

水稻の穂培養による効率的植物体作出法の検討

第1報 低温処理日数並びに再分化培地の検討

佐々木 力・石川 洋・新田 政司*・木内 豊

(岩手県立農業試験場・*岩手県農政部)

Improvement of Procedure for Plant Regeneration from Panicle Culture of Rice

1. Effect of chilling pretreatment and regeneration medium

Tsutomu SASAKI, Hiroshi ISHIKAWA, Masashi NITTA* and Yutaka KIUCHI

(Iwate-ken Agricultural Experiment Station・*Agricultural Policy Division)
of Iwate-ken Government Office

1 はじめに

水稻の穂培養は早期に固定系統を得る方法として育種に利用されている。しかし従来の培養法(二段階培養法)では穎花の中から葯を1個ずつ取り出して培地に置床するため、培養作業に多大な労力を要している。労力を軽減する方法として穂培養法¹⁾が考案されているが、再分化率が低いことから実用化するには更に効率よく植物体を形成させる必要がある。

穂培養において再分化率を向上させる方法として、穂の培養前の低温処理やアミノ酸等の培地への添加が検討されている。

そこで本報では穂培養法の再分化率の向上を目的として、低温前処理日数と再分化培地について検討した。

2 試験方法

材料には水稻品種日本晴を用いた。葉耳間長が6~7cmに達した穂を採取し、10℃で10日間又は20日間低温処理した。

滅菌方法及び培養方法はToriyama and Hinata(1985, に準じた¹⁾。すなわち、低温処理した穂を70%エタノールに10秒間浸漬し、引き続き2%次亜塩素酸ナトリウムに20分間浸漬した。その後滅菌水で3回水洗した。滅菌後AA培地を20ml分注した100mlフラスコに30個の穎花を枝梗につけたまま入れ、120r.p.m.で10週間液体振盪培養した。低温処理区ごとの培養フラスコ数は各区15個とした。形成されカルスは穂培養法で用いられている再分化培地(RAR)と従来の葯培養法で用いられている二段階培養法の再分化培地(N₆ + IAA_{0.2}mg/l + kinetin 1mg/l, 以下N₆と略称)及びN₆にカザミノ酸を1, 2, 4g/l添加した寒天固形培地に移植し、8週間培養した。培養条件は28℃で、16時間日長とした。

再分化した個体は温室で栽培して出穂させ、稔実の有無を調査した。

3 試験結果及び考察

低温処理別のカルスの形成状況を表1に示した。カルス

の形成日数は10日区が20日区よりもわずかに早かった。カルスの形成率は10日区が35.1%, 20日区が39.7%で20日区が10日区に優った。形成されたカルスは表2に示した再分化培地に移植した。低温処理別に再分化率の状況をみると、緑色個体形成率は、5種類の培地の平均で10日区は対葯比が1.0%, 対カルス比が3.0%であるのに対し、20日区はそれぞれ2.4%及び6.2%と10日区よりも高い値を示した(表3)。培地別に再分化率を比較すると10日区ではN₆培地およびN₆にカザミノ酸を添加した培地がRAR培地よりも高かった。20日区ではその差が更に顕著となっており、

表1 水稻の穂培養における低温処理日数がカルス形成に及ぼす影響

低温処理 日 数	供試葯数 ¹⁾	カルス形 成日数 ²⁾	カルス形成	
			数	率 ³⁾ (%)
10	2700	45.3	948	35.1
20	2700	47.5	1071	39.7

注. 1): 穎花数×6葯から算出した。

2): 各区ともフラスコ15個の平均値

3): 供試葯数に対する比率

表2 低温処理並びに培地組成別の供試カルス数

No.	低温処理 日 数	基本培地	カザミノ 酸 濃 度 (g/l)	供 試 カルス数
1	10	RAR	4	192
2	10	N ₆	0	189
3	10	N ₆	1	189
4	10	N ₆	2	189
5	10	N ₆	4	189
				計 948
6	20	RAR	4	216
7	20	N ₆	0	216
8	20	N ₆	1	219
9	20	N ₆	2	210
10	20	N ₆	4	210
				計 1071

表3 低温処理と培地組成が再分化に及ぼす影響

No	緑 色 個 体			稔 実 個 体		
	数	形 成 率		数	形 成 率	
		対 葯 比 (%)	対 カ ル ス 比 (%)		対 葯 比 (%)	対 カ ル ス 比 (%)
1	3	—	1.6	1	—	0.5
2	7	—	3.7	2	—	1.1
3	7	—	3.7	1	—	0.5
4	7	—	3.7	4	—	2.1
5	4	—	2.1	2	—	1.1
合計<平均>	28	<1.0>	<3.0>	10	<0.4>	<1.1>
6	6	—	2.8	1	—	0.5
7	26	—	12.0	7	—	3.2
8	6	—	2.7	1	—	0.5
9	15	—	7.1	3	—	1.4
10	13	—	6.2	6	—	2.9
合計<平均>	66	<2.4>	<6.2>	18	<0.7>	<1.7>

特にカザミノ酸を添加しないN₆培地(Na7)ではRARよりも4倍以上の効率で緑色植物体が得られた。

一方、カザミノ酸の添加効果は明確には認められなかった。20日区ではカザミノ酸を添加したことにより再分化率が低下する傾向も認められた。

稔実個体の形成率も対葯比で20日区は0.7%, 10日区は0.4%と20日区が優った(表3)。培地別の形成率は稔実した個体数が少ないため、明確ではないが、N₆がRARに優る傾向が認められた。

以上の結果から穂培養法においては低温処理を20日間実施し、再分化培地にN₆を使用することにより緑色個体の形成率を高め得ることがわかった。

今後は他品種でも同様な傾向がみられるか検討する必要がある。また穂培養は二段階培養法と異なり、再分化した個体の葯の起源が不明なため、形質の類似した系統が多数得られる可能性がある。F₁を培養に供試し、再分化個体を圃場に展開したときの系統間の変異幅も調査する必要がある。

引用文献

- 1) Toriyama, K.; Hinata, K. 1985. Panicle culture in liquid media for obtaining anther calli and protoplasts in rice. Japan. J. Breed. 35: 449-452.