

シュッコンカスミソウの育種に関する研究 (第1報) 低ロゼット性個体の試験管内選抜法

宮本 芳城・藤岡 唯志¹・藤田 政良²
農林水産総合技術センター 暖地園芸センター

Studies on Breeding of *Gypsophila paniculata* L.
(1) Selection Methods of Low Rosette plants *in vitro*

Yoshiki Miyamoto, Tadashi Fujioka¹ and Masayoshi Fujita²

*Horticultural Experiment Center
Wakayama Research Center of Agriculture, Forestry and Fisheries*

緒 言

シュッコンカスミソウ (*Gypsophila paniculata* L.) は、和歌山県の主要花きの一つで、平成12年度の作付面積は55.0haであり、全国でも有数の産地となっている。シュッコンカスミソウは、限界日長をもつ長日植物であるとされており (Kusey et al., 1981; Shill et al., 1982), 8月下旬から9月にかけて定植し、秋から翌年春まで出荷する本県の作型では、不開花株の発生(ロゼット化)が問題となり、定植後ロゼット化すると生育、開花が遅れ、計画出荷が困難になる。そのため、ロゼット化しにくい品種の育成が強く求められている。

Kusey et al. (1981) や武田 (1984) は、シュッコンカスミソウの主要品種である‘ブリストル・フェアリー’では、系統によって日長や低温に対する反応が異なり、生態的並びに形態的な変異が大きいことを報告している。

今までに、シュッコンカスミソウのロゼット化に関する研究が多く、その一つとしてベンジルアミノプリン(以下BA)やジベレリンの生育調節剤処理(武田ら, 1981b, 1982)がロゼット化の防止に有効であることが報告されている。Suge and Rappaport (1968) や西島 (2000) は、ダイコンの抽苔とジベレリンの関係について研究し、ジベレリン合成阻害剤の処理によって抽苔が抑制されることを報告している。また、天野ら (1986) は、キクにおいて生育調節剤を用い、試験管内でロゼット化させることができ、その反応は品種によって異なることを報告している。

ここでは、シュッコンカスミソウにおいてロゼット化しにくい個体を生育調節剤を用いて試験管内で効率的に選抜するため、ほ場でのロゼット性程度の異なる系統を供試して試験管内での生育における系統間差を調査し、ほ場でのロゼット性程度と相關のある生育調節剤の種類と濃度を明らかにするとともに、試験管内選抜の有効性について検討した。

なお、本試験は、地域バイオテクノロジー研究開発促進事業「培養幼植物体レベルにおける特性検定及び選抜技術の開発」のなかで実施したものである。

材料および方法

試験 1 生育調節剤の種類と茎頂培養個体の試験管内での生育における系統間差

供試系統は、‘ブリストル・フェアリー’の京都大学系統で、武田 (1984) によりロゼット性程度が

¹現在：農業試験場、²現在：信州大学農学部

異なるとされている3系統、すなわち、BF-13（ロゼット性弱）、BF-25（中）およびBF-20（強）とした。材料は、0.5mm程度の茎頂を Murashige and Skoog の培地を蒸留水で1/2に調整したもの（以下、1/2MS）にBA0.02mg/literを添加した培地で培養し、5.0mm程度に伸長した個体、それぞれ20個体を用いた。培地は、1/2MSに生育調節剤を添加して用いた。生育調節剤としてジベレリン生合成阻害剤であるウニコナゾール、アンシミドールおよびジベレリンを用い、それぞれの添加濃度はパンジーなどの花壇苗で一般的に、ほ場処理に用いられているウニコナゾールの濃度2.0mg/literとした。また、対照として無添加区を設けた。培養は、20°C、3,000lx、16時間照明下で行い、30日後に幼植物体の草丈、葉数および節間長を調査した。

試験2 アンシミドールの添加濃度と茎頂培養個体の生育における系統間差

試験1と同じロゼット性の異なる3系統を供試し、アンシミドールの添加濃度として0、1.0、2.0および5.0mg/literの4水準を設け、試験1と同様の試験を行った。なお、試験区は各区20個体とし、移植30日後に幼植物体の草丈を調査した。

試験3 カルスからの再分化個体における試験管内での草丈の系統間差

試験1と同じロゼット性の異なる3系統を供試し、茎頂由来カルスから再分化した5.0mm程度のシートを用いた。このシートは、カルス形成には、 α -ナフタレン酢酸（以下NAA）2.0mg/literおよびBA2.0mg/literを添加した1/2MS培地、再分化には、ホルモンフリーの1/2MS培地を用い、20°C、3,000lx、16時間照明下で培養して得た（宮本ら、1990）。選抜にはアンシミドール2.0mg/literを添加した1/2MS培地を用い、同様の条件で培養し、移植後30日の草丈を指標とした。

試験4 試験管内選抜の有効性評価

試験3で試験管内での草丈を指標に13.0mm未満、13.0mm以上16mm未満および16mm以上の3水準に選抜、分類した個体を順化後、親株としてさし芽増殖を行い、得られた個体を供試して暖地園芸センター内のガラス温室で栽培し、試験管内での選抜結果とほ場での生育との関係を調査した。さし芽は1988年8月2日、定植は8月30日、摘心は9月5日に行った。栽植密度は、ベット幅80cm、株間30cmの1条植えとし、無加温、無電照下で栽培した。調査は、11月30日に抽苔（ロゼット化）、発芽、開花の有無について行い、開花調査は12月28日までとした。

結 果

試験1 生育調節剤の種類と茎頂培養個体の試験管内での生育における系統間差

移植30日後の試験管内での草丈、葉数は、無添加区においてBF-13（ロゼット性弱）でそれぞれ19.6mm、9.8枚、BF-25（中）では16.8mm、9.6枚、BF-20（強）では18.7mm、10.7枚とロゼット性程度との関連は明らかでなかった。節間長についてもロゼット性程度との関連は見られなかった。また、ジベレリン添加区では、各系統の草丈はBF-13で35.6mm、BF-25で24.6mmおよびBF-20では31.0mmといずれの系統も徒長した生育となり、ロゼット性程度との関連は明らかでなかった。ただ、葉数については、BF-13で11.6枚、BF-25で12.0枚およびBF-20では12.7枚とロゼット性程度が強いほど多くなる傾向がみられた。ウニコナゾール添加区では、各系統の草丈、節間長はBF-13でそれぞれ7.6mm、1.4mm、BF-25で6.2mm、1.2mmおよびBF-20では6.0mm、1.0mmと、BF-13>BF-25>BF-20となり、ロゼット性程度が強いほど短くなる傾向が見られた。しかし、いずれの系統においてもロゼット状の生育を示し、肉眼での選抜が困難であった。一方、アンシミドール添加区では、各系統の草丈、葉数、節間長は、BF-13でそれぞれ17.4mm、10.2枚、3.4mm、BF-25で14.3mm、11.0枚、2.4mmおよびBF-20では10.4mm、11.7枚、1.8mmと系統間で有意な差が認められ、ロゼット性が強い系統ほど伸長抑制効果が高く、草丈、節間長が短くなり、葉数が多くなった（第1表）。

第1表 生育調節剤の種類と茎頂培養個体の試験管内での生育における系統間差

| 添加した 生育調節剤 | 試験区 系統名 | ほ場でのロゼ ット性程度 | 草丈 (mm) | 葉数 (枚) | 節間長 (mm) |
|---------------|------------|-----------------|------------|-----------|-------------|
| アンシミドール | BF-13 | 弱 | 17.4 a | 10.2 a | 3.4 a |
| | BF-25 | 中 | 14.3 b | 11.0 b | 2.4 b |
| | BF-20 | 強 | 10.4 c | 11.7 c | 1.8 c |
| ウニコナゾール | BF-13 | 弱 | 7.6 a | 10.6 a | 1.4 a |
| | BF-25 | 中 | 6.2 b | 10.2 a | 1.2 ab |
| | BF-20 | 強 | 6.0 b | 11.5 b | 1.0 b |
| ジベレリン | BF-13 | 弱 | 35.6 a | 11.6 a | 6.1 a |
| | BF-25 | 中 | 24.6 b | 12.0 a | 4.1 b |
| | BF-20 | 強 | 31.0 a | 12.7 b | 4.9 b |
| 無添加 | BF-13 | 弱 | 19.6 a | 9.8 a | 4.0 a |
| | BF-25 | 中 | 16.8 b | 9.6 a | 3.5 b |
| | BF-20 | 強 | 18.7 a | 10.7 b | 3.5 b |

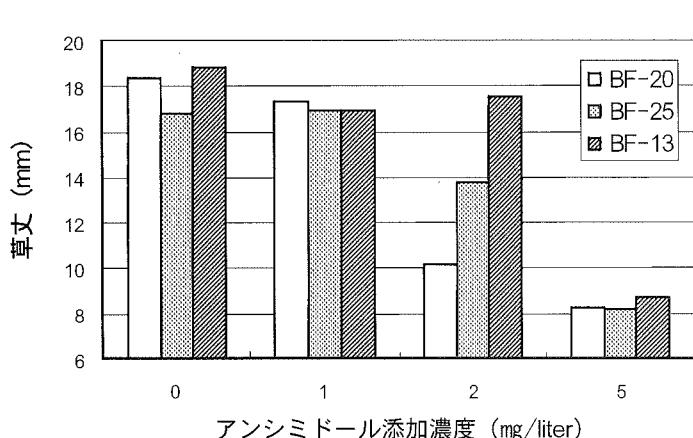
注) 移植30日後に調査

基本培地: 1/2MS, 培養条件: 20°C, 3,000lx, 16時間照明

異符号のものは、各生育調節剤ごと、供試系統間で有意差があることを示す

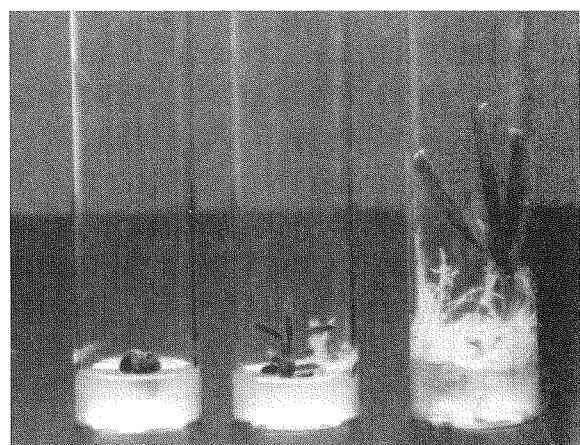
試験2 アンシミドール添加濃度と茎頂培養個体の試験管内での生育における系統間差

移植30日後の試験管内での草丈、葉数は、アンシミドールの添加濃度によって異なり、1.0mg/liter 添加区では、アンシミドールによる伸長抑制効果が少なく、無添加区同様、ロゼット性程度との関係が認められなかった。また、5.0mg/liter 添加区では、各系統の草丈はBF-13で8.8mm, BF-25で8.2mmおよびBF-20では8.3mmと、いずれの系統においても伸長抑制効果が認められ、ロゼット状の生育を示した。一方、2.0mg/liter 添加区では、各系統の草丈は、BF-13で17.6mm, BF-25で13.8mm, BF-20では10.2mmと、系統によってアンシミドールによる伸長抑制効果が異なり、系統間で有意な差が認められた(第1図、第2図)。また、同一系統内ではBF-13で16.6~18.8mm, BF-25で13.2~15.2mm, BF-20では9.7~11.8mmであり、系統間でアンシミドールに対する反応に差がみられた(第3図)。



第1図 アンシミドール添加濃度と試験管内での草丈における系統間差

注) ほ場でのロゼット性程度: BF-13(弱), BF-25(中), BF-20(強)
基本培地: 1/2MS, 培養条件: 20°C, 3,000lx, 16時間照明



第2図 アンシミドール 2.0mg/liter 添加培地での試験管内の生育における系統間差

(左: BF-20, 中: BF-25, 右: BF-13)

試験3 カルスからの再分化個体における 試験管内での草丈の系統間差

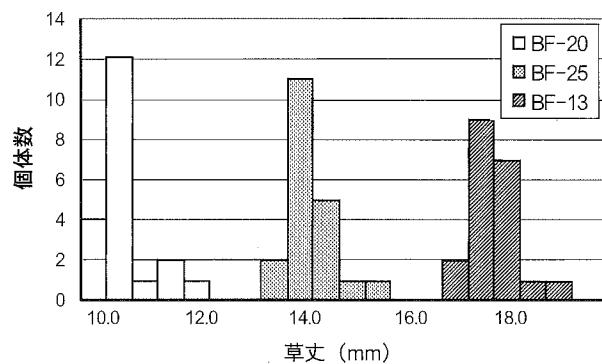
カルスからの再分化個体においても、アンシミドール 2.0mg/liter 添加培地で培養することによって、BF-13 を母株とした個体では他の系統に比べてシートの伸長抑制効果が少なく、18 個体では草丈が 17.2～19.3mm に達し、2 個体が 14.2mm, 14.8mm であった。一方、BF-20 を母株とした個体ではすべての個体が草丈 12.4mm 以下でロゼット状の生育を示した。また、BF-25 では、草丈 11.1mm とロゼット状の生育を示したものが 1 個体、草丈 17.2mm, 17.0mm と比較的伸長抑制効果が少なかったものが 2 個体あり、17 個体では草丈が 13.8～15.8mm で、それぞれ母株の特性とほぼ一致した（第4図）。

試験4 試験管内選抜の有効性評価

試験管内で伸長抑制程度が大（草丈 13.0mm 未満）でロゼット状の生育を示した個体はすべて、栽培ほ場においてもロゼット化し、11月30日において発らい、開花が見られなかつた。一方、試験管内で伸長抑制程度が中（草丈 13.0～16.0mm）の個体では発らい、開花が認められ、開花日は 11 月 28 日であった。伸長抑制程度が小（草丈 16.0mm 以上）の個体ではすべての個体で開花が認められ、開花日は 11 月 6 日であった。また、試験管内で母株の特性と異なる傾向を示した BF-25 の 3 個体、BF-13 の 2 個体においてもほ場での生育は、試験管内の伸長抑制程度に即した生育を示した。すなわち、節間抑制程度が大に分類された BF-25 の 1 個体は、ロゼット状の生育を示し、節間抑制程度が中に分類された BF-13 の 2 個体は 11 月 30 日には発らいが確認され、開花日は 12 月 10 日であった。そして、節間抑制程度が小に分類された BF-25 の 2 個体ではともに開花が認められ、開花日は 11 月 7 日であった（第2表、第5図）。

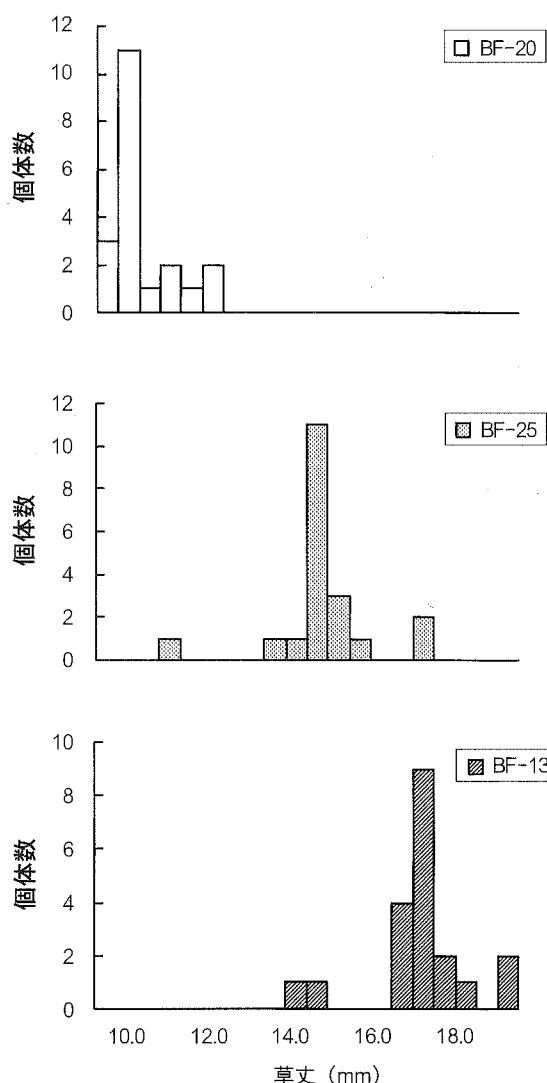
考 察

シユッコンカスミソウでは、ロゼット化の原因として、夏の高温遭遇による生長活性の低下、秋以降に遭遇する 10°C 以下の低温、11



第3図 アンシミドール 2.0mg/liter 添加培地での茎頂培養個体の草丈における系統間差

注) ほ場でのロゼット性程度: BF-13(弱), BF-25(中), BF-20(強)
基本培地: 1/2MS, 培養条件: 20°C, 3,000lx, 16時間照明



第4図 アンシミドール 2.0mg/liter 添加培地でのカルスからの再分化個体の草丈における系統間差

注) ほ場でのロゼット性程度: BF-13(弱), BF-25(中), BF-20(強)
基本培地: 1/2MS, 培養条件: 20°C, 3,000lx, 16時間
照明

第2表 試験管内選抜個体のは場での生育

| 試験管内での ^z 伸長抑制程度 | 試験区 系統名 | 選 択 個体数 | ロゼット ^y 株数(株) | 発らい ^y 株数(株) | 開 花 ^y 株数(株) | 開花日 ^x (月.日.) |
|-------------------------------|------------|------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|
| 大 | BF-20 | 20 | 20 | 0 | 0 | — |
| | BF-25 | 1 | 1 | 0 | 0 | — |
| 中 | BF-25 | 17 | 0 | 5 | 12 | 11.26. |
| | BF-13 | 2 | 0 | 2 | 0 | 12.10. |
| 小 | BF-25 | 2 | 0 | 0 | 2 | 11. 1. |
| | BF-13 | 18 | 0 | 0 | 18 | 11. 7. |

注) ^z: 培地: 1/2MS+アンシミドール2.0mg/liter, 移植30日後の草丈で分類

大: 13.0mm未満, 中: 13.0mm以上16.0mm未満, 小: 16.0mm以上

^y: 1988年11月30日に調査, ^x: 50%の個体が開花した日

さし芽: 1988年8月2日, 定植: 8月30日, 摘心: 9月5日

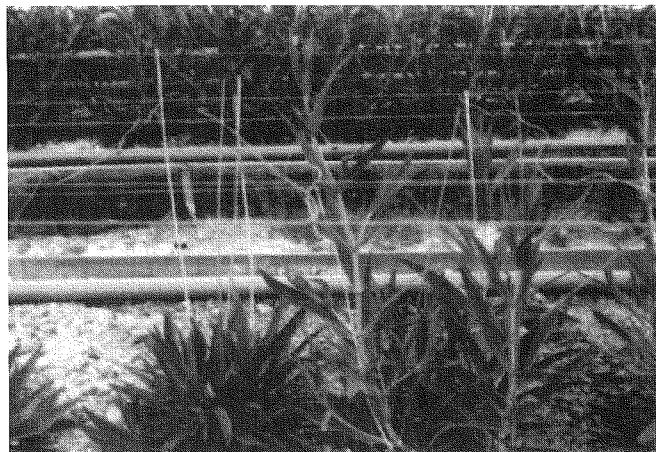
時間以下の短日および株の老化が考えられている（吾妻・犬伏, 1986; 須藤ら, 1987）。一方、ロゼット化防止対策として、低温処理（藤田, 1987; 武田ら, 1981a, 1982; 宮本ら, 2000）、長日処理（武田ら, 1981a, 1982）および生育調節剤処理（武田ら, 1981b, 1982）が用いられている。また、ロゼット性については、川田（1984）は、キクの発育相をロゼット相、幼若相、感光相および成熟相に分け、ロゼット性とはロゼット打破に必要な低温期間であると定義すべきだとしている。

Doiら（1984）や藤田（1987）は、シュッコンカスミソウにおいてロゼット化することと低温要求性の大きいこととの間に正の相関があることを報告している。また、土井ら（1991）

は、低温遭遇後の種々の段階で高温処理を行い、低温要求性の大きい品種系統ほど高温に対する反応が強く、これらの品種系統では栄養生長段階のシートに昼温30°C、夜温25°Cの高温処理を10日間行うことでロゼット化が誘導できるとしている。

本研究では、茎頂培養個体および茎頂由来カルスからの再分化個体を供試したが、カルスからの再分化個体では、茎頂から伸長した個体に比べて、試験管内での生育のばらつきが大きかった。また、は場においてもカルスからの再分化個体では、同一時期の調査でロゼット化した個体から開花個体まで認められたのに対し、茎頂から伸長した個体ではすべての個体において発らい、開花が認められた（第3表）。この結果は、培養系においてカルスを経由することにより、培養細胞の遺伝的不安定性のため変異が発生しやすくなるとした報告（河合, 1985）と一致し、カルス経由の培養系は培養変異の拡大に有効であることがわかった。

ジベレリンとストックの開花調節との関係について、藤田（1978）は、ジベレリン処理によって開花を促進し、花芽形



第5図 試験管内選抜個体のは場での生育
(1988年10月2日撮影)

左: 伸長抑制程度大, 右: 伸長抑制程度小

第3表 培養系の違いによるは場での生育の比較

| 培養系 | ロゼット株数 | 発らい株数 | 開花株数 |
|-----------|--------|---------|----------|
| | 株(%) | 株(%) | 株(%) |
| カルスからの再分化 | 2(8.0) | 5(20.0) | 18(72.0) |
| 茎頂から伸長 | 0(0) | 1(4.0) | 24(96.0) |

注) 供試系統: BF-25, 定植: 1989年8月30日, 摘心: 9月5日

成に必要な低温の一部を代替するとしている。さらに、Hisamatsu and Koshioka (2000) は、ウニコナゾール処理により、内生ジベレリン濃度を極端に低下させることによって、開花が抑制され、花芽分化における活性型ジベレリンの必要性を確認し、低温処理によってその感応性が高まることを報告している。西島 (2000) は、低温で花成誘導されたダイコンにウニコナゾールを処理し、内生活性型ジベレリンのレベルを下げる抽台がほぼ完全に押さえられ、花成も著しく遅れることを報告している。さらに、西島 (2000) は、抽台、花芽分化の過程における活性型ジベレリン濃度の変動について、栄養成長期 (ロゼット株) では、活性型ジベレリンは葉のみで存在して茎には存在しないこと、生殖成長にはいると茎での内生活性型ジベレリンのレベルが上がることおよびその反応が品種によって異なることを確認している。また、この反応は、温度や日長条件によっても異なるとしている。

また、天野らは、キクにおいてウニコナゾールやアンシミドールを培地に添加することによって、試験管内でロゼット化を誘導し、伸長抑制効果は、品種の有するロゼット性程度と関係が深いことを指摘している。

本研究により、シュッコンカスミソウで、アンシミドール 2.0mg/liter 添加培地を用いて 20°C, 3,000lx, 16 時間照明下で培養することによって、試験管内での伸長とほ場での生育との間で整合性を確認し、試験管内での低ロゼット個体の選抜が可能であることがわかった。また、本研究では、ジベレリン合成の阻害ステップがアンシミドールと同じ (Rademacher, 2000) ウニコナゾール添加培地においても同様の傾向を示しており、ジベレリンがロゼット化に何らかの影響をもっているものと思われる。また、本研究の結果から、シュッコンカスミソウにおいて茎の伸長には一定の活性型ジベレリンが必要であり、そのレベルがロゼット性程度と関係があるものと推察される。また、今回の培養条件 (20°C, 3,000lx, 16 時間照明) では、アンシミドール 2.0mg/liter を添加することによって、内生活性型ジベレリン濃度が低下し、その時の活性型ジベレリンのレベルがロゼット性の判別に適していたものと思われる。ウニコナゾール添加培地では、内生ジベレリン濃度が極端に低下したため、すべての系統においてロゼット状の生育を示したものと考えられる。

今回、開発した技術は、シュッコンカスミソウの育種技術の効率化はもちろん、組織培養による種苗生産の過程においてもロゼット性程度の判別に利用でき、高付加価値種苗の生産に活用できるものと思われる。

摘要

シュッコンカスミソウの培養過程において効率的にロゼット化しにくい個体を選抜するため、試験管内の選抜法について検討した。

1. シュッコンカスミソウではカルスからの再分化個体では、茎頂培養個体に比べて試験管内およびほ場での生育のばらつきが大きく、変異の拡大に有効であった。
2. 茎頂培養個体または茎頂由来カルスからの再分化個体をアンシミドール 2.0mg/liter 添加した 1/2 MS 培地を用い、20°C, 3,000lx, 16 時間照明下で培養することによって、試験管内での植物体の伸長抑制程度 (草丈) が系統の特性と一致し、試験管内での低ロゼット個体の選抜ができた。
3. 試験管内で選抜した植物体を栽培した結果、試験管内での伸長抑制程度とほ場移植後のロゼット性程度が一致し、試験管内での選抜が有効であることが検証できた。

引用文献

- 吾妻浅男・犬伏貞明. 1986. シュッコンカスミソウのさし芽苗のロゼット化の要因について. 園学要旨. 昭61秋: 370-371.
- 天野正之・柴田道夫・竹内和俊・浜田正博. 1986. キク遺伝資源の組織培養による長期保存（第1報）*in vitro*におけるロゼット化植物体の誘導. 園学要旨. 昭61春: 390-391.
- 土井元章・森田隆史・武田恭明・浅平端. 1990. シュッコンカスミソウシートの異なる生育段階における高温遭遇がロゼット化および奇形花発生に及ぼす影響. 園学雑. 59: 795-801.
- Doi, M., Y. Takeda and T. Asahira. 1984. Differences in flowering response to low temperature among cultivars of *Gypsophila paniculata* L. and among vegetative lines of cv. Bristol Fairy. Mem. coll. Agric., Kyoto Univ. 124: 27-34.
- 藤田政良. 1987. 和歌山県におけるシュッコンカスミソウ品種ならびに系統の生態比較. 宿根花きの広域的生態比較に基づく省エネルギー的新作型の開発と生産安定. 昭和61年度科学研究費補助金（試験研究1）研究成果報告書: 67-72.
- _____. 1978. ストックの作付体系に関する研究（第4報）ジベレリン処理が、無分枝系品種の生育、開花に及ぼす影響. 和歌山農試研報. 6: 213-223.
- T. Hisamatsu and M. Koshioka. 2000. J. Hort. Sci. & Biotech. 75:672.
- 川田穰一. 1984. キクの開花調節Ⅱキクの開花生態. 昭和59年秋季園芸学会シンポジウム要旨: 106-113.
- 河合武. 1985. 海外におけるバイオテクノロジー研究の動向 [1]. 農及園. 60 (1): 99-104.
- Kusey, W. E. Jr., T. C. Weiller and P. A. Hammer. 1981. Seasonal and Chemical influence on the Flowering of *Gypsophila paniculata* 'Bristol Fairy' Selection. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 106 (1): 84-88.
- 宮本芳城・藤岡唯志・藤田政良. 1990. シュッコンカスミソウにおける茎頂由来カルスからの植物体再生. 園学雑. 59 (別3): 654-655.
- _____. 小畠利光. 2000. シュッコンカスミソウの苗冷蔵による促成栽培. 和歌山農林水技セ研報1: 37-42.
- 西島隆明. 2000. ダイコンの花成・抽苔の調節機構とその制御—特にジベレリンとの関連性を中心として—. 野茶試研報 15: 135-208.
- Rademacher, W. 2000. Growth retardants: Effects on Gibberellin Biosynthesis and Other Metabolic Pathways. Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant. Mol. Biol. 51:501-531.
- Shillo, R. and Halevy, A. H. 1982. Interaction of photoperiod and temperature in flowering control of *Gypsophila paniculata* L. Sci. Hortic. 16: 385-393.
- 須藤憲一・国重正章・西尾小作. 1987. 気温、日長、日射量がシュッコンカスミソウの生育に及ぼす影響. 野菜・茶業試験場研究報告, A, 1: 235-247.
- Suge, H. and L. Rappaport. 1968. Role of gibberellins in stem elongation and flowering in Radish. Plant Physiol. 43: 1208-1214.
- 武田恭明. 1984. 省エネルギー型施設園芸を目的とした宿根花き導入に関する基礎的研究. 昭和58年度科学研究費補助金（一般研究B）研究成果報告書: 1-27.
- _____. 土井元章・浅平端. 1981a. シュッコンカスミソウのロゼット化に及ぼす温度、光および苗齢の影響. 園学要旨. 昭56春: 377-378.
- _____. _____. 浅平端. 1981b. シュッコンカスミソウのロゼット解除に及ぼす生長調節物質の影響. 園学要旨. 昭56秋: 306-307.
- _____. _____. _____. 1982. シュッコンカスミソウのロゼット化抑制に及ぼす温度、光および生長調節物質の影響. 園学要旨. 昭57秋: 382-383.

Summary

We investigated methods for efficiently selecting low rosette plants *in vitro* to *Gypsophila paniculata* L.

1. The regenerated plants had a variability than node-top culture plants *in vitro* and in the field, and they were used for increasing variability.
2. The selection of low rosette plants at plantlet stage *in vitro* was attained by culturing them on 1/2 MS medium supplemented with 2.0mg/liter ancytidol under 20°C, 3000lx, 16hr/day photoperiod.
3. In low rosette selection, the result *in vitro* coincided with those under field conditions.