

Pollen Tube Growth and Fertility of Ovules in Interspecific Hybridization in *Alstroemeria* L.

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2019-03-22 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 村田, 奈芳, 篠田, 浩一 メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24514/00001386

アルストロメリア種間交雑における花粉管伸長と受精胚珠率

村田奈芳・篠田浩一

I. 緒 言

アルストロメリア属 (*Alstroemeria* L.) はチリ、ブラジルを中心とする南アメリカ大陸に60種以上が自生している (BAYER, 1987 ; AKER and HEALY, 1990)。通常の交配では種間交雑をしても結実に至らないことが多いが (大川, 1994), 交配後に胚珠培養を行うことで雑種獲得を図り (BUITENDIJK *et al.*, 1992 ; DE JEU and JACOBSEN, 1995 ; KRISTIANSEN, 1995), 品種育成が進められている。

現在切り花用や鉢花用として栽培されている園芸品種は主にオランダで育成されたものであり, 日本の夏季の気候でも採花本数が減少しにくい品種や日本人に好まれる花色や花型を持つ品種の育成が望まれている。今日の園芸品種は育成経過が不明なものも多く, *A. aurea* Grahamや*A. pelegrina* L., *A. psittacina* Lehmannなど比較的少ない種間の交雑により育成されたものと推定されている (KRISTIANSEN, 1995)。新たな花色や花型, 耐暑性等の形質を付与するためには, 未利用野生種の活用が重要であり, 例えば大輪性については*A. magenta* Bayerや*A. magnifica* Herbert, 小輪多花性については*A. angustifolia* Herbert, *A. bookeri* Loddiges, *A. pulchra* Sims, 新花色については*A. inodora* Herbertや*A. magnifica* の利用が考えられる。

筆者らは, これまでにアルストロメリアの種間交雑を行い, 胚珠培養により雑種個体の獲得を図ってきた。その中で, 野生種15種を用いた種間交雑における胚珠発芽率から, 交雑親和性には種間差や方向性があることを明らかにした (篠田・村田, 2003)。そこでは, *A. aurea*, *A. garaventa* Bayer, *A. ligtu* L. および*A. magenta* を子房親にした場合, 多くの交配組合せで高い胚珠発芽率を示すが, *A. bookeri* および*A. versicolor* Ruiz & Pavonを子房親にした場合は一部に胚珠発芽率の低い組合せがあること, *A. magnifica*, *A. pulchra*, *A. inodora*, *A. psittacina*は, 子房親としたと

きよりも花粉親として用いた場合に胚珠発芽率が高まる組合せが多く, 一方向不親和性が認められることを報告した。しかし, この報告では受粉後の花粉管伸長の観察は行っていないため, 胚珠発芽率の低い組合せにおいて受精が起きたかどうかの確認はされておらず, どの段階で不和合性が生じているのか詳細に調査する必要がある。

アルストロメリアの花粉管伸長については, これまでにDE JEU and JACOBSEN (1995) が野生種7種の交雑親和性について花粉発芽や花粉管伸長, 結実の有無から調査したほか, DE JEU *et al.* (1996) が*A. aurea*および*A. pelegrina*で自殖したときの花粉発芽, 花粉管伸長について, 受粉1時間後から12時間後の変化を観察しており, 受粉1時間後に花粉発芽がみられ, 受粉12時間後に花粉管の子房内への到達と胚珠への侵入がみられたことを報告している。HOSHINO *et al.* (2006) も*A. aurea*を用いて自殖したときの花粉発芽, 花粉管伸長について, 受粉5分後から30時間後の経時的な変化を観察しており, 受粉1時間後に花粉発芽がみられ, 18時間後に花粉管が子房内に到達, 24時間後に花粉管が胚珠に侵入したことを報告しているが, 種間交雑した場合の経時的な観察の報告はない。

このほか, 高津ら (1994) がグラジオラスの種間交雑で, 交配後3日目および7日目の花柱における花粉発芽・花粉管伸長を観察し, 種間の不和合性程度を明らかにするとともに受精した雑種胚について胚珠培養の方法を確立した。徳増ら (1974) は倍数性の異なるペラルゴニウムの種・品種間での交配を行い, 花粉管伸長の長短が親和性の程度を示すと考えられること, 不稔性の主な要因は花粉管の伸長停止と胚の退化であることを明らかにしている。

このように, 受粉後の花粉発芽や花粉管伸長程度から種間の交雑親和性程度を明らかにすることができるとともに, 受粉後のどの段階で花粉管伸長が停止しているかを調べることによって不親和性を打破

する方法を検討し、従来交雑が困難であった組合せでの雑種獲得を可能にすることができると考えられる。

そこで本研究では、前報（篠田・村田，2003）で多くの種との交配で高い胚珠発芽率を示した *A. magenta* と、一方向不親和性のみられた *A. magnifica*, *A. pulchra* および *A. inodora* の4種を子房親に用いて野生種12種との間で交配を行い、花粉発芽、花粉管伸長程度および受精胚珠率を調べ、受粉から受精までの過程で起こると考えられる不親和性について検討した。また、雑種獲得が困難な *A. pulchra* × *A. magenta* の交配については、花粉管伸長程度や受精胚珠率を経時的に調査し、自殖した場合と種間交雑した場合の差異について明らかにした。

II. 材料および方法

1. 花粉管伸長程度の差異と受精胚珠率

北海道農業研究センター（札幌市）のガラス室で栽培しているアルストロメリア野生種12種（第1表）を供試した。これらの野生種のうち、*A. pelegrina*（当センターでの遺伝資源管理番号1258）を除く11

種は、篠田・村田（2003）と同じ管理番号の同一の材料である。アルストロメリア苗は2000年9月中旬にプランター（60×20×15cm）に各4株植えとした。10月から5月は最低夜温10℃で管理し、日中（8:00～16:00）は18℃～22℃となるよう、加温ならびに換気を行った。

なお、アルストロメリアの基本染色体数は $x=8$ であり、これまでに報告されているアルストロメリア野生種は $2n=2x=16$ である（TSUCHIYA and HANG, 1989; BUITENDIJK *et al.*, 1997）。供試材料の葉についてフローサイトメトリを用いて分析した結果を BUITENDIJK *et al.*（1997）の報告と比較したところ、供試野生種はすべて二倍体と判断された（篠田・村田，2003）。

第1表に示した中で *A. magenta*, *A. magnifica*, *A. pulchra* および *A. inodora* の4種を子房親に用いた。アルストロメリアは雄蕊先熟であるため（DEJEU *et al.*, 1992）あらかじめ除雄しておき、2001年5月上旬から7月上旬にかけての午前中に、交配適期の子房親の柱頭（第1図・左）に、花粉親から開葯直後の花粉を採取して受粉した。1組合せにつき3～5花を交

第1表 供試した野生種

略号	種名	自生地 ¹⁾	管理番号 ²⁾	導入先 ³⁾
ang	<i>A. angustifolia</i> Herbert	チリ中部	1580	T
aur	<i>A. aurea</i> Graham	チリ中～南部	1268	Y
gar	<i>A. garaventae</i> Bayer	チリ中部	1490	T
hoo	<i>A. hookeri</i> Loddiges	チリ中部, アルゼンチン	1295	A
lig	<i>A. ligtu</i> L. cv. Hagoromo	チリ中部	1267	T
mgn	<i>A. magenta</i> Bayer	チリ中部	1266	T
mag	<i>A. magnifica</i> Herbert	チリ中部	1489	T
pel	<i>A. pelegrina</i> L. var. <i>rosea</i>	チリ中部, ペルー	1258	D
pul	<i>A. pulchra</i> Sims	チリ中部	1260	D
ver	<i>A. versicolor</i> Ruiz & Pavon	チリ中部	1265	T
ino	<i>A. inodora</i> Herbert	ブラジル南部	1565	H
psi	<i>A. psittacina</i> Lehmann	ブラジル北部	1382	A

¹⁾ BAYER (1987), AKER and HEALY (1990) による

²⁾ 北海道農業研究センターにおける遺伝資源管理番号

³⁾ A: American Rock Garden Society (種子)

H: 北海道立総合研究機構 花・野菜技術センター(苗)

D: 第一園芸(苗) T: タキイ種苗(苗) Y: 大和農園(苗)



第1図 交配適期の*A. pulchra* 柱頭(左・矢印)と調査部位(右)

配し、受粉24時間後に花を採取した。採取後に花弁と雄蕊を取り除き、花柱と子房を酢酸エタノール(氷酢酸：エタノール，1：3，v/v)で一晩固定した。固定後は、60°Cの2N水酸化ナトリウムで30分間処理を行い、蒸留水で3回すすぎを行ってから0.1%アニリンブルーを含む0.1Nリン酸三カリウム水溶液で一晩染色した。染色後の雌蕊は、スライドグラス上に取り出して花柱長および子房長(第1図・右)を測定した後、50%グリセリン水溶液を滴下し、カバーグラスをかけて押しつぶし法により蛍光顕微鏡(オリンパスIX-70)(励起光波長400~410nm)を用いて観察を行った。

調査項目は以下のとおりである。

花柱長：柱頭から花柱基部までの長さ(第1図・右)。固定・染色後に測定し、子房親ごとに調査した全サンプル(自殖を除く)の平均値を算出した。

子房長：子房先端から子房基部までの長さ(第1図・右)。固定・染色後に測定し、子房親ごとに調査した全サンプル(自殖を除く)の平均値を算出した。

子房当たりの胚珠数：押しつぶし法による観察時にサンプルごとに子房内の胚珠数を数えた。子房親ごとに調査した全サンプル(自殖を除く)の平均値を算出した。

花粉管伸長程度：サンプルごとに、最も伸長している花粉管について長さを測定し、上で測定した花柱長に対する伸長程度から、以下の「到達指数」に分類した(第2図)。交配組合せごとに、調査した3~5花の平均を算出した。

0：花粉の発芽なし

1：柱頭上のみ(花柱三裂部分まで)での伸長

2：花柱上部~中部(花柱長の1/2)まで伸長

3：花柱中部~基部まで伸長

4：子房内に侵入

5：胚珠に侵入(受精)

受精胚珠数：個々の子房について、受精した胚珠数を数えた。

受精胚珠率：個々の子房について「受精胚珠数/全胚珠数×100」により算出し、調査した3~5花の平均を算出した。

なお、花粉管が珠孔に侵入した胚珠を「受精した」とみなした。

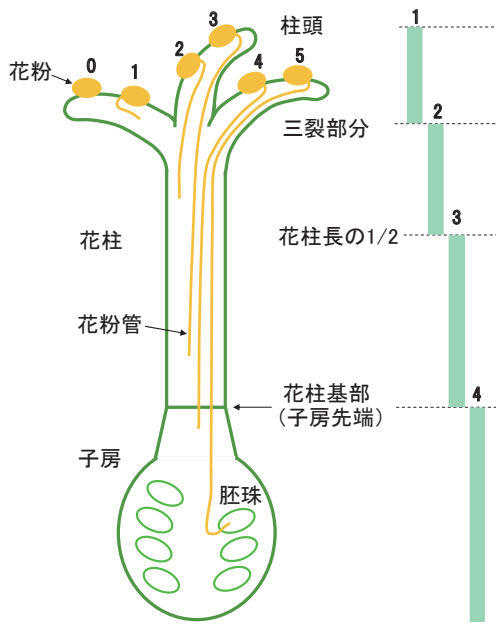
以上の調査項目うち、花柱長、子房長および胚珠数については、各サンプルごとに測定・計数した値を、子房親ごとに自殖を除く33~46花分で集計して平均値を算出した。花粉管伸長程度および受精胚珠率については、各サンプルごとに測定・計数した値を、交配組合せごとに3~5花分で集計して平均値を算出した。

また、受粉(自殖)2日後の*A. magenta*子房について、ホフマンモジュレーションコントラスト(HMC)装置により胚珠の観察を行った。ここで用いたHMCとは、従来の微分干渉観察や位相差観察では見えづらいプラスチック製シャーレでの観察や厚みのある標本の観察にも適した方法である。

2. 花粉管伸長程度の経時的変化

北海道農業研究センターのガラス室で栽培しているアルストロメリア野生種*A. pulchra*(管理番号1260)および*A. magenta*(同1266)を供試した。2種とも、1.の試験で用いたものと同じの材料であり、1.と同様にしてプランター植え(2002年10月下旬定植)で栽培管理を行った。

2003年5月中旬から6月上旬にかけて開花前日に除雄した*A. pulchra*を切り花にしてフラスコに水挿しし、



第2図 花粉管伸長程度と到達指数(模式図)

到達指数 0:花粉の発芽なし

- 1:柱頭上のみ(花柱三裂部分まで)での伸長
- 2:花柱上部~中部(花柱長の1/2)まで伸長
- 3:花柱中部~基部まで伸長
- 4:子房内に侵入
- 5:胚珠に侵入(受精)

*最も伸長している花粉管の到達した範囲によって分類した。

20℃, 24時間日長条件(光源:白色蛍光灯;光合成有効量子束密度(PPFD) $52 \mu\text{mol m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)の培養室で管理した。開花後, 柱頭が三裂して交配適期(第1図・左)に達したところで, *A. pulchra*(自殖)または*A. magenta*(種間交雑)の開花直後の花粉を受粉した。受粉は, 花を採取する時間から逆算して, 早朝, 午前中または夕方に行った。受粉から4, 8, 12, 16, 20, 24, 36, 48時間後にそれぞれ11花を採

取した(但し, *A. pulchra*自殖の受粉8時間後は13花, *A. pulchra*×*A. magenta*の受粉4時間後は10花, 同24時間後は13花を採取した)。採取後に1.と同様にして花柱と子房の固定, 染色を行い, 花粉管伸長程度の観察および受精胚珠数の調査を行った。

調査項目は1.と同様である。

Ⅲ. 結 果

1. 花粉管伸長程度の差異と受精胚珠率

1) 子房親の雌蕊の形態

花柱長は, *A. magenta*が41.4mm, *A. magnifica*が40.7mmと長かったのに対し, *A. inodora*は34.5mm, *A. pulchra*は29.2mmと短かった(第2表)。子房長は, *A. magenta*が9.1mmと最も長く, *A. pulchra*は6.2mm, *A. inodora*は5.0mmと短かった。胚珠数は, *A. magnifica*が38.0個と最も多く, *A. inodora*はその半分以下の17.6個であった。

2) 花粉管伸長程度と受精胚珠率

(1) *A. magenta*を子房親に用いたとき すべての組合せで, 花粉の柱頭上での発芽(第3図a), ならびに胚珠への花粉管侵入がみられた(第3表, 第3図b)。自殖を除く11組合せの受精胚珠率は花粉親の種によって異なり, *A. magnifica*は74.3%, *A. pulchra*は53.7%, *A. bookeril*は53.6%と高かったが, *A. garaventaef*は7.5%, *A. versicolor*は9.6%と低く, 受精胚珠率の平均は28.3%であった(第4表)。また, 自殖した場合の受粉2日後の胚珠では, 花粉管の侵入(第4図a, b, c)と卵細胞および助細胞が観察できた(第4図d)。蛍光観察とHMC観察を併用することで, 花粉管侵入の様子がより明確となった。

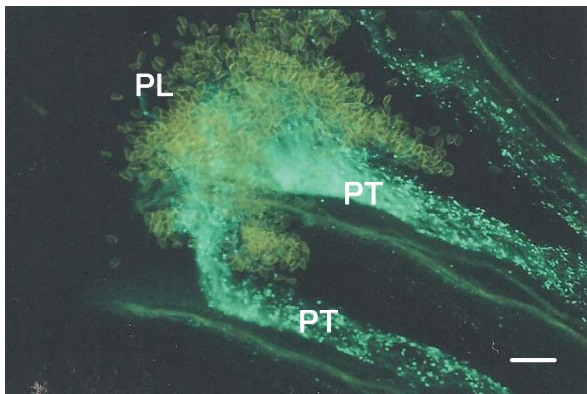
(2) *A. magnifica*を子房親に用いたとき 自殖の花粉は柱頭上での発芽や花粉管伸長がみられ, 受精胚珠

第2表 子房親の雌蕊の形態¹⁾

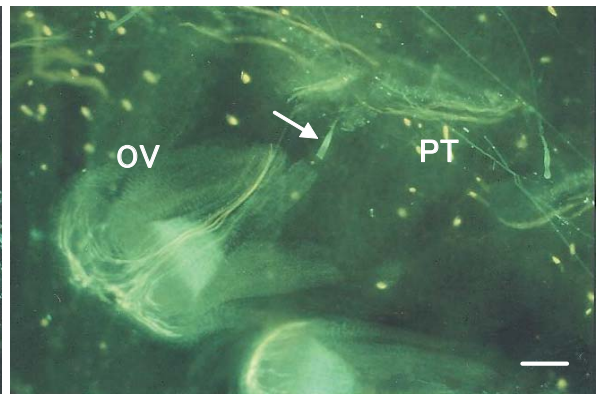
子房親	調査数	花柱長 (mm)	子房長 (mm)	胚珠数 (個)
mgn	33	41.4 a ²⁾	9.1 a	32.9 b
mag	42	40.7 a	7.8 b	38.0 a
pul	46	29.2 c	6.2 c	31.4 b
ino	39	34.5 b	5.0 c	17.6 c

¹⁾ 受粉24時間後に雌蕊を採取し, 染色・固定後に測定した。

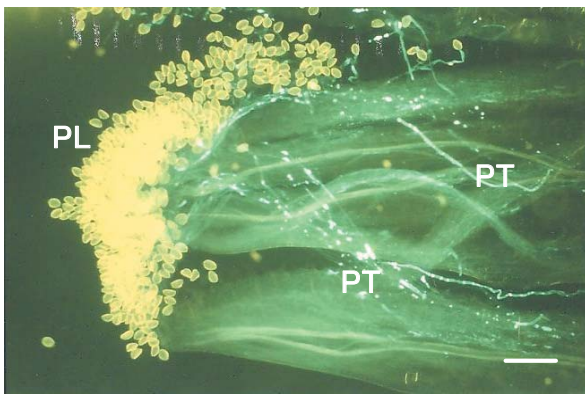
²⁾ 同一列の異なる英文字間にTukey and Kramerの多重検定により5%水準の有意差あり。



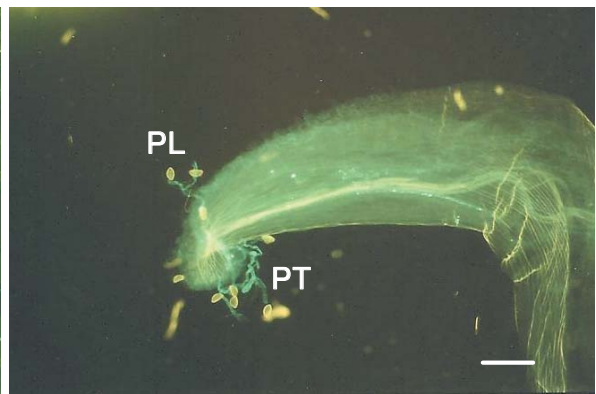
a) *A. magenta* × *A. aurea* (柱頭上)



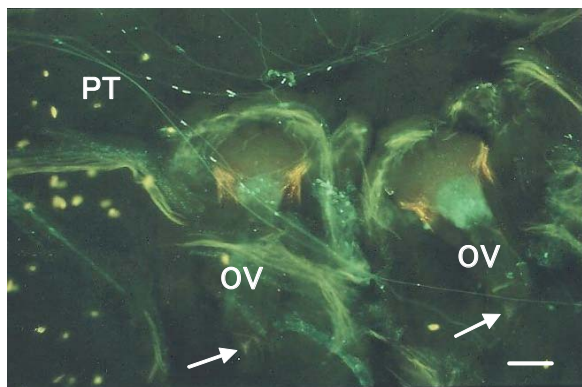
b) *A. magenta* × *A. aurea* (子房内)
矢印は、珠孔から胚珠への花粉管侵入



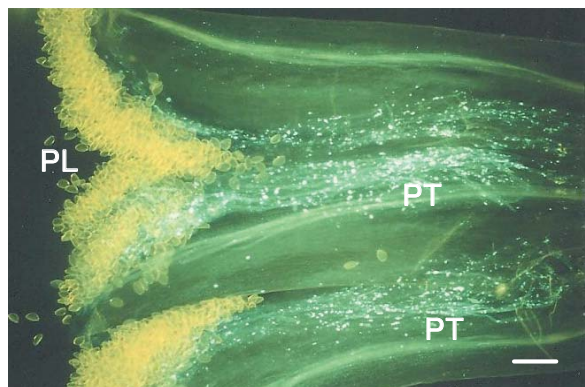
c) *A. magnifica* × *A. pulchra* (柱頭上)



d) *A. magnifica* × *A. psittacina* (柱頭上)



e) *A. pulchra* × *A. magnifica* (子房内)
矢印は、珠孔から胚珠への花粉管侵入



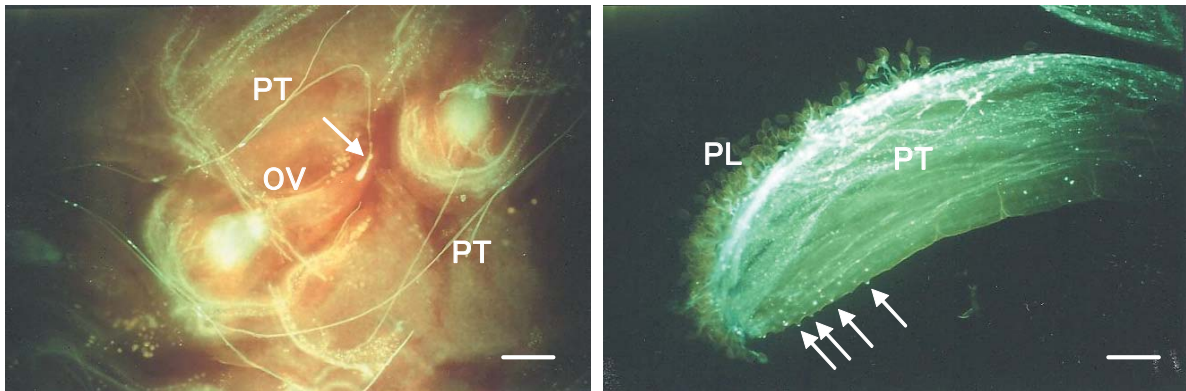
f) *A. pulchra* × *A. aurea* (花柱上部)

第3図 花粉発芽および花粉管伸長 (受粉24時間後)

PL : 花粉 (花粉塊) PT : 花粉管 OV : 胚珠

図の左方向が柱頭側, 右方向が花柱基部側

図中の一は 0.25mm



g) *A. inodora* × *A. ligtu* (子房内)
矢印は、珠孔から胚珠への花粉管侵入

h) *A. inodora* × *A. ligtu* (柱頭上)
矢印とその付近に乳頭状突起

第3図 (続き) 花粉発芽および花粉管伸長 (受粉24時間後)

PL : 花粉 (花粉塊) PT : 花粉管 OV : 胚珠

図の左方向が柱頭側, 右方向が花柱基部側

図中の一は 0.25mm

第3表 交配組合せごとにみた花粉管伸長程度¹⁾

花粉親 \ 子房親	ang	aur	gar	hoo	lig	mgn	mag	pel	pul	ver	ino	psi	平均 ²⁾
mgn	5.0	5.0	4.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	4.3	4.0	4.8
mag	0.8	1.3	0.5	0.5	0.0	1.0	5.0	0.2	2.0	2.0	1.5	1.0	1.0
pul	2.7	2.0	2.0	2.0	3.3	4.8	4.3	2.0	5.0	2.5	4.0	2.0	2.9
ino	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	3.7	3.0	3.7	4.0	5.0	5.0	4.5

¹⁾ 花粉管伸長程度は受粉24時間後に調査し, 以下の到達指数で表した。

到達指数 0:花粉の発芽なし 1:柱頭上のみでの伸長 2:花柱上部~中部まで伸長

3:花柱中部~基部まで伸長 4:子房内に侵入 5:胚珠に侵入(受精)

個々のサンプルについて到達指数を出し, 交配組合せごとに, 調査した3~5花の平均値を算出した。

太字は自殖を表す。

²⁾ 自殖は除く

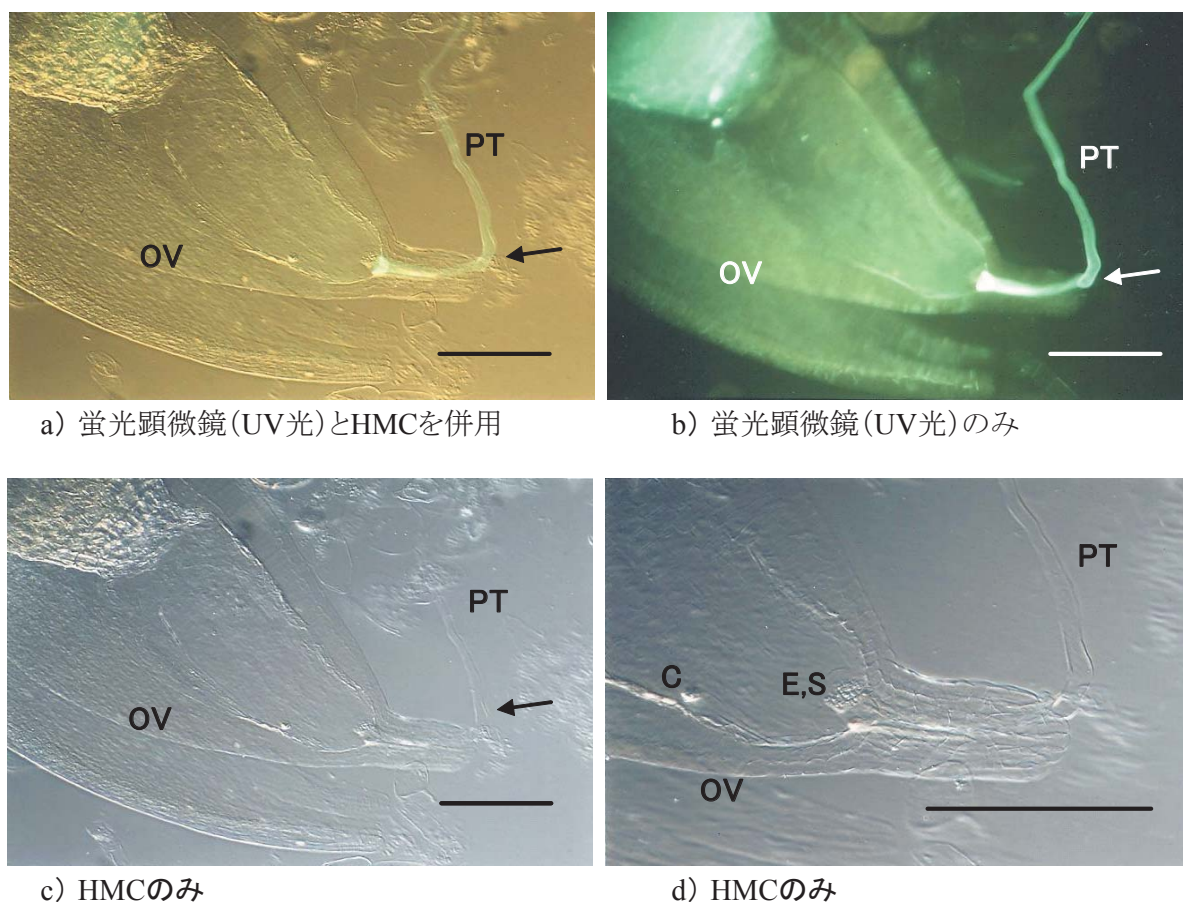
第4表 交配組合せごとにみた受精胚珠率¹⁾

花粉親 \ 子房親	ang	aur	gar	hoo	lig	mgn	mag	pel	pul	ver	ino	psi	平均 ²⁾
mgn	10.5	39.9	7.5	53.6	17.4	68.5	74.3	16.2	53.7	9.6	12.8	15.9	28.3
mag	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	44.0	0.0	0.0	0.6	0.0	0.0	0.1
pul	0.0	0.0	0.0	0.0	4.5	5.2	6.1	0.0	32.4	0.0	0.0	0.0	1.5
ino	10.2	25.0	25.6	18.8	17.8	5.0	0.0	0.0	1.8	0.0	13.8	14.2	10.8

¹⁾ 受粉24時間後に調査し, 個々の子房について「受精胚珠数/全胚珠数×100(%)」により受精胚珠率を算出した。

交配組合せごとに, 調査した3~5花の平均値を算出した。 **太字**は自殖を表す。

²⁾ 自殖は除く



第4図 *A. magenta* 自殖における花粉管伸長（子房内，受粉2日後）

PT：花粉管 OV：胚珠

C：中心核 E：卵細胞 S：助細胞

矢印は，珠孔から胚珠への花粉管侵入

図中の一は 0.25mm

HMC：ホフマンモジュレーションコントラスト装置による観察

率は44.0%であった（第4表）。これに対し*A. versicolor*の花粉は柱頭上での発芽や花粉管の胚珠への侵入はみられたものの，受精胚珠率は0.6%と低かった。また，*A. aurea*，*A. pulchra*および*A. inodora*の花粉は柱頭上での発芽はみられたが，花粉管の伸長は花柱上部～中部の範囲であり（第3図c），その他7種の花粉は，ほとんど発芽しないか，発芽しても花粉管伸長は柱頭上のみであった（第3表，第3図d）。11組合せの受精胚珠率の平均は0.1%であった。

(3) *A. pulchra*を子房親に用いたとき すべての組合せで花粉の柱頭上での発芽がみられたが，花柱中部以降への花粉管伸長には種間差がみられ（第3表），受精胚珠率の平均は1.5%であった（第4表）。受精がみられたのは3組合せで，*A. magnifica*，*A. magenta*お

よび*A. ligtu*を花粉親にしたとき，花粉管の胚珠への侵入がみられ（第3図e），受精胚珠率はそれぞれ6.1%，5.2%，4.5%であった。一方，*A. inodora*の花粉管は子房内への侵入もみられたが（第3表），受精には至らなかった（第4表）。*A. angustifolia*，*A. aurea*，*A. garaventa*，*A. bookeri*，*A. pelegrina*，*A. versicolor*および*A. psittacina*の花粉管伸長は花柱上部～中部までのものが多く，到達指数は2.0～2.7であった（第3表，第3図f）。

(4) *A. inodora*を子房親に用いたとき すべての組合せで花粉の柱頭上での発芽，花粉管伸長がみられた（第3表）。8組合せで胚珠への花粉管侵入がみられたが（第3図g），*A. magnifica*，*A. versicolor*の花粉管伸長は子房内まで，*A. pelegrina*の花粉管伸長は花柱

基部までであった。11組合せの受精胚珠率の平均は10.8%であった(第4表)。アルストロメリアの柱頭は*A. aurea*や*A. pelegrina*では溝状をしており(DE JEU *et al.*, 1996)、今回供試した*A. magenta*, *A. magnifica*, *A. pulchra*でも同様の形態であったが、*A. inodora*の柱頭は溝状でなく、外側に乳頭状突起がみられ他種とは異なる形態をしていた(第3図h)。

2. 花粉管伸長程度の経時的变化

1) 到達指数の変化

*A. pulchra*の自殖の場合、受粉4時間後には花粉管が伸長を開始しており、受粉12時間後に到達指数が4(子房内に侵入)以上となった(第5図)。受粉36時間後の雌蕊では、花粉管伸長が花柱基部までのものから胚珠に侵入しているものまであり、ばらつきが大きかったため、平均すると到達指数は4以下となった。種間交雑(*A. pulchra*×*A. magenta*)の場合には花粉は発芽したものの、花粉管伸長は受粉4時間後では柱頭上のみであった。受粉4時間後から12時間後にかけて到達指数は0.7から1.7へと増加がみら

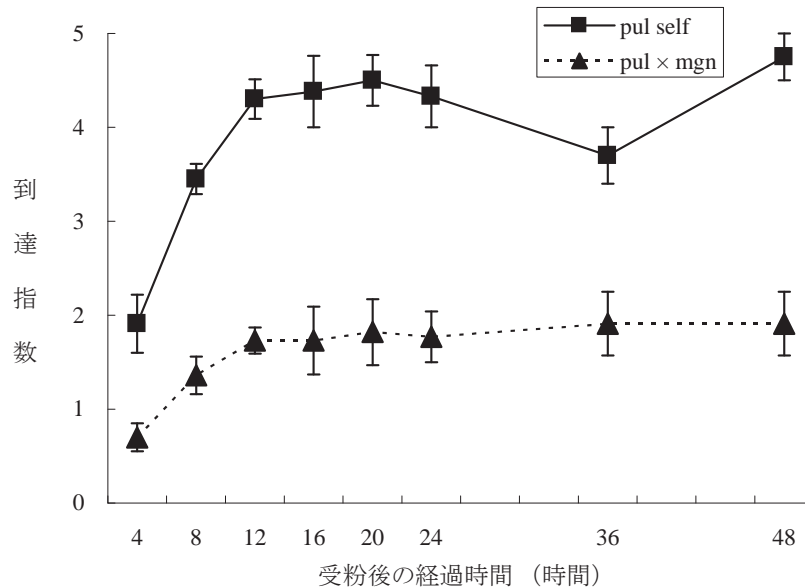
れたが、受粉12時間後から48時間後でも花粉管先端がふくらんだ状態で柱頭上で停止しているものが多く、到達指数は1.7~1.9であった。

2) 受精胚珠率の変化

*A. pulchra*の自殖の場合、受粉12時間後には、珠孔部に花粉管の侵入している胚珠もみられ、受粉12時間後から24時間後にかけて受精胚珠率が増加した(第6図)。受粉48時間後には、受精胚珠率は20.5%に達した。種間交雑(*A. pulchra*×*A. magenta*)の場合には全体に花粉管が伸長しなかったため、子房内まで花粉管が到達したものがほとんどなかった。しかし、受粉16時間後以降のものでごくまれに花粉管が伸長して子房内に侵入しているのがみられ、受精胚珠率は0.3~1.9%であった。

IV. 考 察

本報では、まずアルストロメリア属野生種4種を子房親に用いて種間交雑を行い、受粉24時間後の花粉管伸長程度(第3表)や受精胚珠率(第4表)を調査した。その結果を、同一の材料(*A. pelegrina*のみ



第5図 受粉後の花粉管到達指数の変化

到達指数

0:花粉の発芽なし 1:柱頭上のみでの伸長 2:花柱上部~中部まで伸長
3:花柱中部~基部まで伸長 4:子房内に侵入 5:胚珠に侵入(受精)

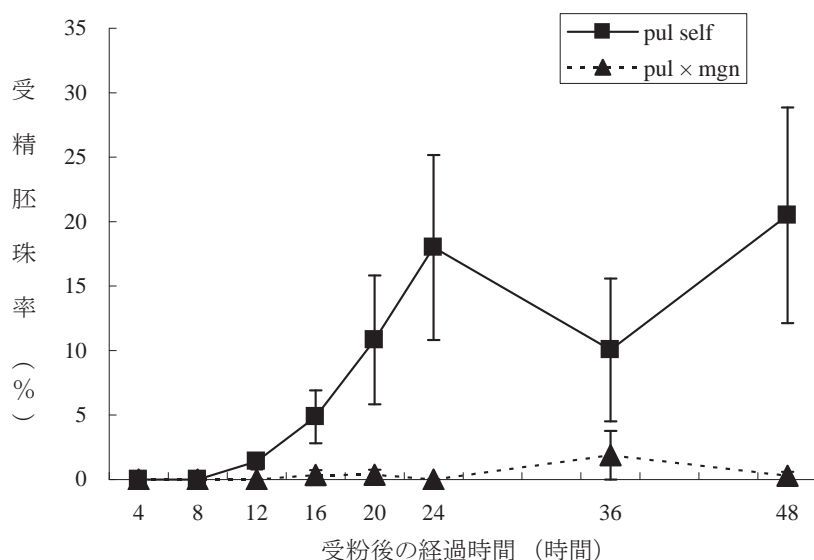
図中の垂線は標準誤差(n=11)を示す

各11花を調査して平均値および標準誤差を算出した。

但し、*A. pulchra* 自殖の受粉8時間後は13花(n=13)、

A. pulchra × *A. magenta*の受粉4時間後は10花(n=10)、

受粉24時間後は13花(n=13)を調査した。



第6図 受精胚珠率の変化

図中の垂線は標準誤差 (n=11) を示す
各11花を調査して平均値および標準誤差を算出した。
但し, *A. pulchra* 自殖の受粉8時間後は13花 (n=13),
A. pulchra × *A. magenta* の受粉4時間後は10花 (n=10),
受粉24時間後は13花 (n=13) を調査した。

管理番号の異なる材料) を用い, 同一の組合せで交配, 胚珠培養を行ったときの胚珠発芽率 (篠田・村田, 2003) と比較してみると, 以下のとおりである。

A. magenta を子房親に用いたときに受精胚珠率の平均は28.3% (第4表) と高く, 胚珠発芽率は22.1% (篠田・村田, 2003) であることから, 交配時 (受粉時, 受粉後~受精) の雌蕊における親和性の高さが胚珠発芽率にも反映されていると考えられた。また, 花粉親として供試した中で *A. pulchra* の花柱長は29.2mm (第2表), *A. inodora* の花柱長は34.5mm (第2表) と *A. magenta* の花柱よりも短かったが, 花粉の発芽や花粉管伸長は途中で停止することはなく, 自身の花柱よりも長い *A. magenta* の花柱内を伸長して子房内まで到達し受精もみられた (第4表)。

A. magnifica を子房親に用いたとき, 採取後の花柱を2N水酸化ナトリウムで処理する過程で, 交配時に柱頭についていた花粉が脱落してしまうのがみられた。これは, 花粉が発芽しないか, 発芽しても花粉管がほとんど伸長せず柱頭の組織内へ侵入していなかったためと考えられる。自殖を除く11組合せの到達指数は1.0 (第3表), 受精胚珠率は0.1% (第4表) と低かったことから, 花粉の発芽や花粉管伸長が抑制され, 受精に至らない胚珠が多かったた

めに, 胚珠発芽率が0.4% (篠田・村田, 2003) と低いと考えられる。供試した4種の中では最も強い交雑不親和性があると考えられる。

A. pulchra を子房親に用いたとき, 受精のみられた3組合せのうち, *A. magenta* および *A. magnifica* を花粉親に用いた組合せでそれぞれ4.4%, 29.2% (篠田・村田, 2003) の胚珠発芽率が得られている。一方, *A. ligtu* を花粉親に用いた組合せでも受精が認められたが (第4表), 胚珠発芽率は0.0% (篠田・村田, 2003) であることから, 受精後に胚の発育の抑制が起きていると考えられる。

A. inodora を子房親に用いたとき, いずれの組合せでも受粉後の花粉発芽や花粉管伸長がみられ, 到達指数の平均は4.5 (第3表) と高かった。8組合せで受精がみられ受精胚珠率は1.8~25.6%, 11組合せの平均は10.8%であったのに対し, 胚珠発芽率は5.6% (篠田・村田, 2003) と低い。これは, 受精してもその後の胚の発育が順調でなかったためではないかと考えられる。また, *A. inodora* はブラジル原産であるが (AKER and HEALY, 1990), チリ原産種との交雑でも花粉発芽, 花粉管伸長がみられ, 自生地の違いによる差はみられなかった。

一方, 受粉4時間後から48時間後の花粉管伸長の

経時的变化について、*A. pulchra*を子房親に用いて自殖または種間交雑 (*A. pulchra*×*A. magenta*) を行ったところ、種間交雑の方が花粉の発芽や花粉管の伸長が抑制されていた。自殖、種間交雑のいずれの場合でも、花粉管が大きく伸長するのは受粉4時間後から12時間後であり (第5図)、16時間後以降はあまり大きな変化はみられなかった。*A. pulchra*の自殖の場合、受粉12時間後には、珠孔部に花粉管の侵入している胚珠もみられ、受粉12時間後から24時間後にかけて受精胚珠率が増加した (第6図)。DE JEU *et al.* (1996) が*A. aurea*および*A. pelegrina*を用いて自殖した場合には受粉12時間後に花粉管の子房内への到達と胚珠への侵入がみられ、HOSHINO *et al.* (2006) が*A. aurea*を用いて自殖した場合には受粉24時間後に花粉管の胚珠への侵入がみられていることから、花粉管の子房・胚珠内への到達を調べるのには受粉後24時間以上経過してから雌蕊を採取するのがよいと考えられる。

アルストロメリアにおける交雑不親和性は大きく二つに分けられ、受精前障壁 (prefertilization barriers) と受精後障壁 (postfertilization barriers) がある (DE JEU and JACOBSEN, 1995)。

今回子房親として供試した野生種4種については受精胚珠率 (第4表) と胚珠発芽率 (篠田・村田, 2003) の比較から、*A. pulchra*および*A. magnifica*は受精前障壁、*A. inodora*は受精後障壁による不親和性を生じていると考えられる。

*A. inodora*では、DE JEU and JACOBSEN (1995) が受粉2日後という早期に胚珠を摘出して培養することで*A. inodora*×*A. pelegrina*, *A. inodora*×*A. brasilensis* Sprengelの雑種個体を得ている。今回の試験から受精までは容易に起こる組合せが多いと考えられるので、最適な培養条件を確立することで未利用の野生種との雑種獲得率を上げることも可能になると考えられる。

これに対し、*A. pulchra*では柱頭または花柱内での受精前障壁によって不親和性を生じると考えられるほか、*A. ligtu*との間では受精後障壁によると考えられる不親和性もみられた。*A. magenta*との種間交雑でわずかではあるが子房内に到達する花粉管があり受精がみられたことから (第6図)、第4表の*A. ligtu*のように受精胚珠が得られる種との間では、花数を多く交配することで受精率を増加させ、早期の胚珠培養により少数ではあるが雑種個体の獲得につながると

考えられる。

*A. magnifica*は、*A. pulchra*と同じく受精前障壁があるが、受粉直後の早い段階で不親和性を示していることから、柱頭上で他種の花粉を認識すると同時に強い拒絶反応が起きていると考えられ、通常の受粉では不親和性の打破は困難であると考えられる。

*A. magnifica*の場合には、柱頭上でみられる花粉発芽の抑制を回避し花粉管伸長を促すことが有効と考えられる。ペチュニアでは反復受粉により偽稔性の誘起が認められ (樋口, 1968)、ポプラでは不和合性の花粉とガンマ線照射によって不活化した和合性の花粉を混合して受粉することで種間雑種を得ている (KNOX *et al.*, 1972)。また、ユリでの花柱切断法 (浅野・明道, 1977) や、テッポウユリでの植物ホルモン (1% ナフタレンアセトアミド) 処理 (EMSWELLER and STUART, 1948) は遠縁交雑や自家不和合性打破の方法として行われ、幅広い雑種の獲得につながっている。

筆者らは、*A. magnifica*を子房親に用いて、反復受粉 (村田・篠田, 2002)、遅延受粉 (村田・篠田, 2002)、植物ホルモン処理 (ナフタレン酢酸, インドール酢酸およびジベレリンA3; 各0, 50, 100ppm) を試みたが、効果は明らかでなかった。また、花柱切断法、子房先端への受粉、花柱接ぎ替え法は、*A. magnifica*の花柱は細長く軟らかいため処理を行うのが困難であった。

このほかに、交配方法の改良により受精胚珠を獲得する試みとして、*A. magnifica*× (交雑したい野生種×*A. magnifica*) という組合せでの交配を進めているところであるが、この方法の有効性については、交雑不親和性を示す他の野生種も含めてさらに検討が必要である。

今後は、*A. magnifica*などの交雑不親和性打破について検討を進めるとともに、*A. inodora*などの未利用野生種を活用した種間交雑を行い、新たな花色や花型を持ち、日本の気候に適した収量性の高い品種の育成を進めていく予定である。

V. 摘 要

アルストロメリアの種間交雑における交雑不親和性の打破につなげるため、受粉24時間後の花粉管伸長程度ならびに受精胚珠率の種間差を調査するとともに、受粉4時間後から48時間後の花粉管伸長程度ならびに受精胚珠率の経時的变化を調査した。

アルストロメリア野生種12種を供試し、このうち *A. magenta*, *A. magnifica*, *A. pulchra* および *A. inodora* の4種を子房親に用いて種間交雑を行ったときの受粉24時間後の花粉管伸長程度と受精胚珠率を明らかにした。

A. magenta を子房親に用いたとき、全ての組合せで花粉発芽、花粉管伸長がみられたが、受精胚珠率は種によって大きく異なり、平均で28.3%であった。

A. magnifica を子房親に用いたとき、*A. versicolor* との交配で受精胚珠率0.6%であったほかは、ほとんど花粉発芽が起こらないか花粉管伸長が柱頭上で止まっているものが多く、受精胚珠率は平均で0.1%であった。

A. pulchra を子房親に用いたとき、交配組合せによって花粉管伸長に差がみられ、*A. ligtu*, *A. magenta* および *A. magnifica* を花粉親にした3組合せで受精がみられた。受精胚珠率の平均は1.5%であった。

A. inodora を子房親に用いたとき、花粉発芽、花粉管伸長とも良好な組合せが多く、8組合せで受精がみられた。受精胚珠率の平均は10.8%であった。

また、種間交雑を行ったときに交雑不親和性のみられる *A. pulchra* を子房親に用いて、自殖および種間交雑 (*A. pulchra* × *A. magenta*) での花粉管伸長程度を、20°C、24時間日長条件下で、受粉後4時間ごとに観察した。*A. pulchra* の自殖では受粉12時間後に花粉管が子房内に到達し、受精がみられ、受粉48時間後の受精胚珠率は20.5%であった。これに対し、種間交雑 (*A. pulchra* × *A. magenta*) では受粉48時間後でも多くの花粉管伸長は柱頭上のみまたは花柱上部～中部までであった。しかし、受粉16時間後以降のものでごくまれに花粉管が子房内に侵入しているのがみられ、0.3～1.9%の受精胚珠率であった。

引用文献

- AKER, S. and HEALY, W. (1990): The phytogeography of the genus *Alstroemeria*. *Herbertia*, 46, 76-87.
- 浅野義人, 明道 博 (1977): ユリの遠縁種間交雑に関する研究 (第1報) 花柱切断授粉法による交配. *園学雑*, 46, 59-65.
- BAYER, E. (1987): Die Gattung *Alstroemeria* in Chile. *Mitt. Bot. Staatssammlung Munchen*, 24, 1-362.
- BUITENDIJK, J. H., BOON, E. J. and RAMANNA, M. S. (1997): Nuclear DNA content in twelve species of *Alstroemeria* L. and some of their hybrids. *Ann. Bot.*, 79, 343-353.
- BUITENDIJK, J. H., RAMANNA, M. S. and JACOBSEN, E. (1992): Micropropagation ability: towards a selection criterion in *Alstroemeria* breeding. *Acta Hort.*, 325, 493-498.
- DE JEU, M. J., GARRIGA CALDERE, F. and VAN WENT, J. L. (1996): Sporogenesis, gametogenesis, and progamic phase in *Alstroemeria*. *Can. J. Bot.*, 74, 1354-1361.
- DE JEU, M. J. and JACOBSEN, E. (1995): Early postfertilization ovule culture in *Alstroemeria* L. and barriers to interspecific hybridization. *Euphytica*, 86, 15-23.
- DE JEU, M. J., SASBRINK, H., GARRIGA CALDERE, F. and PIKET, J. (1992): Sexual reproduction biology of *Alstroemeria*. *Acta Hort.*, 325, 571-575.
- EMSWELLER, S. L. and STUART, N. W. (1948): Use of growth regulating substances to overcome incompatibilities in *Lilium*. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 51, 581-589.
- 樋口春三 (1968): 自家不和合性ペチュニアにおける反復授粉による偽稔性の誘起. *園学雑*, 37, 349-356.
- HOSHINO, Y., MURATA, N. and SHINODA, K. (2006): Isolation of individual egg cells and zygotes in *Alstroemeria* followed by manual selection with a microcapillary-connected micropump. *Ann. Bot.*, 97, 1139-1144.
- KNOX, R. B., WILLING, R. R. and PRYOR, L. D. (1972): Interspecific hybridization in *Poplars* using recognition pollen. *Silvae Genetica*, 21, 65-69.
- KRISTIANSEN, K. (1995): Interspecific hybridization of *Alstroemeria*. *Acta Hort.*, 420, 85-88.
- 村田奈芳, 篠田浩一 (2002): アルストロメリア種間交配における遅延受粉及び反復受粉の効果. *園学雑*. 71 (別2), 176.
- 大川 清 (1994): 品種改良の歴史. 育種と栽培アルストロメリア. 大川清編著. P. 26-29. 誠文堂新光社. 東京.
- 篠田浩一, 村田奈芳 (2003): アルストロメリア野生種15種の交雑親和性. *園学雑*, 72, 557-561.

- 17) 高津康正, 霞 正一, 友常秀彦, 佐久間文雄
(1994) : グラジオラスの種属間交雑 I. 数種
アヤメ科植物との交雑の可能性. 育雑. 44 (別
1), 188.
- 18) 徳増 智, 加藤正弘, 矢野文香 (1974) : 螢光
顕微鏡による *Pelargonium* 属植物の花粉管行動の
観察とその交雑親和関係の推定. 育雑, 24,
269-276.
- 19) TSUCHIYA, T. and HANG, A. (1989) : Cytogenetics
in the genus *Alstroemeria*. *Herbertia*, 45, 163-170.

Pollen Tube Growth and Fertility of Ovules in Interspecific Hybridization in *Alstroemeria* L.

Naho MURATA and Koichi SHINODA

Summary

Interspecific hybridization in *Alstroemeria* is very difficult due to cross-incompatibility. This investigation was conducted to obtain basic information about pollen tube growth and unravel the fertilization barriers observed in incompatible cross combinations.

Interspecific crosses were performed between four *Alstroemeria* species used as female plants and twelve *Alstroemeria* species used as male plants. In these experiments, pollen tube elongation and entry into ovules were observed 24 hours after pollination.

When *A. magenta* was used as the female plant, pollen grains of all other species germinated well and pollen tubes reached the micropyle in all cross combinations, with 28.3% of the ovules being fertilized.

When *A. magnifica* was used as the female plant, germination of most of the pollen grains of other species was inhibited on the stigma or penetration into the stigma did not occur. Fertilization occurred only in the cross combination with *A. versicolor*. Only 0.1% of the ovules were fertilized.

When *A. pulchra* was used as the female plant, germination of pollen grains varied depending on the

species, and pollen tube growth was inhibited in the upper or middle region of the styles in eight of the pollen-donor combinations. Fertilization occurred in three cross combinations between *A. ligtu*, *A. magenta* and *A. magnifica*, with 1.5% of the ovules being fertilized.

When *A. inodora* was used as the female plant, pollen grains of other species germinated well and pollen tubes entered ovules in eight of the eleven crosses, with 10.8% of the ovules being fertilized.

Pollen tube growth and entry into ovules were observed every four hours after pollination of *A. pulchra* styles at 20°C in constant light. Pollen tubes of self-pollinated plants reached the ovaries at 12 hours after pollination. Some of the pollen tubes entered the micropyle and 20.5% of the ovules were fertilized at 48 hours after pollination. The growth of most pollen tubes of an interspecific cross (*A. pulchra* × *A. magenta*) was inhibited on the stigma or the upper region of the styles. At 16 hours or more after pollination, very few pollen tubes had reached the ovules and only 0.3 – 1.9% of the ovules were fertilized.