

キンセンカ属の種間雑種植物の育成とその複二倍体植物の作出

宇次原清尚・木村 裕子

Hybridization of '*Calendula officinalis* and *C. arvensis*' and production of amphidiploid plant
Kiyohisa UJIHARA, Yuko KUMURA

要約：日本でキンセンカとして花壇や切り花用として普通に栽培されている *Calendula officinalis* とホンキンセンカと呼ばれる *C. arvensis* の種間雑種植物を得ることができた。この種間雑種植物は、核 DNA 相対値が両種のほぼ中間となり、不稔であった。また、花の大きさも中間の大きさを示した。この雑種植物を 0.1 % のコルヒチン処理することにより複二倍体植物を作出した。

キーワード：キンセンカ、*Calendula officinalis* *C. arvensis* 種間雑種、複二倍体

緒言

岐阜県の花き生産は、鉢花を中心として生産が急速に拡大しており、生産額は 90 億円である。鉢花生産は、全国第 3 位で、毎年新しい品目・品種が出されているが、価格が低迷し、生産環境は非常に厳しくなっている。

また、産地間競争が激しく、新品種が登場しても短期間で価格が下落し安定生産が図れない現状となっている。そのため産地間競争に打ち勝つためには、オリジナル品種の確保が必要となっている。

また、冬期における花壇はパンジーが主力で、変化に乏しい状況となっており、冬に露地でも開花する品目はほとんどない状況になっている。そこで、耐寒性が高く、冬でも咲き続ける花壇用品目の育成を目指した。

切り花として一般的でキンセンカと呼ばれている *Calendula officinalis* と、ヨーロッパ原産で耐寒性の高いホンキンセンカ *C. arvensis* (日本では冬知らずとして良く知られている) の交雑により耐寒性を備えた品種育成を行った。

材料および方法

平成 11 年に中国から無名実生の一重八重混合の黄色中輪品種を導入し、3 年間にわたり選抜固定を図り黄色一重系統 (*C. officinalis* 以下 キンセンカ) を育成した。平成 13 年にこのキンセンカを雌親にホンキンセンカ (*C. arvensis*) を交配した。

多数の交配を行った結果、3 粒の種子を得ることができた。平成 14 年にこの 3 粒を播種し、1 個体を得ることができた (以下 交雑系統と呼ぶ)。この個体は、自

家受精を行ったが不稔で種子を得ることができなかったため挿し木により増殖を図った。

交雑系統は挿し木による増殖は極めて容易で、低温期においても 96 % の高い発根率を示した (表 1)。しかし、発根した個体の中には芽を吹かない個体が 1 割程度発生した。

挿し木繁殖も十分可能であるが、種子繁殖で効率的に増殖するための染色体の倍加を試みた。挿し木によって増殖した個体 20 株を、0.1 % コルヒチン溶液に 3 時間浸漬した。浸漬は、根を洗った植物体の根以外をコルヒチン溶液に漬け込む方法で行った。

処理後 20 株を 10.5cm ポリポットに鉢上げし、うち 19 株が生存した。19 個体すべてに種子稔性を回復した枝ができた。種子稔性を回復した枝としなかった枝を挿し木により増殖した。

得られた種子を播種し倍加個体と思われる個体を得た。

表 1 交雑系統の挿し木発根率

挿し木日	1月19日
処理	オキシベロン 0.5% 粉衣
調査日	2月10日
供試個体数	50 個体
発根株数	48 個体
発根率	96 %

・ミスト室使用

・用土 調整ピート

結果及び考察

1 交雑系統の形態

交雑系統は挿し木により、ホンキンセンカは種子からそれぞれ 15cm ポリポットで栽培し平成 16 年 1 月に特性を調査した (表 2、図 1、2、3、4)。

表 2 交雑系統とホンキンセンカの特性比較 (調査日平成 16 年 1 月)

形質	交雑系統	ホンキンセンカ
草型	半灌木性	灌木性
草丈	30.5 cm	15.5 cm
茎長	50.3 cm	33.0 cm
節間長	3.8 cm	2.1 cm
葉長	5.1 cm	6.7 cm
葉幅	2.9 cm	2.5 cm
花の大きさ	3.7 cm	2.3 cm
花蕾数	17.7 個	19.3 個
花卉先端の色	No. 2205 鮮橙黄	No. 2205 鮮橙黄
花卉の裏面の色	No. 1906 鮮黄橙	No. 1906 鮮黄橙
管状花部の大きさ	9.0 mm	7.0 mm
花卉長	19.2 mm	14.2 mm
花卉幅	4.2 mm	3.3 mm
舌状花数	24.6 個	21.8 個
管状花数	54.0 個	36.3 個
種子発性	無	有



図 1 キンセンカ



図 2 ホンキンセンカ



図 3 交雑系統



キンセンカ 交雑系統 ホンキンセンカ

図 4 花の大きさ

- (1) 育成キンセンカは立性で草丈は 70cm 程度に伸びるのに対し、ホンキンセンカは 15cm 程度の這性である。交雑系統はホンキンセンカに比べやや立性で草丈は 30cm 程度と高くなった。
- (2) 交雑系統の葉の形態は冬知らずに近かった。
- (3) 花の大きさは育成キンセンカが直径 7.1cm、ホンキンセンカが 2.3cm に対し 3.7cm と冬知らずの 1.6 倍の大きさであった。交雑系統はホンキンセンカに比べ舌状花数は多くなり、花卉長は長くなった。花卉の色は同じであった。

2 染色体倍加のためのコルヒチン処理濃度

挿し木により増殖した交雑系統を、コルヒチン濃度 0.01、0.05、0.1% の溶液に、1、2、3 時間浸漬処理を行った後、3 号ポリポットに植え付けた。

開花後、着粒数、充実種子粒数を調査した (表 3)。

表 3 コルヒチン処理と着粒数

処理	処理濃度 (%)	供試株数	着粒株数	着粒数	シイナ	充実粒数	着粒率 (%)
無処理		11	3	7	7	0	0
	0.01	6	3	5	7	0	0
	0.05	6	3	13	7	6	46
1 時間	0.10	6	4	27	13	14	52
	0.01	6	3	6	5	1	17
	0.05	6	3	7	6	1	14
2 時間	0.10	6	2	7	2	5	71
	0.01	6	2	4	0	0	0
	0.05	6	2	8	3	5	63
3 時間	0.10	6	4	7	5	2	29

- (1) コルヒチン処理しない個体でも、着粒は見られたがすべて、シイナであった。
- (2) 0.01% では 2 時間処理で 1 粒種子が得られた。
- (3) 0.05、0.1% では処理時間にかかわらず種子が得られ、明確な濃度と処理時間が確定できなかった。

以上の結果、種間雑種植物のコルヒチン処理により稔性が回復し、種子を得ることが可能であった。処理濃度は 0.1% 程度で 2 から 3 時間の浸漬処理が適していると考えられた。予備試験で 5 月に、0.1%、3 時間処理を行った結果、すべての個体で着粒が認められており、コルヒチン処理時期が 12 月 23 日と低温期であったため処理効果が明確でなかったことが考えられる。温度が低い時期では、処理の効果が十分得られない可能性があるため、生育の旺盛な条件で行う必要があると思われる。

3 DNA 量

キンセンカ、ホンキンセンカ、交雑系統、コルヒチン処理系統、コルヒチン処理系統の F1、F2 の葉片を用いて核 DNA 量をフローサイトメーターにより測定した。

- (1) キンセンカの DNA 量を 100 とした場合、ホンキンセンカは 178 で、交雑系統の DNA 量は 135 となりほぼ理論値通りとなった (表 4、図 5)。
- (2) 交雑系統のコルヒチン処理個体の DNA 量は 271 で、交雑種の 2 倍となり染色体が倍加したと考えられた (表 4、図 6)。
- (3) コルヒチン処理を行っても種子の着かなかった枝から増殖した個体の DNA 量は交雑系統と同じであった (表 4)。

(4) コルヒチン処理個体の後代 F1、F2 では、コルヒチン

表4 フローサイトメーターによるDNA値と種子稔性

系統	実測値平均	対比	種子稔性
キンセンカ	92.22	100	高い
ホンキンセンカ	164.39	178	高い
交雑系統	124.23	135	無し
交雑系統コルヒチン処理	249.94	271	やや高い
交雑系統コルヒチン(無種子)	124.22	135	無し
交雑系統コルヒチン F1 C8	241.52	262	やや高い
交雑系統コルヒチン F1 C10	230.90	250	かなり低い
交雑系統コルヒチン F2 C10	249.40	270	
交雑系統コルヒチン F1 C18-1	263.36	286	高い
交雑系統コルヒチン F2 C18-1	263.36	286	

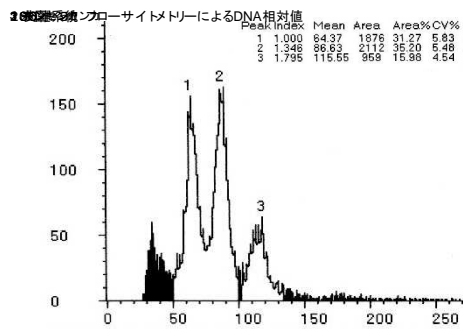


図7 交雑系統コルヒチン処理によるDNA相対値

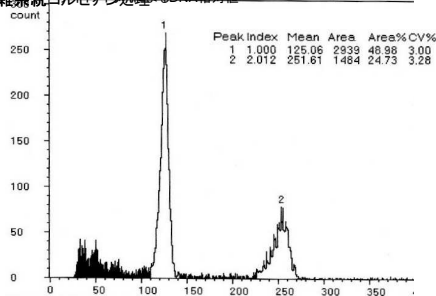


図8 交雑系統コルヒチン処理によるDNA相対値

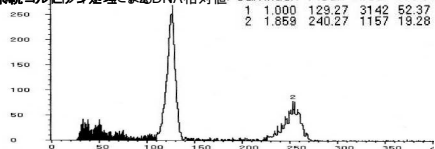
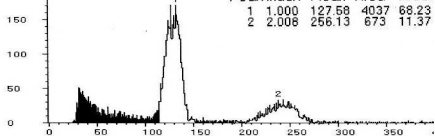


図9 交雑系統コルヒチン処理によるDNA相対値



ン処理個体に近い DNA 量ではあったが、バラツキが見られ、種子稔性にもバラツキが見られた (表4, 図7)。

以上のことから、*C. officinalis*と *C. arvensis* の DNA 量には明らかな違いがみられ *C. arvensis* が *C. officinalis* の2倍近い DNA 量を有しており、染色体数の違いもあると考えられ、交雑しにくいものと考え

られた。交雑系統のコルヒチン処理により複2倍体植物となっており、その後代も稔性があることから、種間雑種による複二倍体の新しい品種の作出が可能であると考えられる。

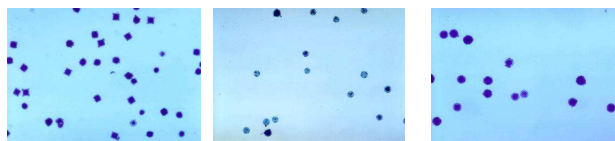
4 花粉稔性

花粉稔性は、育成キンセンカ、ホンキンセンカ、交雑系統、コルヒチン倍加系統およびその後代を用い、開花直後の花から花粉を採取し、コットンブルーで染色し検鏡した。

- (1) キンセンカ、ホンキンセンカは100%の花粉稔性で、種子稔性も極めて高かった (表5, 図8)。
- (2) 交雑系統では花粉稔性は19%と低く、種子は付かなかった。交雑系統のコルヒチン処理個体では花粉稔性が84%となり、かなりの種子を得ることができた。
- (3) 交雑系統のコルヒチン処理のF1では、花粉稔性が、39%~93%と大きな幅があり種子もほとんど付かない個体からかなり高い稔性を示すものまであった。
- (4) 交雑系統のコルヒチン処理系統では花粉の大きさはホンキンセンカに比べかなり大きかった。

表5 花粉稔性と種子稔性

系統	正常花粉(%)	種子稔性
ホンキンセンカ	100	高い
キンセンカ	100	高い
交雑系統(キンセンカ×ホンキンセンカ)	19	無し
交雑系統コルヒチン処理 稔性系統	84	やや高い
交雑系統コルヒチン処理 不稔系統	27	無し
F1 C10 不稔系統	66	かなり低い
F1 C15 不稔系統	39	ほとんど無し
F1 C18-2 稔性系統	92	やや高い
F1 C3 稔性系統	93	やや高い



ホンキンセンカ

交雑系統

交雑系統コルヒチン処理 F1

図8 花粉稔性

以上の結果、交雑系統では種間雑種のため花粉稔性、種子稔性がほとんど無くなるが、コルヒチン処理により稔性が回復し、複二倍体の後代を得ることが可能で、種間雑種の新しい品種の育成が可能であると考えられる。

5 染色体数

染色体数は、根端を 0.1% コルヒチン溶液に 1 時間浸漬後、45% 酢酸に 10 分間浸漬し固定した。固定した根端を暖めた 3% 塩酸で細胞を解離し酢酸オルセイン溶液で染色し検鏡した。

- (1) 染色体数はキンセンカが $2n=28$ 、ホンキンセンカが $2n=40$ 交雑系統は $2n=34$ で、キンセンカとホンキンセンカの交雑が確認された (図 4)。
- (2) 交雑系統のコルヒチン処理した稔性の高い個体の染色体数は $2n=68$ でキンセンカとホンキンセンカの複二倍体であることが確認できた (図 4)。

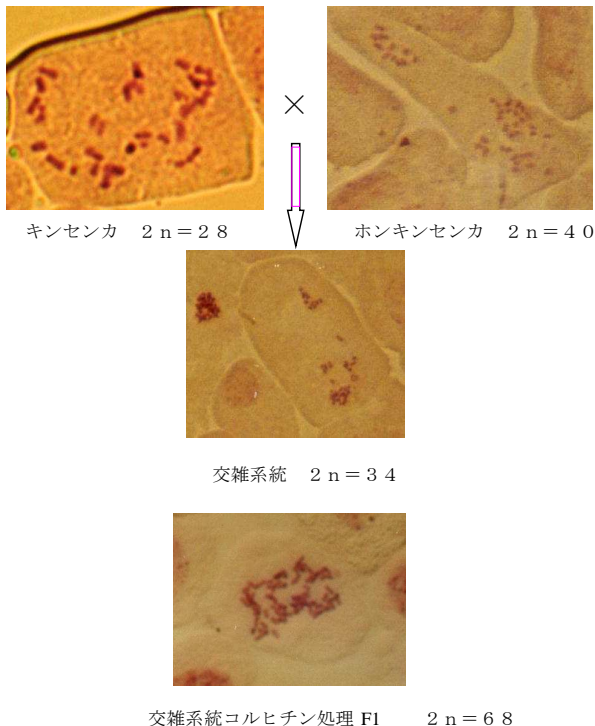


図 9 染色体

以上の結果、染色体数は、キンセンカ $2n=28$ 、冬知らず $2n=40$ で交雑種は $2n=34$ で理論値通りとなり、核 DNA 量の結果とも一致した。コルヒチン処理による染色体の倍加も確認できた。

6 複二倍体植物の特性

交雑系統のコルヒチン処理による複二倍体植物を自家受粉により F3 世代まで進め、F3 世代で選抜を行い 10 系統から種子を得た。選抜した 10 系統からさらに F4 世代で 2 系統を選抜した。

- (1) F3 世代における稔性は系統間で差が見られた。
- (2) F4 世代 10 系統の中から這い性で、花壇苗として適した 2 系統を選抜した。
- (3) 選抜系統はいずれもホンキンセンカに比べ花の大き

さが 2.5 倍と大きく鑑賞性は優れていた。

- (4) 花の色はホンキンセンカと同様であった。
- (5) 葉の大きさは、ホンキンセンカに比べ形態的には同じであるが非常に大きかった。
- (6) 種子稔性は、ホンキンセンカは自然受粉により多量の種子を着けるのに対し、育成系統はいずれも放任では種子の着きは悪かった。

表 6 育成系統の特性

系統名	花の径 cm	花弁長 cm	花弁幅 cm	花芯の径 cm	葉長 cm	葉幅 cm
1-1-1	3.1	1.7	0.5	0.9	10.6	2.2
2-3-1	3.1	1.5	0.5	0.9	9.2	2.7
ホンキンセンカ	2.1	1.5	0.3	0.5	2.7	0.8



図 10 草姿 (1-1-1)

交雑系統 1-1-1 2-3-1 ホンキンセンカ

図 11 花の形態

以上の結果、育成系統複二倍体系統は冬知らずによく、種子が付き難いため草勢が衰えにくい特性がある。耐寒性は冬知らずよりやや弱い、冬季の品目として十分使えると思われる。

総合考察

冬を彩る花壇用品目は少なく、新たな品目や品種の開発は重要と考えられる。今回取り組んだ *Calendula* 属は、カナリア諸島からペルシャにかけて 15 種が分布している。ホンキンセンカ (*Calendula arvensis*) はヨーロッパ原産で耐寒性が強く、キンセンカ (*Calendula officinalis*) は南ヨーロッパ原産で品種改良が進み花壇や切り花用として最も普通に栽培されているがホンキンセンカに比べると耐寒性は劣る。ホンキンセンカは品種の分化が進んでおらず、花が小さく這い性である。一方、キンセンカは一般的に立性で花が大きく、品種の分化が進んでいる。この 2 種の交配はできないが、染色体数がホンキンセンカが $2n=40$ であるのに対しキンセンカは $2n=28$ で、染色体数が異なるためである。これらの種の分化に関する文献は見当たらない。

本研究では、たまたまホンキンセンカとキンセンカの交雑に成功したが、一般的には交雑不能である。交雑系統は、挿し木による増殖が可能で、花壇用品種として利

用可能である。また、種子ができないため長期間連続して開花しても樹勢が衰えないメリットも有している。しかし、挿し木増殖のため苗の草型が安定しないという欠点がある。

交雑系統のコルヒチンによる染色体倍加は容易にでき、種子繁殖による複2倍体植物が育成できた。この複2倍体植物は、ホンキンセンカの特性を有し、花が2倍近く大きいため、ホンキンセンカに対抗できる品種として期待される。

現在、*Calendula maritima* を保有しているが、キンセンカと容易に交雑し、フローサイトメーターによるDNA量においてもほぼ同じであった。この種はイタリアのシチリア島のみで生育しており、葉は照り葉で細く、耐寒性も強く、這い性でキンセンカとは大きく異なっている。花は黄色の単色で大きさは3cm程度と小さい。また、うどんこ病にも強い特性を有している。キンセンカの品種の多様性に*Calendula maritima* の特性を導入することにより、新たな*Calendula* 属の品種育成が可能と考えられる。

ABSTRACT

I was able to get an interspecific hybrid plant of *Calendula arvensis* and *Calendula officinalis*. This interspecific hybrid plant a nucleus DNA relative value of both kinds almost became the middle.

In addition, the size of the flower showed middle size, too. Because colchicine of 0.1% treated this mongrel plant, I created allotetraploid plants.

KEYWORDS

Calendula officinalis, *C. arvensis*, interspecific hybrid, allotetraploid