

○本多健作・坂本健一郎<sup>1)</sup>・駒井史訓

(佐賀大院農学研究科・<sup>1)</sup>佐賀農業セ)

### 【目的】

ユリの特徴の一つである葯には粘性のある花粉が多く含まれており、花卉に付着して商品価値を下げることや、周囲を汚してしまうことから、園芸店では開花直後に葯を手作業で摘出している。そこで、葯中の花粉が飛散しない、または、存在しない雄性不稔個体の作出が求められている。ユリでは遠縁品種間の不和合性が知られていることから、演者らは細胞工学的手法である細胞融合による3倍体の開発を試みている。

ユリの花粉は、栄養細胞内に雄原細胞を内包している二細胞性花粉である。演者らは、これらを研究材料として扱う際、10%(w/v)のスクロース溶液で花粉の粘性を除去しているが、雄原細胞が花粉から直接単離されていることがしばしば確認された。そこで、本研究では3倍性細胞開発の基礎として雄原細胞を選定し、雄原細胞単離に適した蕾の生育ステージと、単離に用いるスクロース溶液の至適濃度について報告する。

### 【材料および方法】

植物材料はオリエンタルハイブリッド‘シベリア’を使用した。雄原細胞を単離する生育ステージを3つに分類し、蕾の色が緑色のものを緑色蕾期、白化が進み、白色になった時期のものを白色蕾期、そして開花・開葯が認められたものを開花期と定義した。

3つのステージの花粉をそれぞれ、10%のスクロース溶液で室温、暗黒下で培養して雄原細胞の単離率を算出した。さらに、開花期の花粉を用いて、スクロース溶液の濃度を2.5、5、10、20%(w/v)として雄原細胞を単離した。培養0、30、60、90、120分後に倒立顕微鏡(OLYMPUS IX71)を用いて観察を行った。

### 【結果および考察】

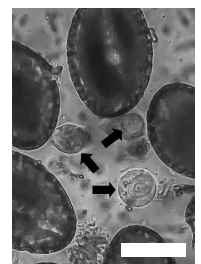
緑色、白色蕾期、そして開花期の各ステージにおける雄原細胞の単離率は大きく異なり、花粉粘性を除去するためのスクロース溶液の濃度では、開花期にある花粉から最も多くの雄原細胞が単離された(下図)。一方、緑色蕾期で雄原細胞が確認されなかったことは、これまでの研究で、緑色蕾期の花粉が1核性であることを確認していることから、雄原細胞が存在しないことに起因していると考えられる。また、フローサイトメーターを利用した以前の研究で、開葯前後で花粉内の核DNA含量に差異があり、開葯後では半数性と二倍性を示すそれぞれのピークの割合が同等であるのに対し、開葯前は半数性を示すピークの割合が二倍性よりも大きいことから、開葯前では半数性の栄養核と二倍性の雄原核を含む花粉に加えて、栄養核と半数性の雄原核を含む花粉が混在していることを報告した。したがって、2核性の白色蕾期の花粉から得られた雄原細胞には半数性の核を含むものがあることが示唆された。

開花期の花粉において、10%のスクロース溶液で雄原細胞が最も多く単離されたことから、スクロースの至適濃度をさらに詳細に検索したところ、5%スクロースの単離率が最も高く、処理した全花粉粒に対して37%の花粉から雄原細胞が単離された。

これらの結果から、二倍性の雄原細胞を単離する際は、開花期の花粉に対して5%スクロース溶液で処理することが至適であることが明らかとなった。

また、白色蕾期の花粉から得られる雄原細胞の中には、半数性のものが混在していることが推察される。

現在、このようにして得られた雄原細胞をプロトプラスト化し、3倍体を作成するための細胞融合を遂行中である。



→: 雄原細胞, bar = 50 $\mu$ m  
図. 花粉から直接単離した雄原細胞