

〔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  
～培養シュートの発根と奇形花の発生程度に及ぼす培地および培養期間の影響～

小坂井宏輔・宮下千枝子  
(園芸技術科)

---

【要 約】「ヨホホワイト」の培養において、培地のホルモン濃度および培養期間の違いはシュートの発根に影響しない。奇形花の発生程度については、ホルモン濃度による有意差はみられないが、高濃度ホルモン培地で奇形花が多発するロットが生じる可能性がある。

---

【目 的】

大島の基幹品目「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における増殖効率は同程度であった。そこで、この試験で得られたシュートを使用し、低ホルモンと短期間の培養条件が挿し木発根率や奇形花の発生程度に及ぼす影響を評価する。

【方 法】

B1 培地（対照）と低ホルモンの B3 培地で（表 1）、3 または 5 ヶ月間継代培養したシュートを供試し（表 1）、これらを組合せた 4 試験区を設けた（表 2）。操作、調査内容は以下の通りである。

1. 挿し木順化：培養シュートを長さ 2～3 cm の挿し穂に調整してパ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 ヶ月後に発根率などを調査した。発根シュートは 6 cm ポットに鉢上げし、2 ヶ月後に生存率を調査した。
2. 開花調査：4 試験区に加え、成長点培養の採取で使用した挿し木苗を対照として供試した。栽培は 9 cm ポットで 2 本仕立てとした。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. 挿し木順化：発根率を含め全ての調査項目において、培地間および培養期間の間で有意な差はなかった（表 2）。また、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。これらのことから、ホルモン濃度の低減および培養期間の短縮は、挿し木苗の発根および初期成育に影響しないことが判明した。
2. 開花調査：花房内の花数については、培養苗の 4 試験区は対照区と同程度であり、5 ヶ月は 3 ヶ月より有意に多かった（表 3）。奇形個体率と奇形花率については、B3 は対照区と同程度であった。B1 は B3 より高い傾向であったが、ばらつきが著しく大きく、有意差は認められなかった。そこで奇形花のデータを反復別にみると、B1 の反復④のみが、奇形個体率 100%かつ奇形花率 27.3～49.0%と突出して高かった（表 4）。それ以外の反復での奇形個体率および奇形花率は、培養期間の間で同程度か、5 ヶ月でやや高くなる傾向であった。これらのことから、奇形花発生を著しく増加させる要因としては、培養期間より、培地の影響のほうが大きいことが示唆された。

【残された課題・成果の活用・留意点】

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°C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 培地と培養期間がシュートの発根と生存率に及ぼす影響<sup>a</sup>

試験区	生存率 (%)	発根率 (%)	発根程度 <sup>b</sup> (%)	鉢上げ後の生存率 <sup>c</sup> (%)
B1-5ヵ月	98.7 ± 0.6	86.7 ± 5.0	2.3 ± 0.2	84.8 ± 4.3
B1-3ヵ月	95.0 ± 1.5	75.0 ± 6.4	1.9 ± 0.3	75.3 ± 6.6
B3-5ヵ月	96.1 ± 2.5	84.4 ± 4.2	2.1 ± 0.1	71.1 ± 6.4
B3-3ヵ月	95.0 ± 2.6	77.7 ± 5.6	2.0 ± 0.1	76.9 ± 3.0

分散分析表<sup>d</sup>

因子	生存率	発根率	発根程度	鉢上げ後の生存率
培地	NS	NS	NS	NS
培養期間	NS	NS	NS	NS
培地×培養期間	NS	NS	NS	NS

a) 挿し木は3ヵ月区では2018年9月, 5ヵ月区では同年11月に行った。供試数は1区あたり40~80本×5反復とし, 反復ごとに異なる成長点由来のシュートを供試した。表中の値は平均±標準誤差を示す。b) 生存した各シュートについて発根率を0(無)から4(多)の5段階で評価し, 発根程度 =  $\Sigma$ (発根量指数×指数別本数)/生存本数で評価した。c) 鉢上げから2ヵ月後に調査を行った。各区から発根程度が2~3の株を供試し, 5反復で調査した。d) 培地と培養期間とで2元配置の分散分析を行った。NS: 有意差なし

表3 培地と培養期間が培養苗の開花に及ぼす影響<sup>a</sup>

試験区	開花までの日数 <sup>b</sup>	花房の花数	奇形個体率 <sup>c</sup> (%)	奇形花率 (%)			
				全体 <sup>d</sup>	曲り <sup>e</sup>	緑 <sup>e</sup>	花卉融合 <sup>e</sup>
B1-5ヵ月	46 ± 1	12 ± 1	27 ± 19	10.2 ± 9.7	0.7 ± 0.5	4.2 ± 4.1	8.0 ± 7.8
B1-3ヵ月	47 ± 1	10 ± 0	20 ± 20	5.5 ± 5.5	0.2 ± 0.2	1.8 ± 1.8	4.5 ± 4.5
B3-5ヵ月	47 ± 1	11 ± 1	12 ± 6	1.3 ± 0.7	0.5 ± 0.5	0.4 ± 0.2	0.6 ± 0.5
B3-3ヵ月	49 ± 1	10 ± 0	8 ± 6	0.5 ± 0.4	0.0 ± 0.0	0.3 ± 0.2	0.2 ± 0.2
対照区	49	10	8	0.5	0.0	0.0	0.5

分散分析表<sup>f</sup>

因子	開花までの日数	花房の花数	奇形個体率	全体	曲り	緑	花卉融合
培地	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
培養期間	NS	p < 0.05	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, 対照区は12本を反復なしで供試した。シェード処理は処理は2019年6月26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±は標準誤差を示す。b) シェード開始日から調査日までの日数を示す。c) 供試した個体数のうち奇形花が発生した個体の割合を示す。d) 調査した花数のうち奇形が発生した花の割合を示す。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を示す。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, 対照区は統計処理に供試していない。NS: 有意差なし

表4 培地と培養期間が培養苗の奇形花発生に及ぼす影響(反復別)<sup>a</sup>

培地	反復番号 <sup>b</sup>	奇形個体率 <sup>c</sup> (%)		奇形花率 <sup>d</sup> (%)	
		5ヵ月	3ヵ月	5ヵ月	3ヵ月
B1	B1-①	17	0	1.1	0.0
	B1-②	8	0	0.3	0.0
	B1-③	8	0	0.5	0.0
	B1-④	100	100	49.0	27.3
	B1-⑤	0	0	0.0	0.0
B3	B3-①	8	0	2.5	0.0
	B3-②	17	0	0.8	0.0
	B3-③	33	33	3.1	1.9
	B3-④	0	8	0.0	0.5
	B3-⑤	0	0	0.0	0.0

a) 各12本×5反復で供試した。b) 同じ培地では, 同じ番号の反復について3ヵ月と5ヵ月で同じ成長点由来の苗を供試した。c) 供試した個体数のうち奇形花が発生した個体の割合を示す。d) 調査した花数のうち奇形が発生した花の割合を示す。