

シクラメン園芸品種 (*Cyclamen persicum* Mill.) と *C. purpurascens* Mill. の 種間雑種作出に及ぼす種子親の遺伝子型の影響

高村武二郎・山田理絵子・田中道男

EFFECTS OF GENOTYPES OF SEED PARENTS ON THE PRODUCTION OF INTERSPECIFIC HYBRIDS IN *CYCLAMEN PERSICUM* MILL. × *C. PURPURASCENS* MILL. CROSSES.

Takejiro TAKAMURA, Rieko YAMADA and Michio TANAKA

Abstract

The effects of genotypes on the production of interspecific hybrids in cyclamen cultivars (*Cyclamen persicum* Mill.) × *C. purpurascens* Mill. crosses were investigated to establish efficient breeding protocols in the crosses.

In the tetraploid cyclamen cultivars × *C. purpurascens* Mill. crosses, few fruits and no interspecific hybrids were obtained. Although more than half of cross combinations in the diploid cyclamen cultivars × *C. purpurascens* Mill. crosses produced interspecific hybrids, efficiency of the hybrid production depended on the genotypes of seed parents in the crosses.

The results of the present study indicated that the ploidy level and genotypes of seed parents influenced hybrid production in the cyclamen cultivars × *C. purpurascens* Mill. crosses. The results also suggest that the selection of desirable genotypes as seed parents in the crosses may be effective for the efficient production of the interspecific hybrids.

Key Words : interspecific hybrid, *Cyclamen persicum*, *Cyclamen purpurascens*, seed parent, genotype

緒 言

シクラメン (*Cyclamen*) 属植物では現在20種の存在が確認されている⁽¹⁾。しかしながら、*C. persicum*以外の19種はシクラメン園芸品種の成立に関与していないことから、これら19の野生種は、新しいシクラメンを育成するための遺伝資源として有用であると考えられており、特に、*C. purpurascens*の芳香性はシクラメン育種における有用形質として期待されている。シクラメン園芸品種と *C. purpurascens*との交雑では、接合胚が早い段階で退化するために雑種種子は全く得られないが⁽²⁾、胚珠または子房培養によって無菌的に雑種胚を救出することによって種間雑種作出が可能であることが示されており^(2,3)、シクラメン園芸品種と *C. purpurascens*との種間雑種は、*C. purpurascens*と同様に強い芳香性を有すると報告されている⁽²⁾。

このように、組織培養の手法を用いた雑種胚の救出により、シクラメン園芸品種と *C. purpurascens*との種間交雑による有用な遺伝資源の開発が期待されるが、この種間雑種作出の効率には、交雑に用いる株の遺伝子型が影

響する可能性がある。しかしながら、シクラメン園芸品種と *C. purpurascens*との種間交雑における雑種作出効率の品種間差異について、詳しくは調査されていない。したがって、種間雑種作出における親株の遺伝子型の影響が明らかになれば、*C. purpurascens*を利用したシクラメンの遺伝資源開発の効率化に有効であると考えられる。そこで本研究では、シクラメン園芸品種と *C. purpurascens*との種間雑種作出に及ぼす種子親の遺伝子型の影響を調査した。

材料および方法

二倍体シクラメン13系統および四倍体シクラメン8系統の花をTakamura and Miyajima⁽⁴⁾の方法に準じて、開花前に除雄し、*C. purpurascens*の花粉を用いて交雑した。交雑28日後に果実を採取し、肥大が認められたもののみを実験に用いた。Ishizaka and Uematsu⁽⁵⁾の胎座付き胚珠培養の方法に準じ、採取した果実を表面殺菌した後、無菌状態で子房壁を取り除き、胎座ごと胚珠を摘出して外植体とした。外植体は3%ショ糖および10%ココナツ

ツウォーター, 0.2%ジェランガムを添加し, 窒素濃度のみを1/2にした1/2N MS培地⁽⁶⁾を注入した直径60 mmのプラスチックシャーレに置床した. なお, 培地はpH5.8に調整した後, 分注前に121°C, 1.1気圧で20分間オートクレーブ滅菌した. 20°C暗黒下で外植体を培養した後, 形成された小植物体を3%ショ糖および0.25%ジェランガムを添加し, MS培地の窒素成分を改変した1/2M-MS2培地⁽⁷⁾に移植した. 20°C, 16時間日長で, 6週間継代培養した後, 小植物体の形態を調査した. その際, 葉の形成が認められなかった小植物体では, 塊茎を2分割し, 1 μM N⁶-ベンジルアデニン (BA) を添加した, 3%ショ糖および0.4%ジェランガムを含む1/3M-MS2培地で不定芽を形成させた. 20°C暗黒下で8週間培養した後, 外植体から不定芽を切り出し, 3%ショ糖および0.25%ジェラガムを添加した1/2M-MS2培地に移植して, 20°C, 16時間日長下で培養した.

得られた小植物体の雑種性は, 既報⁽⁸⁾に準じてフローサイトメーターを用いて検定した. すなわち, これらの小植物体および交雑親の葉をそれぞれ5 mm角程度に切り取り, 核単離溶液 (核抽出用A液; Partec社製) 中で細断した. 細断5分後, 懸濁液を孔径20 μmのメッシュでろ過した. これらのろ過した懸濁液を0.2 ml採取し, 1.0 mlのDAPI染色液⁽⁹⁾を加えて混合した. 混合10分後, プロイディーアナライザーPA型 (Partec社製) で核のDAPI染色強度を分析した.

結果および考察

二倍体園芸品種と*C. purpurascens*との交雑においては, ‘アンネッケ’, ‘F₁アーリーライラック’, KUC001または‘ゴールデンボーイ’を種子親に用いた場合に落果が多かったものの, いずれの交雑組み合わせにおいても, 肥大成長した果実が得られた (第1表). 一方, 四倍体園芸品種と*C. purpurascens*との交雑では, ‘ビクトリア’およびF₁ (‘ビクトリア’ × ‘ピュアホワイト’) を種子親に用いた場合に1果実が得られたのみであった (第2表).

二倍体園芸品種と*C. purpurascens*との交雑において, 胚珠培養後に小植物体を形成した交雑組み合わせはほぼ半数であった (第3表). また, 交雑における結果率と胚珠培養後の小植物体形成は, 必ずしも比例しなかった. すなわち, F₁ (‘アンネッケ’ × ‘ピュアホワイト’) またはF₁ (‘ラルゴ’ × ‘パピヨン’) を種子親に用いた場合には落果数は少なかったものの, 胚珠培養後に小植物体を形成した外植体は認められなかったのに対し, 多数の落果が認められた‘F₁アーリーライラック’を種子親に用いた交雑では, 胚珠培養においてすべての外植体で小植物体が形成された. なお, 小植物体形成数は‘カゲイエロー’を種子親とした場合に最も高い値を示した. ところで, 小植物体には塊茎, 葉および根がそろったものと, そろっていないものが認められたが, 葉の形成が認められなかった個体においては, BAを添加した培地で培養することにより, すべての外植体で葉が分化さ

Table 1. Results of crosses in diploid cyclamen × *C. purpurascens*.

Seed parent ²	No. of crosses	No. of ovaries dropped until 28 DAP ³	No. of ovaries with growth 28 DAP
‘Anneke’	15	13	2
E-3 An	15	8	6
F ₁ (‘Anneke’ × ‘Pure White’)	15	5	10
‘F ₁ Early Lilac’	15	12	3
F ₁ (‘Largo’ × ‘Papillon’)	15	3	12
‘F ₁ Red Purple’	15	2	12
‘F ₁ Wink’	15	4	11
‘Kage Yellow’	15	8	7
KUC001	15	11	2
‘Golden Boy’	15	11	3
‘Largo’	15	8	6
‘Pure White’	15	9	6
‘Wase Murasaki’	15	7	5

² E-3 An; a line bred from ‘Anneke’, KUC001; a line bred from ‘Wase Murasaki’.

³ DAP; Days after pollination.

Table 2. Results of crosses in tetraploid cyclamen × *C. purpurascens*.

Seed parent ²	No. of crosses	No. of ovaries dropped until 28 DAP ³	No. of ovaries with growth 28 DAP
'Bonfire'	15	15	0
BB-1	15	15	0
'Lilac'	15	15	0
TY-1	15	15	0
TY-2	15	14	0
'Victoria'	15	14	1
F ₁ ('Victoria' × 'Kege Yellow')	15	13	0
F ₁ ('Victoria' × 'Pure White')	15	12	1

² BB-1; a line bred from 'Bonfire', TY; lines of tetraploid yellow-flowered cyclamen.

³ See Table 1.

Table 3. Effects of seed parents on the production of interspecific hybrids between diploid cyclamen and *C. purpurascens* by ovule culture with the placenta.

Seed parent ²	No. of explants tested	No. of explants forming plantlets	No. of plantlets per explant		
			with leaf	without leaf	died <i>in vitro</i>
'Anneke'	2	0	—	—	—
E-3 An	6	2	0.3	0.8	0
F ₁ ('Anneke' × 'Pure White')	10	0	—	—	—
'F ₁ Early Lilac'	3	3	1.3	0	1.0
F ₁ ('Largo' × 'Papillon')	12	0	—	—	—
'F ₁ Red Purple'	12	3	0.3	0.3	0.1
'F ₁ Wink'	11	2	0.5	0	0
'Kage Yellow'	7	2	3.0	0.7	0
KUC001	2	0	—	—	—
'Golden Boy'	3	0	—	—	—
'Largo'	6	2	1.0	0.5	0
'Pure White'	6	0	—	—	—
'Wase Murasaki'	5	2	1.6	0	0

² See Table 1.

れた (データ未掲載)。葉を分化した小植物体または外植物体は、継代培養を経て塊茎、葉および根がそろった正常な形態の小植物体に生長した。

シクラメン属植物では、核DNA含量に種間差異があり、これを利用した種間雑種の雑種性の簡易検定が期待されている⁽⁶⁾。特に、園芸品種と *C. purpurascens* との交雑においては、その雑種性の検定にフローサイトメトリーが利用できることが示されている^(3,8)。本実験において、得られた小植物体をフローサイトメトリーで検定したところ、いずれの個体においてもその細胞内の核DNAのDAPI蛍光強度のピークは両親のピークの中間を示した (第1図)。このことから、本研究においてシクラメン二倍体品種と *C. purpurascens* との交雑後の胚珠培養

により得られた小植物体は、すべて種間雑種である可能性が高く、この交雑における雑種獲得効率に種子親の二倍体品種の遺伝子型が大きく影響することが示唆された。

一方、四倍体園芸品種と *C. purpurascens* との交雑の胚珠培養においては、'ビクトリア' および F₁ ('ビクトリア' × 'ピュアホワイト') を種子親に用いたいずれの交雑組み合わせにおいても全く小植物体が形成されなかった (データ未掲載)。したがって、シクラメン園芸品種と *C. purpurascens* との交雑では、園芸品種の倍数性も交雑和合性に大きく影響するものと推測される。しかしながら、四倍体園芸品種と *C. purpurascens* との交雑では、胚珠培養により 'Salmon Scarlet' × *C. purpurascens* の交雑組み合わせにおいて二基三倍体の種間雑種が得ら

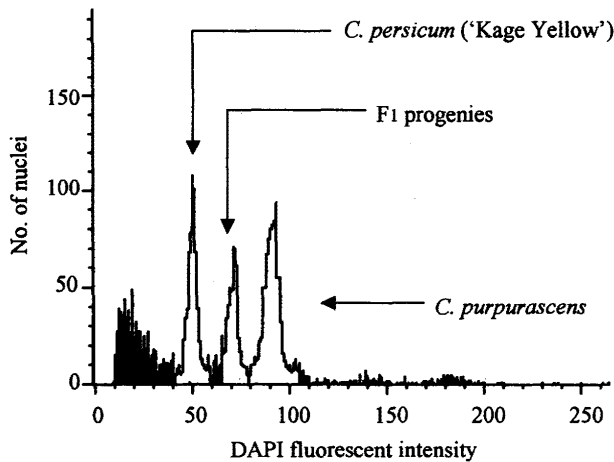


Fig. 1. Typical flow cytometric histogram in F₁ progenies between *C. persicum* and *C. purpurascens*.

れたと報告されている⁽²⁾。したがって、四倍体園芸品種と *C. purpurascens* との交雑においても種子親の遺伝子型が雑種作出に影響する可能性が示唆される。なお、本実験の四倍体園芸品種と *C. purpurascens* との交雑組み合わせにおいて、雑種が作出されなかった要因として、花粉発芽や花粉管伸長の阻害、不受精、胚珠の早期退化などが考えられる。今後、これらの交雑組み合わせにおける早期落果の要因を精査するとともに、雑種胚の救出をより早い時期に行うなど胚救出法の改良を検討する必要があると考えられる。

本研究の結果、シクラメン園芸品種×*C. purpurascens* の交雑における交雑和合性には品種または個体間差異があることが示唆された。すなわち、種子親に用いる園芸品種の倍数性および遺伝子型が、種間雑種獲得の効率に影響すると考えられた。したがって、種間雑種を容易に形成できる遺伝子型を種子親に選択することによって、より効率的な種間雑種作出が可能であると思われる。

摘 要

本研究では、*C. purpurascens* を利用したシクラメンの遺伝資源開発の効率化を目的として、シクラメン園芸品種と *C. purpurascens* との種間雑種作出に及ぼす種子親の遺伝子型の影響を調査した。

シクラメン四倍体品種と *C. purpurascens* との交雑では、ほとんどの果実が落果した。また、二倍体品種と *C. purpurascens* との交雑では、半数以上の交雑組み合わせで種間雑種が得られたものの、雑種の作出効率には品種間差異が認められた。

以上のことから、シクラメン園芸品種×*C. purpurascens* の交雑においては、種子親に用いる園芸品種の倍数性および遺伝子型が、種間雑種獲得の効率に影響すると考えられた。したがって、種間雑種形成が容易な遺伝子型を種子親に選択することによって、より効率的な種間雑種作出が可能と思われた。

引 用 文 献

- (1) GREY-WILSON, C. : *Cyclamen*. pp. 39-44. B. T. Batsford, London (1997).
- (2) ISHIZAKA, H. and UEMATSU, J. : Production of interspecific hybrids of *Cyclamen persicum* Mill. and *C. purpurascens* Mill. produced by ovule culture. *Euphytica* 82 : 31-37 (1995).
- (3) EWARD, A. : Interspecific hybridization between *Cyclamen persicum* Mill. and *C. purpurascens* Mill. *Plant Breeding* 115, 162-166 (1996).
- (4) TAKAMURA, T. and MIYAJIMA, I. : Cross-compatibility and the ploidy of progenies in crosses between diploid and tetraploid cyclamen (*Cyclamen persicum* Mill.). *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 64 : 883-889 (1996).
- (5) ISHIZAKA, H. and UEMATSU, J. : Production of interspecific hybrids of *Cyclamen persicum* Mill. and *C. hederifolium* Aiton. by ovule culture. *Japan. J. Breed.* 42 : 353-356 (1992).
- (6) MURASHIGE, T. and SKOOG, F. : A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15 : 473-497 (1962).
- (7) 高村武二郎, 芋瀬裕香, 田中道男 : シクラメン体細胞胚の発芽に及ぼす培地中の窒素源およびゲル化剤の影響. 園芸学会雑誌69 (別2) : 535 (2000).
- (8) 高村武二郎, 吉村奈津紀, 山田理絵子, 田中道男 : フローサイトメトリーを用いたシクラメンの倍数性と種間雑種の簡易検定. 園芸学会雑誌70 (別2) : 413 (2001).
- (9) MISHIBA, K., ANDO, T., MIH, M., WATANABE, H., KOKUBUN, H. and HASHIMOTO, G. : Nuclear DNA content as an index character discriminating taxa in the genus *Petunia sensu* Jussieu. *Annals of Botany* 85 : 665-673 (2000).

(2001年9月28日受理)