

福岡県農林業総合試験場特別報告

第8号

アジサイ属植物の種間交雑における
育種技術に関する研究

平成30年3月

福岡県農林業総合試験場

(福岡県筑紫野市大字吉木)

SPECIAL BULLETIN
OF
THE FUKUOKA AGRICULTURE AND FORESTRY
RESEARCH CENTER
NO.8

Studies on the breeding methods for interspecific hybridization
in genus *Hydrangea*

by
Takuro SUYAMA

THE FUKUOKA AGRICULTURE AND FORESTRY
RESEARCH CENTER
Chikushino, Fukuoka 818-8549, Japan

March 2018

アジサイ属植物の種間交雑における
育種技術に関する研究

2018年

巢山拓郎

* 九州大学 審査学位論文

目 次

第1章 緒 論	1
第2章 <i>Hydrangea serrata</i> と <i>H. macrophylla</i> との交雑親和性の解明と胚珠培養による雑種 獲得の効率化	4
第1節 <i>H. serrata</i> と <i>H. macrophylla</i> の交雑親和性	4
第2節 <i>H. serrata</i> と <i>H. macrophylla</i> の交雑胚珠の培養条件と雑種個体の獲得率	5
第3節 <i>H. serrata</i> と <i>H. macrophylla</i> の種間雑種系統の交雑親和性	8
第4節 考 察	10
第5節 摘 要	14
第3章 胚珠培養および開花調節によるアジサイ種間雑種の育成年限短縮	16
第1節 涼温処理の開始時期が <i>H. serrata</i> と <i>H. macrophylla</i> の雑種個体 (F ₁) の開花に及 ぼす影響	16
第2節 <i>H. serrata</i> と <i>H. macrophylla</i> の交配から第2世代開花までの期間の短縮	19
第3節 考 察	22
第4節 摘 要	26
第4章 アジサイ装飾花の八重咲きの遺伝様式	28
第1節 八重咲き品種と一重咲き品種・系統との交雑後代における八重と一重の分離	28
第2節 八重咲き品種に八重咲き品種を種子親に持つ一重咲き系統を交配して得られた 後代における八重と一重の分離	29
第3節 八重咲き品種を種子親に持つ一重咲き系統間の交雑後代における八重と一重の 分離	32
第4節 考 察	34
第5節 摘 要	38
第5章 蕾授粉および温湯処理によるアジサイ種間雑種の自家不和合性打破	40
第1節 蕾・老花授粉による自家不和合性の打破	40
第2節 花序の温湯処理による自家不和合性の打破	43
第3節 自家不和合性打破処理による自殖個体の獲得	43
第4節 考 察	47
第5節 摘 要	50
第6章 総合考察	51
謝辞	55
引用文献	56

第1章 緒論

Hydrangea macrophylla (Thunb.) Ser. (ハイドラングア) はアジサイ科アジサイ属の植物であり、鉢物は母の日のギフト商品として人気が高い。一方、切り花はブライダルやアレンジ用として年間を通じて需要があるものの、国内での生産量が少なく、オランダなどの外国から年間約 180 万本輸入されている（北村，2013）。

アジサイ属には約 40 種があり、日本には太平洋沿岸の伊豆半島、三浦半島、房総半島などの海岸線に自生する *H. macrophylla* (Thunb.) Ser. var. *normalis* Wils. (ガクアジサイ) や関東から九州までの山地に広く自生する *H. serrata* (Thunb.) Ser. (ヤマアジサイ) など 25 種が分布している（八木，1994a）。また、台湾、中国には *H. chinensis* Maxim. (カラコンテリギ) などの常緑性のアジサイがあり、北アメリカ大陸には花序や葉の形状が特徴的な *H. quercifolia* Bartr. (カシワバアジサイ) や大輪の花序をもつ *H. arborescens* L. (アメリカノリノキ) が分布している。

アジサイの最初の園芸品種は、18 世紀から 19 世紀にかけて日本および中国からヨーロッパに持ち込まれた‘オタクサ’，‘トーマスホッグ’および‘ロゼア’の 3 品種間の交配により育成されたと報告されている（川島，2010a）。一方、我が国におけるアジサイの育種は、20 世紀に入ってから盛んに行われるようになった。ピンク色の大輪の花序を持つ‘ミセスクミコ’や青色の手まり咲きの花序を持つ‘ブルーダイヤモンド’は、国内初のアジサイ種苗登録品種である（坂本，1988a, b）。最近では、八重咲きの品種群ポーギブーケシリーズや覆輪咲きの品種群フラウシリーズなど数多くの品種が作出されている（川島，2010b；清水，2002a）。

福岡県において、アジサイはシクラメン鉢物生産の複合品目として生産されている。シクラメンは本県の花き生産における主要な鉢物品目の 1 つであり、2013 年の生産面積は 8.7 ha、生産額は約 4 億円である（福岡県，2016）。但し、近年の景気低迷などの影響を受け、シクラメンの価格は低下傾向にある。この状況下で、シクラメン経営におけるアジサイの重要性が高まってきている。

多くの花き類において、大輪、多花性、八重咲き、覆輪、観賞期間の長さなどは、品種の価値を高める要素であり、これらの特性を有する品種は高い価格で取引されている。アジサイにおいても、装飾花の八重咲きおよび覆輪、観賞期間が長い秋色アジサイの特性を有する品種は人気が高く、民間育種家、種苗会社、公的研究機関により近年多数の品種が育成されている（小玉ら，2015；女鹿田ら，2014）。但し、これらの特性を有する品種の大半がパテント品種であり、県内の生産者は生産不可能な場合や、仮に生産できたとしても高いパテント代金を支払う必要がある。

そこで、福岡県農林業総合試験場では、一般的に流通している *H. macrophylla* 系の品種ではなく、新規性の高い小輪・多花性を有する品種および観賞価値や希少性の高い八重・

手まり咲き性を有する品種の育成に、2003 年度より取り組んだ。

上記の‘ミセスクミコ’を含む大半のアジサイ園芸品種の育成には、主に *H. macrophylla* が用いられている。*H. macrophylla* は茎葉が強健で、夏季の高温に強い。しかし、前年枝の頂芽にしか花芽が付かない性質を持つため、1 鉢あたりの花序数を増やすには摘心回数や出荷鉢に定植する苗数を増やす必要がある。一方、*H. serrata* には、花序や草姿が可憐で、前年枝の頂芽だけでなく、腋芽にも花芽が付くという優れた特長を持つ系統が多い（松野ら、2008；大場、2004；山本、1996）。この *H. serrata* の小輪・多花性を *H. macrophylla* に導入するため種間交配を実施した。

アジサイの種間交配の事例としては、①当年枝開花性および不良環境耐性を持つ *H. macrophylla* タイプの品種育成を目的とした *H. arborescens* と *H. macrophylla* の交配、②円錐形の花序を持つ *H. macrophylla* タイプの品種育成を目的とした *H. quercifolia* と *H. macrophylla* の交配、③常緑性および早咲き性を有する *H. macrophylla* タイプの品種育成を目的とした *H. chinensis* と *H. macrophylla* の交配、④つる性の *H. macrophylla* タイプの品種育成を目的とした *H. petiolaris* (ツルアジサイ) と *H. macrophylla* の交配などがある（工藤・新見、1999；工藤ら、2002a, b；Kudo ら、2008）。これらの種間交配では、交雑不親和性が存在し、通常交配では種子が形成されないために、胚珠培養により雑種個体が獲得されている。一方、*H. serrata* と *H. macrophylla* の交雑親和性に関しては詳細な報告がない。

観賞価値の高い花の八重咲き性に関しては、カーネーションやトルコギキョウで、八重咲きが優性であることが報告されている（間藤ら、2004；Saunders, 1917）。また、アジサイ科の植物であるバイカウツギの装飾花の八重咲きに関しては、八重が劣性でその発現は不規則であると報告されている（Sampson, 1965）。しかし、*H. macrophylla* や *H. serrata* の装飾花の八重咲き性に関する報告はなく、効率的に八重咲き品種を育成することが困難である。

アジサイを含む木本性の花木類の育種では、草花類と比較して長い育種年限が迅速な品種育成の障壁となっている。*H. macrophylla* (Thunb.) Ser. var. *normalis* Wils.と同様に、日本原産の *Camellia japonica* L. (ヤブツバキ) などのツバキ属は、交配してから実生が開花するまで5年以上の年月を要する（柴田ら、2004）。また、ツツジでも、交配から実生が開花するまで約4年を要すると報告されている（Michishita ら、2001）。花木類の育種年限短縮に関しては、ツツジに関する Michishita ら（2001）の報告や、アメリカヒトツバタゴに関する報告がある（Chan・Marquard, 1999）。*H. macrophylla* の育種年限は、他の花木類に比べ比較的短いものの、交配から実生が開花するまで2年以上の年月を要する（藤岡、1996；片山、2005）。有用な劣性形質を育種目標とする場合は、交配第2世代まで世代を進める必要があり、最初の交配から4年以上の年月を要する。しかし、*H. macrophylla* の育種年限短縮に関する研究は皆無である。

キク、ペチュニア、チューリップなどの花き類は自家不和合性を有しており、自殖個体

を獲得することが困難である（西尾・岡崎，2001；志佐ら，1955）．この自家不和合性は，劣性形質を目標とする育種の効率化の障壁となるため，不和合性を打破する手法の研究が行われている．ペチュニアでは蕾のステージでの授粉処理が，チューリップでは雌蕊の温湯浸漬処理が自家不和合性打破に有効であることが明らかにされている（福本ら，1996；岡崎・村上，1992）．アジサイに関しては，*H. macrophylla* や *H. serrata* は自家不和合性を示すことが Reed（2005）により報告されている．しかし，自家不和合性を打破する手法に関する研究は皆無である．

これらのアジサイ育種に関する実情をふまえ，アジサイ種間雑種の育成を効率的かつ迅速に行うために，本研究ではまず，*H. serrata* と *H. macrophylla* の交雑親和性および両種の雑種個体の効率的な獲得手法について検討した．つぎに，胚珠培養により獲得した雑種個体の開花年限を開花調節により短縮する方法について検討した．さらに，観賞価値の高い装飾花の八重咲きの遺伝様式の解明および *H. serrata* と *H. macrophylla* の種間雑種系統の自家不和合性を打破する手法の開発に取り組んだ．

第2章 *Hydrangea serrata* と *H. macrophylla* との交雑親和性の解明と胚珠培養による雑種獲得の効率化

Hydrangea serrata (Thunb.) Ser. (ヤマアジサイ) は、花序や草姿が可憐で、前年枝の腋芽にも花芽が付くという特長を持つが、夏季の高温下で育苗中に枯死しやすい。一方、*H. macrophylla* (Thunb.) Ser. (ハイドラングア) は、草姿を整えやすい、葉焼けを起こしにくい、花色のバリエーションが豊富であるといった特長を持つが、前年枝の頂芽にしか花芽が付かず、花序や葉が大きい。

福岡県農林業総合試験場では、*H. serrata* と *H. macrophylla* の長所を併せ持つ小輪・多花性品種の作出を目的に、両種の交配育種に取り組んでいる。しかし、アジサイ属の種間交配では、種子ができないことが多く、F₁ 種子の発芽率は極めて低い(片山, 2005; 工藤ら, 2003)。従って、雑種個体を獲得するのが難しく、アジサイ属の変異を多様化し、新品種を作出する際の問題となっている。これらを解決する手段としては胚珠培養が有効で、工藤ら(2002a, b)は *H. macrophylla* と *H. quercifolia* (カシワバアジサイ) および *H. macrophylla* と *H. petiolaris* (ツルアジサイ) の種間雑種個体を胚珠培養法により獲得している。しかし、*H. serrata* と *H. macrophylla* 間の交雑親和性および胚珠培養に関する報告はなく、その可能性を明らかにすることはアジサイ属の交配育種の発展と実用化に寄与できると考えられる。

そこで、本試験では *H. serrata* と *H. macrophylla* の交配を行い、これらの交雑親和性と胚珠培養による雑種獲得の効率化、ならびに種間雑種系統の交雑親和性について検討した。

第1節 *H. serrata* と *H. macrophylla* の交雑親和性

1. 材料および方法

H. serrata に属する ‘アマチャ’, ‘キヨスミサワ’, ‘クレナイ’, ‘クロヒメ’, ‘マイコアジサイ’, ‘モモイロヤマアジサイ’ および ‘七変化’ を、また *H. macrophylla* に属する ‘ブルーダイヤモンド’, ‘ホバリアホベラ’, ‘城ヶ崎’, ‘ラブユーキッス’, ‘メロディー’, ‘ミセスクミコ’, ‘パリ’ および ‘ユングフラウピコティ’ を供試した。2003年, 2004年および2005年の5~6月に工藤ら(2002a)の手法に準じて、福岡県農林業総合試験場(筑紫野市)内のガラスハウスにおいて、これらの種間交配を実施した。また、*H. macrophylla* ‘城ヶ崎’ と ‘パリ’ を用い、種内の品種間交配を対照として実施した。交配花数は各組合せ37~100花とし、種子の成熟する交配した年の11月末に完全種子形成の有無を調査した。得られた種子は、pH未調整ピートモス、赤玉土、腐葉土およびパーライトを5:3:1:1(容積比)の割合で混合した用土を充填した12cm径プラスチックポットに50粒ずつ播種後、夜間最低気温15℃に加温したガラスハウス内で管理し、発芽の有無を調査した。種子の発芽試験と併せて、すべての交配組合せについて、交配90日後に交雑

胚を含む肥大した胚珠（以下、交雑胚珠）を培養し、雑種個体の獲得を試みた。交雑胚珠の培養には、MS 基本培地（Murashige・Skoog, 1962）の無機塩の多量要素のみを 1/2 に希釈した培地（3%ショ糖，0.25%ゲランガム含有，pH5.8，以後 1/2 MS 培地と記載）をコニカルビーカー（容量 100 mL）に 20 mL ずつ分注し、オートクレーブ（120℃，15 分間）で滅菌して使用した。採取した朔果を 70%エタノールに約 10 秒間浸漬し、次亜塩素酸ナトリウム溶液（有効塩素濃度約 1%）で 10 分間殺菌後、滅菌水で 3 回洗浄した。洗浄した朔果を実体顕微鏡下で解剖して交雑胚珠を無菌的に摘出し、培地に置床した。培養開始後は、25℃，16 時間日長，照度 3,500 lx（植物育成用蛍光灯）の条件下で管理し、培養開始 30 日後の発芽・生育の有無を調査した。胚珠培養により得られた雑種個体は、バーミキュライトを充填した 6 cm 径ポリポットに鉢上げし、順化室（胚珠培養時と同じ環境条件）内で養成後、ピートモス主体の用土を充填した 9 cm 径ポリポットに移植し、夜間最低気温 15℃に加温したガラスハウス内で栽培した。交配翌年の 5 月より無加温のガラスハウス内で引き続き管理した。

2. 結果

H. serrata を種子親，*H. macrophylla* を花粉親とした種間交配では、12 組の交配組合せのいずれも種子を形成しなかった（表 2-1）．‘クレナイ’と‘ミセスクミコ’の交配組合せでは、交配後子房の肥大がほとんど認められず、交配後 30 日以内に落果したが、この交配組合せを除く 11 組の交配では、交雑胚珠の培養により雑種個体を獲得できた。

一方、*H. macrophylla* を種子親，*H. serrata* を花粉親とした種間交配では、5 組の交配組合せ中‘ミセスクミコ’と‘マイコアジサイ’の交配組合せを除く 4 組の交配組合せで種子形成が認められ、得られた完全種子はいずれも発芽を確認できた．‘ミセスクミコ’と‘マイコアジサイ’の交配組合せでも、交雑胚珠の培養により雑種個体を獲得できた。胚珠培養により得られた雑種個体は、交配組合せに関係なく、順化室およびガラスハウス内で正常な生育を示し、交配 2 年後（一部 3 年後）の 5 月に開花した。

H. macrophylla ‘ホバリアホベラ’と *H. serrata* ‘マイコアジサイ’の種間交配で得られた系統 03KaMa1 の葉の大きさや枝の太さは両親の中間的な値を示し（表 2-2），葉の光沢や花序の大きさも同様の傾向を示した（図 2-1）．その他の交配組合せで得られた個体も、同様に両親の中間的な形質を示した．*H. macrophylla* の種内交配である‘城ヶ崎’と‘パリ’の交配組合せでは完全種子を形成した（表 2-1）。

第 2 節 *H. serrata* と *H. macrophylla* の交雑胚珠の培養条件と雑種個体の獲得率

1. 材料および方法

2004 年 6 月に、*H. serrata* ‘マイコアジサイ’，*H. macrophylla* ‘ミセスクミコ’を交配親

表 2-1. *Hydrangea serrata* と *Hydrangea macrophylla* の交雑親和性

交配組合せ		通常交配			胚珠培養	
種子親	花粉親	種子形成率 ^z (%)	交配花数	種子発芽 の有無 ^y	胚珠発芽率 ^x (%)	培養胚珠数
<i>H. serrata</i>	<i>H. macrophylla</i>					
アマチャ	ホバリアホベラ	0	96	—	76	100
キヨスミサワ	パ リ	0	33	—	58	100
クレナイ	ミセスクミコ	0	96	—	0	100
〃	パ リ	0	96	—	47	100
クロヒメ	メロディー	0	96	—	42	100
マイコアジサイ	ブルーダイヤモンド	0	52	—	37	100
〃	ミセスクミコ	0	60	—	9	100
〃	パ リ	0	96	—	65	100
モモイロヤマアジサイ	ミセスクミコ	0	96	—	17	100
〃	パ リ	0	96	—	12	100
七変化	ブルーダイヤモンド	0	96	—	40	100
〃	ラブユーキッス	0	83	—	42	100
<i>H. macrophylla</i>	<i>H. serrata</i>					
ブルーダイヤモンド	七 変 化	100	46	○	38	100
ホバリアホベラ	マイコアジサイ	100	96	○	68	100
城ヶ崎	キヨスミサワ	99	97	○	42	100
ミセスクミコ	マイコアジサイ	0	60	—	48	100
ユングフラウピコティ	〃	100	69	○	47	100
<i>H. macrophylla</i>	<i>H. macrophylla</i>					
城ヶ崎	パリ	93	40	○	— ^w	

^z 種子形成花数／交配花数×100

^y ○：種子発芽，—：種子未形成

^x 発芽胚珠数／培養胚珠数×100

^w 胚珠培養未実施

表 2-2. 種間交配（‘ホバリアホベラ’ × ‘マイコアジサイ’）で得られた雑種系統 03KaMa1 の苗の形質

供試品種・系統 ^z	葉の大きさ ^y		枝の太さ ^x (mm)	節間長 ^w (cm)	葉の光沢
	葉身長 (cm)	葉幅 (cm)			
<i>H. serrata</i> マイコアジサイ	5.6 c ^v	2.9 c	2.1 c	1.4	無し
雑種系統 03KaMa1	8.3 b	4.9 b	3.3 b	1.9	若干有り
<i>H. macrophylla</i> ホバリアホベラ	11.2 a	9.2 a	5.3 a	3.5	有り

^z 2007年6月19日 128穴セルトレイに節間挿し，7月20日 9 cm径ポリポットに鉢上げ，11月22日に各品種・系統10株調査

^y 頂芽の下第3節位の葉

^x 頂芽の下第2，3節間の枝の太さ

^w 頂芽の下第2，3節間の節間長

^v Tukeyの多重比較法により，異文字間には1%水準で有意差あり



図 2-1. *H. serrata* ‘マイコアジサイ’ (♂) と *H. macrophylla* ‘ホバリアホベラ’ (♀) の種間雑種 03KaMa1 の開花株の草姿

として供試し、正逆交配を実施した。交配 30 日後から 90 日後まで 15 日間隔 5 区で朔果を採取し、ジベレリン(GA₃)を 1 mg・L⁻¹ 添加した 1/2 MS 培地を用いて、各採取区とも交雑胚珠を 100 個体培養した。対照として、ジベレリン無添加の 1/2 MS 培地を用い、同様に培養を行った。培養開始後は前節で示した管理法と同様に管理し、培養 30 日後の発芽率を調査した。また、得られた雑種個体は前節と同様に管理した。

2. 結果

‘マイコアジサイ’と‘ミセスクミコ’の正逆いずれの交配組合せも、交配 30、45 日後に朔果を採取して培地に置床した場合、培地へのジベレリン添加の有無に関わらず、交雑胚珠の発芽率は 15%以下と極めて低かった(図 2-2, 図 2-3)。

‘マイコアジサイ’を種子親とする交配組合せでは、交配 75 日後の交雑胚珠をジベレリンを添加した培地で培養すると 48%の発芽率を示したが、無添加区では 25%と約 1/2 であった(図 2-2)。交配 90 日後では、ジベレリン添加区の交雑胚珠は 70%以上の発芽率を示し、無添加区との差が拡大した。

‘ミセスクミコ’を種子親とする交配組合せでは、交配 60 日後以降の交雑胚珠をジベレリンを添加した培地で培養することにより、68%以上の高い発芽率を得た(図 2-3)。一方、ジベレリン無添加区の発芽率は 50%未満で、交配 90 日後を除き同添加区の 1/2 未満であった。得られた雑種個体は、すべて順化室およびガラスハウス内で正常な生育を示し、交配 2 年後(一部 3 年後)に開花した。

第 3 節 *H. serrata* と *H. macrophylla* の種間雑種系統の交雑親和性

1. 材料および方法

H. serrata ‘七変化’と *H. macrophylla* ‘ブルーダイヤモンド’の種間雑種系統 03NB7 および 03NB10, 逆交配で得られた 03BN4, *H. serrata* ‘クロヒメ’と *H. macrophylla* ‘メロディー’の種間雑種系統 03KuMe1, *H. serrata* ‘七変化’と *H. macrophylla* ‘ラブユーキス’の種間雑種系統 03NL8, および 03NL9 の 6 系統を花粉親として供試し、2005 年 4 月下旬から 6 月上旬にかけて *H. serrata* ‘マイコアジサイ’, *H. macrophylla* ‘城ヶ崎’, ‘隅田の花火’ および ‘ユングフラウピコティ’との交配を実施した。また 2006 年 5 月中旬に, *H. serrata* ‘マイコアジサイ’と *H. macrophylla* ‘パリ’の種間雑種系統 04MaP9 を種子親として供試し, *H. macrophylla* ‘パリ’と戻し交配を行った。交配花数は各組合せ 32~95 花とし、交配した年の 11 月末に完全種子の形成の有無を調査した。得られた完全種子は、第 1 節に準じて発芽の有無を調査した。併せて、交雑胚珠培養を行い、得られた雑種個体は第 1 節と同様に管理した。

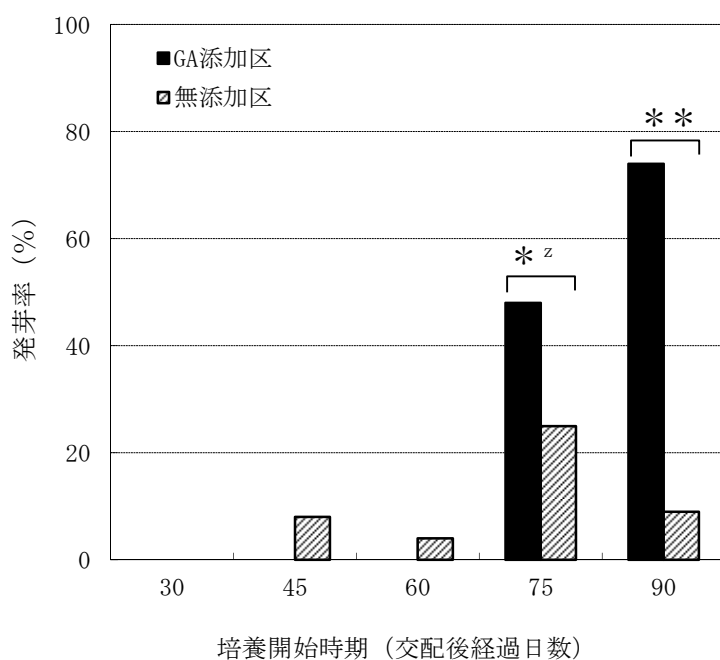


図 2-2. 培養開始時期およびジベレリン添加が‘マイコアジサイ’×‘ミセスクミコ’から得た交雑胚珠の発芽率に及ぼす影響

χ^2 検定で*は 5%水準, **は 1%水準で有意差あり

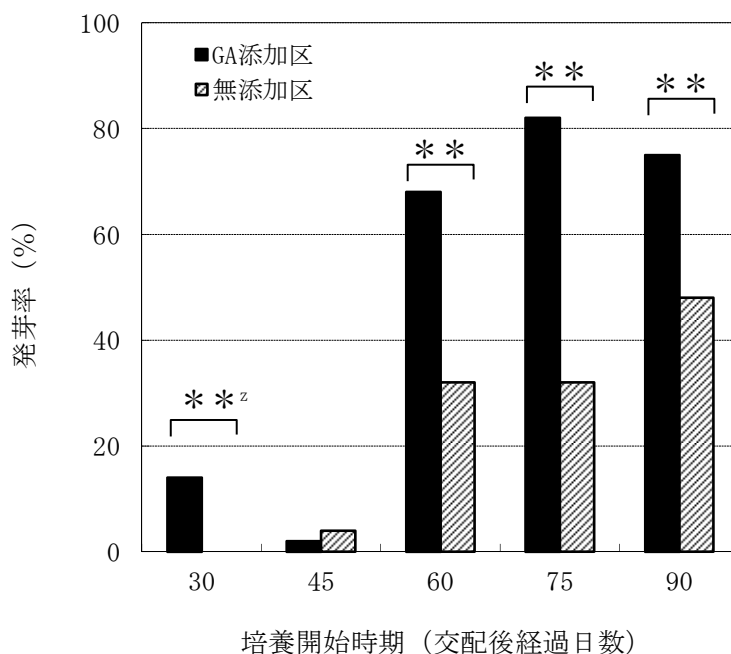


図 2-3. 培養開始時期およびジベレリン添加が‘ミセスクミコ’×‘マイコアジサイ’から得た交雑胚珠の発芽率に及ぼす影響

χ^2 検定で**は 1%水準で有意差あり

2. 結果

種間雑種系統 03NB7 および 03KuMe1 を花粉親, *H. serrata* ‘マイコアジサイ’ を種子親とした交配では, 完全種子を形成しなかったが, 交雑胚珠培養により雑種個体を獲得できた (表 2-3). 得られた雑種個体は順化室およびガラスハウス内で順調に生育し, 一部の個体を除き, 交配 2 年後の 2007 年 5 月に開花した. 2 組の交配組合せのいずれも, 額咲き性, 手まり咲き性を示す個体の割合がほぼ同じであった (表 2-4).

種間雑種系統 03NL8, 03NL9, 03NB10 および 03BN4 を花粉親, *H. macrophylla* を種子親とした交配では, いずれの交配組合せにおいても完全種子が形成された (表 2-3). 朔果 1 果あたりの種子数は 40 粒以上であり, ‘城ヶ崎’ と 03BN4 の交配では最も多い 100 粒程度得られた (データ略). これらの交配組合せにより得られた完全種子は発芽した後, 実生は正常な生育を示し, 交配 2 年後にほとんどの個体が開花した.

装飾花が八重咲きの *H. macrophylla* ‘隅田の花火’ および ‘城ヶ崎’ を種子親, 装飾花が一重咲きの種間雑種系統 03NL9, 03NB10 および 03BN4 を花粉親とした交配で得られた個体は, すべて一重咲きであった (表 2-5). また, 装飾花の色は, 種子親の ‘隅田の花火’ が白色, 花粉親の 03NL9 が鮮紫ピンク, 03NB10 が鮮紫青であるのに対し, 2 組の交配で得られた個体はそれぞれ淡紫ピンクから紫ピンクおよび青白から浅紫青で, 両親の中間的な花色を示した.

‘城ヶ崎’ と 03BN4 の交配で得られた個体も同様な傾向を示した. 種間雑種系統 04MaP9 を種子親, *H. macrophylla* ‘パリ’ を花粉親とした戻し交配では完全種子を形成しなかったが, 交雑胚珠培養により雑種個体を獲得できた. 但し, 得られた 113 個体中, 38 個体が培養中に白化し, 生育停止後枯死した. 残りの 75 個体は順調に生育し, 葉の形状はすべて花粉親である ‘パリ’ に類似していた.

第 4 節 考察

H. serrata と *H. macrophylla* の両種の長所を併せ持つ新系統を育成するため, *H. serrata* と *H. macrophylla* の交雑親和性を調べたところ, *H. serrata* を種子親, *H. macrophylla* を花粉親とした交配組合せでは, まったく種子が形成されず交雑親和性は認められなかった. 一方, その逆交配である *H. macrophylla* を種子親, *H. serrata* を花粉親とした交配では, 大半の組合せで完全種子が得られ, 交雑親和性を有した. 工藤・新見 (1999) によると, アジサイ属の *arborescens* 種と *macrophylla* 種の種間交配では, *H. macrophylla* を種子親とした場合, 交雑胚珠の培養により雑種個体が得られたのに対し, 逆に *H. arborescens* を種子親とした場合は雑種個体が得られず, 両種間に一側性不和合性に似たメカニズムが存在することを報告している. このことから, *H. serrata* と *H. macrophylla* の種間交配にも, この一側性不和合性が存在すると考えられる. しかし, *H. serrata* を種子親とした場合には, 交雑胚珠の培養を行うことにより雑種個体が獲得できたのに対し, *H. arborescens* を種子親とし

表 2-3. *H. serrata* と *H. macrophylla* の種間雑種系統の交雑親和性

交配組合せ		通常交配			胚珠培養	
種子親	花粉親	種子形成率 ^z (%)	交配花数	種子発芽 の有無 ^y	胚珠発芽率 ^x (%)	培養胚珠数
<i>H. serrata</i>	(<i>H. serrata</i> × <i>H. macrophylla</i>)					
マイコアジサイ	03NB7	0	61	—	48	200
〃	03KuMel	0	30	—	40	200
<i>H. macrophylla</i>	(<i>H. serrata</i> × <i>H. macrophylla</i>)					
隅田の花火	03NL9	100	46	○	72	100
〃	03NB10	100	46	○	78	100
ユングフラウピコティ	03NL8	100	91	○	33	100
<i>H. macrophylla</i>	(<i>H. macrophylla</i> × <i>H. serrata</i>)					
城ヶ崎	03BN4	100	77	○	67	100
(<i>H. serrata</i> × <i>H. macrophylla</i>)	<i>H. macrophylla</i>					
04MaP9	パリ	0	28	—	57	200

^z 種子形成花数／交配花数×100

^y ○：種子発芽，—：種子未形成

^x 発芽胚珠数／培養胚珠数×100

表 2-4. 種間雑種系統と手まり咲き品種‘マイコアジサイ’の交配により得られた雑種個体の花序の形状の分離

交配組合せ		開花個体数	額咲き 個体数	額咲き個体の 割合 ^z (%)	手まり咲き 個体数	手まり咲き個体 の割合 ^y (%)
種子親	花粉親					
<i>H. serrata</i>	(<i>H. serrata</i> × <i>H. macrophylla</i>)					
マイコアジサイ	03NB7	84	44	52	40	48
〃	03KuMel	70	32	46	38	54

^z 額咲き個体数／開花個体数×100

^y 手まり咲き個体数／開花個体数×100

表 2-5. 種間雑種系統と八重咲き品種の交配により得られた雑種個体の装飾花の形状および花色

交配組合せ		開花個体数	八重咲き 個体数	八重咲き個体 の割合 ^z (%)	一重咲き 個体数	一重咲き個体 の割合 ^y (%)	装飾花の色 ^x
種子親	花粉親						
<i>H. macrophylla</i>	(<i>H. serrata</i> × <i>H. macrophylla</i>)						
隅田の花火	03NL9	67	0	0	67	100	淡紫ピンク～紫ピンク
〃	03NB10	72	0	0	72	100	青白～浅紫青
<i>H. macrophylla</i>	(<i>H. macrophylla</i> × <i>H. serrata</i>)						
城ヶ崎	03BN4	61	0	0	61	100	淡青～明紫青

^z 八重咲き個体数／開花個体数×100

^y 一重咲き個体数／開花個体数×100

^x 日本園芸植物標準色票による

た場合には、胚珠培養によっても雑種個体が獲得できなかった。このことは、*H. serrata* と *H. macrophylla* がいずれも日本原産で遺伝的に近縁であると考えられるのに対し、北アメリカ原産で *Americanae* 亜節に属する *H. arborescens* は、*Macrophyllae* 亜節に属する *H. macrophylla* と遺伝的に遠縁である (McClintock, 1957) ことが関与していると思われる。この一側性不和合性はアジサイ属以外の花きでも報告されており、Niimi ら (1996) はヒサメユリとリーガルユリの種間交配を行ったところ、リーガルユリを種子親とした場合は胚珠培養により雑種個体が得られたのに対し、ヒサメユリを種子親とした場合は得られなかった。また、渡辺ら (2002) は自家和合性を示すペチュニア属 4 種と自家不和合性を示す 16 種で正逆交配を実施したところ、自家和合性を示す 4 種を種子親にすると、ほとんどの交配組合せで種子が得られたのに対し、自家不和合性を示す 16 種を種子親にすると、種子が得られた組合せは皆無に等しかったと報告している。

以上のことから、*H. serrata* と *H. macrophylla* の種間交配では、胚珠培養法を活用することにより雑種個体を獲得できることが明らかになった。

本試験では、*H. serrata* と *H. macrophylla* の種間交配により得られた個体の雑種性の確認を DNA レベルでは行っていない。両種の交配を行う際、除雄を実施しており、得られた個体が種子親の自殖個体である可能性は極めて低い。アポミクシスにより得られた可能性を除外することは不可能である。しかし、両種の種間交配により得られた個体の葉や花序の大きさ、枝の太さなどの量的形質は、*H. serrata* および *H. macrophylla* の中間的な値を示した。また葉の光沢に関しても同様な傾向であった。飯塚ら (2001) は、ユキヤナギとシモツケの種間交配を行い、得られた雑種個体が両種の中間的な形質を示したこと、同様に Morgan ら (1995) は、リモニウム属の雑种植物の形態が両親のほぼ中間を示したと報告しており、本試験で得られた個体も、*H. serrata* および *H. macrophylla* の交雑により得られた雑種個体と判断される。

H. serrata と *H. macrophylla* の種間雑種系統を花粉親および種子親として供試したいずれの交配も、交雑胚珠の培養により雑種個体を獲得できた。手まり咲き性を示す *H. serrata* ‘マイコアジサイ’ を種子親、額咲き性を示す種間雑種系統を花粉親とした交配では、得られた個体の約半数は額咲き性を示した。黒川ら (1999) は、アジサイ花序の額咲きおよび手まり咲き性について、額咲きが優性で、一对の遺伝子に支配された遺伝様式を示すと報告している。‘マイコアジサイ’ の自殖もしくはアポミクシスで得られた個体は、基本的に手まり咲き性を示すため、得られた個体は種間雑種系統 (額咲き、手まり咲きに関わる遺伝子をヘテロで持つ) との交雑個体と考えられる。また、装飾花が八重咲きの *H. macrophylla* ‘隅田の花火’ および ‘城ヶ崎’ を種子親とした交雑個体は、両親の中間的な花色を示し、すべての個体が花粉親である種間雑種系統と同じ一重咲きであった。装飾花の八重咲き性は優性遺伝せず (未発表)、種子親として用いた ‘隅田の花火’、‘城ヶ崎’ は雄蕊を持たないため、得られた個体は交雑により得られた可能性が極めて高い。しかし、*H. serrata* と

H. macrophylla の種間雑種系統の雑種性の確認と同様、今後 DNA マーカーなどによる雑種性の確認が不可欠だと考えられる。

本試験結果により、種間雑種系統は種子親、花粉親のいずれでも交配母本として利用可能であることが明らかになった。アジサイで有用な形質である装飾花の八重咲き性は、雑種第 1 代では発現しにくいいため、八重咲きの系統を獲得するためには、雑種第 1 代以降の交配が必要である。種間雑種系統が交配母本として利用可能であるという本試験結果は、商品性の高いアジサイ新系統の作出のために有用な情報と考える。

Michishita ら (2001) は、ツツジの交雑種育成のため胚珠培養を行った際、培地にジベレリンを添加することにより、交雑胚珠の発芽率が向上したと報告している。また徳元ら (2000) は、パパイヤ未受粉花の胚珠から不定胚を誘導するため、サイトカイニン、オーキシン、ジベレリンをそれぞれ添加した培地を用い培養したところ、ジベレリンを添加した培地でのみ不定胚が誘導されたことを報告している。そこで、本試験では培地にジベレリン(GA₃)を添加し、交雑胚珠の発芽促進効果を検討した。その結果、交雑胚珠 2 系統のいずれも、交配 45 日後まではジベレリン添加の有無に関わらず発芽率は低かった。しかし、*H. macrophylla* を種子親とする交配では、交配 60 日後以降、また *H. serrata* を種子親とする交配では、交配 75 日後以降の培養で、ジベレリンを添加することにより交雑胚珠の発芽率が向上した。本結果はアジサイ属では初めての知見であり、種間交配によりアジサイ新系統を作出する際、育種効率の向上に有用である。

H. serrata と *H. macrophylla* の種間交配により得られた雑種系統は交配母本として使用可能であるため、今後は八重咲き性や覆輪性を示す商品性の高い新品種の作出に取り組んでいく予定である。

第 5 節 摘要

H. serrata と *H. macrophylla* の交雑親和性、交雑胚珠培養による雑種獲得の効率化および種間雑種系統の交雑親和性について検討した。*H. serrata* と *H. macrophylla* の種間交配では、*H. macrophylla* を種子親とした 5 組の交配組合せのうち、4 組の交配組合せで種子を形成した。一方、*H. serrata* を種子親とした 12 組の交配組合せでは、全く完全種子を形成しなかった。但し、そのうちの 11 組の交配組合せにおいて、交雑胚珠培養により雑種個体を獲得できた。

H. serrata ‘マイコアジサイ’ と *H. macrophylla* ‘ミセスクミコ’ の正逆交配により得られた交配 60 日後、もしくは 75 日後以降の交雑胚珠を、ジベレリン(GA₃)を 1mg・L⁻¹ 添加した 1/2 MS 培地を用いて培養することにより、雑種個体の獲得効率が向上した。さらに、交配 90 日後の交雑胚珠をジベレリン添加培地で培養した時の発芽率は 75%に達した。

H. serrata と *H. macrophylla* の種間雑種である 2 系統を花粉親とし、*H. serrata* ‘マイコア

ジサイ'を種子親とした交配では、交雑胚珠培養により雑種個体を獲得できた。また *H. serrata* と *H. macrophylla* の種間雑種である 3 系統を花粉親とし、*H. macrophylla* の 2 品種を種子親とした 3 組の交配組合せでは完全種子が形成された。

第3章 胚珠培養および開花調節によるアジサイ種間雑種の育成年限短縮

H. macrophylla や *H. serrata* の育種では、交配して実生が開花するまで2年以上を要する(藤岡, 1996; 片山, 2005). 装飾花の八重咲きなど有用な劣性形質(巢山ら, 2008b)を獲得するには、交配から4年以上の長い年月を要し、ニーズに即応した品種育成の障壁となっている.

草本性の花き類と比較して *H. macrophylla* の育種期間が長い要因としては、交配してから種子が成熟するまでに約6か月間を要することと、通常秋にしか花芽分化しないことが挙げられる. *H. macrophylla* は、気温が18℃以下になる10月上旬頃に充実した当年枝の頂部に花芽分化を開始し、10月下旬～11月上旬にかけてがく片を、11月中下旬に雌雄蕊を形成した後、自発休眠に入る(五井, 1988; 小杉・荒井, 1960; 八木, 1994b). その後、5℃以下の自然低温に40～50日間遭遇することにより自発休眠は打破され、気温の上昇する年明け3月以降に新梢が伸長を開始し、5～6月頃に開花する. 一方、*H. serrata* の花芽分化の季節的推移については、*H. macrophylla* に準じることが松野ら(2008)により明らかにされている. *H. serrata* と *H. macrophylla* の種間雑種品種の育成年限短縮を図るには、種子の成熟期間の短縮および四季を問わず花成誘導を行い開花させる開花調節技術の確立が不可欠である.

H. macrophylla の開花調節に関しては、秋の自然温度条件下で花芽分化した株に、11月より5℃で6～7週間の低温処理を行い休眠打破した後、加温した施設内で栽培し、3月以降出荷する促成栽培技術が生産現場で普及している(清水, 2002b). また、*H. macrophylla* の挿し木株を約12.8℃で70日間処理することにより、人為的な花成誘導が可能であることが明らかにされている(Shanks・Link, 1951). しかし、これらの開花調節に関する研究はいずれも挿し木株を用いたものであり、交雑実生への花成誘導および育成年限短縮に関する知見は皆無である. 従って、交雑実生の育成年限短縮技術を確立することは、ニーズに即応した迅速な品種育成に寄与できると考えられる.

本試験では *H. serrata* と *H. macrophylla* の雑種系統の早期育成を図るため、胚珠培養および開花調節による育成年限短縮について検討した.

第1節 涼温処理の開始時期が *H. serrata* と *H. macrophylla* の雑種個体 (F_1) の開花に及ぼす影響

1. 材料および方法

2003年5月下旬に *H. serrata* ‘七変化’を種子親に、*H. macrophylla* ‘ブルーダイヤモンド’および‘ラブユーキス’を花粉親として交配を行った. 8月26日に、交配90日後の交雑胚珠を用いて、前章の手法に準じて胚珠培養を行い雑種個体を獲得した. 雑種個体の草

丈が 1 cm 程度になった 10 月 30 日に、バーミキュライトを充填した 6 cm 径ポリポットに鉢上げし、25℃、16 時間日長、照度 3,500 lx（植物育成用蛍光灯）の順化室内で養成した。その後、草丈が 10 cm 程度になった 2004 年 1 月 19 日に、pH 未調整ピートモス、赤玉土、腐葉土およびパーライトを 5:3:1:1（容積比）の割合で混合した用土を充填した 9 cm 径ポリポットに鉢替え後、夜間最低気温 15℃に加温したガラスハウスへ移動し管理した。4 月 30 日に暖房を打ち切り、引き続き無加温のガラスハウス内で育成した。

胚珠培養により得られた雑種個体の花芽分化を誘導するために涼温処理を行った。処理区として、6 月 1 日開始区と 10 月 1 日開始区を設けた。6 月 1 日開始区では、2 組の交配組合せから得られた雑種個体のうち主茎長が 20 cm 以上の各 15 個体を供試し、7 月 30 日まで 60 日間の涼温処理を行った。涼温処理は、気温が 14～16℃の範囲で制御され、平均気温 15℃、16 時間日長、照度 3,000 lx（植物育成用蛍光灯）に保たれた人工照明室内で栽培することにより行った。7 月 31 日に 5℃の冷蔵庫内に搬入し、50 日間の低温処理を行い、休眠を打破した。9 月 19 日に無加温のガラスハウスに入室し、10 月中旬より夜間最低気温 15℃で暖房を行った。11 月下旬～12 月中旬にかけて開花日を、12 月 20 日に開花率を調査した。開花日は、各個体の最初に開花した花序の装飾花が完全に着色した日とし、開花率は供試個体数に対する開花個体数の割合とした。

涼温処理を 10 月 1 日に開始した区では、6 月 1 日開始区と同様に、主茎長が 20 cm 以上の雑種個体を各交配組合せにつき 15 個体供試し、2004 年 5 月 1 日～9 月 30 日まで無加温のガラスハウス内で管理した。10 月 1 日に 6 月 1 日開始区と同様の温度・光条件下の人工照明室に入室し、11 月 29 日まで 60 日間の涼温処理を実施した。涼温処理終了後に冷蔵庫内で 50 日間の低温処理を行い、休眠を打破した。低温処理が終了した 2005 年 1 月 19 日に、夜間最低気温 15℃に加温したガラスハウスに入室し、4 月上旬～中旬にかけて開花日を、4 月 20 日に開花率を調査した。

対照区として、胚珠培養により得られた雑種個体を各交配組合せにつき 20 個体供試し、2005 年 1 月末まで無加温のガラスハウス内で管理した。2 月 1 日に夜間最低気温 15℃に加温したガラスハウスに移動し、4 月中旬～下旬にかけて開花日を、4 月 30 日に開花率を調査した。

2. 結果

初夏の 2004 年 6 月 1 日より涼温処理を開始した区では、*H. serrata* ‘七変化’と *H. macrophylla* ‘ブルーダイヤモンド’の雑種個体の開花率は 87%であった（表 3-1）。開花日は最も早い個体が 2004 年 11 月 23 日で、平均開花日は 12 月 1 日であった。また *H. serrata* ‘七変化’と *H. macrophylla* ‘ラブユーキス’の雑種個体の開花率は 87%であった。開花日は最も早い個体が 2004 年 11 月 26 日で、平均開花日は 12 月 5 日であった。

2004 年 10 月 1 日に涼温処理を開始した区では、‘七変化’と ‘ブルーダイヤモンド’の

表 3-1. 涼温処理開始時期が *H. serrata* × *H. macrophylla* から得た雑種個体 (F₁) の開花に及ぼす影響

交配組合せ		涼温処理 開始日	供試 個体数	開花率 ^z (%)	開花開始日 ^y	平均開花日
種子親	花粉親					
<i>H. serrata</i>	<i>H. macrophylla</i>					
七変化	ブルーダイヤモンド	2004/6/1	15	87	2004/11/23	2004/12/1
		2004/10/1	15	100	2005/4/3	2005/4/9
		無処理	20	90	2005/4/13	2005/4/19
七変化	ラブユーキッス	2004/6/1	15	87	2004/11/26	2004/12/5
		2004/10/1	15	80	2005/4/6	2005/4/12
		無処理	20	85	2005/4/16	2005/4/21

^z (開花個体数/供試個体数) × 100, 調査は6/1処理開始区では2004年12月20日に, 10/1処理開始区では2005年4月20日に, 無処理区では4月30日に実施

^y 最も早く開花した個体の開花日, 開花日は各個体の最初に開花した花序の装飾花が完全に着色した日

雑種個体の開花率は100%であった(表3-1). 開花日は最も早い個体が2005年4月3日で, 平均開花日は4月9日であった. また‘七変化’と‘ラブユーキッス’の雑種個体の開花率は80%であった. 開花日は最も早い個体が2005年4月6日で, 平均開花日は4月12日であった.

対照として, 花芽分化の誘導や休眠打破に関して特別な温度処理をしなかった区では, ‘七変化’と‘ブルーダイヤモンド’の雑種個体の開花率は90%であった(表3-1). 開花日は最も早い個体が2005年4月13日で, 平均開花日は4月19日であった. また‘七変化’と‘ラブユーキッス’の雑種個体の開花率は85%であった. 開花日は最も早い個体が2005年4月16日で, 平均開花日は4月21日であった.

第2節 *H. serrata* と *H. macrophylla* の交配から第2世代開花までの期間の短縮

1. 材料および方法

2004年6月上旬に, *H. serrata* ‘マイコアジサイ’および‘モモイロヤマアジサイ’を種子親に, *H. macrophylla* ‘ミセスクミコ’および‘パリ’を花粉親として交配を行った. 前節と同様に, 9月2日に交雑胚珠の培養を行い, 雑種個体を獲得した. 雑種個体の草丈が1 cm程度になった11月5日に, バーミキュライトを充填した6 cm径ポリポットに鉢上げし, 25℃, 16 時間日長, 照度 3,500 lx (植物育成用蛍光灯) の順化室内で養成した. 草丈が10 cm程度になった2005年2月4日に, pH 調整ピートモス, 田土, 腐葉土およびパーライトを3:3:3:1 (容積比) の割合で混合した用土を充填した9 cm径ポリポットに鉢替えし, 夜間最低気温15℃に加温したガラスハウス内で管理した. 4月30日に暖房を終了し, 6月14日までガラスハウスで栽培を行った. 6月15日に主茎長が20 cm以上の雑種個体を遮光率50%の寒冷紗で2重被覆した設定温度15℃, 晴天時の最高照度約25,000 lxの冷房ハウスに移動し, 8月13日まで60日間の涼温処理を行った. その後, 8月14日~10月2日まで5℃の冷蔵庫で50日間の低温処理を行い, 10月3日出庫して, 混合用土を充填した12 cm径プラスチックポットに鉢替えして, 夜間最低気温13℃に加温したガラスハウスで管理した. 各交配組合せにつき22~31個体を供試し, 11月下旬~12月下旬にかけて開花日を, 12月28日に開花率を前節と同様に調査した. 対照区として‘マイコアジサイ’を種子親, ‘パリ’を花粉親とした交配により得られた25個体の雑種個体を2006年1月末まで無加温のガラスハウス内で管理した. 2月1日に夜間最低気温15℃に加温したガラスハウスに移動し, 4月上旬~中旬にかけて開花日を, 4月20日に開花率を調査した.

2005年12月中旬に, *H. macrophylla* ‘隅田の花火’を種子親, 2004年6月上旬の *H. serrata* ‘マイコアジサイ’ (種子親) と *H. macrophylla* ‘パリ’ (花粉親) との交配で得られた種間雑種個体04MaP1を花粉親として交配を行った. 種子親の‘隅田の花火’は2004年6月2日に挿し木し, 2005年3月下旬に開花した株を3月末に切り戻した後, 2005年6月15日より

15℃, 60 日間の涼温処理を, 8 月 14 日より 5℃, 50 日間の低温処理を行い, 12 月に開花した株を使用した. 交配期間中は, ‘隅田の花火’ および 04MaP1 とともに気温 20℃, 16 時間日長, 照度 3,000 lx (植物育成用蛍光灯) の人工照明室内で管理した. 交配終了後も引き続き人工照明室内で管理し, 交配 30 日後に朔果形成率を調査した. 交配約 60 日後の 2006 年 2 月 13 日に交雑胚珠の培養を行い, 培養開始 30 日後に胚珠発芽率を調査した. 得られた雑種個体は 4 月 14 日に 6 cm 径ポリポットに鉢上げ後, 25℃, 16 時間日長, 照度 3,500 lx (植物育成用蛍光灯) の順化室内で管理を行い, 7 月 5 日に混合用土を充填した 9 cm 径ポリポットに鉢替えし, 無加温のガラスハウスで栽培を行った. 花芽分化の誘導や休眠打破に関しては特別な温度処理をせず, 10 月以降の自然涼温で花芽分化を, 冬の低温下で休眠打破を促した. 2007 年 2 月 1 日に, 混合用土を充填した 12 cm 径プラスチックポットに鉢替え後, 夜間最低気温 15℃で加温を開始した. 4 月中旬～5 月上旬にかけて開花日を, 5 月 10 日に開花率を調査した. 対照区として, 自然開花期の 2005 年 5 月中旬に, ‘隅田の花火’ を種子親, *H. serrata* ‘七変化’ と *H. macrophylla* ‘ラブユーキス’ の種間雑種個体 03NL9 および *H. serrata* ‘七変化’ と *H. macrophylla* ‘ブルーダイヤモンド’ の種間雑種個体 03NB10 を花粉親として交配を実施した. 交配 90 日後に交雑胚珠の培養を行い, 得られた雑種個体は 10 月 24 日に 6 cm 径ポリポットに鉢上げ後順化を行い, 2006 年 1 月 27 日に 9 cm 径ポリポットに鉢替えを行った後, 夜間最低気温 15℃に加温したガラスハウスに移動して栽培管理を行った. 4 月 30 日に暖房を終了した後は, 無加温のガラスハウス内で栽培管理を行い, 2007 年 2 月 1 日に 12 cm 径プラスチックポットに鉢替え後, 夜間最低気温 15℃で加温を開始した. 4 月中旬～5 月中旬にかけて開花日を, 5 月 30 日に開花率を調査した.

2. 結果

H. serrata ‘マイコアジサイ’ と *H. macrophylla* ‘ミセスクミコ’ の雑種個体の開花率は 80%であった (表 3-2). 開花日は最も早い個体が 2005 年 12 月 6 日で, 平均開花日は 12 月 14 日であった. *H. serrata* ‘マイコアジサイ’ と *H. macrophylla* ‘パリ’ の雑種個体の開花率は 82%であった. 開花日は最も早い個体が 2005 年 11 月 29 日で, 平均開花日は 4 組の交配組合せの中で最も早い 12 月 8 日であった. *H. serrata* ‘モモイロヤマアジサイ’ と *H. macrophylla* ‘ミセスクミコ’ の雑種個体の開花率は 77%であった. 開花日は最も早い個体が 2005 年 12 月 10 日で, 平均開花日は 4 組の交配組合せ中最も遅い 12 月 20 日であった. *H. serrata* ‘モモイロヤマアジサイ’ と *H. macrophylla* ‘パリ’ の雑種個体の開花率は 4 組の交配組合せの中で最も高い 96%であった. 開花日は最も早い個体が 2005 年 12 月 7 日で, 平均開花日は 12 月 16 日であった. 供試した 4 組の雑種個体の 77～96%が, 2004 年 6 月上旬の交配から約 1 年半後の 2005 年 12 月 28 日までに開花した. 開花した雑種個体の中には, 腋芽から伸長した側枝にも花序が着生した個体が存在し, 種子親である *H. serrata* の特性を受け継いでいることが確認された (図 3-1).

表 3-2. 開花調節処理が *H. serrata* × *H. macrophylla* から得た雑種個体 (F₁) の開花までの期間に及ぼす影響

交配組合せ		開花調節 の有無	供試 個体数	開花率 ^z (%)	開花開始日 ^y	平均開花日
種子親 <i>H. serrata</i>	花粉親 <i>H. macrophylla</i>					
マイコアジサイ	ミセスクミコ	有	30	80	2005/12/6	2005/12/14 b ^x
マイコアジサイ	パリ	有	22	82	2005/11/29	2005/12/8 a
モモイロヤマアジサイ	ミセスクミコ	有	31	77	2005/12/10	2005/12/20 c
モモイロヤマアジサイ	パリ	有	23	96	2005/12/7	2005/12/16 b
マイコアジサイ	パリ	無 ^w	25	88	2006/4/7	2006/4/13

^z (開花個体数/供試個体数) × 100, 調査は2005年12月28日に実施
開花調節を実施しなかった対照区の調査は2006年4月20日に実施

^y 最も早く開花した個体の開花日, 開花日は各個体の最初に開花した花序の装飾花が完全に着色した日

^x Tukeyの多重比較法により, 異文字間には5%水準で有意差あり

^w 花成誘導および休眠打破のための温度処理は実施せず, 2006年2月1日より夜間最低気温15℃の加温ハウスで栽培



図 3-1. *H. serrata* ‘マイコアジサイ’ × *H. macrophylla* ‘パリ’ から得た種間雑種 04MaP1 (左) および *H. macrophylla* ‘隅田の花火’ × 種間雑種 04MaP1 から得た第2世代 05SMaP1 由来の八重咲き個体 (右)

対照として、花芽分化の誘導や休眠打破に関して特別な温度処理をしなかった区では、‘マイコアジサイ’と‘パリ’の雑種個体の開花率は88%であった（表 3-2）。開花日は最も早い個体が2006年4月7日で、平均開花日は4月13日であった。

H. macrophylla ‘隅田の花火’を種子親とし、*H. serrata* と *H. macrophylla* の種間雑種個体 04MaP1 を花粉親とした交配の朔果形成率は55%で、発達した交雑胚珠は朔果1果あたり平均10個含まれていた（表 3-3）。培養した105個の胚珠のうち78個が発芽し、発芽率は74%であった。胚珠培養後、順調に生育した75個体のうち66個体が2007年4月13日～5月7日にかけて開花し、2005年12月中旬に交配してから約1年半後の2007年5月10日までに全個体の88%が開花した（表 3-4）。

対照として、自然開花期の2005年5月中旬に‘隅田の花火’を種子親、種間雑種個体 03NL9 および 03NB10 を花粉親として交配を実施した区の朔果形成率は、いずれも100%であった（表 3-3）。朔果1果あたりの発達した交雑胚珠数は、平均43および56個であった。胚珠培養により得られた雑種個体は、2007年4月20日～5月16日および4月17日～5月10日に開花し、2005年5月中旬に交配してから2年後の2007年5月30日までに全個体の86および89%の個体が開花した（表 3-4）。

本試験において、*H. serrata* と *H. macrophylla* の交配を2004年6月上旬に行い、2007年4月中旬～5月上旬に交配第2世代が開花した（図 3-2）。以上のことから、胚珠培養と温度処理を組み合わせることにより、交配開始から約3年で第2世代の開花個体を獲得できることが明らかとなった。

第3節 考察

H. macrophylla や *H. serrata* を交配親とした育種では、交配から開花まで2年以上を要するが（藤岡，1996；片山，2005；巢山ら，2008a），得られた雑種個体を交配親に用い、八重咲きなどの劣性の有用形質を獲得していくには、さらに2年以上の長い年月を要する（巢山ら，2008b）。これらのことから、本試験ではアジサイの育成年限短縮法の開発に取り組んだ。

H. macrophylla および *H. serrata* の交配実生は、通常、交配した翌年の秋に花芽を分化するため、アジサイの種間雑種の育成年限短縮法を確立するには、交配した翌年の秋よりも早い時期に花成を誘導する開花調節技術の確立が不可欠である。本試験に供試した *H. macrophylla* と *H. serrata* の雑種個体は、胚珠培養後順化室および加温したガラスハウス内で順調な生育を示した。交配してから約1年経過した6月頃には、茎葉が充実し花成誘導が可能な状態に達していると考えられた。そこで、茎葉が充実した雑種個体を、交配翌年の6月および自然条件下で花芽分化の始まる10月に人工照明室に搬入し、花成誘導のための涼温処理を実施した。本試験の涼温処理の温度は、自然条件下で *H. macrophylla* の花芽

表 3-3. *H. serrata* × *H. macrophylla* から得た雑種個体 (F₁) を用いた冬季の交配における朔果形成および胚珠発芽

交配組合せ		交配親の 開花調節	交配時期	交配花数	朔果 形成率 ^y (%)	1 朔果中 の胚珠数 ^x	胚珠培養	
種子親	花粉親 ^z						培養数	発芽率 ^w (%)
<i>H. macrophylla</i>	<i>H. serrata</i> × <i>H. macrophylla</i>							
隅田の花火	04MaP1	有	2005年12月中旬	20	55	10±1	105	74
隅田の花火	03NL9	無	2005年5月中旬	46	100	43±4	100	72
隅田の花火	03NB10	無	2005年5月中旬	46	100	56±5	100	78

^z 04MaP1: ‘マイコアジサイ’ と ‘パリ’ の雑種個体

03NL9: ‘七変化’ と ‘ラブユーキッス’ の雑種個体

03NB10: ‘七変化’ と ‘ブルーダイヤモンド’ の雑種個体

^y 交配30日後に調査, (朔果形成花数/交配花数) × 100

^x 平均値±標準誤差

^w 培養開始30日後に調査, (発芽胚珠数/培養胚珠数) × 100

表 3-4. *H. serrata* × *H. macrophylla* から得た雑種個体 (F₁) を用いた冬季の交配により得られた交配第 2 世代の開花率

交配組合せ		交配親の 開花調節	交配時期	開花時期 ^z	獲得個体数	開花率 ^y (%)
種子親	花粉親					
<i>H. macrophylla</i>	<i>H. serrata</i> × <i>H. macrophylla</i>					
隅田の花火	04MaP1	有	2005年12月中旬	2007/4/13~5/7	75	88
隅田の花火	03NL9	無	2005年5月中旬	2007/4/20~5/16	78	86
隅田の花火	03NB10	無	2005年5月中旬	2007/4/17~5/10	81	89

^z 各個体の最初に開花した花序の装飾花が完全に着色した日を開花日とした

^y 調査は2007年5月10日に実施, 2005年5月中旬に交配を実施した区では2007年5月30日に調査を実施,
(開花個体数/獲得個体数) × 100

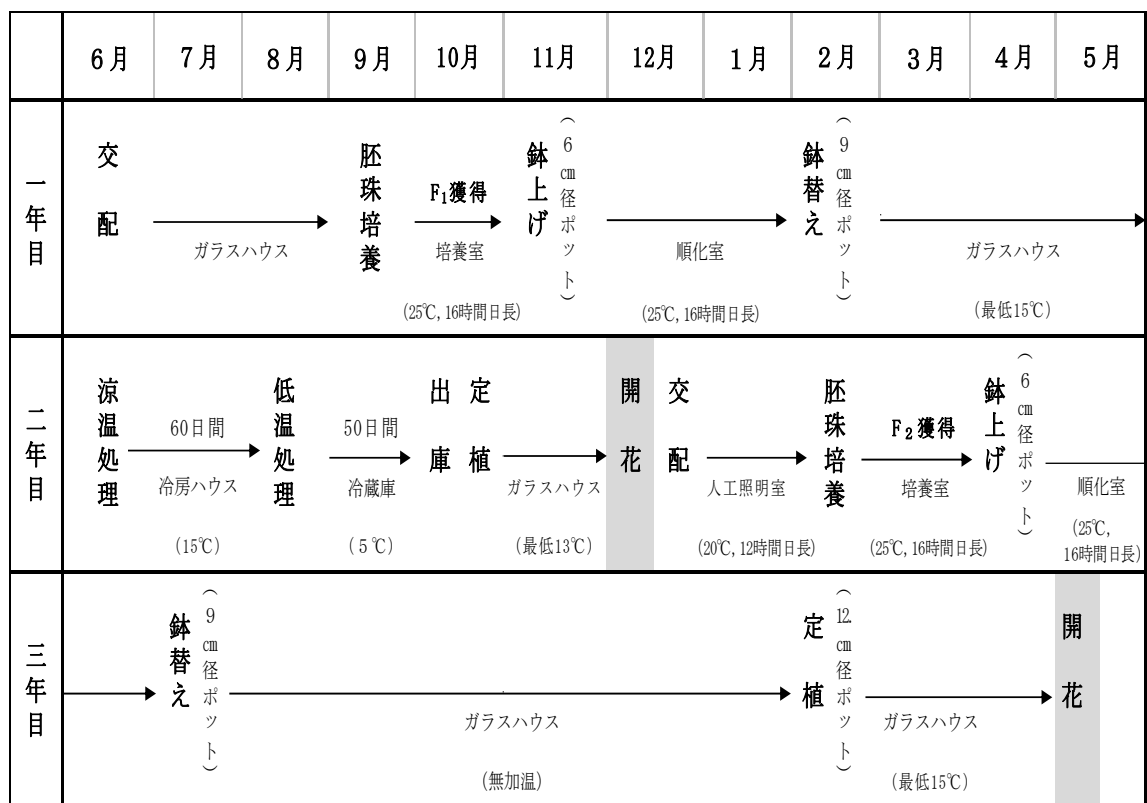


図 3-2. *H. serrata* と *H. macrophylla* の交配から交配第 2 世代の開花に至るまでの期間を短縮する行程（開花年限短縮フロー）

分化が始まる時期の気温約 18℃ (Post, 1942) と *H. macrophylla* の挿し木株への花成誘導処理温度 12.8℃ (Shanks・Link, 1951) のほぼ中間の 15℃とした。処理期間は、*H. macrophylla* の花芽分化を誘導するのに必要な処理期間が約 2 か月であることを明らかにした小杉・荒井 (1960) の報告に基づき、本試験での涼温処理期間を 60 日間とした。また、処理期間中の日長に関しては、9 時間日長と 16 時間日長とで花成誘導の效果に差は認められないことを示した Shanks・Link (1951) の報告に基づき、9 時間日長と 16 時間日長のほぼ中間の 12 時間日長とした。その結果、*H. serrata* ‘七変化’ と *H. macrophylla* ‘ブルーダイヤモンド’ および *H. serrata* ‘七変化’ と *H. macrophylla* ‘ラブユーキス’ の 2 組の交配組合せの雑種個体のいずれも、涼温処理開始時期に関わらず、対照区と同等の高い開花率を示した。従って、本試験で実施した涼温処理の温度および期間は、*H. serrata* と *H. macrophylla* の雑種個体の花成誘導に有効であることが明らかとなった。

涼温処理中の光源は、第 1 節では植物育成用蛍光灯であった。一方、Shanks・Link (1951) は *H. macrophylla* の人為的花成誘導が自然光下でも可能であると報告している。そのため、第 2 節では交配から約 1 年経過した雑種個体に、6 月中旬より設定温度 15℃、遮光率 75% の自然光型冷房ハウスで涼温処理を行った。その結果、4 組の交配組合せの雑種個体のいずれも高い開花率を示した。これらのことから、涼温処理の光源は人工光、自然光のいずれでも良く、花成誘導に有効な光量の適正範囲はかなり広いと考えられる。また第 2 節で涼温処理を開始した 6 月中旬は、一年で最も日長の長い時期であるが、4 組の交配組合せの雑種個体はいずれも高い開花率を示した。この長日条件下で花成誘導が十分に可能であるという結果は、*H. macrophylla* の花芽分化が適温下では日長の影響をほとんど受けない (森田ら, 1978 ; Piringer・Stuart, 1958) という知見と一致する。

H. macrophylla の促成栽培を行う際、生産現場では休眠打破のために、5℃、6～7 週間の低温処理を実施している (清水, 2002b)。一方、*H. serrata* の低温要求量に関する詳細な文献は存在しないが、生産現場では *H. macrophylla* に準じた温度管理が行われている。これらのことから本試験では、花成を誘導した後の休眠打破のために、5℃、50 日間の低温処理を雑種個体に実施した。供試した 4 組の交配組合せから得られた 77%以上の雑種個体が処理終了後から約 3 か月以内に開花したことから、本試験で実施した低温処理の温度および期間は、*H. serrata* と *H. macrophylla* の雑種個体の休眠打破に有効であることが示された。

開花調節を目的として、涼温および低温処理を行った 4 組の交配組合せの雑種個体は、開花期については、種子親の *H. serrata* および花粉親の *H. macrophylla* の品種間で差が認められ、*H. serrata* では‘マイコアジサイ’を *H. macrophylla* では‘パリ’を交配親に持つ雑種個体の開花期が早かったものの、いずれの雑種個体も 77～96%の高い開花率を示した。このことから、本試験で実施した 15℃、60 日間の涼温処理および 5℃、50 日間の低温処理を組合せた開花調節法は、*H. serrata* と *H. macrophylla* を交配母本とする育種において、雑種個体の開花促進に有効であることが明らかになった。

H. macrophylla の交配は、通常自然開花期である 5～6 月に行うが、第 2 節では交配第 2 世代の早期開花を図るため、12 月中旬に開花した種間雑種 04MaP1 を花粉親、*H. macrophylla* ‘隅田の花火’ を種子親として交配を実施した。朔果形成率は 55% で、朔果 1 果あたりに含まれる発達した交雑胚珠数は平均 10 個であった。一方、自然開花期の 5 月中旬に ‘隅田の花火’ を種子親、種間雑種 03NL9 および 03NB10 を花粉親とした交配の朔果形成率は 100% で、朔果 1 果あたりの交雑胚珠数は平均 43 および 56 個であった。自然開花期の交配と比較して、冬季の交配では朔果形成率の大幅な低下および朔果 1 果あたりの胚珠数の大きな減少という問題点が認められた。しかし、12 月中旬の交配から約 2 か月後の交雑胚珠の培養により獲得した雑種個体は、交配から約 1 年半後の 4 月中旬～5 月上旬に開花した。開花率は 88% で、自然開花期に ‘隅田の花火’ と他の種間雑種を交配した場合と同等であった。これらのことから、冬季であっても、気温 20℃、照度 3,000 lx 程度の環境下であれば交配が可能で、雑種個体を獲得できることが明らかになった。但し、冬季の交配における朔果形成率の向上および 1 朔果中の胚珠数の増加を図るため、今後最適な環境条件について検討が必要である。

本試験において、(1) *H. serrata* と *H. macrophylla* の交配から 2～3 か月後に胚珠培養を行い、(2) 得られた雑種個体を順化室および加温したハウス内で生育させ、(3) 交配翌年の 6 月より 15℃、60 日間の涼温処理および 5℃、50 日間の低温処理を行い、(4) 加温したハウス内で栽培することにより、雑種個体は交配してから約 1 年半後に開花した(図 3-2)。これは、*H. macrophylla* の一般的な育種期間である 2 年より約 6 か月短い。この開花年限短縮法により、(5) 12 月に開花した雑種個体を交配に用い、(6) 交配 2 か月後に胚珠培養により雑種個体を獲得し、(7) 培養室および順化室内で生育させ、(8) 7 月以降ハウス内で、花成誘導および休眠打破のための特別な温度処理を行わずに管理し、(9) 翌年の 2 月以降加温したハウス内で管理することにより、12 月の交配から約 1 年半で雑種個体は開花した。このように、(1) ～ (9) の手順で育種を行えば、*H. serrata* と *H. macrophylla* の交配から約 3 年で交配第 2 世代の開花個体が獲得されることが本試験により明らかとなった。

本試験で行った育成年限短縮法では、交配第 2 世代の開花までに要する期間は 3 年であり、一般的な育種法における交配第 2 世代の開花までに要する期間の 4 年よりも 1 年短くなった。この育成年限短縮法は、雑種第 1 代では発現しない劣性の優良形質を有する品種の迅速な育成を可能とする有用な技術であると考えられる。

第 4 節 摘要

H. serrata と *H. macrophylla* の種間雑種の早期育成を図るため、胚珠培養および開花調節による育成年限短縮について検討した。

H. serrata ‘七変化’ を種子親、*H. macrophylla* ‘ブルーダイヤモンド’ および ‘ラブユー

キッス’を花粉親とした2組の交配組合せにより得られた雑種個体を供試した。これらの雑種個体に早期に花成誘導を図るため、交配から約1年後の6月より、人工照明室(15℃, 16時間日長, 照度3,000 lx)内で60日間の涼温処理を実施した。次に、5℃, 50日間の低温処理を行い休眠を打破した後、加温したハウス内で栽培したところ、雑種個体は交配から約1年半後に開花した。2組の交配組合せの雑種個体の開花率はいずれも87%で、自然条件下で花芽分化および休眠打破した個体と同等の開花率であった。

H. serrata ‘マイコアジサイ’および‘モモイロヤマアジサイ’を種子親, *H. macrophylla* ‘パリ’および‘ミセスクミコ’を花粉親とした4組の交配組合せの種間交配を6月に行った。交配から約3か月後の交雑胚珠の培養により得られた雑種個体を交配翌年の6月より自然光(75%遮光)下で、15℃, 60日間の涼温処理を行い花成を誘導した。次に5℃, 50日間の低温処理を行い休眠を打破した後、加温したハウス内で栽培した。雑種個体は交配から約1年半後の12月に開花し、4組の交配組合せにより得られた雑種個体の開花率は77~96%であった。この12月に開花した‘マイコアジサイ’と‘パリ’の雑種個体 04MaP1 を花粉親, *H. macrophylla* ‘隅田の花火’を種子親とした交配を行い、交配60日後に交雑胚珠の培養を行った。得られた雑種個体を25℃, 16時間日長の培養室および順化室内で生育させ、7月より無加温のガラスハウスで栽培し、自然条件下で花成誘導および休眠打破した。翌年2月より夜間最低夜温15℃で加温したところ、雑種個体は12月の交配から約1年半後の4~5月に開花した。本試験により、*H. serrata* と *H. macrophylla* の交配から約3年で交配第2世代の開花個体を獲得することが可能であることが明らかとなった。

第4章 アジサイ装飾花の八重咲きの遺伝様式

H. macrophylla, *H. serrata* をはじめとするアジサイ属の多くの種が、装飾花および両性花から構成される花序を有している。Uemachi ら (2006) は、*H. macrophylla* の装飾花と両性花では、がく片の形、花の器官の数、花序の軸上での着生位置、小花柄の形態が異なると報告している。*H. macrophylla* の装飾花のがく片は大きく、色は白、青、紫、ピンク、赤色などであるが、花卉は小さい。*H. macrophylla* の八重咲きと一重咲きの区別は、装飾花のがく片の枚数によりなされ、一重咲き品種のがく片の数は通常 4 枚であるため (Uemachi ら, 2004), 8 枚以上のがく片を持つ装飾花を八重咲きと定義した。

現在、流通しているアジサイ八重咲き品種の大半が *H. macrophylla* ‘城ヶ崎’ および ‘隅田の花火’ に由来しているが (坂本, 2003; 谷田部, 2009), 八重咲き品種の大半が雄蕊を持たないため、新たに八重咲き品種を育成するには、八重咲き品種と一重咲き品種の交配を行う必要がある。アジサイでは F_1 世代が開花するまでに 1 年半以上を要するため (巢山ら, 2010), 八重咲き品種を効率的に作出するためには、八重咲きの遺伝様式に基づいた育種を行うことが非常に重要である。

花卉の八重咲きの遺伝様式について、トルコギキョウでは単一の遺伝子に制御された優性形質であることが明らかにされている (間藤ら, 2004)。ゼラニウムの八重咲きについては、1 対の優性遺伝子が関与し、その他に M1~M3 の 3 対の変異遺伝子が花卉数に影響を及ぼすと報告されている (Nugent・Snyder, 1967)。また、アジサイ科の花木であるバイカウツギでは、八重が劣性で、その発現は不規則であると報告されている (Sampson, 1965)。しかし、アジサイ装飾花の八重咲きの遺伝様式については報告事例がない。従って、アジサイの八重咲きの遺伝様式の解明は、アジサイ育種における有用な情報になるだけでなく、八重咲き発現の分子メカニズム解明に寄与すると考えられる。

本試験では、八重咲きの *H. macrophylla* を種子親、一重咲きの *H. macrophylla*, *H. serrata* もしくは両種の種間雑種系統を花粉親とした交配、および八重咲き品種を親に持つ一重咲き系統間の交配を行い、八重咲きの遺伝様式を調査した。

第1節 八重咲き品種と一重咲き品種・系統との交雑後代における八重と一重の分離

1. 材料および方法

種子親として、八重咲き品種の *H. macrophylla* ‘隅田の花火’, ‘城ヶ崎’, および ‘城ヶ崎’ 由来の交配品種である ‘ポージブーク グレイス’ を供試した。一方、花粉親として、一重咲き品種・系統の *H. macrophylla* ‘パリ’, ‘ブルーダイヤモンド’, ‘未来’, *H. serrata* ‘キヨスミサワ’, および ‘ブルーダイヤモンド’ と *H. serrata* ‘七変化’ の正逆交配により得られた種間雑種系統 03BN4 および 03NB10, ‘七変化’ と *H. macrophylla* ‘ラブユーキス’

の種間雑種系統 03NL9 を供試した（図 4-1）。

2003年5月に，‘城ヶ崎’を種子親，‘パリ’，ブルーダイヤモンド’ および ‘キヨスミサワ’ を花粉親とした交配を行った。2005年5月に，‘城ヶ崎’を種子親，03BN4を花粉親とした交配および ‘隅田の花火’ を種子親，03NB10，03NL9を花粉親とした交配を行った。また，2006年5月に，‘ポージブーケ グレイス’ を種子親，‘未来’ を花粉親とした交配を行った。

交配に供試した両性花が花粉親以外の品種と交雑するのを防ぐために，花序全体を不織布で二重被覆した。交配を行った年の11月末に朔果を収穫し，朔果内の完全種子をpH未調整ピートモス，赤玉土，腐葉土およびパーライトを5:3:1:1（容積比）の割合で混合した用土を充填した12 cm径のプラスチックポットに播種した。発芽した交雑実生の草丈が2 cm程度になった頃，上記の用土もしくはpH調整ピートモス，田土，腐葉土およびパーライトを3:3:3:1（容積比）の割合で混合した用土を充填した6 cm径ポリポットに移植し，ガラスハウス内で管理した。交雑実生の草丈が10 cm程度になった頃，上記の2種類のいずれかの用土を充填した9 cm径ポリポットに移植した。交配してから約2年後の春に，開花個体の装飾花の八重と一重咲きの調査を行った。

2. 結果

‘ポージブーケ グレイス’ を種子親，‘未来’ を花粉親とした交配により得られた46個体はすべて一重咲きであった（表4-1）。‘城ヶ崎’ を種子親，‘パリ’，‘ブルーダイヤモンド’，‘キヨスミサワ’ および種間雑種03BN4を花粉親とした交配により得られた237個体の装飾花も，すべて一重咲きであった。また，‘隅田の花火’ を種子親，種間雑種03NB10 および03NL9を花粉親とした交配により得られた139個体の装飾花もすべて一重咲きであった。

第2節 八重咲き品種に八重咲き品種を種子親に持つ一重咲き系統を交配して得られた後代における八重と一重の分離

1. 材料および方法

種子親として，八重咲き品種の ‘隅田の花火’，および ‘城ヶ崎’ に由来する八重咲きの3品種 *H. macrophylla* ‘ポージブーケ グレイス’，‘ポージブーケ スージィ’ および ‘ポージブーケ ケーシィ’ の計4品種を供試した（図 4-1）。一方，花粉親として，八重咲き品種を種子親に持つ一重咲き系統の 03JP1 （‘城ヶ崎’ と ‘パリ’ の交雑系統），05JBN4 （‘城ヶ崎’ と種間雑種 03BN4 の交雑系統）および 05SNL9 （‘隅田の花火’ と種間雑種 03NL9 の交雑系統）を供試した。

2006年5月に，‘ポージブーケ グレイス’，‘ポージブーケ スージィ’ を種子親，03JP1を花

花序の写真				
品種名	城ヶ崎	ボージブーケ グレイス	ボージブーケ スージィ	ボージブーケ ケーシィ
種名	<i>H. macrophylla</i>	<i>H. macrophylla</i>	<i>H. macrophylla</i>	<i>H. macrophylla</i>
装飾花の形	八重	八重	八重	八重
起源	静岡県伊豆半島自生	城ヶ崎由来の交配品種	城ヶ崎由来の交配品種	城ヶ崎由来の交配品種
花序の写真				
品種名	隅田の花火	パリ	ブルーダイヤモンド	未来
種名	<i>H. macrophylla</i>	<i>H. macrophylla</i>	<i>H. macrophylla</i>	<i>H. macrophylla</i>
装飾花の形	八重	一重	一重	一重
起源	不明	不明	アドリア × クリスタル (一重) (一重)	ピンクフレッシュ (一重) 由来の交配品種
花序の写真				
品種・系統名	キヨスミサワ	03BN4	03NB10	03NL9
種名等	<i>H. serrata</i>	種間雑種	種間雑種	種間雑種
装飾花の形	一重	一重	一重	一重
起源	千葉県房総半島自生	ブルーダイヤモンド × 七変化 (一重) (一重)	七変化 × ブルーダイヤモンド (一重) (一重)	七変化 × ラブユーキッス (一重) (一重)
花序の写真				
系統名	04MaP1	03JP1	05JBN4	05SNL9
種名等	種間雑種	<i>H. macrophylla</i>	雑種	雑種
装飾花の形	一重	一重	一重	一重
起源	マイコアジサイ × パリ (一重) (一重)	城ヶ崎 × パリ (八重) (一重)	城ヶ崎 × 03BN4 (八重) (一重)	隅田の花火 × 03NL9 (八重) (一重)
花序の写真				
系統名	05SMaP1	05SNB10		
種名等	雑種	雑種		
装飾花の形	一重	一重		
起源	隅田の花火 × 04MaP1 (八重) (一重)	隅田の花火 × 03NB10 (八重) (一重)		

図 4-1. 装飾花の八重咲きの遺伝様式調査に用いた品種および系統のリスト

表 4-1. 八重咲き品種と一重咲き品種・系統との交配により得られた雑種個体における
装飾花の八重と一重の分離

交配親		個体数	八重咲き 個体数	一重咲き 個体数
♀ 八重咲き品種 (由来)	♂ 一重咲き品種 (由来)			
ポージブーケ グレイス (城ヶ崎由来の交配品種)	未来	46	0	46
城ヶ崎	バリ	50	0	50
城ヶ崎	ブルーダイヤモンド	76	0	76
城ヶ崎	キヨスミサワ	50	0	50
城ヶ崎	03BN4 (ブルーダイヤモンド × 七変化)	61	0	61
隅田の花火	03NB10 (七変化 × ブルーダイヤモンド)	72	0	72
隅田の花火	03NL9 (七変化 × ラブユーキッス)	67	0	67

粉親として交配を行ない、2007年5月に、‘ポーギブーケ ケーシィ’と05JBN4、‘隅田の花火’と03JP1の交配を行った。

交配に供試した花は、花粉親以外の品種との交雑を防ぐために、花序全体を不織布で二重被覆した。2006年の交配については、同年の11月に朔果を採取した。得られた種子は、第1節と同様に播種および管理を行った。2007年の交配については、交配から約3か月後の2007年8月に、巢山ら（2008a）の手法に準じ胚珠培養を行い、得られた雑種個体を順化室内（25℃、16時間日長、3500 lx）で管理した。雑種個体の草丈が10 cm程度に達した頃、9 cm径ポリポットに鉢替えを行った。その後は、2006年の交配で得られた雑種個体と同様に、ガラスハウス内で管理を行い、交配して約2年後の春に、装飾花の八重と一重咲きの調査を行った。

2. 結果

‘ポーギブーケ グレイス’を種子親、03JP1を花粉親とした交配により得られた57個体のうち27個体が八重咲きで、八重咲き個体の割合は47%であった（表4-2）。装飾花の八重と一重の区別は容易であった。装飾花1花あたりのがく片の平均枚数は、八重咲き個体が14.1枚、一重咲き個体が4.3枚であった。八重咲き個体の装飾花では、雄蕊と花弁が消失した一方で、がく片の数が増加した（図4-2）。‘ポーギブーケ スーヅィ’を種子親、03JP1を花粉親とした交配では、58個体のうち32個体が八重咲きで、八重咲き個体の割合は55%であった。装飾花1花あたりのがく片の枚数は、八重咲き個体が13.3枚、一重咲き個体が4.2枚であった。‘ポーギブーケ ケーシィ’を種子親、05JBN4を花粉親とした交配では、102個体のうち55個体が八重咲きで、八重咲き個体の割合は54%であった。装飾花1花あたりのがく片の枚数は、八重咲き個体が13.7枚、一重咲き個体が4.7枚であった。これらの3組の交配組合せにより得られた個体の八重と一重の分離比は、カイ二乗検定において1因子の期待値1:1に適合していた。一方、‘隅田の花火’と03JP1の交配により得られた61個体は、すべて一重咲きであった。

第3節 八重咲き品種を種子親に持つ一重咲き系統間の交雑後代における八重と一重の分離

1. 材料および方法

八重咲き品種を種子親に持つ一重咲き系統として05SNL9、05JBN4、‘隅田の花火’と一重咲きの種間雑種04MaP1（*H. serrata* ‘マイコアジサイ’ × *H. macrophylla* ‘パリ’）の交雑系統05SMaP1、‘隅田の花火’と03NB10の交雑系統05SNB10を供試した（図4-1）。共通の種子親を持つ系統間の交配として2007年5月に05SNL9と05SMaP1の交配、および05JBN4の自殖を行った。一方、異なる種子親を持つ系統間の交配として、2007年5月に05SNB10お

表 4-2. 八重咲き品種に八重咲き品種を種子親に持つ一重咲き系統を交配して得られた雑種個体における装飾花の八重と一重の分離

交配親		個体数	八重咲き 個体数	一重咲き 個体数	八重咲き 個体の割合 (%) ^z	カイ二乗値 ^y	装飾花の がく片数 ^x	
♀ 八重咲き品種 (由来)	♂ 一重咲き系統 (由来)						八重咲き	一重咲き
ポージブーケ グレイス (城ヶ崎由来の交配品種)	03JP1 (城ヶ崎 × パリ)	57	27	30	47	0.16 (<i>P</i> =0.69)	14.1±0.5 ^w	4.3±0.1
ポージブーケ スーヅィ (城ヶ崎由来の交配品種)	03JP1 (城ヶ崎 × パリ)	58	32	26	55	0.62 (<i>P</i> =0.43)	13.3±0.4	4.2±0.1
ポージブーケ ケーシィ (城ヶ崎由来の交配品種)	05JBN4 (城ヶ崎 × 03BN4)	102	55	47	54	0.63 (<i>P</i> =0.43)	13.7±0.3	4.7±0.1
隅田の花火	03JP1 (城ヶ崎 × パリ)	61	0	61	0	—	—	4.5±0.1

^z 八重咲き個体数／個体数×100

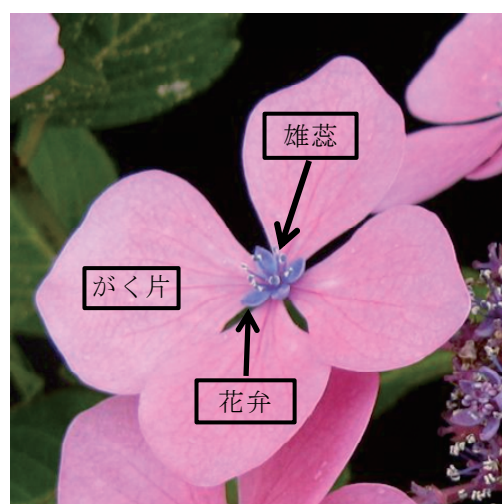
^y カイ二乗検定（期待値1:1）を実施

^x 各個体において、がく片数が最も多い装飾花のがく片の数を調査

^w 標準誤差



八重咲き品種 ‘筑紫の舞’
(‘ポージブーケ グレイス’ × 03JP1)



一重咲き系統 03JP1

図 4-2. 八重咲き品種 ‘筑紫の舞’ と一重咲き系統 03JP1 の装飾花

よび05JBN4の正逆交配を行った。胚珠培養および雑種個体の栽培および調査は、第2節と同様に実施した。

2. 結果

05SNL9 と 05SMaP1 の交配により得られた 172 個体のうち 46 個体が八重咲きで、八重咲き個体の割合は 27%であった (表 4-3)。装飾花 1 花あたりのがく片の枚数は、八重咲き個体が 12.2 枚、一重咲き個体が 4.4 枚であった。05JBN4 の自殖では、38 個体のうち 9 個体が八重咲きで、八重咲き個体の割合は 24%であった。装飾花 1 花あたりのがく片の枚数は、八重咲き個体が 11.7 枚、一重咲き個体が 4.9 枚であった。これらの 2 組の交配組合せにより得られた個体の八重と一重の分離比は、カイ二乗検定において 1 因子の期待値 1:3 に適合していた。一方、05SNB10 と 05JBN4 の正逆交配で得られた 176 個体のうち、05SNB10 を種子親とした交配の 1 個体のみが八重咲きで、残りのすべての個体は一重咲きであった。

第4節 考察

八重咲き品種を種子親にして、一重咲き品種もしくは一重咲き品種間の交配により得られた一重咲き系統を花粉親として交配を行って得られた雑種個体の八重および一重の分離を調査した結果、7 組の交配組合せすべてで、一重咲きのみ発現していた。従って、アジサイ装飾花では一重咲きが優性であると考えられた。

八重咲き品種と八重咲き品種を種子親に持つ一重咲き系統の交配、すなわち、八重咲き品種 ‘ポージブーケ グレイス’ および ‘ポージブーケ スージィ’ を種子親、一重咲き系統 03JP1 を花粉親とした交配組合せ、および ‘ポージブーケ ケーシィ’ を種子親、一重咲き系統 05JBN4 を花粉親とした計 3 組の交配組合せで、八重咲き個体を得られた。これらの交配組合せにおける八重と一重の分離比は 1:1 で、八重咲き性が劣性の単一遺伝子により制御されていると仮定した場合の期待値 1:1 に適合していた。以上の結果から、装飾花の八重咲き性は劣性の単一遺伝子によって制御されていると考えられた。この仮説に基づくと、八重咲き 3 品種 (‘ポージブーケ グレイス’, ‘ポージブーケ スージィ’, ‘ポージブーケ ケーシィ’) の遺伝子型はすべて劣性ホモの“ss”で、一重咲き系統 (03JP1, 05JBN4) の遺伝子型はヘテロの“Ss”と想定された。

しかし、‘隅田の花火’と一重咲き系統 03JP1 の交配により得られた個体は、すべて一重咲きであった。この結果は、装飾花の八重咲き性が劣性の単一遺伝子により制御されているという仮説と矛盾する。八重咲き個体を得られた交配組合せにおいて、種子親として用いた八重咲き品種 ‘ポージブーケ グレイス’, ‘ポージブーケ スージィ’ および ‘ポージブーケ ケーシィ’ の 3 種は、いずれも ‘城ヶ崎’ 由来の交配品種である (坂本, 2003)。また、これらの組合せにおいて、花粉親として用いた一重咲き系統 03JP1 および 05JBN4 の

表 4-3. 八重咲き品種に一重咲き系統を交配して得られた一重咲き系統間の交配により得られた雑種個体における装飾花の八重と一重の分離

交配親		個体数	八重咲き 個体数	一重咲き 個体数	八重咲き 個体の割合 (%) ^z	カイ二乗値 ^y	装飾花の がく片数 ^x	
♀	♂						八重咲き	一重咲き
一重咲き系統 (由来)	一重咲き系統 (由来)							
05SNL9 (隅田の花火 × 03NL9)	05SMaP1 (隅田の花火 × 04MaP1)	172	46	126	27	0.28 (<i>P</i> =0.60)	12.2±2.4 ^w	4.4±0.1
05JBN4 (城ヶ崎 × 03BN4)	05JBN4 (城ヶ崎 × 03BN4)	38	9	29	24	0.04 (<i>P</i> =0.85)	11.7±0.9	4.9±0.1
05SNB10 (隅田の花火 × 03NB10)	05JBN4 (城ヶ崎 × 03BN4)	83	1	82	1	—	8.0	4.4±0.1
05JBN4 (城ヶ崎 × 03BN4)	05SNB10 (隅田の花火 × 03NB10)	93	0	93	0	—	—	4.6±0.1

^z 八重咲き個体数／個体数×100

^y カイ二乗検定（期待値1:3）を実施

^x 各個体において、がく片数が最も多い装飾花のがく片の数を調査

^w 標準誤差

種子親も‘城ヶ崎’である。一方、八重咲き個体が得られなかった‘隅田の花火’と 03JP1 の交配組合せにおいて、花粉親として用いた 03JP1 の種子親は‘隅田の花火’ではなく‘城ヶ崎’であったことから、八重咲き個体を得られる交配組合せは、種子親と花粉親の先祖にあたる八重咲き品種がどちらも‘城ヶ崎’の場合のみであると考えられた。

これらのことから、八重咲き品種‘城ヶ崎’の遺伝子型を“ s_1s_1 ”と仮定すると、‘隅田の花火’の遺伝子型は“ s_2s_2 ”となる。八重咲き品種‘ボーヂブーケ グレイス’、‘ボーヂブーケ スーヅィ’および‘ボーヂブーケ ケーシィ’の先祖は‘城ヶ崎’であるので、これら 3 品種の遺伝子型は“ s_1s_1 ”である。一重咲き系統 03JP1 および 05JBN4 の種子親は‘城ヶ崎’であるので、これらの一重咲き系統の遺伝子型は“ Ss_1 ”である。従って、これらの八重咲き品種と一重咲き系統の交配により得られる個体の遺伝子型は、“ Ss_1 ”と“ s_1s_1 ”の 2 つである。これら 2 つの遺伝子型の分離比は約 1:1 であり、遺伝子型“ s_1s_1 ”の個体が八重咲きである（図 4-3）。

一方、遺伝子型が“ s_2s_2 ”である‘隅田の花火’と遺伝子型が“ Ss_1 ”である 03JP1 の交配により得られる個体の遺伝子型は、“ Ss_2 ”と“ s_1s_2 ”の 2 つであり、分離比は 1:1 である。遺伝子型が“ s_1s_2 ”の個体は八重咲きではない。八重咲き個体は、1 対の劣性遺伝子が“ s_1s_1 ”および“ s_2s_2 ”などホモである場合にのみ得られると考えられる。一方、1 対の劣性遺伝子が“ s_1s_2 ”などヘテロである場合は、八重咲き個体は得られないと考えられる。05SNL9 と 05SMaP1 の交配および 05JBN4 の自家授粉では、八重咲き個体を得られた。これらの交配における八重と一重咲き個体の分離比は、期待値 1:3 に適合していた。これらの結果は、八重咲きの発現に関する上記の新たな仮説を支持している。

05SNL9 と 05SMaP1 の交配において、種子親とした 05SNL9 は八重咲き品種‘隅田の花火’と一重咲き系統 03NL9 の交配により得られた系統であるので、遺伝子型は“ Ss_2 ”である。花粉親とした 05SMaP1 に関しても、八重咲き品種‘隅田の花火’と一重咲き系統 04MaP1 の交配により得られた系統であるので、遺伝子型は“ Ss_2 ”である。これら両系統の交配により得られる個体の遺伝子型は、“ SS ”、“ Ss_2 ”および“ s_2s_2 ”である。これらの遺伝子型の分離比は 1:2:1 で、八重咲き個体の割合は全体の 1/4 となる。自家授粉を行った 05JBN4 は、八重咲き品種‘城ヶ崎’と一重咲き系統 03BN4 の交雑系統であるので、遺伝子型は“ Ss_1 ”である。この 05JBN4 の自家授粉により得られる個体の遺伝子型は、“ SS ”、“ Ss_1 ”および“ s_1s_1 ”である。これらの遺伝子型の分離比も 1:2:1 で、八重咲き個体の割合は全体の 1/4 となる。実際に、この 2 組の交配により得られた個体の八重と一重の分離比は、期待値と適合していた。正逆交配に供試した 05SNB10 と 05JBN4 の遺伝子型は、上記の仮説に基づくそれぞれ“ Ss_2 ”、“ Ss_1 ”である。従って、両系統の交配により得られる個体の遺伝子型は、“ SS ”、“ Ss_1 ”、“ Ss_2 ”および“ s_1s_2 ”である。これらの遺伝子型の分離比は 1:1:1:1 であり、いずれの遺伝子型を持つ個体もすべて一重咲きである。実際に、正逆交配により得られた個体は、176 個体中 1 個体を除きすべて一重咲きであったが、理論

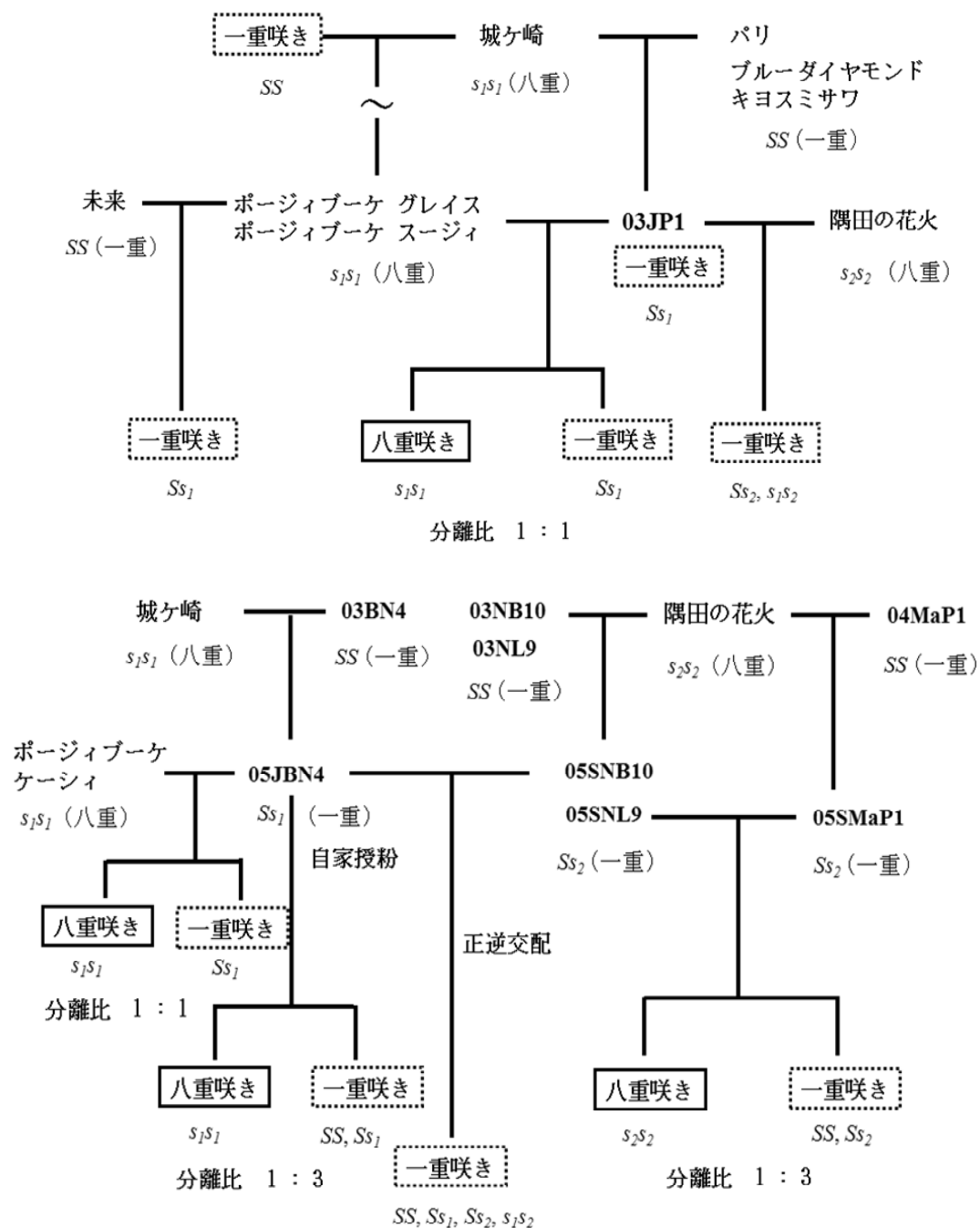


図 4-3. 八重咲き品種と一重咲き品種・系統の交雑個体および八重咲き品種を種子親に持つ一重咲き系統間の交雑個体における装飾花の八重と一重咲きの分離および遺伝子型の推定

上両系統の交配では、八重咲き個体は出現しない。従って、得られた八重咲き個体が本当に交雑個体であるかどうかの確認を DNA マーカー分析等により行う必要がある。

カーネーション、トルコギキョウを始め多くの観賞植物において、八重咲きを制御している遺伝子および八重と一重の分離比は、同一の種内では同じである（間藤ら、2004；Saunders, 1917）。しかし、ストックでは同一種内の系統間で、花形の分離比が異なることが報告されている（Frost, 1915）。ストックのある 1 つの系統では一重咲きが単一の遺伝子に制御された優性形質であるため、遺伝子型がヘテロの一重咲き個体の自殖を行うと、八重と一重が 1:3 の分離比で出現する。一方、エバースポーティング系統では、遺伝子型がヘテロの一重咲き個体の自殖を行うと、八重と一重が 1:1 の分離比で出現する。このエバースポーティング系統における八重と一重の分離比の発生要因として、一重咲きの優性遺伝子への致死遺伝子の連鎖が考えられている（Waddington, 1929）。しかし、アジサイでは同一の八重咲き品種を親に持つ一重咲き系統間の交配により得られる八重咲き個体の割合は一定であるため、致死遺伝子は存在しないと考えられる。

アジサイの花序の形の遺伝様式については、Uemachi・Okumura（2012）は額咲きが手まり咲きに対して優性で、1 対の遺伝子により制御されていると報告している。また、額咲き品種 *H. macrophylla* ‘ブルースカイ’ の枝変わりにより生じた手まり咲き系統において、花序の形を制御する遺伝子座にレトロトランスポゾンの挿入が起きている事を明らかにしている。従って、装飾花の形を制御する遺伝子座に、レトロトランスポゾンの挿入やポイントミューテーションが起こることにより、一重咲きから八重咲きに変化した可能性が考えられる。

本試験は、*H. macrophylla* ‘城ヶ崎’ や ‘隅田の花火’ に由来する八重咲き品種および一重咲き系統における装飾花の八重咲きの遺伝様式を明らかにした。この知見はアジサイ育種の効率化や、装飾花の形を決定する分子メカニズムの解明に寄与すると考えられる。今後、*H. macrophylla* の他の八重咲き品種や *H. serrata* を含むアジサイ属の他の種における八重咲きの遺伝様式の解明ならびに装飾花の形を制御する遺伝子の同定が期待される。

第5節 摘要

H. macrophylla（ハイドラングア）や *H. serrata*（ヤマアジサイ）などアジサイ属の花序は装飾花と両性花から構成されており、この装飾花の八重咲き性が近年重要な育種目標となっている。そこで、アジサイ装飾花の八重咲き性の遺伝様式を明らかにするために、八重咲きの *H. macrophylla* ‘隅田の花火’、‘城ヶ崎’ および ‘城ヶ崎’ 由来の交配品種であるポージブークシリーズ3品種、一重咲きの *H. serrata* および *H. macrophylla* と *H. serrata* との雑種系統を供試し、交雑後代における八重咲き性を調査した。八重咲き品種を種子親、一重咲き品種・系統を花粉親とした7組の交配組合せでは、得られた376個体すべてが一

重咲きであった。一方、八重咲き品種を種子親、八重咲き品種を親に持つ一重咲き系統を花粉親とした 4 組の交配組合せでは、3 組の交配において八重咲き個体が得られた。八重咲き個体が得られた交配組み合わせは、種子親の八重咲き品種の祖先にあたる八重咲き品種が、花粉親の一重咲き系統の親と同一の八重咲き品種‘城ヶ崎’の場合で、八重と一重の分離比は 1:1 であった。一方、種子親の八重咲き品種と花粉親の一重咲き系統の親にあたる八重咲き品種が異なる組合せでは、すべて一重咲きで八重咲き個体は得られなかった。また、八重咲き品種を親に持つ一重咲き系統間の 4 組の交配組合せのうち、2 組の交配において八重と一重が 1:3 の分離比で得られた。八重咲き個体が得られた交配組合せは、種子親および花粉親の両方の系統が同一の八重咲き品種‘城ヶ崎’由来か、‘隅田の花火’由来の場合であった。以上の結果から、アジサイにおける装飾花の八重咲きは、1 対の遺伝子に制御された劣性形質であること、この劣性ホモの遺伝子が同一の八重咲き品種から由来している場合にのみ八重咲き個体を獲得できる可能性が高いことが明らかとなった。

第5章 蕾授粉および温湯処理によるアジサイ種間雑種の自家不和合性打破

アジサイは、我が国において重要な鉢物栽培品目の1つであり、近年、観賞価値の高い八重咲きや覆輪および手まり咲きの品種育成が盛んに行われている(清水, 2002a; 巢山ら, 2009)。アジサイ装飾花の八重咲きは劣性形質であり(Suyama ら, 2015)、八重咲き品種の大半が雄蕊を有していない。従って、八重咲き品種を育成するには、八重咲き品種を種子親にして一重咲き品種との交配を行う必要があるが、雑種第1代では八重咲きは発現しない。そこで、八重咲き個体を獲得するためには、この交配で得られた雑種第1代の自家授粉などを行い、雑種第2代を得る必要がある。また、花序の手まり咲きについても、単一の遺伝子に制御されたメンデル遺伝を示す劣性形質であることが明らかにされている(Uemachi・Okumura, 2012)。従って、額咲き品種と手まり咲き品種の交配により手まり咲き品種を育成するには、八重咲き品種と同様に、雑種第2代を得る必要がある。

アジサイの自家和合性について、工藤・新見(1999)は *H. macrophylla* ‘ブルーダイヤモンド’などの品種を自家授粉すると種子が得られたことから、自家和合性を示したと報告している。一方、Reed(2005)は、*H. macrophylla* の種内交雑系統や、*H. macrophylla* と *H. serrata* の種間雑種系統は自家不和合性を示したと報告している。チューリップでは、同一種内で自家和合性系統と自家不和合性系統が混在することが明らかにされているが(志佐ら, 1955)、アジサイにおいても同様の傾向が認められている。このアジサイの一部の系統が示す自家不和合性は、八重咲きなど優良劣性形質を持つ品種育成を行う際の障壁となっている。従って、自家不和合性打破技術を確立することは、優良劣性形質を持つ品種の効率的な育成および遺伝様式解明に寄与できると考えられる。

Reed(2005)は、アジサイの自家不和合性の要因について、他家授粉では花粉管が授粉後3日以内に胚珠に到達するのに対し、自家授粉では花粉管が花柱の途中で伸長を停止し、胚珠に到達できないために受精しないと報告している。

花き類の自家不和合性を打破する技術として、ペチュニアでは開花約5日前の蕾授粉が有効である(福本ら, 1996)こと、ユリでは開花6~9日後の老花授粉が有効である(Ascher・Peloquin, 1966)ことが報告されている。また、50℃の温湯浸漬処理がマツヨイグサ、ユリおよびチューリップの自家不和合性打破に有効であると報告されている(Hecht, 1964; Hopper ら, 1967; 岡崎・村上, 1992)。

本試験では、アジサイの自家不和合性の要因である花柱内での花粉管の伸長抑制を打破するために、両性花の異なる開花段階における授粉および授粉前の花序の温湯処理を行い、自殖個体の獲得を試みた。

第1節 蕾・老花授粉による自家不和合性の打破

1. 材料および方法

H. serrata ‘七変化’と *H. macrophylla* ‘ラブユーキッス’の種間雑種である自家不和合性系統 03NL3 を供試し、他家授粉の花粉親として *H. macrophylla* ‘ブルーダイヤモンド’と *H. serrata* ‘七変化’の種間雑種系統 03BN1 を供試した。福岡県農林業総合試験場内のミストハウスにおいて、2006 年 4 月 25 日に挿し木を行い、5 月 30 日に 9 cm 径ポリポットに鉢上げをした。巢山ら（2010）の手法に準じ、花成誘導のための 15℃の涼温処理を 7 月 22 日～9 月 19 日まで 60 日間行った後に、休眠打破のための 5℃の低温処理を 9 月 20 日～11 月 10 日まで 52 日間実施した。11 月 11 日に 12 cm 径プラスチックポットに鉢替え後、夜間最低気温 13℃に加温したガラスハウスで管理した。2007 年 1 月 4 日～3 月 30 日まで、茨城県つくば市の農研機構果樹研究所にある昼夜温 20℃一定の自然光型ファイトロン内で管理した。

03NL3 の開花株を用い、2007 年 1 月 16～23 日にかけて、蕾授粉および老花授粉を行った。蕾授粉は翌日開花すると推測される両性花の蕾の花弁および葯をピンセットで除去後、同一株の別の花序にある開花当日の両性花の花粉を用いて自家授粉した。老花授粉は開花前日に除雄後、開花 2 日（花弁落下開始期）もしくは 4 日後に、蕾授粉と同様に自家授粉した。また、対照区として開花当日に自家授粉を実施した。併せて、開花当日の 03NL3 の両性花に 03BN1 の花粉を授粉する他家授粉を行った。いずれの処理区も 10 個ずつ処理を行い、花序全体を不織布で二重被覆した。

授粉 3 日後の両性花を採取し、アスピレーターによる減圧下で FAA [70%エタノール：ホルマリン：酢酸＝18：1：1（容積比）] 液に約 4 時間浸漬した後、FAA 液の交換を行い引き続き室温下で一晩浸漬して固定した。蛍光顕微鏡観察用プレパラートを作成するにあたり、固定した両性花を流水で 1 時間水洗した。次に 1 N 水酸化ナトリウム水溶液に 5 時間浸漬し、組織を軟化させた後、流水で 1 時間水洗した。実体顕微鏡下で花托を除去して、子房を心皮ごと（約 3 個）に分割した後、アニリンブルー溶液（2%リン酸三カリウム溶液にアニリンブルーを 0.01%溶解）に 16 時間浸漬し、蛍光染色を行った。染色した雌蕊をスライドガラスの上に並べ、カバーガラスで押しつぶし、50%グリセリンで封入した。

作成したプレパラートを落射照明装置（励起法：U 励起，AX，OLYMPUS）で蛍光させ、顕微鏡（AX70，OLYMPUS）で花柱および子房内での花粉管伸長を観察した。各処理区とも 5 個の両性花を供試し、計 15 個の心皮についてプレパラートを作成して、花柱および子房内で最も伸長している花粉管の長さをマイクロメータ（OLYMPUS）で測定した。

2. 結果

開花当日授粉区（対照区）の花粉管長は 0.78 mm で、花粉管は花柱の中央部で伸長を停止していた（表 5-1，図 5-1）。一方、蕾授粉区の花粉管長は 1.49 mm であり、対照区の約 2 倍の伸長を示した。また、供試した 5 個の両性花のうち 2 個で、数本の花粉管が胚珠へ到

表 5-1. 03NL3（‘七変化’×‘ラブユーキッス’）の自家授粉における蕾および老花授粉が花粉管伸長に及ぼす影響

交配方法	処 理 区	花粉管長 (mm)	花柱長 ^z (mm)	胚珠 到達花率 ^y (%)
自家授粉	開花前日（蕾授粉）	1.49 b ^x	1.58 b	40
	開花2日後（老花授粉）	1.06 cd	1.76 b	0
	開花4日後（老花授粉）	1.16 bc	2.15 a	0
	開花当日（対照区）	0.78 d	1.80 b	0
他家授粉 ^w	開花当日	2.63 a	1.81 b	100

03NL3 : *H. serrata* ‘七変化’ と *H. macrophylla* ‘ラブユーキッス’ の交配により得られた自家不和合性系統

^z 柱頭から子房内最上部にある胚珠までの直線距離

^y 花粉管が胚珠に到達した両性花の割合

^x 異なるアルファベット間には5%水準で有意差あり (Tukey法)

^w *H. macrophylla* ‘ブルーダイヤモンド’ と *H. serrata* ‘七変化’ の交配により得られた03BN1を花粉親として供試

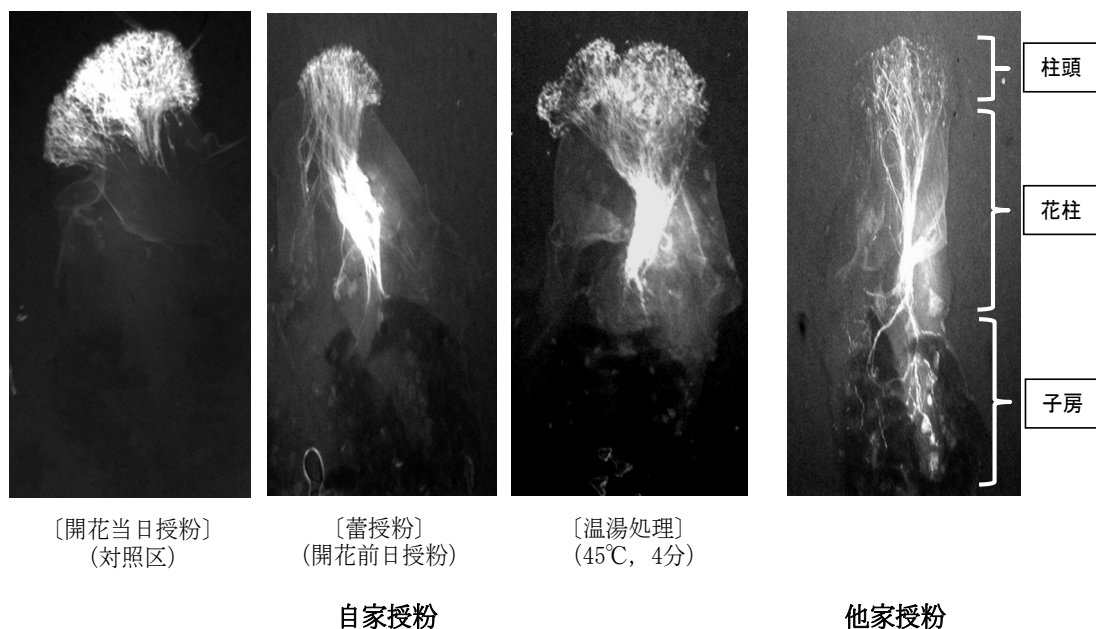


図 5-1. 03NL3（‘七変化’×‘ラブユーキッス’）に対する蕾授粉および花序の温湯処理が花柱内における花粉管伸長に及ぼす影響

達し、その割合（以下、胚珠到達花率）は 40%であった。一方、開花 2 日後授粉区の花粉管長は 1.06 mmであり、対照区と有意差は認められなかった。開花 4 日後授粉区の花粉管長は 1.16 mmであり、対照区と比較して花粉管の伸長は促進されたものの、花粉管の胚珠への到達は観察されなかった。

03BN1 の花粉を授粉した他家授粉区の花粉管長は 2.63 mmであり、すべての処理区の中で最も長かった（表 5-1、図 5-1）。供試した 5 個の両性花すべてにおいて胚珠に到達した花粉管が多数観察され、胚珠到達花率は 100%であった。

第 2 節 花序の温湯処理による自家不和合性の打破

1. 材料および方法

材料および栽培方法は前節と同様とした。03NL3 の開花株を用い、2007 年 1 月 22～26 日にかけて、花序の温湯処理を行った。温湯処理前日の夕方、既に開花している両性花をすべて除去した。処理当日、花序全体を恒温槽内の 50℃の温湯に 1, 3, 5 分間、あるいは 45℃の温湯に 1, 2, 3, 4, 5 分間浸漬した。温湯に浸漬してから約 30 分後に、開花当日の両性花の柱頭表面が乾いていることを確認し、温湯処理をしていない花序の開花当日の両性花の花粉を用いて自家授粉を行った。対照区として、温湯処理を行わない花序について、開花当日の両性花の自家授粉を行った。いずれの処理区も 10 個ずつ処理を行い、花序全体を不織布で二重被覆した。花粉管の染色および観察は前節と同様に行った。

2. 結果

花序を 50℃の温湯で 3 分または 5 分間処理した区では、処理後 1 週間以内に花序全体が萎れ、枯死した。50℃の温湯で 1 分間処理した区では、萎れや枯死症状は認められなかったが、処理 10 日後より落花および落蕾が発生した。

一方、45℃の温湯で処理した区では、いずれも萎れや落花は発生しなかった。1 分または 2 分間処理区の花粉管長は 1.18 mmおよび 0.99 mmであり、対照区の 0.78 mmと比較して有意な差は認められなかった（表 5-2）。これに対して 3 分または 4 分間処理区の花粉管長はそれぞれ 1.38 mmおよび 1.53 mmであり、対照区と比較して有意に長く花粉管が伸長した。一部の両性花では数本の花粉管が胚珠に到達し、胚珠到達花率は 3 分間処理区が 20%であり、4 分間処理区が 40%であった（図 5-1）。最も処理時間の長い 5 分間処理区では、花柱内に侵入した花粉管はわずかであり、花粉管長は 0.62 mmで対照区と有意な差は認められなかった。

第 3 節 自家不和合性打破処理による自殖個体の獲得

表 5-2. 03NL3（‘七変化’×‘ラブユーキッス’）花序に対する温湯(45℃)処理時間が自家授粉後の花粉管伸長に及ぼす影響

処理時間	花粉管長 (mm)	花柱長 ^z (mm)	胚珠到達花率 ^y (%)
1分間	1.18 ab ^x	1.67 ab	0
2分間	0.99 bc	1.53 b	0
3分間	1.38 a	1.61 ab	20
4分間	1.53 a	1.52 b	40
5分間	0.62 c	1.57 ab	0
対照区（0分間）	0.78 bc	1.80 a	0

^z 柱頭から子房内最上部にある胚珠までの直線距離

^y 花粉管が胚珠に到達した両性花の割合

^x 異なるアルファベット間には5%水準で有意差あり (Tukey法)

1. 材料および方法

03NL3 および *H. macrophylla* ‘城ヶ崎’ と種間雑種系統 03BN4 (*H. macrophylla* ‘ブルーダイヤモンド’ × *H. serrata* ‘七変化’) の交配により得られた自家不和合性系統 05JBN4 を供試した。福岡県農林業総合試験場内のミストハウスにおいて、2006 年 4 月 25 日に挿し木を行った。5 月 30 日に 9 cm 径ポリポットに鉢上げした後、2007 年 4 月 10 日に 12 cm 径プラスチックポットに鉢替えをした。2007 年 5～6 月に開花するまでのすべての栽培期間中、無加温のガラスハウス内で管理を行った。

2007 年 5 月 29～31 日にかけて、03NL3 の開花株を用い、第 1, 2 節と同様に、開花前日の蕾授粉および 45℃ の温湯に花序を 4 分間浸漬した後に開花当日の花の自家授粉を行った。併せて、45℃ の温湯に花序を 4 分間浸漬した後に開花前日の蕾授粉を行い（以下、蕾授粉＋温湯処理）、対照区として温湯処理をしていない開花当日の花の自家授粉を行った。各処理区 20～30 個の両性花に自家授粉を行い、交配 60 日後に、朔果内の自殖胚を含有する肥大した胚珠（以下、自殖胚珠）数および自殖胚珠を含有する朔果の交配花数に対する割合（以下、自殖胚珠含有朔果率）を調査した。自殖胚珠の培養を巢山ら（2008a）の手法に準じて行い、培養 60 日後に発芽した自殖胚珠数を調査した。草丈が 1 cm 以上に成長した自殖個体を 12 月 19 日に、バーミキュライトを充填した 6 cm 径ポリポットに鉢上げし、25℃、16 時間日長、照度 3,500 lx（植物育成用蛍光灯）の順化室内で養成した。草丈が 10 cm 程度になった 2008 年 3 月 20 日に、pH 調整ピートモス、田土、腐葉土およびパーライトを 3:3:3:1（容積比）の割合で混合した用土を充填した 9 cm 径ポリポットに鉢替えし、夜間最低気温 15℃ に加温したガラスハウス内で管理した。4 月 30 日に暖房を終了した後、温度成り行きのガラスハウス内で栽培を行った。7 月 25 日に 12 cm 径プラスチックポットに鉢替えを行い、2009 年 5～6 月の開花期まで引き続き温度成り行きのガラスハウス内で管理した。

05JBN4 については、2007 年 6 月 7 日に、蕾授粉＋温湯処理を 16 個の両性花に行い、対照区として温湯処理をしていない花序の開花当日の花の自家授粉を 10 個の両性花に行った。03NL3 と同様に、交配 60 日後に自殖胚珠含有朔果率および朔果内の自殖胚珠数を調査した。併せて、自殖胚珠の培養を行い、培養 60 日後に発芽した自殖胚珠数を調査した。以後、6 cm 径ポリポットに鉢上げした自殖個体を、9 cm 径ポリポットおよび 12 cm 径プラスチックポットに鉢替えする用土として、pH 未調整ピートモス、赤玉土、腐葉土およびパーライトを 5:3:1:1（容積比）の割合で混合した用土を用いた以外は、03NL3 と同様に栽培管理を行った。

2. 結果

03NL3 の開花当日授粉区（対照区）の自殖胚珠含有朔果率は 0% であった（表 5-3）。一方、蕾授粉区の自殖胚珠含有朔果率は 47% であり、自殖胚珠を含有している朔果 1 果当た

表 5-3. 03NL3 (‘七変化’ × ‘ラブユーキス’) および 05JBN4 (‘城ヶ崎’ × 03BN4) に対する蕾授粉, 花序の温湯処理, 蕾授粉および温湯処理の組合せ処理が自殖胚珠の獲得数および発芽に及ぼす影響

供試系統	処理区	交配花数	自殖胚珠 含有率 ^z (%)	朔果1果あたり の自殖胚珠数 ^y	培養胚珠数	発芽胚珠数 ^x
03NL3	蕾授粉	30	47	4.4 ± 3.8 ^v b ^u	61	8
	温湯処理 (45°C, 4分間)	22	91	3.5 ± 2.2 b	70	16
	蕾授粉 + 温湯処理	20	85	11.7 ± 8.1 a	199	77
	対照区 ^w	20	0	—	—	—
05JBN4	蕾授粉 + 温湯処理	16	100	9.2 ± 3.3	147	95
	対照区 ^w	10	0	—	—	—

05JBN4 : *H. macrophylla* ‘城ヶ崎’ と種間雑種03BN4 (*H. macrophylla* ‘ブルーダイヤモンド’ × *H. serrata* ‘七変化’) の交配により得られた自家不和合性系統

^z 自殖胚珠を含有している朔果 / 交配花数 × 100

^y 自殖胚珠を含有している朔果1果当たりの胚珠数

^x 交配60日後の自殖胚珠を培養し, 培養開始60日後に発芽数を調査

^w 温湯処理を行っていない開花当日の両性花を自家授粉

^v 平均値 ± 標準誤差

^u 異なるアルファベット間には5%水準で有意差あり (Tukey法)

りの胚珠数は 4.4 個であった。温湯処理区の自殖胚珠含有朔果率は 91%であり、朔果 1 果当たりの自殖胚珠数は 3.5 個であった。蕾授粉+温湯処理区の自殖胚珠含有朔果率は 85%であり、朔果 1 果当たりの自殖胚珠数は 11.7 個と処理区の中で最も多かった。培養開始 60 日後の自殖胚珠の発芽数は、蕾授粉区で 8 個、温湯処理区で 16 個、蕾授粉+温湯処理区で 77 個であった。但し、発芽した胚珠の一部は途中で生育を停止した後に枯死するものもあり、草丈が 1 cm 以上に成長した自殖個体数は、蕾授粉区で 3 個体、温湯処理区で 7 個体、蕾授粉+温湯処理区で 40 個体であった（表 5-4）。これらの自家不和合性打破処理により得られた自殖個体 50 個体のうち 23 個体が 2009 年 5 月 22 日～6 月 8 日にかけて開花した。

05JBN4 の開花当日授粉区（対照区）の自殖胚珠含有朔果率は 0%であった（表 5-3）。一方、蕾授粉+温湯処理区の自殖胚珠含有朔果率は 100%であり、朔果 1 果当たりの自殖胚珠数は 9.2 個であった。培養開始 60 日後の自殖胚珠の発芽数は 95 個であったが、03NL3 と同様に、発芽した胚珠の一部は途中で生育を停止した後に枯死し、草丈が 1 cm 以上に成長した自殖個体数は 59 個体であった（表 5-4）。これら 59 個体のうち 38 個体が 2009 年 5 月 13～28 日にかけて開花した（図 5-2）。

第 4 節 考察

Reed (2005) は *H. macrophylla* の種内交配および *H. macrophylla* と *H. serrata* との種間雑種と *H. macrophylla* の交配において、開花 1～4 日後の両性花に他家授粉した花粉は 80%以上の発芽率を示し、花粉管長は開花当日授粉区と同程度であったと報告している。一方、開花 5～6 日後の他家授粉では、花粉の発芽率は 60%未満で花粉管長は開花当日授粉区の 1/2 以下であったと報告している。この結果は、両性花の柱頭における花粉の受容能力が開花 4 日後まで高く、雌蕊が受精能力を有していることを示している。従って、本試験では、*H. serrata* と *H. macrophylla* の種間雑種で自家不和合性を示す 03NL3 を用い、開花 2 日または 4 日後の老花の段階で自家授粉を行った。開花 2 日後では、対照区の開花当日授粉区と花粉管長に有意差は認められなかった。一方、開花 4 日後では花粉管の伸長は促進されたものの、花粉管の胚珠への到達は全く観察されなかった。但し、開花 5～6 日後の老花の段階における他家授粉でも一定の花粉管伸長は観察されている (Reed, 2005) ことから、今後は開花 5～6 日後の老花授粉が自家不和合性打破に有効かどうかについても、検討が必要と思われる。

Reed (2005) は、開花前日の蕾の段階における 2 組の交配組合せの他家授粉を行ったところ、花粉管長は開花当日授粉区の 1/2 程度もしくは全く伸長しなかったと報告している。この結果は、蕾の段階の柱頭における花粉の受容能力が低いことを示しており、雌蕊の受精能力も同様に低いと考えられた。しかし、本試験において開花前日の蕾の段階で自家授粉

表 5-4. 自家不和合性打破処理により獲得した 03NL3（‘七変化’×ラブユーキッス）および 05JBN4（‘城ヶ崎’×03BN4）の自殖個体の開花

供試系統	処理区	自殖個体数 ^z	開花個体数	開花期 ^y (年/月/日)
	蕾授粉	3	1	2009/5/29
03NL3	温湯処理（45℃，4分間）	7	3	2009/5/22～6/3
	蕾授粉＋温湯処理	40	19	2009/5/25～6/8
05JBN4	蕾授粉＋温湯処理	59	38	2009/5/13～5/28

^z 草丈が1 cm以上に成長した自殖個体数

^y 各個体の最初に開花した花序の装飾花が完全に着色した日を開花日とした



図 5-2. 自家不和合性打破処理により獲得した 05JBN4（‘城ヶ崎’×03BN4）の八重咲き自殖個体

を行ったところ、開花当日授粉区に比べ花粉管長は約2倍になった。加えて、処理花の40%で花粉管の胚珠への到達が観察され、蕾の段階の柱頭における花粉の受容能力は高く、かつ雌蕊に受精能力があることが示された。開花前日の蕾の柱頭における花粉の受容能力(雌蕊の受精能力)に関する Reed (2005) と本試験結果の相違は、自家不和合性に品種間差異がある(工藤・新見, 1999; Reed, 2000, 2005) のと同様に、試験に用いた品種の違いによるものであると考えられる。

マツヨイグサ、ユリおよびチューリップの自家不和合性打破には、授粉前の50℃の温湯処理が有効であると報告されている(Hecht, 1964; Hopper ら, 1967; 岡崎・村上, 1992)。しかし今回、アジサイの花序を50℃の温湯で1分、3分または5分間処理したところ、いずれも枯死あるいは落花した。これらの結果から、50℃での温湯処理はアジサイに不適であることが明らかになった。この50℃の温湯処理は、ユリおよびチューリップでは柱頭のみ、マツヨイグサでは柱頭と花柱の上部のみに実施されている。一方、アジサイの両性花は花径が1 cm未満と極めて小さいため、柱頭、花柱および子房を含めた両性花全体に実施せざるを得なかった。アジサイにおいても柱頭のみを処理することが可能ならば、今回と異なる結果が得られるかもしれない。

45℃の温湯処理は処理時間に関係なく、枯死や落花等の症状は全く認められなかった。花序全体を1, 2分および5分間浸漬する処理では、花粉管の伸長促進効果はなかった。一方、花序全体を3もしくは4分間浸漬処理することにより、花柱内での花粉管伸長が促進され、処理花の20, 40%で花粉管が胚珠に到達した。配偶体型の自家不和合性を示すナス科のペチュニアやタバコなどでは、リボヌクレアーゼが自家不和合性に関与することが明らかにされている(Huang ら, 1994; McClure ら 1990)。また、同じ配偶体型の自家不和合性を示すユリへの高温処理が自家不和合性を打破する要因のひとつとして、花柱の細胞崩壊が考えられている(Hopper ら, 1967)。加えて、胞子体型の自家不和合性を示すアブラナ科のナタネに高温処理を行うと、雌蕊の乳頭細胞の細胞膜に異常が発生し、自家不和合性が打破されることが報告されている(Okazaki・Hinata, 1987)。これらのことから、配偶体型の自家不和合性植物であるとされているアジサイ(Reed, 2005)において、本試験の3もしくは4分間の温湯処理は自家不和合性に関与するタンパク質の働きを抑制したのではないかと考えられる。花粉管伸長促進効果のなかった1, 2分間処理は、不和合性に関与するタンパク質の抑制効果が弱く、逆に5分間処理は不和合性に関与するタンパク質以外の受精に必要なタンパク質の働きも抑制した可能性がある。

蕾授粉と温湯処理を組合せることにより、それぞれの単独処理よりも朔果内の自殖胚珠数は多くなった。ニホンナシでは、自家不和合性が弱い蕾の段階において、自家不和合性に関与するタンパク質の生成量が少ないことが明らかにされている(Hiratsuka ら, 1986)。従って、本試験においても、開花前日の蕾では自家不和合性に関与するタンパク質の生成量が開花当日より少なかった可能性がある。この開花当日よりも量が少ない自家不和合性

に関与するタンパク質の働きを温湯処理が抑制したことにより、相乗的効果が得られたのではないかと考えられる。

蕾授粉、温湯処理の単独処理、および蕾授粉と温湯処理の組合せ処理によって得られた自殖個体は授粉から約2年後に開花した。これらの結果から、蕾授粉および温湯処理が *H. macrophylla* と *H. serrata* の雑種系統の自家不和合性打破に有効であることが明らかになった。今後、これらの自家不和合性打破処理法が遺伝様式の解明や劣性形質を目標とする育種の効率化に寄与するものと考えられる。

第5節 摘要

H. macrophylla や *H. macrophylla* と *H. serrata* との種間雑種には自家不和合性を示す系統があり、八重咲きなど劣性形質を目標とする育種の障壁となっている。そこで、*H. macrophylla* ‘ラブユーキッス’ と *H. serrata* ‘七変化’ の種間雑種系統 03NL3 を供試し、異なる開花段階における授粉処理や花序の温湯処理を行い、自家不和合性を打破する手法を検討した。開花2および4日後の両性花の自家授粉を行った後、蛍光顕微鏡を用いて、授粉3日後の花柱内における花粉管伸長を観察した。開花当日授粉区と比較して、開花2日後の授粉では花粉管の伸長促進効果はなかった。開花4日後授粉では花粉管は有意に伸長したものの、胚珠に到達した花粉管は全くなかった。一方、開花前日の蕾授粉区の花粉管長は1.49 mmで、開花当日授粉区の0.78 mmと比較して、花粉管は約2倍伸長した。花粉管の一部は胚珠に到達し、花粉管が胚珠に到達した花の割合を示す胚珠到達花率は40%であった。また、授粉直前に花序全体を45℃の温湯に浸漬する処理では、3または4分間処理において花粉管伸長は促進され、花粉管長はそれぞれ1.38 mmおよび1.53 mmであった。花粉管の一部は胚珠に到達し、胚珠到達花率はそれぞれ20%および40%であった。03NL3 の蕾授粉、花序の温湯処理（45℃、4分間）、蕾授粉と温湯処理（45℃、4分間）の組合せ処理により得られた朔果1果あたりの自殖胚珠数は、蕾授粉と温湯処理の組合せ処理区が11.7個と最も多かった。交配60日後の自殖胚珠を1/2 MS培地で培養し、得られた自殖個体を施設内で管理したところ、交配2年後に開花した。

第6章 総合考察

本研究では、我が国において主要な鉢物品目である *H. macrophylla* (ハイドランジア) と多数の自生品種がある *H. serrata* (ヤマアジサイ) との種間交配による新品種育成を迅速かつ効率的に行うための育種技術開発に取り組んだ。

アジサイ属の種間交配では種子ができないことが多く、まれに雑種種子が得られても、その種子の発芽率が極めて低いため、胚珠培養法が活用されている(片山, 2005; 工藤ら, 2003)。そこで、まず第2章では、*H. macrophylla* と *H. serrata* の種間交配により得られた交雑胚珠を 1/2 MS 培地で培養する際に、植物ホルモンの1つであるジベレリン (GA_3) を添加することにより、交雑胚珠の発芽率が大幅に向上する技術を開発した。アジサイ属の遠縁の種間交配では、胚珠培養法を用いても雑種個体の獲得率が低く(工藤・新見, 1999)、獲得した雑種個体に稔性のない場合(私信)が問題となっている。本試験で開発した胚珠培養に関する技術は、アジサイ種間雑種個体の獲得率向上に寄与すると考えられる。また、種間雑種個体の不稔性に関しては、他の花き類でコルヒチンなどを用いた染色体の倍加処理を行うことにより稔性が回復することが明らかにされており(小野崎, 2015)、アジサイ種間雑種の稔性回復にもこの方法が有効であると思われる。これらの技術を活用することにより、雑種第1代では発現しない *H. quercifolia* 由来の花序の円錐形や *H. petiolaris* 由来のつる性などの形質(工藤ら, 2002a, b)を持つ有色の *H. macrophylla* 系の新品種育成が可能になるのではないかと考えられる。

H. macrophylla の育種では、交配してから実生が開花するまでに2年以上の年月を要するため(藤岡, 1996; 片山, 2005)、最初の交配から雑種第2代が開花するまでには4年以上の年月を要する。そこで、第3章では胚珠培養法と開花調節法を活用した *H. serrata* と *H. macrophylla* の種間雑種の育成年限短縮法の開発に取り組み、*H. serrata* と *H. macrophylla* の交配第1世代の開花年限を通常の2年より約半年短い1年半に短縮する技術、および最初の交配から交配第2世代が開花するまでの期間を約1年短縮する技術を開発した。花木と同じ木本性の果樹は花木以上に育種年限が長く、交雑実生が開花するまでの期間は、カンキツ類で約8~10年、リンゴで6~7年である。これらの種では、高接ぎなどの接ぎ木技術を活用して育種年限の短縮が図られている(山田ら, 1979; 吉田ら, 1970)。近年では、花成ホルモンの1つである FT タンパク質をコードする遺伝子を活用した果樹の開花年限短縮の研究も行われている(Tanaka ら, 2014)。この花成ホルモンに関しては、草本性花きのキクにおいて、短日条件下で発現が誘導される *FTL3* 遺伝子および長日条件下で発現が誘導される *AFT* 遺伝子が同定されている(Higuchi ら, 2013)。涼温により花成が誘導される *H. macrophylla* などのアジサイ属においても、花成ホルモン生成に関する遺伝子レベルでのメカニズムが将来明らかにされれば、交雑実生が開花するまでの期間の大幅な短縮が可能になるのではないかと考えられる。

第4章では、アジサイにおいて重要な育種目標である装飾花の八重咲きが単一の遺伝子に制御された劣性形質であること、かつ劣性ホモの遺伝子が同一の八重咲き品種(‘城ヶ崎’や‘隅田の花火’)に由来している場合にのみ八重咲き個体を獲得できることを明らかにした(Suyama ら, 2015)。現在、流通している八重咲き品種の大半は、‘城ヶ崎’、‘隅田の花火’および‘伊豆の華’に由来している。特徴的な形の装飾花が人気の‘ダンスパーティー’は‘伊豆の華’由来の交配品種である(川島, 2010c)。但し、‘伊豆の華’の八重咲き遺伝子と‘城ヶ崎’や‘隅田の花火’の八重咲き遺伝子との関係は未だ明らかにされていない。今後は、‘伊豆の華’由来の系統と‘城ヶ崎’や‘隅田の花火’由来の系統間の交配を実施することにより、これら3品種の八重咲き遺伝子の関係が明らかになると考えられる。

花の器官形成に関わるホメオティック遺伝子について、Coen・Meyerowitz (1991) は ABC モデルを提唱している。このモデルでは、シロイヌナズナの花は4層構造となっており、(1) 1番外側の層のがくはクラス A ホメオティック遺伝子単独の発現で形成される、(2) 2番目の層の花弁はクラス A および B 遺伝子の共発現で形成される、(3) 3番目の層の雄蕊は、クラス B および C 遺伝子の共発現で形成される、(4) 1番内側の層の雌蕊はクラス C 遺伝子単独の発現で形成されるとされている。近年、この ABC モデルに基づいた花の八重咲き発現に関する研究が多数行われており、トレニアではクラス C 遺伝子 (*TfFAR*) にトランスポゾンが挿入することにより、遺伝子の発現が抑制され八重化すると報告されている(Nishijima ら, 2016)。また、シクラメンの八重花における雄蕊の花弁化について、クラス C (*AGAMOUS*) 様遺伝子の発現抑制が原因であると報告されている(Mizunoe ら, 2015)。八重咲きのアジサイ装飾花では、雄蕊および花弁が消失する一方で、花弁状のがくが増加している。従って、アジサイにおいても、トレニアやシクラメンと同様に、花器官ホメオティック遺伝子に変異が発生し、装飾花が八重化している可能性が高い。将来、八重咲き品種由来の遺伝集団を用いたゲノムシーケンスなどにより八重咲き遺伝子の同定ならびに機能解析が期待される。

H. macrophylla, *H. serrata* および両種の種間雑種には自家不和合性を示す系統がある。この自家不和合性は、劣性形質を目標とする育種の効率化や、雑種個体の自殖による変異拡大および優良形質の遺伝様式解明の障壁となっている。そこで、第5章では *H. serrata* と *H. macrophylla* の種間雑種系統を供試して、開花前日の蕾授粉および花序の温湯浸漬処理(45℃, 3~4 分間)が自家不和合性打破に有効であることを明らかにした(巢山ら, 2013)。マツヨイグサ、ユリおよびチューリップでは、柱頭への 50℃の温湯浸漬処理が自家不和合性打破に有効である(Hecht, 1964 ; Hopper ら, 1967 ; 岡崎・村上, 1992) ことが明らかにされているが、アジサイの両性花全体への処理には不適であった。一方、45℃の温湯処理が自家不和合性打破に有効であったという結果は、小花の集合体により花序が構成されるために、柱頭のみでの温湯浸漬処理が困難なキクなどの自家不和合性を示す植物(河瀬・塚本,

1977)においても、この処理法が有効である可能性を示唆している。

近年、アジサイを含め花き類では、ニーズの多様化に伴い、新規性を有しかつ観賞性の高い新品種が多数育成されている一方で、品種の変遷が激しくなっている。このような状況下で、ニーズに即した新品種を迅速に育成することは非常に重要である。福岡県農林業総合試験場では、本研究で開発した技術を活用して、*H. serrata* の小輪・多花性と *H. macrophylla* の耐暑性を併せ持つ新品種‘筑紫手鞠’，‘桜手鞠’，‘筑紫花恋’，‘白手鞠’および‘夢手鞠’の5品種を育成した（巢山ら，2007；図6-1）。また、装飾花の八重咲きの遺伝様式解明と併せて、希少性および観賞性の高い八重・手まり咲き品種‘筑紫の舞’，‘筑紫ルビー’および‘筑紫の風’の3品種を育成した（巢山ら，2009；図6-2）。これらの福岡県育成のアジサイについては、「福岡アジサイの会」の主要な構成メンバーである Hydrangers FUKUOKA（会員数11名）を中心に生産されており、2016年春の出荷鉢数は約4万鉢に達した。

本研究成果は、*H. serrata* と *H. macrophylla* の種間交配による品種育成および観賞価値の高い八重咲き品種育成に活用できる極めて有用な技術である。一方、アジサイの育種において、DNA マーカーの開発など遺伝子レベルでの研究は、ほとんど行われていなかった。しかし、近年、和氣ら（2015a, b）による *H. macrophylla* の連鎖地図の作製や装飾花の八重咲きに関する DNA マーカーの開発が行われており、今後一層のアジサイ育種技術の向上ならびに品種育成の効率化が期待される。また、花木類全般において、育種技術の研究が将来進展することにより、ニーズに即した迅速かつ効率的な品種育成が可能になると考えられる。



‘筑紫手鞠’



‘筑紫花恋’



‘桜手鞠’



‘白手鞠’



‘夢手鞠’

図 6-1. 福岡県農林業総合試験場育成のアジサイ小輪・多花性 5 品種



‘筑紫の舞’



‘筑紫ルビー’



‘筑紫の風’

図 6-2. 福岡県農林業総合試験場育成のアジサイ八重・手まり咲き 3 品種

謝辞

本論文を取り纏めるにあたり，懇切なご指導とご校閲を終始賜りました九州大学大学院農学研究院准教授若菜 章博士および九州大学熱帯農学研究センター准教授宮島郁夫博士に心より厚くお礼を申し上げます。また，懇切なご指導とご助言を賜りました九州大学大学院農学研究院教授吉村 淳博士および同准教授尾崎行生博士に深く感謝の意を表します。

本研究の遂行にあたり，ご指導およびご助言を頂きました（旧）福岡県農業総合試験場花き部長中村新一氏および小代文明氏，福岡県農林業総合試験場資源活用研究センター苗木・花き部長松野孝敏氏，花きチーム長國武利浩氏，（元）農林業総合試験場資源活用研究センター苗木・花き部谷川孝弘博士，（旧）農業総合試験場花き部山田明日香博士（現在 飯塚農林事務所飯塚普及指導センター），小賦幸一氏（現在 農林水産部経営技術支援課）に心よりお礼を申し上げます。本実験の実施にあたり，ご助言およびご協力を頂きました（旧）農業総合試験場花き部佐伯一直氏（現在 筑後農林事務所八女普及指導センター），（元）農林業総合試験場資源活用研究センター苗木・花き部中村知佐子氏（現在 筑後農林事務所南筑後普及指導センター）に心より感謝の意を表します。また，実験作物の管理や試験装置の作成にあたり，多大なご協力を頂きました（旧）農業総合試験場花き部田中清治氏（現在 飯塚県土整備事務所），勝田秀樹氏（現在 朝倉県土整備事務所），水落美鶴氏（現在 朝倉農林事務所）に深く感謝の意を表します。

本研究を進める課程でご指導およびご協力を頂きました上記並びに全ての職員，臨時職員の皆様に心より感謝申し上げます。

引用文献

- Ascher, P. D. and S. J. Peloquin. 1966. Effect of floral aging of the growth of compatible and incompatible pollen tubes in *Lilium longiflorum*. Amer. J. Bot. 53: 99-102.
- Chan, C. R. and R. D. Marquard. 1999. Accelerated propagation of *Chionanthus virginicus* via embryo culture. HortScience 34: 140-141.
- Coen, E. S. and E. M. Meyerowitz. 1991. The war of the whorls: genetic interactions controlling flower development. Nature 353: 31-37.
- Frost, H. B. 1915. The inheritance of doubleness in *Matthiola* and *Petunia*. Am. Nat. 49: 623-636.
- 藤岡 昇. 1996. 変わりものアジサイ類について. 新花卉. 169: 30-34.
- 福本修一・青木千佳・服部一三. 1996. ペチュニアの蕾受粉における花粉管の挙動観察と, 自家不和合性打破の試み. 育学雑. 46(別2): 252.
- 福岡県. 2016. 福岡県内の花き・花木の生産状況の推移. 福岡県フラワーデータブック 2015.
- 五井正憲. 1988. ハイドランジア. p. 289-294. 小西国義・今西英雄・五井正憲著. 花卉の開花調節. 養賢堂. 東京.
- Hecht, A. 1964. Partial inactivation of incompatibility substance in the stigmas and styles of *Oenothera*. p. 237-243. In: H. F. Linskens (ed). Pollen physiology and fertilization. North-Holland Publ. Comp., Amsterdam.
- Higuchi, Y., T. Narumi, A. Oda, Y. Nakano, K. Sumitomo, S. Fukai and T. Hisamatsu. 2013. The gated induction system of a systemic floral inhibitor, antiflorigen, determines obligate short-day flowering in chrysanthemum. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 110: 17137-17142.
- Hiratsuka, S., K. Ichimura, E. Takahashi and N. Hirata. 1986. Analysis of proteins in developing style and ovary with reference to self-incompatibility of Japanese pear. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 55: 145-152.
- Hopper, J. E., P. D. Ascher and S. J. Peloquin. 1967. Inactivation of self-incompatibility following temperature pretreatments of styles in *Lilium longiflorum*. Euphytica 16: 215-220.
- Huang, S., H. S. Lee, B. Karunanandaa and T. Kao. 1994. Ribonuclease activity of *Petunia inflata* S proteins is essential for rejection of self-pollen. Plant Cell 6: 1021-1028.
- 飯塚正英・工藤暢宏・木村康夫・萩原 勲. 2001. 胚珠培養による *Spiraea thunbergii* Sieb. と *Spiraea japonica* L.との種間雑種の作出. 園学雑. 70: 767-773.
- 片山一平. 2005. アジサイ. p. 330-1-2~330-1-7. 農業技術大系花卉編. 第5巻. 育種. 農文協. 東京.
- 河瀬晃四郎・塚本洋太郎. 1977. キクの育種に関する研究(第1報). 自家稔実率について.

- 園学雑. 46: 101-112.
- 川島榮生. 2010a. アジサイ百科. p. 507-512. アブック社. 神奈川.
- 川島榮生. 2010b. アジサイ百科. p. 513-530. アブック社. 神奈川.
- 川島榮生. 2010c. アジサイ百科. p. 322-414. アブック社. 神奈川.
- 北村嘉邦. 2013. 生育過程と技術（切り花） アジサイ. p. 32-34. 農業技術大系花卉編. 第11巻. 花木. 農文協. 東京.
- 小玉雅晴・坂本あすか・渡辺 強. 2015. アジサイ新品種「きらきら星」の育成. 栃木農試研報. 73: 27-34.
- 小杉 清・荒井尚孝. 1960. 花木類の花芽分化に関する研究（第7報）. アジサイの花芽分化期並びに花芽の発育経過について. 香川大農学報. 12: 78-83.
- 工藤暢宏・新見芳二. 1999. セイヨウアジサイとアメリカノリノキとの種間雑種の獲得に関する研究. 園学雑. 68: 428-439.
- 工藤暢宏・木村康夫・新見芳二. 2002a. 胚珠培養によるセイヨウアジサイとカシワバアジサイとの種間雑種の作出. 園学研. 1: 9-12.
- 工藤暢宏・木村康夫・新見芳二. 2002b. 胚珠培養によるセイヨウアジサイとツルアジサイとの種間雑種の作出. 園学雑. 71（別1）: 104.
- 工藤暢宏・木村康夫・新見芳二. 2003. 胚珠培養によるカラコンテリギとセイヨウアジサイとの種間雑種の作出. 園学雑. 72（別1）: 160.
- Kudo, N., T. Matsui and T. Okada. 2008. A novel interspecific hybrid plant between *Hydrangea scandens* ssp. *chinensis* and *H. macrophylla* via ovule culture. Plant Biotech. 25: 529-533.
- 黒川 恵・北風有里・上町達也・西尾敏彦. 1999. 額咲き×手鞠咲きアジサイのF₁における花房型の変異. 平成11年度園芸学会近畿支部研究発表要旨. 25.
- 間藤正美・佐藤孝夫・檜森靖則・柴田 浩・浅利幸男. 2004. トルコギキョウ新品種「秋試交1号」「秋試交2号」育成にあたり解明した花色・花形の遺伝様式とF₁の組合せ. 秋田農試研報. 44: 1-14.
- 松野孝敏・國武利浩・谷川孝弘・巢山拓郎・山田明日香. 2008. ヤマアジサイにおける着花特性に基づく栽培管理方法の確立. 園学研. 7: 189-195.
- McClintock, E. 1957. A monograph of genus *Hydrangea*. Proc. Calif. Acad. Sci. 9: 147-256.
- McClure, B. A., J. E. Gray, M. A. Anderson and A. E. Clarke. 1990. Self-incompatibility in *Nicotiana glauca* involves degradation of pollen rRNA. Nature 347: 757-760.
- 女鹿田博之・春木和久・北川 優・近重克幸. 2014. アジサイ新品種「万華鏡」, 「美雲」. 島根農業技研報. 42: 13-20.
- Michishita, A., K. Ureshino and I. Miyajima. 2001. Shortening the period from crossing to the seedling stage through ovule culture of interspecific crosses of azalea (*Rhododendron* spp.). J. Japan. Soc. Hort. Sci. 70: 54-59.

- Mizunoe, Y., S. Kubota, A. Kanno and Y. Ozaki. 2015. Morphological variation and *AGAMOUS*-like gene expression in double flowers of *Cyclamen persicum* Mills. Hort. J. 84: 140-147.
- Morgan, E. R., G. K. Burge, J. F. Seelye, J. E. Grant and M. E. Hopping. 1995. Interspecific hybridization between *Limonium perigrinum* Berguis and *Limonium purpuratum* L. Euphytica 83: 215-224.
- 森田正勝・岩本重治・樋口春三. 1978. 観賞樹木の生育に及ぼす温周性と光周性の相互影響. 第2報. ハイドラングジャの栄養生長期における温度と日長がその後の開花に及ぼす影響. 園学雑. 47: 71-78.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15: 473-497.
- Niimi, Y., M. Nakano and K. Maki. 1996. Production of interspecific hybrids between *Lilium regale* and *L. rubellum* via ovule culture. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 64: 919-925.
- Nishijima, T., T. Niki and T. Niki. 2016. A novel “petaloid” mutant of torenia (*Torenia fournieri* Lind. Ex Fourn.) bears double flowers through insertion of the DNA transposon *Tf1* into a C-class floral homeotic gene. Hort. J. 85: 272-283.
- 西尾 剛・岡崎桂一. 2001. 花の品種改良入門. p. 32-37. 誠文堂新光社. 東京.
- Nugent, P. E. and R. J. Snyder. 1967. The Inheritance of floret doubleness, floret center color, and plant habit in *Pelargonium hortorum* Bailey. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 91: 680-690.
- Okazaki, K. and K. Hinata. 1987. Repressing the expression of self-incompatibility in crucifers by short-term high temperature treatment. Theor. Appl. Genet. 73: 496-500.
- 岡崎桂一・村上欣治. 1992. チューリップの自家不和合性の打破に及ぼす開花時期ならびに柱頭切除および高温処理の影響. 園学雑. 61: 405-411.
- 小野崎 隆. 2015. 育種と繁殖. p 80-93. 腰岡政二編著. 花卉園芸学の基礎. 農文協. 東京.
- 大場秀章. 2004. アジサイ属. p. 69-75. 塚本洋太郎総監修. 園芸植物大事典. 第1巻. 小学館. 東京.
- Piringer, A. A. and N. W. Stuart. 1958. Effects of supplemental light source and length of photoperiod on growth and flowering of hydrangeas in the greenhouse. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 71: 579-584.
- Post, K. 1942. Effects of daylength and temperature on growth and flowering of some florist crops. Cornell Univ. Agri. Exp. Sta. Bull. 787: 46-48.
- Reed, S. M. 2000. Compatibility studies in *Hydrangea*. J. Environ. Hort. 18: 29-33.
- Reed, S. M. 2005. Pollination biology of *Hydrangea macrophylla*. HortScience 40: 335-338.
- 坂本正次. 1988a. ミセスクミコ. 品種登録 1612.

- 坂本正次. 1988b. ブルーダイヤモンド. 品種登録 1613.
- 坂本正次. 2003. ポージブーケ グレイス. 品種登録 11551.
- Sampson, D. R. 1965. Breeding philadelphus for double flower, purple center and low stature. *Euphytica* 14: 157-160.
- Saunders, E. R. 1917. Studies in the inheritance of doubleness in flowers, II. *Meconopsis*, *Althaea* and *Dianthus*. *J. Genet.* 6: 165-184.
- Shanks, J. B. and C. B. Link. 1951. Some studies on the effects of temperature and photoperiod on growth and flower formation in hydrangea. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 58: 357-366.
- 柴田道夫, 間 竜太郎, 岸本早苗・谷川奈津・小野崎 隆・家弓實行. 2004. ツバキとヒメサザンカとの種間交雑によるつばき農林4号‘姫の香’の育成経過とその特性. 花き研報. 4. 1-11.
- 清水良泰. 2002a. 品種・系統と栽培特性 (アジサイ). p. 32-34. 農業技術大系花卉編. 第11巻. 花木. 農文協. 東京.
- 清水良泰. 2002b. 生育過程と技術 (アジサイ). p. 42-42 の 7. 農業技術大系花卉編. 第11巻. 花木. 農文協. 東京.
- 志佐 誠・万豆剛一・桜井 博・木村敬助. 1955. チューリップの育種学的研究. p. 1-71. 志佐誠編著. 輸出球根に関する研究. 誠文堂新光社. 東京.
- 巢山拓郎・谷川孝弘・山田明日香・松野孝敏・國武利浩. 2007. 種間交雑によるアジサイ新系統‘福花6号’, ‘福花7号’, ‘福花8号’および‘福花9号’の育成. 園芸学会九州支部研究集録. 15: 43.
- 巢山拓郎・谷川孝弘・山田明日香・松野孝敏・國武利浩. 2008a. *Hydrangea serrata* (Thunb.) Ser.と *Hydrangea macrophylla* (Thunb.) Ser.との交雑親和性の解明と胚珠培養による雑種獲得の効率化. 園学研. 7: 337-343.
- 巢山拓郎・谷川孝弘・山田明日香・佐伯一直・中村知佐子・國武利浩・松野孝敏. 2008b. ハイドラングア装飾花の一重および八重咲きの遺伝. 園学研. 7 (別2): 293.
- 巢山拓郎・谷川孝弘・山田明日香・松野孝敏・國武利浩. 2009. 多花性のアジサイ新系統‘福花13号’および八重・手まり咲き系統‘福花14号’, ‘福花15号’の育成. 園芸学会九州支部研究集録. 17: 74.
- 巢山拓郎・谷川孝弘・山田明日香・松野孝敏・國武利浩. 2010. 胚珠培養および開花調節によるアジサイ種間雑種の育成年限短縮. 園学研. 9: 387-394.
- 巢山拓郎・谷川孝弘・山田明日香・松野孝敏・國武利浩・佐伯一直・中村知佐子. 2013. 蕾受粉および温湯処理によるアジサイ種間雑種の自家不和合性打破. 園学研. 12: 343-349.
- Suyama, T., T. Tanigawa, A. Yamada, T. Matsuno, T. Kunitake, K. Saeki and C. Nakamura. 2015. Inheritance of the double-flowered trait in decorative hydrangea flowers. *Hort. J.* 84: 253-260.

- Tanaka, N., A. Ureshino, N. Shigeta, N. Mimida, S. Komori, S. Takahashi, Y. Tanaka-Moriya and M. Wada. 2014. Overexpression of *Arabidopsis FT* gene in apple leads to perpetual flowering. *Plant Biotech.* 31: 11-20.
- 徳元正和・田部井 豊・萱野暁明・屋 宏典・岩崎公典・知念 功. 2000. パパイヤ未受精胚珠からの不定胚誘導と植物体再生. *園学雑.* 69: 195-201.
- Uemachi, T., Y. Kato and T. Nishio. 2004. Comparison of decorative and non-decorative flowers in *Hydrangea macrophylla* (Thunb.) Ser. *Sci. Hort.* 102: 325-334.
- Uemachi, T., M. Kurokawa and T. Nishio. 2006. Comparison of inflorescence composition and development in the lacecap and its sport, hortensia *Hydrangea macrophylla* (Thunb.) Ser. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 75: 154-160.
- Uemachi, T. and A. Okumura. 2012. The inheritance of inflorescence types in *Hydrangea macrophylla*. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 81: 263-268.
- Waddington, C. H. 1929. Pollen germination in stocks and the possibility of applying a lethal factor hypothesis to the interpretation of their breeding. *J. Genet.* 21: 193-206.
- 和氣貴光・小玉雅晴・飯郷雅之・黒倉 健・奈島賢児・山本俊哉・中山真義・生井 潔・八木雅史. 2015a. アジサイの連鎖地図の構築. *園学研.* 14 (別 1): 406.
- 和氣貴光・小玉雅晴・八木雅史・阿久津 翠・田邊雄太・中山真義・生井 潔. 2015b. アジサイの八重咲き性および手まり咲き性に関する連鎖解析. *園学研.* 14 (別 2): 253.
- 渡辺 均・安藤敏夫・國分 尚・塚本達也・G. Hashimoto・E. Marchesi. 2002. ペチュニアと近縁属の遺伝資源解析. *園学雑.* 71 (別 1): 292.
- 八木和弘. 1994a. 原産と来歴 (アジサイ). p. 25-26. *農業技術大系花卉編. 第 11 巻. 花木.* 農文協. 東京.
- 八木和弘. 1994b. 生育と生理・生態 (アジサイ). p. 26-30. *農業技術大系花卉編. 第 11 巻. 花木.* 農文協. 東京.
- 山田彬雄・岩政正男・西浦昌男・七條寅之助. 1979. カンキツの育種年限短縮に関する研究. I 接ぎ木による実生の開花結実の促進. *果樹試報 B.* 6: 1-30.
- 山本武臣. 1996. アジサイの系統と品種. *新花卉.* 169: 20-25.
- 谷田部元照. 2009. 花火 宝石箱. 品種登録 18046.
- 吉田義雄・定盛昌助・土屋七郎・羽生田忠敬. 1970. リンゴの育種技術に関する研究. 第 2 報 高つぎによる育種年限短縮と無毒穂木獲得について. *園試報 C.* 6: 1-9.

福岡県農林業総合試験場特別報告
第8号

アジサイ属植物の種間交雑における
育種技術に関する研究

発 行 平成30年3月

福岡県農林業総合試験場
〒818-8549 福岡県筑紫野市大字吉木587
TEL 092-922-2971

著 者 巢山 拓郎

印刷所 よしみ工産株式会社
〒804-0094 北九州市戸畑区天神1丁目13番5号
TEL 093-882-1661

