ギョウジャニンニクの開花過程および花粉の発芽と貯蔵

金澤俊成・小林佐代・八鍬利郎

北海道大学農学部 060 札幌市北区北9条西9丁目

Flowering Process, Germination and Storage of Pollen
in *Allium victorialis* L. ssp. *platyphyllum* Hult.

Toshinari Kanazawa, Sayo Kobayashi and Toshiro Yakuwa

Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo 060

Summary

Flowering process, pollen germination and pollen storage of *Allium victorialis* L. ssp. *platyphyllum* Hult. (*A. victorialis*) were investigated in order to obtain basic information for the purpose of crossing with other *Allium* plants of which the flowering season is different. The experimental results are summarized as follows.

1. Flowering process in *A. victorialis* is similar to that in Welsh onion (*A. fistulosum*) and onion (*A. cepa*). Namely, when the perianths begin to open, the filaments of the inner whole of stamens elongate and their anthers dehisce; subsequently, the anthers of the outer whole of stamens dehisce. After the anthers dehisce, the styles begin to elongate.

2. Pollen of *Allium* species are mostly oval in shape; among the species, pollen of *A. victorialis* are the largest.

3. Agar medium with 15% sucrose and the temperature range of 20° to 25°C are the optimum conditions for pollen germination.

4. A comparatively high percentage of pollen germination (70~85%) was obtained after storage in liquid nitrogen (-196°C) for one year. This suggests that it may be possible to extend pollen longevity in storage so that crosses with other species in the genus *Allium* can be made.

緒 言

ギョウジャニンニク (*Allium victorialis* L. ssp. *platyphyllum* Hult.) はわが国では北海道、東北地方に広く分布するユリ科ネギ属植物であり、現在ではおもに山菜として利用されている。筆者らはギョウジャニンニクの栽培化について研究をすすめているが、他のネギ属植物に比べて生活環が長く生長速度が遅いという特徴をもっているため、播種から収穫まで3~4年を要し、栽培年数の短縮が望まれている。生長速度を早める方法としては栽培技術の改善と育種が考えられるが、後者の一つの方法として、他のネギ属植物との種間雑種の育成も検討されるべき課題といえよう。

そこで本研究では、交配の基礎となる小花の開花過

程、花粉の発芽および開花期の異なる異種の植物との交雑種を育成するうえで極めて重要な花粉の貯蔵条件について実験を行った。

材料および方法

1. 小花の開花過程

材料は、1990年6月19日に北海道大学附属農場そ菜園に栽植してあるギョウジャニンニクの成株より抽だいた花球の未開花の小花を用いた。花被から雄ずいが抽出した時期を開花とし、開花直前からやくの裂開が終了するまで4時間(夜間は12時間)ごとに、8~12小花の4反復について開花の状態を調査するとともに、10小花について経時的に花柱の長さを調査した。

2. 花粉の形態

材料は、1. と同じそ菜園に栽植してあるギョウジャニンニクと他のネギ属植物6種(ネギ・松本一本、ニラ

1991年8月8日 受理。本報告の一部は平成3年度園芸学会春季大会において発表した。

‘大葉ニラ’、リーキ、ギガンチューム、オレオフィルム、アサツキ‘札幌在来’)の花粉を用いた。花粉の形態は、スライドグラスに45%エタノールを滴下し、適量の花粉を筆で置床した後、カバーガラスで封じて観察を行った(6)。次いで花粉の長径および短径をマイクロメータで測定した。調査は、一つのプレパラートから無作為に選んだ20粒について3反復行い、平均値で表した。

3. 花粉の発芽

材料は、1.と同様の成株から開花前の花球を採取し、水に挿して室内に置き開やくした花粉を用いた。花粉をシャーレ(直径45mm)に入れた寒天培地(寒天1%)上に均一に置床し、花粉発芽に及ぼすショ糖濃度(0, 5, 10, 15, 20, 25, 30%), 温度(0°, 5°, 10°, 15°, 20°, 25°, 30°C)およびホウ酸濃度(0, 10, 30, 100, 300 ppm)について検討を行った。培養開始4時間後に発芽率および花粉管の伸長を調査した。花粉管が花粉の長径以上に伸長したものを発芽とし、発芽率は一つのシャーレから無作為に選んだ100粒について3反復の調査を行い、平均値で表した。また、同様に一つのシャーレから無作為に選んだ20粒の花粉について、マイクロメータを用いて花粉管の長さを測定した。調査は3反復行い、その平均値で表した。

4. 花粉の貯蔵

材料は3.と同様とした。花粉の貯蔵温度は20°, 5°, -30°, -196°Cの4区を設け、20°, 5°, -30°C区についてはシリカゲルを入れた管ビンに入れて貯蔵し、-196°C区についてはクライオバイアル(WHEATON社製)に入れて液体窒素中で貯蔵した。花粉の発芽率と花粉管の伸長の調査は、貯蔵開始後30日までは5日ごとに、それ以後は1か月ごとに行った。ただし、20°Cで貯蔵した花粉については貯蔵後1日および3日にも調査を行った。調査方法は3.と同様とし、培養条件はショ糖

15%, ホウ酸30ppmを添加した寒天培地(寒天1%)を用い、20°Cで4時間培養を行った後に観察した。

結 果

1. 小花の開花過程

調査期間中の気温を第1表に、小花の開花過程を第1図および第2表に示した。開花は花被頂部に隙間が生ずることに始まり、その隙間からまず内花糸が伸び、続いて外花糸が伸長した。この時期には花被は約60度の開度となり、花糸の基部まで外観的に現れた。実験開始12時間後には、小花の約40%で花糸の伸長が観察された(ST.2~ST.3)。花糸の伸長に伴い24時間後までにはほとんどの小花の花被が開ききった状態となり、約70%の小花でやくの裂開が認められた(ST.4~ST.5)。すなわち、開花は24時間以内にほぼ満開状態に達し、内やくの裂開に至ることになる。やくの裂開は内やくに始まり、続いて外やくが裂開するが、外やくの裂開にはかなり時間を要するものもあり、すべての小花で外やくの裂開を認めたのは72時間後であった。やくの裂開は、夜間に比べて日中に多く見られた。花柱の長さは、未開花の状態(ST.1)では1.9mmで、花糸が伸長する過程(ST.2~ST.3)ではほとんど変化が見られず、内やくが裂開する時期(ST.4)に長さ

Table 1. Maximum, minimum, and average temperatures during the experimental period².

Temperature (°C)	Experimental period		
	1st day (0~24 hr)	2nd day (24~48 hr)	3rd day (48~72 hr)
Maximum	25.8	23.2	22.6
Minimum	14.9	13.7	15.5
Average	18.9	18.4	18.6

² Data from observations started at 20:00 on 19 June.

Table 2. Time course of changes in the flowering stages during the observation period.

Date Time (hr)	Frequency (%)													
	19 June		20 June				21 June				22 June			
	20	8	12	16	20	8	12	16	20	8	12	16	20	
	(0)	(12)	(16)	(20)	(24)	(36)	(40)	(44)	(48)	(60)	(64)	(68)	(72)	
ST. 1 ²	100	72.0	59.5	36.0	11.0									
ST. 2		18.7	23.5	13.1	11.5	4.7	2.3							
ST. 3		9.3		4.4	5.4	7.7								
ST. 4			17.0	44.5	60.7	56.5	38.8	32.7	32.7	30.6	9.3	7.0		
ST. 5				2.0	11.4	31.1	58.9	67.3	67.3	69.4	90.7	93.0	100	

² Flowering stages described in Fig. 1.

は3.2 mm となり、外やくが裂開する時期 (ST.5) に著しく伸長して6.1 mm となった(第2図)。また、花柱の伸長が観察された時期には、花柱の基部に蜜が分泌された。

2. 花粉の形態

供試ネギ属植物の花粉は、いずれも半楕円形で中央部に膨らみが見られた(第3図)。ギョウジャニンニク

の花粉の長径と短径は、おのおの平均値で $46.8\ \mu\text{m}$, $31.3\ \mu\text{m}$ で、ギガンチュームやアサツキの花粉に比べて約1.5倍大きかった。また、花粉の偏平度では、リーキは0.80とやや球形に近く、逆にニラは0.59と偏平度が大きかったのに対し、ギョウジャニンニクは0.67で、供試したネギ属植物の中では中間程度であった(第3表)。

Fig. 1. Floret of *Allium victorialis* L. ssp. *platyphyllum* Hult. and its parts at different stages of flowering.

Fig. 2. Style length of *Allium victorialis* L. ssp. *platyphyllum* Hult. at different stages of flowering. Flowering stages described in Fig. 1, immediately prior to anthesis (ST. 1), inner filament elongation (ST. 2), outer filament elongation (ST. 3), dehiscence of inner anther (ST. 4), and dehiscence of outer anther (ST. 5).

Fig. 3. Pollen grains of *Allium victorialis* L. ssp. *platyphyllum* Hult. Scale bar indicates 20 μ m.

Table 3. Morphological characteristics of pollen in 7 *Allium* species.

Species	Cultivar	Pollen length (A) (μ m)	Pollen width (B) (μ m)	Ratio (B/A)
<i>A. victorialis</i>		46.8 a ²	31.3 a	0.67 b
<i>A. tuberosum</i>	Ooba-nira	38.3 b	22.6 c	0.59 d
<i>A. fistulosum</i>	Matsumoto-ippon	33.2 c	20.7 d	0.64 bc
<i>A. ampeloprasum</i>		33.1 c	26.6 b	0.80 a
<i>A. oreophilum</i>		32.2 cd	19.6 d	0.61 cd
<i>A. giganteum</i>		31.8 de	19.6 d	0.62 cd
<i>A. schoenoprasum</i>	Sapporo-zairai	30.9 e	20.0 d	0.64 bc

² Mean separation in columns by Duncan's multiple range test, 5% level.

Fig. 4. Effect of sucrose concentration on pollen germination. The solid and broken lines show the percentage of pollen germination and the length of pollen tube, respectively. Pollen grains were incubated on 1% agar medium and kept at 20°C for 4 hr.

3. 花粉の発芽

1) ショ糖濃度の影響

14.1%と極めて不良であったが、濃度が高くなるほど発芽率も上昇し、ショ糖 15%では 70.1%と最高であった(第4図)。ショ糖濃度が20%以上になると発芽率は低下する傾向が見られ、30%では発芽が認められなかった。花粉管の伸長も同様の傾向を示し、ショ糖 15%で最も良好であったが、さらに濃度が高くなると伸長が抑制される傾向が認められた。

2) 温度の影響

5°Cでは発芽率は 10.1%であったが、温度が高くなるほど上昇し、20°Cで 73.1%、25°Cでは 75.4%でピークを示し、30°Cではやや低下して 68.4%であった(第5図)。また、0°Cでは発芽は認められなかった。花粉管の伸長は 5°Cでは 127.7 μ mであったが、温度が高くなると伸長が促進され、20°C (942.3

Fig. 5. Effect of temperature on pollen germination. The solid and broken lines show the percentage of pollen germination and the length of pollen tube, respectively. Pollen grains were incubated on 1% agar medium with 15% sucrose and kept at each temperature for 4 hr.

Fig. 6. Effect of boric acid concentration on pollen germination. The solid and broken lines show the percentage of pollen germination and the length of pollen tube, respectively. Pollen grains were incubated on 1% agar medium with 15% sucrose and kept at 20°C for 4 hr.

Fig. 7. Effect of storage temperature on pollen germination. Pollen grains were incubated on 1% agar medium with 15% sucrose, and 30 ppm boric acid after different lengths of storage at 20°C (—), 5°C (.....), -30°C (-----), and -196°C (— · —).

Fig. 8. Effect of storage temperature on pollen tube length. Pollen grains were incubated on 1% agar medium with 15% sucrose, and 30 ppm boric acid after different lengths of storage at 20°C (—), 5°C (.....), -30°C (-----), and -196°C (— · —).

μm)でピークを示し、それ以上になると伸長は抑制され30°Cでは661.9 μmであった。

3) ホウ酸濃度の影響: ホウ酸添加の影響は、第6図に示すとおり添加区でやや発芽率が高い区も見られたが、無添加区とは有意な差は認められなかった。花粉管の伸長についても、同様の傾向であった。

4. 花粉の貯蔵

貯蔵開始時の花粉の発芽率は73.6%であったが、20°Cで貯蔵した花粉では1日後で19.3%、3日後で6.9%と急激に低下し、5日後には0%となった。花粉管の伸長も、発芽率と同様の傾向を示した。5°Cで貯蔵した花粉は5日後には73.5%であったが、10日後には発芽率が24.8%に低下した。その後、徐々に低下の傾向が見られ、30日後には13.4%となり、2か月後には発芽は認められなかった。花粉管の伸長は貯蔵5日後にはやや低下したが、その後大きな変化は見られなかった。-30°Cで貯蔵した花粉は貯蔵4か月後までは発芽率60%以上を保ち、5~6か月後には50%台とやや低下したが、以後大きな変化は見られなかった。花粉管の伸長は、1年後においても貯蔵前と同程度であった。-196°Cでは1年後においても発芽率が70%以上で、貯蔵開始と比べてほとんど変化が見られず、花粉管も貯蔵前と同じように伸長した(第7~9図)。

考 察

ネギのやくの裂開は、大部分の花で開花後24時間以内に完了することが報告されているが(4)、ギョウジャニンニクにおいても、開花開始後24時間以内にほとんどの小花でやくの裂開が認められた。結果でも述べた

Fig. 9. Germinating of pollen of *Allium victorialis* L. ssp. *platyphyllum* Hult. which were preserved in liquid nitrogen (-196°C) for one year.

ように、ギョウジャニンニクでは外やくの裂開に要する時間が個体によりかなりの開きがあり、すべての個体が裂開し終わるまでに、比較的時間を要することが特徴的であった。

江口ら(4)はネギにおいて、やくの裂開と温度には正の相関があることを認めており、小川(15)はタマネギにおいて、湿度が高い場合にはやくの裂開時間が遅くなることを報告している。本実験ではやくの裂開は夜間に比べて日中に多く見られたが、これはネギやタマネギに見られるように日中の高温と低湿度が影響しているものと考えられる。ちなみに、本実験の調査期間における湿度は最高(夜間) 99.4~99.8%、最低(日中) 54.9~67.7%であった。

やくの裂開と花柱の伸長は受粉の重要な要因であるが、ギョウジャニンニクでは内やくの裂開の過程では花柱が短く、外やくの裂開後に花柱の伸長が観察された。同様の現象は、ネギおよびタマネギにおいても報告されている(3, 7, 20)。また筆者らは、ギョウジャニンニクの開花期にはアブやアリが小花を訪れ、花柱の伸長に伴い蜜が花柱の基部から分泌されることを観察していることから、ギョウジャニンニクは他の多くのネギ属植物と同様に、虫媒花であると考えられた(8)。したがって、交配の時期は花柱が伸長し蜜が分泌される開やく後が適していると思われる。

花粉の形や大きさは植物の特性を表すうえで重要な指標となるが、ネギ属植物の花粉の形は、いずれも中央部に膨らみのある楕円形であることが共通した特性であった。また、岩波(6)は花粉の大きさを長径により $40\text{ }\mu\text{m}$ 以下が微粒、 $40\sim 100\text{ }\mu\text{m}$ までが中粒、 100

μm 以上が大粒と3段階に分類しているが、岩波の指標に従えば他のネギ属植物の花粉は微粒に属するのに対し、ギョウジャニンニクの花粉は中粒に属し、他のネギ属植物に比べて大きいこともギョウジャニンニクの特性の一つといえる。

人工発芽床において、培地に添加された糖は花粉の吸水と養分補給の役割を果たし、発芽に関与することが知られている(6)。また、植物により発芽に適した糖濃度が異なることから、花粉の培養における培地の糖濃度は重要である。ギョウジャニンニクにおいても、ショ糖濃度が発芽率に大きな影響を及ぼし、15~20%が発芽に良好であった。また温度については、ギョウジャニンニクの花粉の発芽には $20^{\circ}\sim 30^{\circ}\text{C}$ が適していると思われた。一方、花粉管の伸長は $20^{\circ}\sim 25^{\circ}\text{C}$ で良好であった。ショ糖と同様に、花粉の発芽および花粉管の伸長を促進する方法として、培地に化学物質を添加する例が知られており、ネギ属植物に対しては、タマネギの花粉発芽にカルシウム(10, 14)やホウ酸とジベレリン(11)の添加が効果的であると報告されている。一般に花粉の発芽率を高めるために、培地にホウ酸を添加することが知られているが(6)、ギョウジャニンニクにおいてはホウ酸無添加でも70~75%の発芽率が得られるため、外与されたホウ酸の効果はほとんどないと考えられる。

花粉の貯蔵は、優良系統の花粉の維持や開花期の異なる植物と交配する場合に重要である。Mann・Woodbury(14)は、タマネギでは雄性不稔系統等を利用する場合に交配親の開花期や花粉の齢が種子の生産力に大きく影響を及ぼすことから、花粉の発芽率の維持が重要であること、さらに、室温(20°C)乾燥貯蔵の場合に貯蔵6日後には発芽率が0%になったことを報告しているが、ギョウジャニンニクにおいても 20°C では貯蔵5日後には0%となった。このことは、ギョウジャニンニクの花粉の寿命がタマネギと同様に短いことを示しており、長期間にわたり花粉を貯蔵するためには、乾燥以外の条件を検討する必要がある。

一般に花粉の貯蔵条件としては、低温、低湿が良好であることが知られており(1, 5, 9, 16, 17, 18)、ネギ属植物の中ではタマネギの花粉は、室温では早期に発芽率の低下を招くことが指摘され(2, 14)、Kwanら(12)の報告では -18°C 、相対湿度5%程度が良好であった。また、湿度と同様に花粉の含水量が貯蔵後の発芽率に大きく影響を及ぼすことが報告されている(9, 13, 19)。本実験では、いずれの温度区について

も乾燥条件で貯蔵を行ったが、低温の程度は5℃付近では不十分で、-30℃あるいは-196℃の液体窒素中に貯蔵することにより、1年間、花粉の発芽率および花粉管の伸長を保つことが可能となった。とりわけ、長期貯蔵には-196℃(液体窒素)の超低温が有効であることが明らかとなった。超低温による花粉の長期間の貯蔵は、チャ(1)、クルミ(13)、ウルシ(16)、アボカド(17)、ジャガイモ(19)などにおいて成功しており、ギョウジャニンニクでも花粉を長期間利用することが可能となった。

以上の結果から、ギョウジャニンニクの開花特性と花粉の貯蔵条件が明らかになったが、これらの知見を利用することで、ギョウジャニンニクと開花期の異なる他種との交配も容易となり、交雑育種を進めるうえで役立つことが期待される。

摘 要

ギョウジャニンニク(*Allium victorialis* L. ssp. *platyphyllum* Hult.)の開花過程と花粉の発芽・貯蔵について調査を行った。

1. ギョウジャニンニクの開花の過程は、ネギやタマネギと同様であることが明らかとなった。すなわち、内花糸の伸長に続いて外花糸が伸長し、やくも内やくの裂開後に外やくが裂開した。また、花柱はやくの裂開後に急激に伸長した。

2. ネギ属植物の花粉は、いずれも中央部に膨らみのある楕円形であるが、ギョウジャニンニクの花粉の偏平度は0.67で、ネギ属植物の中ではほぼ中間であった。また、花粉の大きさは長径46.8μm、短径31.3μmで、他のネギ属植物に比べて大きいことが特徴であった。

3. 花粉の発芽にはショ糖15%を添加した寒天培地(寒天1%)を用い、20°~25℃で培養を行うことが適するものと考えられた。

4. 花粉は、乾燥条件で-30℃および-196℃で貯蔵することにより、長期間の貯蔵が可能である。特に液体窒素中(-196℃)で貯蔵した花粉は、1年後においても発芽率は70%以上で、低下しなかった。

引 用 文 献

1. Amma, S. and A. Watanabe. 1985. Long-term storage of germ plasm of tea (*Camellia sinensis* L.O.Kuntze). JARQ. 19 : 196-201.
2. Chang, W.N. and B.E. Struckmeyer. 1975. The influence of temperature and relative humidity

- on onion pollen germination. HortScience 10 : 162-163.
3. Comin, D. 1946. Onion production. p.17-19. Orange Judd Publ. Co., New York.
4. 江口庸雄・大鹿保治・神山利一. 1958. ねぎの採種に関する研究。(第2報). 開花に関する調査. 農技研報告. E7 : 115-132.
5. Griggs, W.H., G.H. Vansell and B.T. Iwakiri. 1953. The storage of hand-collected and bee-collected pollen in a home freezer. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 62 : 304-305.
6. 岩波洋造. 1980. 花粉学. p.19-162. 講談社. 東京.
7. Jones, H.A. and L.K. Mann. 1963. Onions and their allies. p.55-57. Leonard Hill, London.
8. Kawano, S. and Y. Nagai. 1975. The productive and reproductive biology of flowering plants. I. Life history strategies of three *Allium* species in Japan. Bot. Mag. Tokyo 88 : 281-318.
9. Koopowitz, H., R. Voss and C. O'Neil. 1984. Long-term storage of gladiolus pollen. HortScience 19 : 513-514.
10. Kwack, B.H. 1965. The effect of calicium on pollen germination. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 86 : 818-823.
11. Kwan, S.C., A.R. Hamson and W.F. Campbell. 1969. The effects of different chemicals on pollen germination and tube growth in *Allium cepa* L. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 94 : 561-562.
12. Kwan, S.C., A.R. Hamson and W.F. Campbell. 1969. Storage condition for *Allium cepa* L. pollen. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 94 : 569-570.
13. Luza, J.G. and V.S. Polito. 1988. Cryopreservation of English walnut (*Juglans regia* L.) pollen. Euphytica 37 : 141-148.
14. Mann, L.P. and G.W. Woodbury. 1969. The effect of flower age, time of day and variety on pollen germination of onion, *Allium cepa* L. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 94 : 102-104.
15. 小川 勉. 1961. タマネギの採種に関する研究。(第1報). 結実に及ぼす降雨と湿度の影響. 園学雑. 30 : 222-232.
16. Polite, V.S. and J.G. Luza. 1988. Low temperature storage of pistachio pollen. Euphytica 39 : 265-269.
17. Sedgley, M. 1981. Storage of avocad pollen. Euphytica 30 : 595-599.
18. Sahar, N. and P. Spiegel-Roy. 1980. Citrus pollen storage. HortScience 15 : 81-82.
19. Towill, L.E. 1981. Liquid nitrogen preservation of pollen from tuber-bearing *Solanum* species. HortScience 16 : 177-179.
20. 八鍬利郎. 1986. ネギ・ニンニクその他ネギ類. p. 111-196. 農業技術大系野菜編 8. 農文協. 東京.