

ブドウ品種‘聚楽’の莖頂培養における初期生育培地の検討

京都府立桂高等学校 TAFS第2研究群樹木研究班

中野 幸多 久米 唯月 齊藤 智子 下内 裕也 中野 翔太 宮川 藍 三好 航生 水田 颯良
濱脇 一桜 藤田 紗羽 金安 桜河 藤尾 湊 三好 晴 丹羽 千裕

＜はじめに＞

ブドウ品種‘聚楽’は1570年代に京都での栽培記録が残り、1970年代に消滅したとされていた幻の品種である。しかし、絶滅した‘聚楽’またはその子孫であると考えられる樹齢100年近いブドウ樹が、京都市東山区の民家の庭先で発見された。現在京都府立大学で保存、栽培されているが、り患し蓄積したウイルスの除去に課題が残っている。令和5年度から継続して枝を頂き、莖頂培養を用いたウイルスフリー苗の作出を目標として、莖頂摘出後の初期生育に適した培地の組成について調査をおこなっている。みどりの食料システム戦略の取り組みの1つである、主要病害の抵抗性を有し、かつ、生産性や品質が優れた品種の開発に該当する。

前年度の実験では、植物ホルモン濃度による生存率の調査を行い、一定の成果を得ている。しかし供試数が少なかったことから、今年度は供試数を増やし、さらに休眠枝と緑枝では、培地組成による生存率の違いがあるのではないかと考え比較実験を行った。

＜休眠枝からの莖頂培養＞

実験方法

令和7年3月26日に採取した休眠枝から、3月29日30日の2日間で90芽の莖頂培養を行った。方法は枝を3cm～7cmに切り、70%エタノールで30秒消毒し、気化させた。双眼実体顕微鏡で莖頂分裂組織を摘出し、培地に置床した。調査時の培養数は、コンミネーションした本数を引いた。

培地は、現在までの実験で生存率が高かった、無機塩類濃度を1/2と1/3に調整したMurashige&Skoog (MS) 固体培地を基本培地とし、ナフタレン酢酸 (NAA) 0.2ppmとベンジルアデニン (BA) 0.4ppm添加した培地を対照区とした。試験区として、基本培地にNAA0.1ppm、BA1.0ppmを添加した培地を使用した。

第1表.植物ホルモンの添加量の違いによる生存率の比較						
培地組成 無機塩類濃度	NAA	BA	培地 状態	培養数 (本)	生存数 (本)	生存率* (%)
1/2 MS	0.2	0.4	固体	31	21	68%
1/2 MS	0.1	1.0	固体	10	7	70%

*t検定により5%水準で有意差無し

第2表.植物ホルモンの添加量の違いによる生存率の比較						
培地組成 無機塩類濃度	NAA	BA	培地 状態	培養数 (本)	生存数 (本)	生存率* (%)
1/3 MS	0.2	0.4	固体	33	13	39%
1/3 MS	0.1	1.0	固体	9	7	78%

*t検定により5%水準で有意差有り



第2図. 葉の形成の様子
1/2 MS培地
(NAA0.1ppm、BA1.0ppm)



第3図. 基部が木化した様子
1/3 MS培地
(NAA0.1ppm、BA1.0ppm)

結果と考察

1/2MS培地を基本培地とした実験では、どちらも生存率に大きな差はなかった(第1表)。1/3MS培地を基本培地とした実験では、NAA0.1ppm、BA1.0ppm添加した培地のほうが、有意に生存率が高い結果となった(第2表)。無機塩類濃度を比較すると、1/3MS培地より、1/2MS培地での培養の方が生存率が安定している。それぞれの生育状況は1/3MS培地にNAA0.1ppm、BA1.0ppm添加した培地では、カルス形成や基部が木化した個体が多く確認された。1/2MS培地にNAA0.1ppm、BA1.0ppm添加した培地では、葉の展開や茎の伸長、不定根の形成など生育の良い個体を多く確認することができた。

これらの結果から、休眠枝からの莖頂培養では、基本培地は生存率と生育状況が安定している無機塩類濃度を1/2として、NAA0.1ppm、BA1.0ppmを添加した培地が最適であると考えられる。

＜成果と課題＞ 枝の状態による初期生育培地の確立を行う事ができ、順化可能な培養苗の育成まで行えた。今後、ウイルス検定を行い、ウイルスの有無を確認する。

＜参考文献＞ 前川ら.組織培養によるウイルス無毒化試験(2)ブドウのgrapevine leafroll virusについて.植防研報 第29号.p57-61. 1993
三位ら.植物バイオテクノロジー.p116-119.2025



第1図.‘聚楽’の莖頂

＜緑枝からの莖頂培養＞

実験方法

令和7年7月16日に採取した緑枝から7月17日18日20日21日の4日間で305芽の莖頂培養を行った。実験方法や使用培地は休眠枝と同様とした。

第3表.植物ホルモンの添加量の違いによる生存率の比較						
培地組成 無機塩類濃度	NAA	BA	培地 状態	培養数 (本)	生存数 (本)	生存率* (%)
1/2 MS	0.2	0.4	固体	62	54	87%
1/2 MS	0.1	1.0	固体	55	39	71%

*t検定により5%水準で有意差有り

第4表.植物ホルモンの添加量の違いによる生存率の比較						
培地組成 無機塩類濃度	NAA	BA	培地 状態	培養数 (本)	生存数 (本)	生存率* (%)
1/3 MS	0.2	0.4	固体	65	53	82%
1/3 MS	0.1	1.0	固体	54	37	69%

*t検定により5%水準で有意差無し



第4図. 葉の形成の様子
1/2 MS培地
(NAA0.2ppm、BA0.4ppm)



第5図. 基部が木化した様子
1/3 MS培地
(NAA0.2ppm、BA0.4ppm)

結果と考察

1/2MS培地を基本培地とした実験では、NAA0.2ppm、BA0.4ppm添加した培地のほうが、生存率が高い結果となった(第3表)。1/3培地を基本培地とした実験では、どちらも生存率に大きな差はなかった(第4表)。無機塩類濃度では1/2MS培地、1/3MS培地の生存率には大きな差がなかった。

生育状況は、1/3MS培地にNAA0.2ppm、BA0.4ppm添加した培地と、1/3MS培地NAA0.1ppm、BA1.0ppm添加した培地では、カルス形成や植物体の基部が木化した個体が多く確認された。1/2MS培地にNAA0.2ppm、BA0.4ppm添加した培地では、葉の展開や茎の伸長、不定根の形成など生育の良い個体を多く確認することができた。これらの結果から、緑枝の莖頂培養では、生育状況が安定している1/2MS培地にNAA0.2ppm、BA0.4ppm添加した培地が最適である。

＜休眠枝と緑枝の比較＞

休眠を行っている休眠枝では、植物ホルモン濃度の影響が少なく、細胞分裂を盛んに行う緑枝では、植物ホルモンの影響を受けやすいのではないかと考えた。また、莖頂培養の難易度にも考慮する必要がある。休眠枝の莖頂培養では、芽鱗を取ると細かな毛が芽の中に存在する。莖頂分裂組織を見つけづらく、コンタミネーションのリスクも大きくなる。そのため、生育の旺盛な緑枝を用いて莖頂培養をすると成功率も上がると考えられる。



第6図. 順化可能な培養苗

謝辞：本研究は令和7年度京都府立大学地域貢献型特別研究（ACTR）に採択していただき、資源植物学研究室板井章浩先生をはじめ、多くの関係者にご協力をいただいております。ここに感謝いたします。