

液体培地によるイネ花粉の人工発芽の試み

小林和広*・園山博文

(島根大学生物資源科学部)

Liquid media for in vitro pollen germination in rice

Kobayashi, K. and Sonoyama, H.

(Faculty of Life and Environmental Science, Shimane University)

イネ花粉の人工発芽は Kariya(1989)による寒天培地が確立されている。しかし、この寒天培地は作り置きできないこと、35°C以上の高温下での花粉発芽率がきわめて低いことなどの問題が考えられる。小林ら(2003)は花粉の発芽率も高温不稔において重要である可能性を示唆している。このことから高温下でも利用でき、かつ調整の簡便な花粉人工発芽培地として、トウモロコシで実用化されている液体培地を利用できないかをいくつかの点について検討した。

Kariya(1989)の寒天培地(寒天 1%, ショ糖 20%)を対照として、液体培地はAylor(2004)のトウモロコシ用のものを基本とした。Aylorの培地の組成は 1Lの水に 300mgの $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、100mgの H_3BO_3 、222.5gのショ糖を溶かしたものである。1/5000aワグナーポットに円形 20 粒播種によって栽培したハナエチゼンとIR72 の 2 品種を花粉材料として供試した。花粉の発芽は 28°Cに設定した実験室で行った。

1. 花粉の散布方法(図 1)

葯が裂開する直前に葯を切除し、花粉を培地に散布するのがもっとも理想的である(山田 1964)。しかし、現実的にはそのような花粉をつねに採取するのは難しく、裂開直前とみなされる葯を採取して花粉を散布するしかない。液体培地では裂開前の葯を採取し、葯を針で裂くことによって花粉を取り出し、散布することが可能である。葯を裂開して得た花粉でも液体培地において高い発芽率を得られた。したがって、以降の実験では液体培地では葯を裂いて花粉を採取し、寒天培地では裂開直前の葯の花粉を散布した。

2. Aylor の液体培地における発芽率(図 2, 3)

液体培地はハナエチゼンにおいて寒天培地に匹敵する発芽率を得たが、IR72 では十分に高い発芽率を液体培地では得られなかった。液体培地においても寒天培地においても発芽率が高いときには花粉の破裂の割合も高かった。

3. ショ糖の濃度(図 4)

花粉の破裂は培地の浸透圧が花粉よりも低く、花粉に水が流入するために起こると考えられる。そこで液体培地のショ糖濃度を高めた。しかし、高いショ糖濃度では花粉の発芽率が低下した。

4. ホウ素、カルシウムの濃度(カルシウムについては図 2, 3. ホウ素のデータは省略)

Aylor の液体培地にはホウ素とカルシウムが含まれる。一方、Kariya の寒天培地にはホウ素だけが含まれる。そこでホウ素、カルシウムの濃度が花粉の発芽率に影響するのかを検討した。その結果、ホウ素は発芽に必須であること、カルシウムは必須ではないが、適正な濃度で存在する方が発芽率が高まることがわかった。

以上のことから、Aylor のトウモロコシ花粉用の液体培地はイネにおいても使える可能性が示された。Kariya の寒天培地ほど高く、安定した発芽率を得られなかったが、花粉採取と散布、および培地の調整の容易さから、さらなる改良を重ねれば実用的な花粉人工発芽培地として利用できるかもしれない。

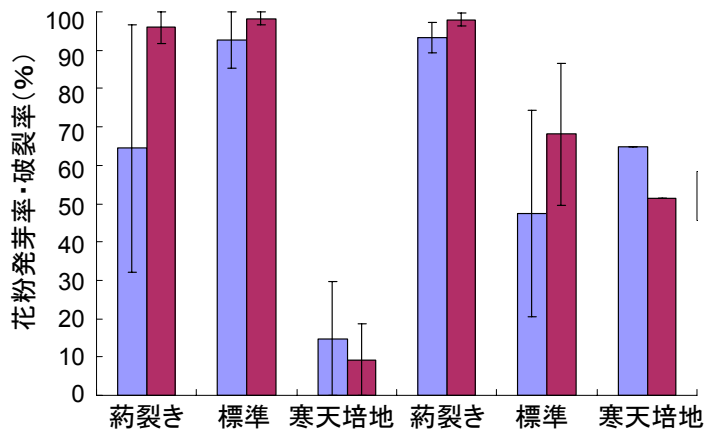


図1 花粉の散布方法と発芽培地の異なるハナエチゼンの花粉発芽率と破裂率. 左の3つは午前9時, 右の3つは午前11時に花粉を散布した. 薬裂きは裂開前の薬を針で裂いて, 花粉を取り出して液体培地に散布, 標準は裂開直前の薬を液体培地の入ったシャーレの壁面にたたいて花粉を散布, 寒天培地は寒天培地の上で花粉をたたいて散布した.

■ 発芽率
■ 破裂率

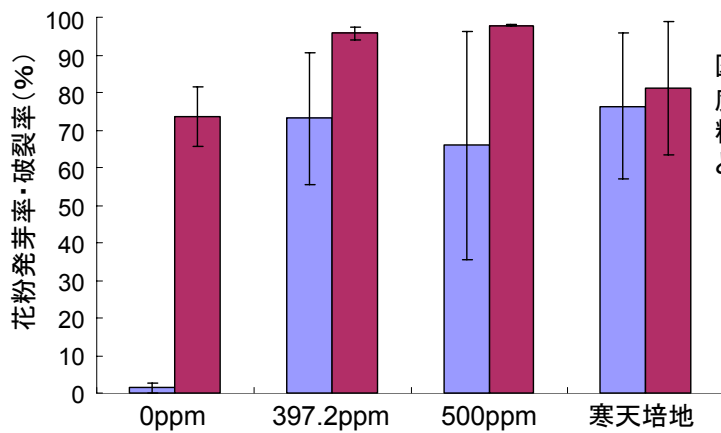


図2 液体培地におけるカルシウム濃度を変えた場合のハナエチゼンの花粉発芽率と破裂率. 寒天培地は対照として使用し, カルシウムは含まない.

■ 発芽率
■ 破裂率

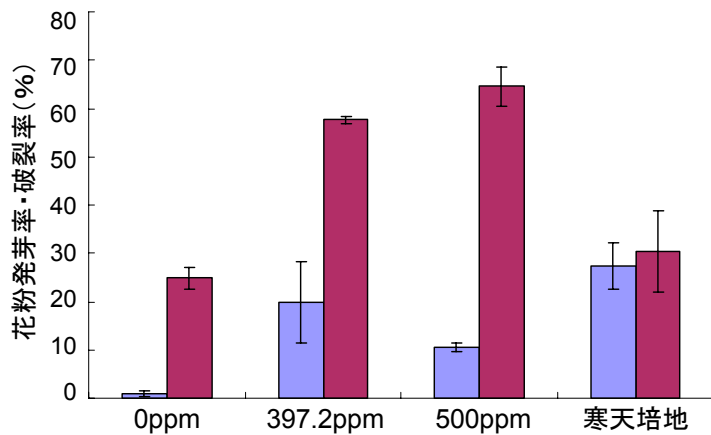


図3 液体培地におけるカルシウム濃度を変えた場合のIR72の花粉発芽率と破裂率. 寒天培地は対照として使用し, カルシウムは含まない.

■ 発芽率
■ 破裂率

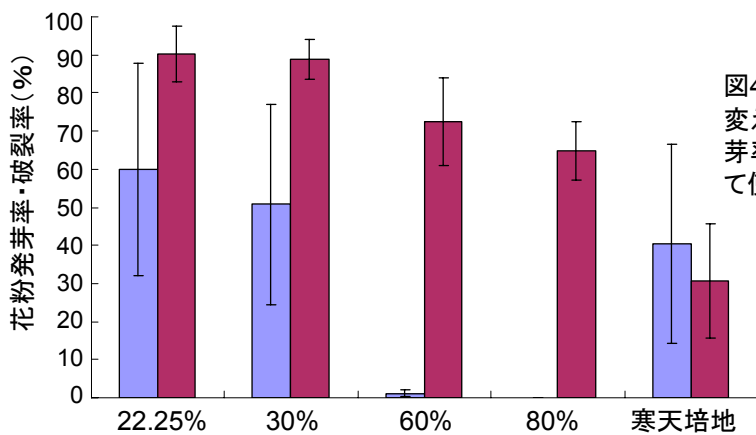


図4 液体培地におけるショ糖濃度を変えた場合のハナエチゼンの花粉発芽率と破裂率. 寒天培地は対照として使用した.

■ 発芽率
■ 破裂率