

〔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1期3品種の培養法の確立

～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～

小坂井宏輔・宮下千枝子

(園芸技術科)

---

【要 約】ブバルディアの新品種「東京スター シルキーホワイト、クリアピンク、パールピンク」では、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が可能であり、発根シュートを得られる。シュートの増殖効率は、高濃度ホルモン培地のほうが高い。

---

### 【目 的】

2019年8月に出願公表されたブバルディア第1期3品種については、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】

「東京スター（以下、略）シルキーホワイト、クリアピンク、パールピンク」の挿木苗を供試した。茎頂を採取し、常法で殺菌した後、茎頂から成長点を摘出し、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3ヵ月目に増殖本数を調査した。
3. 挿し木順化：培養3ヵ月目のシュートを長さ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：「クリアピンク」は他2品種より雑菌汚染率が低く、シュート伸長率が高い傾向であった（表2）。内生菌感染率はいずれの品種も4%以下と低率であった。このため、両培地での雑菌・内生菌非感染シュートの割合は、「クリアピンク」では54～78%と高く、他2品種では33～43%とやや低かった。
2. 継代培養：培養3ヵ月目におけるシュートの増殖本数は、いずれの品種も、B1のほうがB3より3.2～5.8倍と顕著に多かった（図1）。
3. 挿し木順化：いずれの品種も、培地間で生存率、発根率、発根程度に有意な差はなかった（表3）。また、「クリアピンク」の発根率と発根程度は、他2品種より低い傾向であった。
4. 本試験の結果を「ヨホワイト」（H30, H31 成果情報）と比較すると、3品種の増殖本数はB1で多く、B3で概ね同程度であった。また、発根率と発根程度は両培地で低い傾向であり、「ヨホワイト」とは培養の反応性が異なることが示唆された。

### 【残された課題・成果の活用・留意点】

発根シュートの鉢上げ後、生育や奇形花の発生程度などを評価し、培養法を確立する。

表 1 培養および挿木順化の条件

殺菌処理		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
培地	基本組成	MS+シヨ糖 2%+ゲランガム 0.3%, pH 5.8
	ホルモン濃度	B1培地 (対照) : BA 1.0 mg/L, NAA 0.01mg/L B3培地 : BA 0.2 mg/L, NAA 0.01mg/L
環境設定	共通	24℃設定, 24時間明条件
	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<sup>a</sup>

系統名	培地	雑菌汚染率 (%)	生存率 (%)	シュート伸長率 <sup>b</sup> (%)	内生菌感染率 <sup>c</sup> (%)	雑菌・内生菌非感染シュートの割合 (%)
シルキーホワイト	B1	25 ± 7	63 ± 13	46 ± 25	0 ± 0	43 ± 22
	B3	25 ± 4	66 ± 5	39 ± 14	0 ± 0	37 ± 16
クリアピンク	B1	12 ± 1	86 ± 3	79 ± 9	4 ± 4	78 ± 11
	B3	16 ± 5	74 ± 1	58 ± 8	2 ± 2	54 ± 4
パールピンク	B1	41 ± 4	58 ± 11	53 ± 6	0 ± 0	33 ± 2
	B3	36 ± 4	54 ± 9	47 ± 2	1 ± 1	34 ± 3

a) 2019年1月, 2月に成長点培養を行った。摘出サイズは概ね直径0.3mmとした。供試数は1区あたり17~30×2反復とした。 b) 5mm以上伸長成長したシュートが発生した割合 c) H25年度研究速報のデータの基づき, 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。

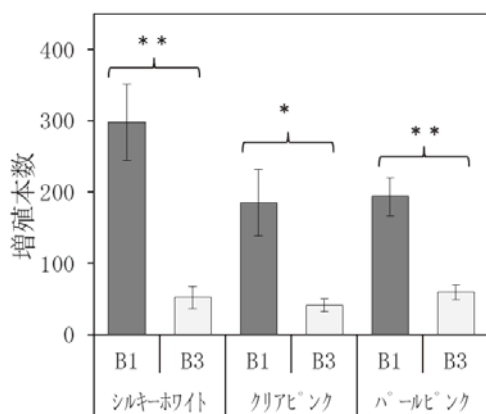


図 1 継代培養3ヵ月目におけるシュートの増殖本数

継代培養は2019年5月から行った。供試数はシルキーホワイトおよびパールピンクでは1本×5反復, クリアピンクでは1本×3反復とした。表中のエラーバーは標準誤差を示す。品種ごとに培地間でt検定を行った。

\*\* : p<0.01, \* : p<0.05

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<sup>a</sup>

系統	培地	生存率 (%)	発根率 (%)	発根程度 <sup>b</sup>
シルキーホワイト	B1	85 ± 3	49 ± 6	1.6 ± 0.2
	B3	88 ± 5	56 ± 6	1.6 ± 0.2
クリアピンク	B1	89 ± 4	37 ± 12	1.0 ± 0.2
	B3	78 ± 3	26 ± 7	0.8 ± 0.2
パールピンク	B1	87 ± 2	44 ± 6	1.3 ± 0.2
	B3	92 ± 2	59 ± 5	1.7 ± 0.2

a) 挿し木は2019年9月に行った。供試数は1区あたり20~80本とし, シルキーホワイトおよびパールピンクは5反復, クリアピンクは3反復とした。表中の値は平均±標準誤差を示す。品種ごとに培地間でt検定を行った。NS=有意差なし b) 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, 発根程度=Σ(発根量指数×指数別本数)/生存本数で評価した。