

[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
～成長点培養における好適な初代培養条件の検討～

大槻優華・宮下千枝子・鈴木克彰*・大根田順子*²
(園芸技術科・*²島しょセ大島) *現島しょセ八丈

【要 約】「チェリーピンク」の培養変異を防ぐ培養法を確立するため、成長点培養での好適な初代培養条件を明らかにする。直径約 0.3mm で摘出した成長点を、ホルモン濃度を低減した MS 培地 (BA 0.2mg/L, NAA 0.01mg/L) で培養することで無菌シュートが得られる。

【目 的】

大島のブバルディア基幹品目「チェリーピンク」では、ウイルスフリー苗生産の増殖効率の低さが問題となっている。これまでの試験では培養法の改良により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発生し、培養変異に起因すると推測された。そこで、培養変異の発生しない培養法を確立するため、本試験では初代培養における好適な培地条件を明らかにする。

【方 法】

大島事業所から提供された「チェリーピンク」挿し木苗を供試した。ガラス温室の鉢植えから茎頂を採取し、常法で殺菌した後、茎頂から成長点を摘出して、初代培地に置床した(表 1)。処理は、摘出サイズでは直径約 0.3mm と 0.5mm の 2 水準とした。初代培地では、ホルモン濃度 (BA 0.2~1.0mg/L, NAA 0~0.01mg/L) を変えた B 1, B 2, B 3 培地の 3 水準とした。試験区はこれらを組み合わせた 6 区を設定した。なお、培地のホルモン濃度が低いほど一般には培養変異が少ないことから、これまでに確立したブバルディア標準培地 (B 1, 対照) に対して、本試験では低ホルモン濃度の B 2, B 3 培地を設定した。置床から 1 ヶ月後に雑菌汚染率を、2 ヶ月後に生存率、シュート伸長率、内生菌感染率を調査した。

【成果の概要】

1. 雑菌汚染率・生存率：雑菌汚染率は 29~63% で比較的高い区もあったが、生存率は 13~71% であり、いずれの区も汚染のない生存した切片が得られた(表 2)。雑菌汚染や生存に及ぼす各処理の影響については、一定の傾向はみられなかった。
2. シュート伸長率：B 3 培地と対照の B 1 培地では、どちらの摘出サイズでも 12~29% の確率で伸長シュートが得られた(表 2)。一方、B 2 培地ではシュート伸長が全くみられず、成長点培養の初代培地には適さないと考えられた。
3. 内生菌感染率：B 1 培地では内生菌の感染が 7~13% 発生したが(表 2)、いずれもシュート未伸長の切片であった。B 3 および対照の B 1 培地では、両サイズで内生菌非感染の無菌シュートが 12~29% の確率で得られた。ただし、ウイルスフリー化を図るには、より小さく摘出するのが望ましいことから、サイズは 0.3mm が適切と考えられた。
4. まとめ：「チェリーピンク」の成長点を直径約 0.3mm のサイズで摘出し、従来の標準培地よりホルモン濃度を低減した MS 培地 (BA 0.2mg/L, NAA 0.01mg/L) で培養することで、12% の確率で無菌シュートを得ることができた。

表 1 培養条件

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
成長点の 摘出サイズ	直径約0.3mm
	直径約0.5mm
初代培地の 基本組成	MS+ショ糖 2%+ゲランガム0.3%, pH5.8
初代培地の ホルモン濃度	B1培地 (対照) : BA 1.0mg/L, NAA 0.01mg/L
	B2培地 : BA 0.2mg
	B3培地 : BA 0.2mg/L, NAA 0.01mg/L
環境設定	24°C一定。光強度 $50\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 24時間明条件。

表 2 「チェリーピンク」成長点培養に及ぼす摘出サイズおよび初代培地の影響

培地	摘出 ^b サイズ (mm)	供試 数	雑菌 汚染率 (%)	生存率 (%)	シュート ^c 伸長率 (%)	内生菌 ^d 感染率 (%)	内生菌非感染 シュートの割合 (%)
B1 (対照)	0.3	15	33	27	27	7	27
	0.5	8	63	13	13	13	13
B2	0.3	10	30	30	0	0	0
	0.5	11	36	27	0	0	0
B3	0.3	17	41	35	12	0	12
	0.5	7	29	71	29	0	29

a) 2016年6月～10月に培養を行った。b) 摘出した成長点の概ねの直径。c) 5 mm以上に伸長成長したシュートが発生した割合。d) H25年研究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。