胚培養によるテッポウユリ, シンテッポウユリとオトメユリ, ササユリの種間雑種

岡崎桂一・馬田雄史・浦島 修・川田稷一*

国重正昭**・村上欣治

富山県農業技術センター野菜花き試験場 939-13 富山県砺波市五郎丸

Interspecific Hybrids of *Lilium longiflorum* and *L. ×formolongi* with *L. rubellum*
and *L. japonicum* through Embryo Culture

Keiichi Okazaki, Yuji Umada, Osamu Urashima, Joichi Kawada,
Masaaki Kunishige and Kinji Murakami

Toyama Veg. Orna. Crop Res. Sta., Goromaru, Tonami, Toyama 939-13

Summary

To develop pink Easter lilies through interspecific hybridization, *Lilium longiflorum* and *L. ×formolongi* were crossed with *L. rubellum* and *L. japonicum*.

1. Interspecific hybrids between *L. longiflorum* × *L. rubellum*, *L. ×formolongi* × *L. rubellum*, and *L. ×formolongi* × *L. japonicum* were obtained by pollinating the cut surface of styles (style-cutting method) and culturing the resulting embryo in vitro. Progenies of the respective crosses were pink, pale pink, and white.

2. Of the two cultivars and two selections of *L. longiflorum* employed as the mother parent, the largest number of ovaries and the most embryos per ovary were found in 'Georgia' pollinated with pollen from *L. rubellum*.

3. The percentages of developed ovaries of *L. ×formolongi* pollinated with pollen from *L. rubellum* or pollen of *L. japonicum* were higher than when *L. longiflorum* was used as the mother parent.

4. The % fertility of pollen from interspecific hybrids was low with the exception of pollen from a hybrid between *L. ×formolongi* and *L. rubellum* which attained 95.2%. This high rate of pollen fertility in this hybrid is attributed to its amphidiploid ($2n=48$) nature.

5. Hybrids progenies between *L. ×formolongi* and *L. rubellum* produced viable embryos when they were back-crossed with *L. rubellum*, but not when they were triple-crossed with *L. longiflorum*.

緒 言

テッポウユリはユリ類の中では球根生産が容易であり、切り花の周年生産が可能であることから、球根・切花生産においてともに重要な花きの一つである。しかし、花色が白のみに限られ、切り花としての利用範囲が限られるという問題があるため、多様な花色を持つテッポウユリの育成が望まれている。

種内に花色変異個体を持たないテッポウユリでは、近縁種から花色遺伝子を導入する必要があるが、テッポウユリの近縁種で有色花を持つスカシユリ、カノコユリ、オトメユリ、ササユリ等の種を用いて、通常の柱頭受粉によりテッポウユリとの種間交雑個体を得ることは極めて困難であった(1, 7)。しかし、近年、花柱切断法と胚培養を組み合わせることによって、テッポウユリと交雑可能な種の組合せが著しく増加した(1, 3, 10)。テッポウユリにアントシアニン系色素を導入する種としては、比較的交雑しやすいスカシユリについ

1991年5月20日 受理。

* 現在：全国農業協同組合連合会。

**現在：農水省野菜茶業試験場。

て報告が多く(3, 4, 6, 9), これらの雑種の一つとして‘ロートホルン’が栽培されている。一方, オトメユリとの交雑によっても有色花のテッポウユリ型雑種が得られているが(8, 9), ササユリとの交雑は報告例がない。以上のように, テッポウユリの種間交雑は限られた種間の組合せで行われており, 有色花テッポウユリ育成の試みはまさに緒についたところといえる。

ここでは, テッポウユリとの交雑が比較的困難なオトメユリ, ササユリをテッポウユリに交雑し, アントシアニン系花色のテッポウユリへの導入を図ったところ, 目的とした雑種を得ることができたので報告する。

材料および方法

子房親として, 鹿児島県農業試験場花き部より譲与されたテッポウユリ (*Lilium longiflorum* Thunb.) 2 系統(鹿系 100 系統, K37-25-12)のほか, テッポウユリ 2 品種(ジョージア, ひのもと), シンテッポウユリ (*L. × formolongi*) 1 品種(銀河一号)を用い, 花粉親としてササユリ (*L. japonicum* Thunb.), オトメユリ (*L. rubellum* Baker) を用いた。交配は花柱切断法によって行い(1), 雑種胚は交配しておよそ40日後の蒴果が黄化裂開する直前に摘出し, MS 培地上で培養した(2)。

雑種の花粉稔性の検定は, 酢酸カーミンで花粉を染色した時, 均一に染色された, 楕円形のを稔性花粉とし, 染色が部分的で不十分なものや内容物がないため潰れた花粉は不稔性花粉とした。

雑種の染色体数は, 根端組織を 0.1% コルヒチン水溶液に 3~4 時間浸漬後, 酢酸アルコール(1:3)で固定し, 酢酸カーミン染色後押し潰して観察した。

雑種のパーオキシダーゼアイソザイムは, 葉の先端部を 0.2 mg 取り, 1 ml の 0.01 M リン酸緩衝液 pH

7.0 中で磨砕し 10,000 g で 15 分間遠心分離した後, 上澄液を用いて等電点電気泳動で分析した。等電点電気泳動は, 1 mm 厚の水平型ポリアクリルアミドゲル (AMPHOLINE PAGPLATE, pH 3.5-9.5, LKB 社) を用い, $1 \text{ w} \cdot \text{cm}^{-1}$ で 30 分間予備泳動した後, ゲル上に抽出液を滴下し, さらに 90 分間電気泳動した。電気泳動が終了したゲルは, 0.05% の 3, 3'-ジアミノベンジジンと 0.05% の過酸化水素を含む 50 mM トリス・塩酸緩衝液 pH 8.0 で発色させた。

結果および考察

花柱切断法を用いたテッポウユリとオトメユリとの種間交雑では, 子房親に‘ジョージア’, 鹿系 100 系統, ‘ひのもと’, K 37-25-12 系統を用いたが, 結実率はそれぞれ 16.4, 15.0, 3.4, 0% であり, 1 蒴当たりの雑種胚数はそれぞれ 7.4, 2.5, 1.0, 0 個であった。雑種胚の長さは大部分 0.2 mm 前後であったが, ‘ジョージア’を子房親とした場合に 0.6 mm の大きい胚が見られた(第 1 表)。このように子房親に用いた品種によって交雑親和性に差が見られ, 供試した品種の中では, ‘ジョージア’の結実率が最も高く, 1 蒴当たりの雑種胚数も多く, オトメユリとの交雑親和性が高いと思われた。

シンテッポウユリとオトメユリの交雑では, 結実率は 52.9% であり, テッポウユリ×オトメユリの交雑と比べて高かった。また, 胚の大きさは 0.3~3.0 mm であり, テッポウユリとの交雑と比べて大きかった(第 1 表)。シンテッポウユリとササユリの交雑では, 51.4% と結実率が高かったが(第 2 表), テッポウユリとササユリの種間交雑では結実しなかった。このようにシンテッポウユリとオトメユリあるいはササユリとの交雑では, 交雑率は極めて高かったが, これらの雑種 F_1 の一部に, 傾母個体と思われる個体が見られた。傾

Table 1. Interspecific hybridization of *Lilium longiflorum* and *L. × formolongi* crossed with *L. rubellum* by cut-style pollination.

Cross combination	No. of flowers pollinated	No. of ovaries developed (%)	No. of ovaries observed ²	No. of embryos	No. of embryos per ovary	Length of embryos (mm)
<i>L. longiflorum</i> × <i>L. rubellum</i>						
‘Georgia’ ³	61	10 (16.4)	9	67	7.4	0.2~0.6
Ka 100	20	3 (15.0)	2	5	2.5	0.2
‘Hinomoto’	29	1 (3.4)	1	1	1.0	0.2
K37-25-12	22	0 (0)	—	—	—	—
<i>L. × formolongi</i> ² × <i>L. rubellum</i>	17	9 (52.9)	6	39	6.5	0.3~3.0

² From this item (No. of ovaries), the evaluation for 3 items of right hand was done.

³ cv. Ginga No. 1.

² These are cv. or strain of *L. longiflorum*.

母個体の出現率については、球根養成中の未開花球があり正確な数は示せないが、得られた雑種のうち約半数が傾母個体で、オトメユリよりササユリとの交雑の場合に傾母個体が多かった。したがって、結実率が高かったのは単為生殖のためか、あるいは自殖によるものと思われ、交雑率についてはさらに検討を要する。しかし、シンテップウユリを母本とした交配では、テップウユリの交雑では育成できなかったササユリとの雑種が得られていることも考え合わせると、やはり、シンテップウユリはテップウユリよりササユリ、オトメユリに対して交雑親和性が高いと考えられた。また、その理由の一つとして、シンテップウユリは種間交雑によって育成され、なおかつ実生系品種であるため(7)、その遺伝的背景がヘテロであり、ササユリ、オトメユリの種間交雑において多様な遺伝子構成を持つ雑種胚が得られ、雑種胚の生存率が向上したことが考えられる。

胚培養の結果を第3表に示したが、テップウユリでは‘ジョージア’×オトメユリ、鹿系100系統×オトメユリ、‘ひのもと’×オトメユリの雑種胚を培養し、生存率はそれぞれ14.9、9.5、0%であり、極めて低かった。シンテップウユリでは、‘銀河一号’×オトメユリ、‘銀河

一号’×ササユリで雑種が得られ、生存率はそれぞれ30.8%、55.3%であったが、生存率が高かったのは前述したように傾母個体が含まれていたためと思われる。今後、微小胚の培養法や傾母個体発生防止法を検討する必要があると思われた。

育成した雑種は、それぞれの交配組合せで数個体ずつ開花に至っているが、各交配組合せの典型的な個体の特性を第4表に示した。植え付けた球根サイズが一定でないため正確な比較はできないが、‘ジョージア’×オトメユリの雑種は花数3輪でおよそ46.0 cmの草丈で(第1図-A)、鹿系100系統×オトメユリの雑種は2輪で草丈48.5 cmであり(第1図-B)、母本に用いたテップウユリ‘ジョージア’に比べて矮性となった。‘銀河一号’×オトメユリの草丈は84.5 cm(第1図-C)、‘銀河一号’×ササユリの草丈は98.5 cmであり(第1図-D)、テップウユリより高かった。四つの雑種いずれもが、花の大きさや花容は、テップウユリとオトメユリの中間であり、テップウユリほど花被の基部がラッパ状になっていなかった。‘銀河一号’×ササユリの花は、他の雑種に比べるとやや大輪であった。全雑種とも葉数はオトメユリよりは多く、テップウユリよりは少なく、葉先は垂れる傾向にあった。花色は、鹿系100×オトメユリの

Table 2. Interspecific hybridization of *L. longiflorum* and *L. ×formolongi* crossed with *L. japonicum* by cut-style pollination.

Cross combination	No. of flowers pollinated	No. of ovaries developed (%)	No. of ovaries observed	No. of embryos	No. of embryos per ovary	Length of embryos (mm)
<i>L. longiflorum</i> × <i>L. japonicum</i>						
‘Georgia’	53	0 (0)	—	—	—	—
Ka 100	16	0 (0)	—	—	—	—
‘Hinomoto’	36	0 (0)	—	—	—	—
K37-25-12	40	0 (0)	—	—	—	—
<i>L. ×formolongi</i> ^z × <i>L. japonicum</i>	37	19 (51.4)	19	48	2.5	0.3~1.5

^z cv. Ginga No. 1.

Table 3. Results from embryo culture in interspecific hybridization.

Cross combination	No. of embryo cultured	No. of seedlings obtained (%)
<i>L. longiflorum</i> × <i>L. rubellum</i>		
‘Georgia’	67	10 (14.9)
Ka 100	21	2 (9.5)
‘Hinomoto’	1	0 (0)
<i>L. ×formolongi</i> ^z × <i>L. rubellum</i>	39	12 (30.8)
<i>L. ×formolongi</i> ^z × <i>L. japonicum</i>	38	21 (55.3)

^z cv. Ginga No. 1.

Table 4. Characteristics of interspecific hybrids and their parents.

Cross combination	Size of bulbs (cm)	No. of flowers	Color of flowers	Height of plants (cm)	Diameter of stems (cm)	Length of perianth (cm)	Width of outer perianth (cm)	Length of leaves (cm)	No. of leaves
<i>L. longiflorum</i> × <i>L. rubellum</i>									
'Georgia'	—	3	pink	46.0	4.8	11.0	3.0	11.0	34
Ka100	9	2	pink	48.5	5.2	15.0	3.3	17.5	33
<i>L. × formolongi</i> ^z × <i>L. rubellum</i>	13	2	pink	84.5	7.2	15.2	6.0	15.6	29
<i>L. × formolongi</i> ^z × <i>L. japonicum</i>	15	3	white	98.5	7.6	16.2	4.5	17.3	32
<i>L. longiflorum</i> ^y	—	4	white	69.0	9.8	17.5	3.4	17.0	48
<i>L. rubellum</i>	11	1	pink	47.3	2.8	9.0	2.1	12.5	20

^z cv. Ginga No. 1.^y cv. Georgia. Fig. 1. Interspecific hybrids of lilies. A: *L. longiflorum* 'Georgia' × *L. rubellum* B: *L. longiflorum* 'Ka 100' × *L. rubellum* C: *L. × formolongi* 'Ginga No. 1' × *L. rubellum* D: *L. × formolongi* 'Ginga No. 1' × *L. japonicum*

雑種で濃いピンク、'ジョージア'×オトメユリ、'銀河一号'×オトメユリでやや淡いピンクとなった。'銀河一号'×ササユリは花被の中肋にわずかにアントシアニン色素が見られるが、その花色はほとんど白であった。限られた交配組合せであるが、テッポウユリへのアントシアニン導入親としては、ササユリよりオトメユリが優れていると思われる。また、前述したように、テッポウユリ、シンテッポウユリのどちらに関してもオトメユリとの雑種育成例は少なく(8, 9)、ササユリの交雑は例がなかったが、今回の交配では、低率ではあるが雑種を得ることができた。

テッポウユリとオトメユリの雑種では、開花当日は筒状花になっているが、開花後日数がたつと花被の基部が分離する場合が多かった(第2図)。シンテッポウユリではこの傾向は少なかった。交雑親和性の面ばかりでなく、花被の基部が分離しない雑種の育成という面でも、シンテッポウユリがテッポウユリより交雑親として優れていると思われた。

‘銀河一号’とオトメユリの雑種のパーオキシダーゼアイソザイムを調査したところ、雑種はシンテッポウユリのバンドのほか、オトメユリのバンドを数本持っておりアイソザイムからも雑種性が明らかになった(第3図)。

Fig. 2. The perianth separate in the base of flower in the hybrids of *L. longiflorum* ‘Ka 100’ × *L. rubellum*.

Fig. 3. Isozyme patterns of peroxidase in *L. × formolongi* ‘Ginga No. 1’ (1); *L. × formolongi* ‘Ginga No. 1’ × *L. rubellum* (2) and *L. rubellum* (3) using thin-layer polyacrylamide gel isoelectrofocusing. Dots indicate the bands that were transmitted from the pollen parent (*L. rubellum*) to the hybrid progeny.

雑種の花粉稔性を調査したところ、大部分の個体で低い花粉稔性を示したが、シンテッポウユリ × オトメユリの雑種の中で、95.2%と高い稔性を持つ個体があった。この個体は、染色体数は $2n=48$ であり、複二倍体であった(第5表)。複二倍体の生起ステージとしては、胚培養の過程で雑種胚が一度カルス化した後、苗条が再分化してくる場合があるので、この過程で自然倍化したのか、あるいは、その後の球根養成の段階で倍化したことも考えられる。いずれにしても、複二倍体雑種が高稔性を持つことは、浅野(5)の報告と一致した。

一方、種間雑種にオトメユリの花粉(一部オトメユリの雑種花粉)とテッポウユリの花粉を交配したところ、前者の交配では胚が得られたが、後者の交配では胚が得られなかった(第6表)。このような種間雑種に対する交配において、雑種育成に用いた子房親より花粉親の花粉を用いて交配した場合に種子がしやすい傾向は、浅野(4)が報告している。有色花のテッポウユリを育成するためには雑種にテッポウユリを交雑し、花色を維持しつつ草姿をテッポウユリに近づける必要があるが、今回の雑種との交雑実験ではテッポウユリの交雑はできなかったことから、今後、高稔性の複二倍体雑種を用いた交雑の検討が必要である。

摘 要

アントシアニン系花色のテッポウユリの育成を目的として、子房親としてテッポウユリおよびシンテッポウユリと花粉親としてオトメユリおよびササユリとのそれぞれの種間雑種の育成を試みた。

1. 胚培養法と花柱切断受粉法を用いることによってテッポウユリ × オトメユリ、シンテッポウユリ × オトメユリ、シンテッポウユリ × ササユリの組合せで種間雑種が得られた。花色は、テッポウユリ × オトメユリの雑種が濃いピンク、シンテッポウユリ × オトメユリはやや淡いピンクとなった。シンテッポウユリ × ササユリの雑種は白花であった。

2. テッポウユリ × オトメユリの交雑ではテッポウユリ2品種、2系統を用いたが、結実率に品種間差が見られ、‘ジョージア’の結実率が最も高かった。

3. シンテッポウユリは、テッポウユリに比べオトメユリ、ササユリとの交雑した時は高率で結実した。

4. 種間雑種の花粉稔性は、大部分の個体で低かったが、シンテッポウユリ × オトメユリの雑種の中で、95.2%と高い花粉稔性を持つ個体があった。この個体の染色体数は $2n=48$ であり、この高花粉稔性は、複二倍体

Table 5. Chromosome number and pollen fertilities in interspecific hybrids.

Cross combination	Strain No.	Fertility (%)	Chromosome number (2n)
<i>L. × formolongi</i> ^z × <i>L. japonicum</i>	1	0	24
	2	1.3	—
<i>L. longiflorum</i> ^y × <i>L. rubellum</i>	1	12.2	—
<i>L. × formolongi</i> ^z × <i>L. rubellum</i>	1	0	24
	2	0	—
	3	95.2	48
	4	10.7	—
	5	5.0	—

^z cv. Ginga No. 1^y cv. Ka100.

Table 6. The backcrosses or triple-crosses of interspecific hybrids by cut-style pollination.

Cross combination	No. of flowers pollinated	No. of ovaries developed	No. of embryos
<i>(L. longiflorum</i> ^y × <i>L. rubellum</i>) × {	<i>L. longiflorum</i> ^x	10	0
	<i>L. rubellum</i>	15	0
<i>(L. × formolongi</i> ^z × <i>L. rubellum</i>) × {	<i>L. longiflorum</i>	10	0
	<i>L. rubellum</i>	18	18
<i>(L. × formolongi</i> ^z × <i>L. japonicum</i>) × {	<i>L. longiflorum</i>	3	0
	(a seedling of × Oriental hybrids)	2	2

^z cv. Ginga No. 1.^y cv. Ka 100.^x cv. Georgia.

植物の特性によるものである。

5. 種間雑種に、オトメユリとテッポウユリの花粉を交配したところ、前者の交配では胚が得られたが、後者の交配では胚が得られなかった。

謝 辞 本稿を草するにあたり、元農水省農業生物資源研究所所長、現全農営農対策部の鳥山国土博士、富山県農業技術センター野菜花き試験場場長の梅原吉廣博士にご校閲戴いた。ここに記して感謝の意を表する。

引用文献

1. 浅野義人・明道 博. 1977. ユリの遠縁種間交雑に関する研究. (第1報). 花柱切断授粉法による交配. 園学雑. 46 : 59-65.
2. 浅野義人・明道 博. 1977. ユリの遠縁種間交雑に関する研究. (第2報). 交雑胚の培養. 園学雑. 46 : 267-273.
3. 浅野義人・明道 博. 1978. ユリの遠縁種間交雑に関する研究. (第3報). 胚培養により作出された遠縁種間雑種について. 園学雑. 47 : 401-414.
4. Asano, Y. 1980. Studies on crosses between

distantly related species of lilies. V. Characteristics of newly obtained hybrids through embryo culture. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 49 : 241-250.

5. Asano, Y. 1982. Overcoming interspecific hybrid sterility in *Lilium*. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 51 : 75-81.
6. Kanoh, K., M. Hayashi, Y. Serizawa and T. Konishi. 1988. Production of interspecific hybrids between *Lilium longiflorum* and *L. × elegance* by ovary slice culture. Japan. J. Breed. 38 : 278-282.
7. 清水基夫. 1971. 日本のユリ. p.245-247. 誠文堂新光社.
8. 滝沢久寛. 1989. ユリ類育種の現状と問題点. 2. 新品種の育成経過と特性. 日種協育技術研究会シンポジウム資料. 103-107.
9. van Tuyl, J. M., J. Franken, R.C. Jongerius, A. M. Lock and T. P. M. Kwakkenbos. 1986. Interspecific hybridization in *Lilium*. Acta Hort. 177 : 591-595.
10. Watts, V. M. 1967. Influence of interstylar pollination seed set in lilies. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 91 : 660-663.