

〔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
～奇形花の発生程度に及ぼす培地および培養期間の影響（2，3回目開花調査）～

大槻優華・小坂井宏輔*・宮下智人
(園芸技術科) *現島しよセ大島

【要 約】「ヨホホワイト」では、従来法より低ホルモン濃度の培地で培養し、順化後の初期に奇形花率の低いロットを選抜することで、奇形花の少ない苗生産が可能と考えられる。

【目 的】

大島の基幹品種「ヨホホワイト」について、従来法より低ホルモンおよび短期間で培養試験を行った結果、初代培養の成功率と継代培養の増殖効率は同程度であった。また順化苗の1回目（夏）の開花調査では、従来の培地で奇形花が多発するロットが生じることが示唆された。ブバルディアは開花時期によって奇形花の発生程度に差があることから、本試験では引き続き2回目（秋冬）、3回目（初夏）の開花調査を行い、低ホルモンと短期間の培養条件が奇形花の発生程度に及ぼす影響を評価する。

【方 法】

培地はB1（対照）または低ホルモンのB3（表1）、継代培養期間は5ヵ月（対照）または3ヵ月間とし、これらを組合せた4試験区で作出したシュートを供試した。また、成長点培養の採取で使用した挿し木苗を参考として供試した。栽培は9cmポットで2本仕立てとし、2週間シェード処理を行い、開花後に花房内の花数と奇形花の発生程度を調査した。

【成果の概要】

1. 開花時期ごとの評価：開花2回目の奇形花率は1.0～10.8%で、B1-5ヵ月区を除き1回目の夏開花の半分程度と低い傾向であった（表2）。全項目で培地、培養期間、交互作用のいずれも有意差はみられなかった。3回目の試験中に立ち枯れ症状による枯死個体が多発したが、対照区を除く各試験区で半数以上の健全個体が確保できたため、調査を継続した。3回目では奇形花率が0～1.4%と、他の時期と比較して最も低い傾向となった（表3）。全項目で培地、培養期間、交互作用のいずれも有意差はみられなかった。
2. 反復別の評価：1回目の開花で奇形花率が高率または低率のロットは2，3回目も同様の傾向であった（表4）。奇形花率が約30～50%と高いロットはB1培地でのみ生じ、培養期間の影響はみられなかった。ただし、奇形花率が高いB1④では供試個体の多くが途中で枯死したため、3回目のデータが得られなかった。
3. 以上より、従来の高濃度ホルモン培地（B1）では奇形花率が高率で続くロットが生じること、初回の開花から奇形花率の低いロットではその後も低率であることが示唆された。このことから、初回から奇形花率の低いロットを選抜することで、奇形花の発生が少ない培養苗生産が可能であると考えられた。

【残された課題・成果の活用・留意点】

1. 3回目の開花調査で発生した立ち枯れ症状は高温障害が原因と推測され、挿し木苗も半数以上が枯死したことから、培養の影響の可能性は低いと考えられる。
2. 今後、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等を評価する。

表1 培養の条件

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 培地と培養期間が培養苗の開花(2回目/秋冬:11月中旬~1月下旬開花)に及ぼす影響^a

試験区	開花 ^b までの 日数	花房の 花数	奇形 ^c 個体率 (%)	奇形花率 (%)			
				全体 ^d	曲り ^e	緑 ^e	花弁融合 ^e
B1-5ヵ月	64 ± 2	12 ± 1	22 ± 18	10.8 ± 10.5	0.3 ± 0.3	1.4 ± 1.4	11.8 ± 11.5
B1-3ヵ月	60 ± 1	12 ± 0	22 ± 20	9.4 ± 9.4	0.5 ± 0.5	1.5 ± 1.5	8.2 ± 8.1
B3-5ヵ月	67 ± 2	13 ± 0	15 ± 13	2.5 ± 2.1	0.4 ± 0.3	0.4 ± 0.4	1.9 ± 1.6
B3-3ヵ月	63 ± 2	13 ± 1	5 ± 5	1.0 ± 1.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	1.0 ± 1.0
挿し木苗	64	14	17	5.3	0.0	1.2	5.0

分散分析表^f

培地	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
培養期間	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
交互作用	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

a) 培養苗は12本×5反復, 参考の挿し木苗は12本を反復なしで供試した。シェード処理は2019年10月9日から2週間行った。調査は花房内の花が半数以上開花した時点で行った。表中の±は標準誤差 b) シェード開始日から調査日までの日数 c) 供試した個体数のうち奇形花が発生した個体の割合 d) 調査した花数のうち奇形が発生した花の割合 e) 調査した花数のうち該当の種類の奇形が発生した花の割合 f) 培地と培養期間とで2元配置の分散分析を行った。なお, 挿し木苗は統計処理に供試していない。NS: 有意差なし

表3 培地と培養期間が培養苗の開花(3回目/初夏:6月中旬~7月上旬開花)に及ぼす影響^a

試験区	開花 ^b までの 日数	花房の 花数	奇形 ^c 個体率 (%)	奇形花率 (%)			
				全体 ^d	曲り ^e	緑 ^e	花弁融合 ^e
B1-5ヵ月	48 ± 2	9 ± 0	0 ± 0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
B1-3ヵ月	41 ± 1	10 ± 1	0 ± 0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
B3-5ヵ月	43 ± 1	9 ± 1	7 ± 6	1.4 ± 1.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	1.4 ± 1.0
B3-3ヵ月	41 ± 1	10 ± 1	9 ± 12	0.9 ± 0.8	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.9 ± 0.8
挿し木苗	38	13	0	0.0	0.0	0.0	0.0

分散分析表^f

培地	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
培養期間	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
交互作用	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

a) 培養苗は6本×5反復, 参考の挿し木苗は12本を反復なしで供試したが, 試験中に枯死個体が生じ, 最終的に調査したのは培養苗1~6個体×4~5反復, 挿し木苗2個体(反復なし)となった。シェード処理は2020年5月13日から2週間行った。調査は花房内の花が半数以上開花した時点で行った。表中の±は標準誤差 b) ~f) 表2と同じ

表4 培地と培養期間が培養苗の奇形花発生におよぼす影響(反復別)^a

反復 ^b 番号	1回目(夏)		2回目(秋冬)		3回目(初夏)								
	奇形個体率 ^c (%)		奇形花率 ^d (%)		奇形個体率 ^c (%)		奇形花率 ^d (%)						
	3ヵ月	5ヵ月	3ヵ月	5ヵ月	3ヵ月	5ヵ月	3ヵ月	5ヵ月					
B1	①	0	17	0.0	1.1	8	8	0.2	0.5	0	0	0.0	0.0
	②	0	8	0.0	0.3	0	0	0.0	0.0	0	0	0.0	0.0
	③	0	8	0.0	0.5	0	0	0.0	0.0	0	0	0.0	0.0
	④	100	100	27.3	49.0	100	92	46.8	52.6	-	-	-	-
	⑤	0	0	0.0	0.0	0	8	0.0	0.7	0	0	0.0	0.0
B3	①	0	8	0.0	2.5	0	0	0.0	0.0	0	0	0.0	0.0
	②	0	17	0.0	0.8	0	0	0.0	0.0	0	0	0.0	0.0
	③	33	33	1.9	3.1	25	67	5.2	10.9	67	33	4.3	5.5
	④	8	0	0.5	0.0	0	8	0.0	1.7	0	0	0.0	0.0
	⑤	0	0	0.0	0.0	0	0	0.0	0.0	0	0	0.0	0.0

a) 1回目(夏)の処理時期は2019年6月29日からシェードを開始し, 開花期間は8月上~下旬であった。2, 3回目の処理時期および調査内容は各々表2, 表3と同じ。3回目(初夏)のB1④は供試個体数が1以下のためデータなし。それ以外の反復は供試個体数が3~6 b) 同一の培地・反復番号の3ヵ月と5ヵ月区は, 初代培養で同一の生長点に由来する c), d) 表2, 3と同じ