

水稻4倍体の薬培養による復原植物の後代における変異

岸川 英利・高木 育・江頭 正義
山下 浩文・高森 幸光

(育種学研究室)

昭和60年10月15日 受理

Morphological Variations in the Progenies of Plants Regenerated from Anther Culture of Tetraploid Rice

Hidetoshi KISHIKAWA, Yutaka TAKAGI, Masayoshi EGASHIRA,
Hirofumi YAMASHITA and Yukimitsu TAKAMORI
(Laboratory of Plant Breeding)

Received October 15, 1985

Summary

So far, studies on the plants regenerated from anther culture of a diploid plant have been extensively carried out by many investigators, but those of a polyploid plant are very meagre. Here, the agronomical traits in the progenies (second generation, A₂, and third generation, A₃) of plants (first generation, A₁) regenerated from anther culture of colchicine induced tetraploid rice, *Oryza sativa*, L., were investigated statistically as compared with original plants.

Most of the plants (A₁) regenerated from anther culture of tetraploid plants were diploid, and the others slightly aneuploid ; such as trisomics, tetrasomics, pentasomics, tetraploid and hypertetraploid. The production of their aneuploid plants may be due to the differentiation of the pollen grains with various chromosome numbers based on the irregular distribution of chromosomes in the course of meiosis of autotetraploid. Tetra- and penta-somics and hypertetraploid were completely sterile and could not obtain their progenies.

Androgenetic diploid plants in A₂ were mainly characterized by the long culm, the increase of grains per panicle or panicle density, the decrease of seed fertility and the increase of rachis branch compared with original diploid plants. Even though there are genic segregation, these characteristics were also observed in A₃. This indicates that those are inheritable qualities.

Almost no significant differences were observed, on agronomical traits, between androgenetic and original tetraploid plants through two generations.

Androgenetic trisomic plants were mainly characterized by the short culm and the low seed fertility. The characters of diploid plants derived from the trisomic plants showed a similar variation to the androgenetic diploid plants.

Morphological variations mentioned above mere induced by the gene or polygene mutation in the process of anther culture.

緒 言

半数体は染色体倍加により直ちに純系を作り得るので、交雑育種における固定系統を得るに要する年限を短縮して労力や経費を節減することができる。

半数体の人为的誘導については古くより種々な方法が試みられてきたが効率的な方法は見出されなかつた。1960年代になり GUHA and MAHESHWARI^{3, 4, 5)}がアメリカチョウセンアサガオ (*Datura innoxia*) の薬培養により花粉粒から胚様体 (embryoid) を経て半数体を育成したのが始まりで、続いて中田・田中⁶⁾もタバコ (*Nicotiana tabacum*) で同様な経過で、また、新関・大野⁷⁾はイネ (*Oryza sativa*) で薬培養により花粉粒からカルスを経て半数体が得られたことを明らかにした。その後、育種学的利用上の観点から、広範に薬培養により半数体の作出が試みられるようになり多くの成果を挙げている。

一方において、薬の培養途上において染色体の数的変異による倍数体や異数体及び葉緑体突然変異その他の突然変異が起ることが報告されている^{1, 8, 12, 13)}。培養による突然変異の出現は、薬培養のみならず組織培養においても多数報告されていることから、培養により突然変異を積極的に誘導して育種的に利用する研究も行われている。

従来の薬培養は、ほとんど2倍体植物に限られており、同質倍数体の薬培養は極めて少ない。同質倍数体においては、減数分裂における染色体分離が不規則なため、数的にも従つて遺伝子的にも異常な花粉を生ずる。このような花粉を培養すれば、異数体や種々の変異体を誘導することが可能であり、遺伝学的育種学的研究材料として役立つことが大きいと考えられる。

このような観点から、本研究では、水稻のコルヒチン処理によって得られた同質4倍体を用いて薬培養を行つた。薬培養により復原した植物では、異数体は予期に反しきわめて少なかつたが、復原植物は原植物と比較して種々の形質の変異を示した。ここではこれらの復原植物の形態特性の変化について二世代にわたって調査した結果を報告する。

材料及び方法

本研究に供試した水稻同質4倍体の品種は、「宝」及び「農林29号」である。これらの品種は、高木らがさきに¹⁵⁾8品種の同質4倍体の薬培養について品種間比較して行った結果によりカルス形成率の比較的高かった品種である。

薬培養に当つては、基本培地としてMillerの培地を用い、カルス形成には2mgの2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) を加えたもので、またカルス組織からの再分化には2,4-Dを除いたもので培養した。培養管として径30mmの試験管を用い、斜面培地としてその表面に一核期の花粉を含む薬を置床した。次いで薬から露出したほぼマッチ棒の頭大になったカルスを再分化用培地に植付けた。培養はすべて25°Cの定温器で行ない、カルス形成までは暗黒下で、また再分化は長日照明下においていた。

再分化した幼植物は、葉緑体変異個体を除き緑色植物について本葉が2~3枚に展開次第、隨時、培養管から取出し殺菌したバーミキュライトを培土とした小鉢に移して水耕した。さらに本葉が5~6枚に展開した健全な幼植物をポットに移植した。

これらの復原した植物 (A₁世代) については、薬を採取した原4倍体品種が普通期栽培であることもあって、薬の置床からカルス形成まで、さらにカルスの植付けから再分化までの培養期間が長期にわたるため A₁植物の生育が遅延し、かつ不揃で成熟も冬期にかかるので、気温の低下に伴い復原植物のほとんどは温室で栽培した。これらの復原植物は生育途中枯死したもの

Table 1. Chromosome numbers ($2n$) of plants (A_1) regenerated from pollen calluses.

Varieties	24	25	26	27	48	51
Takara	3		1	1		
Nōrin No. 29	16	2			2	1

を除き Table 1 に示すように、ほとんど 2 倍体であり、その他に若干の 4 倍体及び異数体であった。しかし、温室の環境では生育も正常ではなく A_1 植物についての厳密な特性比較調査は不可能であるので取敢えず着粒し成熟した種子 (A_2 世代) を採取した。中には出穂しないため株保存により越冬させ翌年採取したものもある。このように採種の時期も不揃があるので、採取した種子は 1 ~ 2 年低温貯蔵しておき、1982 年 A_2 世代について系統別に一せいに播種し栽培した。復原植物の中、異数体の $2n = 26, 27$ 及び 51 の各個体は完全不稔で種子が得られなかつた。従って、供試した復原系統は「宝」では 2 倍体の 3 系統、「農林 29 号」では 2 倍体が 10 系統、4 倍体が 2 系統、三染色体植物が 2 系統である。

A_2 系統の形質の変異が一時的なものか否かを確めるため、個体ごとに採種して 1983 年、第 3 代 (A_3) の系統についても調査した。

栽培に当っては、1982 年 6 月 4 日播種、7 月 2 日移植、1983 年は 5 月 30 日播種、6 月 30 日移植で、試験区は両年とも 1 区各系統 60 個体の 2 回反覆とした。栽培管理は育種学研究室の慣行に従つた。三染色体植物 ($2n = 25$) は管理上コンクリート枠水田にて栽培した。

調査形質は、出穂期、稈長、穗長、一株穂数、一穂粒数、稔実歩合、穗密度（一穂粒数／穗長）、第一次枝梗数、第二次枝梗数、一穂重 (A_3 系統) である。このうち稔実歩合は完全粒のみで不稔粒及び登熟不良による不完全粒は除いた。そして、特性調査のデーターは分散分析を行い、原植物及び系統間の比較はステューデント化された範囲による多重検定を行つた。

復原植物の染色体数の決定に当つては、根端細胞は α -bromonaphthalene の飽和水溶液で前処理後、酢酸アルコール (1 : 3) で固定、花粉母細胞も同液で固定し、染色は何れも Snow's carmine¹⁴⁾ を用い、おしつぶし法で観察した。

結 果

1. 復原 2 倍体植物の後代の特性

(1) 「宝」

復原した 2 倍体植物 3 系統の後代の A_2 世代及び A_3 世代における諸形質の変異を原 2 倍体品種と比較して Table 2 に示す。

A_2 系統 (1982 年)において、原品種と比較すると、出穂期は遅延し (特に T-1 系統は著しかつた)、稈長は長くなり穗長は短かくなつたが穗数には有意な差はなかつた。特徴的なののは一穂粒数の増加とそれに伴つて穗密度の増加である。この密穗系統 (T-1) と原品種との比較を Fig. 1 に示す。粒数の増加は枝梗数特に二次枝梗数の著しい増加に基づくものである。しかし、その反面稔実歩合がかなり低下した。 A_3 系統 (1983 年) においても、 A_2 世代と同様に、T-1 系統の出穂期の遅延、3 系統とも長稈化、短穗化、一穂粒数、穗密度及び枝梗数の増加、稔実歩合の低下が認められる。このように復原系統の諸形質が二世代にわたつて同様な傾向を示したことは、これらの形質は遺伝的特性であると考えてよからう。また、 A_3 系統では一穂重を測定したが、一穂粒数の著しい増加にもかかわらず有意な差異は認められなかつた。これは密粒のため

Table 2. Comparison of characters among progenies of diploid plants regenerated from anther culture of tetraploid rice, "Takara".

Variety & Strain	Heading date	Culm length (cm)	Panicle length (cm)	No. of panicles per plant	No. of grains per panicle	Seed fertility (%)	Panicle density †	No. of primary branch per panicle	No. of secondary branch per panicle	Panicle weight (g)
Second generation (A ₂ , 1982) :										
Takara	Sept.4	91.3	21.4	16.0	106.5	91.1	5.0	8.2	21.2	—
T-1	Sept.10*	113.4*	18.3*	15.3	175.5*	72.6*	9.6*	10.8*	38.1*	—
T-2	Sept.6	104.8*	19.4*	17.7	150.0*	52.3*	7.8*	10.2	31.7*	—
T-3	Sept.6	109.7*	19.2*	19.5	124.0*	70.6*	6.5*	9.0	26.2*	—
Third generation (A ₃ , 1983) :										
Takara	Sept.1	92.9	21.4	19.3	134.7	85.6	6.3	10.6	26.5	2.62
T-1	Sept.5*	115.5*	20.1	15.5	192.8*	62.1*	9.6*	11.5*	41.6*	3.13
T-2	Aug.31	107.4*	20.0	17.1	164.8*	56.2*	8.3*	10.1	36.1*	2.59
T-3	Aug.30	111.4*	19.3*	17.4	153.7*	55.4*	8.0*	9.6*	33.4*	2.38

†: No. of grains/Panicle length.

*: Significant at 5% level in Student's multiple range test between variety and strain.

Seeding: June 4, 1982; May 30, 1983.

Transplanting: July 2, 1982; June 30, 1982.

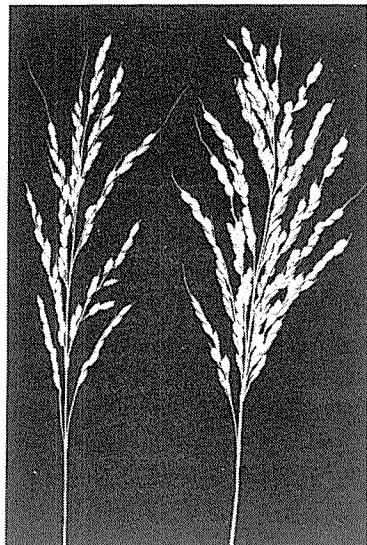


Fig. 1. Comparison of normal (left) and dense panicle (right). (Variety: Takara)

Table 3. Significant difference among diploid strains in different characters. (Variety: Takara)

A₂ (1982) :

T-2	T-3	Strain
A E F G I	A E G I	T-1
E F G I	T-2	

A₃ (1983) :

T-2	T-3	Strain
A B E G H I	A E G H I	T-1
H I	T-2	

A : Heading date
 B : Culm length
 C : Panicle length
 D : No. of panicles
 E : No. of grains

F : Seed fertility
 G : Ear density
 H : Primary branch
 I : Secondary branch
 J : Panicle weight

Significant at 5% level in Student's multiple range test.

登熟不良に因る完全粒数の減少に基づくものと考えられる。

次に諸形質に関して原品種と有意差のあった復原系統が、系統間においても真に特異な系統として認められるか否かを確かめるために、ステューデント化された範囲による多重検定で比較した結果を Table 3 に示す。

A₂世代において、一穂粒数、穗密度及び二次枝梗数について各系統間に有意な差が認められる。系統間に全く有意差がないのは稈長、穂数及び一次枝梗数である。また、T-1 系統の出穂

期は他の2系統と有意に遅延した。A₃世代においては、一次及び二次の枝梗数について各系統間に有意差がある。T-1系統は他の2系統と比較して出穂期、一穂粒数、穂密度、一次及び二次枝梗数について有意な差が認められる。二世代を通じて各系統間の有意差のある形質に若干の相異があるのは、両年の栽培環境の相異や遺伝的分離によるものと考えられる。それにもかかわらず、T-1系統は復原系統の中でも特異な系統であるということができよう。

(2) 「農林29号」

農林29号の復原2倍体系統の諸特性を原2倍体品種と共にTable 4に示す。本表においてA₃世代の中でN-2及びN-17の両系統はA₂世代の三染色体植物から派生したいわば二次的な2倍体系統で、他の系統とともに水田に普通栽培したものである。

A₂においては、出穂期に関して遅延したN-12系統を除き原品種と有意差はなかった。稈長は、短稈化したものや長稈化したものがあり、特にN-1系統は短稈、N-12系統は著しく長稈であった。後者の稈長はやや短かくなかった。

穂数はN-1系統ではかなり減少したが、他の系統ではやや増加した。特に一穂粒数はすべての系統において「宝」と同様に著しく増加した。これは枝梗数の著しい増加に基づくものである。その反面、稔実歩合が一般に低下し、特にN-12系統で著しかった。

Table 4. Comparison of characters among progenies of diploid plants regenerated from anther culture of tetraploid rice, "Norin No. 29".

Variety & Strain	Heading date	Culm length (cm)	Panicle length (cm)	No. of panicles per plant	No. of grains per panicle	Seed fertility (%)	Panicle density †	No. of primary branch per panicle	No. of secondary branch per panicle	Panicle weight (g)
<i>A₂ (1982) :</i>										
Norin 29	Sept.1	90.8	22.0	16.3	113.5	93.3	5.2	8.5	22.9	—
N-1	Aug.31	85.3*	25.5	11.6*	194.0*	83.9	7.7*	10.4*	39.1*	—
N-3	Aug.30	94.8	22.7	16.1	153.5*	77.7*	6.8	11.1*	27.8	—
N-4	Aug.30	99.0*	24.0	16.4	158.5*	85.5	6.6	11.1*	28.3	—
N-7	Aug.29	100.4*	22.2	17.1	149.0*	88.3	6.3	11.6*	27.6	—
N-11	Sept.1	93.6	20.7	16.1	144.5*	87.6	7.0*	11.7*	26.2	—
N-12	Sept.6*	119.8*	18.1*	19.1	145.5*	63.6*	8.1*	11.2*	31.1	—
N-13	Sept.1	91.6	21.5	18.1	148.5*	87.3	7.1*	11.5*	26.5	—
N-14	Aug.27	87.1	23.1	17.5	136.5*	89.3	5.9	10.4*	25.1	—
N-15	Aug.27	88.1	22.6	17.9	127.5	89.3	5.6	10.5*	23.2	—
N-16	Aug.31	91.0	22.0	17.1	145.5*	88.4	6.8*	10.7*	25.0	—
<i>A₃ (1983) :</i>										
Norin 29	Sept.2	93.8	21.5	19.1	124.9	84.3	5.8	10.3	23.9	2.77
N-1	Aug.28	89.4	24.5*	11.4*	217.1*	74.0*	8.9	10.9	42.3*	4.09
N-2	Aug.28	100.5	21.9	15.3	215.2*	62.3*	9.9*	12.0	41.9*	3.02
N-3	Aug.27	100.8	23.5	16.6	184.4	70.6*	7.9	11.9	32.7	3.18
N-4	Sept.1	103.5	24.0*	16.8	167.1	77.5	7.0	12.0	29.8	3.24
N-7	Aug.30	108.5*	23.5	15.6	170.1	80.9	7.3	12.0	32.3	3.60
N-11	Aug.30	98.9	22.0	16.0	143.4	84.3	6.5	11.3	27.2	2.88
N-12	Sept.3	120.8*	19.6*	17.0	164.9	52.3*	8.3	10.1	36.0	2.61
N-13	Aug.30	100.8	24.1*	15.5	182.0	79.0	7.6	11.8	33.7	3.58
N-14	Aug.30	95.6	23.7*	16.1	163.9	83.5	6.9	11.3	29.1	3.22
N-15	Aug.29	91.5	23.5	14.6	157.9	79.0	6.7	11.0	28.5	3.09
N-16	Fug.31	103.3	23.9*	15.1	178.6	79.3	7.5	11.8	32.4	3.60
N-17	Aug.24*	97.7	24.3*	12.6*	230.5*	56.5*	9.5*	11.9	45.8*	3.41

Note: Refer to Table 2.

A_3 系統においては、出穂期はN-17系統で早くなつた以外は原品種と大差なかつた。稈長はN-1系統はやや短かく、N-12系統は長稈で、他の系統についても A_2 世代と同様な傾向を示した。穂長はN-12系統で A_2 世代と同様に短くなつたが、他の系統はすべて長くなつた。穂数は全般的に減少し、N-1及びN-12系統では著しく、 A_2 世代とは逆の傾向を示した。一穂粒数は「宝」や A_2 世代と同様に著しく増加し、特にN-1、N-2及びN-17では200を超えていた。それに伴つて穂密度も増大した。これらは枝梗数の増加によるものである。稔実歩合は低下の傾向があり、特にN-12系統は著しかつた。一穂重は粒数の著しい増加にもかかわらず原品種と差異はない、これも「宝」品種と同様な原因に因るものである。

つぎに、諸形質について各系統間の有意差を検定した結果を Table 5 に示す。

A_2 世代において、特にN-1系統は穂数の減少、一穂粒数の増加及び二次枝梗数の増加に関して、またN-12系統は出穂期の遅延、長稈、穂数の減少及び低稔実歩合に関して全系統と有意な差がある。 A_3 世代においては、N-1系統は穂数の減少、N-2系統は穂長の短縮と低稔実歩合、

Table 5. Significant difference among diploid strains in different characters. (Variety: Norin No. 29)

A₂ (1982) :

A₃ (1983) :

N - 2	N - 3	N - 4	N - 7	N - 11	N - 12	N - 13	N - 14	N - 15	N - 16	N - 17	Strain
D C F	D	D	D	D C F	B C D F	D	D F	D	D	F	N - 1
C F	C F	C F	F	B C F	C F	C F	C F	C F	C F	C F	N - 2
F	F	C F	B C F	F	F	F	F	F	F	F	N - 3
			B C F							F	N - 4
	C	B C F								F	N - 7
	B C F					C				F	N - 11
	B C F				B C F	B C F	B C F	B C F	B C		N - 12
									F		N - 13
										F	N - 14
										F	N - 15
										F	N - 16

Note: Refer to Table 3.

N-3 系統は低稔実歩合, N-12 系統は長稈, 穂長の短縮及び低稔実歩合, N-17 は低稔実歩合に関して他のほど全系統と有意に異なっていた。両世代間に、形質の系統間差異について異なるのは、栽培環境の相異や遺伝的分離に加えて、N-2 及び N-17 両系統が加わったため分散の変化にも基づくものと考えられる。

2. 復原4倍体植物の後代の特性

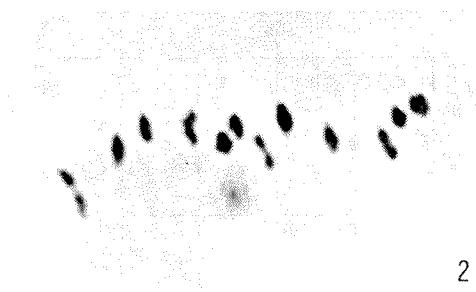
復原植物の4倍体は「農林29号」から派生した2個体である。この4倍体は培養の過程で自然に倍加したものと考えられる。これらの特性は原4倍体品種と比較して Table 6 に示す。

A₂世代において、N-5 系統では原4倍体品種よりも出穂期の遅延、稈長の伸長及び穂数の減少の傾向が認められた。この三形質は A₃ 世代では有意な差となって表われた。また A₃ 世代の N-6 系統で特に穂数の有意な増加を示した。その他の形質については両世代とも原4倍体品種と大きな差異は認められなかった。

Table 6. Comparison of characters among progenies of tetraploid plants regenerated from anther culture of tetraploid rice, "Norin No. 29".

Variety & Strain	Heading date	Culm length (cm)	Panicle length (cm)	No. of panicles per plant	No. of grains per panicle	Seed fertility (%)	Panicle density †	No. of primary branch per panicle	No. of secondary branch per panicle	Panicle weight (g)
A₂ (1982) :										
Norin 29	Aug. 28	71.4	25.5	9.4	116.5	42.1	4.6	8.7	19.2	—
N-5	Sept. 2	76.4	26.3	7.6	126.5	49.5	4.9	8.8	19.4	—
N-6	Aug. 29	73.8	26.4	9.4	114.0	32.9	4.3	9.2	20.7	—
A₃ (1983) :										
Norin 29	Aug. 27	68.6	25.1	12.9	120.6	31.3	4.7	9.0	22.8	2.23
N-5	Sept. 5*	78.3	26.1	8.0*	124.0	37.7	4.7	10.6	22.2	2.53
N-6	Aug. 27	68.6	25.8	17.2*	107.9	25.6	4.1	9.3	18.6	1.83

Note: Refer to Table 2.



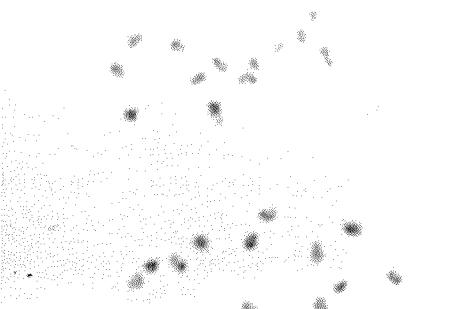
2

Fig. 2. Meiotic metaphase I (12_n) in diploid plant.



3

Fig. 3. Meiotic metaphase I ($12_n + 1_1$) in trisomic plant.



4

Fig. 4. Meiotic anaphase I (12 - 13 distribution) in trisomic plant.

Table 7. Variations of culm length and seed fertility in trisomic plant (1982).

2n	Culm length (cm)										Total	Mean	Control	
	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95				
24					5	6	17	16	8	2	2	56	80.7	87.7
25	10	10	1	3	4						28	59.1		
2n	Seed fertility (%)										Total	Mean	Control	
	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100				
24						1	5	12	32	6	58	81.6	86.3	
25	2	7	8	10	1						28	35.4		

Note.....Variety: Nōrin 29.

Table 8. Comparison of characters among progenies of trisomic plants regenerated from anther culture of tetraploid rice, "Norin No. 29".

Chromo-some number (2n)	Heading date	Culm length (cm)	Panicle length (cm)	No. of panicles per plant	No. of grains per panicle	Seed fertility (%)	Panicle density †	No. of primary branch per panicle	No. of secondary branch per panicle	Panicle weight (g)
<i>A₂</i> (1982) :										
24	Aug.27	80.7	20.2	16.3	147.6	81.6	7.3	10.0	27.8	—
25	Aug.27	59.1*	18.9	15.9	116.7	35.4*	6.2	9.4	26.4	—
<i>A₃</i> (1983) :										
24	Aug.28	88.6	21.9	15.3	159.3	83.1	7.3	12.0	34.5	3.02
25	Aug.28	62.0*	15.9*	18.3	94.2*	55.6*	5.9	8.3*	15.3*	1.62*

Note: Refer to Table 2.

Strain of trisomic plants: N-2 and N-17.

3. 復原三染色体植物の後代の特性

本系統は「農林29号」から派生した2系統(N-2及びN-17)である。三染色体植物は花粉母細胞の減数分裂において常に染色体の不等分離(Fig. 4)を起すのでその後代は毎代染色体数を調査する必要があり管理上コンクリート枠水田で栽培した。そして生育中に根端及び花粉母細胞で染色体数を確認した上でプロット内で個体を区別して特性を調査した。

三染色体植物の後代には理論的に体細胞染色体数(2n)が24, 25及び26の3種類が出現する。観察した範囲において2n=26の個体は両世代とも僅少かつ不稔であったので調査から除外した。2n=25(Fig. 3, 4)の個体は両世代とも個体数が少なかったので2系統の個体を合せて調査した。

Table 7及び8によると、三染色体植物(2n=25)は正常の2倍体植物と比較して、短稈で一穂粒数が少なく高不稔であることが特徴である。このことは三染色体植物後代の同一プロット内で細胞学的に染色体数を確認することなく形態的に2n=24と2n=25の個体を区別する指標となる。また、三染色体植物より派生した2倍体は枝梗数が多く密粒である点において、直接復原した2倍体系統と同様な特性を示した。

考 察

薬培養は半数体作出が主目的であるが、一般に半数体とともに倍数体や異数体も出現することが知られている。このことは *Datura* や *Nicotiana* におけるように花粉から直接胚様体が形成されて器官を分化する場合でも、イネにおけるように花粉がまずカルス化して、そのカルスから器官分化を行う間接的な場合でも同様である。イネにおいて、NISHI and MITSUOKA¹⁰⁾は2倍体品種の薬及び子房の培養により半数体のほかに2倍体、3倍体、4倍体及び5倍体の復原植物を得、また大野¹²⁾は2倍体品種及びF₁雑種の薬培養により半数体とともに2倍体、3倍体、4倍体及び若干の異数体(2x+1)を得ている。

一方、薬培養によるカルス化とその増殖過程において、従来の体細胞組織由来のカルスで多数観察されているのと同様に、染色体の数的変異が見出されている。大野^{11, 12)}はイネのカルスで2n=3から114までの間に、新闇¹²⁾はライムギで2n=1から60にわたり倍数性細胞のみならず高頻度に各種の異数性細胞を観察している。また島田¹³⁾はコムギ(2n=42)の花粉由来カルスで2n=20から48までの細胞を観察し品種によって異なることを報告している。このようなカルス細胞が再分化することによって倍数体や異数体が出現する。しかしながら、染色体の数的異常を有する細胞は培養過程中に正常細胞との細胞間競合により大部分死滅し、全能性(totipotency)の高いものだけが生き残り、実際に成体までに発達するのはごく少数である。

倍数体の薬培養において、異数体の出現は上述のカルス形成過程における異数性細胞に因るほか、倍数体の減数分裂における染色体の不規則分離による異数性花粉に基づくことが考えられる。実際に NIIZEKI and KITA⁸⁾はタバコ(*Nicotiana tabacum*)の3倍体や4倍体の薬培養により多数の異数性の復原植物を得ている。これはほとんど異数性花粉に基づくと考えられている。本研究において水稻同質4倍体の薬培養により若干の異数体が出現している。これは、水稻で従来報告されている2倍体植物の薬培養からの異数体の出現頻度より、本研究におけるその頻度が高いことから異数性花粉に基因すると考えてよかろう。異数性植物の出現頻度は、植物の種類により、また同質倍数体か異質倍数体(コムギやタバコ)によっても相異があるようである。

薬培養による復原植物についての特性調査は、従来、2倍体由来の復原植物について行われたもので4倍体由来の復原植物は本研究以外には全く報告がないようである。4倍体の薬培養により復原した植物は当然その半数の2倍体である。本研究でこの復原2倍体系統を原2倍体品種と比較して特性調査を行った結果、量的形質について統計学的に有意な差でかなりの変異が見出された。これらの変異は、カルス形成及び再分化の培養過程において培地の構成物質の何らかの作用により突然変異が生じたことを示すものである。それも単純な遺伝子突然変異ばかりでなく、ポリジーンの突然変異の可能性も考慮すべきであろう。この事実は、薬培養は、組織培養と同様に、突然変異の誘発原となり得ることを示すものである。復原2倍体植物の形質によっては品種間及び系統間に若干の差異があるが、全般的に特徴的なのは、一次、二次枝梗数の増加とそれに伴う穂数の激増による密穂系統の出現である。また稔実歩合の低下は、穂数が多くなれば登熟歩合が低下するという一般的性質に因るものである。これらの特性は二世代にわたって認められたことから遺伝的であると考えられる。注目すべきは復原三染色体植物より二次的に派生した2倍体においても全く同様な特性を有していることである。一方、復原4倍体では原4倍体品種とほとんど差異は認められない。これはゲノムの倍加による生理的緩衝作用のためその発現が抑制されたものであろう。

「密穂」は FUTSUHARA, et al.²⁾によれば、单劣性変異であることが推定され、関与遺伝子記号

をdnとし、このdn遺伝子は一次、二次枝梗数を増加する作用をもつという。本研究において全く同様な特性を示したことは、培養中に「密穂」への遺伝子突然変異が起り、ほぼ固定したものと考えられる。

「密穂」すなわち穂数の増加は一般に多収に直接関与するもので多収稻育成に期待されるところである。しかしながら、本研究においても理解させるように稔実歩合の低下が難点である。その原因として一つに密穂系統の花粉稔性を調査したところ、原2倍体品種との間に差異は認められなかつたことから、減数分裂は正常に行われ配偶子形成の異常による不稔ではないことが分った。とすれば他の一つとして生理的原因が考えられる。すなわち、茎葉で光合成された、いわゆるソース(source)としての同化生産物(炭水化物)の量の不足により、密粒のためシンク(sink)としてのすべての穂への転流が不充分なため登熟歩合の低下を来たることが大きいと考えられる。その登熟歩合の向上のためには、同化能力の増進、あるいは穗揃い期追肥など栽培管理の検討が必要である。

摘要

水稻同質4倍体(品種:宝、農林29号)の薬培養により、2倍体のほかに若干の4倍体及び異数体の復原植物が得られた。本研究はこれら復原植物(A₁)の後代系統における形質の変異について2世代にわたって調査した。

1) 復原2倍体の第2代系統(A₂)において、原2倍体品種と比較して、「宝」では稈長の伸長、穂長の短縮、穂数の著しい増加、稔実歩合の低下、穂密度の増加、二次枝梗の増加が認められた。また「農林29号」でも稈長が長くなった傾向を示し、穂数の増加と一次枝梗数の増加が認められた。形質の変異は両品種間で若干異なるが、共通していることは長稈化、穂数の著しい増加及び稔実歩合の低下である。穂数の増加は「宝」では二次枝梗数、「農林29号」では一次枝梗数の増加に因ると考えられる。また、稔実歩合の低下は穂数の増加に伴う登熟歩合の低下に因るものである。

2) 両品種の第3代系統(A₃)においても、原2倍体品種と比較して、両年の栽培環境の相異や遺伝的分離にもかかわらず、A₂と同様な形質の変異を示した。特徴的なのは一次、二次枝梗数の増加に伴う穂数の増加である。これは遺伝的特性であると考えられる。

3) 農林29号からの復原4倍体と原4倍体品種との比較では、両世代とも形質について有意な差は見出されなかった。

4) 農林29号からの復原三染色体植物は正2倍体品種と比較して短稈と低稔性によって特徴づけられる。本植物から二次的に派生した2倍体は直接派生した復原体の形質と同様に一次、二次の枝梗数の増加に伴う一穂穂数の著しい増加を示した。

以上の如く、4倍体の薬培養により復原した植物が染色体の数的変異ばかりでなく、形態的に著しい変異を示したのは、薬培養の途上で高頻度で突然変異が誘導されたことに基づくと考えられる。これは薬培養は突然変異の誘発原となり得ることを示唆するものである。

引用文献

- 1) 藤田米一・内山田博士(1983). 水稻品種日本晴の薬培養による復元系統の変異について、育雑33別冊1, 188-189.
- 2) Futsuhara, Y., S. Kondo and H. Kitano (1979). Genetical studies on dense and lax panicles in rice.

- II. Character expression and mode of inheritance of dense panicle rice. *Japan. J. Breed.* **29**, 239-247.
- 3) Guha, S. and S. C. Maheshwari (1964). *In vitro* production of embryos from of *Datura*. *Nature* **204**, 497.
- 4) _____ and _____ (1966). Cell differentiation of embryos in the pollen grains of *Datura in vitro*. *Nature* **212**, 97-98.
- 5) _____ and _____ (1967). Development of embryoide from pollen grains of *Datura in vitro*. *Phytomorphology* **17**, 454-461.
- 6) 中田和男・田中正雄 (1968). 薬の組織培養による花粉からのタバコ幼植物の分化, 遺雑 **43**, 65-71.
- 7) 新関宏夫・大野清春 (1968). 薬培養によるイネ半数体の育成. 農業技術 **23**, 327-328.
- 8) Niizeki, M. and F. Kita (1975). Production of aneuploid plants by anther culture in *Nicotiana tabacum*. *Japan. J. Breed.* **25**, 52-58.
- 9) 新関 稔 (1981). ニコチアナ属植物の各種倍数体および異数体の薬培養. 育雑 **31**, 別冊2, 56-57.
- 10) Nishi, T. and S. Mitsuoka (1969). Occurrence of various ploidy plants from anther and ovary culture of rice plant. *Japan. J. Genetics* **44**, 341-346.
- 11) 農林水産技術会議事務局 (1974). 薬培養技術の確立に関する研究. 108-116.
- 12) 大野清春 (1975). イネの薬培養による半数体の作出とその育種的利用. 農技研報D **26**, 139-222.
- 13) 島田多喜子 (1981). 小麦花粉カルスおよびその再分化植物の染色体構成. 育雑 **31**, 別冊2, 50-51.
- 14) Snow, R. (1963). Alcoholic hydrochloric acid-carmine as a stain for chromosomes in squash preparations. *Stain Technology* **38**, 9-13.
- 15) 高木 胖・岸川英利・江頭正義 (1982). イネ4倍体の薬培養. 佐賀大農彙 **52**, 41-47.