

種間雑種ナツエビネ×オナガエビネにおける細胞遺伝学的研究*

唐澤耕司**・石田源次郎**・磯部実**

Cytogenetic studies in the interspecific hybrid *Calanthe reflexa* × *C. masuca**

Kohji Karasawa**, Genjiro Ishida** and Minoru Isobe**

はじめに

エビネの交雑種は、John Dominy によって1856年に作出されたラン科植物における最初の種間雑種 *Calanthe Dominyi* (*C. furcata* × *C. masuca*) 以来、サンダーリストには、1980年までに83品種が登録されている。わが国においても、日本産のエビネを用いた種間雑種が、岡見(1964)、伊藤・唐沢(1969)、田中(1973)などにより多数作出されている。

わが国には春咲き性と夏咲き性のエビネが分布しており、いままでの人工交雑は春咲き性の種類を中心に行なわれている。しかし、今後は強健で品質の良い、夏咲きまたは四季咲き性の交雑種の作出が望まれる。

本研究は、夏咲き性の交雑種を作出する目的で行なわれた種間雑種ナツエビネ×オナガエビネの外部形態および核形態の観察を行い、この雑種の遺伝学的性質を明らかにすることを目的としたものである。

材料および方法

ナツエビネ×オナガエビネの交雑種は、有限会社高木農園と山口大学農学部田原望武氏により別々に交配されたもので、それぞれから提供された株の中から10個体を選び、No.1～10の個体識別番号を入れた。また、外部形態の比較に用いたナツエビネとオナガエビネは広島市植物公園で栽培しているものである。

材料を提供された高木誠作氏、小島勝也氏、田原望武氏に深く御礼を申し上げる。

葉の組織の観察は、十分生長した葉の先端より1/3の部分を用い、ハンドセクション法により切片を作成した。

染色体の観察は、成育中の根の先端を2mm切りとり、5℃の8-オキシキノリン液に8時間浸漬した後、5℃の45%酢酸で10分間固定処理し、60℃の1N塩酸と45%酢酸の混液(2:1)で解離処理を行った後、1%アセトオルセイン染色により押しつぶし法でプレパラートを作成した。

* Contribution from the Hiroshima Botanical Garden No. 33

** The Hiroshima Botanical Garden

Bulletin of The Hiroshima Botanical Garden No. 8:43-54, 1986.

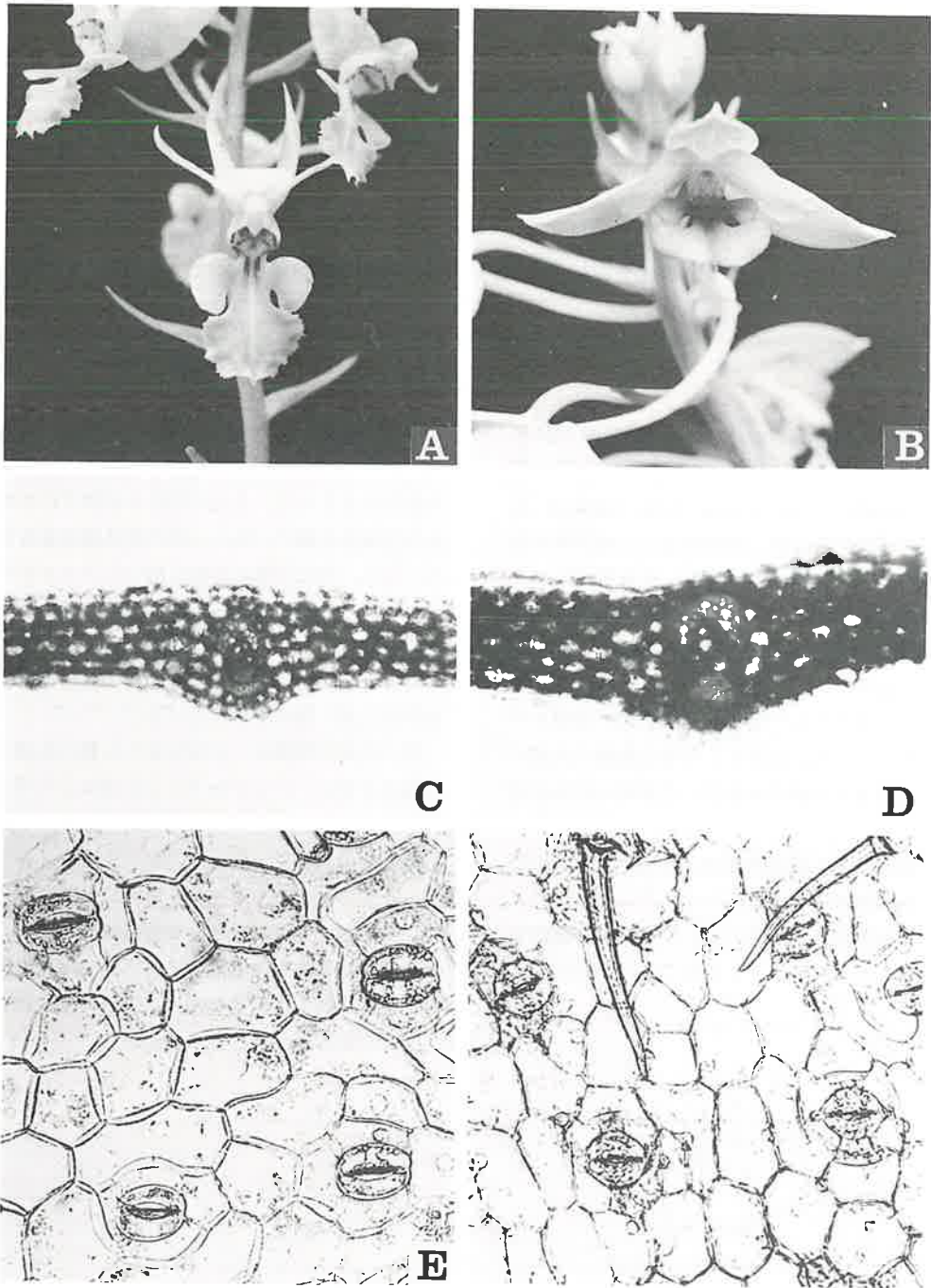


Fig 1. *Calanthe reflexa* and *C. masuca*
Calanthe reflexa (A, C, E) , *C. masuca* (B, D, F).
 A, B, Flowers ($\times 1.2$). C, D, Cross section of leaf ($\times 80$) E, F, Stomata in lower
 epidermis of leaf ($\times 200$)

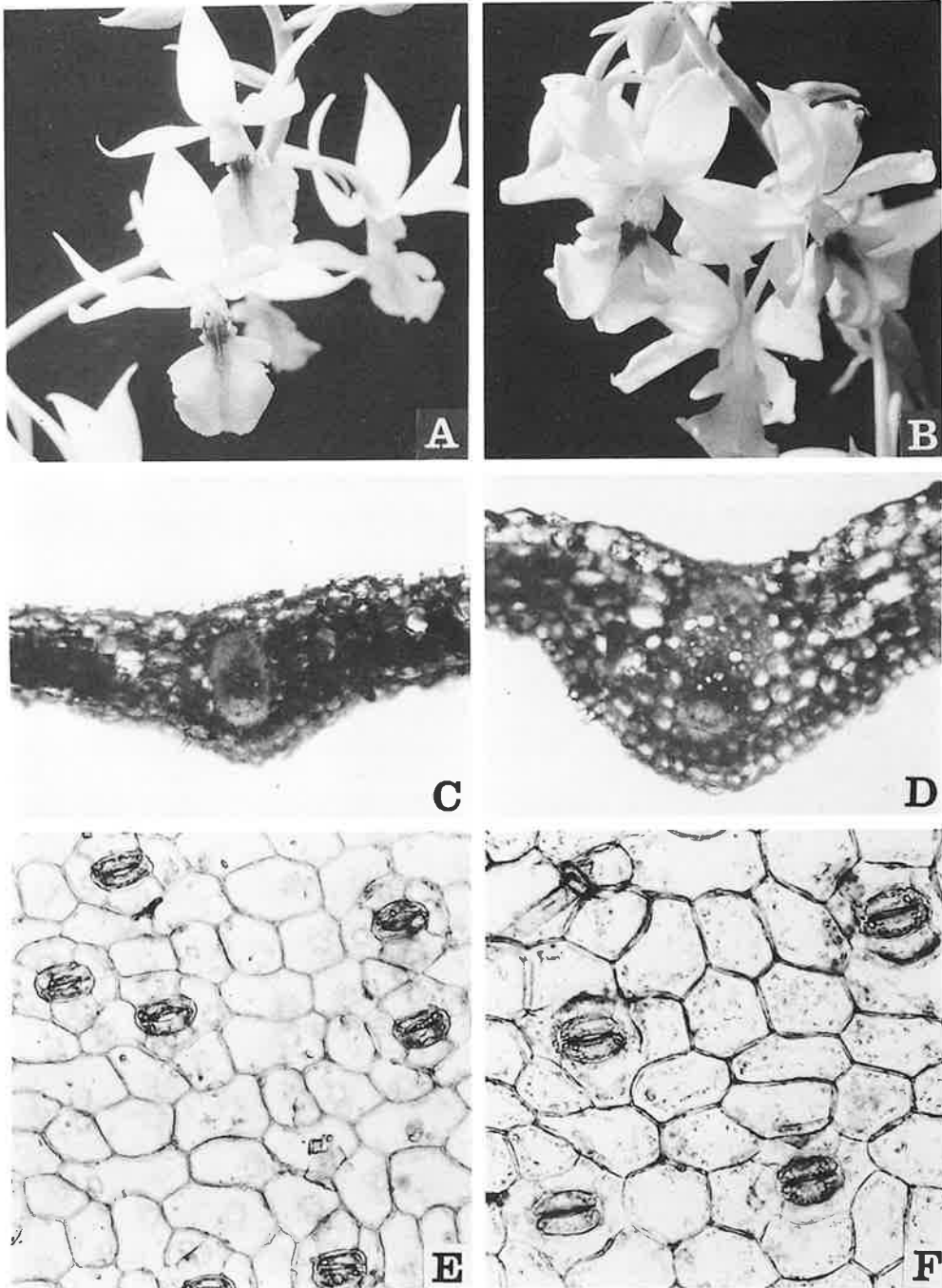
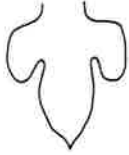
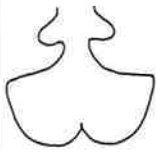




Fig 2. Two types of interspecific hybrid of *Calanthe reflexa* \times *C. masuca*
 Type R (A, C, E) , Type M (B, D, F)
 A, B, Flower ($\times 1.2$). C, D, Cross section of leaf ($\times 80$)
 E, F, Stomata in lower epidermis of leaf ($\times 200$)

Table 1. Comparison of morphological characteristics of *Calanthe* Studies

Material		<i>C. reflexa</i>	<i>C. masuca</i>	<i>C. reflexa</i> × <i>C. masuca</i> Type R	<i>C. reflexa</i> × <i>C. masuca</i> Type M
Flower	Color	Pale violet	Strong violet	Pale violet to Strong violet	Pale violet to Strong violet
	Length of flower stem	20~40cm	30~60cm	20~40cm	20~60cm
	Numbers	10~20	10~20	10~15	10~25
	Natural spread	22mm	46mm	34mm	39mm
	Dorsal sepal Length×Width	17×6mm	22×12mm	20×10mm	25×11mm
	Petal Length×Width	14×1.5mm	20×11mm	18×7mm	20×10mm
	Lateral sepal Length×Width	18×6mm	22×10mm	22×9mm	25×10mm
	Lip Length×Width	13×8mm	14×18mm	14×13mm	15×16mm
	Curve of lateral sepal	90° from petal	0° from petal	45° from petal	30° from petal
	Form of lip				
	Callus of lip	-	+	+	+
	Length of spur	0	36mm	5mm	12mm
	Leaf	Thickness	0.23mm	0.25mm	0.20mm
Length×Width		10~30×3~6cm	30~40×10~15cm	20~30×6~9cm	30~40×8~11cm
Numbers of stomata in lower epidermis		26/mm ²	35/mm ²	27/mm ²	19/mm ²
Numbers of hair in lower epidermis		0.5/mm ²	16/mm ²	4/mm ²	6/mm ²
Length of guard cell		50μm	42μm	42μm	46μm

観 察 結 果

供試した10個体の種間雑種ナツエビネ×オナガエビネの外部形態の観察から、ナツエビネに近い花形および草姿を示す個体群 (No. 1~6) とオナガエビネに近い花形および草姿を示す個体群 (No. 7~10) に分けることができた。個体群No. 1~6をRタイプとし、個体群No. 7~10をMタイプとした。

1. 外部形態

ナツエビネとオナガエビネおよびこれらの種間雑

種、RタイプとMタイプの各部の外部形態と測定値は図1, 2, 表1に示したとおりである。

種間雑種のRタイプの花色は淡紫色~青紫色、花茎の長さは生育状態によって差が見られたが、20~40cmあり、花茎は軟弱で先端部は下垂して伸び始めた。開花期は不定期であるが、温室栽培下では主に夏から秋に開花がみられた。まばらに10~15輪の花をつけ、1花の開花期間は5~7日で、1花序の開花期間は20~30日間であった。花の自然開張幅は34mm、上萼片の長さとは幅は20mm×10mm、花弁は18mm×7mm、

萼片は22mm×9mm, 唇弁は14mm×13mmで, 5mmの長さの距をもち, 下萼片のそり返り程度はナツエビネより緩かで, 花卉から約45°方向へ斜上した。また唇弁の形は3深裂してよく展開し, 中裂片の先端は浅く凹入して, 基部中央内面には帯紫濃赤色の鶏冠状突起が隆起していた。

成長した葉は斜上し, 長さとは幅は20~30cm×6~9cm, 厚さは0.20mmであった。葉の裏面表皮の気孔数は27個/mm²。1つの気孔を構成する孔辺細胞の形は楕円形で, その長径は42μmであった。裏面表皮の細胞はナツエビネとオナガエビネの並び方の中間形を示し, 不規則であった。また, 裏面表皮に短毛が4本/mm²散在した。

種間雑種のMタイプは, 温室栽培下では主に夏から秋に開花し, 花色は淡紫色~青紫色, 花茎の長さは株の生育状態によって差は見られたが20~60cmあり, 花茎は強直で直上した。まばらに10~25輪の花をつけ, 花の開花期間と1花序の開花期間はRタイプと同程度であった。花の自然開張幅は39mm, 上萼片の長さとは幅は25mm×11mm, 花卉は20mm×10mm, 萼片は25mm×10mm, 唇片は15mm×16mmで12mmの長さの距をもち, 下萼片のそり返り程度はRタイプより少なく, 花卉から約30°方向へ斜上した。唇弁の形は3深裂してよく展開し, 中央裂片先端は深く凹入して, 基部中央面には帯紫濃赤色の鶏冠状突起が隆起していた。

成長した葉は斜上し, 長さとは幅は30~40cm×8~11cm, 厚さは0.35mmで, 葉肉中の柔細胞および維管束はRタイプに比べて大きくなっていった。葉の裏面表皮の気孔数は19個/mm²で, Rタイプに比較して少なく, 孔辺細胞の形は楕円形でその長径は46μmであった。裏面表皮の細胞はナツエビネとオナガエビネの並び方の中間形を示し, オナガエビネに似た並び方をしていた。また, 裏面表皮に短毛が6本/mm²散在した。

2. 核形態

観察した株の静止期核, 前期染色体, 中期染色体を図3に示した。中期染色体を長さの順に並べて図4に示し, その測定値を表2~3に示した。

(1) Rタイプ

静止期核は直径が約17μmで, 染色質は多数の凝縮塊を形成していた。凝縮塊は形や大きさが不揃いで Tanaka (1971)による複雑染色中央粒型に相当した(図3A)。

前期染色体において, 早期凝縮部は末端寄り, 基部寄り, 介在位の各所で観察された(図3C)。

観察した6個体(No.1~6)において染色体数2n=40を確認できた(図3E)。分裂期中期染色体について長さを測定し, その結果を表2に示した。

40個の染色体は長さが6.4μmから2.3μmまでの範囲にあり, 漸变的に短くなっていった。30個の染色体は腕比が1.0~1.7の範囲にあり, 動原体は中部に位置していた。8個(No.6, 13, 23, 24, 28, 31, 33, 37)の染色体の腕比は1.8~2.5までの範囲にあり, 動原体は次中部に位置していた。2個(No.36, 38)は染色体の腕比はそれぞれ3.8と3.3であり, 動原体は次端部に位置していた。中部動原体をもつNo.29の染色体は長腕の基部に明瞭な2次狭窄があり, しばしば2次狭窄位置で短腕と長腕とが分離した。

(2) Mタイプ

静止期核は直径が約25μmで, 染色質は多数の凝縮塊を形成していた。凝縮塊は形や大きさが不揃いで, Rタイプと同様に複雑染色中央粒型を示した(図3B)。

前期染色体において, 早期凝縮部はRタイプと同様に末端寄り, 基部寄り, 介在位の各所で観察された(図3D)。

観察した4個体(No.7~10)において染色体2n=60を確認できた(図3F)。分裂期中期染色体について長さを測定し, その結果を表3に示した。

60個の染色体は長さが5.3μmから1.7μmまでの範囲にあり, 漸变的に短くなっていった。60個の染色体のうち41個の染色体は, 腕比が1.0~1.7までの範囲にあり, 動原体は中部に位置していた。14個の染色体は, 腕比が1.8~2.5までの範囲にあり, 動原体は次中部に位置していた。また5個の染色体は腕比が3.2~5.0までの範囲にあり, 動原体は次端部に位置していた。

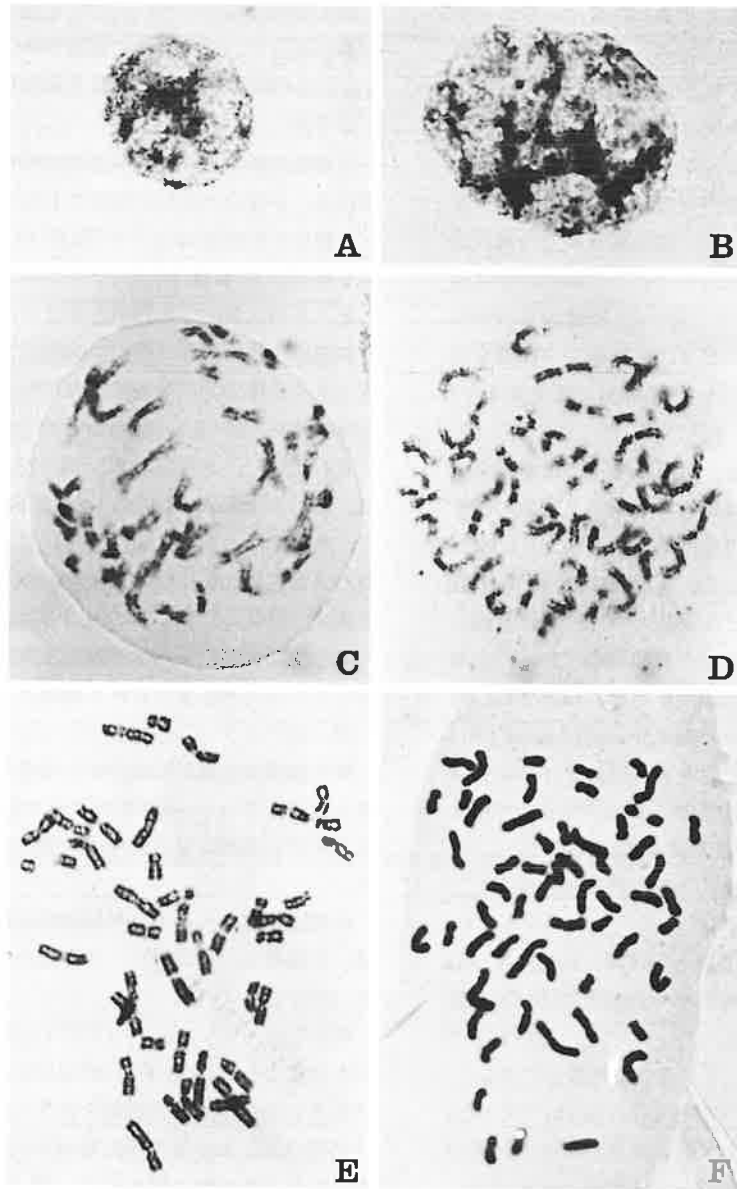


Fig 3. Chromosomes of two types of interspecific hybrid of *Calanthe reflexa* × *C. masuca*.

Type R $2n=40$ (A, C, E) , Type M $2n=60$ (B, D, F)

A, B, resting stage. C, D, Mitotic prophase

E, F, Mitotic metaphase ($\times 1,200$)

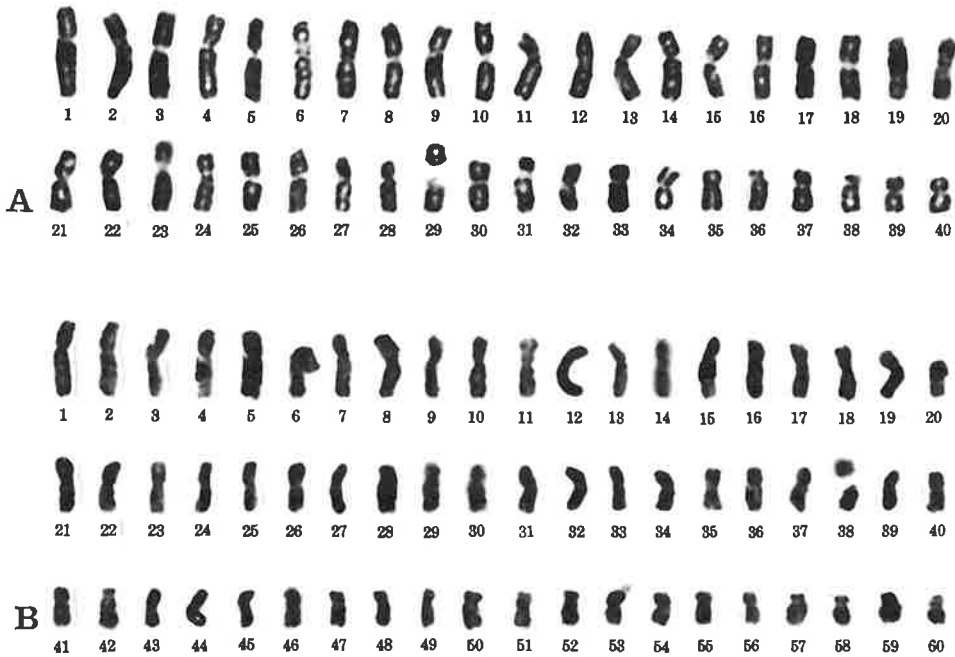


Fig 4. Mitotic metaphase chromosomes of two types of interspecific hybrid of *Calanthe reflexa* × *C. masuca*.
Type R, $2n=40$ (A), Type M, $2n=60$ (B) ($\times 2,400$)

考 察

ナツエビネとオナガエビネの種間雑種のRタイプ ($2n=40$)は、花色、花数、花茎の長さ、花の自然開張幅、上萼片、花弁、萼片、唇弁のそれぞれの長さ、幅、下萼片のそり返り程度、唇弁の形、唇弁の鶏冠状突起、距の長さ、葉の長さ、幅、裏面表皮の気孔数と細胞の並び方、裏面表皮の毛の密度の各特徴において、両親の中間的形質を示した。また、種間雑種のMタイプ ($2n=60$)は、花茎の長さ、花数、花の自然開張幅、上萼片、花弁、萼片、唇弁のそれぞれの長さ、幅、下萼片のそり返り程度、唇弁の形、唇弁の鶏冠状突起、距の長さ、葉の長さ、幅、葉の厚さ、裏面表皮の毛の密度、孔辺細胞の大きさにおいて、Rタイプより大きな数値を示し、そのほとんどが、オナガエビネの数値や形質に近くなっていた。

ナツエビネは漸变的に短くなる40個の染色体をもち、動原体が次中部に位置する2対の染色体と、動原体が次端部に位置する1個の染色体(相同染色体をもたない)、そして、二次狭窄部で長腕と短腕の分離が容易におこる1対の中部動原体型染色体により特徴づけられる(Tanaka, Karasawa & Ishida 1981)。

オナガエビネは漸变的に短くなる40個の染色体をもち、動原体が次中部に位置する比較的短い8対の染色体により特徴づけられる(Tanaka, Karasawa & Ishida 1981)。

今回観察に供したナツエビネとオナガエビネの種間雑種のRタイプは、 $2n=40$ の染色体をもち、その中で、動原体が次中部および次端部に位置する染色体の数は10個あり、両親の種の合計の半分に一致する。また、二次狭窄部で長腕と短腕の分離が容易に

おこる1個の染色体が観察され、ナツエビネの二次狭窄をもつ染色体と同一であると思われることから、本種間雑種のRタイプはナツエビネの半数染色体 $n=20$ とオナガエビネの半数染色体 $n=20$ とで構成されることが観察された。

種間雑種のMタイプは $2n=60$ の染色体をもち、両親の種の染色体数 $2n=40$ に対し、3倍性の変異株であることがわかる。動原体が次中部および次端部に位置する染色体の数は19個あり、ナツエビネの半数の2個または3個とオナガエビネの数の16個の和に一致する。ナツエビネの相同染色体をもたない次端部動原体型染色体が1個観察され、さらに2次狭窄をもつ染色体が1個観察された。このことからこのMタイプはナツエビネの半数染色体 $n=20$ とオナガエビネの染色体 $2n=40$ とで構成される異質3倍体であることがわかる。

以上の外部形態および核型の観察により、ナツエビネとオナガエビネの交雑により両親の中間的形質を示す新しい種間雑種が形成されたことがわかる。また稀に生じる3倍体株は2倍体株よりオナガエビネに近い形質を示すことが明らかになった。

摘 要

1. 種間雑種ナツエビネ×オナガエビネの2つの異なる形質の10株の形態学的、解剖学的、核形態学的研究を行った。
2. 4株の種間雑種の染色体数は $2n=40$ であり、他の6株の種間雑種の染色体数は $2n=60$ であった。
3. 2系統の種間雑種の外部形態および組織の形態は、ナツエビネとオナガエビネの中間形を示し、3倍体の形態の特徴は2倍体の形態よりもオナガエビネに近かった。
4. 本種間雑種の2倍体の染色体数 $2n=40$ は、ナツエビネの染色体の1組 ($n=20$) とオナガエビネの染色体の1組 ($n=20$) とで構成されていた。一方、本種間雑種の3倍体の染色体数 $2n=60$ は、ナツエビネの染色体の1組 ($n=20$) とオナガエビネの染色体の2組 ($2n=40$) とで構成される異

質3倍体であった。

Summary

1. Morphological, anatomical and cytological studies were carried out on ten plants grouped into two different types of the interspecific hybrid of *Calanthe reflexa* × *C. masuca*.
2. The chromosome numbers of the interspecific hybrids of the four plants were counted to be $2n=40$ and the other six plants were counted to be $2n=60$.
3. The external and the anatomical characteristics of two types of these interspecific hybrid showed the intermediate shape between *Calanthe reflexa* and *C. masuca*. The morphological features of the triploid plants were similar to those of *C. masuca* than those of the diploid plants.
4. The chromosomes of $2n=40$ of the diploid plants were consisted of a set of chromosomes ($n=20$) of *Calanthe reflexa* and a set of chromosomes ($2n=40$) of *C. masuca*. On the other hand, the chromosomes of $2n=60$ of the triploid plants were consisted of a set of chromosomes ($n=20$) of *C. reflexa* and two sets of chromosomes ($2n=40$) of *C. masuca*. Thus, this triploid should be an allotriploid.

参 考 文 献

- 岡見義雄 (1964) ラン, 種類と培養. 誠文堂新光社, 東京。
- 伊藤五彦・唐沢耕司 (1969) エビネとその仲間. 誠文堂新光社, 東京。
- Tanaka, R. 1971. Types of resting nuclei in Orchidaceae. Bot. Mag. (Tokyo) 84:118—122.
- _____ (1973) 種間雑種ツルラン×キエビネとそ

の細胞学的研究。日本蘭協会誌19巻2号: 3
— 5。

_____, K. Karasawa & G. Ishida. 1981. Kar-

yomorphological observations on
Calanthe of Japan. Bull. Hiroshima Bot.
Gard. 4:9—62.

Table 2. Measurements of somatic chromosomes of interspecific hybrid
Calanthe reflexa × *C. masuca* at mitotic metaphase, Type R, 2n=40

Chromosome	Length (μm)	Relative length	Arm ratio	Form
1	2.4 + 4.0 = 6.4	3.7	1.6	m
2	3.0 + 3.1 = 6.1	3.5	1.0	m
3	2.4 + 3.5 = 5.9	3.4	1.4	m
4	2.1 + 3.6 = 5.7	3.3	1.7	m
5	2.3 + 3.3 = 5.6	3.2	1.4	m
6	1.5 + 4.1 = 5.6	3.2	2.7	sm
7	2.6 + 2.9 = 5.5	3.2	1.1	m
8	2.3 + 2.8 = 5.1	2.9	1.2	m
9	2.0 + 3.1 = 5.1	2.9	1.5	m
10	2.2 + 2.8 = 5.0	2.9	1.2	m
11	2.0 + 3.0 = 5.0	2.9	1.5	m
12	2.0 + 2.8 = 4.8	2.8	1.4	m
13	1.7 + 3.1 = 4.8	2.8	1.8	sm
14	1.7 + 2.9 = 4.6	2.6	1.7	m
15	2.0 + 2.5 = 4.5	2.6	1.2	m
16	1.9 + 2.6 = 4.5	2.6	1.3	m
17	2.0 + 2.4 = 4.4	2.5	1.2	m
18	2.0 + 2.4 = 4.4	2.5	1.2	m
19	2.0 + 2.3 = 4.3	2.5	1.2	m
20	2.0 + 2.3 = 4.3	2.5	1.2	m
21	1.9 + 2.4 = 4.3	2.5	1.2	m
22	1.7 + 2.5 = 4.2	2.4	1.4	m
23	1.4 + 2.8 = 4.2	2.4	2.0	sm
24	1.3 + 2.9 = 4.2	2.4	2.2	sm
25	1.7 + 2.4 = 4.1	2.4	1.4	m
26	1.7 + 2.4 = 4.1	2.4	1.4	m
27	1.6 + 2.4 = 4.0	2.3	1.5	m
28	1.2 + 2.6 = 3.8	2.2	2.1	sm
29	1.6 + 2.0 = 3.6	2.1	1.2	m
30	1.4 + 2.0 = 3.4	1.9	1.6	m
31	0.9 + 2.5 = 3.4	1.9	2.7	sm
32	1.5 + 1.8 = 3.3	1.9	1.2	m
33	1.0 + 2.3 = 3.3	1.9	2.3	sm
34	1.5 + 1.7 = 3.2	1.8	1.1	m
35	1.2 + 1.9 = 3.1	1.8	1.5	m
36	0.6 + 2.3 = 2.9	1.6	3.8	st
37	0.9 + 1.9 = 2.8	1.6	2.1	sm
38	0.6 + 2.0 = 2.6	1.5	3.3	st
39	1.0 + 1.3 = 2.3	1.3	1.3	m
40	1.0 + 1.3 = 2.3	1.3	1.3	m

Table 3. Measurements of somatic chromosomes of interspecific hybrid *Calanthe reflexa* × *C. masuca* at mitotic metaphase, Type M, 2n=60

Chromosome	Length (μm)	Relative length	Arm ratio	Form
1	2.0 + 3.3 = 5.3	2.5	1.6	m
2	2.0 + 3.3 = 5.3	2.5	1.6	m
3	2.3 + 2.9 = 5.2	2.5	1.2	m
4	2.1 + 3.0 = 5.1	2.4	1.4	m
5	2.1 + 3.0 = 5.1	2.4	1.4	m
6	2.0 + 3.1 = 5.1	2.4	1.5	m
7	1.6 + 3.0 = 4.6	2.2	1.8	sm
8	2.0 + 2.5 = 4.5	2.1	1.2	m
9	1.8 + 2.6 = 4.4	2.1	1.4	m
10	1.8 + 2.6 = 4.4	2.1	1.4	m
11	2.0 + 2.3 = 4.3	2.0	1.1	m
12	2.0 + 2.3 = 4.3	2.0	1.1	m
13	1.7 + 2.6 = 4.3	2.0	1.5	m
14	1.7 + 2.6 = 4.3	2.0	1.5	m
15	1.5 + 2.8 = 4.3	2.0	1.8	sm
16	1.6 + 2.5 = 4.1	1.9	1.5	m
17	1.6 + 2.5 = 4.1	1.9	1.5	m
18	1.6 + 2.2 = 3.8	1.8	1.3	m
19	1.6 + 2.2 = 3.8	1.8	1.3	m
20	1.3 + 2.5 = 3.8	1.8	1.9	sm
21	1.3 + 2.5 = 3.8	1.8	1.9	sm
22	1.7 + 2.0 = 3.7	1.7	1.1	m
23	1.6 + 2.1 = 3.7	1.7	1.3	m
24	1.7 + 1.8 = 3.5	1.6	1.0	m
25	1.7 + 1.8 = 3.5	1.6	1.0	m
26	1.5 + 2.0 = 3.5	1.6	1.3	m
27	1.3 + 2.1 = 3.4	1.6	1.5	m
28	1.3 + 2.1 = 3.4	1.6	1.5	m
29	1.1 + 2.3 = 3.4	1.6	2.0	sm
30	1.1 + 2.3 = 3.4	1.6	2.0	sm
31	1.5 + 1.8 = 3.3	1.6	1.2	m
32	1.3 + 2.0 = 3.3	1.6	1.5	m
33	1.3 + 2.0 = 3.3	1.6	1.5	m
34	1.3 + 2.0 = 3.3	1.6	1.5	m
35	1.6 + 1.6 = 3.2	1.5	1.0	m
36	1.1 + 2.1 = 3.2	1.5	1.9	sm
37	1.1 + 2.1 = 3.2	1.5	1.9	sm
38	1.2 + 1.6 = 2.8	1.3	1.3	m
39	1.1 + 1.7 = 2.8	1.3	1.5	m
40	1.0 + 1.8 = 2.8	1.3	1.8	sm

Table 3. (continued)

41	$1.0 + 1.8 = 2.8$	1.3	1.8	sm
42	$0.5 + 2.3 = 2.8$	1.3	4.6	st
43	$1.3 + 1.4 = 2.7$	1.3	1.0	m
44	$1.3 + 1.4 = 2.7$	1.3	1.0	m
45	$1.1 + 1.6 = 2.7$	1.3	1.5	m
46	$1.0 + 1.6 = 2.7$	1.3	1.6	m
47	$1.0 + 1.6 = 2.6$	1.2	1.6	m
48	$1.0 + 1.6 = 2.6$	1.2	1.6	m
49	$0.8 + 1.8 = 2.6$	1.2	2.2	sm
50	$0.8 + 1.8 = 2.6$	1.2	2.2	sm
51	$0.6 + 1.9 = 2.5$	1.2	3.1	st
52	$0.6 + 1.9 = 2.5$	1.2	3.1	st
53	$1.0 + 1.3 = 2.4$	1.1	1.3	m
54	$1.0 + 1.3 = 2.4$	1.1	1.3	m
55	$0.8 + 1.5 = 2.3$	1.1	1.8	sm
56	$0.8 + 1.5 = 2.3$	1.1	1.8	sm
57	$0.5 + 1.6 = 2.1$	1.0	3.2	st
58	$0.5 + 1.6 = 2.1$	1.0	3.2	st
59	$0.8 + 1.2 = 2.0$	1.0	1.5	m
60	$0.8 + 0.9 = 1.7$	0.8	1.1	m