

成績概要書 (2007年1月作成)

研究課題：りんどうの胚珠培養法

(りんどう育種のための組織培養技術および苗養成技術の確立)

(りんどう育種のための組織培養法および苗養成法の開発)

担当部署：中央農試 基盤研究部 細胞育種科、ながぬま農業協同組合

協力分担：

予算区分：民間共同

研究期間：2001～2006年度 (平成13～18年度)

1. 目的

りんどうの胚珠培養法を確立する。さらに、胚珠培養により得られた種間交雑個体の雑種性を圃場における特性調査により確認する。

2. 方法

1) 供試材料

エゾリンドウ個体およびりんどう野生種5種 (*G. paradoxa*、*G. septemfida*、*G. dahurica*、*G. tibetica*、*G. andrewsii*)

2) 交配方法

圃場の株より多数の蕾を有する抽苔茎を採取。切花で維持。子房親の葯が裂開する前に除雄。柱頭が2分したときに、他家あるいは自家の花粉を受粉。

3) 培養方法

交配数日後に肥大した子房を採取。表面殺菌後、胚珠を培地 (1/2NH₄NO₃ 量の MS 基本培地、0.01mg/l NAA、30 または 45g/l ショ糖、8g/l 寒天または 2.5g/l ゲルライト) に置床。置床2ヶ月後に発芽数を調査。発芽個体は、新しい培地に移植。

4) 胚珠培養条件の検討

胚珠培養における培養開始時期、培養培地のゲル化剤 (8g/l 寒天、2.5g/l ゲルライト)、培養培地へのジベレリン添加の有無 (無添加および 2mg/l) について検討。

5) 胚珠培養により作出した種間交雑個体の雑種性確認

エゾリンドウと野生種5種との交配および野生種間交配を実施。エゾリンドウ × *G. paradoxa* 種間雑種個体に関してはエゾリンドウおよび *G. paradoxa* の戻し交配を実施。得られた個体は雑種性確認のため圃場に定植。2006年、開花した個体について、開花期、草高、葉長、花段数、花色、花長、花冠先端の転回、がく片長等の特性を調査。

3. 成果の概要

1) りんどうの切花を用いて交配し、数日後に肥大子房より胚珠を摘出し、NH₄NO₃ 量を 1/2 とする MS 培地で培養することで、発芽個体を得ることができた。

2) 胚珠培養の開始に最適な時期は、エゾリンドウ個体間交雑での発芽数の調査結果から、交配2～5日後よりも7～10日後が適当であり(表1)、10日を超えると発芽数は減少した(データ省略)。また、交配1日後には胚はすでに胚珠培養での発芽能力を有していた(表1)。

3) 胚珠培養培地のゲル化剤には、寒天よりゲルライトが1子房当たりの発芽数が多くなり、適当であった(データ省略)。また、培地へのジベレリン添加は、無添加に比べて発芽が早まり、発芽数も1.5～2倍となる発芽促進効果が見られた(データ省略)。

4) エゾリンドウとりんどう野生種(*G. paradoxa*、*G. septemfida*、*G. dahurica*、*G. tibetica* および *G. andrewsii* の5種)の交配後、胚珠培養技術を用いることで、発芽個体が得られた(表2、図1b)。また、野生種間の3組合せ(*G. septemfida* × *G. tibetica*、*G. tibetica* × *G. septemfida*、*G. tibetica* × *G. dahurica*)においても発芽個体が得られた(図1c、d)。

5) 得られた個体の雑種性を確認するため、圃場に定植、養成し、開花させた。開花個体の花形、花長、がく片長、葉長、葉幅などの形態的特徴や花色は、両親の中間的であり、雑種個体と判断できた。また、幾つかの組合せでは、開花個体の大半が不親和性によると思われる奇形花を生じた(表2、図1a)。

6) エゾリンドウ × *G. paradoxa* 種間雑種個体へのエゾリンドウあるいは *G. paradoxa* の戻し交配により、極めて低率ではあるが雑種後代個体を得ることができた(データ省略)。

表1 交配後日数が胚珠培養における発芽に及ぼす影響

交配後 日数	交配組合せ別の1子房当たりの発芽数									平均 (9組合せ)
	B108×B36 ¹⁾	WM3×WM1	B3×B1	WM1×WM2	B1×B10	B12×B1	B36×B1	B88×B15	B10×B1	
0	0 ²⁾	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	91	39	70	16	22	42	24	60	17	42
2	128	217	109	233	8	39	71	78	60	105
3	237	86	46	80	85	57	152	76	24	94
4	242	258	108	94	51	90	47	77	36	111
5	218	76	140	136	87	110	67	81	23	104
7	155	125	304	67	228	199	152	16	117	151
10	123	266	284	198	229	154	148	94	74	174
平均 (2~10日)	184	171	165	135	115	108	106	70	56	123

1) 交配組合せ、B1、B3、B10、B12、B15、B36、B88、B108、WM1、WM2、WM3はエゾリンドウ個体

2) 1子房当たりの発芽数、各処理2子房を供試

表2 エゾリンドウと*G. paradoxa*の種間交雑結果 (2002年培養)

交配No.	交配組合せ ¹⁾ (種子親×花粉親)	交配数	交配後 日数	発芽数	1子房当たり の発芽数	圃場 定植数 ²⁾	生存数 ³⁾	生存数 ⁴⁾
02PA1	B1×par	3	5	4	1.3	1	0	
02PA2	B12×par	2	7	41	20.5	27	8	花奇形廃棄
02PA3	B36×par	4	10	87	21.8	46	38	花奇形廃棄
02PA4	WM1×par	7	7	1055	150.7	100	- ⁵⁾	
02PA5	WM2×par	6	5,7	330	55.0	46	26	花奇形廃棄
02PA6	W4×par	3	7,8	426	142.0	92	46	19
02PA7	W7×par	7	5,8	500以上	(71.4)	152	90	40
02PA8	par×B1	1	8	1	1.0	0	0	
02PA9	par×W2	3	6,7	95	31.7	11	10	8

1) B1、B12、B36、W2、W4、W7、WM1、WM2はエゾリンドウ個体、parはりんどう野生種*G. paradoxa*

2) 2003年6月4日

3) 2005年8月26日調査

4) 2006年8月11日調査

5) 除草剤がかかり枯死



エゾリンドウ×*G. paradoxa*
雑種個体の奇形花

G. paradoxa×エゾリンドウ
雑種個体

G. tibetica×*G. septemfida*
雑種個体

G. tibetica×*G. dahurica*
雑種個体

図1 種間雑種個体の花

4. 成果の活用面と留意点

1) りんどう種間雑種の獲得に利用できる。

5. 残された問題とその対応

1) 種間雑種個体の大量増殖法。