

試験管内受精法

丸 橋 亘*

実際の育種の場面や育種学の研究においては、自家不和合性あるいは交雑不和合性という現象がしばしばみられる。これらの制約を解消して自殖個体や雑種を得ようとする方法の一つに試験管内受精法がある。ここでは筆者が実験に用いているタバコ属植物を例に、その操作手順を紹介する。

試験管内受粉の前日に無菌花粉を得ておく。通常、開花前の花粉提供親の蕾を集め、その表面殺菌を行って、中から清浄な葯を取出すか、または葯自身の表面殺菌を行って花粉を得ている。実用上問題がないので筆者は最近この表面殺菌を省略している。すなわち、開花直前の蕾を集め、無菌室内で花弁を切開し、その花弁に触れないように葯をピンセットで取出す。この葯を滅菌済みの濾紙をしいたペトリ皿内に密封して 28°C に一晩置いて開葯させれば、ほとんど雑菌がまじることなく花粉が得られる。こうすれば、サラシコ水など表面殺菌に使う薬剤の悪影響を心配する必要がない。

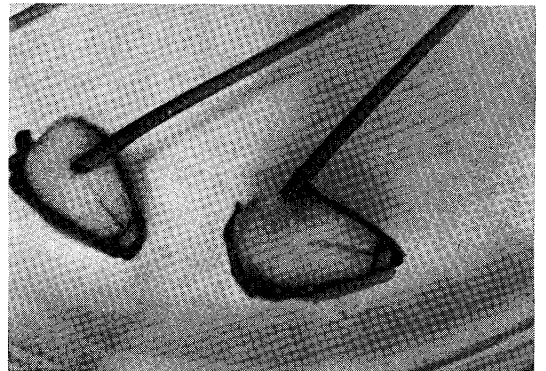
受粉当日には、あらかじめ除雄、袋かけをしておいた胚珠提供親の雌ずいを集め、花弁、がく片などを取除いて 70% エタノールに数秒、10% サラシコ水に 2~3 分浸して子房の表面殺菌を行う。その後、滅菌水でサラシコをよく洗い落とす。

筆者は、子房壁をむいて、胚珠が表面に密生した胎座を露出させ、この胎座ごと寒天培地に置床するようにしている。置床の仕方は用いる植物の雌性器官の形態によって異なるが、タバコ属植物の場合、その胎座を培地に垂直に植付けるよりは、水平に置いた方が（2つの胎座のうち片方は培地中に埋めてしまうことになるが）都合がよい。というのは、垂直に植えられた胎座の表面は胚珠の間隙を上ってきた培地浸潤液におおわれてしまい、これが試験管内受粉後、花粉管の胚珠への侵入を妨げる

おそれがあるからである。一方、水平に置かれた胎座では、切残された子房壁の一部が培地液の浸潤を防ぎ、上方の胎座は乾いた状態に保たれ、花粉管の胚珠への侵入を妨げない。

このように置床した胎座表面の胚珠に、あらかじめ用意した無菌花粉を散布して試験管内受粉を終わる。受粉用の培地は、胎座および受精胚珠の生長を支えるだけの成分を備えている必要があるので、筆者は、胚珠培養にもすぐれている Nitsch¹⁾ の培地を用いている。交配の組合せによっては、試験管内受粉後、受精胚珠の生長を継続させるために、胎座から胚珠を切り取り胚珠培養に移す必要がある（たとえば、*Nicotiana tabacum* × *N. rustica*, *N. tabacum* × *N. glauca* など）。

筆者は最近、受精率向上のために、Niimi²⁾ が考案した花柱受粉法について検討している。この方法は無菌的に得た花柱の柱頭に受粉してその花柱を未受粉の胎座に乗せかけて、やがて花柱切口から出てくる花粉管により受精を起こさせようとするものである。第1図には *N. tabacum* の自殖の場合を示した。花柱切口から出た活力のある花粉管は胎座および胚珠上に広がり、全胚珠（約



第1図 寒天培地上に水平に置かれた *Nicotiana tabacum* の未受粉胎座に *N. tabacum* の自家受粉した花柱を乗せかけたところ。花柱切口から多数の花粉管が現われ、胎座上に広がっている。

* Wataru MARUBASHI: The Technique of Test-Tube Fertilization
東京大学農学部育種学研究室 (〒113 東京都文京区弥生1-1-1)
Laboratory of Plant Breeding, Faculty of Agriculture,
University of Tokyo (Bunkyo-ku, Tokyo 113)

1,300個)の1割近くに侵入していることを確かめている。

を進めている。

(1984年7月10日受理)

自家不和合性克服が目的の場合には、和合性の柱頭にまず受粉しておいて、その花柱を未受粉の胎座に乗せなければよい。また、交雑不和合性克服が目的の場合には、花粉親の柱頭に自家受粉してその花柱を胚珠親の未受粉胎座に乗せなければよいのである。さらに胎座当りの花柱の本数を増やすことも考えられ、花粉を胚珠上に散布するよりも受精率を高められるものと期待して実験

文 献

- 1) Nitsch, J.P., 1972. Z. Pflanzenzüchtung, **67**: 3-18.
- 2) Niimi, Y., 1976. J. Jpn. Soc. Hort. Sci., **45**: 168-172.