

ブバルディアの生長点培養における殺菌条件の検討

鈴木克彰・宮下千枝子

(園芸技術科)

【要約】ブバルディアの生長点培養における0.5%次亜塩素酸ナトリウム3～10分の殺菌処理では、殺菌時間と雑菌汚染率の間に一定の傾向はみられず、雑菌汚染を低下させることができない。この原因として、内生菌による汚染の可能性がある。

【目的】

大島のブバルディア基幹2品種については、無病苗の増殖効率が低く、必要量が生産・供給できないことが問題となっている。その原因は、培養中の雑菌汚染率が高く、培養シュートの発根率が低いためとされている。ここではまず、雑菌汚染率を低下させるため、生長点培養における適切な殺菌条件を明らかにする。

【方法】

1. 供試品種:「チェリーピンク(以下,ピンク)」と「ヨホホワイト(以下,ホワイト)」の無病苗を供試した。試験1では木質化した枝を用い、茎頂と腋芽を区別せずに生長点培養を行った。試験2では若い枝を用い、茎頂と腋芽を区別して培養した。
2. 培養:茎頂または腋芽が付く節を1個含むように枝を2-3cmずつ分割して、所定の殺菌処理(図1)を行い、茎頂または腋芽から直径0.5mm程度の生長点を摘出して、初代培地に置床した。培地は、BA1.0mg/L+NAA0.01mg/Lを添加したMS試験管培地(pH5.8)を用い、培養条件は $100\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、16時間明条件、培養温度24℃とした。
3. 処理区と調査:試験1・2ともに、0.5%次亜塩素酸ナトリウム水溶液の殺菌時間を3, 5, 7, 10分の4区設けた。置床から2ヵ月後に雑菌汚染率と伸長率を調査した。

【成果の概要】

1. 試験1:木質化した枝を用いた生長点培養では、「ピンク,ホワイト」の両品種ともに、いずれの殺菌時間においても雑菌汚染率は64%以上と高く、殺菌時間と雑菌汚染率の間に一定の傾向は認められなかった(表1)。また、シュートの伸長率は2品種ともにいずれの殺菌時間でも36%以下と低率だった。
2. 試験2:若い枝を用いた生長点培養では、雑菌汚染率は「ピンク」が33~70%、「ホワイト」が0~67%とばらつきが大きいものの、試験1に比べると低率の傾向であった(表2)。しかし、両品種ともに、培養部位(茎頂,腋芽)と雑菌汚染率の間にも、殺菌時間と雑菌汚染率の間にも一定の傾向は認められなかった。伸長率は、「ピンク」が30~65%、「ホワイト」が33~100%とばらつきがあるものの、試験1に比べると高率の傾向であった。
3. まとめ:次亜塩素酸ナトリウム水溶液の殺菌時間を変えて初代培養を行った結果、ほとんどの処理区で無菌シュートを得ることができた。しかし、殺菌時間と雑菌汚染率との間に一定の傾向は認められず、殺菌時間の最適条件を明らかにすることはできなかった。この原因として、内生菌による汚染の可能性がある。

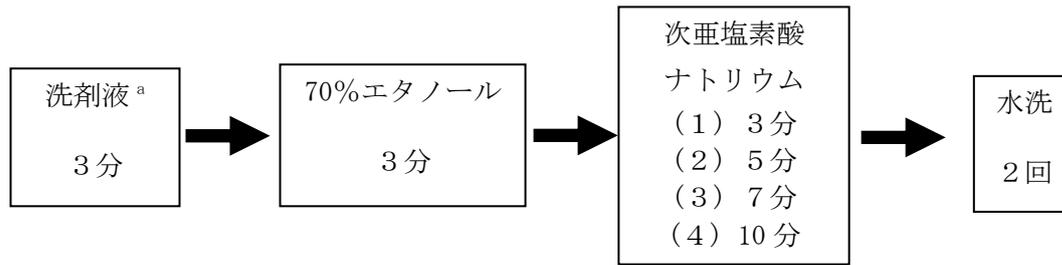


図1 試験1と試験2における殺菌処理方法

a) 界面活性剤

表1 木質化した枝の生長点培養における雑菌汚染率と伸長率（試験1）

| 品種 | 殺菌時間 | 供試数 | 雑菌汚染数 | 雑菌汚染率(%) | 伸長数 | 伸長率 ^a (%) |
|------|------|-----|-------|----------|-----|----------------------|
| ピンク | 3分 | 14 | 9 | 64 | 5 | 36 |
| | 5分 | 14 | 9 | 64 | 5 | 36 |
| | 7分 | 14 | 11 | 79 | 3 | 21 |
| | 10分 | 12 | 8 | 67 | 4 | 33 |
| ホワイト | 3分 | 15 | 10 | 67 | 4 | 27 |
| | 5分 | 16 | 16 | 100 | 0 | 0 |
| | 7分 | 15 | 12 | 80 | 3 | 20 |
| | 10分 | 12 | 8 | 67 | 4 | 33 |

a) 伸長率：5 mm以上に伸長成長した割合

表2 若い枝の生長点培養における雑菌汚染率と伸長率（試験2）

| 品種 | 部位 | 殺菌時間 | 供試数 | 雑菌汚染数 | 雑菌汚染率(%) | 伸長数 | 伸長率 ^a (%) |
|------|----|------|-----|-------|----------|-----|----------------------|
| ピンク | 茎頂 | 3分 | 8 | 3 | 38 | 5 | 63 |
| | | 5分 | 10 | 7 | 70 | 3 | 30 |
| | | 7分 | 9 | 4 | 44 | 5 | 56 |
| | | 10分 | 9 | 3 | 33 | 5 | 56 |
| | 腋芽 | 3分 | 16 | 7 | 44 | 9 | 56 |
| | | 5分 | 17 | 7 | 41 | 10 | 59 |
| | | 7分 | 17 | 6 | 35 | 9 | 53 |
| | | 10分 | 17 | 6 | 35 | 11 | 65 |
| ホワイト | 茎頂 | 3分 | 9 | 6 | 67 | 3 | 33 |
| | | 5分 | 9 | 3 | 33 | 6 | 67 |
| | | 7分 | 10 | 0 | 0 | 10 | 100 |
| | | 10分 | 10 | 4 | 40 | 6 | 60 |
| | 腋芽 | 3分 | 15 | 5 | 33 | 10 | 67 |
| | | 5分 | 16 | 4 | 25 | 11 | 69 |
| | | 7分 | 17 | 7 | 41 | 8 | 47 |
| | | 10分 | 14 | 7 | 50 | 7 | 50 |

a) 伸長率：5 mm以上に伸長成長した割合