蕾受粉および温湯処理によるアジサイ種間雑種の自家不和合性打破

巢山拓郎^{a*}・谷川孝弘・山田明日香^b・松野孝敏・國武利浩・佐伯一直^c・中村知佐子

福岡県農業総合試験場 818-8549 福岡県筑紫野市大字吉木 587

Overcoming Self-incompatibility by Bud Pollination and Hot-water Treatment in Interspecific Hybrids of *Hydrangea*

Takuro Suyama^{a*}, Takahiro Tanigawa, Asuka Yamada^b, Takatoshi Matsuno, Toshihiro Kunitake, Kazunao Saeki^c and Chisako Nakamura

Fukuoka Agricultural Research Center, Chikushino, Fukuoka 818-8549

Abstract

Some *Hydrangea macrophylla* cultivars and interspecific *H. macrophylla* × *H. serrata* hybrids are self-incompatible, making it difficult to breed them for recessive characters. To overcome self-incompatibility, pollinating at different flowering stages and hot-water treatments of the inflorescences were conducted using ‘03NL3’, an interspecific *H. macrophylla* × *H. serrata* hybrid. Pollen tube growth was examined by fluorescence microscopy. At 3 days after pollination, the pollen tubes in flowers pollinated at 2 and 4 days after anthesis failed to reach the ovules. However, the pollen tubes were longer in styles pollinated 1 day before anthesis, and some had reached the ovules. For hot-water treatments, inflorescences were immersed in hot water (45°C) for 1–5 min before self-pollination. The 3- to 4-min treatments promoted pollen tube growth. Selfed ovules were obtained by bud pollination, hot-water treatment (45°C water for 4 min) of the inflorescences, and the combination of both treatments. Fertilized ovules were cultured in 1/2 MS medium and then grown in a greenhouse. At least half of these plants flowered within 2 years after self-pollination. The combination of bud pollination and hot-water treatment yielded the highest rate of selfed individuals.

Key Words : pollen tube growth, selfed individual, self-pollination

キーワード : 自家受粉, 自殖個体, 花粉管伸長

緒 言

ハイドラングシアは、我が国において重要な鉢物栽培品目のひとつであり、民間育種家や種苗会社などにより、多数の品種が作出されている（末留，1996）。近年、観賞価値の高い八重咲きや覆輪および手まり咲きの品種育成が盛んに行われている（清水，2002；巢山ら，2009）。ハイドラングシアの八重咲きは遺伝的に劣性形質であり（巢山ら，2008a），八重咲き品種のほとんどが雄ずいを持たない。従って，八重咲き品種を育成するには，八重咲き品種と一重咲き品種の交雑をしなければならないが，雑種第1代では八重咲きは発現しない。八重咲き個体を獲得するためには，八重咲き品種由来の雑種第1代の自家受粉などを行い，雑種第2

代を得る必要がある（巢山ら，2012）。また，花序の手まり咲きについても，単一の遺伝子に制御されたメンデル遺伝を示す劣性形質であることが明らかにされている（Uemachi・Okumura，2012）。従って，額咲き品種と手まり咲き品種の交雑により手まり咲き品種を育成するには，八重咲き品種と同様に，雑種第2代を得る必要がある。

ハイドラングシアの自家和合性について，工藤・新見（1999）は *Hydrangea macrophylla* (Thunb.) Ser. (和名：ガクアジサイ) ‘ブルーダイヤモンド’などの品種を自家受粉することにより種子が得られ，自家和合性を示したと報告している。一方，Reed（2005）は，*H. macrophylla* の種内交雑系統や，この *H. macrophylla* と *H. serrata* (Thunb.) Ser. (和名：ヤマアジサイ) との種間雑種系統は自家不和合性を示したと報告している。ハイドラングシアにおいても，チューリップ（志佐ら，1955）と同様に，同一種内で自家和合性系統と自家不和合性系統が混在することが明らかにされている。このハイドラングシアの一部の系統が示す自家不和合性は，八重咲きなど優良劣性形質を持つ品種育成を行う際の障壁となっている。従って，自家不和合性打破技術を確立することは，優良劣性形質を持つ品種の効率的な育成および遺伝

2013年2月7日 受付. 2013年6月4日 受理.

本研究の一部は園芸学会平成19年度秋季大会で発表した.

* Corresponding author. E-mail: t-suyama@farc.pref.fukuoka.jp

^a 現在：福岡県農業総合試験場果樹苗木分場

福岡県久留米市田主丸町石垣 16-3

^b 現在：福岡県飯塚農林事務所田川普及指導センター

^c 現在：福岡県筑後農林事務所八女普及指導センター

様式解明に寄与できると考えられる。

Reed (2005) は、ハイドランジアの自家不和合性の要因について、他家受粉では花粉管が受粉後 3 日以内に胚珠に到達するのに対し、自家受粉では花粉管が花柱の途中で伸長を停止し、胚珠に到達できないために受精しないと報告している。

花き類の自家不和合性を打破する技術として、ペチュニアでは開花約 5 日前の蕾受粉が有効である (福本ら, 1996) こと、ユリでは開花 6 ~ 9 日後の老花受粉が有効である (Ascher・Peloquin, 1966) ことが報告されている。また、50°C の温湯浸漬処理がマツヨイグサ、ユリおよびチューリップの自家不和合性打破に有効であると報告されている (Hecht, 1964; Hopper ら, 1967; 岡崎・村上, 1992)。

本研究では、ハイドランジアの自家不和合性の要因である花柱内での花粉管の伸長抑制を打破するために、両性花の異なる開花段階における受粉および受粉前の花序の温湯処理を行い、自殖個体の獲得を試みた。

材料および方法

1. 蕾・老花受粉による自家不和合性の打破 (実験 1)

H. serrata ‘七変化’ と *H. macrophylla* ‘ラブユーキッス’ の種間雑種である自家不和合性系統 ‘03NL3’ を供試し、他家受粉の花粉親として *H. macrophylla* ‘ブルーダイヤモンド’ と *H. serrata* ‘七変化’ の種間雑種系統 ‘03BN1’ を供試した。福岡県農業総合試験場内のミストハウスにおいて、2006 年 4 月 25 日に挿し木を行い、5 月 30 日に 9 cm 径ポリポットに鉢上げをした。巢山ら (2010) の手法に準じ、花成誘導のための 15°C の涼温処理を 7 月 22 日 ~ 9 月 19 日まで 60 日間行った後に、休眠打破のための 5°C の低温処理を 9 月 20 日 ~ 11 月 10 日まで 52 日間実施した。11 月 11 日に 12 cm 径プラスチックポットに鉢替え後、夜間最低気温 13°C に加温したガラスハウスで管理した。2007 年 1 月 4 日 ~ 3 月 30 日まで、茨城県つくば市の農研機構果樹研究所にある昼夜温 20°C 一定の自然光型ファイトロン内で管理した。

‘03NL3’ の開花株を用い、2007 年 1 月 16 ~ 23 日にかけて、蕾受粉および老花受粉を行った。蕾受粉は翌日開花すると推測される両性花の蕾の花卉および葯をピンセットで除去後、同一株の別の花序にある開花当日の両性花の花粉を用いて自家受粉した。老花受粉は開花前日に除雄後、開花 2 日 (花卉落下開始期) もしくは 4 日後に、蕾受粉と同様に自家受粉した。また、対照区として開花当日に自家受粉を実施した。併せて、開花当日の ‘03NL3’ の両性花に ‘03BN1’ の花粉を受粉する他家受粉を行った。いずれの処理区も 10 個ずつ処理を行い、花序全体を三角コーナ用不織布水切りネットで二重被覆した。

受粉 3 日後の両性花を採取し、アスピレーターによる減圧下で FAA [70% エタノール : ホルマリン : 酢酸 = 18 : 1 : 1 (v/v)] 液に約 4 時間浸漬した後、FAA 液の交換を行い引き続

き室温下で一晩浸漬して固定した。蛍光顕微鏡観察用プレパラートを作成するに当たり、固定した両性花を流水で 1 時間水洗した。次に 1 N 水酸化ナトリウム水溶液に 5 時間浸漬し、組織を軟化させた後、流水で 1 時間水洗した。実体顕微鏡下で花托を除去して、子房を心皮ごと (約 3 個) に分割した後、アニリンブルー溶液 (2% リン酸三カリウム溶液にアニリンブルーを 0.01% 溶解) に 16 時間浸漬し、蛍光染色を行った。染色した雌ずいすをスライドガラスの上に並べ、カバーガラスで押しつぶし、50% グリセリンで封入した。

作成したプレパラートを落射照明装置 (励起法: U 励起, AX, OLYMPUS) で蛍光させ、顕微鏡 (AX70, OLYMPUS) で花柱および子房内での花粉管伸長を観察した。各処理区とも 5 個の両性花を供試し、計 15 個の心皮についてプレパラートを作成して、花柱および子房内で最も伸長している花粉管の長さをマイクロメータ (OLYMPUS) で測定した。

2. 花序の温湯処理による自家不和合性の打破 (実験 2)

材料および栽培方法は実験 1 と同様とした。‘03NL3’ の開花株を用い、2007 年 1 月 22 ~ 26 日にかけて、花序の温湯処理を行った。温湯処理前日の夕方、既に開花している両性花をすべて除去した。処理当日、花序全体を恒温槽内の 50°C の温湯に 1, 3, 5 分間、あるいは 45°C の温湯に 1, 2, 3, 4, 5 分間浸漬した。温湯に浸漬してから約 30 分後に、開花当日の両性花の柱頭表面が乾いていることを確認し、温湯処理をしていない花序の開花当日の両性花の花粉を用いて自家受粉を行った。対照区として、温湯処理を行わない花序について、開花当日の両性花の自家受粉を行った。いずれの処理区も 10 個ずつ処理を行い、花序全体を不織布水切りネットで二重被覆した。花粉管の染色および観察は実験 1 と同様に行った。

3. 自家不和合性打破処理による自殖個体の獲得 (実験 3)

‘03NL3’ および *H. macrophylla* ‘城ヶ崎’ と種間雑種系統 ‘03BN4’ (*H. macrophylla* ‘ブルーダイヤモンド’ × *H. serrata* ‘七変化’) の交雑により得られた自家不和合性系統 ‘05JBN4’ を供試した。福岡県農業総合試験場内のミストハウスにおいて、2006 年 4 月 25 日に挿し木を行った。5 月 30 日に 9 cm 径ポリポットに鉢上げした後、2007 年 4 月 10 日に 12 cm 径プラスチックポットに鉢替えをした。2007 年 5 ~ 6 月に開花するまでのすべての栽培期間中、温度成り行きのガラスハウス内で管理を行った。

2007 年 5 月 29 ~ 31 日にかけて、‘03NL3’ の開花株を用い、実験 1 および 2 と同様に、開花前日の蕾受粉および 45°C の温湯に花序を 4 分間浸漬した後に開花当日の花の自家受粉を行った。併せて、45°C の温湯に花序を 4 分間浸漬した後に開花前日の蕾受粉を行い (以下、蕾受粉 + 温湯処理)、対照区として温湯処理をしていない開花当日の花の自家受粉を行った。各処理区 20 ~ 30 個の両性花に自家受粉を行い、交雑 60 日後に、朔果内の自殖胚を含有する肥大した胚珠 (以下、自殖胚珠) 数および自殖胚珠を含有する朔果の交雑花数に対する割合 (以下、自殖胚珠含有朔果率)

を調査した. 自殖胚珠の培養を巢山ら (2008b) の手法に準じて行い, 培養 60 日後に発芽した自殖胚珠数を調査した. 草丈が 1 cm 以上に成長した自殖個体を 12 月 19 日に, パーミキュライトを充填した 6 cm 径ポリポットに鉢上げし, 25°C, 16 時間日長, 照度 3,500 lx (植物育成用蛍光灯) の順化室内で養成した. 草丈が 10 cm 程度になった 2008 年 3 月 20 日に, pH 調整ピートモス: 田土: 腐葉土: パーライト = 3:3:3:1 (v/v/v/v) の培養土を充填した 9 cm 径ポリポットに鉢替えし, 夜間最低気温 15°C に加温したガラスハウス内で管理した. 4 月 30 日に暖房を終了した後, 温度成り行きのガラスハウス内で栽培を行った. 7 月 25 日に 12 cm 径プラスチックポットに鉢替えを行い, 2009 年 5 ~ 6 月の開花期まで引き続き温度成り行きのガラスハウス内で管理した.

‘05JBN4’ については, 2007 年 6 月 7 日に, 蕾受粉 + 温湯処理を 16 個の両性花に行い, 対照区として温湯処理をしていない花序の開花当日の花の自家受粉を 10 個の両性花に行った. ‘03NL3’ と同様に, 交雑 60 日後に自殖胚珠含有朔果率および朔果内の自殖胚珠数を調査した. 併せて, 自殖胚珠の培養を行い, 培養 60 日後に発芽した自殖胚珠数を調査した. 以後, 6 cm 径ポリポットに鉢上げした自殖個体を, 9 cm 径ポリポットおよび 12 cm 径プラスチックポットに鉢替えする培養土として, pH 未調整ピートモス: 赤玉土: 腐葉土: パーライト = 5:3:1:1 (v/v/v/v) を用いた以外は, ‘03NL3’ と同様に栽培管理を行った.

結 果

1. 蕾・老花受粉による自家不和合性の打破

開花当日受粉区 (対照区) の花粉管長は 0.78 mm で, 花粉管は花柱の中央部で伸長を停止していた (第 1 表, 第 1 図). 一方, 蕾受粉区の花 pollen 管長は 1.49 mm であり, 対照区の約 2 倍の伸長を示した. また, 供試した 5 個の両性花のうち 2 個で, 数本の花 pollen 管が胚珠へ到達した. 花粉管が胚珠に到達した両性花の割合 (以下, 胚珠到達花率) は 40 % であった. 一方, 開花 2 日後受粉区の花 pollen 管長は 1.06 mm であり, 対照区と有意差は認められなかった. 開花 4 日後受粉区の花 pollen 管長は 1.16 mm であり, 対照区と比較して花粉管の伸長は促進されたものの, 花粉管の胚珠への到達は観察されなかった.

‘03BN1’ の花粉を受粉した他家受粉区の花 pollen 管長は 2.63 mm であり, すべての処理区の中で最も長かった (第 1 表, 第 1 図). 供試した 5 個の両性花すべてにおいて胚珠に到達した花粉管が多数観察され, 胚珠到達花率は 100 % であった.

2. 花序の温湯処理による自家不和合性の打破

花序を 50°C の温湯で 3 分または 5 分間処理した区では, 処理後 1 週間以内に花序全体が萎れ, 枯死した (データ略). 50°C の温湯で 1 分間処理した区では, 萎れや枯死症状は認められなかったが, 処理 10 日後より落花および落

第 1 表 ‘03NL3’ の自家受粉における蕾および老花受粉が花粉管伸長に及ぼす影響

交雑方法	処理区	花粉管長 (mm)	花柱長 ^z (mm)	胚珠到達花率 ^y (%)
自家受粉	開花前日 (蕾受粉)	1.49 b ^x	1.58 b	40
	開花 2 日後 (老花受粉)	1.06 cd	1.76 b	0
	開花 4 日後 (老花受粉)	1.16 bc	2.15 a	0
	開花当日 (対照区)	0.78 d	1.80 b	0
他家受粉 ^w	開花当日	2.63 a	1.81 b	100

‘03NL3’: *H. serrata* ‘七変化’ と *H. macrophylla* ‘ラブユーキッス’ の交雑により得られた自家不和合性系統

^z 柱頭から子房内最上部にある胚珠までの直線距離

^y 花粉管が胚珠に到達した両性花の割合

^x 異なるアルファベット間には 5% 水準で有意差あり (Tukey 法)

^w *H. macrophylla* ‘ブルーダイヤモンド’ と *H. serrata* ‘七変化’ の交雑により得られた ‘03BN1’ を花粉親として供試

第 2 表 ‘03NL3’ に対する花序の温湯 (45°C) 処理時間の違いが自家受粉後の花粉管伸長に及ぼす影響

処理時間	花粉管長 (mm)	花柱長 ^z (mm)	胚珠到達花率 ^y (%)
1 分間	1.18 ab ^x	1.67 ab	0
2 分間	0.99 bc	1.53 b	0
3 分間	1.38 a	1.61 ab	20
4 分間	1.53 a	1.52 b	40
5 分間	0.62 c	1.57 ab	0
対照区 (0 分間)	0.78 bc	1.80 a	0

^z 柱頭から子房内最上部にある胚珠までの直線距離

^y 花粉管が胚珠に到達した両性花の割合

^x 異なるアルファベット間には 5% 水準で有意差あり (Tukey 法)

蕾が発生した.

一方, 45°C の温湯で処理した区では, いずれも萎れや落花は発生しなかった. 1 分または 2 分間処理区の花 pollen 管長は 1.18 mm および 0.99 mm であり, 対照区の 0.78 mm と比較して有意な差は認められなかった (第 2 表). これに対して 3 分または 4 分間処理区の花 pollen 管長はそれぞれ 1.38 mm および 1.53 mm であり, 対照区と比較して有意に長く花粉管が伸長した. 一部の両性花では数本の花 pollen 管が胚珠に到達し, 胚珠到達花率は 3 分間処理区が 20% であり, 4 分間処理区が 40% であった (第 2 表, 第 1 図). 最も処理時間の長い 5 分間処理区では, 花柱内に侵入した花粉管はわずかであり, 花粉管長は 0.62 mm で対照区と有意な差は認められなかった.

3. 自家不和合性打破処理による自殖個体の獲得

‘03NL3’ の開花当日受粉区 (対照区) の自殖胚珠含有朔果率は 0% であった (第 3 表). 一方, 蕾受粉区の自殖胚珠

第1図 '03NL3' に対する蕾受粉および花序の温湯処理が花柱内における花粉管伸長に及ぼす影響

第3表 '03NL3' および '05JBN4' に対する蕾受粉, 花序の温湯処理, 蕾受粉および温湯処理の組み合わせ処理が自殖胚珠の獲得数および発芽に及ぼす影響

供試系統	処理区	交雑花数	自殖胚珠含有率 ^z (%)	朔果1果当たりの自殖胚珠数 ^y	培養胚珠数	発芽胚珠数 ^x
'03NL3'	蕾受粉	30	47	4.4 ± 3.8 ^y b ^u	61	8
	温湯処理 (45°C, 4分間)	22	91	3.5 ± 2.2 b	70	16
	蕾受粉 + 温湯処理	20	85	11.7 ± 8.1 a	199	77
	対照区 ^w	20	0	—	—	—
'05JBN4'	蕾受粉 + 温湯処理	16	100	9.2 ± 3.3	147	95
	対照区 ^w	10	0	—	—	—

'05JBN4' : *H. macrophylla* '城ヶ崎' と種間雑種 '03BN4' (*H. macrophylla* 'ブルーダイヤモンド' × *H. serrata* '七変化') の交雑により得られた自家不和合性系統

^z 自殖胚珠を含有している朔果/交雑花数 × 100

^y 自殖胚珠を含有している朔果1果当たりの胚珠数

^x 交雑60日後の自殖胚珠を1/2 MS培地で培養し, 培養開始60日後に発芽数を調査

^w 温湯処理を行っていない開花当日の両性花を自家受粉

^v 平均値 ± 標準誤差

^u 異なるアルファベット間には5%水準で有意差あり (Tukey法)

第4表 自家不和合性打破処理により獲得した '03NL3' および '05JBN4' の自殖個体の開花

供試系統	処理区	自殖個体数 ^z	開花個体数	開花期 ^y (年/月/日)
'03NL3'	蕾受粉	3	1	2009/5/29
	温湯処理 (45°C, 4分間)	7	3	2009/5/22 ~ 6/3
	蕾受粉 + 温湯処理	40	19	2009/5/25 ~ 6/8
'05JBN4'	蕾受粉 + 温湯処理	59	38	2009/5/13 ~ 5/28

^z 草丈が1 cm以上に成長した自殖個体数

^y 各個体の最初に開花した花序の装飾花が完全に着色した日を開花日とした

含有率率は47%であり, 自殖胚珠を含有している朔果1果当たりの胚珠数は4.4個であった. 温湯処理区の自殖胚珠含有率率は91%であり, 朔果1果当たりの自殖胚珠数は3.5個であった. 蕾受粉 + 温湯処理区の自殖胚珠含有率率は85%であり, 朔果1果当たりの自殖胚珠数は11.7個

と処理区の中で最も多かった. 培養開始60日後の自殖胚珠の発芽数は, 蕾受粉区で8個, 温湯処理区で16個, 蕾受粉 + 温湯処理区で77個であった. 但し, 発芽した胚珠の一部は途中で生育を停止した後に枯死するものもあり, 草丈が1 cm以上に成長した自殖個体数は, 蕾受粉区で3個体, 温

第2図 自家不和合性打破処理により獲得した‘05JBN4’の八重咲き自殖個体

湯処理区で7個体、蕾受粉+温湯処理区で40個体であった(第4表)。これらの自家不和合性打破処理により得られた自殖個体50個体のうち23個体が2009年5月22日～6月8日にかけて開花した。

‘05JBN4’の開花当日受粉区(対照区)の自殖胚珠含有朔果率は0%であった(第3表)。一方、蕾受粉+温湯処理区の自殖胚珠含有朔果率は100%であり、朔果1果当たりの自殖胚珠数は9.2個であった。培養開始60日後の自殖胚珠の発芽数は95個であったが、‘03NL3’と同様に発芽した胚珠の一部は途中で生育を停止した後に枯死した。従って、草丈が1cm以上に成長した自殖個体数は59個体であった(第4表)。これら59個体のうち38個体が2009年5月13～28日にかけて開花した(第2図)。

考 察

Reed (2005) は *H. macrophylla* の種内交雑および *H. macrophylla* と *H. serrata* の種間雑種と *H. macrophylla* の交雑において、開花1～4日後の両性花に他家受粉した花粉は80%以上の発芽率を示し、花粉管長は開花当日受粉区と同程度であったと報告している。一方、開花5～6日後の他家受粉では、花粉の発芽率は60%未満で花粉管長は開花当日受粉区の1/2以下であったと報告している。この結果は、両性花の柱頭における花粉の受容能力が開花4日後まで高く、雌ずいを受精能力を有していることを示している。従って、本研究では、*H. serrata* と *H. macrophylla* の種間雑種で自家不和合性を示す‘03NL3’を用い、開花2日または4日後の老花の段階で自家受粉を行った。開花2日後では、

対照区の開花当日受粉区と花粉管長に有意差は認められなかった。一方、開花4日後では花粉管の伸長は促進されたものの、花粉管の胚珠への到達は全く観察されなかった。但し、開花5～6日後の老花の段階における他家受粉でも一定の花粉管伸長は観察されている(Reed, 2005)ことから、今後は開花5～6日後の老花受粉が自家不和合性打破に有効かどうかについても、検討が必要と思われる。

Reed (2005) は、開花前日の蕾の段階における2組の交雑組み合わせの他家受粉を行ったところ、花粉管長は開花当日受粉区の1/2程度もしくは全く伸長しなかったと報告している。この結果は、蕾の段階の柱頭における花粉の受容能力が低いことを示しており、雌ずいの受精能力も同様に低いと考えられた。しかし、本実験において開花前日の蕾の段階で自家受粉を行ったところ、開花当日受粉区に比べ花粉管長は約2倍になった。加えて、処理花の40%で花粉管の胚珠への到達が観察され、蕾の段階の柱頭における花粉の受容能力は高く、かつ雌ずいに受精能力があることが示された。開花前日の蕾の柱頭における花粉の受容能力(雌ずいの受精能力)に関するReedと本実験結果の相違は、自家不和合性に品種間差異がある(工藤・新見, 1999; Reed, 2000, 2005) のと同様に、品種間差異によるものであると考えられる。

受粉前の50℃の温湯処理がマツヨイグサ、ユリオビチュリップの自家不和合性打破に有効であると報告されている(Hecht, 1964; Hopper ら, 1967; 岡崎・村上, 1992)。しかし今回、ハイドランジアの花序を50℃の温湯で1分、3分または5分間処理したが、いずれも枯死あるいは落花した。これらの結果から、50℃での温湯処理はハイドランジアに不適であることが明らかになった。この50℃の温湯処理は、ユリオビチュリップでは柱頭のみ、マツヨイグサでは柱頭と花柱の上部のみに実施されている。一方、ハイドランジアの両性花は花径が1cm未満と極めて小さいため、柱頭、花柱および子房を含めた両性花全体に実施せざるを得なかった。ハイドランジアにおいても柱頭のみを処理することが可能ならば、今回と異なる結果が得られるかもしれない。

45℃の温湯処理は処理時間に関係なく、枯死や落花などの症状は全く認められなかった。花序全体を1, 2分および5分間浸漬する処理では、花粉管の伸長促進効果はなかった。一方、花序全体を3, 4分間浸漬処理することにより、花柱内での花粉管伸長が促進され、処理花の20, 40%で花粉管が胚珠に到達した。配偶体型の自家不和合性を示すナス科のペチュニアやタバコなどでは、リボスクレアーゼが自家不和合性に関与することが明らかにされている(Huang ら, 1994; McClure ら, 1990)。また、同じ配偶体型の自家不和合性を示すユリへの高温処理が自家不和合性を打破する要因のひとつとして、花柱の細胞崩壊が考えられている(Hopper ら, 1967)。加えて、孢子体型の自家不和合性を示すアブラナ科のナタネに高温処理を行うと、雌ずいの乳頭

細胞の細胞膜に異常が発生し、自家不和合性が打破されることが報告されている (Okazaki・Hinata, 1987). これらのことから、配偶体型の自家不和合性植物であるとされているハイドランジア (Reed, 2005) において、本研究の3, 4分間の温湯処理は自家不和合性に関与するタンパク質の働きを抑制したのではないかと考えられる。花粉管伸長促進効果のなかった1, 2分間処理は、不和合性に関与するタンパク質の抑制効果が弱く、逆に5分間処理は不和合性に関与するタンパク質以外の受精に必要なタンパク質の働きも抑制した可能性がある。

蕾受粉と温湯処理を組み合わせることにより、それぞれの単独処理よりも蒴果内の自殖胚珠数は多くなった。ニホンナシでは、自家不和合性が弱い蕾の段階において、自家不和合性に関与するタンパク質の生成量が少ないことが明らかにされている (Hiratsuka ら, 1986)。従って、本研究においても、開花前日の蕾では自家不和合性に関与するタンパク質の生成量が開花当日より少なかった可能性がある。この開花当日よりも量が少ない自家不和合性に関与するタンパク質の働きを温湯処理が抑制したことにより、相乗効果が得られたのではないかと考えられる。

蕾受粉、温湯処理の単独処理および組み合わせ処理により得られた自殖個体は、受粉から約2年後に開花した。これらの結果から、蕾受粉および温湯処理が *H. macrophylla* と *H. serrata* の雑種系統の自家不和合性打破に有効であることが明らかになった。今後、これらの自家不和合性打破処理が遺伝様式の解明や劣性形質を目標とする育種の効率化に寄与するものと考えられる。

摘 要

H. macrophylla や *H. macrophylla* と *H. serrata* の種間雑種には自家不和合性を示す系統があり、八重咲きなど劣性形質を目標とする育種の障壁となっている。そこで *H. macrophylla* と *H. serrata* の種間雑種系統 '03NL3' を供試し、異なる開花段階における受粉処理や花序の温湯処理を行い、自家不和合性を打破する手法を検討した。開花2および4日後の両性花の自家受粉を行った後、蛍光顕微鏡を用いて、受粉3日後の花柱内における花粉管伸長を観察した。開花当日受粉区と比較して、開花2日後の受粉では花粉管の伸長促進効果はなかった。開花4日後受粉では花粉管は有意に伸長したものの、胚珠に到達した花粉管は全くなかった。一方、開花前日の蕾受粉では、開花当日受粉区と比較して、花粉管は約2倍伸長し、花粉管の一部は胚珠に到達した。また、花序全体を45°Cの温湯に浸漬する処理では、3分または4分間処理において花粉管伸長は促進され、花粉管の一部は胚珠に到達した。'03NL3'の蕾受粉、花序の温湯処理(45°C, 4分間)および蕾受粉と温湯処理(45°C, 4分間)の組み合わせ処理により得られた交雑60日後の自殖胚珠を1/2MS培地で培養した。得られた自殖個体を施設内で管理したところ、約半数の個体が交雑2年後に開花した。

自殖個体の獲得率は、蕾受粉と温湯処理の組み合わせ処理区で最も高かった。

謝 辞 本研究を行うに当たり、ご指導、ご助言およびご協力を頂きました(独)農業・食品産業技術総合研究機構花き研究所の大宮あけみ博士、小野崎 隆博士、八木雅史博士ならびに研究所の皆様、果樹研究所の佐藤義彦様に心より感謝致します。

引用文献

- Ascher, P. D. and S. J. Peloquin. 1966. Effect of floral aging of the growth of compatible and incompatible pollen tubes in *LiLium Longiflorum*. Amer. J. Bot. 53: 99-102.
- 福本修一・青木千佳・服部一三. 1996. ペチュニアの蕾受粉における花粉管の挙動観察と、自家不和合性打破の試み. 育学雑. 46 (別2): 252.
- Hecht, A. 1964. Partial inactivation of incompatibility substance in the stigmas and styles of *Oenothera*. p. 237-243. In: H. F. Linskens (ed). Pollen physiology and fertilization. North-Holland Publ. Comp., Amsterdam.
- Hiratsuka, S., K. Ichimura, E. Takahashi and N. Hirata. 1986. Analysis of proteins in developing style and ovary with reference to self-incompatibility of Japanese pear. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 55: 145-152.
- Hopper, J. E., P. D. Ascher and S. J. Peloquin. 1967. Inactivation of self-incompatibility following temperature pretreatments of styles in *LiLium Longiflorum*. Euphytica 16: 215-220.
- Huang, S., H. S. Lee, B. Karunanandaa and T. Kao. 1994. Ribonuclease activity of *Petunia inflata* S proteins is essential for rejection of self-pollen. Plant Cell 6: 1021-1028.
- 工藤暢宏・新見芳二. 1999. セイヨウアジサイとアメリカノリノキとの種間雑種の獲得に関する研究. 園学雑. 68: 428-439.
- McClure, B. A., J. E. Gray, M. A. Anderson and A. E. Clarke. 1990. Self-incompatibility in *Nicotiana glauca* involves degradation of pollen rRNA. Nature 347: 757-760.
- Okazaki, K. and K. Hinata. 1987. Repressing the expression of self-incompatibility in crucifers by short-term high temperature treatment. Theor. Appl. Genet. 73: 496-500.
- 岡崎桂一・村上欣治. 1992. チューリップの自家不和合性の打破に及ぼす開花時期ならびに柱頭切除および高温処理の影響. 園学雑. 61: 405-411.
- Reed, S. M. 2000. Compatibility studies in *Hydrangea*. J. Environ. Hort. 18: 29-33.
- Reed, S. M. 2005. Pollination biology of *Hydrangea macrophylla*. HortScience 40: 335-338.
- 清水良泰. 2002. 品種・系統と栽培特性(アジサイ). p. 32-34. 農業技術大系 花卉編. 第11巻. 花木. 農文協. 東京.
- 志佐 誠・万豆剛一・桜井 博・木村敬助. 1955. チュー

- リップの育種学的研究. p. 1–71. 志佐誠編著. 輸出球根に関する研究. 誠文堂新光社. 東京.
- 末留 昇. 1996. 鉢物用ハイドラングアの品種とその特性. 新花卉. 169: 26–29.
- 巢山拓郎・谷川孝弘・山田明日香・松野孝敏・國武利浩. 2008b. *Hydrangea serrata* (Thunb.) Ser. と *Hydrangea macrophylla* (Thunb.) Ser. との交雑親和性の解明と胚珠培養による雑種獲得の効率化. 園学研. 7: 337–343.
- 巢山拓郎・谷川孝弘・山田明日香・松野孝敏・國武利浩. 2009. 多花性のアジサイ新系統‘福花13号’および八重・手まり咲き系統‘福花14号’, ‘福花15号’の育成. 園芸学会九州支部研究集録. 17: 74.
- 巢山拓郎・谷川孝弘・山田明日香・松野孝敏・國武利浩. 2010. 胚珠培養および開花調節によるアジサイ種間雑種の育成年限短縮. 園学研. 9: 387–394.
- 巢山拓郎・谷川孝弘・山田明日香・佐伯一直・中村知佐子・國武利浩・松野孝敏. 2008a. ハイドラングア装飾花の一重および八重咲きの遺伝. 園学研. 7 (別2): 293.
- 巢山拓郎・谷川孝弘・山田明日香・佐伯一直・中村知佐子・國武利浩・松野孝敏. 2012. ハイドラングア装飾花の八重咲きの遺伝 (第2報). 園学研. 11 (別1): 189.
- Uemachi, T. and A. Okumura. 2012. The inheritance of inflorescence types in *Hydrangea macrophylla*. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 81: 263–268.