

○佐藤美樹・本多健作・駒井史訓
(佐賀大院農学研究科)

【目的】

ユリは世界で最も多く利用されている花卉の一つである。ユリの葯は粘性のある花粉を多く含み、その花粉で花卉が汚れて商品価値を落としてしまうことがあるため、花粉の失活している雄性不稔個体が求められている。また、遠縁では交雑不適合性があり、交配の組み合わせが限られてしまう。そこで、細胞融合技術を利用することにより交配の組み合わせを増やしつつ、雄性不稔個体を作成することが期待される。

ユリの小胞子は不等分裂して栄養細胞と雄原細胞を形成し二細胞性の花粉となる。細胞融合の材料として小胞子が考えられるが、周期的に安定して入手することができる成熟花粉に含まれる雄原細胞に着目した。花粉から単離したプロトプラストを浸透圧ショックにより破壊して、そこに含まれる雄原細胞を単離することができるが、この方法では栄養細胞を破壊してしまう。最近、花粉の粘性を除去するためにスクロース溶液で処理するとわずかに雄原細胞が単離されていることが観察された。そこで、花粉中の栄養細胞を破壊することなく、直接的に雄原細胞を単離するための糖質の種類と濃度の条件を検討した。

【材料および方法】

植物材料としてオリエンタルハイブリッド‘シベリア’の開葯直後の花粉を使用した。花粉を酢酸エチルで処理し、粘性を取り除いた。雄原細胞単離に適したスクロース濃度を調べるために 0.1, 1, 10, 100 および 1000mM のスクロース溶液 2ml に葯 1/2 個分の花粉をそれぞれ移し、25°C で 30 分間インキュベートした。その後、40 μ m のステンレスメッシュでろ過して花粉を取り除き、70% エタノールで固定後に DAPI 染色した。バッファーで 2ml に調整し、蛍光顕微鏡の B 励起で観察して一視野 (10 \times 4) あたりの雄原細胞を計数した。雄原細胞単離に適した糖質を検討するために、単

糖であるガラクトース、グルコース、ソルボース、フルクトース、マンノース、二糖類であるセロビオース、ラクトース、マルトース、三糖類であるラフィノース、そして、糖アルコールのソルビトール、マンニトールをそれぞれ 100mM の水溶液で、また、10mM スクロースに 90mM ソルビトールを加えた水溶液でも同様の実験を行った。

【結果および考察】

花粉を様々な濃度のスクロース溶液で処理したところ、100mM で最も多くの雄原細胞を直接的に単離することができた。次に、100mM の様々な種類の糖質で花粉を処理したところ、単糖類、二糖類および三糖類で雄原細胞が単離されたが、糖アルコールではあまり単離されなかった。雄原細胞が最も多く単離された糖質は、三糖類のラフィノースであった。他方、10mM スクロースに 90mM ソルビトールを加えた水溶液で花粉を処理したところ、雄原細胞の単離数は 100mM スクロースのみで処理したものよりも少なかったが、10mM スクロースと同等であり、100mM ソルビトールよりも多く単離された。このことから、雄原細胞の直接的な単離は、花粉を処理する溶液の浸透圧よりも糖質の種類による影響が大きいと考えられる。

糖質処理による雄原細胞の単離は、花粉由来プロトプラストを破壊する方法よりも短時間で行うことができる。これまでに、雄原細胞は花粉の発育段階によって核相が変動することを明らかにした。発育段階の異なる花粉から核相が n もしくは $2n$ の雄原細胞を単離し、これらを細胞融合することで $3n$ の細胞が得られることが期待される。また、雄原細胞を花粉から直接単離するため、同時に栄養細胞のみを含んだ花粉も得ることができる。現在は、この栄養細胞を活用した細胞融合も視野に入れて、雄原細胞の融合条件を検討している。