

〔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「チェリーピンク」に適合する新たな培養増殖法の確立
～培養シュートの増殖・発根に及ぼす培地および培養期間の影響～

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】「チェリーピンク」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、従来法より増殖本数は減少するが、継代培養1ヵ月目以降の増殖倍率は同程度であり、発根率は同等以上となる。

【目 的】

大島の基幹品目「チェリーピンク」では、改良した培養法によりウイルスフリー苗生産の増殖効率の向上に成功したが、生産された苗では奇形花などの問題が生じた。これらは培養変異に起因すると推測されたため、新たな培養法を確立する。本試験では、培地のホルモン濃度の低減や培養期間の短縮が増殖効率や発根に及ぼす影響を明らかにする。

【方 法】

「チェリーピンク」の成長点培養で得られた、内生菌非感染のシュートを供試した。培地はB1(対照)と低ホルモンのB3とし(表1)、培養期間は5ヵ月(対照)と3ヵ月とした。これらを組合せた4試験区を設けた。作業、調査内容は以下の通りである。

1. 継代培養：B1 または B3 を用いた成長点培養から2ヵ月後のシュートを各1本×2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、3または5ヵ月目まで増殖した。各区の増殖本数と倍率を調査した。
2. 挿し木順化：継代培養3または5ヵ月目のシュートを用い、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。その後はインキュベータ内で順化し、2ヵ月後に発根率などを調査した。発根シュートは鉢上げし、2ヵ月後に初期生育を調査した。

【成果の概要】

1. 継代培養：シュートの増殖本数を5ヵ月の2区間で比較すると、B1の2716本に対してB3は41%と少なく、3ヵ月区でも同じ傾向であった(表2)。2培地における継代ごとの増殖倍率の変化をみると(図1)、初回にはB1が11倍、B3が4倍と顕著な差があったが、それ以降は2.5～4倍の範囲で同程度の推移を示した。このことから、B1とB3の増殖本数の差は、初回の継代に起因することが判明した。
2. 挿し木順化：発根率・発根程度(図2)について、培地と培養期間の間で2元配置の分散分析を行った結果、交互作用はなかった(表3)。また、培地間では発根率と発根程度に差はなかったが、培養期間の間では3ヵ月区のほうが有意に高かった。また、鉢上げ後の初期生育については、対照区より他3区のほうで生存率が高い傾向となった。

【残された課題・成果の活用・留意点】

1. 低ホルモン・短期間の条件では、対照に比べてシュートの増殖本数が半数以下に低下した。ただし、継代1ヵ月目以降の増殖倍率は同程度であり、発根率は同等以上であった。よって、苗生産効率の低下はある程度抑制できると考えられた。
2. 各区の培養苗を大島で生産力検定し、奇形花の発生程度や収量性などを評価する。

表1 継代培養および挿し木順化の条件

培地	基本組成	MS+ショ糖2%+ゲランガム0.3%, pH5.8
	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	継代培養	24℃設定。光強度 $35\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 24時間明条件
	挿し木順化	24℃設定。光強度 $45\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 24時間明条件

表2 培地と培養期間が継代培養におけるシュートの増殖本数に及ぼす影響^a

試験区 (培地-培養期間)	増殖本数
B1-5ヵ月(対照)	2716±1025
B1-3ヵ月	319±92
B3-5ヵ月	1118±213
B3-3ヵ月	143±11

a) 継代培養は2017年3月から行った。供試数は1区あたり1本×2反復とし、1ヵ月ごとに継代した。表中の値は平均±標準誤差を示す。

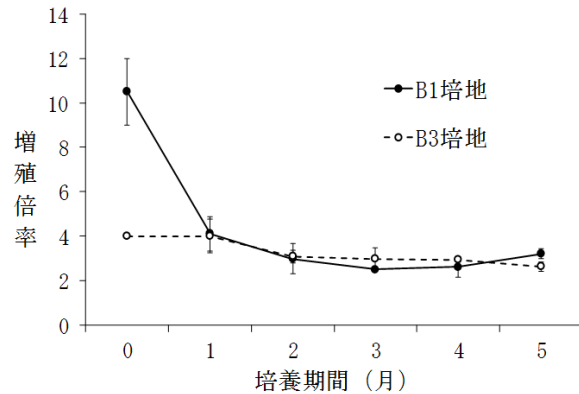


図1 継代培養におけるシュートの増殖率

初回(0ヵ月目)は2ヵ月間成長点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。
エラーバーは標準誤差を示す(n=2)。

表3 培地と培養期間がシュートの発根と初期生育に及ぼす影響

試験区 (培地-培養期間)	挿し木順化2ヵ月後調査 ^a			鉢上げ2ヵ月後調査 ^c	
	生存率 (%)	発根率 (%)	発根程度 ^b	生存率 (%)	葉色程度 ^d
B1-5ヵ月(対照)	93.1	65.0	1.6	65.0±12.5	2.1±0.0
B1-3ヵ月	95.0	86.9	2.3	82.5±5.0	2.3±0.0
B3-5ヵ月	97.5	75.0	1.9	83.8±8.8	2.2±0.1
B3-3ヵ月	96.1	84.7	2.2	88.8±8.8	2.3±0.0
分散分析表 ^e	生存率	発根率	発根程度		
培地	p<0.05	n. s.	n. s.	—	—
培養期間	n. s.	p<0.01	p<0.01	—	—
培地×培養期間	n. s.	n. s.	n. s.	—	—

a) 挿し木は3ヵ月区では2017年6月, 5ヵ月区では8月に行った。供試数は1区あたり15~20本×8反復とした。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。c) ガラスハウス内で調査を行った。供試数は1区あたり40株×2反復とした。表中の値は平均±標準誤差を示す。d) 各シュートについて葉色を0(枯)から3(良)の4段階で評価し、葉色程度=Σ(葉色指数×指数別株数)/生存株数で評価した。e) 培地と培養期間とで2元配置の分散分析を行った。n. s.: 有意差なし

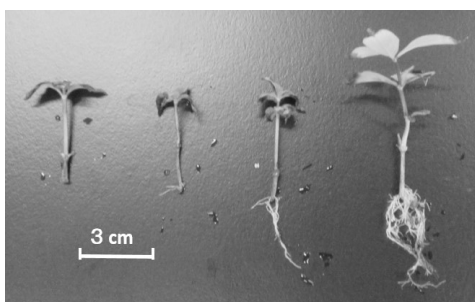


図2 シュートの発根程度

左から発根量を0(無), 1(少), 2(中), 3(多)と評価した。