

# 胚珠培養法を用いた *Cyclamen persicum* Mill. と *C. rohlfsiaum* Aschers.

## および *C. persicum* と *C. libanoticum* Hildebr の種間雑種の作出

澁澤直恵・小川謙司

### I 緒言

シクラメンは、サクラソウ科シクラメン属の球根植物で、わが国では冬から春にかけての重要な観賞用鉢花の一つとして広く生産されている。

シクラメン属には *Cyclamen persicum* 種の他に18種が存在すると言われているが、現在栽培されているシクラメンは、そのほとんどが *Cyclamen persicum* 種から改良されており、花色、花型、葉色等で多くの品種が育成されている。

一方、*C. persicum* 種以外の18種の中には、それとは異なった葉型、葉斑、葉色を持つ種、秋咲き性、芳香性を有する種等があると言われている (Grey-Wilson, 1988)。これら *C. persicum* 種以外の種の持つ種々の形質を、栽培品種に導入することができれば、変異の拡大につながり、育種上有用であると考えられる。

しかし、過去、いくつかの原種の組み合わせで種間雑種が得られたとの報告が見られるが、現在の栽培の主力である *C. persicum* 種を片親とした雑種は得られていなかった (Legro, 1959)。

最近、組織培養技術の発達と共に、シクラメンにおいても胚珠培養法を用いることで、*C. persicum* 栽培品種と他のいくつかの原種との間で種間雑種の作出が可能であることが明らかにされた (Ishizaka & Uematu; 1992, 1995)。

本報では、現在までに報告のない、*C. persicum* 'バーバーク' (2n=96) を子房親に、*C. rohlfsianum* (2n=96) を花粉親とした交配組み合わせ、および *C. persicum* 'ピュアホワイト' (2n=48) を子房親に、*C. libanoticum* (2n=30) を花粉親とした交配組み合わせで、2n=96 の種間雑種固体 (*C. persicum* × *C. rohlfsianum* ; 以下 C. pr とする)、および 2n=39 の種間雑種固体 (*C. persicum* × *C. libanoticum* ; 以下 C. pl とする) が得られたので報告する。

### II 材料及び方法

#### 1. 交配組み合わせ

種間雑種 C. pr の作出では、栽培品種 *C. persicum* 'バーバーク' (2n=96) を子房親に、原種 *C. rohlfsianum* (2n=96)

を花粉親に、また、種間雑種 C. pl の作出には、栽培品種 *C. persicum* 'ピュアホワイト' (2n=48) を子房親に、原種 *C. libanoticum* (2n=30) を花粉親に用いた。

#### 2. 交配および培養条件

両組み合わせとも、蕾状態時に花卉及び葯を抜き取ることで除雄し、袋掛けを行い、除雄7日目および10日目の2度交配作業を行った。

2度目の交配後、21日目に花梗を採取し、70%エタノールで20秒、1%次亜塩素酸ナトリウムで15分表面を殺菌処理し、胚珠を摘出した。摘出した胚珠はMS培地 (Murashige & Skoog; 1962) にショ糖60g/l、ゲランガム3g/l を添加し、120°C、20分高圧滅菌した後、濾過滅菌したココナットミルクを100ml/l 添加し、pHを5.8に調整後、試験管に10mlずつ分注した固形培地に置床、20°C、暗黒条件下で培養した。

胚珠上に発芽してきた幼植物は、1/2(N)MS培地にショ糖30g/l、NAA0.01ppm、ゲランガム3g/l を添加し120°C、20分高圧滅菌した後、試験管に10mlずつ分注した固形培地に置床した。20°C、3,000lx 16時間日長で展葉させ、発根を促した。その後、同培地を培養瓶に20mlずつ分注した固形培地上で、20,000lx、16時間日長で展開葉数4~5枚まで培養した。

#### 3. 交配親および種間雑種の花、葉および根端細胞染色体の比較

順化後、通常の栽培管理を行い、花色、花型、葉型等の外部形態の調査を行った。また、根端細胞の染色体の観察を押しつぶし法によって行った。染色は、根端を含む根を1cmほど切り取り、0.05%コルヒチンに4時間浸漬処理し、ファーナー液 (エタノール: 酢酸=3:1) で24時間固定したのち1N塩酸で加水分解後、シッフの試薬で2時間染色したものを供試した。

### III 実験結果

#### 1. *C. persicum* 'バーバーク'、*C. rohlfsianum* および種間雑種 C. pr の花、葉および根端細胞染色体の比較

図版1上段に、子房親として用いた *C. persicum* 'バーバーク' (1)、花粉親として用いた *C. rohlfsianum* (3)、および種間雑種 C. pr (2) の花を示した。

*C. persicum* 'バーバーク' の花色は赤、花弁基部は濃紅で、形状は丸弁であった。*C. rohlfsianum* は花弁が白～桃色、花弁基部は赤～赤紫色で、形状は細弁で、*C. persicum* 'バーバーク' に比較して小型であった。一方、*C. pr*の花弁は、咲き始めは薄桃色で次第に色が濃くなり桃赤色となった。また、花弁基部は赤で、形状は細弁であったが、大きさは、*C. rohlfsianum* に比較して大型であった。

*C. rohlfsianum* は、*C. persicum* 'バーバーク' と異なり葯が花口から突出する特徴があるが、*C. pr*の葯も花口から突出していた。

図版 1 中段に、子房親として用いた *C. persicum* 'バーバーク' (4)、花粉親として用いた *C. rohlfsianum* (6)、および種間雑種 *C. pr*(5)の葉を示した。

葉型は、*C. persicum* 'バーバーク' は心臓型、*C. rohlfsianum*は切れ込みが浅くなり丸みを帯びた中間的な形態を示した。葉色、葉斑は、*C. persicum* 'バーバーク' は緑色で表面に光沢がなく、一方、*C. rohlfsianum* は濃緑色で光沢があり、両親とも有斑であった。*C. pr*の葉色は *C. persicum* 'バーバーク' に似ており光沢はなかった。

図版 1 下段に、子房親として用いた *C. persicum* 'バーバーク' (7)、花粉親として用いた *C. rohlfsianum* (9)、および種間雑種 *C. pr* (8) の根端細胞染色体像を示した。

根端細胞染色体数は、*C. persicum* 'バーバーク' は 96 本、*C. rohlfsianum* は 96 本で、*C. pr* も 96 本であった。染色体の大きさは、いずれも小型で、同程度の大きさであった。

#### 1. *C. persicum* 'ピュアホワイト'、*C. libanoticum* および種間雑種 *C. pl* の花、葉および根端細胞染色体の比較

図版 2 上段に、子房親として用いた *C. persicum* 'ピュアホワイト' (1)、花房親として用いた *C. libanoticum* (3)、および種間雑種 *C. pl* (2) の花を示した。

*C. persicum* 'ピュアホワイト' の花色は白、形状は丸弁であった。*C. libanoticum* の花色は花弁基部で白色で赤紫色の W 型模様が特徴的で、花弁先端に向かって桃色のグラデーション状で、形状は丸弁であった。一方、*C. pl* は花弁表側が濃桃赤色、花弁裏側が白桃色で、両親いずれとも異なった花色となった。形状はやや細い丸弁で、大きさは *C. persicum* 'ピュアホワイト' と同程度であった。

図版 2 中段に、子房親として用いた *C. persicum* 'ピュアホワイト' (4)、花粉親として用いた *C. libanoticum* (6)、および種間雑種 *C. pl* (5) の葉を示した。

葉型は、*C. persicum* 'ピュアホワイト' は心臓型、*C. libanoticum* は丸型で、*C. pl* はやや丸みを帯びた心臓

型で、両親の中間的な形態を示した。葉色、葉斑は、*C. persicum* は濃緑色で光沢があった。また両親とも有斑であった。*C. pl* の葉色は *C. persicum* 'ピュアホワイト' に似ており光沢がなく、葉斑はほとんど斑が認められなかった。

図版 2 下段に、子房親として用いた *C. persicum* 'ピュアホワイト' (7)、花粉親として用いた *C. libanoticum* (9)、および種間雑種 *C. pl* (8) の根端細胞染色体像を示した。

根端細胞染色体数は、*C. persicum* 'ピュアホワイト' 48 本、*C. libanoticum* 30 本で、染色体の大きさは、*C. persicum* 'ピュアホワイト' は *C. libanoticum* に比較してかなり小型であった。*C. pl* は大型の染色体が 15 本、小型の染色体が 24 本の計 39 本が確認された。

## IV 考 察

### 1. 種間雑種 *C. pr* の作出

種間雑種 *C. pr* は、花型、花色、葯の突出で *C. rohlfsianum* に、花の大きさと *C. persicum* 'バーバーク' に近い形質を有していた。また、葉型では両親の中間型の形質を有していた。

根端細胞の染色体観察では、*C. persicum* 'バーバーク'、*C. rohlfsianum* の染色体のサイズはほぼ同じ大きさで、両親、雑種間に染色体数が 96 本と同数であり、染色体の大きさ、数の違いによる雑種性の確認は困難であった。生化学的手法を用いた雑種性の確認のため、アイソザイム分析を用いて検討した報告 (小川ら, 1995) が出された。この報告では、酵素種により、アイソザイムパターンが類似もしくは重なりとされ、この点では、さらに詳細な検討が必要と考えられた。

開花期は、*C. persicum* 'バーバーク' は 11～4 月、*C. rohlfsianum* は 7～9 月であるのに対し、*C. pr* は 9～12 月で、両親の中間を示した。

また、*C. pr* は花粉を形成し花粉稔性があり、自殖により結実し発芽種子が得られた。(小川ら, 1994)。*C. persicum* 'バーバーク' は  $2n=4x=96$  の同質四倍体である。一方、*C. rohlfsianum* は倍数性は明らかでないが、同質四倍体であると考え、得られた種間雑種 *C. pr* は、複二倍体となり、稔性のある固体が得られたものと推察した。

### 2. 種間雑種 *C. pl* の作出

種間雑種 *C. pl* は、花色で交配親いずれとも異なった色となったが、花型、大きさでは *C. persicum* 'ピュアホワイト' に近い形質を有していた。また、葉型では両親の中間型の形態を有していた。

根端細胞染色体は、大型の染色体は *C. libanoticum*、

小型の染色体は *C. persicum* 由来で、両親の染色体数の半分を併せ持っていた。

種間雑種 C. pl は花粉稔性がなく、種子は形成されなかったが、これは、複半数体になっているためと考えられた。

開花期は、*C. persicum* 'ピュアホワイト' は11~4月、*C. libanoticum* は2~3月で、C. pl は1~4月で開花始めが栽培品種に比べやや遅くなった。

*C. libanoticum* は、 $2n=30$  のグループに属しているが、現在まで *C. libanoticum* 以外で、このグループと *C. persicum* との間で種間雑種が育成された報告はみられない。当场においても交配・培養を試みたが現在まで種間雑種は得られていない。このことから *C. persicum* と *C. libanoticum* はシクラメン属の種間では遠縁になると考えられた。

組織培養技術の発達に伴い、これまで交配による雑種獲得が困難とされていた遠縁の種間においても、胚・胚珠培養法を用いることで種間雑種を得ることが可能になってきた。

花き園芸分野では、特にユリにおいて胚培養による種間雑種の育成が多数行われてきている(中島; 1940, Okazaki et al. 1994)。交配後、開花までに数年の年月を要する植物であるにも関わらず、多くの研究者や、育種家の営々たる取り組みにより、多数の優良品種が作出され、実用化されている。

一方、シクラメンにおいては、石坂ら(石坂・植松; 1990)の報告以来、*C. persicum* 栽培品種を子房親に用いた種間雑種の育成が行われているが、まだ、ここ数年の取り組みでありその種類、数ともにいまだ少ないというのが現況である。また、本試験で育成された C. pl に見られたように、二倍体種の交配組み合わせでは複半数体となり稔性がない場合も多い。これについては、石坂ら(Ishizaki & Uematu; 1994, 1995)によりコルヒチン処理を行うとで、複二倍体を作成し稔性を回復させる試みもなされている。また、本試験で得られた種間雑種 C. pr や *Cyclamen persicum* Mill. と *C. graecum* Link. (石坂; 1993) のように、四倍体(と考えられる)種間での交配では、複二倍体を直接獲得できることが期待される。

シクラメンのライフサイクルは短くとも400日間を要し、育種を行う上では歳月を要する植物の一つである。そのため、実用に耐えうる品種育成までには、まだしばらく時間を要すると考えられる。しかし、本試験で得られた種間雑種を母本として活用し、新たな交配組み合わせを含め、実用品種の育成に向けた取り組みを進めていくことが必要であると考えられた。

## V 摘 要

シクラメン栽培品種 (*C. persicum* cv.) に、それ以外の原種 (*C. spp*) の持つ葉型、葉斑、葉色や秋咲き性等を導入するため、胚珠培養法による種間雑種の作出を行った。

本研究では現在までに報告のない、*C. persicum* 栽培品種を子房親、野性種 *C. rohlfsianum* を花粉親とした組み合わせと、*C. persicum* 栽培品種を子房親、野性種 *C. libanoticum* を花粉親とした2組み合わせで、それぞれ種間雑種(以下 C. pr, C. pl) が得られた。

C. pr は、葉で両親の中間的な形態を示した。染色体数は  $2n=96$  で稔性のある自殖種子が得られ、複二倍体と考えられた。

C. pl は、花で両親いずれとも異なった特徴を持ち、葉で両親の中間的な形態を示した。染色体数は  $2n=39$  で、両親の染色体数の半分を併せ持っていた。

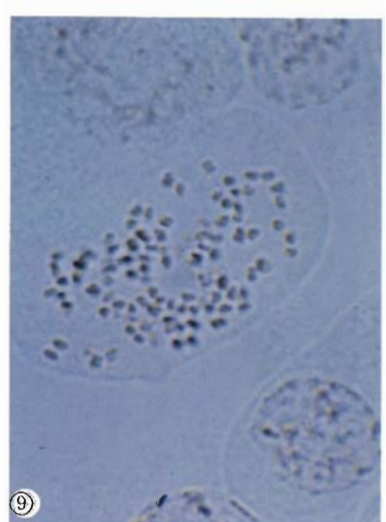
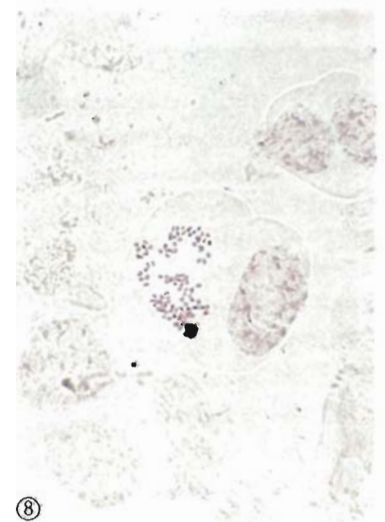
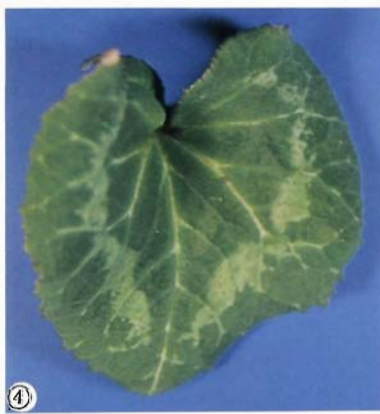
花粉稔性もなく、複半数体と考えられた。

## VI 引 用 文 献

- Grey-Wilson, c., 1988 The genus *Cyclamen* (A Kew Magazine Monograph). The Royal Botanic Gardens, Kew in association with Christopher Helm and Timber Press.
- Legro, R. A. H., 1959. The cytological background of cyclamen breeding. Meded. Londbouwhogeschool Wageningen 59(8):1-59
- Ishizaka, H. & J. Uematu, 1992. Production of interspecific hybrids between *cyclamen persicum* Mill. and *C. hederifolium* Aiton by ovule culture. Japan. J. Breed. 42:353-366
- Ishizaka, H. & J. Uematu, 1995. Interspecific hybrids of *Cyclamen persicum* Mill. and *C. purpurascens* Mill. produced by ovule culture. Euphytica. 82: 31-37
- Murashige, T. & F. Skoog, 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15:473-497.
- 中島庸三, 1940. ゆり属ノ花粉ノ貯蔵効果並ニかのこゆり×やまゆり、かのこゆり×ささゆりニ於ケル異常種子形成ニツイテ. Bot. Mag. 54:473-483
- Okazaki, K., Y. Asano, & K. Oosawa, 1994. Interspecific hybrids between *Lilium* 'Oriental' hybrid and *L.*

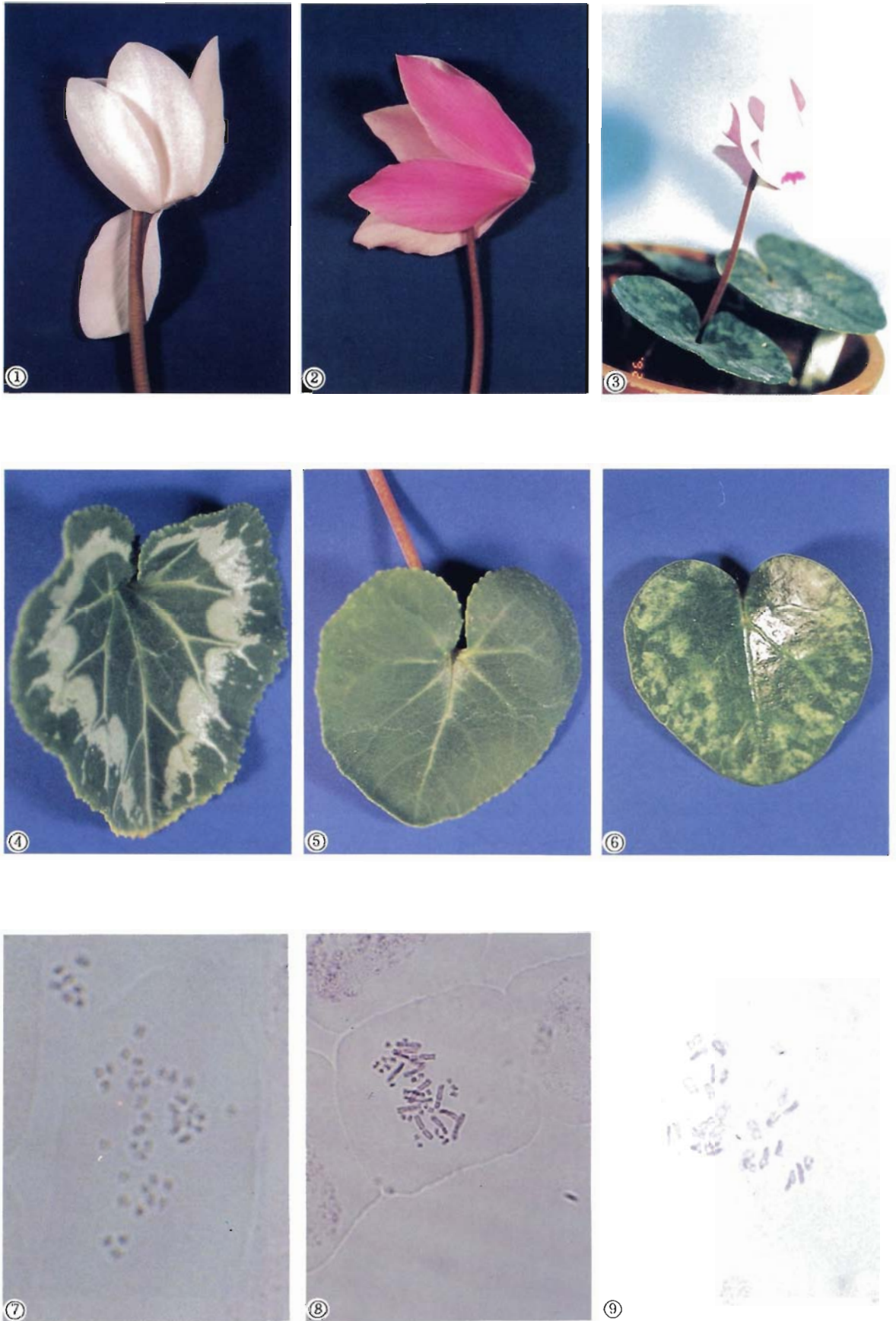
- 'Asiatic' hybrid produced by embryo culture with revised media. Japan. J. Breed. 44:59-64
- 石坂宏, 植松盾次郎, 1990. 胚珠培養による *Cyclamen persicum* Mill. と *C. repandum* Sibth. Sm. の種間雑種の作出. 育種学雑誌. 40 (別冊. 1):60-61
- Ishizaka, H. & J. Uematu, 1995. Amphidiploids between *Cyclamen persicum* Mill. and *C. hederifolium* Aiton induced through colchicine treatment of ovules *in vitro* and plants. Japan. J. Breed. 44:161-166
- 石坂宏, 1993. 胚珠培養による *Cyclamen persicum* Mill. と *C. graecum* Link の種間雑種の作出. 育種学雑誌. 43 (別冊. 2):332
- 小川謙司, 小林直恵, 1994. *Cyclamen persicum* Mill. と *C. rohlfsianum* Aschers. および *C. libanoticum* Hildebr. の種間雑種の増殖. 育種学雑誌44 (別冊. 2):86
- 小川謙司, 小林直恵, 1995. *Cyclamen persicum* Mill. と *C. rohlfsianum* Aschers. 種間雑種のアイソザイム分析. 育種学雑誌45 (別冊. 1):176

図版1 *C. persicum* 'バーバーク' (左), *C. rohlfsianum* (右), 種間雑種 *C. pr* (中央) の花 (上段)、葉 (中段)、根端細胞染色体 (下段)





図版 2 *C. persicum* 'ピュアホワイト' (左), *C. libanoticum* (右), 種間雑種 C.p1 (中央) の花 (上段)、葉 (中段)、根端細胞染色体 (下段)



Production of interspecific hybrids between *Cyclamen persicum* Mill.  
and *C. rohlfsianum* Aschers. or *C. persicum* and *C. libanoticum* Hildebr

Naoe SIBUSAWA · Kenji OGAWA

S u m m a r y

Interspecific hybrids of cyclamens were produced between *Cyclamen persicum* cultivars and other species by ovule culture, in order to introduce the unique characters, for example leaf shape, spot, and color, fall flowering and so on, of the wild ones. In this study two combinations between cultivars and other species were crossed. These crosses were not yet reported, one (C.pr) was cultivars of *C. persicum* were the pistillate parents and wild species *C. rohlfsianum* were the staminate parents and another (C.pl) was *C. persicum* were the pistillate parents and wild species *C. libanoticum* were obtained.

C.pr had leaves with intermediate type of both parents. They had 96 chromosomes and showed high fertility, and many seeds were able to germinate. These results suggested they were amphidiploid.

C.pl had different character of flowers, but leaves with intermediate type, of both parents. They had 39 chromosomes which corresponded to the sum of the half number of them of their each parents. And their pollen were sterile. So These results suggested they were amphihaploid (allodiploid).