

ISSN 1881-8757

BULLETIN  
OF  
THE AGRICULTURAL EXPERIMENT STATION,  
AKITA PREFECTURAL AGRICULTURE, FORESTRY AND FISHERIES RESEARCH CENTER

No. 48

March 2008

---

---

秋田県農林水産技術センター  
農業試験場研究報告

第48号

平成20年3月

---

---

AGRICULTURAL EXPERIMENT STATION,  
AKITA PREFECTURAL AGRICULTURE, FORESTRY AND FISHERIES RESEARCH CENTER

AKITA, JAPAN

秋田農試  
研究報告

Bull. AKITA  
Agric. Exp. Stn.

秋田県農林水産技術センター農業試験場

秋田県農林水産技術センター  
農業試験場研究報告第48号

目 次

特別報告

- 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  
..... 1～ 64  
佐藤 孝夫

研究報告

- エダマメ品種「あきた香り五葉」の育成 ..... 65～ 78  
檜森 靖則<sup>1)</sup>・椿 信一・佐藤 孝夫・佐藤 雄幸・佐々木 和則<sup>2)</sup>・加賀屋 博行  
飯塚 文男<sup>2)</sup>・吉川 朝美<sup>2)</sup>・岡田 晃治<sup>2)</sup>  
(<sup>1)</sup>現 秋田県農業公社・<sup>2)</sup>元 秋田県農業試験場)

- 農業試験場におけるマーケティングを活用した商品開発の一事例  
ーエダマメの品種開発を事例としてー ..... 79～ 86  
齋藤 文信<sup>1)</sup>・清野 誠喜<sup>2)</sup>・上田 賢悦<sup>3)</sup>・檜森 靖則<sup>4)</sup>・飯塚 文男<sup>5)</sup>  
(<sup>1)</sup>現 秋田県農林水産技術センター・<sup>2)</sup>現 宮城大学食産業学部・  
<sup>3)</sup>現 秋田県北秋田地域振興局農林部普及指導課・<sup>4)</sup>現 秋田県農業公社・  
<sup>5)</sup>元 秋田県農業試験場)

- 秋田県産枝豆における店頭マーケティングの検討  
ー消費者購買行動実験によるアプローチー ..... 87～ 98  
上田 賢悦<sup>1)</sup>・清野 誠喜<sup>2)</sup>・齋藤 文信<sup>3)</sup>・大浦 裕二<sup>4)</sup>・河野 恵伸<sup>5)</sup>  
(<sup>1)</sup>現 秋田県北秋田地域振興局農林部普及指導課・<sup>2)</sup>現 宮城大学食産業学部・  
<sup>3)</sup>現秋田県農林水産技術センター・<sup>4)</sup> 現農業・食品産業技術総合研究機構 中央農業総合  
研究センター)

研究資料

- 秋田県におけるキクのウイルス・ウイロイドの発生状況 ..... 99～120  
山本 英樹

**BULLETIN**  
**OF**  
**THE AGRICULTURAL EXPERIMENT STATION,**  
**AKITA PREFECTURAL AGRICULTURE, FORESTRY AND FISHERIES RESEARCH CENTER**

**No. 48 (March 2008)**

**CONTENTS**

**Special Reports**

Takao SATOU

Studies on morphological changes of stamens in male sterile lily cultivars induced by temperatures  
..... 1~ 64

**Original Reports**

Yasunori HIMORI<sup>1)</sup>, Nobuichi TSUBAKI, Takao SATOH, Yuko SATO,  
Kazunori SASAKI<sup>2)</sup>, Hiroyuki KAGAYA, Fumio IIZUKA<sup>2)</sup>, Asami KIKAWA<sup>2)</sup> and  
Koji OKADA<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup>Akita Prefecture agricultural public corporation, <sup>5)</sup>Retired Akita Agricultural Experiment Station)  
A New Green Soybean Variety 'Akita-Kaori-Goyou' ..... 65~ 78

Fuminobu SAITO<sup>1)</sup>, Seiki KIYONO<sup>2)</sup>, Ken-etsu UEDA<sup>3)</sup>, Yasunori HIMORI<sup>4)</sup> and  
Fumio IIZUKA<sup>5)</sup>

(<sup>1)</sup>Akita Prefectural Agriculture, Forestry and Fisheries Research Center <sup>2)</sup>Miyagi University  
<sup>3)</sup>Akita Prefecture Kita-Akita Regional Affairs Department <sup>4)</sup>Akita Prefecture agricultural  
public corporation <sup>5)</sup>Retired Akita Agricultural Experiment Station)

An example of the merchandise development that introducing marketing research at the agricultural  
experimental station: - A case of green soybean products in Akita Prefecture - ..... 79~ 86

Ken-etsu UEDA<sup>1)</sup>, Seiki KIYONO<sup>2)</sup>, Fuminobu SAITO<sup>3)</sup>, Yuuji OOURA<sup>4)</sup> and  
Yoshinobu KOHNO<sup>5)</sup>

(<sup>1)</sup>Akita Prefecture Kita-Akita Regional Affairs Department, <sup>2)</sup>Miyagi University,  
<sup>3)</sup>Akita Prefectural Agriculture, Forestry and Fisheries Research Center,  
<sup>4)</sup>National Agricultural Research Center.)

Examination of In-store Marketing Research to Promote Akita's Green Soybeans in Akita  
Prefecture — An Experimental Approach to Analyze Consumer's Purchasing Behavior—

..... 87~ 98

**Research Notes**

Hideki YAMAMOTO

Field Surveys of Chrysanthemum-infecting Viruses and Viroids in Akita Prefecture, Japan

..... 99~120

# 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係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)ユ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

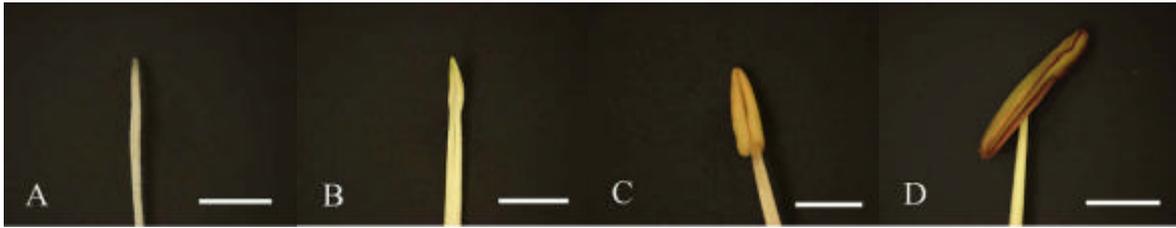


Fig.2-1A-D: Phenotypes of stamens without formation of pollen. A: antherless stamens; Stamens without intact or malformed anthers. B: undeveloped anthers; The tips of filaments shady yellowish malformed anthers. C: immature anthers; Anthers develop, but has not pollen grains. D: dehiscent anthers without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

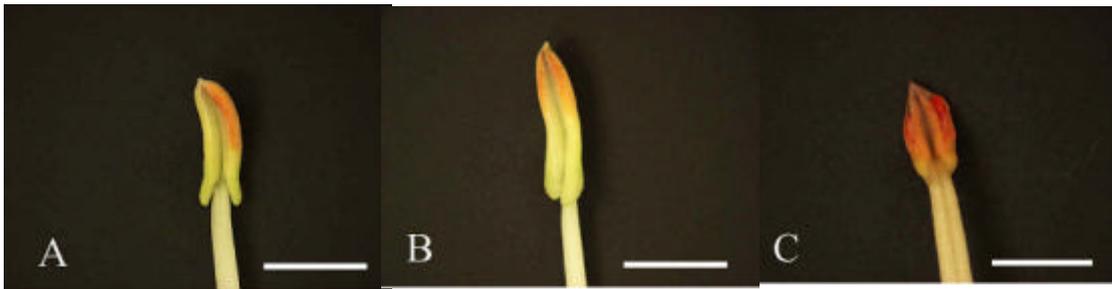


Fig.2-2.A-C: Phenotypes of anthers with pollen grains. A: indehiscent anthers; A part of one anther locule of an anther colored orange. B: indehiscent anthers; Upper part of anthers colored orange. C: intact anthers; Dehiscent short anthers with pollen release. (Bar=5mm).

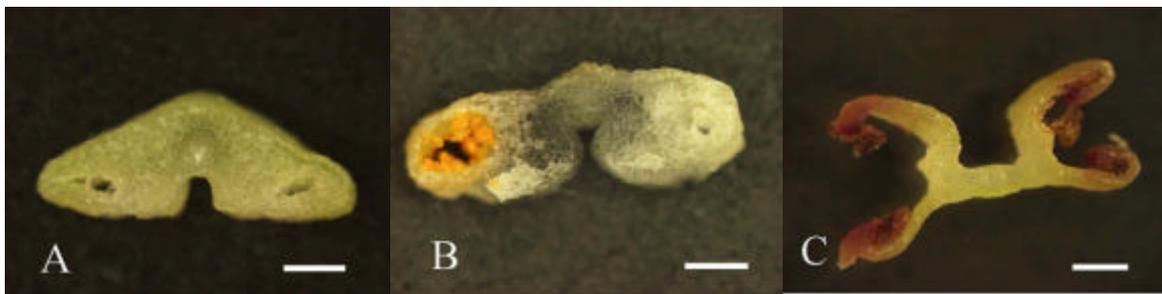


Fig.2-3.A-C: Cross section of male-sterile anthers. A: immature anthers; Anther locules devoid of pollen grains. B: indehiscent anthers; A part of an anther locule contained pollen grains. C: dehiscent anthers without pollen; Anther walls developed fully and contained no pollen grains dehiscenced. (Bar=0.2mm).

### 3 アジアティックハイブリッドユ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ユ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

日本にはユリ属の15種が自生しているが、1970年代以前はユ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ユリ‘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ユリの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、ユリ属において、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、雄性不稔性ユ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ユリ品種‘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ユ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株の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の花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の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の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’の未発達の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)	Developmental 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.

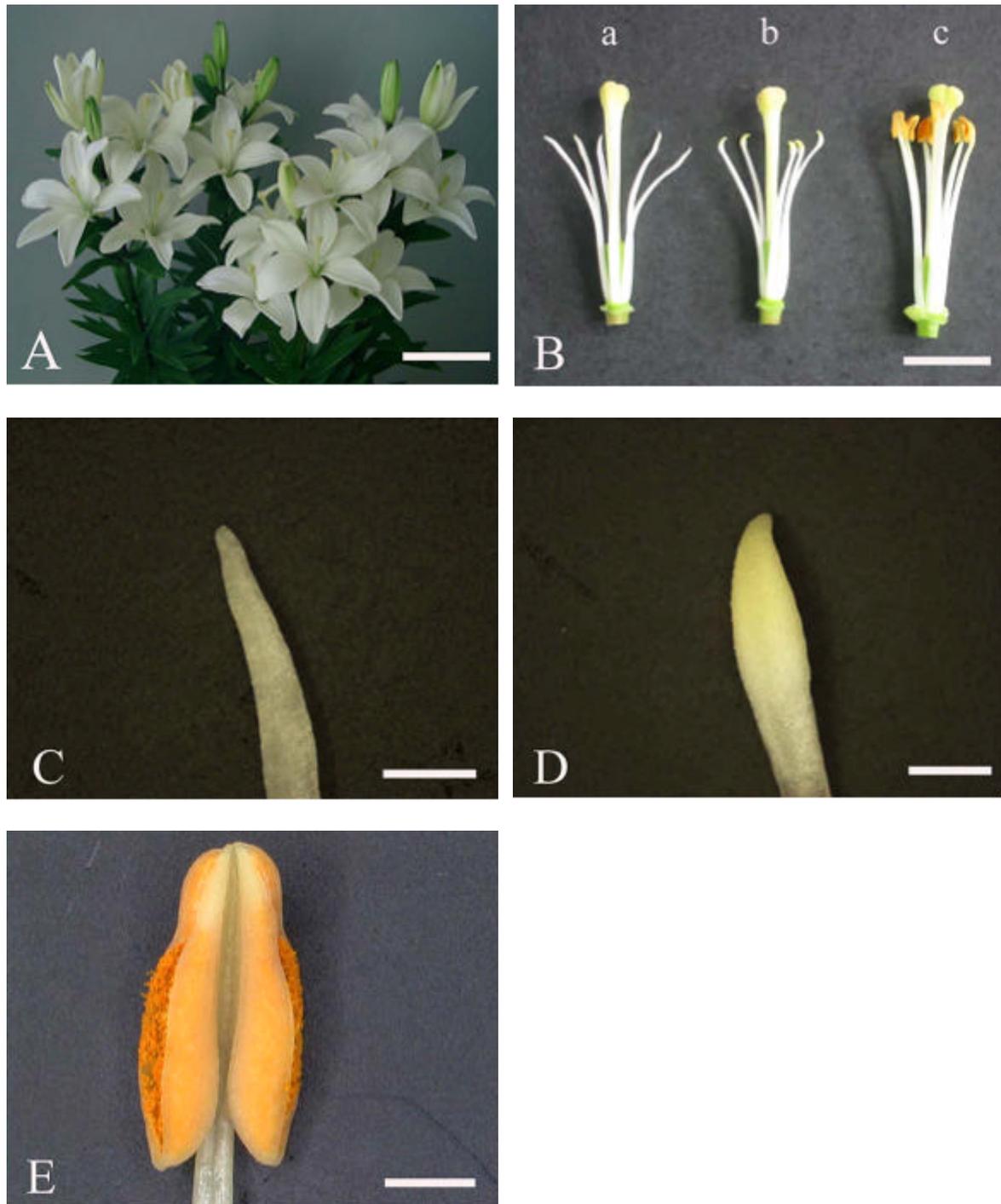
Temperature (°C)	Number of plants grown	Number of plants flowered	Average number of flowers per plant	Total number of flowers	Total number of flowers with intact anthers	Total number of flowers with undeveloped anthers	Total number of stamens	Total number of stamens with intact anthers	Total number of 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.

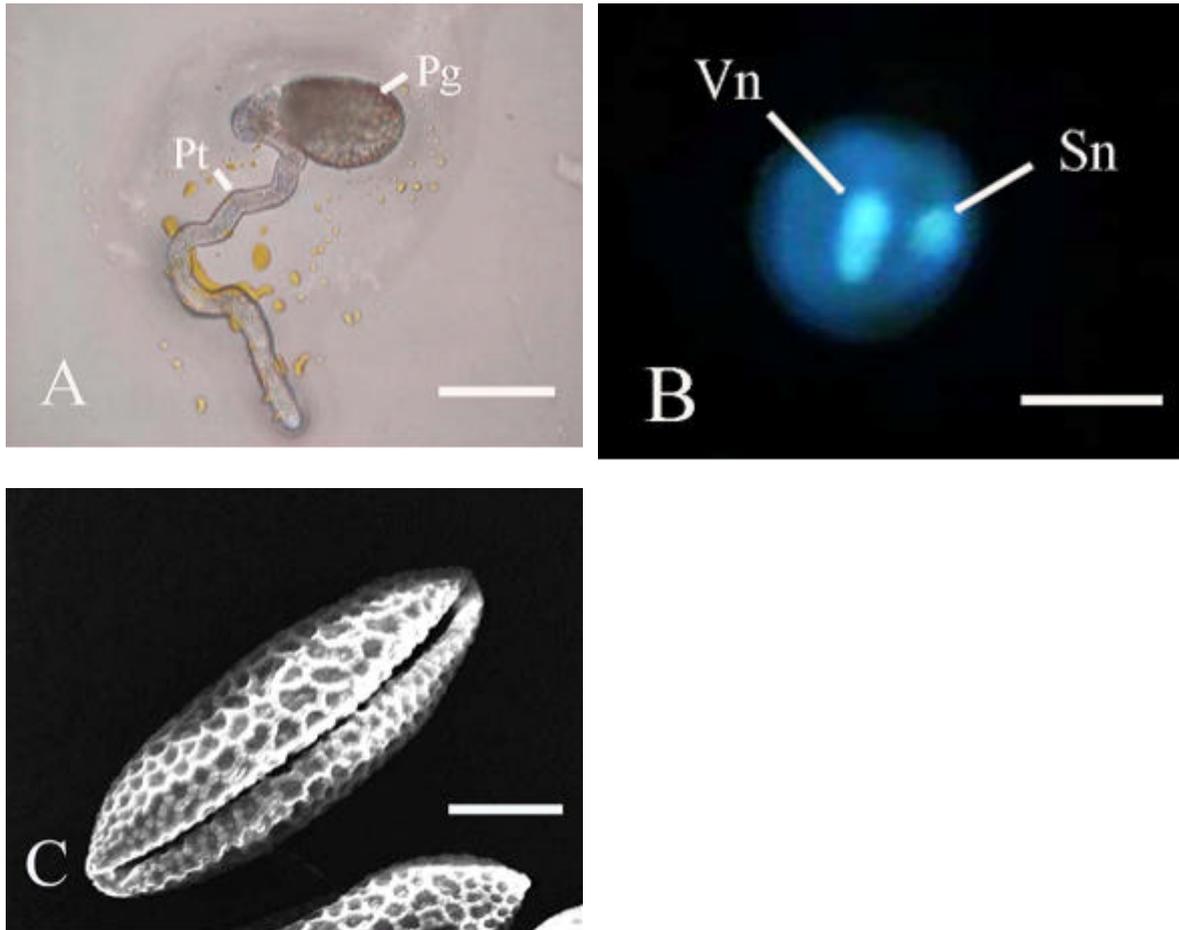
Table 3-1-3. Frequencies of germination and stainability of pollen grains from restored intact anthers of the Asiatic hybrid lily APW after growth at 32/25 and of pollen grains of the parental cultivar 'Apollo'.

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

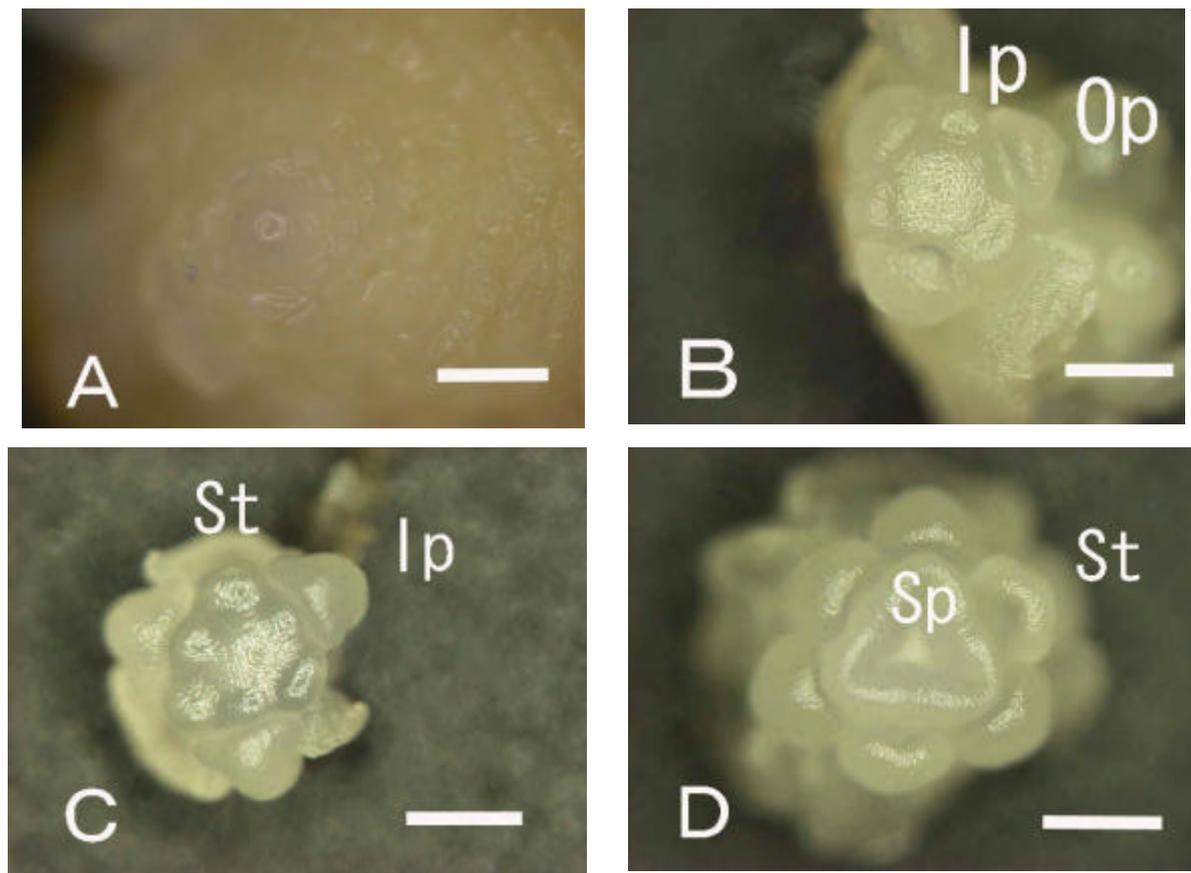


Fig.3-2-1A-D. Initiation and development of flowers of the Asiatic hybrid lily 'Akita Petit White', which were grown under growth cabinet (32/25 °C) and observed under stereomicroscopy. A: Initiation of primordium. B: predifferentiation. C: developed stamen. D: developed pistil. Ip; Inner perianth. Op;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

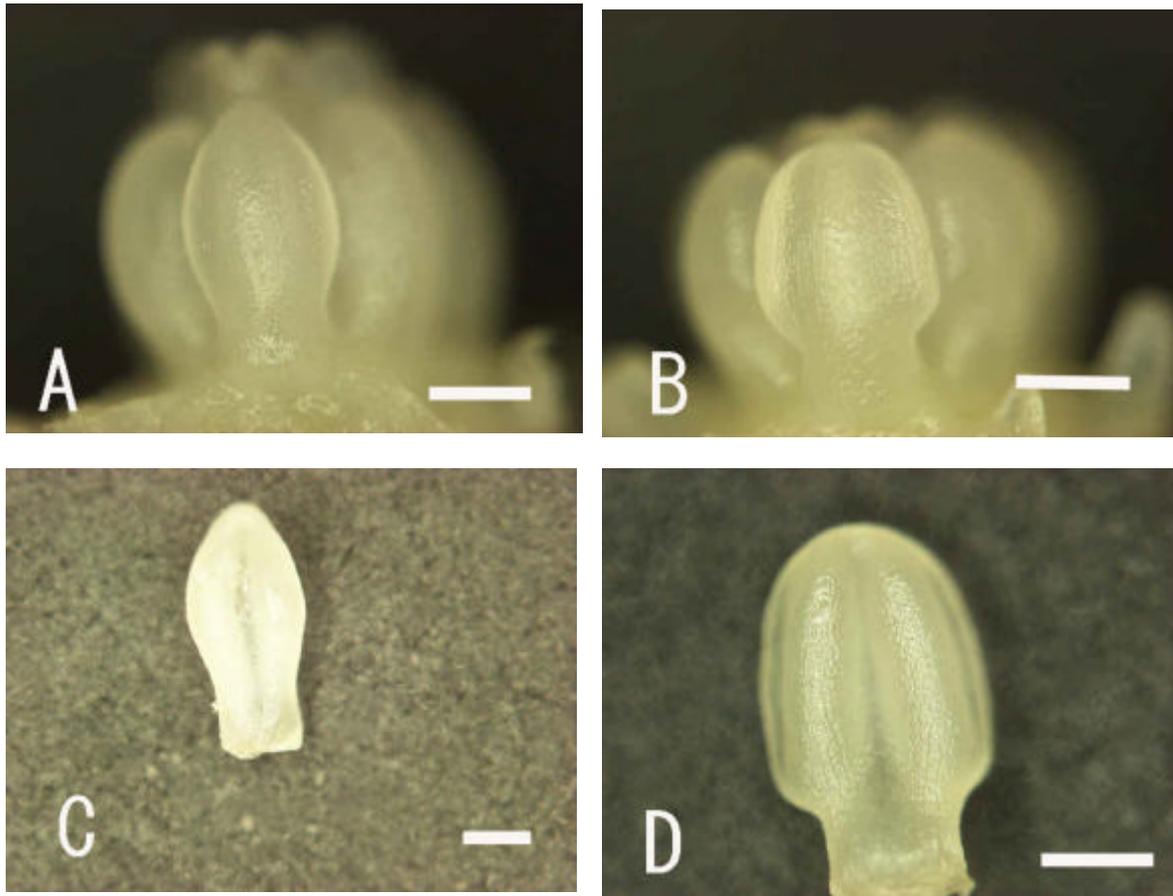


Fig.3-2-2. A-D.Characteristics ofstamensatthestageofpistildevelopment,whichweregrownunderhigh temperaturecondition (32/25 )aswellaslowtemperature (18/11 ) conditions. A:Dorsalsideof stamen underlowtemperaturecondition.(Bar=0.2mm).B:Dorsalsideofstamenunder high temperaturecondition. (Bar=0.2mm)C: Ventralsideofstamenunderlowtemperaturecondition.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

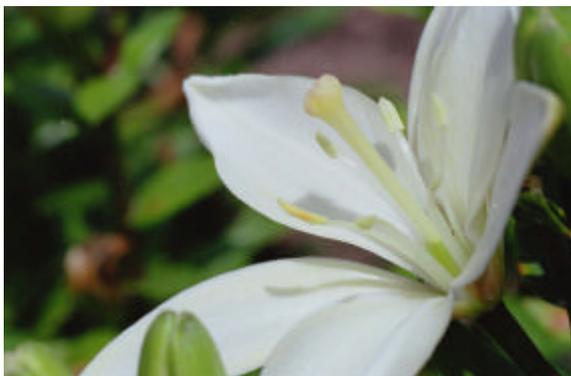


Fig.3-2-3.Arestoredanthersinaflowerwhichbloomedexceptionallyinthelateof flowering season on a plant grownin thefield.Oneinsixstamenswasindehiscentantherandotherstamenswereimmature anthers.

### 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).

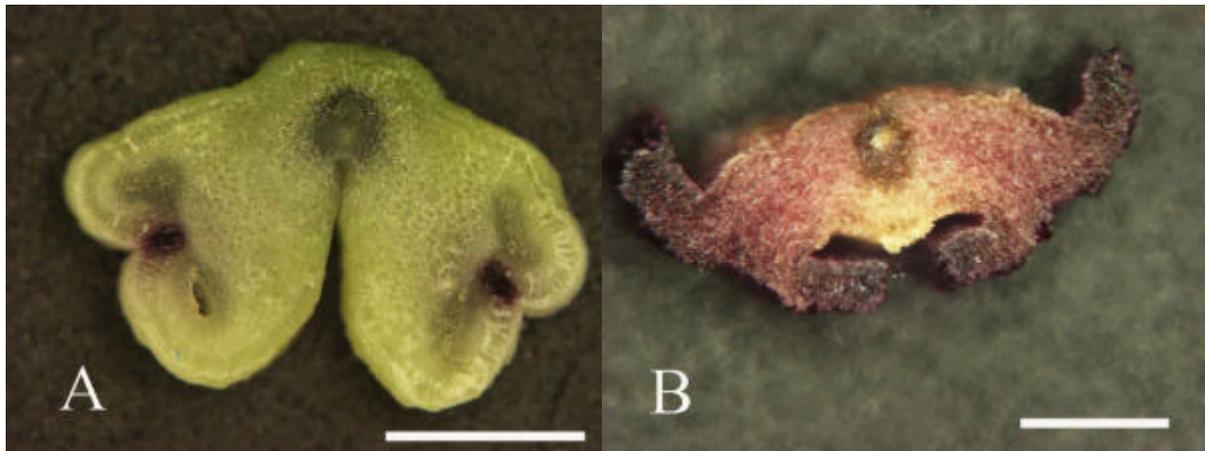


Fig.3-3-2A-B. Cross section of anthers in the Oriental hybrid lily 'Tiara' at 12h/12h photoperiod (day/night) under high temperature condition (32/25 °C). A: A cross section of the anther before dehiscence. Anther locus had no pollen grains. (Bar=1cm). B: A cross section of anther after dehiscence. (Bar=1cm).



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の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

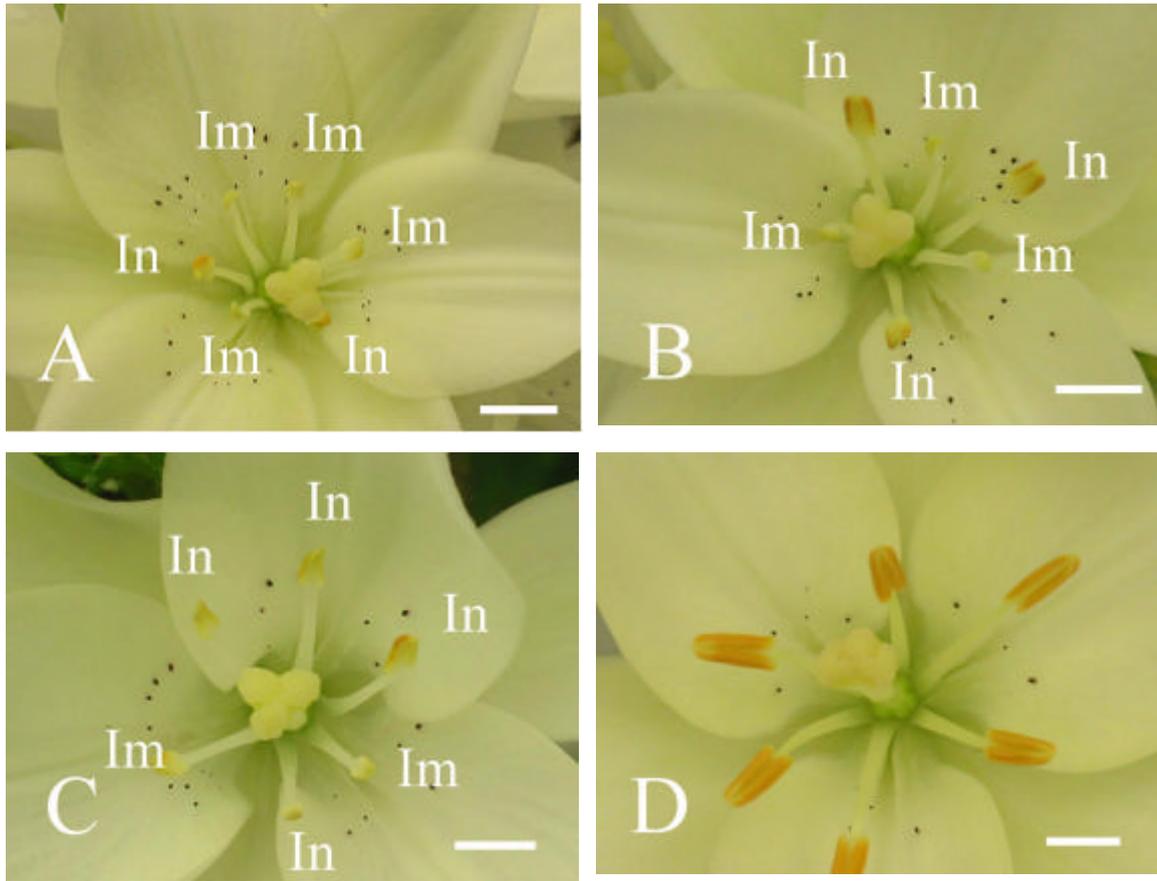


Fig.3-4-1A-B. Incomplete restoration of anthers on the plants grown under 28/21 in the growth cabinets. A: Indehiscent anthers were developed in two of six stamens. B: Indehiscent anthers were developed in three of six stamens. C: Indehiscent anthers were developed in four of six stamens. D: Indehiscent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

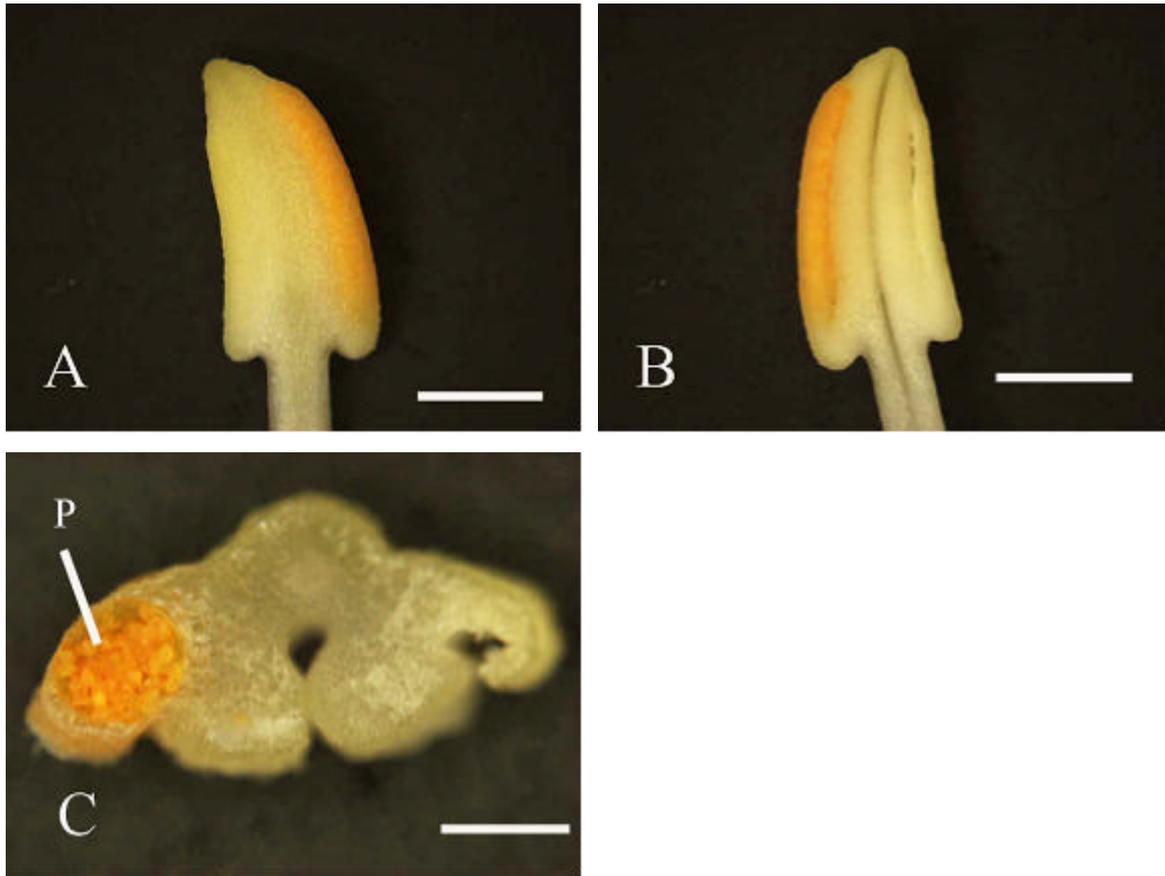


Fig.3-4-2A-C. Formation of defective indehiscent anthers under temperature condition, 28/21 °C, in the growth cabinets. A: One anther locule of indehiscent anthers were colored orange (dorsal side). Bar=5mm. B: Observation of A from ventral side. Bar=5mm. C: Cross section of defective indehiscent anthers.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

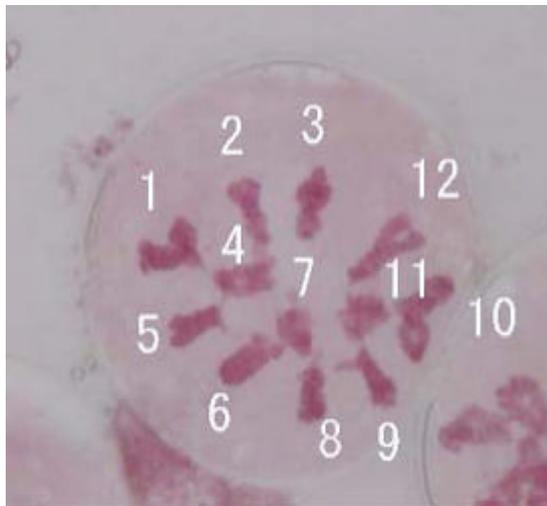


Fig.4-1-1. Chromosomes of Asiatic hybrid lily 'Akita Petit White' (n=12) in a restored pollen grain collected from plants under high temperature condition.

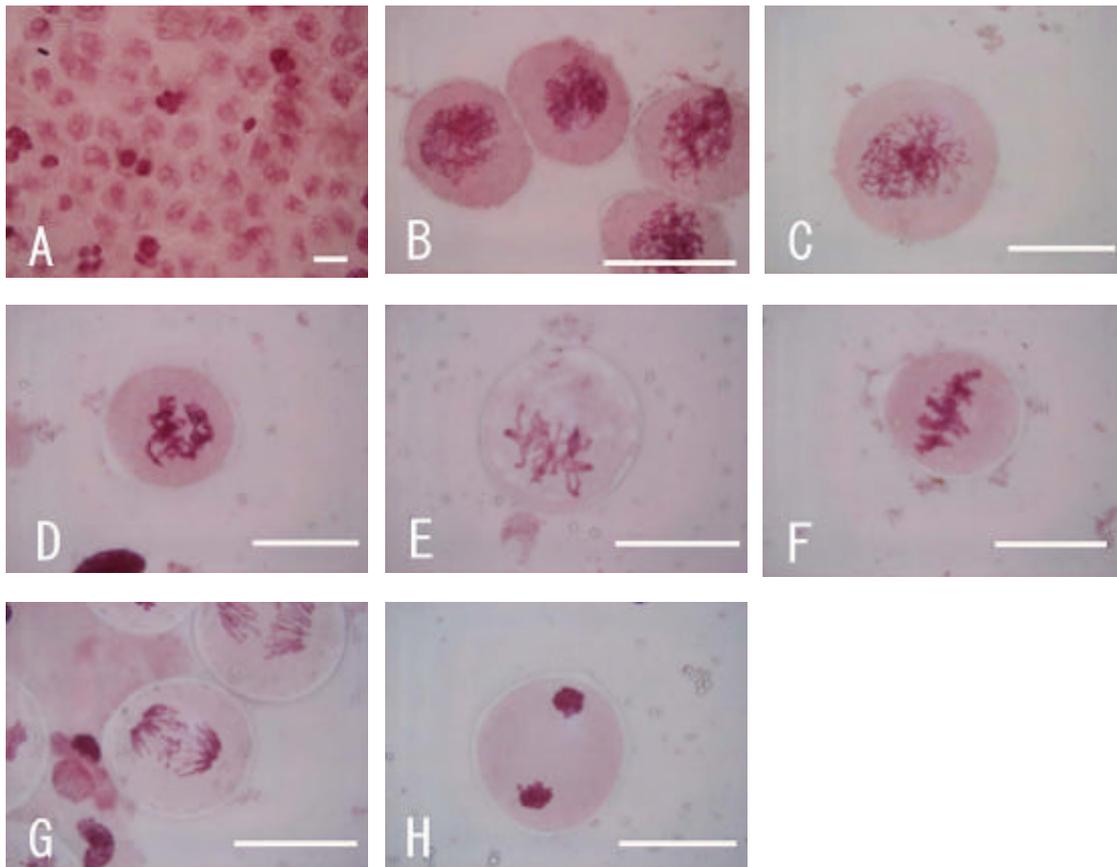


Fig.4-1-2A-H. Premeiosis of pollen mother cell in restored anther under high temperature condition (30/23) in the Asiatic hybrid lily 'Akita Petit White'. A; Leptotene stage. B; Zygotene stage. C; Pachytene stage. D; Diplotene stage. E; Diakinesis. F; Metaphase I. G; Anaphase I. H; Telophase I. Bar=50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

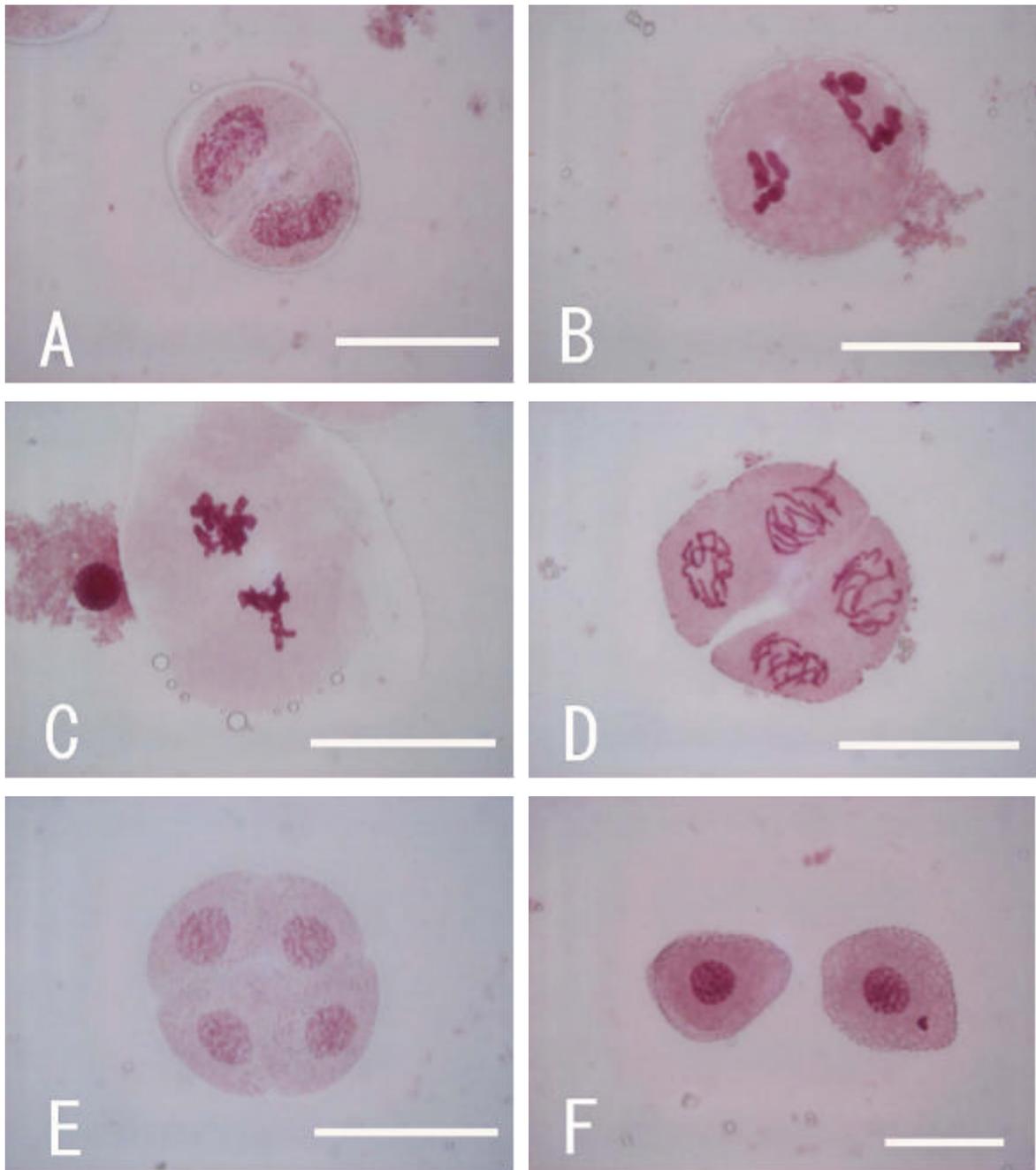


Fig.4-1-3A-F.Secondmeioticdivision ofpollenmothercellinrestoredantherunderhightemperature condition (30/23 )intheAsiatichybridlily ' Akita Petit White ' .A:Interphase.B:ProphaseII.C: MetaphaseII.D:AnaphaseII.E;Tetrad.F:Gamete.Bar=50μm.

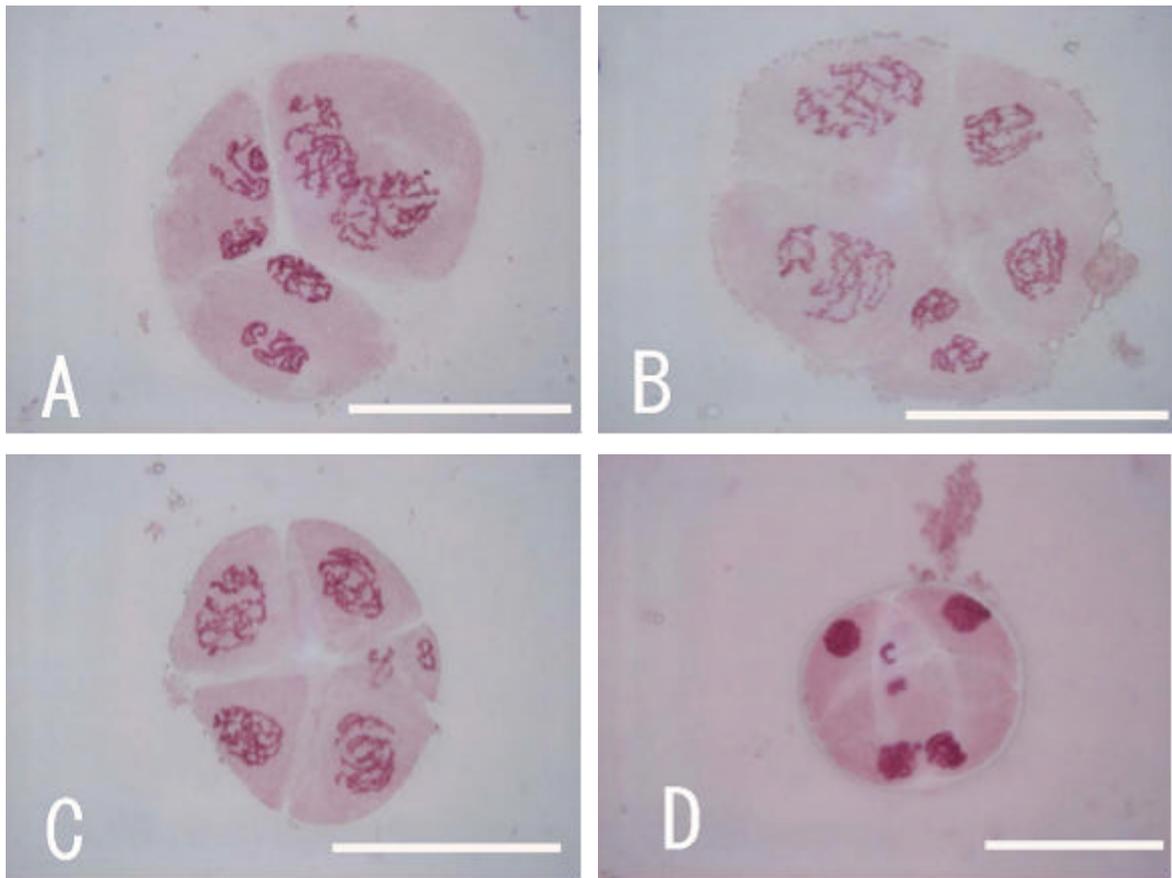


Fig.4-1-4A-D. Unusual meiosis of pollen mother cell in restored anther under high temperature condition (30/23 ) in the Asiatic hybrid lily 'Akita Petit White'. A; Triad shows a clear division of three nuclear formations. B-D; Unbalanced chromosome distribution. Bar=50 $\mu$ m.

#### 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（Koitoran, 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、256 μmol・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)

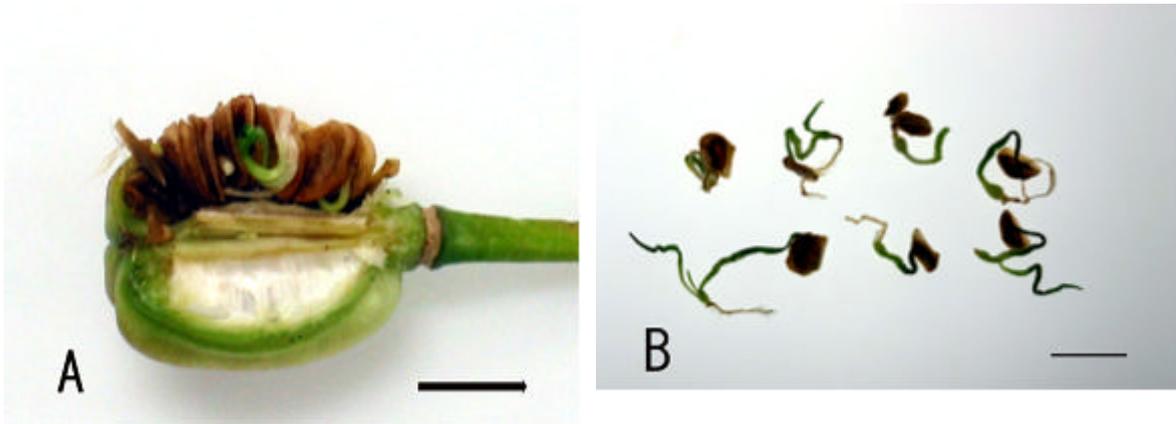


Fig.4-2-2A-B. Viviparous seeds. A: Some seeds obtained from the self-pollination 'Akita Petit White' germinated in a capsule. B: Viviparous seeds obtained from crosses between 'Akita Petit White' and 'Odagirikisukashi'. (Bar=5cm)



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256 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 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)。ユ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、ユ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。そのため、これまでにユ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ユリの稔性回復は、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ユリ '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ユリ '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, 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。

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, Kyoto 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, Table5-2-1)。

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、規則的に発達は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

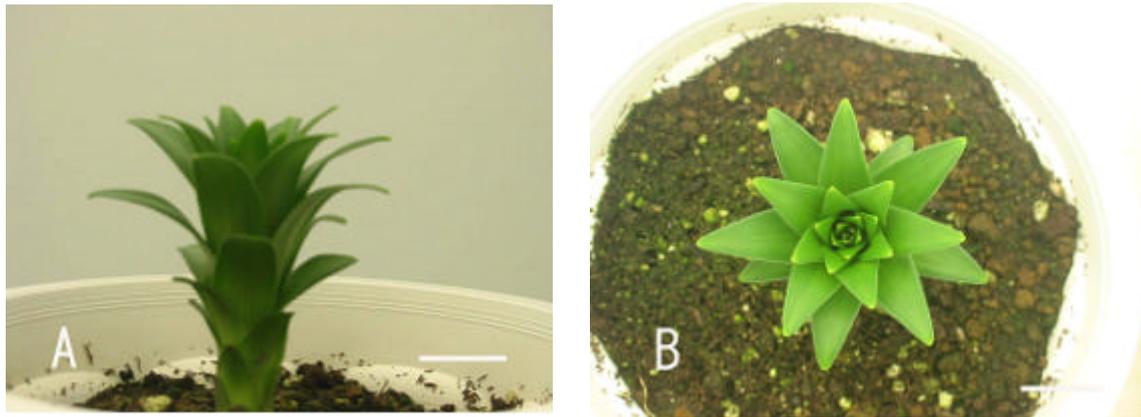


Fig.5-2-1A-B. The plant posture in the timing when pot transferred to growth cabinet. A : It shows the timing when growing point returned hard. B : The plant posture on the upper side. Bar=1cm.



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)

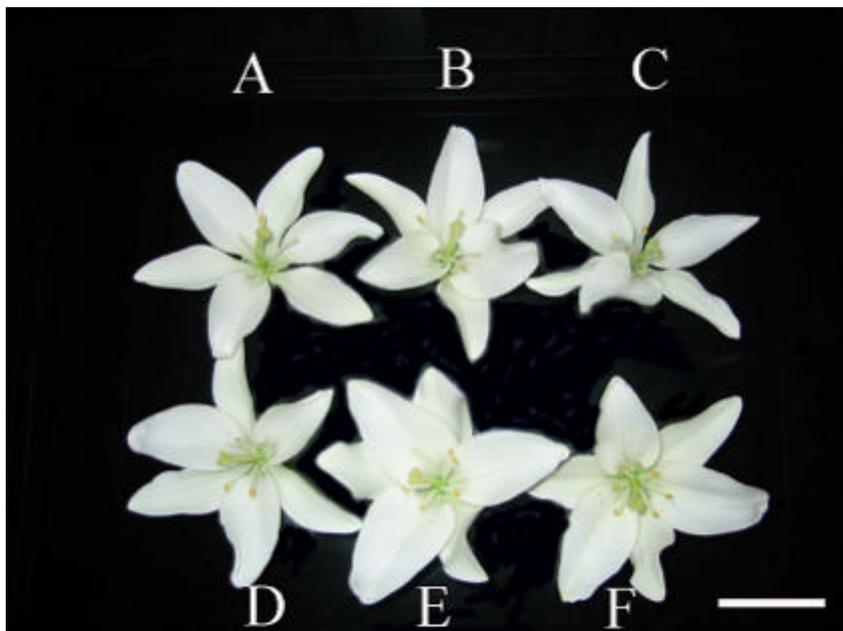


Fig. 5-2-4. Restoration of intact anthers were dependent of the duration of high temperature condition irregularly. A; One of the six stamens was restored intact anther. B; Two of the six stamens were restored intact anther. C; Three of the six stamens were restored intact anthers. D; Four of the six 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).

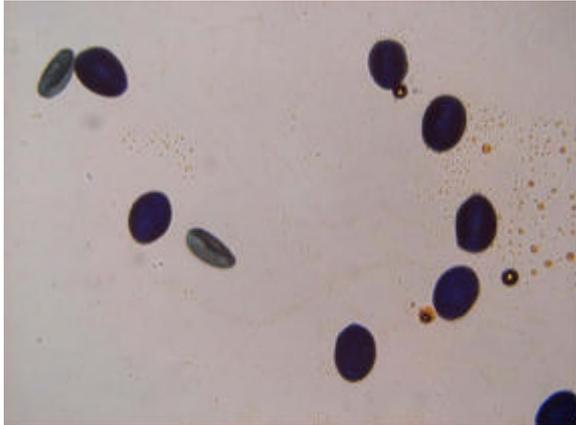


Fig.5-2-5. Restored pollen grains collected from plant treated with high temperature of 32/25 for three days, were stained by lactophenol-cotton blue.

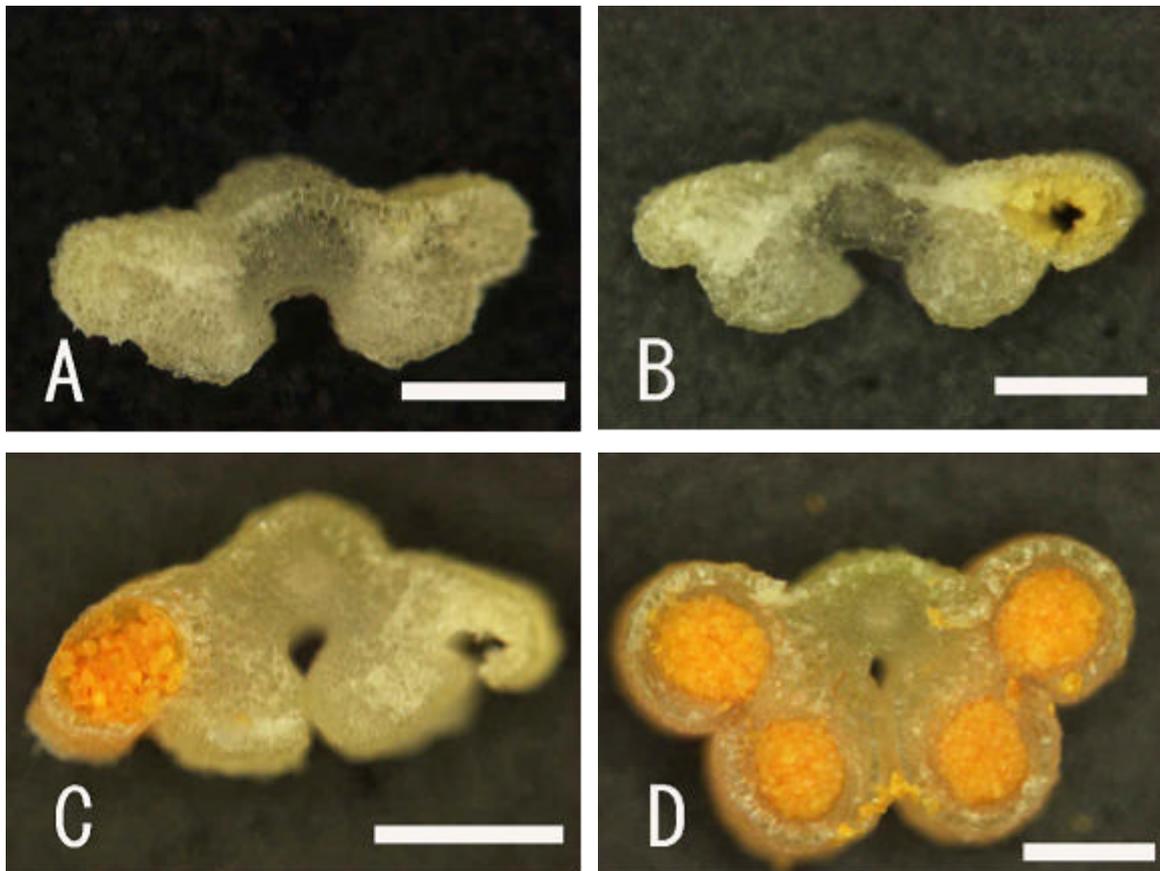


Fig.5-2-6. Cross section of restored anther under high temperature condition for few days. A; Cross section of immature anthers. No anther locule contained pollen grains. B; Cross section of indehiscent anthers. One of four loculus contained yellowish pollen grains. C; Cross section of indehiscent anthers.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

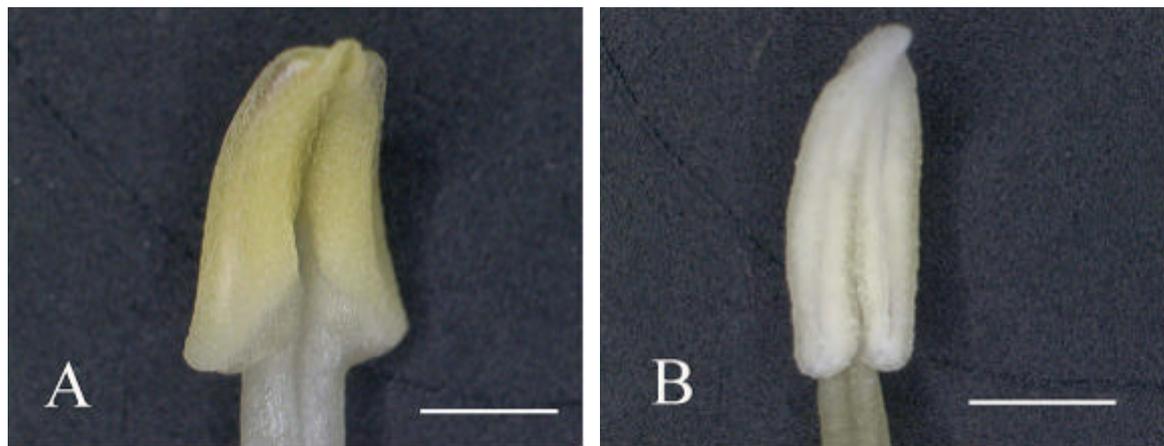


Fig.5-2-7A-B.Immature anthers were formed in a plant treated with high temperature condition for three days. A;malformed anther was yellow just after the bloom. B;Anther sturned white and withered three days after bloom.Bar=3mm.

## 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奇的な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は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)

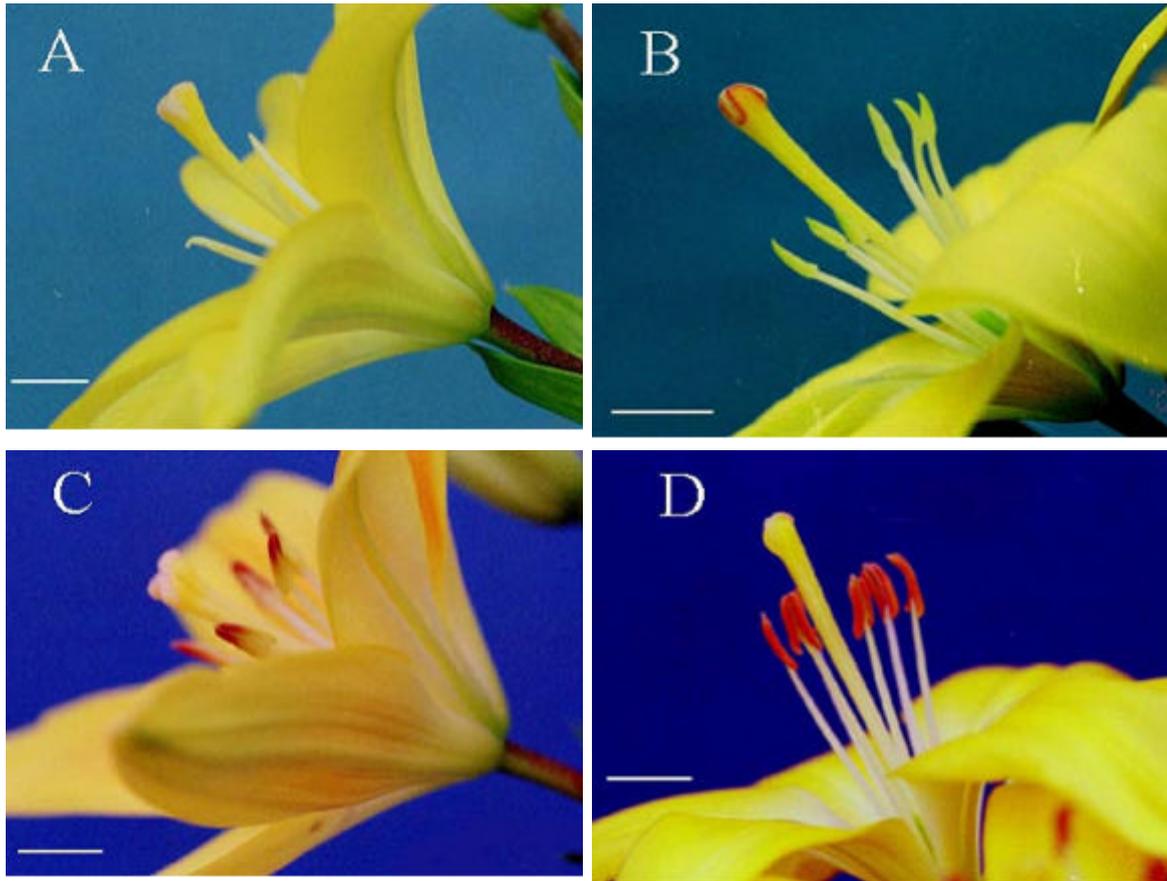


Fig.6-1. Stamens of male-sterile cultivars grown under controlled conditions. **A.** Antherless stamens of 'Akita PetitGold' grown under LT (18/11 ). Bar=1cm. **B.** Immature anthers of 'Akita PetitCream' grown under LT. Bar=1cm. **C.** Intact anthers, containing non-viable pollen, of 'Akita PetitGold'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

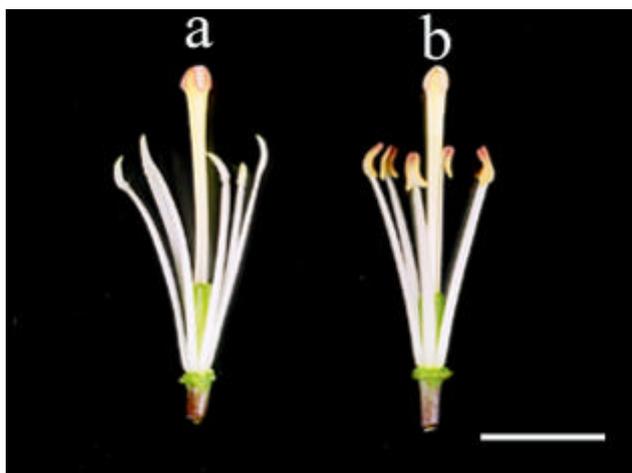


Fig.6-2. Restoration of stamens in 'Akita Petit Cream' after growth under HT (perianth was removed). (a) Immature anthers after growth under LT. (b) Restored anthers with functional pollen after growth under HT. Bar=1cm.

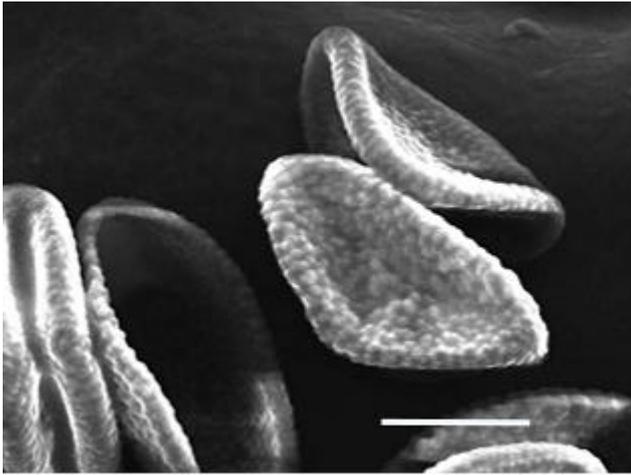


Fig.6-3. Non-viable pollen of 'Akita Petit Gold' after growth under HT, as observed by scanning electron microscopy. Bar=20 $\mu$ m.



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、薬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～雌ずい形成期の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薬の発達が未熟で、4つの薬のうち1つの薬のうにだけ花粉粒が形成されるなど不完全な薬になる。
- 7, 薬の回復に重要な温度遭遇時期は、雄ずい形成期～雌ずい形成期の間限定される。高温遭遇後の低温処理では、薬の回復作用は継続し、打ち消されることはない。また、その期間以外的高温遭遇によっても、薬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 and pollentube growth. *Am J Bot* 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 male fertility. *The Plant Cell* 5:1277-1283.
- Coen, E. C. and Meyerowitz, E.M. 1991. The war of the whorls: genetic interactions controlling flower development. *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, London 15:86-105.
- 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. Z Genet.* 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. *Eucarpia Cruciferae Newsletter* 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., and Stefansson, B. R. 1986. Influence of temperature on sterility of two cytoplasmic male-sterility systems in rape (*Brassica napus* L.). *Can. J. Plant Sci.* 66:221-227.
- Goldberg 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. and Mercuri, 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-sensitive genic male-sterile rice.
- 日向康吉. 2001. 花性と生殖の分子生物学. 学会出版センター - 東京.
- Ichimura, K. and Hisamatu, T. 1999. Effects of continuous treatment with sucrose on the vase life, soluble carbohydrate concentrations, and ethylene production of cut snapdragon flowers. *J. Japan Soc. Hort. Sci.* 68:61-66.
- 池橋宏. 2000. イネに刻まれた人の歴史. 学会出版センター - 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, pp205-221.
- 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, Villemoes, 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)

## エダマメ品種「あきた香り五葉」の育成

檜森 靖則<sup>1)</sup> 椿 信一 佐藤 孝夫 佐藤 雄幸 佐々木和則<sup>2)</sup> 加賀屋博行  
飯塚 文男<sup>2)</sup> 吉川 朝美<sup>2)</sup> 岡田 晃治<sup>2)</sup>

## 抄 録

「あきた香り五葉」は、秋田県農業試験場において、良食味でオリジナルなエダマメ品種の育成を目標に、県内の在来種から選抜した中晩生で良食味の「農試茶豆」を母、中生で収量性のある「ツルムスメ」を父として1994年に人工交配し、その後代より育成した品種である。小葉の数は5枚で、収穫期は「錦秋」と同じ中生の晩、6月上旬播種の場合、秋田県の県南内陸平坦地域における収穫期は9月上～中旬である。「錦秋」に比べ、草姿はコンパクトで、多粒莢率が高く、若莢の大きさは「錦秋」と同様に大きい。また、湯煮後の莢は緑色が濃く、香り、甘み、旨みなど食味・食感が優れる。

キーワード：エダマメ、あきた香り五葉、品種育成、良食味、香り、多粒莢率、小葉の数、中晩生

## 目 次

抄録	65	3-5-1 ダイズモザイクウイルス	72
1 緒言	66	3-5-2 ダイズシストセンチュウ	72
2 来歴及び育成経過	66	4 適応地域及び栽培上の注意点	72
3 特性の概要	68	4-1 秋田県における普及見込み地域	72
3-1 形態的特性	68	4-2 栽培上の留意事項	73
3-2 生態的特性	68	5 考察	73
3-3 収量性	68	6 謝辞	73
3-3-1 育成地における成績	68	7 引用文献	73
3-3-2 現地試験における成績	70	Abstract	74
3-4 若莢の形態と食味特性	70	付記	
3-4-1 若莢の形態	70	(1) 育成関係者	75
3-4-2 食味官能	71	(2) 種苗特性分類一覧	76
3-4-3 食味関連成分	71	(3) 写真	77
3-5 病虫害抵抗性	72		

本研究の一部は、第47回東北農業試験研究発表会、平成16年度秋田育種談話会及びエダマメ研究会第5回研究集会で発表した。

<sup>1)</sup> 現・社団法人秋田県農業公社 <sup>2)</sup> 元・秋田県農業試験場

## 1 緒言

秋田県の2005年における野菜の作付面積は9,970ha、生産額は259億円で農業産出額の13.9%を占めている(農林水産統計年報)。エダマメは本県の主要野菜であり、水田転作が強化される中で、水田転換畑を利用できる土地利用型品目として、生産が振興されている。エダマメの作付面積は約880haで、播種から収穫、脱莢、選別までの機械化が徐々に進んできており、県南部内陸平坦地域を中心に生産が増加傾向である。出荷時期は7月中下旬から10月中旬頃までで、それに対応して品種も極早生から晩生までかなり多くの品種が導入されている。

エダマメの品種は民間種苗会社の育成が多いが、最近、各県の研究機関からも特徴のある品種が発表されてきている(平井ほか,1996、高橋ほか,2001、福島ほか,2006)。近年、消費・流通段階はもとより、生産現場においても食味のよいエダマメへの関心が高まっており、新しい品種を導入する際も栽培特性に加え、食味のよさが重視されてきている(近江,2007)。しかし、秋田県内には他県の主力産地のような独自ブランドとなる良食味品種がないのが現状で、県産エダマメは量販店や消費者による店頭評価において、特色のないその他銘柄に分類されており、有利販売するに至っていない状況であった。このため、生産者、農業団体、行政等から県独自の良食味で特徴があり、市場や店頭において優位性の確保が可能な品種の育成が要望されていた。

これを受けて、秋田県農業試験場では1994年から野菜・花き等園芸作物育種事業を実施し、対象品目の一つとしてエダマメの育種を進めてきた。2004年4月に、10年間にわたる育種試験を経て、9月上旬～中旬に収穫できる中晩生のエダマメ新品種「あきた香り五葉」を育成した。

本品種は平成16年3月30日に、種苗法に基づく品種登録に出願し、平成19年3月15日付けで品種登録された(登録番号 第15129号)。さらに、平成17

年に秋田県の園芸作物認定品種に採用された。

ここでは、育成の経過と主要特性について、これまでの試験結果に基づいて報告し、普及及び今後の品種育成の参考に供する。

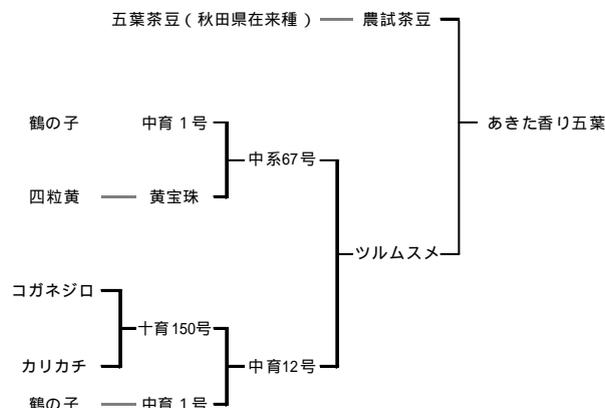
## 2 来歴及び育成経過

「あきた香り五葉」は1994年に秋田県農業試験場において、良食味でオリジナルなエダマメ品種の育成を目標として、「農試茶豆」を母に、「ツルムスメ」を父として人工交配を行い、以後選抜・固定を図ってきたものである(第1図)。

母親の「農試茶豆」は秋田県の在来種「五葉茶豆」から選抜した中晩生で小葉の数が5枚、エダマメとしての食味はよいものの、毛茸の色が褐色で、莢がやや小さく、外観に難点がある系統である。

父親の「ツルムスメ」は1990年に北海道立中央農業試験場が育成した中生で白目・極大粒・良質の大豆品種で、エダマメとしての収量性もあり、多粒莢率が高く、毛茸の色が白で外観が良好な品種である(中村ほか,1991)(第1表)。

「あきた香り五葉」の育成経過の概要を第2表に示した。1994年に6花を交配し、4莢9粒を得た。F<sub>1</sub>養成後、世代促進及び集団選抜を行い、F<sub>3</sub>以降は系統育種法により選抜・固定を進めてきた。F<sub>3</sub>代の成績が優れていたことから、1997年に、「秋試610-14」の系統番号を付し、F<sub>4</sub>代以降F<sub>8</sub>代まで生産力検定試験を実施するとともに、固定を進めてきた。その結果、有望と認められたので、2002年から2年間、「秋試1号」として現地試験を行い、現地において栽培適応性試験を行った。2002年に主要な形質について、系統間及び個体間の変異係数を調査した結果、実用的に支障のない程度に固定しているものと認められた(第3表)。2004年4月に「あきた香り五葉」の名称で品種登録の出願を行った。品種登録出願時点での世代はF<sub>10</sub>である。



第1図 「あきた香り五葉」の系譜

注) 破線は純系分離法による

第1表 両親の特性

(1996年 育成地)

品種名	胚軸の色	小葉の		花茎色	主茎節数	分枝数	伸育型	熟莢色	粒の			種皮の色	臍の色	毛茸の色	開花期	成熟期	多粒莢率	一莢重 (g)	可販収量 (kg/a)	同左比 (%)		
		形	数						大	子葉色	形										光沢	
農試茶豆(母)	紫	円葉	5枚	紫	中	中	少	有限	褐	大	黄	扁球	中	褐	黒	褐	中晩	中晩	中	2.3	36	99
ツルムスメ(父)	白	円葉	3枚	白	短	少	少	有限	淡褐	極大	黄	球	弱	黄白	黄	白	中	中	高	2.4	50	139
錦	秋緑	円葉	3枚	白	短	中	少	有限	褐	極大	黄	扁球	弱	淡緑	極淡褐	白	中晩	中晩	中	3.2	36	100

注) だいず品種特性分類審査基準(だいず種苗特性分類調査委員会 1995)による。観察及び計測値に基づき分類した。

第2表 育成経過

試験年次(年)		1994	1995		1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003
世代		交配	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10
供試	系統群	6(花)										
	系統数				47	8	12	23	20	4	4	4
選抜	系統数	4莢				8	7	4	1	1	1	1
	個体数	9粒	171粒	47	8	12	23	20	4	4	4	5
検定	ウイルス											
	線虫											
備考	生産力											
	地域適応											
		秋試 610-14						秋試 1号				

注) 検定: ウイルス; ダイズモザイクウイルス抵抗性検定試験。線虫; ダイズシストセンチュウ抵抗性検定試験。生産力; 生産力検定試験。地域適応; 現地試験。

第3表 固定度に関する調査

(2002年 育成地)

品種名	変異係数(%)						
	主茎長		主茎節数		分枝数		
	系統間	個体間	系統間	個体間	系統間	個体間	
あきた香り五葉	2.7	5.1	1.4	4.7	6.6	20.5	
錦	秋	2.8	6.8	1.8	4.8	8.4	21.3

注) 1. 栽植様式はうね幅75cm、株間25cm、1株1本立て。

2. 秋試1号(F9)及び錦秋の5系統各20個体における系統間および系統内個体間の変異係数。

3 特性の概要

3-1 形態的特性

胚軸の色は紫、小葉の形は円葉、小葉の数は5枚、花色は紫、毛茸の色は淡褐、形は扁、その多少は多である。伸育型は有限、熟莢色は褐である。主茎長はやや短で、「錦秋」、「エンレイ」より短い。主茎節数は「錦秋」や「エンレイ」の中に対し少、分枝数は「エンレイ」の中に対し少で、「錦秋」と同じであ

る。粒の大小は極大の小到に属し、「錦秋」よりやや小さいが、「エンレイ」の中の大より大きい。子葉色は黄、粒形は「錦秋」、「エンレイ」の扁球に対し、扁楕円体である。光沢は「錦秋」と同様、「エンレイ」の強に対し弱である。種皮及び臍の色は黄である(第4表)。

第4表 形態的特性

(2001、2002、2003年 育成地)

品種名	胚軸の色	小葉の形数	花の色	主茎長	主茎節数	分枝数	伸育型	熟莢色	粒の			種皮の色	臍の色	
									大	子葉色	光沢			
あきた香り五葉錦	紫	円葉5枚	紫	短	少	少	有限	褐	極大	黄	扁楕円	弱	黄	黄
錦秋	緑	円葉3枚	白	短	中	少	有限	褐	極大	黄	扁球	弱	淡緑	極淡褐
エンレイ	紫	円葉3枚	紫	中	中	中	有限	褐	中の大	黄	扁球	強	黄	極淡褐

注) だいず品種特性分類審査基準(だいず種苗特性分類調査委員会 1995)による。観察及び計測値に基づき分類した。\*印は当該形質についての標準品種になっていることを示す。

3-2 生態的特性

開花期及び成熟期は「エンレイ」より早く、「錦秋」並の中晩で、生態型は中間型に属する。裂莢の難易は中、最下着莢節位高は中、倒伏抵抗性は

「錦秋」、「エンレイ」の強に対し強~極強である。子実収量は「エンレイ」の中、「錦秋」の少に対し、少~中である(第5表)。

第5表 生態的特性

(2001、2002、2003年 育成地)

品種名	開花期	成熟期	生態型	裂莢の難易	最下着莢節位高	倒伏抵抗性	子実収量
錦秋	中の晩	中の晩	中間	中	中	強	少
エンレイ	晩	晩の早	中間	難	中	強	中

注) だいず品種特性分類審査基準(だいず種苗特性分類調査委員会 1995)による。観察及び計測値に基づき分類した。\*印は当該形質についての標準品種になっていることを示す。

3-3 収量性

3-3-1 育成地における成績

育成地における生産力検定試験5カ年の成績を第6表及び第7表に示し、それら試験の耕種概要を第8表に示した。「あきた香り五葉」の開花期は「錦秋」と同じ7月24日、エダマメ収穫期は9月11日で「錦秋」より2日遅かった。主茎長は52cm、主茎節数は13.4、分枝数は3.2で、「錦秋」に比較して主茎長と分枝数は同等、主茎節数はやや少なかった。莢粒数

別割合は、一粒が19.7%、二粒が64.5%、三粒が15.8%で、「錦秋」に比べ三粒莢の割合がやや高かった。全

莢に占めるくず莢の割合は42.9%で、「錦秋」に比べやや高かった。可販莢数は204個/m<sup>2</sup>で、「錦秋」に比べやや多く、可販莢の一莢重は2.6gで「錦秋」に比較して、やや軽かった。可販収量は53kg/aで「錦秋」の可販収量の96%であった。

第6表 生産力検定試験における生育 (1997、1998、1999、2000、2001年 育成地)

品種名	試験年度	播種日 (月日)	開花日 (月日)	収穫日 (月日)	主茎長 (cm)	主茎節数 (節)	分枝数 (本)
	1998	6/9	7/23	9/10	48	12.1	1.7
	1999	6/4	7/27	9/13	61	15.3	4.0
	2000	5/25	7/20	9/11	61	14.5	3.1
	2001	5/25	7/19	9/7	52	13.9	4.7
	平均	6/3	7/24	9/11	52	13.4	3.2
錦秋(対照)	1997	6/13	7/30	9/11	39	12.1	3.0
	1998	6/9	7/28	9/10	43	13.8	1.9
	1999	6/4	7/25	9/9	67	14.9	4.2
	2000	5/25	7/18	9/8	62	15.6	2.3
	2001	5/25	7/18	9/7	54	15.7	4.9
	平均	6/3	7/24	9/9	53	14.4	3.3

注) あきた香り五葉の生産力検定試験における系統名は秋試610-14

第7表 生産力検定試験における収量 (1997、1998、1999、2000、2001年 育成地)

品種名	試験年度	英粒数別割合(%)				くず英率 (%)	可販英			同左比
		一粒	二粒	三粒	英数 (個/m <sup>2</sup> )		一英重 (g)	収量 (kg/a)		
あきた香り五葉	1997	28.9	53.4	17.7	49.0	138	2.7	37	103	
	1998	23.4	60.1	16.4	29.6	177	2.5	44	109	
	1999	28.9	59.5	11.6	39.7	204	2.4	48	90	
	2000	12.9	75.2	11.9	45.6	324	2.6	84	116	
	2001	4.3	74.4	21.2	50.6	175	2.9	50	60	
	平均	19.7	64.5	15.8	42.9	204	2.6	53	96	
錦秋(対照)	1997	20.7	62.4	16.8	53.7	114	3.2	36	100	
	1998	16.0	69.8	14.2	25.7	142	2.9	41	100	
	1999	35.9	55.8	8.3	38.2	205	2.6	54	100	
	2000	9.6	79.9	10.5	48.8	210	3.5	73	100	
	2001	7.8	78.5	13.6	25.9	210	4.0	83	100	
	平均	18.0	69.3	12.7	38.5	176	3.2	57	100	

注) くず英率: くず英数/全英数×100、可販英: 二粒英以上の完全英、あきた香り五葉の生産力検定試験における系統名は秋試610-14

第8表 生産力検定試験の耕種概要

試験年度	試験場所	試験条件	栽培様式	播種日 (月日)	うね幅 (cm)	株間 (cm)	施肥量			中耕培土 (回)
							N (kg/a)	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (kg/a)	K <sub>2</sub> O (kg/a)	
1997年	秋田市仁井田	普通畑	露地普通	6/13	75	20	0.25	0.75	0.75	2
1998年	"	"	"	6/9	75	20	0.25	0.75	0.75	3
1999年	"	"	"	6/4	75	20	0.25	0.75	0.75	3
2000年	河辺郡雄和町	普通畑	露地普通	5/25	75	20	0.25	0.75	0.75	2
2001年	"	"	"	5/25	70	25	0.25	0.75	0.75	3

注) 試験場所: 農業試験場本場、土質: 細粒褐色低地土(秋田市仁井田)、非アロフェン質黒ボク土(河辺郡雄和町)

## 3-3-2 現地試験における成績

県内のエダマメ主産地である県南内陸平坦地域における現地試験の成績を第9表及び第10表に示し、それら試験の耕種概要を第11表に示した。現地試験を実施した場所は2カ所とも水田転換畑である。

「あきた香り五葉」のエダマメ収穫期は「錦秋」と同じ9月11日であった。主茎長は55cm、主茎節数は14.2、分枝数は4.8で、「錦秋」と比較して、主茎長はやや短、主茎節数と分枝数はやや少であった。莢粒数別割合は、一粒が6.6%、二粒が66.6%、三粒

が26.7%で、「錦秋」に比べ、三粒莢の割合が高かったが、くず莢の割合は37.2%で、「錦秋」よりも高かった。可販莢数は204個/m<sup>2</sup>で、「錦秋」に比べやや少なく、可販莢の一莢重は3.1gで「錦秋」並～やや軽かった。可販収量は63kg/aで、「錦秋」に比べ少なく、その77%であった。

第9表 現地試験における生育

品種名	試験年度	試験場所	播種日	収穫日	主茎長	主茎節数	分枝数
			(月日)	(月日)	(cm)	(節)	(本)
あきた香り五葉	2002年	横手市	6/4	9/9	55	15.3	4.7
	2003年	太田町	6/5	9/12	54	13.1	4.8
	平均		6/5	9/11	55	14.2	4.8
錦秋(対照)	2002年	横手市	6/4	9/9	57	16.9	5.2
	2003年	太田町	6/5	9/12	66	15.6	5.2
	平均		6/5	9/11	62	16.3	5.2

注) あきた香り五葉の現地試験における系統名: 秋試1号

第10表 現地試験における収量

品種名	試験年度	試験場所	莢粒数別割合(%)				可販莢			
			一粒	二粒	三粒	くず莢率	莢数	一莢重	収量	同左比
							(%)	(個/m <sup>2</sup> )	(g)	(kg/a)
あきた香り五葉	2002年	横手市	6.8	66.1	26.9	43.3	211	3.0	62	70
	2003年	太田町	6.3	67.1	26.5	31.0	197	3.2	63	83
	平均		6.6	66.6	26.7	37.2	204	3.1	63	77
錦秋(対照)	2002年	横手市	6.7	72.8	20.3	24.9	265	3.3	88	100
	2003年	太田町	4.6	79.8	15.4	17.0	231	3.3	77	100
	平均		5.7	76.3	17.9	21.0	248	3.3	83	100

注) くず莢率: くず莢数/全莢数×100、可販莢: 二粒莢以上の完全莢、あきた香り五葉の現地試験における系統名: 秋試1号

第11表 現地試験の耕種概要

試験年度	試験場所	試験条件	土質	栽培様式	播種日	うね幅	株間	施肥量			中耕培土
								N	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O	
								(kg/a)	(kg/a)	(kg/a)	(回)
2002年	横手市上八丁	転換畑	細粒グライ 土	露地普通	6/4	80	30	0.25	0.75	0.75	2
2003年	太田町川口	転換畑	れき質褐色 低地土	露地普通	6/5	80	30	0.25	0.75	0.75	3

## 3-4 若莢の形態と食味特性

## 3-4-1 若莢の形態

「あきた香り五葉」の若莢の色は、「錦秋」と同じく緑、若莢の長さとは幅は「錦秋」と同様、長と広である。湯煮後の莢色は「錦秋」の緑に対し、濃緑で

ある。一莢内粒数は中～多で、「錦秋」より多い。毛茸の多少は「錦秋」の中に対し多、毛茸の形は「錦秋」の直に対し扁、毛茸の色は「錦秋」が白であるのに対し淡褐である(第12表)。

第12表 若莢の形態 (2001、2002、2003年 育成地)

品種名	若莢の			湯煮後の莢色	一莢内粒数	毛茸の		
	色	長さ	幅			多少	形	色
あきた香り五葉	緑 (3312)	長	広	濃緑 (3711)	中-多	多	扁	淡褐
錦秋	緑 (3312)	長	広	緑 (3513)	中	中	直	白
エシレイ	緑 (3312)	中	中	濃緑 (3711)	中	中	直	白

注) だいたひ品種特性分類審査基準(だいたひ種苗特性分類調査委員会 1995)による。観察及び計測値に基づき分類した。\*印は当該形質についての標準品種になっていることを示す。莢色( )内は、JHSカラーチャート。

3-4-2 食味官能

食味官能試験の成績を第13表に示した。2001、2002及び2003年の3カ年、「錦秋」を対照(0)として、良(2)、やや良(1)、並(0)、やや不良(-1)、不良(-2)の5段階で評価した。評価項目は、外観、甘み、旨み及び香りとした。「あきた香り五葉」は「錦秋」と比較

して、外観評価はやや低いものの、甘み、旨み及び香りの評価は「錦秋」を上回り、食味評価が高かった。

第13表 食味官能評価 (2001、2002、2003年育成地)

品種名	試験年度	外観	食味			パネラー数
			甘み	旨み	香り	
あきた香り五葉	2001	-0.5	0.6	0.9	0.9	13
	2002	-0.6	0.7	0.7	0.8	17
	2003	-0.6	0.4	0.4	0.2	12
	平均	-0.56	0.55	0.65	0.62	42

注) 評価: 錦秋を対照(0)として、良(2)、やや良(1)、対照並(0)、やや劣(-1)、劣(-2)の5段階で評価した。パネラー数: 計42名。

3-4-3 食味関連成分

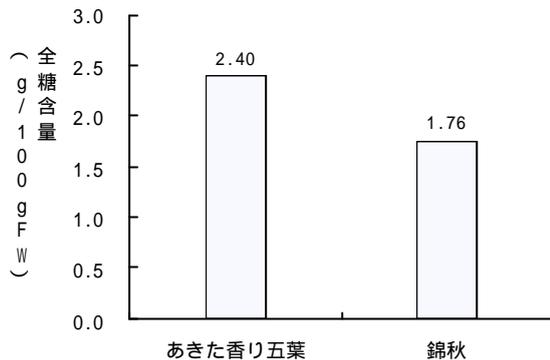
(1)方法

分析試料は、2003年に仙北郡太田町で実施した現地試験の「あきた香り五葉」と「錦秋」を用いた。それぞれ収穫適期の株から5株収穫し、脱莢、湯煮後、子実を取り出し、分析に供するまでの間、-20℃で保存した。分析時に子実を解凍し、平均的な厚さの子実の中から約4gを計量し、5倍量の80%メタノールを加え、1分間ホモジナイザーで磨砕後、80℃で20分間抽出した。100mlに定容し、糖、アミノ酸の抽出液を得た。糖含量は、抽出液を蒸留水で10倍に希釈後、希釈液をメンブランフィルター(0.45µm)でろ過し、HPAE-PAD法により高速液体クロマトグ

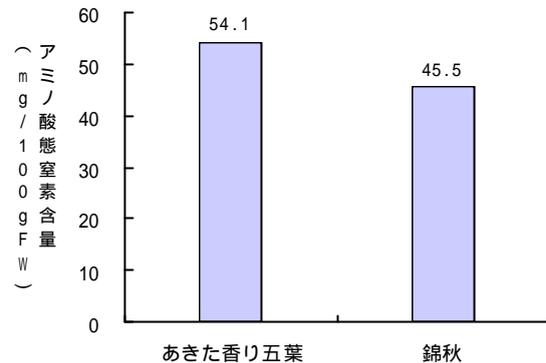
ラフィーで分離定量した。装置はダイオネクス社 DX-500HPLC、カラムはダイオネクス社 Carbo PA1を用い、溶離液は0.1mMNaOH、流量は1ml/minとし、検出器はパルスドアンペロメトリ検出器を用いた。アミノ酸含量は、抽出液を2倍に濃縮し、ホルモール滴定により、アミノ酸態窒素として測定した。分析は2反復で行った。

(2)結果

「あきた香り五葉」は「錦秋」に比べ、甘みに関係する全糖含量と、旨みに影響するアミノ酸態窒素含量が高く、食味官能の結果と合致した。



第2図 未成熟子実の全糖含量  
(2003年 育成地)



第3図 未成熟子実のアミノ酸態窒素含量  
(2003年 育成地)

### 3-5 病虫害抵抗性

#### 3-5-1 ダイズモザイクウイルス

東北農業研究センター大豆育種研究室が実施したダイズモザイクウイルス抵抗性検定試験の結果を第

15表に示した。A～Eまでの病原系統について、「あきた香り五葉」はA系統及びB系統に抵抗性、C系統、D系統及びE系統に感受性であった。

第15表 ダイズモザイクウイルス検定試験

品種名	病原系統				
	A系統	B系統	C系統	D系統	E系統
あきた香り五葉	R	R	S	S	S
エンレイ(比較)	R	R	S	S	S

注) 2003年、東北農業研究センター大豆育種研究室で実施。R: 抵抗性、S: 感受性。

#### 3-5-2 ダイズシストセンチュウ

東北農業研究センター大豆育種研究室が実施したダイズシストセンチュウ抵抗性検定試験の結果を第16表に示した。ダイズシストセンチュウレース3の優占汚染土に播種し、約7週間後に個体別に調査し

た。根の雌成虫の着生程度を、0(無)～4(甚)の階級値で表し、寄生度指数を算出した。検定の結果、「あきた香り五葉」の抵抗性の判定は弱であった。

第16表 ダイズシストセンチュウ検定試験

品種名	調査個体数	寄生度指数	既往評価	判定
あきた香り五葉	25	88	-	弱
ワセシロゲ(比較)	10	93	弱	弱
ネマシラズ(比較)	10	3	強	強
Peking(比較)	10	0	強	強

注) 2003年、東北農業研究センター大豆育種研究室で実施。寄生度指数 = (階級値 × 該当個体数) × 100 / 4 × 個体数

## 4 適応地域及び栽培上の注意点

### 4-1 秋田県における普及見込み地域

県南部の内陸盆地を中心に、平坦部一円で栽培が

可能である。約60haの作付が見込まれる。

#### 4-2 栽培上の留意事項

- (1)播種期など栽培法は「錦秋」に準ずるが、「錦秋」に比べ草姿がコンパクトなので、やや密植（625株/a程度）にして収量の確保を図る。
- (2)茎疫病、黒根腐病などの土壌病害の発生を極力おさえるために、排水良好な圃場を選定するとともに、長期の連作（4年以上）は避ける。排水不良地では、圃場周辺に明渠を施工した上で、暗渠が施工済みの圃場でも、より排水効果を高めるため、弾丸暗渠などの補助暗渠を施工することが望ましい。
- (3)ダイズシストセンチュウ抵抗性は弱なので、発生圃場への作付は避ける。

### 5 考察

「あきた香り五葉」は秋田県が初めて育成したエダマメ品種である。品種の名称は、秋田のオリジナル品種で、香りが良く、小葉の数が5枚であることから命名された。エダマメの育種に取り組むにあたって、育成品種にオリジナル性を付与したいとの考えから、母親に秋田県の在来種「五葉茶豆」から選抜した系統を用いている。小葉の数が5枚の在来種は、県内では古くから「いっつぱ」の名で呼ばれており、県内における大豆在来種の調査によれば、県内には小葉の数が5枚の在来種が各地に分布し、種皮色、成熟期など形態的及び生態的な特徴もかなり多様で、その中には、エダマメとしての食味が優れる在来種も多数存在している（檜森,2000）。食味を兼ね備えたオリジナルな品種を育成していくためには、今後さらに、これらの貴重で特徴のある在来種を育種母本として活用していくことが必要である。また、中晩生以降の品種の多粒莢率は10%前後と、早生品種に比べ低い品種が多い（本庄ほか,2005、檜森,2000）が、「あきた香り五葉」は25%程度、時には30%を超える数値を示す場合もあり、生産や販売上有利な特徴を備えている。

県内におけるエダマメ生産は、国内の種苗メーカーが育成した品種を出荷時期に対応して組合せたり、播種時期を調整することにより、7月中旬から10月中旬頃まで継続出荷を図っている。農林水産省野菜生産出荷統計によれば、出荷先は首都圏が圧倒的に多い。また、首都圏の市場における秋田県産の割合は、7～8月は低く9月以降はかなり高いという特徴がある。需要が多い7～8月は群馬、埼玉、千葉など首都圏やその近郊からの出荷割合が高く、需要が暫減してくる9月以降は本県など遠隔地の産地からの出荷割合が高くなる。これまでの首都圏における9月期のエダマメのマーケティング調査によれば、産地からは旬で新鮮なエダマメを出荷しているにもかかわらず、首都圏の消費者は9月期のエダマ

メについて「夏の残り物」、「旬でない」などの潜在意識を持っている人が非常に多いことが指摘されている（上田ほか,2005）。すなわち、9月期に生産出荷される「あきた香り五葉」の今後の普及拡大と有利販売のためには、首都圏などの消費者に9月期のエダマメ「あきた香り五葉」の食味、おいしさを引き出すゆでかたの情報、品種の由来等をいかにPRするかが課題となり、県内産地、関係機関が一体となったマーケティング活動及び販売促進活動が必要と考えられる。

「あきた香り五葉」の収穫期間は6月上旬に播種した場合、9月上～中旬の2週間と短いため、今後、出荷期間の拡大が求められる。県内の各産地におけるエダマメ生育期間中の温度条件違いを生かして、今後、県内の産地が連携したりレー栽培の導入も検討していく必要がある。また、京都府が育成したエダマメ品種「紫ずきん」については、収穫適期を簡易に判定する技術の確立がなされている（岩本,1999）。「あきた香り五葉」についても、安定した品質のものを継続して出荷していくためには、収穫適期判定技術の確立と生産現場への普及定着が望まれる。

「あきた香り五葉」の品種的な課題として、茎疫病、黒根腐病等の土壌病害や、べと病に弱い傾向が認められていることである。排水不良地を避けるなど栽培技術や薬剤防除によって発病の軽減は可能であるが、今後の育種においては、食味を維持向上させながら、これらの病害に対する耐病性を付与することや良食味品種のシリーズ化が重要と考えられる。

### 6 謝辞

「あきた香り五葉」の育成にあたり、特性検定試験を東北農業研究センター大豆育種研究室に、現地試験では太田町・清水川輝雄氏、横手市・佐藤明氏、JA秋田おばこ、JA秋田ふるさと、試験地所管の仙北地域振興局普及指導課、平鹿地域振興局普及指導課に、エダマメ食味成分の分析では野菜・花き部研究員篠田光江氏にそれぞれご協力をいただいた。関係諸氏に深く感謝したい。また、農業試験場における育種の遂行にあたっては、圃場管理業務の渡部健次郎、関口一樹、小杉利幸の諸氏に多大な労をお願いした。ここに記して謝意を表する。

### 7 引用文献

- だいず種苗特性分類調査委員会.1995.種苗特性分類調査報告書 だいず.日本特殊農作物種苗協会 .55p.
- 近江公.2007.エダマメ民間育種の変遷 - 在来品種を素

- 材とした今日の育種.エダマメ研究 5(1):39-43.
- 秋田県農林水産部農畜産振興課.2008.あきたの野菜まるわかりブック.96p.
- 中村茂樹ほか.1991.ダイズ新品種「ツルムスメ」の育成について.北海道立農試集報 63:71-82.
- 平井輝悦ほか.1996.エダマメ在来種「毛豆」の放射線照射による早生化東北農業研究 49:169-170.
- 高橋拓也ほか.2001.エダマメ品種「滝系 C8」の育成.岩手農研セ研報 2:73-78.
- 高橋拓也ほか.2001.エダマメ品種「滝系 C11」の育成.岩手農研セ研報 2:79-84.
- 福島昭ほか.2006.枝豆用大豆の新品種「黒っこ姫」「茶っころ姫」.平成 17 年度近畿中国四国農業研究成果情報.251-252.
- 檜森靖則ほか.2004.食味がよく三粒莢率の高いエダマメ新品種「秋試 1 号」の育成東北農業研究 57:229-230.
- 檜森靖則.2006.食味がよく三粒莢率の高いエダマメ新品種「あきた香り五葉」の育成秋田育種談話会記事 20:4-5.
- 檜森靖則.2007.エダマメ新品種「あきた香り五葉」の育成経過とその特性.エダマメ研究 5(1):41-44.
- 檜森靖則.2000.秋田県内で収集した在来ダイズのエダマメ特性 第 2 報 多小葉在来ダイズの特性東北農業研究 53:191-192.
- 本庄求ほか.2005.エダマメの原種審査平成 16 年度秋田県農業試験場試験研究成果概要.509-510.
- 上田賢悦ほか.2005.枝豆に対する消費者の価値構造 - 外観と POP を対象として -.東北農業研究 58:263-264.
- 上田賢悦ほか.2005.HUT からみる秋田県産枝豆のマーケティング課題東北農業研究 58:265-266.
- 岩本孝幸.1999.エダマメ用黒大豆「紫ずきん」の収穫時期の判定基準平成 10 年度近畿中国農業研究成果情報:217-218.

### Abstract

#### A New Green Soybean Variety “Akita-Kaori-Goyou”

Yasunori HIMORI <sup>1)</sup>, Nobuichi TSUBAKI <sup>2)</sup>, Takao SATOH <sup>2)</sup>, Yuko SATO <sup>2)</sup>, Kazunori SASAKI <sup>3)</sup>,  
Hiroyuki KAGAYA <sup>2)</sup>, Fumio IIZUKA <sup>3)</sup>, Asami KIKAWA <sup>3)</sup> and Koji OKADA <sup>3)</sup>

( <sup>1)</sup>Present address : Akita Agriculture Public Corporation , <sup>2)</sup>Agricultural Experiment Station Akita Prefectural Agriculture, Forestry and Fisheries Research Center , <sup>3)</sup>Retired : Akita Agricultural Experiment Station )

“Akita-Kaori-Goyou” is a new variety developed by Akita Agricultural Experiment Station, for the purpose of breeding of a good-taste and original green soybean in Akita. It is a selection from a cross between “Noushi-Chamame” and “Turumusume” made in 1994, followed by line selection. “Noushi-Chamame” is selected from local variety in Akita. “Turumusume” is a well yield, good appearance and medium-maturing soybean variety developed by Hokkaido Central Agricultural Experiment Station.

The Agricultural Characteristics of “Akita-Kaori-Goyou” areas follows:

1. Maturing is the same time as “Kinshu” and belongs to the medium-late maturity group. If it is sowed the early in June, it is able to harvest between the early and middle in September at the south in land flat region in Akita.
2. Leaflets are 5-foliolate as the same as that of “Noushi-Chamame”.
3. Plant height is shorter than that of “Kinsyu”.
4. Rate of pods that possess more than 2 grains is high.
5. Appearance quality is good, because young pods are relatively large and the color of blanched young pods is deep green.
6. Taste of blanched young bean is very good for its sweetness and tasty, which is better than that of “Kinsyu”.

#### Key words :

Green soybean, Akita-kaori-goyou, Breeding, Good-taste, Sweetness, Rate of pods that possess more than 2 grains, Number of leaflets, Medium-late maturing



付表2 種苗特性一覧(標準品種との比較)

形 質		育成品種		類似品種		標準品種	
		あきた香り五葉		錦秋		エンレイ	
		階級	区分	階級	区分	階級	区分
植物体	伸育型	3	有限	3	有限	3	有限
	分枝数	3	少	3	少	5	中
茎	胚軸の色	7	紫	3	緑	7	紫
	主茎長	2	短-極短	3	短	5	中
	主茎節数	3	少	5	中	5	中
	最下着莢節位高	5	中	5	中	5	中
	着莢密度(総莢/茎長)	3	粗	3	粗	5	中
葉	小葉の形	3	円葉	3	円葉	3	円葉
	小葉の数	5	5枚葉	3	3枚葉	3	3枚葉
花	花色	7	紫	3	白	7	紫
莢	若莢の色(枝豆用)	5	緑	5	緑	5	緑
	若莢の長さ(枝豆用)	7	長	7	長	5	中
	若莢の幅	7	広	7	広	5	中
	熟莢の色	2	褐	2	褐	2	褐
	湯煮(ブランチング)後の莢色	3	濃緑	2	緑	3	濃緑
	多粒莢率	7	高	6	中-高	5	中
	一莢内粒数	6	中-多	5	中	5	中
	莢数	3	少	3	少	5	中
	裂莢の難易	5	中	5	中	7	中
	毛茸の多少	7	多	5	中	5	中
	毛茸の形	7	扁	3	直	3	直
毛茸の色	9	淡褐	1	白	1	白	
子実	種皮の単色、複色の別	1	単色	1	単色	1	単色
	種皮の地色	2	黄	3	淡緑	2	黄
	粒の子葉色	3	黄	3	黄	3	黄
	粒形	7	扁楕円体	3	扁球	3	扁球
	粒の光沢	3	弱	3	弱	7	強
	臍の色	1	黄	2	極淡褐	2	極淡褐
	裂皮の難易	6	中-難	5	中	7	難
	粒の大小	9	極大群	9	極大群	6	中の大
	粒の大小(極大群の大小)	3	小	4	小-中	-	-
子実の品質	7	上	3	中	7	上	
生理特・生態的	開花期	5	中の晩	5	中の晩	6	晩
	成熟期	6	中の晩	6	中の晩	7	晩の早
	生態型	5	中間型	5	中間型	5	中間型
	倒伏抵抗性	8	強-極強	7	強	7	強
	子実収量	4	少-中	3	少	5	中
病害抵抗性	ダイズモザイクウイルス抵抗性 A系統	3	抵抗性	-	-	3	抵抗性
	ダイズモザイクウイルス抵抗性 B系統	3	抵抗性	-	-	3	抵抗性
	ダイズモザイクウイルス抵抗性 C系統	1	感受性	-	-	1	感受性
	ダイズモザイクウイルス抵抗性 D系統	1	感受性	-	-	1	感受性
	ダイズモザイクウイルス抵抗性 E系統	1	感受性	-	-	1	感受性
	ダイズウイルス病圃場抵抗性	7	強	3	弱	5	中
虫害抵抗性	ダイズシストセンチュウ抵抗性	3	弱	-	-	3	弱



第5図 若莢の形態（左）と収穫期の着莢（右）  
（左から、あきた香り五葉、錦秋、エンレイ）



第6図 子実の形態（左）と成熟期の草本（右）  
（左から、あきた香り五葉、錦秋、エンレイ）



第7図 あきた香り五葉の草姿



# 農業試験場におけるマーケティングを活用した商品開発の一事例 - エダマメの品種開発を事例として -

齋藤文信<sup>1)</sup>・清野誠喜<sup>2)</sup>・上田賢悦<sup>3)</sup>・檜森靖則<sup>4)</sup>・飯塚文男<sup>5)</sup>

(<sup>1)</sup>秋田県農林水産技術センター (<sup>2)</sup>宮城大学食産業学部 (<sup>3)</sup>北秋田地域振興局 (<sup>4)</sup>秋田県農業公社  
(<sup>5)</sup>元 秋田県農業試験場)

## 抄録

エダマメ新品種の商品開発に際して、種苗会社における商品開発と農業試験場における商品開発を比較し、問題点を把握した。その問題点の解決にマーケティングの手法を活用することとした。

具体的には、以下の点を実施した。(1)生産者を含めた関係者が連携するための体制整備。(2)店頭マーケティングリサーチ結果の関係者への提示。(3)店頭における販売促進活動の有効性の立証。(4)陳列方法の違いによる購入比率の変化を把握。(5)数量確保に向けた出荷体制の確立と新パッケージ導入支援。

以上の取り組みと調査から、

(1)開発者から生産者までの関係者で構成される現地推進協議会と県庁が連携し、「香り五葉」の普及拡大が図られた。(2)店頭マーケティングリサーチの実施により、「香り五葉」の販売される9月期のエダマメについて、産地と消費者の間にはギャップがあることが確認された。(3)そのギャップ解消には産地 POP が有効であることが消費者購買行動調査によって確認された。(4)アイランド陳列が購入比率を高めることを確認した。(5)アイランド陳列の実施のためにロット確保の必要性を明らかにした。(6)グループインタビューにより消費者のエダマメパッケージに対するニーズを把握し、消費者ニーズに適合した新たなエダマメパッケージの作成支援を実施した。

これらのことから、商品開発プロセスにマーケティング手法を活用することの有効性が確認された。

キーワード: エダマメ、商品開発、農産物マーケティング、

## 目次

抄録		3 商品化に向けた産地へのアプローチ	82
緒言	79	(1) 事前に実施したマーケティングリサーチ	82
課題と分析方法	80	(2) 生産者・JA への提案	83
1 対象とする課題と分析方法	80	(3) 店頭販促の効果検証と陳列方法の検討	83
2 民間種苗会社と地方公設試の商品開発の比較	80	4 新パッケージ導入の背景と策定プロセス	83
3 農産物におけるマーケティングの課題		商品開発におけるマーケティング活用の意義	84
エダマメ新品種の開発と商品化 - 店頭マーケティングの実施 -	81	残された課題	84
1 エダマメ新品種開発の背景	81	謝辞	85
2 エダマメ新品種の商品化に向けた体制整備	82	引用文献	85
		Abstract	85

## 緒言

我が国における農作物の品種開発は、民間種苗会社(全国に約1400社)の他、旧農林水産省系の研究機関である独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構、各都道府県に設置された地方公設試験場(農業試験場や農業研究センターなど自治体により名称は異なる。以下、地方公設試)が中心となって行われている。これまで地方公設試験場が

開発したものとしては、1982年に秋田県農業試験場(秋田農試、現:秋田県農林水産技術センター農業試験場、以下秋田農技セ農試)が開発した「あきたこまち」、栃木県農業試験場が1996年に開発したイチゴ品種「とちおとめ」、福岡県農業総合試験場が2005年に開発したイチゴ「あまおう」など、消費者になじみのあるものも多い。民間種苗会社が開発したもので消費者の知名度が高いものとしては、タキイ種苗が開発したトマト「桃太郎」シリーズ、サ

カタのタネが1962年に開発した「プリンスメロン」などがある。

品種開発の役割は農林水産技術会議事務局(1993)が「農業の発展を支える基幹技術」、「その効果がもたらす効用は生産者から流通加工業者、消費者まで広い範囲に及ぶ」ものであると指摘している。

種子(品種)開発は究極の「商品開発」であるとされ、多国籍アグリビジネスの多くは、自らが「市場ニーズ」を創出する力を持ち、知的所有権の名の下に基礎技術や遺伝資源を囲い込む動きを強めている(久野1998)。

このように品種開発の重要性は高まりつつあるが、歴史的にみて各地方公設試の主要機能は、農業経営、機械、農作物の適品種の選定、栽培、病害虫の防除、農耕地の保全などに関する技術の開発、改良であり、独自に品種開発機能を持つようになったのは比較的最近のことである。

なお、本論文が対象とする秋田農技セ農試における品種開発は、1970年代に米の産地間競争時代に入って新設・強化された部門である。前述した1982年の「あきたこまち」の開発成功を受けて、1990年代半ばに野菜の育種部門が設置された。また、マーケティングの概念が導入されたのは、秋田農試の再編整備(2000年)以降のことである。農産物のマーケティングは古くからの課題ではあるが、公設試験場が品種(商品)開発からマーケティング研究まで取り組むことは極めてまれである。

本論文では、このような状況を踏まえ、秋田農試(現:秋田農技セ農試)が開発したエダマメ新品種「あきた香り五葉」(以下「香り五葉」)の品種開発から各種マーケティングの実施に至る一連の流れを商品開発事例として扱う。また本論文では「商品開発」を、開発した「製品」が消費者に認知され、実際に消費者に購買されるまでを一連のプロセスとして定義する。その意味では従来の農業試験場における品種開発は「商品開発」ではなく「製品開発」であり、「香り五葉」を事例として、従来の「製品開発」にマーケティング機能を活用することで「商品開発」に発展させる過程として検討する。

## 課題と分析方法

### 1 対象とする課題と分析方法

一般に商品開発の出発点は以下の2点に大別される。シーズを出発点とするもの、ニーズを出発点とするものの2つである。のシーズを出発点とするものは、新技術によって新製品や新規事業が生み出される状況を指す。農業分野での代表例は遺伝子組み換え(GM)技術を活用した新品種開発などである。またシーズ開発は、基礎研究が大きな役割を担っている。のニーズを出発点とするものは、こんなニーズがあるが解決方法はないか、という視点

から新商品が生み出される状況を指す。農業分野での例は、生産者からの耐病性品種開発の要望などから開発された品種などである。

農業における品種開発を中心とした「商品開発活動」は、農業生産の効率化や高付加価値化などへの貢献、他産地との競争力を強化するなど、農業振興において大きな役割を果たしている。

近年、農業分野においても商品開発と密接な関係を持つマーケティング手法やコンサルティング、農産物ブランド開発など様々な研究が行われており、その蓄積が進んでいる。しかし、「商品開発」に関する研究の多くは、生鮮農産物以外の食品・飲料といった農産加工品を対象としているものや、育種学の視点がほとんどであってマーケティングの視点から「商品開発」の過程を研究したものは少ない。また、数少ない既存研究の多くが「県ではこのような事例があった」というような事例紹介や「が大切である」といった概念的な整理をしたものであり、具体的・体系的に開発手法や開発プロセスを論じたものは極めて少ないのが現状である。

そこで、本論文ではエダマメ新品種「香り五葉」の開発とマーケティングを対象として秋田農技セ農試における商品開発について、民間種苗会社との比較によって現状把握を行う。そして、「香り五葉」での具体的な取り組みを素材として商品開発プロセスのあり方を分析する。

### 2 民間種苗会社と地方公設試の商品開発の比較

これまで、野菜の品種登録件数は民間種苗会社のシェアが高かったが、最近になって、前述の農水省系研究機関や地方公設試による野菜品種登録シェアが高まり、民間種苗会社のシェアが低下するという変化が見られる。これは、民間種苗会社の開発する野菜品種の多くがF1品種であり、品種登録を必要としないためである。このように、民間種苗会社では開発する品種タイプに変化が起きている(久野1998)。

図1は、開発者(開発部門)と農家(ユーザー)の関係について公設試と民間種苗会社を比較したものである。当初(農試再編移転時)秋田県農業を生産額3000億円のメーカー企業としてとらえる私案があった。ここでは、農業試験場(=開発者)は商品開発を行う中央研究所として位置づけられ、農家は商品を生産する工場であり、普及員は工場及び生産ラインの改良を指導するとされた。そして商品の販売をJAが行う。これらの部門が顧客ニーズを把握し、研究所にフィードバックさせ、商品開発に結びつけるものであった。この全体をコントロールする機能を県庁農政部と農試が担うとされた。

しかし、農試開発のアールスメロン「秋田甘えんぼ」の産地普及時に、各部門との関係は図1に示される点線で

あって、その紐帯は弱いものであることが露呈した。

一般に、農家への栽培技術指導や産地育成は各都道府県の公設試、普及指導員が大きな役割を果たしてきた。特に、普及指導員は農家と強い結びつきを持ち、農家に対し栽培

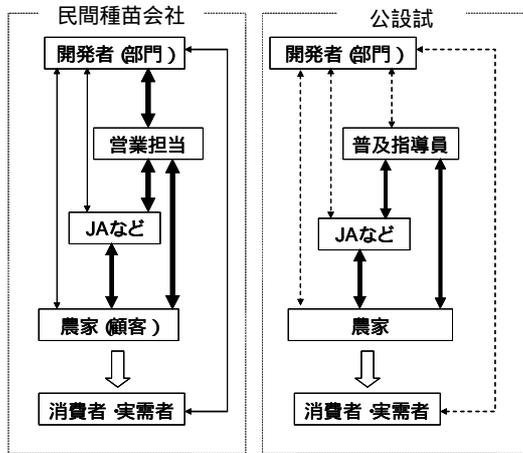


図1 民間種苗会社と公設試の比較  
注 実線の太さは太いものほど関係が強く、点線は関係がないか、非常に弱いことを示す。なお、すべての民間種苗会社が図のような関係であるわけではない。

技術や農家経営など様々な指導を行ってきた。しかし、近年になって行政改革の流れによる人員削減や普及指導拠点の整理統合によって指導区域の広域化が発生し、公設試・普及指導員による農家指導機能の低下が発生している。

さらに、本論文が対象とするエダマメ(野菜)の品種開発と普及については、主要作物(コメなど)の場合と異なり、手続き・体制が十分整備されているとは言い難い。品種は栽培技術を伴わなくても、良い品種であれば自然に普及していくという意識が専門技術員にあったのも事実である。

このため、新品種の生産現場への展開を急いだものの、新品種に対応した栽培技術へのフィードバックが遅れ、結果的に、公設試は品種開発には熱心であるが、開発した品種の農家への普及や品種導入後の農家に対するアフターフォローの実施が無いと状況を生んだ。また、開発部門と普及、行政といった区分にこだわり、その結果、関係する機関の意見交換等の実施が難しくなった。秋田農試ではこのような状況を改善するために、平成12年の農試再編整備にあわせて技術普及部を農試内に新設した。さらに、野菜に関する試験研究・技術普及の相互連携を図ることを目的に、「野菜研究会」を同年設立した。この「野菜研究会」は農試野菜・花き部部長、農畜産振興課(県庁・行政)と普及指導課の担当者を役員として構成され、組織区分を超えた相互連携を図りつつある。

一方、民間種苗会社の中には、単なる種子・苗の販売と

いった営業活動だけではなく、営業活動と産地育成や栽培指導、生産物の出荷・販売促進に至る一貫した管理体制を構築し、農家・産地との結びつきを強めている企業がある。また近年、外食企業と提携し調理適性の高い独自品種の開発を行う民間種苗会社も登場しており、製品開発面では民間種苗会社と公設試は競争的な関係にあるといえる。

### 3 農産物におけるマーケティングの課題

商工業の分野では、体系的にマーケティングが行われ、新製品の開発などがマーケティング手法に基づいて行われている(砂田2005)。さらに近年では、製品開発に関わる研究者や技術者自身がマーケティングリサーチに従事することの有効性が指摘されており、技術者マーケティングとしてその有効性に関する分析が進められている(岩間ら2004)。それに対し、農産物については体系的なマーケティングにはなっていない。その要因はいくつかあるが、農産物を栽培し、それを卸売市場に出荷する、またはコメなどのように政府が価格を決定しほぼ価格が決まったものを生産するという形態が、数十年間に渡って続いてきたためであると言われている。そのため、農産物においては、消費者のニーズを把握することや、それに基づいて試作・評価を行い、それを次の販売に生かすという、発想が極めて乏しい。また、製品開発は公設試、開発された新品種の農家への普及は普及指導員、実際の栽培は各農家、販売主体はJA(農協)と分業体制となっており、マーケティングをコントロールする司令塔が明確な形で存在していないことも農産物マーケティングが機能しない要因の1つである。なお、旧来の産地マーケティングは、卸売市場に対するマーケティング活動(例えば、市場関係者向けの試食会など)にとどまっていた。

しかし、近年になって、卸売市場以外への出荷など販売チャネルの多様化、消費者ニーズの多様化や産地の弱体化などに対応するため、量販店頭まで出向き、消費者に直接働きかける店頭マーケティングに積極的に取り組む産地が増加している。

### エダマメ新品種の開発と商品化 - 店頭マーケティングの実施 -

#### 1 エダマメ新品種開発の背景

秋田県の農業は周知の通り、「あきたこまち」を中心とした稲作が中心である(農業産出額の60%以上を米が占める)。そのような中、米の過剰が問題となった1970年代後半以降、米の転作作物としてエダマメの栽培が増加してきた。近年の秋田県のエダマメ栽培面積は、全国5位以内を維持し、7~10月と比較的長い期間にわたり出荷している

ものの市場や消費者の認知度は高いとはいえない。その要因としては、他の有力産地と比較して、産地オリジナル品種がないこと(栽培面積上位県で、隣県の山形県には「だだちゃ豆」、栽培面積1位の新潟県には「新潟茶豆」など

経営・マーケティング班が各種マーケティングリサーチを実施し支援した(図4)。なお、農試の担当者は農試次長以下、技術普及部、経営計画部、野菜・花き部、管理室の研究者及び職員で構成される「エダマメ実証プロジェクト

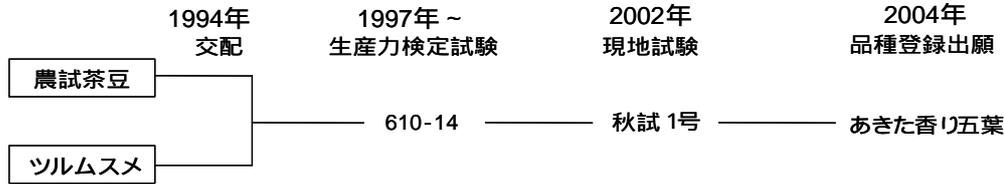


図2 あきた香り五葉系統図

の在来品種(オリジナル品種)を核とした独自ブランドを形成している)や、県内各産地が様々な市販品種(約25品種)を作付けし、各産地が独自パッケージで出荷するなど、他県産値と比較してロット確保が不十分であり、マーケティング上の脆弱さを指摘することができる。

このような背景の中、秋田農試(現:秋田農技セ農試)では、年間出荷量の35%を占める9月期中核となりえる品種(これまで9月上旬に収穫できる良食味品種が無かった)を開発した。具体的には、1994年に良食味の秋田県内在来種から選抜した「農試茶豆」を母、北海道立中央農業試験場が開発した大粒の大豆品種「ツルムスメ」を父として交配された(図2)。1997年より生産力検定試験を行い、2002年より現地試験を行った。その結果、栽培適応性が確認され、2004年に品種登録の出願が行われた(2007年3月品種登録)。

2 エダマメ新品種の商品化に向けた体制整備

エダマメ新品種の開発に際し、前述の民間種苗会社との比較で明確となった農試の課題を解決する(図1の点線部分を実線に変える)ために、マーケティングの手法を活用することとした(図3)。具体的には、生産者と関係機関の実務担当者(JA・行政機関・普及など)と農試の担当者からなる「現地推進協議会」を設け、関係者が連携を密にし、プロジェクトチーム形式で取り組むこととした。前節で指摘したマーケティングを実施する上で必要な中核機能は、県庁農林水産部農業マーケティング室が担い、農試

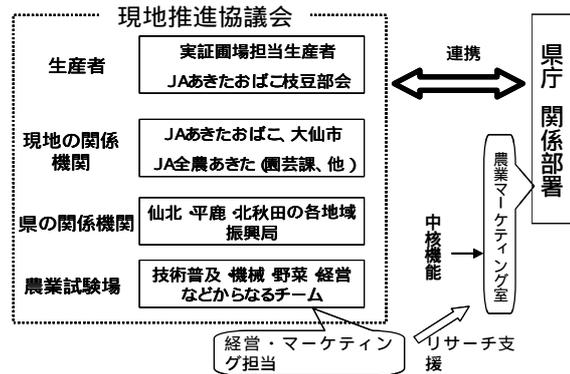


図4 連携体制とマーケティング中核機能チーム」のメンバーである。

3 商品化に向けた産地へのアプローチ

(1) 事前に実施したマーケティングリサーチ

これまで産地では、9月期に収穫されるエダマメは美味しいという認識であったが、「香り五葉」の販売に先行して実施した、首都圏の消費者に対して行った「9月期のエダマメに関する」消費者調査では、9月期に販売されるエダマメに対して首都圏の消費者は、産地とは逆に、「夏の残り物」(旬を過ぎた)というマイナスイメージを持っていることがわかった。また、量販店でのエダマメ陳列状況も、9月期に入るとキノコ類を中心とした秋物商材が中心となることから、目立たない陳列へ変化(単なる品揃えの1つに過ぎず、積極的な販売促進は行われない)していることが明らかとなるなど、9月のエダマメに関して産地と消費地ではギャップがあることが確認された。これらのリサーチ結果を開発担当、普及指導員、JA、エダマメ生産農家、県庁担当部署(行政)に報告し、「香り五葉」の販売に際しては、夏の残り物ではなく、9月が旬であることを消費者に直接伝達するために店頭販促の実施が必要であることなどを提案した(図5)。

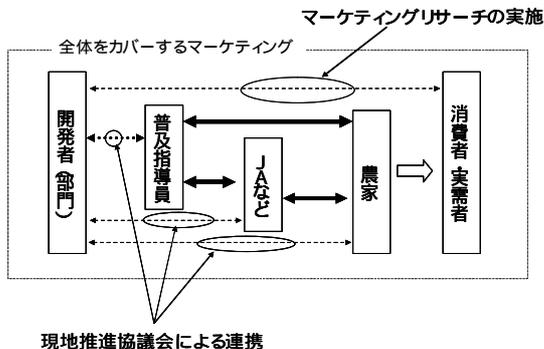
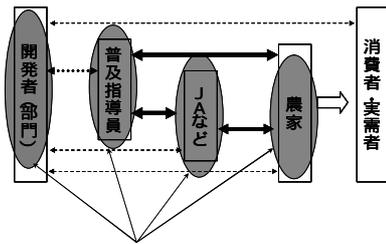


図3 改善方法とその対象



消費者リサーチ結果の報告対象  
 図5 リサーチ結果の提案対象

(2) 生産者・JA への提案

前項のマーケティングリサーチから産地と首都圏の消費者との間にはギャップがあることがわかった。生産者に対して、「売れるエダマメ」であることを示すためには、このギャップを解消することが必要である。しかし、旧来から産地・JA が行ってきた卸売会社や仲卸会社を対象とした試食会や産地情報の提供など卸売市場を中心とする産地マーケティングでは、事前に把握した消費者の持つ「夏の残り物」というマイナスイメージを払拭することはできない。このため、産地マーケティングの対象を卸売市場にとどめるのではなく、消費者や量販店に対しても直接働きかける必要がある。とはいえ、先に述べたような店頭販促の実施提案だけでは産地やJAは積極的に動かない。このため、店頭販促の効果を消費者購買行動調査によって実証、陳列状況の違いによる販売数量の違いを提示しロット確保の必要性の提示、を中心に立証することとした。

(3) 店頭販促の効果検証と陳列方法の検討

店頭販促の効果検証には、低コストで実施できる店頭販促手段として、産地 POP (point of purchase advertising :



図6 店頭に掲示したPOP

図6)を採用した。2005年の試験販売の際にその効果を消費者購買行動調査により検証した。その結果、産地POP並びに試食販売の有効性が確認された(齋藤ら2006、2007)。なおPOPの内容については、上田らが消費者の「産地POP」に対する価値構造の把握を実施しており(上田ら

2005) その結果に基づいて作成した産地POPを使用した。

さらに、9月期のエダマメ陳列方法は目立たない状況(棚陳列)に変更されることを既に首都圏の量販店に対するマーケティングリサーチで把握しているが、実際に陳列方法の違いによって購入比率にどのような差が生じるかを、2006年の首都圏量販店での販売時に調査した。

その結果、表1に示すとおり、通過者に占める購入者の割合が棚陳列では0.1%であったのに対し、アイランド陳列は2.8%となった。

店頭販促(産地POPの掲示)の実施により、売れるエダマメであることを立証するとともに、アイランド陳列の有効性と必要性を確認した。

これら2つの店頭マーケティングリサーチ結果を生産者・JAに提示し、店頭販促の実施によって売れるエダマメであることを立証した上で、購入比率を高めるアイランド陳列を量販店に働きかけることが必要であることを提案した。さらに、アイランド陳列の実施には一定のロットが必要となるため、既存の出荷方法である卸売市場に一方的に出荷ではなく、生産量にあわせて販売チャネルを限定することが必要であることを提案した。

表1 陳列方法の違いによる消費者購買行動の比較

	立ち止る	他の枝豆手に取る	香り五葉を手に入る	他の枝豆をカゴに入れる	香り五葉をカゴに入れる
アイランド陳列	10.4	-	3.8	-	2.8
棚陳列	6.7	1.4	0.1	1.1	0.1

資料:店頭マーケティングリサーチ結果から作成。  
 注:通過者に占める各陳列方法での消費者の割合調査の概要と検出方法:

2006年9月の連続する2日間、各日ともアイランド陳列での購入者、通常の棚陳列による購入者を識別し、午前10時の開店から午後8時までを15分ずつに区切り、各陳列のエダマメ販売コーナー通過者が60人になるまで計測した。通過者のうち、各陳列方法でのエダマメ購入者と購入者に分類した。

4 新パッケージ導入の背景と策定プロセス

前節で述べたとおり、これまでに実施したマーケティングリサーチ結果から、ロットの確保の重要性が明らかとなった。そこで、新品種の導入を契機とし、ロットの確保と栽培技術の向上を目的に、各産地JAで構成される「えだまめ産地連携チーム」を結成した。販売方法として、統一された新たなパッケージでの協調販売を実現し、ロット拡大を目指すことになった。しかし、これまで各産地JAはそれぞれ独自のパッケージを使用しており、統一された新パッケージの策定が必要となった。

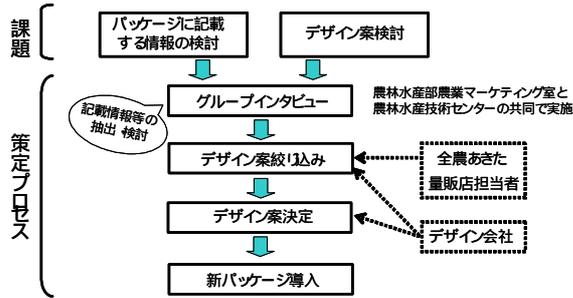
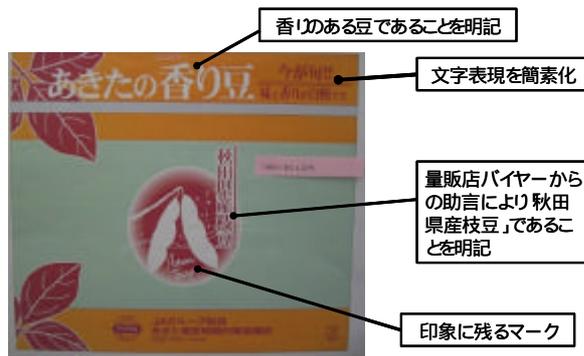


図7 新パッケージの策定プロセス

秋田農技セ農試が実施した枝豆パッケージの策定プロセスは図7の通りである。これまで、エダマメパッケージの策定は、包材メーカーが提案する基本パターンの中から選択することを基本としており、消費者がエダマメのパッケージに対してどのようなニーズを持っているのか、分からなかった。このため、まず、パッケージに記載する情報の把握とデザイン案などに関する消費者ニーズ把握をグループ・インタビュー（以下、GI）によって行い、その結果を基に記載情報の検討とデザイン案の絞り込みを農業マーケティング室、販売主体となるあきた園芸戦略対策協議会（全農あきた）と農試経営・マーケティング担当が行った。その結果図8に示す新パッケージが決定された。

図8 最終決定されたパッケージデザイン  
資料: デザイン会社提供

#### 商品開発におけるマーケティング活用の意義

「あきた香り五葉」の品種開発から販売までの一連の流れをつなぐマーケティングを、現地推進協議会や農試プロジェクトチームによる連携によって実施した。具体的には、これまでの商品開発プロセスにはない、農試内複数部署から構成されるプロジェクト体制による対応と現地推進協議会、県庁の関係部署の連携によって、品種開発後の産地等に対する技術指導や販売促進方法の提示などフォローを実施することができた。

民間種苗会社との比較によって明らかとなった、農試に

おける商品開発の課題（図1の点線部分を実線化する）は、マーケティングの実施によって解決しつつある。また、マーケティングリサーチ結果を活用した販売促進の実施により、産地・生産者への提言（ロット確保の必要性、新パッケージ作成提案・助言、店頭販促活動の有効性の提示）がなされた。

これらのことから、商品開発プロセスにマーケティング機能を組み込むことの有効性が確認された。特に、統一パッケージの導入は、量販店での販売時にロット確保が可能となり、2006年の販売時には、（株）東急ストアの開業50周年記念商材として認定され、東急ストア全店舗（約100店舗）での販売が行われた。量販店担当者や市場関係者からは「香り五葉」はこれまでのエダマメが「各産地JAのエダマメ」であったのに対し、「秋田のエダマメ」という統一感のある商品となったと評価されている。

さらに、2007年の販売時では、量販店のバイヤーや市場関係者から「あの赤いパッケージのエダマメ」、「真ん中に月のマークの入ったエダマメ」という表現で、継続発注やリピート購買をするケースがあり、「香り五葉」の定着に統一パッケージが寄与したと思われる事例があった。この統一パッケージの導入は秋田の野菜販売においては初の試みとなり、現在、8月に販売される他のエダマメ品種（青豆系）にも拡大し、色と文字表現を変更した上で活用されている。

この「香り五葉」の商品開発プロセスを、マーケティング機能を活用した農試における商品開発の1モデルとして捉え、今後の商品開発（品種開発）への適用が期待される。

#### 残された課題

「香り五葉」の商品開発プロセスは成果を上げたといえる。とはいえ、以下のような課題も残されている。産地拡大に伴う品質のバラツキの解消や収穫適期の把握など栽培上の問題、新パッケージ策定プロセスの見直し、などである。

の品質のバラツキ解消と収穫適期把握については、産地JA（9JA）及び全農あきたなどから構成される「あきた園芸戦略対策協議会」と県庁関係部署（農林政策課農業マーケティング室・農畜産振興課）秋田農技セ農試、秋田農技セ企画経営室（旧農試経営計画部）から構成される「えだまめ産地連携チーム」を活用し、栽培講習会や目揃え会の実施などによって、解消を目指している。の新パッケージ策定プロセスについては、消費者や量販店など川下サイドの意向・ニーズに対応することに偏重したため、生産者サイドの意向を十分に把握しなかった点や関係者で検討した最終案について消費者の評価を受けるステッ

ブが設けられていなかった点が課題として残されている。  
また、このような商品開発プロセスが、開発されるすべての新品種に適用できるとは限らない。本論文が対象としたエダマメは、一定の範囲で「品種売り」がなされているという販売上の違いや「外観の差違」といった、「商品特性」を備えている。そしてロットの確保を目的とした協調販売に有効であった「統一パッケージ」の導入は、パッケージ販売されない品目に関しては適用が不可能である。従って、「品種売り」がなされていない品目や外観に差違がない品目、パッケージ販売が行われない品目についてはこの商品開発プロセスの適用が難しく、さらなる商品開発プロセスの研究が課題である。

#### 謝辞

本論文の作成過程では、ヒアリング調査や資料提供で「えだまめ産地連携チーム」の関係者に大変お世話になった。店頭マーケティングリサーチの際には(株)東急ストア関係者の協力して頂いた。タキイ種苗(株)研究農場の関係者の方々には多忙の中ヒアリング調査に応じて頂いた。記して感謝の意を表したい。

#### 引用文献

- [1]平岡豊「商品開発におけるマーケティングの可能性」『関東東海農業経営研究』91号 2000年,pp.1-7
- [2]久野秀二「種苗事業の構造と機能に関する一考察」『北海道大学農経論叢』54号,1998年,pp.21-37
- [3]久野秀二「主要農作物種子制度下のコメ種子市場とアグリビジネスの事業展開」『北海道大学農経論叢』55号,1999年,pp.73-85
- [4]檜森靖則ほか「食味がよく三粒莢率の高いエダマメ新品

- 種「秋試1号」の育成」『東北農業研究』57号,2004年,pp.229-230.
- [5]檜森靖則「エダマメ新品種「あきた香り五葉」の育成経過とその特性」『エダマメ研究』第5巻1号,2007年,pp.48-51.
- [6]細井克敏「生鮮トマト事業の展開と商品開発」『野菜茶業研究集報』第3号,2006,pp.111-114
- [7]岩間仁・近藤正幸「製品開発における技術者マーケティングの有効性」『研究・技術計画学会講演要旨集』,2004年
- [8]農林水産技術会議事務局『国際化時代の育種戦略 - 作物育種推進基本計画 - 』1993年,農林水産技術情報協会
- [9]齋藤文信・清野誠喜・上田賢悦・谷屋繁克「新品種エダマメ「あきた香り五葉」の店頭マーケティング」『エダマメ研究』第5巻1号,2007年,pp.78-79
- [10]齋藤文信・清野誠喜・上田賢悦「新品種エダマメ「あきた香り五葉」の店頭マーケティング」平成19年度第50回 東北農業試験研究発表会報告資料
- [11]齋藤文信・清野誠喜「農産物におけるパッケージ策定に関する研究」第43回東北農業経済学会個別報告配付資料,2007年
- [12]砂田薫「研究開発とマーケティングの融合」『研究・技術計画学会講演要旨集』,2005年
- [13]時田勉「野菜採種の変遷と現状」『ハイテクによる野菜の採種』そ菜種子生産研究会編 1988年
- [14]上田賢悦・清野誠喜・齋藤了・小笠原伸也「HUTからみる秋田県産枝豆のマーケティング課題」『東北農業研究』58号,2005年,pp.265-266
- [15]上田賢悦・清野誠喜「青果物のパッケージ情報に関する一試論 - 枝豆を対象とした購買行動実験によるアプローチ」『東北農業経済研究』24巻1号,2006年,pp.38-42

#### Abstract

**An example of the merchandise development that introducing marketing research at the agricultural experimental station: - A case of green soybean products in Akita Prefecture -**

Fuminobu SAITO<sup>1)</sup>, Seiki KIYONO<sup>2)</sup>, Ken-etsu UEDA<sup>3)</sup>, Yasunori HIMOR<sup>4)</sup>, Fumio IIZUKA<sup>5)</sup>

<sup>1)</sup>Akita Prefectural Agriculture, Forestry and Fisheries Research Center <sup>2)</sup>Miyagi University <sup>3)</sup>Akita Prefecture Kita-Akita Regional Affairs Department <sup>4)</sup>Akita Prefecture agricultural public corporation <sup>5)</sup>Retired Akita Agricultural Experiment Station)

Key Words: Green soybean, merchandise development, agricultural marketing.

We compared with merchandise developments of new green soybean varieties by commercial companies and by the agricultural experiment station to detect a problem. And these methods are as follows, used the marketing research to solve it.

1. Arrangement system to cooperate relevant people including green soybean growers.
2. Presentation of results of marketing research at shops.
3. Demonstration of effectiveness of sales promotion activities at shops.
4. Investigation of purchase rate change according to the different display way.
5. Establishment of the shipment system to control product quantity and supporting the introduction of the new package.

Results of these activities and research are as follows,

1. Local System Promotion Group which consisted of the relevant people including breeder, growers to farm producer and prefectural government cooperated together to promote expanding a product of “Kaori Goyou”.
2. We confirmed the gap between production site and consumers about green soybeans produced and sold in September with marketing research at shops.
3. We found it effective to show an indication of production site on the point of purchase advertising was effective by the research of consumer’s buying behavior.
4. Island display increased the purchase rate.
5. Enough product lots to implement island display were necessary.
6. We investigated consumer’s requirement for a package of green soybeans through consumer’s group interview and supported producers to make the new package to meet them.

Therefore, we proved that using the marketing research method for the merchandise development process was very effective.

# 秋田県産枝豆における店頭マーケティングの検討 - 消費者購買行動実験によるアプローチ -

上田賢悦<sup>1)</sup>・清野誠喜<sup>2)</sup>・齋藤文信<sup>3)</sup>・大浦裕二<sup>4)</sup>・河野恵伸<sup>4)</sup>

(<sup>1)</sup>秋田県北秋田地域振興局・<sup>2)</sup>宮城大学・<sup>3)</sup>秋田県農林水産技術センター・<sup>4)</sup>農業・食品産業技術総合研究機構中央農業総合研究センター)

## 抄録

秋田県の主力品目である枝豆を対象に、効果的な店頭マーケティング対応を秋田県内産地に提案することを目的とし、枝豆模擬売場での購買行動実験、顧客ターゲット別の産地 POP の内容（コンテンツ）についてのコンジョイント分析、産地 POP を掲示した実際の小売店舗での購買行動調査から、以下のことが明らかになった。

(1) POP は消費者の商品選択時の重要な意思決定要素である。(2) 効果的な産地 POP のコンテンツは、“枝豆畑と生産者が一緒に写真”、“栽培方法に関する商品説明（コメント）”、そして“産地を示す地図”である。(3) 産地 POP の掲示により消費者が商品の前で足を止め、購入する比率を高める。特に、試食販売と産地 POP の併用は商品を手にするが購入しない比率を下げる。

キーワード：店頭マーケティング戦略、エダマメ、産地 POP、消費者購買行動、コンジョイント分析

## 目次

抄録	87		
1 緒言	87	4-3 顧客ターゲット別の POP コンテンツの検討	92
2 対象課題の設定と接近方法	88	4-4 小括	93
3 青果物購買行動における店頭情報の位置づけ - 模擬売場を用いた消費者購買行動実験 -	88	5 小売店頭における青果物購買行動への産地 POP の影響 - 秋田県育成新品種「あきた香り五葉」を事例として -	
3-1 試験方法	88	5-1 調査方法	94
3-2 店頭情報における POP 情報の位置づけ	89	5-2 調査対象店舗における枝豆の販売状況	94
3-3 枝豆における購買行動パターンと店頭情報の影響	90	5-3 購買行動への産地 POP の影響	94
3-4 小括	90	5-4 小括	95
4 産地 POP コンテンツの検討 - コンジョイント分析による接近 -	91	6 総括 - 今後の課題と店頭マーケティングの意義 -	95
4-1 調査方法	91	7 謝辞	96
4-2 商圏内消費者を対象とした POP コンテンツの検討	92	引用文献	96
		Abstract	97

## 1 緒言

青果物産地にとって量販店等の小売店舗は、生産された農産物が流通経路を経て陳列販売され、消費者により数多い商品の中から購買判断を下される最終局面であり、当然重視すべきフィールドである。消費者の農産物を含む食品の非計画購買<sup>1)</sup>比率は高く、小売店に来店した消費者は店頭における様々な情報に接することで購買欲求を顕在化させると考えられる。そのため、店頭情報を活用した消費者とのコミュニケーションが益々重要になっている<sup>2)</sup>。こうした傾向は、近年における消費者の農産物や食品に対する“安全・安心”や食品表示への関心の高まりを背景として、一層顕著なものとなっている。

前述の背景に対し、青果物産地が店頭に対し積極的に関与し、店頭を基点としたマーケティング活動を行うこと、つまり店頭マーケティング<sup>3)</sup>への取り組みが求められている。しかし、一般的に卸売市場への委託販売が主である青果物産地にとって、その最大の関心事は卸売市場での他産地との競争と市場取引価格である。その結果、青果物産地が行うマーケティング活動は、卸売市場に対する生産計画や出荷情報の提供、需給調整、生産部会・研究会等による卸売市場への訪問、視察等を通じた自産地に対する評価と他産地の動向把握等、卸売市場に対するものがほとんどで、産地は自産地の商品が販売されている小売店頭に対して関心と積極的な関与をほとんど持たずに現在に至って

り、“意志を持ったマーケティング活動”<sup>4)</sup>を産地は展開できていない。

一方、これまでの青果物を対象としたマーケティング研究では、チャネル管理などを含む産地マーケティング論<sup>5)</sup>が中心であったため、店頭に視点を置いたアプローチは弱かった。特に、小売店への入店から購買に至るまでのプロセスにおいて、商品の購入決定時に消費者に大きな影響を与える様々な店頭情報に対する処理行動や、その評価を明らかにする店頭マーケティング研究<sup>6)</sup>は、まだその緒についたばかりである。また、これらは実際の店頭における商品の競合(産地間競争)や販売状況、さらには小売店の利用顧客(消費者)についての設定が不十分で、具体的な産地マーケティング対応を提示しえる研究となっていない。

### 脚 註

- 1) これといって決まった商品を購入する計画がなく、店内要因によって受動的に購買目的が形成されることを非計画購買という。詳しくは青木 1989 を参照されたし。
- 2) 小売店等における様々な表示(情報)の重要性については、大浦 2004 により指摘されている。
- 3) 店頭マーケティングについては大槻 1991 を参照のこと。
- 4) この点については、梅沢 1996 を参照のこと。
- 5) 青果物を対象とした産地マーケティングの代表的研究としては、齋藤 1986、佐藤 1998 などがある。
- 6) 例えば、農産物を対象とした消費者購買行動の解明については、清野ら 2005、梅本ら 2002 などがある。店頭情報に対する消費者評価については、諫山ら 2004、竹下ら 2002 などの研究がある。

### 2 対象課題の設定と接近方法

本研究では、秋田県の振興対象作物であり、その作付面積及び販売額が近年拡大している枝豆を対象として、小売店頭における消費者購買行動の特徴を明らかにし、店頭マーケティング対応としての店頭情報活用のあり方について検討する。また、併せて産地育成におけるマーケティング活動支援のあり方についても言及することを目的とする。なお、枝豆の商品としての性格は嗜好性が強く、一部の商品ではブランド化が進展するなど、商品選択の際に“情報”が与える影響も他の野菜に比べて相対的に大きいものと考えられる。

具体的には、以下の2点を課題として設定する。

第1に、消費者による小売店頭での購買行動の実態及び消費者の店頭情報に対する認知・記憶状況を把握し、店頭マーケティングの課題を明らかにする。

第2に、産地が取り組む店頭マーケティング対応として、近年の消費者の農産物や食品に対する“安全・安心”や食品表示への関心の高まりを背景として、産地側の取り組みが増えている産地 POP (Point of Purchase Advertising) を取

り上げ、秋田県産枝豆が実際に販売されている具体的な対象店舗およびその商圏を想定し、顧客ターゲットに合わせた効果的な産地 POP の内容(コンテンツ)を検討するとともに、実際の小売店舗において、消費者購買行動に対する産地 POP の効果を実証する。

### 3 青果物購買行動における店頭情報の位置づけ - 模擬売場を用いた消費者購買行動実験 -

#### 3-1 試験方法

店頭における消費者購買行動の特徴と店頭情報に対する認知・記憶率を明らかにするためには、アンケート調査などによるのではなく、実験的に設定した購買状況下で実証データを収集し、その特徴・課題を分析することがひとつの方法である。なぜならば、アンケート調査では、実際の購買時には認知しない情報までも回答してしまう可能性を否定できないからである。

そこで本研究では、具体的な小売店頭を再現した“模擬売場”を設置し、首都圏在住の30代及び40代の主婦23名を対象に、消費者購買行動実験<sup>1)</sup>を実施した。被験者の抽出は、マーケティングリサーチ会社によるリクルーティングによった。リクルーティングの条件は、東京都及び神奈川県在住の主婦で、世帯内で普段最も良く買い物をする方である。

消費者購買行動実験は、以下の手順で行った。模擬売場に準備した3種類(産地)の商品(枝豆)にプライス POP または産地 POP を添付し、被験者に普段の買い物と同じように商品を1つ選択(購入)するよう依頼した。商品選択直後、別室にて選択理由、各商品のパッケージ(商品袋)および POP に記載された情報の記憶状況、選択決定の際の比較検討・評価の過程について個別ヒアリング調査を行った。また、商品を確認・検討・選択している状況を調査員による観察とビデオ撮影にて記録を行い、商品選択時間や特徴的な購買行動の有無について把握した。調査は、2004年8月15日~16日の2日間かけて実施した。本実験において設置した模擬売場は、秋田県産枝豆が7月下旬から10月上旬まで契約販売されている首都圏T社の代表的な店舗であるS店の売場を、“商品構成”“売価設定”“産地 POP 及びプライス POP”について再現した<sup>2)</sup>。なお、本実験に先立ち、T社における東京および神奈川県内の店舗を“売上高”“店舗立地”“枝豆の取扱い(晩期)”などの視点から類型化するとともに、各類型の代表店舗のヒアリング調査を実施することで、対象店舗としてS店を抽出した。T社店舗を選定した理由は、T社との取引は卸売市場経由ではなく、JA全農あきた直販事業を通じた契約販売であるため、契約期間中の8月上旬から9月中旬までは、秋田県産枝豆の常時取り扱いがなされ、店頭マーケティングに取り組みやすい対象だからである。

3-2 店頭情報におけるPOP情報の位置づけ

被験者による商品選択時間、商品選択の際の行動を整理したのが第1表である。これによれば、専業主婦は有職主婦に比べて商品選択時間が長く、商品を選択するに際して多様な行動をとっていることがわかる。その中で、“POPをみる(読む)・顔を近づける”や“パッケージに記載された表面ないし裏面表示をみる(読む)・顔を近づける”などの行動は、専業主婦で7割以上、有職主婦では半数以上の被験者が行っており、店頭における枝豆選択時の一般的な行動であることが確認できる。

第1表 商品選択時における被験者の行動と選択時間

No	属性	商品を手にとる	商品を手にとり「袋内の状態」をみる	商品を手にとり「ボリューム」を確かめる	商品を裏返す(裏をみる)	POPをみる(読む)/顔を近づける	パッケージに記載された表面表示をみる(読む)/顔を近づける	パッケージに記載された裏面表示をみる(読む)/顔を近づける	選択時間(秒)
1	有職主婦	1	1	0	1	0	1	1	38
2		1	1	0	1	1	1	1	63
3		1	1	0	1	1	1	1	79
4		1	1	0	1	1	1	1	49
5		1	1	0	1	1	1	1	87
6		1	0	0	1	1	0	0	20
7		0	0	0	0	1	0	0	22
8		1	1	0	0	1	0	0	30
9		1	0	0	0	1	0	0	41
10		1	1	0	1	1	1	1	61
11		0	0	0	0	1	0	0	41
有職平均		82%	64%	0%	64%	91%	55%	55%	48
12	専業主婦	1	1	0	1	1	1	1	42
13		1	1	0	1	1	1	1	74
14		1	1	0	1	1	1	1	82
15		1	1	0	1	1	1	1	33
16		1	1	1	0	1	1	0	46
17		1	1	0	1	0	1	1	32
18		1	1	0	1	1	1	1	72
19		1	1	0	1	1	1	1	50
20		1	1	0	0	1	0	0	74
21		1	1	0	1	1	1	1	64
22		1	1	0	0	1	1	0	39
23		1	1	1	1	1	1	1	108
専業主婦平均		100%	100%	17%	75%	92%	92%	75%	60
総平均		91%	83%	9%	70%	91%	74%	65%	54

資料：購買行動実験での商品選択後の個別ヒアリング調査、及び録画ビデオデータより作成

注：被験者の行動 0：未実施、1：実施

さらに、選択率が最も高かった商品Bについて、商品選択時における店頭情報の認知・記憶状況についてまとめたものが第2表である。ここから、以下の点を指摘できる。POPに記載された情報に対する被験者の記憶率(40%)は、包装に記載された情報に対する記憶率(12%)と比較し相対的に高いことが指摘できる。このことは、“POPを見る、または顔を近づける”という行動と“パッケージの表面や裏面に記された情報を読む、または顔を近づける”という行動は、ともに多くの被験者が行っているにもかかわらず、その行動の本質は異なり、一方はPOPに記された情報の認知・評価であり、もう一方はパッケージに記された情報の認知・評価ではなく、パッケージ内の枝豆そのものの外観等を評価するための行動であるものと推察される。

さらに、被験者のPOP情報への認知・記憶状況は高位にあったことから、商品選択時に考慮された属性を把握するために、POP情報の認知・記憶状況をコンテンツ別に整理したのが第3表である。ここから、価格(91%)、

第2表 商品パッケージおよびPOP情報の記憶状況

No	属性	商品パッケージ			POP		
		情報の要素(個)	記憶状況(個)	記憶率	情報の要素(個)	記憶状況(個)	記憶率
1	有職主婦	15	1	7%	8	2	25%
2		15	1	7%	8	3	38%
3		15	0	0%	8	4	50%
4		15	3	20%	8	3	38%
5		15	4	27%	8	4	50%
6		15	0	0%	8	3	38%
7		15	0	0%	8	3	38%
8		15	2	13%	8	4	50%
9		15	0	0%	8	4	50%
10		15	2	13%	8	4	50%
11		15	2	13%	8	4	50%
有職平均		-	-	9%	-	-	43%
12	専業主婦	15	3	20%	8	3	38%
13		15	5	33%	8	5	63%
14		15	2	13%	8	1	13%
15		15	1	7%	8	3	38%
16		15	0	0%	8	3	38%
17		15	2	13%	8	0	0%
18		15	3	20%	8	3	38%
19		15	4	27%	8	4	50%
20		15	2	13%	8	5	63%
21		15	3	20%	8	4	50%
22		15	0	0%	8	2	25%
23		15	0	0%	8	3	38%
専業主婦平均		-	-	14%	-	-	38%
全体平均		-	-	12%	-	-	40%

資料：購買行動実験での商品選択直後の個別ヒアリング調査により作成

注：被験者による選択が最も多かった商品Bについての数値

単語、マーク、文章、コメントをそれぞれ情報要素として、一部でも記憶していれば「記憶有り」、不正確な場合は「記憶無し」。

産地名(87%)、写真(78%)、商品説明(52%)の順で認知・記憶率が高く、一方でJA名と地域ブランド名については、ともに4%と認知・記憶率が低いことが指摘できる。また、被験者の属性別に見た場合、商品説明に対する認知・記憶率については専業主婦(33%)と比較し有職主婦(73%)で高い結果となった。その他のコンテンツについては大きな差異はなかった。このことから、商品選択時にPOP情報の全てのコンテンツが考慮されたわけではなく、限られた情報を短時間で比較検討したものと考えられ、特に短時間で購買の意思決定をする傾向がある有職主婦にとって、POPは有用な店頭情報のコミュニケーションツールであることが伺える。そのため、より効果的なPOPコンテンツの検討が課題となる。

なお、被験者に対する商品選択直後のヒアリング調査結果から、商品選択理由をまとめたのが第1図である。被験者の商品選択理由は外観が最も多く、次いでPOPに記載された情報(写真)であり、パッケージに記載された情報についてはいずれも少数であった。このことは、パッケージに記載された情報の認知・評価状況が低位であったことにも符合し、パッケージの情報伝達機能に関しては検討の余地があることが示唆される結果となった<sup>3)</sup>。

3-3 枝豆における購買行動パターンと店頭情報の影響

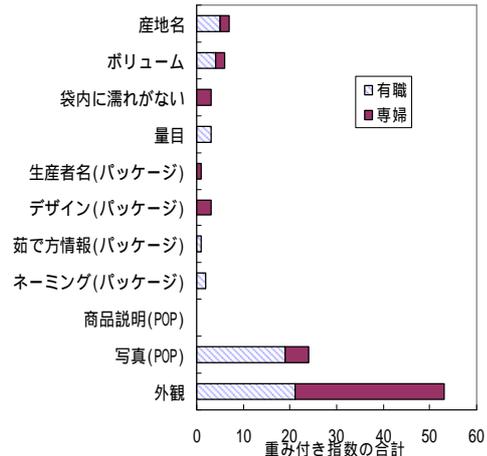
購買行動を撮影したビデオデータ及び商品選択後の個別ヒアリング調査により、消費者の商品(枝豆)選択時の意思決定過程<sup>4)</sup>とその行動パターンについて整理を行ったものが第2図である。代表的なパターンとしては、商品を絞り込む第一段階で“外観”ないしは“POP”により、商品選択が行われていることが確認できた。一方、“パッケージ”によって第1段階の商品絞り込みを行うパターンも見られたが、少数であった。また、被験者の属性別に見てみると、“POP”第一段階型は有職主婦で多く見られる傾向にある。

以上より、枝豆の購買行動パターンに注目すると、“POPを見る・読む”行動は、属性を問わず商品選択時の行動として高い頻度で行っている。商品外観を確認するため“商品を手にとり、商品の表面と裏面を見る(商品を裏返す)”行動も比較的高い頻度で行われている。以上の行動の過程で、被験者は“外観”ないしは“POP情報”により、商品の“絞り込み”を早い段階で行っている。こうしたことから、商品選択の理由としては“外観”“POP情報(写真)”が多くなっている、ことが明らかになった。

3-4 小括

模擬売場における消費者購買行動実験から、消費者は店頭において青果物を購入する際に、接する情報の全てに対して十分に時間をかけて複雑な意思決定を行っているのではなく、短時間で“ヒューリスティクス”(heuristics)

<sup>5)</sup>な意思決定を行っていることが明らかになった。特に、時



第1図 商品の選択理由

資料：購買行動実験での商品選択直後の個別ヒアリング調査により作成。

註：重み付き指数として「選択理由の1番を+3点」、「選択理由間の希少性の制約を受ける有職主婦にとって、その傾向が大きく、商品選択の絞り込みの第一段階で“外観”と“POP”

第3表 POPにおける情報コンテンツ別記憶状況

属性	価格	産地名	写真	地図	JAロゴマーク	商品説明	地域ブランド名
有職主婦	100% (11人)	91% (10人)	82% (9人)	9% (1人)	0% (0人)	73% (8人)	0% (0人)
専業主婦	83% (10人)	83% (10人)	75% (9人)	8% (1人)	8% (1人)	33% (4人)	8% (1人)
全体平均	91% (21人)	87% (20人)	78% (18人)	9% (2人)	4% (1人)	52% (12人)	4% (1人)

資料：購買行動実験での商品選択直後の個別ヒアリング調査により作成

に基準を置くことで、短時間での購買意思決定を可能にしていると推測される。

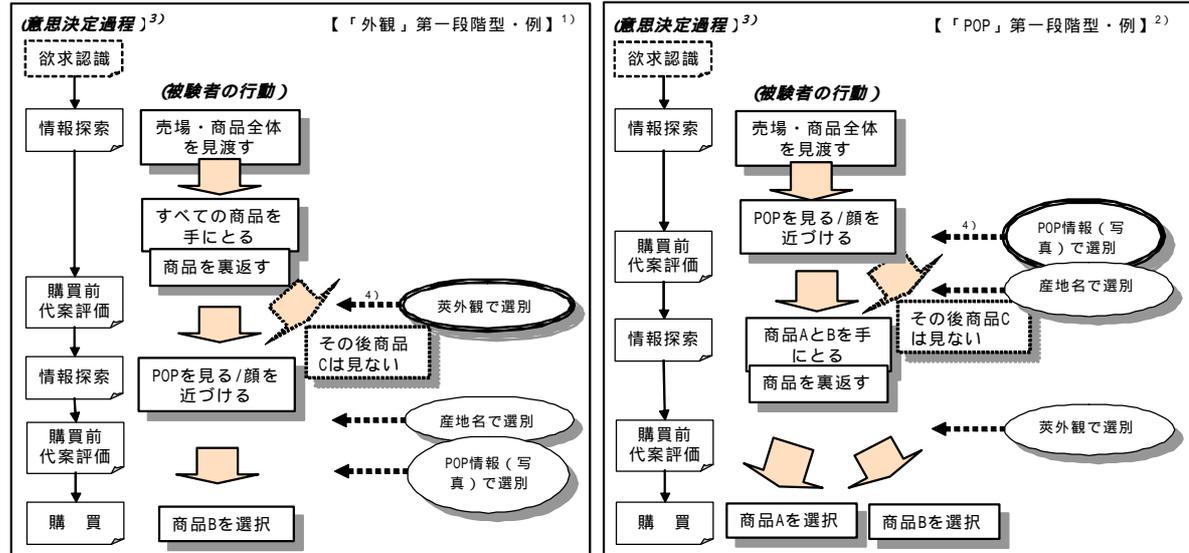
以上の結果から、店頭マーケティングにおける産地対応について課題を述べる。

第1に、消費者は枝豆に対し、鮮度や食味を重視する傾向が強く、経験財<sup>6)</sup>としての位置づけが大きいと考えられる。そのため、商品選択の絞り込み基準の一つである“外観”については、消費者が外観のどの属性(例えば、莢色等)に対し価値判断を行っているのかを検討する必要がある<sup>7)</sup>。さらに、その検討結果をふまえ、小売店頭の商品が到達するまでの品質(鮮度・食味)のコントロールというマーケティング対応を行う必要がある。

第2に、もう一方の選択基準であった“POP”については、消費者との重要なコミュニケーションツールとなることが示唆されたが、その情報の属性毎に認知記憶の程度に差があることが明らかになった。そのため、“POP”が持つ情報伝達機能を効果的に発揮させるためには、より魅力的で、効果的なコンテンツ(内容)の設計が、重要な課題と

なるものと考えられる。

包括的な検討を行わずに、簡略化されたルールに基づき



第2図 消費者の商品(枝豆)選択意思決定過程での行動-代表的パターン-

資料：購買行動実験での商品選択後の個別ヒアリング調査、及び録画ビデオデータより作成。

註1：最初の商品選別を英の外観で行う場合の事例。

註2：最初の商品選別をPOP情報で行う場合の事例。

註3：エンゲル=ブラックウエル=ミニアード・モデルを援用した(杉本編 1997)。

註4：破線矢印は、商品の選別時点とその理由を示したもの。

### 脚註

- 1) ここでの消費者購買行動実験は、心理学の「行動観察法」に依拠している。なお、行動観察法については、中澤 1997 を参照のこと。
- 2) 模擬売場における商品構成及び店頭表示は下表の通りである。なお、S店にはこれら3商品以外の商品(例えば、地場産枝豆)も販売されているが、T社バイヤー及びS店担当者へのヒアリング調査より、店頭において秋田県産(商品B)と同様の位置づけにあり、競合関係にある2商品を購入行動実験の対象とした。
- 3) この点について、筆者らはその後の研究で、消費者から注視されやすいパッケージ情報の位置があること明らかにし、消費者購買行動の視点から勘案した適切なパッケージ情報の表示位置に関する検討が必要である事を示している(上田ら 2006)。
- 4) 本稿での消費者の意思決定過程は、エンゲル=ブラックウエル=ミニアード・モデル(EBMモデル)を援用した。なお、EBMモデルについては杉本編 1997 を参照されたし。
- 5) 例えば、青木 1989 を参照されたし。“ヒューリスティックス”とは、代替案の比較検討に当たって複雑な分析や

	産地	価格	店頭表示
商品A	山形県	398円	プライスPOP
商品B	秋田県	398円	産地POP
商品C	群馬県	398円	プライスPOP

註：商品BのPOPは、価格表記を含む

最適ではないが受け入れ可能な解を見いだそうとする方略である。

- 6) 経験財とは、情報の経済学における商品分類の一つであり、消費者がその財を消費して初めてその財の品質や効用の程度がわかる財のことである。
- 7) 筆者らは、その後の研究で評価グリッド・ラダリング法を用い、消費者の枝豆“外観”に対する価値構造について明らかにしている(上田ら 2005a)。

## 4 産地POPコンテンツの検討

### - コンジョイント分析による接近 -

#### 4-1 調査方法

3節の結果を受け、産地POPのコンテンツに対する消費者選好を定量的に明らかにするために、T社S店の商圏内に在住する消費者へのアンケート(郵送法)調査を行った。対象となるT社S店商圏は、事前に行ったT社青果マネージャーへのヒアリング結果から、S駅より扇状に半径2km圏内と決定し、40,977世帯、99,166人とした。サンプルについては、40,977世帯を母集団とし、電話帳データベースから～くらく電話帳Ver.9(株式会社システム・ビット製)を用い、計500人をランダムに抽出した。また、1km圏内に利用者がより多いことを想定し、サンプル数は1km圏内と2km圏内で6:4となるようにした。調査票の回答は、世帯の中で主に食料品を購入する方に依頼した。

ここでは、産地が産地POPを設計するにあたり考慮すべ

き属性として、前述の購買行動試験の結果から注視・記憶率が高かった“写真”“商品説明(コメント)”に、事前調査でニーズの高かった生産地を示す“地図”を加え、各属性について2~3の水準を設定し、評定型コンジョイント分析<sup>1)</sup>を行った(第4表)。各属性のレイアウトは第3図のとおりであり、T社S店において利用されている慣行POPの基本フレームを踏襲し、産地名、農協名、商品名、価格は、それぞれ共通とした。被験者に対し、直交計画を用いて決定した9つのコンジョイントプロフィールをもとに作成(カラー印刷)した産地POPを提示し、売場において“秋田県産枝豆をPRする商品説明として消費者にとって望ましい、もしくは購買意欲をそそるか”について、1位から9位まで選好順位を回答してもらった。なお、量販店内での実際のPOPが添付されている枝豆売場の写真を参考として掲載した。調査票の配布回収期間は、2004年10月27日から同年11月6日とした。分析にあたっては、SPSS 11.0J Conjointを用い、部分効用値の推定方法として、最小二乗法、データ収集には全概念法を採用した。

第4表 コンジョイントプロフィール

	属性：写真	属性：コメント	属性：地図
水準1	枝豆畑のみ	生産者に関する説明	有り
水準2	生産者のみ	栽培方法に関する説明	無し
水準3	枝豆畑と生産者	秋田県一般に関する観光的説明	-

## 4-2 商圈内消費者を対象としたPOPコンテンツの検討



第3図 POPの基本フレーム

註. T社で利用されている基本フレームを踏襲し作成。

POPに記載されている“産地名”“JA名(ロゴ)”“商品名”“価格”については、全てのPOPで共通とした。

調査票の回収状況は、配布した500通のうち、回収された調査票が88通であった。宛先不明の42通を除いた調査票の回収率は19.2%であった。回答者の属性は、専業主婦が多く、年代では50代以上が約60%である。商圈で見ると、1km圏内に居住する回答者が6割強、1km以上2km圏内に居住する回答者が4割強である(第5表)。

コンジョイント分析によって得られた相対重要度と部分効用値<sup>2)</sup>について整理を行った(第6表)。有効回答全体の結果では、産地POPコンテンツのうち“写真”に対する重要度が48.9%で最も高く、以下、“商品説明(コメント)”(36.2%)、“地図”(15.0%)の順となった。効用が最も高くなるPOPコンテンツの組み合わせは、“写真”が“枝豆畑と生産者が一緒に”、“商品説明(コメント)”が“栽培方法に関する”、そして“地図”が“有る”である<sup>3)</sup>。

第5表 調査対象の属性・特徴

性別	男性	21名	23.9%
	女性 (専業主婦 (有職主婦)	67名 (64.2%)	76.1% (32.8%)
年齢	30代	6名	6.8%
	40代	24名	27.8%
	50代	24名	27.8%
	60代以上	34名	38.6%
商圈	1km圏内	49名	55.7%
	2km圏内	39名	44.3%
T社S店の利用頻度	週3回以上	20名	22.7%
	週1~2回	27名	30.7%
	月1~2回	25名	28.4%
	利用しない	16名	18.2%

註：回収サンプル総数 88名

(配布数458通、回収率19.2%)

第6表 POPコンテンツに関するコンジョイント分析

属性	相対重要度	水準	部分効用値
写真	48.86	枝豆畑のみ	-0.25
		生産者のみ	-1.15
		枝豆畑と生産者	1.40
商品説明(コメント)	36.16	生産者に関する説明	-0.37
		栽培方法に関する説明	0.85
		秋田県一般に関する観光的説明	-0.48
		有り	0.48
地図	14.98	無し	-0.48

資料：T社S店商圈内に居住する消費者へのアンケート調査より作成

註：有効回答数80人

## 4-3 顧客ターゲット別のPOPコンテンツの検討

さらに秋田県産枝豆のターゲット層をより具体的に想定するため、有効回答全体からT社S店利用者を抽出し、「7~9月期の枝豆購入頻度」が「週1~2回以上」と「月1~2回以上」、「T社S店利用頻度」が「週1~2回以上」と「月1~2回以上」で回答者を4つのグループに類型化し、POP構成要素の相対重要度と部分効用値について分析を行った。また、併せて各グループにおける基本属性や店頭での意識・行動をまとめ、特化係数<sup>4)</sup>とスコア値<sup>5)</sup>で表したものが第7表である。これによれば、グループ1とグループ4では、“写真”、グループ2では“商品説明(コメント)”、そしてグループ3は“写真”と“商品説明(コメント)”に対する重要度がそれぞれ高くなる傾向である。類型化された4つのグループの中から、秋田県産枝豆の購入頻度が高いグループ1およびグループ3を当面のターゲットとして想定し、それらグループの特徴とマーケティング対応について以下の通り整理を行った。

## (1)グループ1

T社S店利用頻度が高く、且つ秋田県産枝豆の購入頻度が高いため、S店の主たるターゲット層になるものと想定される。同グループの特徴としては、50代、60代、および専業主婦の回答者比率が相対的に高く、店頭表示の確認頻度が高いことが指摘できる。したがって、店頭での産地

第7表 POP コンテンツに関するコンジョイント分析の結果（回答者の類型化）

		グループ1		グループ2		グループ3		グループ4	
		重要度	効用値	重要度	効用値	重要度	効用値	重要度	効用値
写真	生産者		-0.0247		-0.1333		-0.4583		-0.2917
	枝豆畑	53.02	-1.4938	33.86	-0.5778	46.48	-0.9167	58.49	-1.5208
	生産者+枝豆畑		1.5185		0.7111		1.3750		1.8125
コメント	生産者に関する		-0.2716		-0.2444		-0.8750		-0.1667
	栽培方法に関する	30.17	0.8642	39.15	0.8222	45.07	1.3333	20.84	0.6458
	秋田県に関する		-0.5926		-0.5778		-0.4583		-0.4792
地図	有り	16.81	0.4815	26.99	0.5667	8.45	0.2500	20.67	0.6406
	無し		-0.4815		-0.5667		-0.2500		-0.6406
年齢	30代比率		0.51		0.00		0.00		0.90
	40代比率		0.26		1.59		1.34		1.79
	50代比率		1.47		0.42		1.87		0.93
	60代以上比率		1.30		1.16		0.33		0.49
性別	女性		1.12		0.94		1.30		0.81
	男性		0.61		1.19		0.00		1.61
属性	専業主婦比率		1.43		0.78		1.50		0.25
	有職主婦比率		0.44		1.37		0.51		2.05
家族	乳児・小学生の子 供のいる比率		0.20		0.32		1.43		1.43
	中高生の子供のい る比率		0.66		0.68		2.30		1.54
枝豆	秋田県産購入頻度 (スコア)		2.18		1.41		2.00		1.20
店頭	店頭表示確認頻度 (スコア)		3.42		2.47		3.00		2.56
	英の状態確認頻度 (スコア)		3.54		3.29		3.75		3.38
	試食宣伝利用頻度 (スコア)		2.63		2.59		2.88		2.75

資料：T社S店商圈内に居住する消費者へのアンケート調査より作成

註1：年齢,属性,家族の各項目は特化係数。

註2：枝豆,店頭の各項目は、4段階(+4~+1)評価の平均スコア値

POP表示が有効であると推測され、産地POPコンテンツにおいて重要度の高い“写真”を考慮したコンテンツの設計が必要となる。

#### (2)グループ3

T社S店利用頻度は低いが、グループ1に次いで秋田県産枝豆の購入頻度が高く、来店の際には十分にターゲット層になるものと想定される。同グループの特徴は、中高生以下の子供と同居している比率が高く、産地POPコンテンツにおいて“商品説明(コメント)”に対する重要度が相対的に高い。また店頭での試食宣伝の利用頻度が高いことから、産地POPとともに試食デモ販売を活用することが有効となる。

#### 4-4 小括

以上の結果から、消費者は産地POPを構成する属性のうち“写真”を最も重要な属性として捉えており、また消費者が最も強く反応すると思われる産地POPの設計は、“枝豆畑と生産者が一緒に写っている写真”と“栽培方法に関する商品説明(コメント)”があり、そして“産地を示す地図が有る”であることが明らかになった。さらに店頭マーケティングの具体的な対象として、秋田県産枝豆を8月上旬から9月中旬まで基本的に常時陳列販売されているT

社S店を想定した場合、店舗の利用頻度が高いか、もしくは秋田県産枝豆の購入頻度が高い客層(グループ1及び3)をターゲットとし、今回の調査結果に基づいて設計された産地POPを店頭に掲示することで、購買行動に対して効果的に影響を与えられると思われる。

なお、産地POPを活用した産地対応に際して考慮すべき点を述べる。産地がPOPを設計する場合、調査結果より明らかになった産地POPの内容(コンテンツ)に配慮する必要がある。さらに、対象となるターゲットによっては、店頭での産地POP表示とともに試食デモ販売を組み合わせた販促活動の展開が有効となると考えられることから、産地のより積極的な店頭への関与が求められる。

#### 脚註

- 1) マーケティングミックス(4P)の一つである製品(product)については、そのコンセプト開発においてコンジョイント分析等によるコンセプトテストが多く用いられ、佐藤ら2001、下山ら2004等の多くの事例がある。一方、販促(promotion)についてのコンセプト開発では、清野ら2005の研究があるが、その事例が少ない。
- 2) 相対重要度は各属性のなかでどの程度重要としているかを示す指標である。例えば、ある属性の相対重要度が

50%の場合では、全属性のうち50%を相対的に重視していると解釈できる。また、部分効用値は属性の水準に対する消費者の反応度合いであり、大きくプラスになっていけば、その水準に強く反応したことを意味する。

- 3) 筆者らは本調査に先立ち、評価グリッド・ラダリング法により“産地POP”に対する消費者の価値構造を明らかにしたところ(上田 2005b)本調査でコンジョイント分析によって得られた各属性の重要度及びその水準の効用値と同様の傾向であった。
- 4) 特化係数とは、対象全体における各属性の構成比を1としてグループの各属性の構成比を対比したものであり、1を超えると全体の構成比水準を上回っていることになる。
- 5) スコア値は、例えば“秋田県産エダマメの購入頻度”の場合、“週に3回以上”を+4、“週に1~2回”を+3、“月に1~2回”+2、“購入しない、またはわからない”を+1と評価した。4に近ければ頻度が高く、1に近ければ頻度が低くなる。

## 5 小売店頭における青果物購買行動への産地POPの影響 - 秋田県育成新品種「あきた香り五葉」を事例として

### 5-1 調査方法

3節では模擬売場を設定しての消費者購買行動実験から商品選択時における産地POPの重要性を実証的に明らかにし、さらに4節では産地POPのコンテンツに対する消費者嗜好を明らかにした。しかし、あくまで実験用に準備された模擬売場やアンケート調査上の結果である。そこで本節では、実際に秋田県産枝豆が販売されている店頭へ、対象となる枝豆商品の産地POPを掲示し、消費者購買行動への影響を実証的に明らかにする。対象枝豆商品は、秋田県農業試験場(現秋田県農林水産技術センター農業試験場)が開発した枝豆新品種「あきた香り五葉(以下、香り五葉)」<sup>1)</sup>とし、その商品特性<sup>2)</sup>及び4節の結果を参考に産地POPを作成した(第4図)。

具体的には、“売上高”店舗立地“枝豆の取扱いは晩期”などの視点からT社S店と同タイプの店舗であるT社C店を調査対象店舗に選定し、同店の枝豆販売



第4図 調査に使用したPOP

(店頭ではB6サイズ・カラー)

コーナーに準備した産地POPを掲示し(第5図)産地POPを中心とした販売促進方法別に、産地POP無し、産地POP無し+他の試食販売に隣接(販売員が香り五葉も補足的に宣伝した)、産地POP有り、産地POP有り+試食

販売の4パターンを設定した。計測した購買行動は、a)“香り五葉”販売コーナーに立ち寄り、b)“香り五葉”商品を手取る、c)“香り五葉”をかごに入れる(購入する)の3項目である。購買行動調査は、3名の調査員による来店客の観察(目視)によって行った。調査期間中の毎日午前10時から午後5時までを1時間ずつに区切り、各時間のサンプル数(“香り五葉”販売コーナー通過者)が60人になるまで実施した。調査員は“香り五葉”販売コーナーに立ち寄った来店客の行動を観察し、その行動についてa)~c)に分類した。なお、調査は2005年9月10日(土曜日)~13日(火曜日)の4日間



第5図 店頭での陳列状況(アイランド陳列)とPOP

### 5-2 調査対象店舗における枝豆の販売状況

調査期間中の枝豆商品のアイテム数は、8アイテムであった(最終日は7アイテムに減)陳列方法は、“香り五葉”はアイランド陳列で、他の枝豆は通常の棚陳列であった。フェイス数(シェルフやケースを正面または真上から見たときの商品の陳列“列”数)に若干の変更はあったが、基本的に陳列状況に大きな変化は無かった。8アイテムの販売価格は、1パック258円~580円であり、各商品とも調査期間中に売価の変更は行われていない。但し、2アイテムにおいては、サヤ色が変化するなどした一部の商品をおつとめ品(見切り品)とする値下げが行われていた。

### 5-3 購買行動への産地POPの影響

調査員による来店客の枝豆販売コーナーにおける購買行動の観察の結果、以下の3点が明らかになった(第8表)。

#### (1) 立ち寄り率の変化

枝豆販売コーナー通過者が“香り五葉”販売コーナーへ立ち寄る割合は、プライスPOPのみ(産地POP無し)の場合、22.9%であるが、産地POPがある場合は、29.1%、産地POPと試食販売の併用では60.0%と消費者が立ち寄る割合が増加した。

#### (2) 購買延期率の変化

“香り五葉”を手を取った消費者が購買せず“香り五葉”を戻す(購買延期)割合は、プライスPOPのみの場合では50.0%と半数が“香り五葉”を戻す(購買延期)が、産地POPがある場合では、21.0%に減少し、産地POPと試食販売を併用した場合は、0.0%と大幅に減少した。

#### (3) 買上率の変化

枝豆販売コーナー通過者が“香り五葉”をかごに入れる

(買い上げる)割合は、プライス POP のみの場合は、7.1%にとどまるのに対し、産地 POP がある場合は 13.6%に増加し、産地 POP と試食販売を併用した場合は 35.0%に増加した。

第 8 表 店頭での消費者行動調査結果

消費者の行動	立ち寄る	商品を手 に取る	商品を戻す (購入延期)	カゴに入れる (購入する)
試験区				
プライスPOPのみ	22.9	14.1	50.0	7.1
他の試食販売に隣接	21.5	13.6	26.6*	10.0
産地POPあり	29.1*	17.2	21.0**	13.6**
産地POPと試食宣伝	60.0**	35.0**	0.0**	35.0**

資料：購買行動観察での計測結果を基に作成

註：消費者の各行動の数値は、枝豆販売コーナー通過者に対する各行動の割合。なお、「商品を戻す」は「商品を手取った」人数に対する割合である。各試験区をプライス POP のみと比較した際の有意差検定(t 検定)。 1%水準、5%水準で有意

#### 5-4 小 括

今回の調査から、産地 POP の掲示によって、最寄りの通路を通過する消費者を当該商品に引き付け、さらに購買意思決定を完結させる比率を高めることが確認された。特に、試食販売と産地 POP の併用は、商品を手にするが戻す(購買延期)比率を下げるようになった。

よって、産地 POP は販売促進に効果的であり、産地としても消費者のニーズや商品に対する認識を把握し、それに働きかけるような形で店頭マーケティングに参加していく必要がある。しかし、本調査は観察調査(目視)のみであったため、使用した産地 POP のどの属性に消費者が反応したのかは明らかではない。また、試食販売により、どうして購入が促進されるのか、すなわち、味などの品質に納得したのか、販売員がいることで手に取ったものを戻すことに躊躇したのかは明らかではない。言い換えれば、無人試食販売でも有効なのか、有人であることに意味があるのかの検討は、残された課題である。

#### 脚 註

- 平成 6 年に秋田県農業試験場(現：秋田県農林水産技術センター農業試験場)において秋田県在来種より選抜した「農試茶豆」に北海道立中央農業試験場が開発した「ソルムスメ」を交配し、その実生の中から選抜し、平成 16 年に品種登録の出願が行われた(平成 19 年 3 月品種登録)。
- “あきた香り五葉”は 9 月上旬から収穫が出来る中晩生品種である。上田ら 2005b は、消費者が 9 月期以降に販売されている枝豆に対して“夏の残り物”というマイナスイメージを購入前から持っており、盛夏期の枝豆との差別化を示すため、秋の味覚としての“秋期限定”“季節限定”商品を訴求ポイントとして活用することで、消費者イメージのコントロール(“夏の残り物”のイメ

ジからの脱却)が必要であることを明らかにしている。

#### 6 総 括 - 今後の課題と店頭マーケティングの意義 -

青果物における従来のマーケティング活動は、産地が卸売市場に働きかけ、卸売市場が仲卸・小売店に働きかけ、小売店が消費者に働きかけるというのが一般的なスタイルであった。そのため、産地による消費者への直接的な働きかけは、マス広告や産地フェア等のキャンペーン以外はほとんど行われていなかった。その結果、産地や商品の差別化に関する情報も、前述のマーケティング活動の過程を辿ることにより、店頭段階では消費者に完全に伝達されることは困難となっている。こうした青果物産地が取り組むマーケティング活動の現状に対して、本研究では枝豆という限られた商品を事例とした分析ではあるが、実際の店頭における商品の競合(産地間競争)や販売状況、さらには小売店の利用顧客(消費者)を設定した上で、産地が取り組むべきマーケティング対応について検討した。具体的には、模擬売場での購買行動実験から産地 POP は消費者の商品選択時の重要な意思決定要素である事を明らかにし、秋田県産枝豆が 8 月上旬から 10 月上旬まで契約販売されている首都圏量販店 T 社 S 店を具体的な店舗として想定した上で、商圏内消費者を対象にしたコンジョイント分析により産地 POP の効果的なコンテンツを明らかにした。さらに秋田県産枝豆を取り扱っている量販店内での購買行動観察から産地 POP を掲示することで消費者が対象商品の売り場へ立ち寄る比率とその商品の買い上げる比率を高め、また購買を延期する比率を下げる効果が明らかになった。以上より、産地 POP は青果物を購入する際の消費者の購買行動に大きな影響を与えるものであり、産地側が主体的に取る組むべき店頭マーケティング方策であると言える。

一方、残された課題も多い。今後、以下の諸課題に取り組むことで、対象とした農産物における店頭マーケティングの課題と対応方策を総合的に明らかにすることが必要となる。

第 1 に、本稿では、POP による情報提示が商品選択に与える影響に関する分析が主であり、消費者の情報処理プロセスや意思決定方略の分析は行っていない。今後は、消費者の情報処理プロセスを対象に、意思決定方略に関する詳細な調査を進め、より効果的な POP コンテンツのあり方を検討することが必要である。また、被験者数を増やした大規模な実証も残されている。

第 2 に、店頭での商品の視認率を高めるためには、POP 等の店頭販促だけでなく、パッケージの改善も検討すべきである。さらに、パッケージの特殊性として、その情報伝達機能は小売店頭だけに止まらず、商品購入後(例えば、家庭での調理時点等)においてもその影響を及ぼす可能性があることを指摘することができる。したがって、商品購入後におけるパッケージの情報伝達機能の発現状況や有

効性について、ホームユーステスト等の手法により別途検証することが必要となる。

第3に、本稿では店頭マーケティング方策としてPOPを取り上げたが、POP以外にも大量陳列や関連陳列等の陳列演出、試食デモ販売、店内試供品配布、懸賞プレミアム、料理カード配布、店頭ビデオ、産地フェア等も考えられる。そこで、POPやパッケージ以外の店頭マーケティング方策による購買意思決定への効果を検証し、総合的な店頭マーケティング方策を検討する。その結果、産地への実践的な店頭マーケティング方策の提案が可能となるものと考えられる。

最後に、産地育成に関わる関係者が店頭マーケティングに取り組む意義について言及する。従来、産地育成に関わる関係者は、その活動の中心を生産圃場や生産組織等の産地内のみ置き、産地育成に関わる活動を行ってきた。そのため、“マーケティング支援の必要性は分かっているが、何を行ったらいいのかわからない”のが現状である。しかし、今後は産地発展のための課題把握の着眼点を産地内だけではなく、実際に商品が販売されている店頭等にも置くことで、新たな課題の抽出と解決へ向けた対応が出来るものと期待される。また、その活動は、安直な、“安全・安心でさえあれば売れる”ということではなく、“消費者が商品を購入する店頭”や“商品を調理消費する食卓”という“場”に視点を置き、消費者が感じたい満足感の方向へ生産、流通、販売技術を集約させるために、イノベーション(技術革新)を支援していく事である。以上の意味から、店頭マーケティングの持つ意義は大きい。

#### 付記

なお本報告は、これまで行ってきた青果物購買行動に関する研究成果の一部を取りまとめたものである。

上田賢悦・清野誠喜・大浦裕二・河野恵伸.2005. 秋田県産枝豆の店頭マーケティング - 購買行動実験による検討 - .平成16年度日本農業普及学会春季大会個別研究報告要旨,45-48

齋藤文信・清野誠喜・上田賢悦.2007.新品種エダマメ「あきた香り五葉」の店頭マーケティング POPを対象として . 東北農業研究 60, 241-242

#### 7 謝 辞

本報告は、執筆者の1人である上田が2004年に中央農業総合研究センター(経営計画部マーケティング研究室、現:マーケティング研究チーム)で依頼研究員として実施した研究と2005年に“新技術を活用したエダマメ秋田ブランド確立実証事業プロジェクトチーム”により得られた成果をもとにしている。関係各位に記して感謝の意を表したい。特に、秋田おばこ農業協同組合佐々木健司氏、同枝豆部会長清水川輝雄氏、JA全農あきた石井浩氏には各種調

査・実験でのご協力を頂いた。ここに厚くお礼申し上げる。

#### 引用・参考文献

- 青木幸弘.1989.店頭研究と消費者行動分析 店舗内購買行動分析とその周辺.誠文堂新光社,69-75
- 諫山俊之・大浦裕二.2004.成分情報を表示した夏季ホウレンソウに対する消費者の評価. 農業問題研究 40(1),225-238
- 清野誠喜・上田賢悦・佐藤晶・伊藤一夫・小笠原伸也.2005.消費者購買行動試験からみた秋田県産“寒締めほうれん草”マーケティング活動改善点.東北農業経済研究 23(2),115-120
- 中澤潤・大野木裕明・南博文.1997.心理学マニュアル-観察法-.北大路書房
- 大槻博.1991.店頭マーケティングの実際.日本経済新聞社
- 大浦裕二.2004.消費者の青果物購買行動の特質に関する理論的考察.農業問題研究 40(1),234-237
- 齋藤修.1986.産地間競争とマーケティング論 野菜産地の行動と戦略 .日本経済評論社
- 佐藤和憲.1998.青果物流通チャネルの多様化と産地マーケティング戦略.養賢堂
- 佐藤和夫・岩本博幸・出村克彦.2001.安全性に配慮した栽培方法による北海道米の市場競争力-選択型コンジョイント分析による接近-. 農業問題研究 142,37-49
- 下山禎・川手督也.2004.製品コンセプト.東北農研総合研究(A)15,26-29
- 杉本徹雄編.1997.消費者理解のための心理学.福村出版,36-39
- 竹下広宣・浅野耕太.2002.食品の信用属性表示の経済価値 遺伝子組み換え枝豆の経済価値評価 .フードシステム研究 8(3),25-31
- 上田賢悦・清野誠喜・齋藤了.2005a.枝豆に対する消費者の価値構造-外観とPOPを対象として- 東北農業研究 58, 263-264
- 上田賢悦・清野誠喜・齋藤了・小笠原伸也.2005b. HUTからみる秋田県産枝豆のマーケティング課題.東北農業研究 58,265-266
- 上田賢悦・清野誠喜.2006.青果物のパッケージ情報に関する一試論-枝豆を対象とした購買行動実験によるアプローチ-. 東北農業経済研究 24(1),38-42
- 梅本雅・大浦裕二・山本淳子.2002.米購入時における消費者の意志決定過程の実態と特徴. 農業経営研究 40(3),26-38
- 梅沢昌太郎.1996.ミクロ農業マーケティング.白桃書房,263-264

### **Abstract**

#### **Examination of In-store Marketing Research to Promote Akita's Green Soybeans in Akita Prefecture - An Experimental Approach to Analyze Consumer's Purchasing Behavior -**

Ken-etsu UEDA<sup>1)</sup>, Seiki KIYONO<sup>2)</sup>, Fuminobu SAITO<sup>3)</sup>, Yuuji OOURA<sup>4)</sup> and Yoshinobu KOHNO<sup>4)</sup>

(<sup>1)</sup>Akita Prefecture Kita-Akita Regional Affairs Department, <sup>2)</sup>Miyagi University, <sup>3)</sup>Akita Prefectural Agriculture, Forestry and Fisheries Research Center, <sup>4)</sup>National Agricultural Research Center, )

Key Words: in-store marketing research, Green soybean, POP, Consumer's purchasing behavior, Conjoint Analysis.

To propose the effective marketing method for green soybean growers in Akita, experiments of the simulated green soybean purchasing, conjoint analysis of the point of purchase advertising (POP) contents and observation of consumer's purchasing behavior at retail outlets were carried out. These results are as follows,

- (1) POP was an important element when the consumer selects the products.
- (2) The most effective contents showing on the POP were the photograph of growers in the green soybean field, the explanation article about the cultivation method and the map showing the place of products origin.
- (3) When POP was posted in front of green soybean products, it was confirmed to promote consumers to purchase them.



# 秋田県におけるキクのウイルス・ウイロイドの発生状況

山本 英樹<sup>1)</sup>

## 抄 録

1996～2005年に秋田県内で採集した計709株のキクについてウイルス・ウイロイド検定を行い、本県における発生状況を明らかにした。1996年、以前より問題になっていたわい化症状株からRT-PCR法によりキクわい化ウイロイド(CSVd)が県内で初めて確認された。nested PCRのプライマーを設計して検出感度の改善を図り、発生状況を調査したところ、CSVdはキク栽培地域で広く、恒常的に発生しており、検定した品種の約6割で感染株が確認された。わい化症状による被害が大きいため本県では最も問題になる病原分子と考えられる。また、キクBウイルス(CVB)のプライマーを設計して診断を行ったところ、1998年にCVB感染キクを確認した。CVBによる症状は不明瞭であるが、約2割の品種から保毒株が検出されており注意が必要である。一方、発生が警戒されていたトマト黄化えそウイルス(TSWV)を1999年に初めて確認し、2000、2001年とTSWVの発生が多くなったが、その後の発生は少なく推移している。しかし、検出が難しいウイルスであるため、無病徴感染株で潜在している危険性がある。キク微斑ウイルス(TAV)については、キクにおける発生を2003年に確認したので、プライマーを設計して本ウイルスの発生状況を調査した。TAVは他のウイルス・ウイロイドと異なり感染株は非常に少なく、検出された品種、地域も限られていた。さらに、海外からの侵入が長年警戒されていたキククロロティックモットルウイロイド(CChMVd)が2003年に本県で初めて確認された。その後の調査から、本ウイロイドは少なくとも2002年には発生していたこと、約2割の品種が感染していたことが明らかになった。感染品種率は小ギクやスプレーギクよりも輪ギクで低く、病徴発現型CChMVdの方が非病徴発現型よりも多かった。2002、2003年に比べ、2004、2005年はCChMVd感染率が高く、主なキク生産地域に拡大していた。今後も、キクに感染する新規ウイルス・ウイロイドの本県への侵入、発生に警戒を続ける必要がある。

キーワード：RT-PCR、キク、キククロロティックモットルウイロイド、キクBウイルス、キク微斑ウイルス、キクわい化ウイロイド、トマト黄化えそウイルス、発生状況調査

	目次	
抄録	99	6 キク微斑ウイルス 110
1 緒言	99	7 キククロロティックモットルウイロイド 112
2 材料と方法	100	8 総合考察 116
3 キクわい化ウイロイド	101	謝辞 117
4 キクBウイルス	104	引用文献 118
5 トマト黄化えそウイルス	107	Abstract 120

## 1 緒 言

秋田県では稲作中心の農業構造となっているが、米価低迷もあり、経営の安定を図るべく野菜、花きとの複合化を進めている。花きの生産額はまだ低い状況ではあるが、その中でキク(*Dendranthema grandiflorum* (Ramat.) Kitamura)が花き生産の28%(2005年、県農畜産振興課調べ)を占める主力品目となっている。新品種等、県外の園芸会社の育成品種に頼っているのが現状であり、キク農家・生産者団体によっては県外の

種苗会社から定植苗を購入し、利用しているため、頻繁に県外からキクが導入されている。一方で、農家間で苗のやり取りが行われることも多い。

キクは挿し穂により栄養繁殖されるため、一度ウイルス・ウイロイドに感染すると、それを基に増殖した苗は何れも保毒株となる。このため、キクの移動に伴ってウイルス・ウイロイドの拡大が起き、本県にもこうして侵入していると考えられる。しかし、本県ではキクを含む花きの生産は少ないため重要度が低かった

2007年11月16日受理

<sup>1)</sup>秋田県農林水産技術センター農業試験場

ことに加え、ウイルス・ウィロイドの診断は遺伝子診断、抗体検定等のバイオテクノロジー、あるいは電子顕微鏡のような特殊な機器を必要とするため十分な診断・対応ができていなかった。そのため、本県における発生状況も明らかにされていなかった。

一方、1992年にバイオテクノロジーを活用した農業研究を行う施設として生物資源総合開発利用センターが開設され、1995年からウイルス病の診断依頼も対応することになった（なお、2001年に研究部門は農業試験場に統合された）。当初はトマトの依頼が多かったが、1998年以降はキクの診断依頼が半分以上を占めるようになり、1995～2005年の間に依頼を受けた1197株のうち677株（57%）がキクであった。まず問題になっていたのはわい化症状で、1996年に逆転写DNA増幅（reverse transcription-polymerase chain reaction：RT-PCR）法により本県で初めてキクわい化ウィロイド（*Chrysanthemum stunt viroid*：CSVd）が同定された。その後もプライマーの設計を行いながら診断依頼に対応し、キクBウイルス（*Chrysanthemum virus B*：CVB）、県内への侵入が警戒されていたトマト黄化えそウイルス（*Tomato spotted wilt virus*：TSWV）に続き、キク微斑ウイルス（*Tomato aspermy virus*：TAV）の本県初発生を確認した。さらに、2003年には海外からの進入が長年警戒されてきたキククロロティックモットルウィロイド（*Chrysanthemum chlorotic mottle viroid*：CChMVd）の国内初発生を確認することになった。

本報告は予算課題「野菜・畑作物における生物的防除技術の確立」（生物資源総合開発利用センター、1992～1997年度）、「先端技術による病気診断・防除法の確立」（同、1998～2000年度）および「園芸作物等におけるウイルス病防除技術の確立」（農業試験場、2001～2005年度）の下、1996年～2005年にキク栽培農家等から依頼を受けて行ったウイルス・ウィロイド診断の結果を取りまとめたもので、ウイルス・ウィロイドの初発生の事例や診断のために設計したプライマー等の

基盤技術についても合わせて報告する。また、本報告の一部は山本・藤（2000）、山本ら（2001a、2001b）、Yamamoto and Sano（2005、2006）、山本・千田（2005）および崔ら（2008）に発表している。

## 2 材料と方法

### 2-1 材 料

供試したキクは1996年～2005年に県内各地から検定依頼のあったキク677株と、依頼とは別に試験のために圃場より採取した32株の計709株で（第1表）、210品種669株と品種不明の40株を含む。採取場所は主要なキク産地を含む県内31市町村にわたるが（本報告では2004年10月以前の69市町村体制を基準にする）、特に仙北、平鹿地域からの依頼が多かった。

検定対象とするウイルス・ウィロイドは検定依頼株の症状や発生状況から適宜選定した。また、親株としての使用の適否判断が目的の場合では、無症状株についてCSVd、あるいはこれとTSWVの検定を依頼されることが多かった。

### 2-2 方 法

基本となるキクの全RNAの抽出、遺伝子増幅法（RT-PCRおよびnested-PCR）ならびに塩基配列の決定について記載する。なお、全RNAの抽出方法、遺伝子増幅法の反応条件等は随時検討を行い改良されているが、その過程は割愛し、現在用いている方法を記載することにとどめる。

全RNAの抽出はE.Z.N.A. Plant RNA Kit（Omega Bio-tek）を用い、約0.1gの葉から調製した。葉の磨砕に液体窒素を用いず、石英砂を少量添加して行った他は説明書に従った。なお、カラムからのRNAの溶出は50μlで行った。

RT-PCRはOne Step RNA PCR Kit（タカラバイオ）を用いて行った。反応液量を推奨の50μlから10μlに減じた他は説明書に従った（第2表）。反応条件は特記しない限り以下のとおりとした。すなわち、RT反応を

第1表 本研究で採集、調査したキク<sup>1)</sup>。

地域	輪ギク	小ギク	スプレーギク	その他 <sup>2)</sup>	合計
鹿角（1市）	1				1
北秋田（1町）				2	2
山本（3市町村）	49	4	10	9	72
秋田（7市町村）	56	41	18	10	125
由利（4町）	3	33			36
仙北（9市町村）	106	70	47		223
平鹿（4市町村）	70	99	25	11	205
雄勝（2町）	2	41	2		45
全県（31市町村）	283[52]+4	284[101]+4	100[56]+2	2[1]+30	669[210]+40

1) 株数、ただし全県のみ株数[品種数]+品種不明株数と表記した。

2) 食用ギクと何れのグループか不明の株。

第2表 RT-PCRの反応液の組成.

RNase Free dH <sub>2</sub> O	4 μl
25 mM MgCl <sub>2</sub>	2 μl
10×One Step RNA PCR Buffer	1 μl
10 mM dNTP Mixture	1 μl
20 μM sense primer	0.2 μl
20 μM antisense primer	0.2 μl
40 U/μl RNase Inhibitor	0.2 μl
5 U/μl AMV Reverse Transcriptase XL	0.2 μl
5 U/μl AMV-Optimized Taq	0.2 μl
全RNA溶液	1 μl
	10 μl

第3表 nested PCRの反応液の組成.

滅菌蒸留水	11.9 μl
10×Ex Taq Buffer	2 μl
20 μM sense primer	2 μl
20 μM antisense primer	2 μl
2.5 mM dNTP Mixture	1.6 μl
5 U/μl TaKaRa Ex Taq HS	0.1 μl
RT-PCR反応液	0.4 μl
	20 μl

50 で30分行った後、94、2分の処理を行い、続けて、94 58 72 各30秒を30サイクル、最後に72、30秒の条件でPCRを行った。

nested PCRを行う場合は *Ex Taq* Hot Start Version (タカラバイオ) を用いて、反応液量を推奨の100 μlから20 μlに減じた他は説明書に従った(第3表)。温度条件は特記しない限り94、30秒の後、94 58 72 各30秒を30サイクル、最後に72、30秒とした。

増幅産物は主に2%アガロースゲルで、場合によっては0.7%アガロースゲルと1.5%SYNERGEL (DIVERSIFIED BIOTECH) のコンポジットゲルで電気泳動後、臭化エチジウムで染色した。

塩基配列は特記しない限り以下のようにして決定した。すなわち、増幅断片を1%アガロースゲルより切り出し、GFX PCR DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Biosciences) を用いて精製後、Dye Terminator Cycle Sequencing Kit (PE Biosystems) とABI PRISM 310 Genetic Analyzer (PE Biosystems) を用いたダイレクトシークエンス法により行った。

### 3 キクわい化ウイルス

本県ではキクのわい化症状は1994年以前から認められていたが(古屋・松本 1994)、病原であるCSVdの確認はされていなかった(松本 私信)。

そこで、CSVdの遺伝子診断に取り組むことになり、nested PCRのプライマーを設計して検出感度の改善を

図り、県内の主なキク生産地におけるCSVdの発生状況を明らかにした。

#### 3-1 方法

RT-PCRはプライマーCSVC-1とCSVs-1(塩飽ら1996; 第1図)を用いて行った。

nested PCRのプライマーは、プログラムOligo (National Bioscience) による既報の配列の解析結果を参考にしてCSVC-4とCSVs-4を設計した。本プライマーがCSVd遺伝子を増幅していることを増幅断片の塩基配列を決定して確認した。

CSVd検定はRT-PCRを行い、バンドが生じなかった場合、nested PCRを行った。

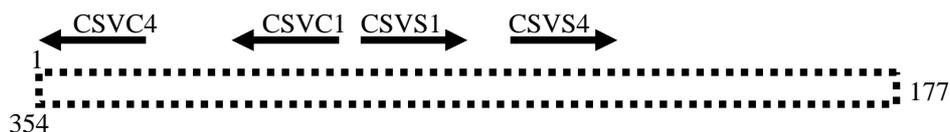
#### 3-2 結果

##### 3-2-1 プライマーの検証

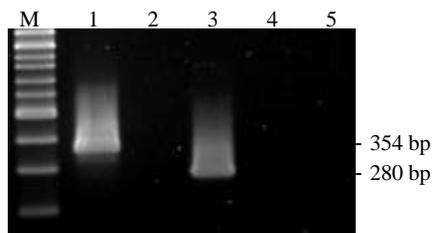
CSVd感染株の場合、RT-PCRにより354 bpの断片、あるいはnested PCRにより280 bpの想定されるサイズの断片が増幅された(第2図)。280 bpの断片の塩基配列を決定したところ、プライマーを除く配列が既報のCSVdの配列(DDBJ/EMBL/GenBank 受入れ番号AF394452)と100%の相同性が認められ(第3図)、本プライマーによるnested PCRがCSVdを増幅していることが確認された。

本法により遺伝子診断を行ったキク522株のうち241株からCSVdが検出された。このうち130株はRT-PCRで検出されたが、111株は続けて行ったnested PCRによってCSVdが検出された。前者はCSVdの濃度が高い場合(高濃度株)、後者は低い場合(低濃度株)と考えられ、nested PCRによってCSVdの検出率を高めることができた。

CSVC-4 : 5'-ACCACAGGAACCAAGTAA-3' CSVs-4 : 5'-TGGAGGAAGTCCGACGAGAT-3'



第1図 CSVdの遺伝子とRT-PCR(塩飽ら1996)およびnested PCRのプライマー.



第2図 RT-PCR (1, 2, 4) および nested PCR (3, 5) による CSVd の検定。

1, 高濃度感染株; 2と3, 低濃度感染株; 4と5, 健全株; M, 分子量マーカー。



第4図 CSVdによるキクわい化病。

### 3-2-2 初確認事例

1996年、河辺町の農家で、県外業者から購入したスプレーギクの苗を定植、栽培したところ典型的なわい化症状が現れ問題になった。そこで、RT-PCR法で検定を行ったところ CSVd の感染が確認され、わい化病と診断した。

### 3-2-3 発生状況

1996年～2005年の10年間にわたり、県内の主なキク生産地で調査を行った。圃場によっては第4図に示したような典型的なわい化症状も見られた。

県内各地の圃場より採取したキク522株(183品種518株と品種不明4株)を検定したところ、CSVdの感染品種率は輪ギク、小ギク、スプレーギク何れも高く、60%前後であったが(第4表)、感染株率は輪ギク(29%)で低く、小ギク(55%)、スプレーギク(57%)は高かった。

検定株数、感染株数とその割合の年次変化を第5図にまとめた。感染株率は年によって変動が大きかったが、25%以上の比較的高い割合で検出された。また、この感染率の年次変動は依頼株に占める無症状株(ほ

```

          1                               30                               60
CSVs4/CSVc4:CGCGGCTGGGGCTTAGGACCCACTCTGCGAGACAGGAGTAATCCTAAACAGGGTTTTTC
AF394452  :*****
          61                               90                               120
          ACCCTTCCTTTAGTTTCCTTCTCTCTGGAGAGGTCTTCTGCCCTAGCCCGGTCTTCGA
          *****
          121                              150                              180
          AGCTTCCTTTGGCTACTACCCGGTGGAAACAAGCTTCAACGCCTTTTTTTTCCAAT
          *****
          181                              210                              240
          CTTCTTTAGCACCGGCTAGGGAGTAAGCCCGTGAACCTTAGTTTTGTTCCCTCGGGAC
          *****
  
```

第3図 プライマーCSVs4/CSVc4による nested PCR 増幅断片(プライマー除いた240bp)と既報 CSVd (AF394452) の塩基配列の比較。

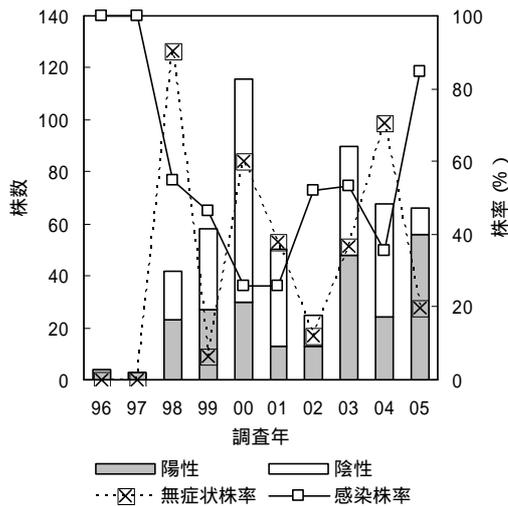
\*は上列と同じ塩基であることを示す。

第4表 CSVd検定に供試したキクと検定結果。

	輪ギク	小ギク	スプレーギク	その他 <sup>2)</sup>	合計
検定数 <sup>1)</sup>	186[43]+2	245[89]+1	87[51]	+1	518[183]+4
感染数 <sup>1)</sup>	55[29]	136[52]	50[34]		241[115]
感染株率(%)	29	55	57	0	46
感染品種率(%)	67	58	67	0	63

1) 株数[品種数]+品種不明株数。

2) 何れのグループか不明の株。



第5図 1996～2005年のCSVdの感染株率.

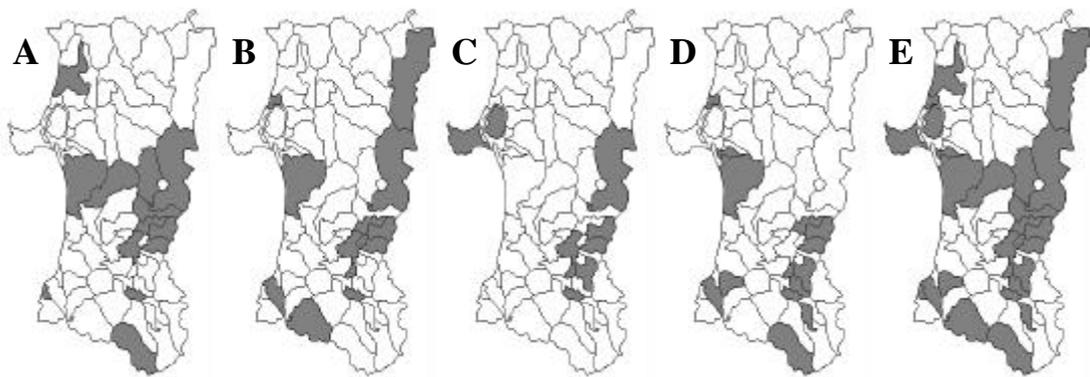
とんどが親株としての利用の可否を判断するためのCSVdフリー検定の依頼)の割合と反比例する傾向があり、これに影響を受けていると考えられた。すなわち、CSVdは恒常的に比較的高い率で発生していると思

第5表 地域別のCSVd感染状況.

地域	発生市町村数/ 調査市町村数	感染株数/検定株数 (感染株率, %)
鹿角	1/ 1	1/ 1 (100)
山本	2/ 3	5/ 26 ( 19)
秋田	5/ 7	40/ 87 ( 46)
由利	4/ 4	9/ 18 ( 50)
仙北	8/ 9	74/178 ( 42)
平鹿	4/ 4	92/174 ( 53)
雄勝	2/ 2	20/ 38 ( 53)
全県	26/30	241/522 ( 46)

れた。

さらに、発生地域の経時的変化を見るために、検定株数のばらつきが少なくなるように1996～1999年、2000～2001年、2002～2003年、2004～2005年に区分し、感染株が確認された市町村を第6図に示した。調査初期から主要なキク産地で常発しているように思われた。また、調査期間全体では何れの地域でも発生市町村率は高く、調査した30市町村のうち26市町村でCSVdの発生を確認した(第6図E、第5表)。感染株率も山本地域でやや低かったのを除き、高かった。



第6図 1996～2005年のCSVdの発生市町村.

A, 1996～1999年; B, 2000～2001年; C, 2002～2003年; D, 2004～2005年; E, 1996～2005年.

第6表 キクのグループと生育状況別のCSVd感染状況<sup>1)</sup>.

生育状況	輪ギク	小ギク	スプレーギク	全体
症状なし	11/ 90 (12)	42/104 (40)	10/ 32 (31)	63/226 (28)
ややわい化 <sup>2)</sup>	13/ 25 (52)	35/ 45 (78)	6/ 9 (67)	54/ 79 (68)
わい化 <sup>2)</sup>	28/ 53 (53)	56/ 72 (78)	34/ 41 (83)	118/166 (71)
その他 <sup>3)</sup>	3/ 13 (23)	2/ 22 ( 9)	0/ 3 ( 0)	5/ 38 (13)

1) 感染株数/検定株数(感染株率, %). 症状の記載もれ12株とグループ不明の1株は除いた.

2) 葉に退緑斑等の症状も認められる株も含む.

3) 葉に退緑斑等の症状が見られるが、草丈の低下は認められない株.

### 3-2-4 症状と検出状況

検定結果を生育状況別に取りまとめたところ、輪ギク、小ギク、スプレーギク何れにおいても CSVd の検出率はわい化、ややわい化、症状なしの順に高く、わい化したスプレーギクでの検出率（83%）が最も高かった（第6表）。

また、感染株に占める CSVd 高濃度株の割合は輪ギク、小ギク、スプレーギクの順に低く、何れの種類においてもわい化、ややわい化、草丈の低下なしの順に高くなるようであった（第7図）。

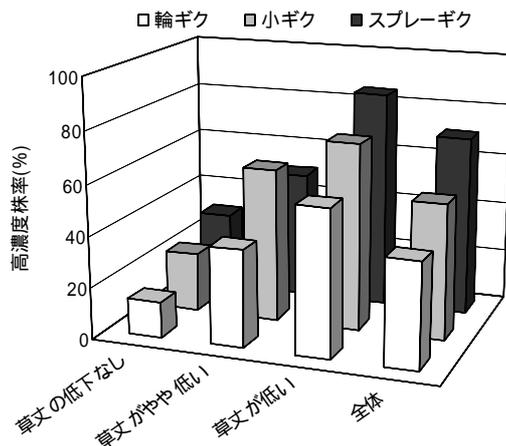
### 3-3 考察

キクわい化病は1945年にアメリカで発見され、1973年になって初めて病原が CSVd であることが明らかにされた（Diener and Lawson 1973）。病徴は品種、栽培環境によって異なり、無病徴のものから、草丈が3分の2から2分の1にわい化する、開花期が1~2週間早まるなどの典型的な病徴の他、発根不良などさまざまである（山口 1979a）。また、他のウイルスとの重複感染により花の小型化、奇形など症状が激しくなることも多いため、著しく商品価値が低下し、栽培農家に大きな被害を与えている。日本では1977年に本病が確認され、北日本でもこれまでに秋田県を含む5道県で発生が報告されている（勝部ら 2003）。秋田県では以前よりキクのわい化症状が見られていたが、CSVd の検定が行われていなかった当時は塩類障害とされることも多かった（小松 私信）。

CSVd はウィロイドであるので、迅速で簡易である抗体検定は適用できない。生物検定は可能であるが、反応が現れるまでに1~2ヶ月の期間を必要とし、これに検定植物の育成期間が加算されるので（山口 1979c）、迅速な対応には不向きである。そこで、迅速で高感度な RT-PCR 法を用いた CSVd の遺伝子診断に取り組むことになり、nested PCR のプライマーを設計して改良を行い、診断依頼に対応してきた。その結果、県内で栽培されている品種の6割以上で感染株が確認され、CSVd の汚染が進んでいることが示され、主なキク生産地に広く、恒常的に CSVd が発生していることが明らかとなった。

本研究から、スプレーギク、小ギク、輪ギクの順に、また、わい化、ややわい化、症状なしの順に、CSVd 高濃度感染株の割合が高いという結果が得られた。これは、CSVd の被害は輪ギクよりスプレーギクの方が大きい（山口 1979a、加藤・土井 1998）、あるいはウィロイド濃度とキクの草丈は相関する（山下ら 1997b）とされている従来の知見と矛盾しない。すなわち、スプレーギクではいったん感染すると CSVd の濃度が高くなりやすく、顕著なわい化症状が起こりやすいと考えられる。

これまで CSVd を媒介する生物は知られておらず、汁液、接ぎ木によって接種が可能であるが、宿主範囲



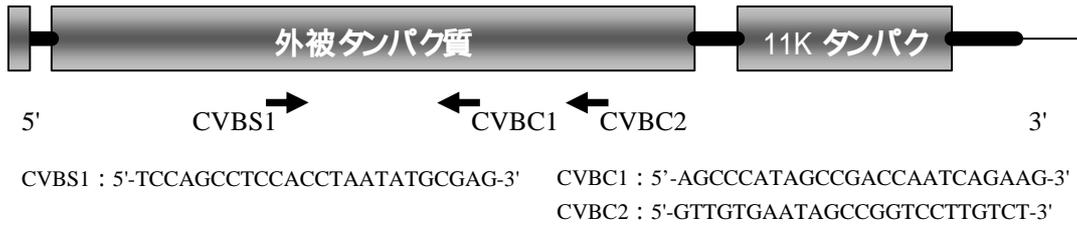
第7図 CSVd 感染キクにおける草丈と高濃度感染株の割合。

は狭いとされている（山口 1979b）。従って、本県での CSVd の発生拡大の要因は罹病親株の導入と栽培管理時の汁液伝染であると考えられる。に相当するものとして、1996年に本県初確認となった導入1作目で典型的なわい化症状が現れた事例、県内のある育苗農家から供給された苗を用いた複数の農家でわい化病が発生した事例が挙げられる。第6表に示したように、症状が認められない株のうち28%から CSVd が検出されており、こうした株が感染に気付かれずに配布されることが CSVd 蔓延の主要因になっていると考えられる。特に、小ギクにおいてはその値が40%と高く、注意が必要である。一方、の事例として、小ギクとスプレーギクを中心に多数の品種を栽培するある農家ではわい化病が多発し、1998~2000年に調査した19品種中14品種で CSVd が検出された。これは保毒親株の使用に加えて、栽培管理の際に剪定ばさみ等を介して健全株（品種）へ感染が拡大したことが強く疑われる。

現在、農家には生育の良い株を選んで次作の親株にするように指導しているが、典型的なわい化症状株が見られる場合は親株の選抜を行っても次作でわい化病が大発生する場合も認められている。従って、CSVd フリーを確認した健全な株を親株とし、切り花用と区別して栽培、管理し、親株の作業に際しては専用の用具を使用し、手洗いも行うなど入念な管理が望まれる。

## 4 キクBウイルス

キクに感染するウイルスとして CVB があるが、抗体を用いた dot immunobinding assay (DIBA) では非特異反応が強かったこと、CSVd は遺伝子診断が有効な手段であり、常法となっていることから、CVB についても RT-PCR による検出方法を検討した。また、これまで



第 8 図 CVB の遺伝子と RT-PCR のプライマー .

に行った診断の結果を取りまとめることで明らかになった県内のキク生産地における CVB の発生状況を報告する。

4-1 方 法

CVB 外被タンパク質遺伝子の塩基配列 (Levay and Zavriev 1991) を基に、相補プライマー CVBC1 と CVBC2、相同プライマー CVBS1 を設計した (第 8 図)。増幅断片の塩基配列は CEQ2000XL (BECKMAN COULTER) と DTCS Kit (BECKMAN COULTER) を使用して決定した。

4-2 結 果

4-2-1 プライマーの検証

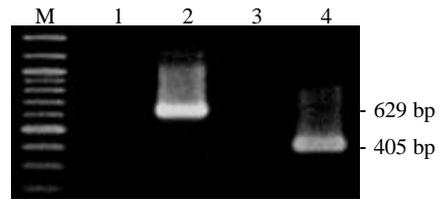
CVB-M (Suastika ら 1997) に感染した *Nicotiana clevelandii* を用いて RT-PCR を行ったところ、プライマー CVBS1 と CVBC1 の組み合わせで約 400 bp の断片が、また CVBS1 と CVBC2 の組み合わせでは約 630 bp の断片が生じた (データ示さず)。両増幅断片が想定されるサイズであったことから、本プライマーが CVB 外被タンパク質遺伝子を増幅していると考えられた。

診断依頼キクの中に見出された陽性株でも同じサイズの断片が増幅された (第 9 図)。さらに、プライマー CVBS1 と CVBC2 による 629 bp の断片の塩基配列を決定し、プライマーを除いた配列がコードする 193 アミノ酸の配列を既報 (Levay and Zavriev 1991) と比較

したところ、相同性は 96% と高かった (第 10 図)。この結果から、本法によって CVB が検出されることが確認された。なお、以降の検定においては短い断片が生じるプライマー CVBS1 と CVBC1 のセットを主に用いた。

4-2-2 初確認事例

本法を用いて診断対応を始めたところ、1998 年、千畑町の農家で親株として使用予定の健全と思われた (症状が認められない) スプレーギクから CVB が本県で初めて検出された。



第 9 図 プライマー CVBS1/CVBC2 (1, 2), CVBS1/CVBC1 (3, 4) を用いた RT-PCR による CVB の検定 . 1 と 3, 健全株 ; 2 と 4, 感染株 ; M, 分子量マーカー .

	1	30	60
既報 CVB	: DPTNMQVSSDFLWKIKPQRISNNMATSEDMVKIQVALEGLGVPTESVKEVIRLVLN		
CVBS1/CVBC2	:**S*****T***R***K*****		
	61	90	120
	ANTSSSVYQDPKGVIEWDGGAI IADDVGVITKHSTLRKVCRLYA AVAWNYMHLQQT		
	*****E*****		
	121	150	180
	DWSAMGFHPNVKYAAFDFDYVENGAAIRPSGGIVPKPTRA EYVAYNTYKMLALNKANN		
	*****K*****		
	181	193	
	DTFGNFDSAITGG		
	**Y*****		

第 10 図 既報 CVB とプライマー CVBS1/CVBC2 による RT-PCR 断片 (プライマー除いた 581 bp) の塩基配列から推定された外被タンパク質のアミノ酸部分配列の比較 .

\*は上列と同じアミノ酸であることを示す .

第7表 CVB検定に供試したキクと検定結果 .

	輪ギク	小ギク	スプレーギク	合計
検定数 <sup>1)</sup>	57[18]	44[31]+1	24[21]	125[70]+1
感染数 <sup>1)</sup>	9[ 4]	9[ 8]	2[ 2]	20[16]
感染株率 (%)	16	20	8	16
感染品種率 (%)	22	26	10	23

1) 株数[品種数]+品種不明株数 .

#### 4-2-3 発生状況

1998～2000年、2003～2005年に県内各地のキク栽培農家より採取した126株(70品種125株と品種不明1株)を検定した結果、CVBの感染は輪ギクと小ギクでやや高く(感染株率でそれぞれ16、20%)、スプレーギクでやや低かった(同8%;第7表)。感染品種率も同様の傾向にあり、キク全体で2割ほどの品種からCVB感染株が見出された。

検定株数、感染株数とその割合の年次変化を第11図に示した。感染株率は1998年と2000年、やや高かったが、CVBは低率ながら恒常的に発生しているようであった。また、調査した5地域何れでも発生は認められ、平鹿地域で発生がやや多い傾向であった。調査した14市町村のうち9市町村でCVBの発生を確認した(第8表、第12図)。

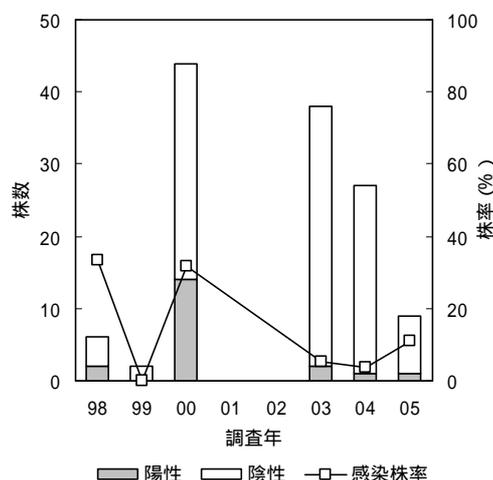
#### 4-2-4 症状と検出状況

生育状況別にCVBの検出率を取りまとめたところ(第9表)、キク全体では症状なし、草丈に関らず葉に退緑斑等の症状が認められる株、草丈の低下した株の順に高かった。輪ギクでも症状がない株での感染率が最も高かった(25%)のに対し、小ギクでは葉に何らかの症状を呈していた株での感染率が最も高く(24%)、スプレーギクではわい化症状を呈する株で最も高かった(20%)。

#### 4-3 考 察

CVBはアブラムシで非永続性伝染(ウイルスを獲得後すぐに媒介可能であるが、媒介能力は短時間で消失する)され、汁液伝染もするため全世界の栽培キク品種に広く感染している(Levay and Zavriev 1991)。これまで、再現性の良いCVBの生物検定は感受性の高いペチュニア品種を選び、検定適期に複数株用い、かつ検定適温を維持して行う必要があり、病徴発現(判定)までに2～3週間を要していた(山口 1979c)。本研究によりRT-PCR法による検定が可能になり、1日で検定が終了する。

CVBによるウイルス病の症状には葉の退緑斑紋、葉脈透化や軽いえそ斑紋、株の軽いわい化などがあり、花卉の退色やえそ斑紋を生じる品種もある。しかし、病徴の程度は品種や栽培環境により大きく異なり、大半の品種は無病徴である。栗原ら(1980)によるCVBの発生状況調査によれば、ほとんどが無病徴の243株



第11図 1998～2005年のCVBの感染株率 .

第8表 地域別のCVB感染状況 .

地域	発生市町村数/ 調査市町村数	感染株数/検定株数 (感染株率, %)
山本	1/ 1	1/ 5 (20)
秋田	3/ 4	4/ 39 (10)
由利	1/ 2	1/ 9 (11)
仙北	1/ 4	1/ 35 (3)
平鹿	3/ 3	13/ 38 (34)
全県	9/14	20/126 (16)



第12図 1998～2005年のCVBの発生市町村 .

第9表 キクのグループと生育状況別のCVB感染状況<sup>1)</sup>。

生育状況	輪ギク	小ギク	スプレーギク	全体
症状なし	7/28 (25)	5/26 (19)	1/15 (7)	13/69 (19)
草丈の低下	1/12 (8)	0/2 (0)	1/5 (20)	2/19 (11)
その他 <sup>2)</sup>	1/17 (6)	4/17 (24)	0/2 (0)	5/36 (14)

1) 感染株数/検定株数(感染株率,%)。症状の記載もれ2株は除いた。

2) 草丈に関らず葉に退緑斑等の症状が認められる株。

中28株(12%)からCVBが分離されたとしており、発病株は少ないが全国各地の栽培ギクに広く無病徴感染していると考えられている。

本調査の結果、2割ほどの品種でCVB感染株が見出された。感染率がスプレーギクに比べ、輪ギクと小ギクでやや高かった理由として、無症状株からの検出率が輪ギクと小ギクではスプレーギクに比べ高い値であったことから、輪ギクと小ギクはCVBが感染(あるいは他のウイルス・ウイロイドとの重複感染)しても症状が出にくい場合潜在感染株が目視によって除去されず、感染率が比較的高かったと推察される。しかし、調査株数が少ないための単なるバラツキであることも考えられる。こうしたキクのグループとCVBによる症状の関係について論じた報告はないので、今後は調査株数を増やすと共に、接種試験も含めたさらなる検討が必要であろう。何れにしても、CVBはCSVdや後述のTSWVのように問題視するほどではないが、他のウイルスやウイロイドとの重複感染により病徴が激しく現れることがあるとされており(山口1979b)、無視はできないウイルスである。

また、CVBの感染により、スプレーギクでは20%、輪ギクでは15%切花生体重が減少することが報告されている(山口1979a)。実際、八竜町や平鹿管内の栽培農家からキクの生育が劣ってきている(退化)ため茎頂培養によって親株の若返りを図って欲しいという要望が挙げられ、その原因を調査したところCVBの感染が確認された。そこで、茎頂培養を行い、RT-PCR法によりウイルス検定を行った後、2000、2002年にウイルスフリー親株を現地に供給した。今後も、ウイルス診断のみならずウイルスフリー化の際の検定においても本法を活用していきたい。

## 5 トマト黄化えそウイルス

TSWVは日本では1960年代にダリアで初めて確認され、1990年代になってミカンキロアザミウマが全国に急速に蔓延するのに伴って、本ウイルスによる被害が拡大し、問題となっている(本田・津田1999)。キクでは1993年にTSWVによるえそ病が静岡県で国内初確認され(加藤ら1995)、北日本でも1998年までに秋田県を除く6道県でTSWVによる病害が確認された。

秋田県でもその発生を警戒していたところ、1999年にトマト、ダリア、キクで相次いでTSWVが検出され、本県における初確認の年となった。1998~2005年にキク農家等から依頼を受けて行ったTSWV検定の結果から本県における発生状況を取りまとめた。

### 5-1 方法

#### 5-1-1 生物検定

添加剤として0.2%亜硫酸ナトリウムと1mM L-システインを用い、大木(1997)の方法により行った。

#### 5-1-2 抗体検定

TSWVのヌクレオプロテインに対して作出した抗体(藤・中前1997)を用い、DIBA法あるいはenzyme-linked immunosorbent assay(ELISA)法(大木1997)により行った。

#### 5-1-3 遺伝子診断

RT-PCR法(藤ら1998、Tsudaら1994、Weekesら1996)により行った。藤ら(1998)のプライマーAとBを用いた場合、PCRの条件は92、1分50、1分72、3分を35サイクル、最後に72、5分とした。また、Tsudaら(1994)のプライマーforwardとreverseを用いた場合、PCRの条件は94、1分37、1分72、2分を40サイクルとした。

### 5-2 結果

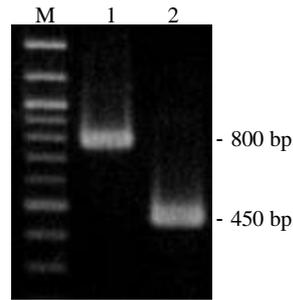
#### 5-2-1 初確認事例

1999年に八竜町の葉にえそ斑点症状を呈したキクについて汁液接種を行い、感染した*N. benthamiana*を検

第10表 キク分離株の寄主範囲と病徴。

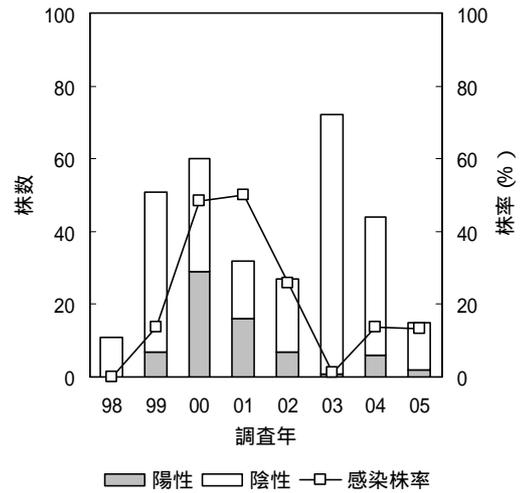
検定植物	病徴 <sup>1)</sup>
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	CS, NS/-
<i>C. murale</i>	CS, NS/-
<i>C. quinoa</i>	CS, NS/-
<i>Datura stramonium</i>	NRS/M, Mal
<i>Nicotiana benthamiana</i>	CRS/Y
<i>N. glutinosa</i>	NS/NS, M, Mal
<i>N. rustica</i>	CRS/CRS
<i>Vigna sequepedalis</i>	CRS/M, CS, NS

1) 接種葉/上葉; CRS, 退緑輪点; CS, 退緑斑点; M, モザイク; Mal, 奇形; NRS, えそ輪点; NS, えそ斑点; Y, 黄化。



第13図 RT-PCRによるTSWVの検定。

1, Tsudaら(1994)の方法; 2, 藤ら(1998)の方法; M, 分子量マーカー。



第14図 1998～2005年のTSWVの感染株率。

定植物に接種したところ、ササゲの接種葉における退緑輪紋などTSWVに特徴的な症状が現れた(第10表)。また、TSWV抗体を用いたDIBA法で陽性反応が認められた(データ省略)。さらに、RT-PCRの結果、Tsudaら(1994)の方法によって約800bp、藤ら(1998)の方法によって約450bpの期待される断片が増幅された(第13図)。以上の結果から、TSWVによるキクえそ病と診断した。

#### 5-2-2 発生状況

1998～2005年にかけて県内各地より採取したキク

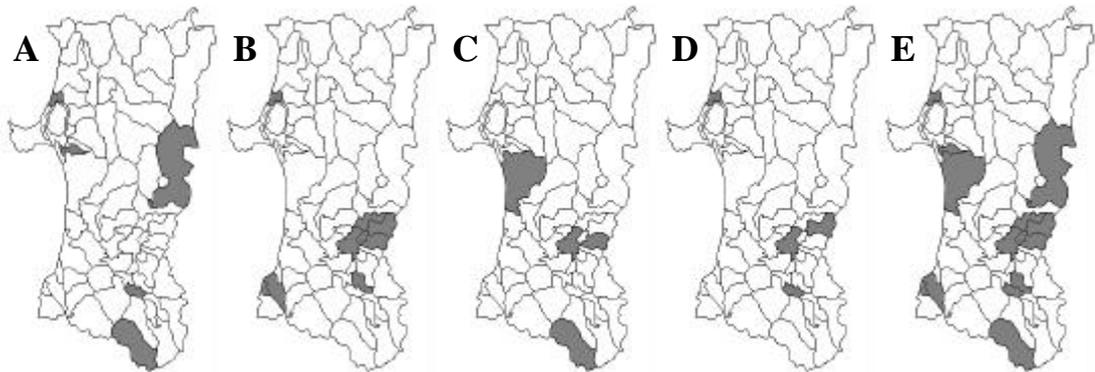
312株(110品種275株と品種不明37株)を調査した。検定は主にWeekesら(1996)のRT-PCR法によるが、一部ELISA法も使用した。検定した312株のうち68株(22%)、110品種のうち39品種(35%)からTSWVが検出された(第11表)。また、感染品種率は輪ギク、小ギク、スプレーギクの順に高かったが、感染株率で見ると輪ギクと小ギクでは差がなく、スプレーギクで

第11表 TSWV検定に供試したキクと検定結果。

	輪ギク	小ギク	スプレーギク	その他 <sup>2)</sup>	合計
検定数 <sup>1)</sup>	165[31]+2	82[55]+4	26[23]+2	2[1]+29	275[110]+37
感染数 <sup>1)</sup>	41[19]	20[16]+2	3[3]	2[1]	66[39]+2
感染株率 (%)	25	26	11	6	22
感染品種率 (%)	61	29	13	100	35

1) 株数[品種数]+品種不明株数。

2) 食用ギクと何れのグループか不明の株。

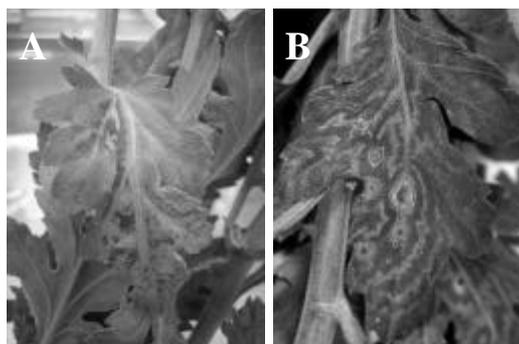


第15図 1998～2005年のTSWVの発生市町村。

A, 1998～1999年; B, 2000～2001年; C, 2002～2003年; D, 2004～2005年; E, 1998～2005年。

第12表 地域別のTSWV感染状況.

地域	発生市町村数/ 調査市町村数	感染株数/検定株数 (感染株率, %)
北秋田	0/ 1	0/ 2 ( 0)
山本	1/ 3	14/ 63 (22)
秋田	2/ 4	2/ 59 ( 3)
由利	2/ 3	8/ 30 (27)
仙北	6/ 8	36/109 (33)
平鹿	2/ 4	5/ 42 (12)
雄勝	1/ 1	3/ 7 (43)
全県	14/23	68/312 (22)

第16図 TSWVによるキクえそ病。  
A, えそ; B, 輪紋.

低かった。

第14図に示した感染株率の年次変化から、2000、2001年に高かったことがわかる。また、2年ごとに区切って発生市町村の変化をみたのが第15図で、感染株率の高かった2000～2001年は他の区分の約2倍の9市町で発生が認められ、仙北地域が中心であった。しかし、2002年以降増加や拡大することなく、発生は比較的少なかった。これまでに調査した7地域23市町村のうち6地域14市町村でTSWVの発生を確認した(第15図E、第12表)。

#### 5-2-3 症状と検出状況

生育状況別に検定結果を取りまとめたところ(第13表)、キク全体ではTSWVによるえそ病の特徴である葉に退緑、えそ等の症状を呈した株での感染率が最も高かった。しかし、そうした葉の症状は認められずわい化した株での検出率も次いで高かった。小ギクでは葉に症状が認められる株よりも草丈の低下した株での感染率の方が高かった。感染株の症状としては中～上位葉でのえそ、えそ斑点、葉脈えそ、周囲に黄化を伴うえそ、退緑斑紋などの症状が認められた(第16図A)。いくつかの品種では、特徴的な輪紋症状を呈していた(第16図B)。

#### 5-3 考察

TSWVはアザミウマにより以下の様式で持続性伝染される。ウイルスの獲得は幼虫期のみで、潜伏期間の後、成虫期に終生ウイルスを媒介する。薬剤が効きにくいミカンキロアザミウマの本県への侵入が1996年に確認されたこともあってTSWVの発生を警戒してい

たところ、1999年にTSWVの発生を秋田県で初めて確認した。このことによりTSWVが注目されたことに加え、2000年はTSWV感染苗の流通によりえそ病の発生が多くなったため、2000、2001年はTSWVの検定依頼も多く、検出率も高かった。なお、2003年に検定株数が多かったのは病害虫防除所のTSWV広域調査の診断依頼があったためである。しかし、2002年以降は発生率が低く推移しており、懸念された爆発的な蔓延は起きていない。これについては多発した際、発生品種の廃棄と更新を迅速に行ったことが功を奏したためと考えている。

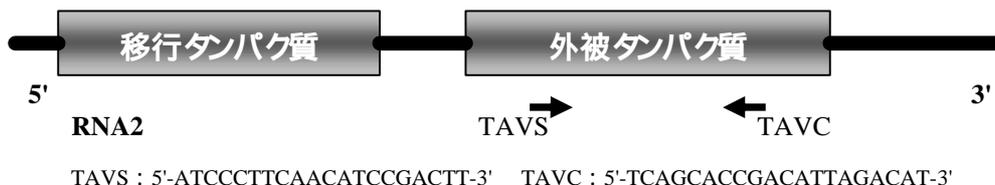
しかし、ストレスを極力回避するような栽培管理を行うと病徴を発現しない(無病徴感染)こと(平野1999)や県内のキク生産現場にTSWVの媒介虫であるアザミウマ類が蔓延している状況から考えて、詳細な調査を行うことによって、さらに多くの株からTSWVが検出されるものと思われる。根本的な問題として、TSWVはキクでは濃度が上がりやすく、感染株であっても局在することが報告されており(松浦ら2003)、このことが検出を困難にしている。特に、親株等におけるウイルスフリー検定においてエスケープが発生する危険性を有し、無病徴感染株の導入ややり取りが行われることが危惧される。最近、高感度な遺伝子診断法としてLoop-mediated isothermal amplification(LAMP)法が開発され、これを応用したRT-LAMP法をTSWV検定に導入する試みがなされている(松浦・重本2005)。

第13表 キクのグループと生育状況別のTSWV感染状況<sup>1)</sup>.

生育状況	輪ギク	小ギク	スプレーギク	その他 <sup>2)</sup>	全体
症状なし	3/ 37 ( 8)	0/14 ( 0)	1/12 ( 8)	0/27 ( 0)	4/ 90 ( 4)
草丈の低下	3/ 20 (15)	7/15 (47)	1/ 8 (13)		11/ 43 (26)
その他 <sup>2)</sup>	35/110 (32)	15/57 (26)	1/ 8 (13)	2/ 4 (50)	53/179 (30)

1) 感染株数/検定株数(感染株率%)。

2) 草丈に関らず葉に退緑斑等の症状が認められる株。



第17図 TAVの遺伝子とRT-PCRのプライマー。

なお、TSWVによる病害はキクの他に、1999年にダリア（輪紋病）、トマト（黄化えそ病）、2003年にピーマン（黄化えそ病）で確認している。輪紋病が発生した雄和町のダリア農家によれば、1990年頃、導入品種で輪紋症状が確認されていたことから、TSWVは少なくとも1990年頃には感染したダリア苗により本県に持ち込まれ、発生していたものと考えられる。また、1997年頃から輪紋症状株が増え、種子繁殖株でも発病がみられており、ミカンキイロアザミウマの侵入と、それを含むアザミウマ類の発生量の増加が輪紋病の被害の増大を助長していると考えられる。

現在、TSWVによる病害は初発当時懸念されたような爆発的な拡大、被害は発生していないが、山本地区のキク産地では常発して問題視されている（横井 私信）他、県南部のキク、トマト、ピーマン等で散発している。これらの発生箇所では、伝染源となる周辺の宿主雑草や媒介虫であるアザミウマの防除の徹底に加え、栄養繁殖性であるキクでは無病親株の確保などの対策を講じる必要がある。

## 6 キク微斑ウイルス

ウイルスあるいはウイロイドによるとみられる生育不良のキクについて検定を行ったところ本県で発生が確認されているCSVd、CVBやTSWVが検出されなかったため、調査を進めたところTAVの感染が確認された。そこで、他のウイルス・ウイロイド同様に遺伝子診断できるようにプライマーを設計して、RT-PCRにより本県のキクにおけるTAVの感染状況を調査した。

### 6-1 方法

#### 6-1-1 遺伝子診断

RT-PCR-RFLPはChoiら（1999）の方法によった。プライマーCPTALL-5とCPTALL-3を用い、PCRの条件は94 40 72 各1分を40サイクル、最後に72、10分とした。次に、RT-PCR反応液5  $\mu$ lに10  $\times$  M buffer 0.5  $\mu$ l、BSA 0.5  $\mu$ l、滅菌蒸留水3.2  $\mu$ lと制限酵素XbaI 0.8  $\mu$ lを加え、37 で60分間反応させた。HincIIの場合は、RT-PCR反応液5  $\mu$ lに10  $\times$  H buffer 0.5  $\mu$ l、滅菌蒸留水3.5  $\mu$ lと制限酵素1  $\mu$ lを加えた。

RT-PCRは既報TAVの塩基配列（DDBJ/EMBL/GenBank受入れ番号AJ237849、AJ277268、L15335）を基に外被タンパク質の一部を増幅するプライマー

TAVSとTAVC（第17図）を設計して行った。

ウイルス遺伝子の塩基配列はダイレクトシークエンス法により決定した。

#### 6-1-2 生物検定

汁液接種は大木（1997）の方法に準じて行った。

#### 6-1-3 抗体検定

DIBA法による抗体検定は大木（1997）により行った。

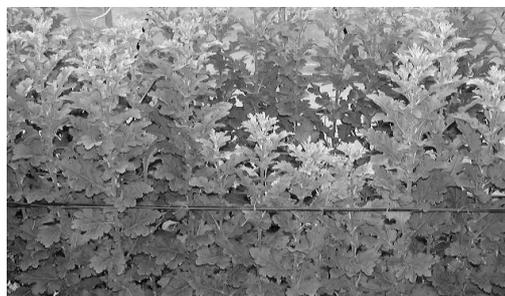
### 6-2 結果

#### 6-2-1 初確認事例

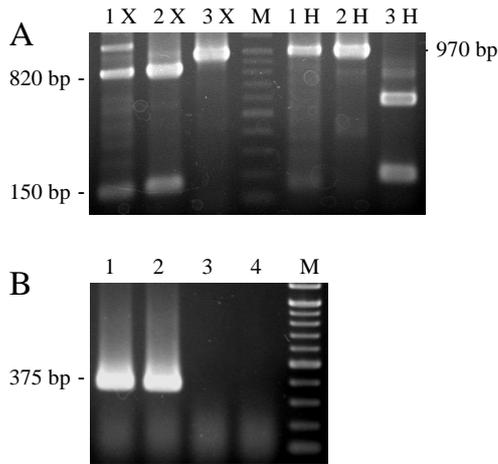
2003年に男鹿市で採取したわい化症状（第18図）を示す‘名門’2株についてRT-PCR検定を行ったところ、CSVd、CVB、TSWVの何れも検出されなかった（データ省略）。そこで、TAVを含むCucumovirus属を検出するプライマー（Choiら 1999）を用いてRT-PCRを行ったところ、約970 bpの断片が増幅された。このバンドはHincIIでは消化されず、XbaIにより約820と約150 bpに切断された（第19図A）。これはキュウリモザイクウイルス（CMV）の消化パターンとは異なり、既報のTAVのそれ（Choiら 1999）と一致した。また、*Chenopodium quinoa*を用いて得た単病斑分離株をササゲに汁液接種したところ、接種葉に小型のえそ斑点を生じ、キュウリには全身感染しなかった（データ省略）。以上の結果から本ウイルスをTAVと同定し、ウイルス病と診断した。

#### 6-2-2 プライマーの検証

TAV感染株についてプライマーTAVSとTAVCによるRT-PCRを行ったところ、想定されるサイズ（375 bp）の断片が増幅された（第19図B）。この増幅断片のプラ



第18図 TAVによるキクウイルス病（わい化症状）。



第19図 RT-PCR-RFLP(A)とRT-PCR(B)によるTAVの検定。

1と2, わい化株; 3, CMV; 4, 健全株; M, 分子量マーカー。AにおけるXとHはそれぞれ *Xba*I, *Hinc*II 処理を示す。

イマーを除く塩基配列(DDBJ/EMBL/GenBank受入れ番号AB201716に登録)は既報TAVと99%の高い相同性を示した。この結果から、本法によりTAV遺伝子が増幅されていることが確認され、RT-PCR法によるTAVの検定が可能になった。

6-2-3 発生状況

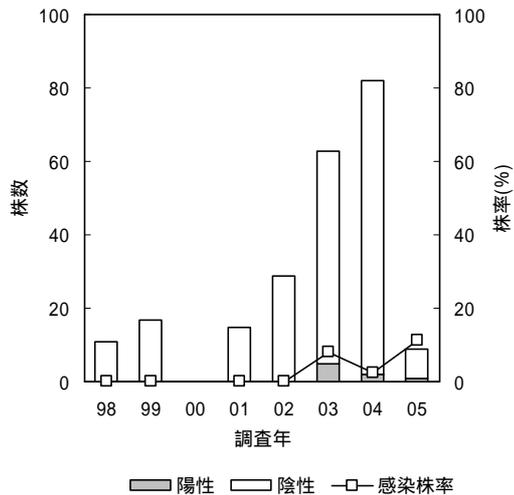
1998、1999、2001～2005年に県内の圃場から226株(86品種221株と品種不明5株)を採集した。このうち、1998、1999年の28株についてはDIBA法によりTAV検定を行った。また、2001年以降はRT-PCR法によったが、2001、2002年の試料は凍結保存RNAを用いた。

検定の結果、8株からTAVが検出された(第14表)。キク全体でのTAVの感染株率、感染品種率はそれぞれ4、3%で、CSVd、CVBやTSWVに比べ低かった。また、輪ギクの感染株率8%に比べ、小ギクでは1%と低く、スプレーギクでは感染株が検出されなかった。しかし、TAV感染株数が少ない上に、その内訳をみると8株のうち6株は‘名門’で偏りがあることから、キクのグループと感染状況の関係を論じるのは難しい。

第14表 TAV検定に供試したキクと検定結果。

	輪ギク	小ギク	スプレーギク	合計
検定数 <sup>1)</sup>	90[21]+2	93[41]+3	38[24]	221[86]+5
感染数 <sup>1)</sup>	7[ 2]	1[ 1]	0[ 0]	8[ 3]
感染株率(%)	8	1	0	4
感染品種率(%)	10	2	0	3

1) 株数[品種数]+品種不明株数。



第20図 1998～2005年のTAVの感染株率。

感染株は初確認の2003年以降、低率ではあるが毎年確認されている(第20図)。また、感染株が少ないため、調査した6地域18市町村のうち3地域4市町村のみで発生が確認された(第15表、第21図)。

6-2-4 症状と検出状況

生育状況別にまとめたところ(第16表)、輪ギクの草丈の低い株での感染株率25%(4株)が最も高かった。その他、TSWVとの重複感染が確認された茎えそ等の典型的な症状を呈した輪ギク1株を除くと、無症状の1株、葉に斑紋等の症状が観察された2株からTAVが検出された。

第15表 地域別のTAV感染状況。

地域	発生市町村数/ 調査市町村数	感染株数/検定株数 (感染株率, %)
山本	0/ 2	0/ 37 (0)
秋田	1/ 5	5/ 76 (7)
由利	0/ 2	0/ 11 (0)
仙北	1/ 5	1/ 61 (2)
平鹿	2/ 3	2/ 39 (5)
雄勝	0/ 1	0/ 2 (0)
全県	4/18	8/226 (4)

第16表 キクのグループと生育状況別のTAV感染状況<sup>1)</sup>。

生育状況	輪ギク	小ギク	スプレーギク	全体
症状なし	1/33 ( 3 )	0/33 ( 0 )	0/19 ( 0 )	1/85 ( 1 )
草丈の低下	4/16 ( 25 )	0/32 ( 0 )	0/15 ( 0 )	4/63 ( 6 )
その他 <sup>2)</sup>	2/43 ( 5 )	1/31 ( 3 )	0/ 4 ( 0 )	3/78 ( 4 )

1) 感染株数/検定株数 (感染株率, %)。

2) 草丈に関らず葉に退緑斑等の症状が認められる株。



第 21 図 1998～2005 年の TAV の発生市町村。

### 6-3 考 察

キクから分離される *Cucumovirus* は一括して TAV とされていたが、栃原 (1970) は TAV のうち CMV と血清関係が無いものをキク微斑ウイルス (*Chrysanthemum mild mottle virus*: CMMV) と命名した。しかし、分子分類が基盤となった近年は CMV と血清関係があるものを CMV、ないものを TAV とするようになり混乱が生じた。そこで、花田ら (1995) は和名をキク微斑ウイルスとし、学名は TAV を採用するように提案し、現在に至っている。TAV はアブラムシで非持続性伝染され、ウイルスを獲得したアブラムシはすぐに媒介可能であるが、媒介能力は短時間で消失する。TAV の症状は葉の退緑斑、黄斑、輪紋、えそ斑紋で、生育も悪くなる。花は変形し小型になると共に赤色系の品種では花卉の斑入り・退色が生じることがある。しかし、症状は品種により異なり、生育初期に不明瞭な退緑斑紋を示す品種も多い一方で、症状を示さないものも多い (栃原 1970)。

TAV は 2002 年、県内のウイルス症状のトマトから検出されており (藤 私信)、2004、2005 年にも TAV によるトマトモザイク病の発生を確認している。一方、TAV によるキクウイルス病については 2003 年に「名門」において本県初確認となった。「名門」は 20 年以上前に導入された古い品種で、草丈が低い等の生育不良株の発生が問題になっていた。本調査の結果、2 市の複数株で TAV の感染が確認されたことから、過去に本県に導

入した「名門」親株の一部が感染していたため、これに由来する株は保毒しており、生育不良症状を呈した可能性が考えられる。

本県においては検定した 86 品種のうち「名門」の他 2 品種から検出されたのみで、地域も限られていた。こうした発生状況は、本県では CSVd が広域で多くの品種で発生している状況や TAV が全国各地の栽培ギク各品種に広く感染しているとみられていること (栃原 1993) とは対照的であった。このことから、栃原 (1993) が TAV の発生状況を取りまとめた当時の品種は TAV の感染率が比較的高く、比較的新しい品種では TAV の汚染が少ない可能性も考えられるが、今後も調査を継続し、TAV の発生消長を解析する必要がある。

### 7 キククロロティックモットルウィロイド

キクの病原分子として CChMVd があり、海外からの進入が長年警戒されてきた (山口 1979b)。2003 年、男鹿市で発生した退緑・黄斑症状株の調査を進めたところ、国内未発生の CChMVd が確認されたのでその過程について報告する。

また、その後、2 府 5 県でも CChMVd が確認されたが (Hosokawa ら 2005、佐野 私信)、本ウィロイドの発生状況は不明のままであったので、秋田県内で栽培されている様々なキクを収集して CChMVd の感染状況を調査した。

#### 7-1 方 法

CChMVd の検出はプライマーセット P と P (De la Pena ら 1999) を用いた RT-PCR 法で行った。PCR の条件は 94℃、30 秒 68℃、1 分を 35 サイクル、最後に 72℃、30 秒とした。また、プライマー P と P (De la Pena ら 1999) を利用して semi-nested PCR を行った。反応条件は 94℃、40 秒 60℃、30 秒 72℃、2 分を 30 サイクル、最後に 72℃ で 10 分とした。また、塩基配列の決定は以下のようにして行った。プライマー P と P による RT-PCR 断片を精製後、pGEM-T ベクター (Promega) に連結し、大腸菌 JM109 にクローニング後、4 クローンのプラスミドを精製して個別に塩基配列を決定した。

発生状況調査での CChMVd の検出と病原型の判定は RT-PCR-RFLP 法 (De la Pena ら 1999) で行った。P と P による RT-PCR 産物が *Hind* で消化された場合

を病徴発現(S)型、そうでない場合を非病徴発現(NS)型と判定した(第22図)。

7-2 結果

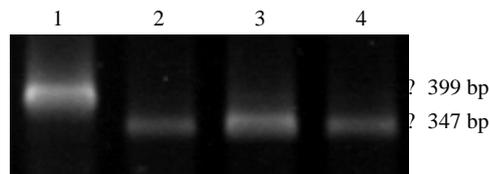
7-2-1 初確認事例

2003年7月中旬、小ギク‘七夕まつり’を導入・栽培した男鹿市の12農家全てで、しばしば中心にえそを伴う明瞭な黄斑が下位葉に現れた(第23図A)。この症状は上位葉に進展し、その後、発症株の葉は赤紫色を呈した。程度に差はあったものの最終的にほとんど全ての株が同様の症状を呈した。しかし、これらの発症株はわい化することなく、草丈は150 cmほどとなった。

なお、本品種は1995年頃、国内で小ギクの品種をかけ合わせ、選抜されたもので、購入した苗を4月に定植した際には症状は認められなかった。

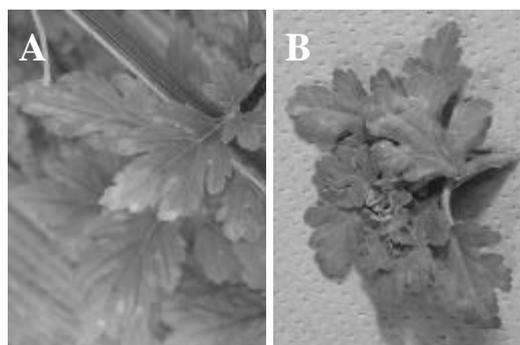
この症状は、下位葉から症状が現れた点や黄斑の境界部が明瞭であった点がやや異なっていたが、TSWVの感染により生じる症状に似ていた。そこで、RT-PCR法によりTSWV検定を行ったが、本症状を呈した3株とも陰性であった(データ省略)。さらなるRT-PCR検定の結果、TAVも陰性で、CVBあるいはCSVdの感染が確認されたが、両者が引き起こす典型的な症状の記載(橋原 1993)から何れも原因とは考えにくかった。

そこで、国内未確認であったが、葉に同様の症状を引き起こすとされているCChMVdの検定を行ったところ、検定した3株全てにおいて期待されるサイズの断片(約400 bp)が増幅された(第24図に1株の例を示す)。これを鋳型にプライマーセットP とP、P とP で semi-nested PCRを行ったところ、それぞれ約240 bpと約160 bpの期待されるバンドが生じた。このことからCChMVdである可能性が高まったので、発症株の1株から得られた4クローンの塩基配列を決定した(DDBJ/EMBL/GenBank 受入れ番号 AB181857 ~ AB181860に登録)。これらは398~399塩基からなり、相互の配列の相違は2.5%以下で、アメリカで報告されたS型CChMVd(Navarro and Flores 1997)と95.4~97.5%、NS型CChMVd(De la Penaら 1999)と94.0~96.7%の高い相同性を示した(データ省略)。また、4クローンは何れも82~85番の塩基配列がUUUCであったことから、S型CChMVdと同定した。



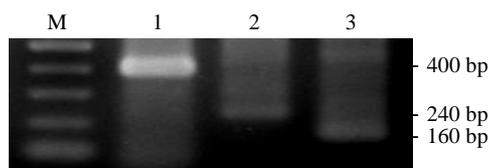
第22図 RT-PCR-RFLPによるCChMVdの病原型の判定。

1, NS型感染株; 2~4, S型感染株。



第23図 CChMVdによるキク退緑斑紋病。

A, 退緑・黄斑; B, 葉脈沿いの退緑。



第24図 RT-PCR(1)およびsemi-nested PCR(2, 3)によるCChMVdの検定。

2, P<sub>1</sub>/P<sub>2</sub>; 3, P<sub>2</sub>/P<sub>3</sub>; M, 分子量マーカー。

7-2-2 発生状況

2002~2005年にかけて県内の圃場から採集した94品種223株(2002年の試料は凍結保存RNA)についてRT-PCRを行ったところ、21品種46株からCChMVdが検出され、感染株率、品種率はそれぞれ21、22%で

第17表 CChMVd検定に供試したキクと検定結果。

	輪ギク	小ギク	スプレーギク	合計
検定数 <sup>1)</sup>	62[22]+1	122[51]+3	35[21]	219[94]+4
感染数 <sup>1)</sup>	10[ 3]+1	27[13]	8[ 5]	45[21]+1
うち S型	7[ 2]+1	21[ 9]	4[ 3]	32[14]+1
NS型	3[ 1]	6[ 5]	4[ 3]	13[ 9]
感染株率 (%)	16	22	23	21
感染品種率 (%)	14	25	24	22

1) 株数[品種数]+品種不明株数。

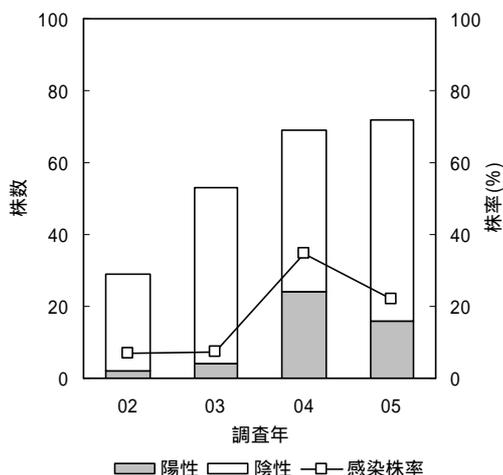
あった(第17表)。RFLP分析の結果、病原型はS型の割合が高く14品種33株から、NS型は9品種13株から検出された。なお、CChMVdが検出された21品種のうち19品種では複数の株から検出された場合であってもどちらか一方の型であったが、小ギクとスプレーギクの各1品種では株によりS型あるいはNS型に感染していた。輪ギクの感染株率は16%で、小ギクとスプレーギクはそれぞれ22、23%とやや高かった。感染品種率も同様な値を示した。

感染株率の年次推移をみると、2002、2003年はそれぞれ7、8%であったのに対し、2004、2005年のそれはそれぞれ35、22%と高かった(第25図)。また、CChMVdの発生が確認された市町村は2002年が1地域1町、2003年が1地域2市町であったものが、2004年には4地域5市町村、2005年は5地域6町と増加した(第26図)。その結果、4年間に調査した20市町村のうち12市町村で発生が確認された(第26図E、第18表)。

7-2-3 症状と検出状況

症状別感染状況を調べたところ、症状が認められない株からの検出率が33%と最も高かった(第19表)。次いで(草丈に関らず)葉に何らかの症状が見られる株の19%、わい化、ややわい化に区分された株ではそれぞれ14、9%であったが、これらの症状は他のウイルス、ウィロイドの重複感染によることも考えられた。CChMVdの感染により日本の品種が示す症状は不明であり、単独感染株が示す症状、さらに他のウイルス・ウィロイドの重複感染の影響を明らかにすることは重要であると考えられた。

そこで、CChMVdが検出された21品種46株について他のウイルス・ウィロイドの検定を行ったところ、単独感染であることが確認されたのは11品種17株であった。その症状をみると、S型感染キク8品種14株のうち6品種12株は症状が無く、小ギクの1品種1株では葉脈に沿った退緑(第23図B)が、またスプレーギクの1品種1株では株全体の退緑が観察された(第20表)。一方、NS型が単独感染した3品種3株は何



第25図 2002～2005年のCChMVdの感染株率。

第18表 地域別のCChMVd感染状況。

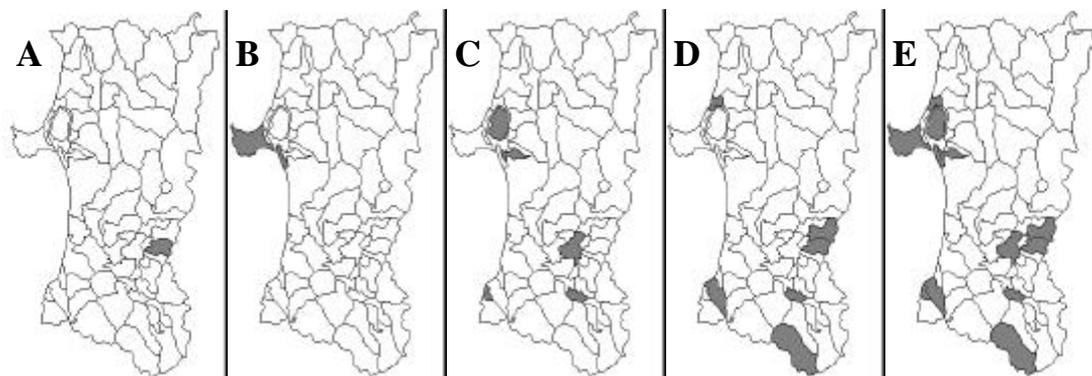
地域	発生市町村数/ 調査市町村数	感染株数/検定株数 (感染株率, %)
山本	1/ 1	3/ 5 (60)
秋田	4/ 5	22/ 58 (38)
由利	2/ 3	2/ 18 (11)
仙北	3/ 5	10/ 60 (17)
平鹿	1/ 4	3/ 66 ( 5)
雄勝	1/ 2	6/ 16 (38)
全県	12/20	46/223 (21)

第19表 キクの生育状況別のCChMVd感染状況<sup>1)</sup>

生育状況	S型	NS型	全体
症状なし	20/73 (27)	4/73 ( 5)	24/73 (33)
ややわい化	1/33 ( 3)	2/33 ( 6)	3/33 ( 9)
わい化	5/65 ( 8)	4/65 ( 6)	9/65 (14)
その他 <sup>2)</sup>	7/52 (13)	3/52 ( 6)	10/52 (19)

1) 感染株数/検定株数(感染株率, %)。

2) 草丈に関らず葉に何らかの症状が認められる株。



第26図 2002～2005年のCChMVdの発生市町村。

A, 2002年; B, 2003年; C, 2004年; D, 2005年; E, 2002～2005年。

第20表 CChMVdの病原型と単独感染キクの症状別感染数.

型	症状	輪ギク	小ギク	スプレーギク
S	なし	6[2] <sup>1)</sup>	6[4]	
	葉脈沿いの退緑		1[1]	
	株全体の退緑			1[1]
NS	なし		1[1]	2[2]

1) 株数[品種数].

れも症状は認められなかった。一方、15品種29株は他のウイルス・ウイロイドと重複感染しており、国内初確認の事例となったCSVd(1株)あるいはCVB(2株)が感染していた小ギク1品種は明瞭な黄斑症状を呈していた。しかし、その他はCChMVdの感染を気付かせるような特徴的な症状を示していなかった。例えば、CSVdが感染していた13品種24株のうち9株は無症状であり、15株はCSVdに特徴的なわい化と退緑症状であった。TSWVとの重複感染であった2品種2株のうち、一方はTSWVに特徴的な退緑輪紋を生じ、もう一方は生育が劣っていた。

### 7-3 考 察

*Chrysanthemum chlorotic mottle disease* は1967年にアメリカで初めて確認された(Dimockら1971)。本病によりキクは退緑斑を生じ、新たに展開した葉は退緑するとされ、これに似た症状の発生がこれまでにデンマーク、フランスとインドで報告されている(Horst1987)。一方、病原についてはウイロイドの性質を有することから *Chrysanthemum chlorotic mottle viroid* とされた(Romaine and Horst1975)。Horst(1975)はS型とNS型の存在を報告し、その後82~85番のCChMVd tetraloopの塩基配列が病徴発現に関与していることが明らかにされた(De la Penaら1999)。すなわち、この配列がUUUCタイプは斑紋や退緑等の典型的症状を引き起こす(S型)がGAAAタイプは潜在感染し、症状を引き起こさない(NS型)。

本病は日本でも長年、海外からの侵入が警戒されてきたが(山口1979b)、2003年に秋田県で初めて黄斑症状を呈した小ギクからCChMVdが検出された。また、その塩基配列からS型であることが確認された。本事例がCChMVdの国内での初発生であったので、CChMVdの和名を「キククロロティックモットルウイロイド」、病名を「退緑斑紋病」と申請した。

その後、本県以外に青森県(佐野私信)に続き、2府4県でもCChMVdの発生が確認されているが(Hosokawaら2005)、これまで日本のキクでのCChMVd感染実態の詳細な調査は行われておらず、不明のままであった。そこで、多くの品種、栽培地域で経時的にCChMVdの発生を調査した結果、本県では少なくとも2002年以前からCChMVdが発生し、栽培されているキクの2割ほどの品種が感染していることが

明らかとなった。また、感染株は増加傾向にあり発生地域も拡大していたが、発生地点を中心に周囲に拡大しているのではなく、年ごとに確認された市町村が異なり、その数が増加していた。調査した4年間で県内の主要なキク産地全てで発生が確認された。これは県内に導入される株の感染率が増加していることに起因する発生状況の変化であり、本ウイロイドが虫媒性でないことも一因であろう。また、より感度の高いnested PCRを行うことによって検出率が高くなること(Hosokawaら2005)も考え合わせ、実際にはCChMVdはより高率で県内に蔓延しているものと考えられる。

その理由として、本試験結果から推測された、少なくともCChMVdの単独感染では国内で栽培されているキク品種には無病徴かほとんど症状を現さないこと、さらに重複感染によってもCChMVdの感染を気付かせるような特徴的な症状を引き起こさないようであることが挙げられる。このためCChMVdの感染に気付かれずに県内各産地に感染親株が導入され、広がったと考えられる。また、本ウイロイドは汁液接種が可能である(Horst1975)ことから、感染品種を導入した農家でハサミを用いた管理作業時等に健全品種への感染拡大も起きていると思われる。

一方、輪ギクの感染率が小ギクやスプレーギクに比べ低かったことは、CChMVdに対する免疫性品種がないとするDimockら(1971)の報告を考慮すると、キクの管理・供給体制の差異が原因であることが推測される。すなわち、小ギクやスプレーギクは非常に多くの品種が存在する一方でパテント品種が少ないために増殖や交換・配布が活発に行われ、CChMVdに感染する機会や感染株の拡大を促している。一方、対照的に輪ギクは品種数が少ないがパテント品種の割合が高いため管理が厳密に行われており、感染の機会も少なく、また、勝手な増殖や配布が禁じられているために感染株の拡大も抑えられているのであろう。上述のようにほとんど症状が現れず、目視による選抜が行われなかったであろうことも主な要因であろう。

秋田県は県外の園芸会社から栄養繁殖で増やされた新品種、親株、定植苗などの種苗の導入が多い。こうしたことは他の多くの県でも似た状況にあるので、本研究で明らかになったCChMVdの発生状況は決して本県特有の現象ではなく、その他のキク産地でも同様に

CChMVd が蔓延していることを示唆するものである。

一方、CChMVd の症状についてはさらに検討すべきである。国内初確認となった 2003 年の事例では著しい退緑・黄斑症状のため廃棄せざるをえなかった。また、CChMVd が TSWV と似た症状を引き起こすことが示唆され、CChMVd による退緑斑紋病が TSWV によるえそ病として見落とされていたり混同されていた可能性があり、発見当初は栽培上重要な病原であると考えた。しかし、その後の発生調査から、前述のように少なくとも CChMVd の単独感染では国内で栽培されているキク品種には無病徴かほとんど症状を現さないと推察された。この理由として、初確認事例は CSVd あるいは CVB と重複感染していたもので、そのため症状が強く現れたことが考えられたが、その他の重複感染株では CChMVd の感染を知らせるような特徴的な症状は示さなかった。また、Hosokawa ら (2005) は葉の退緑や斑紋等の典型的な激しい症状を示すキク (品種不明) の CChMVd の濃度が低く、マイルドな症状を呈していた品種に NS 型が高濃度で感染していたとしており、病徴とウイロイド濃度や病原型の関係がはっきりしない事例も報告されている。こうした矛盾については、明瞭な症状を呈する品種も多い一方で潜在感染する品種も多数あると Dimock ら (1971) が報告しているように、日本のキクでも CChMVd による症状に品種間差異があり、それが影響していることが推測される。こうしたことを明らかにするために、本試験を通じて得られた S 型および NS 型 CChMVd 単独感染株ならびにウイルス・ウイロイドフリーキク品種を用いた接種試験を進めている (崔ら 2008)。接種に際しては、CChMVd の発病好適条件 (Horst 1975) に注意して行う必要がある。

このように、CChMVd による病徴、病気の重要度はさらに検討を重ねなければならない状況ではあるが、このまま放置すると CChMVd による汚染が進むことが懸念される。従って、今後も CChMVd の挙動に注意を払う必要があり、全国規模で調査を継続する必要がある。

## 8 総合考察

秋田県ではキクが花き生産の 28% を占める主力品目で、新品種や定植苗等、県外から苗が頻りに導入されている。これらは園芸会社や種苗会社で栄養繁殖により増殖されたもので、その後、キク農家間でやり取りが行われることもある。こうした状況は新病害の進入、あるいは病気の拡大を促すことになり、本研究を行ったこの 10 年ほどの間に、CSVd によるわい化病、TSWV によるえそ病が問題となり、CVB および TAV によるウイルス病の発生も確認された。さらに、国内未確認であった CChMVd による退緑斑紋病を同定するに至った。

ウイルス・ウイロイドの被害回避においては、病原

により伝染方法や伝染環が異なるので、対応を考える上でも診断が基本となる。しかし、病徴は品種、栽培環境により程度に差があり、生理障害でもウイルス・ウイロイド病と酷似した症状を呈することがあるので、一般に病徴から病原を特定することは難しい。ウイルス・ウイロイドの診断には生物検定をはじめいくつかの方法があるが、キクの重要な病原分子である CSVd については遺伝子診断が最も有効な方法であったので、本研究では他のウイルス・ウイロイドも同様に検定できるようにプライマーの設計等に取り組み、キクに発生する 5 つのウイルス・ウイロイドの検定を可能にした。これによりフリー化を含め親株の検定、発病株の診断が短時間に高感度で行えるようになった。また、診断結果は農業改良普及員を通じて農家に伝えられ、必要に応じて対策が講じられた。あるいは、栽培しているキクにウイルス・ウイロイドの感染の疑いがある親株の更新を考えている場合は最終的な判断材料になり、原因が解明されることで生産上の不安感を取り除くという間接的な貢献もできた。

診断技術の開発は今後 2 方向に展開していく必要がある。一つは確実な親株検定を想定した高感度化で、特に RT-LAMP 法についての研究、実用化の動向をみながら技術の導入を図りたい。もう一つは簡易化で、親株検定における一次スクリーニングや農家からの発症株の診断依頼により多く対応できるような多検体処理化と、一度の遺伝子診断で複数のウイルス・ウイロイドの検定を行えるような RT-PCR の multiplex 化である。前者については要望の多い CSVd 検定について tissue blot hybridization 法 (勝部ら 2003) の有用性を検討したい。後者については現在試験中で、TSWV と TAV、CSVd と CVB のそれぞれの組み合わせにおいて一度の RT-PCR で検出できることを確認している (未発表データ)。

本研究では検定結果を取りまとめることで本県におけるキクのウイルス・ウイロイドの発生状況を明らかにした。しかし、特に TSWV はウイルス濃度が上がりやすく、局在するためその発生は低く評価されている可能性がある。また、検出するウイルス・ウイロイドごとにプライマーの配列が異なるため、検出感度が異なることも考えられる。さらに、特徴的な症状から CSVd では検定依頼株に占めるわい化症状株の割合が、TSWV では葉にえそ等の症状を呈している株の割合が高い。このため、感染率等の数値を単純に比較できないであろうが、これを考慮した上での発生状況を以下のように考える。すなわち、CSVd は感染品種が多く、広く常発して、被害も大きいことから最も問題になる病原分子である。CSVd 感染株が絶えず流通していることが主因であろう。TSWV も発症すると被害が大きいため栽培農家の問題意識も高い。本県では、TSWV 感染株が流通して多発生した年を除き発生が少なく推移

しているが、無病徴感染株の潜在的危険性があり、媒介虫のアザミウマ類が常発しているので注意しなければならない。一方、CVBやTAVは症状がほとんど無いので感染、発症しても被害が少ないが、前者については保毒率が高く、現場で「退化」と呼ばれている現象の主要な原因と考えられる。CChMVdについても顕著な症状が出ないので実害は無いと現時点では考えているが、日本の品種が示す症状について接種試験により確認中であり、残された課題である。

ウイルス・ウイロイド病は農薬が効かず、一度感染すれば治療できないため予防に重点をおく必要がある。すなわち、罹病残渣や、宿主範囲の広いTSWVやTAVでは伝染源のおそれがある圃場周辺の雑草を除去するなど圃場衛生を良い状態に保つ。CVBとTAVの媒介虫であるアブラムシ、TSWVを媒介するアザミウマの発生を抑えるよう薬剤防除を行う。また、キクの生育状況に気を配り、ウイルス・ウイロイドが疑われる症状の早期発見に努めることも重要である。しかし、顕著なわい化はCSVd、えそや品種によっては輪紋の場合はTSWVと推定できるが、CVB、TAV、CChMVdは明瞭な症状を出さないので見落とされやすい。

ウイルス・ウイロイド病と診断された場合、発病株は伝染源になるので速やかに除去すると共に病原の伝染方法に応じた対策を立てる。すなわち、虫媒性のTSWV、CVB、TAVでは対象媒介虫の駆除を徹底する。また、ウイルス・ウイロイドは芽かきや収穫時にハサミを介して汁液伝染するので(TSWVでは汁液伝染は起こりにくいとされている)、疑わしい株の管理は後回しにするなどの配慮が必要である。TSWVやTAVのように宿主範囲が広い場合には関係する作物全体を対象にした総合的な防除対策が必要になってくる。

しかし、ウイルス・ウイロイドの最も重要な性質は栄養繁殖により次代の植物に伝染することで、キクのように挿し穂により種苗生産が行われる場合、親株の重要度が非常に高く、保毒苗の移動により遠隔地にも運ばれる。従って、キク栽培にあつてはウイルス・ウイロイドフリーの健全種苗を用いることが大前提である。この点においても遺伝子診断法はキクの健全親株の作出、すなわちウイルスフリー化の際も不可欠な技術であった。2000年、八竜町から依頼を受けた「寒精雪」、「精興の秋」、「精興黄金」のTSWVとCVBに関するウイルスフリー化を、また、2002年は平鹿地域農業改良普及センターより依頼のあった「夏休み」のCVBフリー化を行い、現地農家へフリー株を供給した。一方、ウイロイドのフリー化はこれまで困難とされてきたが、最近になって低温処理後amantadine添加培地で茎頂培養を行うか(山下ら1997a)、超微小茎頂分裂組織培養法(Hosokawara2004)によってCSVdがフリー化できることが報告された。同様に、CChMVdも後者の方法でフリー化できることが示された(Hosokawa

ら2005)。

しかし、キクは培養変異しやすく、フリー化できても変異の問題が起きかねない。また、品種が多く、その変遷が早いキクにあつてはフリー株が作出できたときには主力品種ではなくなっていることもあり得る。従って、ウイルス・ウイロイドが蔓延していない品種であれば問題が生じる前に栽培株の中から優良株を選抜し、さらに遺伝子診断を行ってフリー株の選定を行い、これを親株として防虫温室等で維持・管理、増殖して現地に供給する体制が望ましい。こうした観点から、本研究で確立した診断技術は花き種苗センターのキク親株のウイルス・ウイロイドフリー検定に活用された。すなわち、1999年、2000年はそれぞれ120株、98株のTSWV検定を、2001年、2002年はそれぞれ64株、88株のCSVd、TSWVおよびCVB検定を、2005年は135株のCSVd検定を行った。現在、本県の花き生産では小ギクを重点的に振興を図っており、花き種苗センターと農業試験場で選定した品種を普及させていく計画がある。その際、CSVdの遺伝子診断法を花き種苗センターに技術移転し、CSVdフリー小ギクの供給体制の構築に活用される予定になっている。

最近、Chrysanthemum stem necrosis virusの国内初発生が確認されたように(松浦ら2007)、キクに感染するウイルス・ウイロイドの種類は増え続けると考えられる。今後も、新たなウイルス・ウイロイドの本県への侵入、発生に警戒する必要がある、遺伝子診断を活用して農家からの診断依頼に迅速に対応していきたい。

## 謝 辞

弘前大学教授佐野輝男博士にはCSVd感染キクの分譲ならびにウイロイドに関する数多くの助言を賜ると共にCChMVdに関し共同研究して頂き、同准教授千田峰生博士から遺伝子実験に関し協力を請うた。県立大学名誉教授松本 勤博士にはウイルス病全般にわたる指導を賜った。同教授井上正保博士には客員研究員として受け入れて頂き、施設利用の便宜を図って頂くと共に抗体検定法、透過型電子顕微鏡の操作方法を教授頂いた。同准教授藤 晋一博士には遺伝子診断、ウイルス病に関する情報提供、助言を賜り、同助教上田健治博士には分子生物学に関する最新情報を提供頂いた。前同嘱託鈴木雅子氏、阿部幸江氏にはシークエンス実験に協力頂いた。北海道大学助教中原健二博士ならびに全農営農・技術センター三野真布氏にはウイロイドの検出法に関する情報を提供頂いた。北海道立花・野菜技術センター木口忠彦氏には研究当初、プライマーの設計に関し協力頂いた。東京農業大学教授夏秋啓子博士にはCVB-Mを分譲頂いた。花き担当農業改良普及員各位ならびに前生物資源総合開発利用センター利部大和氏には現地調査に協力頂いた。特に、平鹿地域振興局小松貢一氏には実験室と現場をつなぐ道筋を

つけて頂き、その後も先導的な役割を担って頂いた。また、花き担当専門技術員には農業改良普及センターの要望等の取りまとめや中継ぎをして頂いた。花き種苗センター浅利幸男氏には植物の組織培養に関する指導を賜り、共同でキクの茎頂培養作業を行った。前農業試験場和田節子氏、小濱結希枝氏ならびに農林水産技術センター工藤真由美氏には実験を補助して頂いた。同山谷正治氏、深谷富夫氏、由利地域振興局富樫仁氏、前森吉公民館A. T. Thompson氏および編集委員各位には本論文を校閲頂いた。これらの諸氏に厚くお礼申し上げる。

### 引用文献

- 崔 海東・山本英樹・佐野輝男 2008. 日本のキク品種におけるキククロロティックモットルウィロイドの病徴. 日植病報74 (印刷中).
- Choi, S.K., Choi, J.K., Park, W.M. and Ryu, K.H. 1999. RT-PCR detection and identification of three species of cucumoviruses with a genus-specific single pair of primers. J. Virol. Methods 83: 67-73.
- De la Pena, M., Navarro, B. and Flores, R. 1999. Mapping the molecular determinant of pathogenicity in a hammerhead viroid: A tetraloop within the *in vivo* branched RNA conformation. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96: 9960-9965.
- Diener, T.O. and Lawson, R.H. 1973. Chrysanthemum stunt: a viroid disease. Virology 51: 94-101.
- Dimock, A.W., Geissinger, C.M. and Horst, R.K. 1971. Chlorotic mottle: A newly recognized disease of chrysanthemum. Phytopathology 61: 415-419.
- 藤 晋一・中前 均 1997. 愛知県に発生したトマト黄化えそウイルスの諸性質. 愛知農総試研報 29: 151-156.
- 藤 晋一・大石一史・中前 均 1998. イムノキャプチャーRT-PCRによるキクえそ病の診断. 関西病虫研報 40: 111-112.
- 古屋廣光・松本 勤 1994. 東北各県における病害発生の変遷 秋田県 野菜・花き. 日本植物病理学会東北部会編, 東北地方における作物病害研究の歩みと展望. 日本植物病理学会東北部会創立30周年記念誌刊行会, 鶴岡. 64-68.
- 花田 薫・鈴木陽一・亀谷満朗・柘原比呂志 1995. キク微斑ウイルスの英名をtomato aspermy virusとすることについて. 日植病報 61: 274-275.
- 平野哲司 1999. 管理の違いと病徴の発生様相. 農耕と園芸 54 (12): 134-136.
- 本田要八郎・津田新哉 1999. 最近問題となっているトマト黄化えそウイルスによる花き類の被害と防止対策. 農耕と園芸 54 (12): 122-126.
- Horst, R.K. 1975. Detection of latent infectious agent that protects against infection by chrysanthemum chlorotic mottle viroid. Phytopathology 65: 1000-1003.
- Horst, R.K. 1987. Chrysanthemum chlorotic mottle. In Diener, T.O. ed., The viroids. Plenum, New York. 291-295.
- Hosokawa, M., Matsushita, Y., Ohishi, K. and Yazawa, S. 2005. Elimination of Chrysanthemum chlorotic mottle viroid (CChMVd) recently detected in Japan by leaf-primordia free shoot apical meristem culture from infected cultivars. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 74: 386-391.
- Hosokawa, M., Otake, A., Ohishi, K., Ueda, E., Hayashi, T. and Yazawa, S. 2004. Elimination of chrysanthemum stunt viroid from an infected chrysanthemum cultivar by shoot regeneration from a leaf primordium-free shoot apical meristem dome attached to a root tip. Plant Cell Rep. 22: 859-863.
- 加藤彦彦・土井 誠 1998. 静岡県で発生したキクわい化ウィロイド (CSVd) の塩基配列とキク品種の病徴. 日植病報 64: 425.
- 加藤彦彦・牧野孝宏・亀谷満朗・花田 薫 1995. トマト黄化えそウイルス普通系統によるキクえそ病 (新称). 日植病報 61: 274.
- 勝部和則・川村武寛・渡辺愛美・佐野輝男 2003. 岩手県におけるキクわい化病の発生とウィロイドフリー親株の選抜利用による対策. 岩手農研セ研報 3: 1-12.
- 栗原則雄・茂木孝夫・柘原比呂志 1980. 群馬県におけるキクのウイルス感染状況. 関東東山病虫研報 27: 91-92.
- Levay, K. and Zavriev, S. 1991. Nucleotide sequence and gene organization of the 3'-terminal region of chrysanthemum virus B genomic RNA. J. Gen. Virol. 72: 2333-2337.
- 松浦昌平・石倉 聡・梶原真二 2003. キク親株におけるトマト黄化えそウイルス (TSWV) の局をおよび感染親株から挿し穂への伝染率. 日植病報 69: 343.
- 松浦昌平・久保田健嗣・奥田 充 2007. Chrysanthemum stem necrosis virus (CSNV)によるキク茎えそ病 (新称). 日植病報 73: 68.
- 松浦昌平・重本直樹 2005. RT-LAMP法による数種農作物からのトマト黄化えそウイルス (TSWV) の検出. 日植病報 71: 235.
- Navarro, B. and Flores, R. 1997. Chrysanthemum chlorotic mottle viroid: Unusual structural properties of a subgroup of self-cleaving viroids with hammerhead ribozymes. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94: 11262-11267.
- 大木 理 1997. 植物ウイルス同定のテクニックとデザイン. 日本植物防疫協会, 東京. 1-184.
- Romaine, C.P. and Horst, R.K. 1975. Viroid etiology of chrysanthemum chlorotic mottle disease. Virology 64:

- 86-95.
- 塩飽邦子・山元義久・岩井豊通 1996. キクわい化ウイルス (Chrysanthemum Stunt Viroid) 遺伝子のクローニングと全塩基配列. 兵庫農技研報 (農業) 44: 1-4.
- Suastika, G., Kurihara, J., Natsuaki, K.T. and Tomaru, K. 1997. A strain of chrysanthemum B carlavirus causing flower colour breaking on *Gymnaster savatieri* (Makino) Kitamura. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 63: 1-7.
- 栃原比呂志 1970. キク微斑ウイルス. 日埴病報 36: 1-10.
- 栃原比呂志 1993. キク. 土崎常男ほか編, 原色作物ウイルス事典. 全国農村教育協会, 東京. 504-509.
- Tsuda, S., Fujisawa, I., Hanada, K., Hidaka, S., Higo, K., Kameya-Iwaki, M. and Tomaru, K. 1994. Detection of Tomato spotted wilt virus S RNA in individual thrips by reverse transcription and polymerase chain reaction. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 60: 99-103.
- Weekes, R.J., Mumford, R.A., Barker, I. and Wood, K.R. 1996. Diagnosis of Tosspoviruses by reverse-transcription polymerase chain reaction. Acta Hort. 431: 159-166.
- 山口 隆 1979a. キクの無病苗生産に関する諸問題[1]. 農業および園芸 54: 57-60.
- 山口 隆 1979b. キクの無病苗生産に関する諸問題[2]. 農業および園芸 54: 331-335.
- 山口 隆 1979c. キクの無病苗生産に関する諸問題[3]. 農業および園芸 54: 431-436.
- 山本英樹・藤 晋一 2000. 秋田県におけるトマト黄化えそウイルスの発生. 北日本病虫研報 51: 104-106.
- 山本英樹・木口忠彦・大屋俊英 2001a. 秋田県におけるキクわい化病の発生状況. 北日本病虫研報 52: 82-84.
- 山本英樹・木口忠彦・大屋俊英 2001b. RT-PCR法によるキクBウイルスの検出. 北日本病虫研報 52: 85-86.
- Yamamoto, H. and Sano, T. 2005. Occurrence of *Chrysanthemum chlorotic mottle viroid* in Japan. J. Gen. Plant Pathol. 71: 156-157.
- Yamamoto, H. and Sano, T. 2006. An epidemiological survey of *Chrysanthemum chlorotic mottle viroid* in Akita Prefecture as a model region in Japan. J. Gen. Plant Pathol. 72: 387-390.
- 山本英樹・千田峰生 2005. 秋田県のキクにおけるキク微斑ウイルスの発生状況. 北日本病虫研報 56: 79-80.
- 山下裕子・平田行正・畑谷達児・佐野輝男・福井博一・四方英四郎 1997a. スプレーギクのウイルスフリー苗生産に関する研究 (第2報) キクわい化病無毒化の検討. 園学雑 66 別1: 526-527.
- 山下裕子・平田行正・本田孝志・畑谷達治・佐野輝男・福井博一・四方英四郎 1997b. スプレーギクのウイルスフリー苗生産に関する研究 (第3報) ウィロイド濃度がスプレーギクの生育に及ぼす影響. 園学雑 66 別2: 564-565.

### Abstract

#### Field Surveys of Chrysanthemum-infecting Viruses and Viroids in Akita Prefecture, Japan

Hideki YAMAMOTO

( Agricultural Experiment Station, Akita Prefectural Agriculture, Forestry and Fisheries Research Center )

A study to check for virus and viroid was conducted on a total of 709 chrysanthemums (*Dendranthema grandiflorum*) from chrysanthemum fields in Akita Prefecture, Japan during the 1996-2005 growing seasons. This revealed the epidemic characteristics of five chrysanthemum-infecting viruses and viroids in the prefecture as follows. In 1996, an RT-PCR assay identified *Chrysanthemum stunt viroid* (CSVd) as the causal agent in chrysanthemums with stunting symptoms, which have been a problem from before. After constructing nested PCR primers to make the CSVd assay more sensitive, an outbreak monitoring of the viroid was conducted. It revealed that CSVd occurs continuously and is distributed throughout chrysanthemum fields, and infected plants were detected in about 60% of tested cultivars. It is believed that the viroid is more deleterious than the other four viruses and viroid toward producing chrysanthemums. An RT-PCR assay was designed to detect part of the gene for the coat protein of *Chrysanthemum virus B* (CVB), and the virus was detected in 1998. Though CVB causes almost no symptoms, it cannot be ignored, as this assay revealed that approximately 20% of chrysanthemum cultivars harbor the virus. *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), whose outbreak had received attention in the prefecture, was detected in chrysanthemum plants in 1999 and occurred considerably in the following two years. However, occurrence of TSWV has decreased and has not spread since that time. At present, TSWV occurs only occasionally, but because TSWV is difficult to detect, there is a possibility that it is being overlooked. Since *Tomato aspermy virus* (TAV) was isolated from a chrysanthemum cultivar in 2003, a primer pair was designed for an RT-PCR to detect the virus. A survey of TAV revealed that the virus occurs in only a few cultivars and districts, which differs from cases of the other four viruses and viroids. Although Japan had long been alarmed about the invasion of *Chrysanthemum chlorotic mottle viroid* (CChMVd) from overseas, the viroid was first detected in the prefecture in 2003. A field survey of the viroid in various chrysanthemums revealed that CChMVd had invaded by 2002 and approximately 20% of cultivars harbored CChMVd, including more symptomatic type than nonsymptomatic. Large-flowered cultivars were less frequently infected than small-flowered and spray-type ones. CChMVd-infected chrysanthemums are increasing and have spread throughout major chrysanthemum-producing districts. Hereafter, it must continue to take great precaution against occurrence of new virus and viroid infecting chrysanthemum in the prefecture.

Key Words: Chrysanthemum, *Chrysanthemum chlorotic mottle viroid*, *Chrysanthemum stunt viroid*, *Chrysanthemum virus B*, Field survey, RT-PCR, *Tomato aspermy virus*, *Tomato spotted wilt virus*

## 研 究 報 告 第48号

---

平成20年3月発行

編集兼発行 秋田県農林水産技術センター農業試験場  
代 表 者 加 賀 屋 博 行  
郵便番号 010-1231  
秋田県秋田市雄和相川字源八沢34-1  
電話番号 018-(881)-3330  
F A X 018-(881)-3301

---