

アルファルファのソマクローナル変異 II. 再生後代(SC₂)の圃場特性

小池正徳¹・田守隆浩¹・東野裕広²・嶋田 徹¹

(受理: 1992年5月22日)

Somaclonal variation of alfalfa

II. Field characteristics of SC₂ plant

Masanori KOIKE¹, Takahiro TAMORI¹, Yasuhiro HIGASHINO²
and Tohru SHIMADA¹

摘 要

アルファルファの培養細胞から再分化した植物体の自殖後代を圃場に移植し2年間にわたり、圃場特性を中心に調査した。収量に関する諸形質(乾物重, 草丈, 茎数, 頭花数)では自殖劣勢のため, 対照品種キタワカバより有意に大きい変異を示した自殖系統は認められなかった。また, そばかす病に対しては概して抵抗性の方向に変異が認められ, 対照品種に比べ, 発病程度が有意に低い自殖系統が存在した。

キーワード: アルファルファ, ソマクローナル変異

緒 言

プロトプラストまたはカルスから再生した植物体は, 同一植物の体細胞を起源にするにもかかわらず, 遺伝的に多様に変化していることが, 多くの植物種で明らかになっている。このような現象をLarkinとScoweroft¹⁾はソマクローナル変異と呼んだ。

前報²⁾において, 著者らはアルファルファ(*Medicago sativa* L.) 培養細胞から再生した植物体(SC₁)の圃場特性を調査した。その結果, SC₁栄養系集団に広いソマクローナル変異が認めら

れた。本実験では再生当代(SC₁)の自殖後代(SC₂)の圃場特性を調査することを目的とした。

材料および方法

1) 供試植物

品種キタワカバ子葉由来培養細胞からの再生個体³⁾を1989年に網室で栽培し, トリップングにより12個体から自殖種子を得た。

2) 育苗および圃場試験

トリッピングにより得た種子を1990年4月20日にジフィーポットに播種し, ガラス室で育苗, 6月22日に帯広畜産大学精密圃場に40×40cmの間隔でラン

1 帯広畜産大学飼料作物科学講座

2 千葉大学園芸学部作物学研究室

1 Laboratory of Forage Crop Science, Obihiro University of Agriculture & Veterinary Medicine, Obihiro; Hokkaido 080, Japan.

2 Laboratory of Crop Science, Faculty of Horticulture, Chiba University, Matsudo, Chiba, 271, Japan.

ダムに個体移植した。初年度(1990年)には、乾物重、草丈、茎数および頭花数の調査を移植10週間後(8月30日)に行った。また、そばかす病の調査は刈り取り前日(8月29日)および刈り取り8週間後(10月24日)に行った。病徴程度は1~5の5段階(1:抵抗性~5:感受性)とし、各個体ごとに評価した。次年度(1991)は7月17日および10月9日に刈り取りし、乾物重を測定した。また、刈り取りの前日に、草丈ならびにそばかす病発病程度を調査した。統計解析にはすべてダンカンの多重検定法を用いた。

このような実験を行う場合、対照植物としての再生個体の親植物(カルスの起源となる植物体)の自殖種子を用いるのが妥当である。しかし、本実験で用いた親植物体は発芽種子の子葉より誘導したカルスから再分化した植物体であり、カルスの親植物は存在しない。そこで本実験では対照として品種キタワカバからランダムに選んだ42個体を用いた。

結 果

1) 乾物重

再生個体の自殖後代(SC₂)12系統の乾物重をTable 1に示した。3回の調査とも対照品種キタワカバが最も高い値を示し、初年度および次年度の1回目の調査ではすべての自殖系統に比べて有意に高かった。

Table 1 Mean dry matter yield of alfalfa SC₂ lines. Kitawakaba was included as a control. Lines are listed in order of mean yield in 1990

Line	n	Mean dry matter yield/plant		
		'90(8/30)	'91(7/16)	'92(10/16)
K3C-4	7	4.0 a*	—	—
K3C-1-1	12	12.8 ab	60.1 a	28.0 a-c
K112-2	14	11.8 ab	43.9 a	20.1 ab
K3C-11	7	14.6 ab	48.4 a	21.9 ab
K3C-22	5	15.0 ab	—	—
K3C-12	15	17.0 bc	67.9 a	24.7 ab
K3C-13	11	18.1 bc	79.0 a	25.6 ab
K112-1	15	19.0 bc	56.7 a	25.9 ab
K3C-3	8	19.0 bc	75.0 a	96.6 bc
K3C-14	3	20.3 bc	51.3 a	14.3 a
K3C-7	13	22.1 bc	62.1 a	27.2 a-c
K3C-1-4	7	26.3 c	65.3 a	27.7 a-c
Kitawakaba	42	37.7 d	133.7 b	4.03 c

* Means within columns followed by the same letter are not significantly different (P=0.05) using Duncan's Multiple Range Test.

2) 草丈

SC₂系統の草丈の調査結果をTable 2に示した。草丈の値も2年間を通じて対照品種キタワカバの値が高く、K3C-1-4が初年度の調査でキタワカバより高い値を示したが、有意な差は認められなかった。

Table 2 Plant length of alfalfa SC₂ lines. Kitawakaba was included as a control. Lines are listed in order of plant length in 1990

Line	n	Plant Length (cm)		
		'90(8/30)	'91(7/16)	'92(10/8)
K3C-4	5	37.6 a*	—	—
K112-2	14	59.7 b	116.1 a	59.3 a
K3C-11	7	70.3 bc	129.9 ab	76.9 b
K3C-13	11	71.8 bc	132.3 ab	77.6 b
K3C-1-1	12	72.7 bc	138.0 bc	78.8 b
K3C-14	3	73.4 bc	—	77.7 b
K3C-22	5	77.4 c-d	135.9 bc	—
K3C-12	15	80.0 c-e	134.6 b	84.2 b
K112-1	15	80.9 c-e	135.0 b	78.1 b
K3C-3	8	83.7 c-e	143.6 bc	79.6 b
K3C-7	13	89.2 d-e	154.7 c	80.9 b
Kitawakaba	42	92.1 ef	154.7 c	87.0 b
K3C-1-4	7	95.4 f	147.7 bc	74.9 b

* Means within columns followed by the same letter are not significantly different (P=0.05) using Duncan's Multiple Range Test.

3) 茎数および頭花数

初年度のSC₂系統の茎数および頭花数をTable 3に示した。茎数ではK3C-3、頭花数ではK3C-14を除きすべての系統がキタワカバより低い値を示した。

4) そばかす病

SC₂系統のそばかす病の発病調査は2年間4回行った。その結果をTable 4に示した。各系統ともキタワカバより低い値を示す傾向にあった。特に再生個体K3C-3自殖系統は4回の調査すべてにおいて、キタワカバより有意に低い値を示した。

5) 年次相関

SC₂系統の乾物重、草丈およびそばかす病の年次相関をTable 5に示した。

乾物重および草丈については3回の調査間すべてにおいて有意な相関が認められた。

そばかす病については、4回の調査間すべてにおいて有意な相関は認められなかった。

Table 3 Stem and raceme number of alfalfa SC₂ lines. Kitawakaba was included as a control. Lines are listed in order of stem number

Line	n	Stem number	Raceme number
K1C4	5	11.0 a*	1.4 a
K3C-2-4	7	11.0 a	40.9 a
K3C-1-1	12	12.8 a	32.8 a
K3C-22	5	13.0 a	21.8 a
K112-2	14	13.3 a	14.3 a
K3C-11	7	14.0 a	22.1 a
K3C-14	3	14.4 a	128.6 c
K112-1	15	14.8 a	60.7 ab
K3C-7	13	16.2 a	37.8 a
K3C-13	11	16.3 ab	35.3 a
K3C-12	15	16.6 ab	33.8 a
Kitawakaba	42	16.7 ab	110.4 bc
K3C-3	8	21.1 b	103.1 bc

* Means within columns followed by the same letter are not significantly different (P=0.05) using Duncan's Multiple Range Test.

Table 4 Leptosphaerulina leaf spot severity of alfalfa SC lines. Kitawakaba was included as a control. Lines are listed in order of disease severity in August 29 in 1990.

Line	Leptosphaerulina leaf spot severity			
	—1990—		—1991—	
	8/29	10/24	7/16	9/4
K3C-3	2.1 a*	2.3 a	3.1 a	2.7 a-c
K3C-14	2.4 ab	2.8 ab	3.7 a-c	3.8 e
K3C-7	2.5 ab	2.5 a	3.4 ab	2.5 a
K3C-12	2.6 ab	2.2 a	3.9 bc	3.1 b-d
K3C-1-1	2.8 ab	2.1 a	3.8 a-c	2.8 a-c
K112-2	2.9 ab	2.6 a	3.5 a-c	2.4 a
K3C-11	2.9 ab	2.1 a	3.1 a	3.1 b-d
K3C-1-4	2.9 ab	2.4 a	3.1 a	3.3 c-e
K1C-4	3.0 bc	—	—	—
K112-1	3.1 bc	2.2 a	3.8 a-c	2.9 a-c
Kitawakaba	3.1 bc	3.3 b	4.0 bc	3.7 de
K3C-22	3.2 bc	4.0 c	—	—
K3C-13	3.8 c	2.4 a	4.1 c	2.6 ab

* Means within columns followed by the same letter are not significantly different (P=0.05) using Duncan's Multiple Range Test. Each score was based on five-point severity scale where 1=lowest and 5=highest.

Table 5 Correlation coefficients between the seasonal pairs of observation values in field characters of SC₂ lines.

Character	'90 1st-	'90 1st-	'90 1st-	'90 2nd-	'90 2nd-	'91 1st
	'90 2nd	'91 1st	'91 2nd	'91 1st	'91 2nd	'91 2nd
Mean dry matter yield /plant	—	0.829**	0.675*	—	—	0.861**
Plant length	—	0.816**	0.642*	—	—	0.721**
Leptosphaerulina leaf spot	0.073 ^{NS}	0.544 ^{NS}	-0.097 ^{NS}	0.378 ^{NS}	0.506 ^{NS}	0.142 ^{NS}

* : Significant at 5%, ** : Significant at 1%, NS : Not significant

考 察

アルファルファのソマクローナル変異については、ReischとBingham⁴⁾やNagarajanとWalton⁵⁾などの報告があり、収量関連形質を中心にその変異が調べられてきた。しかし、アルファルファにおいて、プロトプラストまたはカルスからの再生個体の後代に関するソマクローナル変異の報告例は少ない。一般的にイネ、コムギなどの自殖性作物のソマクローナル変異の報告では、再生当代 (SC₁) ではなく、その次世代 (SC₂, SC₃) でソマクローナル変異の評価がなされている¹⁾。アルファルファでそれができない原因のひとつとして、近交弱勢が上げられる。本実験では収量関連形質 (乾物重, 草丈, 茎数, 頭花数) については対照品種キタワカバを有意に上回る自殖系統は存在しないだけでなく、多くの系統が有意に低い値を示した。妥当な対照系統を準備しなかったので厳密には言えないが、本実験で用いた再生個体の自殖系統に近交弱勢が生じたものと思われる。今後、この点について更に検討したい。

ジャガイモ⁶⁾, コムギ⁷⁾, サトウキビ⁸⁾, ダイズ⁹⁾などで、ソマクローナル変異によって、主として1遺伝子もしくは数遺伝子によって支配されている病害抵抗性の個体を育成した報告がある。本実験においては、そばかす病に対してSC₂系統のほとんどが対照品種キタワカバに比べ抵抗性を示した。特に再生個体K3C-3の自殖系統は、4回の調査とも対照品種よりそばかす病の発病程度が有意に低く、有望な系統と思われた。しかし、調査期ごとの各系統の発病程度に有意な相関が認められず、抵抗性の再現

性に問題が残された。今後、更に系統数、個体数を増やし検討していきたい。

Summary

The field performance in selfed progenies (SC₂) of alfalfa (*Medicago sativa* L.) plants regenerated from calli was investigated for two years (1990-1991). For the four yield associated characteristics observed (dry matter yield, plant length, stem number and receme number), SC₂ lines were not significantly superior to the control cultivar "Kitawakaba" in both years. In fact, most of them were significantly inferior to the control because of inbreeding depression due to selfing. Resistance to *Leptosparulina* leaf spot in SC₂ lines, however, was found to be higher than in the control. One strain, K3C-3, was significantly more resistant than the control at four periods of observation.

Key words; alfalfa, somaclonal variation

引用文献

- 1) Larkin, P.J. and W.R.Scowcroft (1981) *Theor. Appl. Genet.* 60, 197-214
- 2) 小池正徳, 東野裕広, 田守隆浩, 嶋田 徹 (1992) 帯大研報 18 (1) 25-30
- 3) Koike, M., Y. Yoshida, Y. Kagaya and T. Shimada (1991) *Plant Tissue Culture Lett.* 8, 152-157
- 4) Reisch, B. and E.T. Bingham (1981) *Crop Sci.* 21, 783-788
- 5) Nagarajan, P and P.D. Walton (1989) *Plant Breed.* 102, 333-337
- 6) Behnke, M. (1979) *Theor. Appl. Genet.* 55, 69-71
- 7) Larkin, P.J., S.A. Ryan, R.S. Bretell and W.R. Scowcroft (1984) *Theor. Appl. Genet.* 67, 443-455
- 8) Lowrens, A.C. and F.A. Martin (1987) *Crop Sci.* 27, 793-796
- 9) Graybosch, R. A., M. E. Edge and X. Delennay (1987) *Crop Sci.* 27, 803-806