

キクの受粉および花色変異に

関する遺伝育種学的研究

名古屋大学農学部

服部 一三



目次

第1章	序論	1
第2章	キクの花色突然変異に関する遺伝育種学的研究	19
	I. 花色突然変異における色素のクロマト分析	
第3章	キクにおける受粉後の花柱短縮と種子稔性の関係について	34
第4章	キクの花色変異に関する遺伝育種学的研究	48
第5章	キク(<i>Chrysanthemum morifolium</i> Ramat.)の花托培養によるシュート再生過程	73
第6章	総合考察	84
第7章	摘要	92
	謝辞	96
	引用文献	97
	図および表	107

第 1 章 序 論

(1) 花の育種

古代より、人類は花鳥風月の自然の美を愛し、美しい花を賞でることは心にやすらぎを与え、心をより豊かにするための糧として大いに役に立ってきた。このような古代の人の花鳥風月を賞でる心は現代にも継承され、とくにストレスの多い現代過密社会での我々の文化生活を支える上で花は欠かすことのできないものとなっている。経済的に高度安定化し、世情も安定した現代では鑑賞を目的とした花の栽培は営利業者ばかりではなく、学校・公園など公共施設や一般家庭でも盛んに行われるようになり、栽培農家向けの品種だけでなく非常に多様な品種の作出が望まれている。かつては一部の愛好家のみによって栽培されていた種類でも最近では一般に公開され、広範に栽培されるものも増加している。しかしながら、花の種類は非常に多岐にわたっており、それぞれの生産・利用形態も特異なものが多く、その栽培や品種改良（育種）に関しては、キクなどにみられる単一種の育成を中心に行っている種苗会社を含め、きわめて個人的に行われ、秘密的な努力に負うところが大きかった。この点では、イネ・ムギ・果樹・野菜類で行われているような国や地方自

治体の試験場による栽培や品種改良の場合のような普遍的・解放的な状況はこと花に関しては遅れているといわざるを得ない。しかし、これからも鑑賞植物を含む花卉園芸は広範な分野に広がる多くの人たちのものであり、花の品種改良はさらに多数の未知の新しい品種の作出に向かって邁進して行く必要があるものと期待される。そのためには、いままでイネ・ムギなどで行われてきたような科学的に裏付けされた効率的な育種体系を考えて行くことが必要であろう。

元宇都宮大学農学部教授齊藤清(1964a)はその著書「花の育種」のなかで以下のように述べている。「わが国においては歴史時代以後、山野に自生している花の美しい草木を対象として花の鑑賞が行われてきた」。その後、「山上憶良が選定したと伝えられる秋の七草（ハギ、オバナ、クズ、ナデシコ、キキョウ、オミナエシ、フジバカマ）などが当時の特に上流階級の人々の家の庭に栽植され、四季折々に鑑賞され、愛好されるようになった」。続いて「宮廷政治の安定した平安時代は平和な時期であり、中国大陸で繰り広げられた唐宗文化の移入も盛んに行われ、それにともなってキク、ボタン、ユリなどが伝来し」、わが国の花文化の隆盛に大きく寄与した。その後の戦国動乱期には花の発達はほとんど見られなかったが、徳川時代に入り経済も世情も安定してくると急速に花文化が発展し始めた。この時代にはいわゆる日本的な花が成立した頃であり、「外来のキ

ク・ボタンなども日本的なものに移し変えられた」。また、「参勤交代により全国の諸大名の往来による珍しい草花の交流も起こり」、各地に独特の性状を持った鑑賞用品種の成立が認められ始めた。たとえば、このような品種群の中には奥州ギク・江戸ギク・肥後菊・伊勢菊・嵯峨菊などが含まれそれぞれ独特の草姿・花型を示し、これらは現代に至るまで連綿と引き継がれている。さらに、「江戸文化華やかなりし頃になると、武士や商人の中に花づくりの愛好家が現われ、アサガオ・オモト・セッコクなどの変わりものの作出や保存が行われ、意識的に育種が行われるようになった」。江戸時代を通して、鎖国状態にあったにもかかわらず西洋諸国から今までにはなかった珍しい草花（ダリア、キンギョソウ、パンジーなど）が少しずつ導入された。明治・大正時代には園芸植物が大量に導入され、特に大正時代には生活の安定と文化的水準の向上にともなって、外来植物がもてはやされるようになり、カーネーションなどの栽培が歓迎されるようになった。このように花の栽培や品種改良は世情の安定した時代にその時代に適応したものを生み出し、時代的な特徴を持った園芸植物が多く作り出されてきた。しかし、これらの日本独特の園芸植物は、現在ではほとんど失われており残っているものも趣味家・愛好家の間で小規模に栽培されているに過ぎない。特に長い政治的安定期を生み出した江戸時代には種々の植物種で自然突

然変異や自然交雑後代からいわゆる‘出物’と呼ばれる珍奇な品種が作出され、これらのもののなかには後代を得ることが困難なものが多くメンデルの法則が再発見される以前でありながら経験的に特殊な採種法が考案され、趣味家の間で栽培された。このような品種ははやり・すたりのなかで失われたり、切花生産が産業的に開始された大正期以後には急速に衰退していった。特に近代的な育種法による品種改良が開始されると在来品種の消失は加速度的に進み、現在では非常に多くの遺伝資源が失われてしまっている。しかしこれらのなかにも小数のものは残されており、例えば国立遺伝学研究所にはアサガオの多数の品種・系統が保存されている。

以上に述べたように、園芸植物の栽培や鑑賞は古代より世情の安定した時代に特に大きく発展し、盛衰を繰り返してきた。ここで作出された品種の特性は現代でも多くの種で考えられている育種目標と同じ様なものもあり、鑑賞植物についての育種では時代的な要請のみならず、基本的な美しさに対する要求も大きな要項として考えて行うべきである。ここで園芸植物の主要な育種目標を考察する。

植物を観察するとき第1に目につく部分は種々の彩りを備えた花であるといっても間違いではなかろう。花の特性は大別して色と形に分けられる。また、花の特性については園芸・鑑賞植物の育種については最初に考えるべきものであろう。

1) 花色について

純白から黒に近いようなものまで植物界を全体としてみたとき花色は非常に多様である。花色を構成する色素は赤い色素であるアントシアニンを含むフラボノイド色素、黄色の色素であるカロチノイド色素、マツバボタンなど一部の植物種（中心子目：アカザ目とも呼ばれ、アカザ科・オシロイバナ科・サボテン科などを含む）にのみ見られる赤や黄の色素を含むベタレイン色素、緑の色素であるクロロフィルなどすでに多くの研究によって明らかにされている（下郡山，1988）が、これらの色素のうち最も一般的にみられるものはフラボノイドとカロチノイドの両色素群である。特にフラボノイド色素は生合成経路の遺伝的制御に関する研究が多くの研究者により精力的に行われ（有隅と大谷，1988）、これらの研究の初期には1遺伝子1酵素説の基礎となる例が示されるなど、花色に関する育種に利用されるばかりでなく生命科学の基礎的分野にも大きく貢献しているものと思われる。また、アントシアニンとカロチノイド色素は同時に花弁中に存在する場合があります、このような場合にはその色彩はより多様性を増し、明るいオレンジ色や朱色などの色調まで発現することが可能となる。実際にキクでは、特にスプレーマムでは純白に近い花色からアントシアニンのみが存在する場合の薄いピンクから濃紅色のバステル調の花、カロチノイドのみの黄色花、アントシア

ニンとカロチノイドの共存による明るいオレンジ色・ブロンズ色から濃赤色まで非常に多様な色調の品種が育成されている。しかしキクの場合には青色系統の品種は存在せず、青色系統の品種の作出は今後の課題として残されている。バラでも同様に青色花の作出が試みられている。同じように、ペチュニアのように種によっては花卉にアントシアニンの合成能は持っていたとしてもカロチノイドの生合成経路を持っていないようなものもあり、このような種では真の黄色花を得ることができず、このような種においては真の黄色花の作出が望まれているが今までの所は成功していない。

アントシアニンを含むフラボノイド色素については生合成経路の遺伝的制御について詳細に明らかにされており、現在急速な進歩を遂げつつある分子生物学的手法（外来遺伝子の導入による形質転換体の作出・目的遺伝子の釣り上げなど）を導入することにより、キクやバラにおいて夢の花色とされる青色花の育成も可能となる日も近いものと思われる。さらに、園芸・鑑賞植物では食用植物に比べ育種の目標も自由に選択することができ、新しい手法の導入も比較的容易に行うことができるため、これらの試験研究を通して「一遺伝子一酵素説」のような生命科学の基礎的な場面での有効性を明らかにすることも可能であろう。

2) 大輪咲・八重咲などの花型について

花の鑑賞がもてはやされるようになると、花色ばかりでなく花型についての多様性が要請されるようになった。すなわち、自然界でも時として発現される八重咲性や大輪咲が注目されてきた。自然界において誘発された八重咲性には「七重八重花は咲けども山吹の実の一つだになきぞ悲しき」と和歌にも詠まれている山吹が有名である。この和歌の中にも読まれているように山吹には種子がつかない。これは山吹の八重咲性は雄ずいが花弁に変化したものであり、そのため葯や花粉のような雄の器官が形成されず、受粉・受精が正常に行えず不稔となることを示している。斉藤(1964b)によれば、八重咲の花は次のように分類される。1) 花を構成する全ての器官が花弁に変化し、究極的には雄ずいや雌ずいがすべて花弁に変化し採種不能となるもの(バラ、シャクヤク、ストックなど)、2) 花弁と雄ずいの数が増加し、花弁ばかりでなく雄ずいも弁化するもの(ペチュニア、キキョウ、カーネーションなど)、3) 合弁花をもつものでは花弁が縦裂きになり八重化するもの(アサガオなど)、4) 一種の貫生体で花の中心である雌ずいの先端がさらに成長を始め新しい花を花の中につくるもの(ハス、バラなど)、5) キク科の花では頭状花序を形成し多数の小花が集まって花序を形成しているが、このようなものでは最外側の小花のみが花弁を伸長させたもの(舌状花)を一重咲と呼び、内側の筒状花が舌状花に変化することによ

り八重咲花を形成するもので1)－4)までとは異なっている。このような八重咲性は多くの種で認められ、鑑賞に供されているが、1)－4)の場合には多かれ少なかれ採種が困難となり、採種法の開発や採種体系を考案する必要性が生まれてくる。アサガオでは江戸時代にはすでに‘出物’として八重咲性の花が育成され、複雑な方法を用いて種取り法も考案され、採種・普及が図られた。また、ペチュニアでは八重咲になった花卉の先端に葯が形成されることがあり、この中の花粉を使って受粉を行い、採種へと続けることができる。ストックでは八重咲性を制御する遺伝子が劣勢であるためホモ個体では八重咲性を発現するが、ヘテロ個体では八重咲性を発現しない。そこで、八重咲性遺伝子と連鎖関係にある種々の形質を調査し、白花の遺伝子との連鎖を使うことにより容易に採種することができることを認め、白花で八重咲の個体の育成に成功している。すなわち、白花の種子は他の花色の種子と異なり種子が白くなるためにヘテロ個体同士の交雑後代の種子の内白い種子のみを選抜し、播種後の個体には白花で八重咲の個体のみを得ることができる(伊藤, 1991)。

キク科の場合には上述のように小花の集まった頭状花序を形成しているために、舌状花と筒状花の比により八重咲性の多少を制御することができる。また、舌状花には非常に長く伸長するものから筒状花よりも少しだけ長くなるものまで変異の幅が広く、こ

これらの花の組合せで種々の花型を生み出すことができ、現在の厚物・管咲・丁字咲など多くの花型をもった品種が作出されている。さらに、挿し木や株分けにより容易に栄養繁殖できるものが多く、同じ形質をもった個体を大量に増殖することができるので採種には余り気を使う必要がない。しかし、キク科では筒状花は両性花でありこの花を使えば種子を得ることができるが、舌状花は雌性花または雄ずい・雌ずいをもたない花なので舌状花だけでは採種不能となる。このことは交雑育種を行う場合には重要な問題点となる。またキクの場合には一般的に自家不和合性や雄性不稔性を示す品種・系統が多く、交雑育種の障害となっている。

野生の草花が栽培化され、栽培の年月が長くなるにつれ八重咲よりも前の段階で人々はより華やかな大きな花を栽培することに意欲を燃やし、現在では野生種と比べると別種かと思われるほどに大きな花をつける品種も生み出されている。斉藤(1964c)によれば、大輪咲は大きく分けると2つのタイプに分けることができる。1つは染色体数の増加によるもので、2倍体の種がなんらかの機構により3倍体や4倍体になると植物体が大きくなり、それにつれて花も大きくなることが認められている。このような倍数性による大輪咲を発現するものは多くの園芸植物ですでに品種として栽培されているものもある。すなわち、ラン科のシンビジウムでは現在存在する大輪

咲の品種では多くのものが4倍体品種である。また、ペチュニアでは大輪咲を支配する遺伝子の存在も示唆されているが、この遺伝子をもった個体は生育弱勢を示し、今のところ実用化はされていない。しかし一重咲大輪の系統（スーパービシマやカリフォルニア・ジャイアント系統など）が見いだされ、これらを調査したところ4倍体であった。このような倍数性による大輪咲を示す種はフリージア・クロッカス・パンジーなど多くの種で確認されている。さらに、遺伝的に大輪咲を示すものも知られている。大輪咲遺伝子の集積により巨大な花を咲かせるものとして有名なものはハクニチソウ（ジニア）がある。ハクニチソウの大輪咲は長い年月の栽培の過程で自然突然変異として誘発されたいくつかの突然変異遺伝子が各々別々に人為的に確保され、集積されたものと考えられる。しかしながら、これらの突然変異遺伝子は通常劣性遺伝子であり、栽培の過程で周囲の野生種や小輪咲品種との交雑により簡単に優性遺伝子が持ち込まれるため、大輪咲の性質が失われることも多く、採種には十分な注意が必要である。

大輪咲については倍数化によるものでも遺伝子支配によるものでも採種法を確立し、大輪咲性を消失させることのないように最大の注意を払うべきである。とくに、倍数性によるものでは整倍数性のものでも種子を得ることが困難で、種子繁殖に頼るものでは非常に

困難を伴うことを覚悟しなければならない。しかし、現在では細胞培養や組織培養を行うことにより同一遺伝子型の個体を大量に得る方法も開発されており、栄養繁殖の難かしい種子繁殖植物でも試験管内で大量に個体の増殖を行うことができるようになった。しかし、この方法も遺伝的に安定した個体の大量増殖には未だ少なからず問題を残しており、今後の研究の進展に期待が寄せられる。

鑑賞用園芸植物の育種目標として以上に述べた花色・花型以外の形質についても種々の形質が考えられる。

3) その他の形質について

バラではダマスク系からの芳香性の遺伝子の取り込みにより良い香り（いわゆるバラの香り）のする一群の品種群ができあがっており、現在でも交配親としてよく利用されている。さらに現在では Rosa lutea から導入されたと考えられるフルーティな香りも開発され幅広い人気を作り出している（鈴木，1991）。バラ以外でも芳香性の品種の作出が多くの園芸植物で意図され、品種改良が続けられている。花の芳香は芳香性の製油成分によるところが多く、これらの製油成分の改良による芳香性の品種改良も考えられる。すなわち、製油成分は植物体内で合成される2次代謝産物であるので、突然変異により成分的な改良も可能であるのでより新しい香りの育種も可能となろう。花ではないが、ハッカ (Genus Mentha) を材料として突

然変異により製油成分含量の増加や、製油成分の質的变化により、ローズミントを大量に生成する系統なども得られており(ONO, 1979: SADOWSKA, 1979)、花の香りについても突然変異により新しい成分をもった個体の育成により香りそのものを変えていくような育種目標を立てることが可能となろう。香りの育種では芳香性だけでなく、マリーゴールドなどで行われているような異臭を消すための改良も重要な課題である。

さらに、花の形質ばかりでなく、葉の葉緑素異常によるいわゆる斑入り性も鑑賞上貴重な形質であり、育種目標としての価値も十分に認められる。しかしながら、葉の斑入りは色素体形成に関する易変遺伝子の働きによったり、細胞質遺伝子(葉緑体遺伝子)の働きにより発現されるものが多く、安定的に後代へ伝達することは非常に困難であり、栄養繁殖による増殖が必要とされる。

また、キクのように用途に多様性のある種では用途にあった草型を示す品種の育成が望まれている。すなわち、切花として用いる輪ギクでは切花として必要な草丈を得る必要があり、花壇に栽植するクッションマムでは余り草丈を延ばさず、こんもりと枝を張らせた草型が必要となり、古典的な鑑賞キクでは鉢植え用に育成した大輪種などが必要となる。

以上に記述したように鑑賞用園芸作物の育種は非常に多岐にわた

って進める必要があり、植物学的・作物学的な基礎的情報をさらに積み上げていくことが育種を効率的に行うためには重要であろう。

(2) キクについて

キクは日本国内はもとより世界的にみてもバラに次ぐ生産量を誇り、鑑賞用園芸作物として重要な地位を占めている。キク（栽培ギク・イエギク Chrysanthemum morifolium）はキク科（Compositae）キク属（Chrysanthemum）に属している植物で、いくつかの野生種が交配してできあがったものと考えられている。また、キク科に属する植物種は非常に多く、鑑賞用園芸植物ばかりでなく野菜として栽培されるもの（レタス・シュンギク・ゴボウ・フキなど）や油料作物として栽培されるもの（ヒマワリ）など栽培作物として利用される種も多く含んでいる。さらに、キク科植物を花色に注目して概観すると、そこには全ての花色を発現する種が存在することがわかる。すなわち、キクに代表される白色、黄色、オレンジ色、ピンク色（淡色から濃色まで）、赤色（淡色から濃色まで）やシネラリア・ヤグルマギク（ヤグルマソウ）・ミヤコワスレなどに現れる青色、さらにガザニアなどにみられる覆輪咲などほとんどすべての花色が存在している。

北村 ら(1988)によれば、栽培ギクはその属名に示されるように黄金色の花をつける植物 (Chrysosはギリシャ語で金色の意、anthem-onは花の意の2つのギリシャ語からなっている) として古代より鑑賞に供されてきた。中国では2, 000年以上以前から栽培または野草・薬草として利用されていたという記載があり、この頃のギクは野生ギクをそのまま利用していたらしく、頭状花序の小さな黄色花をつけるセイアンアブラギク (Chrysanthemum lavandulifolium var. sianense Kitam.)・ホソバアブラギク (C. lavandulifolium) やハイシマカンギク (C. indicum L. var. procumbense Nakai) と思われる記載が多くみられている。現代の栽培ギクはハイシマカンギクと白い舌状花をもったチョウセンノギク (C. zawadskii Herbich var. latilobum (Maxim.) Kitam.) の自然雑種と考えられ、中国北中部で1, 500年くらい前に成立したものと思われる。チョウセンノギクの中には舌状花に淡紅色の色素をもつものもあり、これらの雑種がさらにほかの野生ギクと交配を繰り返し現在の栽培ギクのように非常に多様性に富んだ一群の鑑賞植物として成立したものであろう。ここで、ハイシマカンギクはシマカンギク (C. indicum L.) の変種とされるもので、染色体数は $2n=4x=36$ であり、チョウセンノギクは $2n=2x=18$ の染色体数をもつものであり、これらの雑種は $2n=3x=27$ となり、このような植物が自然倍化することにより栽培ギ

クの染色体数である $2n=6x=54$ ができあがったものと推察される。このような雑種と染色体数の倍化は他の作物でもよくみられることで、植物のみならず生物の進化の途上では一般的に認められることである。また、キク属植物は $2n=18$ の 2 倍体から $2n=90$ の 10 倍体までが野生種の中に認められており(田中, 1982)、倍数性が異なっても容易に交雑を行い、後代の種子の得られることも知られている。現代の野生ギクを用いたこのような観察からも栽培ギクの成立した過程が推定される。このようにして中国で作出されたいわゆる栽培ギクが平安朝から栽培されはじめ、最初は薬用として重陽の節句(旧暦 9 月 9 日)に花を酒に浮かべて飲んだりされた。日本におけるキクの品種分化は江戸時代中期以降になって初めて行われ、栽培法の改良と共に巨大な頭花をもつものも栽培されるようになり、これらとは別に各地で独特の花型・草状をもった品種群が作出されるようになった。これらの中には現在にも連綿と引き継がれて残っているものも多く、例えば、小花が折れて巻く江戸菊、小花が細く刷毛状に直立し、段咲にして楽しむ嵯峨菊、小花が縮れて狂い咲となる伊勢菊、頭花を構成する小花が少なく一茎に多数の頭花をつけ簡潔な花を楽しむ肥後菊など、現在でも愛好家が多く旧来の栽培法を守り、先祖伝来の品種群の保護に努めている。

現在栽培されているキクは開花期や花の形状などで種々の分類が

なされている。これらについて少し述べてみたい。単純には花型での分類が一般的であり、日本で古くから栽培されている大輪、中輪、小輪と区別される。これらの花型の中にはそれぞれ独特の形状をしたものが含まれ、さらに細分される。すなわち、大輪では厚物、管物、一文字など、中輪では上述した江戸菊、伊勢菊、嵯峨菊、肥後菊など、小輪では玉造り、懸崖仕立てなどの品種群が作出されている。これらと対比して、いわゆる洋菊が新しい品種群を形成している。イギリス・キク協会の分類では花型により6種類(1.Incurved 2.Reflexed 3.Incurving 4.Anemone 5.Pompon 6.Single)に分けられている。アメリカでは鉢植え用のポットマムや摘蕾を必要としない省力品種群スプレーマムが育成され日本にも多くの品種が導入されている。また、需要の拡大にともない周年栽培の必要性が高まり、種々の栽培型品種が育成されている。すなわち、夏菊型品種、夏秋咲き早生型品種、夏秋咲き晩生型品種、秋菊型品種、寒菊型品種などの品種群と開花調節とを組み合わせることにより現在では周年栽培が可能となっているが、開花調節を行うことによりその品種本来の優良形質(花色など)が失われることもあり今後に残された問題といえよう。キクの品種育成を事業として行っている山手(1991)は育種素材としての見地から以下のように品種分類を行っている。1)鑑賞ギクとして厚物咲、管物咲、大掴咲、一文字咲、美濃ギク、レ

フレックス咲、2) 古典ギクとして嵯峨ギク、伊勢ギク、肥後ギク、江戸ギク、3) 切花ギクとして夏ギク、8月咲(夏秋ギク)、9月咲(夏秋ギク)、10月咲(秋ギク)、11月咲(秋ギク)、寒ギク、4) スプレーギクの母本として夏咲、夏秋タイプ、秋咲の周年栽培用、5) 懸崖ギクや盆栽ギクの母本品種、6) その他の物として新しく育成し今後需要の拡大が見込まれる風車ギク、マイクロマム、マーガレットマム、ハイブリッドマム、ダリヤギク、野生ギク、花壇用品種などがあげられている。このような品種分類は品種の育成を目指した新しい分類法として実用的な方法であろう。

現在世界中で栽培されている栽培ギクはすべて6倍体であり(DOWRICK, 1953)、遺伝学的な考察を加えるためには非常に困難であることが予想される。また、各種の栽培ギクを用いて染色体数の調査が行われ、異数性を示す品種が多く存在していることも報告されている(遠藤、1969)。しかし、栽培ギクにおいても減数分裂期における染色体対合を調査すると6倍体であることを示す27の2価染色体をもつ品種が多く認められ根端細胞による体細胞の染色体のみの観察では十分ではないとする意見もある(田中、私信)。野生ギクを材料として種々の交配やその減数分裂期での染色体の対合を調査したWATANABE(1977)によればキク属植物のうち4倍体以上の高次倍数体では、同質性の高い倍数体と考えられるが、減数分裂期の染色体

対合を観察する限り、特に偶倍数体では、2価染色体の形成が一般的であり、多価染色体の出現は希にしか観察されず、栽培ギクを含めた6倍体のキク属植物でも2倍体的な遺伝行動をとることが予想された。また、栽培ギクには自家不和合性を示す品種(DREWLOWら, 1973; ZAGORSKIら, 1983)や雄性不稔性を有する品種も存在し、採種が困難な場合も予想される。

このようなキク(栽培ギク)を用いて育種の効率化を目的としていくつかの実験を行った。第1にキクの花色に関与する色素について明らかにし、突然変異系統と原品種との間の比較を行った。第2にキクの交雑育種の効率化を図るために、採種に関する実験を行い稔実種子が得られるかどうかを簡便に判定するための方策について明らかにした。第3には、キクの花色の遺伝子制御について明らかにし、芽条変異により育成された品種の中には周縁キメラの存在するものが含まれることを明らかにした。第4にキクは一般的に栄養繁殖により増殖されるが、このような植物では周縁キメラ性を示すものが多く含まれると思われるので、周縁キメラの解消のために組織培養を用いる方法が考えられており、このような方法でのキメラ解消の原理を明らかにするために、培養後の外植片の組織観察を行った。

第2章 キクの花色突然変異に関する遺伝育種学的研究 I.

花色突然変異における色素のクロマト分析

(1) 緒言

近年、イネ、ムギなどの禾穀類において放射線や化学物質を利用した突然変異育種が実際の育種法として採用され、すでにいくつかの実用品種の育成が報告されている(GUSTAFSSON, 1963, 蓬原 ら, 1967)。一方、花卉類においても放射線による花色および花型などについての突然変異誘発に関する研究が理論的および実用的見地からすすめられている。とくにキクなどの栄養繁殖性の花卉においては、種子繁殖性植物に比べて一般に種々の形質に関してヘテロ性が高いので出現した突然変異体を処理当代に選抜育成しうること、得られた変異体は挿し芽や接ぎ木によって増殖しうるので固定の必要がなく従来の交雑育種法に比べ育種年限を大幅に短縮しうること、およびイネ、ムギなどの種実を対象とする食用作物などとなり、花卉類では一般には選抜の対象から外されるdrastic mutantでも実用価値をもちうることなどの利点がある。これまで、花色の突然変異誘発に関する研究に用いられた花卉類としては、カーネーション(MEHLQUIST, et al., 1954)、キク(RANA, 1965: BROERTJES, 1966:

DOWRICK and EL-BAYOUMI, 1966b: 中島, 1967)、ダリア(BROERT-JES and BALLEGO, 1967)、バラ(NAKAJIMA, 1965)など多くの種類があげられる。しかしながら、これらの花色変異の詳細な色素分析については未だほとんど行われていない。

一方、花卉類の色素分析に関する研究は非常に多い。花色分析は初期にはもっぱらROBINSON and ROBINSON(1931)の"ROBINSON test"がアントシアニンに対する同定法として用いられた。しかし、この方法ではアントシアニンのアグリコンの検出にとどまり、同一アグリコンをもち、配糖体としては異なる色素として共存する場合には明確に分別できないなどの欠点があった。その後、BATE-SMITH (1948)によってペーパークロマトグラフィー法の色素分析への応用が確立されるにいたり、この問題は解決され、花色の研究は著しく進展した。このような分析技術の発達にともない色素に関する遺伝学的研究がすすみ、高等植物における遺伝生化学的研究の先導的役割を果たすことになった。アントシアニンの部分構造の変化、すなわち、ヒドロキシレーション、メチレーション、グリコシデーション、アシルレーションなどの反応がそれぞれ異なった遺伝子に支配されていることが明らかにされ、高等植物における1遺伝子1酵素説を確立するための基礎となった(CRANE and LAWRENCE, 1956: HALDANE, 1954)。さらに、REZNIK and URBAN (1957)は、放射性同位元素による

トレーサー実験により色素の生合成経路に関する詳細な知見をえ、
またGEISSMAN (1962)らはアントシアニンを含めて、すべてのフラボ
ノイド化合物の生合成経路をほぼ明らかにした。

しかしながら、キクについての遺伝生化学的研究は、キクの多く
の品種がヘテロ性が高く、また自家不和合性や交雑不和合性を示す
ために遺伝分析がきわめて困難であり、しかも色素構成に関する研
究が少ないためほとんど実施されていない。

本実験は放射線による色素構成の変異の機構についての基礎的資
料をうるため、キク品種の花色変異について生化学的手法を用いて
解析を試みたものである。

(2) 材料および方法

実験材料は、キクの赤色ポットマム品種Delawareおよびその自然
突然変異体といわれているYellow Delawareとこれらの両品種に農林
水産省放射線育種場においてそれぞれ半急照射を行って選抜育成さ
れた黄花変異系統および赤花変異系統の合計4品種系統である。こ
れらの供試材料の相互関係は図2-1に示す通りであるが、以下、記述
の便宜上、DelawareをD、Yellow DelawareをYD、Dの黄花変異系統を
DYM、YDの赤花変異系統をYDRMと略記する。なお、中島(1967)によれ

ば、DとYDRM、YDとDYMの間には花色および形態において可視的変異はほとんど認められていない。

以上の材料についての色素分析はBATE-SMITH(1948)、林・阿部(1952)、HARBORNE(1958, 1959)らの方法に準拠し、主としてアントシアニンとフラボノールについて行った。アントシアニンの場合には新鮮花弁を0.1%メタノール性塩酸に3時間冷浸し、セライト545で濾過後、減圧濃縮し、酢酸エチル、エチルエーテル、石油エーテルで各3回以上洗浄し、その赤色水溶液をペーパークロマトグラフィー(P.C.)により定性分析を行った。さらにクロマトグラムより各スポットを再抽出し、アルカリおよび酸加水分解を行って、アントシアニン、有機酸、糖の同定を行った。

一方、フラボノールの場合には新鮮花弁を60℃で3時間乾燥し、ソックスレーの抽出器を使用し、メタノールで6ないし10時間抽出し、ポリアミドカラムの上端にこの液を吸着させ、水、50%メタノール、99%メタノールを順次流入し、流下してくる黄色色素をとり、濃縮し、P.C.によりフラボノールの定性分析を行った。P.C.の方法は、アントシアニン、フラボノールともに同様の方法を取り、濾紙は東洋No.50およびNo.51(40X40)を用い、展開液はN-ブタノール／酢酸／水(BAW)の混合液を用い、東洋濾紙製クロマトキャビネット中で行った。さらに、アントシアニン、フラボノールの確認のために、キャリー

15型自記分光光度計を用い、吸収曲線を求めた。この場合、アントシアニンは0.1%メタノール性塩酸抽出液を、フラボノールはメタノール抽出液をそれぞれ使用した。

(3) 結果

(I) アントシアニンについて

DおよびYDRMよりえられた2つのクロマトグラムを比較した結果、図2-2に示したように、クロマトグラム上のスポットの行動に差は見出されなかった。すなわち、標準試薬との比較によりD、YDRMともにアグリコンとしてシアニジン、その配糖体としてクリサンテミン（シアニジン-3-モノグルコシド）を含んでいることがわかった。また、両者ともクリサンテミンの分子中のグルコースとエステル結合をしていると考えられる有機酸が検出されたが、この物質は図2-2からカフェー酸と同定された。一方、徐々にアルカリ加水分解すると、部分的加水分解にともない、スポット数が3個（ないし2個）から一番下のR_f値の一番小さなスポット1個だけになる。このようなクロマトグラム上の行動は、有機酸の結合様式が異なり、あるいは、結合している有機酸の数が異なっているために有機酸と結合したアントシアニン（アシル化アントシアニン）のスポットが1個か

ら2個に分離してクロマトグラム上に出現するものと考えられる。

しかしながら、本実験で実施した方法では、それらの構造そのものを決定することは不可能であり、また、構造そのものを決定するのが主目標ではないので立ち入って解析は行わなかった。

以上、主として水溶性のアントシアニンについて記載したが、時として水不溶のアントシアニン様物質の出現が認められた。そして、この物質は吸収曲線の調査結果（図2-3）、およびアルカリ加水分解後におけるクロマトグラム上のスポットの移動（図2-4）からアシル化アントシアニンと推定された。DおよびYDRMともに2個のスポットが出現したが、それらのR_f値やクロマトグラム上の行動からも同一色素、すなわち、クリサンテミンの複合体であろうと考えられた。なお、Dのスポットの中には、展開後の濾紙を乾燥すると上端に青色の部分を生ずる場合がある。しかし、このような場合でも酸加水分解するとアグリコンとしてシアニジンがえられること、および分解過程のクロマトグラム上の行動からみて、配糖体としては、クリサンテミンの他に考えることはできない。

以上の結果から、DとYDRMとの間では、アントシアニンの質的差異はないものと結論できよう。

（II）フラボノールについて

YDおよびDYMの純化した試料をP.C.にかけた結果、図2-5に示した

ように、ともに3個のスポットがあらわれた。スポット番号をRf値の大きなものから、No.1, No.2, No.3と一応規定すると、このクロマトグラムから、No.1はケルシトリン（ケルセチン-3-ラムノシド）、No.2はケルセチン、No.3はルチン（ケルセチン-3-ールチノシド）と推定された。一方この濾紙について、硝酸銀浸漬法で糖（還元糖）の反応を調べた結果、No.1とNo.3の部分には糖の反応があらわれたが、No.2の部分には糖の反応が認められなかった。この結果からもNo.2はケルセチンであることが裏付けられた。

次に、各スポットを再抽出し、酸加水分解を行った結果を図2-6に示した。スポットNo.1は加水分解すると、糖としてラムノース、アグリコンとしてケルセチンのスポットがそれぞれ認められた。スポットNo.2は加水分解しても糖の反応がなく、かつ、スポットの位置の変化も認められなかった。スポットNo.3は加水分解後、糖の反応を示すスポットが3個あらわれ、その位置関係より、グルコース・ラムノースおよびルチノースと推定され、一方、アグリコンとしてケルセチンのスポットがあらわれた。

以上の結果より、YDとDYMとの間には、フラボノールに関して質的な差異は存在しないものと考えられた。

しかしながら一方、YDの純化しない試料をP.C.にかけると、図2-7に示したように、No.3の下にさらにNo.4のスポット（時としてNo.

5, No.6) があらわれた。このNo.4はYDだけにあらわれ、DYMには欠如していた。そこで、No.4がフラボノール類の色素であるかどうかを明らかにするため、吸収曲線を調査し、他のスポットと比較した結果、図2-8に示したように、フラボノール特有のピークがNo.4には存在しないことがわかった。このNo.4のスポットは、呈色反応の結果およびクロマトグラム上の位置関係から、おそらくカロチノイド系色素のうち、水溶性の高いキサントフィルではないかと考えられる。このように、YDとDYMとの間に、フラボノール系以外の黄色色素に差異の存在することが認められたことは、育種上からみても、甚だ興味深い問題であるが、この差がどのような原因でおこったかは今後に残された問題であろう。

(4) 考察

中島(1967)はキクの γ 線照射実験を行い、Delawareでは赤から黄へ、またYellow Delawareでは黄から赤への花色の突然変異が誘発されること、およびこれらの突然変異体への再照射によって、花色の突然変異が可逆的に誘発され、その他の花色への変異はほとんど見出しえないことを報告している。同様にSAGAWA and MEHLQUIST (1957) はカーネーションのWhite Sim, Pink Simに放射線を照射すると、

芽条変異のもとになった赤色のWilliam Simにもどったことを見出し、かつその生成機構として照射後における生長円錐の形態形成を調査した結果、周縁キメラであることを明らかにした。また、DOWRICK and EL-BAYOUMI(1966a)はキクの約1/3の品種が突然変異に由来したものであり、かつその大部分のものが周縁キメラにより成り立っていることを報告している。したがって、誘発された花色変異が遺伝子変異によるものか、あるいは周縁キメラの変異によるものかを明らかにする必要がある。

この問題に関連して、NAKAJIMA(1965)はバラの放射線照射実験において、連続切り戻し法を適用し、各種の花色、花型などについての枝変わりを作出した。そしてこのような場合には、一般に照射の時点において少数の細胞群から構成されている隠芽より新梢の発生が促進されるので、変異のキメラ問題を解消して固定した変異を作出しうる可能性が大きいことを報告している。本実験に供試した変異系統も同様に連続切り戻し法により作出されているので、周縁キメラの成立する可能性は少ないと思われる。この点をはっきりさせるためには組織学的研究が必要と思われるが、ここでは一応遺伝子突然変異によるものと考えるのが妥当であろう。このことは前述のように、えられた突然変異体の再照射によって、花色の突然変異体が可逆的に誘発されることから推定される。

キクの赤色系色素の分析に関して、寛ら(1965)は赤色系キク18品種を供試して、アントシアニン含量と色調との関係および色素の定性分析を行った結果、いずれの品種についても少なくともマルビン、クリサンテミンおよびエンサチンの合計3種類のアントシアニンを含んでいることを報告している。しかし、杉山・高野(1968)はこれを再調査した結果、シアニジン系以外のアントシアニンは存在しないことを明らかにした。すなわち、寛らのアントシアニンはシアニジン-3-カフェオイルグルコシド、シアニジン-3-グルコシド、シアニジン-3-ジグルコシドであると訂正した。

本実験においても、キクの赤色品種DおよびYDの赤色変異系統YDRMはともに主となるアントシアニンはクリサンテミンであり、マルビン、エンサチンは検出することができなかった。

LOVE and MALONE(1967)は放射線によって誘発されたコレウスの突然変異体とその復帰突然変異体およびそれらの原品種を用いて、P.C.によるRf値および吸収曲線により色素の同定を行った結果、いずれも1個のアントシアニン、シアニジン-3-モノグルコシド、すなわちクリサンテミンのみを見出した。これらの結果から、彼らは3者における色に関する差異は色素分子そのものの構造の変化にもとづくものではなく、1つのアントシアニン系色素の量的変化にもとづくものであろうと考えた。本実験に供試したDとYDRMはその花色

に関して、外観的には全く差異は認められず、後者は前者に対して復帰突然変異の関係にあるものと推定されたが、アントシアニンの分析結果からも、両者間には、質的には差を見出すことはできなかった。

次に、キクの黄色系花色についてみると、本実験において、自然突然変異によってえられたYDと、人為的に放射線によってえられたDYMとの間にはフラボノールの共存関係において差異は認められなかったが、一方、フラボノール以外の黄色系色素の共存に差異が認められたことは育種上特に注目し値する。

HASKELL(1965)はOrangeおよびYellow sectorをもったオレンジの果皮において、対照区では8個あるフラボノイド化合物のクロマトグラム上のスポットがOrange sectorでは6個に減少し、Yellow sectorでは3個のスポットが消失し、他のスポットが1個増加していることを確認し、この結果から質的差異が2つの異なった時期に起こったことを報告している。これに対して、本実験の結果では、色素構成の差が直接花色発現の差となってあらわれていない。このように、外観的には差の認められない系統において、質的に異なる色素が共存することは育種学的にみても甚だ興味深い問題である。このフラボノール以外の色素に関して、一方の変異系統、すなわち、DYMでは欠如という形であらわれたが、このような非可視的変異をあ

る手法、たとえば生化学的分析により見出し、これを交配母本として利用することにより、これまで存在しなかった新しい花色を積極的に作り出す可能性も考えられる。

本実験においてえられた以上の結果から、花色変異の機構について、HARBORNE(1962)らによって作成されたフラボノイド化合物の合成経路に基づき、図2-9に示すような作業仮説をたてた。すなわち、3-OH→シアニジンの経路が、放射線により可逆的な変異を起こし、赤から黄への変異の場合には、この経路がブロックされ、また、黄から赤への変異の場合には、この経路が連絡するものと考えれば、一連の可逆的な花色の変異を説明することができる。一般に、自然界における花の色は黄色のものが多く、また、赤色花には必ずフラボノールが共存することなど、色素の進化の点からみても、この考えは妥当と考えられる。

次に、本実験においては、DおよびYDRMの有機酸分析により、アシル基として存在するのはカフェー酸であることがわかった。すなわち、カフェー酸とシアニジンのB環においては同じヒドロキシレーション・パターンをもつものであり、カフェー酸がシアニジン形成のC₉前駆物質となる場合も知られている。しかし、このカフェー酸がアントシアニンとエステル結合していることは、カフェー酸がすべてシアニジンの前駆物質としてだけ関与するものでないことを示

唆しており、アシル化に関与する遺伝子を想定する必要がある。

さらに、YDおよびDYMのフラボノールの構造をみると、この場合もB環にシアニンと同じヒドロキシレーション・パターンをもつケルセチンおよびケルセチンの配糖体であることがわかる。GEISSMAN et al.(1955, 1956)はキンギョソウおよびコレオブシスでフラボノイド化合物の定性分析を行い、検出された化合物がすべて同じヒドロキシレーション・パターンをB環にもつことから、 $C_6-C_3-C_6$ 色素構成以前にヒドロキシレーションに関する遺伝子が働き、B環のヒドロキシレーション・パターンが決定されることを報告している。したがって、本実験の結果においても、フラボノール、アントシアニンおよび有機酸の生成過程におけるB環および有機酸のヒドロキシレーション・パターンはこれらの物質の前駆体段階で決定されていると考えられる。

最後に、配糖体についてみると、アントシアニンは3-グルコシドであるのに対して、フラボノールは3-ラムノシド、3-ルチノシド(3-ラムノーグルコシド)であって、3-の位置に糖結合を起こす点では共通であるが、糖エステルの結合は異なっている。すなわち、アグリコン形成に関与する遺伝子はアントシアニンおよびフラボノールともに共通性があるが、配糖体形成にはそれぞれの色素により異なる遺伝子を必要としていることがわかる。このように

同一アグリコンをもつ色素においても、糖のつく位置、糖の種類や数の相違は花色発現に差異をもたらす(CRANE and LAWRENCE, 1956)ので、今後、色素の遺伝生化学ないし育種学の上で考慮するに値しよう。

以上の結果から、これまで放射線によって誘発されたキクの花色変異はすべて既存品種の枠内にあり、新しい花色変異の作成には成功していないが、生化学的手法によりこれらの変異系統の中には共存する色素構成の異なった系統の存在することが確かめられた。今後はキクの花色育種上、放射線による色素形成の転換により花色変異の幅を増大すること、たとえば、シアニジン系からペラルゴニン系の劣性突然変異体の誘発が一つの主目標とされるであろう。また、これらの変異体を交配母本として組合せ育種の検討を行っていく必要があるものと考えられる。

(5) 摘要

放射線によって誘発されたキクの花色突然変異系統およびそれらの原品種を用いて、花の色素分析を行った。えられた結果は次の通りである。

1. Delaware(D)とYellow Delaware(YD)に放射線照射してえられ

た赤花変異系統(YDRM)はアントシアニンとして、ともにクリサンテミンとそのアシル化アントシアニンを含み、その色素構成に差は認められなかった。

2. YDとDに放射線照射してえられた黄花変異系統(DYM)は、フラボノールとして、両者ともにケルセチン、ケルシトリンおよびルチンを含み、差は認められなかった。しかし、粗抽出液のクロマトグラムから、フラボノール以外の黄色色素（水溶性の高いキサントフィルと推定される）に差があることが認められ、YDには存在するが、DYMでは欠如していた。

3. 花色に関して、赤から黄、黄から赤への一連の可逆的変異の機構に関して、HARBORNE et al.によって作成されたフラボノイド化合物の生合成経路にしたがって考察した結果、 $3-OH \rightarrow$ シアニジンの経路が可逆的変異をおこして生じたものと推定された。

第3章 キクにおける受粉後の花柱短縮と種子稔性の関係について

(1) 緒言

キクは遺伝的に制御された胞子体型自家不和合性を示す植物であり (DREWLOW, *et al.*, 1973)、このような自家不和合性では花粉管の花柱への侵入が阻害されるために引き起こされる。さらに、キクにおいては、たとえ種子がえられたとしても、成熟種子をえるためには受粉後8週間以上も待たねばならない。キクの育種計画上、受粉後の短期間で、交雑や自殖後代の種子がえられるかどうかを検定できることは重要な問題であり、なんらかの指標を使い短時日のうちに約2カ月後の種子稔性を予測する方法の開発が望まれている。

受粉後の花粉と柱頭との相互関係 (Pollen-stigma interaction) については HESLOP-HARRISON を中心とした研究者により非常に精力的な研究が行われてきている。すなわち、クロッカスの花粉管伸長 (HESLOP-HARRISON, 1977)、ライムギの花粉発芽に関する研究 (HESLOP-HARRISON, 1979)、花柱や花粉管の微細構造に関する研究 (KROH *et al.*, 1979; HESLOP-HARRISON and HESLOP-HARRISON, 1980)、花柱や柱頭または花粉に関する組織化学的研究 (VITHANAGE and KNOX, 1977; BREDEMEIJER and BLAAS, 1983; HESLOP-HARRISON *et al.*,

1984: GHOSH and SHIVANNA, 1984)など多くの研究が行われてきている。しかし、これらの研究は種子形成までを含んでいるわけではなく、本研究で問題としている点に関しては不十分である。

DREWLOW *et al*(1975)は各々の頭状花序における稔実種子の出現は受粉後8日目の花粉粒の付着した柱頭のうち、褐色に着色した柱頭数を調査することにより予測できることを示唆した。

他のキク科植物植物と同様に、キクの花粉稔性を人工培地上での発芽率で検定することは非常に困難である。すなわち、人工培地上での花粉の発芽率は種々の薬剤（ジベレリン・オーキシンなどの植物生長調整剤や動物のホルモン剤であるテストステロンなど）を用いて向上を図っても50-60%程度にとどまっており、花粉発芽による花粉稔性の評価は不可能である(TSUKAMOTO and MATSUBARA, 1968)。

HESLOP-HARRISON and HESLOP-HARRISON (1970)は花粉の生死の判定に生体染色を施すことのできる蛍光染色剤を用いる方法を提唱している。この方法は自家蛍光を発生しない花粉には非常に有効なものであるが、高等植物の細胞特に花粉では細胞壁や花粉外殻に強烈な自家蛍光を発生する物質を多量に含み、この方法を用いても花粉稔性を評価することは困難な場合が多いと考えられ、実際キクの花粉では自家蛍光が強くこの方法を用いることはできない。

そこで、花粉稔性を検定するため以上述べた方法とは異なる方法

を開発することが重要である。DE JONG and KHO (1982) はキクの管状花の受粉後1日における花柱の短縮(shriveling)によって管状花における8週間後の種子稔性を確実に推定しようとした。そして、このような花柱の短縮現象は容易に視認できる花粉の稔性を早期検定する上に極めて実用性の高い方法であると述べている。また、田中(1982)は野生ギクを供試した多くの交雑実験から、交雑後に花柱が短くなる組合せでは高い種子稔性がえられることを認めている。

筆者はキクの交雑種子や自殖種子をえるために多くの人工受粉を行ったところ、受粉後短時間のうちにあたかも花柱がなくなってしまったように見える花柱短縮を起こした管状花が多く存在する頭状花序では、約2カ月後の種子稔性が高く、稔実種子をえることができることを認めた。そこでここでは、この花柱短縮現象が実際の種子稔性とどのような関係にあるかを明らかにする目的で一連の実験を行った。さらに、これらの実験を行うにあたり、キク科植物のような頭状花序を持ち管状花の小さな花における効率的な除雄法についてもいくつかの知見がえられたので同時に記載した。

(2) 材料および方法

名古屋大学農学部 に保存中のスプレーマムを供試して自殖・交雑

・放任受粉を行った。供試したキク品種は挿し木により発根させた栄養繁殖個体を常法にしたがって植木鉢に定植し、ガラス室内で開花期まで栽培した。開花期に未だ開花しておらず、周辺の舌状花が外転を始めた頭状花序を選び、舌状花をすべて取り去り、管状花のみを供試した。これは、舌状花の花柱は受粉後には短縮せず、また、舌状花を含めた周辺の小花ではえられた種子は過熟することが多いので発芽率が低下しやすく実際の育種上には不向きであることによる。

交雑を行う場合には、確実に交雑種子をえるために自家不和合性を有すると考えられる品種や雄性不稔性を有すると思われる品種についても除雄を行った。除雄の方法は、当初は、以前より一般的にキクの除雄法として行われている水洗法を用いたが、この方法は除雄後の小花が水浸状になったり、細菌におかされ腐るものが多く出現したので、面倒ではあったが、未開花の管状花からピンセットを用いて癒合した5本の葯をすべて取り除く方法で行った。しかし、この方法では処理に多大な労力を必要とし、一度に多くの頭状花序を除雄することができなかった。このとき、除雄を行うために管状花の花冠の上部をピンセットで切り開き、放置しておいたところ、翌日に開花するべき小花では数時間の後に花冠の上部に葯が突出し、この葯の上部をピンセットで引き抜くことにより、簡単に除雄でき

るようになった。さらに、2－3日間このような除雄を続けると、それ以後に開花する小花では葯が褐変し、葯中の花粉も褐変化し花粉としての能力を喪失した。すなわち、この方法はキクの除雄法として極めて簡便な方法と思われた。そこで、さらに有効な方法を探るために、未開花で再外周の管状花が開花する3日以上前の頭状花序を用いて、微小外科手術用のウェッケル剪刀を使用し管状花の先端部を切除した。このような処理を施した後、開花の状態や花柱の伸長度、柱頭上の花粉粒の有無などを調査したところ、処理直後に伸長してくる柱頭には少数の花粉粒を付着させたものも極く少量認められたが、ほとんどの小花では除雄処理効果が極めて有効であることが認められた。この方法は、キクにおける非常に簡便かつ有効な除雄法であると考えられた。すなわち、未開花の管状花の先端を切除し、万全を期するために、1－2日間開花の状態を観察し、葯の突出が認められた小花ではピンセットで葯を取り去れば除雄ができることになった。

花柱短縮に関する実験は、第1にスプレーマム品種 'White Marble' と 'Bonnie Jean' を用いて反復受粉を行った。すなわち、雄性不稔性が強く現れ、全く花粉の形成が行われなかった、そのために除雄を行わなかった、'White Marble' を母本とし、この頭状花序に 'Bonnie Jean' の花粉を母本の開花の初めから終わりまで1日に1

回の割合で受粉を行い、1回ないし8回（すなわち、1日から8日）
受粉回数を変えることによりえられる種子数と花柱短縮小花数を調査した。

さらに、実際の育種体系の中で花柱短縮現象の有効性を明らかにする目的で第2の実験を行った。この実験では、雄性不稔性を示し、少量の花粉がえられるのみで、花粉形成の悪い 'White Marble' 'Pink Marble'、自家不和合性品種と考えられる 'Tuneful'、自家和合性で花粉の形成量も多い 'Bonnie Jean' 'Yellow Bonnie Jean' 'Pink Daisy' を用い、開花の全期間にわたって自殖および交雑を行った。

第3の実験では、放任受粉区を設け、放任受粉における種子稔性と花柱短縮について調査を行った。この実験には、前述の 'White Marble' 'Yellow Bonnie Jean' およびポットマム品種である 'Yellow Delaware' と野生ギクの一様であるノジギク (*Chrysanthemum japonense*) の雑種第1代の個体を供試した。

これらの実験では、受粉後8週間目の頭状花序から、花冠と種子が分離しないように注意して小花を取り外し、各小花毎に稔実種子の有無および花柱短縮の状態について調査を行った。ここでは花柱短縮を見分けるために柱頭が花冠の中に引っ込んだ小花を花柱短縮小花とした。

(3) 結果

予備的に行った実験の結果、受粉後の管状花において顕著な変化が観察された。図3-1に示すように、一つの頭状花序で観察すると、外側の管状花は花柱短縮を示しており、中央部のまだ受粉されていない管状花では花柱短縮は認められなかった。この頭状花序は受粉後8日目のものであり、品種'Bonnie Jean'の花粉により4回受粉された'White Marble'のものである。ここで、受粉後の比較的早い時期に適法受粉された管状花において花柱短縮現象が認められ、一方、未だ受粉されていない管状花では花柱短縮が全く誘起されないことが再確認された。図3-2は'Yellow Delaware' X Chrysanthemum japonenseの頭状花序を示す。これは放任受粉区の個体で、小花全体が開花（中心の管状花まで開花したもの）した後約2週間後の頭状花序である。この頭状花序でも管状花には花柱短縮を起こしたものとそうでないものの2つのタイプが明らかに認められた。図3-3には放任受粉させた'White Marble'の開花後約2カ月の頭状花序からえられた管状花の状態を示す。この図では、右側の2個の管状花は下部に稔実種子を付け、花柱は短縮し、柱頭が花冠の中に完全に引っ込んだ状態であり、中央部の2つの管状花は花柱は短縮しているも

のの種子はえられておらず、左側のものは花柱短縮も認められず稔実種子もえられていないことを示している。このように花柱短縮現象は受粉後の早い時期から誘起され、稔実種子のえられる受粉後約2カ月後でも花柱短縮したものとそうでないものの区別が容易につけられることが明かとなった。そこで、稔実種子のえられる時期に管状花の観察を行い、種子稔性と花柱短縮について調査を行った。

受粉回数を変えた場合についての結果を表3-1および図3-4に示す。表3-1は花柱短縮が認められた管状花数（花柱短縮小花数）・稔実種子数および受粉回数の間の関係について示した。この表から、花柱短縮小花数および稔実種子数の両者は受粉回数の増加にともなって、増加した。さらに、受粉回数7および8回の区では開花の全期間を通して受粉を行った場合と同様な種子稔性を示した。これは再外層の管状花が開花を初め、中心の管状花が開花するまでの期間、すなわち開花全期間が約1週間であることから考えても正しいことであると思われた。図3-4は種子稔性（各頭状花序の全管状花数に対する稔実種子数のパーセント）と花柱短縮小花率（各頭状花序の全管状花数に対する短縮花柱をもつ管状花のパーセント）の間の関係を示す。これらの間の相関係数は非常に高かった（ $r=0.9596$ ，0.1%レベルで有意）。このことは受粉後に起こる花柱短縮が種子形成と密接な関係にあり、花柱短縮を起こさない小花には全く種子がえられな

かったことと考え合わせると、花柱短縮現象は種子形成にとっての必要条件であることがわかった。

実験 2 についての結果を図 3-5 に示す。この結果からも、実験 1 の場合と同様に、種子稔性と花柱短縮小花率の間に高い相関関係が認められた ($r=0.9048$, 0.1%レベルで有意)。この実験では、品種 'Tuneful' の自家受粉では稔実種子は全くえられず、この品種は自家不和合性品種と判定された。さらに、同じ枝変わり品種群に属する 'White Marble' と 'Pink Marble' は雄性不稔品種であるが、時として外側の管状花に少量の花粉を形成することがあり、これらの花粉により受精したと思われる少量の稔実種子がえられた。それゆえ、これらの品種は雄性不稔性ではあるが、自家和合性の品種であると判定された。

図 3-6 は第 3 の実験についての結果を示す。放任受粉区についてのこの結果でも、第 1 および第 2 実験ほどの高い相関係数は示さなかったが、種子稔性と花柱短縮小花率との間には高い相関関係が認められた ($r=0.7740$, 0.1%レベルで有意)。このことは受粉後の花柱短縮現象が人工受粉によって引き起こされるだけでなく自然状態でも引き起こされる現象であることを示している。

表 3-2 は 1 - 3 の各実験区についての総管状花数・花柱短縮小花数・稔実種子数などについての結果を示す。実験 1 では非花柱短縮小

花で稔実種子のえられたものは全く認められなかったが、実験2および3では少数ながら花柱短縮せずに稔実種子のえられたものがみられた。しかしながら、とくに第2実験では、品種'Pink Daisy'の自家受粉後の小花のみにみられたもので、これらの小花でも花柱の短縮は起こっていたが、本実験では花柱短縮小花を柱頭が花柱に引っ込んだ小花を花柱短縮小花として判断したためにこのような結果となったものと思われる。以上のように受粉後の誘起される花柱短縮現象はキクにおいては適法受粉を行った場合に一般的にみられる現象であると考えられた。

さらに、本実験を行うに当たり、除雄の手間を省くために行った方法は他のキク花植物についても試験的に応用したところ、ヒマワリ・コスモス・フランスギクなどでキクと同じように効率的に除雄できるので、キク科植物、特にキク亜科に属する植物ではこのような方法が有効に利用できるものと考えられた。

(4) 考察

本実験では栽培ギクの管状花の花柱が受粉直後に短縮し、この現象が受粉後約8週間目の種子の登熟期まで続き、花柱短縮小花と非短縮小花が容易に見分けられ、花柱短縮現象と種子稔性との間に高

い正の相関関係が存在することが示された。さらに、表3-2に示すように花柱短縮小花の約50%が稔実種子を生産し、非短縮小花では全く稔実種子がえられなかったので、この花柱短縮現象はキクにおいては種子生産のための必要条件であることが明かとなった。

栽培ギクでは種子が登熟する受粉後約1-2カ月を待つことなく受粉後8日目の柱頭の褐変化を観察することにより稔実種子がえられるか否かを正確に判定することができるとされている(DREWLOW, et al., 1975)。本実験で示したように、キクの管状花の花柱短縮は受粉後数時間で誘起され、種子の登熟期を待たず、種子稔性を予想するための非常に見分けられやすい現象である。

DE JONG and KHO (1982) はキクの管状花の花柱は受粉後1日で短縮し8週間後の種子稔性をよく反映していること、および、この現象は花粉稔性を早期に植物体を用いて判定するための指標として有用であることを報告した。しかしながら、彼らの報告では花柱の短縮と種子稔性との関係を同一の小花を用いて判定してはいない。本実験では花柱の短縮が受粉直後に起こり、また、同一の小花を用いて花柱短縮と種子稔性の関係を判定しているので、この関係がより正確に示された。キク以外の植物を用いた実験では、ペチュニア

(Petunia hybrida)での報告がある。DUERENBERG (1976)は、ペチュニアにおいて、胚珠に花粉管が到達する前に胚珠でのタンパク質

合成が盛んになることから、代謝活性を変化させるようなシグナルが柱頭または花柱から胚珠に向かって送り出されることおよび、このシグナルは異種または同種の受粉により異なっていることを報告している。さらにGILISSEN (1976)は花柱内での花粉管の伸長が花弁の萎凋を促進することを認め、花柱が柱頭や花柱から他の花の器官への情報伝達に関して感覚器官となっていることを示唆した。

キクにおいて、管状花の花柱は受粉直後に短縮を始めこれが必要条件となり種子形成に導かれる。この場合、もしも花柱が受粉後数時間以内に正常に短縮したとしても、花粉管は胚珠にまで届いておらず、花柱短縮が誘起され始めたときにはたぶん花粉管は花柱にも届いていないと思われる。このことは、キクにおいては、柱頭が和合または不和合花粉が付着したかどうかを認識するための感覚器官となっているものと考えられる。

キクの育種体系において、自家または交雑不和合性が早期に決定されることは非常に重要な問題である。栽培ギクにおいて、自家不和合性反応は孢子体型を示し、1遺伝子座以上の遺伝子座が関与する遺伝的な制御を受けている(DREWLOW, et al., 1973)。さらに、自家和合性の植物体は普通の自家不和合性を示す栽培ギクからは非常に稀にしか出現しない(RONALD and ASCHER, 1975a)。自家和合性は遺伝分析や自殖系統の養成とそれに続くF₁雑種キクの作出のため

に有効に利用されるであろう (RONALD and ASCHER, 1975b)。ここで確立された適法受粉直後に誘起される管状花の花柱短縮現象はキクにおける自家・交雑不和合性を早期に判定するための指標として有効に利用され、効率的に自殖系統の確立をするために用いることができるものと考えられる。

非花柱短縮小花には全く種子が生産されないので、種子を生産するためには花柱短縮が必要条件であると思われる。さらに、花柱短縮小花においても約半分の小花にしか種子は生産されていなかった。このことは受粉から種子形成にいたる径路には多くの複雑な要因が存在し、一つ一つの要因がそれぞれの段階で役割を的確に果たしていくことにより正常な種子形成が行われるものの考えられる。この点から考察すると、花柱短縮現象は種子形成の過程の非常に早い時期に働く一つまたはそれ以上の要因により制御されていることも考えられる。

(5) 摘要

キクの受粉直後に観察される花柱短縮と約8週間後の種子稔性との関係を明らかにするために実験を行った。

1. 受粉直後に観察される短縮花柱および非短縮花柱の間の形態

的な差異は完熟種子形成期まで維持される。

2. 受粉回数を変えた場合には、受粉回数が多いほど、短縮花柱をもつ管状花率（1頭状花序あたりの全管状花数に対する短縮花柱をもつ管状花数の百分率）および種子稔性（1頭状花序あたりの全管状花数に対する稔実種子数の百分率）が増加した。さらに、短縮花柱をもたない管状花では種子は全く得られなかった。

3. 開花全期間を通して受粉した場合には、自殖および他殖において、短縮花柱をもつ管状花率、種子稔性とも種々の値を示すものが観察された。これらの間には高い正の相関関係が存在した。このことから、受粉直後に花柱短縮の有無を調査することにより採種可能な交配組合せを早期に選別できることが示唆された。

4. 自然状態における花柱短縮の状況を明らかにするために放任受粉後の調査を行った。この場合にも短縮花柱をもつ管状花率と種子稔性との間には高い正の相関関係が存在した。すなわち、和合花粉を受粉した直後に観察される花柱の短縮はキクの管状花では一般的な現象であることが確認された。

第4章 キクの花色変異に関する遺伝育種学的研究

(1) 緒言

栽培ギク (Chrysanthemum morifolium Ramat.) はキク科 (Family Compositae) に属し、 $2n=6x=54$ の染色体数を持つ6倍体性の植物である (DOWRICK, 1953)。また、キクは他の多くのキク科植物のように遺伝的に制御された孢子体型自家不和合性を示す品種を多く含んでいる (DREWLOW, et al., 1973; ZAGORSKI, et al., 1983; STEPHENS, et al., 1984)。さらに、自殖や交雑により簡単に種子がえられたとしても、遺伝子分析などのために、これらのえられた種子の自殖後代をえることは困難である (KAWASE and TSUKAMOTO, 1977)。STEWART and DERMEN (1970) はキクの枝変わりにより構成されている 'Indianapolis' 品種群は頂端分裂組織の3層構造の変異に起因すると考えられる周縁キメラにより多くの枝変わり品種を作出していることを報告している。また、LANGTON (1980) は、栽培ギクについての報告の中で、カロチノイドによる黄花色の着色に関して単因子の優性遺伝子 I (抑制遺伝子) が存在し、花色の遺伝子分析の結果から、キメラ構造 (周縁キメラ) の存在が示唆され、そのために、キクの育種体系の中では周縁キメラ構造の存在を考慮にいれておく必

要がると報告している。また、JORDAN and REIMANN-PHILIPP (1983) はアントシアニンによる着色には優性の遺伝子 A が働き、A の存在下ではアントシアニンが生成され、また、カロチノイドの合成には優性の抑制遺伝子 I が合成系を阻害するため、I の存在下ではカロチノイドの生成が阻害されることを報告した。さらに彼らはこれらの 2 つの遺伝子により、キクの花色は大きな多様性を示し、特に白色には I の存在が重要であるとしている。しかしながら、これらの花色に関する研究では品種や系統を用いた自殖実験は行われておらず、遺伝子分析としては不備なものといわざるをえない。すなわち、自殖により単一の品種または系統の遺伝的背景を明らかにした品種を検定品種として、他の品種・系統との交配により遺伝子分析を行うことが適切であると考えられるが、キクにおいては上述したように、孢子体型自家不和合性を示す品種が多く、そのために自殖を行っても後代の種子がえられないものと推定し実験を進めた結果であると考えられる。したがって、キクの花色についての遺伝学的研究はそれほど行われてはおらず、ほとんど進展がみられていないのが現状である。

WATANABE (1977) は倍数性のキク属野生種を用いて減数分裂時の染色体の対合状況を詳細に観察し、特に偶倍数性では、2 価染色体の形成が一般的であり、多価染色体の形成は非常に少なかったことを

報告している。そしてこれらの結果から、少数ではあるが多価染色体が観察されたことは4倍体以上の倍数性種の染色体はゲノム毎の同質性が高く、染色体対合については2価の対合を制御するような遺伝的な機構が働いているものと考えた。このような遺伝的制御に関して最もよく知られているものは、三基異質6倍体である普通系コムギの場合である。すなわち、コムギは3種類の異なったゲノムを2組ずつ(AABBDD)持つもので、これらの3種類のゲノムに含まれる染色体はそれぞれ同祖染色体と呼ばれる。このような同祖染色体は相同染色体ほどではないが遺伝的な部分的相同性や類似性を持っているもので、非相同染色体とは区別されるべきものである。MURAMATSU (1959)は普通系コムギと *Aegilops caudata* (2n=14, CC) との交雑後代において5B染色体を含まない個体(ABDC-5B, 2n=27)を見つけ、この個体の減数分裂の染色体対合を観察したところ5Bを持つ個体よりも染色体の対合率が高く、5Bを持たないものではCゲノムの染色体のうち少なくとも6本が普通系コムギの染色体と対合することを明らかにした。すなわち、5B染色体の上には同祖染色体同士の対合を抑制する遺伝子が存在することが推定された。その後、この遺伝子の同定が進められ5B染色体の長腕側に座乗する単優性遺伝子であることが明かとなり (SEARS, 1969)、 *Ph* 遺伝子と命名された (WALL, et al., 1971)。このような染色体対合に関与する遺伝子は多く

見つかっているが、キクにおいても同様の遺伝的制御により減数分裂時の染色体対合が2価対合を優先させているものと思われる。そこで、キクにおいては同質性の高い6倍体ではあるが、遺伝子分析に関しては2染色体的分離(disomic segregation)を生ずるのではないと思われる。

キクの花色は主として花卉の表皮細胞の液胞中に溶け込んだ状態で存在するアントシアニンと花卉全体の細胞の色素体中に存在するカロチノイド色素により発現される。また、キクの花色はこれらの両色素の量的な比率により大きく変化する(KAWASE and TSUKAMOTO, 1974 and 1976)。すなわち、キクの花色はアントシアニンとカロチノイドが複雑に絡み合って発現されるものであるので、可視的な評価は非常に困難である。SHIBATA (1958)は生花卉の分光分析を行うためにOpal Glass Transmission Methodを開発した。この方法では生花卉のような不透明な材料ではなにも処理をしない分光分析では試料を通過した光の散乱が一定にはならず、そのために正確な分析を行うことができない。そこで、試料を通過した光の散乱を試料側および対照側ともに一定とするために、両者の光の入口または出口にオパールガラスを置き、散乱を一定にして測定を行うものである。分光光度計には、現在、光を受け取り、測定するために使われる光電管(フォトマル)の配置に2通りの型があり、サイドオン型の分

光光度計ではオパールガラスまたはより単純にはパラフィン紙を光路上に配置することにより散乱が一定となり生花卉の分光分析が可能となる。また、もう一方の型である、ヘッドオン型の分光光度計では試料台のすぐ後ろに光電管が配置されているため散乱光をすべて光電管中に取り込むことができるので、オパールガラスなどを使う必要がなく、そのまま生花卉を試料台に取り付けばよいことになる。この方法は花卉中に存在する色素を大まかに分析するためには便利な方法であり、アントシアニンやカロチノイド色素群の存否を各々の色素群について簡単に測定できるので、これらの色素の遺伝子分析を容易に行うことができるものと思われる。

本実験では主として栽培ギクを用い、黄色花の主要な色素であるカロチノイド色素と、フラボノイド色素のうち赤色花の主要な色素であるアントシアニン類についての遺伝子分析を、生花卉の分光分析により行った。さらに、花色の遺伝子分析を行ったときに認められた周縁キメラ構造についても検討を行った。

(2) 材料および方法

本実験に用いた材料は、表4-1に示すように、名古屋大学農学部に保存中の栽培ギクおよび野生ギクの1種である。このうち、Bonnie

Jean (BJ) と Yellow Bonnie Jean (YBJ) は黄花色品種である BJ の枝変わりによって白色花品種 YBJ が作出されたものであり、スプレーマムに属する 1 つの枝変わり品種群 (Sport family) を形成している。

また、同じようにスプレーマムである Pink Marble (PM), White Marble (WM), Blue Marble (BM) も PM を原品種とする枝変わり品種群に属している。Pink Daisy (PD), Tuneful (T), Red Rijeco (RR) もスプレーマムに属しており、PD・T はそれぞれ異なった枝変わり品種群の原品種となっているものである。第 2 章でも供試した、ボットマムに属している Delaware (D), Yellow Delaware (YD) は赤色花の D から自然突然変異により YD が誘発されたもので、これも枝変わり品種群である。さらに、ここでは野生ギクの 1 種である白色花のノジギク (Chrysanthemum japonense) をも供試した。このノジギクは日本に自生しているもので染色体数が調査され、 $2n=6x=54$ であることが確認された系統である。

これらの品種および野生ギクを挿し木で増殖し、常法にしたがって鉢植えとし、ガラス室内で栽培し、開花期に自殖および交雑を行った。自殖の場合には、他の花粉が混入しないように周辺の舌状花を取り去った頭状花序にパラフィン紙の袋をかぶせ、開花期間中、毎日毛筆を使って受粉を行った。交雑の場合には、第 3 章で述べたような方法で除雄をした後、毛筆を使って交配を行った。このよう

にしてえられた S_1 および F_1 種子を翌年の春に播種し鉢を使って開花まで栽培した。開花期に各個体の頭状花序から舌状花を採種し、乾燥しないように注意し生花卉の分光分析用の試料とした。

生花卉中にカロチノイドまたはアントシアニンが存在するか否かを決定するために、花卉の吸収曲線がヘッドオン型の日立2波長ダブルビーム分光光度計(356型)またはサイドオン型の島津紫外可視自記分光光度計(UV-160)を用いて測定された。356型の場合には生花卉そのまま、UV-160の場合にはオーバーガラスを用いて測定した。KAWASE and TSUKAMOTO (1974)に従えば、吸収曲線上にはアントシアニンの生体中での吸収ピークは530-560 μm の波長域に、カロチノイド色素は420-490 μm の波長域に特徴のある3つのピークで、またフラボノールは350-370 μm の波長域に1つの吸収ピークでそれぞれ現れるとされる。このようなことから、アントシアニン・フラボノール・カロチノイドの各色素の存否を明確に判断することができた。

(3) 結果

花色の分析を行うために、吸収曲線の例を図4-1(a-d)に示す。カロチノイドやアントシアニン色素を含まない白色花では図4-1(a)に

示すように、 $360\mu\text{m}$ 付近に1つのピークだけを持っており、これ以外にはピークを認めることはできなかった。このピークはフラボノールによるもので、フラボノールは花色発現には関与していないことがわかった。図4-1(b)はピンクの花色を持つ花卉の吸収曲線を示す。この吸収曲線にはフラボノールによるピーク以外に、 $560\mu\text{m}$ 付近に緩やかではあるが明かなピークが認められ、このピークはアントシアニンによるものであることがわかった。図4-1(c)は黄花色を持つ花卉の吸収曲線を示す。ここにはフラボノールのピーク以外に $450\mu\text{m}$ を中心にした3つのピークが認められ、特徴のある3つのピークからカロチノイド色素によるものであることがわかった。図4-1(d)は赤色花の吸収曲線を示す。ここにはフラボノールによるピークに加え、アントシアニンやカロチノイド色素によるピークも認められ、赤色花には3つの色素が混合して存在していることがわかった。ここで、特にフラボノール以外にアントシアニンのみを持ったものでは花色をピンク色と表現し、アントシアニンだけでなくカロチノイド色素も持っているものを赤色と表現したが、前者はアントシアニン量が少なくなるとピンク色が薄くなり、多くなると濃いピンク色から青みがかった花色に移行するのが観察された。それに対して、後者では、アントシアニン量が減少するとブロンズ色、増加すると濃赤色となり花色の変化が可視的には大きく変異するように

思われた。このように花色を可視的に観察したのみでは明確にはできない含有色素の構成について、ここに示したようにフラボノール・アントシアニン・カロチノイド色素の存否を吸収曲線から明らかに判定することができた。

1) カロチノイドの着色の遺伝について

自殖後代(S_1)についてえられた結果を表4-2に示す。PD S_1 と BJ S_1 は χ^2 検定の結果、高い確率でカロチノイドの+ (存) : - (否) = 1 : 3 の分離比に適合した。後代において、カロチノイド色素が劣性ホモ型の時にだけ形成されるので、これらの知見はPDとBJがカロチノイド生合成に関して1遺伝子座の優性抑制遺伝子をヘテロ型でもっていることを示唆した。YBJ S_1 は+ : - = 1 : 3ではなく、3 : 1 3 の分離比に適合した。PM S_1 においても1 : 3 よりも 3 : 1 3 の比の方が適合率が高かった。これらの2品種のカロチノイド色素による着色は2つの各々独立した遺伝子座の遺伝子により制御されていることが推定された。すなわち、YBJとPMはそれぞれ、1つの遺伝子座に座乗しカロチノイドの生合成を抑制する優性の抑制遺伝子と、これとは別の遺伝子座に座乗するカロチノイドの生合成そのものに働き優性遺伝子の存在下でカロチノイドの生合成を進行させる遺伝子を考えると、これらの2つの遺伝子が各々ヘテロ型で存在していることが推定された。Ch.j.の S_1 後代に開花した花はすべ

て白色花をつけ有色花をつけることはなかった。このことはCh.j.には優性の抑制遺伝子が少なくとも1対はホモ型で存在しているか、またはカロチノイドの生合成に関与する遺伝子を全く持っていないことによるもののいずれかであることを示している。

表4-3は種々の交雑(F_1)後代について調査した結果を示す。この表から、D X BJ F_1 とYD X BJ F_1 を除く全ての組合せの F_1 後代はカロチノイドの分離が χ^2 検定の結果、 $+$ ： $-$ = 1：3の分離比に適合した。YBJ X BJ F_1 とBJ X YBJ F_1 後代に関しては、正逆交雑の間で、カロチノイド着色の分離には差異は認められなかった。 S_1 後代のカロチノイド着色の分離比を考慮にいと、BJとYBJは同じ遺伝子座の優性抑制遺伝子をヘテロ型で持っていることが示唆された。さらに、YBJがカロチノイド着色に関する優性遺伝子をヘテロ型で持っていると考えられるので、BJはカロチノイド生合成に関与する優性遺伝子をホモ型で持っているものと考えられた。これは、もしもBJがYBJと同じように生合成に関与する遺伝子をヘテロ型で持っているとする、BJとYBJの交雑後代では $+$ ： $-$ の分離比が1：3ではなく3：1に適合するはずであるが、実際の分離比は1：3に適合するため上記のような結論に達した。

同様に、BJまたはYBJとWM・BMの交雑後代の分離比から、WMやBMは優性の抑制遺伝子をヘテロ型で持っていることがわかった。

D X BJ F₁とYD X BJ F₁後代の分離比から、DとYDは両者共にカロチノイド着色に関する優性抑制遺伝子を持っていないものと考えられた。しかしながら、これらの品種では、その舌状花にカロチノイド色素が検出されるので、カロチノイド合成に関与する遺伝子は持っているものと思われた。しかしながら、これらの品種は高度な自家不和合性を示し、自殖による種子をえることができなかったため、精密な遺伝的な背景を明らかにすることはできなかった。

Ch.j.といくつかの品種との交雑によってえられたF₁のデータを表4-4に示す。Ch.j.との交雑後代では全ての個体がカロチノイドによる着色を示さず、Ch.j.は自殖後代の結果から2つの場合が考えられたが、少なくとも単遺伝子座で優性抑制遺伝子をホモ型で保持しているものと考えられる。

以上のように、いくつかの自殖や交雑後代の結果をもとにしてカロチノイドの着色に関する遺伝的な背景を分析してみると、表4-5のようにまとめることができた。すなわち、本実験で供試したキク品種はそのカロチノイド着色に関する遺伝的な背景をもとに3つのグループに分けることができた。グループ1にはPDおよびBJが含まれ、優性の抑制遺伝子をヘテロ型で、カロチノイド生合成に関与する優性遺伝子をホモ型で持っているものである。第2のグループにはD・YDが含まれ、優性の抑制遺伝子に関しては劣性ホモ型で抑制遺伝子

は持っていなかった。このグループではカロチノイド合成に関与する優性遺伝子は持っているものと思われるが、ホモ型かヘテロ型かを明確にはできなかった。グループ3にはYBJとPMが含まれ、このグループは前2者と比べると少し複雑な遺伝的背景を持っていた。すなわち、優性抑制遺伝子に関しても、生合成に関与する優性遺伝子に関してもヘテロ型を示すものである。さらにカロチノイドの生合成に関与する優性遺伝子に関しては各々の品種が持っている遺伝子が同一の遺伝子座に座乗する遺伝子かどうかを明らかにすることはできなかった。

WMとBMのカロチノイド着色に関する遺伝的背景は本実験では明らかにすることができなかった。すなわち、WMとBMはカロチノイド着色に関して2つの異なった遺伝子座に座乗する遺伝子を持つことが明かとなったPMから枝変わりによって作出された品種であり、両品種ともカロチノイド着色遺伝子の関しては原品種であるPMと同様な遺伝的背景を持っているものと考えられる。もしそうだとすれば、これらの品種に保持されると考えられるカロチノイド生合成に関与する優性遺伝子はYBJの遺伝子とは異なる遺伝子座に座乗するものと考えられる。すなわち、YBJとWM・BMとの交雑後代において、カロチノイドの分離比が1:3となり優性抑制遺伝子のみで説明のできる分離比となったからである。また、WM・BMにはPMとは異なりカロチノ

イドの生合成に関与する遺伝子が優性ホモで保持されているとすると、WM・BMが枝変わりで作出された後にPMでカロチノイド生合成に関与する遺伝子に関する突然変異が誘起されヘテロ型に変異したものと考えられる。しかしながら、これらの3品種は同一の枝変わり品種群に属し、通常は雄性不稔性を示すため、自殖後代をえることが困難で、さらに詳細な遺伝分析は未だ行われていない。

2) アントシアニンの着色の遺伝について

自殖(S_1)後代についてえられた結果を表4-6に示す。PMは不完全な雄性不稔性を示すため、自殖による種子ほとんどえられないが、時としてある程度の種子がえられることがあり、このような種子を供試して遺伝分析を行った。PM S_1 はアントシアニンの+ (存) : - (否) に関して χ^2 検定の結果高い適合率で3 : 1の分離比に適合した。このことは、 S_1 後代において劣性ホモ個体のみにアントシアニンを発現しない個体を分離したので、PMがアントシアニンの生合成に関与する優性遺伝子をヘテロ型で保持していることを示唆している。PD S_1 は+ : -の分離比が3 : 1ではなくて15 : 1の分離比に適合した。このことはPDが2つの異なった遺伝子座に座乗するアントシアニン合成に関与する遺伝子についてヘテロ型を示すものと考えられた。BJとCh.j.の S_1 後代にはアントシアニンを生産する個体は全く出現せず、これらの品種はアントシアニン合成に関与する優性

遺伝子を保持せず、劣性ホモ型を示すものか、または、カロチノイド着色の場合と同様、アントシアニン合成を抑制する優性の抑制遺伝子をホモ型で持っているものと考えられた。

表4-7はBJと種々の品種との交雑後代のアントシアニン発現についての結果を示す。PD X BJ F_1 を除いて他の交雑後代ではすべて、 χ^2 検定の結果、高い適合率で、 $+$ ： $-$ = 1：1の分離比に適合した。一方、PD X BJ F_1 では $+$ ： $-$ = 1：1の分離比ではなく3：1の分離比に適合した。PD X BJ F_1 、PD S_1 およびBJ S_1 の分離比をもとに考えてみると、BJはカロチノイドで認められたような優性の抑制遺伝子を持っているのではなく、アントシアニン生合成に関与する遺伝子を持たず、アントシアニン合成遺伝子の状態を検定するための指標品種として利用できるものと考えられた。さらに、PM, WM, BM, D, YDおよびTの各品種はアントシアニン生合成に関与する単因子の優性遺伝子をヘテロ型で持っていることがわかった。

表4-8はCh.j.といくつかの品種との交雑後代のアントシアニン着色に関するデータを示す。この結果から、RR X Ch.j. F_1 を除き、全ての交雑後代は χ^2 検定の結果、高い適合率で、 $+$ ： $-$ = 1：1の分離比に適合した。RR X Ch.j. F_1 はPD X BJ F_1 の場合と同様に、アントシアニンの着色に関して $+$ ： $-$ = 3：1の分離比に適合した。これらの結果から、Ch.j.はBJと同様、アントシアニン生合成に関与す

る優性遺伝子を保持していないものと考えられた。また、RRはPDの場合と同様、アントシアニンの生合成に関して2つの異なった遺伝子座に座乗する優性遺伝子についてヘテロ型で保持しているものと思われた。

以上の結果を、カロチノイド着色に関する場合と同様に、取りまとめて表4-9に示す。この実験で用いた品種および野生種について考えると、アントシアニン着色の場合も、その遺伝的な背景について大きくグループ分けすると、3つのグループにわけられた。第1グループにはBJとCh.j.が含まれ、これらの品種および野生種はアントシアニンの生合成に関する優性遺伝子を持たず、そのために、アントシアニン生合成に関する優性遺伝子を保持するか否かの検定を行う場合に有効な指標系統として用いることができるものと考えられる。グループ2には最も多くの品種が含まれ(PM, WM, BM, D, YD, T)、アントシアニン生合成に関与する単遺伝子座に座乗する優性遺伝子についてヘテロ型で保持していた。しかしながら、本実験の結果からはこれらの品種の保持する優性遺伝子が同一の遺伝子座に座乗しているかどうかについては明らかにできなかった。PDとRRは第3グループに属し、これらの品種は異なった遺伝子座に座乗する2つの優性遺伝子についてヘテロ型で持っていた。

本実験では、アントシアニン生合成に関する優性遺伝子をホモ型

で保持しているような品種は見つからなかった。今後このような遺伝子型の品種を見つけ出すことも必要であろう。

(4) 考察

キクの花色に関与する色素の同定のために、本実験ではSHIBATA (1958)により開発されたオパールガラス法により分光分析を行った。この方法は大変簡単で1個のサンプルを処理するのに要する時間も短時間で済むものである。本実験では1個のサンプルを処理するのに分光光度計にサンプルを取り付けてから測定し終わるまでに約2-3分ほどしかかからず、また、吸収曲線などを記録紙に残すことができるので、大量のサンプルを処理してもデータ処理は後で行うことができるなど便利な方法である。このような方法を用いて、SAITO (1967)は多くのキクの品種を用いて吸収曲線を測定し、可視部のピークの数と位置により4つのグループに分けることができるとしている。また、このような分析は花色の化学分析による情報とおおまかな点で一致するとしている。KAWASE and TSUKAMOTO (1974)はこの方法を使って栽培ギク68品種の生花卉の吸収曲線を分析した。その結果、これらのパターンをフラボノール・アントシアニン色素とカロチノイドの存否により分類した。その結果は、本実験で結果の

最初の部分に記したものとと同じ様なものであった。すなわち、グループ 1 はフラボノールのみを含み、白色花のもの、グループ 2 はフラボノールとアントシアニンを含み、花色はピンクから赤紫色のもの、グループ 3 はカロチノイドの特徴的な 3 つのピークを示し黄花色のもの、グループ 4 はこれらの 3 つの色素（フラボノール、アントシアニン、カロチノイド）をすべて含み、花色がオレンジ色から濃赤色まで変異するものに分けられた。さらに、これらのグループにはすべてフラボノールが含まれ、キクの花弁中には普遍的にフラボノールが存在することを明らかにした。

本実験ではキク品種と 1 種の野生ギクの自殖や他殖の多くの後代植物の舌状花中に含まれる吸収曲線を分析した。これらの自殖や交雑によりえられた花色は大きな変異を示し、吸収曲線からカロチノイド色素とアントシアニンの存否について調査を行った。ここでえられた結果はカロチノイドにしてもアントシアニンにしても単純な分離比に適合した。栽培ギクは $2n=6x=54$ の染色体数を持つものが一般的であり、6 倍体植物であると考えられる (DOWRICK, 1953)。

WATANABE (1977) は高次倍数性を示すキク属植物はその減数分裂時の染色体対合でみると、2 価染色体の形成が優勢に観察され、多価染色体は稀にしか観察されなかったことを報告している。このことから栽培ギクは 6 倍体であるにもかかわらず単純な分離比を示すこと

の妥当性が存在するものと思われる。

カロチノイド色素の遺伝子分析に関しては、YBJとPMを除いて、LANGTON (1980)やJODAN and REIMANN-PHILIPP (1983)によって報告されているように、舌状花のカロチノイド着色に関して、優性の抑制遺伝子によりおもに制御されていた。YBJとPMはこれに加えて、もう1つ別の優性遺伝子が存在していた。この遺伝子はカロチノイドの生合成に直接関与し、劣性ホモ型になるとカロチノイドの生合成経路中の特定の段階をブロックし、合成を止めてしまうものと思われる。カロチノイドの生合成に関与するこのような抑制遺伝子はキクの交雑育種体系の上で重要な役割を果たすものと考えられる。すなわち、このような抑制遺伝子は単一の優性遺伝子が存在するだけで完全にカロチノイドの生合成を抑制してしまうので、キクの育種の上である品種からカロチノイドを除いた花色の育成を行うためにはこのような抑制遺伝子を導入するだけでよく、育種を効率的行うことが可能となろう。さらに、このような抑制遺伝子に関する研究報告はキクだけでなく他の作物でも報告されている。たとえば、BUI SHAND and GABELMAN (1979, 1980)はニンジンの根色の遺伝に関して、3個の優性抑制遺伝子(Y , Y_1 , Y_2)によって制御されていることを報告している。しかしながら、ニンジンのこのような遺伝子はキクの場合とは異なり1つ1つの遺伝子は不完全にしか生合成を抑制

制しないため、これらの遺伝子の組合せにより種々の根色を持った品種の育成が可能となっている。

アントシアニンによる着色に関しても、本実験の結果から、カロチノイドに関して認められた優性抑制遺伝子は見出されなかったが、アントシアニンの生合成経路に直接関与する遺伝子の存在が示され、カロチノイド着色の場合と同様、劣性ホモ型ではアントシアニン合成が行われなくなる。カロチノイド・アントシアニンの着色に関して示された、このような生合成経路に直接関与する遺伝子は遺伝子座は全く異なったものであるが、段階毎に酵素反応により合成経路をたどって合成される色素の場合には、優性遺伝子の存在下でこのような酵素反応が連続的につながり、正常に色素が合成される。すなわち、色素合成に関与すると考えられる遺伝子は少なくともこの酵素反応の段階の数だけは存在することが考えられる。

さらに、アントシアニンの場合には、すでに多くの研究報告により、色素の生合成経路がほぼ明らかにされており、フラボノールとアントシアニンはフラボノイド化合物の生合成経路の最終段階に近い部分で合成され、ともにジヒドロフラボノールを直接の前駆物質として共通に使用し合成されることがわかっている(STICKLAND and HARRISON, 1974: HARRISON and STICKLAND, 1974: KHO and BEN-NINK, 1975: HINDERER, et al., 1984)。このことは、キクにおいて

はどのような花色を持つ個体でもフラボノールは全てに存在しているので、本実験で明らかにされたアントシアニン合成に関与する遺伝子がジヒドロフラボノールからアントシアニンへの径路に働くことを強く示唆するものである。さらに、KHO and BENNINK (1975)はペチュニアを用いて補足実験を行い、交雑により見出されていたアントシアニン色素合成に関与する遺伝子について作用の前後関係を明らかにした。このようなことから、PDとRRで示されたような遺伝子座の異なる2つの遺伝子が色素合成の別々の段階で働くとするれば、両遺伝子について劣性ホモ型となった個体でも色素の生合成は支障なく達成されるものであり、このようなことから、これら2つの遺伝子は遺伝子座は異なっているものの作用する段階は同じものと考えられる。さらに、稲津と佐野(1982)はキクにおいて、いくつかの枝変わり品種群についてアントシアニンに関する色素分析を行い、色素の質的な変化はなくても量的に変化することにより色調に微妙に影響し顕著な差異を与えることを報告している。このことから、今後キクにおけるアントシアニン合成について量的に支配する遺伝子に関しても考究する必要があるだろう。

DREWLOW, et al. (1973), KAWASE and TSUKAMOTO (1977), ZAGORSKI et al. (1983), STEPHENS et al. (1984)が報告しているように栽培ギクは1個以上の遺伝子座に座乗するS遺伝子群により支配され

る孢子体型自家不和合性を示すことが知られている。そのために F_1 や S_1 の種子をえることができたとしてもそれらの後代をえることは同一自家不和合性遺伝子の集積により非常に困難となる。これらのことを克服するためには、自家不和合性を打破するための方法を考えることも必要となろう。

LANGTON (1980)はキクの黄花色品種の中にはL1層に起因する花卉の表皮細胞にだけ有色体中にカロチノイドを持つため、遺伝子分析の結果と表現型の相違するものが存在することを報告し、これらについての説明として周縁キメラの存在を示唆している。すなわち、L1層は植物体の表皮系を形成するための層で、生殖細胞はその内側に存在するL2またはL3層に起源するため、表現型と遺伝子型に喰い違いが生じることを示しており、本実験においても、YBJやWMはこのような組織的構成を持った品種であることが推定される。すなわち、YBJは花色としては黄色を示し、遺伝子的には優性の抑制遺伝子を保持していないはずの品種であるが、実際には優性の抑制遺伝子をヘテロ型で保持しており、表現型と遺伝子型の間で矛盾が起こっている。このことを明らかにするために、徒手切片法により花卉の切片を作成し顕微鏡で観察してみると、YBJでは表皮細胞のみに黄色の有色体が認められ、YBJ F_1 でえられた黄色花や白色花を同様な方法で観察すると、黄色花では花卉組織全体に黄色の有色体が認められ、

白色花ではいずれの部分にも認められなかった（図4-2）。このことからYBJは周縁キメラ性の品種であり、さらに、BJからの枝変わりによって誘発された品種であることを考え合わせると、YBJでは枝変わりによって周縁キメラ性の突然変異が誘発され、それと同時またはそれより後にカロチノイド生合成に関与する遺伝子に突然変異が誘発されこの遺伝子についてヘテロ型になったものと推定される。

WMに関してはYBJのように直接的に証明することはできないが、生殖細胞にはアントシアニン生合成に関与する優性遺伝子を持っているにもかかわらず、表現型では白色花となっている。周縁キメラ性とアントシアニンは花卉の表皮細胞だけで合成・集積が行われると考えれば、WMにみられた表現型と遺伝子型との矛盾は解消されるものと考えられる。

（5）摘要

栽培ギク（*Chrysanthemum morifolium*）は $2n=6x=54$ の染色体数を示す高次倍数体であり、自家不和合性や雄性不稔性の発現などにより明確な遺伝分析は困難であるとされてきた。また、ギクの花色の発現に関与する主な色素は花卉の構成細胞中の色素体に存在するカロチノイド色素および向軸・背軸側の表皮細胞のみの液胞中に存在

するアントシアニン色素の2種類であり、これらの色素の存否および量的な組合せにより様々な花色を発現しているものと考えられる。

本研究ではキクの花色に関する遺伝的な背景を明らかにするために自殖および交雑後代のカロチノイド色素およびアントシアニンの存否について分離比を調査した。

その結果、キクにはカロチノイド生合成に関与する2つの遺伝子、すなわち、生合成を抑制する優性の抑制遺伝子と生合成そのものに関与する優性で正常に生合成を進行させる遺伝子の存在することが確認された。これらの遺伝子の存在状態により、3つのグループに類別された。第1グループにはPD・BJの2品種が含まれ、これらの品種には優性の抑制遺伝子はヘテロで、生合成そのものに関与する遺伝子については優性ホモで存在していた。D・YDが第2グループを形成し、これらの品種には優性抑制遺伝子については劣性ホモであることが確認されたが、生合成に関与する遺伝子については明らかにできなかった。最後のグループにはYBJとPMが含まれ、このグループは抑制遺伝子・生合成に関与する遺伝子ともにヘテロで持ち、そのため自殖後代での分離比が他の品種に比べいくらか複雑であった。またこのような分離比の確認のためには自殖種子を得ることが必要となり、自家不和合性を有する品種での確認はできなかった。さらに、野生のノジギクは少なくとも1遺伝子座の優性抑制遺伝子をホ

モで持ち、他の品種とは異なっていた。そのためにこの種との交雑後代にはカロチノイドによる着色は全く認められなかった。

また、アントシアニンに関する分離はカロチノイドとは異なり、優性抑制遺伝子は認められなかった。しかしながら、アントシアニンの場合には色素の生合成に直接関与する2つの異なった遺伝子座に座乗する優性の遺伝子が認められた。これらの遺伝子の存在状態により、供試した品種・系統を3つのグループに類別することができた。第1のグループにはBJとCh.j.が含まれ、このグループはいずれの優性遺伝子も保持せず、自殖後代においてアントシアニンによる着色個体は全く認められなかった。したがって、このグループに属するBJ・Ch.j.はアントシアニンの着色に関する遺伝子分析を行うための検定系統として供試しうるものと考えられた。第2のグループに属するものは単一の遺伝子座に座乗した優性遺伝子をヘテロ型で持っていた。このグループにはPM, WM, BM, D, YD, Tが含まれた。第3グループにはPDとRRが含まれ、前2者とは異なり少し複雑な遺伝的背景を示した。すなわち、これらの品種には2つの異なった遺伝子座に座乗する優性遺伝子をそれぞれヘテロ型で保持していた。

また、本実験からは明らかにできなかったが、アントシアニンの生合成経路から考察すると、ここで認められたアントシアニンの生合成経路に働く遺伝子は、全ての個体にフラボノールが含まれていた

ことから、アントシアニンとフラボノールの共通で、合成経路の直前に存在すると思われるジヒドロフラボノールからアントシアニン経路で働くものと考えられた。

以上のように、カロチノイドとアントシアニンの発現に関する遺伝的な背景について明らかにされたが、親として用いた品種の表現型と推定された遺伝子型との間に矛盾するような場合が観察された。すなわち、YBJは遺伝的には優性抑制遺伝子をヘテロで持つために白花色を発現するはずであるが、実際には黄花色を示し矛盾するように思われる。しかしながら、この品種では花弁の表皮細胞のみにカロチノイドを含み内側の柔細胞にはカロチノイドを持っていない周縁キメラ性を示していた。また、WMは白色花であるにもかかわらず、遺伝子型としては優性遺伝子をヘテロ型で保持していた。アントシアニンは花弁の表皮細胞のみに含まれ、生殖細胞が始原されと考えられる細胞と同じ組織に含まれる、花弁の内側の柔細胞にはアントシアニンは含まれないことから、WMにおいては表皮細胞のみがアントシアニン合成に関して劣性ホモ型に変異したものと考えられ、ここでも周縁キメラの存在が示唆された。

このようなことから、キクの花色を考察する場合には周縁キメラ性について十分考慮する必要があることが示された。

第5章 キク(Chrysanthemum morifolium Ramat.)の花托培養

によるシュート再生過程

(1) 緒言

栽培ギク(Chrysanthemum morifolium)はキク科に属し、主として $2n=6x=54$ の6倍体に当たる染色体数をもっている(DOWRICK, 1953)。一般には、キクは遺伝的に制御される孢子体型自家不和合性をもっている(DREWLOW, et al., 1973; ZAGORSKI, et al., 1983; stephens, et al., 1984)ので、増殖には挿木・挿芽や株分けが用いられる。このように長年月にわたって栄養繁殖を繰り返していると、自然突然変異による枝変わりが発生してくる。キクにおいては、実際に枝変わりによる新品種の育成も行われており、WASSCHER (1956)によれば、キクの栽培品種のうち約30%が枝変わりとして起源したものであるとされている。さらに、多くの場合これらの枝変わり個体は周縁キメラを構成しているものと考えられている。LANGTON (1980)は種々のキク品種の交雑によりえられた F_1 世代において、カロチノイドにより着色した黄色花と白色花の分離に関して遺伝子型と表現型の間の不一致がときどき記録されること示した。このようなことは母本または父本として採用した品種が周縁キメラ構造をそ

の頂端分裂組織に保持しているために誘起されるものと考えられた。

STEWART and DERMEN (1970)はスプレーマム品種である'Indianapolis'から作出された枝変わり品種群の花色変異について調査し、花卉は組織学的に独立した始原細胞からなる3層構造をもっている。なので遺伝的にも各層は独立しており、それらが周縁キメラ誘発の引き金となると説明している。

したがって、キクのような栄養繁殖を主要な繁殖方法としている植物では育種操作の過程や遺伝分析のさいキメラ構造を考慮にいれておかねばならない。そのために、周縁キメラを解消するための有用な方法を開発することは意義深いことである。

BROERTJES and VAN HARTEN (1988)に従えば、キメラ構造は多くの栄養繁殖性鑑賞用植物において不定芽形成法(adventitious bud technique)により有効に解消される。彼らは、このようなキメラ解消は、不定芽が単一の表皮細胞を始原細胞として発生するためであるとしている。彼らが不定芽の始原細胞が単一の表皮細胞であるとしている根拠は、突然変異育種と不定芽形成法とを組み合わせで多くの非キメラ性変異体をえているという経験的なことが主要な点となっており、実際に不定芽形成の経過を組織学的に観察した結果によるものではないようである。

キクにおいて、種々の外植片を用いて組織培養を行うことにより

不定芽形成により再分化植物体がえられている(ROEST and BOKEL-MANN, 1975: BROERTJES, et al., 1976)。

本実験では、キクの花托培養によるシュート再分化の過程を詳細に観察し、キメラ構造を克服することの可能性について考察した。

(2) 材料および方法

名古屋大学農学部栽培原論および育種学研究室で保存中のキクのうち約20の栽培品種を用いて花托培養により効率的にシュートを再分化することのできる品種を選定するための予備実験を行った。その結果、ポットマム品種の一つであり、半八重咲性の黄花色品種Yellow Delaware(YD)が花托組織からのシュート形成能が比較的高かったので以下の実験に使用することとした。さらにこの予備実験において、培地上に置床した花托組織は培養後2日目にはすでに伸長を始め、シュート再分化の兆候であるグリーンスポットや葉状体が置床後約2週間で認められることを明らかにした。

材料として供試したキクを挿木により増殖し、開花まで植木鉢でできるだけ清浄な状態で栽培した。このようにして栽培したYDの最外側の舌状花が黄色に着色したものから少し外展を始めた時期の頭状花序を培養に供試した。このような頭状花序を70%エタノールに数

秒間浸漬し、ついで、1%次亜塩素酸ソーダに15分間浸漬し表面殺菌を行った。つぎに、滅菌水で3回以上すすぎ、次亜塩素酸ソーダを除いた。本実験では、次亜塩素酸ソーダとしてアンチホルミンという商標名の液状の試薬を用いた。この試薬を用いるに当たって、希釈溶液のpHを測定したところ、pH12以上のアルカリ性を示した。次亜塩素酸ソーダの性質上、このようなpHでは漂白作用は強く働くが、殺菌作用は弱く、1%という高濃度で使用する必要があるものと思われた。そこで、現在では、5%以上の濃度で次亜塩素酸ソーダを含むアンチホルミンを用いる場合に、最終濃度0.1Mの磷酸1カリに1/50量のアンチホルミンを加えた溶液を表面殺菌用に使用している。この溶液はpHが約7となり、次亜塩素酸ソーダの殺菌力を十分に引き出すことのできる状態で使用できるので、このような低濃度でも効果的な表面殺菌が可能となっている。

このようにして表面殺菌を行った頭状花序から、舌状花や管状花を取り去り、これらの小花の付着していた花托をむき出しにし、花托の部分だけを切り分け、さらに縦断して2個の外植片をえた。これらの外植片を、基本培地としてMURASHIGE and SKOOG (1962)の培地を用い、これに0.8% Bacto-agar, 3% Sucrose, 1mg/l 6-benzyl-aminopurine, 0.1mg/l 1-naphthylacetic acidを添加した培地に置床した。培養は蛍光灯による連続照明(5,000 lux)下で23℃の培養室

内で行った。

組織学的観察のために、培養後の外植片を最初の10日目までは毎日、その後30日目までは1日おきに採取し、FAA(70% ethanol : formalin : acetic acid = 90 : 5 : 5 v/v)で固定した後、通常のアルコール法で脱水し、パラフィンに包埋した。これをロータリーミクロトームで10 μ mの厚さの連続切片とし、デラフィールドのヘマトキシリンで染色し、顕微鏡で観察した。

(3) 結果

培養前の花托の組織体制を図5-1A,Bに示す。低倍率での観察では(図5-1A)、小花が付着していた部分(小花付着部)では花托の柔細胞から伸長している維管束組織と垂直に連絡していた。この維管束は他の維管束と連絡し、花托の表皮から余り深くない部分を水平に(表皮系と平行に)走向していた。さらに、表皮直下の柔細胞は内部の柔細胞に比べて小さな細胞で構成されていた。表皮を構成する細胞は比較的大きく、厚いクチクラ層でその外側を覆われていた。

ついで、高倍率での観察では、表皮細胞は規則的に配列していることが認められた(図5-1B)。表皮細胞には、厚いクチクラで覆われ大きな細胞と薄いクチクラをもった小さな細胞の2つのタイプの

細胞が認められた。これらの細胞のうち、小さな細胞は小花付着部付近に位置しており、この部分はいくらかへこんで見えた。

図5-2Aは培養後2日目の切片を示す。このころにはすでに、表皮細胞と外側の柔細胞が伸長性を始め、大きく肥大した細胞も認められた。特に柔細胞の肥大は表皮と平行に走向している花托の少し内部にある維管束より外側の部分で顕著に認められた。表皮細胞では厚いクチクラで覆われた大きな細胞では顕著な肥大が認められたが、薄いクチクラで覆われた小さな細胞ではあまり肥大していなかった。培養後5日目では（図5-2B）、表皮細胞、特に大きな細胞では、分裂後の細胞伸長を伴わずに細胞分裂しているものが認められた。しかし、小さな細胞ではほとんど細胞分裂は認められなかった。また、小花付着部には非常に大きな風船状細胞が形成された。これらの風船状細胞は小花付着部全体を覆うようになった。

培養後6日目の縦断切片で（図5-3A,B）は顕著に細胞分裂を行っている小さな表皮細胞群が観察された。これらの細胞分裂を行っている小さな細胞群は小花付着部の花托の端部方向に位置していた。薄いクチクラに覆われたこれらの小さな細胞は最初に縦方向に伸長し、その後並層的に分裂しているように見えた。加えて、分裂した小さな細胞の外側の細胞が種々の方向に分裂を繰り返していくようであった。培養後8日目には（図5-3C）小さな表皮細胞に誘起され

たこれらの細胞分裂は分裂細胞群を形成し、表皮組織から外側へ突出し、ドーム状になった。図5-4A,Bは花托の端部に形成された分裂細胞塊を示す。図5-4Aは低倍率での切片の状態を示す。この観察から、分裂細胞塊は風船状細胞の間から外側に向かって突出したものと思われた。また、これらの細胞塊の表面にはいくつかの生長点が形成されているようで、幾らか凹凸が認められた。さらに、花托のより内側の柔組織に非常に大きな維管束組織が形成された(図5-4A)。維管束組織は時として種々な方向へ枝別れしているように見えるものも観察された。図5-4Bは分裂細胞群とその回りの細胞とが明らかに区別されている状況を示す。これらの観察から、分裂細胞群はほんの少しの細胞から誘起されるものと思われた。生長点の構造をもったものは培養16日目の切片で観察された(図5-5A)。この構造物は図5-4に示す部分よりも幾分外側に位置していた。しかしながら、この構造物はいくらか不完全な形をとっていた。すなわち、葉原基には未だ毛じが形成されておらず、葉腋の腋芽もまだ形成されていなかった。

図5-5Bは培養後20日目のサンプルの切片に認められた、完全に形成されたシュートを示す。この切片では、すでに毛じも形成され、腋芽の原基も認められ、さらに、維管束組織も正常な位置に形成されているのが認められた。頂端分裂組織を構成している細胞は活発

に細胞分裂を行い、細胞は比較的小さいことが認められた。

(4) 考察

キク科の組織培養に関する報告は非常に多い。たとえば、Gerbera jamesonii (PIERIK, et al., 1973) や Chrysanthemum cinerariiefolium (ROEST and BOKELMANN, 1973)の植物体再分化が若い花柄を培養することにより観察されている。キクについては、ROEST and BOKELMANN (1975)が若い花柄を培養することにより多数の不定芽形成による植物体をえている。BROERTJES, et al. (1976)はキク品種'Bravo'は種々の部位、たとえば、花弁、頭状花序、小さな葉や花柄などの培養により容易にシュートを形成することを報告している。花柄を除いて、その他の外植片では不定芽は約3週間で外植片にできたカルス上に形成され、花柄の培養の場合には約10日間で花柄の表皮細胞から直接再分化することがわかった。

本実験では、再分化シュートは薄いクチクラで覆われた小さな表皮細胞から形成されることが明きらかとなった。これらの小さな細胞は小花と花托の移行部分に存在し、そのために、再分化したシュートは小花の残査の部分から始原されるのかも知れない。

キクのような栄養繁殖生殖物では周縁キメラ構造はしばしば観察

されている。SAGAWA and MEHLQUIST (1957)はカーネーションの品種 Pink SimやWhite Simにおいて、しばしばみられるおもに赤への花色の変異は遺伝的な突然変異ではなく、キメラ性の変更によるものであろうということを示唆している。LANGTON (1980)は育種体系の中で、周縁キメラ構造を考慮することは非常に重要な意味があると述べている。さらに、固定した変異体をえることを目的として、変異の誘発と組み合わせた不定芽形成法に関する多くの報告がある。これらの実験ではStreptocarpus (BROERTJES, 1969), 自家不和合性の Nicotiana glauca (DE NETTANCOURT, et al., 1971), Achimenes (BROERTJES, 1972), Kalanchoe (BROERTJES and LEFFRING, 1972), ジャガイモ (VAN HARTEN, et al., 1972), キク (BROERTJES, et al., 1976)の様な栄養繁殖性の植物種においてえられた変異体の大部分が固定した、非キメラ性の構造をもったものであることを示した。

本実験では、シュートの形成のどれくらいの始原細胞数が関与しているのかについては明らかにはできなかったが、再分化したシュートはカルス形成を経由することなく、直接表皮細胞のみから形成されることが明かとなった。この結果はキクにおいて花托培養を行うことにより、周縁キメラ性を解消することができることを示している。一方、周縁キメラ性構造をもった個体から表皮細胞だけで

なく他の組織・器官を培養することにより異なった遺伝的背景をもった個体をえるために、種々の組織・器官からの効率的な植物体再生法を確立することが重要となろう。

(5) 摘要

キクの花床（花托）を培養することにより得られるシュートの再生過程を明らかにするためにいくつかの実験を行った。本実験に用いた基本培地はMURASHIGE and SKOOG (1962)の無機および有機要素に3%蔗糖、0.8%寒天を加えたものであり、これに生長調整物質として1mg/l 6-benzylaminopurineと0.1mg/l 1-naphthylacetic acidを添加した。培養に供試したキクはボットマム品種Yellow Delawareであり、この品種は、名古屋大学農学部に保存中のキク品種を用いた予備実験の結果、本実験に用いるのに最適な品種の一つとされたものである。本品種を常法によりガラス室内で栽培し、開花期に半開した頭状花序を採取し、表面殺菌ののち、舌状花および管状花を取り去り、花床のみを切り出し、さらに半分に切り分けたのち、培地上に置床した。これらの花床を培養後1—10日目までは毎日、その後30日目までは1日おきに採取し、F A Aで固定ののち組織観察に供試した。組織観察は通常のパラフィン切片法により10 μ mの

連続切片を作成ののち、デラフィールドのヘマトキシリンで染色ののち、光学顕微鏡で行った。観察結果から花床培養による植物体再生の概要を以下に示す。花床の表皮細胞は大別して2つの型からなる。すなわち、大きくて外側を厚いクチクラで覆われたものと比較的小さく、外側を覆うクチクラも薄い細胞が観察された。この小さな表皮細胞は花床表皮細胞と小花の残余部分の表皮細胞の移行部にあり、細胞の大きさからは小花の表皮細胞と考えるべきものであった。培養後6日目の切片の観察によれば、上述の小さな細胞での活発な細胞分裂が認められ、これらの部分での分裂活性が継続することにより、分裂細胞塊が形成された。さらに、これらの分裂細胞塊が表皮細胞上に突出した。培養後2週間では、これらの細胞塊はさらに分裂を続け、顕著な分裂組織となった。培養後16日目までにシュート形成が確認された。培養後20日目には完全な形のシュートが形成された。以上の観察結果より、これらのシュートは花床表皮細胞と小花の残余部分の表皮細胞の移行部の小さな表皮細胞から形成されることが明かとなった。また、これらのシュートはカルスを経由することなく表皮細胞のみから直接再分化することが明かとなり、キクの花床培養により、栄養繁殖植物で問題とされる層状に遺伝的背景を異にするいわゆる周縁キメラを効率的に打破することが示唆された。

第6章 総合考察

育種とは、野生植物を含めて、生物の遺伝的な背景を人間にとってより必要とされるものに変えていくことであり、究極的には新しい生物を作り出していくことである。このように考えると、人類は採集・狩猟を主とした時代から植物を栽培し、動物を飼育する時代、いわゆる農業を始めるようになるときにはすでに無意識のうちに育種を行ったものと思われる。近世になって組織的に育種を考えるようになり、効率的に育種を行う技術の開発が行われ、ここに、育種学という学問分野が作り出され、育種技術が体系化されるようになった。現在では、育種とは新しい種または品種を開発・育成し、それを遺伝的背景を変えずに増殖することを意味し、そのためには新しい遺伝的要素を導入または改良し、必要な遺伝的背景をもつものを選抜し、この必要な遺伝的背景を持ったものを変えずに維持・増殖していくことであると考えられている。それ故に、育種学では育種技術の体系化とこれらの技術の科学的な裏付けを行うための学問分野であると考えられる。すなわち、人類にとって利用効率の高い生物をいかにして作り出し、増殖すべきかを常に考えながら発展してきたものと考えられる。現状では変異の拡大のために、進展の著しい分子遺伝学や分子生物学的な手法を導入する試み

も多くなされており、また、雑種イネにみられるような採種法や増殖法の改良による新しい品種育成法の開発など、幅広い基礎的学問分野を背景にして育種学は発展している。植物育種にとって最も重要な問題として常に扱われてきたものは食糧生産に関わる食用作物の改良であった。特に、イネ・ムギに代表される穀類の育種は国および地方自治体の試験研究機関で精力的に進められ、わが国の食糧生産の安定化に寄与してきた。しかしながら、地方の特産物として栽培されるマイナーな作物などについては残念ながら公的機関による試験研究は余り積極的に行われているとはいえない。

キクを含めて、鑑賞用植物の育種に関しては民間の努力に負うところが大きかった。現在では農林水産省に野菜・茶業試験場が設置され、国の機関においても、特にキクに関しては、スプレーマムの育種事業が行われるようになったが、鑑賞用植物としてはその種類が多く、全ての試験研究をカバーすることは不可能に近い。さらに、鑑賞用植物に関しては植物学的な基礎的知見をえるための組織的な研究体制もそれほど整備されているわけではなく、科学的に裏付けされたそれぞれの作物に特徴のある育種法の開発にも立ち後れが認められ、これまでに経験的に行われてきたり、国や地方自治体の試験研究機関で精力的に行われているイネ・ムギに代表される食用作物の育種に用いられている方法を踏襲して行っているのが現状であ

と思われる。このような現状を打破するためには各々の植物種におけるその種の特徴を明らかにし、その特徴を生かした育種法などを開発し、さらに、栽培技術などとも組み合わせた、新しい品種を育成することが必要であろう。

本研究はキクの効率的な育種法を開発するための基礎的知見を与えるために、いくつかの実験を行ったものである。

第2章ではキクの花色に関する基礎的知見を与えるために、花色に関する突然変異体とそれらの原品種を供試材料にし、特にフラボノイド化合物に含まれる、アントシアニンとフラボノールについてクロマト分析を行った。その結果、これらの色素に関しては基本的に可逆突然変異によりえられた変異体と原品種（正確には原々品種と呼ぶべきもの）との間には差は認められなかった。しかしながら、これらの色素群には含まれない色素（カロチノイド色素と思われる）においては差の認められる場合があった。また、赤色の花色について重要な役割を果たしているアントシアニンに関しては可逆的変異が誘発された色素の生合成経路が推定された。この推定に当たっては、他の研究者によって解明されたアントシアニンの生合成経路にあてはめたものであるが、最近ではより詳細に生合成の各段階での遺伝的制御に関する知見がえられている。このような情報と照らし合わせてみても、本研究によりえられた結果は矛盾を生じることな

く説明することができる。すなわち、STICKLAND and HARRISON (1974)により取りまとめられた現在でも正しいものとして認められている色素の生合成経路から考えても、本実験結果から考察された突然変異の誘発段階についてはより正確にジヒドロクエルセチンからシアニジンへの経路の開閉により説明がつけられる。また、稲津と佐野(1982)は枝変わり品種群では色素の構造そのものに変異が誘発されるよりも量的に差の認められることが多いと報告している。本実験においても供試された材料はその作出の経過から枝変わり品種群と考えられるので彼らの報告とは矛盾しないが、変異誘発により色調の変化はなかった。

第3章では効率的に交雑育種を行うために、自殖種子や交雑種子稔性を早期に判定する方法として受粉直後の花柱短縮現象と種子稔性との関係を調査した。その結果、花柱短縮現象は受粉8週間後の種子稔性と高い正の相関関係にあり、受粉直後に稔実種子獲得の可能性を正確に判定することができることとなった。また、花柱短縮現象は、花柱短縮を誘発されなかった管状花では全く稔実種子をえることができなかったのもので、受粉・受精・胚発生を経て稔実種子となる種子形成過程の初期段階での必要条件として重要な現象であることが示唆された。このような種子稔性を受粉直後に判定する方法が確立されたので、この方法を用いることにより、キクの交雑育

種で問題となる自家不和合性や交雑不和合性が早期に判定することが可能となり、交雑育種を効率的に行うことが可能となるであろう。また、この研究を行うにあたり、付随的にえられた新しい除雄法については、開花前に管状花の先端を切除するという簡単な外科的手術を行うだけで効果的に除雄を行うことができ、さらに、他のキク科植物にも応用できることが明かとされた。このような方法が開発されたことはキクの交雑育種を行う上で、効率的に交雑種子をえるための技術として意義深いものと考えられる。

第4章ではキクの花色変異の機構を明らかにする目的で、キクの花色に関与するカロチノイド色素やアントシアニンによる着色について、自殖や交雑後代の調査を行った。その結果、両色素の遺伝様式は6倍体という高次倍数性の栽培ギクを供試材料としたにもかかわらず、2染色体的分離という単純な分離比で説明できるものであり、キクにおいても設定された育種目標に対して遺伝的に裏付けされた育種法を取り入れることができるものと思われる。すなわち、本研究で明かとなったことで例示すれば、黄色花から黄色の色素であるカロチノイドを除くには優性抑制遺伝子を交雑により取り入れればよいことになる。さらに、生合成経路が明かとなっているアントシアニンでは、ここで明かとなった劣性遺伝子による生合成経路のブロッキングは合成経路の最終段階で起こっているものと推定さ

れたが、今日進展の著しい分子遺伝学ないしは分子生物学的な手法を取り入れることによりこの段階に働く遺伝子を釣り上げることも可能であり、このような研究方向を積み上げることにより、新しい花色、たとえば青色花をもつようなキク品種を作出することも夢ではなくなるであろう。また、花色に関する遺伝的制御機構を考える上で、特にキクのような長年月栄養繁殖を主とした繁殖方法として用いてきたものでは、周縁キメラの誘発により、表現型と遺伝子型に喰い違いを生じることがあり、遺伝分析を行うさいには周縁キメラ性にも十分注意を払う必要がある。キクの品種は枝変わりにより作出されたものも多く、これらのものでは周縁キメラとなっていることが予想されるので、交雑育種を行う場合には特に注意が必要であろう。

第5章では前章で明かとなった周縁キメラの解消や自家不和合性や雄性不稔性を有するために種子繁殖できない品種の急速増殖法として用いられている組織（花托）培養を行い、植物体再生過程について組織観察を行った。キクの花托培養ではカルスを経由することなく花托の表皮細胞から不定芽が形成された。この不定芽形成は花托と小花との移行部位に存在する薄いクチクラに覆われた小さな表皮細胞の分裂により、培養後約2週間で体制を持ったシュートが形成され、小植物体に成長した。また、花托と小花の移行部では花托

の端部方向ですこしへこんだ部分があり小細胞はこの部分に分布していた。すなわち植物体の再分化はこの部分のみから発生することが明かとなった。この表皮に存在する小細胞は培養直後から縦方向に伸長し、その後細胞分裂を繰り返し、植物体再生に至るもので、そのために周縁キメラ構造は解消されるものと思われた。

このように植物体の再分化する部位が特定されたことは重要な意味を持っているものと思われる。すなわち、現在形質転換体を作成する方法としてプロトプラストを用いることなく植物の組織に処理を行い形質転換体をえようとしていくつかの方法が開発されつつあり、このような方法を利用するためにはここで行った花托培養は再生部位が明かとなっているので、再分化部位に処理をすればより効率的に形質転換個体をえることができるものと期待される。

ここで用いた品種以外でも再生植物体がえられ、これらの植物個体を順化後、ガラス室内で栽培しているが、これらのものでは原品種と同一の花色を示している。また、原品種では自殖種子が簡単にえられたものでも再生個体では自家不和合性を示すものが多くみられた。これも周縁キメラを考えると説明をつけられる。すなわち、自家不和合性遺伝子に関して周縁キメラとなっている個体は、キクのように孢子体型自家不和合性を示す場合には、柱頭の表皮細胞の変化した小さな乳頭状細胞の持つ不和合性遺伝子と花粉の持つ不和

合性遺伝子が同じ場合に不和合性が発現され花粉の発芽が抑制されるか、発芽しても柱頭内には侵入できず、最終的には不受精となる。しかし、この場合不和合性遺伝子が周縁キメラ性を示し、生殖細胞を生産する内部の細胞の遺伝子組成と表皮細胞の遺伝子組成が異なれば不和合性は発現されず和合性となる。花托培養に用いた品種がこのような周縁キメラにより和合性となっている場合には、表皮細胞のみから始原された植物では花粉を生産する組織と花柱の不和合性遺伝子が同じものとなるため不和合性が発現されることになる。ここで認められたことは、周縁キメラ構造をとる品種ではいくつかの形質で表皮細胞と内側の柔細胞で遺伝的に異なった素質を有することを示唆しており、栄養繁殖植物では周縁キメラが大きな意味を持っているものと考えられた。

以上のように本研究では、キクの育種を行うにあたってのいくつかの基礎的知見がえられた。これらの知見はキクの効率的な育種を行うために必要な事項であり、今後さらに研究を進める必要がある。またこの中では未だ全く行っていない問題として、自家不和合性の打破や雄性不稔性植物体から稔性のある花粉を誘導するなど育種を行うために重要な問題も多く残されており、今後の進展が期待される。

第 7 章 摘要

本研究はキクの効率的な育種法を開発するための基礎的知見を与えるために、いくつかの実験を行ったものである。

キクの花色突然変異体を用いてフラボノイド化合物に含まれる、アントシアニンとフラボノールについてクロマト分析を行った。その結果、これらの色素に関しては基本的に可逆突然変異によりえられた変異体と原品種との間には差は認められなかった。しかしながら、これらの色素群には含まれない色素（カロチノイド色素と思われる）においては差の認められる場合があった。また、赤色の花色について重要な役割を果たしているアントシアニンに関しては可逆的変異が誘発された色素の生合成経路が推定された。

効率的に交雑育種を行うために、自殖種子や交雑種子稔性を早期に判定する方法として受粉直後の花柱短縮現象と種子稔性との関係を調査した。その結果、花柱短縮現象は受粉 8 週間後の種子稔性と高い正の相関関係にあり、受粉直後に稔実種子獲得の可能性を正確に判定することができることとなった。また、花柱短縮現象は、花柱短縮を誘発されなかった管状花では全く稔実種子をえることができなかったのもので、受粉・受精・胚発生を経て稔実種子となる種子形成過程の初期段階での必要条件として重要な現象であることが示唆

された。このような種子稔性を受粉直後に判定する方法が確立されたので、この方法を用いることにより、キクの交雑育種で問題となる自家不和合性や交雑不和合性が早期に判定することが可能となり、交雑育種を効率的に行うことが可能となるであろう。

キクの花色変異の機構を明らかにする目的で、キクの花色に関与するカロチノイド色素やアントシアニンによる着色について、自殖や交雑後代の調査を行った。その結果、両色素の遺伝様式は6倍体という高次倍数性の栽培ギクを供試材料としたにもかかわらず、2染色体的分離という単純な分離比で説明できるものであり、キクにおいても設定された育種目標に対して遺伝的に裏付けされた育種法を取り入れることができるものと思われる。すなわち、本研究で明らかとなったことで例示すれば、黄色花から黄色の色素であるカロチノイドを除くには優性抑制遺伝子を交雑により取り入れればよいことになる。さらに、特にキクのような長年月栄養繁殖を主とした繁殖方法として用いてきたものでは、周縁キメラの誘発により、表現型と遺伝子型に喰い違いを生じることがあり、遺伝分析を行うさいには周縁キメラ性にも十分注意を払うことが必要である。キクの品種は枝変わりにより作出されたものも多く、これらのものでは周縁キメラとなっていることが予想されるので、交雑育種を行う場合には特に注意が必要であろう。

周縁キメラの解消や自家不和合性や雄性不稔性を有するために種子繁殖できない品種の急速増殖法として用いられている組織（花托）培養を行い、植物体再生過程について組織観察を行った。キクの花托培養ではカルスを経由することなく花托の表皮細胞から不定芽が形成された。この不定芽形成は花托と小花との移行部位に存在する薄いクチクラに覆われた小さな表皮細胞の分裂により、培養後約2週間で体制を持ったシュートが形成され、小植物体に成長した。また、花托と小花の移行部では花托の端部方向ですこしへこんだ部分があり小細胞はこの部分に分布していた。すなわち植物体の再分化はこの部分のみから発生することが明かとなった。この表皮に存在する小細胞は培養直後から縦方向に伸長し、その後細胞分裂を繰り返し、植物体再生に至るもので、そのために周縁キメラ構造は解消されるものと思われた。

ここで用いた品種以外でも再生植物体がえられ、これらの植物個体を順化後、ガラス室内で栽培しているが、これらのものでは原品種と同一の花色を示している。また、原品種では自殖種子が簡単にえられたものでも再生個体では自家不和合性を示すものが多くみられた。これも周縁キメラを考えることによって説明をつけられる。すなわち、自家不和合性遺伝子に関して周縁キメラとなっている個体は、キクのように孢子体型自家不和合性を示す場合には、柱頭の

表皮細胞の変化した小さな乳頭状細胞の持つ不和合性遺伝子と花粉の持つ不和合性遺伝子が同じ場合に不和合性が発現され花粉の発芽が抑制されるか、発芽しても柱頭内には侵入できず、最終的には不受精となる。しかし、この場合不和合性遺伝子が周縁キメラ性を示し、生殖細胞を生産する内部の細胞の遺伝子組成と表皮細胞の遺伝子組成が異なれば不和合性は発現されず和合性となる。花托培養に用いた品種がこのような周縁キメラにより和合性となっている場合には、表皮細胞のみから始原された植物では花粉を生産する組織と花柱の不和合性遺伝子が同じものとなるため不和合性が発現されることになる。ここで認められたことは、周縁キメラ構造をとる品種ではいくつかの形質で表皮細胞と内側の柔細胞で遺伝的に異なった素質を有することを示唆しており、栄養繁殖植物では周縁キメラが大きな意味を持っているものと考えられた。

以上のように本研究では、キクの育種を行うにあたってのいくつかの基礎的知見がえられた。これらの知見はキクの効率的な育種を行うために必要な事項であり、今後さらに研究を進める必要があろう。

謝 辞

本研究を遂行するに当たり終始適切なご指導・ご助言をいただいた名古屋大学農学部蓬原雄三教授、および武岡洋治助教授・和田富吉博士、また、供試材料を提供して頂きました元農林水産省放射線育種場長中島健次博士、元愛知県農業総合試験場園芸研究所室長現東京農業大学樋口春三教授、色素分析に関するご指導を頂きました名城大学農学部高野泰吉教授、さらに、実験に際し快くご援助して頂いた名古屋大学農学部栽培原論および育種学教室岩崎喜代子技官、内藤勝義元技官ならびに卒業生、大学院生、学生諸氏、西村隆雄技官、榊原孝平技官、鳥居鎮男元技官に深甚なる謝意を表します。

引用文献

- 有隅憲一・大谷俊二 1988. 遺伝・育種と色素 「増訂 植物色素 実験・研究への手引」(林孝三編) 養賢堂 pp.388-408.
- BATE-SMITH, E. C. 1948. Paper chromatography of anthocyanin and related substances in petal extracts. *Nature*. 161:835-838.
- BREDEMEIJER, G. M. M. and J. BLAAS 1983. Peroxidases in the cell walls and intercellular substance of pollinated Nicotiana glauca style. *Acta Bot. Neerl.* 32:457-466.
- BROERTJES, C. 1966. Mutation breeding of chrysanthemums. *Euphytica* 15:156-162
- BROERTJES, C. and J. M. BALLEGRO 1967. Mutation breeding of Dahlia variabilis. *Euphytica*. 16:171-176.
- BROERTJES, C. 1969. Mutation breeding of Streptocarpus. *Euphytica* 18:333-339.
- BROERTJES, C. 1972. Mutation breeding of Achimenes. *Euphytica* 21:48-62.
- BROERTJES, C., S. ROEST and G. S. BOKELMANN 1976. Mutation breeding of Chrysanthemum morifolium RAM. using in vivo and in vitro adventitious bud techniques. *Euphytica* 25:11-19.
- BROERTJES, C. and A. M. VAN HARTEN 1988. Adventitious bud techniques and other in vivo or in vitro methods of asexual propagation of relevance to mutation breeding. in "Applied Mutation Breeding for Vegetatively Propagated Crops." Elsevier, pp.45-55.

- BUISHAND, J. G. and W. H. GABELMAN 1979. Investigations on the inheritance of color and carotenoid content in phloem and xylem of carrot roots (Daucus carota L.). Euphytica 28:611-632.
- BUISHAND, J. G. and W. H. GABELMAN 1980. Studies on the inheritance of root color and carotenoid content in red X yellow and red X white crosses of carrot, Daucus carota L. Euphytica 29:241-260.
- CHAPMAN, V. and R. RILEY 1966. The allocation of the chromosomes of Triticum aestivum to the A and B genomes and evidence on genome structure. Can. J. Genet. Cytol. 8:57-63.
- CRANE, M. B. and W. J. C. LAWRENCE 1956. The genetics of garden plants. London Macmillan & Co. Ltd.
- DE NETTANCOURT, D., P. DIJKHUIS, A. J. G. VAN GASTEL and C. BROERTJES 1971. The combined use of leaf irradiation and of the adventitious bud technique for inducing and detecting polyploidy, marker mutations and sel-compatibility in clonal populations of Nicotiana alata LINK and OTTO. Euphytica 20:508-520.
- DOWRICK, G. J. 1953. The chromosome of chrysanthemum, II: Garden varieties. J. Heredity 7:59-72.
- DOWRICK, G. J. and A. EL-BAYOUMI 1966a. The origin of new forms of the garden chrysanthemum. Euphytica. 15:32-38.
- DOWRICK, G. J. and A. EL-BAYOUMI 1966b. The induction of mutations in chrysanthemum using X- and γ -radiation. Euphytica. 15:204-210.
- DREURENBERG, J. J. M. 1976. In vitro protein synthesis with poly-

- somes from unpollinated, cross- and self-pollinated Petunia ovaries. *Planta* 128:29-33.
- DREWLOW, L. W., P. D. ASCHER and R. E. WIDMER 1973. Genetic studies of self incompitibility in the garden chrysanthemum, Chrysanthemum morifolium Ramat. *Theor. Appl. Genet.* 43:1-5.
- DREWLOW, L. W., P. D. ASCHER and R. E. WIDMER 1975. Rapid method of determining pollen incompatibility in Chrysanthemum morifolium Ramat. *Euphytica* 24:29-32.
- 遠藤伸夫 1969. 栽培ギクの染色体研究 (第1報) 栽培ギクの染色体数について (その1). *園雑* 38:61-68.
- 蓬原雄三、鳥山国土、角田公正 1967. 放射線による水稻品種レイメイの育成. *育雑*. 17:85-90.
- GEISSMAN, T. A. and J. B. HARBORNE 1955. The chemistry of flower pigmentation in Antirrhinum majus. IV. The albino (-mm -nn) form. *Arch. Biochem. Biophys.* 55:447-454.
- GEISSMAN, T. A., J. B. HARBORNE and M. K. SEIKEL 1956. Anthochlor pigments. XI. The constituents of Coreopsis maritima. Re-investigation of Coreopsis gigantea. *J. Amer. Chem. Soc.* 78:825-829.
- GEISSMAN, T. A. 1962. The chemistry of flavonoid compounds. Pergamon Press.
- GHOSH, S. and K. R. SHIVANNA 1984. Structure and cytochemistry of the stigma and pollen-pistil interaction in Zephyranthes. *Ann. Bot.* 53:91-105.
- GILISSEN, L. J. W. 1976. The role of the style as a sense-organ in

- relation to wilting of the flower. *Planta* 131:201-202
- GUSTAFSSON, A. 1963. Productive mutations induced in barley by ionizing radiations and chemical mutagens. *Hereditas* 50:211-262
- HALDANE, J. B. S. 1954. The biochemistry of genetics. George Allen & Unwin Ltd.
- HARBORNE, J. B. 1958. The chromatographic identification of anthocyanin pigments. *J. Chromato.* 1:473-488.
- HARBORNE, J. B. 1959. The chromatography of the flavonoid pigments. *J. Chromato.* 2:581-604.
- HARBORNE, J. B. 1962. Chemicogenetical studies of flavonoid pigments. "The chemistry of flavonoid compounds" (ed. GEISSMAN, T. A.). 593-617 Pergamon Press.
- HARRISON, B. J. and R. G. STICKLAND 1974. Precursors and genetic control of pigmentation. 2. Genotype analysis of pigment controlling genes in acyanic phenotypes in Antirrhinum majus. *Heredity* 33:112-115.
- HASKELL, G. 1965. Biochemical differences in color sectors a chimeral orange fruit. *J. Heredity*. 56:35-37.
- 林 孝三、阿部幸穎 1952. アントチアン色素のペーパー・クロマトグラフィー及びその天然色素への応用について. *資源研彙報*. 28:1-11.
- HESLOP-HARRISON, J. 1979. Aspects of the structure, cytochemistry and germination of the pollen of rye (Secale cereale L.). *Ann. Bot.* 44 Suppl. 1:1-47
- HESLOP-HARRISON, J., B. J. BEGER and J. HESLOP-HARRISON 1984. The pollen-stigma interaction in the grasses. 5. Tissue organisa-

- tion and cytochemistry of the stigma ('silk') of Zea mays L.
Acta Bot. Neerl. 33:81-99
- HESLOP-HARRISON, J. and Y. HESLOP-HARRISON 1970. Evaluation of pollen viability by enzymatically induced fluorescence; intracellular hydrolysis of fluorescein diacetate.
Stain Techn. 45:115-120.
- HESLOP-HARRISON, J. and Y. HESLOP-HARRISON 1980. The pollen-stigma interaction in the grasses. 1. Fine-structure and cytochemistry of the stigmas of Hordeum and Secale.
Acta Bot. Neerl. 29:261-276.
- HESLOP-HARRISON, Y. 1977. The pollen-stigma interaction: pollen-tube penetration in Crocus. Ann. Bot. 41:913-922.
- HINDERER, W., M. PETERSEN and H. U. SEITZ 1984. Inhibition of flavonoid biosynthesis by gibberellic acid in cell suspension culture of Daucus carota L. Planta 160:544-549.
- 稲津厚生・佐野 清 1982. キクの花色と花色素に関する遺伝・育種学的研究
I. 枝変り品種群'Daisy' familyと'Tuneful' familyにおける花色素分布の品種間比較. 玉川大学農学部研究報告 第22号:14-26.
- 伊藤秋夫 1991. 連鎖利用によるストックの育種と1年生草花育種の局面.
育雑 42別(2):556-559.
- JONG, J. DE and Y. O. KHO 1982. The shriveling of pollinated pistils as an aid to rapid determination of chrysanthemum pollen viability. Euphytica 31:519-521.
- JORDAN, C. and R. REIMANN-PHILIPP 1983. Untersuchungen über Typ

- und Grad der Polyploidie von Chrysanthemum morifolium Ramat.
durch Erbanalysen von zwei Blütenfarbmerkmalen.
Z. Pflanzenzüchtg. 91:111-122.
- 寛 三男、横田弘司、山内弘毅 1965. 赤色系キクの色調とアントシアニン色素について. 園雑. 34:332-336.
- KAWASE, K. and Y. TSUKAMOTO 1974. Studies on the flower color in Chrysanthemum morifolium Ramat. II. Absorption spectra of intact flower. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 43:165-173.
- KAWASE, K. and Y. TSUKAMOTO 1976. Studies on the flower color in Chrysanthemum morifolium Ramat. III. Quantitative effects of major pigments on flower color variation, and measurement of color qualities of petal with a color difference meter. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 45:65-75.
- KAWASE, K. and Y. TSUKAMOTO 1977. Studies on breeding in chrysanthemum, Chrysanthemum morifolium Ramat. I. Self-fertility. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 46:101-112.
- KHO, K. F. F. and J. H. BENNINK 1975. Anthocyanin synthesis in a white flowering mutant of *Petunia hybrida* by a complementation technique. Planta 127:271-279.
- 北村四郎・小西国義・富野耕治 1988. キク(イエギク) 「園芸植物大事典」 第2巻(塚本洋太郎 監修) 小学館 pp.1-13.
- KROH, M., M.H. GORISSEN and P. L. PFAHLER 1979. Ultrastructural studies on styles and pollen tubes of Zea mays L. General survey on pollen tube growth in vivo. Acta Bot. Neerl. 28:513-518.
- LANGTON, F. A. 1980. Chimerical structure and carotenoid inheri-

- tance in Chrysanthemum morifolium Ramat. Euphytica 29:807-812.
- LOVE, J. E. and B. B. MALONE 1967. Anthocyanin pigments in mutant and non-mutant Coleus plant. Rad. Bot. 7:549-552.
- MEHLQUIST, G. A. L., D. OBER and Y. SAGAWA 1954. Somatic mutations in the carnation, Dianthus caryophyllus L. Proc. Nat. Acad. Sci. 40:432-436.
- MURAMATSU, M. 1959. Homology of chromosomes of Aegilops caudata with common wheat. Wheat Inform. Serv. 9-10:32-33.
- MURASHIGE, T. and F. SKOOG 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15:473-479.
- NAKAJIMA, K. 1965. Induction of sports in roses by γ -ray irradiation. Gamma-Field Symposia 4:55-70.
- 中島健次 1967. キクの人為突然変異体におよぼす γ 線再照射の影響. 園芸学会、昭42、春、研究報告要旨.
- OKAMOTO, M. 1962. Identification of the chromosomes of common wheat belonging to the A and B genomes. Can. J. Genet. Cytol. 4:31-37.
- ONO, S. 1979. Studies on the improvement of the components of essential oil of genus Mentha by irradiation. Gamma-field Symposia No.18:97-113.
- PIERIK, R. L. M., H. H. M. STEEGMANS and J. J. MARELIS 1973. Gerbera plantlets from in vitro cultivated capitulum explants. Scientia Hort. 1:117-119.
- RANA, R. S. 1965. Radiation-induced variation in ray-floret

- characteristics of annual chrysanthemum. Euphytica. 14:296-300.
- REZNIK, H. and R. URBAN 1957. Über den Metabolismus 14-C markierter Ferulasäure im Pflanzenversuch. II. Beiträge zur Biogenese der Flavonoide. Naturwiss. 44:592-593.
- ROBINSON, G. M. and R. ROBINSON 1931. A survey of anthocyanins, I. Biochem. J. 25:1687-1705.
- ROEST, S. and G. S. BOKELMANN 1973. Vegetative propagation of Chrysanthemum cinerariaefolium in vitro. Scientia Hort. 1:120-122.
- ROEST, S. and G. S. BOKELMANN 1975. Vegetative propagation of Chrysanthemum morifolium RAM. in vitro. Scientia Hort. 3:317-330.
- RONALD, W. G. and P. D. ASCHER 1975a. Self compatibility in garden chrysanthemum: occurrence, inheritance and breeding potential. Theor. Appl. Genet. 46:45-54.
- RONALD, W. G. and P. D. ASCHER 1975b. Transfer of self compatibility from garden to greenhouse strains of Chrysanthemum morifolium Ramat. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 100:351-353.
- SADOWSKA, A. 1979. Effect of irradiation upon the essential oil component of peppermint (Mentha piperita L.). Gamma-Field Symposia. No.18:115-118.
- SAGAWA, Y. and G. A. L. MEHLQUIST 1957. The mechanism responsible for X-ray induced changes in flower color of the carnation, Dianthus caryophyllus. Amer. J. Bot. 44:397-403.
- 齊藤 清 1969a. 「花の育種」 誠文堂新光社 pp.2-12.

- 齊藤 清 1969b. 「花の育種」 誠文堂新光社 pp.70-84.
- 齊藤 清 1969c. 「花の育種」 誠文堂新光社 pp.64-70.
- SAITO, N. 1967. Light absorption of anthocyanin-containing tissue of fresh flowers by the use of the opal glass transmission method. *Phytochem.* 6:1013-1018.
- SEARS, E. R. 1969. Wheat cytogenetics. *Ann. Rev. Genet.* 3:451-468.
- SHIBATA, K. 1958. Spectrophotometry of intact biological materials. Absolute and relative measurements of their transmission, reflection and absorption spectra. *J. Biochem.* 45:599-623.
- 下郡山正巳 1988. 植物色素の類別とその特性 「増訂 植物色素 実験・研究への手引」 (林孝三編) 養賢堂 pp.12-55.
- STEPHENS, L. C., P. D. ASCHER and R. E. WIDMER 1984. Interaction among sporophytic S loci in self-incompatible garden chrysanthemum. *Euphytica* 33:623-631.
- STEWART, R. N. and H. DERMEN 1970. Somatic analysis of the apical layers of chimera sports in chrysanthemum by experimental production of adventitious shoot. *Amer. J. Bot.* 57:1061-1071.
- STICKLAND, R. G. and B. J. HARRISON 1974. Precursors and genetic control of pigmentation. 1. Induced biosynthesis of pelargonidin, cyanidin and delphinidin in Antirrhinum majus. *Heredity* 33:108-112.
- 杉山 晃、高野泰吉 1968. キクの花色変異に関する研究 (第1報). 園芸学会 昭43、秋、研究報告要旨:202-203
- 鈴木省三 1991. 鑑賞バラの改良と系譜. 育雑 42別(2):576-579.

田中隆莊 1982. キク 「植物遺伝学実験法」 (常脇恒一郎 編集) 共立
出版 pp.343-356.

TSUKAMOTO, Y. and S. MATSUBARA 1968. Studies on germination of
chrysanthemum pollen. I. Effect of sugars on germination.
Plant & Cell Physiol. 9:227-235.

VAN HARTEN, A. M., H. BOUTER and A. VAN OMMEREN 1972. Preventing
chimerism in potato (Solanum tuberosum L.). Euphytica 21:11-21.

VITHANAGE, H. I. M. V. and R. B. KNOX 1977. Development and cyto-
chemistry of stigma surface and response to self and foreign
pollination in Helianthus annuus. Phytomorphology 27:168-179.

WALL, A. M., R. RILEY and M. D. GALE 1971. The position of a locus
on chromosome 5B of Triticum aestivum effecting homoeologous
meiotic pairing. Genet. Res. 18:329-339.

WASSCHER, J. 1956. The importance of sports in some florist's
flower. Euphytica 5:163-170.

WATANABE, K. 1977. The control of diploid-like meiosis in poly-
ploid taxa of Chrysanthemum (Compositae).
Jpn. J. Genetics 52:125-131.

山手義彦 1991. 精興園におけるキクに育種の現状.
育雑 42別(2):560-563.

ZAGORSKI, J. S., P. D. ASCHER and R. E. WIDMER 1983. Multigenic
self incompatibility in hexaploid Chrysanthemum.
Euphytica 32:1-7.

図および表

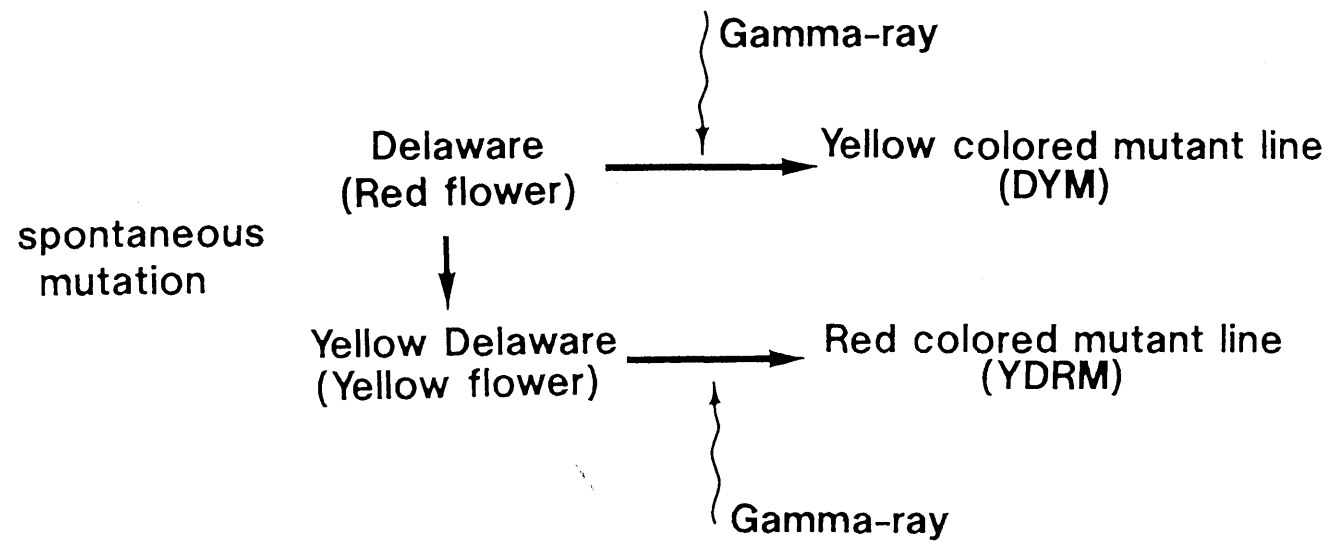


Fig. 2-1. Genealogical relationship of the materials tested

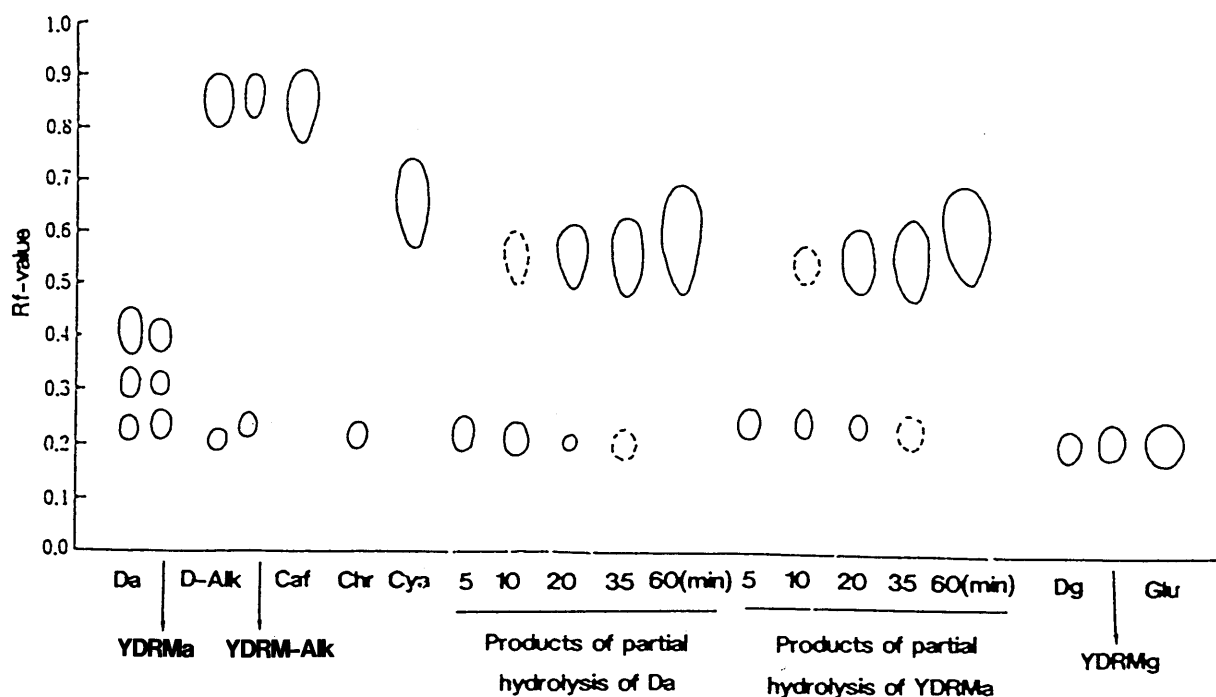


Fig. 2-2. Chromatograms showing the products of anthocyanin hydrolysis in Delaware and red colored mutant line derived from Yellow Delaware.

Note; Da: Anthocyanin of Delaware YDRMa: Anthocyanin of red colored mutant line

D-Alk: Anthocyanin after alkaline hydrolysis in Delaware

YDRM-Alk: Anthocyanin after alkaline hydrolysis in red colored mutant line

Caf: Caffeic acid Cya: Cyanidin Dg: Reducing sugar from Delaware anthocyanin

YDRMg: Reducing sugar from anthocyanin of red colored mutant line

Glu: GLucose

Developed with BAW/4:1:5

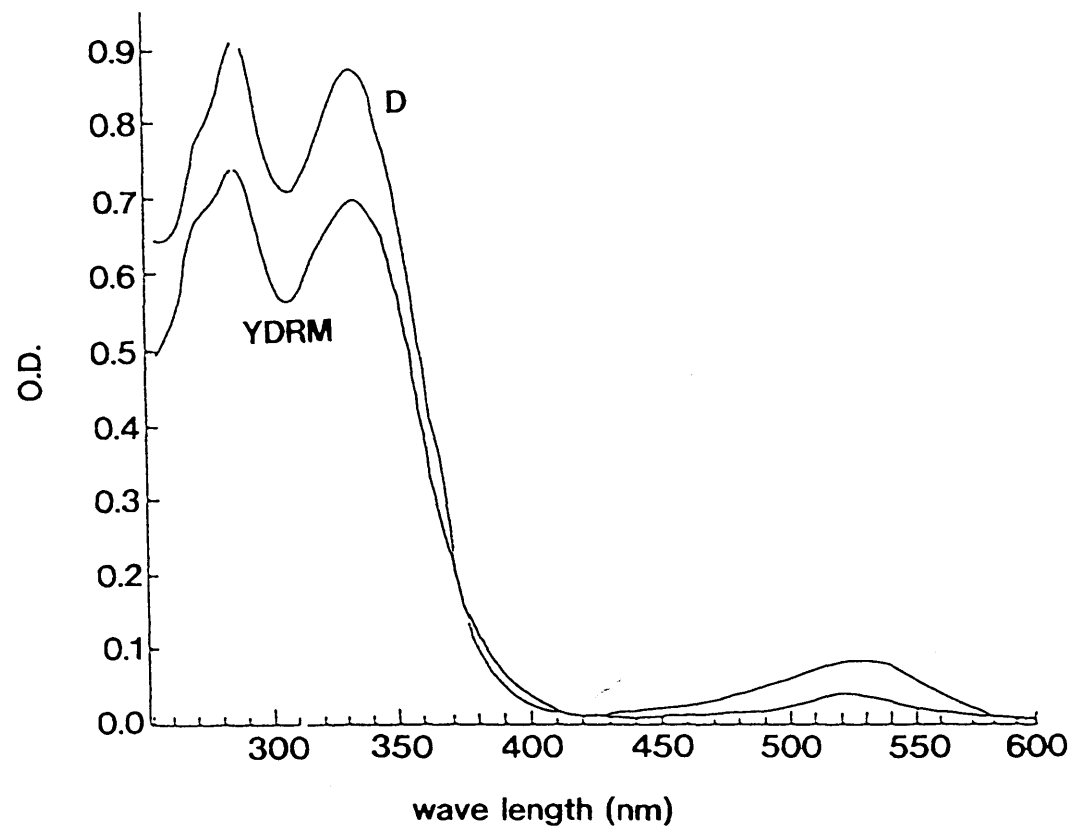


Fig. 2-3. Absorption spectra of water insoluble anthocyanin in Delaware and red colored mutant line derived from Yellow Delaware.

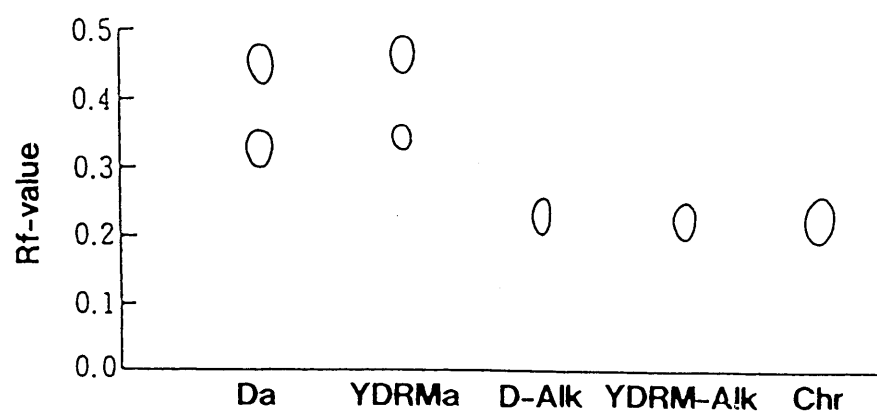


Fig. 2-4. Chromatograms showing the products of hydrolysis of water insoluble anthocyanin in Delaware and red colored mutant line derived from Yellow Delaware. Note; Refer to the note in Fig. 2-2.

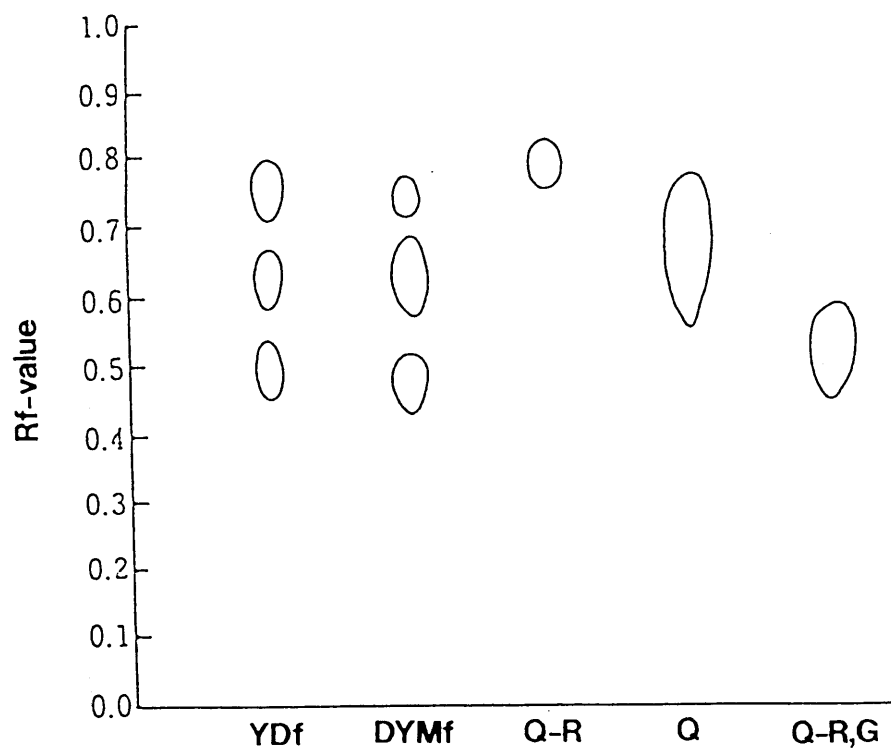


Fig. 2-5. Chromatograms of flavonols after purification in Yellow Delaware and yellow colored mutant line from Delaware.

Note; YDf: Flavonols of Yellow Delaware

DYMf: Flavonols of yellow colored mutant line

Q-R: Quercitrin Q: Quercetin Q-R,G: Rutin

Developed with BAW/4:1:2

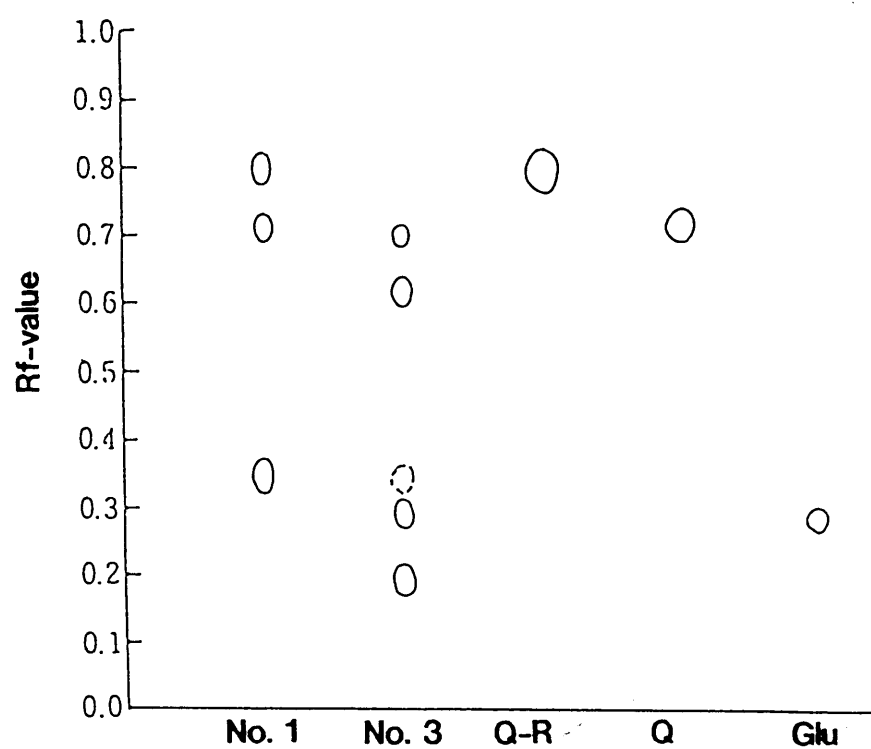


Fig. 2-6. Chromatograms of flavonols and their hydrolysates in Yellow Delaware and yellow colored mutant line derived from Delaware.
Developed with BAW/4:1:2

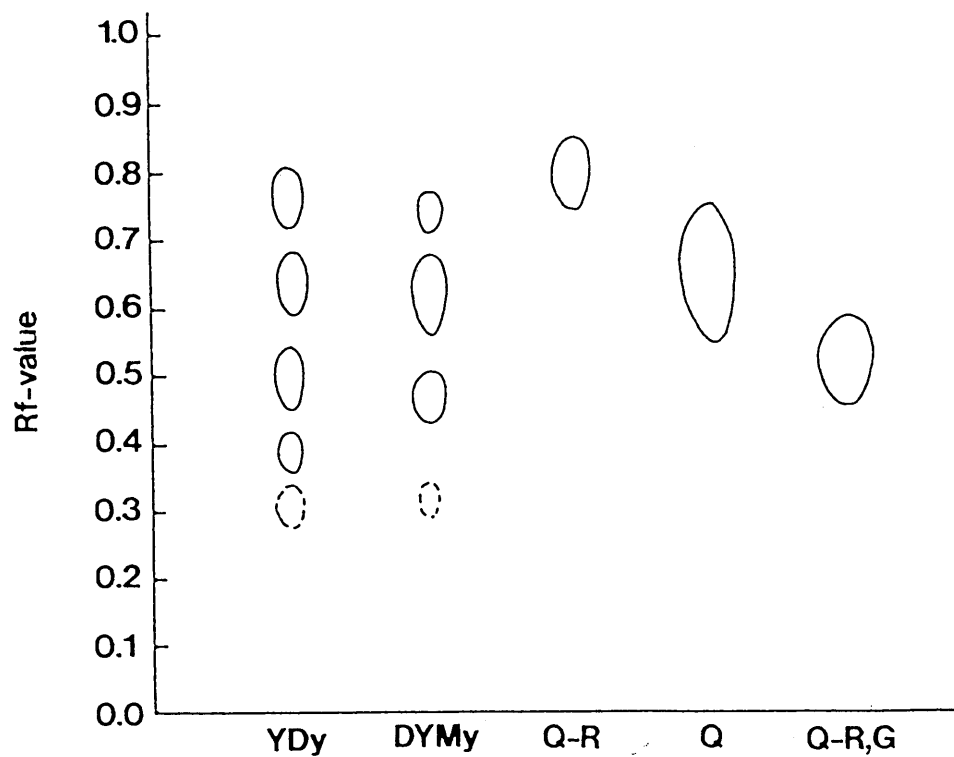


Fig. 2-7. Chromatograms of yellow pigments in crude extracts of Yellow Delaware and yellow colored mutant line derived from Delaware.

Note; YDf: Yellow pigments in Yellow Delaware

DYmf: Yellow pigments in yellow colored mutant line

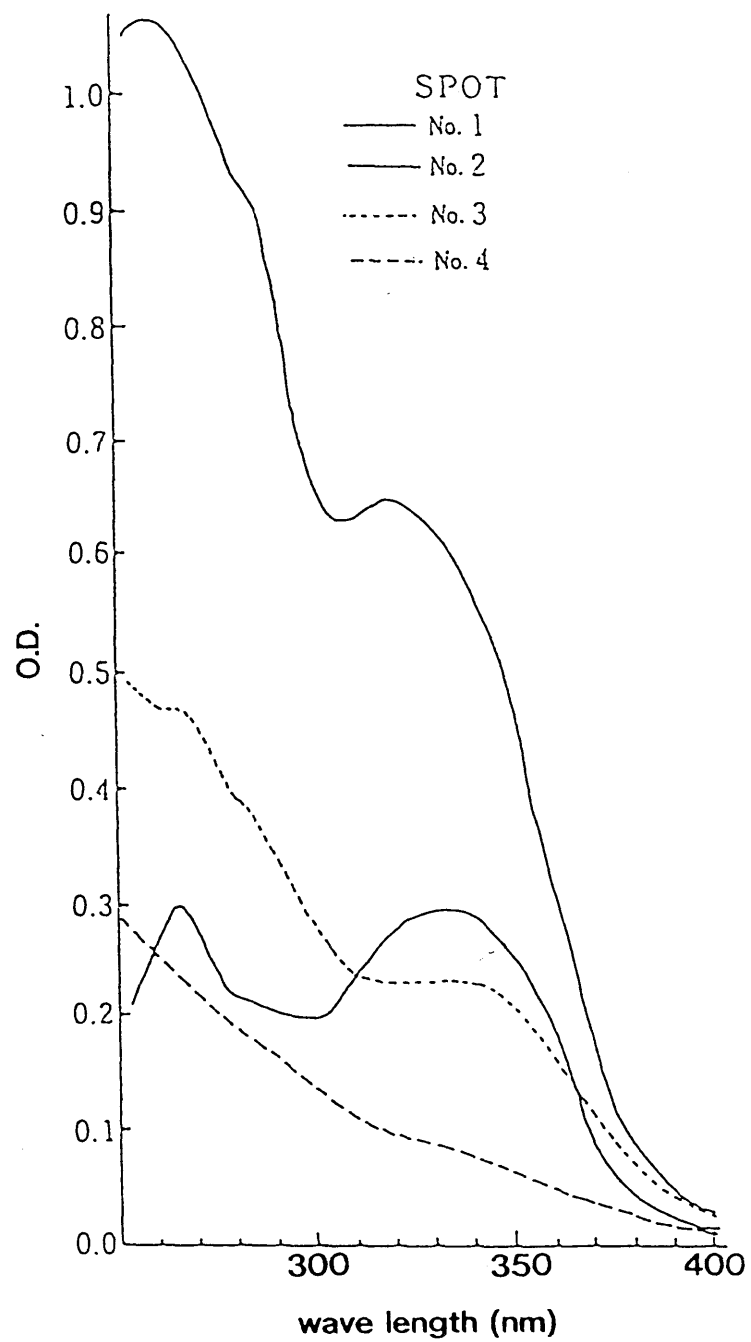


Fig. 2-8. Absorption spectra of yellow pigment in Yellow Delaware.

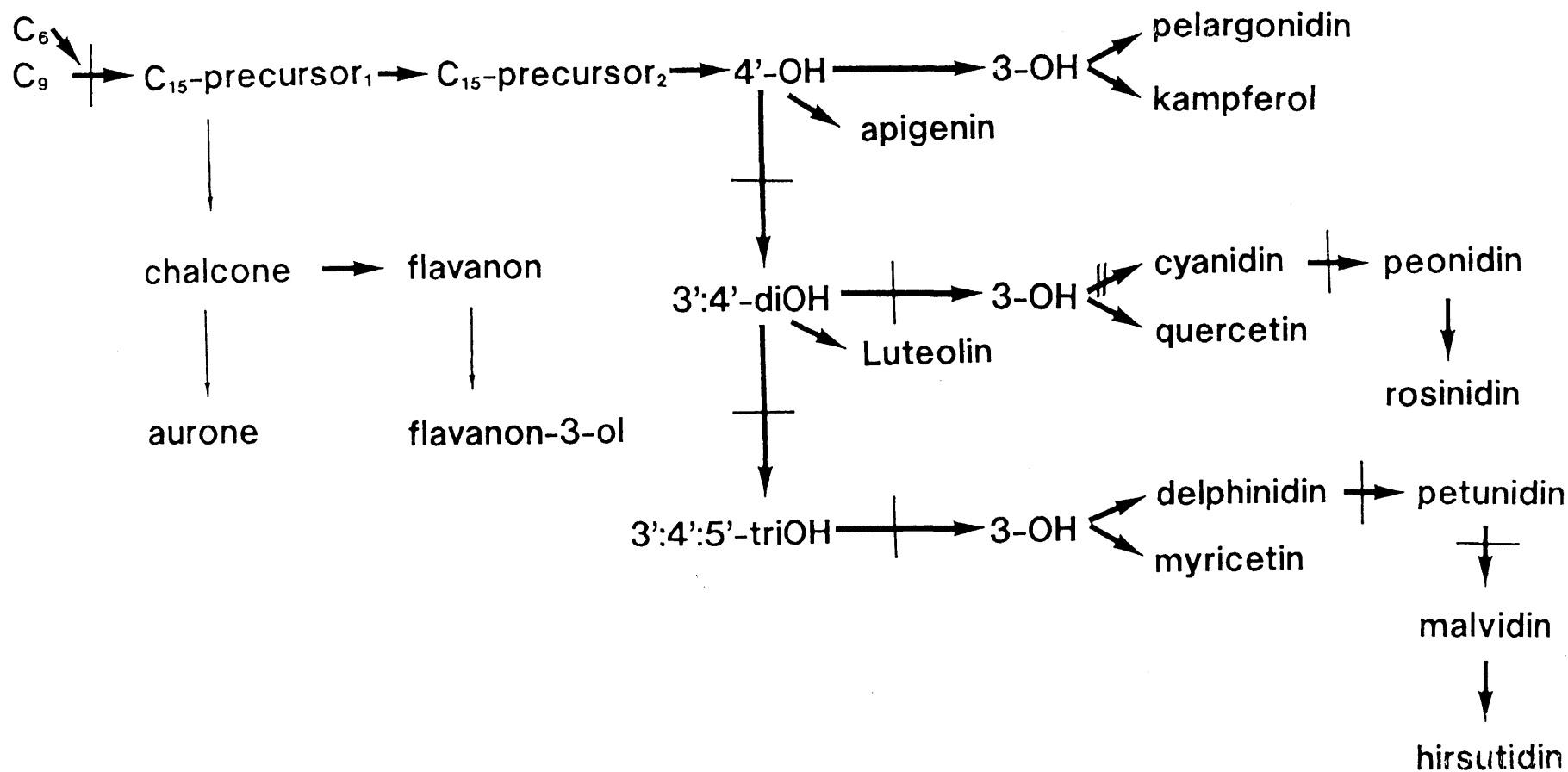


Fig. 2-9. A diagram demonstrating the hypothesis that the flower color mutations may govern a certain specific step in the pathway of flavonoid biosynthesis proposed by HARBORNE(1962).



Fig. 3-1. The flower head pollinated 4 times to 'White Marble' by the pollens of 'Bonnie Jean', 8 days after pollination.



Fig. 3-2. The flower head of Open-pollinated F1 plant ('Yellow Delaware X Chrysanthemum japonense) about 2 weeks after whole flowering.



Fig. 3-3. The disc florets of open-pollinated plant of 'White Marble' about 2 months after fully flowering. The 2 florets on the right side have the fertile seeds with shortened styles. The center 2 florets have the sterile seeds with shortened styles. The 2 florets on the left side have the sterile seeds with unshortened styles.

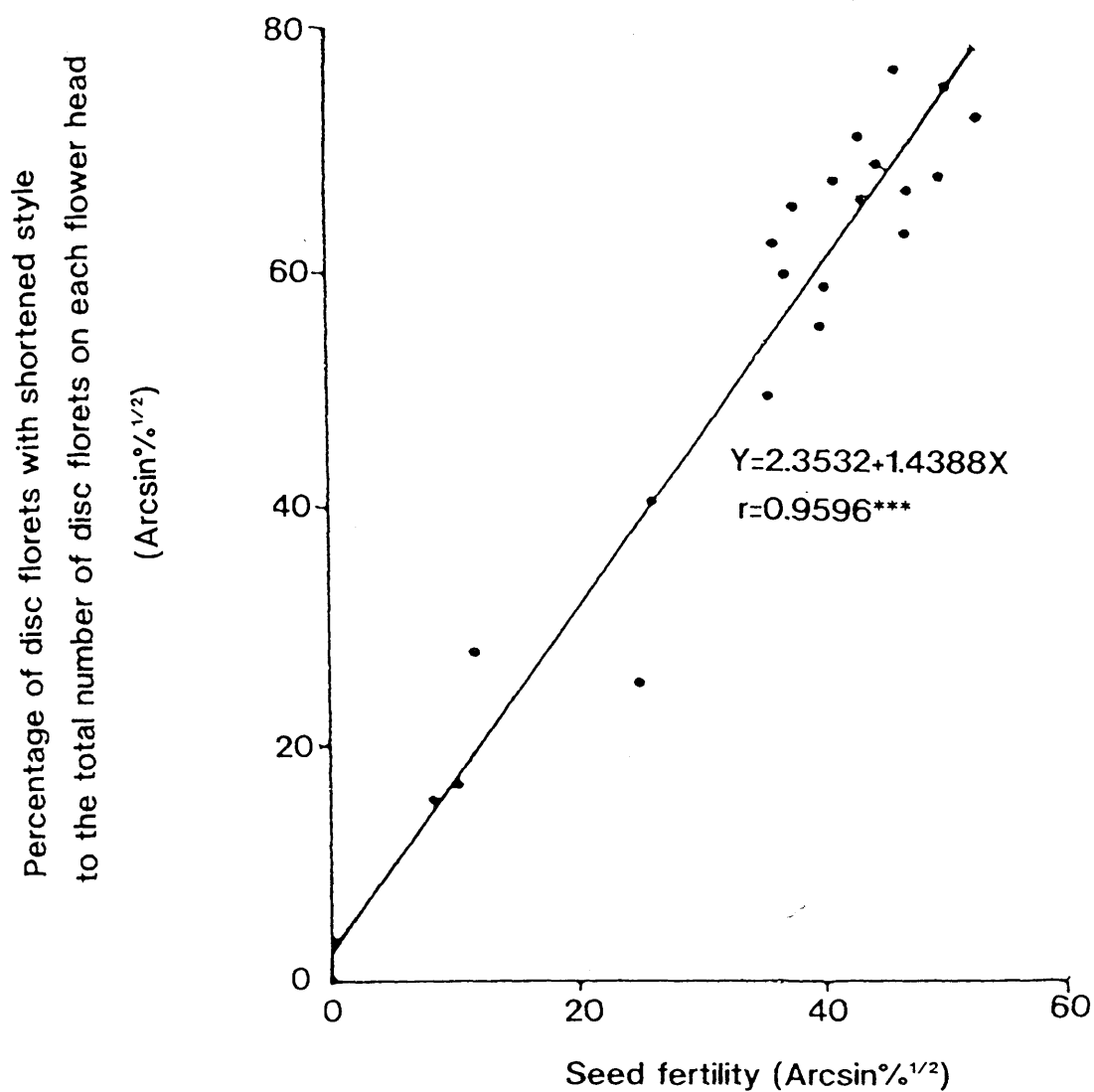


Fig. 3-4. The relation between the seed fertility and the ratio of disc florets with shortened style in the 1 to 8 times of pollination and the whole flowering period of pollination.

***: significant at 0.1% level

Percentage of disc florets with shortened style
to the total number of disc florets on each flower head
(Arcsin%^{1/2})

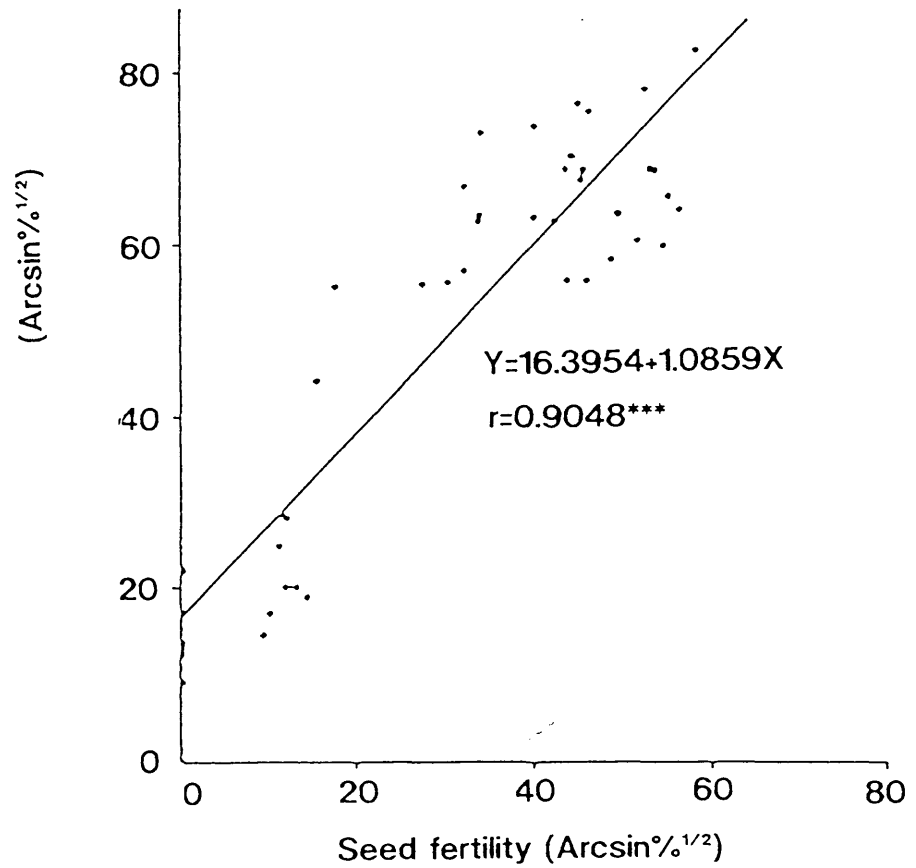


Fig. 3-5. The relation between the seed fertility and the ratio of disc florets with shortened style in the self- and cross-pollination through whole flowering period.

***: significant at 0.1% level

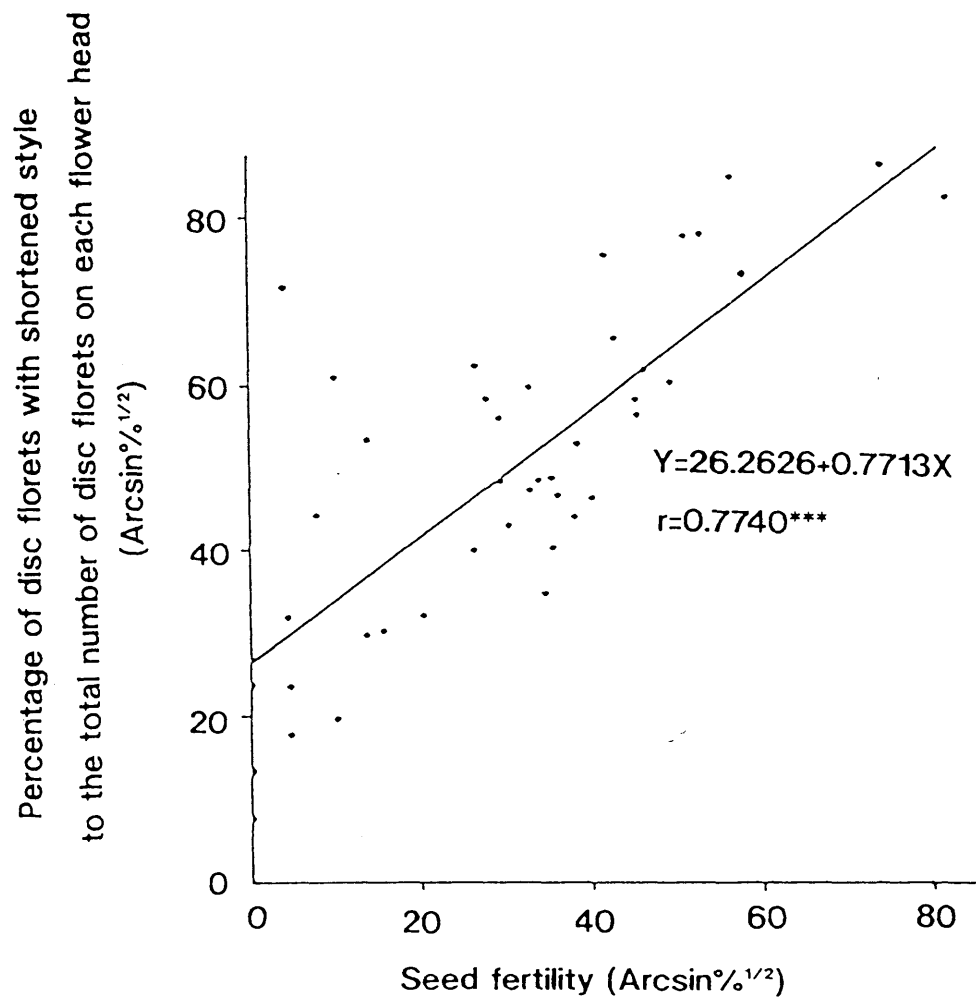


Fig. 3-6. The relation between the seed fertility and the ratio of the disc florets with shortened style in the open-pollination.

***: significant at 0.1% level

Table 3-1. The relationship among the number of disc florets with shortened style, the number of seeds and the number of times of pollination

	Number of times of pollination								whole flowering period
	1	2	3	4	5	6	7	8	
No. of flower heads tested	5	2	2	2	2	2	2	8	5
No. of disc florets tested	1,192	472	500	504	444	486	492	450	1,256
No. of disc florets with shortened style(%)	322 (27.0)	284 (51.7)	353 (70.6)	367 (72.8)	373 (84.0)	430 (88.5)	413 (83.9)	405 (90.0)	1,055 (84.0)
No. of seeds harvested(%)	151 (12.7)	124 (26.3)	183 (36.6)	199 (39.5)	209 (40.1)	234 (48.1)	246 (50.0)	262 (58.2)	664 (52.9)

Table 3-2. The total number of tested florets and the number of seeds harvested from florets without shortened styles in each experiment.

	No. of flower heads tested	No. of florets tested	No. of florets with shortened style	No. of seeds harvested	No. of seeds of florets without shortened style
1st experiment*	24	5,796	3,902	2,272	0
2nd experiment	58	13,491	8,345	4,210	36**
3rd experiment	42	7,423	4,292	2,213	10

* 1st experiment: the 1 to 8 times of pollination and the whole flowering period of pollination

2nd experiment: the self- and cross-pollination through whole flowering period

3rd experiment: the open-pollination

** These were observed in only self-pollination of 'Pink Daisy'

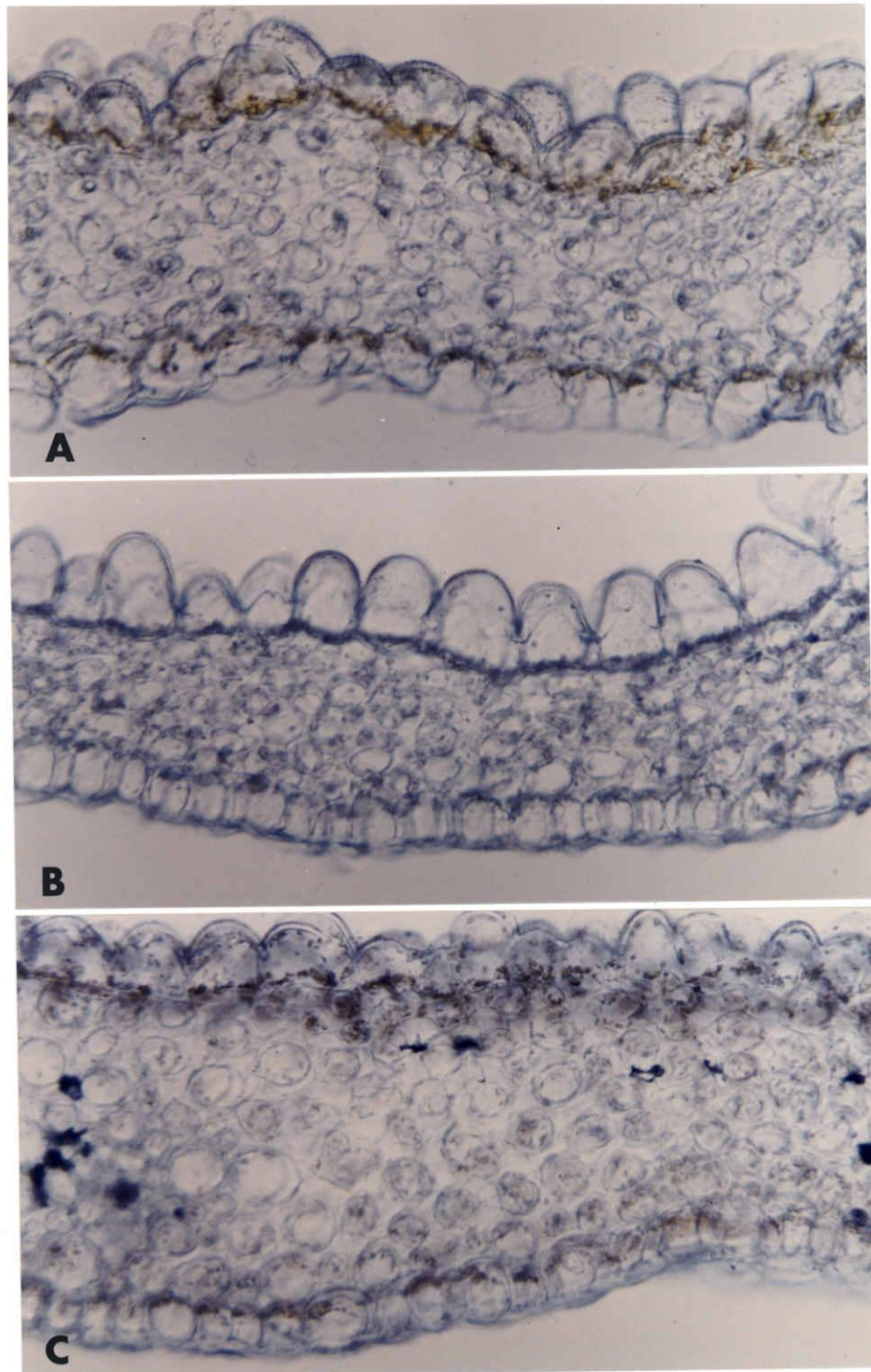


Fig. 4-2. The cross sections of the ray floret of YBJ and S₁ progenies.
 A:YBJ B:White flowered S₁ progeny derived from YBJ
 C:Yellow flowered S₁ progeny derived from YBJ

Table 4-1. Materials used in this experiment

Strain	Abbreviation
Pink Daisy	PD
Pink Marble	PM
White Marble	WM
Blue Marble	BM
Delaware	D
Yellow Delaware	YD
Tuneful	T
Red Rijeco	RR
Bonnie Jean	BJ
Yellow Bonnie Jean	YBJ
<u>Chrysanthemum</u> <u>japonense</u>	Ch.j.

Table 4-2. Carotenoid segregation in S₁ progenies derived from selfing of various varieties

Line	Progenies Carotenoid		Tested ratio	χ^2 -value	Probability
	+ ¹⁾	-			
PD S ₁	22	60	1 : 3	0.1463	0.7021
BJ S ₁	57	185	1 : 3	0.2700	0.6034
YBJ S ₁	61	260	1 : 3	6.1568	0.0131
			3 : 13	0.0135	0.9075
PM S ₁	14	58	1 : 3	1.1852	0.2763
			3 : 13	0.0228	0.8800
Ch.j. S ₁	0	230			
1) + : contained carotenoid pigments			- : no carotenoid pigments		

Table 4-3. Carotenoid segregation in F₁ progenies derived from crossing of various varieties

Line	Progenies Carotenoid		Tested ratio	χ^2 -value	Probability
	+ ¹⁾	-			
YBJ X BJ F ₁	9	24	1 : 3	0.0909	0.7630
BJ X YBJ F ₁	9	18	1 : 3	1.000	0.3173
PD X BJ F ₁	47	127	1 : 3	0.3755	0.5400
PM X BJ F ₁	30	103	1 : 3	0.4236	0.5152
WM X BJ F ₁	71	204	1 : 3	0.0982	0.7540
D X BJ F ₁	17	19	1 : 1	0.1111	0.7389
YD X BJ F ₁	54	44	1 : 1	1.0204	0.3124
BM X BJ F ₁	28	80	1 : 3	0.0494	0.8241
WM X YBJ F ₁	75	247	1 : 3	0.5010	0.4790
BM X YBJ F ₁	57	157	1 : 3	0.3053	0.5806
PM X PD F ₁	9	27	1 : 3	0.000	1.0000

1) + : contained carotenoid
pigments

- : no carotenoid
pigments

Table 4-4. Carotenoid segregation in progenies derived from crossing of Ch.j. and several varieties

Line	Progenies Carotenoid	
	+ ¹⁾	-
Ch.j. X YD F ₁	0	48
YD X Ch.j. F ₁	0	91
Ch.j. X D F ₁	0	68
D X Ch.j. F ₁	0	52
WM X Ch.j. F ₁	0	120
PM X Ch.j. F ₁	0	223
BM X Ch.j. F ₁	0	149
BJ X Ch.j. F ₁	0	249
YBJ X Ch.j. F ₁	0	153

1) + : contained carotenoid pigments
 - : no carotenoid pigments

Table 4-5. Genetic background of the inheritance of carotenoid pigmentation in chrysanthemums

Variety	State of dominant inhibitor for carotenoid biosynthesis	State of dominant gene for carotenoid pigmentation
Group I PD, BJ,	Heterozygous	Homozygous for dominant gene
Group II D, YD	Homozygous for recessive gene	-
Group III YBJ, PM	Heterozygous	Heterozygous

Table 4-6. Anthocyanin segregation in S₁ progenies derived from selfing of various varieties

Line	Progenies <u>Anthocyanin</u>		Tested ratio	χ^2 -value	Probability
	+ ¹⁾	-			
PD S ₁	268	19	15 : 1	0.0671	0.7956
PM S ₁	47	17	3 : 1	0.0833	0.7728
BJ S ₁	0	242			
Ch.j. S ₁	0	347			

1) + : contained anthocyanin pigemnts
 - : no anthocyanin pigments

Table 4-7. Anthocyanin segregation in F₁ progenies derived from crossing of various varieties and BJ

Line	Progenies Anthocyanin		Tested ratio	χ^2 -value	Probability
	+ ¹⁾	-			
PD X BJ F ₁	126	48	3 : 1	0.6207	0.4308
PM X BJ F ₁	27	29	1 : 1	0.0714	0.7893
WM X BJ F ₁	135	141	1 : 1	0.1304	0.7180
BM X BJ F ₁	52	56	1 : 1	0.1481	0.7003
D X BJ F ₁	18	18	1 : 1	0.0000	1.0000
YD X BJ F ₁	76	78	1 : 1	0.0260	0.8720
T X BJ F ₁	233	232	1 : 1	0.0022	0.9630

1) + : contained anthocyanin pigments
 - : no anthocyanin pigemnts

Table 4-8. Anthocyanin segregation in F₁ progenies derived from crossing of several varieties and Ch.j.

Line	Progenies Anthocyanin		Tested ratio	χ^2 -value	Probability
	+ ¹⁾	-			
Ch.j. X D F ₁	33	35	1 : 1	0.0588	0.8084
D X Ch.j. F ₁	26	26	1 : 1	0.0000	1.0000
WM X Ch.j. F ₁	60	60	1 : 1	0.0000	1.0000
PM X Ch.j. F ₁	106	117	1 : 1	0.5426	0.4614
BM X Ch.j. F ₁	71	78	1 : 1	0.3289	0.5663
T X Ch.j. F ₁	63	54	1 : 1	0.6923	0.4054
RR X Ch.j. F ₁	53	16	3 : 1	0.1208	0.7282

1) + : contained anthocyanin pigments
 - : no anthocyanin pigments

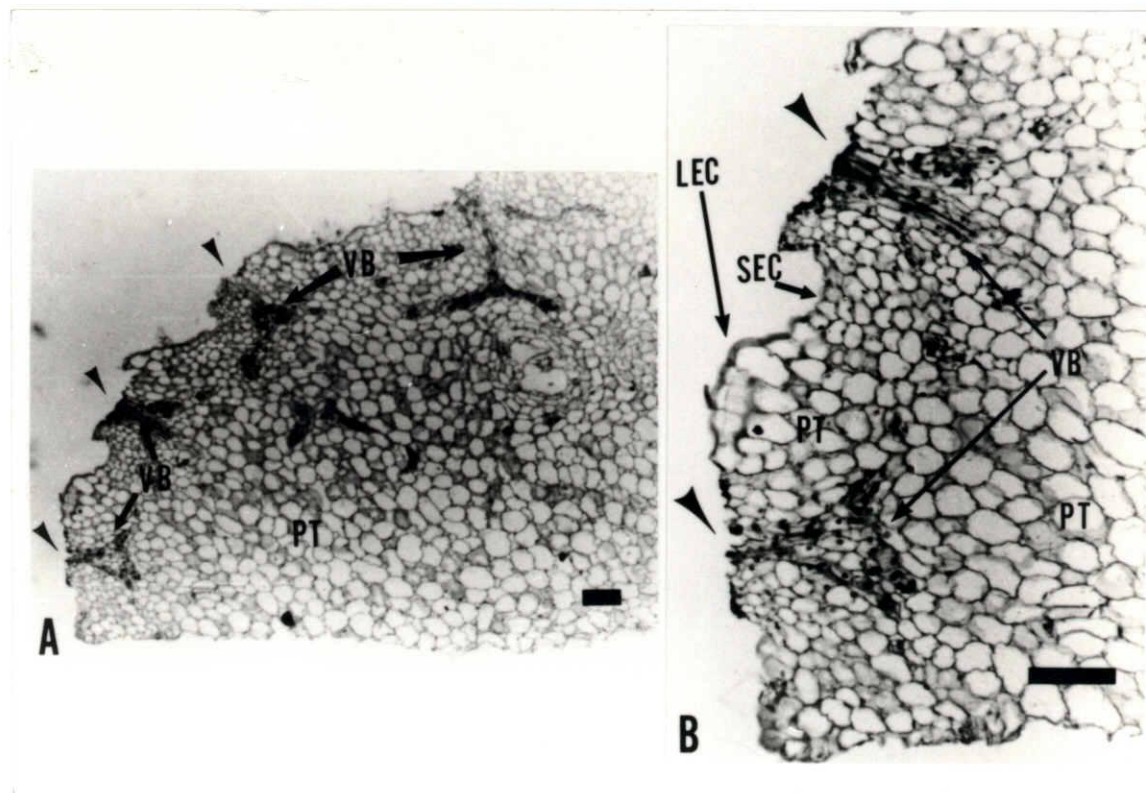


Fig. 5-1. Longitudinal sections of the terminal portion of the receptacle before incubation.

A : At the lower magnification B : At the higher magnification

VB : Procambial strands(Vascular bundle) PT : Parenchyma

LEC : Large epidermal cell with thick cuticle

SEC : Small epidermal cell with thin cuticle

Arrow-heads show the region where the floret has been attached.

Bars indicate 100 μ m respectively.

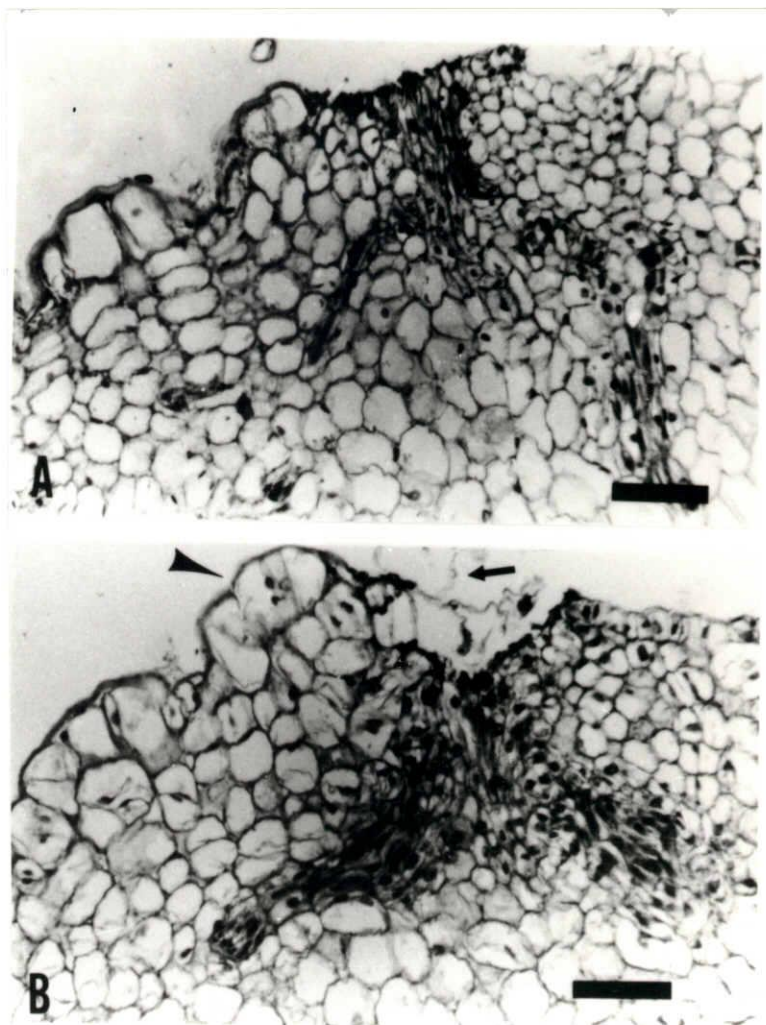


Fig. 5-2. Longitudinal sections of receptacles 2 days and 5 days after incubation.

A : A section 2 days after incubation

B : A section 5 days after incubation

Arrow shows the residue of balloon-like cells.

Arrow-head shows divided cells at the large epidermal cells.

Bars indicate 100 μ m respectively.

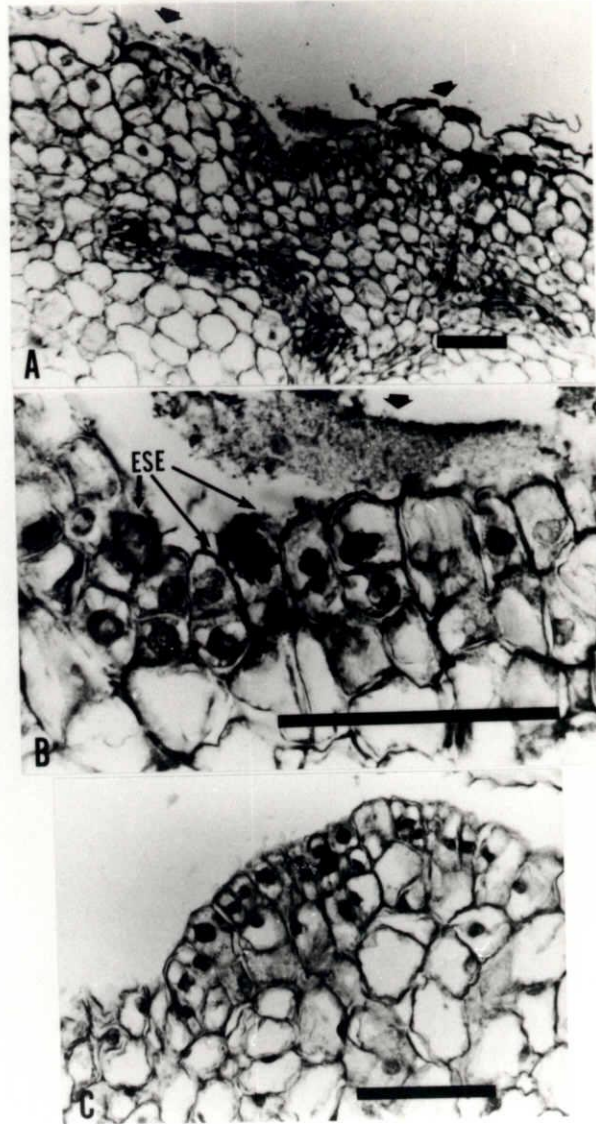


Fig. 5-3. Longitudinal sections of receptacles 6 days and 8 days after incubation.

A : A section 6 days after incubation

B : Higher magnification than A

C : A section 8 days after incubation

ESE : Elongated and divided small epidermal cell

Arrows show the residue of balloon-like cells.

Bars indicate 100 μ m respectively.

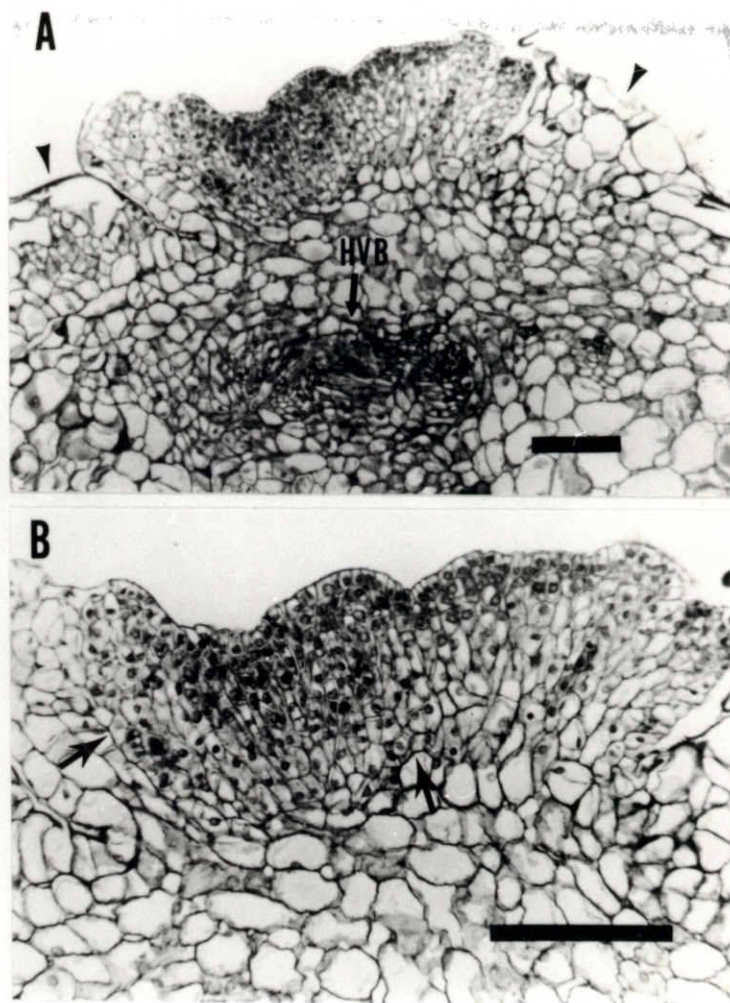


Fig. 5-4. The newly formed meristematic cell-masses in the longitudinal section 16 days after incubation.

A : At lower magnification B : At higher magnification

HVB : Huge vascular bundle(Conjugated provascular bundles)

Arrows show the boundary between the meristematic cell-masses and the surrounding cells.

Arrow-heads show the residues of balloon-like cells.

Bars indicate 100 μ m respectively.

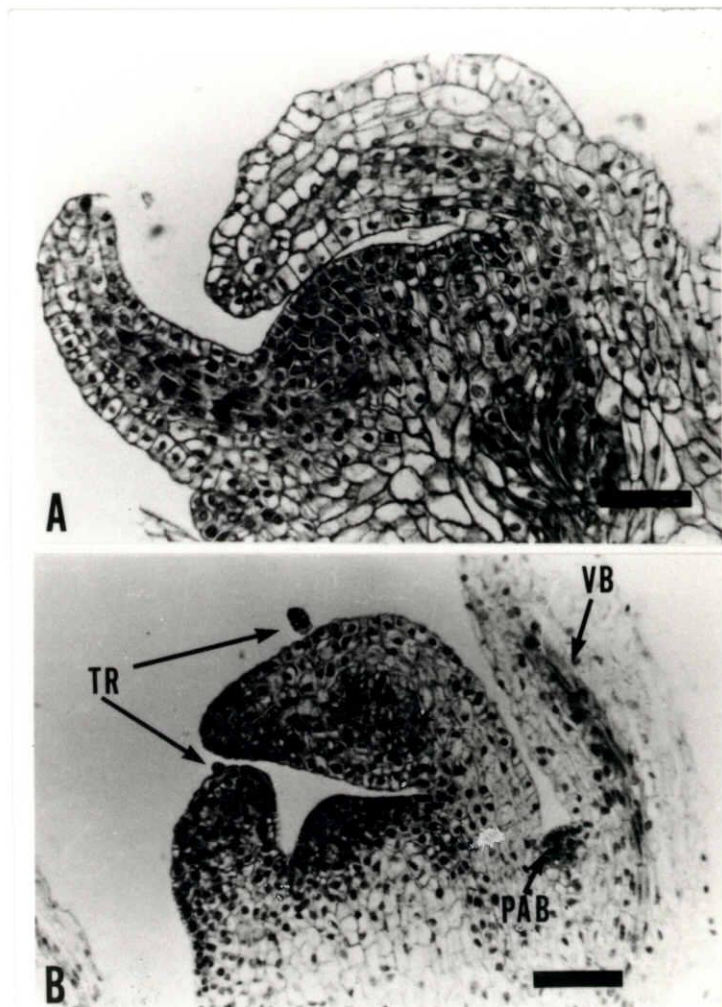


Fig. 5-5. The newly formed shoot apex 16 days after incubation (A) and the completely formed shoot apex 20 days after incubation (B).
 TR : Trichome PAB : Primodium of an axillary bud
 VB : Vascular bundle
 Bars indicate 100 μ m respectively.

報文目録

1. 服部一三・蓬原雄三

キクの花色突然変異に関する遺伝育種学的研究 I. 花色突然変異
における色素のクロマト分析
育雑 20:261-268. (1970).

2. HATTORI, Kazumi

The relationship between seed fertility and style shortening after pollination in chrysanthemum.
Japan. J. Breed. 34:156-162. (1984).

3. HATTORI, Kazumi

Inheritance of carotenoid pigmentation in flower color of chrysanthemum.
Japan. J. Breed. 41:1-9. (1991).

4. HATTORI, Kazumi

The process during shoot regeneration in the receptacle culture of chrysanthemum(Chrysanthemum morifolium Ramat.).
Japan. J. Breed. (accepted)

参考論文目録

- 1) 加藤恭宏・中村智恵美・服部一三・前田英三
イネ蒴培養によるカルス誘導と品種の穂ばらみ期耐冷性との関係
日作紀 55:542-543 (1986).
- 2) FUTSUHARA, Y., K. HATTORI and H. KITANO
Water absorbing capacity of a root-growth inhibiting mutant
in rice.
Rice Genet. Newsl. 4:95 (1987).
- 3) BALITO, L. P., K. HATTORI and Y. FUTSUHARA
Induction of diploids from haploid rice plants by X-ray
irradiation.
Rice Genet. Newsl. 5:115-116 (1988).
- 4) LODARI, C., K. HATTORI and Y. FUTSUHARA
Morphological difference on leaf surface and pollen grains
in genus Artemisia.
Japan. J. Breed. 39:9-14 (1989).
- 5) BALITO, L. P., K. HATTORI and Y. FUTSUHARA
Effects of gamma-ray irradiation on the growth of calli in
Nicotiana species.
Japan. J. Breed. 39:29-37 (1989).
- 6) 廣井清貞・西村隆雄・服部一三・武岡洋治
イネの穂における内生ジベレリンの簡易精製と生物検定
日作紀 59:578-579 (1990).
- 7) HATTORI, K., Y. OZEKI, T. NISHIMURA and Y. FUTSUHARA
Simple analytical procedure for the analysis of the
chlorophyll protein complex in rice.
Japan. J. Breed. 40:295-310 (1990).
- 8) AOKI, C. and K. HATTORI
Attempt to classify Petunia species on the basis of corolla
shape.
Japan. J. Breed. 41:433-442 (1991).