

新規培養法を用いたキク無病苗育成における順化前後の低温が 生育開花に及ぼす影響と変異の検定

堀田真紀子^{*}・長谷川徹^{*}・大石一史^{*}・加藤俊博^{*}・細川宗孝^{**}

摘要：葉原基を含まない茎頂分裂組織をキャベツ根へ移植する新規培養法を用いた一輪ギク「神馬」及び「岩の白扇」の無病苗育成において、順化前後の低温遭遇が生育及び開花に及ぼす影響を検討し、変異の検定を行った。

- 1 新規培養法により育成した株は、低温に遭遇しないと開花が遅れ、茎長が短くなった。順化後に4-4週間の低温に遭遇させると、開花促進、茎の伸長促進効果が認められたが、その効果は冬期の自然低温より小さかった。自然低温に遭遇させた場合には、非培養株と同程度の生育・開花が認められた。
- 2 「神馬」では、新規培養法により作出された15系統の開花期、茎長、節数、切花重、花径及び小花数等について系統間でばらつきがみられたが、非培養株と有意差がみられず、変異は確認されなかった。
- 3 「岩の白扇」では、新規培養法により作出された12系統のうち8系統で変異が確認された。うち2系統では、茎の伸長遅延、管状花の消失といった大きな変異であった。他の系統では、開花期等で栽培上問題とならない変異が確認された。
したがって、新規培養法を用いたキク無病苗の育成法では、順化後に十分な低温に遭遇させて生育及び開花の変異検定を行うことで、優良苗が育成できると考えられる。

キーワード：キク、超微小未分化分裂組織、変異、培養、低温

Effects of Low Temperature before or after Acclimatization on Growth and Flowering of Viroid-free Chrysanthemum Plants by Leaf-primordia Free Shoot Apical Meristem Culture and the Variation Test

HOTTA Makiko, HASEGAWA Toru, OHISHI Kazushi,
KATO Toshihiro and HOSOKAWA Munetaka

Abstract: On raising of viroid-free seedlings of chrysanthemum var. 'Jinba' and 'Iwanohakusen' by the new meristem culture method which leaf-primordia free shoot apical is transplanted and cultured on in-vitro cabbage root tips, effects of low temperature before or after acclimatization on growth and flowering of raised plants were examined, and turning the effective treatment to good account, variations of their plants were tested.

- 1 If plants raised by the new culture method did not met with low temperature, the flowering was more delayed and the stem length was more shortened than by custom method. When the plants met with low temperature (4) for four weeks after acclimatization, the flowering and the growth of stem were hastened, but it was less effective than natural low temperature in winter, in case the plants met with natural low temperature in winter, the flowering and the growth were as same as the plants propagated by custom method.
- 2 In 'Jinba', fifteen plants raised by the new culture method varied in flowering period, plant height, node-number, the fresh weight of cutflower, flower size and floret number, but it was confirmed that the variation did not arisen, because there were no significance to the plants propagated by custom method.
- 3 In 'Iwanohakusen', some variations were confirmed on eight out of twelve plants raised by the new culture method. Especially, marked variations such as dwarfing or disappearance of tubular florets were occurred in two plants. Variations such as flowering period etc., which are of little importance, were confirmed in the others.
From these results, on the raising method of viroid-free chrysanthemum seedlings by leaf-primordia free shoot apical meristem culture, It is concluded that superior seedlings are able to be raised by variation test of flowering and growth of redifferentiated plants met with sufficient low temperature after acclimatization.

Key Words: Chrysanthemum, Shoot Apical Meristem, Variation, Culture, Low Temperature

緒言

愛知県は全国一のキク産地で、平成16年の生産額は257億円であり、県の特産品として最も重要な作物に位置づけられている。しかし、産地ではTomato spotted wilt virus (TSWV) によるキクえそ病やChrysanthemum stunt viroid (CSVd) によるキクわい化病などのウイルス・ウイロイドによる被害が継続して発生し、収量の低下が大きな問題となっており^{1,2)}、無病苗の育成が強く望まれている。

ウイルスとウイロイドを無病化するには茎頂培養が有効な方法であるが、葉原基を残す従来の茎頂培養法ではCSVdを除去することは極めて難しいことが経験的に知られている。一方、ジャガイモでは、茎頂組織にはPotato spindle tuber viroidが存在しないとの報告³⁾があり、茎頂組織のみを培養することで、CSVd除去が可能になると考えられる。細川らは、今まで培養が困難であった葉原基を含まない茎頂分裂組織をキャベツ根に移植することで培養植物を得る新規培養法を開発した⁴⁾。

筆者らは、一輪ギクの主要品種「岩の白扇」及び「神馬」について、この新規培養法により無病株の育成を試みた。作出された株を開花させたところ、非茎頂培養株に比べて開花が遅れ、茎長が短くなり、正確な変異の検定が困難であった。その原因として、再分化株は低温に遭遇していなかったことが一因と考えられたので、順化前後の低温遭遇の有無が開花及び切り花品質にどのように影響するかを調査し、合わせて変異の検定を行ったので報告する。

なお、本研究は、平成15年度から17年度までの先端技術を活用した農林水産研究高度化事業「超微小未分化分裂組織の新規培養法によるキク無病苗生産の体系化」で行ったものである。

材料及び方法

本試験において、新規培養法による「神馬」及び「岩の白扇」の育成過程は、京都大学大学院農学研究科蔬菜花卉園芸教室で行い、2003年4月以降の培養及び栽培は、当场園芸研究部花きグループの培養室及びガラス温室で行った。試験には、現地での主要系統である「岩の白扇」A-13系統及び「神馬」No.9系統を用いた。供試した超微小培養株の育成は、2003年3月に葉原基を含まない茎頂組織をキャベツ根の切断面へ置床し、20、照度3000lxの16時間日長で管理した。約1か月後にキャベツ根上で再生した植物体を修正MS培地⁵⁾へ移植した。2003年8月以降は当场において、25、照度2000lx、16時間日長で管理し、培養期間中3か月毎にMS培地で挿し芽による継代培養を行った。また、供試非培養株は、超微小培養株の母本を場内のガラス温室において最低夜温16、100W白熱電球による暗期中断4時間(22~2時)の電照下で管理し、6か月毎に挿し芽により継代維持してき

た株を用いた。

試験1 順化前後の低温遭遇が開花及び切り花品質に及ぼす影響

(1) 処理方法

供試品種は、「神馬」を用い、順化前後の管理方法として表1に示した5区を設定した。

超微小培養株の無低温区は、2004年10月20日に*in vitro*で挿し芽し、生育させた後、2004年11月4日に順化を開始した。順化方法は、根を流水で洗浄後、調整ピートを詰めた72穴セルトレイへ移植し、2週間寒冷しゃで60%遮光をするとともに、セルトレイをビニールで覆い適湿を保った。その後12月15日に4号ポットへ定植し、ガラス温室で最低夜温16、暗期中断4時間(22~2時)の電照下で管理した。順化前低温区は、9月23日に挿し芽し生育させた後、10月7日から培養容器ごと4 暗黒下で4週間低温処理した。11月4日に順化を開始し、12月15日に4号ポットへ定植した。以後ガラス温室で最低夜温16、暗期中断4時間(22~2時)の電照下で管理した。順化後低温区は、9月10日に挿し芽し生育させた後、9月24日に順化を開始した。以後ガラス温室で最低夜温16、暗期中断4時間(22~2時)の電照下で管理し、10月24日からセルトレイごと4 暗黒下で4週間の低温処理を行った。12月15日に4号ポットへ定植し、4月26日までガラス温室で最低夜温16、暗期中断4時間(22~2時)の電照下で管理した。自然低温区は、9月10日に挿し芽による継代培養を行い、発根後の9月24日に順化を開始した。以後10月24日にガラス温室で最低夜温16、暗期中断4時間(22~2時)の電照下で管理した。11月8日から3月1日までは無加温ハウス内にて冬期の自然低温に遭遇させた。非培養株は9月24日に挿し芽し、10月14日に4号ポットへ定植し、ガラス温室で最低夜温16、暗期中断4時間(22~2時)の電照下で管理した。11月8日から3月1日までは無加温ハウス内にて冬期の自然低温に遭遇させた。自然低温区では、11月8日から3月1日までの処理期間中、最低気温が4 を下回った日数は74日であった。

(2) 耕種概要

4月26日に上記の育成株よりそれぞれ採穂し、直ちに挿し芽した。5月10日に5号ポットへ定植後、5月16日、30日及び6月13日に摘心して親株とした。生育及び開花調査のための切り花栽培は、7月5日に親株から採穂、直ちに挿し芽を行い、7月20日に定植以後、暗期中断4時間(22~2時)の電照下で管理した。8月22日に電照を打ち切った後、11時間日長(シェード時間は18~7時)下で管理した。栽植方式は、80cm幅の栽培床に株間20cm

表1 試験1における試験区の構成

株の由来	区	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	4月
超微小培養株	無低温区	順化								挿し芽・親株養成
	順化前低温区	順化								挿し芽・親株養成
	順化後低温区	順化								挿し芽・親株養成
	自然低温区	順化								挿し芽・親株養成
非培養株	自然低温区	挿し芽								

◀▶ : 4、●●● : 自然低温(無加温)、— : 25、- - - : 最低夜温16 加温

の7条植えて1区56株とした。肥培管理は、窒素成分で肥効調節型肥料70日タイプ（商品名：ロング70、N:14%、P₂O₅:12%、K₂O:10%）を1kg/aと粒状緩効性肥料（商品名：IB化成S1号、N:10%、P₂O₅:10%、K₂O:10%）を1kg/a全量基肥施用した。その他の管理は当場の慣行に準じた。

(3) 調査方法

各区とも順調に生育した20株、2反復について、到花日数、電照打ち切り時の茎長、節数、開花時の茎長、節数、80cm切り花長、花首長、柳芽数及び花径を調査した。なお、到花日数は、電照打ち切り時から開花までの日数とした。

試験2 「神馬」の変異検定

(1) 供試株及び耕種概要

新規培養法により育成した由来茎頂の異なる超微小培養株15株（本試験では系統と称する）及び非培養株を供試した。順化、順化後の栽培、切り花栽培等の時期、方法は試験1の自然低温区と同様とした。試験規模は1系統42株とした。

(2) 調査方法

各系統とも順調に生育した10株、2反復について、到花日数、電照打ち切り時の茎長、節数、開花時の茎長、節数、80cm切り花長、柳芽数、花径、舌状花数及び管状花数について調査した。また、葉形及び花形を観察調査した。

試験3 「岩の白扇」の変異検定

(1) 供試株の育成方法

新規培養法により育成した由来茎頂の異なる超微小培養株12系統及び非培養株を供試した。

培養株は、2004年5月20日に順化し、以後、暗期中断4時間(22~2時)の電照下で管理した。10月11日に挿し芽、10月30日に5号ポットへ定植し、11月8日から翌年3月1日まで試験1の自然低温区と同一の無加温ハウス内にて低温に遭遇させた。3月1日及び25日に摘心し、親株とした。供試株は、これらの親株より4月18日に採穂し、直ちに挿し芽し養成した。

(2) 耕種概要

超微小培養株は12系統、各32株、非培養株は40株を、5月2日に定植し、暗期中断4時間(22~2時)の電照下で管理した。5月7日に摘心を行い、5月24日に1株2本に整枝、6月20日に電照を打ち切った。栽植方式は、畝幅80cmの栽培床に株間20cmの4条植えとした。

肥培管理は、窒素成分で肥効調節型肥料70日タイプ（商品名：ロング70、N:14%、P₂O₅:12%、K₂O:10%）を1kg/aと粒状緩効性肥料（商品名：IB化成S1号、N:10%、P₂O₅:10%、K₂O:10%）1kg/aを用い、全量基肥施用した。その他の管理は当場の慣行に準じた。

(3) 調査方法

各区とも順調に生育した10株、2反復について、到花日数、電照打ち切り時の茎長、節数、開花時の茎長、節数、80cm切り花長、花首長、柳芽数、上位10節の側蕾数、花径、舌状花数及び管状花数を調査した。また、葉形及び花形を観察調査した。

試験結果

試験1 順化前後の低温遭遇が開花及び切り花品質に及ぼす影響

順化前後の低温遭遇が開花及び切り花品質に及ぼす影響について表2に示した。

超微小培養株について処理区間で比較すると、到花日数は、順化後低温区が無低温区より有意に短かった。有意差は認められなかったが、自然低温区よりわずかに長かった。順化前に低温処理した区は、無低温区と有意差が認められなかった。電照打ち切り時の茎長は、順化前及び順化後に低温処理した2区は、有意に無低温区より長く、自然低温区より短かった。節数も同様の傾向が認められ、順化前後に低温処理した2区は、有意に無低温区より多く、自然低温区より少なかった。開花時の茎長は、順化前後に低温処理した2区は、有意差は認められなかったが、平均値の比較では無低温区よりわずかに長く、自然低温区よりわずかに短かった。節数は、順化前後に低温処理した2区と無低温区で差はみられなかったが、3区とも自然低温区より有意に少なかった。

80cm切り花重、柳芽数及び花径は、順化前後の低温処理及び自然低温処理をしても、無低温区と差はなかった。

低温処理をした超微小培養株と非培養株を比較すると、到花日数は、超微小培養株を自然低温に合わせた区が非培養株の自然低温区と同等であったのに対し、順化前後の低温遭遇区は非培養株の自然低温区より長かった。電照打ち切り時の生育は、超微小培養株を自然低温に合わせた区が非培養株の自然低温区より茎長が長く、節数は同等であったのに対し、順化前後の低温遭遇区は非培養

表2 順化前後の低温遭遇が「神馬」の到花日数と切り花品質に及ぼす影響

株の由来	試験区	到花日数	電照打ち切り時		開花時		80cm 切り花重	柳芽数	花径
			茎長	節数	茎長	節数			
			cm		cm		g		cm
超微小培養株	無低温区	48.2 b	47.3 a	23.5 a	96.8 a	47.1 a	63.5 a	1.6 a	12.2 a
	前低温区	47.7 b	51.0 b	25.2 b	98.4 ab	46.9 a	62.0 a	1.5 a	12.2 a
	後低温区	47.2 ab	52.3 b	25.7 b	99.3 ab	48.6 a	67.0 a	1.5 a	12.3 a
	自然低温区	46.3 a	53.5 c	27.5 c	101.8 b	51.2 b	65.8 a	1.6 a	12.1 a
非培養株	自然低温区	46.4 a	52.3 b	26.7 c	101.8 b	51.2 b	64.8 a	1.6 a	12.2 a

異なる英字文字間でBonferroni法により5%水準の有意差あり

株の自然低温区と茎長は同等で、節数は少なかった。開花時の茎長は、低温処理をした3区全てが非培養株の自然低温区と同等であり、節数は、超微小培養株を自然低温に合わせた区が非培養株の自然低温区と同等であるのに対し、順化前後の低温遭遇区は非培養株の自然低温区より少なかった。80cm切り花重、柳芽数及び花径は、超微小培養区株と非培養株に差はなかった。

試験2 「神馬」の変異検定結果

「神馬」の超微小培養株における変異の検定結果を表3に示した。

調査した全ての形質で、超微小培養株と非培養株の間に5%水準で有意な差はみられなかった。しかし、80cm切り花重及び小花数では培養系統間にばらつきがみられた。80cm切り花重は、60.6gから69.7gの範囲であり、非培養株と比較すると、4.2g軽い系統から4.9g重い系統までみられた。舌状花数は211.9枚から243.5枚、管状花数は109.5枚から134.0枚の範囲であり、非培養株と比較すると、舌状花数は15.1枚少ない系統から16.5枚多い系統まで、管状花数は12.0枚少ない系統から12.7枚多い系統までみられた。到花日数は、培養系統間では2日の差しかみられず、非培養株との差も1日以内であった。開花時の茎長は、培養系統間の差は4.8cm以内であり、非培養株との差も3.2cm以内であった。その他電照打ち切り

時の茎長、節数、開花時の節数、80cm切り花重、花首長、柳芽数及び花径のいずれの形質でも培養系統間のばらつきは少なく、非培養株との差も小さかった。

葉形及び花形で外観的に区別し得る変異は認められなかった(図1)。

試験3 「岩の白扇」の変異検定結果

「岩の白扇」の超微小培養株における変異の検定結果を表4に示した。

超微小培養系統と非培養株について有意差検定を行ったところ、電照打ち切り時の茎長、80cm切り花重および柳芽数については、非培養株と5%水準で有意差のある系統はなかった。しかし、これ以外の調査形質では、培養系統間に有意な差が認められるものがあった。特に、到花日数、花首長及び上位10節の側蕾数は、いずれも12系統中3系統で有意差がみられた。

培養系統別では、JK0-1、2、4、5、9、10、12及び13の8系統で非培養株と有意差のある形質の差異がみられた。JK0-1は、到花日数、花首長及び上位10節の側蕾数に非培養株と比較し有意差がみられた。JK0-2は、開花時の節数及び花首長に差がみられた。JK0-4は、到花日数、JK0-5は開花時の茎長、JK0-9及びJK0-13は上位10節の側蕾数、JK0-12は消灯時の節数にそれぞれ有意差があった。中でもJK0-10は、非培養株と比較して多くの形質

表3 「神馬」の超微小培養株の変異検定結果

株の由来	系統	到花日数	電照打ち切り時		開花時		80cm 切り花重	花首長	柳芽数	花径	小花数	
			茎長	節数	茎長	節数					舌状花	管状花
			cm		cm		g	cm		cm		
	JK0-0	46.7	53.4	25.7	102.1	49.6	60.8	1.54	1.70	12.1	234.0	119.3
	JK0-2	47.4	50.9	27.2	101.4	50.5	60.8	1.54	1.75	12.2	221.2	109.5
	JK0-3	45.7	53.7	27.2	103.7	50.5	63.5	1.58	1.65	12.1	243.5	122.3
	JK0-4	46.8	53.1	27.9	100.7	50.2	64.2	1.50	1.55	12.0	228.6	134.2
	JK0-5	46.1	54.0	25.9	104.4	50.3	63.6	1.60	1.45	12.3	218.2	126.5
	JK0-6	45.8	53.6	27.4	101.1	50.8	64.7	1.58	1.50	12.5	222.9	114.8
超微小 培養株	JK0-7	45.8	54.6	27.1	101.5	50.9	66.5	1.40	1.65	12.3	239.1	131.6
	JK0-8	46.5	53.9	27.5	101.8	51.2	64.8	1.35	1.55	12.1	219.6	133.2
	JK0-9	45.6	52.4	26.7	102.3	50.4	62.8	1.68	1.50	12.2	230.7	122.8
	JK0-10	45.6	51.8	26.2	103.2	51.1	67.6	1.60	1.65	12.4	211.9	124.5
	JK0-11	45.4	53.1	24.4	103.4	49.7	64.9	1.65	1.45	12.4	241.6	126.3
	JK0-13	46.1	51.0	26.5	98.6	50.3	62.5	1.73	1.55	12.2	231.8	130.0
	JK0-15	46.7	54.6	27.5	102.6	52.0	60.6	1.53	1.40	11.8	241.6	125.2
	JK0-16	45.5	52.9	27.2	101.1	52.9	69.7	1.38	1.80	12.1	215.9	119.2
	JK0-20	45.9	53.4	27.1	101.3	51.2	67.3	1.43	1.55	12.2	226.9	115.7
	非培養株		46.4	52.3	26.7	101.8	51.2	64.8	1.53	1.60	12.2	227.0
有意差 ¹⁾		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

1) Bonferroni法による5%水準の有意差



図1 「神馬」超微小培養株の形態

表4 「岩の白扇」の超微小培養株の変異検定結果

株の由来	系統	到花日数	電照打ち切り時		開花時		80cm 切り花重	花首長	柳芽数	上位10節 の側蕾数	花径	小花数	
			茎長	節数	茎長	節数						舌状花	管状花
			cm		cm		g	cm			cm		
	IK0-1	44.8 *	46.4	14.3	90.2	34.1	39.9	2.6 *	1.9	6.9 *	9.9	289.5	35.5
	IK0-2	44.3	46.3	13.3	90.5	32.0 *	34.9	2.6 *	1.7	4.6	9.7	266.3	43.6
	IK0-3	43.6	46.4	13.8	89.5	34.5	38.6	2.3	2.0	4.0	9.9	295.0	24.7
	IK0-4	41.6 *	44.7	14.4	85.9	37.1	36.7	1.8	1.9	3.8	9.8	263.7	36.0
超微小 培養株	IK0-5	42.4	42.4	15.5	80.8 *	37.4	36.1	1.7	1.9	3.8	9.8	288.0	29.8
	IK0-7	44.0	42.9	13.4	84.3	33.6	36.6	2.2	1.6	4.9	9.8	289.3	20.6
	IK0-8	44.6	42.6	13.7	85.2	33.3	37.2	2.1	1.5	3.9	9.9	269.5	39.9
	IK0-9	44.4	44.2	13.5	85.8	35.1	34.1	2.4	1.8	5.5 *	10.1	290.9	32.4
	IK0-10	41.7 *	44.9	14.0	84.3 *	39.2 *	39.2	1.3 *	1.7	4.7	9.4 *	300.6 *	0.1 *
	IK0-12	43.9	47.8	16.3 *	88.2	34.2	35.5	2.0	1.4	4.6	10.0	274.6	40.6
	IK0-13	44.6	45.4	13.4	87.2	34.5	35.4	2.2	1.6	5.9 *	9.7	288.0	30.7
	IK0-14	44.1	43.5	13.2	88.4	33.6	35.9	2.3	1.5	3.8	9.9	280.5	31.6
非培養株		43.6	47.3	14.6	89.3	34.7	38.2	2.2	1.9	3.9	9.9	273.2	39.6

*:Bonferroni法によって非培養株と5%水準の有意差あり



非培養株 IK0-1 IK0-8



非培養株 IK0-1 IK0-8

図2 「岩の白扇」超微小培養株の形態

で有意な差がみられた。すなわち、到花日数や開花時の茎長が短く、節数が多かった。また、花首長が短く花径が小さかった。さらに、舌状花数は多く、管状花はほとんどなかった。

葉形及びIK0-10を除く全ての系統の花形で外観的に区別し得る変異は認められなかった(図2)。

考 察

通常の茎頂培養で育成されたキクでは、株を低温に遭遇させずに開花させると、非培養株より開花が遅れて茎長が短くなったとの報告がある⁶⁾。筆者らは、新規培養法により育成された「岩の白扇」及び「神馬」について、同様に株を低温に遭遇させずに開花させたところ、非茎頂培養株に比べ開花が遅れて茎長が短くなり、同様の現象を認めた。大石ら⁶⁾はこの現象について、冬期に低温遭遇しなかったため、本来の生産力が発揮されなかったとしている。つまり、育成された培養株は形態的にはロゼット化していないが、順化前に高温下(25℃)で長期間培養されていたことにより、生理的にロゼット化した状態にあるためと考えられる。通常、夏の高温による生理的なロゼット状態は低温を経験することで打破される⁷⁾。そこで、順化前後の低温遭遇が開花及び切り花品質にどのように影響するのかを試験1により調査した。その結果、低温に遭遇しなかった無低温区では、やはり冬期の自然低温に遭遇した区より開花が遅れ、茎長が短くなり、節数が少なくなる等の生育遅延が観察された。これに対し、自然低温に遭遇させた超微小培養株と非培養株間では、開花及び切り花品質に差はなく、生理的なロゼット

状態が打破されたと推察される。さらに、順化前に4-4週間の低温に遭遇した前低温区では、無処理区よりわずかに到花日数が早まったものの、自然低温区より開花が遅れた。茎長についても、無処理区よりは長くなったが、自然低温区と比較すると電照打ち切り時には短く、開花時には自然低温区と同等になり、初期生育の遅延が確認された。順化後に4-4週間の低温に遭遇した後低温区では、無処理区よりわずかに到花日数が早まり、自然低温区と同等であった。茎長は、無処理区より長くなったが、自然低温区と比較すると電照打ち切り時には短く、開花時には同等となり、初期生育の遅延が確認された。この結果から、培養期間中の高温による培養株の生理的ロゼット状態は、順化前後の低温処理、特に順化後の低温処理によってある程度打破できることが実証されたと考える。しかし、開花及び初期生育の遅延が観察されたことから、本試験の低温処理では処理期間が短く、低温がロゼット打破に必要な量に満たなかったと推察される。

したがって、超微小未分化分裂組織の新規培養法による茎頂培養株の生育や開花特性及び形態について変異の検定を行うためには、培養株を再感染のリスクが低い順化後に本試験で与えた冬期の自然低温遭遇量より多く遭遇させる必要があると考えられる。なお、4週間の低温処理をさらに延長する場合、暗黒条件がセルトレイ順化苗の生育を阻害することも懸念されるので、処理期間中の光条件も検討を要する。

試験1の結果を踏まえ、冬期の自然低温に遭遇させた「神馬」及び「岩の白扇」の超微小培養株について、開花、切り花品質及び形態を非培養株と比較することにより、変異の検定を行った。

その結果、「神馬」では、供試した15系統は、非培養株と比較すると、到花日数、電照打ち切り時の茎長、節数、開花時の茎長、節数、80cm切り花長、柳芽数、花径及び小花数について、それぞれの平均値では系統間差異がみられたものの、5%水準で有意な差は認められなかった。また、小花数で系統により15枚前後の増減がみられた。しかし、商品性を左右する外観的な差としては認識されない程度であり、その他の形質も同様の傾向であったことから、本試験において、超微小組織を用いた新規培養法で「神馬」の無病苗を作出した場合、変異株の発生頻度は低いと判断される。

一方、「岩の白扇」では、調査した形質の多くで非培養株と有意な差がみられ、変異が生じた可能性が高いと考えられる。それらの変異は、営利栽培上影響のある程度から、影響しないものまでみられた。すなわち、到花日数、節数、花首長、上位10節の側蕾及び花径については非培養株との差は小さく、かつ外観上区別できない程度で実際に栽培する上で影響がないものと考えられる。一方、IK0-5では、開花時の茎長が8.5cm非培養株より短くなった。これは実際栽培で不利となる変異と考えられる。IK0-10では、到花日数が非培養株より短くなったのを始め、開花時の茎長が短く、節数は多くなり、花器の形態も舌状花が多く、管状花はほとんど消失しており、培養系統の中で最も多くの形質に変異が確認された。到花日数等の量的な形質の差は、栽培上影響しない程度の変異であると考えられる。しかし、小花数の変化については、非培養株及び他の超微小培養株と外見上明らかに区別でき、栽培上問題となる大きな変異であると考えられる。これらの変異の発生は品種間で違いがあったため、新規培養法による変異とは考えにくい、さらに検討を要する。

以上の研究において、新規培養法による順化後の4週間の低温遭遇が、ある程度開花を促進させ、茎の伸長を促進する効果があることが明らかとなった。この技

術は、低温遭遇量を増加させれば無病苗の開花検定に利用可能である。自然低温遭遇後の「神馬」「岩の白扇」について、変異の発生には品種間で差があり、「岩の白扇」では栽培上不利となる変異や、花器の形態変異も確認された。したがって、超微小茎頂分裂組織を用いた新規培養法によるキク無病苗の育成法では、順化後に必要な低温量を与えて培養苗の生理的口ゼット状態を打破し、生産現場へ普及させる前に開花検定を行い、特性の確認を行うことにより、品質形状の安定した無病苗の育成が可能となると結論される。

引用文献

1. 津田新哉．わが国に発生するトマト黄化えそウイルスとその特性．植物防疫．48, 497-501(1994)
2. 杉浦広幸, 花田薫．新潟県の大輪ギクに発生したキクわい化ウイルスによる病害．園学雑．67(3), 432-438(1998)
3. Zhu, Y., L. Green, Y. M. Woo, R. Owens, B. Ding. Cellular basis of Potato spindle tuber viroid systemic movement. Virology. 279, 66-77(2001)
4. Hosokawa, M., A. Otake, Y. Sugawara, T. Hayashi, S. Yazawa. Rescue of shoot apical meristems of chrysanthemum by culturing on root tips. Plant Cell Rep. 22, 443-448(2004)
5. Ringe, F., J.P.Nitsch. Conditions leading to flower formation on excised *Begonia* fragments cultured *in vitro*. Plant Cell Physiol. 9, 639-652 (1968)
6. 大石一史, 米村浩次, 大須賀源芳．電照ギク“秀芳の力”の茎頂培養株の生産力及び優良系統の選抜．愛知農総試研報．18, 168-172(1986)．
7. 小西国義．キクの口ゼット化に関する研究．園学雑．49(1), 107 - 113 (1980)