

リンドウの胚珠培養法による種間雑種の作出

玉掛 秀人^{*1} 伊藤 盟^{*2} 森 正敏^{*2}

リンドウの種間雑種作出のための胚珠培養法を明らかにした。リンドウ個体間で切り花を用いて交配し、3～10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。この胚珠培養法により、エゾリンドウ (*Gentiana tiriflora* var. *japonica*) とリンドウ野生種5種 (*G. paradoxa*, *G. septemfida*, *G. dahurica*, *G. tibetica* および *G. andrewsii*) の交配後、発芽個体が得られた。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。さらに、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*の戻し交配において、極めて低率であったが雑種後代個体を得ることができた。得られた発芽個体の雑種性を確認するため、圃場に定植して開花個体を養成し、特性を調査した。開花個体の多くは、花形、花長、がく片長、葉長、葉幅、花色などの形態的特徴において両親の中間的であり、雑種個体と判断できた。また、組合せにより得られた個体の大半が不親和性によると思われる奇形花となる場合が見られた。

緒 言

リンドウは夏期の冷涼な気候と水田跡地土壌を好み、花きの中では数少ない露地栽培が可能な品目であることから、北海道においても水田転作作物として注目され、空知、檜山管内を中心に切り花栽培がなされている¹⁾。

リンドウの品種改良が開始されて以来、切り花用あるいは鉢物用の様々な品種が育成されている。これまで育成されてきたリンドウの品種は、大きく二つのタイプに分けられる。一つは、エゾリンドウ (*Gentiana tiriflora* var. *japonica*)、エゾオヤマリンドウ (*G. tiriflora* var. *japonica* f. *montana*) などを主体としたと花弁先端が開かないエゾリンドウタイプで、もう一方はササリンドウ (*G. scabra* var. *buengeri*) を主体とした花弁が開くササリンドウタイプである^{2) 3)}。

リンドウ属には約400種が存在し、アフリカを除く世界のほぼ全域に自生している⁴⁾。しかしながら、上記以外の種を用いた品種育成の例は極めて少なく、リンドウの

種間雑種作出に関する報告も数少ない。

青紫の花を主体とするリンドウは、これまで仏花のイメージが強かったが、近年、白、ピンク等の花色や複色の品種も登場し、花持ちが良いことからアレンジ等にも向く切り花として用途が広がり、需要が拡大している。今後の更なる需要拡大には、これまで育種に用いられてこなかった種を積極的に利用し、変異の拡大を図っていくことが重要である。

今回、種間雑種作出のための胚珠培養法を確立し、幾つかの組合せで、種間雑種個体が得られたので報告する。

試験方法

1. 胚珠培養条件の検討

(1) 供試材料

エゾリンドウ個体 (ながぬま農業協同組合保有) およびリンドウ野生種*G. paradoxa* (農林水産省北海道農業試験場 (現独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構北海道農業研究センター) より分譲)

(2) 交配方法

圃場で養成中の株より開花前の花を多数含む抽苔茎 (以後切り花とする) を採取して交配材料に用いた。採取した切り花は、室内で培養液 (1000倍希釈ハイポネックス, 20g/lシヨ糖, 0.001% 次亜塩素酸ナトリウム) あるいは水道水を入れたフラスコに挿し、2～3日おきに

2013年11月25日受理

^{*1} (地独) 北海道立総合研究機構中央農業試験場 (現: 同遺伝資源部, 073-0013 滝川市)
E-mail: tamagake-hideto@hro.or.jp

^{*2} ながぬま農業協同組合, 069-1393 夕張郡長沼町

切り戻しと水替えを行って維持した。子房親は、開花前に花弁をナイフで切り取り、裂開前の葯を除雄した。交配は、柱頭が2分し交配可能となったときに、他家あるいは自家の花粉を受粉した。

(3) 培養方法

交配数日後に肥大した子房を採取し、表面殺菌後、子房を縦に開き、胚珠を針で子房から掻き出して、0.01mg/l NAA, 30または45g/l ショ糖を含み、8g/l 寒天または2.5g/l ジェランガムで固化したNH₄NO₃量を1/2としたMS培地⁵⁾の入ったプラスチック滅菌シャーレ(テルモ製、90×20mm)上に置床した。培地のpHはオートクレーブ前に5.7に調整した。培養は、25±2℃、16時間照明で行い、置床2ヶ月後に発芽数を調査した。胚珠培養時の培養開始時期、培養培地のゲル化剤および培養培地へのジベレリン添加(2mg/l)の影響について検討した。

2. 胚珠培養による種間雑種個体の作出と雑種性確認

(1) 供試材料

エゾリンドウ個体(ながめ農業協同組合保有)およびリンドウ野生種5種*G. paradoxa*, *G. septemfida*, *G. dahurica*, *G. tibetica*, *G. andrewsii*。*G. septemfida*以下の4種は市販の種子を購入した。

(2) 交配方法

「1. 胚珠培養条件の検討」に同じ。エゾリンドウと野生種との交配、野生種間の交配、さらにエゾリンドウ×*G. paradoxa*種間雑種個体へのエゾリンドウおよび*G. paradoxa*の戻し交配を行った。

(3) 培養方法

「1. 胚珠培養条件の検討」に同じ。但し、戻し交配では、肥大胚珠のみを摘出して培養し、培養開始2ヵ月後に未発芽の胚珠について胚の存在を実体顕微鏡下で確認した。

(4) 開花個体の養成

発芽個体は、新しい培地に移植して生育させた。1～2ヶ月後、生育の良好な個体を市販のリンドウ用培土を

充填した128穴セルトレイに移植し、温室内で1～2ヶ月養成した。その後、苗を低温処理するためセルトレイごと雪の下に埋設し、5月下旬～6月上旬にながめ農業協同組合の所有する圃場に定植した。

(5) 雑種性の確認

圃場に移植した種間雑種個体について、開花期、草高、葉長、葉幅、花段数、花色、花長、花冠先端の転回、かく片長等の特性を調査し、交配に用いた両親と比較することで、雑種性を確認した。

試験結果

1. 胚珠培養条件の検討

(1) 胚珠培養開始時期の影響

エゾリンドウ個体間交雑での子房を用いて、胚の発芽に及ぼす胚珠培養開始時期の影響を検討した。交配5日後において胚はすでに十分な発芽能力を有していることが明らかになり、交配16日後では発芽数は明らかに減少した(表1)。さらに最適培養開始時期を明らかにするため、交配0日(未交配)から10日後までの範囲で、エゾリンドウ個体間交雑9組合せを供試して胚の発芽数を調査した。交配1日後の培養開始においても、1子房当たりの発芽数は少なかったが、全ての組合せで発芽個体が得られた。9組合せの平均発芽数は、2～5日後よりも7～10日後で多かった(表2)。

表1 交配後日数が胚珠培養における発芽に及ぼす影響-1

交配後 日数	交配組合せ ¹⁾			3組合せ 平均
	B90×B14	B80×W1	B90×W1	
5	103 (2) ²⁾	100 (2)	100 (2)	101
10	62 (2)	94 (2)	109 (2)	88
16	7 (1)	25 (3)	24 (4)	19

1) B14, B80, B90およびW1はエゾリンドウ個体
2) 1子房当たりの発芽数, 括弧内は供試子房数

表2 交配後日数が胚珠培養における発芽に及ぼす影響-2

交配後 日数	交配組合せ ¹⁾									9組合せ 平均
	B108×B36	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

1) 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

(2) ゲル化剤の影響

胚珠培養培地に使用するゲル化剤が胚の発芽に及ぼす影響を検討した。エゾリンドウ個体間交雑および種間交雑のいずれにおいても、寒天に比べてジェランガムで発芽数が多い組合せが多く、平均発芽数も優った(表3, 表4)。

(3) ジベレリン添加の影響

エゾリンドウとリンドウ野生種*G. paradoxa*の種間交雑において、胚珠培養培地へのジベレリン添加の影響を

検討した。ジベレリン添加は発芽促進効果を示し、培養1ヵ月後の発芽数は、無添加の3倍以上となった。また、培養2ヵ月後までの総発芽数は、添加区で無添加区の1.5~2.0倍となった(表5)。但し、ジベレリン添加区の発芽個体は徒長した。

表3 ゲル化剤が胚珠培養での発芽に及ぼす影響-1

交配組合せ ¹⁾	供試子房数	交配後日数	1子房当たりの発芽数	
			寒天	ジェランガム
B1×B88	3	5	52.7	64.0
B15×WM1	4	5	64.5	88.0
B201×B15	3	5	128.0	106.7
B202×B88	3	5	6.7	6.0
WM2×WM3	4	5	122.5	211.5
WM4×B15	3	5	15.3	22.0
WM5×WM1	3	5	45.3	17.3
B15×B15	4	5	37.0	65.0
B201×B201	3	5	42.7	106.7
9組合せ平均			57.2	76.4

1) B1, B15, B88, B201, B202, WM1, WM2, WM3, WM4, WM5はエゾリンドウ個体

表4 ゲル化剤が胚珠培養での発芽に及ぼす影響-2

交配組合せ ¹⁾	供試子房数	交配後日数	1子房当たりの発芽数	
			寒天	ジェランガム
WM1×par	7	7	125.1	176.3
WM2×par	6	5, 7	45.0	65.0
W7×par	7	5, 8	72.9	70.0
par×W2	3	6, 7	14.0	49.3
4組合せ平均			64.3	90.2

1) W2, W7, WM1, WM2はエゾリンドウ個体, parは*G. paradoxa*

表5 胚珠培養培地へのジベレリン添加が発芽に及ぼす影響

交配組合せ ¹⁾	交配数	交配後日数	GA無添加区での発芽数			GA(2mg/l)添加区での発芽数			GA2/GA0
			1ヵ月後	2ヵ月後	計(GA0)	1ヵ月後	2ヵ月後	計(GA2)	
02WW9-7×par	5	5	175	308	483	555	146	701	1.5
05S3-1×par	5	6	119	147	266	381	140	521	2.0
岩手乙女×par	4	6	- ²⁾	231	231	- ²⁾	381	381	1.6

1) 02WW9-7, 05S3-1, 岩手乙女はエゾリンドウ個体, parは*G. paradoxa*
2) 未計測

2. 胚珠培養による種間雑種個体の作出と雑種性確認

(1) エゾリンドウと*G. paradoxa*の交配

エゾリンドウとリンドウ野生種*G. paradoxa*の交配により、正逆いずれからも発芽個体を獲得することができた(表6)。胚珠培養での1子房当たりの発芽数は、供試したエゾリンドウ個体により大きな差が見られ、またエゾリンドウを種子親としたときの方が、発芽数が多い傾向であった。得られた発芽個体の雑種性を確認するため、培養個体をセルトレイに移植して温室で養成後、翌年圃場に定植し、開花株を養成した。2004年には多くの個体が開花し、2006年に開花個体の特性を調査した。02PA2, 02PA3および02PA5の開花個体は、ほとんど全

て奇形花であったが(写真1 a), 02PA6, 02PA7および02PA9では、概ね正常花であった(写真1 b)。

02PA6, 02PA7, 02PA9の開花個体の形態的特性は、草高、葉長、葉幅、花段数、1茎の総花数、花径、がく片長など多くの形質で両親の中間的な値を示した。このことから、開花個体はいずれも種間雑種であると判断できた(表7)。花色と花冠先端の転回(花卉の開き)は野生種*G. paradoxa*に近かった(表7, 写真1)。比較のため調査したエゾリンドウ親には、02PA6, 02PA7, 02PA9の片親である白花のW4, W7, W2個体がいずれも消失していたため、特性のよく似たW10個体を用いた。

(2) エゾリンドウと野生種4種との交配および野生種間の交配

エゾリンドウと野生種4種 (*G. septemfida*, *G. dahurica*, *G. tibetica*, *G. andrewsii*) との交配では、*G. dahurica*×エゾリンドウB1個体を除く全ての組合せで、胚珠培養により発芽個体を獲得できた (表8, 表9)。発芽個体数は、いずれの組合せでも少なかった。また、野生種間の3組合せでも発芽個体が得られた (表8)。

2003年に交配・培養して得られた個体は、セルトレイに移植して温室で養成後、翌年圃場に定植した。2005年には多くの個体が開花したが、03td1以外は、多くが越冬できず枯死した。原因はリンドウホソハマキの食害によると考えられた。03Bs1および03Bs2の開花個体はほとんど奇形花であった。03tB1, 03ts1および03td1の開花個体は正常花であった (写真2 a, b)。

03ts1は、1個体のみでの調査であるが、茎立数および片長において両親の中間の値を示し、また、花色は花粉親*G. septemfida*の明青紫と種子親*G. tibetica*の白色の中間的淡青紫であったことから、種間雑種であると判断できた (表10, 写真2 a, c, d)。

03td1は、茎立数、葉長、葉幅、1茎の総花数、花長において両親の中間の値を示し、また、花色は花粉親*G. dahurica*の明青紫と種子親*G. tibetica*の白色の中間的淡青紫であったことから、種間雑種であると判断できた (表10, 写真2 b, c, e)。

(3) エゾリンドウと*G. paradoxa*との種間雑種個体への戻し交配

エゾリンドウと*G. paradoxa*との種間雑種個体へのエゾリンドウあるいは*G. paradoxa*の戻し交配により雑種個体が得られるか、2004年および2005年の2ヵ年試験を行った。

2004年は7組合せの種間雑種個体へのエゾリンドウの戻し交配を行った (表11)。交配した子房の大部分は数日後肥大し、採取した58個の子房のうち35個 (60%) で胚が存在すると思われる肥大胚珠 (一子房当たり1~6個) が存在した。69個の肥大胚珠を摘出して培養したところ、7個が発芽、2個体の植物体を得た。得られた2個体のうち1個体は圃場に移植することができた。

2005年は11組合せの交配を行った (表11)。前年同様に交配した多くの子房が肥大した。採取した204個の子房のうち114個 (56%) で胚が存在すると思われる肥大胚珠が存在した。278個の肥大胚珠を摘出して培養したところ、23個が発芽、11個体の植物体を得た。278個の胚珠のうち54個 (19%) に胚が存在した。

2004年に02PA7×B1の交配で得られた個体は、セルトレイに移植し、温室で養成、2005年に圃場に定植、2006年に開花した。一株で、かつ株が小さく、十分な比較はできなかったが、葉幅、花冠先端の転回は両親の中間を示し、また、花色は花粉親と同じ青紫となり、雑種後代個体であると判断できた (表12, 写真3 a, b, c)。

表6 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⁾	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*G. paradoxa*

2) 2003年6月4日定植

3) 2005年8月26日調査

4) 2006年8月11日調査

5) 除草剤がかかったため枯死

表7 エゾリンドウと*G. paradoxa*との種間雑種個体の特性調査 (2006年)

交配No. ¹⁾	調査数	開花期	草高 (cm)	茎立数	葉長 ²⁾ (cm)	葉幅 ²⁾ (cm)	花段数	1茎の総花数	花色		花冠先端の転回	花長 (cm)	花径 (cm)	がく片長 (cm)	花冠の裂片数	
									内面上部	外面						
02PA6	5個体	5茎	9/上	45.1	31.4	7.4	0.9	3.8	20.2	鮮青紫	や暗紫	外反転	4.6	2.6	2.1	5~(6)
02PA7	5個体	5茎	9/上	46.0	30.6	8.5	0.7	3.6	19.2	鮮青紫	や暗紫	外反転	4.8	2.6	2.6	5~(6)
02PA9	2個体	2茎	9/上	37.6	24.5	6.7	0.8	3.0	16.5	鮮青紫	や暗紫	外反転	4.6	3.1	2.2	5~(6)
par	1個体	5茎	8/下	21.5	26.0	5.0	0.3	1.0	1.4	鮮青紫	や暗紫	外反転	4.9	3.7	4.6	6
W10	1個体	3茎	9/上	119.0	9	8.1	1.8	4.7	30.0	白	白	無反転	5.1	1.6	0.3	5

1) 02PA6はW4×par, 02PA7はW7×par, 02PA9はpar×W2, W4, W7, W2, W10はエゾリンドウ白花個体, parは*G. paradoxa*
 2) 主に2段目の葉について計測

表8 リンドウ種間交雑結果-1 (2003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 ²⁾	セルトレイ移植数 ³⁾	圃場定植数 ⁴⁾	生存数 ⁵⁾
03Bs1	B1×sep	10	3, 5, 7	8 (1)	7	6	花奇形廃棄
03Bs2	B15-A×sep	9	3, 5, 7	14 (4)	11	11	花奇形廃棄
03Bt1	B15-A×tib	9	3, 5, 7	43 (6)	33	20	1
03Bd1	B15-A×dah	9	3, 5, 7	41 (7)	23	17	0
03sB1	sep×B1	8	3, 5, 7	49 (7)	33	26	0
03tB1	tib×B1	9	3, 5, 7	44 (-)	25	20	9
03dB1	dah×B1	11	5, 7	0 (0)	0		
03st1	sep×tib	6	5, 7	24 (3)	10	2	0
03ts1	tib×sep	6	4, 5, 7	34 (-)	34	10	2
03td1	tib×dah	6	4, 5, 8	101 (-)	66	30	28

1) B1, B15-Aはエゾリンドウ個体, sepは*G. septemfida*, tibは*G. tibetica*, dahは*G. dahurica*
 2) 括弧内は発芽個体が得られた子房数, ただし種子親tibではコンタミが多かったため計数せず
 3) 2003年12月4日移植
 4) 2004年6月4日定植
 5) 2006年8月11日調査

表9 リンドウ種間交雑結果-2 (2005年培養)

交配No.	交配組合せ ¹⁾ (種子親×花粉親)	交配数 A	交配後日数	発芽数	植物体数 B	B/A	セルトレイ移植数 ²⁾	圃場定植数 ³⁾
05Bd1	(01) 9-4×dah	12	7-11	36	23	1.9	23	14
05Bs1	(01) 9-4×sep	5	6	151	112	22.4	112	80
05aB1	and×岩手乙女	7	5	241	95	13.6	92	60
05aB2	and×02WW9-7	6	5	339	200	33.3	200	100

1) (01) 9-4, 02WW9-7, 岩手乙女はエゾリンドウ個体, sepは*G. septemfida*, dahは*G. dahurica*, andは*G. andrewsii*
 2) 2005年11月24日移植
 3) 2006年6月15日定植

表10 *G. tibetica*×*G. septemfida*および*G. tibetica*×*G. dahurica*種間雑種の特性調査 (2006年)

交配 No. ¹⁾	調査数	開花期	草高 (cm)	茎立数	葉長 ²⁾ (cm)	葉幅 ²⁾ (cm)	花段数	1茎の 総花数	花色		花冠 先端 の転回	花長 (cm)	花径 (cm)	がく片 長 (cm)	花冠の 裂片数
									内面 上部	外面					
03ts1	1 個体 1 茎	8/上	30.0	4	21.2	4.8	5(片側)	28	淡青紫	や暗紫	外反転	3.8	2.4	0.6	5
03td1	5 個体 5 茎	7/下	70.8	9.4	16.7	2.9	4.0	29.0	淡青紫	や暗白緑	や外反転	3.4	2.4	なし	5
tib	5 個体 5 茎	8/上	49.4	1.6	19.8	4.0	1.8	17.6	白	や暗白緑	や外反転	3.8	1.8	0.0	5
sep	3 個体 5 茎	7/下	33.1	24.7	5.0	2.4	2.8	12.8	明青紫	や暗青紫	外反転	4.6	2.3	1.9	5
dah	2 個体 5 茎	8/上	58.7	19.0	8.5	1.6	3.8	62.0	明青紫	青紫	外反転	2.6	1.5	0.0	6

1) 03ts1はtib×sep, 03td1はtib×dah, tibは*G. tibetica*, sepは*G. septemfida*, dahは*G. dahurica*

2) 主に2段目の葉について計測

表11 エゾリンドウと*G. paradoxa*との種間雑種個体への戻し交配結果

交配年	交配組合せ ¹⁾ (種子親×花粉親)	採取 子房数	交配後 日数	肥大胚珠 存在子房数	肥大 胚珠数	胚存在 胚珠数 ²⁾	発芽数	植物体 獲得数	セルトレイ 移植数 ³⁾	圃場 定植数 ⁴⁾
2004	02PA7×B14	7	6-7	4	11	-	2	0		
	02PA7×B1	5	7	3	6	-	1	1	1	1
	02PA7×W10	3	6-8	2	2	-	0	0		
	02PA7×(01)15-A	11	6	7	13	-	2	0		
	02PA7×W9	13	6-12	10	26	-	1	0		
	02PA9×(01)15-A	10	6	6	8	-	0	0		
	02PA9×W9	9	6, 12	3	3	-	1	1	1	0
	7 組合せ合計	58		35	69	-	7	2	2	1
2005	02PA6×02WW9-7	23	4-7	21	81	7	2	1	1	
	02PA7×02WW9-7	24	3-8	14	24	5	3	1	1	
	02PA9×02WW9-7	14	4-8	6	12	4	2	2	2	
	02PA6×岩手乙女	16	3-7	15	35	11	2	0		
	02PA7×岩手乙女	24	3-7	9	18	5	5	3	3	
	02PA9×岩手乙女	12	3-7	9	18	1	0	0		
	02PA6×(01)15-D	15	4-8	3	5	1	0	0		
	02PA9×W05K	7	6	3	5	2	2	1	1	
	02PA6×par	24	5-8	12	32	7	2	0		
	02PA7×par	14	6-8	10	25	5	4	3	0	
	02PA9×par	31	4-8	12	23	6	1	0		
	11 組合せ合計	204		114	278	54	23	11	8	

1) 02PA6, 02PA7は, 02PA9はエゾリンドウと*G. paradoxa*の雑種個体, parは*G. paradoxa*, その他はエゾリンドウ個体

2) 肥大した胚珠のうち胚の存在が確認できた胚珠数, -は未調査

3) 2004年交配では2005年1月16日移植, 2005年交配では2005年12月20日移植

4) 2005年6月8日定植

表12 エゾリンドウ×*G. paradoxa*種間雑種へのエゾリンドウ戻し交配後代の特性調査 (2006年)

交配 組合せ ¹⁾	調査数	開花期	草高 (cm)	茎立数	葉長 ²⁾ (cm)	葉幅 ²⁾ (cm)	花段数	1茎の 総花数	花色		花冠 先端 の転回	花長 (cm)	花径 (cm)	がく片 長 (cm)	花冠の 裂片数
									内面 上部	外面					
02PA7×B1	1 個体 1 茎	8/下	41.2	1	11.3	1.3	4	13	青紫	青紫	や外反転	5.3	3.1	2.9	5
02PA7	5 個体 5 茎	9/上	46.0	30.6	8.5	0.7	3.6	19.2	鮮青紫	や暗紫	外反転	4.8	2.6	2.6	5~(6)
B1	5 個体 5 茎	7/下	107.6	25.4	9.1	2.5	4.0	17.2	青紫	青紫	無反転	5.0	1.5	0.6	5

1) 02PA7はW7×par, W7, B1はエゾリンドウ個体, parは*G. paradoxa*

2) 主に2段目の葉について計測

考 察

花きの育種においては、変異の拡大が重要であり、種内にない形質を取り入れるために種間交雑育種が行われている。一般に、種間交雑においては、様々な不親和性から雑種胚が形成されても途中で生育を停止して枯死し、完熟種子が得られない場合も多く、雑種個体の獲得には胚培養や胚珠培養の利用により雑種胚の救出が必要となる。近年、これらの手法を用いて、ユリでは多くの実用品種が育成されている^{6) 7) 8)}。

しかしながら、リンドウの切り花品種の育成においては、これまで種内の在来種や品種間の交配が主に行われており、種間交雑による品種育成は、エゾリンドウとササリンドウとの交配によるいくつかの品種が見られる程度である³⁾。青紫色の花色が主体のリンドウは、仏花のイメージが強く、今後のさらなる需要の拡大には、多様な花色、花形や草姿を有する品種の育成が求められる。リンドウ属には、約400種の野生種が存在しており、花色、草姿等においてその変異は大きく、これらを利用して変異の拡大を図っていくことで新規性のあるリンドウの育成が期待できる。

今回、種間雑種作出のためのリンドウの胚珠培養条件を明らかにし、いくつかの組み合わせで種間雑種個体を作成し、その雑種性を明らかにすることができた。

最適な胚珠培養条件を明らかにするために、①交配後の胚珠培養開始の適期、②培地に使用するゲル化剤の種類の影響、③培地へのジベレリンの添加の有無の影響について検討した。エゾリンドウ個体間の交雑により、培養開始時期と胚の発芽との関係を検討したところ、交配後1日の培養開始で胚の発芽が見られ、7~10日で発芽数は幾分多くなる傾向であったが、2日以上で十分な発芽数となった。このことから培養開始の適期は幅広いことが明らかになった。一方で、交配16日後の培養開始では明らかに発芽数が減少した。このことは、リンドウの種子は受精後3~4週間程度で成熟し⁹⁾、強い休眠性を有する^{4) 10)}ことから、培養中に休眠状態に入ってしまうことによるものと考えられた。胚珠培養培地に使用するゲル化剤について寒天とジェランガムを使用して比較したところ、両者とも十分な発芽個体が得られ、顕著な差は見られなかったが、ジェランガムで発芽数が多い交配組合せが多かったことから、ゲル化剤にはジェランガムが適当と考えられた。また、胚珠培養培地へのジベレリンの添加の有無の影響については、ジベレリンの添加は発芽促進効果を示すとともに、発芽数の増加にも効果的であったが、その影響により植物体が徒長した。このため、鉢上げ苗とするには上部をカットしてジベレリン無添加の新しい培地に移植して、発根させる必要がある、

手間が掛かることから、発芽の悪い交配組合せに限定しての利用が適当と考えられた。以上から、リンドウの胚珠培養では、交配後、3~10日後に子房から胚珠を取り出し、0.01mg/l NAA、30または45g/l ショ糖を含み、2.5g/l ジェランガムで固化したNH₄NO₃量を1/2としたMS培地に置床することが、効率的な種間雑種作出に有効であると考えられた。

上記の胚珠培養条件の有効性を確認するため、エゾリンドウとリンドウ野生種およびリンドウ野生種間の種間交雑を行い、雑種個体の獲得を試みた。

エゾリンドウ個体とリンドウ野生種*G. paradoxa*との種間交雑では、胚珠培養により多くの発芽個体が得られた。また、発芽個体を温室のポットに移植後、一部を圃場に定植して養成することで、越冬し、数年後には開花した。しかしながら、交配親に用いたエゾリンドウ個体により、ほとんどの雑種個体が奇形花を生じた(写真1 a)。このような奇形花は、エゾリンドウと*G. septemfida*との雑種個体においても見られた。これらは、種間交雑による不親和性の発現によるものと考えられる。Morgan¹¹⁾は、*G. triflora*と*G. lutea*の種間交雑において、雑種植物体を得たが、温室に移植後、数ヶ月後に枯死したことを報告している。

エゾリンドウを片親とした種間交雑では、*G. paradoxa*、*G. septemfida*の他に*G. tibetica*、*G. dahurica*、*G. andrewsii*との組合せにおいても雑種個体を獲得することができた。また、野生種間の交雑においても雑種個体を獲得できた(写真2)。さらに、エゾリンドウと*G. paradoxa*との種間雑種個体へのエゾリンドウあるいは*G. paradoxa*の戻し交配においても、少数ではあるが後代を獲得することができた(写真3)。このことから、リンドウの種間交雑においては比較的雑種個体が得られやすいと考えられるが、今回の実験では供試した種が少なく、今後広範囲の組合せでの検討が必要である。

今回の実験において交配は、圃場で生育させた開花株より採取した切り花を用いて行った。氏原ら⁹⁾は、リンドウの採種において、室内で切り花を用いて交配し、水道水や種々の培養液で22~29日間維持することで、効率よく多量の種子が得られることを報告している。これにより夏期高温時の採種に伴う稔実障害を避けることができ、経費、労力などを軽減できるなどの利点をあげている。リンドウは一般的に雄蕊先熟性を示し、虫媒による他殖性植物であることから⁹⁾、ほ場や温室での交配には、子房の柱頭が裂開して受粉が可能となる前に除雄を行い、さらに他の花粉のコンタミを防ぐために受粉前と受粉後にアルミ箔等で確実に柱頭を覆うことが必要となる。一方、切り花交配では、室内で容易に除雄が可能であり、

風や虫の心配もないことから、柱頭の覆いも簡素に、あるいは不要にできることも大きな利点と考えられた。また、氏原ら⁹⁾は、切り花の維持には、水揚げや液の交換を考慮すれば2%ショ糖液等の特別な培養液は必要なく、水道水で十分であると述べており、今回の我々の実験においても適当な切り戻しと水替えにより水道水で問題なく維持することができた。

以上より、切り花を用いた交配と胚珠培養技術を利用することで、幾つかの組合せで種間雑種個体を獲得できた。今後本手法をリンドウの育種へ応用することで、これまで利用されていないリンドウ属野生種等から様々な特性を導入することが可能となり、花色や花形、草姿等で変異に富むリンドウ品種の育成が期待できる。

謝辞 本研究の開始に当たり、北海道農業研究センター 篠田浩一博士には貴重なご助言と数種のりんどろ野生種を提供していただいた。また、本研究の遂行に当たり、ながぬま農業協同組合およびりんどろ育種協議会の方々には、材料の提供、圃場管理および調査等で多大な協力をいただいた。本稿をとりまとめるに当たり、中央農業試験場遺伝資源部長白井滋久氏に御校閲をいただいた。各位に深くお礼申し上げます。

引用文献

- 1) 北海道農業協同組合中央会・ホクレン農業協同組合連合会編. 北海道フラワーガイド その21. 2013. 106p
- 2) 吉池貞蔵, 横山温. リンドウの育種に関する研究 (第2報) 一代雑種の利用. 岩手県園芸試験場研究報告. 5, 109-116 (1984)
- 3) 高橋寿一. リンドウの高付加価値を創出するための品種開発. 東北農業研究. 別冊10, 65-73 (1997)
- 4) 吉池貞蔵. 花専科*育種と栽培 リンドウ. 誠文堂新光社. 東京. 1992. 177p
- 5) Murashige, T., Skoog, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15, 473-497 (1962)
- 6) 光永拓司, 尾関仁志, 岡藤由美子, 山本雄慈, 松本理. 胚珠培養によるユリ新品種マリッジシリーズの育成. 山口県農業試験場研究報告. 53, 50-58 (2002)
- 7) 大宮知, 玉掛秀人, 筒井佐喜雄, 菊池治己, 生方雅男, 布目暁洋. 小輪性ユリ新品種「きたきらり」の育成. 北海道立農業試験場集報. 87, 1-8 (2004)
- 8) 玉掛秀人, 樋浦里志. ユリ新品種「ミスティレディ」および「ロイヤルスノー」の育成. 北海道立農業試験場集報. 92, 29-39 (2008)
- 9) 氏原暉男, 俣野敏子, 村田孝志. 栽培リンドウ (*Gentiana*) の受粉様式ならびに採種法に関する研究. 信州大農学部紀要. 10, 115-123 (1973)
- 10) 佐野泰. リンドウ属種子の発芽に関する研究. 信州大農学部紀要. 5, 55-64 (1968)
- 11) Morgan, E. R. Use of in ovulo embryo culture to produce interspecific hybrids between *Gentiana triflora* and *Gentiana lutea*. *New Zealand journal of crop and horticultural science.* 32, 343-347 (2004)



写真1 エゾリンドウと*G. paradoxa*との種間雑種個体と両親の花の形

a : 02PA3雑種個体の奇形花, b : 02PA9雑種個体の正常花, c : エゾリンドウW10個体, d : *G. paradoxa*

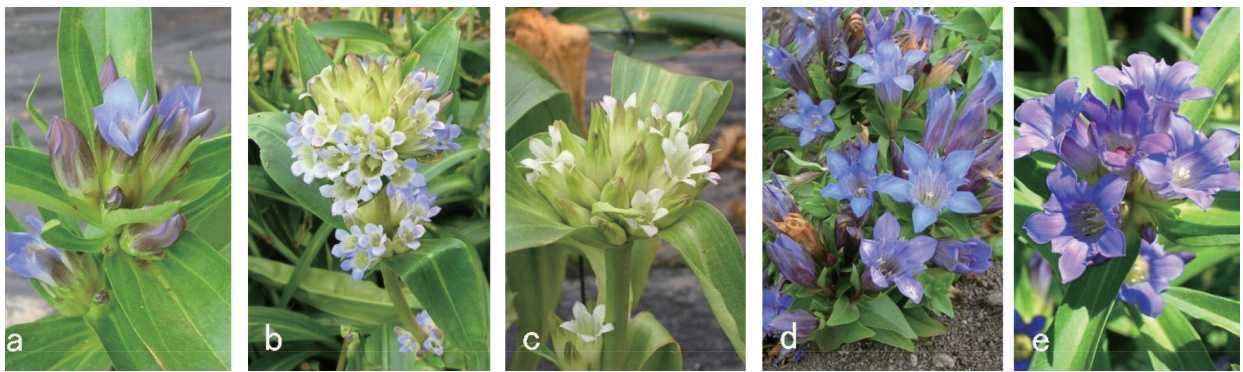


写真2 *G. tibetica*×*G. septemfida*, *G. tibetica*×*G. dahurica*種間雑種個体と両親の花の形

a : *G. tibetica*×*G. septemfida* (交配No. 03ts1), b : *G. tibetica*×*G. dahurica* (交配No. 03td1),
c : *G. tibetica*, d : *G. septemfida*, e : *G. dahurica*

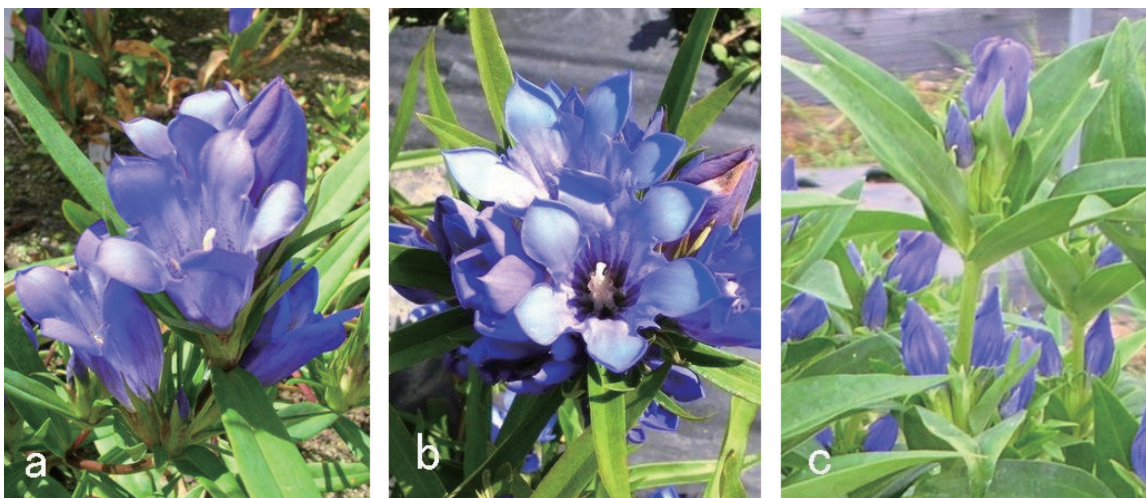


写真3 エゾリンドウと*G. paradoxa*との種間雑種へのエゾリンドウ戻し交雑個体と両親の花

a : 02PA7 (エゾリンドウW7×*G. paradoxa*)×エゾリンドウB1雑種個体, b : 02PA7, c : エゾリンドウB1個体

Interspecific hybrids of *Gentiana* by ovule culture

Hideto TAMAGAKE*¹, Akira ITOU*² and Masatosi MORI*²

Summary

The ovule culture method for interspecific hybrid production of *Gentiana* was developed using cut flowers. Ovules were taken out of enlarged ovaries 3-10 days after crossing and cultured on modified MS medium (half strength of NH_4NO_3). Some of cultured ovules germinated and plantlets were obtained in 1 to 2 months.

This method was successfully applied not only to 5 crossing between *G. triflora* and five wild species (*G. paradoxa*, *G. septemfida*, *G. dahurica*, *G. tibetica* and *G. andrewsii*) but also to 3 crossing between wild species (*G. septemfida* X *G. tibetica*, *G. tibetica* X *G. septemfida*, *G. tibetica* X *G. dahurica*). Furthermore, in backcross procedure of *G. triflora* or *G. paradoxa* to interspecific hybrid between *G. triflora* and *G. paradoxa*, progenies were obtained from both crosses by this method. But numbers of plantlets were much fewer than other crosses described before.

The plantlets obtained from interspecific crosses were transferred to the greenhouse for acclimatization and then transplanted into the field. Morphological characters of flowering plants such as flower shape, flower length, calyx-lobe length, leaf length, leaf width and flower color were compared with both parents to confirm the hybridity 2 to 3 years after transplanting. Because most of flowering plants showed intermediate characters of their parents, flowering plants obtained from this ovule culture method were considered to be interspecific hybrids. However, most of flowering plants from some crosses had deformed flowers due to incompatibility that often appeared in interspecific crossing.

*¹ Hokkaido Central Agricultural Experiment Station (Present; Hokkaido Research Organization Central Agricultural Experiment Station, Plant Genetic Resources Division, Takikawa, Hokkaido, 073-0013 Japan)
E-mail: tamagake-hideto@hro.or.jp

*² Naganuma Agricultural Cooperative, Naganuma, Hokkaido, 069-1393 Japan