

## キクの組織培養 (第2報)

茎切片培養生株の染色体数変異

宮崎 貞巳・田代 洋丞

(蔬菜・花卉園芸学教室)

昭和51年9月30日 受理

Tissue Culture of *Chrysanthemum morifolium* RAMAT.

### II. Variation in chromosome number of plants regenerated from stem segments *in vitro*

Sadami MIYAZAKI and Yōsuke TASHIRO

(Laboratory of Olericulture and Floriculture)

Received September 30, 1976

#### Summary

Two plant populations from callus originated from internodal stem segments of *Chrysanthemum morifolium* cvs. "Kayō-no-sakura" ( $2n=54$ ) and "Matsu-no-yuki" ( $2n=56$ ) were studied on differences in somatic chromosome number in root tip cells of top cuttings.

In each population, variation in chromosome number was observed not only among plants but also in the roots and/or cells of a plant. In the plant with the variation between cells, there were detected a large part of cells having a principal chromosome number along with some variant cells in which one to two chromosomes were lost or added to the main chromosome constitution.

The main chromosome numbers of the plants regenerated from "Kayō-no-sakura" varied between 51 and 54. Out of the 34 regenerated plants, 16 were lower in the chromosome numbers than the parental plant, and the remains had 54 chromosomes. The variation in number within and/or between roots was found in all the 27 except 7 plants with uniform chromosome number. Fragments and large chromosomes with secondary constriction were frequently observed in their cells.

Variation in chromosome number of the plants produced from "Matsu-no-yuki" was similar to that of the plants from "Kayō-no-sakura"; the main chromosome number of the plants had a range of  $2n=54-56$ , and the rate of the plants with lower chromosome number than the parental plant were 70%. The plants originated from the same internodal stem showed different chromosome number each other.

Some changes in the phenotypes such as flower color, inflorescence size, floret shape and plant height were observed among the plants regenerated from "Kayō-no-sakura", but these changes were rarely observed among the regenerates from "Matsu-no-yuki".

#### I. 緒 言

植物の組織培養によって生じた株の中には培養の素材となった親株とは形態的に異なる株がしばしば観察されている<sup>30)</sup>. このように形態的に変異した株の染色体数については、親株と同じ場

合<sup>4)7)25)31)</sup>, あるいは異なる場合が報告されている<sup>19)24)32)48)</sup>.

キクの組織培養でも, 培養生株が形態的に変異したという報告<sup>1)3)11)18)20)</sup>と全く変異が認められなかったという報告<sup>12)35)47)</sup>があるが, 細胞学的調査が行われた2例の報告<sup>20)47)</sup>では変異株は見出されていない。

オランダで栽培されているキクの品種の起源が判明している633品種のうち, 29.5%が枝変わりによって生じたものであるという<sup>46)</sup>. また, 英・米両国の起源の明らかな枝変わり品種の約30~50%が元の品種と比較して染色体数に変異があった<sup>8)9)37)</sup>.

上述のように, 栽培ギクにはかなりの枝変わり品種が存在し, それらの染色体数にも変異がみられることから, 著者らは, 組織培養によって細胞学的変異株が出現する可能性があると考え, 切花用中輪ギクの2品種を用いて, 茎の横断切片を培養し, 生じた株の細胞学的調査を行った. 若干の興味ある知見が得られたのでここに報告する.

## II. 材料および方法

培養生株の育成過程: 切花用中輪品種の‘華陽の桜’と‘松の雪’を長日下で栽培し, 最も若い展開葉着生節から下方へ数えて第5節と第6節間を長さ約2.5mmに横断した茎切片を, ‘華陽の桜’ではIAAとkinetinのそれぞれ0.1-1, 0.1-3, 1-0.1, 1-1, 1-3 (mg/l)を, ‘松の雪’では1-3 (mg/l)を組合せて添加したMurashige and Skoogの寒天培地(30×150mm試験管に20ml)に1切片ずつ植付けた. これらの培養物は $28^{\circ}\pm 1.5^{\circ}\text{C}$ , 16時間日長下で培養した. なお, 茎の殺菌や培地の調製は前報<sup>27)</sup>に準じて行った.

‘華陽の桜’では, 培養を開始してから約6か月間に生じたシュートを蔗糖および生長調節物質無添加のMurashige and Skoog培地に無菌的に挿芽し, 発根後パーミキュライトに仮植し, その後圃場に定植して開花させた. ‘松の雪’では, 培養開始後20週間で1切片当り1本の小植物が得られたのでパーミキュライトに仮植し, その後鉢上げして栽培した.

細胞学的調査法: 両品種とも, 培養生株の開花株から生じたシュートの頂部を切取って天挿し, これから発生した根を0.05%コルヒチン水溶液により室温で3時間前処理し, 酢酸・アルコール混合液(1:3v/v)で固定した. 染色体の観察は固定した根端を10分間,  $60^{\circ}\text{C}$ の1規定塩酸で解離後にホルゲン染色し, 押しつぶし法で行い, 各根端の20細胞以上の分裂中期像を染色体の調査対象にするように努めた. また, 染色体数の決定に当っては検鏡標本作製の際の細胞破壊にもなう染色体の逸脱や混入に留意し, 疑いのある細胞は観察から除外した.

‘華陽の桜’では, 培養生株34株, それらの挿芽苗98本(培養生株当り2~3本, 平均2.9本), 根端411本(挿芽苗1本当り1~7本, 平均4.2本), 細胞6,798個(1根端当り1~91個, 平均16個)について染色体調査を行い, ‘松の雪’では, 培養生株10株, 挿芽苗30本(培養生株当り3本), 根端139本(挿芽苗1本当り1~6本, 平均4.6本), 細胞3,756個(1根端当り4~110個, 平均27個)を供試した.

体細胞分裂異常の調査は, 染色体観察に供試した挿芽苗から根を採取し, 直ちに固定・染色して行った.

## III. 結 果

### 1. 親株の染色体数

茎切片培養の親株として‘華陽の桜’では2株を用いた. それらの株の天挿苗の根端細胞染色

Table 1. Chromosome numbers of mitotic cells in root tips of parental plants of *Chrysanthemum morifolium* cv. "Kayō-no-sakura" and "Matsu-no-yuki".

Cultivar	Plant no.	No. of cutting	No. of root	No. of cell	Distribution of cells		
					chromosome number		
					54	56	57
Kayō-no-sakura	1	7	20	447	447		
	2	3	9	164	164		
Matsu-no-yuki	1	5	25	520		505	15
	2	3	14	248		248	
	3	3	14	350		350	
	4	3	12	493		493	

Table 2. Variation of chromosome number within individual plant regenerated from stem segments of *Chrysanthemum morifolium* cv. "Kayō-no-sakura".

Plant no.	Cutting no.	Root no.	No. of cell	Distribution of cells				
				Chromosome number				
				50	51	52	53	54
B-4	1	1	34			1	33	
		2	50				50	
		3	74				72	2
		4	28				22	6
		5	40				35, 5(+f)	
	2	1	27				27	
		2	26			1(+f)	24, 1(+f)	
		3	12				12	
		4	11				11	
		5	16				16	
	3	1	30				5, 22(+f), 1(+2f)	2
		2	20				3, 16(+f), 1(+2f)	
3		14			4(+sc)	8	2	
4		22				12	10	
D-12	1	1	21			21		
		2	14			13, 1(+f)		
		3	29			28, 1(+f)		
		4	10			10		
		5	4			4		
	2	1	27			26, 1(+f)		
		2	14			14		
		3	12			12		
		4	2			2		
		5	4			4		
	3	1	7		7			
		2	9			9		
		3	17	1(+f+sc)		16		
		4	11		11			
		5	23		22, 1(+f)			

f: Fragment chromosome. sc: Large chromosome with secondary constriction.

体数の調査結果は第1表の通りで、10本の挿芽苗から発生した29本の根の分裂中期細胞のすべてが54本の染色体を有していた(第1図)。

‘松の雪’の培養では親株として4株を用いた。それらの株の天挿芽苗の根端細胞の染色体数調査では、ほとんどの細胞が $2n=56$ であった(第6図)が、親株番号1からの挿芽苗5個体のうち1個体から発生した3本の根の1本に、観察した52細胞中 $2n=57$ の細胞が15個認められた(第1表)。

#### 2. 培養生株の挿芽苗の同一根端内における染色体数の変異

第2表と第3表にそれぞれ‘華陽の桜’と‘松の雪’の培養によって生じた株の挿芽苗から発生した根の染色体数調査結果の一例を示した。同一根端内に染色体数が異なる細胞が混在していた。すなわち、‘華陽の桜’では34株のうち27株(80%)、調査した411本の根のうち60本(15%)に、‘松の雪’では10株中9株(90%)、調査した139本の根のうち28本(20%)に変異が認められた。これらの変異細胞は1~2本の染色体の増減を伴っている場合と、それらの増減に加えて1~2個の断片染色体や2次狭窄を有する大型の染色体をもつ場合があった(第5, 8, 10図)。

#### 3. 培養生株の同一挿芽苗の根間における染色体数の変異

同一根内に種々の染色体数を有する細胞が混在していることが確かめられたが、それらの細胞の中で最も出現頻度が高い染色体数について同一挿芽苗から発生した根を調べてみると、‘華陽の桜’の培養生株では13株(14挿芽苗)、『松の雪』の培養生株では2株(4挿芽苗)の根間に差が認められた。これらのそれぞれの株の3本の挿芽苗の中では1本に変異が認められる場合が多かったが、‘松の雪’の培養生株 M-1 と M-9 では3本の挿芽苗のうち2本にその変異が見出された(第3表)。

#### 4. 同一培養生株の挿芽苗間における染色体数の変異

各培養生株の3本の挿芽苗について、各苗で最も出現頻度が高い染色体数を比較した場合、『華陽の桜』の培養生株 B-4 では、3本の挿芽苗のうち2本が $2n=53$ で、1本は $2n=53+f$ であり、D-12 および E-1 ではそれぞれ2本が $2n=52$ で、他の1本は $2n=51$ であった(第2表)。また、『松の雪』の培養生株 M-1 では3本の挿芽苗のそれぞれが異なり、 $2n=54$ 、 $2n=54+f+sc$  および  $2n=55+f$  であった(第3表)。

Table 3. Variation in chromosome number within a plant regenerated from a stem segment of *Chrysanthemum morifolium* cv. "Matsu-no-yuki".

Plant no.	Cutting no.	Root no.	No. of cell	Distribution of cells				
				Chromosome number				
				53	54	55	56	
M-1	1	1	19			11, 8(+f)		
		2	14	14(+f)				
		3	22			3, 17(+f)	2	
		4	26		26			
	2	1	10		8(+f+sc)		2(+2f)	
			23		1(+2f)		21(+f)	1
		3	2	46				2, 44(+f)
			3	24			14, 10(+f)	
			4	21			21(+f)	
			5	28			28(+f)	

f: Fragment chromosome. sc: Large chromosome with secondary constriction.

Table 4. Chromosome numbers of mitotic cells in root tips of regenerated plants from stem segments of *Chrysanthemum morifolium* cv. "Kayō-no-sakura".

Plant no.	No. of cutting	No. of root	No. of cell	Distribution of cells						
				Chromosome number						
				50	51	52	53	54	55	
A- 1	2	8	126				126			
2	3	10	109			15	93, 1(+f)			
3	3	13	221					178		43
4	2	9	81			1(+f)	79, 1(+2f)			
B- 1	3	15	242				17, 2(+f)	223		
2	3	13	264		264					
3	2	8	253			252, 1(+f)				
4	3	14	404			1, 1(+f), 4(+sc)	330, 44(+f), 2(+2f)	22		
5	3	15	257				32, 1(+f)	222, 2(+f)		
6	2	8	168			25, 2(+f)	140, 1(+f)			
7	3	15	322			320	2			
8	3	14	265		6, 1(+f)	257, 1(+f)				
C- 1	3	14	265				2, 1(+f)	262		
2	3	15	244				239, 2(+f)	3		
D- 1	3	12	132			2(+sc)	2, 1(+f)	127		
2	3	12	257				4(+f)	252, 1(+f)		
3	3	11	228				7	221		
4	3	13	413			2(+sc)		401, 10(+f)		
5	3	12	208				206, 1(+f)	1		
6	3	14	293			2(+sc)	2, 2(+f)	287		
7	3	11	187				4(+sc)	178		5
8	3	12	242					239, 1(+f), 2(+2f)		
9	3	14	137				2(+f)	135		
10	3	11	258				2(+f), 3(+sc)	252, 1(+f)		
11	3	14	205					205		
12	3	16	209	1(+f+sc)	40, 1(+f)	164, 3(+f)				

13	3	10	83		1(+2f), 1(+sc)	4,1(+f)	76
14	3	10	101			5	96
15	3	14	161	17(+f)	144		
16	3	6	33				33
E- 1	3	13	123	53	70		
2	3	13	108				107, 1(+f)
3	3	13	109		108, 1(+f)		
4	3	9	90		4	86	

f: Fragment chromosome. sc: Large chromosome with secondary constriction.

Table 5. Chromosome numbers of mitotic cells in root tips of regenerated plants from stem segments of *Chrysanthemum morifolium* cv. "Matsu-no-yuki".

Parental plant			Regenerated plant				Distribution of cells			
Plant no.	Shoot no.	Segment no.	Plant no.	No. of cutting	No. of root	No. of cell	Chromosome number			
							53	54	55	56
1	2	2	M- 1	3	10	233	14(+f)	26, 1(+2f), 8(+f+sc)	28, 105(+f), 2(+2f)	5, 44(+f)
2	1	2	M- 2	3	12	273		1(+2f), 1(+sc)	268, 3(+f)	
		3	M- 3	3	14	438	2(+f), 5(+sc)	412, 5(+f), 2(+sc)	11	1
		2	M- 4	3	15	470			469, 1(+f)	
3	2	3	M- 5	3	12	329			1(+f)	327, 1(+f)
		1	M- 6	3	15	403			401, 1(+f), 1(+sc)	
		2	M- 7	3	15	482				482
4	2	3	M- 8	3	15	510			1(+f)	499, 1(+f)
		3	M- 9	3	15	371		4, 1(+f)	292, 23(+f)	51
		3	M-10	3	16	282			279	3

f: Fragment chromosome. sc: Large chromosome with secondary constriction.

## 5. 培養生株間の染色体数の変異

培養生株の最も出現頻度が高い染色体数について、親株の染色体数と比較した場合に差異が認められた株は、‘華陽の桜’の培養生株では47.1%、‘松の雪’の培養生株では70%であった。細胞レベルでは、‘華陽の桜’の培養生株 A-3 および D-7 に見られるように（第4表）、親株のそれよりも1本多い  $2n=55$  の細胞が観察されたが、最も出現頻度の高い染色体数は親株よりも1～3本減少していた（第4、5表——それぞれ第2表と第3表のように根別に染色体数を調査した結果を株別にまとめて表記した）。‘華陽の桜’の培養生株では染色体数が親株よりも1本減少した  $2n=53$ （第2図）は8株、2本減少した  $2n=52$ （第3図）は7株、3本減少した  $2n=51$ （第4図）は1株であった。また、‘松の雪’の培養生株では1本減少した  $2n=55$ （第7図）が5株、1本減少し断片染色体が含まれている  $2n=55+f$  の株が1株、2本減少した  $2n=54$ （第9図）が1株見出された。

また、第5表の‘松の雪’の培養生株 M-2 と M-3, M-6 と M-7 および M-9 と M-10 はそれぞれ同一親株の同一茎から切取った切片由来の株であるが、これらの株間にも染色体数に差異が認められた。

## 6. 親株および培養生株の細胞分裂異常

‘華陽の桜’およびその培養生株の根端分裂組織について体細胞分裂後期から終期にかけての染色体橋（第11, 13図）と遅滞染色体（第12図）の調査を行った。‘華陽の桜’の調査した10本の挿芽苗すべてに染色体橋と遅滞染色体の両方が観察され、異常分裂の頻度は1.5～7.7%であった

Table 6. Frequency of abnormal mitotic divisions in root tips of parental plant cv. “Kayō-no-sakura”.

Cutting no.	No. of root	No. of cells at anaphase			No. of cells at telophase		
		With bridges	With laggards	Total	With bridges	With laggards	Total
1-1	3	3	2	96	7	7	174
2	3	4	3	98	2	5	179
3	4	9	5	192	0	6	125
4	3	4	4	86	3	1	70
5	5	1	3	91	1	2	67
6	3	1	0	18	1	0	42
7	3	5	0	92	6	3	98
8	5	2	1	156	0	1	107
9	4	3	2	138	3	2	91
10	5	1	0	102	6	1	207
Total	38	33	20	1069	29	28	1160

Table 7. Frequency of abnormal mitotic divisions in root tips of regenerated plants from cv. “Kayō-no-sakura”.

Plant no.	No. of root	No. of cells at anaphase			No. of cells at telophase		
		With bridges	With laggards	Total	With bridges	With laggards	Total
A-3	3	3	0	229	7	4	456
A-4	3	3	3	106	2	3	166
B-1	3	0	2	58	8	4	218
B-2	5	0	1	65	4	7	224
Total	14	6	6	456	21	18	1067

(第6表). また, 培養生株では, 調査した4株のすべてに染色体橋と遅滞染色体の両方が認められ, 異常分裂の頻度は2.4~5.0%であった(第7表). さらに, 親株にも培養生株にも染色体数の減少を示す1~2個の小核を有する分裂休止期の細胞が観察された(第14図).

#### 7. 培養生株の形質の変異

‘華陽の桜’は満開時には花序の中心部が黄橙色, 周辺が極く淡い桃色で約270個のさじ型の舌状花を有し, 半球状となり, 花径が約12cmである(第15図). ところが, 培養生株の中には, 花色が黄色(第16図), 桃色(第17図左)あるいはほとんど白色(第18図)になったり, 舌状花が管弁(第17図左)や平弁(第18図)となった変異が見られた. 花径や草丈は栽培条件によってももちろん変異する. 本実験では, 同一条件下で栽培したのであるが, 一般に培養生株は草勢が弱い株が多く, 草丈が親株よりも極端に低い株が認められ, また, 花径が8cm程度の小輪となった株もみられた(第16図). 一方, ‘松の雪’は, 白色で管状の舌状花を有し, 花径が約16cmであるが, その培養生株の花序の形質や草勢は親株に類似していた.

### IV. 考 察

#### 栽培ギクの染色体数について

栽培ギクは $n=9$ を基本数とする異質倍数体であると考えられていて<sup>8)</sup>, 現存する431品種について染色体数調査結果は $2n=36\sim75$ におよんでいることを示している<sup>8)9)13)14)37)</sup>. これらの中では $2n=54$ の品種が最も多く, 全体の約30%を占め,  $2n=53$ は約10%で, 53本未満の染色体をもつ品種は僅かに3%にすぎない. また, 同一品種名で各地で栽培されている系統の中には染色体数に変異している株も存在していることが知られている<sup>21)</sup>. さらに, 同一品種内でも染色体数に変異があり, 2種類以上の染色体数をもつ品種は調査された149品種の約35%に達している<sup>8)9)37)</sup>. 一般に, 品種の染色体数は根端細胞で調査され, 同一品種の中で最も出現頻度の高い染色体数(main chromosome number)で表わされている. 染色体数変異細胞の出現率は調査された細胞数が少なく個々の品種では明らかにされていない. ‘天が原’と‘黄天が原’の2品種について127本の根が調査された中で10本(7.9%)が2種類以上の染色体数をもつ細胞を混在していた<sup>21)</sup>.

栽培ギクの育種は, わが国では単純で変異しにくい色彩を選抜する傾向にあり, 枝変りの発生率が低く<sup>45)</sup>, 一般に交雑によって行われているが, 外国では栽培中に生じた形質の変異, 特に花色や草勢の変異に注目して選抜されることも多い<sup>8)42)</sup>. オランダでは枝変り品種の割合が約30%に達している<sup>46)</sup>し, 英国の主要栽培品種‘Favourite’群には26種類以上の枝変り品種が含まれている<sup>9)</sup>. 英国および米国において, 由来が判明している枝変り品種群に関し, 各品種の最も出現頻度の高い染色体数について元の品種と比較された結果, それぞれ53.7%<sup>3)9)</sup>および31.8%<sup>37)</sup>が変異していることが明らかにされている. この場合, 染色体数が増加している品種は15.9%, 減少している品種は25.6%で, 増減数は1~2本の場合が多いが, ‘Favourite’群中の‘Shuffil's Favourite’( $2n=47$ )は9本の染色体が減少し, 草勢が弱く奇形となっている<sup>8)</sup>. 同様な現象は‘天が原’( $2n=56$ )の1系統( $2n=52$ )でも認められている<sup>21)</sup>.

栽培ギクは, 染色体数が多く, 品種によってその数が異なるばかりでなく, 染色体そのものが極めて小さく, 長さほとんど差がないので核型分析は困難である. しかしながら, 特徴的な染色体, つまり, 付随体染色体, 断片染色体(B-染色体), 2次狭窄を有する染色体(2動原体染色体)および小型染色体については調査が行われている. これらの染色体の中で最も出現頻度の高い断片染色体についての調査では, 307品種中, 1個の断片染色体を有する品種が10.4%, 2個を有する品種が1.3%となっている<sup>8)9)13)14)21)</sup>. 枝変り6品種群23品種における断片染色体の有



無の調査では、1品種群の3品種のみに観察されている<sup>9)</sup>。また、X線照射処理された品種では染色体数の変異のみならず、断片染色体の出現率が極めて高くなっている<sup>10)</sup>。2動原体染色体<sup>8)</sup>や小型染色体<sup>21)</sup>についての報告はそれぞれ1例にすぎない。

上述のように栽培ギクのある品種では同一個体の根端において、細胞レベルで染色体数に差異がみられている。このような変異の生起には次のような場合が想定される。

1) キクの不定根の原基は、茎の5個の大型維管束に接した1層の細胞からなる内鞘の2～3細胞の分裂によって形成されることが明らかにされている<sup>41)</sup>。この根の起源となる2～3細胞の染色体数が互に異なっている場合には、混数の細胞群の出現は当然予期される。

2) 不定根の原基は均一な染色体構成であっても、その後の不定根の生長過程において根端細胞に分裂異常が起れば、新たに異なった染色体数をもつ細胞群が出現しうる。

3) 1)と2)が組合わさって起る場合。1)では内鞘の2～3細胞が同じ頻度で分裂して根を形成したとすれば、染色体数の異なる細胞が観察される割合は1:1あるいは1:2となることが期待される。2)の場合、分裂異常が起る頻度は品種や環境条件によって異なっているようであり、これまでの観察結果では0.89～5.5%となっている<sup>8)21)37)</sup>。このような根の生長途上で起る染色体数の変異では、変異細胞の活力はもちろん生起した時期や位置などによっても、その出現頻度が異なるであろう。また、変異の種類や程度は、分裂異常のありようによって、さまざまとなる。

3)では1)や2)の場合よりも複雑な変異が予想される。キクのような多ゲノムからなる植物では、比較的大幅な染色体の変異を遂げても細胞は生存しうるが、極端な変異が生起すれば、致死する場合も考えられる。

#### 培養生株の染色体数の変異について

本実験では、培養に用いた親株ならびに培養生株の染色体数調査には、慣行の繁殖法に準じてこれらの株から採取した茎の頂部を天挿して、発生した根の根端細胞の染色体を数える方法を採った。親株に用いた‘華陽の桜’では調査したすべての根端細胞が同数の染色体を有していたが、‘松の雪’では親株に用いた4株の中の1株に異なる染色体数をもつ細胞が認められた(第1表)。すなわち、この株から採取した5本の天挿苗の1本から発生した3本の根を調査した中で、1本の根端の52個の分裂細胞の中で37細胞が56本の染色体を有し、残りの15細胞は57本であった。これらの変異細胞は、染色体数の変異の幅は狭く僅かに1本の増加を示したに過ぎなかったが、その出現頻度は高かった。この親株から生じた培養生株の染色体数の変異の幅(第3,4表)は、染色体数に変異していない親株から生じた株(第4表)と比較して大きいので、根端で調査した親株の染色体数の変異の幅と培養生株のそれとは関係があるように考えられる。Heinz and Mee<sup>17)</sup>はサトウキビの2品種を用いて染色体数が一定の株と種々の染色体数をもつ株の茎頂由来のカルスを培養し、これらの培養生株の染色体数を調べたところ、前者に由来する株は変異が認められなかったが、後者に由来する株はかなりの変異を示し、その変異の方向は染色体数減少の方向であったことを報告している。このサトウキビの結果は上述の‘松の雪’の親株の染色体数と培養生株の染色体数との関係と一致しているようである。

しかしながら、根端細胞が内鞘に由来しているにしても、内鞘細胞の染色体数が株全体あるいは培養に用いた茎横断切片全体の細胞の染色体数を必ずしも表わしているとは限らない。また、染色体数が異なる2種類の組織が茎横断切片中に混在していたとしても、培養生株の染色体数は2種類以上であり、しかも親株の染色体数よりも少なかった。Stewart and Dermen<sup>42)</sup>は米国の主要栽培品種の‘Indianapolis’の枝変りによって生じた16品種の茎頂分裂組織の3層の組織分化層(histogenic layers)について、各層の花色の遺伝性を分析した結果、12品種が周辺キメラであることを明らかにした。D'Amato<sup>6)7)</sup>は、多くの高等植物について、内鞘や生殖細胞などを除

いた他の多くのさまざまに分化した組織が倍数性であることを指摘している。また、Shimada and Tabata<sup>38)</sup> はタバコの髓を培養し、植付片の第1回の分裂で種々の異数性細胞(全分裂細胞の70%)、倍数性および2倍性細胞を観察し、さらに、Murashige and Nakano<sup>39)</sup> および Kaoら<sup>22)</sup> もタバコの髓の培養初期の培養物でこれら3種類の細胞を観察している。前者は *in vivo* での age の進行につれて異数性や倍数性細胞が増加することも報告している。また、培養中に培養物の染色体数に変異することもよく知られている<sup>5)38)39)40)</sup>。これらの事例を考え合わせると、親株と培養生株の根端細胞の染色体数調査結果から、その変異の原因について簡単に結論することはできないようである。

根端の調査で同一染色体数の細胞を有する‘華陽の桜’と2種類の染色体数を有する細胞が混在している‘松の雪’の両品種から生じた株は、親株の染色体数と比較して高い割合で変異し、その変異の様相は減少方向にあり、現存の品種には見られないほど高率に断片染色体や2次狭窄をもつ大型染色体を有していた。これらの結果から、恐らく、栽培ギクは、たとえ品種が異なっても、本実験で用いた培養系では同様な変異の様相を示すのではないかと考えられる。

本実験では、他の植物の組織培養由来の株について見出されている親株の染色体数よりもその数が多い異数性株<sup>16)36)</sup> および倍数性株<sup>2)15)23)26)28)43)</sup> が得られなかった。細胞レベルでは親株の染色体数よりも1本多い細胞が培養生株の一部に観察されたこと(第2表)から、培養物中ではこれらの細胞の出現頻度が低いためにシュートを分化するまでには至らなかったのではないかと考えられる。また、植物の分化した組織は種々の倍数性および異数性細胞から構成されていることが指摘され<sup>6)29)38)44)</sup>、培養中に染色体の量的・質的变化が起ることも報告されている<sup>33)38)40)</sup> が、栽培ギクの場合はヒマワリやキクイモ<sup>34)</sup>と同様に倍数性細胞が存在せず、培養中にも染色体の変化が起らない特殊な種類に属するのかもしれない。また、培養物中に倍数性細胞を含む種々の細胞が混在していたとしても、本実験で用いた培地にはこれらの細胞の分裂を誘起し、組織化を促す物質が存在していなかったかあるいは不足していたのかもしれない。

慣行栽培下でのキクの変異性が大きいことから、本実験では株全体ではなく、株の一部を慣行栽培条件下よりもすぐれた環境下で培養してカルスの分化を促し、シュートを発生させ、多数の培養生株を得ることによって形態学的・細胞学的変異株の出現を予期した。その結果は期待の一部を満たしたといえよう。

また、本実験では高い割合で異数性株が得られた。著者らが知る限りでは培養による多数の異数性株の作出例はサトウキビ<sup>16)17)</sup>とタバコ<sup>36)</sup>に限られている。キクを含めてこれらの種類が異質倍数性であることは注目に値しよう。

## 摘 要

切花用中輪ギクの2品種、‘華陽の桜’(2n=54)と‘松の雪’(2n=56)の茎横断切片をIAAとkinetinを添加したMurashige and Skoog培地で培養して生じた株の染色体調査を、天挿苗の根端を用いて行なった。結果は次の通りである。

1-1. ‘華陽の桜’の培養生株の染色体数は2n=51~54であり、親株よりも少ない染色体を有する株は34株中16株であった。

1-2. 同一挿芽苗から生じた根の間にも、また、同一根の細胞間にも染色体数が異なる場合があった。さらに、断片染色体や2次狭窄をもつ大型染色体を有する細胞も観察された。

2-1. ‘松の雪’の培養生株の染色体数は親株と同数か1~2本減少していて、減少株は10株中7株であった。

2-2. 同一挿芽苗の根間にも、同一根の細胞間にも染色体数の変異が認められ、‘松の雪’の培養生株の染色体変異の様相は‘華陽の桜’の場合と類似していた。

2-3. また、同一茎の異切片由来の株の間に染色体数の変異が認められた。

3. ‘華陽の桜’の培養生株の中には花色、花径、小花の形や草丈の変異株が認められたが、‘松の雪’の培養生株にはそれらの変異はほとんど認められなかった。

## 謝 辞

本研究の遂行に当っては佐賀大学名誉教授（現・広島県立農業短期大学学長）島田恒治博士に終始懇篤な指導と適切な助言をいただいた。ここに記して衷心より謝意を表する。

## 引用文献

- 1) Ben-Jacov, J. & R. W. Langhans (1972). Rapid multiplication of chrysanthemum plant by stem-tip proliferation. *HortScience* 7: 289-290.
- 2) Bennici, A., Buiatti, M. & F. D'Amato (1968). Nuclear conditions in haploid *Pelargonium in vivo* and *in vitro*. *Chromosoma* 24: 194-201.
- 3) Bush, S. R., Langhans, R. W. & E. D. Earle (1974). *In vitro* propagation of the chimeral layers of *Chrysanthemum morifolium* Ramat. 'Indianapolis'. *HortScience* 9: 14.
- 4) Clare, M. V. & H. A. Collin (1974). The production of plantlets from tissue cultures of Brussels sprout (*Brassica oleracea* L. var. *gemmifera* D. C.). *Ann. Bot.* 38: 1067-1076.
- 5) Cooper, L. S., Cooper, D. C., Hildebrandt, A. C. & A. J. Riker (1964). Chromosome numbers in single cell clones of tobacco tissue. *Amer. J. Bot.* 51: 284-290.
- 6) D'Amato, F. (1952). Polyoidy in the differentiation and function of tissues and cells in plants. *Caryologia* 4: 311-358.
- 7) ——— (1965). Endopolyploidy as a factor in plant tissue development. In *Proc. Int. Conf. Plant tissue Culture* (White, P. R. & A. R. Grove, eds.), pp. 448-462. McCutchan Publ. Co., Berkeley, Calif.
- 8) Dowrick, G. J. (1953). The chromosomes of *Chrysanthemum*, II: Garden varieties. *Heredity* 7: 59-72.
- 9) ——— & A. El-Bayoumi (1966a). The origin of new forms of the garden *Chrysanthemum*. *Euphytica* 15: 32-38.
- 10) ——— & ——— (1966b). The induction of mutations in *Chrysanthemum* using X- and gamma radiation. *ibid.* 15: 204-210.
- 11) Earle, E. D. & R. W. Langhans (1974a). Propagation of *Chrysanthemum in vitro*. I. Multiple plantlets from shoot tips and the establishment of tissue cultures. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 99: 128-132.
- 12) ——— & ——— (1974b). Propagation of *Chrysanthemum in vitro*. II. Production, growth, and flowering of plantlets from tissue cultures. *ibid.* 99: 352-358.
- 13) 遠藤伸夫 (1969a). 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). 園学雑. 38: 267-274.
- 14) ——— (1969b). 栽培ギクの染色体研究 (第2報). 栽培ギクの染色体数について (その2). 同上. 38: 343-349.
- 15) Fassuliotis, G. (1975). Regeneration of whole plants from isolated stem parenchyma cells of *Solanum sisymbriifolium*. *J. Amer. Hort. Sci.* 100: 636-638.
- 16) Heinz, D. J. & G. W. P. Mee (1969). Plant differentiation from callus tissue of *Saccharum* species. *Crop Science* 9: 346-348.
- 17) ——— & ——— (1971). Morphologic, cytogenetic, and enzymatic variation in *Saccharum* species hybrid clones derived from callus tissue. *Amer. J. Bot.* 58: 257-262.
- 18) Hill, G. P. (1968). Shoot formation in tissue cultures of *Chrysanthemum* 'Bronze Pride'. *Physiol. Plant.* 21: 386-389.
- 19) Horák, J., Luštinec, J., Měsíček, J., Kamínek, M. & D. Poláčková (1975). Regeneration of diploid and polyploid plants from the stem pith explants of diploid marrow stem kale (*Brassica oleracea* L.). *Ann. Bot.* 39: 571-577.

- 20) Iizuka, M., Matsumoto, E., Doi, A., Madrigal, R. & A. Fukushima (1973). Tubular floret culture of chrysanthemum and cineraria *in vitro*. *Japan. J. Genetics* 48: 79-87.
- 21) 岩佐正一, 遠藤元庸, 衛藤威臣, 田代洋丞, 上本俊平 (1972). 栽培ギク“天が原”品種群における染色体数の変異について. 九大農学芸誌 26: 13-26.
- 22) Kao, K. N., Miller, R. A., Gamborg, O. L. & B. L. Harvey (1970). Variation in chromosome number and structure in plant cells grown in suspension cultures. *Can. J. Genet. Cytol.* 12: 297-301.
- 23) Kochhar, T., Sabharwal, P. & J. Engelberg (1971). Production of homozygous diploid plants by tissue culture technique. *J. Hered.* 62: 59-61.
- 24) Malnassy, P. & H. Ellison (1970). Asparagus tetraploids from callus tissue. *HortScience* 5: 444-445.
- 25) Mehra, P. N. & A. Mehra (1971). Morphogenetic studies in *Pterotheca falconeri*. *Phytomorphology* 21: 174-191.
- 26) Mehra, A. & P. N. Mehra (1972). Differentiation in callus cultures of *Mesembryanthemum floribundum*. *ibid.* 22: 171-176.
- 27) 宮崎貞巳, 田代洋丞, 島田恒治 (1976). キクの組織培養 (第1報). 器官形成に関する品種間差異. 佐大農彙 40: 31-44.
- 28) Murashige, T. & R. Nakano (1966). Tissue culture as a potential tool in obtaining polyploid plants. *J. Hered.* 57: 115-118.
- 29) ——— & ——— (1967). Chromosome complement as a determinant of the morphogenic potential of tobacco cells. *Amer. J. Bot.* 54: 963-970.
- 30) ——— (1974). Plant propagation through tissue culture. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 25: 135-166.
- 31) Nishi, T., Yamada, Y. & E. Takahashi (1968). Organ redifferentiation and plant restoration in rice callus. *Nature* 219: 508-509.
- 32) ——— & S. Mitsuoka (1969). Occurrence of various ploidy plants from anther and ovary culture of rice plant. *Japan. J. Genetics* 44: 341-346.
- 33) Novák, F. J. (1974). The changes of karyotype in callus cultures of *Allium sativum* L. *Caryologia* 27: 45-54.
- 34) Partanen, C. R. (1965). Cytological behavior of plant tissues *in vitro* as a reflection of potentialities *in vivo*. In *Proc. Int. Conf. Plant Tissue Culture* (White, P. R. & A. R. Grove, eds.), pp. 463-471. McCutchan Publ. Co., Berkeley, Calif.
- 35) Roest, S. & G. S. Bokelmann (1975). Vegetative propagation of *Chrysanthemum morifolium* Ram. *in vitro*. *Scientia Hort.* 3: 317-330.
- 36) Sacristán, M. D. & G. Melchers (1969). The caryological analysis of plants regenerated from tumorous and other callus cultures of tobacco. *Molec. Gen. Genetics* 105: 317-333.
- 37) Sampson, D. R., Walker, G. W. R., Hunter, A. W. S. & M. Bragdo (1958). Investigations on the sporting process in greenhouse chrysanthemums. *Canad. J. Plant Sci.* 38: 346-356.
- 38) Shimada, T. & M. Tabata (1967). Chromosome numbers in cultured pith tissue of tobacco. *Japan. J. Genetics* 42: 195-201.
- 39) ——— (1971). Chromosome constitution of tobacco and wheat callus cells. *ibid.* 46: 235-241.
- 40) Singh, B. D. (1975). Evolution of dominant karyotypes in *Haplopappus gracilis* cell culture *in vitro*. *Caryologia* 28: 29-37.
- 41) Stangle, B. B. (1956). Origin and development of adventitious roots in stem cuttings of chrysanthemum, carnation, and rose. *Cornell Univ. Agr. Expt. Sta. Memoir* 342: 3-24.
- 42) Stewart, R. N. & H. Dermen (1970). Somatic genetic analysis of the apical layers of chimeral sports in chrysanthemum by experimental production of adventitious shoots. *Amer. J. Bot.* 57: 1061-1071.
- 43) Tabata, M., Yamamoto, H. & N. Hiraoka (1968). Chromosome constitution and nicotine formation of mature plants derived from cultured pith of tobacco. *Japan. J. Genetics* 43: 319-322.
- 44) Torrey, J. G. (1965). Cytological evidence of cell selection by plant tissue culture media. In *Proc. Int. Conf. Plant Tissue Culture* (White, P. R. & A. R. Grove, eds.), pp. 473-484. McCutchan Publ. Co., Berkeley, Calif.
- 45) 塚本洋太郎 (1969). 花井総論. 養賢堂. 東京, p. 429.
- 46) Wasscher, J. (1956). The importance of sports in some florist's flowers. *Euphytica* 5: 163-170.
- 47) Watanabe, K., Nishii, Y. & R. Tanaka (1972). Anatomical observations on the high frequency callus formation from anther culture of *Chrysanthemum*. *Japan. J. Genetics* 47: 249-255.
- 48) Williams, L. & H. A. Collin (1976). Growth and cytology of celery plants derived from tissue cultures. *Ann. Bot.* 40: 333-338.

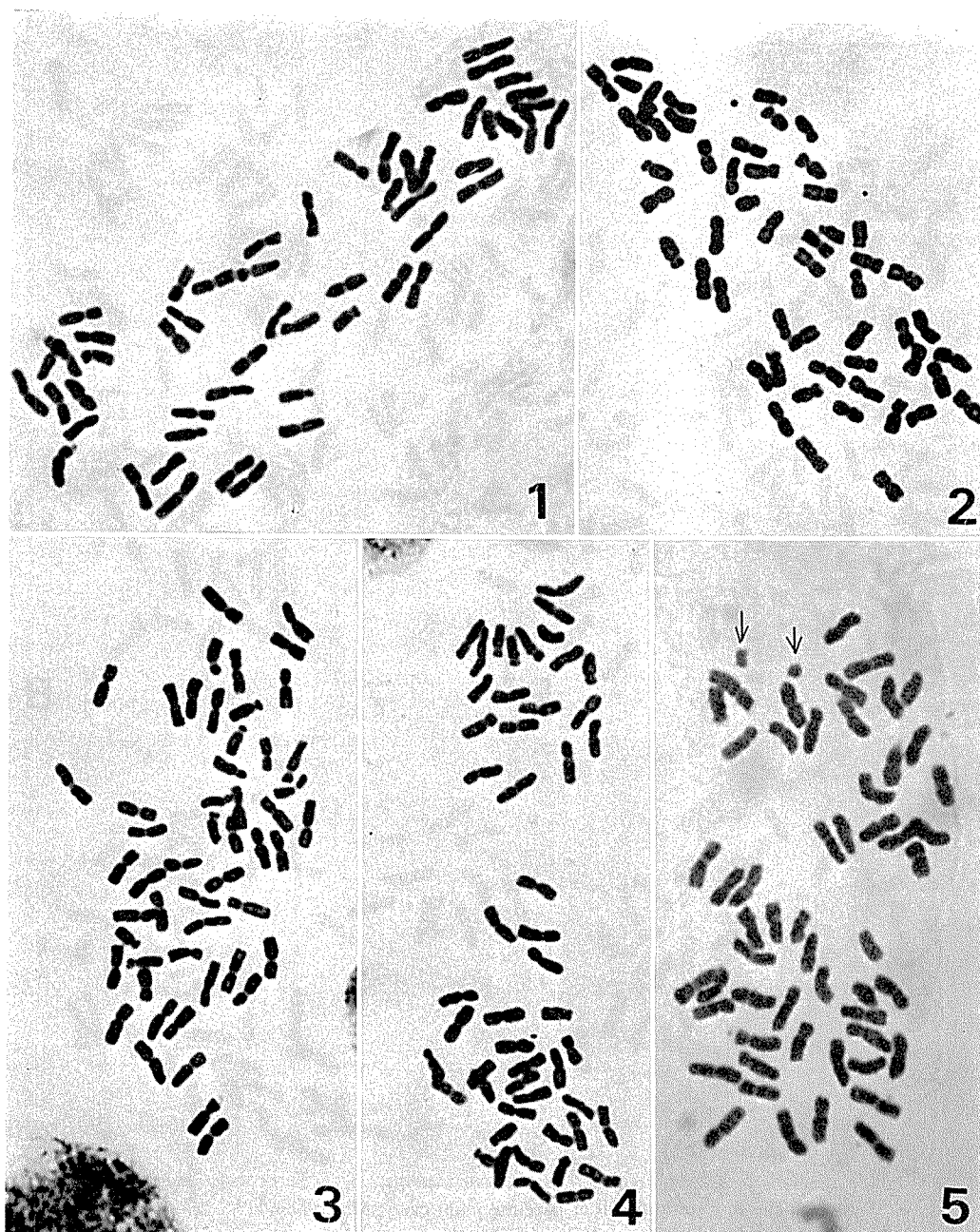


Fig. 1. Chromosomes in a root tip cell of parental plant cv. "Kayō-no-sakura".  $2n=54$ .  $\times$  ca. 1700.  
 Fig. 2-5. Chromosomes in a root tip cell of regenerated plants from "Kayō-no-sakura".  $\times$  ca. 1700.  
 Fig. 2. A-1 plant,  $2n=53$ . Fig. 3. B-7 plant,  $2n=52$ . Fig. 4. B-2 plant,  $2n=51$ . Fig. 5. D-8  
 plant,  $2n=54+2f$ . Arrow marks indicate fragments.

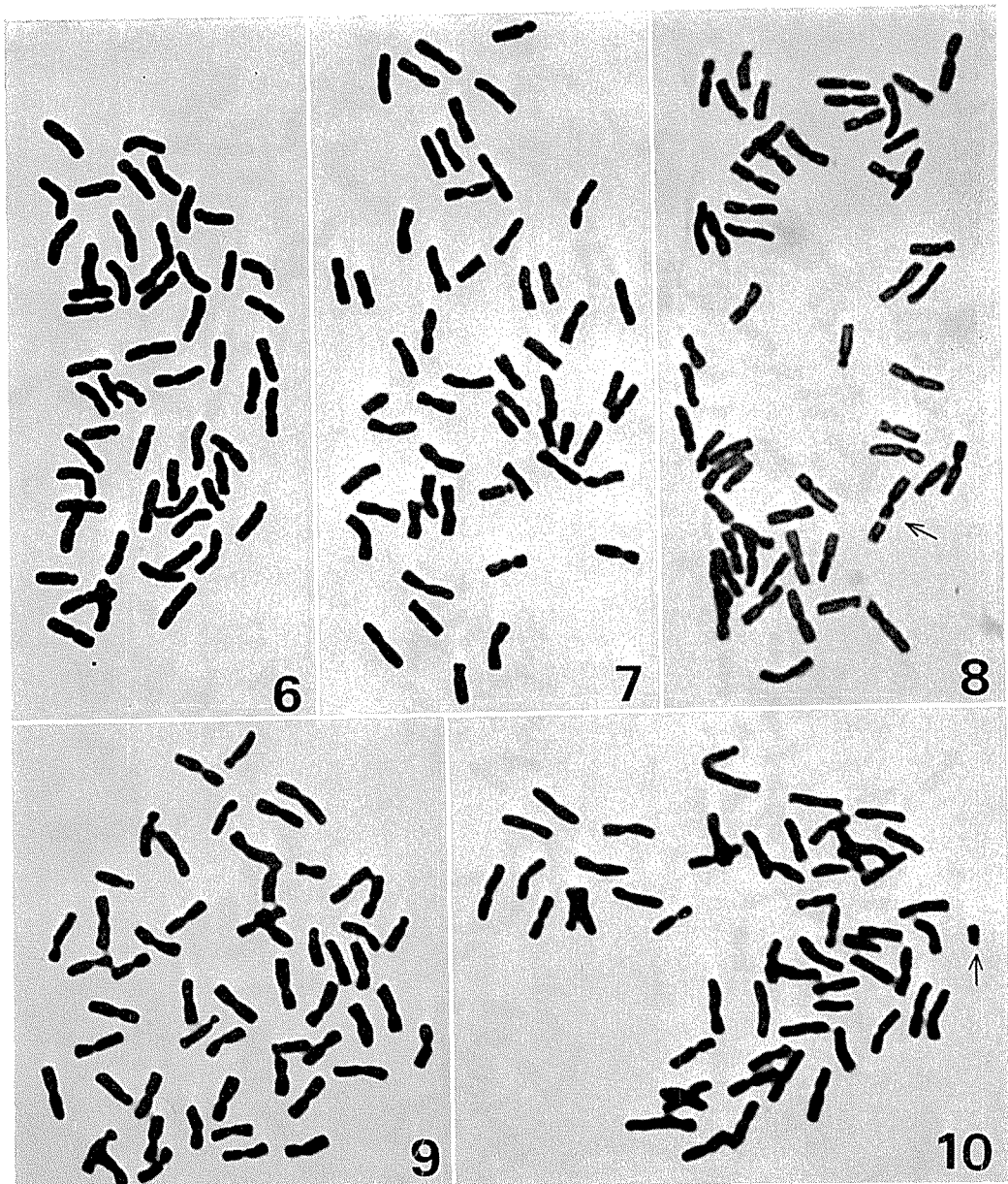


Fig. 6. Chromosomes in a root tip cell of parental plant cv. "Matsu-noyuki".  $2n=56$ .  $\times$  ca. 1700.  
 Fig. 7-10. Chromosomes in a root tip cell of regenerated plants from "Matsu-no-yuki".  $\times$  ca. 1700.  
 Fig. 7. M-6 plant,  $2n=55$ . Fig. 8. M-6 plant,  $2n=55+sc$ . An arrow mark indicates a large chromosome with secondary constriction. Fig. 9. M-3 plant,  $2n=54$ . Fig. 10. M-5 plant,  $2n=56+f$ . An arrow mark indicates a fragment.

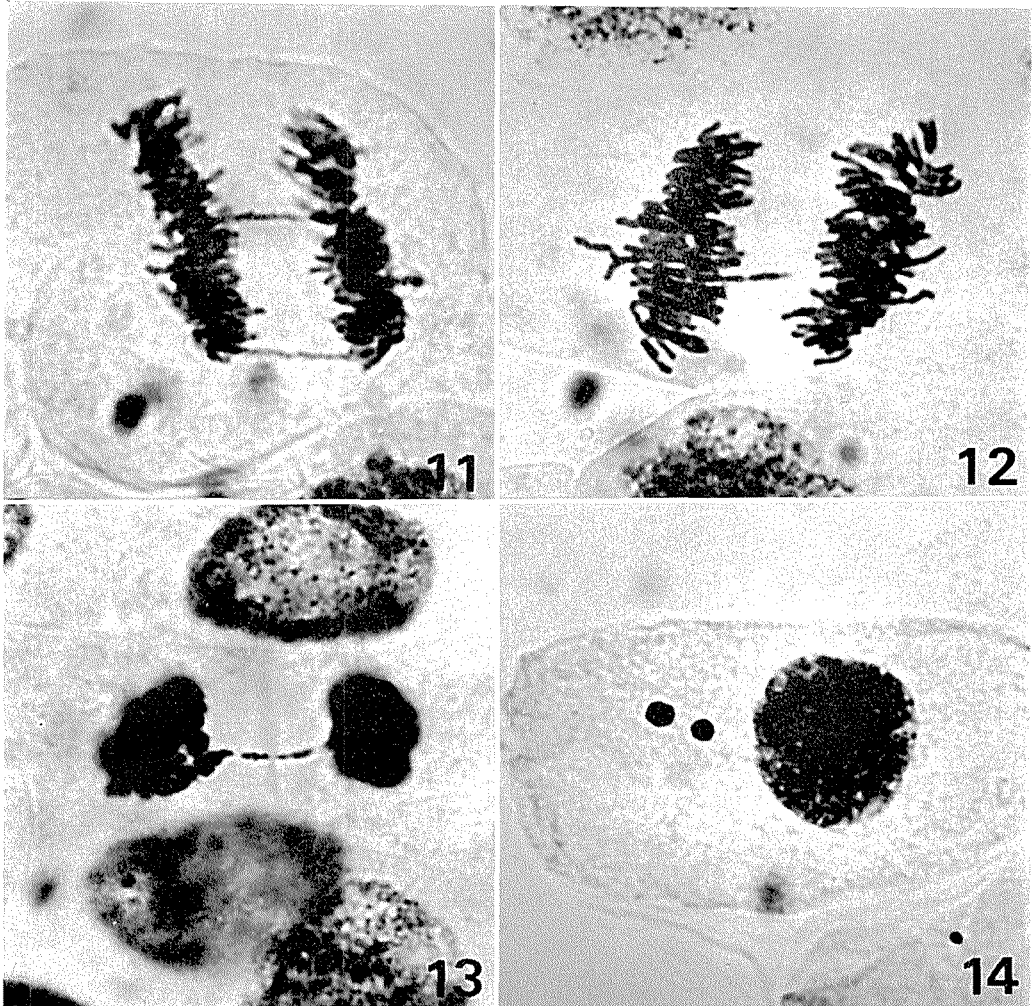


Fig. 11-14. Abnormal mitotic division in parental plant cv. "Kayō-no-sakura".  $\times$  ca. 1700. Fig. 11. Chromosome bridges at late anaphase. Fig. 12. A lagging chromosome at late anaphase. Fig. 13. A chromosome bridge at telophase. Fig. 14. Micronuclei at resting stage.

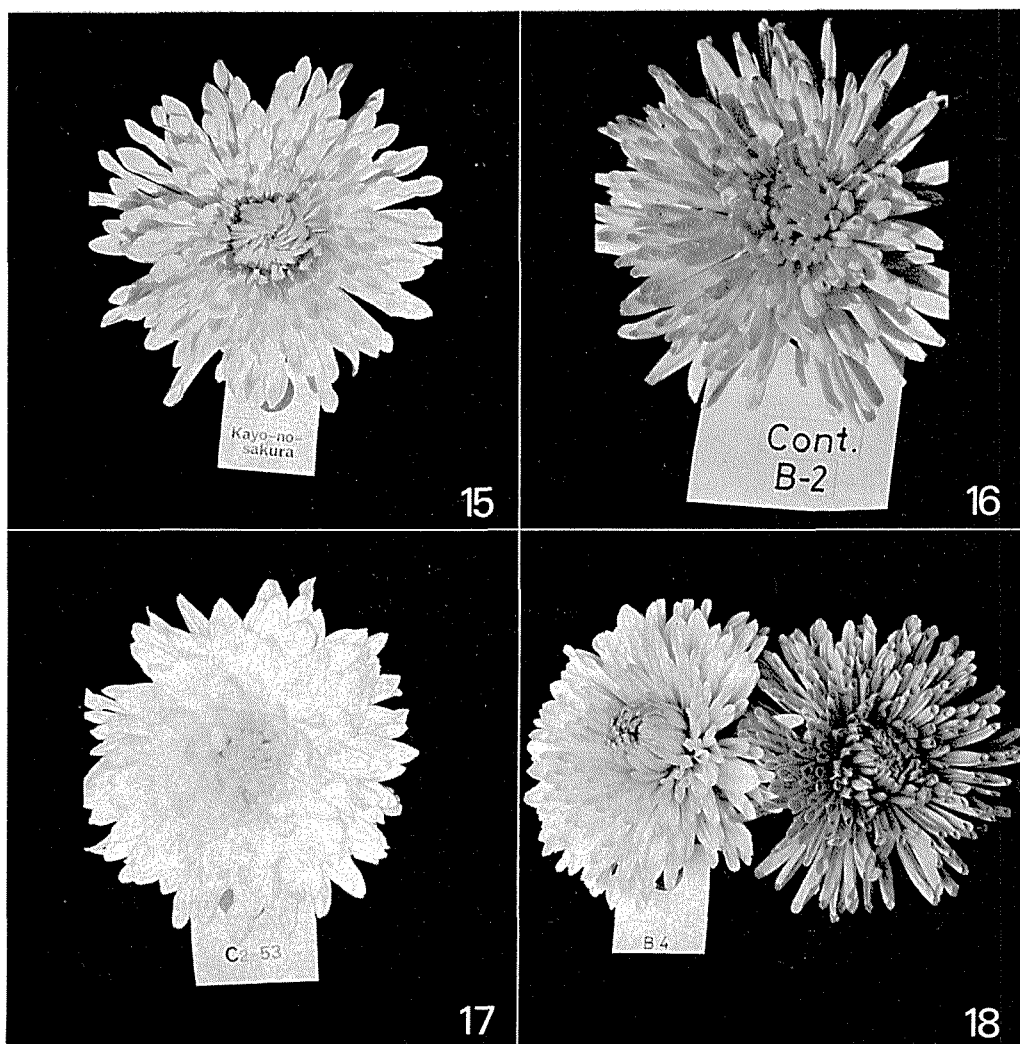


Fig. 15. Inflorescence of "Kayō-no-sakura".

Fig. 16-18. Inflorescence of regenerated plants from "kayō-no-sakura". Fig. 16. B-2 with yellow tubular florets. Fig. 17. C-2 with white flat florets. Fig. 18. B-4 with different inflorescences. Left: normal, right: pink tubular florets.