

# 雄性不稔ユリ品種の雄ずいにおいて温度環境が誘導する可塑的形態形成に関する研究

佐藤 孝夫

## 抄 録

秋田県農業試験場で育成した白花のアジアティックハイブリッドユリ品種‘秋田プチホワイト’は、雄ずいが形成しない雄性不稔品種である。アジアティックハイブリッドユリ品種において、雄性不稔性は種内交雑により容易に発現するが、雄性不稔性雄ずいの表現型は多様であり、この表現型を雄ずいの形態形成により、antherless stamens, undeveloped anthers, immature anthers, dehiscent anthers without pollen, indehiscent anthers の5つのタイプに分類した。また、‘秋田プチホワイト’は花芽分化期の雄ずい形成期～雌ずい形成期の間の30℃以上の高温遭遇により、葯の分化・発達能力が回復し、花粉を形成することを明らかにした。さらに高温で形成された花粉粒の形態、表面構造を観察すると通常の花粉を有する市販品種の花粉粒の形態と同等で、しかも形成された花粉を用いて交配試験を行った結果、発芽能力のある種子を形成するため、この品種の雄性不稔は高温で稔性回復する温度感応性雄性不稔であることを明らかにした。葯の回復に重要な温度遭遇時期は、雄ずい形成期～雌ずい形成期に限定され、高温遭遇後の低温処理によっても高温の効果は打ち消されることはない。

‘秋田プチホワイト’に続いて育成された黄色のアジアティックハイブリッドユリ品種‘秋田プチクリーム’‘秋田プチレモン’‘秋田プチゴールド’もそれぞれ温度感応性雄性不稔品種であり、‘秋田プチホワイト’と同様に高温によって葯の形成が回復されるが、雄ずいの形成を誘導する温度には品種間差がある。

温度感応性雄性不稔品種は、高温により稔性が回復するため、夏季冷涼な秋田県の気象条件に適し、西南暖地よりも雄ずいが形成される高温期間が短く、栽培が容易なため、秋田県の有利性を生かすことができる品種である。

キーワード：温度感応性雄性不稔、ユリ、稔性回復、形態形成

	目 次	
抄録	1	4-1 回復した葯において進行する花粉減数
1 緒言	1	分裂過程の観察 30
2 アジアティックハイブリッドユリ雄性不稔における雄ずいの多様な表現型	5	4-2 雄性不稔ユリにおける種子形成能力の評価 35
3 アジアティックハイブリッドユリ雄性不稔の稔性回復を誘導する環境条件の解明	9	5 アジアティックハイブリッドユリ雄性不稔の稔性回復における発現条件 41
3-1 高温に反応するアジアティックハイブリッドユリの温度感応性雄性不稔品種における葯の回復	9	5-1 温度感応性雄性不稔の稔性回復における温度感応性時期 41
3-2 球根の貯蔵条件が稔性回復に及ぼす影響	16	5-2 稔性が回復する温度感応期間 45
3-3 稔性回復と花器形成に及ぼす日長条件	21	6 アジアティックハイブリッドユリ雄性不稔品種の稔性回復する温度域の品種間差異 51
3-4 稔性回復に及ぼす温度条件	25	7 総合考察 57
4 アジアティックハイブリッドユリ雄性不稔において形成された花粉の形態観察と機能の評価	30	8 摘要 57
		9 謝辞 58
		引用文献 58
		Abstract 63

本報告は、秋田県立大学大学院博士論文の一部を改編したものである。

## 1 緒 言

ユリは、花型の優雅さや上品な香りなどから世界の国々で最も好まれているが、観賞用花きとして少なくとも3,600年の歴史がある(Lim *et al.* 2005)。古代ギリシャのクレタ文明(紀元前1750~1675年)にはユリを観賞用として用いた痕跡があり、クレタ島から出土した花瓶や壁画にユリの美しさや純白の花色、そして優雅な芳香が好まれていたことが記されている(Evance 1921, 1930, Woodcock and Steam 1950)。

ユリ科(Liliaceae)ユリ属(*Lilium*)には、100種以上が含まれている(Comber 1949)。ユリ属の自生地は北半球に限られて分布し、主に北米大陸、アジアやヨーロッパのユーラシア大陸に広く分布している。日本には、固有種9種、中国、シベリアなどの大陸との共通種6種の合計15種が自生している(清水 1987)。ユリは切り花、鉢物など営利栽培以外にもガーデニングでも広く栽培されており、花卉園芸植物として重要な位置を占めていて、2,000年には世界中で15億個の球根が生産された(Lim *et al.* 2005)。ユリの球根生産においてはオランダが世界1位であり、栽培ではオランダに次いで日本やアメリカが多く、最近では自生地ではない、南半球側のオーストラリア、チリや南アフリカ共和国での生産が伸びている(Lim *et al.* 2005)。日本の切り花生産におけるユリの栽培面積は、キクに次いで第2位と重要な位置にあり、2005年の全国のユリ栽培面積は892haであった(Anonymous 2006)。

ユリの分類においては、Comber (1949)により、種子の発芽様式、りん片の形状、着葉性など15の形質に基づき、*Martagon* 節、*Pseudolirium* 節、*Liriotypus* 節、*Archelirion* 節、*Sinomartagon* 節、*Leucolirion* 節および *Daurolirion* 節の7節に分類されている。それらの節の中で、花型、花色、花の大きさなどが豊富な *Archelirion* 節、*Sinomartagon* 節が営利栽培において重要である。園芸作物として発達する過程では、分類された節内において、交雑親和性のある種間において交配が繰り返され、いくつかの雑種群が育成された。これらの雑種群を分類するために、イギリス王室園芸協会(RHS)は、アジアティックハイブリッド群やオリエンタルハイブリッド群など9群の分類を示した(Anonymous 1964)。アジアティックハイブリッド群は、*Sinomartagon* 節に属するオニユリ、コオニユリおよびスカシユリなどの、主にアジア大陸に自生している原種間の交雑により成立した雑種群で、特に花色が白、赤、オレンジ、ピンクや黄など豊富なため、切り花で重要な位置を占めている。ユリの品種改良は、他の花きに比べるとその歴史が浅い。これは、野生種そのものの観賞用価値が高く、育種意欲をあまり駆り立てなかったことや、山野に自生の量が多く、必要に応じて採取できたためである。さ

らに上述した理由に加え、主要種の原因が日本や東アジアにあることから、欧米やアメリカへの紹介が遅れ、育種操作が加えられる時期が遅れたためである(浅野 1982)。ユリ育種の重要な転換期は、オランダやアメリカなど海外においてアジアティックのハイブリッドの本格的な育種が開始された1940年代頃である(McRae 1998)。アジアティックハイブリッド品種群は1980年代までユリの園芸種の中で生産量において第1位であったが、'カサブランカ'や'スターゲザー'など抜群の花型や優雅な芳香のオリエンタルハイブリッド品種の登場により、その後はオリエンタルハイブリッド品種群がユリ品種の中で主要な位置を占めている(Lim *et al.* 2005)。ユリ属の染色体は倍数体( $2n=24$ )であるが、オニユリ(*L. tigrinum*)やスカシユリ(*L. bulbiferum*)で3倍体種が確認されている(Noda 1966, Noda and Schmizer 1992)。1980年代から、花柱切断技術(浅野・明道 1977a,b)や胚培養技術(Asano 1980a,b)を組み合わせることで、従来不可能であったような遠縁の種間交雑も可能になり、それまでにはない組み合わせの雑種が得られるようになった。遠縁交雑が可能になったことにより3倍体や4倍体品種も偶発的に出現した。

花の形成と発育は、多くの遺伝的に制御された生理学的ならびに生化学的な過程が進行し、その結果形態学的な事象の最終結果として表現されるものである(Kaul 1988)。花はがく片、花弁、雄ずい、雌ずいなどで構成され、それらの配置は花式図で示されるが、それらの器官の数は植物種によって異なり、種の特徴を示している。シロイヌナズナ(*Arabidopsis thaliana*)とキンギョソウ(*Antirrhinum majus*)の変異体の研究から、がく片、花弁、雄ずい、心皮の器官アイデンティティの決定に関与する遺伝子が同定され、ABCモデルが提唱された(Coen and Meyerowitz 1991)。シロイヌナズナの花は、外側からがく片、花弁、雄ずい、雌ずいが whorl と呼ばれる同心円状の領域に形成される。ABCモデルにおいては、whorl 1では、A遺伝子だけが働いてがく片が形成される。whorl 2ではA遺伝子とB遺伝子の2つが働いて花弁が形成される。whorl 3では、B遺伝子とC遺伝子の2つが働いて雄ずいが形成され、whorl 4ではC遺伝子だけが働いて心皮が形成される(Coen and Meyerowitz 1991)。これらの遺伝子の多くにはMADS-boxと呼ばれる遺伝子配列が共通して存在する(日向ら 2001)。しかしながら、単子葉植物の花は双子葉植物の花とは大きく異なり、がく片は花弁化して外花被片となり、ユリでは外側から外花被片、内花被片、雄ずい、雌ずいの器官で構成される。このため、Van Tunen *et al.*(1993)は、チューリップ(*Tulipa*)を用いて modified ABC モデルを提唱した。このモデルではA遺伝子は単独では働かずにB遺伝

子と組み合わせさせてがく片が花弁化する。

さらに Theissen *et al.*(2000) は *Lilium regale* からいくつかの MADS-box の配列を決定して、ABCモデルの中のがく片、花弁、雄ずい、心皮の器官に胚珠を加えてABCDEモデルを提唱した。しかしながら、コリでは雄ずいや花弁が融合した tepal-stamen の組織が誘導されることがあり、これは高温条件による環境のストレスがコリにおいて発生的ホメオティックな変化を誘導すると報告されている (Benedito *et al.* 2005)。交雑により作出された雄性不稔の植物体からも雄ずいが花弁化する奇形が生じることがあり (Grasotti and Mercuri 1996)、コリにおいてホメオティックな変化は容易に生じる。

花の本質的な機能は、花粉の放出と受容であり、雄性配偶子と雌性配偶子の発達を導き、配偶子の結合の結果、種子を形成することであり、それらは全て時間的に順序よく行われるようにプログラムされて遺伝的に制御されている (Kaul 1988)。しかし、それぞれの機能は制御している遺伝子の突然変異により少なからず破損する場合がある (Kaul and Murthy 1985)。

植物の雄性不稔に関しては、1694年の Camerarius による高等植物の性の発見から約70年後の1763年に Kolreuter により葯の発育停止が明らかにされて以来、現象として認識されていた。これまでに数多くの植物種に雄性不稔性の発現が報告されているが (Kaul 1988)、遺伝的に解析した報告としては Bateson *et al.*(1908) がスイートピー (*Lathyrus odoratus*)における雄性不稔性は不規則にかつ散発的に生じる単純な事象ではなく、遺伝的に決定された機構であることを示し、その不稔性は1個の劣性遺伝子に支配されているとした。

これまでの雄性不稔性に関する研究から雄性不稔性は核遺伝子または細胞質遺伝子、あるいはその両方の遺伝子の突然変異により偶発的に生じることが知られている (山口 1985)。農作物において、これまでに報告された核遺伝子が関与している雄性不稔性は多く、*Brassica campestris* (Das and Pandey 1961)、*Brassica napus* (Koch and Peters 1953)、*Glycine max* (Stewart and Wentz 1926)、*Oryza sativa* (Nagai 1926a,b)が知られている。一方、核-細胞質遺伝子が関与している雄性不稔性は、核遺伝子が関与している雄性不稔性よりも報告が遅れるが *Brassica campestris* (Ohkawa and Shiga 1981)、*Brassica napus* (Yamaguchi and Kanno 1963)、*Oryza sativa* (Shuhua 1982)などで報告され、同じ種の雄性不稔性でも関与している遺伝子が異なっていることが明らかになっている。また、細胞質雄性不稔の発現は、不稔を引き起こすミトコンドリア遺伝子とその働きを特異的に抑制し花粉稔性の回復をもたらす核遺伝子との相互作用によって支配されていることが知られている

(日向ら 2001)。

しかし、一方で雄性不稔性の発現は不安定であり、温度や日長などの環境条件によって不稔性から稔性に変化する例も知られている。特に細胞質雄性不稔では環境条件によって稔性が回復することが多いとされている (Kaul 1988)。これまでに報告された環境感応性雄性不稔のうち44%は温度感応性雄性不稔であり、12%は日長感応性雄性不稔である。残りの44%は、現在まで正確な要因は明らかになっていない (Kaul 1988)。

温度感応性雄性不稔系統では、タマネギで4分子期から減数分裂前期までに、高温(21 ~ 27 °C)に遭遇すると稔性が回復することが報告されている (Barham and Munger 1950)し、同じくタマネギでは温度が稔性回復における重要な要因であると報告されている (Vander Meer and van Bennekom 1969)。*Brassica napus* L. においては Thompson (1972) が初めて細胞質の関与する雄性不稔性を報告している。志賀・馬場 (1973) は、細胞質雄性不稔系統の中で、不稔の表現型は気温などの環境条件によって変動することを示唆している。Fan and Stefansson (1985) は、雄性不稔性の品種によって、稔性回復する温度が異なることを示した。Marrewijk (1969) は、ペチュニア (*Petunia × hybrida*) の細胞質雄性不稔系統の研究から、それぞれの雄性不稔系統には、稔性回復のために最適な温度があることを推察した。小麦 (Johnson and Patterson 1973)、トウモロコシ (Duvick 1965)、ペチュニア (Van Marrewijk 1969)においては、それぞれの作物の通常の作型よりも低い温度条件で稔性回復が見られた。イネ (*Oryza sativa* L.) では、これまでに多くの研究がなされ、Fu (1981) はイネの雄性不稔性が圃場において高温下で稔性が回復することを報告した。その後 Sun *et al.* (1989) によって、最高気温33 °Cでは不稔であるが最高気温27 °Cで稔性回復する系統が確認され、Maruyama *et al.* (1991)、Zhang *et al.* (1991)、Virmani and Voc (1991)、Borkakati (1994)、Borkakati and Virmani (1996)、Viraktamath and Virmani (2001)が不稔性系統により稔性回復する温度が異なることを明らかにした。トマトでも細胞質雄性不稔系統が温度条件によって稔性回復することが報告されている (Rick and Boynton 1967, Sawhney 1983)。そのほかコットン (Marshall *et al.* 1974) や小麦 (Wilson 1968) で温度が稔性回復において重要な要因になっていると報告されている。このように雄性不稔系統が稔性回復する環境要因には温度が重要であることが上げられる。

また、Zhang *et al.* (1991) や Lu *et al.* (1994) はイネの雄性不稔系統を用いて、可稔/不稔性に変化する温度は平均気温によると示したが、Maryuama *et al.* (1991) は変温処理による試験を行い、稔性が変化する

温度は低温よりも高温による影響があると指摘している。さらに様々な温度感応性雄性不稔植物種の温度反応性は2つのグループによると考えられる。第1のグループは、タマネギ (Barham and Hunger 1950) の29.4 や *Brassica napus* (Fan and Steffanson 1986) の32 のような高温側で稔性回復するグループである。第2のグループは、イネでの31 以下 (Maruyama *et al.* 1991) や33 以下 (Sun *et al.* 1989) の低温側で稔性回復するグループである。このように、雄性不稔植物種において稔性回復する温度域が異なっている。

日長が要因となって回復する雄性不稔性については、温度感応性雄性不稔よりも発見が遅れ、その発現の安定性に関する検討が比較的遅れている。イネ (*Oryza sativa* L.) において、1973年に中国湖北省の石明松により、農墾58の集団の中で長日で不稔、短日で稔性となる特異な不稔性の変異体が見いだされた。農墾58は1960年代に日本から導入された58品種の一つである。この変異体は人工照明下での実験により、13時間45分以上の長日では花粉が不稔となり、13時間30分以下の短日では花粉稔性が回復する (Shi 1986, 池橋 2000)。日長感応性雄性不稔系統は、温度感応性雄性不稔系統よりもF<sub>1</sub>採種への応用が容易なことから農作物での検討が進み、これまでトマト (Sawhney 2004)、小麦 (Murai 2004)、大豆 (Smith *et al.* 2001) などでも明らかにされている。

環境感応性雄性不稔について遺伝的に検討したものとしては、イネの温度感応性雄性不稔の遺伝性については単一の劣性遺伝子が関与している報告がなされている (Maruyama *et al.* 1991, Borkakati and Virmani 1996)。また、タマネギでは2,3の遺伝子に支配されている (Barham and Hunger 1950)。Van Marrewijk (1969) は、ペチュニアのCMSの稔性回復には少なくとも3つの遺伝子、すなわち、主動遺伝子の *Rf*<sub>1</sub>、補助遺伝子の *bf*、そして *Rf* として言及されている単一遺伝子が複合遺伝子が関連していると述べている。

雄性不稔性は花粉の発育が停止したものと考えられるが、その時期や形態は種によって異なっている。イネの温度感応性雄性不稔は、タペート細胞の異常であるとした報告 (Ku *et al.* 2001, 2003) があるが、*Brassica* では、心皮分化期～雄性胞原細胞分化期における花粉の発育阻害であるとされる (志賀・馬場 1973)。

一方、ユリの雄性不稔性は、園芸品種である桃色花の‘スプリングタイム’ (発表年不詳)、白花で *antherless stamens* の表現型を持つ‘秋田プチホワイト’ (柴田 2002) など、アジアティックハイブリッドに散見される。これに対し、オリエンタルハイブリッドユリの営利栽培用品種では‘ティアラ’ (発表年

不詳) が1品種知られているのみである。ユリは球根性作物のため、農作物のF<sub>1</sub>採種に關与することは少なく、雄性不稔性についての研究はあまりなされてこなかった。これまでに、Grassotti and Merciri (1996) により、*pollenless* を育種目標とするユリ育種において、交配育種でも容易に雄性不稔系統を獲得できるとの報告や Yamagishi (2003) が雄ずいの先端が膨らむが葯を形成しない *immature anthers* の表現型の雄性不稔の系統を交配育種により獲得した報告や、同じ交配親でも交配する組み合わせ (正逆交雑) により雄性不稔性の発現に違いがある (Van der Muelen-Muisers *et al.* 1999) など数例がある。雄性不稔性の稔性回復においては、Yamagishi (2003) が圃場での栽培において、開花期の後半に花粉形成のない *immature anther* から未熟な花粉を含む葯に表現型が変化するため、温度などの環境条件が葯の発育に影響する要因であると示唆した報告と、明確に温度感応性雄性不稔であることを明らかにしたアジアティックハイブリッドユリにおける温度感応性雄性不稔に関する1例 (Sato and Miyoshi 2006) があるだけである。このようにユリにおいて、*pollenless* の雄性不稔性が生育期間中の環境条件によって、葯の発達が回復する現象は確認されているが、誘導する条件が温度あるいは日長がそれぞれ単独であるか、両者が組み合わせられたものは未だに解明されていない。また、生育時期においてどの時期に環境条件が影響するのかなどの解析も全く未着手の状態である。

秋田県農業試験場では、他県の産地と差別化できるユリの新商品開発を目的に雄性不稔 (無花粉) ナリの育種プログラムを1992年より進行させており、これまでに白花の‘秋田プチホワイト’と黄花の‘秋田プチクリーム’‘秋田プチレモン’‘秋田プチゴールド’の計4品種の雄性不稔品種を育成した。現在、市場流通しているアジアティックハイブリッドユリの中で営利栽培向けの雄性不稔品種は本県育成品種のみであり、有望な新商品として産地形成を推進している。秋田県では、球根を長期間冷凍貯蔵して栽培する抑制栽培が主体であるが、開花調整を行わない季咲き栽培ならびに、季咲き栽培よりも早く出荷する促成栽培も組み合わせ、周年出荷が行われている。本県が育成した雄性不稔品種は育成過程において、季咲き栽培においてのみ選抜されたが、周年出荷に対応するために促成栽培および抑制栽培における栽培適応性を検討した。その結果、抑制栽培において1%以下の低い頻度であったが、完全な花粉ならびに葯が回復し、高品質の生産物を安定的に周年供給する体系を確立する上で、大きな障害となることが危惧された。しかし、これまでのユリの雄性不稔に關しての報告は、上述したように少なく、しかもその情報も断片的である。また、温度などの環境条件によって引き起こされる葯や花粉

などの雄ずいの形態の変化に関する研究は未着手の状態である。本研究では、育種プログラムの多様性を高めることと、雄性不稔性の特性を生かした栽培技術の確立を図ることを主な目的とし、ユリの園芸品種群の1群であるアジアティックハイブリッドユリの antherless の表現型を示す雄性不稔品種‘秋田プチホワイト’を中心に、雄性不稔の稔性回復要因の解明と稔性回復が発現する条件について検討を行った。

本研究では、はじめにアジアティックハイブリッドユリの交雑後代から出現する雄性不稔の表現型を分類整理した。次に雄性不稔品種‘秋田プチホワイト’を用いて温度や日長の生育期間中の環境条件ならびに球根の貯蔵条件が雄ずいの形態形成及ぼす影響について精査した。そして上述した生育期間中の環境条件の検討において回復した花粉の形態と機能を検討した。さらに雄ずいの形態形成が温度によって誘導されることを明らかにしたうえで、様々な温度環境が雄ずいの形態形成に及ぼす影響ならびに雄ずいの形態形成が誘導される温度処理期間について検討を加えて、植物体における形態形成に影響する温度域ならびに感応時期を明らかにした。また、これらの成果をもとに‘秋田プチホワイト’などの雄性不稔ユリ品種の特性を活かした栽培技術の提言を行った。

## 2 アジアティックハイブリッドユリ雄性不稔における雄ずいの多様な表現型

### (1)はじめに

アジアティックハイブリッドユリは、多くの国々で最も好かれている鑑賞用切花の一つである。アジアティックハイブリッドユリには多様な花色や花型があり、日本の市場では切花需要が大きい。ユリの花の薬は比較的大きく、その薬には大量の花粉が含まれ、衣服に付くと汚れが目立つうえに落ちにくく、多くの消費者には不良形質と認識されている。このため、生花店ではユリの開花直後に薬を取り除いて店頭に展示しており、販売経費の増大を招いている。花粉を形成しない、いわゆる雄性不稔ユリを育種目標とする育種プログラムは、生産者側よりも消費者、生花店などの需要者の要望を反映させた育種プログラムである。

雄性不稔ユリは特定の品種を交配親にすることによって、後代に容易に生じる(Van derMeulen-Muisers *et al.* 1999)。また、ユリの雄性不稔には花被片がねじれたり、花被片間にすき間があくような重大な奇形が生じることがある(GrassottiandMercuri1996)。筆者らが行った育種プログラムにおいて、花粉を形成しない雄性不稔ユリを目的とした交雑による後代から雄性不稔性薬の表現型において、多くの表現型が生じた。雄性不稔性の薬の表現型については Sanders *et al.* (1999) が *Arabidopsis* の変異体において詳細に分類整理しているが、ユリにおける雄性不稔の表現型

については、これまでに分類した報告はない。そこで、**本報告** 1-1 では交雑による後代で生じた雄性不稔ユリの雄ずいの表現型を、雄ずいにおける薬や花粉の発達過程を中心に観察を行ない、季咲き栽培における雄性不稔ユリの表現型の分類整理を行う。

### (2)材料および方法

秋田県農業試験場温室内において、2002年6月15日にアジアティックハイブリッドユリ品種による組み合わせ、‘秋田プチクリーム’×‘ファイヤー’を交雑し、同年10月に採種した。交雑した雌親品種の‘秋田プチクリーム’は1992年に‘コネチカットキング’×‘メントン’の組み合わせ後代から選抜された黄色花色で、薬の発達が未熟で花粉の形成しない雄性不稔性品種である(浅利ら2005)。一方の花粉親品種‘ファイヤー’は赤色の花被色で正常な薬を形成する市販品種である。

2002年に12月15日に200穴セルトレイに Plug Mix を詰めて、採種した種子をそれぞれ1粒ずつ播種した。播種後セルトレイのまま球根を養成し、2003年10月15日にガラス温室に定植した。2004年5月18日から7月11日まで、順次開花した38個体について花色や花形、薬の形状を調査した。

また、2004年6月13日にアジアティックハイブリッドユリ品種‘秋田プチホワイト’×‘アポロ’を交配し、10月7日に採種した。交雑した雌親品種の‘秋田プチホワイト’は白花で antherless の品種である(柴田2002)。花粉親の‘アポロ’は白色の花被色で正常な薬を形成する市販品種である。同年10月22日採種後直ちに、200穴セルトレイに1粒ずつ播種した。2005年4月22日に3号素焼き鉢に鉢上げし、2005年11月3日にガラス温室に定植した。2006年5月23日から6月14日まで開花した24個体について花色や花形、薬の形状を調査した。

薬が形成された個体については、開花当日に、薬を生のまま刃刃カミソリにより切片を作成し、実体顕微鏡(SZX12; Olympus Corp., Tokyo, Japan)において、花粉の形成を確認した。

### (3)結果

‘秋田プチクリーム’×‘ファイヤー’の組み合わせ後代から播種後2年目の2005年に38株が開花した。開花した小花の薬の表現型を調査したところ、5種類の雄ずいの表現型が確認され、そのうち4種類は雄性不稔の雄ずいだった(Table 2-1)。すなわち、薬が形成されない antherlessstamens(Fig.2-1A)が11株、花糸の先端が湾曲して膨らむが薬の形成が見られない undeveloped anther(Fig.2-1B)が9株、花糸の先端が明らかに肥大・発達し、薬のうが形成されるが、薬のうが黄色あるいは白色で花粉粒の着色がみられな

い immature anthers (Fig.2-1C) が5株、6本の雄ずいのうち数本あるいは、葯の一部がオレンジ色に着色するものの葯が裂開しない indehiscent anthers (Fig.2-2A-B) が11株、6本の雄ずい全ての葯に花粉が形成され、葯が裂開し、花粉が露出する intact anthers (Fig.2-2C) が2株である。Antherless stamens および undeveloped anthers には葯が観察されないため、花粉粒は形成されない。immature anthers の葯を生のまま葯を横断し、実体顕微鏡で観察すると、葯のうの発達が未熟で花粉粒の形成は観察されなかった (Fig.2-3A)。葯の一部がオレンジ色に着色する indehiscent anthers の葯を生のまま切片を作成し、実体顕微鏡で観察すると、オレンジ色に着色している部分にだけ花粉粒が観察された (Fig.2-2A, 2-3B)。

一方、'秋田プチホワイト'×'アポロ'の組み合わせ後代からは播種後2年目に24個体が開花した。その中で雄ずいの表現型においては、上記5種類の雄ずいの表現型の他にさらに、もう1つの雄性不稔の雄ずいの表現型が出現した (Table 2-1)。すなわち、antherless stamens が14株、undeveloped anthers が5株、immature anthers、indehiscent anthers、intact anthers がそれぞれ1株出現した。新しい種類の雄ずいの表現型として葯は形成し、裂開するが、葯のうには花粉が形成されない dehiscent anthers without pollen が2株確認された (Fig. 2-1D)。immature anthers と indehiscent anthers の葯を生のまま横断し、実体顕微鏡で観察すると'秋田プチクリーム'×'ファイヤー'の組み合わせの表現型同様に immature anthers には花粉粒が確認されず、indehiscent anthers には葯の一部に花粉粒が確認された。Dehiscent anthers without pollen の葯を同様に生のまま横断し、実体顕微鏡で観察すると、葯が裂開した葯のうには花粉粒がなかった (Fig.2-3C)。

#### (4) 考察

雄性不稔性植物体の雄ずいの表現型については、*Arabidopsis* の雄性不稔性突然変異体において、雄性器官の突然変異体の表現型が分類され (Chaudhury 1993)、さらに葯の発達に関する欠陥の観察で葯の形成から花粉の形成、葯の裂開の見地から詳細に分類されている (Sanders *et al.* 1999)。また、その他の植物では、ナタネ (*Brassica napus* L.) の細胞質雄性不稔 (CMS) 系統に関して志賀・馬場 (1973) や Polowick and Sawhney (1986) が雄性不稔性葯の花系の長さや葯の形状を観察している。ユリの雄性不稔性雄ずいの形状については、Yamagishi (2003) が'モントレー'×'ジェノバ'の組み合わせから出現した immature anthers の形態をした短い花系の表現型を報告している。

今回の試験において、'秋田プチクリーム'×'ファイヤー'の組み合わせ後代から、葯が未分化である表現型から葯が分化して葯が発達していく5つの連続的な段階を示すような表現型が出現した。雄ずいの表現型と特徴は Table 2-2 に示したが、最初の段階は、葯が未分化である antherless stamens である。次に葯の発達が開始されたものの、肥大が未熟なままで出現する undeveloped stamens である。更に葯の発達、肥大が促進され、葯のうの発達が開始されるが花粉粒の発達が何らかの影響で抑制されたと思われる immature anthers である。これらは生殖器官としての花粉の機能が認められないため、不稔性雄ずいである。葯が形成され、花粉の発達が促進されて、発芽力のある花粉が形成されるが、今回の試験では稔性雄ずいにも花粉粒の形成が少量で開葯しない indehiscent anthers と開葯する intact anthers の2つのタイプの表現型が観察された。これらは葯の分化と発達に加え、花粉粒の分化と発達が連続して段階的に表現型が出現したように観察された。これらの表現型は、Sanders *et al.* (1999) が *Arabidopsis thaliana* の突然変異個体から分類した雄性不稔性雄ずいの表現型と極似している。

ユリの雄性不稔性については、育種母本の交配親の組み合わせで雌親にするか花粉親にするかで雄性不稔性の出現頻度が異なること報告されている (Van der Meulen-Muisers *et al.* 1999)。今回の試験で出現した表現型において、intact anthers の出現個体数は、それぞれ 5.2%、4.1% であることから雄性不稔性品種を交配親とした場合は、不稔性の出現頻度は高いと思われる。

'秋田プチホワイト'×'アポロ'の組み合わせ後代から、'秋田プチクリーム'×'ファイヤー'の交雑後代から出現しなかった新たな雄性不稔の雄ずい表現型として葯が形成し、開葯するが、花粉が形成されない dehiscent anthers without pollen が観察された。雄性不稔の出現については、雄ずいや葯の分化阻害、花粉の発育阻害、葯の未裂開などの表現型で雄性生殖器官全ての発育段階で発現する (山口 1985)。その中で、花粉の発育阻害については Laser and Lersten (1972) により、32種の細胞質雄性不稔系統で異常花粉あるいは、異常花粉母細胞の出現する時期が明らかにされている。さらに、Frankel and Galun (1977) は、花粉の発育阻害の事例を詳細に検討し、初期の減数分裂期、4分子期および小孢子成熟期の3つの時期にそれぞれタペート組織の退化などとの関連で花粉の発育が阻害されるとした。また、花粉の発育阻害でなく、葯の裂開が阻害されることで雄性不稔性が発現される場合も知られている (Roath and Hockett 1971)。今回出現した dehiscent anthers without pollen の表現型の雄ずいのように、葯が発達し、葯

の裂開が促進されても葯のうに未熟な花粉粒さえ含まない葯はタバコ(Koltunow *et al.* 1990, Goldberg *et al.* 1993)で報告されていて、ユリではオリエンタルハイブリッド品種‘ティアラ’が同じ表現型を示している。これはおそらくタペート組織の異常により花粉母細胞の形成が阻害されたものと思われる。

このタイプの表現型は、葯の痕跡がない antherless stamens の雄ずいの表現型よりも高い市場評価が得られると思われる。すなわち、葯が形成され、開葯した葯の外観が、花本来の形態に近い雄性不稔であり、花器に立体感をもたらすことによる。

Table 2-1. The phenotypes of stamen obtained from two cross combination of Asiatic hybrid cultivars.

Cultivar	Total number of plants bloomed	Sterile stamen				Fertile stamen	
		Number of plants with antherless stamens	Number of plants with undeveloped anthers	Number of plants with immature anthers	Number of plants with dehiscent anthers without pollen	Number of plants with indehiscent anthers	Number of plants with intact anthers
Akita Petit Cream Fire	38	11	9	5	0	11	2
Akita Petit White Apolo	24	14	5	1	2	1	1

Table 2-2. Phenotypes of male sterile stamens

Phenotype description	Description of anthers and pollen
antherless stamen	Stamen does not develop into an anther.
undeveloped anthers	Stamen does not usually develop into an anther, but has filament-like structure.
immature anthers	Anther locules devoid of pollen grains.
dehiscent anther without pollen	Anther dehiscence without pollen.
inehiscent anthers	Anther contains pollen but do not dehisce

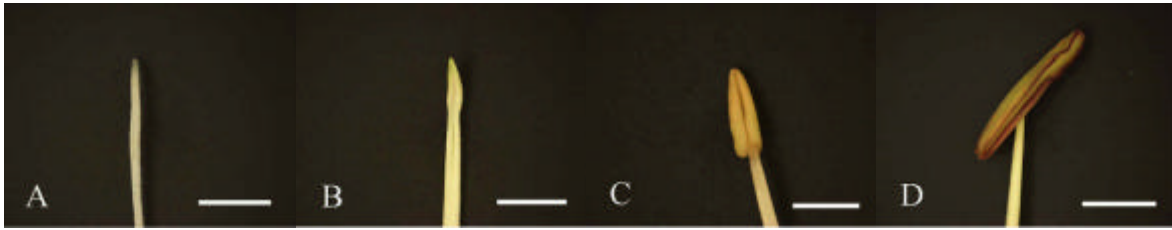


Fig.2-1A-D: Phenotypes of stamens without formation of pollen. A: antherless stamens; Stamens without intact or malformed anthers. B: undeveloped anthers; The tips of filaments shady yellowish malformed anthers. C: immature anthers; Anthers develop, but has not pollen grains. D: dehiscent anthers without pollen; Anthers dehiscence with no pollen grains. (Bar=5mm).

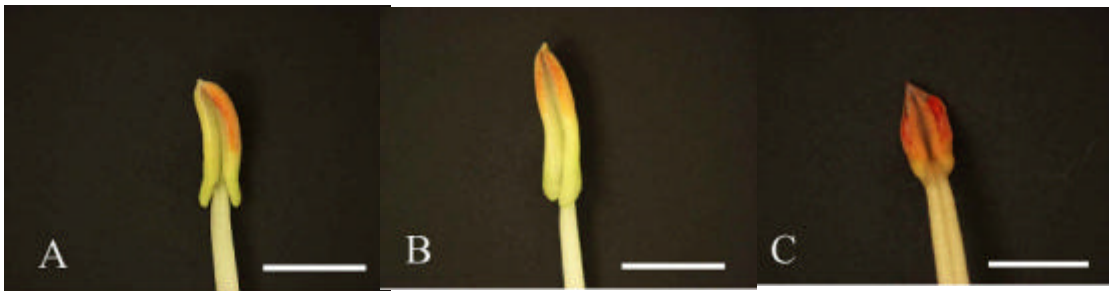


Fig.2-2.A-C: Phenotypes of anthers with pollen grains. A: indehiscent anthers; A part of one anther locule of an anther colored orange. B: indehiscent anthers; Upper part of anthers colored orange. C: intact anthers; Dehiscent short anthers with pollen release. (Bar=5mm).



Fig.2-3.A-C: Cross section of male-sterile anthers. A: immature anthers; Anther locules devoid of pollen grains. B: indehiscent anthers; A part of an anther locule contained pollen grains. C: dehiscent anthers without pollen; Anther walls developed fully and contained no pollen grains dehiscenced. (Bar=0.2mm).



### 3 アジアティックハイブリッドヨリ雄性不稔の稔性回復を誘導する環境条件の解明

#### 3-1 高温に反応するアジアティックハイブリッドヨリの温度感応性雄性不稔品種における葯の回復

(1)はじめに

日本にはヨリ属の15種が自生しているが、1970年代以前はヨリの育種はあまり行われてこなかった(Asano and Myodo 1977a)。日本では野生種そのものの鑑賞価値が高く、山野から採取して鑑賞に供していたため、ほとんど品種改良はなされてこなかった。しかしながら、柴田(2002)は無花粉を目標に品種改良を行い、アジアティックハイブリッド系ヨリ‘秋田プチホワイト’を育成した。‘秋田プチホワイト’は、花卉の斑点が極めて少ない、白花で無葯の雄ずいが特徴である(Fig. 1A)。

‘秋田プチホワイト’を発表した後に、切り花の周年出荷を目的に促成栽培ならびに抑制栽培において作型適応性を検討したところ、抑制栽培において、400個体中1%以下の極少ない頻度で1本あるいは2本の雄ずいが正常な葯を形成する個体を確認した。圃場において、増殖期間も含めて過去8年間の秋田プチホワイトの栽培試験の中で、季咲き栽培において完全な雄ずい葯を形成する花は観察されたことが無かった。上記の抑制栽培と季咲き栽培の2つの栽培試験を比較すると、2つの環境条件が要因として仮定される。1つは抑制栽培において球根は-2℃による冷凍貯蔵していることであり、もう1つは抑制栽培ではガラス温室において定植が8月下旬と高温の栽培環境であったことである。それらは、雄性不稔性品種‘秋田プチホワイト’の葯の回復において単一の要因かもしれないし、組み合わせられているかもしれない。

*Lilium longiflorum* は50℃のお湯に2分間柱頭を浸すことで、自家不和合性が除去される(Campbell and Linskens 1984)、また蕾長が28-29mmのステージで4~8日間8℃の低温に遭遇すると小孢子形成が強く抑制される(Koike *et al.* 1997)。さらにOhkawa *et al.* (1990)は初期の研究において、アジアティックハイブリッドヨリの2品種のうち1品種において0℃付近の貯蔵は花芽の分化を含めて開花する割合が減少することを明らかにした。他の品種で同ような開花を抑制する効果は見られなかった。このように、ヨリ属において、生殖成長に関する温度の影響に対する入手可能な情報はまだ断片的で制限されている。

雄性不稔は様々な植物で報告されていて不稔性の発現は多くの場合、環境条件に影響される(Kaul 1988)。それらはペチュニア(Izhar 1975, 1977)や十字花科植物(Ogura 1968, Thompson 1972, Shiga 1980,

Polowick and Sawhner 1986)やトマト(Rick and Boynton 1967)のように温度条件であったり、小麦(Murai 2004)やトマト(Sawhney 2004)のように栽培期間の日長条件である。

本試験では、雄性不稔性ヨリ品種の雄ずいの形態形成における温度の影響を検討するために、圃場に定植した植物体を用いて、季咲き栽培における花芽の発達経過を実体顕微鏡を用いて定期的に分裂組織を観察した。また、球根定植後にグロースキャビネットにおいて3つの温度処理区(32/25℃、25/18℃、18/11℃)の下で栽培して植物体の雄ずいの形態的な変化を観察した。さらに回復した葯の花粉の活性と稔性評価を組織化学的な染色と走査型電子顕微鏡を用いて行い、また、他品種との正逆交配により種子生産性を評価した。

(2)材料および方法

試験に用いた植物体

アジアティックハイブリッドヨリ品種‘秋田プチホワイト’は、雄性不稔性で雄ずいには葯の痕跡がない。‘秋田プチホワイト’は、‘アポロ’と‘モンブラン’の2つのアジアティックハイブリッドヨリの市販品種の交配から選抜した品種で、両親品種はどちらも雄ずいは正常な市販品種である(柴田 2002)。選抜系統は、秋田県農業試験場の圃場においてりん片増殖により球根を養成した。圃場は黒ボク土壌である。

花芽発達の観察

‘秋田プチホワイト’の花芽の発達は、2002年11月3日に圃場に定植した球根を掘り上げて、2003年3月3日から5月15日まで11回にわたって観察した。‘秋田プチホワイト’の球根は、養成期間には球根の生育を促進させるために開花後に摘花し、11月3日に圃場に埋めた。試験には球周14~16cmの球根を用いて、それぞれ16.5cm径の素焼き鉢に球根を1球ずつ定植した。定植後、同日に圃場に素焼き鉢のまま埋めて屋外において生育させた。1回の調査では10球ずつ掘り上げて花芽分化を観察した。掘りあげた球根は、外側のりん片を取り除き、分裂組織部分を注意深くピンセットで露出させた。花芽分化の時期と程度は実体顕微鏡(SZX12; Olympus Corp., Tokyo, Japan)で観察した。*Lilium longiflorum*の花芽の発達については、小杉(1942)が報告したが、近年Fukai and Goi(2001)によっても、同様な基準が詳細に示されており、これを本試験においても用いた。

3段階の温度条件における‘秋田プチホワイト’の栽培

‘秋田プチホワイト’の球根は2002年11月3日に球根養成圃場から掘り上げた。30球ずつ直ちに、

湿ったパーミキュライトで満たし、側面に風通しのために小穴を開けたダンボール箱(30cm×22cm×22cm; width×length×height)に入れた。球根は暗黒下1において6週間(11月13日~12月25日)予冷して、12月25日から2で冷凍貯蔵した。2ヶ月間貯蔵した後(2003年2月26日に開始)出芽を促進されるため12の暗黒下で解凍した。均一な生育の球根(出芽長約1.5cm)を選別し、それぞれ1球ずつ素焼き鉢に定植した。素焼き鉢には市販培土(Metro Mix, The Scotts Company, Marysville, OH, USA)と赤玉土を体積重で1:1に混合した床土に1リットル当たり1.5gの市販の肥料(MAGAMP; Hyponex Japan, Corp. Ltd., Osaka, Japan)を混合した。

24個のポットを任意に3つのグループに分けて、それぞれ独立したグロースキャビネット(Kiototoron, Kyoto Ind. Co., Ltd., Tokyo, Japan)に移した。グロースキャビネットは46個の96W蛍光灯(National, Tokyo, Japan)と8個の60W白熱灯(Toshiba, Tokyo, Japan)によって14時間日長に調節した。光強度は鉢上面において $256\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ だった。植物体は3つの温度区で生育させた。それらの温度区は、高温区(32/25)、中温区(25/18)、低温区(18/11)でそれぞれ相対湿度は70%であった。

‘秋田プチホワイト’の回復した薬に形成された花粉の活性と稔性

‘秋田プチホワイト’の回復した薬に形成された花粉を採取後直ちに発芽試験を行った。花粉はBrewbaker and Kwack (1963)によって記述された培地に置床した。その培地の組成は $0.1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\text{ H}_2\text{BO}_3$ ,  $0.3\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\text{ Ca}(\text{NO}_3)_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ,  $0.2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\text{ MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $0.1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\text{ KNO}_3$ ,  $20\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\text{ sugar}$ , and  $8\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\text{ agar}$ であった。花粉粒はカバーガラスの端にこすりつけて寒天固形培地(長さ1cm, 幅1cm, 厚さ0.2cm)の1片に置床した。スライドガラスに3片の固形培地をおき、湿度がほぼ100%になるようにシャーレの中においた。シャーレは23で24時間暗黒下においた。寒天固形培地に置床した花粉粒は光学顕微鏡(BX-50; Olympus Corp., Tokyo, Japan)で200倍で観察した。花粉粒の直径よりも長い花粉管を伸長した花粉を発芽したと考えた。1回の観察において少なくとも100個の花粉を観察した。発芽率は、試験に用いた全花粉粒数に対する発芽した花粉粒数のパーセンテージで示した。3反復による平均で示した。

花粉の稔性調査では、開花当日の薬を採取して380~400の花粉粒を3回、ラクトフェノールコットンブルー(Vasek 1960)で染色して光学顕微鏡で観察した。さらに280~360の花粉粒の核をMiyoshi(1995)が示したようDAPI(4',6-diamidino-2-phenylindole;  $2\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ )の水溶液で染色して、励起フィルター

(BP330, 385)と吸収フィルター(BA420)を装備した蛍光顕微鏡(BX-50; Olympus Corp., Tokyo, Japan)により核観察を行った。またアジアティックハイブリッドコリ品種‘モナ’‘小田切黄透かし’‘越後透かし’の3品種とそれぞれ3花ずつ交配して花粉稔性を調査した。形成されたさく果の正常な種子数を計測した。さらに新鮮な花粉粒をカーボン蒸着して花粉の表面構造を走査型電子顕微鏡(JSM-5900LV; JEOL, Tokyo, Japan)によって観察した。

### (3) 結果

0付近での貯蔵前後には花芽分化を開始した球根はなかった。圃場において、出芽を開始した3月30日はまだ積雪下であって、花芽分化した球根はなかった(Table 3-1-1)。4月25日に出芽長が約6cmに伸長した時に初めて花芽分化を確認し、10球のうち6球が花芽分化のステージ3(predifferentiation)であった。花器の分化と発達には花芽分化の開始から3週間以内に完成した(Table 3-1-1)。4月20日に出蕾を確認し、6月23日から6月28日の間に開花した。このように、花芽の分化と発達の点において‘秋田プチホワイト’の花芽分化タイプは花芽分化が茎の伸長した後に開始するため、Ohkawa(1989)による分類では2-aタイプに属する。

グロースキャビネットの高温区(32/25)では、開花が早く4月29日から5月1日に開花した。中温区(25/18)と低温区(18/11)の開花はそれぞれ5月7日から9日と5月22日と24日と高温区よりも遅れた。高温区において花芽が途中で壊死する‘プラスチック’(Van Tuyl *et al.* 1985)と呼ばれる花芽発達異常が8株中3株に生じた。残りの5株全ての小花の全ての雄ずいにおいて正常な薬が観察された(Table 3-1-2)。回復した薬は開花し花粉は露出した。中温区では、全ての花糸の先端が黄色く着色し、湾曲し膨れた。この薬をこの章ではundeveloped antherと称する。低温区では、正常な薬やundeveloped antherのような薬は生じないで、全てが薬のない雄ずいであった。

### 回復した花粉の人工培地における発芽と種子形成能力

‘秋田プチホワイト’の高温区の栽培で回復した花粉粒を固形寒天培地での24時間後の発芽率は58.6%であった(Fig. 3-1-2A)。「秋田プチホワイト」の親品種で通常の雄ずいを有する‘アポロ’の同培地での発芽率は80%以上であった。さらに‘秋田プチホワイト’の回復した花粉はラクトフェノールコットンブルー染色では約70%が染色された(Table 3-1-3)。DAPI染色では蛍光顕微鏡により65%の花粉粒にいて精核, 栄養核を確認した(Fig. 3-1-2B)。「秋田プチホワイト

と‘モナ’、小田切黄透かし、越後透かしとそれぞれ3個の小花の交配により、3個のさく果が形成された。1個のさく果にはそれぞれ96個から113個の成熟した種子が形成された。走査型電子顕微鏡観察では、花粉粒の表面構造はコリ属特有の網目状構造(岩波 1980)を確認した。

#### (4) 考察

雄性不稔性品種‘秋田プチホワイト’は定植までに球根冷凍貯蔵して、抑制作型で栽培すると正常な葯が予期せずに回復した。5月に出蕾するまでに0 付近で貯蔵する前後に球根の生長を観察した結果、‘秋田プチホワイト’花芽は茎の伸長中に分化することが明らかになった(Table 3-1-1)。冷凍球根を用いてグロースキャビネットでの低温区での栽培において開花した花において雄ずいに葯は形成されなかった(Table 3-1-2)。

‘秋田プチホワイト’の球根を2 日の冷蔵処理後に高温区(32/25 )と低温区(18/11 )において生育させると高温区では雄ずいに葯が回復し、低温区では葯が回復しなかった(データ未掲載)。また、2003年の季咲き栽培において、2万株の‘秋田プチホワイト’のなかで、原因不明の生育不良のため開花が通常よりも3週間程度遅れ、花芽分化期に高温遭遇したと思われる3株において雄ずいに葯が形成された(データ未掲載)。このように冷凍処理は、‘秋田プチホワイト’の雄ずいの形態形成に対して何も刺激しないで、生育中の温度環境が雄ずいの形態形成に影響を及ぼすと推察される。

‘秋田プチホワイト’の雄性不稔は、温度に反応して3種類のパターンを示した。高温区と低温区とでは雄ずいの形態形成に対して正反対の効果があつた(Table 3-1-2)。高温区では開花した花の雄ずい全てが正常な葯を回復したが、低温区では正常な葯や未発達葯は観察されなかった。中温区では花粉粒を含まない未発達葯が花糸の先端に形成された(Fig. 3-1-1D)。中温区における‘秋田プチホワイト’の不完全に回復した雄ずいは、花糸の先端が膨らむ花糸様の構造になっている *Arabidopsis* の突然変異体 *undeveloped anther* とほぼ同じである。時々(そのような雄ずいの5%以下の確率で)この突然変異体の未発達葯は膨らんだ先端に代わりに機能的な花粉粒を含む葯様の異常な雄ずいを発達させる(Sanders et al. 1999)。Yamagishi (2003)は、アジアティックハイブリッドコリで *pollenless* の突然変異体を報告した。その関連した表現型は中温区で栽培した‘秋田プチホワイト’の未発達葯に対してほとんど同じである。アジアティックハイブリッドコリの *pollenless* の突然変異体の花糸の先端には通常花粉粒は含まれていない。この突然変異体は、開花後半に時折、未成熟

なオレンジ色の花粉粒を発達させる。このことに対して、この突然変異体の葯と花粉の発達に対して温度のような環境条件の影響が指摘されている。

本試験では、グロースキャビネットにおいて、3区の温度処理区で‘秋田プチホワイト’を栽培した。ガラス温室においては、秋に‘秋田プチホワイト’の雄ずいに正常な葯が形成された栽培期間の日中の最高温度は32 であった。高温条件の短い期間がこの品種の花芽分化と発達の期間に葯の回復に促進的な影響を与えたかもしれない。葯を回復するための高温処理の期間と時期や高温区(32/25 )と中温区(25/18 )の間の温度に対するさらなる実験が期待される。

雄性不稔の稔性回復に対する温度感受性は植物種により、また同じ種でも品種によって異なっている。異なる温度による稔性回復の程度は32.5%(Viraktamath and Virmani 2001)から91%(Maruyama et al. 1991)までイネで広範囲に報告されている。イネの2つの不稔性系統では稔性回復に対する温度で反応が異なることが報告されていて(Viraktamath and Virmani 2001)、両方の系統の不稔性は32/24 (14/10h)で安定した不稔性を示したが、28/20 では片方の系統は67.5%が稔性であったが、もう片方は完全な不稔性を示した。また27/21 では前者の系統は79.2%が稔性であったが、後者では53.1%が稔性であった。Fan and Stefansson (1986)は、*Brassica napus* の *pol CMS* と *nap CMS* の突然変異体は22/16 (16/8h)で不稔性であったが、26/20 では *pol CMS* は不稔性を維持し、*nap CMS* は部分稔性になり、さらに30/24 のより高い温度では、両系統ともに完全に稔性を回復したと報告している。本試験において、‘秋田プチホワイト’の全ての雄ずいは高温区の栽培により稔性を回復した葯を形成した(Table 3-1-2)。このことは、‘秋田プチホワイト’の雄性不稔の感応性は温度によって強く反応することを示している。

様々な植物種の温度反応性は2つのタイプによると考えられる。1つのタイプは、タマネギ(Barham and Hunger 1950)の29.4 や *Brassica* (Fan and Stefansson 1986)の32 のような高温側で稔性回復するタイプである。アジアティックハイブリッドコリ‘秋田プチホワイト’の稔性回復は32 で起こるので、‘秋田プチホワイト’はこのグループに属する。第2のグループは、イネでの31 以下(Maruyama et al. 1991)や33 以下(sun et al. 1989)の低温側で稔性回復するグループである。30 付近の温度が両方のグループの植物体の分岐点になるかもしれない。共通のメカニズムが両方のグループの雄性不稔の稔性回復を促進するかどうかを決定するためにさらなる実験が必要である。

雄性不稔の稔性回復はイネ(Ku et al. 2001)、トマ

ト (Sawhney 2004)、小麦 (Murai 2004)のように日長でも調節される。‘秋田プチホワイト’の花芽分化と花芽の発達に様々な高温処理の組み合わせの中で、日長が雄性不稔の稔性回復に及ぼす影響について検討加える予定である。

イネのある系統では、温度感応性雄性不稔は単一の劣性遺伝子に支配されている (Marutama *et al.* 1991, Borkakati and Virmani 1996)し、タマネギでは 2,3 の遺伝子に支配されている (Marham and Hunger 1950)。Van Marrewijk (1969) は、ペチュニアの CMS の稔性回復には少なくとも3つの遺伝子、すなわち、主動遺伝子の  $Rf_1$ 、補助遺伝子の  $mf$ 、そして  $Rf_2$  として言及されている単一遺伝子が複合遺伝子が関連していると述べている。この CMS システムにおける温度反応不稔性の発現の程度の違いは、ミトコンドリアゲノムと推定上の回復遺伝子との間の相互作用により促進されたかもしれない。ユリの雄性不稔の遺伝の詳細はユリ品種が異型接合によることや環境条件に感応するなどにより雄性不稔の発現が時折不安定であることから未だに断片的である。ユリの雄性不稔個体の自然発生はいくつかの品種の交配から得られることが報告されている (Van der Muelen-Muisers *et al.* 1999)。Yamagishi (2003) は、初期の研究で用いた雄性不稔の系統の雑種には、いくつかの細胞質遺伝子が雄性不稔に含まれていると仮定している。現在、他のアジアティックユリ品種と‘秋

田プチホワイト’とで相互交配を行うことで、‘秋田プチホワイト’の温度感応性雄性不稔の遺伝モデルを明確にする実験を進行中である。さらに後代の雄性不稔の温度感応性はいくつかの温度条件で検討する予定である。

‘秋田プチホワイト’の葯の回復は2つの段階に分けることができる。第1段階は葯の分化が回復する段階であり、これは中温と高温によって到達することができて、その結果、花糸の膨らんだ先端に黄色く着色した未発達の葯を形成することである。第2段階は、第1段階から継続する高温による未発達の葯の成熟や機能的な花粉粒の形成の促進である。このモデルは、‘秋田プチホワイト’の温度感受性雄性不稔の遺伝を決定するさらなる試験で評価されるであろう。

切り花の花持ちは園芸特性の中で最も重要な特性の一つであり、高温での栽培は植物の中の貯蔵された炭水化物の減少を引き起こすため、花持ちがより短くなる (Koyama and Uda 1994, Ichimura and Hiramatsu 1999)。しかしながら、実際、切り花の花持ちは栽培期間に判断することは難しい。‘秋田プチホワイト’の雄性不稔は、温度感応性であり葯がないことはより涼しい条件で栽培した明確な証拠になり、花持ちの期間が長い商品である可能性を示す。

Table 3-1-1. Initiation and development of flowers of the Asiatic hybrid lily 'Akita Petit White', which were grown in the field.

Date	Shoot length (cm)	Deveropmental stage of flowers (see below)						
		1	2	3	4	5	6	7
Mar 3	0	10						
Mar 14	0	10						
Mar 20	0	10						
Mar 25	0	10						
Mar 30	0.3	10						
Apr 10	2.2	10						
Apr 15	3.8	10						
Apr 25	6.3		2	6	2			
May 1	8.0				4	4	2	
May 5	9.9					1	5	4
May 15	14.4							10

1, Undifferentiated; 2, initial primordium visible; 3, predifferentiation; 4, outer perianth developed; 5, inner perianth developed; 6, stamen developed; 7, pistils Ten bulbs each were collected for each time point.

Table 3-1-2. Restoration of stamens in the Asiatic hybrid lily 'Akita Petit White' after growth under three different temperature regimes.

Temperature (°C)	Number of plants grown	Number of plants flowered	Average number of flowers per plant	Total number of flowers	Total number of flowers with intact anthers	Total number of flowers with undeveloped anthers	Total number of stamens	Total number of stamens with intact anthers	Total number of stamens with undeveloped anthers
18/11	8	8	9.3±0.3a	74	0	0	444	0	0
25/18	8	8	8.1±0.4a	65	0	65	390	0	390
32/25	8	5	4.4±1.1b	22	22	0	132	132	0

Different letters within columns indicate a significant difference at P<0.05 by Tukey's test.

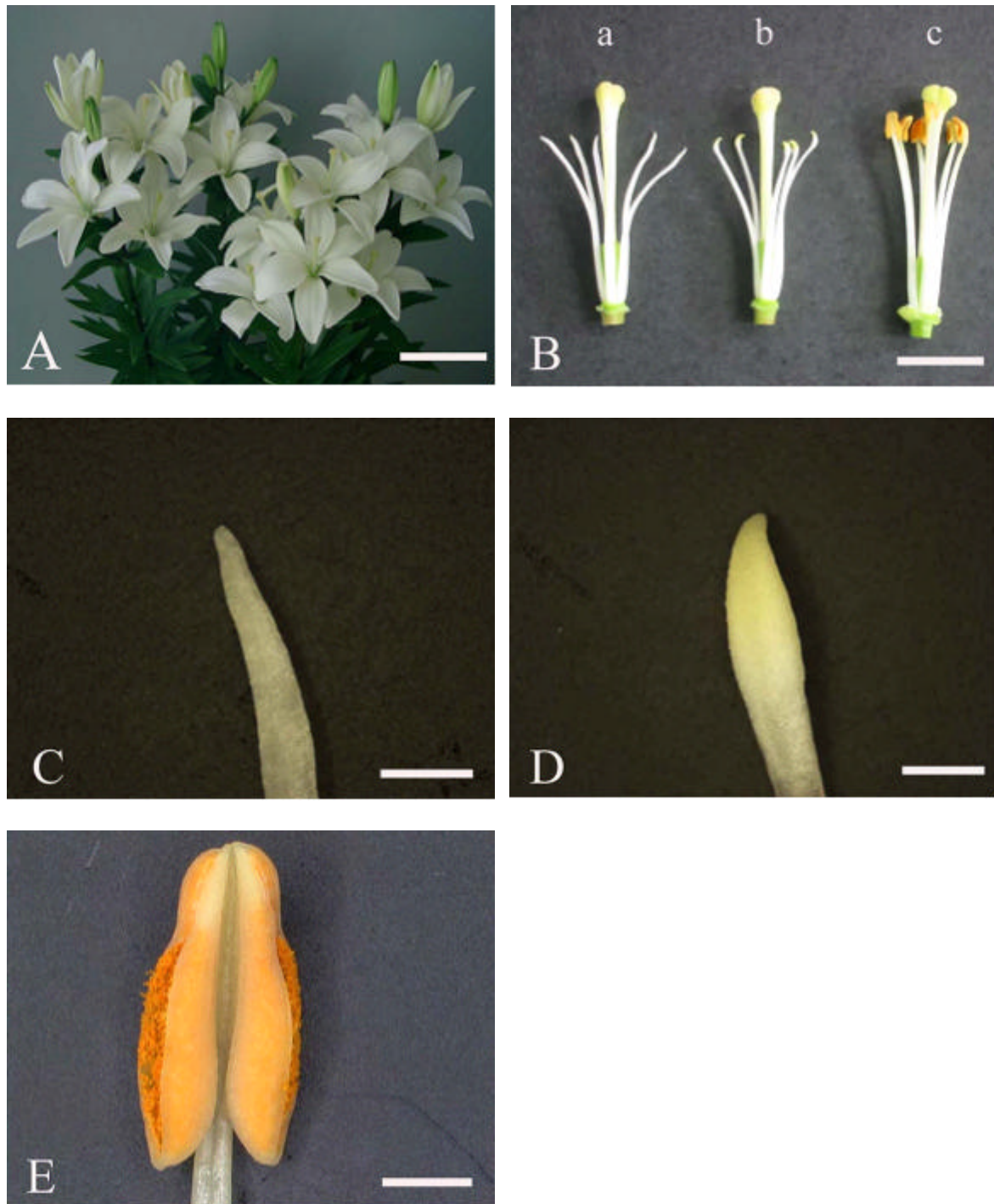
Flower buds of three plants among the eight grown at 32/25°C aborted.

Table 3-1-3. Frequencies of germination and stainability of pollen grains from restored intact anthers of the Asiatic hybrid lily APW after growth at 32/25 and of pollen grains of the parental cultivar 'Apollo'.

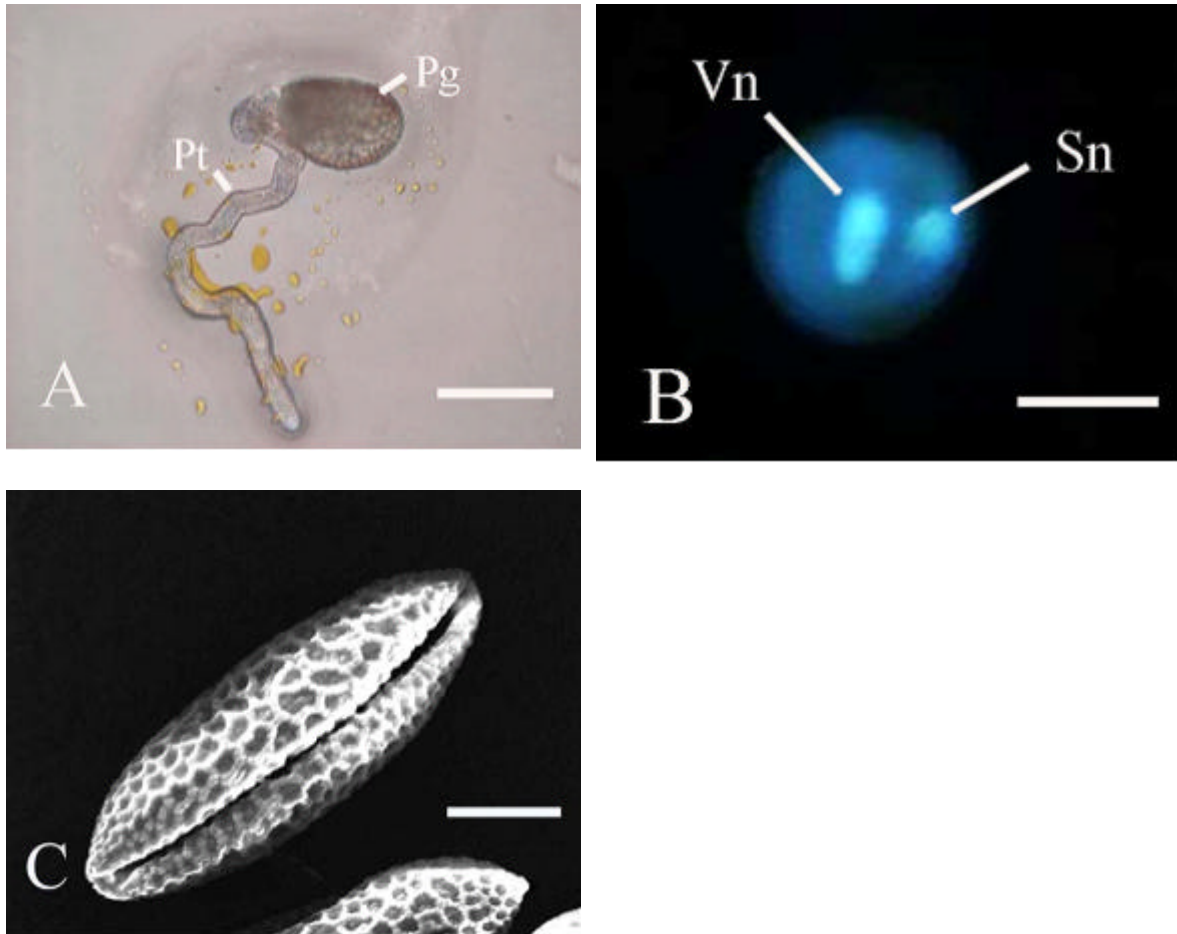
Cultivar	Germination (%)	Lactic phenol stainability (%)	DAPI stainability (%)
Akita Petit White	58.6±1.8a	69.3±2.8a	65.5±3.5a
Apollo	81.7±2.4b	82.5±1.5b	90.1±1.1b

Different letters within columns indicate a significant difference at P < 0.05 by Tukey's test.

See text for details.



**Fig.3-1-1.** A. The Asiatic hybrid lily cultivar 'Akita Petit White' in bloom. Bar=5cm. B. Stamens of 'Akita Petit White' after growth under each temperature regime (perianths were removed). (a) Stamens without anthers after growth at 18/11°C. (b) Stamens with undeveloped anther after growth at 25/18°C; the tip of filament was yellowish, swollen and curved. (c) Restored intact anthers with functional pollen grains after growth at 32/25°C. Bar=1cm. C. Magnified view of the tip of filament after growth at 18/11°C. Bar=0.1cm. D. Magnified view of the tip of filament after growth at 25/18°C. Bar=0.1cm. E. Magnified view of an intact anther after growth at 32/25°C. Bar=0.1cm.



**Fig.3-1-2.** Pollen grains collected from restored intact anthers after growth under high-temperature conditions. **A.** Germinated pollen with pollen tube, after culture on agar-solidified medium for 24h. Bar=100  $\mu\text{m}$ . *Pt*, Pollen tube; *Pg*, pollen grain. **B.** DAPI-stained pollen grain with two nuclei. Bar=50  $\mu\text{m}$ . *Vn*, Vegetative nucleus; *Sn*, sperm nucleus. **C.** Reticulated pattern on the surface of a pollen grain with a split germ pore. The pollen was collected from a restored anther and examined under a scanning electron microscope. Bar=20  $\mu\text{m}$ .

### 3-2 球根の長期貯蔵条件が稔性回復に及ぼす影響

#### (1)はじめに

アジアティックハイブリッドユリの栽培においては、周年的な生産拡大のため、低温貯蔵した球根を用いる促成栽培および凍結保存した球根を用いて栽培する抑制栽培のように球根を長期間貯蔵して、目的とする出荷期に合わせる栽培法が普及している。そこで、‘秋田プチホワイト’の抑制栽培における作型適応性を検討するために、球根を9ヶ月間-2℃で冷凍貯蔵し、8月下旬にガラス温室に定植したところ、400個体中1%以下の極少ない頻度であるが‘秋田プチホワイト’の雄性不稔の雄ずいの特性である antherless stamens ではなく、葯が回復し、花粉が形成される正常な intact anthers の表現型をもつ雄ずいが確認された。選抜期間の8年間の栽培試験の中では、葯を形成する雄ずいは確認されなかった。育成過程における季咲き栽培と葯が回復した抑制栽培の2つの栽培法を比較すると、球根の凍結処理と栽培時期の高温による2つの要因が葯の回復形成に対して関連があるかもしれないと仮定された。

前節において、アジアティックハイブリッドユリ雄性不稔品種‘秋田プチホワイト’の花芽分化は秋植えの季咲き栽培では、翌春、出芽が伸長した後に花芽分化が発達するタイプで大川の分類(Ohkawa1989)による2-aタイプであることを明らかにした。このため‘秋田プチホワイト’は球根貯蔵中に花芽分化が進行しないので、球根の凍結処理は葯を回復する要因として可能性は低いと考えられた。また、‘秋田プチホワイト’の葯の表現型は、高温条件(32/25℃)では intact anthers で、低温条件(18/11℃)では antherless stamens に発現することを明らかにした。しかしながら、生育段階でどの時期に温度感応するのかがまだ明らかになっていない。志賀・馬場(1973)は、*Brassica napus* L. の細胞質雄性不稔系統において、葯の発育阻害が花芽分化発達期の心皮分化期と雄性胞原細胞分化期との間に誘導されると推察している。

ユリの稔性回復において、Yamagishi(2003)は選抜した雄性不稔性系統について、季咲き栽培において、開花期の後半に葯が回復することを確認している。‘秋田プチホワイト’では、冷凍球根を用いた抑制作型では、葯形成の回復が確認されているが、秋植えの季咲き作型および冷蔵球根を用いた促成作型においては、葯の形成回復が確認されていない。

アジアティックハイブリッドユリの商業生産においては、球根を冷蔵貯蔵あるいは冷凍貯蔵し、開花調節する技術が一般的に普及している。このため本節では、冷蔵あるいは冷凍処理した球根における解凍後の花芽分化過程を観察し、長期貯蔵が花芽分化に及ぼ

す影響について検討する。

#### (2)材料および方法

##### 球根凍結貯蔵における花芽発達過程

2002年11月3日に掘り取った‘秋田プチホワイト’の球根を球周12~14cmに選別後、30cm(幅)×22cm(長さ)×30cm(高さ)のダンボール箱に入れて-2℃で冷凍貯蔵した。球根の冷凍は、6週間(2002年11月13日から2002年12月25日)、暗黒下1℃で予冷した後、-2℃で冷凍貯蔵した。冷凍貯蔵した球根を、2003年11月1日から5℃で10日間解凍した。解凍後11月11日に径13.5cmの白色プラスチック鉢に3球ずつ計33(99球)鉢に定植して、温度32/25℃、日長時間14時間、相対湿度70%に調節したグロースキャビネット(Koitotoron, Kyoto Ind. Co., Ltd., Tokyo, Japan)で栽培した。光源は白色蛍光灯で、光強度は鉢上面で256 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ であった。冷凍球根の花芽分化は定植4日後(2003年11月15日)から28日(11月28日)後まで毎日2鉢(6球)ずつ計28鉢(84球)の花芽分化を調査した。花芽観察においては、外側の鱗片をはぎ取った後、ピンセットで分裂組織を注意深く露出させた。花芽発達過程の時期と程度は、実体顕微鏡(SZX12; Olympus Corp., Tokyo, Japan)で調査した。花芽発達過程の程度は、テッポウユリで小杉(1942)、Fukai and Goi (2001)で示された花芽分化の基準を用いた。

残りの5鉢(15球)は、開花まで人工気象器で生育させ、花器の形成を観察した。

##### 球根冷蔵貯蔵における葯の形成

2002年11月3日に掘り取った‘秋田プチホワイト’の球根を球周12~14cmに選別後、30cm(幅)×22cm(長さ)×30cm(高さ)のダンボール箱に入れて暗黒下2℃で冷蔵貯蔵した。2003年2月3日に径13.5cmの白色プラスチック鉢に3球ずつ計34鉢(102球)に定植した。温度を高温区(32/25℃)と低温区(18/11℃)に調節し、日長時間14時間、相対湿度70%に調節した2台のグロースキャビネット(Kiototoron, Kyoto Ind. Co., Ltd., Tokyo, Japan)にそれぞれ17鉢ずつ入れて栽培し、開花期の生育と葯の表現型について調査した。

##### 季咲き栽培における葯の表現型の変化

2003年10月25日に露地球根養成圃場から掘り取った‘秋田プチホワイト’の球根で、球周8cm以下の小型の球根(約6,000球)について、さらに1年球根養成を行うため、同年11月10日に露地圃場に定植した。2004年6月20日~6月30日までにほぼ一斉に開花期を迎えた。球根の肥大を促進させるために、7月1日に一斉に全ての蕾を摘蕾する際に開花した全ての小花の葯の形成状況を観察した。そのうち3株



が生育不良等で、蕾の形成が遅れたために摘蕾しなかった。それらは開花期が3週間ほど遅れ、7月20日前後に開花した。開花した際にそれらの葯の形成状況を調査した。

### (3) 結果

#### 球根凍結貯蔵における花芽発達過程

冷凍球根を解凍10日後の定植時点(2003年11月11日)には、花芽分化は観察されなかった(データ未掲載)。定植後直ちに伸長を開始し、定植4日後には、平均出芽長が3.4cmに達した。この時点では、花芽分化は観察されなかった。定植6日後の11月17日には平均出芽長が4.3cmに達して、調査した6個体のうち4個体が花芽分化を開始し、4個体中1個体においては外花被形成期まで達していた。定植8日後の11月19日には平均出芽長が4.7cmで6個体中1個体が雄ずい形成期まで達していた。さらに定植12日後の11月22日には平均出芽長が6.7cmで6個体中3個体が雌ずい形成期に達していた。定植16日後の11月27日には平均出芽長が8.9cmで、全ての個体で肉眼による出蕾を確認した(Table 3-2-1)。定植後の生育速度に個体差があったため、花芽の発達段階に幅がでたが、花芽の発達は早く、毎日発達段階が推移した(Fig.3-2-1A-D)。

開花は2004年1月10日から順次開始し、全ての個体の全ての小花はintact anthersの表現型を持つ雄ずいを形成した(データ未掲載)。

#### 温度処理区による雄ずいの形態的变化

低温区で形成した花芽分化発達段階における雌ずい分化期の雄ずい(Fig.3-2-2A)は、高温区で形成した雌ずい分化期の雄ずい(Fig.3-2-2B)に比べて細長く、先端が尖っていた。高温期の雄ずいの向軸面には、葯のうと思われる膨らみが認められた(Fig.3-2-2D)が、低温区の雄ずいの向軸面には葯のうと思われる膨らみは認められなかった(Fig.3-2-2C)。

#### 球根冷蔵貯蔵における葯の形成

冷蔵貯蔵した球根は、冷蔵庫から取り出した当日に定植したため、定植日には芽の伸長はなかった(データ未掲載)。定植65日後の2003年4月9日から順次開花した。生育においては、低温区(18/11)のほうが高温区(32/25)よりも草丈が長くなり、輪数も増加した。葯の表現型では、高温区(32/25)で開花した個体は全ての小花で正常な葯の表現型intact antherが回復し、低温区(18/11)では、全ての小花でantherless stamenの表現型が発現した(Table3-2-2)。

#### 季咲き栽培における雄ずいの表現型の変化

7月1日に一斉に摘蕾した個体の開花した小花については、全て葯の形成はなかった(データ未掲載)。3週間程度開花が遅れた3個体については、それぞれ3輪~5輪が開花したが、その中でそれぞれ1輪~2輪に葯の回復が見られた。しかもその中で、6本の全ての雄ずいが葯を回復した小花はなく、数本の雄ずいにおいて葯が回復した(Fig.3-2-3)。

### (4) 考察

アジアティックハイブリッドコリの花芽分化は、Ohkawa *et al.* (1990)が品種、系統により、出芽前に球根内で花芽分化するタイプがあることを報告している。‘秋田プチホワイト’のantherless stamensの表現型の雄葯ずいが冷凍球根を用いた8月下旬定植の抑制作型で極めて少ない頻度であったが、intact anthersの表現型の雄ずいに变化したことが観察された。このことから栽培期間中の温度の影響とともに冷凍期間中の低温が花芽分化に何らかの影響を与えたことが考えられたが、花芽分化発達過程の観察から、‘秋田プチホワイト’の花芽分化は自然状態(本報告2-2)、貯蔵球根のいずれも、冷凍前および冷凍、冷蔵期間中に発達しないで芽が伸長してから発達することから、低温貯蔵中に花芽に影響を与えることは少ないと考えられた。また、前年秋に圃場に定植した季咲き栽培において、開花期が遅れると極めて小さい頻度であるが、葯の回復が確認された。Yamagishi(2003)の雄性不稔系統においても季咲き栽培で開花期の後半に未熟な花粉を形成する葯が回復することが指摘されている。さらに本報告2-2により、冷凍球根を用いた栽培において高温区(32/25)では、intact anthersが形成され、低温区(18/11)ではantherless stamensが発現した。本試験により冷蔵貯蔵においても、低温区(18/11)ではantherless stamensが発現し、高温区(32/25)ではintact antherの形成が確認された。このことから球根の貯蔵法における低温、凍結処理は葯回復における要因としての可能性は低いと思われる。

花芽分化の発達段階は、秋植え球根の自然状態では、花芽分化開始から出蕾まで、約20日間を要した(本報告3-1)が、冷凍球根を用いる作型においては花芽分化開始から出蕾まで約10日と短かった。このことから、冷凍球根は、解凍後急速に花芽分化が促進されるものと思われる。

花芽分化期における雄ずいの形態を実体顕微鏡で観察すると、高温区で形成される雄ずいは、雌ずい分化期には既に葯のうと思われる膨らみを形成した(Fig.3-2-2D)。これに対して低温区で形成される雄ずいは、同じ雌ずい分化期に、葯のうと思われる膨らみが観察されなかった(Fig. 3-2-2C)。内花被形成期までの花芽発達については、低温区と高温区では同じよう

な花芽分化の形態を示した。そのため、葯の形成に対して高温に反応する時期は、花芽分化期の雌ずい分化期にはすでに決定されていると思われる。志賀・馬場(1973)は、*Brassica napus* L. の細胞質雄性不稔系統において、葯の発育阻害が花芽分化発達期の心皮分化期と雄性胞原細胞分化期との間に誘導されると推察しているが、本試験において、アジアティックハ

イブリッド雄性不稔品種の葯の形成回復が雌ずい分化期には誘導されていると推察できることから、雌ずいの分化が始まり、発達するまでの雌ずい分化期と雌ずい分化期の間が、雄性不稔性に対して生理的に葯の発育に影響を与えらると思われる。

Table 3-2-1. The initiation and development of floral elements of the Asiatic hybrid lily 'Akita Petit White', which were grown from the bulbs that had been stored under sub zero temperatures.

Date of collection	Number of days after planting (day)	Shoot length (cm)	Developmental stage of flowers *								
			1	2	3	4	5	6	7	8	
Year 2003											
Nov. 15	14	3.4	6								
Nov. 16	15	3.0	6								
Nov. 17	16	4.3	2	1	1	2					
Nov. 18	17	4.3	1	1	1	2	1				
Nov. 19	18	4.7				1	1	4			
Nov. 20	19	5.8				1		5			
Nov. 21	20	5.4		1		1		4			
Nov. 22	21	6.7		1				2	3		
Nov. 23	22	6.3						1	2	3	
Nov. 24	23	7.5							3	3	
Nov. 25	24	8.1						1	5		
Nov. 26	25	8.7								3	3
Nov. 27	26	8.9									6
Nov. 28	27	10.2									6

\* 1, undifferentiated; 2, initial primordium visible; 3, predifferentiation; 4, outer perianth developed; 5, inner Six bulbs each were collected for each time point.

Table 3-2-2. The effects of temperature on the restoration of anthers and the growth in an Asiatic hybrid lily 'Akita Petit White' which had been grown from the bulbs that had been stored at 5 .

date of planting	Temperature	Shoot length	Number of leaves	Number of flower buds	Frequencies of male-fertile flowers	Phenotype of anther
	( )	(cm)			(%)	
Feb. 3	32/25	46.5	72.1	6.2	100	intact anther
	18/11	53.3	73.8	9.2	0	antherless stamen

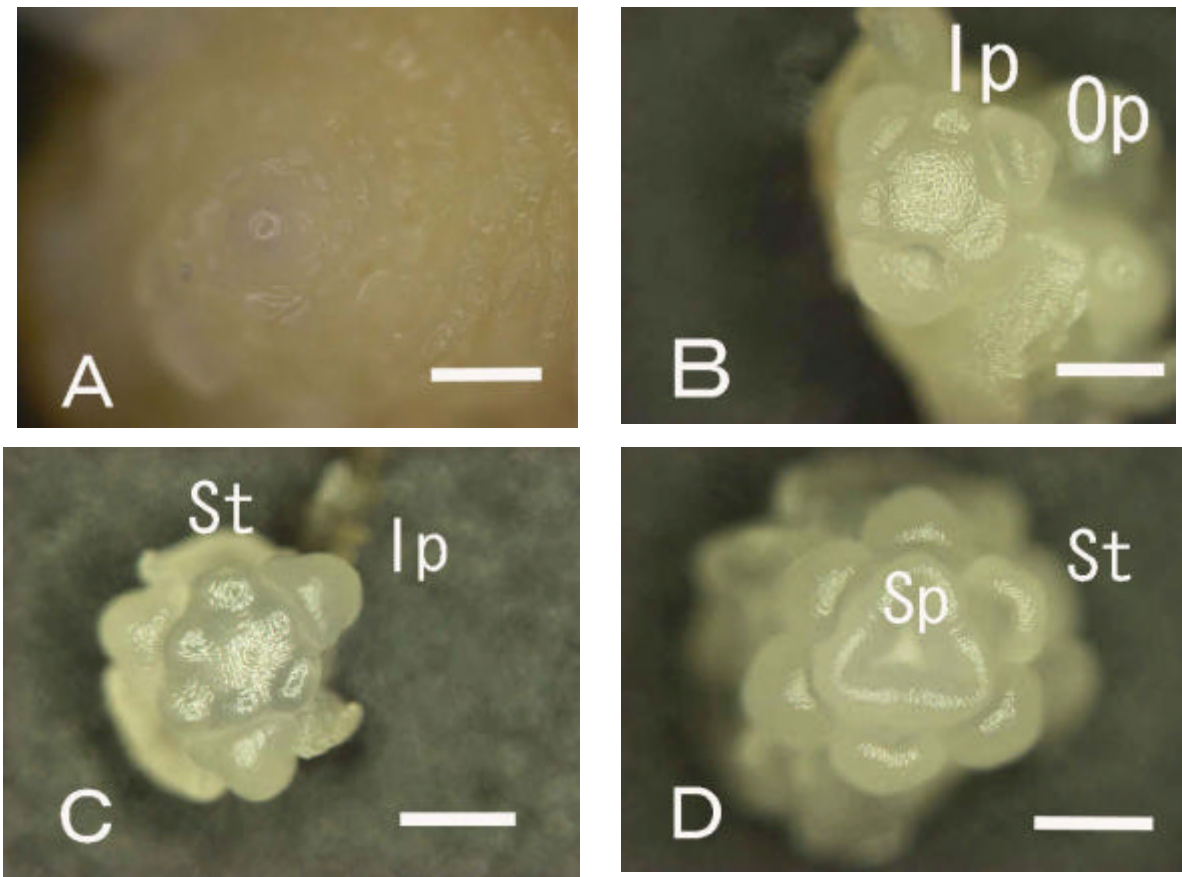


Fig.3-2-1A-D. Initiation and development of flowers of the Asiatic hybrid lily 'Akita Petit White', which were grown under growth cabinet (32/25 °C) and observed under stereomicroscopy. A: Initiation of primordium. B: predifferentiation. C: developed stamen. D: developed pistil. Ip; Inner perianth. Op; Outer perianth. Sp; pistil. St; Stamen. (Bar=0.5mm).

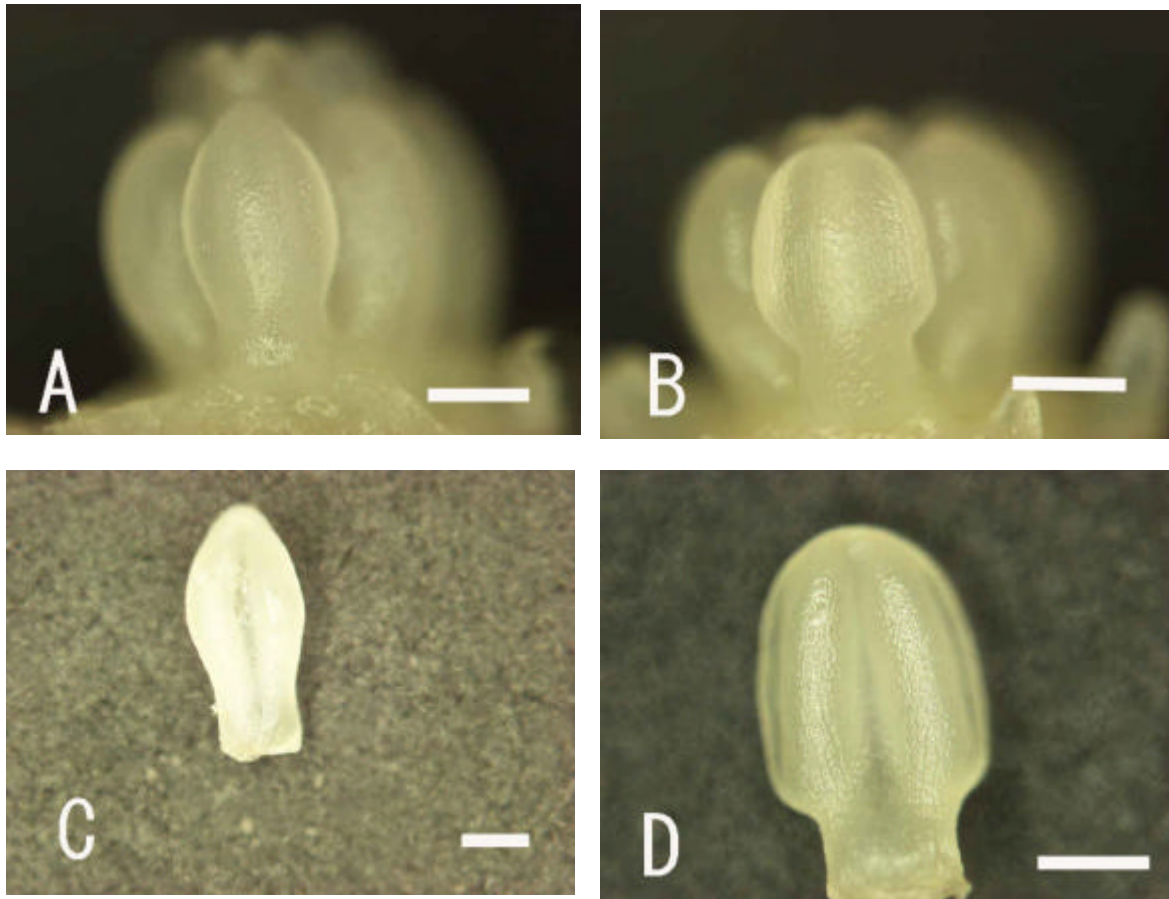


Fig.3-2-2. A-D.Characteristics ofstamensatthestageofpistildevelopment,whichweregrownunderhigh temperaturecondition (32/25 )aswellaslowtemperature (18/11 ) conditions. A:Dorsalsideof stamen underlowtemperaturecondition.(Bar=0.2mm).B:Dorsalsideofstamenunder high temperaturecondition. (Bar=0.2mm)C: Ventralsideofstamenunderlowtemperaturecondition. (Bar=0.1mm).D: Ventral sideofstamenunderhightemperaturecondition.(Bar=0.1mm).



Fig.3-2-3.Arestoredanthersinaflowerwhichbloomedexceptionallyinthelateof flowering season on a plant grownin thefield.Oneinsixstamenswasindehiscentantherandotherstamenswereimmature anthers.

### 3-3 稔性回復と花器形成に及ぼす日長条件

#### (1)はじめに

本研究ではこれまでに、アジアティックハイブリッドユリの雄性不稔品種‘秋田プチホワイト’（柴田 2002）は栽培期間中の温度が 32/25、日長時間が 14 時間の環境条件において雄ずいの表現型が antherlessstamen から intact anther に変化したうえに、花粉稔性も回復する温度感応性雄性不稔品種であることを明らかにした。

環境条件によって雄性不稔性が稔性回復する環境感応性雄性不稔において、稔性回復する要因には、自然環境の中では温度の他に日長の作用がある (Kaul *et al.* 1988)。これまでに、日長によって稔性回復する作物には小麦 (Murai 1993, 2004)、トマト (Sawhney 2004)、イネ (Shi 1986, He *et al.* 1999) などが報告されて、特に小麦の農林 26 号の雄性不稔系統では、14.5 時間以下は稔性になるが、15 時間以上では不稔性になるように日長時間において非常に敏感な反応をすることがある (Murai1993)。

ユリの切り花栽培は、冷凍球根を用いることにより周年生産が図られていて、栽培期間の環境条件では、温度とともに日長時間も変動する。そこで、本節では、雄性不稔ユリ品種において日長時間が花器形成及び稔性回復に与える影響について検討する。

#### (2)材料および方法

供試品種は、雄性不稔ユリの 2 品種、すなわちアジアティックハイブリッドユリ品種で白花の‘秋田プチホワイト’とオリエンタルハイブリッドユリ品種で桃色花色の‘ティアラ’の 2 品種を用いた。‘ティアラ’は、オリエンタルハイブリッド雄性不稔ユリ品種で雄ずいは葯が分化、発達し、開葯するが、葯のうに花粉が形成しない表現型を示す dehiscent anthers without pollen の雄性不稔品種である。試験に用いた球根については‘秋田プチホワイト’は、秋田県農業試験場で球根養成した球根を用いて、‘ティアラ’は民間種苗業者を通じて、冷凍球根を購入した。

‘秋田プチホワイト’の球根は、2003 年 11 月 7 日に露地圃場から掘り上げて、球周 12 ~ 14cm に選別した球根を第 2 章第 2 節の方法と同様な方法で冷凍した。2004 年 9 月 7 日から 5 ~ 10 日間解凍して、出芽長が約 3cm に伸長した球根を 9 月 17 日に径 12cm のプラスチック鉢に 1 球ずつ定植し、グロースキャビネットに入れた。グロースキャビネットは第 2 章第 2 節と同様なグロースキャビネット (Koitoron, Kyoto Ind. Co., Ltd., Tokyo, Japan) を用いた。環境条件は、稔性回復する高温条件下 (32/25) における日長時間による葯の形成を調査するために日長時間を 8 時間、10 時間、12 時間の 3 区に設定して、それ

ぞれ 10 鉢ずつ入れた。光強度は鉢上面において  $256\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  および相対湿度は 70%であった。

さらに、不稔性を発現する低温条件 (18/11) において、日長時間による葯の形成を検討するために、2004 年 11 月 5 日から 10 日間解凍した球根 (球周 12 ~ 14cm) を 11 月 15 日に径 12cm のプラスチック鉢に 1 球ずつ定植し、温度条件を 18/11 に設定し、日長条件をそれぞれ 8 時間、10 時間、12 時間に設定したそれぞれ 3 台のグロースキャビネットに 10 鉢ずつ入れた。

一方‘ティアラ’においては、雄ずいの温度反応を検討するために、2004 年 9 月 10 日に球周 14 ~ 16cm の球根を径 13.5cm のプラスチック鉢に 1 球ずつ定植し、温度条件を 32/25 と 18/11 の 2 区にして、日長時間をそれぞれ 14 時間に調節した 2 台のグロースキャビネットに 7 鉢ずつ入れた。

調査は、葯が形成された処理区においては、開葯前と開葯後の 2 つの時期の葯を用いて葯の切片を作成し、実体顕微鏡 (SZX12; Olympus Corp., Tokyo, Japan) を用いて花粉の形成状況を調査した。日長反応の検討においては、日長時間の違いによる花器の表現型を調査した。

#### (3)結果

アジアティックハイブリッドユリ‘秋田プチホワイト’の日長時間による葯の表現型

高温条件 (32/25) における‘秋田プチホワイト’の生育は、処理区にそれぞれ有意差が認められた。草丈においては 8 時間日長区が 48.9cm で 3 区の中では最も長く、日長時間が長くなるにつれて草丈は短くなった。葉数においては 8 時間日長区が最も多く、日長時間が長くなると葉数が減少したが、10 時間日長区と 12 時間日長区では有意差が認められなかった。輪数は日長時間による有意差は認められなかった (Table 3-3-1)。「秋田プチホワイト」の雄ずいの形成においては、全ての日長時間区において intact anthers が形成された (Table3-3-1, Fig.3-3-1)。

低温条件 (18/11) では、生育においては、高温条件 (32/25) と同様な生育経過を示した (データ未掲載)。雄ずいの形成においては、全ての処理区で antherlessstamens を形成し、雄性不稔性であった。これらのことから、‘秋田プチホワイト’においては日長時間による葯形成の変化は認められなかった。(Table3-3-2)。

オリエンタルハイブリッドユリ‘ティアラ’の日長時間による花器の表現型

オリエンタルハイブリッドユリ品種‘ティアラ’の高温条件 (32/25) における生育では、草丈、輪数においては全ての処理区で有意差は認められなかつ

た。葉数において 12 時間日長区が 10 時間日長区および 8 時間日長区と比べて少なく、有意差が認められた (Table 3-3-3)。雄ずいの形成においては、全ての処理区において葯が形成され、開葯したが花粉粒は認められなかった (Table 3-3-3)。

低温条件 (18/11) では、高温条件 (32/25) と同様な生育経過を示した (データ未掲載)。雄ずいの形成においては全ての処理区で葯を形成し、開葯したが花粉粒は認められなかった (Table 3-3-3)。

‘ティアラ’の葯の花粉粒の形成を確認するため、葯を生そのまま切片を作成し、実体顕微鏡において観察したところ、高温条件 (32/25) における開花前および開花後の葯のうちには花粉粒の形成が確認されなかった (Fig. 3-3-2A-B)。これらのことから、‘ティアラ’において、日長時間の違いによる葯の形成および花粉に形成における変化は認められなかった。

‘ティアラ’の花被片の発達において、高温条件 (32/25) の日長時間の処理区により花型の表現型において明確な変化が示された (Fig. 3-3-3)。すなわち、8 時間日長区においては、外花被片と内花被片ともに長さおよび幅の肥大・発達が未熟で、花被片幅が小さいために花被片の間にすき間があき、花被片の先端は閉じたままで開花することはなかった。柱頭は花被片の間に生じたすき間から伸長し、すき間から伸長できなかった柱頭は、蕾の中で湾曲した。雄ずいの伸長は抑制され、短かった。花被片の着色においては、桃色に着色することなく、白から薄茶色に着色した。10 時間日長区においては、花被片は開花し、花色がピンク色に着色するものの、花被片幅が狭く、すき間のある花型になった。雄ずいの伸長は 8 時間日長区と同様に抑制され短かった。12 時間日長区においては、花被片長、花被片幅、雄ずいがともに発達し、花被片の間にすき間のない正常な花型になった。花色は鮮やかな桃色に着色した。

#### (4) 考 察

‘秋田プチホワイト’の雄性不稔性は、日長時間 14 時間の長日条件では、32/25 の高温により稔性が回復し、18/11 の低温では不稔性を維持することが第 2 章第 2 節で明らかにされた。本試験では、稔性が回復する高温条件 (32/25) と不稔性が維持される低温条件 (18/11) において日長時間を 12 時間の中性と 10 時間の短日条件、および 8 時間の強短日条件で検討した。稔性の回復においては、32/25 の高温条件では、全ての処理区で稔性が回復し (Table 3-3-1)、18/11 の低温条件では、全ての処理区で稔性は回復しなかった (Table 3-3-2) ことから、‘秋田プチホワイト’の雄性不稔性の稔性回復において、日長条件の関連はなく温度が主要因になると思われた。イネ (Ku *et al.* 2001) やコットン (Marshall *et al.* 1974) にお

いては、環境感応性雄性不稔の稔性回復要因が温度や日長の単一条件ではなく、温度条件や日長条件の組み合わせにより、稔性回復する系統があると述べられているが、今回の試験で供試した‘秋田プチホワイト’の稔性回復においては、温度が主要因であることが明らかになった。‘秋田プチホワイト’の雄性不稔は温度感応性雄性不稔であることが示された。

一方、オリエンタルハイブリッドユリの雄性不稔性品種で、*dehiscent anthers without pollen* の表現型の雄ずいを持つ‘ティアラ’においては、高温条件 (32/25) と低温条件 (18/11) において、葯形成の変化はみられず、花粉の形成もなかった (Table 3-3-2, 3-3-3)。さらに、日長時間の変化によっても葯形成や花粉形成に変化は見られなかった (Table 3-3-3) ため、‘ティアラ’の雄性不稔性は環境条件に左右されない安定した雄性不稔性を示すと考えられる。

しかしながら、‘ティアラ’の花器の発達において日長時間により表現型が異なることが示された。ユリにおける花器の発達で高温条件では花序分化の whorl 3 及び whorl 4 において葯の花弁化や柱頭の割れなどの異常が生じることが報告されている (Benedito *et al.* 2005, Sato and Miyoshi 2006)。本試験では、温度や日長に関わらず心皮 (whorl 4) は正常に分化・発達することが確かめられた。雄ずい (whorl 3) においては花弁化などの分化過程における異常は見られなかったが、10 時間以下の短日条件では雄ずいの伸長が抑制され、日長条件に影響をうけることが明らかになった。花被片 (whorl 1, 2) においては明らかに 10 時間以下の短日条件では花被片の肥大が抑制され、奇形が生じた。これらのことから、‘ティアラ’においては、10 時間以下の短日条件は whorl 1, 2, 3 の発達に影響を与えることが示唆された。

‘ティアラ’は短日で花被片や雄ずいの発達が抑制されるが、‘ティアラ’の雄性不稔は、葯が形成され開葯する発達過程が通常の花器と同様であり、しかも環境条件に左右されずに花粉が形成されない。この *dehiscent anthers without pollen* の雄ずいの表現型が、雄性不稔ユリにおいて最も市場の評価が得られるかもしれない。

Table 3-3-1. Effect of different photoperiod under high temperature condition (32/25 ) in the Asiatic hybrid lily 'Akita Petit White'

Photoperiod (hr)	Shoot length (cm)	Number of leaves	Number of flower buds	Frequencies of restored anther (%)
8	48.9±0.8 a	73.9±1.1 a	3.9±0.7 a	100
10	43.0±0.8 b	70.5±1.2 b	4.0±0.6 a	100
12	39.2±1.1 c	68.4±1.4 b	4.0±0.6 a	100

Different letters within columns indicate a significant difference at P<0.05 by Tukey's test.

Table 3-3-2. Effect of different photoperiod under low temperature condition (18/11 ) on the restored anthers in the male-sterile Asiatic hybrid lily 'Akita Petit White' and the Oriental hybrid lily 'Tiara'.

Cultivar	Photoperiod (hr)	Number of antherless stamens	Number of dehiscent anther without pollen	Number of intact anther
Akita Petit White	8	10	0	0
	10	10	0	0
	12	10	0	0
Tiara	8	0	10	0
	10	0	10	0
	12	0	10	0

Table 3-3-3. Effect of different photoperiod under high temperature condition (32/25 ) on the fertility and growth in the Oriental hybrid lily 'Tiara'.

Photpperiod (hr)	Shoot length (cm)	Number of leaves	Number of flower buds	Frequencies of restored pollen grains (%)
8	61.6±1.8a	69.4±1.1a	3.1±0.1a	0
10	58.9±2.0a	68.1±2.0a	3.0±0.2a	0
12	62.1±1.4a	59.9±2.3b	3.3±0.2a	0

Different letters within columns indicate a significant difference at P<0.05 by Tukey's test.



Fig.3-3-1. Intact anthers were restored at three photoperiod regimes under high temperature condition (32/25 °C). Left; 8h/16h (day/night). Center; 10h/14h (day/night). Right; 12h/12h (dark/night). (Bar=2cm).

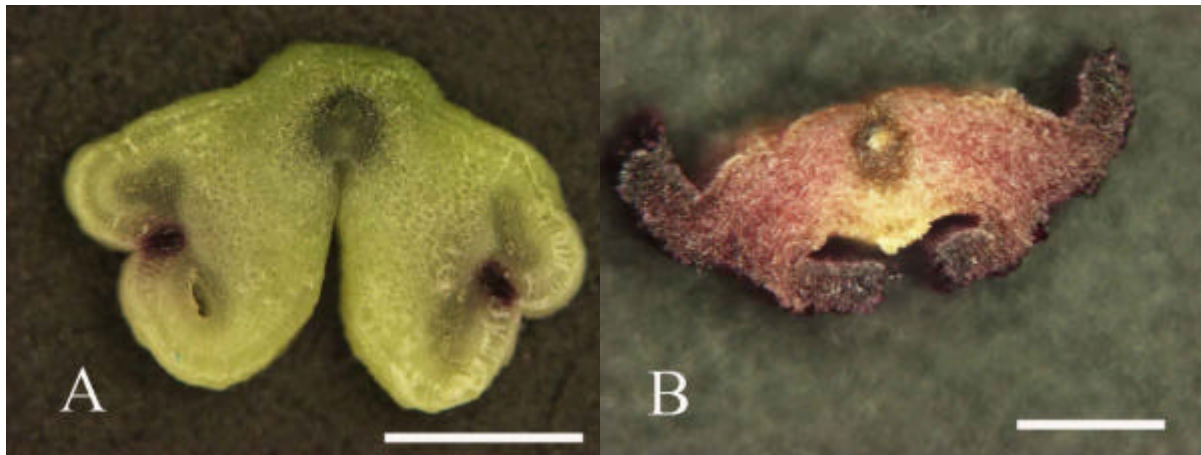


Fig.3-3-2A-B. Cross section of anthers in the Oriental hybrid lily 'Tiara' at 12h/12h photoperiod (day/night) under high temperature condition (32/25 °C). A: A cross section of the anther before dehiscence. Anther locus had no pollen grains. (Bar=1cm). B: A cross section of anther after dehiscence. (Bar=1cm).



Fig.3-3-3. Effect of photoperiod under high temperature condition on the development of perianth of Oriental hybrid lily 'Tiara'. A; 8h/16h (day/night) photoperiod. Perianth were short and not bloomed. B; 10 h/12h (day/night). The perianth were poorly developed and width of perianth were narrow. C; 12 h/12 h (day/night) photoperiod. Perianths developed normally. (Bar=10cm)



### 3-4 稔性回復に及ぼす温度条件

#### (1)はじめに

植物の雄性不稔は、*Oryza sativa* (Nagai 1926), *Brassica napus* (Yamaguchi and Kanno 1963), *Brassica campestris* (Ohkawa and Shiga 1981) など多くの植物種で報告されている(Kaul 1988)。しかしながら、これら雄性不稔性は常に遺伝的に安定して発現しているものではなく、温度や日長などの環境条件によって、可稔に変化することがある(Kaul 1988)。本報告 2-2 において示したように、*antherless stamens* の雄ずいの表現型をもつ雄性不稔アジアティックハイブリッドコリ品種‘秋田プチホホワイト’は栽培温度により稔性が回復する温度感応性雄性不稔品種であることを明らかにした。本報告 2-2 の試験では、処理区の温度を昼温夜温において、18/11 (低温)区、25/18 (中温)区および 32/25 (高温)区として試験を行い、18/11 (低温)区および 25/18 (中温)区では、葯の形成がみられず、32/25 (高温)区で葯および花粉が形成され、稔性が回復した。しかし、処理区の昼温と夜温の温度差が低温区、中温区および高温区でそれぞれ 7 の差があることから、感応する詳細な温度域が明らかでなかった。

温度感応性雄性不稔の作物は、イネ (Sun *et al.* 1989, Maruyama *et al.* 1991, Viraktamach *et al.* 2001, Ku *et al.* 2001, 2003)、ペチュニア (Van Marrerwijk 1969, Izhar 1975)、トマト (Sawhney 1983)、タマネギ (Barham and Munger 1950), *Brassica nap L.* (Fan and Stefansson 1986, 志賀・馬場 1973) 等で報告され、それぞれ変温処理区を用いた試験により、稔性 / 不稔性に变化することが示されている。Zhang *et al.* (1991) や Lu *et al.* (1994) はイネの雄性不稔系統を用いて、稔性 / 不稔性に变化する温度は、平均気温によると示したが、Maryuama *et al.* (1991) は、変温処理による試験を行い、稔性が变化する温度は、低温よりも高温による影響があると指摘している。また、Viraktamath and Virmani (2001) は、イネの温度感応性雄性不稔系統において、32、24 の定温処理区と 32/24 の変温処理区における試験により、24 定温区では稔性、32 定温区および 32/24 変温区では、不稔性を示したことから稔性不稔性に变化する温度は、最高気温によると推察している。

コリにおける温度感応性雄性不稔は、Yamagishi (2003) が開花期の違いにより葯に花粉が形成されることから、栽培期間の温度の影響を指摘しているが、最高気温によるのか、平均気温によるのかは明らかでない。

そこで、本試験においてはグロースキャビネットを用いて栽培温度による葯形成の詳細な反応について検

討する。

#### (2)材料および方法

##### 温度域の検討

2003 年秋に掘りあげ、球周 12 ~ 14cm に選別後 -2 で冷凍貯蔵した‘秋田プチホホワイト’の球根を使用した。2004 年 9 月に解凍した球根を鉢径 12cm のプラスチック鉢に定植後、環境条件を変えたグロースキャビネット (Koitoron, Kioto Ind. Co., Ltd., Tokyo, Japan) に移し、生育及び葯の形成状況を調査した。

環境条件を日長 14hr、相対湿度 70%、光強度は鉢上面において  $256\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  に計測されたグロースキャビネット (Koitoron, Kioto Ind. Co., Ltd., Tokyo, Japan) 5 台を用いて、最高温度をそれぞれ 27 ~ 31 の 1 間隔で DEF を 7 に設定して、1 区当たり 10 個体ずつ定植後開花までグロースキャビネットで栽培し、葯が回復する温度域を調査した。葯の表現型については、1 個体当たり 4 花計 40 花の雄ずいを調査した。

さらに、葯がオレンジ色に着色した葯を生のまま固定せずに切片を作成し、葯のうの状態を実体顕微鏡 (SZX12; Olympus, Tokyo, Japan) で観察した。

##### 稔性回復における変温処理の検討

‘秋田プチホホワイト’の球根を 2005 年 10 月に掘りあげ、-2 で冷凍貯蔵した。2006 年 2 月 3 日に球周 12 ~ 14cm の球根を 12 で 14 日間解凍して、2 月 17 日に直径 13.5cm のプラスチック鉢に定植した。定植後直ちに温度条件を高温定温区 (32) 中温定温区 (25) 低温定温区 (18) 高温変温区 (昼温夜温 : 32/25) に調節したグロースキャビネット (Koitoron, Kioto Ind. Co., Ltd., Tokyo, Japan) 計 4 台を用いて、それぞれ 10 個体ずつ入れて開花まで観察した。グロースキャビネットの環境条件はそれぞれ、日長 14 時間、相対湿度 70%、光強度を鉢上面において  $256\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  に設定した。

#### (3)結果

##### 温度域の検討

処理温度の違いにより雄ずいの形成には明確な差が認められた (Table 3-4-1)。27/20 (昼温夜温) 区において、全ての雄ずいは undeveloped anthers で花糸の先端が湾曲したが、葯の形成は観察されなかった。28/21 区では全ての小花の全ての雄ずいにおいて明確な葯の形成が観察されたが、1 小花において、immature anthers と indehiscent anthers が混在した (Table 3-4-1)。さらに 6 本の雄ずいの全ての花糸の先端にオレンジ色に着色した葯が形成された小花は 22.5%で、残りは 6 本の雄ずいのうち、数本の雄ずいがオレンジ色に着色した葯を形成した (Table

3-4-1, Fig.3-4-1A-C)。また、1本の雄ずいでも片側の葯がオレンジ色に着色する不完全な雄ずいが観察された(Fig.3-4-2A-B)。片側がオレンジ色に着した雄ずいは、4つの葯のうち1つの葯のうだけに花粉粒が形成された(Fig. 3-4-2C)。6本の雄ずい全てがオレンジ色に着色した葯は、全く開葯しなかった。29/22

区の全ての小花の全ての雄ずいの葯はオレンジ色に着色したが、28/21 区と同様に全く開葯しなかった。30/23 区においては全ての小花の全ての雄ずいはオレンジ色に着色し、開葯して花粉が露出する正常な intact anthers の割合は25%であった。31/24 区においては、全ての雄ずいに intact anthers が形成され、開葯の程度や開葯までの時間は小花ごとに差があったが、開花後6日までには全て開葯した。

#### 稔性回復における変温処理の検討

温度処理区による生育比較では、高温変温(32/25)区、高温定温(32)区においては、高温障害と思われる花芽が壊死するプラスチング株が生じたが、中温定温(25)区および低温定温(18)区においては、プラスチング株は生じなかった(Table 3-4-2)。

定植後から開花するまでの日数は、高温変温(32/25)区が最も短く、他の定温区は温度が低下するほど長くなった。

雄ずいの形成においては、高温変温(32/25)区、高温定温(32)区においてはそれぞれ全ての株、全ての小花の雄ずいにおいて intact anther を形成した。中温定温(25)区では undeveloped anthers の雄ずいが形成され、低温定温(18)区においては、antherless stamens が形成され、それぞれ葯の形成回復は見られなかった(Table 3-4-2)。

#### (4) 考察

定温処理区と変温処理区で発現する雄ずいの表現型の観察では、25 および 18 の定温処理区では、それぞれ undeveloped anthers と antherless stamens が発現し、32 の定温区および 32/25 の変温区では intact anthers が発現した (Table 3-4-2)。25 と 18 で出現した表現型は、本報告 2-2 において 25/18 変温処理区と 18/11 変温処理区でそれぞれの最高気温で発現した表現型と同様である。これらの結果から、最高気温が稔性回復するポイントになると推察される。Viraktamath and Virmani (2001) は、イネの温度感受性雄性不稔系統において、変温処理区と定温処理区による試験で、最高気温が可稔/不稔を決定すると指摘している。ユリにおける温度感受性雄性不稔の稔性回復においても同様に最高気温が重要になると考えられる。

栽培温度が 27/20 処理区では 雄ずいの表現型は

undeveloped anthers が発現し、葯は形成されなかった。しかし、最高気温 28 以上の処理区において葯が形成され、immature anthers, indehiscent anthers、および intact anthers が発現した (Table 3-4-1) ことから、最高気温 28 以上において葯の形成が回復すると思われる。29/22 では全ての雄ずいにおいて、花粉及び葯の形成がなされるが、全ての葯は開葯しない indehiscent anthers であり、30/23 処理区で初めて開葯する葯が観察された。花粉が形成されても開葯しなければ、雄性不稔として位置づけられる(山口 1985)。このため、本試験において、antherless stamens の表現型を示すユリ雄性不稔系統‘秋田プチホワイト’の葯の形成と花粉の形成が回復を開始する最高温度は、28 であり、雄性不稔が可稔に回復する最高温度を 30 であると判断した。

28/21 処理区では1つの小花の6本の雄ずいの中で、花粉の形成が行われない immature anthers と花粉の形成が回復する indehiscent anthers の両方の葯が混在した。それら両方の葯が混在する小花において、花粉が形成される葯を観察すると、3本までの部分的に回復する雄ずいは外花被片側に形成される雄ずいで、4本以降は内花被片側に形成される雄ずいであった。すなわち、3本までの回復する雄ずいは6本の雄ずいのうち1本おきに花粉が形成される葯が回復した。同じユリ科のタマネギの花の分化順序において、6本の雄ずいのうち、外側の3本の雄ずいが最初に分化し、続いて内側の3本の雄ずいが分化、発達することが観察されている(勝又 1985)。タバコの雄ずいの原基は1~2日で分化する(Koltunow et al. 1990)が、ユリの雄ずいの分化、発達には6本の雄ずいが一斉に分化するのではなく、タマネギと同様に6つの雄ずいの発達には時間差があるのかもしれない。

志賀・馬場(1973)は、*Brassica napus* L. の細胞質雄性不稔系統において、葯の発育阻害が心皮分化期と雄性胞原細胞分化期との間に誘導されると推察している。ユリ雄性不稔品種の葯の発育回復段階については本試験では明らかでないが、葯の形成を回復させる雄ずいの発育段階の温度遭遇のタイミングは、花粉を回復した雄ずいの本数が異なるため短時間と思われる、時間差で発達する雄ずいが温度に感応する期間がずれて、雄ずいの表現型が混在したと思われる。

また、28/21 処理区で雄ずいの表現型が混在する要因として、上記の雄ずいの分化および発達の速度に時間差があるのかもしれないこと、葯の形成を回復する温度と花粉の形成が回復する温度が異なること、およびグロースキャビネット内の温度分布の3つの要因が考えられる。本試験に用いたグロースキャビネットの温度分布は設定温度の±約1程度の範囲で推移している(データ未掲載)。本試験で行った1刻みの細かい段階的な温度差において雄ずいの表現型が異

なったように、'秋田プチホワイト'の雄ずいはかなり敏感に温度に反応している。6本の雄ずいのそれぞれの分化・発達スピードとグロースキャビネットの温度分布の推移において、葯の形成に感応する生育時期と温度がうまく合致した場合にのみ、葯の形成が促され、さらに葯の形成が完全に回復する温度に達した場合に花粉の形成が促されると思われる。葯の片側のみ花粉粒が形成される要因については、葯の形成が回復する温度域以上の温度にある程度継続して遭遇することが必要で、継続した遭遇時間が短いと一部の葯のうだけが発達するなど、不完全な形態になると思われる。グロースキャビネットの庫内の温度分布は、± 1 程度の範囲内で上下していることから、葯の形成回復に必要な温度域が常に一定に保たれている状態では

ない。また、花粉の形成回復に必要な温度遭遇時期は、極めて短い生育ステージで短時間に集中的に適温に継続して遭遇しなければならないと思われる。そして、その時期を経過すると、回復に適する温度域に遭遇しても、回復するスイッチが入らないと思われる。しかしながら、antherless stamens の雄ずいが葯の形成を回復し稔性が回復するには、葯の成熟に必要な温度に遭遇後、更に花粉の形成に必要な温度に遭遇しなければならないのか、あるいは葯の回復と花粉の回復が同時期の温度によるのかは、本試験においては明らかではない。今後、葯の回復に適する生育時期に期間を限定した高温を遭遇することで明らかになるであろう。

Table 3-4-1. Effects of temperature on the restoration of anthers in the Asiatic hybrid lily cultivar 'Alkita Petit White'.

temperature ( ) day/night	Antherless stamen (%)	Stamens with different number of restored anthers						Stamens with a set of six restored anthers	
		1 <sup>Z</sup>	2	3	4	5	total	Indehiscent anther (%)	Intact anther (%)
27/20	100							0	0
28/21	0	0	12.5	35	30	0	77.5	22.5	0
29/22	0							100	0
30/23	0							75	25
31/24	0							0	100

Z: The number of restored stamens in a flower.

Table 3-4-2. The effects of temperature on the restoration of anthers and the growth in the Asiatic hybrid lily 'Akita Petit White' under four temperature regimes.

temperature ( ) day/night	Shoot length (cm)	Number of leaves	Number of flower buds	Days from planting to flowering	Plants with blasting (%)	Restored anthers (%)	Phenotype of stamen
32/25	46.5	72.1	6.2	63.0	80.0	100.0	intact anther
32	34.1	75.4	4.5	69.0	70.0	100.0	intact anther
25	36.3	68.6	6.8	74.0	0.0	0.0	undeveloped anther
18	36.2	65.6	6.0	75.0	0.0	0.0	antherless stamen

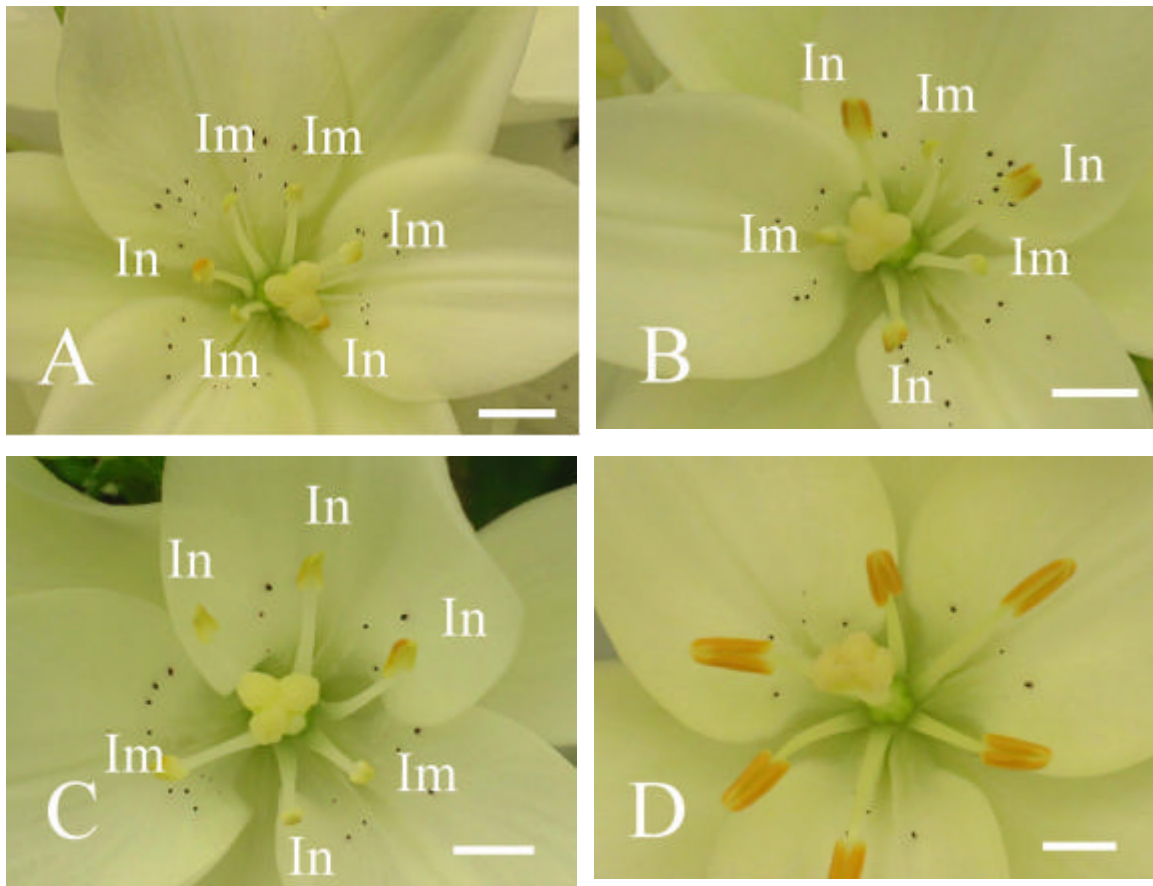


Fig.3-4-1A-B. Incomplete restoration of anthers on the plants grown under 28/21 in the growth cabinets. A: Indehiscent anthers were developed in two of six stamens. B: Indehiscent anthers were developed in three of six stamens. C: Indehiscent anthers were developed in four of six stamens. D: Indehiscent anthers were developed in all stamens. Im; immature anthers. In; indehiscent anthers. (Bar=1cm).

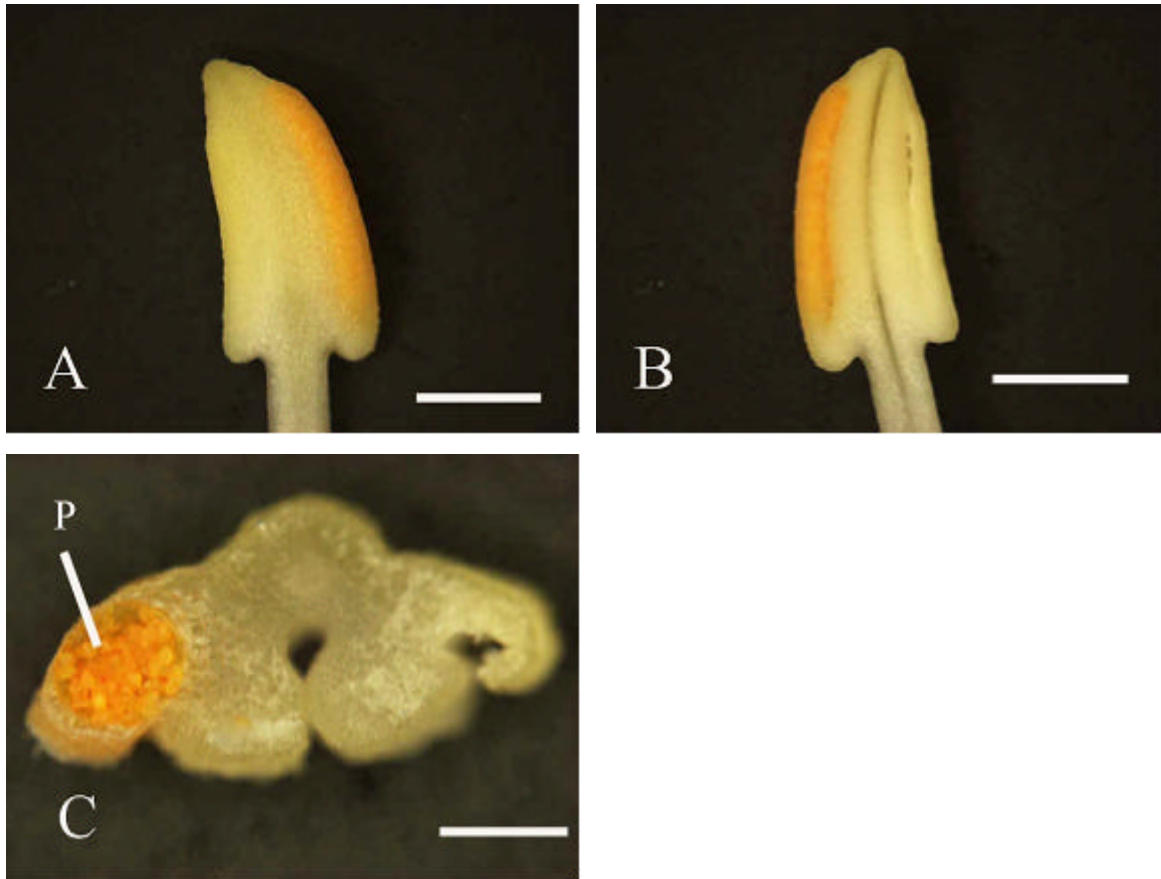


Fig.3-4-2A-C. Formation of defective indehiscent anthers under temperature condition, 28/21 °C, in the growth cabinets. A: One anther locule of indehiscent anthers were colored orange (dorsal side). Bar=5mm. B: Observation of A from ventral side. Bar=5mm. C: Cross section of defective indehiscent anthers. One of four loculus contained pollen grains. P; Pollen grains. Bar=2.5mm.

#### 4-1 回復した葯において進行する花粉減数分裂過程の観察

##### (1)はじめに

ユリは、交雑親和性の高い種間交雑が繰り返し行なわれた結果、交雑品種群 (hybridgroup) が育成され、現在では、Longiflorum hybrids、Asiatic hybrids、

Oriental hybrids の3つの雑種群が世界的に広く栽培されている (Lim *et al.* 2004)。それら雑種群の品種は、Comber (1949) の分類による7節の中の種の相互交配から育成された。その節は *Leucolirion* 節 (Longiflorum hybrids)、*Sinomartagon* 節 (Asiatic hybrids)、*Archelirion* 節 (Oriental hybrids) である (Van Tuyl *et al.* 2000)。ユリ属のほとんどは2倍体 ( $2n=24$ ) であるが、自生種にはオニユリのように3倍体のユリもある (清水 1987)。栽培種ではアジアティックハイブリッドユリの品種の中には、2倍体品種以外に3倍体および4倍体の品種が育成されている (榎並・宮嶋 2002)。「秋田プチホワイト」は、「アポロ」×「モンブラン」の組み合わせ後代から選抜した品種であるが、その染色体数は明らかになっていない。

ユリ品種育成においては、交配による種子形成が難しい遠縁交雑で、胚培養による栽培種の育成が行われている (Asano and Myodo 1977a,b)。遠縁交雑種では染色体間の相同性の低さからその花粉は不稔性を示し、発芽能力に欠けるが、減数分裂期の高温処理により一部の花粉では発芽能力が回復することが知られている (永緑・深井 2004)。また、ユリと同じユリ科のチューリップでは、減数分裂期の高温処理で非還元性花粉の出現が推定されている (浦島ら 1988)。さらにイネの障害型不稔のように花粉母細胞の減数分裂期の4分子期の異常により花粉粒の発達が妨げられるように、不適切な温度によって花粉母細胞の発達異常が生じることがある。また、*Lilium longiflorum* Thunb. において、葯の長さにより、減数分裂期の段階が推定可能であることが示されている (Gould and Lord 1988)。

「秋田プチホワイト」の葯は、高温遭遇により回復し、花粉が形成されるが、高温に遭遇することによって減数分裂がどのように進行しているかは明らかでない。

そこで、本試験では高温条件により形成が回復する花粉の減数分裂の進行を調査するとともに、花粉の染色体数を調査し、「秋田プチホワイト」の花粉の減数分裂に与える高温の影響を検討する。

##### (2)材料および方法

2003年秋に掘りあげ、球周12~14cmに選別後-2で冷凍貯蔵した「秋田プチホワイト」の球根を使用

した。2004年10月15日から5月14日間解凍した球根を鉢径13.5cmのプラスチック鉢に定植後、グロースキャビネットで高温処理(30/23℃)を行った。その他の環境条件は、日長時間12時間、相対湿度70%に調節した。人工気象器は株式会社東洋製作所製NA1-5S型を使用した。光源は37W白色蛍光灯(東芝社製)10本の組み合わせで、照度は、鉢上面において、8,600LXであった。

花粉の染色体観察は、出蕾後、長さの違う葯を12個採取して葯、葯の長さを計測して、観察した。取り出した葯はカルノア液(エタノール:酢酸=3:1)で1時間固定した。固定終了後、45%酢酸液で脱色した後、スライドガラス上に載せた。柄付針で葯から花粉を取り出し、スライドガラス上になすりつけた。試料に酢酸オルセイン液を2~3滴かけて、5~15分放置後、カバーガラスをかけて、アルコールランプの炎の上にかざして5~10秒軽く加熱した。その後、カバーガラスを載せて、花粉粒がつぶれないように注意しながら軽くたたいて、細胞を分散させるとともに、細胞内の染色体も分散させて、光学顕微鏡(BX50; Olympus Corp., Tokyo, Japan)で染色体を観察した。

##### (3)結果

高温処理により形成された「秋田プチホワイト」の花粉の減数分裂は、第1分裂期(Fig.4-1-2A-H)から第2分裂(Fig.4-1-3A-E)を経て配偶子(Fig.4-1-3F)になる過程が観察された。第1分裂中期における観察では、花粉の染色体数は12本であることが観察された(Fig.4-1-1)。花粉母細胞の減数分裂において、3分裂(Fig.4-1-4A)や染色体のアンバランスな分裂(Fig.4-1-4B)、4分子以外に小核を持つ(Fig.4-1-4C-D)など約10%(データ未掲載)で異常な減数分裂が観察された。

##### (4)考察

ユリは、2核性花粉(Brewbaker 1957)で基本的な染色体数は $2n=24$ である。しかしながら、自生種の中には3倍体のオニユリが確認されている(Noda 1966, 清水 1987)。オニユリはアジアティックハイブリッドの交配親として用いられ、種間交雑による交配を繰り返された結果、アジアティックハイブリッド品種群の中には2倍体品種だけではなく、3倍体、4倍体の品種が育成された(榎並・宮嶋 2002)。「秋田プチホワイト」の交配親である「アポロ」と「モンブラン」の体細胞の染色体数は未確認であるが、本試験において「秋田プチホワイト」の花粉母細胞の染色体数の観察において、12本の染色体が観察された(Fig.4-1-1)。今回、根端細胞の染色体数は観察しなかったが、花粉母細胞の染色体数が $n=12$ であることから、「秋田プチホワイト」の染色体数は $2n=24$ の

品種であると判断できる。

ユリ遠縁交雑種の LA 雑種 (Longiflorum hybrids × Asiatic hybrids) において、3 倍体で花粉発芽能力を欠く品種を減数分裂期に 30℃ で 4 ~ 7 日間の高温処理を行うと発芽能力を持つ花粉が約 3% 出現することが明らかにされている (永緑・深井 2004)。また、チューリップにおいては、花粉母細胞の前減数分裂期に 28℃ 以上の高温処理を 5 日間行うことによって、発芽する非還元性の大型花粉が出現することが確かめられている (浦島ら 1988)。さらにユリ科のタマネギの雄性不稔性系統では、減数分裂前期から 4 分子期の間に (21 ~ 27℃) にさらされると 1% 以下の低率であるが稔性を回復する花粉が生じることが報告されている (Barham and Munger 1950)。

このように、ユリ科の作物の発芽能力のない花粉でも減数分裂期の高温処理で発芽能力を持つ花粉が生じる現象が報告されている。‘秋田プチホワイト’の雄ずいは、葯を形成しない antherlessstamens の品種であるが、高温処理によって葯が回復し、花粉が生じる。本試験により高温によって形成能が回復した花

粉は減数分裂を行い、配偶子を形成することが確認できた。本報告 2-2 では、‘秋田プチホワイト’の高温で形成した花粉は発芽能力を持つことが認められている。これらのことから、‘秋田プチホワイト’の雄性不稔性は高温処理によって、通常の減数分裂を行う発芽能力を持つ花粉を生じ、稔性回復することが確かめられた。

小胞子の約 10% において、減数分裂の異常が観察された。ユリの種間雑種を行うなかで、減数分裂の小胞子形成において、温室での栽培で 1% 以下の頻度で 3 分裂する小胞子が生じることが報告されている (Lim et al. 2004)。また、ランでは Fig.4-1-4D のように第 2 減数分裂終期に、小核をもつ小胞子がみられている (青山 1996)。  
 ‘秋田プチホワイト’の減数分裂の異常が高温によるのか、品種の特性かどうかは不明である。‘秋田プチホワイト’は、自然条件での栽培では葯の形成が行われないので、処理温度を変えての葯の減数分裂の観察は特定の温度域に限定される。今後は根端細胞を用いた染色体の観察によって、分裂の過程を検討する予定である。

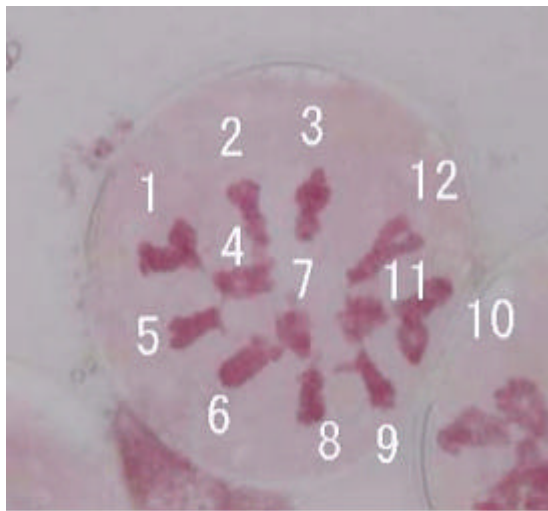


Fig.4-1-1. Chromosomes of Asiatic hybrid lily 'Akita Petit White' (n=12) in a restored pollen grain collected from plants under high temperature condition.

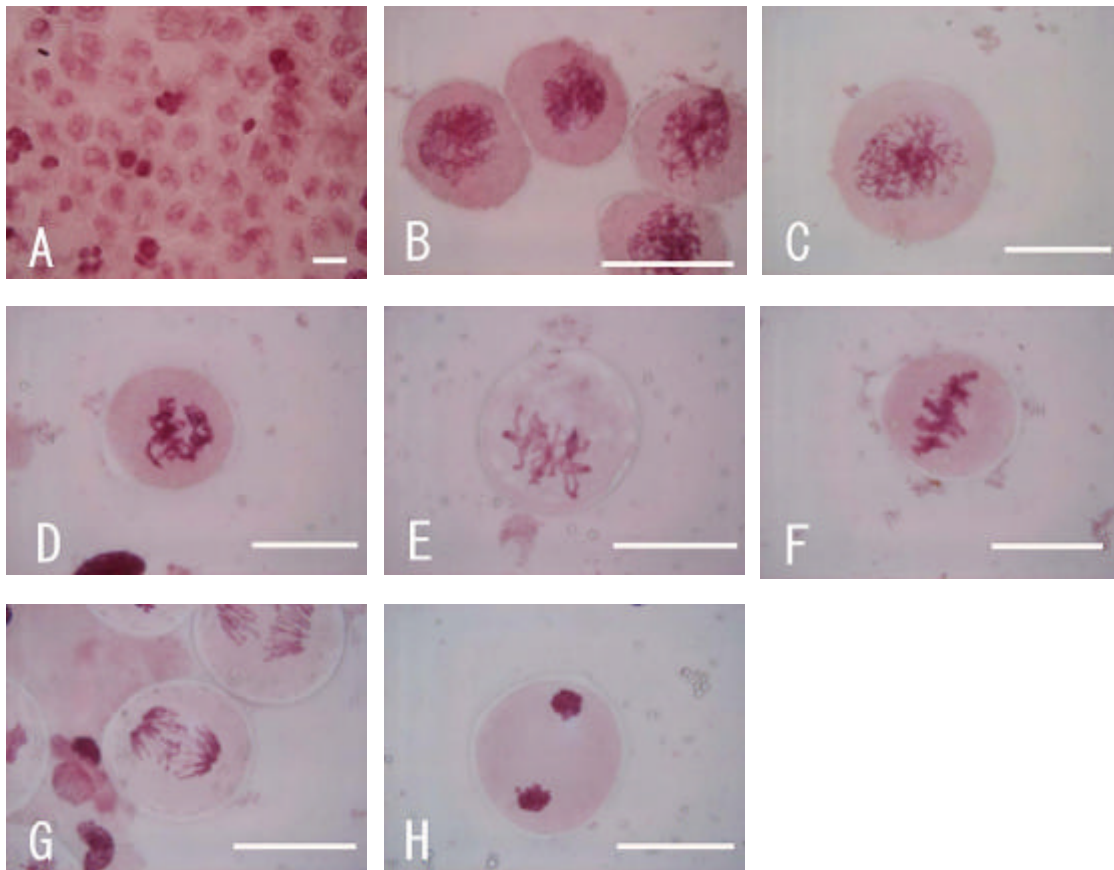


Fig.4-1-2A-H. Premeiosis of pollen mother cell in restored anther under high temperature condition (30/23) in the Asiatic hybrid lily 'Akita Petit White'. A; Leptotene stage. B; Zygotene stage. C; Pachytene stage. D; Diplotene stage. E; Diakinesis. F; Metaphase I. G; Anaphase I. H; Telophase I. Bar=50 $\mu$ m.



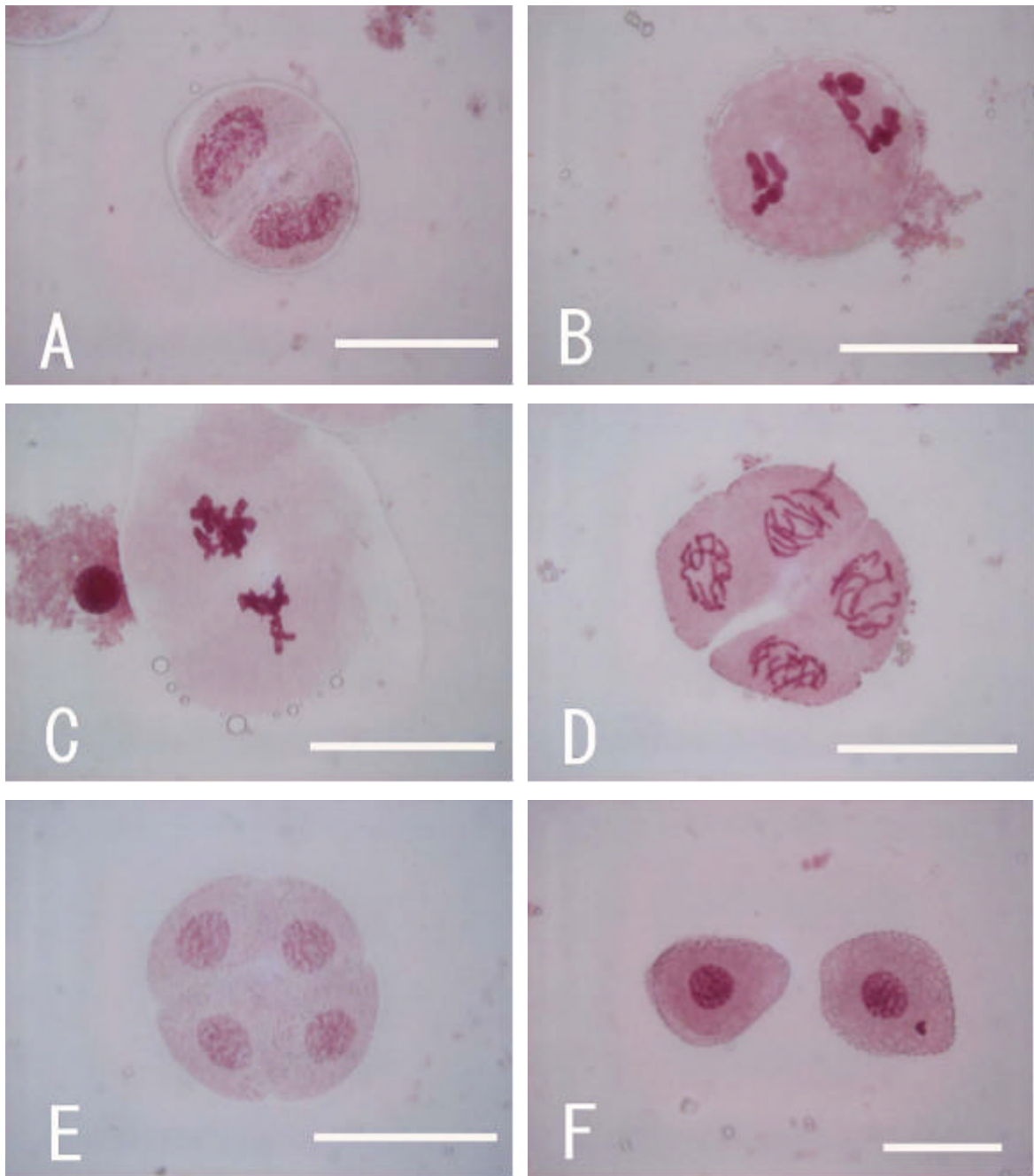


Fig.4-1-3A-F.Second meiotic division of pollen mother cell in restored anther under high temperature condition (30/23 ) in the Asiatic hybrid lily ' Akita Petit White ' .A:Interphase.B:Prophase II.C: Metaphase II.D:Anaphase II.E;Tetrad.F:Gamete.Bar=50μm.

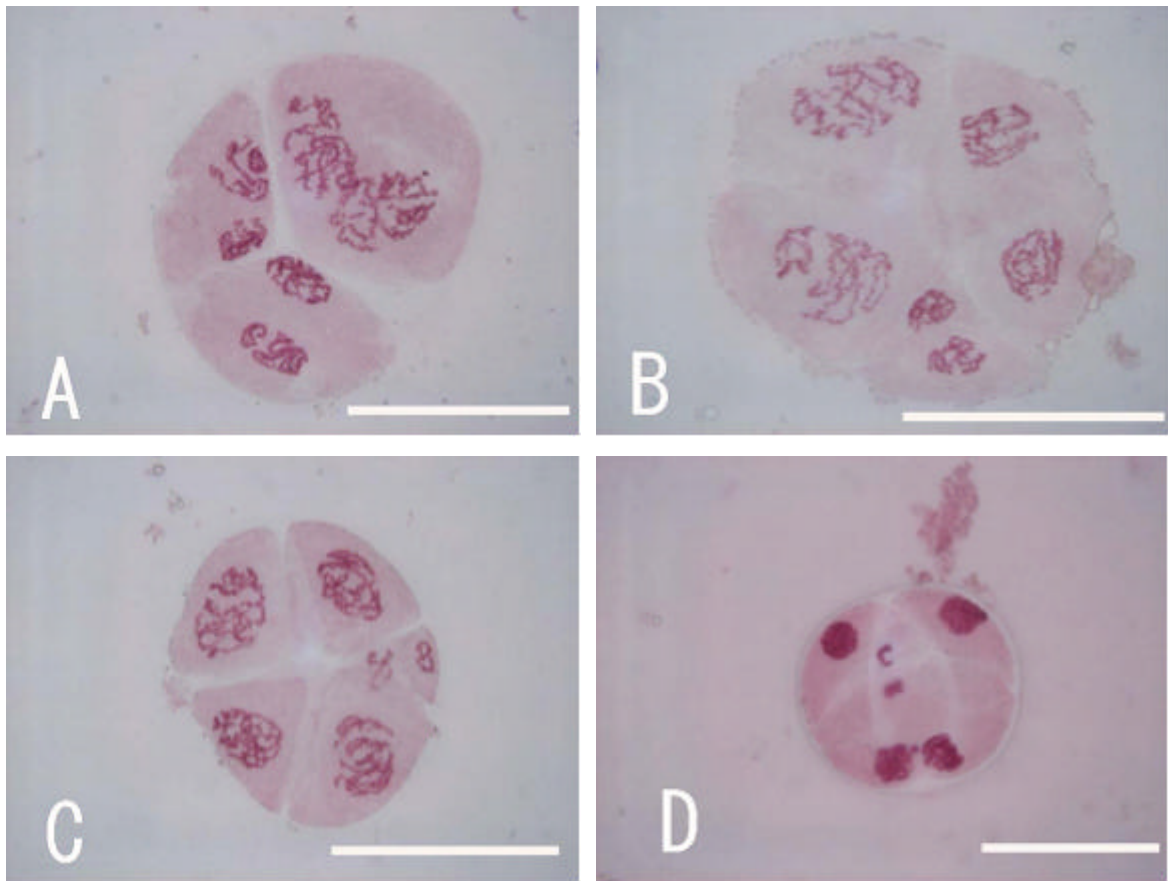


Fig.4-1-4A-D. Unusual meiosis of pollen mother cell in restored anther under high temperature condition (30/23 ) in the Asiatic hybrid lily 'Akita Petit White'. A; Triad shows a clear division of three nuclear formations. B-D; Unbalanced chromosome distribution. Bar=50 $\mu$ m.

#### 4-2 雄性不稔ユリにおける種子形成能力の評価

##### (1)はじめに

‘秋田プチホワイト’は、アジアティックハイブリッド群に属する品種である。品種改良において、花粉を形成しない雄性不稔性は花粉親として育種母本と用いることができないために、交配育種において変異の拡大が制限される。雄性不稔が可稔となりさらに花粉が種子形成能力も有すれば、品種改良において有用である。

本報告 3-1 において、アジアティックハイブリッドユリ‘秋田プチホワイト’は栽培期間に 32/25（昼温/夜温）で高温遭遇すると葯が回復し、花粉を形成し、形成された花粉は発芽培地で発芽することを確認した。このことから、高温で形成された花粉は発芽能力を持つことが予想されたため、本節では種子形成能力と形成された種子の特性について検討した。

##### (2)材料および方法

‘秋田プチホワイト’の球根を 2003 年 3 月に露地圃場から掘り上げた。球周 14 ~ 16cm の球根を選別して、側面に通風用の小さい穴を開けて、湿らせたパーミキュライトを充填したダンボール箱（幅 30cm×長さ 22cm×高さ 22cm）に 30 球を入れた。球根は 1 暗黒下で 6 週間予冷（11 月 13 日 ~ 12 月 25 日）した後、12 月 25 日から - 2 で冷蔵した。2 ヶ月間冷凍貯蔵した後、2004 年 2 月 26 日から球根を 12 で 5 日間暗黒下において芽を伸長させるために解凍した。3 月 3 日に約 1.5cm 芽の伸長した球根を 13.5cm 径の素焼き鉢に定植した。素焼き鉢の床土は市販の培土（Metro Mix®, The Scotts Company, Marysville, OH, USA）と赤玉土を 1:1 で混合し、リッター当たり 1.5g の肥料（MAGAMP®, Hyponex Japan, Corp. Ltd., Osaka, Japan）を混ぜた。市販肥料には 0.06 g N, 0.24 g P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> and 0.06 g K<sub>2</sub>O per kg 含まれている。それらを人工気象器（Koitooran, KoitoInd. Co.,Ltd.,Tokyo, Japan）に入れた。

‘秋田プチホワイト’の花粉を形成させるために、本報告 2-2 で明らかになった環境条件にグロースキャビネットを調節した。すなわち、温度条件は 32/25（昼温夜温）で、6 個の 96W 蛍光灯（National, Tokyo, Japan）と 8 個の 60W 白熱灯（Toshiba, Tokyo, Japan）で 14 時間日長に設定した。光強度は鉢上面において、256μmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> であった。この処理で回復した花粉を用いて交配を行った。

交配は、開花時期が合う品種については、開花当日の花粉を用いた。開花時期が合わない品種については、開花当日の花粉を -20 のフリーザーで凍結貯蔵し、雌親にする品種の開花当日に解凍して用いた。交配に用いた小花は、開花前日に除雄後、袋かけした。

交配後は 1 週間程度袋かけした。

交配には、市販のアジアティックハイブリッドユリ品種をいた。それらは 2002 年 10 月に秋田県農業試験場のガラス温室に定植し、2003 年 5 月から 5 品種と‘秋田プチホワイト’を 1 組み合わせ当たり 3 ~ 4 果相互交配した。

さらに同様に 2004 年 10 月に冷凍貯蔵した‘秋田プチホワイト’球根を上記と同様の回復手順によって処理して花粉を形成させた。交配に用いた品種は、市販 13 品種を用いた。2005 年 5 月から秋田県農業試験場内のガラス温室で開花した品種に順次交配した。

交配後、3 ~ 4 ヶ月後に乾燥して、茶色く変色して割れる直前にさく果から種子を取り出し、胚乳が形成された種子は投影機を用いて種子を透過し、胚乳の有無（Fig.4-2-1）を調査した。

##### (3)結果

2003 年に交配した‘秋田プチホワイト’と 5 品種の正逆交雑の組み合わせおよび‘秋田プチホワイト’の自殖では、全ての交配組み合わせでさく果が発達し、種子が形成された。形成された種子には、無胚乳種子が混在し、組み合わせによって、稔実率が異なった。それぞれの正逆交雑では、‘秋田プチホワイト’を雌親にしたほうが、花粉親にするよりも稔実種子率が高かった。特に‘秋田プチホワイト’を花粉親にすると、‘アポロ’および‘コネティカットキング’との組み合わせでは、稔実種子率がそれぞれ 2.3%, 6.2%と低かった。これに対し、‘小田切り黄透かし’との組み合わせでは稔実率が 29%、‘越後紅透かし’との組み合わせでは 39.5%、‘モナ’との組み合わせでは 30.1%であった。さらに‘秋田プチホワイト’の自殖では稔実率が 22.4%であった（Table 4-2-1）‘秋田プチホワイト’を雌親とした場合は、全ての組み合わせで 30%以上の稔実率で、それぞれ 35.2 ~ 54.4%であった（Table4-2-1）。

‘秋田プチホワイト’を雌親にした 5 組の組み合わせの全てのさく果で、種子の 21.3 % ~ 82.1 % にわたってさく果内ですでに発芽していた（Fig. 4-2-2A, B）‘秋田プチホワイト’を花粉親にした組み合わせでは、さく果内で発芽した種子はなかった。また、‘秋田プチホワイト’を自殖して形成されたさく果では、58.2%の種子が発芽していた（Table4-2-1）。

2004 年に交配した組み合わせは、‘秋田プチホワイト’を雌親とした組み合わせでは 14 組み合わせ、花粉親とした組み合わせは 4 つの組み合わせ、そして市販 16 品種で自殖した。‘秋田プチホワイト’を花粉親とした 4 つの組み合わせの中で、‘アビニオン’と‘イベルフローラ’を雌親とした場合には、さく果が発達し、種子が形成されるものの、それぞれ全て無胚乳種子であった。他の‘ポリアナ’‘ヒルデ’の組

み合わせでは、稔実種子率はそれぞれ、17%、21.4%であった(Table 4-2-2)。「秋田プチホワイト」を雌親とした組み合わせでは、「アビニオン」と「グランパラディソ」の稔実種子率がそれぞれ0.7%、1%と低かった(Table 4-2-2)。そのほかの12品種との組み合わせでは、48.9%~76.0%と高い稔実種子が得られた(Table 4-2-2)。一方、市販品種16品種の自殖においては、1.3%~15.5%と低率で稔実種子が得られた。「秋田プチホワイト」を雌親とした組み合わせでは、さく果が緑色を維持する期間が長く(データ未掲載)さく果が緑色の状態でも、さく果内で既に発芽している種子があった(Fig.4-2-2A,4-2-2B)。一方、市販品種を雌親とした組み合わせでは、さく果内で発芽する種子はなかった(Table 4-2-2)。

また、「秋田プチホワイト」を雌親としたさく果は、他の組み合わせにより形成されたさく果に比べて、さく果長が短く、丸みを帯びていた(Fig.4-2-3A-D)。

#### (4) 考 察

「秋田プチホワイト」の高温で形成回復した花粉を用いて交配を行うと、胚乳を持つ種子が得られたため、形成が回復した花粉は交配能力を持つことが確かめられた。しかしながら、「秋田プチホワイト」を交配親とした正逆交配において、「秋田プチホワイト」を雌親として交配して得られた種子は、花粉親として得られた種子に比べて稔実種子率が高かった(Table 4-2-1,2)。このことは、本報告 2-2 により、「秋田プチホワイト」の高温で形成が回復した葯の花粉の発芽率は、市販品種よりも20%程度低かったことから、発芽花粉数の違いによるものと考えられる。

「秋田プチホワイト」と市販品種との組み合わせでは、その中で稔実種子率が低い組み合わせが認められた。「アビニオン」と「秋田プチホワイト」との正逆交配では、稔実種子の割合は、「秋田プチホワイト」を雌親にした場合は0.7%で、花粉親とした場合は、種子は形成されるものの、全て無胚乳種子であった。「グランパラディソ」との組み合わせでも、「秋田プチホワイト」を雌親とした場合は、稔実種子率は1%と低かった。「イベルフローラ」との組み合わせで、「秋田プチホワイト」を花粉親とした場合の種子は無胚乳種子であった。「アビニオン」と「グランパラディソ」は4倍体品種で、「イベルフローラ」は3倍体品種である(榎並・宮嶋 2002)。アジアティックハイブリッドユリは、その雑種群の中でも交雑親和性が低い組み合わせが認められる(清水 1985)が、4倍体品種の中でも「秋田プチホワイト」との交雑親和性が低い組み合わせがあると考えられる。

「秋田プチホワイト」を雌親とした組み合わせでは、「アビニオン」を除く全ての組み合わせから得られた種子は、さく果内で発芽することが観察された(Table

4-2-1,2)。ユリの採種では、さく果が成熟すると緑色のさく果から茶色に変化し、さく果が自然裂開するが、「秋田プチホワイト」を雌親とした場合は、他の品種を雌親にしたさく果が茶色に変色しても、さく果が緑色で、茶色への進行が遅く、交配後6ヶ月以上経過しても、さく果の自然裂開は起こらなかった(Table 4-2-2)。さく果が緑色のままで、交配後4ヶ月経過したさく果内では、種子の発芽が観察されることから、さく果が茶色に変色しなくても種子は成熟していると思われた。また、さく果内で自然裂開しないままに種子が発芽するのは、「秋田プチホワイト」を雌親にした組み合わせでのみに見られ、他の品種が雌親で「秋田プチホワイト」を花粉親にした組み合わせでは観察されなかった。種子の成熟とさく果の成熟の進行が同調しない機作は不明である。育種の現場においては、「秋田プチホワイト」を雌親とした場合は、発芽する前に採種する注意が必要である。

さく果の形状は、雌親に用いた品種によって、形状が違っていた。アジアティックハイブリッドユリの同じ雑種群の中でも、さく果の形状は異なっており(清水 1985)、このことから、種間雑種を繰り返したアジアティックハイブリッド雑種群では、さく果の形状には成立に関与した祖先種の形質が発現したと考えられる。

Table 4-2-1. Seed productivity by the reciprocal crosses between 'Akita Petit White' and five Asiatic hybrid cultivars.

Crosses		date of pollination	date of seed harvest	Seeds with clavate embryo <sup>Y</sup> (%)	viviparous seed <sup>Z</sup> (%)
Odagirikisukashi	Akita Petit White	May 31	Oct. 4	29.0	0.0
Akita Petit White	Odagirikisukashi	May 26	Oct. 22	40.0	82.1
Echigobenisukashi	Akita Petit White	May 31	Oct. 4	39.5	0.0
Akita Petit White	Echigobenisukashi	June 12	Oct. 22	44.6	21.3
Mona	Akita Petit White	June 12	Oct. 12	30.1	0.0
Akita Petit White	Mona	June 12	Oct. 22	42.5	33.9
Apolo	Akita Petit White	June 13	Oct. 12	2.3	0.0
Akita Petit White	Apolo	June 13	Oct. 22	35.2	35.5
Connecticut King	Akita Petit White	June 12	Oct. 13	6.2	0.0
Akita Petit White	Connecticut King	June 12	Oct. 22	54.4	23.0
Akita Petit White	Self	May 12	Oct. 22	22.4	58.2

<sup>Z</sup> (Number of viviparous seeds / number of seeds with clavate embryo)×100

<sup>Y</sup> (Number of seeds with clavate embryo/ seeds with or without clavate embryo)×100

Table 4-2-2 The effects of genotypes on the productivities of seeds with clavate embryo and viviparous seeds.

		Date of pollination	Date of seed harvest	Seeds with clavate embryo <sup>Y</sup> (%)	viviparous seed <sup>Z</sup> (%)
	Avignon	May 31	Nov. 28	0.7	0.0
	Apollo	June 8	Nov. 28	69.3	37.9
	Yellow Giant	June 10	Nov. 29	55.6	29.9
	Echigobenisukashi	June 10	Nov. 29	58.3	35.8
	Odagirikisukashi	May 30	Nov. 29	66.3	50.0
	Cancun	May 30	Nov. 29	64.2	56.0
Akita Petiti White	Grand Paradiso	June 9	Nov. 29	1.0	27.2
	Bannka	June 10	Nov. 29	76.0	43.9
	Felde	June 16	Oct. 18	58.0	50.0
	Beatrix	June 6	Nov. 29	48.9	43.4
	Poliana	June 9	Nov. 29	64.6	18.7
	Mona	June 10	Nov. 28	58.7	32.9
	Royal Victory	May 30	Nov. 29	5.6	8.3
	Rolly Pop	May 30	Nov. 29	66.0	28.1
	Avignon	June 16	Oct. 4	0.0	0.0
	Felde	June 16	Oct. 18	21.4	0.0
	Poliana	June 20	Oct. 18	17.0	0.0
	Ever flola	May 30	Oct. 4	0.0	0.0
	<b>selfing</b>				
	Avignon	June 16	Oct. 4	3.8	0.0
	Apollo	June 8	Oct. 4	7.1	0.0
	Yellow Giant	June 20	Oct. 18	1.5	0.0
	Echigobenisukashi	June 20	Oct. 4	15.5	0.0
	Odagirikisukashi	May 31	Oct. 4	9.1	0.0
	Cancun	June 20	Oct. 4	1.2	0.0
	Grand Paradiso	June 20	Oct. 18	4.7	0.0
	Poliana	June 20	Oct. 18	10.8	0.0
	Mona	June 20	Oct. 4	3.9	0.0
	Cote D'azur	June 20	Nov. 27	11.2	0.0
	Connecticut King	June 20	Nov. 25	11.1	0.0
	Salina	June 20	Oct. 18	6.6	0.0
	Sunsail	June 20	Oct. 18	1.3	0.0
	Sphinx	June 2	Oct. 4	9.9	0.0
	Paris	June 20	Oct. 18	12.3	0.0
	Rolly Pop	May 31	Oct. 4	2.7	0.0

<sup>Z</sup> (Number of viviparous seeds / number of seeds with clavate embryo)×100

<sup>Y</sup> (Number of seeds with clavate embryo/ seeds with or without clavate embryo)×100



Fig.4-2-1. Seed obtained from the self-pollination of the Asaitichybrid lily 'Akita Petit White'. Left; A seed without clavate embryo. Right; A seed with a clavate embryo. CE: clavate embryo. (Bar=1cm)

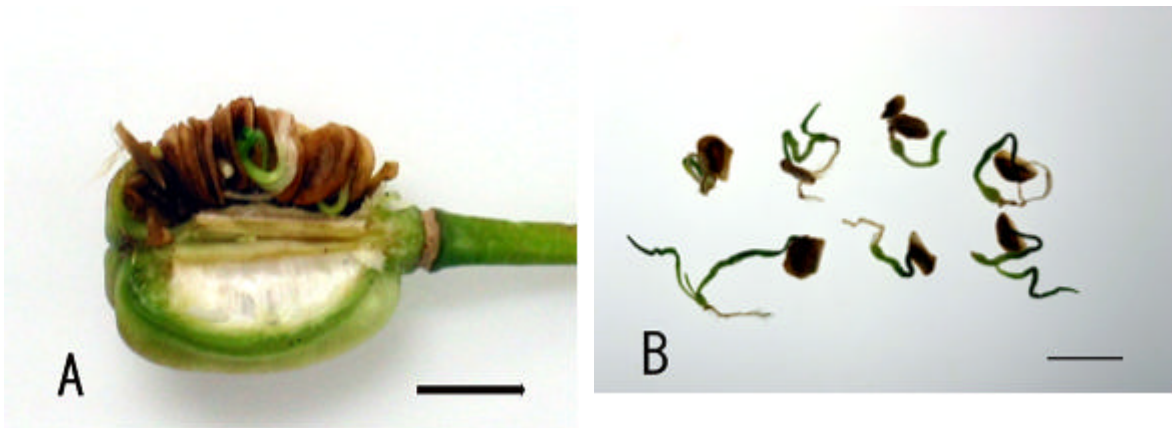


Fig.4-2-2A-B. Viviparous seeds. A: Some seeds obtained from the self-pollination 'Akita Petit White' germinated in a capsule. B: Viviparous seeds obtained from crosses between 'Akita Petit White' and 'Odagirikisukashi'. (Bar=5cm)



Fig.4-2-3A-D.Capsules obtained from crosses between 'AkitaPetitWhite' and some Asiatic hybrid lily cultivars. A; A capsule obtained from cross of 'AkitaPetitWhite' with 'Odagirikisukashi'. B; A capsule obtained from cross of 'Odagirikisukashi' with 'AkitaPetitWhite'. C; A capsule obtained from cross of 'RoyalVictory' with 'AkitaPetitWhite'. D; A capsule obtained from cross of 'Echigobenisukashi' with 'AkitaPetitWhite'. (Bar=5cm).



5 アジアティックハイブリッドユリ雄性不稔の稔性回復における発現条件

5-1 温度感応性雄性不稔の稔性回復における温度感応時期

(1)はじめに

高等植物の性行動は繊細で、遺伝子、化学物質、環境条件やそれらの相互作用に影響を受けやすい脆弱な機構である (Kaul1988)。化学物質や環境条件により誘導される雄性の変化については、Frankel and Galun (1977) によって詳述され、特に花粉の発育阻害は減数分裂期、4分子期および小孢子成熟期の3つの時期にそれぞれタペト組織の退化などとの関連で花粉の発育が阻害されるとした。植物の雄性不稔はこれまでにスイートピー(Bateson *et al.* 1908)、イネ(Nagai 1926a,b)、ナタネ(志賀・馬場 1973)など多くの植物で報告されている。しかしながら、雄性不稔性は常に遺伝的に安定しているものでもなく、温度や日長などの環境条件によって不稔性から稔性に变化する環境感応性雄性不稔がいくつかの植物種で報告されている (Kaul1988)。環境感応性雄性不稔のなかで、温度感応性雄性不稔は 44%で、日長感応性雄性不稔は 12%である(Kaul 1988)。温度感応性雄性不稔については、タマネギ(Barham and Munger 1950)、ペチュニア (Marrewijk 1969)、小麦 (Johnson and Patterson 1973)、イネ (Sun *et al.* 1989)などで報告されているが、ユリにおける温度感応性雄性不稔は SatoandMiyoshi(2006) の報告が初めてである。

ユリと同じユリ科のタマネギでは、不稔性が稔性へと変わる温度感応時期が4分子期～減数分裂前期の高温によると報告されている(Barham and Munger 1950)が、ユリでは未だに検討がなされていない。

本節では、雄性不稔アジアティックハイブリッドユリ品種‘秋田プチホワイト’を用いて、稔性が回復する温度に感応する生育ステージについて検討する。

(2)材料および方法

生育初期の高温処理による雄ずいの表現型

2002年11月3日に掘り取った‘秋田プチホワイト’の球根を球周12～14cmに選別後、30cm(幅)×22cm(長さ)×30cm(高さ)のダンボール箱に入れて-2℃で冷凍貯蔵した。球根の冷凍は、6週間(2002年11月13日から2002年12月25日)、暗黒下1℃で予冷した後、2002年12月25日から2003年5月1日まで-2℃で冷凍貯蔵した。冷凍貯蔵した球根を2003年5月1日から5℃で6日間解凍した。解凍後5月7日に径13.5cmの白色プラスチック鉢に3球ずつ24鉢(計72球)定植して、定植後直ちに32/25に調節した人工気象室に入れた。定植1週間後(5月14

日)、定植2週間後(5月21日)、定植3週間後(5月28日)に8鉢(計24球)ずつ取り出し、温度を18/11に調節した人工気象室に移して、雄ずいの形成状況を検討した。

生育中の段階的の高温処理による雄ずいの表現型

2002年11月3日に掘り取った‘秋田プチホワイト’の球根を球周10～12cmに選別後、30cm(幅)×22cm(長さ)×30cm(高さ)のダンボール箱に入れて-2℃で冷凍貯蔵した。球根の冷凍は、6週間(2002年11月13日から2002年12月25日)、暗黒下1℃で予冷した後、2002年12月25日から2003年8月15日まで-2℃で冷凍貯蔵した。冷凍貯蔵した球根を2003年8月15日から5℃で6日間解凍した。解凍後8月21日に径13.5cmの白色プラスチック鉢に3球ずつ10鉢(計30球)定植して、温度を18/10に調節した人工気象室に入れた。定植1週間後(8月28日)、2週間後(9月3日)にそれぞれ5鉢ずつ温度を30/23に調節した人工気象室に移動して開花まで高温処理を行い、雄ずいの発達を検討した。

定植後の高温積算日数による雄ずいの表現型

2002年11月3日に掘り取った‘秋田プチホワイト’の球根を球周10～12cmに選別後、30cm(幅)×22cm(長さ)×30cm(高さ)のダンボール箱に入れて-2℃で冷凍貯蔵した。球根の冷凍は、6週間(2002年11月13日から2002年12月25日)、暗黒下1℃で予冷した後、2002年12月25日から2003年11月1日までおよそ1年間-2℃で冷凍貯蔵した。冷凍貯蔵した球根を、2003年11月1日から5℃で10日間解凍した。解凍後11月11日に径13.5cmの白色プラスチック鉢に3球ずつ計33(99球)鉢に定植して、温度32/25、日長時間14時間、相対湿度70%に調節したグロースキャビネットで栽培した。光源は白色蛍光灯で、光強度は鉢上面で256μmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>であった。

定植4日後の11月15日から12月9日までの25日間、毎日1鉢(3球)ずつ、グロースキャビネットから取り出して、無加温ガラス温室に移して葯の形成状況を検討した。

(3)結果

生育初期の高温処理による雄ずいの表現型

定植後1週間だけ高温処理した区においては、出現した雄ずいの表現型は、antherless stamens と undeveloped anthers であり、95.7%が antherless stamens の表現型を示した。定植後2週間高温処理した区では、出現した雄ずいの表現型は、antherless stamens、undeveloped stamens、immature anthers の3つの種類を示し、その内の44.9%が

undeveloped anthers であり、花粉の形成は見られなかった。定植後3週間まで高温処理した区では、葯がさらに発達して72.3%が immature anthers であり、19%の葯で花粉の形成も観察された (Table 5-1-1)。その中で、花序別の葯の表現型の出現では、3番花までは、花粉の形成が観察されたが、4番花以降は葯の発達は観察されたものの花粉の形成には至らなかった (Table 5-1-2)。

#### 生育中の段階的・高温処理による雄ずいの表現型

定植1週間後から高温処理を開始した区では、全ての小花の葯が回復し、花粉が形成された。定植2週間後から高温処理を開始した区では、花序により immature anthers から intact anthers の異なる雄ずいの表現型が出現し、花序の後半になるにしたがい、雄ずいに花粉が形成される頻度が高くなった。すなわち1番花においては、小花数の66.7%に花粉が形成され、2番花においては小花数の85.7%に花粉が形成された。3番花においては、全ての小花で花粉が形成された (Table 5-1-3)。

#### 定植後の高温積算日数による雄ずいの表現型

高温遭遇する日数が増加するにつれて、雄ずいの表現型が antherless stamens から undeveloped anthers, immature anthers, indehiscent anthers, intact anthers へと変化した (Table 5-1-4)。定植4日後までから7日後までの高温処理では雄ずいの表現型は antherless stamens であった。定植8日後までから17日後までの高温処理では、葯の先端が膨らみ、湾曲する undeveloped stamens の表現型が発現した。定植後18日以上高温処理では葯の形成が観察され、定植後20日以上高温処理において花粉の形成が確認された。

#### (4) 考察

定植後の高温処理期間の長短と、植物体の雄ずいの形成状況を観察すると、雄ずいの段階的な発達が観察された。すなわち、高温処理期間が短いと、葯の形成が未発達で、高温処理期間が長いと、葯が発達し、花粉が形成されるようになった。さらに定植後、一定期間高温処理した試験区においては、3週間継続して高温処理した区は、葯および花粉の回復が見られたが、1週間または2週間継続して高温処理した区においては、2週間区で葯の発達が観察されたものの、花粉の回復は見られなかった。このことから、葯の回復における温度の影響については、積算気温が関係しているように思われる。高温処理開始を定植1週間後、および2週間後と段階的にずらした試験においては、花序によって葯や花粉の回復状況が異なった (Table 5-1-3)。また、生育初期に高温処理期間を限定した試

験においては、定植後3週間だけ高温処理した区でも花序によって花粉の回復が異なっていた (Table 5-1-2)。このことから稔性回復に必要な積算気温は短期間の温度によるものと思われる。また、花序によって葯の表現型が異なるため、高温に感応する器官は花器であることが推定される。花器の発達、すなわち花芽の分化、発達過程のいずれかの時期の高温感応によって葯や花粉の回復が促進されると思われる。葯が形成され、花粉が形成される時期で早いものは定植後18~20日前後 (Table 5-1-4) の高温処理であるが、この時期は花芽発達期の雄ずい形成期から雌ずい形成期にあたる期間である (本報告 3-4)。ユリの花は無限花序で、花序が一斉に発達することなく、1~2日程度の時間差で花器が発達する。高温処理開始をずらした区と期間を限定して高温処理した区において、花序で葯の表現型が異なるのは、時間差で発達する花序と高温遭遇する期間が合致しなかったためと思われる。 *Brassica napus* L. (志賀・馬場 1973) では、雄性不稔の発現時期を心皮分化期近辺と推定しているが、'秋田プチホワイト'においては、反対にそれらの時期に近い生育ステージに高温遭遇すると稔性が回復すると思われる。

花芽分化期を外観で判断するのは困難である。アジアティックハイブリッドユリの花芽分化期については、球根内で花芽分化を開始する品種と、茎葉の伸長後に花芽分化するタイプに分けられる (Ohkawa et al. 1990) が、'秋田プチホワイト'後者のタイプである。栄養生長期の植物体の頂部は、つまむと軟らかい。花芽の発達が始まり、生殖生長期に移行し、出蕾期に近づくると頂部の生長点付近は、つまむと硬くなっている(データ未掲載)。このことから、頂部の生長点付近が硬くなる頃が花芽発達期と推定され、これが簡易的な高温感応時期の判断基準になるとと思われる。

Table 5-1-1. The effects of timing and duration of high temperature treatment on the phenotype of atemens in the Asiatic hybrid 'Akita Petit White'.

*Duration of high temperature treatment (week)	Number of flowers with antherless stamen	Number of flowers with undeveloped anther	Number of flowers with immature anther	Number of flowers with indehiscent anther	Number of flower with intact anther	Total numbers of flowers
1	131	6	0	0	0	137
2	42	61	33	0	0	136
3	0	10	101	13	13	137

\* high temperature treatment had initiated immediately after planting

Table 5-1-3 The effects of the time of initiation of high temperature treatment on the phenotype of stamens in the Asiatic hybrid cultivar 'Akita Petit White'.

Time of initiation of high temperature treatment	The position of flowers in a inflorescence	Number of phenotype of stamens					Total Number of flowers
		Number of flowers with antherless stamen	Number of flowers with undeveloped anther	Number of flowers with immature anther	Number of flowers with indehiscent anther	Number of flower with intact anther	
one week after planting	First	0	0	0	0	15	15
	Second	0	0	0	0	10	10
	Third	0	0	0	0	3	3
Two weeks after planting	First	0	0	5	5	5	15
	Second	0	0	1	3	3	7
	Third	0	0	0	0	3	3

Table. 5-1-2. Effect of phenotype of anther on the inflorescence under high temperature condition at 32/25 for three weeks.

Position of flowers in a inflorescence	Number of flowers with undeveloped anthers	Number of flowers with immature anthers	Number of flowers with indehiscent anthers	Number of flowers with intact anthers	Total number of flowers
First	2	11	2	8	23
Second	2	11	5	5	23
Third	2	16	5		23
Fourth	2	21			23
Fifth	2	20			22
Sixth		15			15
Seventh		7			7

Table 5-1-4. The effects of duration of change of phenotype of stamens by accumulated day after cultivated 'Akita Petit White'.

Duration of treatment of high temperature started 4 days after planting	Phenotype of stamen				
	Number of flowers with antherless stamen	Number of flowers with undeveloped anther	Number of flowers with immature anther	Number of flowers with indehiscent anther	Number of flower with intact anther
1	3				
2	3				
3	3				
4	3				
5	1	2			
6	2	1			
7		3			
8		3			
9		3			
10		3			
11		3			
12		3			
13		3			
14		3			
15			3		
16			3		
17			1	1	1
18			2	1	
19			1	1	1
20			1		2
21			1		2
22					3
23					3
24					3
25					3

## 5-2 稔性が回復する温度感応期間

### (1)はじめに

植物の雄性不稔は遺伝的に安定しているものではなく、雄性不稔のなかには温度や日長の環境条件によって稔性に变化する環境感応性雄性不稔が知られている (Kaul 1988)。コリの雄性不稔の発現については、いくつかの報告 (VanderMeulen-Muisers *et al.* 1999, Grassotti and Mercuri 1996, Yamagishi 2003)があるが、コリの環境感応性雄性不稔に関する報告は少なく、Yamagishi (2003) が、開花期によって雄性不稔の雄ずいで薬を形成しない undeveloped anther から花粉を形成する immature anthers に变化することを確認し、温度などの環境条件によるであろうと推察した。他には明確に温度感応性雄性不稔であることを明らかにしたアジアティックハイブリッドコリにおける温度感応性雄性不稔に関する 1 例 (Sato and Miyoshi 2006) があるだけである。そのため、これまでにコリの環境感応性雄性不稔についてはほとんど研究がなされてこなかった。Sato and Miyoshi (2006) の報告からアジアティックハイブリッドコリの稔性回復は、温度条件に支配されていて、しかも高温域によって回復し、その温度は品種によって異なることが明らかにされている。さらに本報告 5-1 において、antherless タイプの雄性不稔アジアティックハイブリッドコリ '秋田プチホワイト' の稔性回復に影響する生育ステージは定植 3 週間前後の雄ずい分化期～雌ずい分化期の間であることが推測された。しかしながら、高温に感応する生育ステージにおいて、稔性回復に要する時間については不明である。

本節では、雄性不稔アジアティックハイブリッドコリ '秋田プチホワイト' を用いて雄性不稔が稔性回復するために必要な高温遭遇時間について検討する。

### (2)材料および方法

2002 年 11 月 3 日に掘り取った '秋田プチホワイト' の球根を球周 10 ~ 12cm に選別後、30cm(幅)×22cm(長さ)×30cm(高さ)のダンボール箱に入れて - 2 で冷凍貯蔵した。球根の冷凍は、6 週間 (2002 年 11 月 13 日から 2002 年 12 月 25 日) 暗黒下 1 で予冷した後、- 2 で冷凍貯蔵した。冷凍貯蔵した球根を、2003 年 7 月 2 日から 5 で 10 日間解凍した。解凍後 7 月 12 日に径 13.5cm の白色プラスチック鉢に 3 球ずつ計 15 (45 球) 鉢に定植して、温度 18/11 (低温区) 日長時間 14 時間、相対湿度 70% に調節したグロースキャビネット (Koitoron, Kioto Ind. Co., Ltd., Tokyo, Japan) で栽培した。光源は白色蛍光灯で、光強度は鉢上面で  $256 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  であった。

低温区で栽培して、第 5 章第 1 節において推察さ

れた出蕾期前の生長点付近が硬くなったと判断した生育時期に (Fig. 1A-B) 植物体を鉢のまま、温度 32/25

(高温区) 日長時間 14 時間に調節したグロースキャビネット (Koitoron, Kioto Ind. Co., Ltd., Tokyo, Japan) に短期間移動し、高温処理を行った。高温区のグロースキャビネットへの移動期間は、1 日、2 日、3 日、4 日および 5 日として、1 区あたり 3 鉢ずつ高温処理を行った後、再び低温区 (18/11) のグロースキャビネットに移して開花まで栽培して薬の形成状況を調査した。発現した薬については生のまま薄くスライスして切片を作成して実体顕微鏡 (SZX12; Olympus Corp., Tokyo, Japan) により、薬と花粉の形態について観察した。

高温処理して形成された雄ずいにおいて、雄ずいのなかで不規則に着色した薬が発現したため、それらについては、花粉をラクトフェノールコットンブルー液で着色し、光学顕微鏡で花粉の稔性調査を行った。

### (3)結果

1 ~ 5 日間の高温処理日数により、それぞれ雄ずいの表現型の段階的な変化が観察された。すまわち、高温処理 1 日区においては全ての雄ずいは antherless stamens を示した (Fig. 5-2-2A)。高温処理 2 日区では、薬の先端が膨らむが明確な薬ではない表現型の undeveloped stamens と明確に薬が発達しているが薬が黄色で花粉の形成がない表現型の immature anthers、そして薬がオレンジ色または、immature anthers の黄色よりもさらに濃い黄色に着色しているが開薬しない表現型の indehiscent anthers の 3 つのタイプの表現型が混在して出現した (Fig. 5-2-2A-C)。高温処理 3 日および 4 日区では、immature anthers と薬がオレンジ色に着色する indehiscent anthers の 2 つのタイプが発現した (Fig. 5-2-2A-C)。特に高温処理 4 日区では、小花の 6 本の雄ずい全ての薬がオレンジ色に着色した。高温処理 5 日区では、immature anthers、indehiscent anthers が発現し、更に花粉が回復し薬が裂開する正常な intact anthers の 3 つのタイプの表現型が発現した (Fig. 5-2-2C-D, Table 5-2-1)。

雄ずいの表現型において、ひとつの植物体のなかでも花序によって表現型が異なり、immature anthers、indehiscent anthers、intact anthers が混在した (Fig. 5-2-3)。しかも indehiscent anthers では、1 小花の 6 本の雄ずいのなかで 6 本の雄ずい全てに薬が回復する小花以外に、1 ~ 5 本の雄ずいに薬および花粉が形成される表現型が出現した (Fig. 5-2-4)。数本の雄ずいに薬が形成された小花については、まず始めに外花被側の雄ずいから順番に 1 ~ 3 本の雄ずいに薬が形成されてから、続いて内花被側の雄ずいに薬が形成される規則性がみられた。また、1 つの雄ず

いでも葯のうの片側だけオレンジ色に着色する不完全な葯が観察された(Fig.5-2-2C)。

それぞれの高温処理期間によって形成された葯の切片による観察においては、immature anthers では葯のうは明確な形態になっていなかった(Fig.5-2-6A)。

Indehiscent anthers においては、黄色とオレンジ色に着色した葯の表現型が観察されたが、それぞれ葯のうの明確な形成が認められ、形成が着色した部分には花粉粒の形成が観察されたものの、4つの葯のうの中で、1つの葯のうに花粉粒が形成されるような部分的な花粉粒の形成が観察された(Fig.5-2-6B,C)。部分的に濃い黄色に着色した葯では、花粉粒は塊状に形成され(Fig.5-2-6B)、ラクトフェノールコットンブルー液で着色しなかった(データ未掲載)。オレンジ色に着色した葯の花粉粒(Fig.5-2-6C)の一部は塊状であったが、多くは粒状に分かれ、ラクトフェノールコットンブルー液では青色に着色した(Fig.5-2-5)。Intact anthers の開花直前の葯の切片では、4つの葯のうにそれぞれ花粉粒が形成された(Fig.5-2-6D)。

黄色に着色し、花粉の形成が見られない immature anthers の表現型の葯は、開花数日後に白色になり、しぼんでいく様子が観察された(Fig.5-2-7A-B)。

#### (4) 考 察

高温処理を開始した植物体の生育ステージは、肉眼で出蕾が見えるようになる前で、植物体の頂部の生長点が触感で硬くなった時期であった(Fig. 5-2-1A,B)。本報告 5-1 により、この時期が温度感応時期であると推察されたため、本試験ではこの出蕾期前の生育ステージを基本として高温処理を行った。外観による判断では、正確な温度感応時期として曖昧であるが、結果は十分満足できるものであった。すなわち 1 日 14 時間の高温処理(32/25 )を、1 日間だけだと全ての雄ずいが antherlessstamens であるが、2 日間継続すると葯の分化・発達を観察され undeveloped anthers や immatureanthers、 indehiscent anthers が混在して発現した。さらに 5 日間継続( 1 日 14 時間処理)して高温処理した区は、6 本全ての雄ずいに葯が回復し、開葯、花粉が露出した雄ずいが発現した。

本試験の結果から、高温が 2 日間以上続くと葯の回復と花粉形成のスイッチが入ると考えられる。さらに 1 つの植物体でも花序により葯の表現型が異なり(Fig.5-2-3)、また小花の中でも雄ずいの葯の表現型が異なることがある(Fig.5-2-4)。このことから高温に感応する期間は短時間に行われ、一度高温に感応すると、その後の低温でもその効果は打ち消されずに継続して進行すると思われる。反対に、高温に感応する生育ステージに低温で経過すると、その後の高温に遭遇しても葯の回復は生じないと考えられる。

雄ずいの表現型で、indehiscent anthers の雄ずいは、本報告 3-4 で示したように数本の雄ずいに葯が形成される場合は、まず始めに外花被側の雄ずいの 1 ~ 3 本に葯が形成され、続いて内花被側の雄ずいに葯が形成されていく規則性が観察された。タマネギの花の分化順序において、6 本の雄ずいのうち、外側の 3 本の雄ずいが最初に分化し、続いて内側の 3 本の雄ずいが分化、発達することが観察されている(勝又 1985)。ユリの花芽発達過程もタマネギと同様に、全ての花序が一斉に分化することがなく、時間差で発達することで生じると思われる。また、葯が回復する雄ずいの本数が異なるのは、6 本の雄ずいの発達するスピードが一斉ではなく、規則的に発達がずれているものと思われる。このことから、1 本の雄ずいの葯の形成が回復し、花粉が形成されるタイミングは極めて短いタイミングであると思われる。そして 6 本全ての雄ずいが葯を形成し、花粉を形成するには 5 日間以上の高温処理期間が必要であることが推察された。

さらに、高温処理日数が 2 日以上の場合、immature anthers の発現があるが数日後には花粉が形成されずに雄ずいの先端がしぼんでいく葯が観察された。このことから、稔性回復に及ぼす温度の影響は、葯の回復に要する温度遭遇とそれに引き続き起こる花粉の回復に要する温度遭遇とが連続して遭遇することで引き起こされると思われる。すなわち、葯の回復に必要な高温遭遇をしても、その直後に高温遭遇が中断した場合には、花粉の形成が行われない。このことは 1 つの葯に花粉が形成されない不完全な雄ずいが生じることからも推察される。

Table 5-2-1. The effects of short-term high temperature treatment at 32/25 on the phenotype of stamens in the Asiatic hybrid lily 'Akita Petit White'.

Duration (day)	Number of flowers with antherless stamens	Number of flowers with undeveloped anthers	Number of flowers with immature anthers	Number of flowers with indehiscent anthers	Number of flowers with intact anthers	Total number of flower
1	9					9
2		4	4	1		9
3			4	3		7
4			5	3		8
5			2	5	2	9

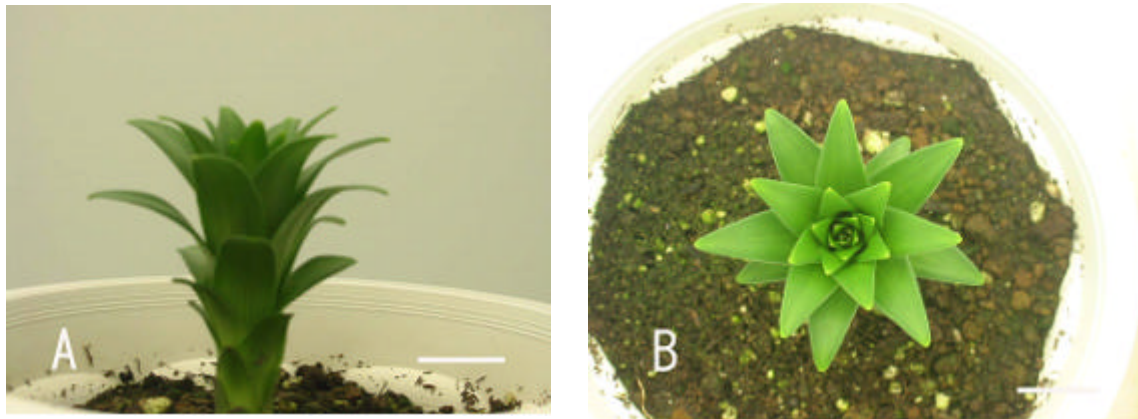


Fig.5-2-1A-B. The plant posture in the timing when pot transferred to growth cabinet. A : It shows the timing when growing point returned hard. B : The plant posture on the upper side. Bar=1cm.

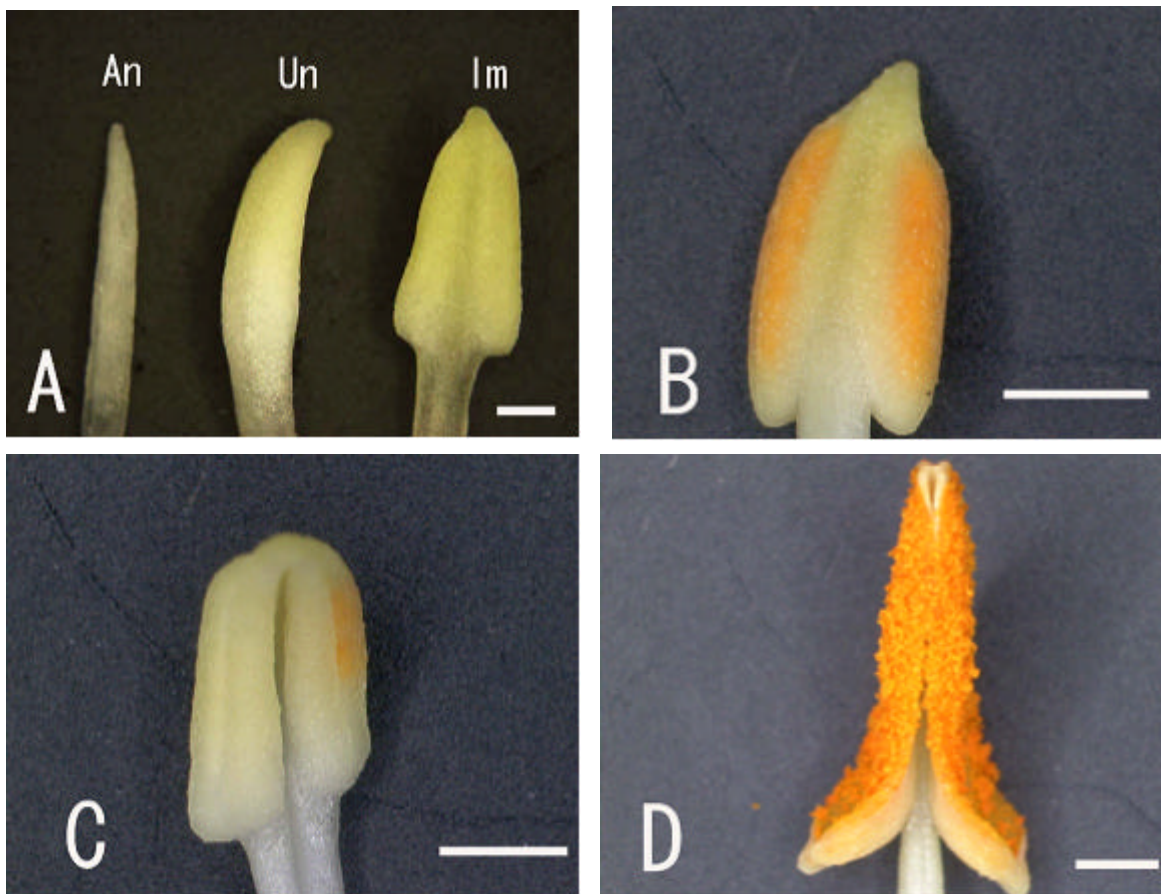


Fig.5-2-2. Different phenotype of stamens were formed under high temperature condition (32/25 °C). A; Left; Antherless stamen was formed under high temperature condition for one day. Center; Undeveloped anther was formed under high temperature condition for two days. Right; Immature anther was formed under two, three, four, five days, respectively. An: antherless stamens. Un: undeveloped anthers. Im: immature anthers. B : Indehiscent anther was formed under high temperature condition for two to five days. C : Indehiscent anther with pollen in contained in one loculus was formed under high temperature condition for five days. D : Intact anther was formed under high temperature condition for five days. Bar=5mm.



Fig. 5-2-3. A flower with intact anthers and one with immature anthers were observed in one plant under high temperature condition at 32/25 . Int: intact anthers. Im: immature anthers. (Bar=3cm)

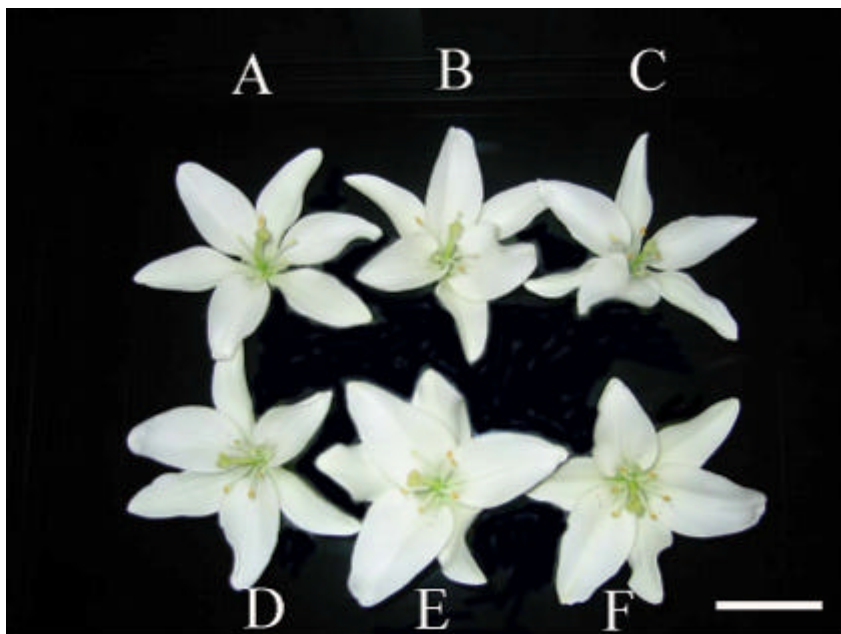


Fig. 5-2-4. Restoration of intact anthers were dependent of the duration of high temperature condition irregularly. A; One of the six stamens was restored intact anther. B; Two of the six stamens were restored intact anther. C; Three of the six stamens were restored intact anthers. D; Four of the six stamens were restored intact anthers. E; Five of the six stamens were restored intact anthers. F; All stamens were restored intact anthers. Inner three intact anthers were restored followed by formation of outer three anthers when treatments were prolonged. (Bar=3cm).



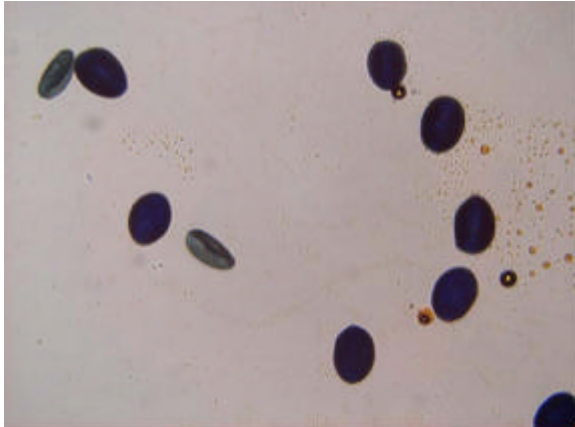


Fig.5-2-5. Restored pollen grains collected from plant treated with high temperature of 32/25 for three days, were stained by lactophenol-cotton blue.

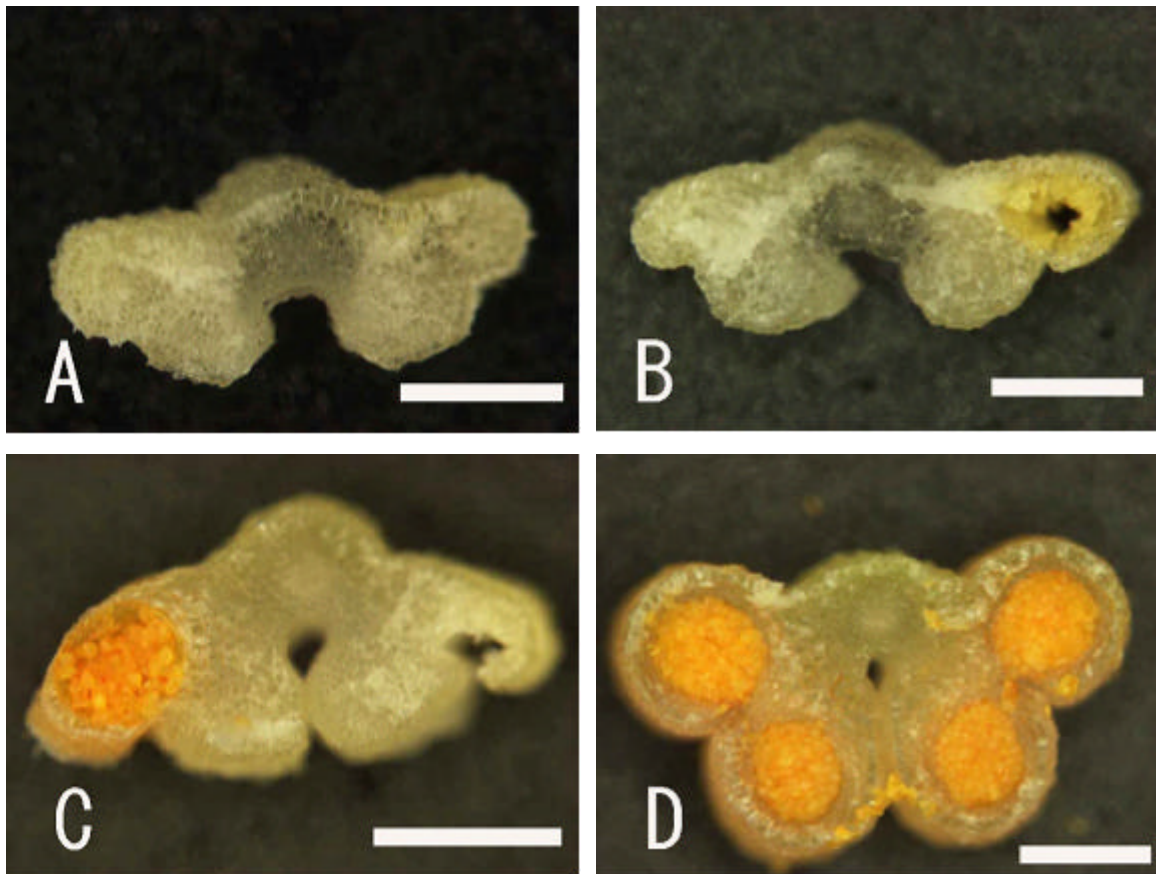


Fig.5-2-6. Cross section of restored anther under high temperature condition for few days. A; Cross section of immature anthers. No anther locule contained pollen grains. B; Cross section of indehiscent anthers. One of four loculus contained yellowish pollen grains. C; Cross section of indehiscent anthers. One of four loculus had orange pollen grains. D; Cross section of intact anthers before dehiscence, which contained pollen in all loculus. Bar=2mm.

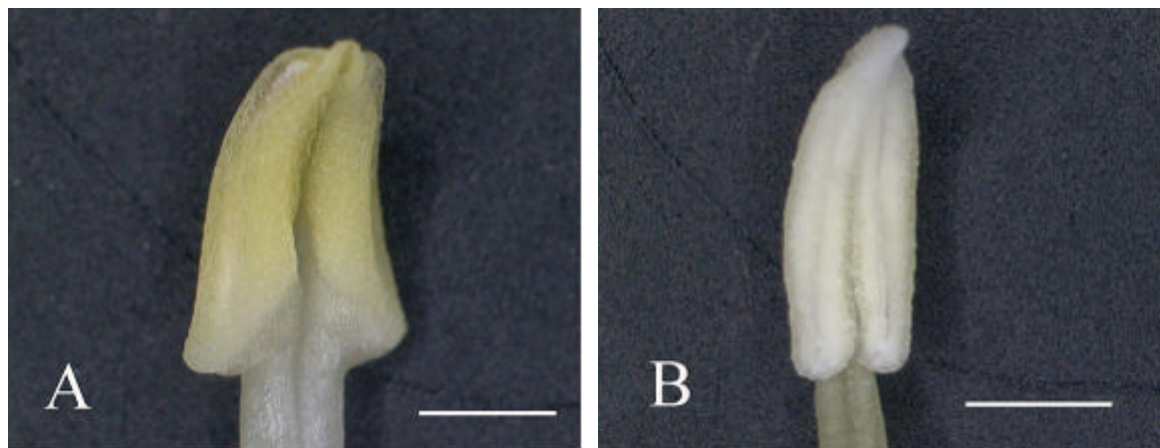


Fig.5-2-7A-B.Immature anthers were formed in a plant treated with high temperature condition for three days. A;malformed anther was yellow just after the bloom. B;Anther sturned white and withered three days after bloom.Bar=3mm.

## 6 アジアティックハイブリッド雄性不稔品種の稔性回復する温度域の品種間差異

### (1)はじめに

アジアティックハイブリッドコリ (*Lilium* spp.)は世界中の多くの国々で好まれている切り花である。

秋田県農業試験場では、花粉が形成しない品種を育種目標として品種改良を行ってきた。その育種プログラムの結果として、雄性不稔のシリーズ化した品種を育成した。‘秋田プチホワイト’は最初に育成した品種である(柴田 2002)。この品種は白色の花で花弁の斑点は極少で antherless の雄ずいの品種である。‘秋田プチホワイト’の育成に引き続き、黄色花色の3品種の雄性不稔品種‘秋田プチレモン’‘秋田プチゴールド’‘秋田プチクリーム’を育成した(浅利ら 2005)。秋田県の初夏咲きの典型的な季咲き栽培において‘秋田プチレモン’と‘秋田プチゴールド’は antherless の雄ずいで‘秋田プチクリーム’は immature anthers な雄ずいを形成する。それら品種において秋咲きの切り花での収穫期間を拡大するための栽培試験において、‘秋田プチクリーム’の400個体中で1%以下の頻度で完全な葯を形成する個体を確認した。その他の2品種では、完全な葯を形成する個体は確認されなかったが、‘秋田プチクリーム’における正常な葯が形成した頻度と同様な頻度で、immature anthers が形成されることを確認した。

雄性不稔は、様々な植物体で報告されていて、雄性不稔の発現は、温度や日長などの環境条件によって影響されることが知られている(Kaul 1988)。温度感受性雄性不稔は、タマネギ(Barham and Munger 1950)、ナタネ(Thompson 1972)、ペチュニア(Izhar 1977)、イネ(Viraktamath and Virmani 2001)で報告されてきた。第2章において、‘秋田プチホワイト’の雄性不稔は温度感受性であり、温度に反応して3種類のパターンを示すことを明らかにした。32/25 (14/10h)の高温区と18/11 (14/10h)の低温区は雄ずいの形成に対して正反対の効果があった。高温区で生育させると試験に用いた全ての花の雄ずいで完全な葯が回復した。一方、低温区で生育させた全ての花では完全な葯は観察されなかった。25/18 (14/10h)の中温区で生育させた花では、花粉粒を形成しないで花糸の先端が黄色に着色し、膨らんで湾曲した undeveloped anthers になった。

本節では、3つの雄性不稔コリ品種の葯の回復に対する温度の影響を検討するためにグロースキャビネットを32/25の高温区、25/18の中温区、18/11の低温区の3区の温度処理で栽培して、形態的な変化を観察した。更に組織化学的な染色や電子顕微鏡によって回復した葯に含まれる花粉の稔性を調査した。

### (2)材料および方法

アジアティックハイブリッドコリの3つの雄性不稔品種‘秋田プチレモン’‘秋田プチゴールド’‘秋田プチクリーム’を本試験で用いた。それらは1992年に交配したアジアティックハイブリッドコリ品種‘コネチカットキング’と‘メントン’の正逆交雑の後代から選抜した品種である。それらは秋田県農業試験場の圃場において、10年間リン片増殖によって球根を養成してきた(浅利ら 2005)。親品種はどちらも正常な葯を有する雄ずいの市販品種である。‘コネチカットキング’は‘秋田プチクリーム’と‘秋田プチゴールド’の雌性親であり、‘メントン’は‘秋田プチクリーム’の雌親である(Table 6-1)。初夏に開花する切り花として季咲き栽培では、‘秋田プチゴールド’と‘秋田プチレモン’の雄ずいは antherless stamens (Fig. 6-1A)であり、‘秋田プチクリーム’の雄ずいは花粉粒が無く、開葯することもない immature anthers である(Fig. 6-1B)。

実験には、球周12~14cmの球根を用いた。それぞれの品種を24球ずつ湿ったパーミキュライトを詰めたダンボール箱に入れた。球根は6週間(2002年10月30日から11月11日まで)1で予冷して11月11日から2で冷凍貯蔵した。2ヶ月間貯蔵した後(2003年2月26日)球根を12で5日間暗黒下において、伸長を促すために解凍した。2003年3月3日に土を詰めた素焼き鉢にそれぞれ球根を定植した。24個の素焼き鉢を任意に3つのグループ分けてそれぞれ独立したグロースキャビネットに移した。植物体は3つの温度処理区で栽培した。すなわち、32/25 (14/10h)の高温区(HT)、25/18 (14/10h)の中温区(MT)、18/11 (14/10h)の低温区(LT)である。相対湿度は全てのグロースキャビネットを約70%に調節した。日長は14時間日長で光源は、46個の96W蛍光灯と、8個の60W白熱灯である。光強度は鉢上面において $256\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ であった。

各品種の花器の特性を開花した時に調査した。「plant with intact filaments」は、全ての花において6本の正常な花糸を有する植物体として定義した。「plant with petaloid filaments」は、少なくとも1本の花弁化した花糸を有する植物体として定義した。「plant with intact stigma」は、全ての花で正常な柱頭を有する植物体として定義した。「plant with split stigma」は、少なくとも1つの花の柱頭が割れている植物体として定義した。

回復したいろいろな葯、すなわち immature anthers, indehiscent anthers, intact anthers の中の花粉の顕微鏡観察では、スライドガラスに花粉をまぶして、ラクトフェノールコットンブルーで染色し、200倍の倍率の光学顕微鏡で観察した。開花当日の花

粉をカーボン蒸着し、走査型電子顕微鏡で花粉粒を観察した(SatoandMiyoshi2006)。

### (3) 結果

高温区(32/25)における栽培で、「プラスチック」と呼ばれる花芽発達の抑制が、「秋田プチクリーム」「秋田プチレモン」で8株中4株に生じたが、「秋田プチゴールド」では発生しなかった。

「秋田プチレモン」と「秋田プチゴールド」において、低温区での栽培では全ての雄ずいは薬を欠失していた。中温区における栽培では、両品種ともにimmature anthersが全ての雄ずいに形成された。この表現型は、以前に秋に咲く切り花としての抑制作用で低い確率で生じた雄ずいと同様であった。「秋田プチレモン」の高温区での栽培では、開花した花数は少なく、開花した花の雄ずいは全て稔性のある花粉が形成された(Fig. 6-1D)。「秋田プチゴールド」の高温区の栽培においては、プラスチックは生じず、開花した花数も低温区で開花した花数とほぼ同数であった。その花の雄ずいには薬を形成したが、開薬せずに褐色のまま、発達した花粉でなかった(Fig. 6-2, Table 6-2)。

低温区で栽培した「秋田プチクリーム」の全ての雄ずいは、花粉を欠き開薬しないimmature anthersを形成した。この表現型は、上記で述べた圃場試験で栽培した時に観察した表現型と同様である。「秋田プチクリーム」は、中温区でさえ、開薬して機能的な花粉を回復する品種であった。中温区と高温区の両区では、開花した全ての花の雄ずいに完全な薬が回復した(Fig.6-2, Table6-2)。

「秋田プチクリーム」の中温区と高温区で回復した薬と「秋田プチレモン」の高温区で回復した薬には正常な花粉粒が含まれており、それらはラクトフェノールコットンブルー染色で青く染色された。しかしながら、高温区で回復した「秋田プチゴールド」の薬の花粉粒はラクトフェノールコットンブルー染色で染色されなかったし、走査型電子顕微鏡観察では花粉粒は変形して縮んでいた(Fig.6-3)。

花糸と柱頭のアノミオティックな変化が「秋田プチレモン」と「秋田プチクリーム」において観察された(Fig. 6-4)。「秋田プチクリーム」と「秋田プチレモン」において花弁になる花糸(petaloid stamens)の変形が3区の温度処理区全てにおいて観察された(Table6-3)。「秋田プチクリーム」のpetaloidstamensが生じる頻度は低温区において12.5%であり、中温区と高温区においてはそれぞれ75%と50%に増加した。「秋田プチレモン」のpetaloid stamensの生じる頻度は3区の温度処理区において37.5%~62.5%であり、petaloid stamensと温度との間に相関は認められなかった。割れる柱頭は、「秋田プチレモン」にの

み発生し、その頻度は3区の温度処理において12.5%~75%であった。

### (4) 考察

「秋田プチホワイト」の雄性不稔は温度に反応して3つのパターンを示し、高温と低温は雄ずいの形成に対して正反対の影響を与えることを本報告2において明らかにした。正常な薬は高温区で栽培した花の全ての雄ずいにおいて形成されたが、低温区では正常な薬は観察されなかった。中温区においては、花糸の先端が黄色に着色し、膨らんで湾曲した未発達で花粉の形成のない薬が全ての花の全ての雄ずいにおいて観察された。中温区において栽培された「秋田プチホワイト」の回復した不完全な薬は*Arabidopsis*のundeveloped antherの突然変異体の薬(Sanders et al. 1999)とほとんど同じであった。それは正常な薬の代わりに先端が湾曲した花糸に似た構造をしていた。*Pollenless*の突然変異体はYamagishi(2003)によりアジアティックハイブリッドユリで最近報告された。中温区で栽培された「秋田プチホワイト」の薬は未発達の薬として、関連する表現型はほとんど同一である。

本報告2において検討した「秋田プチホワイト」で用いたグロースキャブネットと同様な3区の温度処理区を設けて、「秋田プチクリーム」「秋田プチレモン」「秋田プチゴールド」の雄性不稔の3品種の薬の回復における温度反応を明らかにし(Table 6-2)、2つの新たな表現型が雄性不稔の反応で明らかになった。未開薬で白色のままの未成熟の薬で花粉粒は含まれていない(Fig. 6-1B)。この表現型は3品種でそれぞれ「秋田プチレモン」「秋田プチゴールド」は中温区で「秋田プチクリーム」では低温区で生じた(Table 6-2)。Immature anthersとundeveloped anthersの形態的な比較から薬の発達段階は回復する間に前者の形態がより促進されたものと思われた。未開薬の不健全な薬は赤褐色になって未熟な花粉粒だけ含まれていて、別の新規な表現型を表した。この表現型は、「秋田プチゴールド」で高温区にだけ観察された。

「秋田プチレモン」「秋田プチゴールド」「秋田プチクリーム」は薬の回復における反応は温度によって異なった。「秋田プチレモン」の反応(Table6-2)は、前節において報告した「秋田プチホワイト」とは中温区で異なる反応を除いてほとんど同じである。このように「秋田プチレモン」の高温と低温の温度反応は「秋田プチホワイト」とほぼ同じであるが、中温区での反応が異なった。「秋田プチゴールド」では、別の表現型が高温区で観察されて、それは未熟な花粉粒を形成して開薬しないものの形態的に正常な薬である。これらの観察から「秋田プチゴールド」における完全な薬の回復のために要求される温度範囲は、「秋田プチホワイト」や「秋田プチレモン」よりも高温であるこ

とを示唆している。‘秋田プチゴールド’は高温区で「プラスチック」の生じない唯一の品種であった。葯の回復と同様に生育に関する‘秋田プチゴールド’の温度反応は試験に用いた他の品種よりもより高温域に移っているかもしれない。

低温区で栽培した‘秋田プチクリーム’の雄ずいの表現型は immature anthers が発現した。一方、‘秋田プチレモン’と‘秋田プチゴールド’においては、低温区では葯の分化の兆候はなかった。‘秋田プチクリーム’の葯の回復のための分化の温度範囲は試験に用いた他の2品種よりもより低温であるかもしれない。雄ずいの回復は中温区と高温区において生じて機能的な花粉粒を有する正常な葯が形成された。それらの結果は、‘秋田プチクリーム’において、葯の発達が回復する温度範囲は、‘秋田プチホワイト’よりも低いことを示している。雄性不稔アジアティックハイブリッドユリ品種における葯の回復の温度感受性の様相を検討するためにさらなる実験が必要である。

植物育種プログラムを始めるうえで重要なことは、適切な育種母本を得ることにある。本試験では、市販品種が様々な温度条件下で十分に評価されることで育種のための様々な雄ずいの表現型を持つ温度感受性雄性不稔ユリ系統を価値のある育種源として利用可能であること示した。3品種が異なる3区の温度処理の下で栽培したときに高温区で‘秋田プチゴールド’だけに開葯しない、赤褐色の形態的に正常な葯が観察された(Fig. 6-1C and Table 6-2)。回復する葯のこの新特性は葯のない雄性不稔よりもより高い市場評価が得られるかもしれない。なぜならば赤い葯は花卉に対して魅力的な対象物を提供することで美的に気に入ら

れるからである。

Benedito *et al.* (2005)は、環境的なストレスが発生的ホメオティックな変化を誘導することが可能で、ユリでは tepal-stamen の組織は高温によって強いられる生理学的なストレスの結果として生じることを提唱した。本試験において、花弁化した雄ずいが観察され、すなわち、whorl 3 の雄ずいが花被片のような構造に変化した。そのような構造の発現は遺伝子型によることを示した。そのような器官は、‘秋田プチホワイト’と‘秋田プチレモン’では観察されたが、‘秋田プチゴールド’では全ての温度区でも観察されなかった(Table 6-3)。3区の温度処理区での‘秋田プチレモン’と‘秋田プチゴールド’におけるそのような器官の発現の比較では、低温区では8株中1株だけが花弁化した雄ずいを形成したのに対して中温区では8株中6株が形成したため、‘秋田プチレモン’がより温度に感受性がある。

割れる柱頭は、3区の温度処理区で栽培した‘秋田プチレモン’にだけ生じて、他の2品種では生じなかった。割れる柱頭は突然変異花 LEUNIG (LUG) の特性であり LUG はいくつかの花のホメオティック遺伝子の発現を調節するようである(ConnerandLiu 2000)。LUG のようなホメオティック遺伝子の調節が割れる柱頭や whorl 3 の花弁化した雄ずいの発現に関係するかどうかは更なる実験により明らかになるだろう。共通の機構が雄ずいの温度感受性による回復を調節するかまた花器の whorl 3 と 4 のホメオティックな変化を調節するかどうかもまた更なる実験が必要である。

**Table 6-1. Main characteristics of three male-sterile cultivars of Asiatic hybrid lily.**

Cultivar	Female parent	Male parent	Phenotype of stamens in the field	Color of perianth	Average number of spots per perianth
Akita Petit Cream (APC)	Connecticut King	Menton	Immature anther	Pale cream-yellow	0.0
Akita Petit Lemon (APL)	Menton	Connecticut King	Antherless	Lemon yellow	0.0
Akita Petit Gold (APG)	Connecticut King	Menton	Antherless	Golden yellow	0.3

**Table 6-2. Restoration of anthers and viable pollen in three male-sterile cultivars of Asiatic hybrid lily after growth under three different temperature regimes.**

Cultivar	Temperature (°C) (14/10h)	Number of plants grown	Number of plants bloomed	Total number of flowers	Number of flowers without anthers	Number of flowers with immature anthers	Number of flowers with intact anthers but non-viable pollen	Number of flowers with intact anthers and viable pollen
Akita Petit Lemon (APL)	18/11	8	8	34	34	0	0	0
	25/18	8	8	30	0	30	0	0
	32/25	8	4	9	0	0	0	9
Akita Petit Gold (APG)	18/11	8	8	81	81	0	0	0
	25/18	8	8	90	0	90	0	0
	32/25	8	8	82	0	0	82	0
Akita Petit Cream (APC)	18/11	8	8	36	0	36	0	0
	25/18	8	8	28	0	0	0	28
	32/25	8	4	13	0	0	0	13

**Table 6-3. Formation of aberrant filaments and pistils in three male-sterile cultivars of Asiatic hybrid lily after growth under three different temperature regimes.**

Cultivar	Temperature (°C) (14/10h)	Number of plants bloomed	Number plants with intact filaments (%)	Number plants with petaloid filaments (%)	Plants with intact stigmas (%)	Plants with split stigmas (%)
Akita Petit Lemon (APL)	18/11	8	3 (37.5)	5 (62.5)	3 (37.5)	5 (62.5)
	25/18	8	5 (62.5)	3 (37.5)	7 (87.5)	1 (12.5)
	32/25	4	2 (50.0)	2 (50.0)	3 (75.0)	1 (25.0)
Akita Petit Gold (APG)	18/11	8	8 (100.0)	0 (0.0)	8 (100.0)	0 (0.0)
	25/18	8	8 (100.0)	0 (0.0)	8 (100.0)	0 (0.0)
	32/25	8	8 (100.0)	0 (0.0)	8 (100.0)	0 (0.0)
Akita Petit Cream (APC)	18/11	8	7 (87.5)	1 (12.5)	8 (100.0)	0 (0.0)
	25/18	8	2 (25.0)	6 (75.0)	8 (100.0)	0 (0.0)
	32/25	4	2 (50.0)	2 (50.0)	8 (100.0)	0 (0.0)

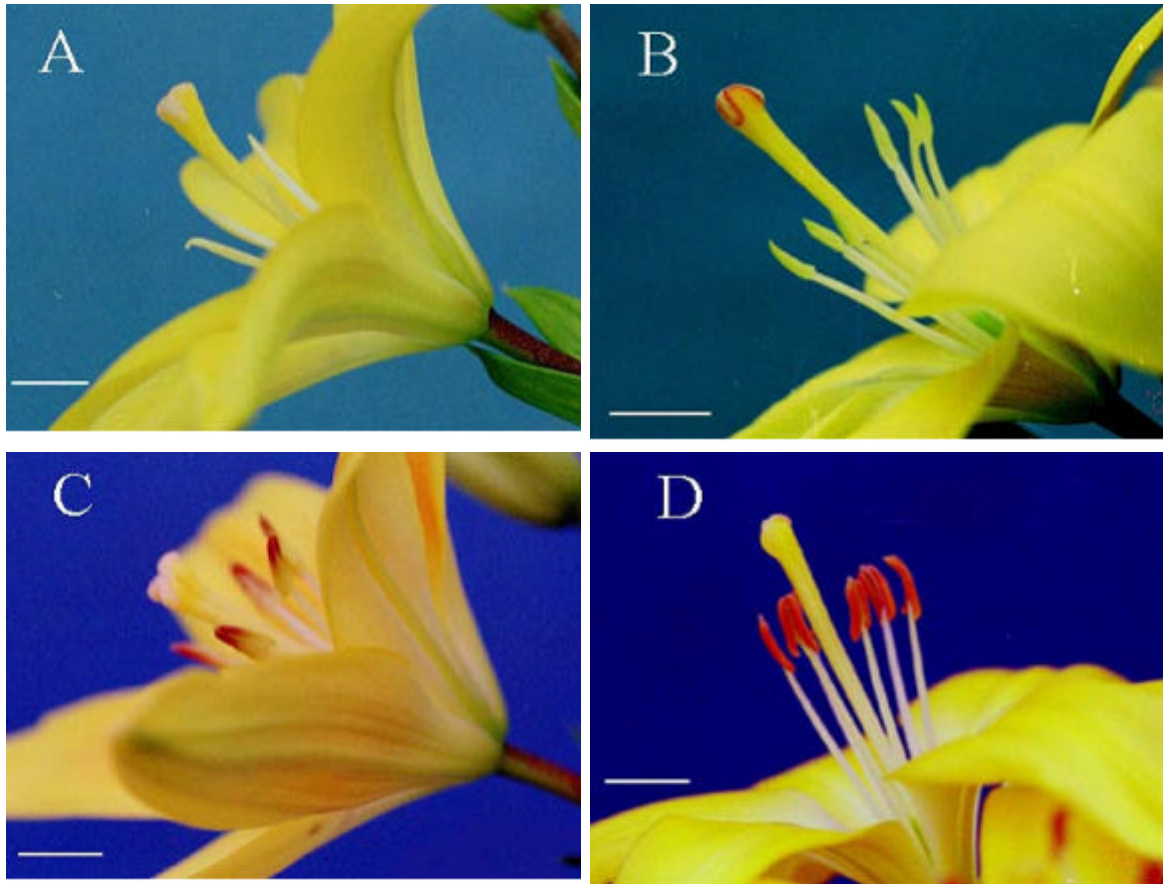


Fig.6-1. Stamens of male-sterile cultivars grown under controlled conditions. **A.** Antherless stamens of 'Akita PetitGold' grown under LT (18/11 ). Bar=1cm. **B.** Immature anthers of 'Akita PetitCream' grown under LT. Bar=1cm. **C.** Intact anthers, containing non-viable pollen, of 'Akita PetitGold' under HT (32/25 ). Bar=1cm. **D.** Intact anthers of 'Akita PetitLemon' under HT. Bar=1cm.



Fig.6-2. Restoration of stamens in 'Akita Petit Cream' after growth under HT (perianth was removed). (a) Immature anthers after growth under LT. (b) Restored anthers with functional pollen after growth under HT. Bar=1cm.

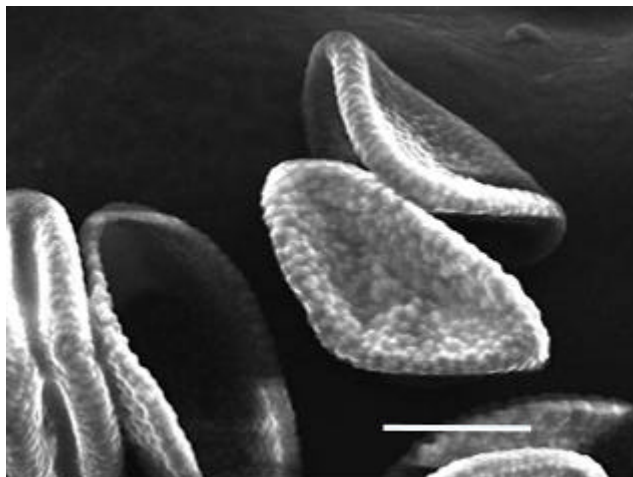


Fig.6-3. Non-viable pollen of 'Akita Petit Gold' after growth under HT, as observed by scanning electron microscopy. Bar=20 $\mu$ m.



Fig.6-4. Three petaloid stamens and a split stigma on APL flower in a plant growing in a greenhouse. Bar=1cm.



## 7 総合考察

ユリ園芸品種は、ロンギフローラムハイブリッド群、オリエンタルハイブリッド群とアジアティックハイブリッド群の3つの雑種群の中に世界の主要な切花品種が含まれている。その中で雄性不稔品種はアジアティックハイブリッド群に多く、次にオリエンタルハイブリッド群から1品種育成され、ロンギフローラムハイブリッド群には雄性不稔品種はまだ育成されていない。ロンギフローラムハイブリッド群の品種や、ロンギフローラムハイブリッド群とアジアティックハイブリッド群との品種による節間雑種により育成されたLAハイブリッド品種では、栽培期間中の高温遭遇により雄性不稔の表現型を示すことが観察されているが、これら雄性不稔は遺伝しなかった(データ未掲載)。本研究により、アジアティックハイブリッドユリ雄性不稔品種は温度に影響されて稔性を回復することが明らかになったが、この稔性回復した表現型も遺伝しなかった。日長については、アジアティックハイブリッド雄性不稔品種‘秋田プチホホワイト’は、短日または長日において、どちらも日長条件においても低温では不稔を示し、高温では稔性を示した。オリエンタルハイブリッドユリ雄性不稔品種‘ティアラ’では、日長を変えても温度を変えても不稔であった。しかしながら、‘ティアラ’では、日長時間によって葯の形態形成に変化はなかったものの、花被片の発達に変化が見られた。ところが‘秋田プチホホワイト’では日長時間の違いによる花被片の発達に変化は見られなかった。これらのことから、環境条件は雄性不稔ユリの花器の分化、発達に影響を及ぼし、特にアジアティックハイブリッドユリ雄性不稔では温度が葯の形態形成に対して影響があり、オリエンタルハイブリッドユリ雄性不稔では日長が花器の発達に対して影響を与えることが示唆された。

アジアティックハイブリッドユリ雄性不稔は、数品種において温度により稔性回復することが確かめられ、オリエンタルハイブリッドユリ雄性不稔では、1品種の試験結果であるが環境条件では稔性が回復しなかった。雄性不稔ユリの発現機構および稔性回復発現機構は明らかでないが、ユリは雑種群によって雄性不稔の遺伝的背景が異なるか、あるいは雄性不稔の発現機構が異なるかもしれない。

本研究では、主にアジアティックハイブリッド雄性不稔品種‘秋田プチホホワイト’を用いて稔性回復する温度の影響について検討を行ったところ、温度が1度の違いで葯の表現型が明確に変化した。しかも花芽分化期の極めて短い期間の高温に反応することが明らかになった。アジアティックハイブリッドユリ雄性不稔には、温度に応じて葯の形態形成を制御する大変興味深い機構があることが推察される。‘秋田プチホ

イト’の葯の形態が温度によって安定した表現型を示すことから、栽培期間中の花芽分化期に2週間程度、28℃以下に降温管理することにより、安定的に雄性不稔の葯の表現型を発現させることが可能になった。

また、雄性不稔の育種プログラムにおいて、雄性不稔系統はそのままでは花粉親として用いることはできない。通常、雄性不稔系統を育種母本にする場合には、雄性不稔系統に対する稔性回復系統と維持系統を見いださなければならないため、その探索には膨大な時間を要する。しかしながら、‘秋田プチホホワイト’のような温度感応性雄性不稔は温度によって稔性を回復させることができるため、容易に花粉親として用いることが可能になった。

## 8 摘要

アジアティックハイブリッドユリ雄性不稔において、雄性不稔が稔性回復する要因と発現機構について第2章から第5章まで4つの章において実験結果を示すとともに議論を行なった。ユリ雄性不稔は環境条件、特に温度によって稔性が変化する温度感応性雄性不稔であったが、その発現過程においては稔性回復に必要な温度域の遭遇時期および遭遇時間によって、葯の表現型が段階的に変化する過程が明確に観察された。ユリ雄性不稔は、環境条件により稔性が変化する不安定な雄性不稔であるが、稔性回復することで花粉親として用いることが可能で、育種プログラムにおいて容易に育種母本として用いることができる。また、高温域で稔性が回復するため、雄性不稔の特性を維持する栽培体系は低温での栽培を実証する指標として用いることが可能で、さらに暖地では稔性回復が発現する高温期に夏季冷涼な東北地域の地域特産品種としての利用も考えられる。

- 1, アジアティックハイブリッドユリ雄性不稔は種内交雑により容易に発現するが、雄性不稔雄ずいの表現型は花粉を形成しない antherless stamens, undeveloped anthers, immature anthers, dehiscent anthers without pollen の4タイプと、花粉粒は形成するものの、葯が裂開しない indehiscent anthers が出現する。
- 2, 葯を形成しない antherless stamens や葯の発達が未熟な undeveloped anthers の雄ずいの表現型のアジアティックハイブリッドユリ雄性不稔は、花芽分化期の雄ずい形成期～雌ずい形成期の間の高温遭遇により、葯の分化・発達能力が回復し、花粉を形成する。
- 3, 雄性不稔ユリ‘秋田プチホホワイト’における葯の

形成回復に必要な最高温度は 28 であるがこの温度では、葯の発達不完全で花粉が未熟である。正常な intact anthers が形成される最高温度は 30 以上である。

- 4, 高温域で回復した雄性不稔コリ‘秋田プチホワイト’の花粉粒の染色体数は  $n=12$  であり、花粉粒の形、表面構造などの外部形態は市販品種と同様である。この花粉を他のアジアティックハイブリッドコリに交配すると発芽能力のある種子を形成するため、雄性不稔は高温で稔性回復する。
- 5, 雄性不稔が稔性回復する環境条件については、日長条件は影響が少なく、温度が主要因であり、アジアティックハイブリッドコリ雄性不稔は温度感応性雄性不稔である。稔性が回復する温度は平均気温よりも最高気温がポイントで、感応する温度域は品種によって異なる。
- 6, 雄性不稔コリの稔性回復に必要な高温に遭遇する期間は、雄ずい形成期～雌ずい形成期間の短期間の最高気温の積算によるものと思われる。高温遭遇時間が不足すると、花粉粒を分化させる葯の発達が未熟で、4つの葯のうち1つの葯のうにだけ花粉粒が形成されるなど不完全な葯になる。
- 7, 葯の回復に重要な温度遭遇時期は、雄ずい形成期～雌ずい形成期間に限定される。高温遭遇後の低温処理では、葯の回復作用は継続し、打ち消されることはない。また、その期間以外の高温暖遇によっても、葯の形成が回復することはない。
- 8, アジアティックハイブリッドコリ雄性不稔品種の雄ずいの形成を誘導する温度には品種間差がある。
- 9, 温度感応性雄性不稔品種は、高温により稔性が回復するため夏季冷涼な秋田県の気象条件に適し、西南暖地よりも栽培が容易なため、秋田県の気象の有利性を活かした品種になり得る。

## 9 謝 辞

本研究遂行にあたり、秋田県立大学生物資源科学部教授川島長治博士、同教授森 宏一博士、同准教授三吉一光博士には多大なるご教授、ご援助、ご指導を頂き、心から感謝の意を表します。

また、元秋田県農業試験場長鳥越洋一博士(現独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構近畿中国四国農業研究センター-企画管理部長)、前秋田県農業試験場長藤田佳克博士(現独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構中央農業研究センター病害抵抗性研究チーム長)、秋田県農林水産技術センター所長樋渡公一氏、前農業試験場長児玉 徹氏、農業試験場長加賀屋博行博士には、研究遂行にあたって、特段のご配慮とご鞭撻を賜った。さらに秋田県農林水産技術センター農業試験場野菜・花き部長柴田 浩氏、同部主任研究員間藤正美博士、秋田地域振興局農林部普及指導課工藤寛子主任、浦山絹子さんには本研究遂行にあたり、御協力をいただいた。

## 引用文献

- Anonymous. 1964. A proposed horticultural classification of lilies for registration, show and catalogue purposes. *The Lily Yearbook*, Royal Hort. Soc. 27:162-164.
- Anonymous. 2006. 2005 フラワーデータブック. 日本花普及センター. 東京.
- 青山幹男. 1996. ランの染色体研究とその利用. *全日本蘭協会誌*. 92-97.
- Asano, Y. 1980a. Studies on crosses between distantly related species of lilies. . The culture of immature hybrid embryos 0.3-0.4mm long. *J. Japan Soc. Hort. Sci.* 49:114-118.
- Asano, Y. 1980b. Studies on crosses between distantly related species of lilies. . Characteristics of newly obtained hybrids through embryo culture. *J. Japan Soc. Hort. Sci.* 49:241-250.
- Asano, Y. 1982. Chromosome association and pollen fertility in some interspecific hybrids of *Lilium*. *Euphytica* 31: 121-128.
- 浅野義人. 1982. コリ属における栽培種の起源とその育種., pp48-57. In: 育種学最近の進歩 23. 養賢堂. 東京.
- 浅野義人・明道博. 1977a. コリの遠縁種間交雑に関する研究(第1報). *J. Japan Soc. Hort. Sci.* 46:59-65.
- 浅野義人・明道博. 1977b. コリの遠縁種間交雑に関する研究(第2報). *J. Japan Soc. Hort. Sci.* 46:267-273.
- 浅利幸男・山本英樹・間藤正美・三吉一光. 2005. コリの遠縁交雑育種にむけた技術体系の確立. *秋田県農業試験場報告* 45:133-146.

- Barham, W. S. and Munger, H. M. 1950. The stability of male sterility in onions. *Pros. Am. Soc. Hort.Sci.*56:401-409.
- Bateson, W., Saunders E. R. and Punnett, R. C. 1908. Malesterility in *Lathyrus odoratus*. *Rep. Evol. Comm.Roy.Soc.Lond.*4:16.
- Benedito, V.A., Angenet, G.C. and Krens, F.A. 2005. Floral homeotic mutants in lily: double flower and *festiva* phenotypes. *Flowering Neswlett.* 39:29-37.
- Borkakati, R. P. 1994. Genetics of thermosensitive male sterility in rice (*oryza sativa* L.). PhD. Thesis submitted to Assam Agricultural University, Jorhat, India.
- Borkakati, R. P. and Virmani, S. S. 1996. Genetics of thermosensitive genic male sterility in rice. *Euphytica* 88:1-7.
- Brewbaker, J. L. 1957. Pollen cytology and self-incompatibility systems in plants. *J. Hered.*48: 271-277.
- Brewbaker, J. L. and Kwack, B. H. 1963. The essential role of calcium ion in pollen germination andpollentube growth.*AmJBot* 50:747-858.
- Campbell, R. J. and Linskens, H. F. 1984. Temperature effects on self incompability in *Lilium longiflorum*. *Theor. Appl. Genet.* 68: 259-264.
- Camerarius, R. J. 1964. De sexuplantarum epistola. In Mobius M (ed) *Oswalds Klassiker der exakten Wiss Nr 105.* Engeimann, Leipzig, DDR, 1899
- Chaudhury, A. M.1993. Nuclear genes controlling malefertility.*ThePlantCell.*5:1277-1283.
- Coen, E. C. and Meyerowitz, E.M.1991. The war of the whorls: genetic interactions controlling flowerdevelopment.*Nature*353:31-37.
- Conner, J. and Liu, Z. 2000. *LEUNIG*, a putative transcriptional corepressor that regulates *AGAMOUS* expression during flower development. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 97: 12902-12907.
- Comber, H. F. 1949. A new classification of the *Lilium*. *Lily Yearbook*, Royal Hortic Soc, London15:86-105.
- Das, K. and Pandey, B. D. 1961. Male sterility in brown sarson. *Indian Genet. Plant Breed.* 21: 185-190.
- Duvik, D.N. 1965. Cytoplasmic pollen sterility in corn.*Adv.ZGenet.*13: 1-56.
- 榎並晃, 宮嶋 利功. 2002. 平成 14 年度新潟県農業総合研究所年報,pp10.
- Evance, A. 1921. The palace of Minos at Knossos ( )pp.603.
- Evance, A. 1930. The palace of Minos at Knossos ( )pp.131.
- Frankel, R. and Galun, E. 1977. *Pollination mechanisms, reproduction, and plant breeding.* Berlin, New York, Springer-Verlag.
- Fu, T. D. 1981. Production and research of rapeseed in the People ' s Republic of China. *EucarpiaCruciferaeNewsletter*6:6-7.
- Fukai, S., Goi, M. 2001. Floral initiation and development in *Lilium longiflorum* Thunb. *Tech. Bull. Fac. Agr. Kagawa Univ.* 53: 31-34.
- Fan, Z. G.. andStefansson,B. R. 1986. Influenceof temperature on sterility of two cytoplasmic male-sterility systems in rape (*Brassica napus* L.).*Can. J. PlantSci.*66:221-227.
- Goldbergm R.B., Beals, T. P. and Sanders, P. M. 1993. Anther development: Basic principles and practical applications. *Plant Cell* 5: 1217-1229.
- Gould, K. S. and Lord, E. M. 1988. Growth of anthers in *Lilium longiflorum*. *Planta.* 173: 161-171.
- Grassotti, A. andMercuri, A.1996. *Lilium elegans*: selection of pollenless clones. *Acta Hort* 414:125-128.
- He, Y. Q., Yang, J., Xu, C. G., Zhang, Z. G.. and Zhang, Q. 1999. Genetic bases of instability of male sterility and fertility reversibility in photoperiod-sensitivegenicmale-sterilerice.
- 日向康吉. 2001. 花 性 と 生殖 の 分子 生物学. 学会出版センタ - .東京.
- Ichimura, K. and Hisamatu, T. 1999. Effects of continuous treatment with sucrose on the vase life, soluble carbohydrate concentrations, and ethyleneproduction of cutsnapdragonflowers. *J. Japan Soc. Hort. Sci.*68:61-66.
- 池橋宏. 2000. イネに刻まれた人の歴史. 学会出版センタ - .東京.
- Izhar, S.1975. The timing of temperature effect on microsporogenesis in cytoplasmic male-sterile petunia. *J. Hered.* 66:313-314.
- Izhar, S. 1977. Cytoplasmic male sterility in petunia. The interaction between the plasmagene, genetic factors, and temperature. *J. Hered.* 68:238-240.
- Iwanami, Y. 1980. *Pollen Biology.* Kodansha, Tokyo.

- Johnson, J. W. and Patterson, F. L. 1973. Pollen production of fertility restored lines of soft red winter wheats. *Crop Sci.* 13:92-95.
- 勝又廣太郎 1985. 細胞質雄性不稔と育種技術。(山口彦之 監修) 第3章. 各作物の細胞質雄性不稔とその利用. pp171.
- Kaul, M. L. H. 1988. Male Sterility in higher plants. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- Kaul, M.L.H. and Murthy T.G.K. 1985. Mutant genes affecting higher plant meiosis. *TAG.* 70: 449-466.
- Koike, S., Hayashi, T., Yamaguchi, T. and Suzuki, K. 1997. Chilling injury during microsporogenesis in lily. *Plant Physiol.* 114: 242.
- Koch, H. and Peters, R. 1953. Neue Gesichtspunkte der Rapszuchtung. *Wiss Z Martin Luther Univ. Halle 2:* 363-367.
- Kolreuter, D. J. G.. 1763. Vorläufige Nachricht von einigen das Geschlecht der Pflanzen betreffenden Versuchen und Beobachtungen. Fortsetzung 1. Ostwalds Klassiker der Exakten Wissenschaften Nr. 41, Engelmann, Leipzig.
- Koltunow, A M., Truettner, J., Cox, K. H., Wallroth, M. and Goldberg, R. B. 1990. Different temporal and spatial gene expression patterns occur during anther development. *Plant Cell* 2:1201-1224.
- Kosugi, K. 1942. On the flower bud differentiation in Easter lilies. *J. Japan Soc. Hort. Sci.* 21: 59-62.
- Koyama, Y. and Uda A. 1994. Effect of temperature, light intensity and sucrose concentration on bud forcing and carnation flower quality. *J. Japan Soc. Hort. Sci.* 63:203-209.
- Ku, S., Cho, K., Choi, Y., Beak, W., Kim, S., Suh, H., Chung Y. 2001. Cytological observation of two environmental genic male-sterile lines of rice. *Mol. Cells* 12:403-406.
- Ku, S., Yoon, H., Suh, H.S. and Chung, Y.Y. 2003. Male-sterility of thermosensitive genic male-sterile rice is associated with premature programmed cell death of the tapetum. *Planta* 217:559-565.
- Lancelle, S. A. and Hepler, P. K. 1992. Ultrastructure of freeze-substituted pollen tubes of *Lilium longiflorum*. *Protoplasma* 167: 215-230.
- Laser, K.D. and Lersten, N. R. 1972. Anatomy and cytology of microsporogenesis in cytoplasmic male sterile angiosperms. *Bot. Rev.* 38: 425-454.
- Lim, K.B., Shen, T.M., Gonzalez, R.B., Ramaana, M.S., and van Tuyl, J.M. 2004. Occurrence of SDR 2N-gametes in *Lilium* Hybrids. *Breeding Science* 54:13-18.
- Lim, K. B. and van Tuyl, J. M. 2005. Lily, *Lilium* hybrids, Chapter 19, pp 512-532. In: Flower breeding & genetics: Issues, challenges and opportunities for the 21<sup>st</sup> century, Springer Verlag.
- Lu, X. G., Zhang, G., Maruyama K. and Virmani, S.S. 1994. Current status of two-line method of hybrid rice breeding. In S. S. Virmani (Ed.). Hybrid Rice Technology: New Development and Future Prospects, pp. 37-50. Int Rice Res Inst, Manila, Philippines.
- MacRae, E. A. 1998. Lilies: a guide for growers and collectors. pp. 392. Timber press, Portland, Oregon.
- Marshall, D. R., Thomson, N. J., Nicholls, G. H., and Patrick, C. M. 1974. Effects of temperature and day length on cytoplasmic male sterility in cotton (*Gossypium*). *Aust. J. Agric. Res.* 25:443-447.
- Maruyama, K., Araki, H. and Kato, H. 1991. Thermosensitive genic male sterility induced by irradiation. In: Rice Genetics .227-232. Int Rice Res Inst. Manila. Philippines.
- Miyoshi, K. 1995. Callus induction and plantlet formation through culture of isolated microspores of eggplant (*Solanum melongena* L.). *Plant Cell Rep.* 15:391-395.
- Murai, K. and Tsunewaki, K. 1993. Photoperiod-sensitive cytoplasmic male sterility in wheat with *Aegilops crassa* cytoplasm. *Euphytica*. 67:41-48.
- Murai, K. 2004. Comparison of two fertility restoration systems against photoperiod-sensitive cytoplasmic male sterility in wheat. *Plant Breed.* 121:363-365.
- Nagai, I. 1926a. Studies on the mutation in *Oryza sativa* L. . On awned sterile, compact-panicked and dwarf mutants. *Jpn. J. Bot.* 3:55-56.
- Nagai, I. 1926b. Studies on the mutation in *Oryza sativa* L. . On paleaceous sterile mutant. *Jpn. J. Bot.* 3:67-84.
- 永緑哲人, 深井誠一. 2004. 高温処理によるコリ遠縁

- 交雑種の花粉発芽能力の回復. 園学雑, 73 別 2: 452.
- Noda, S. 1966. Cytogenetics of the origin of triploid *Lilium tigrinum*. Bill. Osaka Gakuin Univ. 6: 85-140.
- Noda, S. and Schmizer, E. 1992. Natural occurrence of triploid *Lilium bulbiferum* native to Europe. The lily yearbook of the NALS. 43: 78-81.
- Ogura, H. 1968. Studies on the new male-sterility in Japanese radish, with special reference to the utilization of this sterility towards the practical raising of hybrid seeds. Mem. Fac. Agri. Kagoshima Univ. 6: 39-78.
- Ohkawa, K. 1989. Time of flower bud differentiation in lilies native to Japan. J. Japan Soc. Hort. Sci. 57: 655-661.
- Ohkawa, K., Kano, A. and Nukaya, A. 1990. Time of flower bud differentiation in Asiatic hybrid lilies. Acta Hort. 266: 211-220.
- Ohkawa, Y. and Shiga, J. 1981. Possibility of hybrid seed production by use of cytoplasmic male sterility in *Brassica campestris*. Chinese cabbage. In: Proc. 1<sup>st</sup>. Int. Symp. Asian Veg. Res. Dev. Center Shanhua Taiwan, pp 301-311.
- Polowick, P.L., Sawhney, V.K. 1986. A scanning electron microscopic study on the influence of temperature on the expression of cytoplasmic male sterility in *Brassica napus*. Can. J. Bot. 65: 807-814.
- Roath, W. W. and Hockett, E. A. 1971. Genetic male sterility in barley. . Pollen and anther characteristics. Crop Sci. 11: 200-203.
- Rick, C. M. and Boynton, J. E. 1967. A temperature-sensitive male-sterile mutant of the tomato. Amer. J. Bot. 54: 601-611.
- Sanders, P.M., Bui, A.Q., Weterings, K., McIntire, K.N., Hsu Yung-chao., Lee, P.Y., Truong, M.T., Beals, T.P., Goldberg, R.B., 1999. Anther development defects in Arabidopsis thaliana male-sterile mutants. Sex Plant Reprod 11: 297-322.
- Sato, T., and Miyoshi, K. 2006. Thermosensitivity of the restoration of male fertility and genotypic differences in the formation of aberrant filaments and pistils among three male-sterile cultivars of Asiatic hybrid lily. Acta Hort. 714: 67-74.
- Sawhney, V. K. 1983. Temperature control of male sterility in a tomato mutant. J. Hred. 74: 51-54.
- Sawhney, V.K. 2004. Photoperiod-sensitive male-sterile mutant in tomato and its potential use in hybrid seed production. J. Hort. Sci. Biotech. 79: 138-141.
- 柴田浩. 2002 新品種「秋田プチホワイト」の特性調査 秋田県農業試験場年報. 59-60.
- Shiga, T. 1980. Male sterility and cytoplasmic differentiation. In *Brassica Crops and Wild Allies Biology and Breeding*. Japan Scientific Societies Press, Tokyo, Japan, pp 205-221.
- 志賀敏夫, 馬場知. 1973. ナタネの細胞質雄性不稔性とその利用. Japan J. Breed 23: 187-197.
- 清水基夫. 1987. 日本のコリ 原種とその園芸種. 誠文堂新光社, 東京.
- Shuhau, X. U. 1982. Cytological observations on pollen development in the main male sterile type of rice (*Oryza sativa* L.) developed in China. Agric. Sci. PR. China 2: 9-14.
- Shi, M. S. 1986. The discovery, determination and utilization of the Hubei photosensitive genic male-sterile rice (*Oryza sativa* subsp. Japonica). Acta Genetica Sinica. 13: 107-112.
- Smith, M. B., Hoener, H. T. and Palmer, R. G. 2001. Temperature and photoperiod effects on sterility in a cytoplasmic male-sterile soybean. Crop Sci. 41: 702-704.
- Stewart R.L. and Wentz, J. B. 1926. A recessive glabrous character in soybeans. J. Am. Soc. Agron. 18: 997-1009.
- Sun. Z.X., Min, S. K. and Xiang, Z. M. 1989. A temperature sensitive male sterile line found in rice. Rice. Gen. Newsl/6: 116-117.
- Taylor, L. P. and Hepler, P. K. 1997. Pollen germination and tube growth. Annu. Rev. Physiol. Plant Mol. Biol. 48: 461-491.
- Theissen, G., Becker, A., Di Rosa, A., Kanno, A., Kim, J.T., Münster, T., Winter, K., u. and Saedler, H. 2000. A short history of MADS-box genes in plants. Plant Mol. Biol. 42: 115-149.
- Thompson, K. F. 1972. Cytoplasmic male-sterility in oil-seed rape. Heredity 29: 253-257.
- 浦島修, 岡崎桂一, 國重正昭. 1988. チューリップの非還元性花粉利用による倍数体育成 (第 2 報) 高温処理によって得られた大型花粉の受精能力. 園学要旨 63 秋. 478.
- Van Marrewijk, G. A. M. 1969. Cytoplasmic male sterility in petunia. I. Restoration of fertility with special reference to the influence of environment. Euphytica 18: 1-20.
- Van der Meer, Q. P. and Van Bennekom, J. L.

1969. Effect of temperature on the occurrence of male sterility in onion (*Allium cepa* L.). *Euphytica* 18:389-394.
- VanderMuelen-Muisers., J.J.M., J.C. vanOveren., J. Jansen., J.M. van Tuyl. 1999. Genetic analysis of postharvest flower longevity in Asiatic hybrid lilies. *Euphytica* 107:149-157.
- Van Tunen., A.J., Eikelboom, W and Angent G.C. 1993. Flowering Newslett. 16:33-37.
- Van Tuyl J.M., Van Groenestijn J.E., Toxopeus S.J. 1985. Low light intensity and flower bud abortion in Asiatic hybrid lilies. I. Genetic variation among cultivars and progenies of a diallel cross. *Euphytica* 34:83-92.
- Van Tuyl, J.M., Van Dijken, A, Chi., H.S, Lim, K. B, Vilmoes, S. and Van Kroneburg, B. C. E. 2000. Breakthroughs in interspecific hybridization of lily. *Acta Hort.* 508: 83-90.
- Vasek, F. C. 1960 A cytogenetic study of *Clarkia exilis*. *Evolution* 14:88-97.
- Viraktamath, B. C. and Virmani, S. S. 2001. Expression of thermosensitive genic male sterility in rice under varying temperature situations. *Euphytica* 122: 137-143.
- Virmani, S. S. and Voc, P. C. 1991. Induction of photo- and thermosensitive male sterility in indica rice. *Agron. Abst.* 119.
- Wilson, J. A. 1968. Problems in hybrid wheat breeding. *Euphytica* Suppl. 1, 17:13-33.
- Woodcock, H. B. D. and Stearn, W. T. 1950. Lilies of the world: their cultivation & classification. Country Life Limited, London, pp15-20.
- Yamagishi M. 2003. A genetic model for pollenless trait in Asiatic hybrid lily and its utilization for breeding. *Scient. Hort.* 98: 293-297.
- 山口彦之. 1985. 細胞質雄性不稔と育種技術. シーエムシー出版, 東京.
- Yamagishi, M. 2003. A genetic model for a pollenless trait in Asiatic hybrid lily and its utilization for breeding. *Scientia. Hort.* 98: 293-297.
- Yamaguchi, T. and Kanno, C. 1963. Studies on the differences of character manifestation in reciprocal crosses of rape (*Brassica napus* L.) . Cyto-histological observations on the development of floral organs in reciprocal F1 hybrids. *Bull. Tokaikinki Natl. Agric. Exp. Stat.* 9:162-182.
- Zhang, Z.G., Yuan, S. C, Zhen, H.L., Li, Y.Z., Li, Z. C. and Wei, C. L. 1991. Preliminary observation of fertility changes in the new type temperature sensitive male sterile line. . *A. Hybrid rice* 1:31-34.

## Abstract

### Studies on morphological changes of stamens in male sterile lily cultivars induced by temperatures

Takao SATO

*Agricultural Experiment Station, Akita Prefectural Agriculture, Forestry and Fishers Research Center,*

The Asiatic hybrid lily cultivar 'Akita Petit White' (APW) is male-sterile with antherless stamens. However, we unexpectedly observed one or two stamens with intact anthers in a few flowers on fewer than 1% of a total of 400 plants in a field trial of this cultivar in a horticultural setting, which was performed with bulbs that had been stored at  $-2^{\circ}\text{C}$  for nine months. The purpose of the present study was to identify the factors that regulate the expression and reversal of the antherless phenotype in APW lilies. I grew APW plants from bulbs that had been frozen for storage under three temperature regimes in growth cabinets: under high-temperature conditions, at  $32/25^{\circ}\text{C}$  (14/10h); under moderate-temperature conditions, at  $25/18^{\circ}\text{C}$  (14/10h); and under low-temperature conditions, at  $18/11^{\circ}\text{C}$  (14/10h). All stamens had intact anthers after plants had been grown under high-temperature conditions. Under moderate-temperature conditions, the edges of all filaments of all plants examined were yellowish and swollen, resembling undeveloped anthers. Under low-temperature conditions, the antherless phenotype was stable and no stamens had intact or undeveloped anthers. The pollen from intact anthers, after growth under high-temperature conditions, produced vegetative and generative nuclei in the normal manner. The yield of viable seeds produced after pollination with these pollen grains was almost equal to those of other Asiatic hybrid lilies: 96 to 113 seeds per capsule were obtained with various hybrid combinations.

In the present study, to evaluate the effects of photoperiod on the restoration of anthers in a male sterile cultivar, I monitored morphological changes in stamens of plants that had been grown under two temperature regimes ( $32/25^{\circ}\text{C}$ ,  $18/11^{\circ}\text{C}$ ) and three photoperiod regimes (8hr, 10hr, 12hr) in growth cabinets. Under high-temperature conditions ( $32/25^{\circ}\text{C}$ ) in the growth cabinet, intact anthers were found on all the stamens under the three photoperiod regimes. However, under low-temperature conditions ( $18/11^{\circ}\text{C}$ ), antherless stamens were found on all the stamens under the three photoperiod regimes. Therefore, photoperiod had no stimulatory effect on the restoration of anthers of 'Akita Petit white'.

In the present study, to evaluate the detailed temperature ranges on the restoration of anthers in 'Akita petit white', the plants were grown under five temperature regimes at  $31/24^{\circ}\text{C}$  (14/10h),  $30/23^{\circ}\text{C}$  (14/10h),  $29/22^{\circ}\text{C}$ ,  $28/21^{\circ}\text{C}$ ,  $27/20^{\circ}\text{C}$ , respectively. Intact anthers were found on all the stamens under temperature conditions at  $31/24^{\circ}\text{C}$ . Under temperature conditions at  $30/23^{\circ}\text{C}$ , intact anthers were found in ten of forty flowers of 10 plants and indehiscent anthers were found in thirty of the rest flowers. Under temperature conditions at  $29/22^{\circ}\text{C}$ , indehiscent anthers were found on all the stamens. Under temperature conditions at  $28/21^{\circ}\text{C}$ , indehiscent anthers and immature anthers were found on the stamens. Moreover, the numbers of indehiscent anthers on 6 stamens were different from only one flower. Indehiscent anthers were found on all the stamens in nine of forty flowers, however, indehiscent anthers on few stamens and immature anthers on few stamens were found in thirty-one of forty flowers. Under temperature conditions at  $27/20^{\circ}\text{C}$ , immature anthers were found on all the stamens.

I examined about the critical growth stage at the restoration of anthers in 'Akita Petit White'. The bulbs were put in 33 pots (planted three bulbs per 1 pot). These plants were grown under high-temperature conditions at  $32/25^{\circ}\text{C}$  in growth cabinet. From four days later after planted, every three plants were transferred to green house every day. In the case of these plants were transferred to green house until 19 days after planted, immature anthers were formed. However, after grown under high-temperature conditions over 20 days after planted, intact anther were formed. It was suggested that

this stage was between stamen development and pistils developed in the development stage of flowers. Moreover, the bulbs were put in 15 pots (planted three bulbs per 1 pot). These plants were grown under low-temperature condition at 18/11 (14/10h) at first. When it was firmed at grasped at the top of these plants, every 3 pots transferred to another growth cabinet. These plants were grown under high temperature condition at 32/25 (14/10h) for 1, 2, 3, 4 and 5 days, respectively. After grown under high-temperature conditions for these terms, these plants were transferred to first growth cabinet under low-temperature conditions. In the case of these plants were grown under high-temperature conditions for one day, antherless stamens were formed in all stamens in all flowers. In the case of these plants were grown under high-temperature conditions for two days, three phenotypes of anthers were formed, namely, undeveloped anthers, immature anthers and indehiscent anthers with pollen. After grown under high-temperature conditions for three and four days, immature anthers and indehiscent anthers were formed. In the case of these plants were grown under high-temperature conditions for five days, immature anthers, indehiscent anthers and intact anthers were formed.

I examined the thermosensitivity of the restoration of stamens and genotypic differences in the formation of aberrant filaments and pistils in three male-sterile cultivars of Asiatic hybrid lily (*Lilium* spp.), namely, 'Akita Petit Lemon' (APL), 'Akita Petit Gold' (APG), and 'Akita Petit Cream' (APC). When cultivated in the traditional manner in early summer, APC had immature indehiscent anthers that contained no pollen grains, while the other two cultivars had antherless stamens. In a field trial of these cultivars, designed for harvesting of cut flowers in autumn, APC with intact anthers and APL and APG with immature anthers were unexpectedly observed in fewer than 1% of 400 plants in each case. Plants were then grown, from bulbs, under three temperature regimes in a set of growth cabinets, as follows: under high-temperature conditions (HT), at 32/25 °C; under moderate-temperature conditions (MT), at 25/18 °C; and under low-temperature conditions (LT), at 18/11 °C. The restoration of stamens in APL, APG and APC was achieved under high-temperature conditions and the extent of restoration was dependent on temperature. The thermosensitivity of APL and APG with respect to the restoration of stamens was similar. Both cultivars had antherless stamens under LT and restored stamens with immature anthers under MT. Under HT, there was an obvious difference between these two cultivars. Both APL and APG developed intact anthers; however, those of APL contained viable pollen grains while those of APG did not. The thermosensitivity for restoration of stamens in APC was somewhat different from that in APL and APG. APC had immature anther even under LT but it had intact anthers with viable pollen grains under both MT and HT. Homeotic changes in floral components, such as transformation of filaments into tepals in APL and APC and split stigmas in APL were observed. The possible role of temperature in the restoration of stamens and genotypic differences in terms of the formation of aberrant filaments and pistils are discussed.

Key Words: *thermosensitive male sterility, lily, restored anther, morphological changes*

(Bull. AKITA Agric. Exp. Stn., 2, 164, 2008)