キレンゲツツジとの交雑における種子親に用いたクルメツツジの交雑能力

岡本章秀*・須藤憲一**

農業・生物系特定産業技術研究機構 九州沖縄農業研究センター野菜花き研究部 839–8503 久留米市御井町

Crossability of Kurume Azaleas as a Seed Parent for Hybridizing with *Rhododendron japonicum*
(A. Gray) J. V. Suringar f. *flavum* Nakai

Akihide Okamoto* and Kenichi Suto**

Department of Vegetable and Flower Research, National Agricultural Research Center for Kyushu Okinawa Region,
Kurume 839–8503, Japan

Crossability of Kurume azaleas (*Rhododendron obtusum* (Lindley) Planch.) as a seed parents, to hybridize with *R. japonicum* (A. Gray) J. V. Suringar f. *flavum* Nakai was tested based on the number of viable seedlings per pollinated flower (crossability). The traits of the seed parents, which produced the viable seedlings were recorded. Thirty-nine cultivars of Kurume azalea as seed parents were hybridized with a pollen parent of *R. japonicum* f. *flavum*. Seeds derived from 26 out of 39 crosses produced no viable seedling two years after sowing. The remaining 13 crosses yielded 0.2 to 23.2 viable seedlings per pollinated flower, indicating that the difference in the crossing capacity existed among the Kurume azalea cultivars. Stepwise fit and Bayesian approach revealed that the ovules penetrated by pollen tubes (fertilization rate) and the viable seedlings/the seedlings, excluding albinos, (survival rate) were related to the crossability. When the Kurume azalea cultivars possessed morphological leaf surface features which were similar to *R. macrosepalum* Maxim. and *R. ripense* Makino, the survival rate and the crossability were high. The data reveal that certain Kurume azaleas can serve as seed parents unilaterally with *R. japonicum* f. *flavum*.

Key Words: crossability, evergreen azalea, hybridization barrier, Kurume azalea, *Rhododendron japonicum*.

緒 言

クルメツツジ (*Rhododendron obtusum* (Lindley) Planch.) は福岡県久留米市において 1800 年代から実生選抜され栽培されてきた常緑性ツツジ品種群である(赤司, 1905)。現在 350 以上の品種があり, 主な用途は鉢植えであるが, 約 20 品種が露地用として生産され, 中小輪系ツツジの主要品種となっている。

常緑性ツツジ野生種には黄色の花をもつ種がないため (Galle, 1987), 現在のところ園芸品種に黄花品種は存在しない。ツツジ生産者はこの新奇な花色を有する品種が育成されれば, 新たな需要に繋がると期待している。黄花常緑性ツツジの作出を目的とした交雑育種では, 黄花形質の提供親として *Pentanthera* 亜属に属する落葉性のキレンゲツツジ (*R. japonicum* (A. Gray) J. V. Suringar f. *flavum*

Nakai) が用いられてきた(赤羽, 1997; 国重, 1978; Noguchi, 1932)。キレンゲツツジの花弁にはカロテノイド色素が存在するため, 花色が黄色となる (Spethmann, 1980)。Miyajima ら (2000) は常緑性ツツジ (ミヤマキリシマ (*R. kiusianum* Makino) ‘白花ミヤマキリシマ’ × サツキ (*R. indicum* Sweet) ‘博多白’) × キレンゲツツジから得られた雑種個体の花弁に β -カロチンが含まれ, この色素がキレンゲツツジから遺伝したことを示した。

しかし, 一般に常緑性ツツジと落葉性ツツジとの間には生殖隔離機構が存在するとされており, 常緑性ツツジとキレンゲツツジとの交雑では常緑性ツツジを花粉親に用いた場合は花粉管の伸長停止が起こり (Creech, 1955; Ureshino ら, 2000), 常緑性ツツジを種子親に用いた場合は種子形成不能, 不発芽, 白子の出現および緑色実生の発育停止等, 種々の交雑阻害を示す (赤羽ら, 1971; Noguchi, 1932; 田村, 1963)。

Okamoto・Suto (2004) は常緑性ツツジ × キレンゲツツジにおける交雑不和合の要因を明らかにすることを目的に, 常緑性ツツジ野生種 13 種 22 個体を種子親に用いてキレンゲツツジとの交雑を行った。その結果, 受精前

2005 年 1 月 14 日受付。2005 年 9 月 20 日受理。

* Corresponding author (E-mail: akioka@affrc.go.jp).

** 現在: 農林水産技術情報協会。

の交雑阻害として、花粉管の伸長停止および花粉管の胚珠への貫入失敗が、また受精後の交雑阻害として、胚珠の発育停止、発芽不能および夭折が認められた。また不和合の要因となる主な交雑阻害は交雑組合せ間で変異があり、その変異は種間というよりはむしろ個体レベルで異なることを明らかにした。また、このとき実施した交雑組合せ中には生存可能な実生が得られる場合があり、このことはキレンゲツツジとの交雑能力に優れた常緑性ツツジをスクリーニングすることが黄花常緑性ツツジを作出するための1つの手段になることを示唆している。

クルメツツジの花色は朱赤から紫の範囲および白、さらに淡黄をおびた白色の‘水の山吹’がある。これまでに黄花品種の作出を目的に、クルメツツジを含めたキシマツツジ×キレンゲツツジの交雑がいくつか試みられている。Noguchi (1932) はクルメツツジを含むキシマツツジ6品種を供試し、実生が得られてもその多くが葉緑素の形成阻害により夭折するが、‘桜きりしま’を用いた交雑から数個の生存可能な実生が得られ、3 cm 程度の大きさまで生育したと報告している。宮澤 (1922) はある特定の品種との間に実生が得られたが、2年目の夏に枯死したと述べている。

本報では、中小輪系の黄花常緑性ツツジの作出を目的とした交雑育種におけるクルメツツジの種子親としての有効性について、受精前および受精後交雑阻害の調査並びに交雑花当たりの生存実生数を交雑能力とし、それに影響を与える因子の特定、および生存可能な実生が得られる種子親の特性について検討した。

材料および方法

交雑材料

クルメツツジ栽培の始祖とされる坂本元蔵とその同好者により品種の作出が行われたいわゆる坂本時代 (1730～1859年) に作出されたクルメツツジ品種 (赤司, 1905) の中で、九州沖縄農業研究センター野菜花き研究部に保存されている58品種に関して、がく片が花弁化するため種子が形成されない二重花 (宮澤, 1940) 16品種および十分な交雑花数が得られなかった3品種を除く39品種を種子親に用いた。なお、これらの品種は染色体数およびフローサイトメータを用いた調査から二倍性であることを確認した (データ未掲載)。花粉親には大分県清田川で採取した種子由来のキレンゲツツジ1個体 (遺伝資源番号 27026136) を用いた。

交雑

ガラス室で鉢植えされているキレンゲツツジの開花日 (4月中旬) に葯を採集し、1.5 mL 容のサンプル管に入れた。サンプル管はデシケータに入れ、室温・暗黒条件で4月下旬まで保存した。交雑は4月中～下旬にガラス室で鉢植えされているクルメツツジを用い、開花直前に雄ずいを除去し、柱頭が粘液で覆われた時点で、1品種当

り13花に対してキレンゲツツジの花粉を交雑した。

胚珠への花粉管貫入の観察

交雑10日後に1品種当たり3花の子房を採取し、FAA (ホルマリン: エタノール: 酢酸 = 1: 18: 1 (v/v/v)) で24時間固定後、70% エタノール中に室温で保存した。固定した子房は38°C 下で1N 水酸化ナトリウムに24時間浸漬し、蒸留水で洗浄後、0.1% アニリンブルー溶液 (0.1N リン酸カリウムに溶解) で7時間室温で染色した。処理後、子房を2つに縦断し、各々から2, 3個の心皮をピンセットで取り出し、スライドガラス上に置き、カバーガラスを被せ軽く押し潰した。作成したプレパラートは蛍光装置を備えた光学顕微鏡 (ニコン ECLIPSE E400) を使用して、花粉管の貫入による胚珠の受精の有無を調査した。受精、不受精の判別は Williams ら (1982) の方法に従った。

種子の調整、播種および実生の栽培管理

10月中旬にさく果を採集し、各交雑組合せの結果率を算出した。さく果はデシケータ中で乾燥させ、裂開後、1果中の成熟種子数を1品種当たり5果について調査した。種子は、鹿沼土の表面をビートモスで覆った育苗箱 (51×36×10 cm) に11月中旬に播種し、寒冷紗で被覆した無加温ガラス室 (光合成光子束密度は日中の平均が屋外の15%程度) で管理した。12～2月に発芽数および子葉色を週1回調査した。子葉色は R.H.S. カラーチャートで計測し、141B に近似な色を緑、以下同様に 149B を黄緑、149D を淡緑、155B を白とした。

3月に別の無加温ガラス室 (寒冷紗で被覆しているため、光合成光子束密度は日中の平均が屋外の23%程度) に育苗箱を移動し、その後はこの場所で栽培した。

播種から2年後、正常に生育している実生数を算定した。また、Kobayashi ら (1996) の示した交雑実生の葉の毛じの特性に基づき実生の雑種性を判別した。すなわち、葉面の毛じの特性を観察し、向軸側に白色の開出毛が密生している個体をキレンゲツツジとの交雑実生とし、それ以外の個体は各調査項目の算定から除外した。

統計分析

調査した各形質の正規性を Shapiro-Wilk 法 (Shapiro・Wilk, 1965) を用いて検定し、正規性が認められなかったものについては変数変換を行った。

交雑能力と各交雑阻害原因に関わる形質との関係を明らかにするため、生存可能な実生が得られた交雑組合せについて、各形質間の相関関係の有無を確認後、重回帰分析の変数選択に用いられるステップワイズ法 (選択基準のP値は追加、除去ともに0.25) および Bayes プロットによる要因のスクリーニングを行った (SAS Institute Inc., 2002)。このとき、目的変数については種子親に用いた各品種の子房に形成される胚珠数が異なっているため、交雑花当たりの生存可能な実生数ではなく、交雑花当たりの生存可能な実生数/子房当たりの胚珠数を用い

た.

またモチツツジ (*R. macrosepalum* Maxim.) およびキンツツジ (*R. ripense* Makino) と同じ葉面形態特性を有するクルメツツジ品種とそうでない品種の2集団間における交雑能力および各交雑阻害原因に関わる形質の差の有無について、供試した39品種の葉の背軸側表皮面の形態的特性(岡本ら, 2000) から2グループに類別し, Wilcoxon-Mann-Whitney 法を用いて有意差検定を行った.

結 果

受精前および受精後の交雑阻害

キレンゲツツジの花粉管は交雑5日後にクルメツツジの花柱下部において多数観察された. 交雑10日後の観察では胚珠への貫入が認められ, 交雑13日後には受精に伴う胚珠の発達を観察された. 花粉管の胚珠への貫入率(受精率)は2.9~53.5%の範囲にあった(第1表). 成熟種子数は1.2~271.4個の範囲にあり, 交雑組合せに

Table 1. Ovule numbers per ovary, fertilized ovule rate and mature seed numbers produced from 39 crosses of Kurume azaleas × *Rhododendron japonicum* f. *flavum*.

Seed parent	Number of ovules per ovary (A)	Ovules penetrated by pollen tubes (%) (B)	Number of mature seeds per capsule (C)	Seeds/estimated numbers of ovules fertilized (%) (100C/AB)
Agemaki ‘総角’	1006	6.6	43	64.4
Fudesuteyama ‘筆捨山’	1133	3.7	26	61.5
Gofuku ‘呉服’	852	53.5	261	57.2
Goshozakura ‘御所桜’	906	17.1	141	91.2
Hanaikada ‘花筏’	989	33.5	260	78.4
Hatsune ‘初音’	1149	12.6	83	57.3
Imaoka ‘今岡’	839	23.6	199	100.3
Inazuma ‘稲妻’	848	27.1	174	75.5
Kakko ‘郭公’	788	7.9	51	81.9
Kiritsubo ‘桐壺’	646	14.8	44	45.6
Kokinran ‘古金欄’	875	24.1	206	99.7
Koshikibu ‘小式部’	612	2.9	17	97.0
Kumogiri ‘雲切’	912	16.1	105	71.2
Madonotsuki ‘窓の月’	1153	21.4	118	47.6
Matsunoyuki ‘松の雪’	924	23.8	111	50.7
Misunouchi ‘簾の内’	936	7.5	69	97.7
Miyakoshibori ‘都綾り’	918	9.8	67	74.9
Otome ‘乙女’	854	11.3	35	36.7
Rangyoku ‘乱曲’	948	21.1	147	73.8
Sakurakomachi ‘桜小町’	769	25.7	200	101.2
Saotome ‘早乙女’	824	9.5	71	90.3
Setanoirihhi ‘勢多の入日’	733	5.0	1	3.2
Shakkyo ‘石橋’	869	33.1	196	68.1
Shikibuzakura ‘式部桜’	828	21.9	161	88.7
Shinonome ‘東雲’	869	17.2	68	45.8
Shirotae ‘白妙’	794	21.5	153	89.4
Susogonoito ‘裾濃の糸’	970	27.1	150	57.2
Tagasode ‘誰ヶ袖’	682	22.4	151	99.0
Takamakie ‘高蒔絵’	998	29.3	176	60.1
Tamafuyo ‘玉芙蓉’	590	31.2	115	62.4
Tamanoutena ‘玉の台’	1036	8.1	83	99.4
Tamayukari ‘玉縁り’	1080	27.6	139	46.8
Terugimi ‘照君’	792	27.8	84	38.2
Tsuuten ‘通天’	800	35.0	271	96.9
Ukamuse ‘浮む瀬’	1096	33.3	178	48.7
Usuyukari ‘薄縁り’	1181	7.6	70	78.2
Wakakaede ‘若楓’	1035	18.7	160	82.9
Yamatonishiki ‘大和錦’	845	18.3	153	99.2
Yorozuyo ‘萬代’	801	20.7	154	92.8

より著しく異なった（第 1 表）。子房に形成された胚珠数と花粉管の胚珠への貫入率の値に基づき受精した胚珠数を推定し、受精胚珠数に対する種子形成率を求めたところ、3.2～101.2% の範囲にあった。

結果率は 70 ～ 100% の範囲内で、39 組合せ中 33 組合せが 100% と高く（データ未掲載）、生殖隔離の影響がみられない形質であった。発芽率は 2.1～59.3% と、すべての組合せにおいて比較的低い値を示した（第 2 表）。発芽した実生の子葉色には、緑、黄緑、淡緑および白と、

一部の組合せで斑入りが観察された。斑入りに対しては、主な色をその個体の色とし算定した。白子の出現率は 0 ～ 99.0% と交雑組合せにより著しく異なった（第 2 表）。白子は子葉展開後に生長が停止し、発芽から数週間で枯死した。その他の実生に関して、淡緑色の子葉をもつ個体を中心に 2 枚目の本葉が展開中に生長が停止するもの、および夏季の高温期に枯死するものが顕著に観察された。

播種から 2 年後に生存していた実生数を算定し、発芽

Table 2. Germination rate, albino rate and viable seedlings derived from 39 crosses of Kurume azaleas × *Rhododendron japonicum* f. *flavum*.

Seed parent	Germination rate (%)	Albino rate ^z (%)	Viable seedlings ^y /seedlings excluding albinos (%)	Number of viable seedlings per flower pollinated
Agemaki ‘総角’	50.5	0.9	0	0
Fudesuteyama ‘筆捨山’	52.7	2.1	0	0
Gofuku ‘呉服’ (+) ^x	23.8	19.3	46.2	23.2
Goshozakura ‘御所桜’	28.2	58.8	0	0
Hanaikada ‘花筏’ (+)	2.1	0	0	0
Hatsune ‘初音’	2.2	0	0	0
Imaoka ‘今岡’	23.3	7.9	9.5	4.4
Inazuma ‘稲妻’	18.0	14.9	11.2	3.2
Kakko ‘郭公’	8.6	0	0	0
Kiritsubo ‘桐壺’	53.2	9.5	9.5	2.0
Kokinran ‘古今欄’	10.2	46.6	19.0	2.4
Koshikibu ‘小式部’	52.3	6.7	0	0
Kumogiri ‘雲切’	25.0	6.9	0	0
Madonotsuki ‘窓の月’	15.5	28.6	0	0
Matsunoyuki ‘松の雪’ (+)	42.7	8.4	0	0
Misunouchi ‘簾の内’	29.7	19.6	0	0
Miyakoshibori ‘都綾り’	16.6	0	0	0
Otome ‘乙女’ (+)	27.1	20.8	26.3	2.0
Rangyoku ‘乱曲’ (+)	22.1	11.7	22.2	6.4
Sakurakomachi ‘桜小町’ (+)	24.6	12.2	0	0
Saotome ‘早乙女’ (+)	16.8	79.1	0	0
Setanoirihi ‘勢多の入日’ (+)	25.0	0	0	0
Shakkyo ‘石橋’	38.0	15.6	0	0
Shikibuzakura ‘式部桜’	32.8	89.4	0	0
Shinonome ‘東雲’	17.0	43.1	0	0
Shirotae ‘白妙’ (+)	18.6	7.7	0.8	0.2
Susogonoito ‘裾濃の糸’	26.7	13.0	0	0
Tagasode ‘誰ヶ袖’ (+)	39.3	99.0	0	0
Takamakie ‘高蒔絵’ (+)	3.8	36.4	0	0
Tamafuyo ‘玉芙蓉’	22.8	71.8	0	0
Tamanoutena ‘玉の台’ (+)	29.7	9.7	11.6	2.6
Tamayukari ‘玉縁り’	26.5	1.6	0	0
Terugimi ‘照君’	34.8	24.7	0	0
Tsuuten ‘通天’ (+)	59.3	27.1	2.9	3.4
Ukamuse ‘浮む瀬’	20.5	9.9	0	0
Usuyukari ‘薄縁り’	45.9	6.8	0.7	0.2
Wakakaede ‘若楓’ (+)	18.6	10.1	38.1	10.2
Yamatonishiki ‘大和錦’ (+)	18.4	2.8	0	0
Yorozuyo ‘萬代’ (+)	24.3	35.8	41.7	10.0

^z Albino seedlings/seedlings germinated.

^y Two years after sowing.

^x Having the same leaf characters as *R. macrosepalum* and *R. ripense*. Refer to Okamoto et al. (2000).

した全実生から白子を除いた数に対する生存率を求めたところ、生存率は 26 組合せで 0% であったが、残りの 13 組合せからは生存能力のある実生が得られ、最大で 46.2% の値を示した (第 2 表). 生存可能な実生数/交雑花 (交雑能力) は 0~23.2 個体の範囲にあり、11 組合せで 1 個体以上の実生が得られた. 特に '呉服', '萬代' および '若楓' を用いた 3 組合せからは 10 個体以上の実生が得られた (第 2 表).

交雑能力と交雑阻害原因との関係

生存可能な実生が得られた 13 組合せにおける交雑能力に対する各交雑阻害原因の影響の大きさを評価した. 各交雑阻害原因に関わる形質間の相関係数は最大でも -0.389 と低く相関関係は認められなかった (第 3 表). また、交雑花当たりの生存可能な実生数/子房当たりの胚珠数

(交雑能力/胚珠数) と各交雑阻害原因に関わる形質間との相関については、生存率との間に正の相関関係 ($r = 0.769$) が認められた (第 3 表). ステップワイズ法では、花粉管の胚珠への貫入率および生存率が採択された (第 4 表). 採択された 2 変数を説明変数としたとき重回帰分析における R^2 値 (寄与率) は 0.68, 自由度調整 R^2 値 (実質的な寄与率) は 0.62 であった (データ未掲載). Bayes プロット値は花粉管の胚珠への貫入率が 0.311, 生存率が 0.320 と、残りの 3 因子よりも顕著に高かった (第 5 表).

クルメツツジの葉面の形態的特性と交雑能力との関係

モチツツジおよびキシツツジと同じ葉面の形態的特性を有するクルメツツジ品種を母親とした交雑組合せからは、そうでない品種を用いた場合に比べ有意に多くの生

Table 3. Correlation among fertilization, developed ovules after fertilization, germination, seedlings having green pigment, viable seedlings and viable seedlings per flower pollinated (crossability) in 13 crosses of Kurume azaleas $\times$ *Rhododendron japonicum* f. *flavum*.

Variable	1	2	3	4	5
1. Ovules penetrated by pollen tubes	—	-0.002	-0.143	-0.331	0.381
2. Seeds/estimated numbers of ovules fertilized	—	—	-0.261	-0.159	-0.254
3. Germination rate ^z	—	—	—	0.315	-0.356
4. Green, yellow-green and pale-green seedlings rate ^y	—	—	—	—	-0.389
5. Viable seedlings/green, yellow-green and pale-green seedlings	—	—	—	—	—
6. Viable seedlings per flower pollinated/ovules per flower ^x	0.567	-0.084	-0.173	-0.381	0.769**

** indicates significance at $P = 0.01$.

^z Logarithmic transformation.

^y Arcsine transformation.

^x Logarithmic transformation.

Table 4. Stepwise selection of five factors relative to cross compatibility for viable seedlings per flower pollinated (crossability) in 13 crosses of Kurume azaleas $\times$ *Rhododendron japonicum* f. *flavum*.

Parameter	Original estimate	Sum of squares	F ratio	P value
Ovules penetrated by pollen tubes	0.0162	0.3972	2.756	0.128
Seeds/estimated numbers of ovules fertilized	—	0.0324	0.207	0.660
Germination rate ^z	—	0.0548	0.356	0.566
Green, yellow-green and pale-green seedlings rate ^y	—	0.0029	0.018	0.895
Viable seedlings/green, yellow-green and pale-green seedlings	0.0255	1.6130	11.192	0.007
Intercept	0.6815	0	0	1.0

Probabilities to enter and leave: 0.25.

^z Logarithmic transformation.

^y Arcsine transformation.

Table 5. Bayesian approach of five factors relative to cross compatibility for viable seedlings per flower pollinated (crossability) in 13 crosses of Kurume azaleas $\times$ *Rhododendron japonicum* f. *flavum*.

Character	Estimate	Posterior probability
Ovules penetrated by pollen tubes	2.796	0.3107
Seeds/estimated numbers of ovules fertilized	-0.408	0.0259
Germination rate ^z	-0.585	0.0276
Green, yellow-green and pale-green seedlings rate ^y	-0.976	0.0348
Viable seedlings/green, yellow-green and pale-green seedlings	2.830	0.3203

Posterior probabilities that sample is uncontaminated: 0.50.

^z Logarithmic transformation.

^y Arcsine transformation.

Table 6. Comparison on fertilization, developed ovules after fertilization, germination, seedlings having green pigment, viable seedlings and viable seedlings per flower pollinated (crossability) between leaf types of seed parents by Wilcoxon-Mann-Whitney test in 39 crosses of Kurume azaleas $\times$ *Rhododendron japonicum* f. *flavum*.

Character	Leaf type of seed parents ^z	Score sum	Z
Ovules penetrated by pollen tubes	I	352	0.899 NS
	II	428	
Seeds/estimated numbers of ovules fertilized	I	363	1.213 NS
	II	417	
Germination rate	I	297	-0.642 NS
	II	483	
Green, yellow-green and pale-green seedlings rate	I	300	-0.072 NS
	II	480	
Viable seedlings/green, yellow-green and pale-green seedlings	I	397	2.374*
	II	383	
Viable seedling numbers per flower pollinated	I	381	2.059*
	II	399	

* and NS indicate significance at $P=0.05$ and non-significance, respectively.

^z Dorsal leaf surface showing the same characters as *Rhododendron macrosepalum* and *R. ripense* (I; $n=16$) and not showing them (II; $n=23$). Refer to Table 2.

存可能な実生が得られた ($Z=2.059$, $P<0.05$; 第 6 表). 各交雑阻害原因に関わる形質に関しては, 先に交雑能力に強く影響すると考えられた生存率が, モチツツジおよびキシツツジの形態的特性を有する品種を用いた組合せで有意に高かった ($Z=2.374$, $P<0.05$).

考 察

交雑阻害原因に関して, Okamoto・Suto (2004) は花柱内での花粉管伸長の停止を受精前交雑阻害の 1 つとした. 本交雑ではキレンゲツツジの花粉管は交雑 5 日後にクルメツツジの花柱下部において多数観察され, ほとんどの種子親でその算定は不可能であった. このため, 受精率には花粉管の胚珠への到達と受精の評価が含まれる. Wiens (1984) は胚珠の発達における評価法として種子数/胚珠数を用いた. この方法は形成された胚珠数が異なる母親間での種子形成能力を比較することができるため, Okamoto・Suto (2004) は常緑性ツツジ野生種 $\times$ キレンゲツツジにおける交雑阻害の評価の 1 つとした. しかし, この方法で得られる値は受精および受精後の胚珠発達を合わせた評価であるため, 花粉管の胚珠への貫入率との独立性が保たれない. そこで, 受精から種子形成に至る胚珠の発達のみを評価する形質として種子形成率を求め, 交雑能力に対する受精と受精後の胚珠発達の寄与を分解した.

クルメツツジ 39 品種にキレンゲツツジを交雑した結果, 常緑性ツツジ野生種にキレンゲツツジを交雑した場合 (Okamoto・Suto, 2004) と同様に強い生殖隔離を示し, 交雑阻害原因として花粉管の胚珠への貫入失敗, 胚珠の発育停止, 発芽不能, 子葉の葉緑素の欠失および夭折が認められた. 一方, 交雑花当たり 20 個体以上の生存可能な実生が得られる組合せが存在し, クルメツツジには

キレンゲツツジとの交雑能力に品種間差があることが明らかとなった. このため, 交雑能力に優れたクルメツツジ品種をスクリーニングすることには意義があると考えられた.

交雑能力と各交雑阻害原因との関係について, ステップワイズ法および Bayes プロットによる要因のスクリーニング法を用いて, より多くの実生を得るための鍵となった因子の抽出を行ったところ, 交雑能力に優れる組合せでは受精および実生の生存が優れると考えられた. 特に, 生存率は交雑能力/胚珠数との間に正の相関が認められたことから, 白子以外の実生の生存が交雑能力に最も強い影響を与える因子と考えられた.

岡本ら (2000) はクルメツツジの葉の背軸側表皮面の観察を行い, 一般にクルメツツジの原種と考えられているヤマツツジ (*R. kaempferi* Planch.), ミヤマキリシマおよびサタツツジ (*R. sataense* Nakai) には認められない形態的特性がクルメツツジ品種中に存在することを認め, この特性がモチツツジおよびキシツツジのそれと同じであることから, クルメツツジにはモチツツジ, あるいはキシツツジの遺伝的影響を受けた品種が存在することを示唆した. 今回の交雑試験では, 生存可能な実生が得られた 13 組合せ中 8 組合せの種子親に用いたクルメツツジ品種がモチツツジおよびキシツツジにみられる形態的特性を備えた品種であった. さらに生存可能な実生数/交雑花の値が 10 個体以上を示した 3 組合せすべての種子親がそのような品種であった. そこで種子親に用いた品種に対して, 葉の背軸側表皮面がモチツツジおよびキシツツジと同じ形態的特性を有することと交雑能力との関係について検討した. その結果, モチツツジおよびキシツツジと同じ形態的特性を備えたクルメツツジ品種中にはキレンゲツツジとの交雑能力に優れた品種が存在し,

そのようなクルメツツジ品種を種子親に用いることで、生存可能な実生を得る可能性を高めることができると考えられた。

常緑性ツツジ×キレンゲツツジにおける実生の獲得に関して、子葉が緑色の実生は花粉親であるキレンゲツツジ由来の葉緑体ゲノムをもつため、葉緑素の形成阻害を起こさない実生を得るためには葉緑体 DNA が父性遺伝する必要がある (小林, 1996; Ureshino ら, 1999)。ところが, Ureshino・Miyajima (2002) はミヤマキリシマ (2x) ×キレンゲツツジ (2x) から母性遺伝したミヤマキリシマ由来の葉緑体ゲノムをもち、二倍性のミヤマキリシマ由来の核ゲノムと一倍性のキレンゲツツジ由来のそれを併せもつ三倍体実生が得られたことから、四倍体の常緑性ツツジ×二倍体のキレンゲツツジの交雑を行えば、葉緑体ゲノムの遺伝様式において普通に起こる母性遺伝を伴った実生であっても核―葉緑体ゲノム間の不和合性を示さない三倍体実生が得られると考えた。このことは、酒井ら (2001) が四倍体のサツキ品種等を種子親に用いた交雑から得た実生で白子が減少し、緑色の子葉をもつ実生が高率に得られ、それらがアイソザイム分析から三倍性であると考えられたことで実証された。このように常緑性ツツジ×キレンゲツツジにみられる交雑阻害の 1 つである白子の発現を回避する方法は比較的研究が進んでいる。しかし、受精前および他の受精後の交雑阻害を回避させる方法に関する報告は少なく、Ureshino ら (1998) が三系交雑を行うことにより発芽率が高まり、比較的多くの緑色実生を得たとする報告があるに過ぎない。

本交雑試験では、交雑能力に対して受精率や白子以外の実生の生存が大きく寄与する一方、白子の出現が及ぼす影響は小さかった。そして、モチツツジおよびキシツツジと同じ葉面形態特性を有する品種を種子親に用いた場合に、実生の生育初期の枯死が回避され生存率を向上させる効果が認められ (第 6 表)、キレンゲツツジとの交雑能力に優れた品種がモチツツジ、あるいはキシツツジの遺伝的影響を有するクルメツツジ品種から得られる可能性が見出された。今回供試した白花品種の中では「萬代」を種子親とした交雑組合せで生存可能な実生が多く得られ (10 個体/交雑花)、交雑親として有望と考えられた。

中輪系の黄花常緑性ツツジの作出を目的とした交雑育種を遂行するに際して、クルメツツジには今回供試した品種以外にも白花や地色が白色の絞り咲き品種がある。これらの品種について、モチツツジ、あるいはキシツツジの遺伝的影響を有する品種を抽出し、交雑能力を評価することにより、キレンゲツツジとの交雑に適した品種が得られることが期待される。また、効率的な雑種実生の獲得のため、交雑能力への関与の大きかった受精および実生の生存に関して、反復受粉等 (村田・篠田,

2002) を用いた受精率向上のための受粉方法の検討、光合成色素の蓄積を促進するサイトカイニン (勝見, 1991) を利用した淡緑色実生の生長停止に対する回避効果の検討、および高温期にみられた実生の枯死の原因解明および回避法を明らかにすることが必要であろう。

摘 要

常緑性ツツジとキレンゲツツジとの交雑におけるクルメツツジの種子親としての有効性について、生存可能な実生数/交雑花 (交雑能力) に影響する主な原因の特定および生存可能な実生が得られる種子親の特性について検討した。クルメツツジ 39 品種に対して、キレンゲツツジ 1 個体から採集した花粉を交雑した。実施した 39 交雑中 26 交雑から播種 2 年後に生存可能な実生は得られなかった。残りの 13 交雑について、生存可能な実生数/交雑花の値は 0.2~23.2 の範囲にあった。これらの結果からクルメツツジにはキレンゲツツジとの交雑能力に品種間差が存在することが明らかとなった。ステップワイズ法および Bayes プロットから、花粉管の胚珠への貫入率 (受精率) および生存可能な実生数/白子以外の実生数 (生存率) が交雑能力に強い影響を与えた。モチツツジおよびキシツツジと同じ葉面形態特性を有するクルメツツジ品種を用いた組合せでは、生存率が高く、交雑能力に優れた。本試験からキレンゲツツジとの交雑能力に優れた品種がクルメツツジに存在することが示唆された。

引用文献

- 赤羽 勝. 1997. ツツジ, シャクナゲ. p. 313–318. 農業技術大系花卉編. 5. 農山漁村文化協会. 東京.
- 赤羽 勝・山中昭雄・高島大典・中枝 健・中村吉彦. 1971. ツツジ属の種間交雑稔性と雑種植物の生育について. 栃木農試研報. 15: 95–102.
- 赤司喜次郎. 1905. 久留米躑躅誌. 赤司廣樂園. 福岡.
- Creech, J. L. 1955. An embryological study in the *Rhododendron* subgenus *Anthodendron* Endl.. Bot. Gaz. 116: 234–243.
- Galle, F. C. 1987. Evergreen azaleas. p. 123–305. In: F. C. Galle (ed.). Azaleas (revised and enlarged edition). Timber Press, Portland, Oregon.
- 勝見允行. 1991. 植物のホルモン. 裳華房. 東京.
- 国重正昭. 1978. ツツジ科の種間交雑育種による新品種. 新花卉 100: 46–50.
- 小林伸雄. 1996. 常緑性ツツジの類縁関係と園芸品種の起源解明に関する研究. 筑波大学学位論文.
- Kobayashi, N., M. Akabane, T. Handa and K. Takayanagi. 1996. Inheritance of morphological characters and RAPD markers in intersubgeneric hybrids of azalea, (*Rhododendron kiusianum* Makino × *R. indicum* (L.))

- Sweet) $\times$ *R. japonicum* (A. Gray) Suringer f. *flavum* Nakai. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 65: 145–153.
- Miyajima, I., K. Ureshino, N. Kobayashi and M. Akabane. 2000. Flower color and pigments of intersubgeneric hybrid between white-flowered evergreen and yellow-flowered deciduous azaleas. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 69: 280–282.
- 宮澤文吾. 1922. きりしまつつじに就いて. 遺傳雜. 1: 153–157.
- 宮澤文吾. 1940. 花木園藝. 養賢堂. 東京.
- 村田奈芳・篠田浩一. 2002. アルストロメリア種間交雑における遅延受粉及び反復受粉の効果. 園学雜. 71 (別 2) : 176.
- Noguchi, Y. 1932. Studies on the species crosses of Japanese *Rhododendron*. 1. On the crossability between various species and the cotyledon color of F_1 seedlings. Jap. J. Bot. 6: 103–126.
- 岡本章秀・野中瑞生・須藤憲一. 2000. クルメツツジ品種群における葉の背軸側表皮面の形態的特性とリュウキュウツツジの関与. 園学雜. 68: 868–876.
- Okamoto, A. and K. Suto. 2004. Cross incompatibility between *Rhododendron* sect. *Tsutsusi* species and *Rhododendron japonicum* (A. Gray) J. V. Suringar f. *flavum* Nakai. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 73: 453–459.
- 酒井かおり・嬉野健次・道下紋乃・尾崎行生・赤羽 勝・宮島郁夫. 2001. 常緑性ツツジ $\times$ キレンゲツツジの緑色実生獲得における異倍数体間交配の有用性. 園学雜. 70 (別 2) : 411.
- Shapiro, S. S. and M. B. Wilk. 1965. An analysis of variance test for normality (complete samples). Biometrika 52: 591–611.
- Spethmann, W. 1980. Flavonoids and carotenoids of rhododendron flowers and their significance for the classification of the genus *Rhododendron*. p. 247–275. In: J. L. Luteyn and M. E. O'Brien (eds.). Contributions toward a classification of rhododendron. New York Bot. Garden, New York.
- 田村輝夫. 1963. 平戸ツツジに関する研究. 園試報. D1: 155–188.
- Ureshino, K., M. Kawai and I. Miyajima. 2000. Factors of intersectional unilateral cross incompatibility between several evergreen azalea species and *Rhododendron japonicum* f. *flavum*. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 69: 261–265.
- Ureshino, K. and I. Miyajima. 2002. The study on the relationship between leaf colors and ptDNA inheritance in intersectional cross of *Rhododendron kiusianum $\times$ *R. japonicum* f. *flavum*, resulting in an unexpected triploid progeny. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 71: 214–219.*
- Ureshino, K., I. Miyajima and M. Akabane. 1998. Effectiveness of three-way crossing for the breeding of yellow-flowered evergreen azalea. Euphytica 104: 113–118.
- Ureshino, K., I. Miyajima, Y. Ozaki, N. Kobayashi, A. Michishita and M. Akabane. 1999. Appearance of albino seedlings and ptDNA inheritance in interspecific hybrids of azalea. Euphytica 110: 61–66.
- Wiens, D. 1984. Ovule survivorship, brood size, life history, breeding systems, and reproductive success in plants. Oecologia 64: 47–53.
- Williams, E. G., R. B. Knox and J. L. Rouse. 1982. Pollination sub-systems distinguished by pollen tube arrest after incompatible interspecific crosses in *Rhododendron* (Ericaceae). J. Cell Sci. 53: 255–277.