グラジオラス木子茎頂からの不定胚形成と花色変異

霞 正一・高津康正・友常秀彦・佐久間文雄

茨城県農業総合センター生物工学研究所 319-0292 茨城県西茨城郡岩間町安居

Somatic Embryogenesis from Cultured Cormel Stem Tips and Flower Color Variations among Regenerated Plants of *Gladiolus*

Masakazu Kasumi, Yasumasa Takatsu, Hidehiko Tomotsune and Fumio Sakuma

Plant-Biotechnology Institute, Ibaraki Agricultural Center, Ago Iwama, Nishiibaraki, Ibaraki 319-0292

Summary

Somatic embryogenesis from the stem tips of cormels resulted in flower color variations among regenerated plants from three *Gladiolus* cultivars. The highest frequency (51.1%) of somatic embryos was induced in MS medium supplemented with $5\text{mg} \cdot \text{liter}^{-1}$ NAA. Varietal differences in the somatic embryogenesis occurred; 'Topaz' and 'Traveler' formed more somatic embryos than did 'Hector'. Flower color variants originated among regenerated plants grown in the field. No chimeric change occurred in the floret and in the flower, i.e. all florets of a given plant displayed one color. The frequency of flower color variation differed among the cultivars. The variations were induced in 'Traveler' and 'Hector', but not in 'Topaz'. The flower color of variants changed into pale to deep color from that of original cultivar. Variants were generally smaller in stature with a little shorter spike; they had fewer, small florets compared with the original cultivar, 'Traveler'. The flower color of few variants reverted to the original cultivar when the plants were propagated vegetatively. These findings reveal that some variations in flower color induced through somatic embryogenesis are useful in developing new *Gladiolus* cultivars.

Key Words: flower color, *Gladiolus*, somatic embryogenesis, tissue culture, variation.

緒 言

培養変異は優良品種の形質の一部を改良する手法の一つとして利用され、花きではペラルゴニウム (Skirvin・Janick, 1976), トレニア (Brand・Bridgen, 1989), エラチオール・ベゴニア (大門ら, 1993) などでは新品種の育成が報告されている。また、キク (Earle・Langhans, 1974; 遠藤ら, 1990; 市橋・藤野, 1976; 宮崎・田代, 1978; 大石・桜井, 1988; 柴田ら, 1984), プリムラ (Kanda, 1992), トルコギキョウ (古川, 1993), ヒャクニチソウ (Stieve・Stimart, 1996) など多くの花きで組織培養 (以下、培養と略記) により花色変異を生じることが報告されている。

グラジオラスでは、花茎、木子切片、葉基部などを外植体とした不定胚による茎葉再分化系が確立されているが、不定胚形成の効率が低い、あるいは効率が高い報告でも培養操作が煩雑と考えられる (Kamo ら, 1990; Kim・Kang, 1992; Remotti, 1995; Stefaniak, 1994; Tomotsune ら, 1994)。また、培養変異については、アル

ビノ個体を観察したとする Remotti (1995) の報告だけで、十分な検討はされていない。

グラジオラスにおいても他の花きと同様に培養によって生じた花色変異体の育種への利用が期待される。そのためには、培養操作が簡便で、不定胚形成率の高い培養系の確立が必要となる。

そこで、著者らはグラジオラスの培養変異による育種を目的として、木子茎頂からの簡便で、効率的な不定胚培養系を確立し、この培養系で得られた再生個体に花色変異が生じることを明らかにしたので報告する。

材料および方法

実験 1. 木子茎頂からのカルス形成、茎葉再分化に及ぼす植物生長調節物質の影響

供試材料には茨城県農業総合センター生物工学研究所果樹花き育種研究室保存の 'トラベラー' (花色: 桃色) の木子を用いた。外皮を剥いだ木子を、70 % エタノールに1分間浸漬後、少量の Tween-20 (0.1 %) を添加した次亜塩素酸ナトリウム溶液 (有効塩素 0.5 %) に20分間浸漬して表面殺菌した後、滅菌水で5分間ずつ3回洗った。外植

Fig.1. Derivation of explant.

A: Shelled cormel.

B: Stem tip (1-2mm) excised from cormel. Bar = 0.5 mm.

体として木子から茎頂を 1~2 mm の大きさで無菌的に摘出し (第 1 図-A, B), 各処理区当たり 39~50 個置床した。培地は 3 % ショ糖, $10 \text{ g} \cdot \text{liter}^{-1}$ 寒天を含む Murashige and Skoog (MS) 培地 (Murashige & Skoog, 1962) を基本培地とし, $1 \text{ mg} \cdot \text{liter}^{-1}$ 1-ナフタレン酢酸 (NAA), $1 \text{ mg} \cdot \text{liter}^{-1}$ NAA+ $1 \text{ mg} \cdot \text{liter}^{-1}$ 6-ベンジルアミノプリン (BAP), $1 \text{ mg} \cdot \text{liter}^{-1}$ NAA+ $5 \text{ mg} \cdot \text{liter}^{-1}$ BAP, $5 \text{ mg} \cdot \text{liter}^{-1}$ NAA, $5 \text{ mg} \cdot \text{liter}^{-1}$ NAA+ $1 \text{ mg} \cdot \text{liter}^{-1}$ BAP, $5 \text{ mg} \cdot \text{liter}^{-1}$ NAA+ $5 \text{ mg} \cdot \text{liter}^{-1}$ BAP, $20 \text{ mg} \cdot \text{liter}^{-1}$ NAA の組合せで植物生長調節物質を添加し, pH 5.8 に調製した。これらの培地を $\phi 24 \times 90 \text{ mm}$ の試験管に 5 ml ずつ分注し, アルミ箔でキャップ後, 20 分間オートクレーブで滅菌し, 斜面培地とした。培養条件は 25 °C, 暗黒とした。置床 80 日後にカルス形成率, 茎葉再分化率を調査した。

実験 2. 胚様体の組織学的観察と発育

組織学的観察は実験 1 において $5 \text{ mg} \cdot \text{liter}^{-1}$ NAA を添加した MS 培地で木子茎頂から形成された胚様体を用いて行った。すなわち, 胚様体の形成されたカルスをファーマー液で固定し, エタノール・ブタノールにより脱水後, 厚さ $10 \mu\text{m}$ のパラフィン切片を作成し, デラフィールドのヘマトキシリンで染色して, 胚様体の発育過程を観察した。

また, 形成された胚様体を植物生長調節物質無添加の MS 培地に継代し, 茎葉の伸長および発根を図った。培養

条件は 25 °C, 白色蛍光灯 (ネオライン白色 FL 40 S-W, 東芝ライテック社製) で $3,000 \text{ lx}$, 16 時間日長とした。置床 7, 14 日後に茎葉および根の発育を観察した。さらに, 継代 3~4 ヶ月後, 得られた小植物体の球茎を肥大させるため, 6 % ショ糖を含む MS 培地を 40 ml ずつ分注したプラスチック製の培養容器 ($70 \times 70 \times 98 \text{ mm}$) へ継代し, 25 °C, 白色蛍光灯 (ネオライン白色 FL 40 S-W, 東芝ライテック社製) で $3,000 \text{ lx}$, 16 時間日長で培養した。

実験 3. 木子茎頂からのカルス, 不定胚形成の品種間差異

供試材料には当研究室の保存品種の 'トラベラー' (花色: 桃色), 'トパーズ' (同: 黄色), 'ヘクター' (同: 赤色) の花色の異なる 3 品種の木子を用い, 外植体は実験 1 と同様の方法で調整して無菌的に培地に 50 個ずつ置床した。なお, 'ヘクター' を除く 2 品種の 'トラベラー', 'トパーズ' は実験を 2 回反復した。培地は実験 1 で最も不定胚形成率の高かった $5 \text{ mg} \cdot \text{liter}^{-1}$ NAA を添加した MS 培地を実験 1 と同様に用いた。培養条件は実験 1 と同様とし, 置床 60 日後にカルス形成率, 不定胚形成率を調査した。

実験 4. 木子茎頂からの不定胚由来個体に生じた花色変異の品種間差異

実験 3 で得られた 3 品種の不定胚から実験 2 の方法により球茎を養成した。この球茎を 5 °C, 3 ヶ月間の低温処理により休眠打破し, 1992 年に当研究室の露地圃場で 1 年間球根を養成して, 成球にした。翌年, 得られた成球 64~489 球を別の露地圃場に 10 cm 間隔の 3 条植えて定植した。対照区として, 分球と木子から養成した成球 120 球を処理区と同様に栽培した。その他の管理は茨城県花き耕種基準に準じて行った。なお, 'ヘクター' を除く 2 品種の 'トラベラー', 'トパーズ' は処理区を 2 反復とした。花色変異の調査基準は原品種の花色に対して日本園芸植物標準色票 (財団法人日本色彩研究所製, 1984) で 1 段階以上異なった花色を濃淡により二つに分け, さらに変異部位の大きさにより, 4 種類, すなわち "花被半分以上, 花被 1 枚未満", "花被 1 枚以上, 小花 1 ヶ未満", "小花 1 ヶ以上, 株全体未満", "株全体" に分けて行った。調査は開花期間中 2~3 日ごとに行った。

実験 5. 不定胚由来の花色変異体の特性

実験 4 で得られた 'トラベラー' の花色変異体の中から原品種に対し, 花色の淡いおよび濃い個体のそれぞれで草丈が最も高く, 小花数の多い個体を 1 個体ずつ選抜した。この個体を分球と木子養成により増殖し, 定植当年に開花確実な球径 10~30 mm の成球を各 10 球用いた。対照区として原品種 'トラベラー' の同規格の成球を 10 球用いた。栽培条件は 1994 年 3 月 25 日, パイプハウス内に成球を 10 cm 間隔 3 条植えて定植した。その他の管理は茨城県花き耕種基準に準じて行った。第 1 花の開花時に草丈, 第 1 花の長径, 花穂長, 小花数, 花被の色, 花被片基部の斑の色を調査した。なお, 花色の基準には日本園芸

植物標準色票を用いた。

実験 6. 不定胚由来の花色変異系統の花色復帰

実験 5 の 'トラベラー' 不定胚由来の花色変異 2 系統の花色復帰 (本論文では培養により生じた花色変異が原品種と同じ花色に戻ることを便宜的に花色復帰と呼称) の調査は、分球と木子から養成して得られた開花個体をそれぞれ 34, 74 個用い、花色変異が確認された翌年に行った。栽培条件は実験 5 と同様とした。花色復帰の調査基準は実験 4 と同様に 4 段階に分け、開花期間中 2~3 日ごとに調査した。なお、花色復帰のうち、その大きさが花被の半分以下のものについては調査しなかった。

結 果

実験 1. 木子茎頂からのカルス形成、茎葉再分化に及ぼす植物生長調節物質の影響

木子茎頂からのカルス形成、茎葉再分化に及ぼす植物生長調節物質の影響を第 1 表に示した。カルス形成率はいずれの培地でも 70 % 以上と高かった。NAA を単独に 1, 5, 20 mg・liter⁻¹ 添加した区では胚様体が形成され、カルスからの茎葉再分化率は、それぞれ 14.6, 51.1, 48.0 % であった (第 2 図-A)。一方、1 mg・liter⁻¹ NAA に 1 または 5 mg・liter⁻¹ BAP の添加区で不定芽が形成され、カルスからの茎葉再分化率はそれぞれ 4.9, 7.1 % となった。また 5 mg・liter⁻¹ NAA に 1 または 5 mg・liter⁻¹ BAP の添加区では茎葉の再分化は認められなかった。本実験の範囲でみると茎葉再分化率が最も高かったのは、NAA の 5mg・liter⁻¹ の単独添加区であった。

実験 2. 胚様体の組織学的観察と発育

胚様体を組織学的に観察した結果、カルスの表面に接合胚と類似の球状および茎葉と根の両極性のある構造体が、置床後 80 日目に認められた (第 2 図-B)。また、これらの胚様体は全体が表皮に囲まれ、維管束がカルスや他の組織とつながっていなかった。胚様体を植物生長調節物質無添加の MS 培地に置床した結果、7~14 日後に茎葉

および根の伸長が認められ (第 2 図-C)、ここで観察された胚様体を不定胚とみなした。継代 3~4 ヶ月後に不定胚は小植物体を形成し、さらに継代培養を続けた結果、2~3 ヶ月後これらの小植物体は球茎を形成した (第 2 図-D)。

実験 3. 木子茎頂からのカルスおよび不定胚形成率の品種間差異

各供試品種ごとの木子茎頂からのカルスと不定胚の形成率を第 2 表に示した。カルス形成率はいずれの品種でも 98 % 以上と高かったが、不定胚形成率には品種間差異が認められた。すなわち、その平均値は 'トラベラー' が 66.0 %, 'トパーズ' が 85.0 % と比較的高かったが、'ヘクター' は 18.0 % とかなり低かった。

実験 4. 木子茎頂からの不定胚由来個体に生じた花色変異の品種間差異

木子茎頂からの不定胚由来個体の成球を栽培し、生じた花色変異の発生様相を品種ごとに調査し、第 3 表に示した。花色変異体の出現頻度には反復実験間でデータに若干相違はあったが、その平均値に品種間差異が認められ、'トラベラー' では 1.5 %, 'トパーズ' では 0 %, 'ヘクター' では 0.6 % であった。花色変異は原品種に対して、'トラベラー' では淡色化と濃色化の両方、'ヘクター' では淡色化だけが認められた。花色変異は個体の一部分ではなく個体全体で認められた。

なお、予備調査の結果、'トラベラー'、'ヘクター' の対照区ではストライプ状または点状の小さな斑が、2~3 個体当たり 1 個程度の割合で花被片に入る場合が観察された。従って、培養による変異と区別するため、このような小さな斑については調査しなかった。

実験 5. 不定胚由来の花色変異体の特性

選抜した不定胚由来の花色変異体の特性を第 4 表に示した。花被の色は、原品種の紫ピンク (日本園芸植物標準色票 NO.9703, 以下同じ) に対し、淡桃色花系統がピンク白 (9701)、濃桃色花系統が鮮黄ピンク (1004) となり、2 種類の変異系統は原品種に比べて明らかに異なった (第 3 図-A, B)。花被片基部の斑の色は、原品種の鮮紫ピンク

Table 1. Effects of plant growth regulators on callus formation and shoot regeneration from cormel stem tips in *Gladiolus* 'Traveler'.

NAA (mg・liter ⁻¹)	BAP	No. of explants tested	% of callus formation	% of shoots regeneration	Notes
1.0	0	41	87.8	14.6	somatic embryos
1.0	1.0	41	78.0	4.9	adventitious buds
1.0	5.0	42	71.4	7.1	adventitious buds
5.0	0	43	90.7	51.1	somatic embryos
5.0	1.0	39	87.2	0	
5.0	5.0	43	83.7	0	
20.0	0	50	88.0	48.0	somatic embryos

The explants were cultured in the dark at 25 °C for 80 days.

Fig.2. Somatic embryogenesis and plant regeneration from callus in *Gladiolus* 'Traveler'.

A: Somatic embryos (arrow) on embryogenic callus. Bar = 1 mm.

B: Globular embryo (G) and developed embryo (D). Bar = 0.5 mm.

C: Young plantlet derived from somatic embryo. Bar = 2 mm.

D: Plants with corm derived from somatic embryos. Bar = 1 cm.

Table 2. Varietal differences on the callus formation and somatic embryogenesis from cormel stem tips in *Gladiolus*.

Cultivars (flower color)		No. of explants tested	% of callus formation	% of somatic embryogenesis
Traveler (pink)	Exp. 1	50	100.0	74.0
	Exp. 2	50	100.0	58.0
Topaz (yellow)	Exp. 1	50	100.0	90.0
	Exp. 2	50	100.0	80.0
Hector (red)	Exp. 1	50	98.0	18.0

The explants were cultured on MS medium containing $5\text{mg} \cdot \text{liter}^{-1}$ NAA in the dark at 25°C for 60 days.

(9704)に対し、淡桃色花系統が淡紫ピンク(9702)、濃桃色花系統が鮮紫ピンク(9705)となった。草丈は、原品種の143.8 cmに対し、淡桃色花系統が112.6 cm、濃桃色花系統が114.7 cmとなり、変異系統は原品種に比べて、それぞれ31.2, 29.1 cm低かった。花穂長は、原品種の53.1

cmに対し、淡桃色花系統が39.6 cm、濃桃色花系統が40.5 cmとなり、変異系統は原品種に比べて、それぞれ13.5, 12.6 cm短かった。小花数は原品種の17.8個に対し、淡桃色花系統が11.0個、濃桃色花系統が12.1個となり、変異系統は原品種と比べて、それぞれ6.8, 5.7個少なかった。第1花の長径は、原品種の9.7 cmに対し、淡桃色花系統が9.2 cm、濃桃色花系統が8.0 cmとなり、変異系統は原品種と比べて、それぞれ0.5, 1.7 cm短かった。

実験 6. 不定胚由来の花色変異系統の花色復帰

不定胚由来の花色変異系統と花色復帰の関係について‘トラベラー’での調査結果を第5表に示した。淡桃色花系統は調査した34個体中、3個体(8.8%)が原品種と同じ桃色に花色復帰した(第3図-C)。しかし花色復帰した部位の大きさは個体により異なり、花被の約0.5枚分および約1.5枚分、さらに株全体のものが、それぞれ1個体ずつ認められた。なお、濃桃色花系統に花色復帰は認められなかった。

Table 3. Frequency of occurrence in flower color variants of regenerated plants from somatic embryos of *Gladiolus*.

Cultivars				No. of plants tested	Pale color (%)	Deep color (%)	Total (%)
Traveler	regenerated plants	Exp. 1		293	0.7	1.0	1.7
		Exp. 2		252	0.4	0.8	1.2
	control plants			120	0	0	0
Topaz	regenerated plants	Exp. 1		489	0	0	0
		Exp. 2		64	0	0	0
	control plants			120	0	0	0
Hector	regenerated plants	Exp. 1		170	0.6	0	0.6
	control plants			120	0	0	0

Table 4. Characteristics of flower color variants in regenerated plants derived through somatic embryos of *Gladiolus* 'Traveler'.

Line	No. of plants tested	Plant height (cm)	Diameter of the first floret (cm)	Spike length (cm)	No. of florets/spike	Perianth color ²	SC ^{z,y}
Pale-pink-flowered line	10	112.6 ± 4.6 ^x	9.2 ± 0.2	39.6 ± 2.0	11.0 ± 0.6	pinkish white (9701)	pale purplish pink (9702)
Deep-pink-flowered line	10	114.7 ± 3.8	8.0 ± 0.4	40.5 ± 2.1	12.1 ± 0.7	strong yellowish pink (1004)	strong purplish pink (9705)
Control	10	143.8 ± 3.7	9.7 ± 0.3	53.1 ± 2.0	17.8 ± 0.5	purplish pink (9703)	strong purplish pink (9704)

^z According to the Japan Color Standard for Horticultural Plants (1984).^y SC: spot color of the basal part in perianth.^x Mean ± S. E.

Investigated in the flowering time of the first florets.

考 察

1. 木子茎頂からの不定胚形成

グラジオラスの不定胚形成に関する研究には、外植体に培養中の木子切片 (Kamo ら, 1990; Stefaniak, 1994; Tomotsune ら, 1994), 培養中の植物体全体および若い葉基部 (Stefaniak, 1994), 培養直前に無菌化した木子切片 (Kim・Kang, 1992; Remotti, 1995), 花茎 (Kamo ら, 1990) などを用いたいくつかの報告がある。エンブリオジェニックカルスが形成された培地の植物生長調節物質は、Kim・Kang (1992) がカルスの状態により 2, 4-D の濃度を変更した数種類の培地を用いたことを除けば、上記の諸報告の大部分では $2 \text{ mg} \cdot \text{liter}^{-1}$ 2, 4-D, または $5 \sim 20 \text{ mg} \cdot \text{liter}^{-1}$ NAA であった。培養変異を育種的に利用するには、再生個体が多く得られる好適な外植体の選定、培地条件の確立などが必要となる。本研究において、1~2 mm の大きさの木子茎頂を培養した結果、不定胚形成には、5 および $20 \text{ mg} \cdot \text{liter}^{-1}$ NAA の添加が良好で、特に前者の濃度が最適であった。上記の諸報告と本研究で明らかになった各々の不定胚培養系は、供試品種および培養条件などが異なることから、直接の比較はできないが、植物生長調節物質については、NAA を用いた Kamo ら

(1990), Stefaniak (1994), Tomotsune ら (1994) の報告と本研究の結果がほぼ一致した。従って、グラジオラスにおいては外植体が異なる場合でも、培地への NAA の添加が不定胚形成に有効であると考えられる。

また、これまでに報告のあった花茎、木子切片および葉基部などを外植体として用いた不定胚培養系では、大量の外植体の確保が困難であったり、あるいは継代の回数が多く、多大の労力を要すると考えられる。一方、本研究で示された木子茎頂を用いた不定胚培養系は、培養直前に木子は無菌化するため、大量の材料を冷蔵庫に 1 年間程度保存でき、外植体の確保が容易である。さらに用いる茎頂は、大きさ 1~2 mm であるため、摘出が肉眼で可能であり、その後は 25 °C の暗所で 2~3 ヶ月間経過すれば、効率的に不定胚が形成される。従って、本研究で明らかにした木子茎頂を用いた不定胚培養系は、これまでの報告に比べて簡便かつ効率的な手法と考えられる。

2. 花色変異の出現様相、品種間差異

本研究の結果、不定胚由来個体における花色変異の出現様相は、同一個体の一部分の花被のみではなく、すべての花被で認められ、その変異は原品種に比べて濃淡いずれかで、しかもその発生様相に品種間差異が認められた。この傾向は花卉、茎を外植体にして得られたキクの

Fig.3. Characteristics flower color variants and their flower color reversion of *Gladiolus* 'Traveler'. Color reversion was investigated in the year following, after confirmation of flower color variation.

A: Flower color variants from somatic embryo. Middle; original cultivar.

Left; pale-pink-flowered line. Right; deep-pink-flowered line.

B: Comparison of the florets between regenerated plants derived through somatic embryogenesis and original cultivar. Middle; original cultivar. Left; pale-pink-flowered line. Right; deep-pink-flowered line.

Right; deep-pink-flowered line.

C: Reversion (arrow) of flower color variants (pale-pink-flowered line).

不定芽由来個体で報告されている現象 (遠藤ら, 1990; 市橋・藤野, 1976; 大石・桜井, 1988; 柴田ら, 1984) に類似していた。

また, 著者らが 'トラベラー', 'ヘクター', 'トパーズ' の木子にガンマ線 100 Gy を照射して, 1 年間成球を養成後, 翌年に花色変異の出現様相を検討した結果, 花色変異体の出現頻度は 'トラベラー' で 2.3 %, 'ヘクター' で 4.1 %, 'トパーズ' では 0 % で, 花色は原品種に対し, 淡

い色に変異したものが多く, しかも区分キメラを生じるものも多かった (霞ら, 1995)。このように花色変異体の出現頻度の品種間差異について, 木子へのガンマ線照射では本研究の結果と同様の傾向が認められたが, 花色変異の様相, 区分キメラの発生などについては異なった。

以上の結果, 不定胚由来個体から花色変異体を選抜する本研究の手法は, 木子へのガンマ線照射法に比べて花色変異体の発生頻度は高くないが, 濃淡両方の花色変異

Table 5. Color reversion of flower color variants in regenerated plants derived by the somatic embryos of *Gladiolus* 'Traveler'.

Line	No. of plants tested	No. (%) of plants reversed flower color				
		Half perianth $\leq$	One perianth $\leq$	One floret $\leq$	Whole plant	Total
Pale-pink-flowered line	34	1 (2.9)	1 (2.9)	0	1 (2.9)	3 (8.8)
Deep-pink-flowered line	73	0	0	0	0	0

体が得られたことおよび花色変異が個体全体で認められたことなどから、花色変異体を作出する上で有効な方法であると考えられる。

3. 育種に利用する場合の問題点

本研究では不定胚由来の再生個体に花色変異が生じた。しかし、花色変異体には草丈と花穂長の低下、小花の小型化と数の減少が認められた。作物は異なるが、薮谷ら(1996)はハナショウブの花茎培養由来個体に原品種と比較し、花茎の短縮、内・外両花被の小型化傾向を認め、グラジオラスと類似した結果を報告している。今後、本研究で示した手法をグラジオラスの育種に適用するには、このような不定胚由来の花色変異体が原品種に比べて劣る特性を有する原因を解明し、克服する必要がある。

また、Wakasa (1979)はグラジオラスと通常の増殖法が類似する栄養繁殖性作物のパイナップルを用いて培養を行い、形態的に異なる多数の変異体を得ている。これらの変異が多数生じた原因として、培養過程で生じた、あるいは培養材料がキメラであった、などが考えられるとしている。本研究の予備試験の結果では‘トラベラー’、‘ヘクター’の対照区の花被に2~3個体当たり1個程度の割合でストライプ状または点状の小さな斑が観察されたのに対し、‘トパーズ’には同様の小さな斑は観察されなかった。これらは培養材料の品種により元々花色変異の可能性が含まれていることを示唆するものであろう。一方、培養材料自体がキメラであることによる変異の他に、培養過程で変異の生じることが一般に認められている(Bajaj, 1990)。同様のことはグラジオラスにおいても考えられるので、本研究で得られた花色変異体が培養過程で生じた可能性もある。前者により、花色変異体が生じたとすれば、培養による変異の量的拡大になるが、後者により生じたとすれば、培養による変異の質的、量的拡大になる。さらには単一の原因でなく、両方による可能性も否定できない。

以上の結果から、木子茎頂からの簡便で、効率的な不定胚培養系が確立できた。さらに、得られた不定胚由来個体に花色変異が生じることを明らかにし、この手法が育種に適用できる可能性を示した。一方、花色変異の出現機構については、不明の点が多く、今後さらに検討する必要がある。

摘 要

グラジオラス木子茎頂からの不定胚培養系の確立と得られた再分化個体に生じた花色変異について検討し、以下の結果を得た。

1. 木子茎頂からの不定胚形成率は、MS培地に5 mg・liter⁻¹ NAAを添加した区で最も高く51.1%であった。不定胚形成率には品種間差異が認められ、‘トパーズ’、‘トラベラー’が高く‘ヘクター’は低かった。

2. 不定胚由来個体からは花色変異体が得られた。花色変異はいずれも個体全体におよんでいた。花色変異の出現には品種間差異があり、‘トパーズ’を除く‘トラベラー’、‘ヘクター’で発生した。また花色は淡色化および濃色化の両方に変異していた。

3. ‘トラベラー’から得られた花色変異系統は、原品種に比べて草丈、花穂長、小花、小花数がやや小型化または減少の傾向にあった。花色変異系統を分球と木子により増殖して得られた一部の開花個体では、原品種と同様の花色に戻る花色復帰が認められた。

4. 不定胚由来個体に花色変異が認められたことから、不定胚培養系はグラジオラスの育種に有効であることが示唆された。

謝 辞 本論文を作成するに当たり、校閲していただいた茨城県農業総合センター生物工学研究所長西村繁夫博士に深く感謝の意を表します。

引 用 文 献

- Bajaj, Y. P. S. 1990. Somaclonal variation—origin, induction, cryopreservation, and implications in plant breeding. p. 3–48. In: Y. P. S. Bajaj(ed). Biotechnology in agriculture and forestry. vol. 11. Somaclonal variation in crop improvement I. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- Brand, A. J. and M. P. Bridgen. 1989. ‘UConn White’: A white-flowered *Torenia fournieri*. HortScience. 24: 714–715.
- 大門弘幸・関 栄一・伊藤靖之・藤家 梓・遠藤宗男. 1993. エラチオール・ペゴニアの組織培養による優良変異系統‘ローズエルフ’の作出. 千葉農試研報. 34: 63–68.
- Earle, E. D. and R. W. Langhans. 1974. Propagation of *chrysanthemum in vitro*. II. Production, growth, and flowering of plantlets from tissue cultures. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 99: 352–358.
- 遠藤元庸・佐々木力・稲田委久子. 1990. 食用ギクの組織培養

- による変異体の作出に関する研究 I. 特に培養部位の相違と再生率及び再生個体の特性. 岩手大農報. 20: 17-33.
- 古川 一. 1993. 組織培養で得たトルコギキョウのいくつかの特性. 植物組織培養. 10: 98-99.
- 市橋万貴子・藤野守弘. 1976. キク小花培養の利用法. 兵庫県農総セ研報. 25: 1-6.
- Kamo, K., J. Chen and R. Lawson. 1990. The establishment of cell suspension cultures of *Gladiolus* that regenerate plants. In vitro Cell Dev. Biol. 26: 425-430.
- Kanda, M. 1992. Variation in in vitro propagated plants of *Primula obconica*. p. 179-183. In: K. Oono et al. (eds). Plant tissue culture and gene manipulation for breeding and formation of phytochemicals. NIAR, Tsukuba, Japan.
- 霞 正一・友常秀彦・高津康正・佐久間文雄・飯田修 一. 1995. グラジオラス木子へのガンマ線照射によって生じた花色変異. 園学雑. 64 (別 1): 414-415.
- Kim, K. W. and M. S. Kang. 1992. Somatic embryogenesis and plant regeneration from *Gladiolus* callus in vitro. (Korean) J. Kor. Soc. Hort. Sci. 33: 87-94.
- 宮崎貞巳・田代洋丞. 1978. キクの組織培養 (第3報). 種々の部分の培養によって生じた株の染色体数および花色の変異について. 佐大農彙. 44: 13-31.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15: 473-497.
- 大石一史・桜井雍三. 1988. キクの花弁組織から再分化した個体の変異について. 愛知農総試研報. 20: 278-284.
- Remotti, P. C. 1995. Primary and second embryogenesis from cell suspension cultures of *Gladiolus*. Plant Sci. 107: 205-214.
- 柴田道夫・川田穰一・天野正之. 1984. キクの枝変わり品種のキメラ構造の解明に関する研究. 第3報. 小花培養による花色と染色体数の変異. 園学要旨. 昭59秋: 308-309.
- Skirvin, R. M. and J. Janick. 1976. 'Velvet Rose' *Pelargonium*, a scented geranium. Hortscience 11: 61-62.
- Stefaniak, B. 1994. Somatic embryogenesis and plant regeneration of *Gladiolus* (*Gladiolus hort.*). Plant Cell Rep. 13: 386-389.
- Stieve, S. M. and D. P. Stimart. 1996. Somaclonal variation in *Zinnia*. p. 346-355. In: Y. P. S. Bajaj (ed). Biotechnology in agriculture and forestry. vol. 36. Somaclonal variation in crop improvement II. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- Tomotsune, H., M. Kasumi and Y. Takatsu. 1994. Propagation of *Gladiolus* by somatic embryogenesis. Comb. Proc. Intl. Plant Prop. Soc. 44: 239-244.
- Wakasa, K. 1979. Variation in the plants differentiated from the tissue culture of pineapple. Japan. J. Breed. 29: 13-22.
- 数谷 勤・後藤美恵子・南谷佳栄・清水圭一. 1996. ハナショウブにおける効率的な試験管内増殖法 (2). 育雑. 46 (別 1): 299.