

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 6月22日現在

機関番号：83204

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21580049

研究課題名（和文） 三倍体古典園芸植物センノウの起源の解明及び胚珠培養による自殖後代の育種の利用

研究課題名（英文） Studies on the origin of triploid *Lychnis senno*, and on utilization of self-pollinated progenies of the plant for breeding.

研究代表者

神戸 敏成 (GODO TOSHINARI)

財団法人花と緑の銀行・中央植物園部・主任研究員

研究者番号：00393108

研究成果の概要(和文):日本に現存するセンノウはすべて三倍体で、1クローンと考えられる。その起源を解明するために国内外の近縁種と葉緑体 DNA を比較したところ、中国浙江省に自生する種と一致し、この種が三倍体センノウの成立に関与した可能性があることが明らかになった。また、三倍体植物は一般に花粉稔性が低く、育種に利用されることはないが、三倍体センノウでは自殖により様々な形質の後代が得られ、育種への利用が可能であることが明らかになった。胚珠培養により種間雑種も得られているが、ほとんどの雑種が葉緑体欠損株であった。

研究成果の概要(英文): All plants of *Lychnis senno* existed in Japan are triploid, and are considered to be the same clone. In order to clarify the origin, the chloroplast DNA (PS-ID sequence) of *Lychnis senno* and those of related taxa was compared. As a result, the DNA of a wild species from Zhejiang province, China was identical with that of *Lychnis senno*. Thus the Chinese wild species is considered to be concerned in formation of triploid *Lychnis senno*. Generally triploid plant has low pollen fertility, and has not been utilized for breeding. However, in triploid *Lychnis senno*, progenies with various characters were obtained by self-pollination, they are considered to be favorable materials for breeding. Although some interspecific hybrids have been obtained by ovule culture, almost all hybrids showed chlorophyll-deficiency.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学、園芸学・造園学

キーワード：三倍体

## 1. 研究開始当初の背景

センノウは愚管記(1378)にその記述が認められることから、日本へは600年以上前に中国から渡来したと考えられているナデシ

コ科の植物である。しかし、その起源については明らかになっていない。日本では国の重要文化財である浜松図屏風をはじめ、現存す

多くの美術品や文献などから室町時代には盛んに栽培されていたと推測されている。近年は植物学者でさえ見たことがなく、日本からは消失してしまった「幻の植物」と考えられていたが、1990年代に島根県で栽培されていることが確認された。その後、西日本の中国地方及び九州の10ヶ所において13系統が現存していることがこれまでに確認されている。センノウは盛夏に深紅色の大きな花が咲き、非常に園芸的価値が高い植物であるが、結実しないことから株分けのみで増殖されてきた。結実しない理由として当初は自家不和合性を考えていたが、これまでの研究で日本に現存するものはすべてが $2n=36$ の三倍体であることが明らかになった。これらの三倍体間には形態的に変異が見られないことからクローン植物であると考えている。一般に三倍体植物は二倍体植物に比べ、花が大きくなるなど園芸的価値が高まることが知られ、これまでに多くの植物で三倍体園芸品種が作出されている。しかし、三倍体植物は花粉稔性が低く、育種に利用されることは極めて稀である。センノウも長い間、花卉園芸植物として栽培されながら、これまでは育種にまったく利用されることはなかった。

この三倍体センノウはこれまでの研究で、70%程度の花粉稔性を持つこと (Godo et al. 2004)、さらに自家受粉により結実することがあり、1果実あたり約5個の種子が得られることも明らかになった(神戸・中田 2004)。三倍体の自殖により得られた種子の発芽は困難なことが予想されたが、遠縁交雑による雑種植物を獲得するために用いられている胚珠培養などを用いることにより、頻度は高くないものの後代が得られることも明らかになっている(神戸・中田 2004)。染色体の基本数が12であるセンノウの場合、理論的には三倍体の自殖後代では $2n=24\sim 72$ の個体 that 得られると考えられる。これまでに調査した中から1個体ではあるが二倍体と同じ

24本の染色体を持つ個体も見出されている。現存する三倍体センノウは中国産の二倍体種から中国で成立したとする説と日本で成立したとする説があるが、いずれも科学的根拠はない。また、雑種起源である可能性もある。本研究において三倍体植物の自殖により得られる二倍体植物は花粉稔性が回復する可能性があり、これがセンノウの起源種推定に大きな役割を果たす可能性がある。我々はすでに日本産センノウ属との種間交雑による雑種を獲得し、その解析を進めている(宮崎ら 2007)。さらに、中国浙江大学との共同調査により、中国浙江省に自生するセンノウに極めて近縁な野生種を確認している。これらの解析から得られる情報を総合し、日本に現存する三倍体センノウの起源を明らかにできる可能性が高い。また、本種の花弁園芸植物としての価値はきわめて高く、本研究の中で得られる三倍体センノウの自殖後代や種間雑種はその鑑賞価値を生かした新たな園芸植物開発の素材としての有効利用も期待されている。

## 2. 研究の目的

### (1) 三倍体センノウの起源の解明

日本に現存する三倍体センノウと日本および中国、ロシア原産のセンノウ属野生種についてDNA解析を行い、さらに三倍体センノウを含むセンノウ属内での種間交雑を行い、DNAの解析結果および交雑親和性により三倍体センノウを含めたセンノウ属の類縁関係を明らかにする。

### (2) 三倍体センノウの育種的利用

三倍体センノウの自殖後代の染色体数を明らかにし、理論的に予想される $2n=24\sim 72$ の後代の染色体数がランダムに生じるのか、生じやすい特定の染色体数があるのかを明らかにする。中でも二倍体や三倍体、四倍体が

得られる頻度を明らかにする。花粉の染色性による花粉稔性を明らかにし、花粉稔性の回復や染色体数との関係を明らかにする。

形質調査では自殖後代の草姿、葉の大きさおよび花型等の評価を行い、三倍体センノウ自殖後代の園芸的価値を検証し、三倍体センノウの育種的利用の可能性を検討する。さらに、三倍体センノウの起源の解明のために行った種間交雑により得られた種間雑種においても園芸的価値を検証し、三倍体センノウの育種的利用の可能性を検討する。

### 3. 研究の方法

#### (1) 三倍体センノウの起源の解明

三倍体センノウの起源を探る上で重要な中国に自生するセンノウ属植物の調査を中国の浙江大学と共同で行うとともに、日本各地に現存するセンノウおよび日本産センノウ属の収集し、葉緑体DNAのPS-ID領域の解析を行った。植物材料は富山県中央植物園で栽培している三倍体センノウ2系統および近縁種のアメリカセンノウ (*L. chalconica*) 1系統、ガンピ (*L. coronata*) 4系統、エゾセンノウ (*L. fulgens*) 1系統、オグラセンノウ (*L. kiusiana*) 4系統、エンビセンノウ (*L. wilfordii*) 4系統、マツモトセンノウ (*L. sieboldii*) 3系統、中国産野生種 (*L. cf. senno*) 1系統、オトメセンノウ (*L. × haageana*) 2品種、アカバナガンピ (*L. cv.*) 1系統およびフシグロセンノウ (*L. miqueliana*) 4系統を用いた。中国産野生種以外は葉から、中国産野生種はカルスからCTAB法によりDNAを抽出した。抽出したDNAをテンプレートとして定法に従いPCR反応を行い、増幅されたDNA断片を精製しダイレクトシーケンス法によりPS-ID配列の解析を行った。

交雑親和性については三倍体センノウを含

むセンノウ属内で種間交雑を行い、雑種植物を獲得するために胚珠培養を行った。結実率および発芽率、雑種植物の形質等により類縁関係を推測した。

#### (2) 三倍体センノウの育種的利用

①自殖後代の染色体解析：自殖により得られた後代植物のうち未算定の個体について、根端を用いて、オルセイン染色による押しつぶし法による染色体観察を行った。

②自殖後代の花粉稔性：開花に至った自殖後代約 80 系統を用いて、花粉稔性についての調査を行った。花粉稔性はトルイジンブルーによる染色性で判断した。さらに、開花株の第一花～第三花の花粉100粒の粒径を測定することで、花粉の大きさを測定した。

③自殖後代の形質：富山県中央植物園の同一温室で栽培し、開花期に1：草丈、2：開花日、3：花径、4：葉の大きさ、5：節間長について計測を行った。さらに、草姿および花色についての調査を行い、園芸的価値の評価を行った。

④種間雑種の形質：種間交雑により得られた三倍体センノウと近縁種または三倍体センノウ以外の交配で得られた種間雑種について評価を行った。

### 4. 研究成果

#### (1) 三倍体センノウの起源

三倍体センノウのPS-ID配列は、中国浙江省産のセンノウ属野生種のみと一致し、その他の近縁種とは1塩基以上の違いが認められた(図1)。この結果は、日本に現存する三倍体センノウが中国浙江省産のセンノウ属植物の三倍体またはこの植物を母親にした雑種であることを示唆している。形態的にもこの中国産野生種は日本に現存する三倍体センノウと類似点が多い。日本産野生種の

エゾセンノウおよびオグラセンノウ、エンビセンノウ、マツモトセンノウの4種は同じPS-ID配列を持ち、比較的近縁であることが明らかになった。また、ガンピでは異なるPS-ID配列を持った2系統が存在することが明らかになった。さらに、フシグロセンノウでは、他の近縁種と比較して8塩基の反復配列が関与すると考えられる38bpの挿入または欠失配列が認められるなど、新たな研究課題も見つかった。

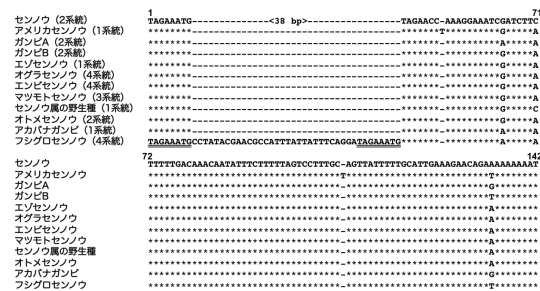


図1 センノウおよびセンノウ属近縁種のPS-ID配列のアライメント

\*: 同じ塩基, -: 欠失, 二重下線: 反復配列

三倍体センノウを用いた種間交雑ではオグラセンノウ、エゾセンノウ、マツモトセンノウ、フシグロセンノウを交配親に用いた場合に種子が得られ、雑種植物が得られたのはオグラセンノウおよびマツモトセンノウを交配親に用いた場合のみであった。形態からもこの2種は三倍体センノウに比較的近縁と思われる。しかし、オグラセンノウを交配親に用いた雑種植物はすべて葉緑体欠損であり、マツモトセンノウを交配親に用いた場合は緑化した雑種が得られたものの正常な根の育成が見られず、順化までに至っていない。

以上のように、日本に現存する三倍体センノウの成立には中国浙江省産に自生する野生種が関与した可能性が高いことが明らか

になったが、起源の解明までには至っていない。今後は核DNAの解析などを行うことで三倍体センノウの起源がより明らかになると考えられる。

## (2) 三倍体センノウの育種的利用

2n=36の三倍体センノウの自殖後代80個体の染色体数を明らかにしたところ、最も少ないものが二倍体の染色体数に相当する2n=24で、最も多いものは2n=55であった。2n=24の染色体数を持つ系統が3系統(3.8%)、三倍体相当である2n=36の染色体数を持つ系統が5系統(6.3%)見ついている。しかし、四倍体相当の2n=48の染色体を持つ系統は得られていない。80個体のうち17個体が染色体数24~26に集中し、33~36、43~45に染色体数のピークがあり、自殖後代の染色体数はランダムではなく、偏りが存在していると考えられる。非常に興味深い結果であり、今後は、減数分裂の観察や生殖細胞の核DNA量を測定することにより、この現象の詳細を明らかにすることができるかもしれない。花粉稔性は親株であるMS系統の2010年と2011年の花粉稔性が70.0%と75.7%であったのに対し、後代では2010年が1.2~94.5%、2011年が5.0~98.2%であった。稔性が高い個体の花粉サイズは比較的均一で、稔性が低い個体の花粉サイズはバラツキが大きい傾向があった。染色体数と花粉稔性の関係を見ると、80%以上の高い花粉稔性を示した個体は二倍体相当の2n=24および四倍体相当の2n=48前後に集中していた(図4)。2n=24の染色体を持つ3系統の2010年および2011年の花粉稔性は、系統番号1:未開花、87.5%、系統番号22:81.8%、81.1%、系統番号56:94.5%、97.5%で、比較的高い花粉稔性を示した。二倍体と同じ染色体数をもつ個体については交配実験を行

い、ゲノム構成と生殖能力の回復について明らかにしておく必要がある。

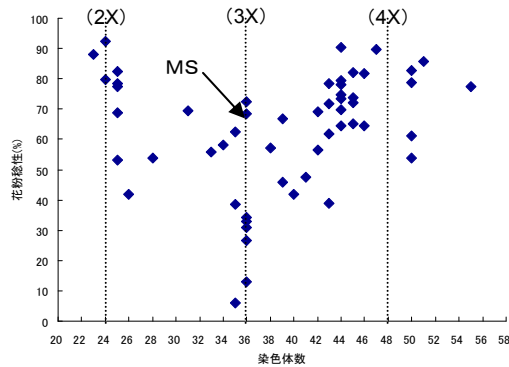


図2 三倍体センノウ後代の染色体数と花粉稔性の関係

自殖後代の形質では、第一花の開花は親株のMS系統が7月27日であったのに対し、最も早い系統で7月15日、最も遅い系統では9月26日で、開花に至らなかった系統もあった。草丈はMS系統が48.5cmであったのに対し、19cmから93cmの間であった。花径はMS系統が43.2mmであったのに対し、最小の個体で18.9mm、最大の個体で54.0mmであった。草姿は節間が詰まり矮性になった個体や節間が伸び匍匐もしくは垂れ下がるような個体も見られた(図3)。



図3 左：交配親の三倍体センノウ、右：矮性個体

また、花色はほとんどが親株であるMS系統と同じ鮮紅色であったが、2個体はオレンジ色の花が咲き、花色は安定していた(図4)。

以上のように、調査を行ったすべての形質



図4 左：交配親の三倍体センノウの花、右：オレンジ色の花

において変異に富んでいることが明らかになった。これらの中には、矮性や匍匐性、花色の変化など園芸的に有用な形質が見られた。特に鉢物としての利用が期待できる矮性個体と花色にまったく変異がなかった中から作出されたオレンジ色の花色を持つ個体は園芸品種としての利用が期待される。

また、種間交雑では、三倍体センノウを交配親に用いた場合、雑種が得られてもそのほとんどが葉緑体欠損のために順化に至っていない。唯一マツモトセンノウを交配したものの中から、正常な成育ではないものの緑化する個体が見られているが、三倍体センノウを利用した種間雑種の育成は現時点では難しいと考えられる。また、三倍体センノウ以外を両親に用いた場合も得られる種間雑種の多くは葉緑体欠損であったが、これまでに正常な種間雑種が見られているマツモトセンノウとエゾセンノウの組み合わせのほかに、マツモトセンノウとエンビセンノウの組み合わせで正常な種間雑種が見られた。この種間雑種は現在まで開花に至っておらず、開花サイズまで成長した段階で形質調査を実施し、園芸的価値が高い個体があれば、増殖を行い利用を推進していく予定である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計2件)

- ① Nonaka, T., Oka, E., Asano, M., Kuwayama, S., Tasaki, H., Han, DS, Godo, T. & Nakano, M., Chromosome doubling of *Lychnis* spp. by in vitro spindle toxin treatment of nodal segments, *Scientia Horticulture*, 査読有, 129, 2011, 832-839
- ② 神戸敏成、中田政司、中野優、富田裕明、三位正洋、日本に現存するセンノウの特性と園芸的利用、*日本植物園協会誌*、査読無、第44号、2010、197-204

[学会発表] (計4件)

- ① 神戸敏成、富田裕明、中田政司、三倍体センノウ (*Lychnis senno* Siebold et Zucc.) の自殖後代における花粉の稔性およびサイズ、園芸学会平成24年度春季大会、2012年3月29日、大阪府立大学
- ② 神戸敏成・中村郁郎・高橋弘子・三位正洋・陳利萍・中田政司、日本に現存する三倍体センノウ (*Lychnis senno*) の起源に関する研究、園芸学会平成23年度秋季大会、2011年9月25日、岡山大学
- ③ 神戸敏成、富田裕明、中田政司、三倍体センノウ (*Lychnis senno* Siebold et Zucc.) の自殖後代の形質、園芸学会平成23年度春季大会、2011年3月20日、宇都宮大学
- ④ 中田政司、神戸敏成、富田裕明、三位正洋、三倍体古典園芸植物センノウ (*Lychnis senno* Siebold et Zucc.) の自殖種子から得られた個体群の染色体数構成、染色体学会第60回年会、2009年11月13日-14日、松江市「くにびきメッセ」

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況 (計◇件)

名称：  
発明者：  
権利者：

種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

[その他]  
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

神戸敏成 (GODO TOSHINARI)  
財団法人花と緑の銀行・中央植物園部・主任研究員  
研究者番号：00393108

(2) 研究分担者

中田政司 (NAKATA MASASHI)  
財団法人花と緑の銀行・中央植物園部・主任研究員  
研究者番号：40150859  
三位正洋 (MII MASAHIRO)  
千葉大学・園芸学研究科・教授  
研究者番号：30093074

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：