

学位論文題名

デルフィニウム属の交雑育種および
胚珠培養による雑種育成に関する研究

学位論文内容の要旨

デルフィニウムは、近年の切花鮮度保持技術の向上によって切花主要品目の一つになりつつあるが、古くから専ら花壇植栽用に利用されて来たため切花・鉢物用の品種の発達は遅れている。また、最近盛んになってきたフラワーアレンジメントやガーデニングを背景とした花卉に対する関心の高まりや需要の多様化に伴い、デルフィニウムの生産場面においても多様な切花・鉢物用の品種に対する要望が強い。これに対応して品種育成を進めるには、これまで園芸的に利用されていないデルフィニウム属原種の再評価と改良に加えて、園芸品種を含め、これらの原種を用いた種間交雑育種が極めて有効な手法である。本論文は、このデルフィニウム属種間交雑育種を推進するために必要となる基礎的事項についての研究成果を述べたもので、その内容の要旨は以下のとおりである。

I. 開花期間と雌雄器官の成熟および雌蕊の受精能力

一花の開花期間は、平均 5.6~14.0 日で、原種に比べ園芸品種で短い傾向が見られた。柱頭の成熟は、全ての種において雄蕊の開葯が終了した後起こった。このことから本属は雄性先熟であると判断されたが、その程度は種により異なり、原種では開葯終了 1~5 日後に柱頭の成熟が見られ雄性先熟の程度が大きかったのに対し、園芸品種では、この程度は極めて小さく、雌雄同熟に近かった。一方、雌蕊が受精能力を保持している期間は、柱頭が成熟した日から 3~5 日間で、原種では園芸品種に比べ長い傾向が見られた。この期間内で種内交配を行うと、柱頭成熟当日に交配した場合に最も結実率が高く、得られた種子 100 粒重も大きかったことから、柱頭成熟当日が交配適期と判断された。

II. 花粉の培養条件と稔性評価および長期貯蔵法

花粉稔性評価を目的とした好適な花粉培養条件は、ショ糖 15%、ホウ酸 50~100ppm を含む pH5.1 の 1%寒天培地で、培養温度は 15~20℃であった。実際の交配によらない花粉稔性の評価法として、染色法と培地上での発芽試験法とを比較したところ、染色法による花粉の染色率、培地上での発芽率いずれも、被検花粉を用いた交配における結果率との間に統計学的に有意な正の相関が認められた。相関係数と得られた p 値の比較から、培地上での発芽試験が花粉稔性の評価法として信頼性がより高いと判断された。

25℃で貯蔵した花粉の培地上での発芽率は貯蔵 10 日後から急激に減少し、60 日後に

は全ての種において 5%未満になり、貯蔵 180 日後には全く発芽は見られなくなった。また 25℃で 10 日間貯蔵した花粉を交配に用いた際の結果率は、新鮮花粉の結果率の 1/2 以下に減少し、その後貯蔵日数が増すと結果率はさらに減少していった。一方、-30℃で貯蔵した花粉は、貯蔵 180 日後でも新鮮花粉に対する発芽率の低下は 20%程度で、22.4~61.5%の良好な発芽率を示した。これらの花粉を用いて交配した時の結果率と新鮮花粉を用いた場合の結果率との間には統計学的な有意差は認められなかった。

Ⅲ. 雑種育成のための胚珠培養の適用

1. わい性原種への花色導入 (二倍体原種×二倍体原種)

わい性で青色花を有する *D. grandiflorum* と花色導入系統として橙赤色系の *D. cardinale* あるいは *D. nudicaule* との間で正逆交雑を行った。全ての組み合わせで種子は得られたが、発芽率は低く、雑種は得られなかった。しかし、胚珠培養を行った結果、*D. cardinale* × *D. grandiflorum* および *D. grandiflorum* × *D. nudicaule* で個体を得られ、これらの個体はアイソザイム分析により雑種と判定された。雑種は全て高性となり、目的とした花色のわい性系統は得られなかったが、胚珠培養による雑種育成手法の有効性が確認された。

2. 倍数性の異なる種間での雑種育成 (四倍体園芸品種×二倍体原種)

これまで本属においては倍数性の異なる種間での雑種育成は困難とされてきたが、胚珠培養により倍数性の異なる四倍体の *D. hybridum* cv. Galahad と二倍体の *D. grandiflorum* 間で個体を得られ、その染色体数から雑種と判定された。この雑種は草勢が強く、花茎数も両親より多かった。これは三倍体の特徴が現れたものと判断され、このことは、本属における人為三倍体の園芸的利用の有効性を示唆するものと考えられた。

培養中の胚の発育に及ぼす培地中の多量塩基類の濃度 (培地濃度) の影響について、前項の 1 と本項において検討を行った結果、培地濃度と発芽率との間には一定の関係はなかったが、発芽した総胚珠数に対する得られた実生数の割合は、培地濃度が低くなるほど顕著に高くなり、通常の濃度の MS 培地では 15.6%、1/2MS 培地では 27.6%、1/4MS 培地では 43.8%であった。

3. 園芸品種 (六倍体) と原種 (二倍体) 間での雑種育成

橙赤色系の花色導入を目的に六倍体の園芸品種であるベラドンナ系の白花 *D. belladonna* cv. Casablanca と橙赤色系の *D. nudicaule* の間で胚珠培養を適用し雑種育成を試みた。その結果 *D. nudicaule* × *D. belladonna* cv. Casablanca で雑種が得られた。しかし、雑種の花色は両親とは全く異なる青味紫から濃青味紫となり、花色導入の目的は達成出来なかった。

Ⅳ. 原種と園芸品種および胚珠培養によって得られた種間雑種の花色素の分析

橙赤系の *D. cardinale* と *D. nudicaule* にはペラルゴニンが、青系の *D. grandiflorum* および白色系 *D. hybridum* cv. Galahad にはデルフィニジンが含まれていた。得られた雑種は全てデルフィニジンのみを有していた。このことから、デルフィニジンがペラルゴニンに対して遺伝的に優性であると推察された。また、白色花の *D. belladonna* cv. Casablanca においては、アントシアニンは一切検出されなかったにもかかわらず、*D. nudicaule* × *D. belladonna* cv. Casablanca より得られた雑種は青紫系の花色を持ち、デルフィニジンのみを有していた。このことから *D. belladonna* cv. Casablanca は、色素本体としてデルフィニジンを有してはいないが、デルフィニジンを誘導する遺伝子 (酵素) を持っている可能性が考えられた。

分析した原種で、最も青色味が強かった *D. grandiflorum* は、cyanodelphin をアントシアニン色素総含量の 60%以上と多く含んでいたのに対し、*D. likiangense* は 50%以下、さらに得られた雑種は全く含まず、これらの花色は青よりもむしろ紫であった。このことから cyanodelphin の含量が多くなることで花色は青色味が強くなると考えられた。また、全ての雑種 *D. cardinale* × *D. grandiflorum*、*D. grandiflorum* × *D. nudicaule* そして *D. hybridum* cv. Galahad × *D. grandiflorum* で、*D. grandiflorum* が有する viodelphin の存在が確認された一方で、cyanodelphin は一切検出されなかった。これは個々のアントシアニンの遺伝に関し、異なる遺伝的要因が働いている可能性を示唆するものと思われた。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 浅 川 昭 一 郎
副 査 教 授 大 澤 勝 次
副 査 教 授 佐 野 芳 雄
副 査 助 教 授 近 藤 哲 也

学 位 論 文 題 名

デルフィニウム属の交雑育種および 胚珠培養による雑種育成に関する研究

本論文は、6章からなり、図 21、表 26、文献 177 を含む総頁数 130 の和文論文であり、他に参考論文 1 編が付されている。

デルフィニウムは、近年の切花鮮度保持技術の向上により切花主要品目の一つになりつつあるが、古くから専ら花壇植栽用に利用されて来たため切花・鉢物用の品種の発達は遅れている。また、近年の花卉に対する関心の高まりや需要の多様化に伴い、生産場面においても多様な切花・鉢物用の品種に対する要望が強い。これに対応して品種育成を進めるには、これまで園芸的に利用されていない原種の再評価と改良に加えて、園芸品種を含め、これらの原種を用いた種間交雑育種が極めて有効な手法である。本論文は、このデルフィニウム属種間交雑育種を推進するために必要となる基礎的知見の蓄積と、従来 of 交雑育種に加わる新たな雑種育成手法の確立を目的とし、以下の結果を得ている。

1. 開花期間と雌雄器官の成熟および雌蕊の受精能力

一花の開花期間は、平均 5~14 日で、原種に比べ園芸品種で短い傾向が見られた。柱頭の成熟は、全ての種において雄蕊の開薬が終了した後に起こったことから、本属は雄性先熟である事が明らかになった。雌蕊が受精能力を保持している期間は、柱頭が成熟した日から 3~5 日間で、原種では園芸品種に比べ長い傾向が見られた。この期間内で種内交配を行うと、柱頭成熟当日に交配した場合に最も結実率が高く、得られた種子 100 粒重も大きかった。

2. 花粉の培養条件と稔性評価および長期貯蔵法

花粉稔性評価を目的とした好適な花粉培養条件は、ショ糖 15%、ホウ酸 50~100ppm を含む pH5.1 の 1%寒天培地で、培養温度は 15~20℃であった。この培地上での発芽試験法と被検花粉を用いた交配における結果率との間には、統計学的に有意な正の相関が認められた。

-30℃で貯蔵した花粉は、貯蔵 180 日後でも新鮮花粉に対する人工培地上での発芽率の低下は 20%程度で、良好な発芽率を示した。また、これらの花粉を用いて交配した時の結果率と新鮮花粉を用いた場合の結果率との間には統計学的な有意差は認められなかった。

3. 雑種育成のための胚珠培養の適用

わい性で青色花を有する *D. grandiflorum* と花色導入系統として橙赤色系の *D. cardinale* あるいは *D. nudicaule* との間で正逆交雑を行った。全ての組み合わせで種子は得られたが、発芽率は低く、雑種は得られなかった。しかし、胚珠培養を行った結果、*D. cardinale* × *D. grandiflorum* および *D. grandiflorum* × *D. nudicaule* で個体を得られ、これらの個体はアイソザイム分析により雑種と判定された。目的とした花色のわい性系統は得られなかったが、胚珠培養による雑種育成手法の有効性が確認された。

これまで本属においては倍数性の異なる種間での雑種育成は困難とされてきたが、胚珠培養により倍数性の異なる四倍体の *D. hybridum* cv. Galahad と二倍体の *D. grandiflorum* 間あるいは六倍体の園芸品種である *D. belladonna* cv. Casablanca と *D. nudicaule* との間で個体を得られ、その染色体数から雑種と判定された。

培養中の胚の発育に及ぼす培地中の多量塩基類の濃度（培地濃度）の影響を検討した結果、培地濃度と発芽率との間には一定の関係はなかったが、発芽した総胚珠数に対する得られた実生数の割合は、培地濃度が低くなるほど高くなった。

4. 原種と園芸品種および胚珠培養によって得られた種間雑種の花色素の分析

橙赤色系の *D. cardinale* と *D. nudicaule* にはペラルゴニン、青色系の *D. grandiflorum* および白色系 *D. hybridum* cv. Galahad にはデルフィニジンが含まれていた。得られた雑種は全てデルフィニジンのみを有していた。このことから、デルフィニジンがペラルゴニンに対して遺伝的に優性であると推察された。

分析した原種で、最も青色味が強かった *D. grandiflorum* は、cyanodelphin をアントシアニン色素総含量の 60%以上と多く含んでいたのに対し、*D. likiangense* は 50%以下、さらに得られた雑種は全く含まず、これらの花色は青よりもむしろ紫であった。このことから cyanodelphin の含量が多くなることで花色は青色味が強くなると考えられた。また、全ての雑種で、*D. grandiflorum* が有する violdelphin の存在が確認された一方で、cyanodelphin は一切検出されず、これは個々のアントシアニンの遺伝に関し、異なる遺伝的要因が働いている可能性を示唆するものと考えられた。

以上のように、本論文は、デルフィニウムの交雑育種を進める上で必要となる多くの新知見を得ており、学術的並びに実用的に高く評価される。

よって審査員一同は、本多和茂が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。