

# イネ迅速プロトプラスト培養法による再分化系統での変異

北 川 悦 子

(秋田県生物資源総合開発利用センター)

Variations Detected among the Regenerated Rice Lines Produced by Rapid Protoplast Culture System

Etsuko KITAGAWA

(Akita Prefectural Center for Biological Resources Development)

## 1 は じ め に

培養変異系統作出を効率化するため、「あきたこまち」を用い「迅速プロトプラスト培養法」を開発した<sup>1)</sup>。本法では培養開始2週間後の初期カルスをプロトプラスト単離材料及びナース細胞とすることができ、短時間で簡単にプロトプラスト再分化個体作出ができる。これらの後代について変異形質とその出現頻度を明らかにし、本法の育種利用性について検討した。

## 2 試 験 方 法

### (1) 迅速プロトプラスト培養法による再分化個体作出

プロトプラスト培養1回につき10種子胚分の初期カルスを単離材料、約200 $\mu$ lをナース細胞とした。単離と培養は大槻の方法に従い、計5回の培養でプロトプラスト由来カルス2,695個から126緑色再分化個体を得た。

### (2) 再分化当代の調査

葉緑体変異はアルビノを指標とし、稔実率はガラス温室内で栽培した97個体の最長穂について調査した。4倍体は予備実験により穎花長と染色体数との関連を確認した上、観察により判定した。

### (3) 自殖一代目の調査

1個体からの1穂を1系統とし、4倍体と不稔個体を除く52系統を供試した。慣行法で育苗し中苗1本植えて各系統20株定植し15株について調査した。葉緑体変異は育苗期の葉色を指標とし検出した。到穂日数は定植日から出穂期までの日数とした。稈長、穂長、一穂粒数、稔性は最長穂について調査し、穂数は遅れ穂を除いて計数した。変異系統は分散分析で原品種「あきたこまち」と1%の危険率で有意差のあった系統とした。

### (4) プロトプラスト培養が変異幅に及ぼす影響

初期カルス再分化系統から選抜した早生化系統(97043, 97044)及び晩生化系統(97029, 97070)との比較により、出穂性変異幅への影響を調査した。

## 3 試験結果及び考察

### (1) 再分化当代での形質

葉緑体変異出現率は1%以下と(表1)低頻度であったが、稔実率80%以上の高稔性個体は43個体のみであった

表1 プロトプラスト再分化当代の変異形質

| 変異形質 | 出現率(%) |
|------|--------|
| 葉緑体  | 0.5*   |
| 4倍体  | 41.2** |

注. \*: アルビノ再生カルス数/置床数 $\times$ 100

\*\* : 4倍体変異個体数/再分化個体数 $\times$ 100

表2 プロトプラスト再分化当代の稔実率\*頻度分布

| 稔実率(%) | 個体数 |
|--------|-----|
| 0~20   | 26  |
| 21~40  | 8   |
| 41~60  | 10  |
| 61~80  | 10  |
| 81~100 | 43  |

注. \*: 稔実率=稔実粒数/総粒数 $\times$ 100

(表2)。これは4倍体出現率が40%であった(表1)ことによる。プロトプラスト培養により倍数体出現率が高くなることが知られており<sup>2)</sup>、本法の結果はこれと一致する。

### (2) 自殖一代目の特性調査

不良形質2形質及び農業形質5形質の変異について調べた(表3)。アルビノや葉色変異個体分離系統は検出されず、この培養系での葉緑体変異出現率は1%以下であることが示唆された。稔性変異は、不稔分離、低稔性(稔実率60%以下)分離、稔性低下(原品種と危険率1%で有意差)の3種類が検出され、出現率は30%であった。農業形質の変異は出穂期、稈長、穂長、穂数、一穂粒数の5形質で、穂数を除く4形質では両方向で、計9種類の変異が検出され、多種類の変異が誘発されていることが示唆された。また、変異出現頻度は形質により異なり、稈長と穂長では35%と高く、他の3形質では10~15%であった。

変異系統出現率と変異形質重複数を調べた結果を表4に示した。再分化系統の93%にあたる48系統で変異が検出され、高頻度で変異系統が得られることが明らかになった。このうち28系統は重複変異系統であり、重複形質数は最多4であった。また、重複形質数が多い系統ほどその出現率は減少し稔性変異と重複する傾向が認められた。このため、

表3 プロトプラスト再分化系統自殖一代目の変異形質

| 変異形質  | 変異系統数 | 出現率* |
|-------|-------|------|
| 葉緑体   | 0     | 0    |
| 出穂期   | 5     | 8    |
| 早生    | 7     | 11   |
| 晩生    |       |      |
| 稈長    | 1     | 2    |
| 長稈    | 21    | 34   |
| 短稈    |       |      |
| 穂長    | 19    | 31   |
| 長穂    | 1     | 2    |
| 短穂    |       |      |
| 穂数    | 0     | 0    |
| 増     | 10    | 16   |
| 減     |       |      |
| 一穂初数  | 5     | 8    |
| 増     | 1     | 2    |
| 減     |       |      |
| 稈性    | 2     | 3    |
| 不稈分離  | 7     | 11   |
| 低稈性分離 |       |      |
| 低下    | 11    | 18   |

注. \*: 出現率=変異系統数/供試系統数×100

表4 プロトプラスト再分化系統自殖一代目の重複変異

| 変異形質数 | 系統数 | 出現率* (%) | 稈性との重複形質 (系統数)      |
|-------|-----|----------|---------------------|
| 0     | 4   | 8        |                     |
| 1     | 19  | 37       | 稈性のみ(5)             |
| 2     | 15  | 3        | 出穂期(1), 稈長(3)       |
| 3     | 11  | 20       | 出穂期-穂長(1), 穂長-穂数(1) |
|       |     |          | 稈長-穂数(4), 出穂期-稈長(2) |
| 4     | 2   | 4        | 出穂期-稈長-初数(1)        |
|       |     |          | 出穂期-稈長-穂長(1)        |

注. \*: 出現率=変異系統数/供試系統数×100

本法では1~2変異形質の有用系統選抜が期待できる。

## (3) 迅速プロトプラスト培養の出穂性変異への影響

本法による再分化系統の到達日数の変異幅は早生早の「たかねみのり」から中生晩の「ササニシキ」までの範囲であった。初期カルス由来系統との比較により、晩生化の方向でのみ変異幅の拡大が認められたことから(図1), 本法は晩生系統選抜には有効であるが、極早生系統選抜への利用性は低いと考えられる。

系統数

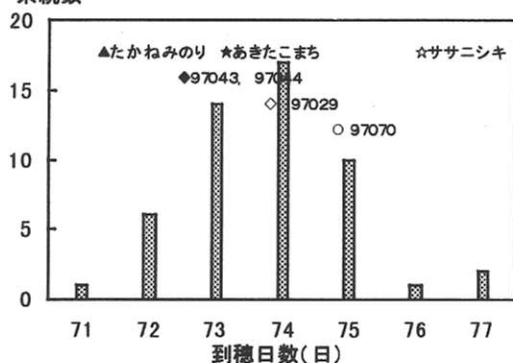


図1 自殖一代目での到達日数\*頻度分布

- 注. 1. \*: 定植日より出穂期までの日数。  
 2. 97043と97044は初期カルス再分化系統での早生化系統, 97029と97070は晩生化系統である。

## 4 ま と め

迅速プロトプラスト培養法は培養開始2週間後の初期カルスを用いる培養系である。本法で得られた「あきたこまち」再分化系統では90%以上が変異系統であり、5つの農業形質に関し9種類の変異系統が検出され、多様な変異系統の選抜に利用できることが示唆された。また、変異形質数1~2の系統から稈性変異を伴わない系統が多数検出されたことにより有用系統育成が可能と考えられる。プロトプラスト培養による変異幅拡大は晩生化の方向のみで認められ、極早生化への利用性は低いことが示唆された。

## 引 用 文 献

- 1) 北川悦子. 1999. 迅速で簡便なイネプロトプラスト培養系の確立. 育種学研究 1(別1): 224.
- 2) 山岸真澄. 1996. 体細胞突然変異体の出現と変異形質の遺伝. 組織培養 22(11): 430-435.