

## 数種類のユリ (*Lilium* spp.) の自家受粉および交雑受粉における 柱頭受粉法および花柱切断受粉法による種子形成

李 同華・新美芳二

新潟大学農学部 950-21 新潟市五十嵐二の町 8050

A Comparison of Seed Sets in Self-, Intraspecific and Interspecific Pollination of *Lilium* Species  
by Stigmatic and Cut-style Pollination Methods

Tong Hua Li and Yoshiji Niimi

Faculty of Agriculture, Niigata University, Igarashi 2-8050, Niigata 950-21

### Summary

Growth and morphology of pollen tubes and formation of seeds were investigated in several *Lilium* species and cultivars after self-, intraspecific and interspecific pollination by two pollination methods: stigmatic and cut-style pollination.

1. The relative pollen tube length as a percentage of the style length from the stigma to the base of style was 100% for 96 to 120 hr after stigmatic pollination between compatible mating partners; it was significantly less between incompatible partners because pollen tube growth was retarded. In the latter case, growth inhibition was evident 24 hr after pollination. Based on the relative tube length, *L. longiflorum* 'Hinomoto' and 'Georgia' had a stronger tendency for self-incompatible reaction than did *L. ×*'Enchantment'.

2. There was a possible relationship between the intensity of the self-incompatible reaction and the rate of deformed pollen tubes having bulbous or rugged tips. The deformed tubes made up 60 to 70% of the population after self-pollination of *L. longiflorum* 'Hinomoto' and 'Georgia'; they were 37% in *L. ×*'Enchantment' and less than 10% in other compatible matings.

3. Viable seeds were obtained in the compatible mating by cut-style pollination as well as by stigmatic pollination. The number of seeds produced by the former method was significantly smaller, ranging from 10 to 50% of the latter. In the self-incompatible mating viable seeds were also obtained in *L. longiflorum* 'Georgia' and *L. ×*'Enchantment' by the cut-style pollination but not in *L. longiflorum* 'Hinomoto'.

4. After self- and intraspecific pollination of *L. longiflorum* 'Hinomoto' and 'Georgia' by cut-style pollination, pollen tubes were observed by a scanning electron microscopy. Pollen tubes of self-pollinated 'Hinomoto' passed by or stopped in front of the micropyles but did not enter them. In other matings, the pollen tubes entered the micropyles even though some had deformed, flat tips.

### 緒 言

ユリの育種をすすめる上で、自家不和合性の打破や遠縁種間交雑における種子の獲得は重要であり、そのための様々な試みがなされてきた。そのおもなものとして、遅延受粉 (Ascher・Peloquin, 1966)、受粉前

の花柱 (Hopperら, 1967) や花粉 (Matsubara, 1981) への温度処理、花柱を切断したあと切断面に受粉する花柱切断受粉法 (浅野・明道, 1977a; Cheng・Mattson, 1972; Watts, 1967)、花柱へのサイトカニン処理 (Matsubara, 1973)、雌ずい各器官および雄ずいからの抽出物の柱頭への受粉前の処理 (Matsubara, 1981)、花粉への温度処理、メントール花粉の利用、予備受粉や栽培温度の制御 (Van Tuyll

1994年6月27日 受理。

本報告の一部は園芸学会平成6年度春季大会と第24回国際園芸学会(京都)で発表した。

ら, 1982), 花柱切断受粉と子房, 胚珠および胚培養の併用 (浅野・明道, 1977b; 浅野, 1980; 岡崎ら, 1992; Van Tuyt ら, 1990, 1991), 花柱切断と柱頭粘液の花柱と子房への注入 (雨木・樋口, 1992) などがあり, 自殖種子および雑種種子獲得の成功例もある。

これらの方法のうち, 柱頭受粉法では種子が形成されない 'エンチャントメント' は花柱切断受粉法により自家受粉で種子が得られ (Van Tuyt ら, 1982), 他のユリの遠縁種間交雑においてもこの方法により雑種の獲得に成功 (浅野, 1977) している。しかしながら, この花柱切断受粉法を用いてもわずかな種子しか形成されなかったり, 全く形成されない場合が多く (雨木・樋口, 1992; 浅野・明道, 1977b; Van Tuyt ら, 1982), その原因や解決法はまだ明らかにされていない。本研究は花柱切断受粉法が自家不和合性打破や種間交雑における種子獲得のために有効かどうかを確かめ, この方法をユリの育種を推進する上でより一層有効な手段とするために必要な条件を明らかにする目的で行った。

## 材料および方法

### 1. 材料

実験は 1992 年から 1993 年にかけて行い, テッポウユリ 'ひのもと' と 'ジョージア', 'エンチャントメント', カノコユリ '内田', ヒメサユリ, リーガルユリ, イワユリとヤマユリを供試した。供試材料は圃場に直接植えるか素焼き鉢に植えてから, ビニルハウス内で管理した。

1) 自家受粉および交雑受粉: 花粉親としてのみ利用したイワユリとヤマユリを除いて, すべてのユリの自家受粉を行い, 'ひのもと'×'ジョージア', 'ジョージア'×'ひのもと', 'エンチャントメント'×イワユリ, '内田'×ヤマユリの交雑受粉も行った。

2) 除雄および花粉の採集と貯蔵: 受粉花として用いる蕾は開花 2~3 日前にピンセットで除雄し, そのあと柱頭は自然受粉を防ぐためアルミホイルでおおった。受粉に用いる花粉は開花 2~3 日前に採集した葯を室内に約 24 時間放置して開葯させて筆で採集した。これらの花粉を開花当日に受粉した。'エンチャントメント'×イワユリ, '内田'×ヤマユリの組み合わせでは開花期が異なることから, 貯蔵花粉を使用した。貯蔵花粉は前報 (Niimi・Shiokawa, 1992) の方法に従い準備した。すなわち, 室内で開葯させて得た花粉を均一に混ぜたあとゼラチンカプセルに入れ, 亜硝酸ナトリウムで約 60% の湿度に調整した管びんに

入れたのち, 使用するまで -10°C でシリカゲルの入ったデシケータ内で貯蔵した。そしてこれらの花粉を使用するときには, 花粉はゼラチンカプセルから出して葉包紙上に広げ, 約 1 時間実験室内に放置した。

### 2. 受粉方法

受粉は普通に柱頭に受粉する '柱頭受粉法' と花柱を切断した後その切り口に花粉を挿入する '花柱切断受粉法' を用いた。これらの受粉操作は同一株の花を同数を用いた。

1) 柱頭受粉法: 開花当日に柱頭に受粉したあとすぐに柱頭をアルミホイルでおおった。

2) 花柱切断受粉法: ヒメサユリを用いた予備実験において, 開花後の日数と花柱長 (切断したのちに残る花柱の長さ) が種子形成に及ぼす影響を調べた。

開花 0 (開花当日), 3, 5 および 7 日後に花柱を花柱基部より上方 15 および 25 mm で切断したのち, その切り口に受粉した。第 1 表に示すように, 柱頭受粉法 (対照) と比べ花柱切断受粉法ではさく果や胚および胚乳をもつ完全な種子の数はやや少なかったが, 花柱切断受粉法の各処理の間では開花後の日数および花柱長はさく果や種子の数にほとんど影響しないことがわかった。このことから, 本研究では花柱切断受粉法においては開花当日の花を使用した。そして, 花柱はその基部の上方 15 mm のところで水平に切断し, 花柱の横断面の中央から下方に 10 mm の切れ込みを入れ, 花柱を V 字型に開き, その縦断面に花粉を挿入

Table 1. Effect of floral age and excised style length on fruit and seed sets in *L. rubellum*.

Days after anthesis	Excised style length (mm)	Number of		
		Flowers pollinated	Fruits obtained (%)	Seeds per fruit
0	15	16	12 (75) <sup>2</sup>	31
	25	9	8 (89)	37
	ST <sup>y</sup>	17	16 (94)	74
3	15	10	9 (90)	35
	25	11	9 (82)	45
5	15	12	12 (100)	36
	25	8	7 (88)	45
7	15	12	8 (67)	33
	25	17	13 (76)	36

<sup>2</sup> (number of fruits obtained/number of flowers pollinated)×100.

<sup>y</sup> ST indicated stigmatic pollination as a control.

したあと切り口をビニルテープでおおった。

### 3. 柱頭受粉した花粉の花柱内での管伸長の観察と管長の測定

柱頭に受粉したあと、各受粉組み合わせから15本の花柱を受粉24時間から144時間後まで24時間ごとに花柱基部から切断し、FAA（ホルマリン：酢酸：70%エタノール=5：5：90）で固定した。

花粉管長とその形態は次のように調べた。固定した花柱は流水で約40分間洗浄したあと、60℃の1N NaOH水溶液の中で35分から60分間軟化した。そして、60℃の蒸留水で洗浄したあと、0.1N K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>溶液に0.1%のアニンブルーを溶解したアニンブルー液（Kho・Baer, 1968）で約12時間染色した。

花柱長（柱頭先端から花柱基部までの長さ）を測定したあと、前報（新美, 1991）の方法に従いガラス板上で花粉管束を花柱組織から分離してスライドガラスに移した。そして、45%グリセリンを数滴たらしたあとカバーガラスをかけ、オリンパスBHF型蛍光顕微鏡で落射方式（励起法, V; 励起主波長, 395 nm~410 nm）で観察した。

用いたユリの各種または品種の間で花柱長が異なったため、花粉管の伸長を比較する方法として、次のように花粉管相対伸長率を求めた：(1)十字動ステージを使い最もよく伸長した花粉管を含め20本の花粉管の長さを各花柱ごとに測定し、その平均花粉管長を求めた；(2)花粉管相対伸長率は（平均花粉管長/花柱長）×100により各花柱で求め、15反復行った（第1図）。

各花柱内で調査した20本の花粉管のうち、先端が異常に肥大したり凹凸を示すものや花粉管の途中に突起があるもの（第2図）を奇形花粉管とみなした。奇形花粉管率は（奇形花粉管数/20）×100により各花柱で求め、15反復行った（第3図）。

### 4. 種子形成数と種子発芽率の調査

各組み合わせにおいて柱頭受粉法と花柱切断受粉法で得られたさく果を受粉約80~95日後に採集し、すべての種子をガラス板上に広げ、下から蛍光灯を当てて胚および胚乳をもつ完全な種子（以降完全種子と呼ぶ）の数を各さく果ごとに調査した。

二つの受粉方法により得られたリーガルユリと‘エンチャントメント’の完全種子を用いて、その発芽力を調べた。完全種子は田土：腐葉土=1：1を混合した土の入った直径10.5 cmの黒ビニルポットに10粒ずつまき、7~14反復行った。これらのポットは夜間の最低気温が13℃に維持された温室に置き、種子発

芽率は5日ごとに調査した。

### 5. 走査型電子顕微鏡による子房内のテッポウユリ花粉管観察

柱頭受粉と花柱切断受粉後の子房内での花粉管を観察するため、‘ひのもと’と‘ジョージア’の子房を受粉4~6日後に採取した。子房は横に三等分に分割したあと、中位部から採取した子房片を改良Karnovsky液（武岡・和田, 1985）で4℃, 12時間固定した。固定した材料はpH 7.2の磷酸緩衝液で洗浄し、エタノールシリーズで脱水して酢酸イソアミルで置換したあと、トプコン社CP-5A臨界点乾燥装置で乾燥した。そのあと解剖顕微鏡のもとで子房壁を取り除き、エイコー・エンジニアリング社のIB・3イオンコーターで6~6.5 mv, 4~5分間金蒸着し、トプコン社ABT-55走査型電子顕微鏡で花粉管を観察した。

## 結果

### 1. 柱頭受粉の花柱内での花粉管の伸長

1) 花粉管の相対伸長率：各組み合わせの花粉管の相対伸長率を第1図に示した。リーガルユリの自家受粉では96時間後、ヒメサユリおよびテッポウユリの種内交雑では120時間後に100%となった。一方、‘エンチャントメント’の自家受粉では24時間以降伸

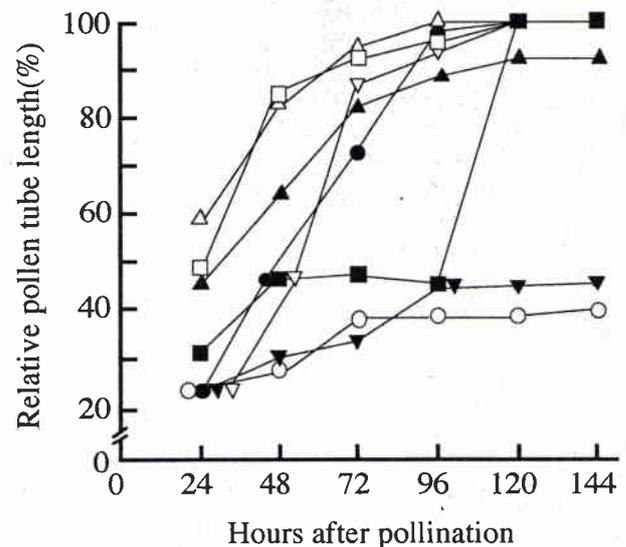
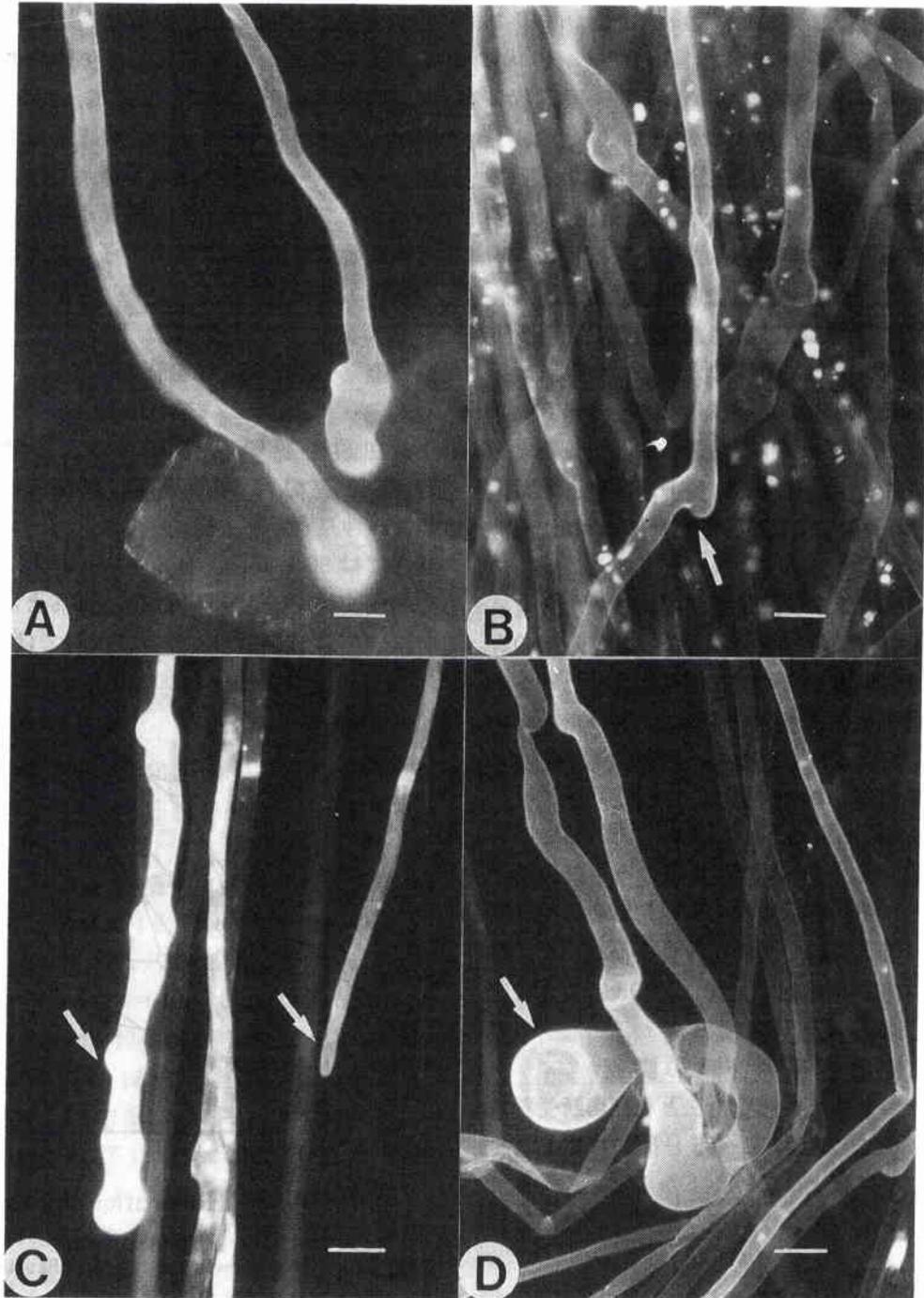


Fig. 1. Relative growth curves of pollen tubes expressed as a percentage of style length in self- and intraspecific pollination of *Lilium* spp. Self-pollination: *L. longiflorum* 'Hinomoto' (▼), *L. longiflorum* 'Georgia' (○), *L. × 'Enchantment'* (▲), *L. speciosum* 'Uchida' (■), *L. rubellum* (□), *L. regale* (△). Intraspecific pollination: *L. longiflorum* 'Hinomoto' × *L. longiflorum* 'Georgia' (●), *L. longiflorum* 'Georgia' × *L. longiflorum* 'Hinomoto' (▽).

長率が低下して、調査期間中の受粉 144 時間後までに 100%にはならず、'ひのもと'と'ジョージア'の自家受粉では受粉 24 時間後で 20~30%、72 時間でも 30~40%で、それ以降花粉管の伸長が停止した。また、

'内田'の自家受粉の花粉管は他のユリの場合と異なる成長パターンを示し、受粉 48 時間から 96 時間後まではほとんど伸長しなかったが、120 時間後に 100%となった。



**Fig. 2.** Fluorescence photomicrographs of deformed pollen tubes of self-pollinated *L. longiflorum* 'Hinomoto' observed at different time after stigmatic pollination. (A) 24 hr; pollen tubes with swollen tip. (B) 96 hr; protuberance (arrow) formed at a region away from a pollen tube tip. (C) 120 hr; a pollen tube with a deformed bulbous tip (left arrow) and a normal pollen tube (right arrow). (D) 144 hr; a pollen tube with an intensively swollen tip. Bars represent 20  $\mu\text{m}$ .

2) 奇形花粉管率: テッポウユリの柱頭受粉法による自家受粉で観察した花粉管のうち, 奇形の花粉管が多数あった (第2図). その典型的なものとして, 花粉管の先端が肥大したもの (第2図-A), 管の途中に突起物のあるもの (第2図-B), 節状のもの (第2図-C) があり, 受粉 144 時間後には先端が異常に肥大した花粉管も多数存在した (第2図-D).

第2図に示した花粉管およびそれに類似したものを奇形花粉管とみなし, 各花柱内に観察される奇形花粉管の割合を柱頭受粉後から花粉管が子房に到達する直前まで, 受粉後 24 時間ごとに 3~6 回調査した (第3図). 種子が得られた組み合わせのヒメサユリの自家受粉 (第3図-A), 'ひのもと'×'ジョージア' (第3図-B), 'ジョージア'×'ひのもと' (第3図-C) では奇形花粉管率はいずれも 10% 以下であった. 一方, 自家受粉で種子の得られなかった'エンチャントメント' (第3図-D) の受粉 24 時間後の奇形花粉管率は約 5% であったが, 受粉 96 時間後には 37% となった. また, 顕著な花粉管伸長の抑制が起こったテッポウユリの自家受粉では受粉 24 時間後の奇形花粉管率は約

15% で, 受粉 144 時間後には 60~70% となった (第3図-E, F).

## 2. 柱頭受粉法および花柱切断受粉法による種子形成

二つの受粉法を用いた自家および交雑受粉の種子形成の結果を第2表に示した.

'ひのもと'の自家受粉では両受粉法で種子は全く得られなかった. 'ジョージア'および'エンチャントメント'の柱頭受粉法による自家受粉では種子が全く得られず, 花柱切断受粉法では約 28~30% のさく果が得られた. しかし, さく果当たりの種子数は少なかった. '内田'の柱頭受粉法による自家受粉では, さく果形成率は 1992 年は 0%, 1993 年は 31% であったが, 花柱切断受粉法では両年のさく果形成率はそれぞれ 59%, 56% であった.

花柱切断受粉法により種子が得られた組み合わせにおいて, さらに次のような点が明らかになった: (1) 柱頭受粉法で種子が得られる場合, リーガルユリやヒメサユリの花柱切断受粉法による自家受粉ではさく果形成率が柱頭受粉法とほぼ等しかったが, 'ひのもと'×

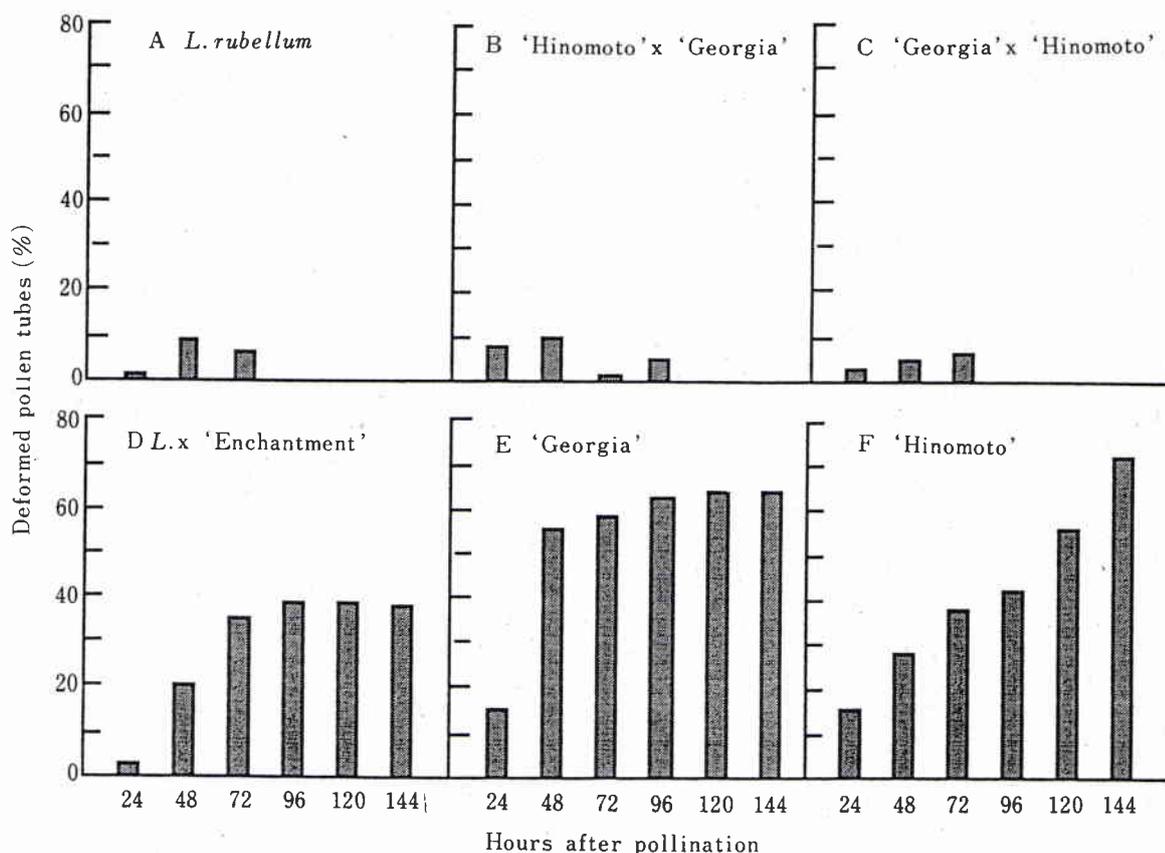


Fig. 3. Percentage of abnormal pollen tubes of *Lilium* spp. observed at different time after stigmatic pollination. (A), (D), (E) and (F): self-pollination. (B) and (C): intraspecific pollination.

**Table 2.** Fruit and seed sets in self, intraspecific, and interspecific pollination of *Lilium* species by stigmatic (ST) and cut-style (CS) pollination.

Pollination	Pollination methods	1992			1993		
		Number of			Number of		
		Flowers pollinated	Fruits obtained (%)	Seeds per fruit	Flowers pollinated	Fruits obtained (%)	Seeds per fruit
Self pollination							
<i>L. longiflorum</i>	ST	30	0 ( 0) <sup>z</sup>	0	30	0 ( 0)	0
'Hinomoto'	CS	30	0 ( 0)	0	30	0 ( 0)	0
<i>L. longiflorum</i>	ST	—	—	—	30	0 ( 0)	0
'Georgia'	CS	—	—	—	25	7 ( 28)	15
<i>L. × 'Enchantment'</i>	ST	24	0 ( 0)	0	40	0 ( 0)	0
	CS	24	7 ( 29)	10	20	6 ( 30)	12
<i>L. speciosum</i>	ST	23	0 ( 0)	0	36	11 ( 31)	60
'Uchida'	CS	32	19 ( 59)	8	50	28 ( 56)	13
<i>L. rubellum</i>	ST	20	18 ( 90)	55	17	16 ( 94)	74
	CS	15	12 ( 80)	22	17	14 ( 82)	37
				***			***
<i>L. regale</i>	ST	10	10 (100)	199	—	—	—
	CS	10	10 (100)	65	—	—	—
				***			
Intraspecific pollination							
<i>L. longiflorum</i>	ST	—	—	—	25	25 (100)	215
'Hinomoto'	CS	—	—	—	25	9 ( 36)	23
×							***
<i>L. longiflorum</i>							
'Georgia'	ST	—	—	—	20	18 ( 90)	173
	CS	—	—	—	24	8 ( 33)	16
×							***
<i>L. longiflorum</i>							
'Hinomoto'							
Interspecific pollination							
<i>L. × 'Enchantment'</i>	ST	20	14 ( 70)	135	23	22 ( 96)	161
×	CS	20	12 ( 60)	34	23	20 ( 87)	36
<i>L. maculatum</i>				***			***
<i>L. speciosum</i>	ST	—	—	—	47	42 ( 89)	79
'Uchida'	CS	—	—	—	20	13 ( 65)	34
×							***
<i>L. auratum</i>							

\*\*\* Significant difference of T at = 0.005 between stigmatic and cut style pollination.

<sup>z</sup> Parenthesized figures represent (number of fruits obtained/number of flowers pollinated) × 100.

‘ジョージア’や‘ジョージア’×‘ひのもと’ではさく果形成率が著しく低下した；(2)花柱切断受粉法により得られたさく果当たりの種子数は柱頭受粉法で得られた種子の10～50%で、柱頭受粉と比べ有意な減少を示した。

### 3. 柱頭受粉法および花柱切断受粉法によって得た種子の発芽

二つの受粉法により得た‘エンチャントメント’×イワユリの種子のうち、花柱切断受粉法で得た種子は柱頭受粉法で得た種子よりも5日間ほど早く発芽したが、いずれの種子の発芽率も播種40日後に79%となった。

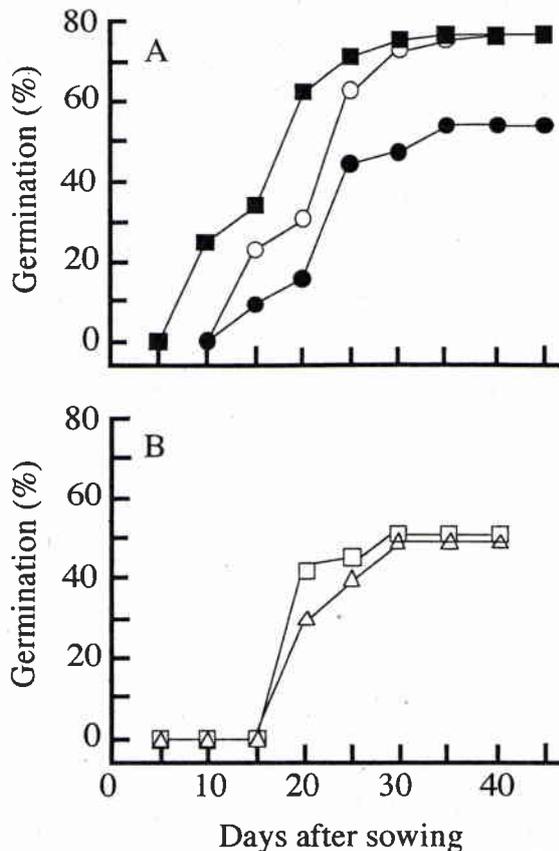


Fig. 4. Germination rates of seeds obtained by stigmatic and cut-style pollination. A: *L. x 'Enchantment'* self-pollinated by cut-style pollination (●), and crossed with *L. maculatum* by stigmatic (○) and cut-style (■) pollination. B: *L. regale* self-pollinated by stigmatic (□) and cut-style (△) pollination.

一方、花柱切断受粉法による自家受粉で得た'エンチャントメント'の種子の発芽開始は交雑種子と比べ約5日ほど遅く、最終発芽率は約50%であった(第4図-A)。一方、両受粉法で得たりーガルユリの自家受粉種子の発芽開始時期および最終発芽率は両者間でほとんど差がなかった(第4図-B)。

#### 4. テッポウユリ子房内の花粉管観察

対照として行った柱頭受粉法による'ひのもと'と'ジョージア'の相互交雑では、受粉5日後には多数の花粉管が子房内の胎座組織表面に観察され(第5図-A)、珠孔に侵入している花粉管は形態的に正常と思われる円筒状のものであった(第5図-B, C)。一方、花柱切断受粉法では、子房内に観察される花粉管数は柱頭受粉法の場合と比べ少なく、珠孔に侵入した花粉管は柱頭受粉法の場合と同様に円筒状のもの(第5図

-D)とともに形態的に異常と思われる扁平状のもの(第5図-E)があった。

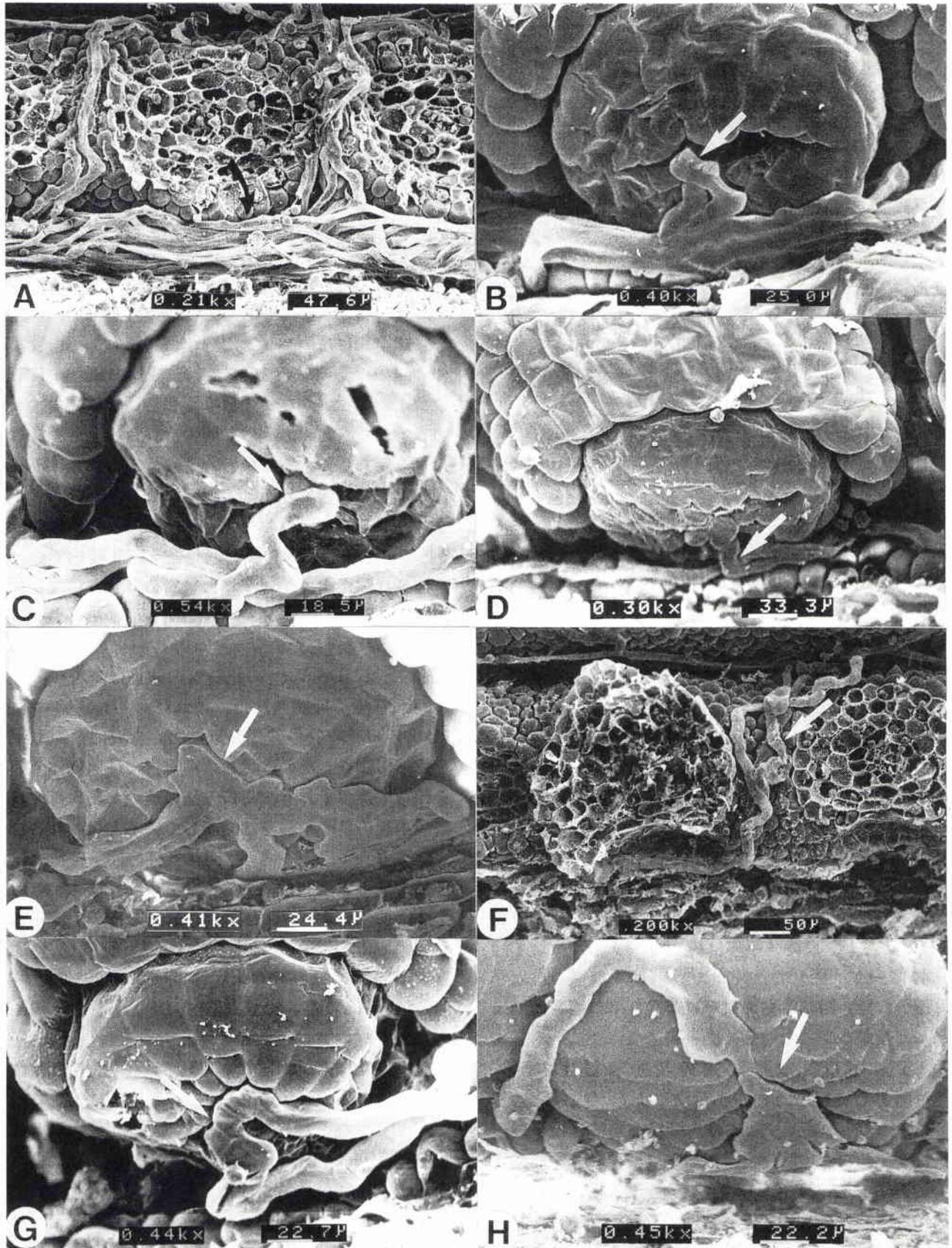
花柱切断受粉法による'ひのもと'と'ジョージア'の自家受粉では、花粉管は受粉5~6日後には子房内に達していたが、その数は和合組み合わせの柱頭受粉法や花柱切断受粉法の場合と比べ少なかった(第5図-F)。そして、'ひのもと'の花粉管は珠孔付近まで伸長していたが珠孔に侵入せず(第5図-G)、'ジョージア'の花粉管は珠孔に侵入していたが、奇形と思われる扁平状のものが多く観察された(第5図-H)。

#### 考 察

自家不和合性のユリは配偶子型に属し、花粉管は花柱の途中でその生長を停止する(Brewbaker, 1957)。数種類のテッポウユリの自家不和合反応は受粉後5日頃までが最も強く、その期間のそれらの花粉管長は和合組み合わせの花粉管長の約半分で、その後は不和合反応はやや弱まる(Asher・Peloquin, 1966)。テッポウユリ'ひのもと'と'ジョージア'の自家受粉では受粉6日後でも花粉管の伸長は回復せず、花柱内での花粉管伸長は強く阻害され、和合組み合わせの場合と比べ伸長量は30~40%で(第1図)、Asher・Peloquin(1966)が報告したテッポウユリの場合と比べ、'ひのもと'と'ジョージア'の花粉管の伸長は受粉後の早い時期から強く抑制された。これは、Asher・Peloquin(1966)は花粉管の伸長を母植物から分離した雌ずいを使って調査したのに対し、本報告では植物体上の花を使って調べており、この方法の違いが花粉管伸長抑制の生起の早晩や強さに関連していると思われる。

'エンチャントメント'は開花当日の柱頭受粉では種子は形成されず(Cheng・Mattson, 1972)、栽培温度を26℃に制御することにより若干の種子が得られる(Van Tuytら, 1982)。本実験でも柱頭受粉法による自家受粉では花粉管の相対伸長率は約90%で(第1図)、種子は形成されず、花柱切断受粉法では種子が得られた(第2表)ことより、'エンチャントメント'は自家不和合性植物と考えられる。一方、'内田'は柱頭受粉法による自家受粉の実験を2年間にわたり行ったが、さく果と種子の形成についての結果が異なり(第2表)、また山間地に自生するカノコユリは自家受粉で容易に結実する(清水, 1971)ことから、'内田'が自家不和合性植物かどうかは今後さらに調べる必要がある。

ユリの自家不和合反応による花粉管伸長の抑制と奇形花粉管の発生頻度との間に一定の関係があることが



わかった (第1, 3図). 花粉管は花柱の誘導組織内を伸長していく間にカロースは花粉管だけでなく花粉管内に一定の間隔で沈着してカロース栓を形成するのが一般的であるが, 不和合組み合わせでは花粉管は伸長が遅く, カロースの沈着は不規則となり, 花粉管壁は肉厚となって先端が異常となる (Ebertら, 1989). 自家不和合性植物ペチュニア (*Petunia violacea*) の自家受粉において, 花粉管の先端が不規則に膨大し (安田, 1929), *P. hybrida* の自家不和合受粉では異常な形態の花粉管は約85%で, 逆に交雑和合受粉では正常な形態の花粉管は約85%であった (樋口, 1969). また日本ナシの不和合組み合わせでも異常形態を示す花粉管は和合組み合わせの場合の約2倍であった (Hiratsukaら, 1991). 本研究でも異常な形態を示す花粉管の発生頻度は, 花粉管伸長が花柱の途中で停止する 'ひのもと', 'ジョージア' および 'エンチャントメント' の自家受粉においては高く, 受粉後の時間の経過とともに増加し, 柱頭受粉法で種子を形成する和合組み合わせでは低かった (第3図). これらのことから, ユリの自家受粉における奇形花粉管の発生の多少は自家不和合反応の強さを示す一つの指標となり得ると思われ, 自家不和合反応は 'ひのもと' と 'ジョージア' が強く, 'エンチャントメント' はテッポウユリよりやや弱いと結論できよう.

ユリの自家不和合性打破や遠縁種間交雑において, 柱頭受粉法では種子が得られない場合でも, 花柱切断受粉法を用いれば種子の獲得が可能となっている (浅野・明道, 1977a; Cheng・Mattson, 1972; Van Tuylら, 1982; Watts, 1967). この花柱切断受粉法を適用して種子を得たこれまでの報告のおもな共通点は次のようである: (1) 柱頭受粉法で種子が得られる組み合わせでは, この方法で得られる種子数は柱頭受粉法と比べ少ない; (2) 自家不和合性を示すユリでは, この方法で種子が得られる場合と全く得られない場合があり, 種子が得られる場合でも完全種子はあまり多く得られない; (3) 遠縁種間交雑でも若干の種子が得られるが,

胚培養を必要とする場合が多い.

本研究でもほぼ同様な結果となり, 柱頭受粉法で種子が得られる組み合わせにおいて花柱切断法を適用すると, 後者の方法で得られる種子は前者の約10~50%であった. また, 自家不和合性品種 'ひのもと', 'ジョージア' および 'エンチャントメント' の自家受粉では, 'ジョージア' および 'エンチャントメント' はさく果数および種子数は交雑受粉と比べ少なく, 'ひのもと' では種子は全く形成されなかった (第2表). 和合組み合わせにおいて花柱切断受粉法で得られる種子数が柱頭受粉の場合と比べ少なくなる原因は幾つかあると思われるが, その一つとして花柱切断部分に挿入した花粉粒数が柱頭受粉の場合と比べ少なかった可能性がある. これは切断部により多くの花粉を挿入する方法を工夫することにより解決されるであろう. また, 花柱切断受粉法では, 伸長した花粉管が胚珠の珠孔に誘導され, 侵入できるような条件が何らかの理由により不足していることも考えられる. 自家不和合性植物のペチュニア (*Petunia hybrida*) の子房では自家および他家受粉の42時間後にはリボゾームタンパク質含量が最高となり, ロイシンの取り込み量は自家受粉と他家受粉の間で異なり (Deurenberg, 1976), テッポウユリでは同種の花粉と異種のペチュニア花粉を柱頭に受粉した場合, 前者では120分以内に柱頭と子房間でははっきりとした電位差が生じるが, 後者ではそのような変化はない (Spanjer, 1978). これらの結果は, 柱頭に花粉が置床された後に花柱から子房にあるシグナルが送られたり, 生理的な反応をはじめさまざまな反応が胚珠側に生起していることを示しており, Russell (1992) はその一つとして多くの植物では花粉管が子房に到達するまえに胚珠の一つの助細胞が自己分解により崩壊を開始し, 屈化性物質が線形装置を通して珠孔中に分泌されると述べている. そして, その屈化性物質の構成要素の一つとして花粉管の走化性に影響するカルシウムが含まれている (Jensenら, 1983). 本研究で用いた両受粉法で胚珠側に起こる反応に違い

Fig. 5. Scanning electron micrographs of pollen tubes (arrow) inside the ovaries of *L. longiflorum* after stigmatic (control) and cut-style pollination. Stigmatic pollination: (A), pollen tubes of 'Hinomoto' growing over the placenta in between the ovules of 'Georgia'; (B), a pollen tube of 'Georgia' penetrating a 'Hinomoto' micropyle; (C), a pollen tip of 'Hinomoto' penetrating a 'Georgia' micropyle. Cut-style pollination: (D), a normal 'Hinomoto' pollen tube penetrating a 'Georgia' micropyle; (E), a 'Georgia' pollen tube with a deformed flat shape entering a 'Hinomoto' micropyle. Note the difference from that of (B); (F), a few pollen tubes of self-pollinated 'Hinomoto' growing between ovules but in (G) the pollen tube returns in front of a micropyle; and (H), a self-pollinated 'Georgia' pollen tube with a deformed flat shape penetrating a micropyle. These scanning electron micrographs were made 120 hr (A to F and H) and 144 hr (G) after pollination.

があったために、和合組み合わせにおいても花粉管が珠孔に誘導される十分な条件が整わなかった可能性があり、今後これらの点を詳しく検討する必要がある。

自家不和合性反応が最も強いと思われる‘ひのもと’の自家受粉では切断受粉法でも種子は全く得られず、子房内では奇形花粉管や珠孔の直前で停止している花粉管(第5図-G)もあった。これは、花柱組織と花粉管との間で生起する不和合反応と類似した反応が子房組織と花粉管との間で起きていたり、上述したように花柱切断受粉法では胚珠に花粉管を誘導する条件を整えることができなかつた可能性もある。しかし本研究の範囲内では、どのような理由で‘ひのもと’の自家受粉の花粉管が珠孔内に侵入しなかつたかは不明である。テッポウユリの他の品種においても花柱切断受粉法を適用しても種子が得られていないこと(Van Roggenら, 1988)や、日本ナシでは子房内に花粉管伸長を抑制する物質があること(Hiratsukaら, 1987)から、花柱切断受粉法をユリの自家不和合性打破や遠縁種間交雑の雑種獲得の有効な手段とするためには花粉管を珠孔へ誘導するのに必要な条件の解明が必要である。また、日本ナシと同様にユリにおいても子房内で自家不和合反応があるかどうか、あるとすればその克服法を今後検討する必要がある。

**謝 辞** 本稿をまとめるにあたり、有益な助言をいただいた新潟大学自然科学研究科中野 優博士に厚く御礼申し上げます。

### 摘 要

数種類のユリ(*Lilium* spp.)の自家、種内交雑、および種間交雑受粉を行い、柱頭受粉法および花柱切断受粉法による花粉管伸長および種子形成を比較した。

1. 花粉管の相対伸長率((平均花粉管長/花柱長)×100)は種子形成した和合組み合わせでは受粉96~120時間後に100%となった。種子の得られなかつた不和合組み合わせでは、花粉管伸長の抑制は受粉24時間後にすでに現れ、その強さは‘ひのもと’と‘ジョージア’ではほぼ等しく、‘エンチャントメント’でやや弱かつた。

2. 花粉管伸長の抑制の強さと奇形花粉管(先端が球状となつたり、管の途中に突起を形成したもの)の発生率との間に一定の傾向があつた。奇形花粉管率は‘ひのもと’と‘ジョージア’の自家受粉で60~70%、‘エンチャントメント’の自家受粉で37%であつた。一方、和合組み合わせでは10%以下であつた。

3. 和合組み合わせでは花柱切断受粉法により種子

が得られたが、その種子数は柱頭受粉で得られる場合の10~50%であつた。また、柱頭受粉法で種子が全く得られない‘エンチャントメント’と‘ジョージア’の自家受粉において、花柱切断受粉法により種子が得られた。一方‘ひのもと’の自家受粉においてはいずれの受粉法でも種子は全く得られなかつた。

4. 走査型電子顕微鏡により子房内の花粉管を観察した。花柱切断受粉法による‘ジョージア’の自家受粉や‘ジョージア’×‘ひのもと’では、花粉管は珠孔に侵入したが扁平状に変形しているものが観察された。‘ひのもと’の自家受粉では花粉管は珠孔付近を通過したり、珠孔の入り口付近で伸長を停止し、珠孔には侵入していなかつた。

### 引用文献

- 雨木若慶・樋口春三. 1992. スカシユリ×テッポウユリの種子形成に及ぼす柱頭粘液注入および予備受粉の影響. 園学雑. 61(別1):390-391.
- 浅野義人・明道 博. 1977a. ユリの遠縁種間交雑に関する研究(第1報). 花柱切断受粉法による交配. 園学雑. 46:59-65.
- 浅野義人・明道 博. 1977b. ユリの遠縁種間交雑に関する研究(第2報). 交雑幼胚の培養. 園学雑. 46:267-273.
- 浅野義人. 1980. ユリの遠縁種間交雑に関する研究(第4報). 長さ0.3-0.4mmの微小交雑幼胚の培養. 園学雑. 49:114-118.
- Ascher, P. D. and S. J. Peloquin. 1966. Effect of floral aging on the growth of compatible and incompatible pollen tubes in *Lilium longiflorum*. Amer. J. Bot. 53:99-102.
- Brewbaker, J. L. 1957. Pollen cytology and self-incompatibility systems in plants. J. Hered. 48:271-277.
- Cheng, I. H. and R. H. Mattson. 1972. Effect of intrastylar pollination methods on seed set of *Lilium* × ‘Mid-Century’ hybrid lilies. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 97:591-592.
- Deurenberg, J. J. M. 1976. *In vitro* protein synthesis with polysomes from unpollinated, cross- and self-pollinated *Petunia* ovaries. Planta 128:29-33.
- Ebert, P. R., M. A. Anderson, R. Bernatzky, M. Altschluer and A. E. Clarke. 1989. Genetic polymorphism of self-incompatibility in flowering plants. Cell 56:255-262.
- 樋口春三. 1969. III. *Petunia hybrida*における同型花不和合性に関する研究. p. 33-40. 異型花および配偶子型自家不和合性の生理と制御に関する研究. 名古屋大学学位論文.
- Hiratsuka, S., E. Takahashi and N. Hirata. 1987. Pollen tube growth inhibitors involved in the ovary of self-incompatible Japanese pear. Plant Cell Physiol. 28:293-299.

- Hiratsuka, S., Y. Kitoh and J. Matsushima. 1991. Induction of deformed pollen tube tips and their morphological characteristics in self-incompatible Japanese pear. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 60 : 257-265.
- Hopper, J. E., P. D. Ascher and S. J. Peloquin. 1967. Inactivation of self-incompatibility following temperature pretreatments of styles in *Lilium longiflorum*. *Euphytica* 16 : 215-220.
- Jensen, W. A., M. E. Ashton and C. A. Beasley. 1983. Pollen tube-embryo sac interaction in cotton. p. 67-72. In D. L. Mulcahy and E. Ottaviano (eds.). *Pollen : Biology and implications for plant breeding*. Elsevier Biomedical, Amsterdam.
- Kho, Y. O. and J. Baer. 1968. Observing pollen tubes by means of fluorescence. *Euphytica* 17 : 298-302.
- Matsubara, S. 1973. Overcoming self-incompatibility by cytokinins treatment on *Lilium longiflorum*. *Bot. Mag. Tokyo* 86 : 43-46.
- Matsubara, S. 1981. Overcoming the self-incompatibility of *Lilium longiflorum* Thunb. by application of flower-organ extract or temperature treatment of pollen. *Euphytica* 30 : 97-103.
- 新美芳二. 1991. 花柱組織内のユリ花粉管の観察法. *日本花粉学会誌* 37 : 169-172.
- Niimi, Y. and Y. Shiokawa. 1992. A study on the storage of *Lilium* pollen. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 61 : 399-403.
- 岡崎桂一・馬田雄史・浦島 修・川田穰一・国重正昭・村上欣治. 1992. 胚培養によるテッポウユリ, シンテッポウユリとオトメユリ, ササユリの種間雑種. *園学雑*. 60 : 997-1002.
- Russel, S. D. 1992. Double fertilization. *Int. Rev. Cytol.* 140 : 357-388.
- 清水基夫. 1971. 日本のユリ. P. 201. 誠文堂新光社. 東京.
- Spanjers, A. W. 1978. Voltage variation in *Lilium longiflorum* pistils induced by pollination. *Experientia* 34 : 36-37.
- 武岡洋治・和田富吉. 1985. 走査電子顕微鏡による観察. p. 24-41. 北條良夫・石塚潤爾編. *作物生理実験法*. 農業技術協会. 東京.
- Van Roggen, P. M., C. J. Keijzer, H. J. Wilms, J. M. Van Tuyl and A. W. D. T. Stals. 1988. An SEM study of pollen tube growth in intra- and interspecific crosses between *Lilium* species. *Bot. Gaz.* 149 : 365-369.
- Van Tuyl, J. M., M. Claramarcucci and T. Visser. 1982. Pollen and pollination experiments. VII. The effect of pollen treatment and application method on incompatibility and incongruity in *Lilium*. *Euphytica* 31 : 613-619.
- Van Tuyl, J. M., K. van de Sande, R. van Diën, D. Straathof and H. M. C. van Holsteijn. 1990. Overcoming interspecific crossing barriers in *Lilium* by ovary and embryo culture. *Acta Hort.* 266 : 317-322.
- Van Tuyl, J. M., M. P. Van Diën, M. G. M. Van Creij, T. C. M. Van Kleinwee, J. Franken and R. J. Bino. 1991. Application of in vitro pollination, ovary culture, ovule culture and embryo rescue for overcoming incongruity barriers in interspecific *Lilium* crosses. *Plant Science* 74 : 115-126.
- Watts, V. M. 1967. Influence of intrastylar pollination on seed set in Lilies. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 91 : 660-663.
- 安田貞雄. 1929. *PETUNIA VIOLACEA* の受精力に関する生理学の研究 VI. 花柱内における花粉管の成長. *植物学雑誌*. XLIII : 156-169.