

キクの花弁組織から再分化した個体の変異について

誌名	愛知県農業総合試験場研究報告 = Research bulletin of the Aichi-ken Agricultural Research Center
ISSN	03887995
著者	大石, 一史 桜井, 雍三
巻/号	20号
掲載ページ	p. 278-284
発行年月	1988年10月

キクの花弁組織から再分化した個体の変異について

大石一史*・桜井雍三*

緒 言

挿し芽や株分けで繁殖を行うキクは、往々にして芽条変異を生じ、花色、開花の早晚性の変異から新たな品種が成立することも多い。このような場面では、すでに存在する変異を淘汰することが主要な目的となる¹⁾。一方、育種的な立場からは、新たな変異を作出するために人為的な手段を求めることも重要になってくると考えられる。放射線等の変異源を用いた突然変異の誘起は、キクにおいてはわが国ではさほどの発展をみなかったが、非常に占有率の高い品種では見直す価値があろう。同様な意味で、組織や細胞を培養する過程で起こる突然変異にも有用な変異が含まれることが期待できる。そこで、培養が容易な花弁組織を材料に用い、再分化した個体について、変異の種類とその発生頻度を調べ、それらの変異の育種的手段としての実用性を検討した。

材料及び方法

花弁組織の培養方法

花弁組織の培養には、無加温のビニルハウス内で開花した白色系品種7、黄色系品種7、赤色系品種7の計21品種のほぼ満開時の舌状花を材料に用いた。中性洗剤洗、水洗の後0.5%次亜塩素酸ナトリウム液で3分間表面殺菌し、滅菌水で3回洗浄した花弁の中央部分を約1cmの長さに切断し、1品種当たり6~10切片を1986年12月2日または9日に置床した。MS(Murasige & Skoog)の基本培地に、IAA 10mg/l、BA 10mg/l、カイネチン 0.1mg/lを添加²⁾、シヨ糖は30g/l、寒天は8g/lの濃度とし、pHを5.9~6.0に調整後、オートクレーブした。直径24mm、長さ110mmのガラスピンを使用し、培地量は10mlとした。培養条件は25℃の恒温、約3000lxの照度で1日18時間の照明を行った。

再分化個体の育成方法

上記の方法で培養し得られた9品種の再分化した茎葉及び同様な方法で得られた“黄秀芳の力”の再分化した

茎葉は、可能なものは1本ずつ切り離し、小さな芽が塊状に密集しているものは3~5mm程度に分割してホルモンフリーの1/2MS培地に発根に至るまで移植を繰り返した(1~3回)。早期に発根したものの一部は2~3℃で冷蔵しておき、1987年6月~7月に25℃の空調温室内のミスト下で殺菌土壌に植えつけ、個体を育成した。

なお、“黄秀芳の力”はNo7及びNo11という2系統のいずれも花色の濃い個体を選んで、1986年12月20日に置床したものである。

再分化個体の変異の検定方法

おおむね5cm以上に生育した個体は、1987年7月~8月には場に10×10cmの間隔で定植した。“秀芳の力”はガラス室内で無加温電照栽培(10月1日電照打ち切り)、他の品種は露地で自然開花の作型で、栽培はいずれも無摘心とした。なお、培養元株は夏の間自然温度で管理したものを比較に供した。したがって、約1か月間は25℃以下で馴化・育苗期を経過した再分化個体とは、温度経歴が若干異なる。温度経歴の違いによって草丈、開花期等主に量的な形質は影響を受けることが知られているので³⁾、環境変異と遺伝的変異とを区別し易い質的な形質について、再分化個体と培養元株を比較した。

実験結果

茎葉再分化における品種間差異

第1表に示したように、置床30日後のカルス化程度は品種によって大きな違いが認められ、総じて赤花系の品種では大きなカルスを形成しなかった。カルスが形成される部位も品種によって違いがあり、“秀芳の力”や、“湖西の朝”、“希望の光”は培地に没した部分全体がカルス化した。他の多くの品種では培地に接する付近にカルスが形成された。

茎葉の再分化は、多くはカルスから起こったが、切片上部の切断面や、ピンセット等による傷口からダイレクトに茎葉が分化する場合もみられた。茎葉がダイレクトに分化したのは主に“秀芳の力”で認められたが、置床

第1表 花卉組織からの茎葉再分化における品種間差異

品種名	花 色	置床数	30日後の生育		45日後の生育	
			カルスの生育 ¹⁾	茎葉分化切片数	茎葉分化切片数	総シュート数 ²⁾
秀芳の力	白	10	+~++	8	8	70
金丸富士	〃	9	++	7	9	26
精興の峰	〃	10	±	1	1	1
湖西の朝	〃	10	++	10	10	100
名 門	〃	10	+~++	7	7	35
日 の 出	〃	10	+	3	3	6
新 精 興	〃	10	±~+	0	0	0
乙 女 桜	黄	10	+~++	6	7	24
希望の光	〃	10	++	6	6	24
光 力	〃	10	±~+	8	10	48
寒 山 陽	〃	10	++	5	6	21
嵯 峨 の 錦	〃	10	-~±	0	2	2
国 王	〃	8	++	5	5	8
グリーン精興	〃	10	±	4	4	4
精興の轟	赤	9	+	9	8	24
レッドネロ	〃	8	-~±	0	0	0
アグロ	〃	10	±~+	2	3	6
東 の 朝	〃	9	+	3	3	4
ジ ャ ム	ピンク	10	±	1	1	5
アクセント	〃	9	±	0	0	0
精興の娘	〃	6	±~+	0	0	0

注1) - : カルス化なし, ± : カルス化小, +カルス化中, ++ : カルス化大

2) 概観により5~9は5、10以上は10として計測

2週間後には肉眼で観察し得た。置床45日後に70%以上の切片から茎葉が分化した品種は、“秀芳の力”、“金丸富士”、“湖西の朝”、“名門”、“光力”、“黄乙女桜”、“精興の轟”の7品種であった。この内4品種は白色系品種であり、全体からみても白色系品種は赤花系品種に比べ、茎葉の再分化能が高い傾向がうかがわれた。特に“秀芳の力”、“湖西の朝”の2品種は1切片から多数の茎葉が分化した。

発達したカルスが褐変し、分化した茎葉が早期に枯死する品種（“金丸富士”、“希望の光”）も認められた。

再分化した茎葉の個体への生育

分化した茎葉は1本のシュートとして区別される場合は比較的少なく、数本の茎葉が叢生した多芽状のもの、あるいは小さな芽が集塊状に密生するものが多かった。集塊状のものは水浸状で碎け易い状態であった。1本のシュートとして区別されたものは基部から切り離し、ホルモンプリーの培地に移植することでほぼ2週間後には発根し、幼植物としての体制を整えた。多芽状あるいは集塊状のものは徒手で1芽ずつ切り離すことは困難であ

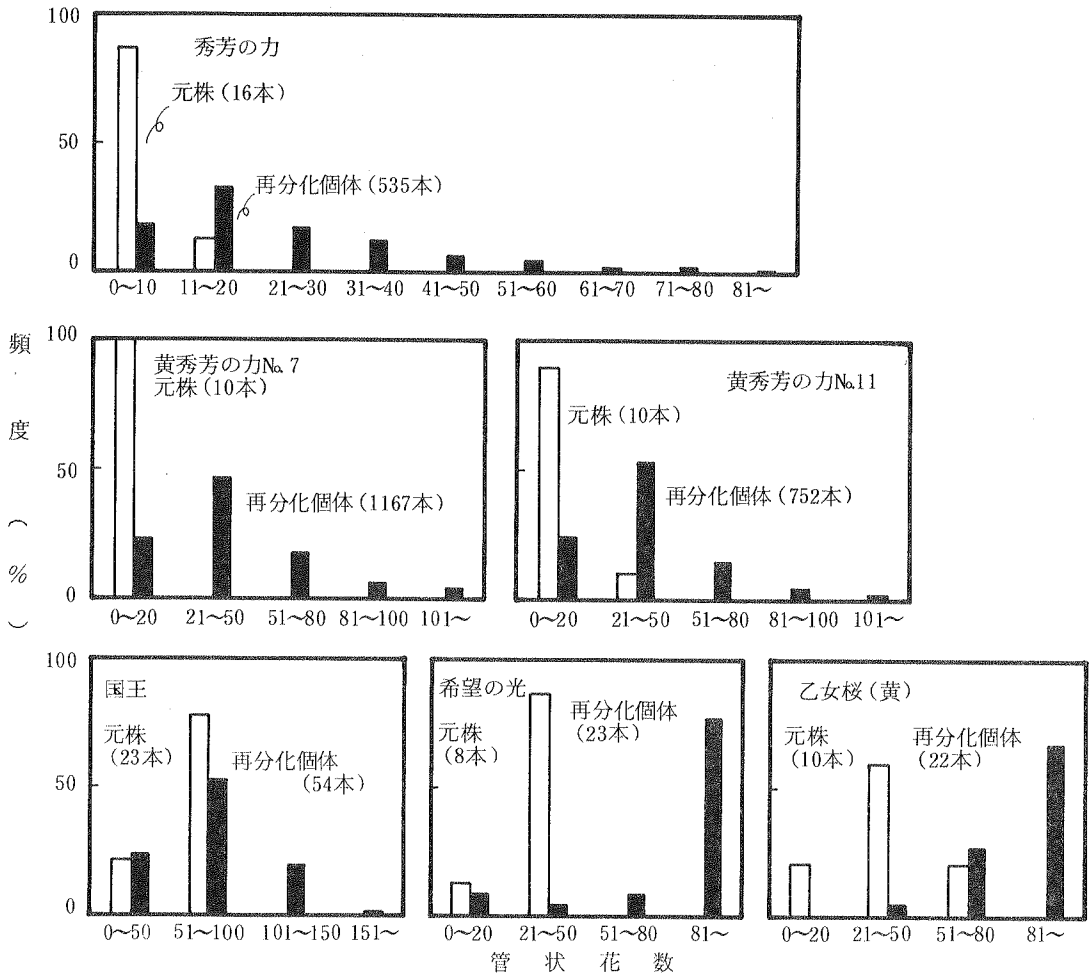
ったため、分割してホルモンプリーの培地へ移植すると、一部は区別し得るシュートに発達し、一部は発根を伴わないで多芽状あるいは集塊状のものに増殖した。後者は以後も同様の手順を繰り返した。その結果、花卉組織を置床して45日後に計測した茎葉数よりはるかに多数の再分化個体が得られた。

再分化個体の小花数

供試した多くの品種では、花卉組織から再分化した個体は元株と比べて高い頻度で管状花数が増加、あるいは舌状花数が減少した（第1図、第2表）。極端な例では元株は八重咲きのものがほとんど一重咲きになった再分

第2表 精興の轟の再分化個体の舌状花数

	調査 個体数	最小値	最大値	平 均
元 株	10	102	206	176.5 ± 29.1
再分化個体	10	43	56	49.8 ± 5.2



第1図 再分化個体の管状花数

第3表 花色が特に濃色化した黄秀芳の力(№11系統)の再分化個体の小花数

元株	花色	管状花数	舌状花数	総小花数
元株	—	7.3±8.3	207.3±23.8	214.6±23.0
変異個体№1	顕著に濃色	38	207	245
変異個体№2	顕著に濃色	30	185	215
変異個体№3	顕著に濃色	72	164	236
変異個体№4	顕著に濃色	64	176	240
変異個体№5	顕著に濃色	71	182	253
変異個体№6	顕著に濃色	46	195	241
変異個体№7	濃色	45	209	254
変異個体№8	濃色	15	242	257

化個体もみられた。

再分化個体の花色

“黄秀芳の力”では、元株より花色の濃い再分化個体が数多く観察された。また頭状花の中央付近の舌状花の先端部分が緑色を帯びる個体も少数認められた。逆に元株より花色が薄くなったり、白色化した再分化個体は認められなかった。特に、№11系統では顕著に濃色化した再分化個体が約10個体見出された。元株は愛知県下で収集した系統の中では最も黄色の濃い系統であるが、咲き始めは鮮明な黄色が開花の進むにしたがって淡色化するのに対し、濃色化した再分化個体は満開時にも鮮明な黄色を保っていた。ただし、それらの個体は、第3表に示したように元株と比べて管状花数が増加していた。

“秀芳の力”では、白い花弁の縦方向にスリット状に黄色の部分が入ったり、花弁の先端部が薄く黄色を帯び

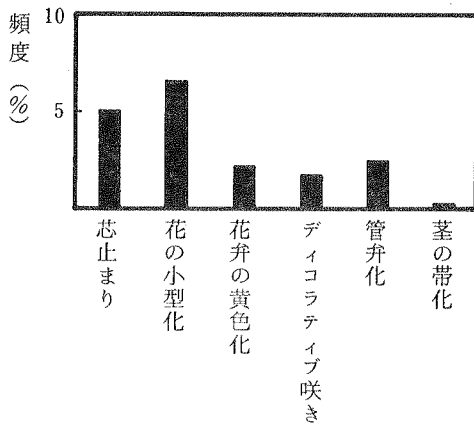
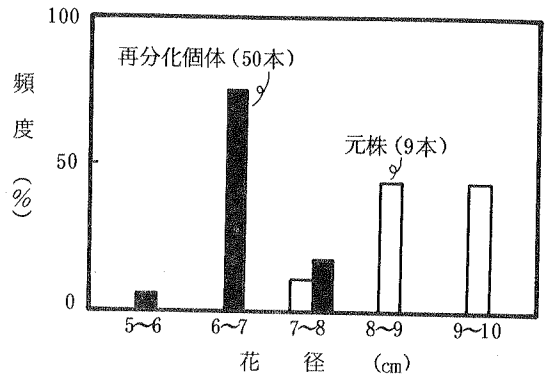


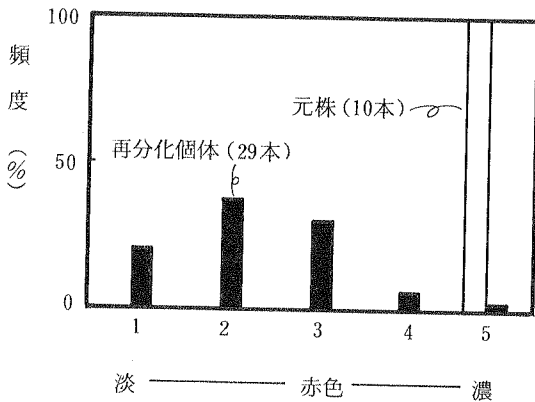
図2図 秀芳の力の再分化個体に現れた変異



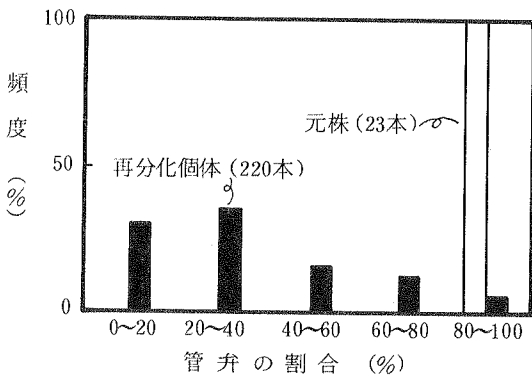
第5図 ジェムの再分化個体の花径

第4表 湖西の朝の再分化個体の外周花卉の形

	調査個体数 (Investigation individuals)	匙弁個体数 (Lanceolate individuals)	船底弁個体数 (Obovate individuals)
元株 (Original plants)	20	20	0
再分化個体 (Re-differentiated individuals)	332	248	84



第3図 嵯峨の錦の再分化個体の花卉内色



第4図 光力の再分化個体の花卉の形

たり、極く薄く全体に黄色化した再分化個体が約2%認められた(第2図)。

“嵯峨の錦”の元株は、花卉の内側が赤色で外側が黄色であるが、再分化個体は、花卉の内側の赤色が薄くなるものが多く、かつそれらの変化は連続的であった(第3図)。

再分化個体の花卉の形、花形

“湖西の朝”では、頭状花の外周の花弁の形に差異が認められた。元株はすべて匙弁であったのに対し、再分化個体の約25%は船底弁であった(第4表)。

“光力”では、元株のほとんどの花卉は管弁であったが、再分化個体では花卉の先端の開口部が大きくなって匙弁に近くなるものが多かった(第4図)。

“秀芳の力”の元株は船底弁であるが、再分化個体の2%強は管弁となった。花卉がインカーブせずにデイクオリティブ咲きを示した再分化個体が約2%認められた(第2図)。

再分化個体の花の大きさ

第5図に示したように、“ジェム”では、再分化個体の花径は元株より小さかった。

“秀芳の力”では、花径が8.5cm未満に小型化した再分化個体が約7%認められた(第2図)。

再分化個体の心止まり、茎の帯化

“秀芳の力”の再分化個体の約5%は、心止まりを呈した(第2図)。それらの個体は、下位の節から側枝が伸長し、その側枝がまた心止まりを呈するものが多かつ

た。

“秀芳の力”、“黄秀芳の力”では、極くまれに茎が帯化する再分化個体が認められた。

再分化個体の稔性

“黄秀芳の力”の管状花が増加しいわゆる露心している再分化個体を観察しているうちに、花粉の出ない個体が多数見出された。それらのうち数個体を鉢上げして、“ドラマチック”の花粉を交配したところ、第5表に示したように、少数ではあるが種子を得た。ただし、これらの種子が発芽力を有しているかについては未検討である。

考 察

花卉組織からの茎葉再分化の難易については明らかな品種間差異が認められ、白色系品種で再分化能が高い傾向であったことからみると、色素の存在の有無が茎葉の再分化に影響を及ぼしていると考えられるが、このことを明らかにするには更に多くの品種について検討する必要がある。

茎葉の再分化は、一部は花卉組織からダイレクトに起こり、多くはカルスから起こった。一般に前者の方が起源となる細胞の数が少ないとされるので、再分化した個体がキメラ構造を持つ可能性は、カルス起源のものよりダイレクトに発生した個体の方が低いと考えられる。器官や組織の一部に生じた有用な突然変異を分離するといった場合を想定すると、変異の起きた細胞だけに由来する個体を分化させる目的からは、カルスを經由せずダイレクトに個体を分化させる方が有利である。このようなことから、ダイレクトに個体を効率的に分化させる方法あるいは単細胞が起源とされる不定胚を誘導する方法を検討すべきであると考えられる。

本実験でカルスから再分化した茎葉の多くは、多芽状あるいは集塊状に小さな茎葉が密生したが、ホルモンフリーの培地へ移植しても発根せず同様な形態のものが増殖する場合も多かった。“国王”“精興の轟”はこの傾向が強く、発根を伴った1本のシュートとして区別される幼植物を得るのは困難であった。初代培養時のホルモンの持ち込みと解釈すべきであるか、腋芽の発生が高次に及んだため頂芽優性の体制が整うまでに長期間を要したと考えるべきかは本実験の範囲では明らかでない。

さて、花卉組織から再分化した個体では種々の変異が高い頻度で発生した。特に、管状花数が増加、あるいは舌状花数が減少するという変異は、多くの品種で発生しており、他の報告と一致する結果となった。大塚ら⁸⁾はプロトプラストからの再分化個体では染色体の減少が認められたとしており、培養過程で起こる染色体の欠損

第5表 黄秀芳の力(No.11系統)の雄性不稔と思われる再分化個体の採種数

	花 粉 親	採種数
変異個体No.9	ドラマチック	1
変異個体No.10	ドラマチック	6
変異個体No.11	ドラマチック	1
変異個体No.12	ドラマチック	6
変異個体No.13	ドラマチック	3
変異個体No.14	ドラマチック	5
変異個体No.15	ドラマチック	6

が変異の発生の大きな原因であることが想定できる。顕著な変異が認められた再分化個体の一部をその後鉢上げて生育を観察してみると、生長力に欠けておりゲノム構成に欠陥を生じていることがうかがわれるものが多かった。

管状花数が増加することは、一般的には劣悪な変異であって、八重咲き性が尊ばれる品種では鑑賞価値を減ずるものである。しかしながら、育種的な立場からは採種効率の点で利用価値が認められよう。通常、舌状花は受精能力に乏しく、交配してもまれにしか種子が得られない。スプレータイプを除く切花ギクは八重咲き性が進んでおり管状花が非常に少ない品種が多いので、多数の種子を得ようとする多大な労力がかかる。例えば、“秀芳の力”は、花持ちの良いこと、花卉の光沢、咲き始めの力強さ等優れた形質を持っているが、管状花が少ないために子房親としても花粉親としても適さない。このような交雑育種の場面で、管状花数の増加した変異個体の子房親あるいは花粉親としての利用が考えられるわけである。ただし、次代での管状花数の多少が重要な問題となるので、今後“秀芳の力”の変異個体を中心に交雑育種での利用を検討したい。

“黄秀芳の力”では雄性不稔と思われる花粉の出ない個体が観察された。交配時に自家受粉の可能性を無視できる有利さから、雄性不稔個体の育種的な利用価値が想定されるものであるが、花粉の形成には温度等環境条件の影響が大であるので、本個体の特性の確認には、更に種々の条件下での検討を待たねばならない。

花色の変異は、“秀芳の力”、“黄秀芳の力”、“嵯峨の錦”で認められた。“秀芳の力”では黄色化、“黄秀芳の力”では黄色の濃色化という変異であって、逆の変異、すなわち黄色から白色あるいは淡色化するものは全くみられなかった。“黄秀芳の力”は“秀芳の力”の枝変わりであること、一般に白色花から黄色花の枝わりに比べると黄色花から白色花の枝わりはその発生頻度が低いことが経験的に認められることから考えると、

花弁組織から茎葉が再分化する過程で起こる変異は、自然界で偶発的に起こる突然変異と質的には異ならないことが認識されよう。ただし、その変異の発生頻度は大幅に異なっており、培養過程で起こる変異の頻度の方が格段に高い。

本実験で“黄秀芳の力”の再分化個体はかなり高い割合で濃色化し、中には満開時にも退色しない鮮明な黄色を示したのも得られ、実用的な利用価値の高い変異と認められた。しかし、そのような個体の多くは一方で管状花が増加するという変異も併発しており、単一の形質のみに有用な変異を生じさせることの困難さも示唆している。

白色から黄色あるいは黄色の濃色化の変異は、カロチノイド抑制遺伝子を有する染色体の欠損による変異とみるのが妥当と思われるが、“秀芳の力”がカロチノイド抑制遺伝子を持っているかどうか不明であるので、即断はできない。

“嵯峨の錦”は花弁の表側が赤色、裏側が黄色で、再分化個体に現れた変異は表側の赤色が薄くなるものであった。本品種が周縁キメラ構造を持つと仮定して、その変異はキメラの分離に基づくと考えられることもできるが、赤色の淡色化が連続的に認められたことからみて、アントシアニンの生成を支配する遺伝子の突然変異と考える方が妥当であるかも知れない。

この他、花弁の形、花形、花の大きさ、茎の帯化、心止まり等種々の変異が発生しており、また培養過程では形態的に著しく異常を来した茎葉、あるいは霜降り状のアルビノ等、幼植物にまで生長し得なかったものを含めて考えると、花弁組織から茎葉を再分化する過程では非常に高い頻度で変異が発生していると判断できる。生長点からカルスを誘導し多数の個体を増殖してもほとんど変異が発生しなかったという報告¹⁾もあるが、他の多くの報告^(2, 3, 4, 5, 8, 10)及び本実験の結果からみると、変異が起きないというのは稀な例のように思われる。定芽を伸長させる莖頂培養ですら変異を免れないことからしても、おそらくは不定芽であるカルスからの茎葉の再分化では、変異の発生は前提条件として捉えるべきであろう。

変異の発生は、それ自体が育種的手段になることを本実験で示したが、一方、変異を起こさせない培養方法も細胞融合や組み換えDNA等の技術を導入してのキクの育種を考える上では必要になってくると思われる。

摘 要

キクの花弁組織から再分化した個体に現れた変異の種類と発生頻度を調べ、組織を培養する過程で起こる突然

変異の育種的な利用を検討した。

1. 切花用の21品種の花弁をMS培地(I A A 10mg/ℓ、B A 10mg/ℓ、カイネチン0.1mg/ℓ添加)で培養したところ、総じて白色系品種は赤色系品種に比べてカルスの肥大及び茎葉の再分化能が高かった。

2. カルスから茎葉が再分化する場合が多かったが、一部はカルスを經由せずダイレクトに茎葉が発生した。

3. 再分化した茎葉はホルモンフリーの1/2MS培地に1~3回分割と移植を繰り返すことで土耕栽培が可能な幼植物に生長した。

4. 育成された幼植物を切花栽培し、培養元株と形質を比較した結果、多くの変異が高い頻度で発生が認められた。

5. それらの変異のうち最も発生頻度が高かったのは管状花が増加あるいは舌状花が減少するという変異であった。管状花が増加した個体の中には花粉の出ない雄性不稔と思われるものも認められた。これら2種の変異形質は交雑育種において採種の効率化のために利用できると考えられた。

6. 花色の変異は3品種で認められた。特に、“黄秀芳の力”では顕著に濃色化した個体が得られた。

7. その他、花形、花弁の形、花の大きさ、茎葉の形状にも、自然状態で発生するよりは明らかに高い頻度で変異が発生した。

引 用 文 献

1. EARLE, E. D. and R. W. LANGHANS, 1974, Propagation of Chrysanthemum in vitro. II. Production, Growth, and Flowering of Plantlet from Tissue Cultures, J. Amer. Soc. Hort. Sci. 99(4): 352-358.
2. 橋本卓夫・重松康司, 1975, はちギクのγ線照射による育種(第6報)無照射の花弁培養個体における変異の出現状況, 園学要旨50春, 308-309.
3. 市橋万貴子・藤野守弘, 1976, キクの小花培養の利用法, 園学要旨51春, 272-273.
4. ————, 1977, キクの小花培養の利用法(第2報)培養株からさし芽繁殖をした株での変異について, 園学要旨52春, 300-301.
5. 鎌田健・渡辺重吉郎・飯塚宗夫・小杉清, 1975, キクの管状花培養と変異性, 園学要旨50春, 306-307.
6. 西尾小作・宇田昌義・鈴木基夫, 1982, 秋ギクの生育・開花に及ぼす夏季の冷房の影響, 園学要旨57春, 374-375.
7. 大石一史, 1987, キクの系統選抜とその効果, 園学東海支部シンポ, 37-39.
8. 大塚寿夫・山田栄成・末松信彦・戸田幹彦, 1987,

キクプロトプラスト由来再分化植物にみられる変異について、園学要旨57春, 402-403.

9. 重松康司, 1978, キクにおける花からの個体培養に関する研究 (第2報) 個体発生における I A A、カイ

ネチン、B A の影響, 園学要旨53春, 340-341.

10. ———・橋本卓夫, 19, はちギクの γ 線照射による育種 (第8報) 大菊“高原の雲”の花弁培養による変異系統の作出, 園学要旨, 316-317.

Morphological Changes in Chrysanthemum Derived from Petal Tissue

Kazushi OHISHI and Yozo SAKURAI

Summary

The rate of various morphological mutations in Chrysanthemum shoots derived from petal tissue and the usefulness of those mutations for breeding were investigated.

1. Petal tissues of 21 cultivars used for cut flower were grown on MS (Murashige-Skoog) medium containing 10mg/ℓ IAA, 10mg/ℓ BA and 0.1mg/ℓ kinetin. The cultivars of white flower formed larger callus and had a higher ability to reorganize adventitious shoot than the cultivars of red or pink flower.

2. The adventitious shoots were mostly reorganized from callus, occasionally formed directly from petal tissue without forming callus.

3. The shoots were rooted and grown into plants by dividing and placing on 1/2 strength MS medium with no hormones.

4. When the plants derived from petal tissue were planted to field or greenhouse, many mutations came into existence at a high rate on those plants.

5. The mutation, which was increased the number of disk florets or decreased the number of ray florets, appeared frequently. Any pollens were not found in some plants which was increased the number of disk florets. This mutation was regarded as a male sterility. It is indicated that these two kinds mutations were useful for efficient seed growing on the cross breeding.

6. The change of flower color was showed in three cultivars. In the cultivar "Ki-Shuho-no-Chikara" which is pale yellow flower, vary deep colored plants were found.

7. Some other mutations in shape of flower, petal, stem and leaf or size of flower appeared at a higher rate in comparison with natural mutations.