

Comprehensive Estimation of Polyploidy Level in Carnation Cultivars by Flow Cytometry

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2019-03-22 キーワード (Ja): キーワード (En): Carnation, Dianthus, Flow cytometry, Polyploidy, Stomata 作成者: 八木, 雅史, 藤田, 祐一, 吉村, 正久, 小野崎, 隆 メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24514/00001418

原著論文

フローサイトメトリーによるカーネーション栽培品種の
倍数性の網羅的推定

八木雅史*・藤田祐一**・吉村正久***・小野崎 隆*

(平成 19 年 9 月 10 日受理)

Comprehensive Estimation of Polyploidy Level
in Carnation Cultivars by Flow Cytometry

Masafumi Yagi*, Yuichi Fujita**,
Tadahisa Yoshimura*** and Takashi Onozaki*

Summary

We used flow cytometry to estimate the polyploidy level of 304 carnation cultivars preserved at the National Institute of Floricultural Science, and counted chromosomes in root tips to verify the actual level. The results validated the use of flow cytometry to estimate polyploidy in carnation cultivars. It estimated that 297 carnation cultivars were diploid. Three cultivars ('Wiko', 'Scarlet Bell', and 'Spiral Vivid Red') were triploid and 'Saleya' was tetraploid. Another 3 cultivars ('Pink Roland', 'Youkihi', and 'Sonnet Sailor') might be tetraploid. We measured the stomatal length of 12 cultivars to test whether it is a convenient way to distinguish polyploidy. We could distinguish between diploid and polyploid, but not between triploid and tetraploid.

Key Words: Carnation, *Dianthus*, Flow cytometry, Polyploidy, Stomata

* 新形質花き開発研究チーム (Research Team for Breeding and Biotechnology)
** 熊本県阿蘇地域振興局 (Aso Region Promotional Office, Kumamoto Prefecture)
*** 宮城県大崎振興事務所 (Osaki Promotional Office, Miyagi Prefecture)

1. 緒言

カーネーションを含む *Dianthus* 属はナデシコ科に属しており、約 300 種がヨーロッパ、地中海沿岸地域、アジア、熱帯および南アフリカの山地などに自生している(武田, 2002)。 *Dianthus* 属は種間交雑が容易に行えるため、原種 *D. caryophyllus* と *D. plumarius* や *D. chinensis* などいくつかの種との多元的な交雑、選抜が長年にわたって繰り返された結果、現在のカーネーションが誕生したと考えられている(武田, 2002)。カーネーションは、これまでに多数の品種が育成されており、大別すると1茎1花のスタンダード系、1茎多花のスプレー系に分けられる。さらに、ジブシー系、ソネット系、マイクロ系などの小輪で特徴的な花型を持つ品種群も存在する(細谷, 1999)。

Dianthus 属は、染色体基本数が $x=15$ であり、二倍体 ($2n=30$)、四倍体 ($2n=60$)、六倍体 ($2n=90$) が存在する(伊藤ら, 1989; 牛尾ら, 2002)。カーネーションについては、実際の染色体の観察結果から、栽培品種は二倍体 ($x=15, 2n=30$) であることが報告されている(寛, 1972; 山口ら, 1980; 山口, 1981)。しかしながら、それ以後、カーネーションの倍数性に関する報告はなく、近年の栽培品種の倍数性については明らかになっていない。倍数性を明らかにすることは交雑の成否などを推定する上で重要であるが、従来から行われてきた顕微鏡観察による染色体数の計測では、多大な労力と時間を要する。一方、フローサイトメーターによる簡易な倍数性測定法が開発され、倍数性の判別や雑種性の確認が可能であることが報告されている(三柴・三位, 1998)。実際、*Dianthus* 属野生種については牛尾ら(2002)により、フローサイトメーターを用いた倍数性の推定が可能であることが明らかになっている。

一方、フローサイトメーターのような高額な機械を用いずに簡便に倍数性を推定する方法も考慮する必要がある。カーネーションにおいて、倍数体の気孔の長径の大きさは、二倍体の植物体に比べて大きく、倍数性と気孔の大きさには相関があることが明らかになっている(山口ら, 1980; 山口, 1981)。そのため、気孔の長径を計測することで、倍数性を推定することも可能であると考えられる。

花き研究所では(独)農業生物資源研究所のジーンバンク事業に参画し、カーネーション栽培品種約 300 点および *Dianthus* 属野生種約 200 点を収集、保存して

いる。そこで、本研究では、これまで倍数性が明らかになっていない花き研究所で保有するカーネーション栽培品種について、フローサイトメーターにより網羅的に倍数性の推定を行った。また、倍数体と推定された品種について、根端細胞の染色体数の確認を試みた。さらに、倍数性の異なる品種を用いて、気孔の長径と倍数性との関係を検討した。

2. 材料および方法

1) フローサイトメーターによる倍数性の推定

花き研究所で保存している切り花用カーネーション栽培品種 304 点を材料とした。無加温ビニルハウス内に鉢植えした材料から側枝をサンプリングし、実験に供した。

シャーレに供試材料から未展開葉 1cm 程度を採取し、植物倍数性分析用キット (Partec High Resolution Staining Kit for Plant DNA Analysis, Partec GmbH, Münster, Germany) の A 液 (核粗抽出液) を $500 \mu\text{l}$ 加え、カミソリで試料を細かく刻んで裸核を抽出した。その後、試料液をメッシュでろ過し、プラスチック製試験管に移した後、同試薬キット B 液 (DAPI 染色液) を $1250 \mu\text{l}$ 加え、染色を行い分析に供した。フローサイトメーターはプロイディアナライザー PA 型 (Partec GmbH, Münster, Germany) を用い、DAPI 蛍光強度を測定した。

2) 酢酸カーミン染色による根端細胞の染色体数の観察

フローサイトメーターにより二倍体と推定された 2 品種 ('フランセスコ', 'ノラ'), 倍数体と推定された 7 品種 ('スカーレットベル', 'ウイコ', 'スパイラルビビッドレッド', 'ピンクローランド', '楊貴妃', 'サレヤ', 'ソネットセラー') の合計 9 品種を供試した。

供試材料母株から展開葉 3~4 対の挿し芽を採取し、発根促進剤であるオキシベロン粉剤 0.5 (バイエルクロップサイエンス (株)) を基部に粉衣し、発根培地 (パラライト) に挿し芽を行った。ミスト下で約 2 週間発根させた植物体から 1~2cm に伸長した根を採取し、固定液 (酢酸:エタノール = 1:3) に浸し、観察に用いるまで保存した。観察時に試料を 60°C の解離液 (1N HCl:45% 酢酸 = 2:1) に 30 秒浸し、スライドガラス

上で根端を 2mm 程度切り出し、2% 酢酸カーミン液を 1 滴加え、45% 酢酸蒸気を満たしたシャーレ内で 2 時間染色を行った。その後、余分な染色液をふき取り、押しつぶし法によりプレパラートを作成し、光学顕微鏡 AX70 (OLYMPUS) を用いて検鏡を行った。

3) 走査型電子顕微鏡による気孔の長径の測定

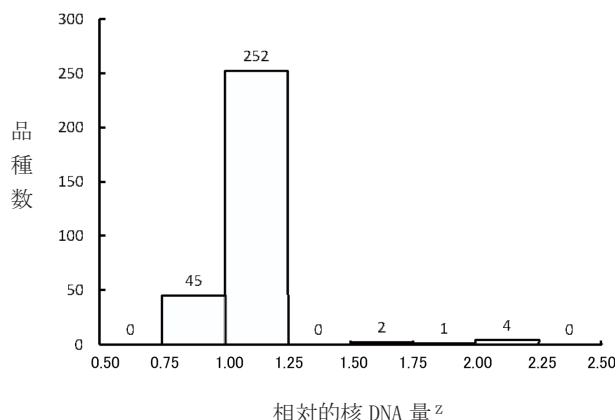
二倍体 5 品種（‘スケニア’，‘レナ’，‘ゆふ（大分 2 号）’，‘フランススコ’，‘ノラ’），三倍体 3 品種（‘スカーレットベル’，‘ウィコ’，‘スパイラルビッドレッド’），四倍体 4 品種（‘ピンクローランド’，‘楊貴妃’，‘サレヤ’，‘ソネットセラー’）の合計 12 品種を供試した。

供試材料母株の側枝から最も若い完全展開葉を採取し、走査型電子顕微鏡 VE-7800 (キーエンス) を用いて、裏面中央部における気孔の長径を各品種 5 か所測定した。

3. 結果

1) フローサイトメトリーによる倍数性の推定

供試したカーネーション栽培品種のうち、日本における 1960 年代までの赤の主力品種であった ‘コーラル’ が二倍体であることが明らかになっている (筧, 1972 ; 山口, 1981)。そこで、フローサイトメーターによる測定で得られた各品種の核 DNA 量について ‘コーラル’ の値を 1.00 とした時の相対的核 DNA 量を求めた。(第 1 表) 解析した 304 品種のうち、297 品種は相対的核 DNA 量が 0.79 から 1.15 の範囲に分布しており、二倍体品種 ‘コーラル’ とほぼ同じ相対的核 DNA 量を有していることから、二倍体であると推察された (第 1 表, 第 1 図)。残りの 7 品種については、相対的核 DNA 量



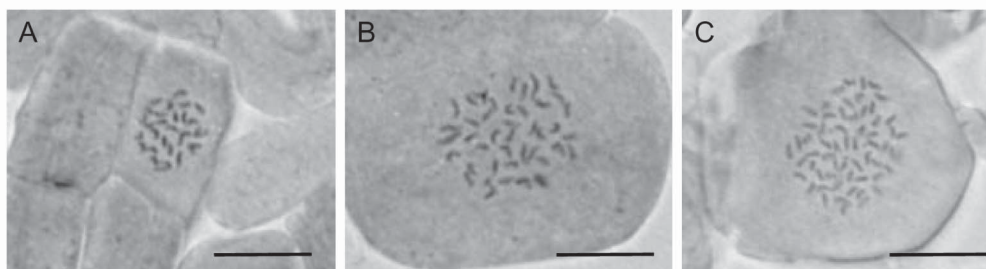
第 1 図 カーネーション栽培品種の相対的核 DNA 量の分布
² 二倍体品種 ‘コーラル’ を 1.00 とした時の蛍光強度の相対値。
供試品種は第 1 表に示した。

が 1.62 ~ 2.08 の範囲に分布しており (第 1 表, 第 1 図)、二倍体品種のおよそ 1.5 ~ 2 倍の相対的核 DNA 量を有していることから、これらの品種は三倍体もしくは四倍体であると推察された。

2) 根端細胞の染色体数の観察

根端細胞の染色体数の観察を行い、実際の倍数性について確認を行った。カーネーションの染色体基本数は $x=15$ であることから、二倍体、三倍体、四倍体の品種はそれぞれ 30, 45, 60 本の染色体が確認されるはずである。相対的核 DNA 量が 1.06 の ‘ノラ’ および 1.05 の ‘フランススコ’ について根端の染色体数を確認したところ、30 本の染色体が確認でき、二倍体であることが明らかになった (第 2 図 A)。

フローサイトメトリーによる測定結果から三倍体、四倍体と推定された 7 品種についても根端細胞の染色体数を調査した。その結果 ‘スカーレットベル’ (相



第 2 図 カーネーション根端細胞の染色体像

A: ‘ノラ’ 2n=30. B: ‘スカーレットベル’ 2n=45. C: ‘サレヤ’ 2n=60

Bars=10 μm

第1表 カーネーション栽培品種の相対的核DNA量と推定倍数性(1)

品種名	保存番号*	パスポート番号	相対的核DNA量 [†]	推定倍数性	品種名	保存番号*	パスポート番号	相対的核DNA量 [†]	推定倍数性
C-7	S33	27012593	1.01	2	コルチナピンク	504	27021116	1.03	2
CSU	1	27012279	1.03	2	ゴルドロック	536	27023588	1.00	2
CSU レッド	S35	27012595	1.03	2	ゴレナ	S62	27012622	1.03	2
G-G	8	27012286	1.03	2	コレノ			1.03	2
K-1	528	27023580	1.04	2	コロラドホワイトバイクスピーク	S24	27012584	1.06	2
P.S.N. ピンクシム	21	27012298	1.11	2	サーモンピンクシム	214	27012448	1.00	2
アーサーシム	S 2	27012562	1.09	2	サッチャー	522	27023574	1.02	2
あかね	537	27023589	1.00	2	サマンサ	49	27012642	1.06	2
あさか	241	27012474	1.05	2	サム	5	27012283	1.04	2
アニー			1.01	2	サムスブライド	116		1.06	2
アニバーサリー	275	27012508	1.04	2	サムスホワイトスケニア	S27	27012587	1.04	2
アノン	302	27012535	1.06	2	サリスブリット	320	27012553	1.05	2
アポロ	258	27012491	1.07	2	サンセット	S26	27012586	1.05	2
アラスカ	S 3	27012563	1.09	2	サントリーニ			1.01	2
アリス	521	27023573	1.06	2	サンドローサ	514		1.00	2
アリスシム	219	27012453	0.97	2	シェレン	S32	27012592	1.03	2
アリセッタ	172	27012412	1.02	2	シシー	185	27012425	1.05	2
アルビベッティ	146	27012387	1.03	2	シナノレッド	531	27023583	1.01	2
アンネマリー	S 1	27012561	1.08	2	シネラ	324	27012557	1.04	2
アンバサラー	S 7	27012567	1.09	2	シマダピーター	533	27023585	1.00	2
イエロー No.3	S11	27012571	1.06	2	シャネル	304	27012537	0.99	2
イエローインブ	129	27012370	1.05	2	シャムロック S P	S29	27012589	1.03	2
イエローストーン	166	27012406	1.05	2	ジャンボカーズナルシム	261	27012494	1.00	2
イエローダスティ	66	27012659	1.03	2	ジョッキンクピンクシム	55	27012648	1.03	2
イエローダスティシム	26	27012303	1.08	2	シルバー	540	27023592	1.07	2
イブニンググロー	283	27012516	0.98	2	シロ	S70	27012630	1.05	2
イブニングレッド	272	27012505	1.02	2	スイートハート	113	27012355	1.07	2
イルミネーター	22	27012299	1.08	2	スーパーゴールド	137	27012378	1.05	2
インブルードホワイトシム	40	27012316	1.10	2	スーパースケニア	223	27012457	1.03	2
ウィリアムシム	S13	27012573	1.06	2	スカレットキング	286	27012519	1.04	2
ウィンク			1.02	2	スカレットクイーン			1.03	2
エクセリア			1.03	2	スカレットプラス			1.04	2
エディス	264	27012497	1.00	2	スカイライン	268	27012501	1.05	2
エトナ	106	27012348	1.10	2	スケニア	513		1.00	2
エルシー	158	27012399	1.07	2	スターライト	105	27012347	1.09	2
エルフィゴ	S15	27012575	1.08	2	ステファニー	126	27012367	1.04	2
エレガンス	402	27012559	1.08	2	スノークラウンピンク	S30	27012590	1.02	2
エローシム	216	27012450	0.99	2	スノーフォール	244	27012477	1.05	2
エロースマイリング	210	27012444	1.00	2	スパークル	S31	27012591	1.00	2
エロービューティー	602	27012513	1.02	2	スペクトラム	251	27012484	1.04	2
エンゼル	S68	27012628	1.03	2	スマーチ	318	27012551	1.05	2
エンバシム	S16	27012576	1.07	2	スマイリング	207	27012441	1.02	2
エンバローズ	S14	27012574	1.06	2	せとのおとめ	548	27023600	1.05	2
オーキッドロイヤル	401	27012558	1.06	2	せとのはごろも	546	27023598	0.89	2
オレンジエルフ	535	27023587	1.00	2	せとのはつしも	34		1.07	2
オレンジスマイリング	607	27012579	1.01	2	せとのはな	33	27012310	1.06	2
オレンジトライアンフ	285	27012518	1.07	2	せとのはな	545	27023597	1.06	2
オレンジビューティ	603	27012304	1.02	2	せとのみやび	501	27021112	1.05	2
カーズナルシム	211	27012445	1.00	2	せとのめぐみ	502	27021113	1.06	2
カイン			1.03	2	セリスロイヤレット	112	27012354	1.08	2
カサブランカ			1.00	2	セリスロイヤル	321	27012554	1.01	2
カジノ	175	27012415	0.99	2	セレクトホワイトロイヤレット	319	27012552	0.89	2
カブリ	170	27012410	1.02	2	ソアナ	64	27012657	1.05	2
カリ	88	27012342	1.07	2	ソナタ	145	27012386	1.03	2
カリナ	165		1.05	2	ソネットマリア			0.90	2
カリフォルニア	263	27012496	0.84	2	ソルビック	S34	27012594	1.02	2
カリフォルニアホワイト	23	27012300	1.08	2	ソルビットシドニー	296	27012529	1.04	2
カリブソ	6	27012284	1.01	2	ソルビットホワイトスカ	224	27012458	1.03	2
ガンジーエロー			1.02	2	ダーク GJ シム	222	27012456	1.07	2
キープアーズチェリーシム	S22	27012582	1.05	2	ダークピンクパーバラ			0.97	2
ギャラクシー	156	27012397	1.11	2	ダークレッドシム	213	27012447	1.00	2
キャンディ	505	27021117	1.04	2	ダークレナ	225	27012459	1.04	2
キャンドル			1.04	2	ダスティ	S38	27012598	1.11	2
キラ	506	27021118	1.04	2	ダスティピンクシム	217	27012451	0.99	2
クラウン	259	27012492	1.05	2	タスマン			1.03	2
グリーンマジック			1.04	2	タマラ	163	27012404	1.06	2
クレオパトラ	271	27012504	1.05	2	タンガ	73	27012327	1.05	2
くれない	32	27012309	1.08	2	タンゴバンビ	301	27012534	1.02	2
グローリー	7	27012285	1.03	2	タンジェリン	50	27012643	1.07	2
クローリーシム	S41	27012601	1.05	2	ダンネブローブ	281	27012514	1.02	2
ゲーテ	276	27012509	0.99	2	ちくし	233	27012466	1.05	2
コーラル	606	27012320	1.00	2	ディズイール	292	27012525	1.05	2
ゴールドワンダー	S25	27012585	1.05	2	ティディ	140	27012381	1.06	2
コライズ	61	27012654	1.05	2	テトラレッド	249	27012482	1.05	2
コランヤ	S61	27012621	1.06	2	テルスター	S48	27012608	1.08	2
コリベッタ	144	27012385	1.04	2	デルフィ	551		0.96	2

*花き研ジーンバンク保存番号、番号未記載の品種は生育開花調節研究チーム保存品種。

†2倍体品種「コーラル」を1.00とした時の蛍光強度の相対値。

第1表 カーネーション栽培品種の相対的核DNA量と推定倍数性(2)

品種名	保存番号 ²	パスポート番号	相対的核DNA量 ³	推定倍数性	品種名	保存番号 ²	パスポート番号	相対的核DNA量 ³	推定倍数性
テレサ	530	27023582	1.02	2	マレア			0.95	2
トーテム	S39	27012599	1.12	2	マンドードリナ	317	27012550	1.05	2
トートサ	59	27012652	0.98	2	マンマイルミリアム	315	27012548	1.05	2
トスカ	157	27012398	1.09	2	マンローロミナ	316	27012549	1.03	2
ドッカピンク	109	27012351	1.08	2	ミス小倉	236	27012469	1.04	2
ドナリーシュブリーム	252	27012485	1.01	2	ミニクイン	198	27012433	1.03	2
トニー	149	27012390	1.09	2	ミニスター	122	27012363	1.06	2
トピア	549		1.00	2	ミヤン	403	27012560	1.09	2
ドンシラー	287	27012520	1.01	2	ミルテアンメイド	269	27012502	0.80	2
ドンディアプロ	294	27012527	1.04	2	モナコ	532	27023584	1.00	2
ニッキー	523	27023575	1.05	2	ユーコン	60	27012653	1.07	2
ニューピンクシム	215	27012449	1.00	2	ユーコン NR68	S59	27012619	1.06	2
ノースランド	255	27012488	1.05	2	ユーコンホワイト	541	27023593	1.04	2
ノクト	181	27012421	1.00	2	ゆふ(大分2号)	229	27012462	1.05	2
ノバダ	527	27023579	1.03	2	ゆふの輝	11	27012289	1.10	2
ノラ	57	27012650	1.06	2	ユリセ	303	27012536	1.04	2
バーバラ	518		1.04	2	ライトピンクバーバラ			0.93	2
バシオ			1.02	2	ライトピンクバービー	102	27012344	1.10	2
バタースコッチ	63	27012656	1.06	2	ライラック	148	27012389	1.15	2
パプロ	323	27012556	1.07	2	ラヴィアンローズ			1.00	2
パラス	313	27012546	1.05	2	ラギオデソレ	S45	27012605	1.10	2
バラダイソ	168	27012408	1.03	2	ラズベリーアイズ	266	27012499	0.93	2
ピアンカ	161	27012402	1.07	2	ラリーブ	15	27012292	1.02	2
ピーターフィッシャー K2	201	27012435	1.01	2	リカルド			1.01	2
ピーターフィッシャー OT	203	27012437	1.00	2	リサ	118	27012359	1.05	2
ピーターフィッシャー南部系	202	27012436	1.01	2	リリアン	117	27012358	1.06	2
ピーターフィッシャー米国系	204	27012438	1.01	2	リンド	S46	27012606	1.07	2
ピターソズレッドシム	S42	27012602	1.09	2	ルナ	234	27012467	1.04	2
ピンクアイス	16	27012293	1.01	2	ルレーブ	42	27012318	1.07	2
ピンクカリブソ	20	27012297	1.00	2	レイコ			0.98	2
ピンクシム	212	27012446	0.99	2	レギナ	162	27012403	1.07	2
ピンクスマイリング	208	27012442	1.02	2	レッドアイベッティ	143	27012384	1.04	2
ピンクハービー	115	27012357	1.08	2	レッドガエティ	S57	27012617	1.04	2
ピンクヒリサール	S81	27012640	1.03	2	レッドクロス	250	27012483	1.05	2
ピンクフランセスコ			0.99	2	レッドサン	54	27012647	1.07	2
ピンクフリット	515		1.00	2	レッドスマイリング	209	27012443	1.02	2
ピンクマミー	290	27012523	1.01	2	レッドダイヤモンド	284	27012517	1.02	2
ピンクミスト	288	27012521	0.98	2	レッドバーバラ			0.95	2
ピンクミニスター	S74		0.99	2	レッドパロン	103	27012345	1.07	2
ファナル	308	27012541	1.02	2	レッドミニスター	107	27012349	1.10	2
ファンタジア	169	27012409	1.03	2	レッドラム	164	27012405	1.06	2
フィデリオ	180	27012420	1.03	2	レッドレナ	227		1.05	2
フェアリーピンク			0.99	2	レナ	520	27023572	1.06	2
ブライダルホワイト			1.03	2	レナスーパー	53	27012646	1.04	2
ブライドオブワーバン	267	27012500	0.80	2	レバダ	526	27023578	1.02	2
フラミンゴ	S56	27012616	1.04	2	ロイヤレット	S71	27012631	1.02	2
フラミンゴシム	18	27012295	1.02	2	ロデオ	67	27012660	1.06	2
フランセスコ	508	27021120	1.05	2	ロマ	72	27012326	1.05	2
プリンセスイレネ	260	27012493	1.03	2	ロメオ	14	27012291	1.00	2
ブルーベル	195	27012430	1.06	2	ロリータ	41	27012317	1.07	2
ブルチノ	188	27012428	1.06	2	ロンダ	86	27012340	1.05	2
フローレンス	62	27012655	1.03	2	ロンドラゲル	135	27012376	1.04	2
ベスパシム	218	27012452	1.01	2	伊豆8号	S10	27012570	1.07	2
ベバームントシム	220	27012454	1.02	2	伊豆コーラル	S 6	27012566	1.10	2
ベバームントレース	10	27012288	1.00	2	伊豆の踊子	S 8	27012568	1.06	2
ヘラス	68	27012661	1.03	2	伊豆ピンク	S 4	27012564	1.09	2
ベリゲートシム	S52	27012612	1.06	2	伊豆ローズ	S 5	27012565	1.08	2
ベルシアンピンク	291	27012524	1.06	2	希望	3	27012281	1.06	2
ベロナ	85	27012339	1.03	2	希望の光	503	27021115	1.06	2
ボートレート	278	27012511	1.00	2	光	538	27023590	1.04	2
ホーリーカブリ	289	27012522	0.98	2	春の粧	247	27012480	1.07	2
ボストン	270	27012503	1.00	2	粧	S51	27012611	1.08	2
ほのお(大分1号)	228	27012461	1.07	2	新粧	235	27012468	1.02	2
ホワイトカリブソ	306	27012539	1.02	2	雪化粧	512		1.02	2
ホワイトカンカン	305	27012538	0.79	2	千曲	30	27012307	1.08	2
ホワイトクリスマス	243	27012476	1.07	2	大分9号	231	27012464	1.01	2
ホワイトシム	S43	27012603	1.07	2	緋の司	2	27012280	1.06	2
ホワイトバーバラ			1.00	2	富士	248	27012481	1.03	2
ホワイトマインド	552		0.97	2	夕映	246	27012479	1.03	2
ホワイトルセナ	550		1.02	2	スカーレットベル	4	27012282	1.62	3
マーキュリー			0.95	2	ウィコ	183	27012423	1.64	3
マージブリット	125	27012366	1.08	2	スパイラルビッドレッド	510		1.80	3
マゼスチック	309	27012542	0.99	2	ピンクローランド			2.03	4
マノン	70	27012324	1.05	2	楊貴妃	534	27023586	2.06	4
マミー	295	27012528	1.06	2	サレヤ			2.07	4
マリナー	322	27012555	1.06	2	ソネットセラー			2.08	4

²花き研ジーンバンク保存番号。番号未記載の品種は生育開花調節研究チーム保存品種。

³2倍体品種「コーラル」を1.00とした時の蛍光強度の相対値。

対的核 DNA 量 1.62), ‘ウィコ’ (同 1.64), ‘スパイラルビビッドレッド’ (同 1.80) の 3 品種については 45 本の染色体が確認され, 三倍体であることが明らかになった (第 2 図 B). また, 相対的核 DNA 量が 2.00 以上の 4 品種のうち, ‘サレヤ’ については 60 本の染色体が確認され, 四倍体であることが明らかになった (第 2 図 C). 残りの 3 品種 (‘ソネットセラー’, ‘楊貴妃’, ‘ピンクローランド’) については明確に染色体数を確認することはできなかったが, 50 本以上の染色体が確認されたことから四倍体であると推察された.

3) 気孔の大きさ

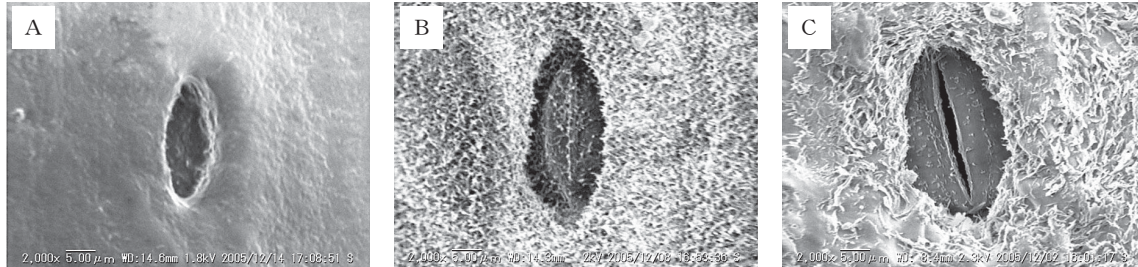
フローサイトメトリーならびに根端細胞の染色体観察により倍数性が明らかになった 12 品種について気孔の長径を調査した (第 3 図). 気孔の長径は二倍体品種が $17.6 \sim 22.0 \mu\text{m}$ であり, 三倍体品種は $29.0 \sim 32.3 \mu\text{m}$, 四倍体品種は $30.1 \sim 39.2 \mu\text{m}$ であった (第 2 表). また, 12 品種の相対的核 DNA 量と気孔の長径の大きさとの間には有意な正の相関 ($r=0.90^*$) が認めら

れた.

4. 考 察

フローサイトメーターによる核 DNA 量の推定, 根端細胞の染色体数の観察, 気孔の大きさの測定から, 供試したカーネーション栽培品種はほとんどが二倍体と推定され, わずかながら三倍体, 四倍体の品種も存在することが明らかになった.

本研究で倍数体と推定された 7 品種のうち ‘サレヤ’ 以外については, 花径, 花弁数, 花弁の欠刻の深さ, 草姿, 形態等の特徴から野生種との交雑が示唆される. 実際, ‘ウィコ’ はマイクロ系, ‘スカーレットベル’ はエンゼル系, ‘ソネットセラー’ はソネット系と呼ばれる野生種との交配で誕生した品種群に分類されている (細谷, 1999; 武田, 2002). ‘楊貴妃’ は, さらに野生種の血が濃く, 佐藤 (1995) の分類によると宿根性ナデシコに分類されている. ‘ウィコ’



第 3 図 走査型電子顕微鏡によるカーネーション展開葉裏面の気孔の観察像

A: ‘ステニア’ (2x). B: ‘スカーレットベル’ (3x). C: ‘ピンクローランド’ (4x)

2000 倍観察. Bars=5 μm

第 2 表 カーネーションの相対的核 DNA 量と気孔の長径の関係

品種名	相対的核 DNA 量 ^z	推定倍数性	気孔の長径 (μm)
ステニア	1.00	2	21.5 ± 1.1^y
レナ	1.06	2	21.7 ± 0.7
ゆふ (大分 2 号)	1.05	2	20.8 ± 1.1
フランセスコ	1.05	2	22.0 ± 2.2
ノラ	1.06	2	17.6 ± 2.1
スカーレットベル	1.62	3	31.5 ± 0.7
ウィコ	1.64	3	32.3 ± 1.4
スパイラルビビッドレッド	1.80	3	29.0 ± 0.9
ピンクローランド	2.03	4	30.1 ± 1.3
楊貴妃	2.06	4	39.2 ± 1.1
サレヤ	2.07	4	30.4 ± 0.9
ソネットセラー	2.08	4	37.0 ± 0.8

^z 2 倍体品種 ‘コーラル’ を 1.00 とした時の蛍光強度の相対値

^y 平均 \pm 標準誤差 (n=5)

は過去の研究で萎凋細菌病抵抗性を有することが明らかになっている (Onozaki ら, 1999). しかし, ‘ウィコ’ は花粉を全く生産しないので花粉親として使えず, 種子親としてカーネーションとの交配に用いても種子が得られないことから, 抵抗性育種素材として利用できなかった (Onozaki ら, 1999). 本研究から, この結果は ‘ウィコ’ が三倍体であることに起因すると考えられた. ‘スカーレットベル’ は, 改良伊勢ナデシコ, ミカドナデシコ (カーネーション×セキチク), マーガレットカーネーション, 種子系カーネーション ‘アンフェンドニース’ を育種素材として育成された ‘エンゼル’ にガンマ線照射して得られた赤色変異体である (林, 1995). ‘ソネットセラー’ の属するソネット系は長野県の個人育種家中曾根和雄氏により育成された小輪多花性の品種群である (竹岡, 1995). *Dianthus* 属野生種には, 二倍体のほか四倍体, 六倍体の種が多数存在することが示されている (牛尾ら, 2002). また, *Dianthus* 属では種間交雑が容易であることが知られている (武田, 2002). これらのことから育成過程が明らかでない ‘スパイラルビビッドレッド’, ‘ピンクローランド’ を含め, ‘サレヤ’ 以外の倍数性品種の成立には, 四倍体もしくは六倍体の野生種が関係していることが示唆された. 一方, ‘サレヤ’ については, 草姿, 形態の特徴から, 野生種との交雑を認めることはできない. 浅緑黄の地色に濃ピンク色の条及び覆輪が入る特徴的な花色を持ち, スタンダード系品種の中でも特に花径が大きく, 開花については中晩生の品種である. したがって, ‘サレヤ’ については, 二倍体の倍加による同質四倍体の可能性が考えられる.

カーネーションでは, 染色体数キメラの品種が存在し, 根端の染色体数にも変異が見られることが報告されている (筧, 1972; 山口ら, 1980; 山口, 1981). しかし, 本研究で観察した根端においては, 染色体数がキメラで存在する品種を見出すことはできなかった. カーネーションを含む *Dianthus* 属の染色体は $1 \sim 2 \mu\text{m}$ と小さく, 数も多いため, 正確に染色体数をカウントするには労力を必要とする (Gatt ら, 1998). そのため, フローサイトメーターを用いた倍数性の推定は, 簡便に倍数性を知る上で有用である. さらにカーネーションには, 倍数性の異なる細胞からなる倍数性キメラの品種も存在しているが, フローサイトメーターは倍数性の異なる細胞は異なる位置に蛍光強度ピークが検出されるため, より正確に倍数性を判定できると考えられる.

フローサイトメーターを用いた倍数性の推定は, 正

確で簡便であるが, 高額な機械を必要とするため, 利用範囲が限られることが考えられる. 本結果から, 二倍体と倍数体については気孔の長径により倍数性を明確に区別することが可能であったが, 気孔の長径だけでは三倍体, 四倍体を区別することはできなかった. 山口ら (1980) は, 8 節目の葉の表皮を用いて気孔の観察を行い, 二倍体品種の長径は $38.8 \sim 41.8 \mu\text{m}$ (8 品種), 三倍体は $46.2 \mu\text{m}$ (1 品種), 四倍体は $49.8 \sim 51.8 \mu\text{m}$ (2 品種) であったと報告している. 倍数体品種の供試数が少なく, 気孔の観察部位が異なるため, 本研究における測定値とは差があるものの, 本結果と同様に, 三倍体と四倍体の気孔の大きさの差は小さく, 気孔の大きさだけで三倍体と四倍体を区別することは難しいと報告している. これらのことから, 気孔の長径測定は, フローサイトメーターを利用できない場面において, 二倍体と倍数体を区別する方法として利用できると考えられる.

本研究から, カーネーションの栽培品種においても *Dianthus* 属野生種と同様にフローサイトメーターを用いた倍数性の推定が可能であり, カーネーションの栽培品種のほとんどが二倍体であると推定された. また, わずかに存在する三倍体, 四倍体の倍数性の品種は, 草姿, 形態等の特徴から野生種との交雑が示唆される品種であり, 供試した品種の中で ‘サレヤ’ のみ, それが認められない品種であった. 山口・筧 (1985) は, 二倍体の栽培品種にコルヒチン処理を行い四倍体のカーネーションを作出した. それらの生育について調査した結果, 花径, 花弁数, 葉重, 茎径等の植物体の巨大化を認める一方, 生育と開花の遅延による著しい収量の減少を認めている (筧・山口, 1985). やはり, 山口 (1981) が指摘するように, カーネーションの長い栽培歴史の中で四倍体, 三倍体, 異数体などがほとんど現われていないのは, 実用形質を持たなかったため, 淘汰の対象として排除されてきたのかもしれない. ‘サレヤ’ については, 花径の大型化等の倍数化による影響と考えられる特徴を有しており, 生育特性, 生産性等の詳細については, 今後, 明らかにしていきたい.

5. 摘要

花き研究所で保存しているカーネーションの栽培品種 304 点について, フローサイトメトリーによる倍数性の推定を行った. 実際の倍数性を確認するために, 根

端細胞の染色体数を観察した。その結果、カーネーションの栽培品種においてフローサイトメトリーによる倍数性の推定が可能であることが明らかになった。供試した品種のうち、297品種は二倍体と推定され、‘スカーレットベル’、‘ウィコ’、‘スパイラルビビッドレッド’の3品種が三倍体、‘サレヤ’が四倍体であることが明らかになった。‘ピンクローランド’、‘楊貴妃’、‘ソネットセーラー’の3品種は四倍体であると推定された。また、気孔の長径を測定することで、簡便に倍数性を推定することが可能明らかにするために、12品種の気孔の長径を測定した。その結果、気孔の長径を測定することで、二倍体と倍数体を区別することは可能であったが、三倍体と四倍体を区別することはできなかった。

6. 引用文献

- Gatt, M. K., K. R. W. Hammett, K. R. Markham and B. G. Murray. 1998. Yellow pinks: interspecific hybridization between *Dianthus plumarius* and related species with yellow flowers. *Scientia Hort.* 77: 207-218.
- 林 角郎. 1995. エンゼル系カーネーション. 切り花栽培の新技术 改訂 宿根草 上巻. p. 19-22. 農耕と園芸編. 誠文堂新光社. 東京.
- 細谷宗令. 1999. カーネーションの品種の変遷と動向 [1]. 農業および園芸. 74: 559-566.
- 伊藤秋夫・武田恭明・塚本洋太郎・富野耕治. 1989. ナデシコ属. P. 455-462. 塚本洋太郎編. 園芸植物大辞典. 第3巻. 小学館. 東京.
- 寛 三男. 1972. カーネーションの組織培養に関する研究Ⅲ. 温室カーネーションの染色体数. 広島農業短期大学研究報告. 4(3): 179-184.
- 寛 三男・山口雅篤. 1985. カーネーションの倍数性育種に関する研究 (第2報) 四倍体カーネーションの栽培的・形態的特性. 園学要旨. 昭60秋: 356-357.
- 三柴啓一郎・三位正洋. 1998. フローサイトメトリー自由自在植物研究への応用. 細胞工学. 17: 609-615.
- Onozaki, T, T. Yamaguchi, M. Himeno and H. Ikeda. 1999. Evaluation of 277 carnation cultivars for resistance to bacterial wilt (*Pseudomonas caryophylli*). *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 68: 546-550.
- 佐藤和規. 1995. 宿根性ナデシコ. 切り花栽培の新技术 改訂 宿根草 上巻. p. 15-18. 農耕と園芸編. 誠文堂新光社. 東京.
- 武田恭明. 2002. 花卉園芸大百科 9 カーネーション (ダイアンサス). p. 3-9. 農文協編. 農山漁村文化協会. 東京.
- 竹岡昌彦. 1995. ソネットシリーズ. 切り花栽培の新技术 改訂 宿根草 上巻. p. 11-14. 農耕と園芸編. 誠文堂新光社. 東京.
- 牛尾亜由子・小野崎 隆・柴田道夫. 2002. フローサイトメーターによる *Dianthus* 属遺伝資源の倍数性測定. 花き研報. 2: 21-26.
- 山口雅篤・国本忠正・原田重雄. 1980. カーネーション園芸品種の染色体数に関する研究. 南九州大学園芸学部研究報告. 10: 25-30.
- 山口雅篤. 1981. カーネーション園芸品種の染色体数に関する研究Ⅱ. カーネーション園芸品種の染色体数について. 南九州大学園芸学部研究報告. 11: 9-14.
- 山口雅篤・寛 三男. 1985. カーネーションの倍数性育種に関する研究 (第1報) コルヒチン処理による四倍体の作出. 園学要旨. 昭60秋: 354-355.