

カラジウムの大量増殖と新品種「そよかぜ」の育成

誌名	鹿児島県農業試験場研究報告
ISSN	03888215
著者	上野, 敬一郎 土井, 修 樽本, 勲
巻/号	24号
掲載ページ	p. 99-105
発行年月	1996年3月

カラジウムの大量増殖と新品種「そよかせ」の育成

上野 敬一郎・土井 修・樽本 勲*・久木村 久**

Micropropagation and Improvement of *Caladium*

Kei-ichiro UENO, Osamu DOI, Isao TARUMOTO and Hisashi KUKIMURA**

要 約

カラジウムの効率的な大量増殖技術と、育種手法として利用可能な培養系とX線照射を組み合わせた変異誘発技術を開発し、新品種を育成した。

カラジウム (*Caladium × hortulanum* Birdsey: 'キャンディダム') の茎頂やその他の組織片を2, 4ジクロロフェノキシ酢酸 (2, 4-D) 2mg/1及び6-ベンジルアミノプリン (BA) 2mg/1を含むMurashige & Skoogの培地 (MS)⁵⁾に置床し、黄色い粒状のカルスを誘導した。このカルスは同組成の培地で維持・増殖が可能で、ホルモンを除いた培地に植え替えることによって不定芽を形成し、効率よく安定して植物体を再生する。この培養系は得られた再分化個体の変異率が低いことから、大量増殖に利用可能である。また、この培養系を用いて不定芽形成期の細胞塊に軟X線を照射することにより、変異個体が多数出現した。再生個体の中から大きさが元品種の半分以下のわい化個体を選抜し、品種名を「そよかせ」と命名して現在種苗登録の申請中である。

緒 言

この10年程の間に鉢物や花などを室内に飾り、生活に潤いをもたらす「グリーンインテリア」の習慣がずいぶん定着してきた。その主役の一端を担っているのが観葉植物である。

本県では温暖な気候を利用して、薩摩半島南部を中心にガジュマルやクワズイモなど観葉植物の生産が盛んで、主要花きであるキク・ユリ等の生産にはおよばないものの、本県花き類生産の主要な位置を占めている。また、観葉植物といっても、利用する際の形や大きさはその用途に応じてさまざまであり、最近の種類も豊富で品種や品目の変遷も著しいことから、新品種の育成や新規品目の開拓が望まれているところである。

このように多種多様な観葉植物の中で、サトイモ科に属する品目は比較的多く、形態的にもつる性のものや茎が太く直立して伸びるものなど、種々のタイプが存在する。そこで、サトイモ科の品目を中心に品種改良に利用可能な培養手法の開発を進めてきた。

中でもカラジウムは、赤や白、ピンクといった種々の葉色をもち、葉形や斑の模様の異なる多数の品種が存在することから、これを対象品目とした。特に、白葉の品種「キャンディダム」はその冷涼感から夏場の観葉鉢物の代表種として取り扱われているので、当品種を中心に

検討を行った。

カラジウムの培養系については、 α -ナフトレン酢酸 (NAA) とBAの組み合わせにより不定芽原基集塊を誘導し、2gの細胞塊から60日間で約1,000個の幼植物を得る方法が報告されている⁶⁾。品種によってはこの方法でほとんど変異を生じないことから、大量増殖技術としての利用は可能であるが、培養変異による育種的な利用は期待できない。

ここでは育種的な利用を目的として、カラジウムのカルスからの再分化及び軟X線照射による積極的な変異の誘発を検討し、効率の良い増殖法と変異誘発法を開発したので報告する。

なお、これらの方法により得られた変異体の中から、草姿のバランスがとれたミニ個体を選抜し「そよかせ」と命名した。現在種苗登録申請中であり、この新品種の特性についてもあわせて報告する。

I 材料及び方法

1. カルス形成及び再分化

実験には、カラジウム (*Caladium × hortulanum* Birdsey) 品種「キャンディダム」の培養植物の茎頂、葉柄及び葉身の切片を供試した。基本培地にはMS培地⁵⁾を用い、切片をカルス形成培地 (2mg/1 2, 4-D, 2mg/1 BA, 30g/1 Sucrose, 2g/1 Gellan Gum, pH5.8) に置床し、25°C, 16時間照明下で6週間培養しカルスを誘導した。

* : 現農林水産省 東北農業試験場

** : 現農林水産省 中国農業試験場

これらのカルスは同組成の培地に継代し、維持・増殖を図るとともに再分化培地（MS；ホルモンフリー）に移植し、植物体の再生を図った。

2. 軟X線照射による変異誘発

軟X線の照射は、1年程度継代している茎頂由来カルス、もしくはこのカルスを再分化培地に移植して6週間後に得られた不定芽形成期の細胞塊（不定芽塊）に行った。軟X線は線量率35Gy/hrもしくは3.6Gy/hrで、20～500Gyを照射（SOFRON TRS-1005CXを使用）し、照射後新しい再分化培地に移植した。

照射後は、8週毎に新しい再分化培地に移植し、植物体の再生を図るとともに、細胞の増殖量・再分化個体数・再生個体の培養容器中での形態変化を調査した。

3. 再生個体の特性調査

草丈1.5～2cm程度に生長した再生植物を培養容器から取り出し、鉢上げ順化後5～8か月間温室で育成し、各再生個体の葉色・葉長・葉幅・葉柄色及び草丈等の形態的特性について調査した。

なお、選抜した1個体については元株の‘キャンディダム’と比較し、その他の諸特性についても調査した。

II 結果及び考察

1. カルス形成及び再分化

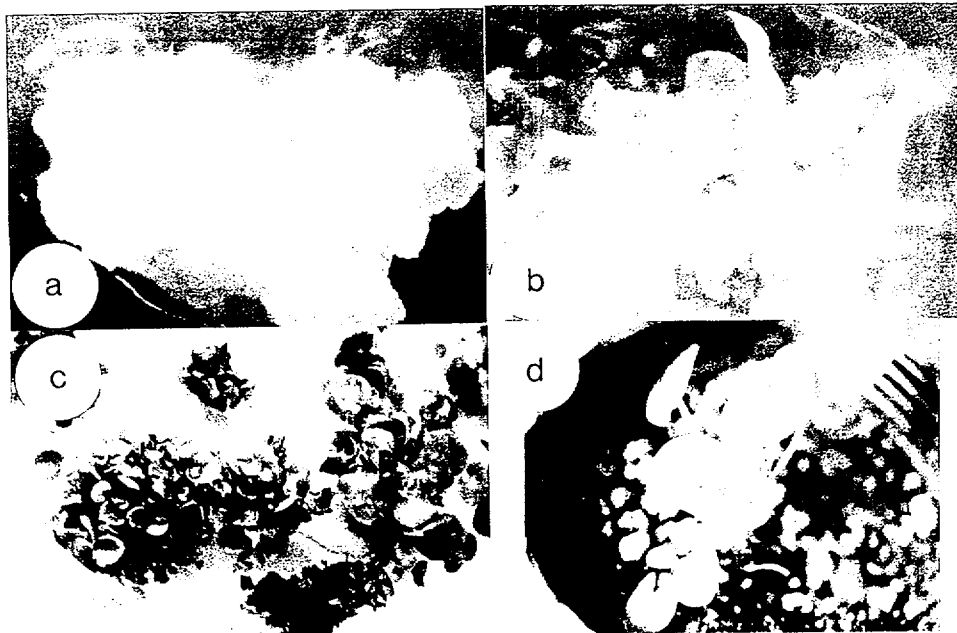
カルス形成培地に置床した各組織の切片から、黄色の粒状や淡黄色で水浸状のカルスが誘導できた。カルス形成は茎頂が最も優れ、葉身のカルス形成率は低かった。

いずれの部位から得られたものであっても、黄色の粒状カルス（第1図a）は、維持・増殖が可能で、同組成の培地に継代することにより6週間後には3倍に増殖した。また、ホルモンを除いた再分化培地に移植することにより、6週間後には緑化して不定芽を形成し（第1図b）、植物体を再生した（第1図c）。再生した幼植物は培養容器中で育成後、草丈2cm程度で順化することにより、容易に活着し生育を開始した（第1図d）。

このカルス培養では、1gのカルスから3か月で7,000個体を越える幼植物を再生できる（第1表）ことから、これまでの報告と比較しても非常に効率の良い培養法といえる。

このようにして得られた再分化植物は、培養容器中で生育している幼植物の段階では葉身が全て緑色であるが、順化後展開葉数が増加するにつれて、葉身は品種特有の斑や葉色を呈した。これはカルスを経由しない不定芽原基集塊を経由した場合と同様であった⁷⁾。

また、カルスからの再分化個体について培養変異の有無を調査した結果、視覚的に判別できるような変異は認められなかった。朱らはカラジウムの9品種の葉身切片から不定芽原基集塊を誘導し、これらから再生した植物の変異率について、変異の認められない品種と15～45%の変異率を示す品種があり、ここで供試した‘キャンディダム’は前者に含まれると報告している⁷⁾。葉色の異なる他の4品種について同様の検討を行った結果、著者らが行った範囲では、ほとんど変異がなく高い変異率を示す品種は認められなかった（未発表）。



第1図 カラジウムのカルス及び不定芽形成による植物体の再分化
a: 茎頂由来カルス, b: 不定芽形成, c: 再生植物, d: 順化後の幼植物

なお、これらのカルスは長期間に渡って再分化能を維持しており、誘導から3年以上経過しても安定して再分化し、多数の幼植物を得ている。

第1表 カラジウムカルスの増殖量と再生個体数

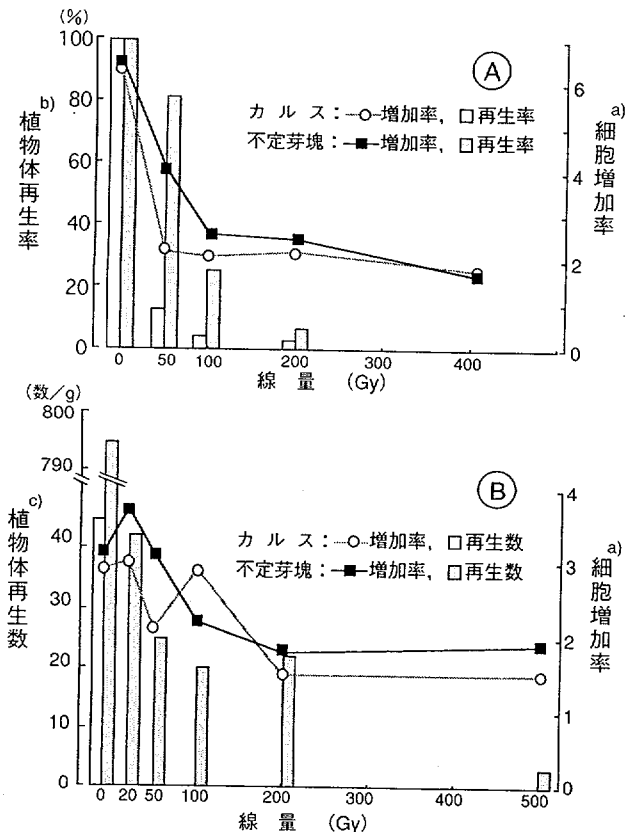
カルス重 mg	6 週 後 ^{a)}		12 週 後 ^{b)}	
	生体重 mg	個体数	生体重 mg	個体数
570 (1,000)	1,700 (2,982)	40 (70)	5,000 (8,772)	4,200 (7,368)

a : 再分化培地に置床後の週数, b : 分割して継代6週後,
() 内: 1 g換算値

2. 軟X線照射による変異誘発

カラジウムの場合、再分化個体には変異が認められず、育種的な利用は望めなかった。そこで、積極的に変異を誘発することを目的として、培養中のカルスや不定芽塊に軟X線を照射した。

軟X線を照射したカルスや不定芽塊は、照射による障害のため一部の細胞が枯死することから、第2図に示したように細胞の増加率は低下する。しかし、400~500Gyの線量でも全ての細胞が枯死するわけではなく、2倍程度の増加率を維持していた。



第2図 軟X線照射が細胞の増加と植物体再生に及ぼす影響

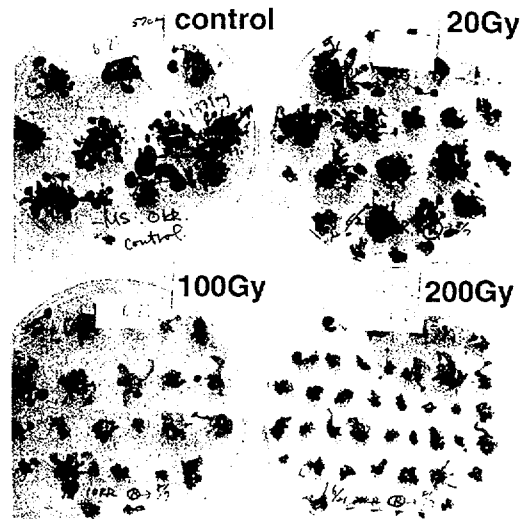
A : 線量率 (3.6 Gy/hr), B : 線量率 (35 Gy/hr)

a : 6 週後重量/照射時重量, b : 14 週後再生率,

c : 6 週後再生数/照射時重量 (g)

ところが、植物体の再生に対しては軟X線の影響が顕著で、特にカルスに照射した場合は再分化が 20Gy程度でも著しく抑制され、200Gy以上の線量では再分化個体がほとんど得られなかった。これは、カルスから組織が再分化する過程で、細胞中でのさまざまな生合成を必要とするが、X線照射によって何らかの障害を生じ、再分化能が失われたものと考えられる。

一方、不定芽塊に照射した場合は、カルスに照射した場合と比較して全体的に高い再生率が得られた。50~200Gyの線量で、個体の再生数は通常の1/40程度に減少するもののある程度再生個体が得られた。しかし、さらに多い線量では、植物体の再生が抑制され、極まれにしか植物体を得ることはできなかった (第2図, 第3図)。



第3図 軟X線 (35 Gy/hr) 照射後の不定芽塊の反応

このようにして得られた再生個体には、培養容器中で葉身の縮れや萎縮、わい化といった奇形が数多く見られた。しかし、これらの奇形は継続するものではなく、ほとんどが順化後生育とともに消失することから、培養容器中で観察された奇形の大半は遺伝的なものではなく、X線による生理的障害によって生じたものと考えられる。

3. 再生個体の特性調査

再生個体を順化後、ガラス温室で5~8か月育成し、各個体の特性を調査した。その結果、第2表に示すように、線量が増加するにつれて葉長・葉幅・草丈は小さくなる傾向が認められた。特に植物体の大きさについては、元株より小さくなる方向であるが、種々の大きさのものが出現し (第4図)、変異の少ないカラジウムの培養系に軟X線を照射することによって、積極的に変異を誘発できることが判明した。

第2表 再生個体の特性調査

照射材料	線量率 (Gy/hr)	線量 (Gy)	調査 個体数	順化後 育成月	葉長 (cm)	葉幅 (cm)	葉長/葉幅 比	草丈 (cm)	緑色葉柄 個体数(%)
カ ル ス	3.6	0	5	5	11.4±3.5	7.0±1.6	1.6±0.1	16.6±3.0	0(0.0)
カ ル ス	3.6	50	4	5	6.0±1.8	3.6±1.0	1.7±0.0	8.2±3.3	0(0.0)
カ ル ス	3.6	100	5	5	6.8±0.8	4.6±0.7	1.5±0.2	10.0±2.5	0(0.0)
カ ル ス	3.6	200	3	5	3.0±0.5	2.6±0.1	1.2±0.2	2.0±0.4	0(0.0)
不 定 芽 塊	3.6	0	8	5	12.0±5.7	7.5±3.5	1.6±0.2	17.0±7.8	0(0.0)
不 定 芽 塊	3.6	50	110	5	10.6±4.0	6.5±2.2	1.6±0.2	18.0±6.4	6(5.5)
不 定 芽 塊	3.6	100	32	5	8.6±3.0	5.4±1.6	1.6±0.3	14.0±5.9	2(6.3)
不 定 芽 塊	3.6	200	7	5	7.6±1.5	5.1±0.9	1.5±0.1	10.2±5.9	1(14.3)
不 定 芽 塊	35	0	5	8	16.5±1.4	10.1±0.8	1.6±0.1	25.8±3.2	0(0.0)
不 定 芽 塊	35	20	6	8	11.0±3.0	6.8±1.3	1.6±0.2	17.0±4.1	0(0.0)
不 定 芽 塊	35	50	4	8	9.1±2.8	6.3±2.4	1.5±0.3	12.9±6.2	0(0.0)
不 定 芽 塊	35	100	4	8	8.6±3.8	5.0±1.2	1.7±0.7	15.7±8.8	0(0.0)
不 定 芽 塊	35	200	1	8	10.0	6.8	1.5	18.2	0(0.0)
不 定 芽 塊	35	500	2	8	6.5±1.2	4.9±0.6	1.3±0.1	9.8±0.8	1(50.0)

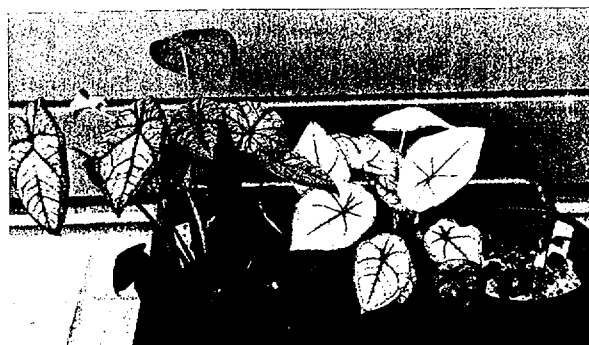
また、元株の‘キャンディダム’は葉柄にアントシアニン色素をもち、特に葉柄基部は黒褐色を呈しているが、再生個体の中にはアントシアニン色素が少なく、緑色～淡褐色の葉柄をもつ個体が出現した。これは、アントシアニン色素の合成過程の一部が軟X線によって破壊されたものと考えられるが、このような変異体の出現率は高い線量で増加する傾向が見られた。その他の形質については、丸葉や葉の切れ込みが少ない個体、もしくは無斑の緑色葉の個体が数個体存在した。しかしながら、今回供試した品種が白い斑を基調とした‘キャンディダム’であったことから、斑の色調の変化は見られず、斑の形もほとんど変化がなかった。

以上の結果から、カラジウムの培養系と軟X線照射を組み合わせることによって、植物体の大きさや特定の形質が変異した個体を作出できることが示された。

4. 新品種 ‘そよかぜ’ の特性

‘そよかぜ’の主な形態的特性を第3表に示した。供試した元株と比較して葉長・葉幅及び葉柄長は1/3程度、草丈は半分程度のわい性品種である。また、葉柄の色は緑化し、葉の切れ込みは浅く、葉形は丸くなっており、大きさ以外の形質も変化している(第5図)。また、元株と比較して生育は緩慢であった。

通常観葉鉢物は室内装飾用として使われることから、室内でも長期間草姿がくずれにくいものが望まれている。近年サトイモ科の「デフェンバキア」や「シンゴニウム」の生産が伸び、カラジウムはむしろ減少している。

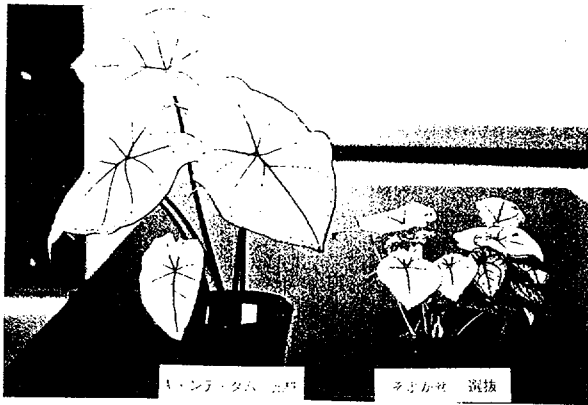


第4図 再生植物における個体変異

第3表 ‘そよかぜ’の形態特性表

形 質	そよかぜ	キャンディダム ^{a)}	備 考
草 丈(cm)	低(15cm)	高(30cm)	高~低
葉柄頸部の曲	微	小	無~甚
葉柄の色	緑~淡褐	褐~黒褐	
草 姿	やや直	やや開	直~開
葉 色	白斑/緑	白斑/濃緑	
葉 長	7cm	21cm	
葉 幅	4cm	13cm	
葉長/葉幅比	1.6	1.6	
葉の切れ込み	浅	やや深	浅~深
葉 形	やや丸	やや長	丸~長
葉 柄 長	11cm	30cm	
葉柄の太さ	細	中	細~太
葉柄のアントシアニン	淡	濃	無~濃

a: 供試した元株品種



第5図 新品種‘そよかぜ’と‘キャンディダム’の比較
右：そよかぜ，左：キャンディダム

これは、前二者が室内でもある程度形を維持できるのに対し、カラジウムは葉の大きさに比較して葉柄が細いため、光の弱い室内で葉柄が徒長し草姿が乱れやすいことに起因している。

それに対して‘そよかぜ’は、葉が小さく葉柄も短いことから、室内の弱光下でも草姿が乱れにくく、小型であるため卓上での利用も可能である。このような特性を生かし、育成中の小株から商品として利用することも可能で、栽培面の生育の緩慢さに対処できるものと考えられる。以上のように、従来のカラジウムの弱点をある程度克服でき、わい性であることから、これまでとは異なる新規需要が期待できる。

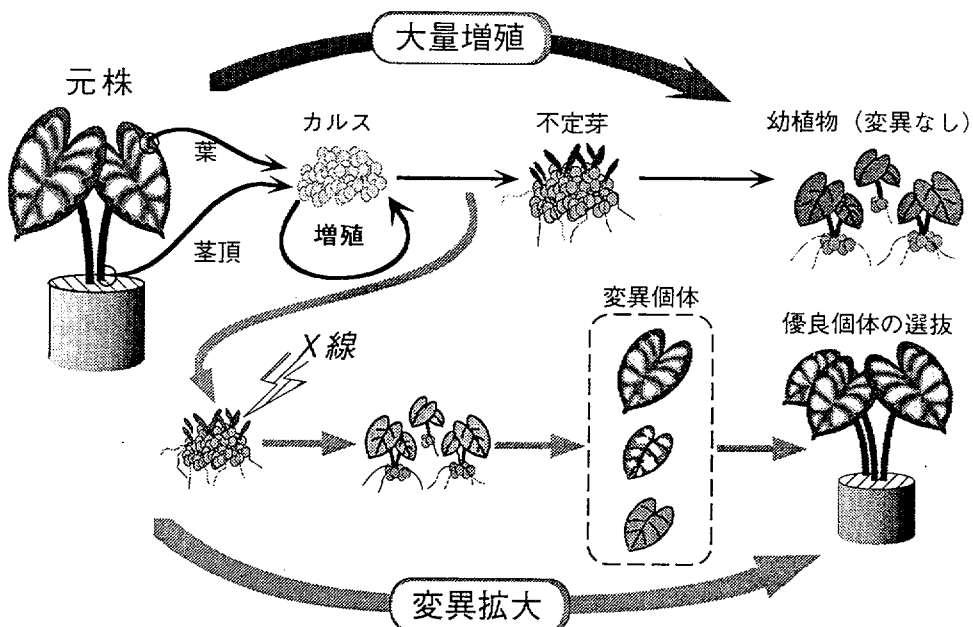
増殖に関しては、カラジウムは通常株分けによって増殖するため、1個体からの年間増殖量は数個体にすぎない。加えて、‘そよかぜ’は前述のように生育が緩慢で

あることから、増殖にはさらに長期を要することが懸念された。そこで、先に示したカルスによる増殖を試みたところ、元株品種と同様、視覚的に判別できるような変異は認められなかった。朱らは変異個体の葉身を再び培養して増殖した場合、変異がないことを報告している⁷⁾。培養方法は異なるものの‘そよかぜ’の場合も同様であったことから、当品種の増殖もカルスを経由した大量増殖が適用可能で、必要数量が確保できることを確認した。

5. 培養とX線照射を組み合わせた品種改良法

当初培養変異の育種的利用を目的として検討を行ってきたが、前述のように‘キャンディダム’をはじめとするカラジウムの品種では培養中の変異が少なく、通常のカルス培養を育種的に利用することはできなかった。しかし、同じサトイモ科でもサトイモの場合は茎頂培養¹⁾や不定胚経由(軽部ら未発表)によって変異が生じることが確認されている。これは多くのサトイモが3倍体で、長期間に渡って栄養繁殖を繰り返す中で異なる遺伝形質を持つ細胞がキメラとして内在するようになった²⁾ためと考えられるが、カラジウムの場合も長期間継代を続けたカルス(未発表)や老化した組織を外植体として用いた場合³⁾変異個体の発生が多くなる。このように変異の少ない培養系であっても、外植体や培養条件を検討することにより変異を拡大することは可能であろう。

ここでは、さらに積極的に変異を誘発するためX線の照射を併用した。ここで用いたX線はγ線などの放射線と同様の性質を持ち、物質を透過して遺伝子に影響を及



第6図 カラジウムの培養とX線照射を組み合わせた品種改良法

ぼすが、 γ 線と比較して波長が長く物質を透過する力が弱い軟X線である。そのため、種子など組織の内部に変異を誘発する必要がある材料では、 γ 線の半分以下の影響しか与えず、同程度の線量を照射しても期待した効果が得られない場合が多い⁴⁾。今回は不定芽塊を材料として用いたが、この場合、植物体が再生する部位が細胞分裂の活発な表層に近い部分にあることから、軟X線の影響を受けやすく、効果的に変異を誘発できたものと考えられる。

放射線を突然変異原として利用した研究は数十年前から行われてきたが、近年、キクやサトウキビ等の栄養繁殖作物を中心に培養系を用いた有効な放射線育種法が開発されてきた³⁾。この方法は培養系と放射線照射を組み合わせることによって、キメラ状に存在する突然変異細胞を非キメラ化でき、効率よく変異体を獲得できる。今回の場合、植物体再分化後の不定芽形成期の照射であったことから、変異細胞がキメラ状に存在する可能性も考えられた。しかし、実際には植物体が再生する段階で不定芽の数は無数に増殖することから、キメラを解消し変異個体が再生できたものと考えられる。

永富はサトウキビに緩・急の両照射を行い、その効果の違いについて、緩照射では茎数・茎重・節数といった量的形質の増加や病害抵抗性、高糖性等を獲得した個体が出現したのに対して、急照射では量的形質は総じて減少傾向にあり、障害型の変異の出現が多くみられたことを報告している³⁾。放射線による変異は、放射線が遺伝子の一部に傷をつけることによって、生体内での酵素活性や生合成の過程が変化した細胞を生じ、これらの細胞から変異個体が出現するものと考えられる。特に急照射の場合、高線量率のX線により多数の遺伝子が障害を受け、量的形質の減少や障害型の変異を生じるものと考えられる。今回の「そよかぜ」の場合は急照射にあたることから、生長や色素合成に関わる遺伝子が障害を受け、生育や葉柄の色素合成が抑制されたものと考えられる。

これまでの報告や今回の結果から考えると、わい化を主目的とする場合は、高線量率で比較的多い線量が有効で、元品種の特性を損なうことなく、特定の形質だけを変えたい場合は、緑色葉柄の出現率から(第2表)考察して、低線量率で比較的小さい線量によって多数の個体を再生し、その中から目的の個体を選抜する必要がある。

本研究では、効率的な大量増殖技術を開発するとともに、培養とX線照射を組み合わせることによって、品種改良に有効な変異誘発技術を開発した(第6図)。これによって場所をとらず短期間にカラジウムの品種改良を行う

ことができるが、この方法は効率の良い培養系が確立できているものであれば他の作物でも応用可能であろう。これらの結果が、他の作物のわい化や早生化、花色や葉色等を改良する際の有用な知見になることを望んでいる。

Ⅲ 摘 要

サトイモ科の観葉植物であるカラジウムについて、効率的な大量増殖技術及び、培養系と軟X線照射を組み合わせた品種改良に有効な変異誘発技術を開発し、新品種を育成した。

1. カラジウム(品種:キャンディダム)の茎頂やその他の組織片を2mg/l 2, 4-D, 2mg/l BAを含むカルス誘導培地(MS:30g/l Sucrose, 2g/l Gellan Gum, pH5.8)に置床し、黄色い粒状のカルスを得た。
2. このカルスは同組成の培地で維持・増殖が可能で、ホルモンを除いた培地に植え替えることによって不定芽を形成し、安定して植物体を再生した。得られた再分化個体の変異率が低いことから、この培養系は大量増殖に利用可能である。
3. この培養系を用いて不定芽形成期の細胞塊に20~500Gyの軟X線を照射することにより、大きさ等の異なる変異個体が多数出現した。再生個体の中から選抜した1個体は大きさが半分以下のわい化個体で、他の形質も変化しており「そよかぜ」と命名して現在種苗登録申請中である。
4. 培養とX線照射を組み合わせることによって、場所をとらず短期間にカラジウムの改良を行う変異誘発技術が開発できた。この方法は効率の良い培養系が確立できているものであれば他の作物でも応用可能で、有効な育種手法として活用できるものと考えられる。

引用文献

- 1) 軽部稔・市和人・宝満正治 1983. サトイモの茎頂培養による形質変異について, 九農研 45:225.
- 2) 軽部稔・下西恵 1995. サトイモの不定胚經由による効率的な植物体再生技術の開発, 鹿児島農試報 23:55-58.
- 3) 永富成紀 1993. 放射線照射とバイオ技術の結合, 研究ジャーナル16(4):1-6
- 4) 宮原研三・永富成紀・矢頭治 1993. 軟X線の照射による突然変異の誘発, 育種43(別1):225
- 5) MURASHIGE T. and F. SKOOG 1962. A revised medium for rapid growth and

- bioassays with to bacco tissue culture. *Physiol.Plant* 15 : 473-497
- 6) 朱玉・矢澤進・浅平端 1992. カラジウムの不定芽原基集塊のホモジナイザー破壊片からの植物体の再生, 植物組織培養 9(3) : 190-195.
- 7) 朱玉・矢澤進・浅平端 1993. カラジウムの葉身切片の培養で再生した植物体における葉色変異の品種間差異, 園学雑 62(2) : 431-435.
- 8) 朱玉・竹本哲行・矢澤進 1993. カラジウムの葉色別外植体の培養により得られた再生植物体の葉色の変異, 園学雑 62(3) : 619-624.

Summary

The micropropagation technique of *Caladium* has been established, and various mutants were obtained by combining *in vitro* techniques and a X-ray irradiation on the adventitious bud.

The explants of *Caladium* (*Caladium x hortulanum* Birdsey) cv. 'Candidum' of stem tip, leaf and petiole segments were cultured on MS medium supplemented with 2 mg/l 2,4-D, 2mg/l BA, 30 g/l sucrose and 2g/l Gellan Gum from which yellowish compact callus and translucent soft callus were obtained. Shoot formation was observed from yellowish compact callus which were cultured on MS medium without growth regulators after 6 to 12 weeks. This system is an applicable technique for micropropagation of *Caladium*, as no variation of leaf color nor any other characters were observed in regenerated plants from the calli.

Next, we tried X-ray irradiation to establish varietal improvement techniques. By irradiation from 20 to 500 Gy on callus, regeneration rate decreased, and only a few plantlets were obtained. In case of the irradiation on the adventitious bud formatted callus, 2 to 40 plantlets per 1 g clump were obtained 6 weeks after irradiation. These regenerated plants showed variation in size and petiole color. One clone selected out of the regenerated plants has small leaf size, round leaf shape, short petiole length and green petiole showing a compact plant type, and in 1993 it was named 'Soyokaze'.