

# がく片が脱離しないデルフィニウム種間雑種の作出

徳弘晃二<sup>1\*</sup>・棚瀬幸司<sup>2</sup>・市村一雄<sup>2</sup>・天野正之<sup>1</sup>

<sup>1</sup> カネコ種苗(株) 372-0001 伊勢崎市波志江町上峰岸

<sup>2</sup> 農研機構花き研究所 305-8519 つくば市藤本

## Breeding of *Delphinium* Interspecific Hybrid without Sepal Abscission

Koji Tokuhiko<sup>1\*</sup>, Koji Tanase<sup>2</sup>, Kazuo Ichimura<sup>2</sup> and Masayuki Amano<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Kaneko Seeds Co., LTD., Kamiminegishi, Hashie-machi, Isesaki 372-0001

<sup>2</sup> National Institute of Floricultural Science, Fujimoto, Tsukuba 305-8519

### Abstract

Interspecific hybrid of *Delphinium*, in which sepals were not abscised without silver thiosulphate pre-treatment, was raised. Interspecific cross between *D. elatum* 'Magic Fountains White' and *D. grandiflorum* 'Blue Mirror' was carried out and 18 interspecific hybrid plants were obtained through ovule culture. Seventeen plants were similar to the plant form and flower shape of the belladonna-type, however, one plant ('M8-16') was a dwarf-type of 'Blue Mirror'. The polyploidy of belladonna-like plants and 'M8-16' were estimated as triploid and tetraploid, respectively, by flow cytometry. Three plants were obtained by backcrossing 'Blue Mirror' to 'M8-16'. One of them ('B10') had very long flowering periods without abscission of sepals. Even sepals of cut florets were not abscised and the vase life of 'B10' was significantly longer than 'Bellamosum'.

**Key Words** : B10, vase life

キーワード : B10, 花持ち

### 緒 言

デルフィニウムは、青色を基調とする数少ない花き品目の一つで、切り花あるいは鉢物として出荷され、花き生産において重要な地位を占めている。デルフィニウム属 (*Delphinium*) 植物の原種は全世界に約 250 種以上分布しているとされているが、園芸的に利用されている種は、主に *D. elatum* と *D. grandiflorum* 並びに両種の雑種であるペラドンナ系で、また出荷量は少ないが花が黄色の *D. semibarbatum* (*syn. zalil*)、赤色系の *D. nudicaule* や *D. cardinale* なども利用されている。

デルフィニウムの育種は 1920 年頃から欧米で本格化し、*D. elatum* 系を中心に多数の品種が育成されてきた (鶴島, 2003)。現在では、F<sub>1</sub> 品種や栄養系の種間雑種品種の育成も行われている (Katoh ら, 2004; 勝谷, 2004; Legro, 1961; 中村ら, 1997)。

一方、デルフィニウムはエチレンに対する感受性が高い品目の一つで、エチレンによりがく片が脱離し、その観賞価値を失う (Ichimura ら, 2000)。後藤ら (1998) は、エチレン作用阻害剤である STS (チオ硫酸銀錯塩) 処理により

花持ち日数が延長されることを確認し、外生エチレンに対する感受性が増加することおよび小花からのエチレン生成が、特に雌ざいと花托において、開花後 3 日目以降に急激に増加することを明らかにした。実際の切り花の生産場面においても、収穫後の STS による前処理が必須となっている。しかし、収穫時期 (特に高温期) や処理のタイミング、処理環境などにより前処理が不完全である場合がしばしば生じ、出荷後にながく片が脱離してしまうことが問題となっている。

現在、流通している品種の中には、花持ち性に優れた品種はあるが、がく片が脱離しない品種はまだ育成されていない。著者らは種間交雑による品種育成を行う中で、STS による前処理をしなくてもがく片が脱離しない個体を見いだした。本報では、その個体の育成過程と特性について報告する。

### 材料および方法

*D. elatum* 系品種の 'マジックフォンテンホワイト' (以下、'MFW') を種子親、*D. grandiflorum* 系品種の 'ブルーミラー' (以下、'BM') を花粉親として交配に用いた。1996 年 5 月に開花直前の 'MFW' の蕾から手で葯を除去し、雌ざいの成熟後 'BM' の花粉を受粉した。受粉 20 日後のさく果から肥大した胚珠を取り出し、胚珠培養を行った。取り出した

2006 年 3 月 1 日 受付. 2006 年 5 月 17 日 受理.

\* Corresponding author. E-mail: kakiken@kanekoseeds.jp

胚珠は、次亜塩素酸ナトリウム溶液（有効塩素濃度 0.5%）で 10 分間殺菌した後、滅菌水で 2 回洗浄した。胚珠培養には、多量無機塩類のみ 1/2 に希釈した MS 培地（Murashige・Skoog, 1962）に 2% ショ糖および 0.3% ゲルライトを添加し、pH を 5.8 に調整した培地を用いた（Honda・Tsutsui, 1997; Katoh ら, 2004）。培地は試験管（直径 30 mm × 90 mm）に 10 mL 分注し、アルミホイルで密栓した後、オートクレーブ（121°C）で 15 分間殺菌した。培養は 20 ± 2°C、光強度 27 μmol・m<sup>-2</sup>・s<sup>-1</sup>（白色蛍光灯）、12 時間照明下で行った。培養開始約 2 か月後に、展開葉が 2 ～ 5 枚の発根した実生を、市販の混合用土（メトロミックス 350, SCOTTS 社製）を入れた 200 穴セルトレイに移植し、ミスト下で約 10 日間順化した。移植約 1 か月後に 50 穴セルトレイ（約 70 ml/セル）に移植し、さらに約 1 か月間育苗後、18 cm ポリポットに定植し、最低夜温を 12°C に設定したガラス温室内で栽培を行った。開花した個体については、開花日や草丈、花形、花色などの特性を調査した。1997 年は前年に得られた雑種個体を種子親として、6 月に 'BM' の戻し交配を行った。胚珠培養はさく果の裂開が早く、肥大した胚珠が露出したため、受粉 17 日目に行った。開花した個体の調査は、前年と同様に行った。

雑種個体の維持および増殖は組織培養により行った。培養は天谷ら（1991）の方法にならい、株元から発生した腋芽を外植体として用い、多量無機塩類のみ 1/2 に希釈した MS 培地に 2 mg・L<sup>-1</sup> ベンジルアデニン（BA）、2% ショ糖

および 0.3% ゲルライトを添加し、pH を 5.8 に調整した培地で増殖を行った。発根は増殖培地から BA を除いた培地で行った。外植体や培地の殺菌、発根した培養体の順化、育苗は胚珠培養と同様に行った。

倍数性の判定はフローサイトメトリーにより行った。測定にはプロディーアナライザー PA 型（Partec 社製）を用い、付属の植物倍数性分析試薬キットにより、若い葉の組織から核を抽出し、DAPI 染色を行った。

花持ちの検定を行うため、小花を開花当日に採取し、蒸留水に挿した。小花を 23°C、相対湿度 70%、PPFD 10 μmol・m<sup>-2</sup>・s<sup>-1</sup>、12 時間日長の環境条件下で保持し、がく片と花弁が落ちるか萎れるまで毎日観察した。対照品種として、ガラス室で育成したベラドンナ系品種の 'ベラモーサム' の小花を用いた。

### 結果および考察

1996 年の交配結果を第 1 表に示した。培養した胚珠からの発芽率は 4.3% と低く、発芽しても発根が見られないものや葉が著しく奇形を呈している個体もあり、順化できた実生数は 25 個体であった。Honda・Tsutsui（1997）は *D.grandiflorum* と *D.nudicaule* の交配組み合わせにおいて、受粉 20 ～ 25 日後の未熟な胚珠の培養で高い発芽率を得ている。また、Katoh ら（2004）は *D.nudicaule* や *D.cardinale* と *D.elatum* との交配では、完熟した種子で高い発芽率を得ている。ベラドンナ系は *D.elatum* と *D.grandiflorum* との種間雑種が

第 1 表 'MFW' と 'BM' との交配結果と雑種の獲得（1996 年）

交配花数	さく果が肥大 <sup>z</sup> した花数	さく果当たりの <sup>z</sup> 肥大した胚珠数	培養胚珠数 <sup>z</sup>	発芽した <sup>y</sup> 胚珠数	発芽率 (%)	順化数 <sup>y</sup>	定植数 <sup>x</sup>
24	22	8 ～ 15	700	30	4.3	25	18

<sup>z</sup> 交配 20 日後に調査した

<sup>y</sup> 胚珠培養開始約 2 か月後に調査した

<sup>x</sup> 順化約 2 か月後に調査した

第 2 表 'BM', 'M8-16' および 'B10' の形態的、生態的特性

形質	BM	M8-16	B10
草丈 (cm)	55	60	55
葉形	<i>D.grandiflorum</i> 様	ベラドンナ系様	交配親の中間
分枝数	5	6	6
花形	一重	一重	一重
花径 (cm)	3.5 ～ 4	4 ～ 4.5	3.5 ～ 4
主茎の花数	10	15	12
がく片の色 <sup>z</sup>	鮮紫青 (7065)	明紫青 (7064)	鮮紫青 (7065)
がく片の枚数	5	5	5
花卉の枚数	0 ～ 2	14 ～ 15	10 ～ 11
距の有無	無	有	無
花粉の有無	有	有	無
雌ずいの数	3 ～ 5	3	3
雌ずいの稔性の有無	有	有	有
早晩性	中生	中生	晩生
がく片の脱離の有無	有	有	無

<sup>z</sup> JHS カラーチャートによる

自然倍化してできた系統であると考えられており (勝谷, 2004; 鶴島, 2003), 比較的雑種の獲得が容易な組み合わせであると思われる. 著者らが別に行った同じ種間の異なる品種間での交配では, 高い発芽率を示す組み合わせもあるので (データ略), 雑種獲得の難易性は種の組み合わせや胚珠培養を行う時期だけではなく, 組み合わせる品種にもよると思われる.

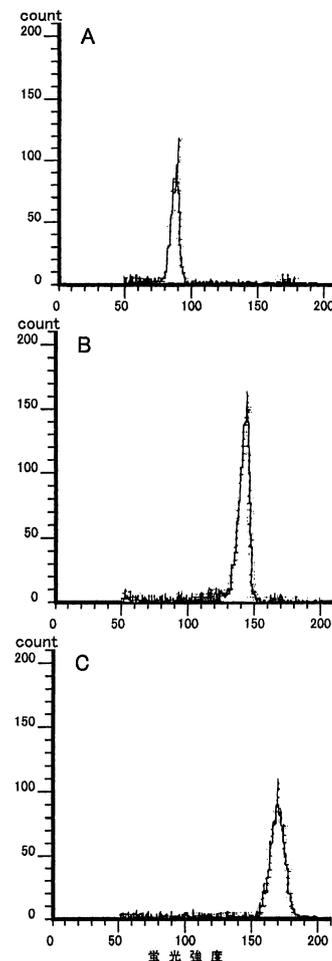
開花に至った 18 個体中 17 個体は, 開花時期や花卉の枚数 (4 ~ 6 枚), 距の出かた, 花色において異なる特性があったものの, 全てペラドンナ系に似た草姿 (草丈 80 ~ 120 cm), 葉形及び花形 (一重咲き) であったが, 1 個体だけ 'BM' に似たわい性の個体が見出され, 'M8-16' と名付けた. 'M8-16' の形態的特性を第 2 表に示した. 草丈は 60 cm, 花は一重咲きで, 花卉の枚数は 14 ~ 15 枚, 葉形はペラドンナ系に似ていた. ペラドンナ系に似た個体は全て子房及び花粉が不稔性であったが, 'M8-16' は低い率ではあるが共に稔性を有していた. フローサイトメトリーにより倍数性の調査を行ったところ, ペラドンナ系に似た個体は 3 倍体 (第 1 図 B), 'M8-16' は 4 倍体であると推定された (第 1 図 C). *D.elatum* は 4 倍体, *D.grandiflorum* は 2 倍体なので, 得られる雑種個体は基本的には 3 倍体になることが予想されることから, 'M8-16' は 'BM' の非還元雄性配偶子によって生じた個体であると推測される. なお, フローサイトメトリーでの測定において, *D.elatum* と *D.grandiflorum* の種間雑種の相対的蛍光高度のピーク値にずれが生じた. これは *D.elatum* のピーク値が *D.grandiflorum* のピーク値の 2 倍の位置よりやや大きい位置に出現するためである (データ略). このことから, *D.elatum* のゲノム当たりの核 DNA 量は *D.grandiflorum* よりやや多いことが推測された.

1997 年に 'M8-16' を種子親として, 'BM' の戻し交配を行い, その結果を第 3 表に示した. 'M8-16' の稔性は低く, 1 さく果当たりの肥大した胚珠も 1 ~ 4 個と少なく, また胚珠からの発芽率も 11% と低かった. 後代の 3 個体について特性調査を行ったところ, 2 個体は花の老化とともにがく片が脱離したが, 1 個体は花持ちが極めて長く, がく片の脱離が見られなかった. その個体を 'B10' と名付けた (第 2 図). 'B10' の倍数性はフローサイトメトリーによる調査で, 3 倍体であることが推定され, 'M8-16' と 'BM' の雑種であることが確認された (第 3 図). 'B10' の形態的特性を第 2 表に示した. 'B10' は草丈が 55 cm と両親同様に低く, 距は 'BM' に似てほとんど出なかった. 葉形は両親

の中間で, 花卉の枚数は 10 ~ 11 枚と 'M8-16' (14 ~ 15 枚) よりやや少なく, 子房数は 3 で 'M8-16' と同数であった.

'B10' の花持ち性の調査結果を第 4 表に示した. 'B10' は収穫後 11 日目においてもがく片が脱離せず, また花卉が脱離するまでの日数も 'ペラモーサム' に比較し有意に長かった. このように 'B10' は切り花にしてもがく片が脱離せず, 通常の品種に比較して, 花持ちが長いことが明らかとなった.

トルコギキョウ (Ichimura・Goto, 2000) やカンパニユラ (Kato ら, 2002) では, 受粉によりエチレン生成量が増大し, 花卉の老化が促進される. 著者らはデルフィニウムにおいても, 受粉によりがく片の脱離が促進されることを



第 1 図 フローサイトメトリーによる 'MFW' と 'BM' との種間雑種の相対的核 DNA 量の比較  
A: 'BM', B: 種間雑種, C: 'M8-16'

第 3 表 'M8-16' と 'BM' との交配結果と雑種の獲得 (1997 年)

交配花数	さく果が肥大 <sup>z</sup> した花数	さく果当たりの <sup>z</sup> 肥大した胚珠数	培養胚珠数 <sup>z</sup>	発芽した <sup>y</sup> 胚珠数	発芽率 (%)	順化数 <sup>y</sup>	定植数 <sup>x</sup>
8	5	1 ~ 4	27	3	11.1	3	3

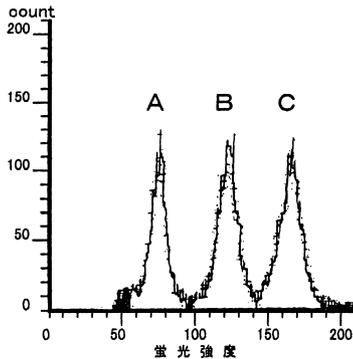
<sup>z</sup> 交配 17 日後に調査した

<sup>y</sup> 胚珠培養開始約 2 か月後に調査した

<sup>x</sup> 順化約 2 か月後に調査した



第2図 'B10'



第3図 フローサイトメトリーによる 'B10', 'M8-16', 'BM' の相対的核 DNA 量の比較  
A: 'BM', B: 'B10', C: 'M8-16'

第4表 'B10' の花持ち性

	花持ち (日) <sup>2</sup>		有意差 <sup>3</sup>
	ベラモーサム	B10	
がく片	5.1 ± 0.1	11.7 ± 0.3	***
花卉	5.1 ± 0.1	6.3 ± 0.5	*

<sup>2</sup>平均 ± 標準誤差

<sup>3</sup>\*, \*\*\*, t 検定によりそれぞれ 5%, 0.1% レベルで有意差あり

観察している。本研究では、*D. elatum* と *D. grandiflorum* の3倍体の雑種が、わずかながらではあるが不稔性の花粉を生じるのに対し、'B10' では葯が退化し、完全な雄性不稔性になっていることが特徴の一つであり、自家受粉による刺激を受けないことが 'B10' の花持ちが長い要因の一つと推察された。しかし、'B10' のがく片の非脱離性については、'B10' 以外の2個体の内の1個体も完全な雄性不稔性になっていたにもかかわらず、老化とともにがく片の脱離が起きたので、雄性不稔性と直接的な関係はないかもしれない。現在、組織培養により 'B10' の増殖を行い、より詳しい花持ち性の調査を行っているところである。

Onozaki ら (2001) はエチレンに対する感受性が高いカーネーションにおいて、花持ちが長い個体の選抜と交配を繰り返すことにより、花持ちがより長い系統の作出に成功している。'B10' は3倍体ではあるが、比較的高い子房稔性を有しているため、'B10' を利用することにより、がく片だけでなく花卉も脱離せずに花持ちがより長い実用的な品種の開発が可能になると思われる。

## 摘 要

デルフィニウムの種間交雑による品種育成を行う中で、STS による前処理をしなくてもがく片が脱離しない個体を見出した。

*D. elatum* 系品種の 'マジックフォンテンホワイト' を種子親、*D. grandiflorum* 系品種の 'ブルーミラー' ('BM') を花粉親として交配を行い、胚珠培養によって植物体を育成した。開花に至った18個体中17個体は、ベラドンナ系に似た草姿、花形であったが、1個体のみ 'BM' と同様のわい性の個体 ('M8-16') が見出された。フローサイトメトリーによる調査の結果、ベラドンナ系に似た個体は3倍体、'M8-16' は4倍体であると推定された。

'M8-16' に 'BM' を戻し交雑して得られた3個体の内、花持ちが極めて長く、がく片の脱離が見られない個体が1個体見出され、'B10' と名づけた。'B10' の小花を収穫し、花持ち性を調査したところ、'B10' はがく片が脱離せず、その花持ち性は 'ベラモーサム' に比べ有意に長いことが明らかとなった。

## 引用文献

- 天谷正行・岡部陽一・米内貞夫. 1991. デルフィニウム開花株からの大量増殖法. 園学雑. 60 (別1): 454-455.
- 後藤理恵・廣瀬由紀夫・市村一雄. 1998. デルフィニウム切り花の老化におけるエチレンの役割. 園学雑. 67 (別2): 452-453.
- Honda, K. and K. Tsutsui. 1997. Production of interspecific hybrids in the genus *Delphinium* via ovule culture. *Euphytica* 96: 331-337.
- Ichimura, K. and R. Goto. 2000. Acceleration of senescence by pollination of cut 'Asuka-no-nami' *Eustoma* flowers. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 69: 166-170.
- Ichimura, K., K. Kohata and R. Goto. 2000. Soluble carbohydrates in *Delphinium* and their influence on sepal abscission in cut flowers. *Physiol. Plant.* 108: 307-313.
- Kato, M., H. Shimizu, T. Onozaki, N. Tanikawa, H. Ikeda, T. Hisamatsu and K. Ichimura. 2002. Role of ethylene in senescence of pollinated and unpollinated *Campanula medium* flowers. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 71: 385-387.
- Katoh, N., K. Tokuhiro, T. Nakabayashi, H. Yoshida and M. Hagimori. 2004. Breeding of red-flowering *Delphinium* using interspecific hybrids produced by in vitro germina-

- tion. *Breed. Sci.* 54: 99-103.
- 勝谷範敏. 2004. デルフィニウムをつくりこなす—生育習性と開花調節の実際. p. 25-27, 149-169, 農文協. 東京.
- Legro, R. A. H. 1961. Species hybrids in *Delphinium*. *Euphytica* 10: 1-23.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 473-497.
- 中村 広・畠中幸代・菓子野利治・中村 薫・長田龍太郎・郡司定雄. 1997. メリクロン苗を利用したデルフィニウム F1 品種の作出. *園学雑.* 66 (別 1) : 64-65.
- Onozaki, T., H. Ikeda and T. Yamaguchi. 2001. Genetic improvement of vase life of carnation flowers by crossing and selection. *Sci. Hortic.* 87: 107-120.
- 鶴島久男. 2003. デルフィニウム. p. 385-387. 農業技術体系花卉編 9 宿根草. 農文協. 東京.