

〔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「ヨホホワイト」に適合する新たな培養増殖法の確立
～初代培養およびシュート増殖における好適な培養条件の検討～

小坂井宏輔・小糸優華*・宮下千枝子

(園芸技術科) *現島しょセハ丈

【要 約】「ヨホホワイト」の培養増殖において、低ホルモンおよび短期間の培養条件では、初代培養の成功率および継代培養の増殖効率は従来法と同程度である。

【目 的】

改良した培養法由来の「ヨホホワイト」苗では生産力検定で奇形花などの問題が生じ、培養変異に起因すると推測された。「チェリーピンク」ではこれまでに、奇形花の抑制をねらいとして低ホルモンおよび短期間の培養試験を行い、初代培養とシュートの増殖に成功している。そこで、「ヨホホワイト」においても同条件で試験を行い、初代培養とシュート増殖に及ぼす影響を評価する。

【方 法】

島しょセンター大島事業所から提供された「ヨホホワイト」の挿し木苗を供試した。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、継代培養の期間は5ヵ月(対照)と3ヵ月とした。操作・調査内容は以下の通りである。

1. 初代培養：成長点を1区あたり22～45個×4反復供試した。置床から1ヵ月後に雑菌汚染率を、2ヵ月後に生存率、シュート伸長率、内生菌感染率を調査した。
2. 継代培養：初代培養から2ヵ月後のシュートを各1本×10反復供試して、節ごとにシュートを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5ヵ月目まで増殖した。1ヵ月ごとに増殖本数と増殖倍率を調査した。

【成果の概要】

1. 初代培養：B1(対照)とB3では、生存率・シュート伸長率に有意差はなく、8～11%の確率で雑菌・内生菌に非感染のシュートを得ることができた(表2)。このことから、「ヨホホワイト」初代培養においても、B3での成功率はB1と同程度と考えられた。
2. 継代培養：B3におけるシュートの増殖本数は、3ヵ月目が65本、5ヵ月目が380本で、どちらの期間もB1(68本、385本)と同程度であった(図1)。継代ごとの増殖倍率の変化をみると、両培地間ではいずれの培養期間においても有意差が無く、同様の推移を示した(図2)。すなわち、初回は3倍強で、それ以降は緩やかに減少し、3ヵ月目以降は2.5倍前後であった。これらのことから、B3のシュート増殖効率は、B1と同程度であると考えられた。なお、「チェリーピンク」で実施した同様の試験(H29成果情報)と比べると、「ヨホホワイト」での培養3ヵ月目、5ヵ月目における増殖本数は、両培地ともに「チェリーピンク」の5割未満と少なく、品種間差のあることが示唆された。

【残された課題・成果の活用・留意点】

今後は両培地の3ヵ月・5ヵ月培養のシュートについて、挿し木順化時の発根率、順化苗の初期生育、奇形花発生程度などを評価する。

表1 培養の条件

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+ショ糖 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		24℃設定, 光強度35 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 24時間明条件

表2 「ヨホホワイト」成長点培養に及ぼす初代培地の影響^{a)}

培地	雑菌汚染率 ^{b)} (%)	生存率 ^{c)} (%)	シュート 伸長率 ^{d)} (%)	内生菌 感染率 ^{e)} (%)	雑菌・内生菌非感染 シュートの割合 (%)
B1 (対照)	70±5	62±6	30±7	0	11
B3	64±5	52±6	16±4	0	8
t検定 ^{f)}	NS	NS	NS	NS	-

a) 2018年3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。雑菌汚染率, 生存率, シュート伸長率, 内生菌感染率は1区あたり22~45本×4反復とした。表中の値は平均±標準誤差を示す。b) 雑菌に汚染した割合 c) 雑菌の有無に関わらず, 生存していた割合 d) 雑菌汚染の有無に関わらず, 5mm以上に伸長成長したシュートが発生した割合 e) H25年度速報のデータに基づき, 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。f) NS:有意差なし - :検定データなし

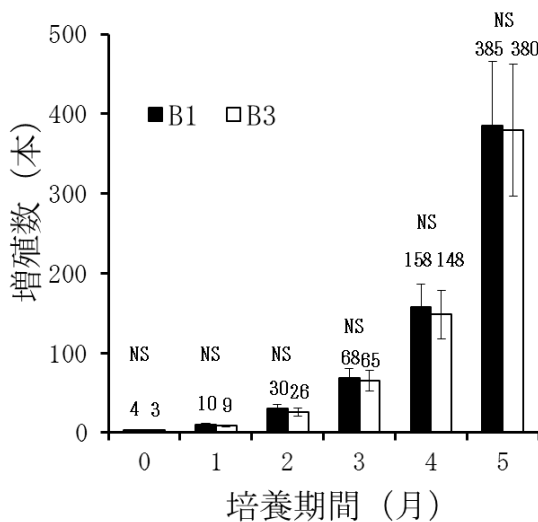


図1 継代培養におけるシュートの増殖本数

継代培養は2018年5月から行った。供試数は1本×10反復とした。初回(0ヵ月目)は2ヵ月間初代培養したシュートを継代し,以降は1ヵ月ごとに継代した。表中のエラーバーは標準誤差を示す(n=10)。2培地間で培養期間ごとにt検定を行った。NS:有意差なし

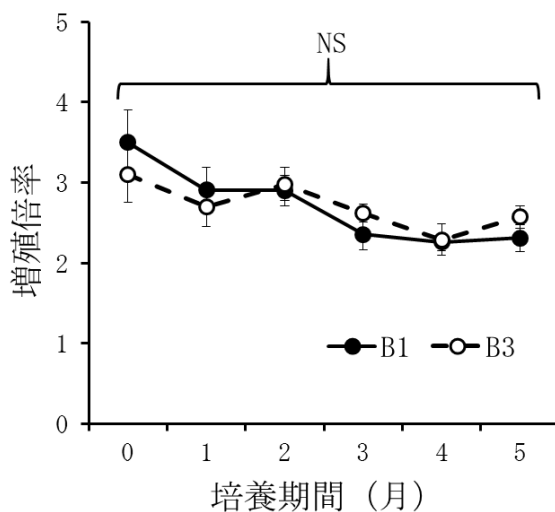


図2 継代培養におけるシュートの増殖倍率

表中のエラーバーは標準誤差を示す(n=10)。2培地間で培養期間ごとにt検定を行った。NS:有意差なし