トレニア属の種間交雑親和性と系統分類との関係

宮崎 潔^{1,2}・桑山智重子³・景山幸二⁴・松本省吾⁵・福井博一³

¹ 岐阜大学大学院連合農学研究科 501-1193 岐阜県岐阜市柳戸 1-1

² サントリーフラワーズ株式会社 527-0063 滋賀県東近江市大森町字池谷 863 - 1

³ 岐阜大学応用生物科学部 501-1193 岐阜県岐阜市柳戸 1-1

⁴ 岐阜大学流域圏科学研究センター 501-1193 岐阜県岐阜市柳戸 1-1

⁵ 岐阜大学教育学部 501-1193 岐阜県岐阜市柳戸 1-1

Relation between Interspecific Compatibility and Phylogenetic Analysis in *Torenia*

Kiyoshi MIYAZAKI^{1,2}, Chieko KUWAYAMA³, Koji KAGEYAMA⁴,
Shogo MATSUMOTO⁵ and Hirokazu FUKUI³

¹United Graduated School of Agricultural Science, Gifu University, Yanagido, Gifu 501-1193, Japan

²Suntory Flowers Ltd., 863-1, Iketani, Omori-cho, Higashiomi, Shiga 527-0063, Japan

³Faculty of Applied Biological Sciences, Gifu University, Yanagido, Gifu 501-1193, Japan

⁴River Basin Research Center, Gifu University, Yanagido, Gifu 501-1193, Japan

⁵Faculty of Education, Gifu University, Yanagido, Gifu 501-1193, Japan

Abstract

The Genus *Torenia* is comprised of 40 species. Horticultural cultivars, however, have the problem of a low genetic diversity, because the cultivars originated from only *Torenia fournieri*. For the purposes of the enhancement of genetic diversity in this study, we investigated interspecific cluster analysis based on the sequence of the internal transcribed spacers (ITS) of nuclear ribosomal DNA among 8 species of *Torenia*: *T. fournieri* (TF), *T. glabra* (TG), *T. asiatica* (TA), *T. concolor* (TC), *T. baillonii* (TB), *T. sp-1* (SP1), *T. sp-2* (SP2) and *T. 'Summer Wave'* (*T. fournieri* × *T. sp-1*) (SW), and the cross compatibility among each species by diallel cross. From the results of phylogenetic cluster analysis by nrDNA and ITS region sequences, the 8 species were classified into two clades: one consisted of TA, TC and TF, and the other consisted of TG, TB, SP1, SP2 and SW. From the diallel cross results, a high cross compatibility was recognized in the crossing of TC × TG, TC × SP2, TG × TC, TG × SP2 and SP2 × TG. From the analysis of the form of progenies by these crossings, the progenies by crossing between SP2 and TG, which belonged to the same clade, had a prepotent form of TG, and the progenies by crossing between TC and TG or SP2, which belonged to different clades, had flower form intermediate between parents. Cross compatibility was recognized in the crossing among TG, TB, SP1 and SP2 which belonged to the same clade, because fruit set was recognized at least on their crossings with TB. TF, TA and SW had incompatibilities except for some parts. The progeny by crossing TB and TF had a clearly different flower shape and color compared with TF.

Keywords: Interspecific hybrid, ITS, phylogenetic analysis, *Torenia*

2006 年 7 月 28 日受付

2006 年 12 月 27 日受理

Corresponding author: Kiyoshi Miyazaki
(U1141936@nifty.com)

緒 言

トレニア属 (ゴマノハグサ科) は東アジアから東南アジア、南アジアそしてアフリカに分布する 40 種からなる植物属であり、その耐暑性の強さから世界中で夏の花壇用植物として用いられている。しかし、トレニア園芸品種の育成には *Torenia fournieri* のみが関わっており、品種の遺伝的多様性が低い問題点を持っている。その一例として花色があり、*T. fournieri* は Petunidin, Cyanidin の存在が確認されているものの主要色素は Malvidin と Peonidin であるため、トレニア園芸品種の多くは青から紫にかけての花色が主体となっている。花色の多様性を高めるために重イオン照射による花色の突然変異個体の作出¹⁾などの試みが行われているものの十分とはいえない。また花型、草姿の多様性の向上や耐病性の付与は今後のトレニア育種の重要な課題であり、*Torenia fournieri* 以外の野生種の導入が不可欠であると考ええる。

園芸品種の育種において、種間交雑による新たな形質の導入が多くの園芸植物で試みられており、主要な品目についてみるとペチュニアでは *Petunia axillaris* と *P. violaceae*、パンジーでは *Viola tricolor* と *V. lutea*, *V. cornuta*, *V. altaica*, *V. calcarata*、プリムラ・ポリアンサでは *Primula veris* と *P. elatior*, *P. vulgaris* などが種間交雑親として用いられ、多くの園芸品種が育成されている。また、バラでは *Rosa foetida* との交雑によってカロチノイド系色素の生合成系が導入され、黄色品種が育成されたことはよく知られている²⁾。

トレニアにおける種間交雑を用いた数少ない育種例として“サマーウェーブ” (サントリーフラワーズ株式会社育成) があり、これは胚珠培養を用いて *T. fournieri* と *T. concolor* との種間雑種から育成されたものである。しかし、これ以外では種間交雑による育種事例は報告されておらず、本属内での他の組み合わせによる種間交雑を試みることによって、よりその遺伝的多様性を広げることが可能となり、近年の地球環境の大きな変動に耐えうる耐環境性の向上等トレニアの市場性をより高めることができると考える。

近年の分子系統学の進歩によって様々な植物種間の類縁関係が解明され始めている³⁾。これらの研究目的の一つには植物種の進化の解明があるが、この工学的な手法によって明らかになった類縁関係を基に種間交雑親和性を推察することが可能となれば、新たな形質導入を目的とした種間雑種育成の基礎資料とすることができる。また、これらによる知見を基に胚珠培養などの生物工学的手法を活用し、効率よく育種を進めることが可能となる。

本研究ではトレニア属 8 種を用いて、ITS 領域 (5.8S

nrDNA を含む) の塩基配列に基づいて種間の類縁関係を明らかにすると共に、これらの種間でのダイアレルクロスを行い、交雑親和性を調査した。

材料および方法

1. 供試材料

本研究で使用したトレニアは、*T. fournieri* (TF), *T. glabra* (TG), *T. asiatica* (TA), *T. concolor* (TC), *T. baillonii* (TB), *T. sp-1* (SP1), *T. sp-2* (SP2), *T. 'Summer Wave'* (*T. fournieri* × *T. sp-1*) (SW) を用いた。TF, TG, TA, TC は中華人民共和国広西大学農学院龍明華教授より譲渡されたものを用いた。SP1 および SP2 は *T. concolor* として園芸店で市販されていたものを用いたが、SP1 および SP2 は *T. concolor* とは明らかに形態が異なっていた。TB は種苗会社より種子を購入し栽培したものであり、SW はサントリーフラワーズ株式会社より提供を受けた。すべての供試植物はサントリーフラワーズ株式会社 (滋賀) の温室にて栽培した。

2. DNA の抽出および PCR 増幅と塩基配列の解析

供試植物の茎端部を採取し、修正 CTAB 法⁴⁾で DNA を抽出し、抽出した DNA の濃度は分光光度計で測定した。

核リボソーム DNA の ITS 領域 (5.8S nrDNA を含む) の増幅には White らが設計した⁵⁾プライマー ITS1 (5' -TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') と ITS4 (5' -TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') を用いた。供試植物のなかには ITS1 が適合しなかったものがあり、その場合には 5' 側に新たに設計したプライマー (TP) (5' -TCTCCGTAGGTGAACCTGCG-3') を用いた。

PCR 反応として、95℃ 5 分、94℃ 30 秒、55℃ 30 秒、72℃ 1 分のサイクルを 40 回繰り返す。最後に 72℃ で 10 分間伸長反応を行い、電気泳動後にバンドの有無を確認した。

ITS 領域の PCR 産物の精製には Get pureDNA Kit (Dojindo 社製) を用い、塩基配列の決定には Big Dye™ Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction kit (Applied Biosystems 社製) を用いた。塩基配列の解析において多型が見られたため、Ligation kit (Takara 社製) を用いて PCR 産物を pT7 T-Vector (Novagen 社製) にクローニングし、プライマー M13 forward と M13 reverse を用いて増幅し、PCR 産物を Gene Elute PCR cleaning kit (Sigma Chemical 社製) を用いて精製し、塩基配列を決定した。

3. 系統樹の推定

外群として *Limosella major* (GenBank nos. AJ550585)、比較種として *T. baillonii* (GenBank nos. AY492122) を用いた。全供試植物の ITS 領域 (5.8S nrDNA を含む) の塩基配列のアライメントは multiple sequence alignment program

CLUSTAL X ver. 1.81 を用いて行い、アライメントギャップは欠失データとして扱った。これらの塩基配列を PAUP ver. 4.0 β 10⁶) を用いて最大節約法により解析した。ブーツストラップは各ブランチに対し 1000 回反復し⁷⁾、推定系統樹の再現確率を求めた。

4. 種間交雑における交雑親和性の検定

交雑はダイアレルクロスで実施した。交配前に自家受粉を防ぐためにすべての花で除雄を行った。また、自家和合性を確認するために自家受粉を行った。播種後、成育がみられた個体については、温室内での葉長、葉幅、花径、花色を調査した。

結 果

1. 塩基配列の解析

プライマー ITS1 と ITS4 を用いて核リボソーム DNA の ITS 領域 (5.8 S nrDNA を含む) を PCR 増幅した結果、TF, TC, TA, TG, SW, SP2 について増幅が確認されたが、SP1, TB では増幅されなかった (第 1 図)。SP1 と TB においてプライマー ITS1 との不適合が推定できたことから、PCR による増幅が確認できた供試植物について塩基配列を決定し、これらに共通する塩基配列を基に 5' 側に新たなプライマー TP を設計した。SP1 と TB について、TP と ITS4 を用いて再び PCR による DNA の増幅を行った結果、両個体とも 550 から 580bp 付近にバンドが検出された。

供試した 8 植物について PCR 産物の塩基配列を決定し、これらが ITS 領域 (5.8 S nrDNA を含む) の DNA であるかを同定するために、DDBJ より入手した *T. baillonii* の ITS 領域のデータを用いて 18 S, 5.8 S の相同性を見た。18 S の一部、5.8 S 領域についてはほぼすべてが一致し、得られた DNA 産物は ITS 領域 (5.8 S nrDNA を含む) であると判断した。

PCR によって得られた ITS 領域 (5.8 S nrDNA を含む) の DNA 断片の全長は供試植物によって異なっており、DNA 長は 466 ~ 543 bp であった。これらの DNA 長は *T. baillonii* や *L. major* と比較すると明らかに短かった (第 1 表)。ITS1 領域の DNA 長についてみると、供試 8 植物では 108 ~ 186 bp であったのに対して、*T. baillonii* と *L. major* では 229 bp と 211 bp と差がみられ、最も DNA 長が短かった TA は *T. baillonii* の半分以下で、両者間に 121 bp の差が認められた。同様に ITS2 領域においても、供試 8 植物が 153 ~ 195 bp であったのに対して、*T. baillonii* と *L. major* は 232 bp, 225 bp と大きく、最も小さい TG と *T. baillonii* との間には 79 bp の差がみられた。しかし、5.8 S では供試 8 植物と *T. baillonii* および *L. major* との間に差はみられず 161 ~ 163

bp であった。

供試植物と *T. baillonii* および *L. major* のアライメント後の ITS 領域の全長は 649 bp であった (第 2 図)。挿入・欠失は ITS1, ITS2 領域で多く、特に 1 ~ 65 bp, 601 ~ 649 bp で多くの挿入・欠失がみられた。5.8 S 領域では相同性が著しく高く 67% の塩基が一致した。

塩基配列の解析において多型が見られたものについてクローニングを行い、各々のクローンについて塩基配列を決定した。TF では 4 個のクローンが得られ、2 塩基 (436, 482 bp) で異なったものの、その他は同じであった。TA は 5 個のク

第 1 図 プライマー ITS1 と ITS4 によるトレニア属 8 植物の核リボソーム DNA の ITS 領域の PCR 増幅

Fig. 1 Results of PCR amplification in the ITS region of nrDNA of 8 *Torenia* species using the ITS1 and ITS4 primers.

M: 100bp ladder 1: TB 2: TA
3: TG 4: SP2 5: SP1
6: TF 7: TC 8: SW

第 1 表 供試したトレニア属 8 種, *Torenia baillonii*, *Limosella major* の ITS 領域の長さ

Table 1 Length of the ITS region in 8 *Torenia* species, *Torenia baillonii* and *Limosella major*.

	ITS1 (bp)	5.8S (bp)	ITS2 (bp)	全ITS領域 (bp)
TF	161	161	163	485
TC	186	162	195	543
TA	108	162	183	453
TG	151	162	153	466
TB	151	162	153	466
SP1	151	162	153	466
SP2	151	162	153	466
SW	156	162	154	472
<i>Torenia baillonii</i>	229	163	232	624
<i>Limosella major</i>	211	163	225	599

第2表 トレニア属 8 植物間のダイアレルクロスによる交雑親和性

Table 2 Cross compatibility between 8 *Torenia* species on diallel cross.

		花粉親							
		TF	TC	TA	TG	TB	SP1	SP2	SW
種子親	TF	○	A2	A2	A2	A1 B1 C1 D2	A2	A2	A2
	TC	A2	○	A2	A1 B1 C1 D1	A2	A2	A1 B1 C1 D1	A2
	TA	A3	A3	○	A3	A3	A2	A3	A2
	TG	A2	A1 B1 C1 D1	A2	○	A2	A1 B1 C2	A1 B1 C1 D1	A2
	TB	A1 B2	A2	A2	A1 B2	○	A1 B2	A1 B2	A2
	SP1	A2	A1 B1 C2	A2	A1 B1 C2	A2	×	A2	A2
	SP2	A2	A3	A3	A1 B1 C1 D1	A3	A1 B2	○	A2
	SW	A2	A2	A2	A2	A2	A2	A2	×

A1: 結実 A2: 未結実 A3: 種子が発芽したが自殖
 B1: 発芽 B2: 未発芽
 C1: 発芽して個体が成育 C2: 発芽後に枯死
 D1: 80% 以上の個体が成育 D2: 1 個体が成育
 ○: 自殖稔性 ×: 自殖不稔

ローン (TA-1 ~ 5) が得られ, TA-1 ~ 3 の塩基配列は同じであった. TA-4 は TA-1 ~ 3 と ITS2 領域では差がみられず, 5.8S 領域で 162 塩基のうち 1 塩基が欠損し, 5 塩基で異なった. しかし, ITS1 領域では 163 塩基のうち 86 塩基が異なっていた. TA-5 は TA-4 と ITS1 および 5.8 S 領域の塩基配列が同じであったものの, ITS2 領域では 110 塩基が異なっていた. TB で得られたクローンの塩基配列は相同であった.

2. 系統樹

供試した 8 植物と *T. baillonii* について, *L. major* を外群として用い, 最大節約法によって推定した系統樹を第 3 図に示した. 最大節約系統樹の長さは 584 であり, CI = 0.8818, RI = 0.7076 であった.

本研究で供試した *Torenia* 属 7 種および 1 品種は 2 つのクレードを形成し, 1 つは TA, TC, TF からなり, 他のクレードは TG, TB, SP1, SP2 および SW で構成された.

第3図 *L. major* を外群としたトレニア属 8 植物と *T. baillonii* の系統関係

Fig. 3 Phylogenetic tree constructed from the ITS region sequence data using the maximum parsimony method. The bootstrap confidence values (%) are indicated on the branches.

3. 交雑親和性と系統樹との関係

供試した 8 植物についてダイアレルクロスを行い, 交雑親和性についての判別結果を第 2 表に示した. 交雑親和性の判定にあたり, 結実の有無を基準に用いた. *Torenia* 属植物の種子は極めて微細であり, 形成した種子の稔性を外観から判定することが困難であったため, 結実した個体については得られた種子を播種し, その発芽の有無で種子稔性を判定した. また, 発芽した個体について, その形態から交雑個体と自殖個体の判別を行った.

交雑個体が得られ, 高い交雑親和性が認められたのは TC × TG, TC × SP2, TG × TC, TG × SP2, SP2 × TG の組み合わせであった. 第 3 図の系統樹との比較から TG と SP2 は同一クレードに属し, 両種の正逆交雑で交雑個体が得られたことから, 交雑親和性の観点からも近縁の種であると推定できた. 同様に TC と TG は正逆交雑で交雑個体が得られたが, 系統樹においては別のクレードに属しており, さらに TC については種子親として用いられた場合でのみ, SP2 との交雑組み合わせで交雑個体が得られた.

系統樹において TG や SP2 と同一クレードに属した SP1 についてみると, TG との正逆交雑において交雑個体は得られなかったものの, 発芽能力を持つ稔性種子が得られた. 同様

第4図 TBとTFとの交雑個体の花の形態

Fig. 4 Picture showing the flower characters of TB, TF and their hybrid.

第3表 TC × TG, TC × SP2, TG × TC, TG × SP2, SP2 × TG の交雑で得られた交雑個体の形態
 Table 3 Characters of hybrids from TC × TG, TC × SP2, TG × TC, TG × SP2 and SP2 × TG.

		SP2	TG	TC
花径 (cm)		2.6±0.06	2.7±0.15	1.9±0.10
SP2×TG	2.8±0.07	**	NS	-
TG×SP2	2.7±0.12	*	NS	-
TC×TG	2.3±0.09	-	**	**
TG×TC	2.3±0.09	-	**	**
TC×SP2	2.3±0.05	**	-	**
葉長／葉幅比		0.84±0.08	0.75±0.05	0.71±0.12
SP2×TG	0.72±0.08	**	NS	-
TG×SP2	0.79±0.04	NS	NS	-
TC×TG	0.85±0.06	-	**	**
TG×TC	0.83±0.06	-	**	*
TC×SP2	0.86±0.07	NS	-	**
節間長 (cm)		2.9±0.41	3.9±0.37	3.8±0.37
SP2×TG	4.0±0.70	**	NS	-
TG×SP2	4.2±0.59	**	NS	-
TC×TG	4.4±0.54	-	*	*
TG×TC	3.7±0.53	-	NS	NS
TC×SP2	3.9±0.38	**	-	NS

** : 有意水準 (1%)

* : 有意水準 (5%)

に, SP1 は別のクレードに属する TC との間でも稔性種子の形成が認められ, 同じクレードに属する TG が TC と交雑親和性が高かったことも一致した. また SP1 を花粉親として用いた場合には, TG, TB, SP2 との交雑組み合わせにおいて発芽は見られなかったものの結実が確認され, 系統樹において同一クレードに属する種間での交雑親和性が推定された.

TB についてみると, 種子親として用いた場合には同一クレードに属する TG, SP1, SP2 との間で稔性のある種子は得られなかったものの結実が認められ, さらに別のクレードに属する TF との交雑でも結実が認められた. また, 花粉親として用いた場合には TF との間で菊池らの報告⁸⁾にあるように交雑個体が1個体得られた. この交雑個体は, 第4図に示すように, 花形や花色において両親の中間の形質を示した.

TF は, 他の種との正逆交雑において, TB 以外では交雑親和性を示さなかった. また, TA および SW はいずれも他の種とも交雑親和性を示さなかった.

ダイアレルクロスによって交雑個体が多数得られた TC × TG, TC × SP2, TG × TC, TG × SP2, SP2 × TG の交雑個体について, 両親との間での形態的差異を検討したものが第3表である.

SP2 × TG および TG × SP2 は花径, 葉長 / 葉幅比, 節間長共に花粉親の TG に近い形態を示した. TC × TG および TG × TC の花形は両親の中間の形態を示し, 葉は丸みを帯びた形状を示した. 節間については TC × TG で長くなった. TC × SP2 の花形は両親の中間の形態を示したが, それ以外の形態は TC に近かった.

考 察

供試した8植物と *T. baillonii* の ITS 領域 (5.8 S nr DNA を含む) の塩基配列を比較すると, 5.8 S はほとんど変異がみられなかったが, ITS1 と ITS2 領域では塩基置換, 挿入・欠失が多くみられた. 従って, 系統樹での分離は ITS1 と ITS2 領域の変異が関与しており, 他の植物の種間変異と類似していた⁹⁾.

供試した植物は, 系統樹において TA, TC, TF のクレードと TG, TB, SP1, SP2, SW のクレードに大別できた. TA,

TC, TF は TA, TC と TF に分けられ, 同様に TG, TB, SP1, SP2, SW のクレードはさらに TG, TB, SP1, SP2 と SW に分けられた。

TA と TC は, ITS 領域 (5.8 S nr DNA を含む) の塩基配列からみると同一クレードに属し, 両種が近縁種であると考えられたが, 交雑試験の結果では結実すら確認できなかった。同様に TA や TC と比較的近縁とされた TF についても両種との間で交雑親和性が全く認められなかった。この原因として TA の交雑不稔性が関係していると考え, TA は自殖稔性を持っていたものの, すべての交雑で結実が認められなかった。また, TC の染色体数が $2n = 16$ であるとの報告¹⁰⁾ や TF の染色体数が $2n = 18$ であったとの報告^{11,12)} から, トレニア属に異数性の存在が知られており, これが TC や TF, 染色体数が未報告である TA 間の交雑不親和の原因の 1 つであると推察され, 今後染色体数の解明が必要と考えられる。

TG, TB, SP1, SP2, SW のクレードについてみると, TG, TB, SP1, SP2 の 4 種間の塩基の違いは最大でも数塩基の差異しかなく, 極めて類縁関係が高いと推定できた。なかでも TG と SP1 および SP2 との間では著しく高い交雑親和性が認められ, TG と SP2 との間では正逆交雑で交雑個体が得られた。TG, SP1, SP2 の染色体数も未だ報告されていないが同数であることが推察できる。これに対して TB は TG, SP1, SP2 のいずれとも交雑親和性が低かった。

SP1 と SP2 は園芸店で *T. concolor* として市販されていたものであったが, 形態的にも明らかに TC とは異っており, 形態的に *T. concolor* と判断できた本研究で供試した TC と明らかに異なるクレードに属していたことから, 両種は *T. concolor* とは別種と推定された。また SP1 と SP2 を比較すると, 両者の塩基配列は 555 bp での 1 塩基の差異であったが, 茎葉や節間長は明らかに異なり, 加えて SP1 では花芽が側生するのに対して SP2 では頂生することから, 両者が別種である可能性が高いと判断した。

TB は *T. baillonii* として種苗会社より種子を購入して栽培した黄色花を持つ個体であったが, DDBJ に掲載されていた *T. baillonii* の塩基配列とは明らかに異っており, 別種であると推定された。TB が近縁である TG, SP1, SP2 との交雑親和性が低かった原因として, *T. fournieri* と *T. baillonii* の染色体数が同数である¹³⁾ ために TA, TC, TF 間での交雑不稔と同様に染色体数の差異が関与している可能性が推察できた。菊池らの報告⁸⁾ では, 動原体の特異反復配列から *T. baillonii* と *T. fournieri*, *T. concolor*, SW とは異なるグループに属すると述べられており, 系統樹上で異なるクレードに分けられた結果と一致する。

TF と TB との交雑で得られた交雑個体は, これまでに品種登録されているトレニア品種とは明らかに異なる花色

を示した。現在のトレニア品種の親として用いられている *T. fournieri* の花色素は Malvidin, Peonidin を主としたアントシアニン類で構成されていることが明らかとなっており¹⁾, TB の黄色の花色はこれらのアントシアニン類ではなくフラボン類で構成されていると推定できる。アントシアニン類で構成される品種に対してフラボン類を持つ野生種を交配した例としてバラの事例があり²⁾, *Rosa foetida* との交雑によって黄色の花色を持つ品種群が形成されている。今後, この交雑個体を育種親として用いることで新たな花色を持つトレニア品種群を育成することが可能となると考える。

SW は TG, TB, SP1, SP2 と同一クレードに属したにも関わらず交雑個体はまったく得られなかった。このことは, SW が *T. fournieri* と SP1 の交雑個体であり, 自殖稔性が認められなかったことから明らかに, 種間雑種の特性として稔性が著しく低いことが原因であると考えられる。また, SW が *T. fournieri* と SP1 の交雑個体であることは, 系統樹において SW が TF と SP1 の中間に位置していることと一致し, 系統樹の信頼性が証明された。

本研究で多数の交雑個体が得られた組み合わせにおいて, 両親の形質との関係をみた結果, 近縁と推定される SP2 と TG との交雑個体ではその形質が TG に近くなり, TG の形質が優性に発現されるものと考え, これに対して, 異なるクレードに分類された TC と TG および SP2 との組み合わせでは, 花形が両親の中間の形質を示した。今後これらの交雑個体を育種親として用いた交雑を行うことで, 新たなトレニア品種作出の可能性が推察できた。

以上のことから本研究結果を総合的に判断すると, 系統樹から交雑親和性を単純に推定することは難しいと判断できた。トレニア属のように種間に異数性が存在する植物属においては, 染色体数の情報も付加して交雑親和性を考慮する必要があるものと考え, しかし, 系統樹から得られた結果は種間の遠縁関係を明らかにしており, 遠縁種の導入による新規形質の付与を目的とした育種計画の作成に役立てることが可能である。

トレニア品種の中で *T. fournieri* と SP1 の種間雑種として知られる SW は, その育成経過において未熟胚培養が用いられている。本研究では交雑後に得られた種子を播種して交雑親和性を検討したが, 今後は本研究の系統樹で明らかとなった *T. fournieri* と遠縁種との交雑個体の獲得過程において, 未熟胚培養を行うことで新たな品種育成の可能性を探っていきたい。

摘 要

トレニア属は 40 種からなる植物属であるが, 園芸品種の育

成には *Torenia fournieri* のみが関わっており、品種の遺伝的多様性が低い問題点を持っている。本研究では、トレンニア品種の遺伝的多様性を拡大することを目的とし、*T. fournieri* (TF), *T. glabra* (TG), *T. asiatica* (TA), *T. concolor* (TC), *T. baillonii* (TB), *T. sp-1* (SP1), *T. sp-2* (SP2), *T. 'Summer Wave'* (*T. fournieri* × *T. sp-1*) (SW) を用い、核リボソーム DNA の ITS 領域 (5.8S nr DNA を含む) の塩基配列に基づいて種間の類縁関係を明らかにすると共に、これらの種間でのダイアレルクロスを行い交雑親和性を調査した。核リボソーム DNA の ITS 領域の全塩基配列から系統樹を作成した結果、TA, TC, TF からなるクレードと TG, TB, SP1, SP2 および SW で構成されるクレードにわけられた。ダイアレルクロスの結果、TC × TG, TC × SP2, TG × TC, TG × SP2, SP2 × TG の組み合わせで高い交雑親和性が認められた。同一クレードに属する SP2 と TG との交雑個体では TG の形質が優性に発現され、異なるクレードに属する TC と TG および SP2 との組み合わせでは、花形が両親の中間の形質を示した。同一クレードに属した TG, TB, SP1, SP2 との交雑においても結実や稔性種子の形成が認められ、同一クレードに属する種間での交雑親和性が確認できた。TF, TA および SW は一部を除いて他の種と交雑親和性を示さなかった。TB × TF で 1 個体の交雑個体が得られ、TF とは異なる花形や花色を持つ交雑個体が得られた。

謝 辞

本実験を遂行するにあたり、広西大学農学院龍 明華教授ならびに于 文進講師には供試材料の提供において多大な御協力を頂きました。ここに深く感謝いたします。

引用文献

- 1) Miyazaki K, Suzuki K, Iwaki K, Kusumi T, Abe T, Yoshida S, Fukui H. Acquisition mutants of the interspecific hybrid of *Torenia* by irradiation of heavy ion Beams. *Plant Biotechnology* 33: 163–167. 2006.
- 2) Wylie AP. The history of garden rose-Part I. *J. Roy. Hort. Sci.* 79: 555–571. 1954.
- 3) Matsumoto S, Fukui H. Identification of rose cultivars and clonal plants by random amplified polymorphic DNA. *Sci. Hort.* 67: 49–54. 1996.
- 4) Doyle JJ, Doyle JL. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem. Bull.* 19: 11–15. 1987.
- 5) White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenies. *PCR Protocols, A Guide to Methods and Applications*. San Diego, Academic Press: 315–322. 1990.
- 6) Swofford DL. PAUP: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (and other methods), ver 4.0b10. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts. 2000.
- 7) Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783–791. 1985.
- 8) Kikuchi S, Kishi M, Shimizu M, Tsujimoto H. Centromerespecific repetitive sequence from *Torenia*, a model plant for interspecific fertilization, and whole-mount FISH of its interspecific hybrid embryos. *Cytogenet. Genome Res.* 109: 228–235. 2005.
- 9) Matsumoto S, Kouchi M, Fukui H. Phylogenetic analyses of the subgenus *Eurosa* using the ITS nrDNA sequence. *Acta. Hort.* 521: 193–202. 2000.
- 10) Hsu CC. Preliminary chromosome studies on the vascular plants of Taiwan (II). *Taiwaniana* 14: 11–27. 1968.
- 11) Straub J. Chromosomenuntersuchungen an polyploiden Blütenpflanzen. I. Die Chromatinmasse bei künstlich ausgelosten Autopolyploiden. *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* 57: 531–544. 1939.
- 12) Subramanian D, Pondmudi R. Cytotaxonomical studies of south Indian Scrophulariaceae. *Cytologia* 52: 529–541. 1987.
- 13) Kikuchi S, Tanaka H, Shiba T, Mii M, Tsujimoto H. Genome size, karyotype, meiosis and a novel extra chromosome in *Torenia fournieri*, *T. baillonii* and their hybrid. *Chromosome Res.* 14: 665–672. 2006.