上で必要不可欠な技術であり、ブバルディアにおいてはキュウリモザイクウイルスを回避し、健全な苗を得るうえで重要である。また培養苗生産において、奇形花の発生等の培養変異を低減できる技術を確立することは、切り花の生産効率および品質を向上することに有用である。本研究では、奇形花の多発は培養変異に起因し、低ホルモン濃度の培地で発生を低減化できるとの仮説を検証することをねらいとし、ブバルディアの培養に適用できる低ホルモン濃度の培地条件を検討した。その結果、ホルモン濃度を従来より低減したB2およびB3培地のうち、B3培地で無菌シュートを得ることができた(表1)。「チェリーピンク」の初代培養において、NAAを含まないB2培地では培養シュートを得ることができなかったことから、「チェリーピンク」の培養にはNAA

表2 培地中の植物ホルモン濃度が初代培養に及ぼす影響

品種	培地	雑菌汚染率 (%)	生存率 (%)	シュート伸長率 (%)	無菌シュート伸長率 (%)	初代培養終了時のシュート増殖本数 (本)
チェリーピンク	B1					10.5 ± 1.5
	B3					4.0 ± 0.0
*						
ヨホワイト	B1	70 ± 5	62 ± 6	30 ± 7	11 ± -	4.0 ± 0.4
	B3	64 ± 5	52 ± 6	16 ± 4	8 ± -	3.0 ± 0.3
NS						
シルキーホワイト	B1	25 ± 7	63 ± 13	46 ± 25	43 ± 22	5.4 ± 0.6
	B3	25 ± 4	66 ± 5	39 ± 14	37 ± 16	4.3 ± 0.8
NS						
クリアピンク	B1	12 ± 1	86 ± 3	79 ± 9	78 ± 11	8.0 ± 1.5
	B3	16 ± 5	74 ± 1	58 ± 8	54 ± 4	4.3 ± 0.3
NS						
パールピンク	B1	41 ± 4	58 ± 11	53 ± 6	33 ± 2	5.0 ± 0.3
	B3	36 ± 4	54 ± 9	47 ± 2	34 ± 3	3.8 ± 0.4
NS						
サニーレッド	B1	29 ± 14	47 ± 7	47 ± 7	42 ± 9	3.2 ± 0.4
	B3	24 ± 11	60 ± 9	47 ± 7	44 ± 7	1.7 ± 0.2
NS						
スノーピンク	B1	28 ± 6	60 ± 4	36 ± 4	32 ± 7	5.5 ± 0.9
	B3	11 ± 4	48 ± 6	26 ± 10	26 ± 10	2.5 ± 0.6
NS						

脚注) -は欠測, ±標準誤差。品種ごとに培地間でt検定を行った。*: 5%水準で有意差あり, NS: 有意差なし。チェリーピンクのB1, B3培地における雑菌汚染率, 生存率, シュート伸長率, 無菌シュート伸長率は表1と同じ

表3 培地中のホルモン濃度がシュート増殖に及ぼす影響

品種	培地	1カ月目		2カ月目		3カ月目		平均増殖倍率 (倍/月)
		増殖本数 (本)	増殖倍率 (前月比)	増殖本数 (本)	増殖倍率 (前月比)	増殖本数 (本)	増殖倍率 (前月比)	
チェリーピンク	B1	42.0 ± 2.0	4.0	126.5 ± 34.5	3.0	318.5 ± 91.5	2.5	3.2
	B3	16.0 ± 3.0	4.0	48.5 ± 4.5	3.0	142.5 ± 10.5	2.9	3.3
NS								
ヨホワイト	B1	10.0 ± 1.5	2.5	30.0 ± 5.0	3.0	68.0 ± 11.7	2.3	2.6
	B3	9.0 ± 1.4	3.0	26.0 ± 5.3	2.9	65.0 ± 12.8	2.5	2.8
NS								
シルキーホワイト	B1	23.0 ± 3.4	4.3	100.5 ± 20.5	4.4	298.0 ± 53.6	3.0	3.9
	B3	11.0 ± 2.3	2.6	26.3 ± 7.1	2.4	52.3 ± 15.1	2.0	2.3
**								
クリアピンク	B1	24.0 ± 3.0	3.0	62.4 ± 12.8	2.6	185.1 ± 47.3	3.0	2.9
	B3	12.3 ± 1.8	2.8	23.3 ± 2.4	1.9	41.3 ± 9.3	1.8	2.2
**								
パールピンク	B1	19.2 ± 2.4	3.8	63.8 ± 6.8	3.3	194.1 ± 26.9	3.0	3.4
	B3	8.8 ± 2.2	2.3	28.0 ± 8.4	3.2	59.6 ± 10.4	2.1	2.5
**								
サニーレッド	B1	9.5 ± 1.8	3.0	29.2 ± 7.8	3.1	115.4 ± 50.9	4.0	3.3
	B3	4.9 ± 1.4	2.9	11.1 ± 5.1	2.3	31.4 ± 14.9	2.8	2.7
NS								
スノーピンク	B1	20.8 ± 1.6	3.8	72.3 ± 9.6	3.5	151.5 ± 6.9	2.1	3.1
	B3	9.3 ± 2.5	3.7	26.8 ± 9.7	2.9	75.5 ± 26.0	2.8	3.1
NS								

脚注) ±標準誤差 培地間でt検定を行った。**: 1%水準で有意差あり, *: 5%水準で有意差あり, NS: 有意差なし

表4 培地中のホルモン濃度がシュート発根に及ぼす影響

品種	培地	シュート発根		
		生存率 (%)	発根率 (%)	発根程度
チェリーピンク	B1	95 ± 1.3	87 ± 2.3	2.3 ± 0.1
	B3	96 ± 1.2	85 ± 3.4	2.2 ± 0.1
ヨホホワイト	B1	95 ± 1.5	75 ± 6.4	1.9 ± 0.3
	B3	94 ± 2.6	78 ± 5.6	2.0 ± 0.1
シルキーホワイト	B1	85 ± 3.1	49 ± 5.5	1.6 ± 0.2
	B3	88 ± 5.2	56 ± 6.3	1.6 ± 0.2
クリアピンク	B1	89 ± 3.7	37 ± 12.2	1.0 ± 0.3
	B3	78 ± 2.6	26 ± 6.9	0.8 ± 0.2
パールピンク	B1	87 ± 1.8	44 ± 6.3	1.3 ± 0.2
	B3	92 ± 2.2	59 ± 5.4	1.7 ± 0.2
サニーレッド	B1	100 ± 0.0	51 ± 15.1	1.4 ± 0.4
	B3	87 ± 3.4	36 ± 9.6	0.9 ± 0.3
スノーピンク	B1	98 ± 1.9	32 ± 22.6	0.6 ± 0.4
分散分析		生存率(%)	発根率(%)	発根程度
品種		**	**	**
培地		NS	NS	NS
品種×培地		*	**	**

脚注) ±標準誤差 分散分析 **: 1%水準で有意差あり, *: 5%水準で有意差あり, NS: 有意差なし

が影響する可能性が示された。また、B3培地では調査した7品種すべてにおいて培養苗生産が可能であることが明らかとなった(表2~5)。

苗の生産効率を示す成苗獲得数は、従来のB3培地はB1培地の1/4~1/10程度と少なかった(表5)。一方、一連の苗生産の過程で、初代培養のシュート伸長率および順化時の挿し木発根率については、いずれの品種も両培地間に有意な差はみられなかった(表2, 表4)。初代培養の終了時および継代培養でのシュート増殖時には、多くの品種で増殖本数や増殖倍率においてB1培地が有意に優れていた(表3)。これらのことから、苗の生産効率の差は、主としてシュート増殖の差に起因すると考えられた。

本実験では成苗獲得数において顕著な品種間差がみられた(表5)。品種間差は初代培養、シュート増殖、挿し木発根の各段階でもみられた。組織培養に対する品種間の反応の違いは他の植物でも報告があり(岡田ら, 2003; 宮崎ら, 1976)、本研究においても植物ホルモンへの反応性の違い等が影響した可能性がある。

B3培地で培養苗の生産効率が著しく低かった品種については今後、挿し木発根率を高める条件を検討するなどし、生産効率の向上を図ることが重要と考えられる。

以上、本研究ではホルモン濃度を低減したB3培

表5 成苗獲得数

品種	培地	成苗獲得数 (本)
チェリーピンク	B1	60.2
	B3	20.1
ヨホホワイト	B1	5.6
	B3	4.0
シルキーホワイト	B1	62.2
	B3	10.8
クリアピンク	B1	53.6
	B3	5.7
パールピンク	B1	28.4
	B3	12.0
サニーレッド	B1	25.0
	B3	5.1
スノーピンク	B1	15.6

地を用いて、多くのブバルディア品種で培養苗を生産できることが明らかになった。今後はB3培地の実用化にむけて、奇形花発生や低減効果や収量などの生産力検定が必要である。

謝辞

本研究の実施にあたり、植物材料をご提供いただいた東京都島しょ農林水産総合センター大島事業所の皆様に厚く御礼申し上げます。

引用文献

- 榮森弘己(1995)伊豆大島のブーバルディア(*Bouvardia × hybrida hort.*)に発生するモザイク病の病原ウイルス並びに弱毒ウイルスによる防除の試み. 東京農試研報. 26: p51-82.
- Fernández, L., E. S. Jiménez (1982) In vitro culture of *Bouvardia ternifolia*. Canadian Journal of Botany. 60 (6): p917-921.
- 小林直恵(1995)ブーバルディアの茎頂培養. 植物バイオテクノロジー試験成績書(昭和62年~平成5年度). 東京都農業試験場. 東京. p8.
- 宮下智人・小坂井宏輔・大槻優華・小幡彩夏・大根田順子・澁澤直恵・鈴木克彰(2021)ブバルディアにおける倍数性および交雑育種の基盤技術の確

- 立と「東京スター」シリーズ3品種の育成. 園学研. 20 (別1) : p292.
- 宮下智人・小坂井宏輔・大槻優華・木下沙也佳・小幡彩夏・大根田順子・澁澤直恵 (2022) ブバルディアの第2期「東京ダブルスター」シリーズ3品種の育成. 令和3年度 東京都農林総合研究センター成果情報. p31-33.
- 宮崎貞巳・田代洋丞・島田恒治 (1976) キクの組織培養 (第1報). 器官形成に関する品種間差異. 佐賀大學農學彙報. 40 : p31-44.
- Marum, L., Rocheta, M., Maroco, J., Oliveira, M.M. and Miguel, C (2009) Analysis of genetic stability at SSR loci during somatic embryogenesis in maritime pine (*Pinus pinaster*). Plant Cell Reports. 28: p 673-682.
- Murashige, T., and F. Skoog (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15: p473-497.
- 大槻優華・小坂井宏輔・宮下智人 (2020) ブバルディア「ヨホワイト」に適合する新たな培養増殖法の確立～奇形花の発生程度に及ぼす培地および培養期間の影響 (2, 3回目開花調査～. 令和2年度 東京都農林総合研究センター成果情報. p43-44.
- 大槻優華・小坂井宏輔・宮下智人 (2022) ブバルディア第2期有望系統の培養法の確立～初代培養, シュート増殖及び発根に及ぼす培地のホルモン濃度の影響～. 令和3年度 東京都農林総合研究センター成果情報. p27-28.
- 信太 馨 (1992) 増補 / 図解組織培養入門 (古川仁朗編). 誠文堂新光社, 東京. P89-91.
- 岡田恵子・荒井 滋・浅尾浩史 (2003) イチゴ培養増殖苗に及ぼすサイトカイニンの影響. 奈良農技セ研報. 34 : p15-24.
- 鈴木克彰・宮下千枝子・菅原優司・竹内浩二・篠原弘亮 (2013) ブバルディアの大量増殖における内生菌の影響. 園学研. 12 (別2) : p233.
- 東京都農業試験場 (1991) III大島特産花き原々種苗増殖事業. 平成元年・2年度試験成績書. p44-48.
- 東京都農業試験場 (1991) III大島特産花き原々種苗増殖事業. 平成7・8年度試験成績書. p55-56.
- 豊田秀吉・大形浩・松田克礼・茶谷和行・平井篤造 (1985). トマト葉外植片からの植物体再生. 植物組織培養. 2 (2) : p70-73.

Phytohormone concentration effects on propagation in *Bouvardia* meristem tissue culture

Yuka Otsuki ^{1*}, Kosuke Kosakai ¹, Katsuaki Suzuki ², Chieto Miyashita ¹

¹Tokyo Metropolitan Agriculture and Forestry Research Center

²Currently Tokyo Metropolitan islands Area Research and Development Center of Agriculture, Forestry and Fisheries

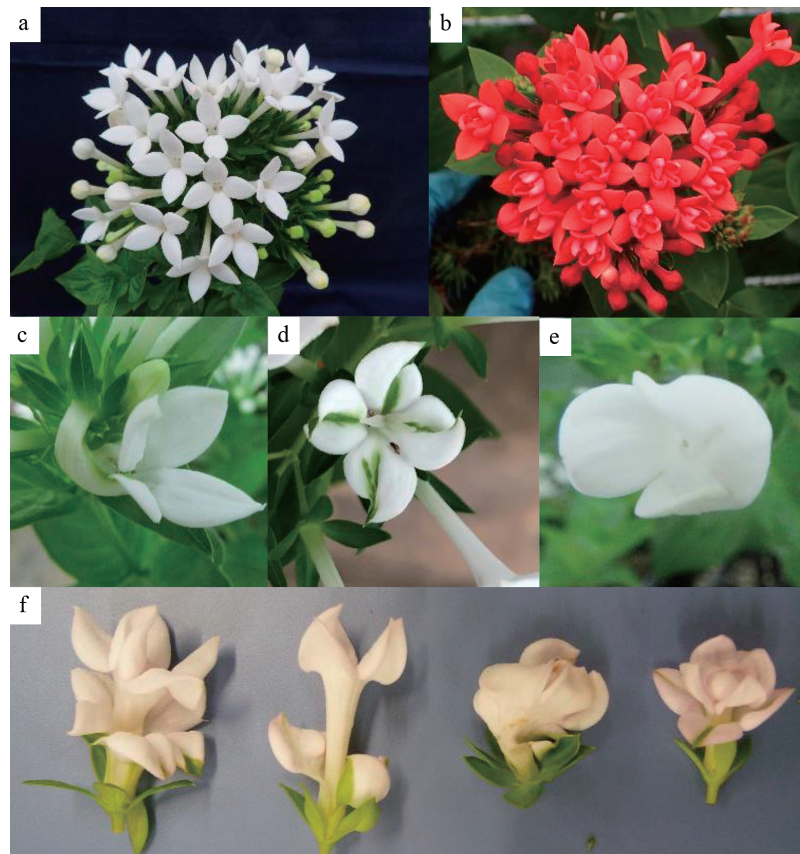
Abstract

In *Bouvardia* spp., the occurrence of malformed flowers in virus-free plants produced from meristem tissue cultures is problematic. This was thought to be a culture mutation caused by the effects of plant hormones. This study, we evaluated the effects of phytohormone concentration in the culture medium on the production and growth efficiency of regenerated plants to reduce malformed flower development. To confirm whether it is possible to culture plants on a medium with a reduced concentration of phytohormones compared to the conventional standard medium B1 (MS medium + BA 1.0 mg/L, NAA 0.01 mg/L), plants on three different media with different phytohormone concentrations were cultured, and regenerated shoots on B3 medium (MS medium + BA 0.2 mg/L, NAA 0.01 mg/L) were obtained. Thereafter, to evaluate the growth efficiency of the regenerated plants on B3 medium, meristematic tissue cultures were cultured on B1 and B3 media using seven cultivars. Although cultured shoots were obtained on the B3 medium for all varieties, the growth efficiency of the cultured seedlings was higher on the B1 medium for all varieties. Further studies are needed to evaluate the degree of malformed flower development in seedlings grown on B3 medium.

Keywords: auxin, cytokinin, micropropagation, Rubiaceae, virus-free plants

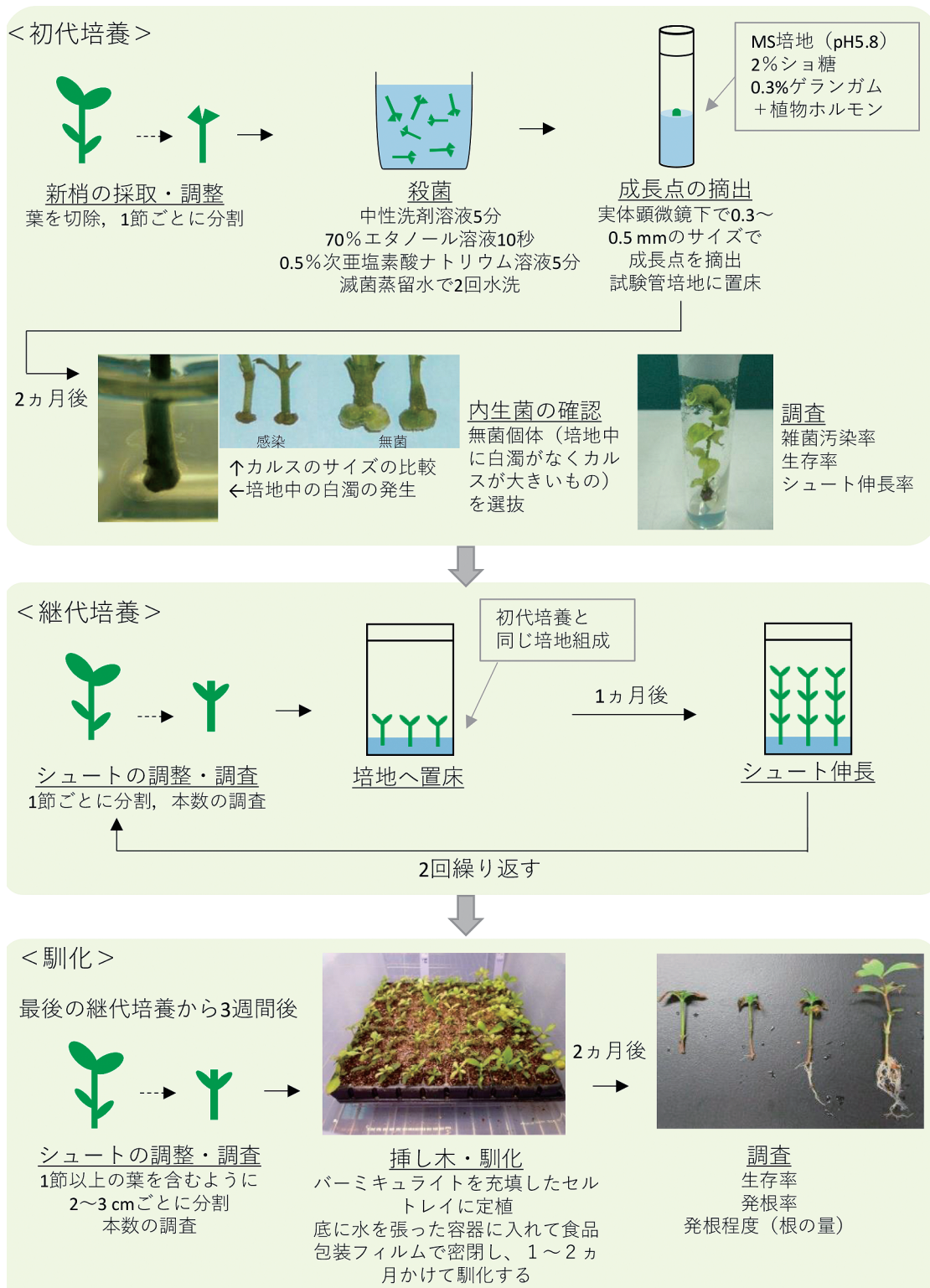
Bulletin of Tokyo Metropolitan Agriculture and Forestry Research Center, 19: 41-50, 2024

Corresponding author: y-otsuki@tdfaff.com



図版1 奇形花の形態

- a) 正常花（一重系品種：‘東京スターシリーズ シルキーホワイト’）
b) 正常化（八重系品種：‘東京ダブルスターシリーズ サニーレッド’）
c～f) 奇形花（c：曲がり，d：緑，e：花卉融合，f：不完全形成）



図版2 本研究における成長点培養苗作出および調査の手順