グラジオラス木子へのガンマ線照射がカルス形成, 不定胚形成および再生個体の花色変異に及ぼす影響

霞 正一・高津康正・眞部 徹・林 幹夫

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

The Effects of Irradiating Gladiolus (*Gladiolus* × *grandiflora* hort.) Cormels with Gamma Rays on Callus Formation, Somatic Embryogenesis and Flower Color Variations in the Regenerated Plants

Masakazu Kasumi, Yasumasa Takatsu, Toru Manabe and Mikio Hayashi

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

Summary

The effects of gamma irradiation to cormel explants on callus formation, somatic embryogenesis, and flower color variations of the regenerated plants were examined in gladiolus (*Gladiolus* × *grandiflora* hort.) 'Traveler' and 'Topaz'. The rate of somatic embryogenesis decreased as the exposure dosage was increased. The total dosages of 100-200 Gy at 10 Gy · hr⁻¹ caused a 50 percent reduction in the rate of callus formation and somatic embryogenesis (RD50). The flower color variants occurred in 'Traveler' but not in 'Topaz'. The frequency of flower color variants increased, resulting in the appearance of extremely deep colors and morphological variants when tissue culture technique was used in combination with gamma irradiation. Most flower color variants were solid (i. e., non-sectorial-chimeric) variants. These results show that the application of tissue culture technique in combination with gamma irradiation could lead to a high frequency of variants, diversifying the germplasm pool for breeding of other vegetatively propagated ornamental plants.

Key Words: flower color variation, gamma irradiation, gladiolus, sectorial chimera, somatic embryogenesis.

緒 言

グラジオラスの切り花生産では、花色の異なる多数の品種が栽培されているが、これらは栽培特性が異なるため、管理が煩雑となり生産性の向上を阻害する要因の一つとなっている。そこで、栽培特性は同一で花色の異なる品種が多数育成できれば、花色に対する消費者ニーズを満たし、しかも同一の栽培管理が可能となり、生産性の向上が期待できる。

このため、栄養繁殖性作物であるグラジオラスにおいては、放射線照射による突然変異育種が検討されたが、品種の育成までに至った報告は、まだ1例しかない(Raghavaら, 1988)。これは変異の大部分を占める花色変異がほとんど区分キメラで生じ、従来の分球や木子を介した方法では固定化が困難であることが最大の原因と考えられる。

著者らは木子茎頂からの不定胚由来個体に花色変異が

生じることおよびこれらの花色変異体が放射線照射と異なり、区分キメラではなく変異が個体全体に及ぶ突然変異体(以下、完全突然変異体と仮称)となることを報告した(霞ら, 1999a)。さらに球茎へのガンマ線照射により生じた花色変異キメラ個体の花らい子房を培養することにより、キメラ解消できることも明らかにした(霞ら, 1999b)。この二つの手法により、これまで困難であったグラジオラスのキメラ解消が可能となった。今後、グラジオラス突然変異育種においては、有用変異の効率的な作出法と効果的な選抜法の開発が必要となる。

キクでは、あらかじめガンマ線照射した植物体から外植体を切り出すことにより(永富ら, 1991)、ガンマ線照射または培養をそれぞれ単独に行うよりも効率的に再生個体において変異の生じることが報告されている。グラジオラスにおいても同様の方法で効率的な突然変異体の作出が期待できる。

本報では、前報(霞ら, 1999a)において確立した木子茎頂からの不定胚培養系を用い、木子へのガンマ線照射が、カルス形成、不定胚形成および再生個体の花色変異に及

2000年1月26日 受付. 2000年5月9日 受理.

ぼす影響を検討した。

材料および方法

実験 1. 木子へのガンマ線照射がカルスおよび不定胚形成に及ぼす影響

材料には‘トパーズ’(花色:黄色), ‘トラベラー’(同:桃色)の球径 5~10 mm の木子を用いた。農林水産省農業生物資源研究所放射線育種場ガンマルーム (^{60}Co , 44.4 TBq)において 50~600 Gy のガンマ線を照射した。照射直後, 前報(霞ら, 1999a)に従い, 木子から茎頂を 1~2 mm の大きさで無菌的に摘出し, 植物生長調節物質として $5 \text{ mg} \cdot \text{liter}^{-1}$ 1-ナフタレン酢酸 (NAA) を添加した Murashige and Skoog (MS) 培地 (Murashige・Skoog, 1962) に置床した。その後 60 日目にカルス形成数(率), 不定胚形成カルス数(率)を調査した。

実験 2. 木子へのガンマ線照射が不定胚由来個体の花色変異に及ぼす影響

実験 1 で得られた不定胚から前報(霞ら, 1999a)に準じて養成した球径 10 mm 以上の成球を圃場にうね間 10 cm, 株間 10 cm の 3 条植えて定植, 栽培した。花色変異は原品種の花色を基準にしてそれよりも濃色または淡色の 2 つに分け, さらに花色変異部位の大きさ別に“花被片半分以上”, “花被片 1 枚以上”, “小花 1 個以上”, “株全体”の 4 つに分けることにより合計 8 つの階級に分類して調査した。なお, 前報(霞ら, 1999a)と同様に花色変

異部位の大きさが花被片半分以下のものは調査の対象としなかった。花色は日本園芸植物標準色票(財団法人日本色彩研究所製, 1994)により判定した。開花期間中に 2~3 日ごとに調査した。

結果および考察

実験 1. 木子へのガンマ線照射がカルスおよび不定胚形成に及ぼす影響

木子へのガンマ線照射が茎頂からのカルスおよび不定胚形成に及ぼす影響を, 第 1 表に示した。カルス形成率は, ‘トラベラー’, ‘トパーズ’ともにいずれの線量区でも 83.0~100% を示し, ほぼ同じであった。一方, 長径 10 mm 以上のカルスの割合は, 両品種とも照射線量の増大に伴って低下する傾向がみられた。

不定胚を形成したカルスの割合は, 両品種とも照射線量が増加するに従って低下し, 150 Gy 以上の照射区ではほぼ 50% 以下となった。

これらの結果から, グラジオラス木子へのガンマ線の最適照射線量は, カルスおよび不定胚形成の RD_{50} を基準にした場合(山下, 1991), 線量率 $10 \text{ Gy} \cdot \text{hr}^{-1}$ で 100~200 Gy と判断された。

実験 2. 木子へのガンマ線照射が不定胚由来個体の花色変異に及ぼす影響

ガンマ線を照射した木子を培養して得られた不定胚由来個体における花色変異の調査結果を第 2 表に示した。

Table 1. Callus formation and somatic embryogenesis in relation to the dosage of gamma irradiation in gladiolus².

Cultivars (flower color)	Exposure dosage (Gy)	No. of explants tested	No. (%) of explants callus generated with the length of			No. (%) of explants which generated somatic embryo
			< 10mm	10mm ≤	Total	
Topaz (yellow)	0	50	4 (8.0) a ^y	46 (92.0) a	50 (100.0) a	36 (72.0) a
	50	50	4 (8.0) a	46 (92.0) a	50 (100.0) a	30 (60.0) ab
	100	50	7 (14.0) ab	43 (86.0) ab	50 (100.0) a	25 (50.0) b
	150	50	9 (18.0) ab	41 (82.0) ab	50 (100.0) a	12 (24.0) c
	200	50	15 (30.0) b	35 (70.0) b	50 (100.0) a	10 (20.0) c
Traveler (pink)	Exp. I	0	9 (18.5) a	40 (81.5) a	49 (100.0) a	35 (71.4) ab
		50	6 (12.2) a	43 (87.8) a	49 (100.0) a	39 (79.6) a
		100	20 (41.7) bc	28 (58.3) bc	48 (100.0) a	26 (54.2) bc
		150	11 (22.0) ab	39 (78.0) ab	50 (100.0) a	22 (44.0) c
		200	25 (50.0) c	25 (50.0) c	50 (100.0) a	20 (40.0) c
Exp. II	0	100	12 (12.0) a	87 (87.0) a	99 (99.0) a	80 (80.0) a
	50	100	14 (14.0) a	84 (84.0) a	98 (98.0) ab	72 (72.0) a
	100	100	30 (30.0) b	65 (65.0) b	95 (95.0) abc	42 (42.0) b
	200	100	71 (71.0) c	20 (20.0) c	91 (91.0) bcde	30 (30.0) bc
	300	100	79 (79.0) cd	15 (15.0) cd	94 (94.0) abcd	23 (23.0) c
	400	100	81 (81.0) e	4 (4.0) e	85 (85.0) de	9 (9.0) d
	500	100	76 (76.0) de	7 (7.0) de	83 (83.0) e	9 (9.0) d
	600	100	83 (83.0) de	7 (7.0) de	90 (90.0) cde	11 (11.0) d

² Materials: Explants are gamma irradiated cormels at the dose rate of $10 \text{ Gy} \cdot \text{hr}^{-1}$.

Medium: MS medium supplemented with $5 \text{ mg} \cdot \text{liter}^{-1}$ NAA. Investigation: 60 days after cultivation.

^y Means with the same letter do not differ significantly ($P = 0.05$) as indicated by χ^2 -test.

Table 2. The effect of exposing cormels of gladiolus 'Traveler' to gamma irradiation on flower color variation in regenerated plants from somatic embryos^z.

Exposure dosage (Gy)	No. of test plants	No. (%) of plants on each size in flower color variation sector								Total
		Half of tepal ≤		One of tepal ≤		One of floret ≤		Whole of plant		
		Pale color	Deep color	Pale color	Deep color	Pale color	Deep color	Pale color	Deep color	
0	252	0	0	0	0	0	0	1 (0.4)	2 (0.8)	3 (1.2) a ^y
50	172	0	0	0	0	0	0	0	^x 8 (4.7)	8 (4.7) ab
100	51	1 (2.0)	0	0	0	0	0	3 (5.9)	0	4 (7.8) bc
150	45	0	0	0	0	0	0	^w 4 (8.9)	4 (8.9)	8 (17.8) c

^z Investigation: every 2–3 days during flowering time.^y Means with the same letter do not differ significantly ($P = 0.05$) as indicated by χ^2 -test.^x Two plants formed two florets on the pedicel among eight plants.^w Two plants formed two florets on the pedicel among four plants.

‘トパーズ’では、いずれの照射線量においても、花色変異が認められなかった(データ省略)。一方、‘トラベラー’における花色変異体の割合は、無照射区が1.2%であったのに対し、150 Gy照射区(17.8%)までは照射線量とともに増加した。花色変異の方向は、原品種よりも濃色化した個体が淡色化した個体よりもやや多い傾向にあった。花色は、原品種の紫ピンク(日本園芸植物標準色票 No.9703)に対し、淡色化した個体がピンク白(同 No.9701)、また濃色化した個体の大部分が鮮黄ピンク(同 No.1004)または鮮紫ピンク(同 No.9704)であった。また150 Gyで生じた1個体は、さらに濃色となり明紫赤(同 No.9706)であった。変異体のうち1個体が花色について区分キメラとなったが、他はすべて完全突然変異体であった。‘トラベラー’には花色変異以外に、個体全体で1つの小花梗に2つの小花を着生した形態変異も認められた。なお、前報(霞ら, 1999a)で‘トラベラー’を分球および木子で繁殖した場合には、全く花色変異体が認められなかったことから、本実験における‘トラベラー’の変異は培養およびガンマ線照射によるものであり、この両者の組合せによって花色変異体の出現頻度が増加することが示された。さらにより濃色化した個体、形態変異した個体が出現したことから、変異が量的のみならず、質的にも拡大したことが明らかになった。

以上の結果から、木子にガンマ線を照射し、培養する方法は、培養を単独で用いるよりも変異を質的にも、量的にも拡大すること、および花色変異が完全突然変異体として生じることから、変異を固定化する必要がなく、育種上有効であると考えられる。

摘 要

木子茎頂からの不定胚培養系を用いて、‘トラベラー’、‘トパーズ’における木子へのガンマ線照射がカルス形成、不定胚形成および再生個体の花色変異に及ぼす影響を検

討した。不定胚を形成したカルスの割合は、両品種とも照射線量が増加するに従って低下した。カルスおよび不定胚形成に対する木子へのガンマ線照射線量の RD₅₀は、線量率 10 Gy・hr⁻¹で 100~200 Gyであった。‘トラベラー’には花色変異体が生じたが、‘トパーズ’ではまったく生じなかった。‘トラベラー’においては培養単独よりもガンマ線照射を併用することで花色変異体の出現頻度が増加した。また培養単独よりも濃色化の程度の高い個体および形態変異した個体が出現した。さらに花色変異体には、従来問題となっていた区分キメラがほとんどなかった。これらの結果から、木子にガンマ線を照射し、培養する方法は、培養を単独で行うよりも変異を質的、量的に拡大すること、および花色変異が完全突然変異体で生じることから、育種上有効であると考えられる。

引用文献

- 霞 正一・高津康正・友常秀彦・佐久間文雄. 1999a. グラジオラス木子茎頂からの不定胚形成と花色変異. 園学雑. 68: 168–175.
- 霞 正一・高津康正・友常秀彦・佐久間文雄・飯田修一. 1999b. グラジオラス花色変異区分キメラの子房培養による解消. 園学雑. 68: 195–197.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 473–497.
- 永富成紀・宮原研三・三井晃一. 1991. キクの照射および培養による花色突然変異のスペクトル拡大. 育雑. 41(別1): 388–389.
- Raghava, S. P. S., S. S. Negi, T. Y. R. S. Sharhama and K. A. Balakrishnan. 1988. Gamma ray induced mutants in gladiolus. *J. Nuclear Agric. Biol.* 17: 5–10.
- 山下 淳. 1991. 人為突然変異の誘発. p.43–49. 角田重三郎 代表著者. 植物育種学. 文永堂. 東京.