トルコギキョウにおける覆輪安定性の数量化による品種間変異の評価

福田直子^{1*}・大澤 良²・吉岡洋輔²・中山真義¹

¹ 花き研究所生理遺伝部 305-8519 つくば市藤本

² 筑波大院生命環境科学研究科 305-8572 つくば市天王台

Quantitative Evaluation of the Inter-variety Variation in Picotee Formation Stability of *Eustoma grandiflorum*

Naoko Fukuta^{1*}, Ryo Ohsawa², Yosuke Yoshioka² and Masayoshi Nakayama¹

¹ National Institute of Floricultural Science, Tsukuba, Ibaraki 305-8519

² Graduate School of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba, Tsukuba, Ibaraki 305-8572

Summary

Coloring area rates in petals of *Eustoma* picotee cultivars were measured using an image analyzing system and the stability of the coloring pattern was evaluated by the standard deviation value. The analysis indicated significant differences in the properties of the coloring area and its stability among 16 cultivars. Many cultivars showed an increase in the coloring area rate and a decrease in its stability in petals under 20°C constant condition compared with petals under natural summer temperature condition. The cultivars could be classified to the following three types; stable type, unstable type, and unstable type under a constant temperature of 20°C. Irregular coloring occurred under each condition by cultivars with a standard deviation value is more than 16 except for cv. 'Hikoboshi'. The picotee stability of each *Eustoma* cultivar was appropriately appreciable by the standard deviation value of the coloring area rates in petals grown under a constant temperature of 20°C.

キーワード： 覆輪安定性, 品種間差, 栽培条件, 数量化, トルコギキョウ

緒 言

花卉先端の色彩が基部側と異なる覆輪模様は市販品種の約40%を占めるトルコギキョウの代表的な花色である。日本におけるトルコギキョウの育種は昭和初期の紫単色野生種の導入によって始められ、覆輪品種はそれから約50年後の昭和61年に初めて市販された(大川, 2003)。最初に品種登録された紫覆輪の固定品種「スカイフレンド」の覆輪花の出現率は50%程度で他は純白、紫、桃の単色花を分離した(杉浦, 1987)。その後1990年までに約20の覆輪の固定品種が発売されたが、いずれも覆輪の出現率は50~90%と品種間変異や環境による変動が大きく、覆輪の出現率の向上・安定性・斉一性が課題であった(山口, 1991)。この時期に問題にされた覆輪の「出現率」は主に花卉全体が着色する単色花と覆輪花の割合であったと考えられる。1989年に覆輪の最初のF₁品種が発売され、覆輪花の出現率は95~100%とそれまでの固定

品種よりも明らかに向上した(山口, 1991)。

現在、市販の覆輪品種はほとんどがF₁品種で覆輪の出現率は高いものの、栽培条件によっては着色面積が拡大し「色流れ」状の着色部の変形(第1図)が生じて切り花品質が低下することが問題となっている。そのため、このような覆輪形質の変動が生じない覆輪安定性の高い品種が、その機構の解明とともに望まれている(羽田野, 2003)。

これまで、覆輪形質は正常な覆輪を0、全面着色を5とする6段階の「着色指数」(第1図)や「覆輪くずれ」(小林, 1991)等、主に覆輪着色部の変形に着目した達観評価が行われてきた。しかし、達観評価では再現性や客観性に乏しく、変形を伴わない覆輪着色面積の変異を評価することができないため詳細な解析が困難であった。これに対して覆輪形質を数量化すれば統計遺伝学的手法を用いて表現型を遺伝子型値と環境変異とに整理し解析することができる(鶴飼, 2002)。そこで本研究では画像解析を用いて覆輪形質を花卉に占める着色部の割合(着色面積率)とし、品種の覆輪安定性を着色面積率の標準偏差として数量化した。この手法を用いて、高温期と20°C一定

2005年2月21日 受付. 2005年5月17日 受理.

* Corresponding author. E-mail: faba@affrc.go.jp

条件で栽培した紫覆輪 16 品種を調査し、覆輪の安定性および栽培条件の影響が品種によって大きく異なることを明らかにした。

材料および方法

1. 植物材料

1) 夏開花区

供試材料として、花卉先端着色型の紫覆輪を示す F_1 品種を 16 品種用いた (第 1 表)。2004 年 2 月 3 日に培養土 (HYPONeX Metro-Mix350) をつめた 288 穴のセルトレイに播種し 20°C で育苗した。4 月 15 日に直径 10.5 cm のポットに鉢上げ後ガラス温室にて底面給水で栽培した。1 個体あたり元肥として N, P_2O_5 , K_2O をそれぞれ 162, 770, 243 mg 施用し、追肥は液体肥料で N, P_2O_5 , K_2O をそれぞれ 1.5, 3.5, 1.5 mg 相当を週 1 回施用した。植物体は 6 月 10 日から 7 月 20 日の間に開花した。栽培期間中は梅雨による曇天が少なく平年よりも高温で推移し、温室の最低気温は 20°C, 最高気温 47°C, 平均 26°C であった。

2) 20°C 栽培区

覆輪の着色面積は 20°C 以下の気温によって増加し、形質が不安定化することが報告されている (福田・中山, 2003; 渡辺・金子, 2003)。そこで、2003 年 8 月 1 日に播種して 20°C で育苗し 10 月 14 日に鉢上げして開花まで 20°C 一定 ($\pm 2^\circ C$) 条件の自然光型人工気象室で栽培する区を設けた。供試材料および肥培管理や栽培方法は 1) と同様とした。開花は 1 月 25 日から始まり、5 月 31 日に調査を終了した。

なお、栽培条件による生育量の違いと覆輪安定性との関連を検討するために、3 輪以上開花した個体を採取し、切り花重、切り花長、第 1 花開花節位などの切り花形質を調査した。

2. 覆輪形質の解析

夏開花区は各品種 20 個体、20°C 栽培区は 5~30 個体の第 1 花の花卉 1 枚を個体の代表値として供試し、花卉表面の像をイメージスキャナ (EPSON GT9400UF, 出力設定: カラーモード 24 bit カラー, 解像度 240 dpi) を用いて BMP 形式の画像としてコンピュータに取り込んだ。次に画像解析ソフト Image J 1.32j (National Institutes of Health, <http://rsb.info.nih.gov/ij/docs/intro.html>) を用いて画像の RGB 値をもとに花卉面積および着色面積を算出し、花卉における着色部の割合を求めた。この着色面積率の個体間分散に基づく標準偏差を覆輪形質の変動の指標として用い、標準偏差が小さいほど品種の覆輪安定性が高いと定義した。統計解析については各品種の覆輪着色面積率のデータをアークサイン変換ならびに対数変換した値を用いて栽培条件および品種間の差異を検定するために分散分析を行った。品種間変異が有意であった場合には、いずれの品種間に有意差があるのかを明らかにするために Tukey-Kramer の多重比較検定を行った。こ

第 1 図 覆輪花卉における着色面積の変異の目視評価と「色流れ」

上段: 花卉裏面 (外側), 下段: 花卉表面 (内側), 品種 ‘キャンディマリン’, 数値は目視評価による着色指数, 着色指数 2 以上を「色流れ」とする

第 1 表 供試品種

品種名	略称	Lot No.	入手先
キャンディマリン	Ca	037145	(株)ミヨシ
クリアマリン	Cl	013053	(株)ミヨシ
キャンディドルフィン	Dl	013255	(株)ミヨシ
エクセルマリン	ExMa	010144	(株)ミヨシ
ひこ星	Hiko	161043	(株)サカタのタネ
北斗星	Hoku	171132	(株)サカタのタネ
一番星	Ich	176589	(株)サカタのタネ
ミラマリーナ 4	Mira	0227	(株)みかど育種農場
モレットマリン	MoMa	039093	(株)ミヨシ
マイティスカイ	My	006069	(株)ミヨシ
あすかの波	Nami	156597	(株)サカタのタネ
ネイルマリンネオ	Ne	013008	(株)ミヨシ
エクセルネイビーリング	NeRi	039515	(株)ミヨシ
ロココマリン	Ro	12003	(株)ミヨシ
サンサーフ 26	Sarf	0206	(株)みかど育種農場
ネイルスワロー	Sw	039517	(株)ミヨシ

れらの解析には統計解析ソフト JMP4.0J (SAS Institute Inc., 2000) を用いた。また、覆輪形質の数量化と従来の評価法との関連を見るために、画像解析を行った花卉を目視評価して正常な覆輪を 0, 全面着色を 5 とする 6 段階の着色指数で評価し指数 2 以上を着色部の変形を伴う不安定化である「色流れ」とした (第 1 図)。

結 果

覆輪着色面積率の品種間変異および栽培条件による変動は有意であり、交互作用も有意であったことから、品種によって栽培条件の影響は異なることが明らかとなった (第 2 表)。そこで栽培条件ごとに解析したところ、夏開花区における着色面積率の品種間変異は有意であった (第 3 表)。着色面積率の平均値は最も低い ‘ネイルスワロー’ (Sw) の 5.8% から ‘ミラマリーナ 4’ (Mira) の 49% の範囲で幅広い変異が認められた (第 5 表)。値が小さいほど覆輪安定性が高いことを示す着色面積率の標準偏差は ‘ネイルマリンネオ’ (Ne) の 1.3 から ‘マイティスカイ’ (My) の 35 まで品種によって大きく異なった (第 5 表)。調査した 20 個体のうち ‘モレットマリン’ (Mo) では 13 個体 ‘マイティスカイ’ (My) では 5 個体, ‘エクセルネイビーリング’ (NeRi) と ‘キャンディマリン’ (Ca) では 2 個体, ‘サンサーフ 26’ (Sarf) と ‘北斗星’ (Hoku) では 1 個

第2表 覆輪着色面積率に対する品種と栽培条件の影響に関する分散分析結果

要因	自由度	平方和	平均平方	F値
品種	15	141230.6	9415.4	30.0***
栽培条件	1	15479.5	15479.5	49.2***
品種*栽培条件	15	29760.1	1984.1	6.3***
誤差	518	162820.8	314.3	

***は0.1%水準で有意であることを示す

第3表 夏開花区における着色面積率の品種間変異に関する分散分析結果

要因	自由度	平方和	平均平方	F値
品種	15	67935.8	4529.1	21.5***
誤差	303	63898.4	210.9	
全体	318	131834.2		

***は0.1%水準で有意であることを示す

第4表 20℃栽培区における着色面積率の品種間変異に関する分散分析結果

要因	自由度	平方和	平均平方	F値
品種	15	95943.6	6396.2	14.2***
誤差	214	96264.4	449.8	
全体	229	192208.0		

***は0.1%水準で有意であることを示す

体に「色流れ」が生じた(第2図). これらの品種の着色面積率の標準偏差は16~35であり,「色流れ」が生じない品種の標準偏差が13以下であったのと比較して高い値であった(第5表). 着色面積率の平均値については13.8%以下の品種では「色流れ」が生じなかったが,これより大きい品種においては平均値と「色流れ」の発生との間に関連は認められなかった(第5表).

20℃栽培区においても着色面積率の品種間変異は有意であった(第4表). 着色面積率の平均値は最も低い「ネイルマリンネオ」(Ne)の6.5%から「エクセルネイビーリング」(NeRi)の83%と,夏開花区よりも変異の幅が拡大した(第5表). 着色面積率の標準偏差は「エクセルマリン」(ExMa)が0.8と最も小さく,「マイティスカイ」(My)が37.7で最大であった. 供試した16品種のうち8品種で「色流れ」個体が生じた(第2図). これらの品種は着色面積率の平均値26%以上,標準偏差も16以上と大きかった.「ひこ星」(Hiko)と「ミラマリン4」(Mira)は着色面積率の平均値がそれぞれ49%と37%,標準偏差が14と18で比較的高く覆輪の着色幅の変異が大きいものの「色流れ」個体は生じなかった(第5表,第2図).

各品種の夏開花区と20℃栽培区における着色面積率の平均値を比較すると,供試した16品種のうち,「ミラマリン4」(Mira),「ロココマリン」(Ro),「エクセルマリン」(ExMa)だけが夏開花区の方が高く,他の13品種は全て20℃栽培区が高かった(第3図). この中で特に「エクセルネイビーリング」(ExRi),「モレットマリン」(Mo),「マイティスカイ」(My),「キャンディマリン」(Ca)の4品種は栽培条件による変動が大きかった. 品種の覆輪安

第5表 異なる栽培条件における着色面積率の品種間変異

夏開花区			20℃栽培区		
品種	平均	標準偏差	品種	平均	標準偏差
Mira	49.0 a ^z	12.7	NeRi	83.4 a	27.9
Mo	48.3 a b	19.9	Mo	70.7 a b	29.0
Sarf	45.8 a b c	16.0	My	55.5 b c	37.7
Hiko	37.6 a b c	11.8	Ca	49.5 b c d e	30.5
My	33.1 b c d	35.0	Hiko	49.4 b c	18.1
NeRi	31.7 c d e	18.0	Sarf	47.1 b c d	16.8
Ro	30.5 c d e	6.7	Mira	36.9 c d e	14.4
Ca	20.6 d e f	18.8	Hoku	33.0 c d e f	28.0
DL	18.1 d e f	5.0	DL	31.8 c d e f	35.6
Hoku	17.1 e f	18.1	Ich	26.5 d e f	17.9
Nami	13.8 f	6.7	CL	24.7 d e f	6.4
ExMa	12.3 f	4.5	Ro	24.6 c d e f	5.6
CL	11.4 f	5.1	Nami	19.0 e f	6.8
Ich	9.1 f	5.0	Sw	9.1 f	4.5
Ne	6.3 f	1.3	ExMa	6.7 f	0.8
Sw	5.8 f	1.8	Ne	6.5 f	2.9

^z同じ英文字はTukey-Kramerの多重検定法で5%水準で有意差が無いことを示す
●は「色流れ」個体が生じたことを示す

第2図 着色面積率の品種間および個体間の変異
○は覆輪正常個体, ●は色流れ個体, 品種名は第1表を参照

定性を示す着色面積率の標準偏差も平均値と同様に,ほとんどの品種で夏開花区に比べて20℃栽培区の値が大きくなり,覆輪安定性が低下することが示された(第4図). 早晩性を示す第1花の節位は夏開花区で極早生の「キャンディマリン」が10節と最も低く,最も高いのは「エクセルネイビーリング」の16節であった(データ省略). 20℃栽培区では短日期を経過しての開花であったためにすべての品種で第1花の節位が上昇し,最も増加の少ない「キャンディマリン」は3節,最も増加数の多い「ネイルスワロー」は19節増加して32節となった(データ省略). これに伴って20℃栽培区の総節数,切り花長,切り花重ともにすべての品種で夏開花区よりも増加したが,覆輪安定性との間に関連は認められなかった(データ省略).

考 察

覆輪形質を着色面積率と標準偏差に数量化することによって、着色面積率の明瞭な品種間変異と栽培条件による変動を統計的に解析することが可能となった。さらに、着色面積率については品種と栽培条件の交互作用が統計的に有意であったことから、20℃の低温栽培によって覆輪の着色面積率は増加する傾向にあるものの、品種によっては逆の関係になるものがあることが示された(第2表)。

覆輪安定性については、標準偏差が16以上の品種は20℃栽培区の「ひこ星」(Hiko)を除いて、すべて「色流れ」が生じ、正常な覆輪のみの品種は標準偏差が15未満であることから、着色面積率の標準偏差によって良く表されたと言える。また、ほとんどの品種が20℃栽培区で標準偏差が大きくなったことから、夏開花の作型では明確にならない覆輪形質の不安定性が20℃一定条件で栽培することにより顕在化することが示された(第4図)。

トルコギキョウの覆輪は一般に、冬や梅雨を経る作型で覆輪形質が不安定となり、特に20℃以下の気温の影響が大きいことが報告されている(福田・中山, 2003; 渡辺・金子, 2003)。そのため品種の覆輪安定性を評価するためには、低温条件で栽培する必要がある。通常のビニルハウスや温室における冬から春に開花する作型では、短日期を経るために品種の早晩性によって花芽分化の時期が異なる。このため花芽が開花するまでに遭遇する温度条件が異なり覆輪安定性の品種比較が難しい。本実験では人工気象室を用いて温度を20℃一定にすることで、この遭遇温度の問題を解決した。また、自然光型人工気象室であったため日長の影響を受け、品種によって開花が1月下旬から5月下旬の範囲で異なり生育量に大きな差異が生じたが、切り花長や第1花節位などと覆輪安定性との間に相関は認められなかった。このことから、日長条件が

第3図 覆輪着色面積率の栽培条件による変動

○: は両区とも正常な覆輪花の品種, ●: 両区ともに「色流れ」花が生じた品種, ◆: 20℃栽培区のみで「色流れ」花が生じた品種, 点線は $Y=X$ を示す, 品種名は第1表を参照

第4図 覆輪安定性の栽培条件による変動

点線は $Y=X$ を示す, 品種名は第1表, 記号は第3図を参照

Mo: 'モレットマリン' 品種群 C

Mira: 'ミラマリン4' 品種群 B

第5図 着色面積率と「色流れ」の関係の品種による変異

数値は着色面積率, 品種群 B, C は第4図を参照

これらの形質を通じて覆輪安定性に影響を及ぼすことは無いと考えられ、20℃で栽培することによって低温条件における覆輪安定性の品種間差を正確に評価できたと考えられる。

供試した16品種の覆輪安定性を、標準偏差を基に分類・評価すると、両区ともに10以下のA群は覆輪安定性が高い、16以上のC群は常に不安定、夏開花区では10以下で20℃栽培区17以上のD群は低温で顕著に不安定化すると評価できる(第4図)。単色花が多く分離した育成初期の覆輪固定品種と比較して、現在のF1品種は覆輪の出現率が向上し、A群のように着色面積率の変動も少ない品種が存在することから、覆輪安定性は遺伝的な改良が可能な形質と言うことができる。また、B群の「ミラマリン4」(Mira)と「ひこ星」(Hiko)は、標準偏差が15前後と比較的大きいことからA群ほど安定性は高くないが、「色流れ」が生じないことから常に覆輪形質が不安定なC群の品種とも異なると考えられる(第5図)。これらの品

種の存在は、着色面積の増加と着色部と白色部の境界面の変形である「色流れ」が必ずしも強い相関を示す形質でないことを示唆しており、覆輪形質安定化への過渡的な品種であると考えられる。一方で、C群やD群のように覆輪形質が不安定で単色花が生じる品種も多く、これらの改善のために覆輪形質の遺伝的な成立機構や栽培環境の影響を明らかにする必要がある。

遺伝形質のうち、質的な形質は1個またはごく少数の遺伝子座に支配され、環境要因によってはほとんど変化しないのに対して、量的な形質には複数の遺伝子が関与し、環境によって表現型が変わりやすい特徴がある (Falconer, 1961). 稲津ら (1999) はコスモスの覆輪品種の遺伝様式から、覆輪は単一の主働遺伝子が関与する、単色に対して優性な形質であることを明らかにした。また、覆輪の着色面積率の発現は気温の影響を受けやすい変更遺伝子が関与している可能性を示している。また、アサガオの覆輪には5種類の優性遺伝子、覆輪の幅に関しても4種類の変更遺伝子等が関与するとされる (Imai, 1927). トルコギキョウの覆輪は有色の単色に対して優性な形質であろうと言われているが (間藤, 2003), 覆輪着色面積率は個体や栽培環境によって変動する量的な形質であることから複数の遺伝子が関与すると考えられる。今後、固定系統を用いた詳細な遺伝解析が必要であり、その際に本研究で用いた覆輪形質の数量化は有効な手法と考えられた。さらに、画像解析手法の改良によって色流れの程度を形として認識することによってより詳細な解析が可能となる。

摘 要

トルコギキョウの覆輪安定性の品種間変異を明らかにする目的で、画像解析を用いて花卉の着色面積率を算出し、品種の覆輪安定性を着色面積率の標準偏差として数量化した。この方法を用いてガラス温室における季咲きの作型と20℃一定条件とで栽培した紫覆輪のトルコギキョウ16品種の覆輪形質を評価した。統計解析の結果、覆輪着色面積率の品種間変異および栽培条件による変動は有意であり、品種によって栽培条件の影響が異なることが明らかとなった。多くの品種において20℃栽培区において着色面積率の平均値が増加するとともに個体間変異が顕在化し、覆輪安定性が低下した。供試した16品種を2つの栽培条件における着色面積率の標準偏差を基に分類すると、標準偏差が10以下で栽培環境の影響が少なく覆輪安定性が高い品種群、16以上で常に不安定な品種群、20℃栽培条件で安定性が顕著に低下する品種群に類型化できた。「色流れ」状の着色部の変形は1品種を除いて標

準偏差が16以上の覆輪安定性の低い品種で生じた。標準偏差が15~18でも「色流れ」が生じない品種が存在したが、このことは着色面積と「色流れ」は必ずしも強い相関があるとはいえないことを示している。以上から覆輪形質の数量化によって統計解析を行い覆輪安定性の品種間差異の評価が可能であることが示された。

謝 辞 本研究を始めるに当たり、種子をご提供いただいた(株)ミヨシ、栽培方法についてご助言いただいた長野県野菜花き試験場花き部宮本賢二研究員に深く感謝致します。

引用文献

- Falconer, D. S. 1961. Introduction to quantitative genetics. p. 365. Oliver and Boyd, Edinburgh.
- 福田直子・中山真義. 2003. 低温がトルコギキョウ覆輪花卉の色素合成制御に及ぼす影響. 園学雑. 72(別2): 471.
- 羽田野昌二. 2003. 民間における品種開発について. p. 39-46. 平成15年度花き研究シンポジウム資料. 茨城.
- Imai, Y. 1927. A genetic analysis of white-margined flowers in the Japanese morning-glory. Genetics 12: 119-241.
- 稲津厚生・露木美英・佐藤誉典. 1999. コスモスにおけるピコティー花色の選抜と遺伝様式. 園学雑. 68(別2): 405.
- 小林 隆. 1991. トルコギキョウの切り花生産の現状と問題点(2). 農及園. 66: 417-425.
- 間藤正美. 2003. 花色の遺伝様式とその育種への利用. p. 8-15. 平成15年度花き研究シンポジウム資料. 茨城.
- 大川 清. 2003. 日本における品種改良の歴史. p. 20-27. 大川 清編著. 実践花き園芸技術トルコギキョウ. 誠文堂新光社. 東京.
- SAS Institute Inc. 2000. JMP statistical and graphics guide, version 4. SAS Institute Inc., NC.
- 杉浦令章. 1987. 二色咲きのトルコギキョウ フレンドシリーズ. 農耕と園芸. 42(3): 186.
- 鵜飼保雄. 2002. 量的形質の遺伝解析. 354pp. 医学出版. 東京.
- 渡辺 功・金子英一. 2003. トルコギキョウの収穫時期が花卉面積および覆輪花卉の着色割合に及ぼす影響. 九農研. 65: 214.
- 山口 隆. 1991. トルコギキョウの切り花生産の現状と問題点(1). 農及園. 66: 309-316.
- 米田芳秋. 1998-2000. アサガオの遺伝子表. 2004. 12.10. < <http://www.genetics.or.jp/Asagao/Yoneda/species/gen.html>. >