

蒴培養技術による水稻育種

松 永 和 久

(宮城県古川農業試験場)

Rice Breeding by Anther Culture

Kazuhisa MATSUNAGA

(Miyagi Prefectural Furukawa Agricultural Experiment Station)

1. はじめに

古川農業試験場で実施している水稻育種指定試験事業の育種目標は農林水産省の作物育種推進基本計画にそって、寒冷地中部（東北地域中南部）向きの良質品種の育成である。

東北地域の中南部は、当场が育成した良質・良食味品種「ササニシキ」の一大産地となっている。しかし、この地帯の太平洋側は「やませ」の影響で冷害が頻発し、良質米生産上の大きな障害となっている。

昭和55年に東北地方を襲った大冷害においては、宮城県のササニシキは幸い出穂期が数日ずれていたため壊滅的な被害は回避したが、この冷害では早生品種だけでなく、これまで冷害の被害を経験しなかった中生から晩生品種まで障害不稔が多発した⁵⁾。

このような厳しい冷害を克服するため、当场では昭和55年に耐冷性検定施設を新設し、翌56年から耐冷性育種を開始した⁶⁾。

この施設を利用して東北及び北陸地方の多数

の品種系統を検定した結果、アキヒカリ、ササニシキ、トヨニシキなどの東北地方の主要品種は耐冷性が弱く、早急に耐冷性の強化が必要であることが明らかになった³⁾。

一方、コシヒカリ、トドロキワセなどの良食味品種の中に耐冷性が強い品種が見いだされ³⁾、これらを母本として耐冷性の強い良質・良食味品種の育成の展望が得られた。そこで、この育種目標を短期間に達成するために、昭和57年から、育種期間の短縮が期待できる蒴培養を利用した半数体育種を開始した。

イネの蒴培養は昭和43年に、新関、大野⁴⁾によって最初に成功した。その後、中国においては水稻で多くの研究が行われ、育種にも実際に利用され、実用品種も多数育成されている¹⁾。しかし、育種への利用には培養に多くの労力を要することや、日本においては温室を利用した世代促進によって育種年限を短縮することができたので、水稻育種では利用されていなかった。

最近、バイオテクノロジーに対する関心が高

まり、その中でも薬培養は最も実用段階に近い技術と考えられているところから、育種に利用する例が増えてきた。

昭和55年から薬培養による育種を実施してきた北海道立上川農業試験場では、昭和62年に上育394号が奨励品種に指定され、日本で最初の薬培養による品種が育成された。

昭和57年以降、東北地域の各県においても薬培養育種が開始され²⁾、既に4県では育成系統を収量検定に供試している段階にきている。

昭和57年から薬培養育種に取り組んでいた当場では、昭和62年度から育成系統を奨励品種決定調査に配布しており、平成元年度新品種の誕生が期待されている。

しかし、薬培養技術は、育種期間の短縮などが期待される反面、育種技術として未確立の面もかかえており³⁾、必ずしも十分な成果が上がっているとは言い難い。

ここでは、当場における育種への利用を中心に薬培養の現状と問題点及び今後の展望について報告する。

2. 古川農業試験場における薬培養育種の現状

(1) 取り組み体制

当場では薬培養を担当している職員は育種科の研究員、試験補助員1名及び臨時職員1名であり、薬置床時には更にアルバイト1名程度を従事させている。従来の育種事業と並行して実施するため研究員は薬培養試験の計画立案と、材料の養成供給、培地の調整を行い、培養の実作業は試験補助員と臨時職員が担当している。

(2) 培養方法及び再分化後代の養成方法

1) 培養材料

培養に供試した材料は、ほとんど交配によって得られた雑種第一代(F_1)である。交配は従来の育種方法と同じであり、両親の長所を兼ね備えた系統を育成するわけで、交配の組合せも従来の方法と考え方は同じである。

2) 培養方法

培養は薬から未分化の細胞の塊であるカルスを分化させ、その後再文化用培地にカルスを移植し植物体を再生させる二段階培養法で実施し、図-1のように春と夏の2期に分けて行った。

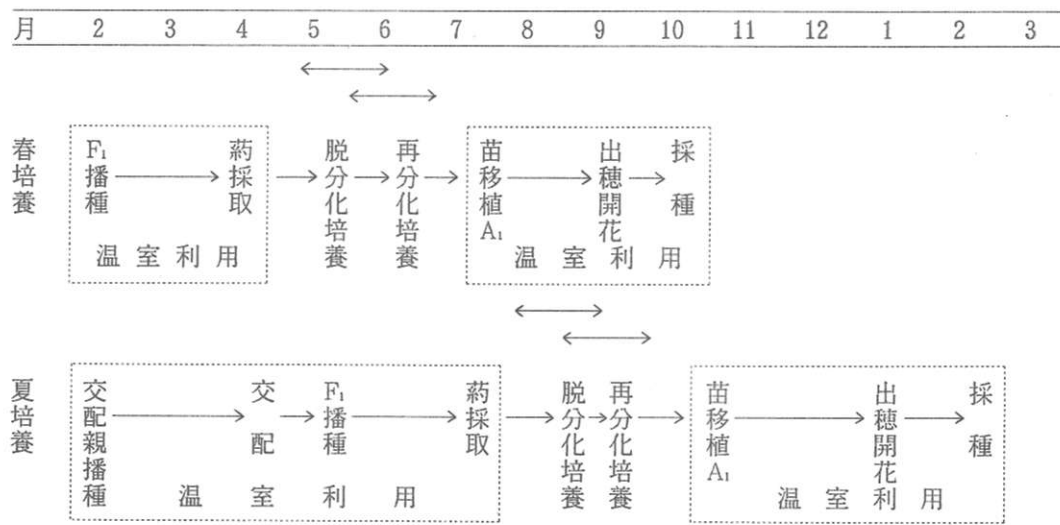


図-1 材料の養成と培養時期

春培養では前年の夏に交配した F_1 を、2月に温室内のポットに播種し、養成する。5月初めに葯を培地に置床し、カルスを形成させるための脱分化培養を行い、更に5月下旬～6月上旬に再分化培地にカルスを移植し再分化培養を行う。6月中旬以降に再分化苗(A_1)を世代促進温室に移植し、10月には A_2 種子を採種する。

夏培養の材料は4月に交配し、5月に F_1 を世代促進温室内のポットに播種し、養成する。8月上旬に脱分化培養、8月下旬～9月に再分化培養を行い、10月中旬に再分化苗を世代促進温室に移植する。そして、翌年2月までに A_2 種子を採種する。夏培養では、育種目標を決めてから1年間で純系が得られ、翌年には選抜が可能である。

供試材料の F_1 は春培養、夏培養とも温室内でポットで養成したが、ポット栽培では水温が低いと葯の発育が不良になることがあるので、最低水温 23°C 以上、最高水温 30°C 程度に制御した水槽中で養成した。

培養に使用した穂は、葉耳間長 $+2\sim5\text{ cm}$ 程度で、出穂前 $8\sim10$ 日に当たるものを採取し、カルス形成率の向上と貯蔵を兼ねて、花瓶に差しビニールで覆って、 10°C で $10\sim20$ 日間低温処理をした。

使用した培地は主として N_6 培地であるが、58、59年は一部 B_6 培地も使用した。脱分化用には $2, 4-D$ を $2\text{ mg}/\ell$ 添加し、再分化用には IAA $0.2\text{ mg}/\ell$ 及び Kinetin $1\text{ mg}/\ell$ を添加した。

脱分化培養には $15\text{ mm}\times100\text{ mm}$ の試験管を使用し、試験管1本当たりの置床葯数は初年目は30個としたが、その後は熟練により培養適期の葯を選別できるようになり、カルス形成率が高まっ

たので18個とした。

再分化培養には $15\text{ mm}\times180\text{ mm}$ の試験管を使用し、 $3\sim5\text{ mm}$ に生長したカルスを1試験管当たり1個ずつ置床した。

培養時の温度は $25\sim28^{\circ}\text{C}$ の範囲に保ち、再分化培養時だけ蛍光灯で $3,000\text{ Lux}$ 、1日12時間の照明を行った。

3) 再分化苗の採種方法

再分化したイネは試験管の上端まで伸びたときに、試験管のアルミ箔の蓋を取り除き、水を入れ、その水を交換しながら10日間程度順化する。その後根を洗って寒天培地を取り除き世代促進温室内の水田に苗を1本ずつに分けて移植した。

温室の水田の地温を 25°C 以上に保つことにより、苗の活着がよくなるので、地中暖房を行い、温度を維持した。

温室内の稲は株が大きくなるまで、蛍光灯で照明して長日にし、その後、短日処理を実施して幼穂分化を図った。種子は成熟期に株ごとに採種した。

4) A_2 世代以降の系統の選抜

A_2 世代は温室で採種した A_1 世代の穂別に圃場に1系統当たり10株栽培し、選抜を行った。 A_3 世代以降は1系統群2系統ずつ、1系統当たり60株養成し、同時に葉いもち病・穂いもち病、品質・食味等の特性検定及び収量検定を実施して系統を選抜した。

葯培養系統は純系であり、分離しないので、特性検定と選抜は、従来の交雑育種法に比べ格段に容易である。

(3) 培養結果の概要

1) カルス形成率

葯からのカルス形成率は、昭和57、58年の事

例を表一1に示しました。カルス形成率は供試したF₁の組合せにもよるが、初年度の昭和57年度は平均17.3%，58年度は46.1％であり，57年にカルス形成率がやや低かったが，58年度降は培養適期の葯の選別に熟練したことにより高まった。

表一1 葯からのカルス形成率

培養年次 時 期	供試F ₁	置床葯数 a	カルス形成 葯 数 b	カルス形成 葯率b/a%
昭和57年 春 期	82-1	1,372	307	22.4
	82-2	1,169	84	7.2
	82-3	1,919	454	23.7
	82-4	2,520	504	20.0
	82-5	990	95	9.6
	82-6	912	100	11.0
	82-7	173	19	11.0
	82-8	760	138	18.2
	合 計	9,810	1,701	17.3
昭和58年 春 期	83-1	193	80	41.5
	83-2	195	76	39.0
	83-3	156	73	46.8
	83-5	194	111	57.2
	合 計	738	340	46.1

2) 再 分 化 率

カルスからの植物体の再分化率は表一2及び表一4に示したとおり，アルビノ及び根だけのものも含めた植物体を再分化したカルスの割合は29～62%，そのうち緑体の再分化率は4～21％といずれも交配組合せによって大きな差があった。また，アルビノの出現率にも組合せ間に大きな差異が見られた。特に，昭和57年に培養したものにアルビノの出現率が高かった。昭和58年の夏期にはB₃培地を使用した，再分化率が低かった。

3) 再分化緑体の倍数性

再分化緑体には培養過程あるいは再分化過程

表一2 再分化したカルスの割合（％）

培養年次 時 期	供試F ₁	緑体	アルビノ	根のみ	未分化	合計
昭和57年 春 期	82-1	16	43	15	26	100
	82-2	21	32	11	36	100
	82-3	14	30	12	44	100
	82-4	14	33	14	39	100
	82-5	14	53	11	22	100
	82-6	7	29	18	46	100
	82-7	5	63	0	32	100
	82-8	12	52	13	23	100
	合 計	13	36	13	38	100
昭和58年 春 期	83-1	20	6	16	58	100
	83-2	4	4	8	84	100
	83-3	6	8	13	73	100
	83-5	4	23	30	43	100
	合 計	10	9	10	71	100

で自然倍加したと考えられる2倍体がある。表一3に再分化した緑体の倍数性を調査した昭和57，58年の事例を示した。自然倍加した2倍体の割合は昭和57年は平均42%，58年は25％であり，その他は大部分半数体であった。

表一3 再分化緑体の倍数性割合（％）

培養年次	供試F ₁	n	2 n	その他	合計
昭和57年 春 期	82-1	45	46	9	100
	82-2	53	47	0	100
	82-3	60	36	4	100
	82-4	62	38	0	100
	82-5	64	36	0	100
	82-6	10	90	0	100
	82-7	100	0	0	100
	82-8	58	42	0	100
	合 計	55	42	3	100
昭和58年 春 期	83-1	71	27	2	100
	83-2	80	19	1	100
	83-3	71	25	3	100
	83-5	92	4	4	100
	合 計	73	25	2	100

(4) 古川農業試験場における薬培養育種の規模

1) 培養の規模

昭和57～63年の7年間に実施した薬培養の規模は約400,000個（年平均56,000個）の薬を置床し、77,000個（年平均11,000個）のカルスを再分化培養に供試した（表一4）。

緑体を再分化したカルスは16,161個（年平均

2,300個）で、緑体再分化カルス率は20.9％であり、1個の緑体分化カルスから平均1.4本の緑色移植個体が得られた（表一4）。再分化緑体を温室内で養成した結果、活着し、染色体が自然倍加して採種できた個体は4,423（年平均636個体）で、移植した緑色個体の19％程度であった（表一4）。

表一4 年次別薬培養の規模

年次	供試 組合せ	置床 薬数	再分化 培養 カルス数a	再分化カルス				移植 個体数d	採種二倍体	
				総数 b	割合 b/a%	緑体分化 カルスc	割合 c/a%		総数 e	割合 e/d%
昭57春	8	10,000	1,657	780	47.1	215	13.0	329	109	33.1
夏	12	60,000	6,602	4,811	72.9	2,769	41.9	—	497	—
58	11	69,000	11,186	2,878	25.7	1,407	12.6	1,952	318	16.3
59	14	52,400	12,114			1,439	11.9	2,169	316	14.6
60	14	56,664	13,183			3,344	25.4	5,044	624	12.4
61	10	46,782	12,676			3,765	29.7	4,507	1,211	26.9
62	12	43,254	8,000			1,412	17.7	3,175	601	18.9
63	25	66,346	12,072			1,810	15.0	3,726	747	20.0
合計	106	394,446	77,490			16,161	20.9	20,902*	4,423	18.8*

注：*：昭57夏培養を除く。

2) 系統の養成と選抜

表一5に示したように58年以降A₂系統を圃場で養成し、系統選抜を開始しているが、翌59年からは、生産力検定を開始し、60年からは系

統適応性検定試験地、特性検定試験地に配布した。61年の選抜系統の中から、東北141号を育成した。その後も、薬培養系統は増加しており、東北141号の後続の系統も育成中である（表一5）。

表一5 年次別薬培養系統の養成と選抜結果

年次 (昭)	世代	組合せ数		系統数		系適供試 系統数	備考
		養成	選抜	養成	選抜(個体数)		
58	A ₂	13	12	582	66(147)		
59	A ₂	9	7	290	37(74)		
	A ₃	11	3	147	6(12)		生産力検定開始
60	A ₂	12	7	261	36(72)		
	A ₂ ~	10	6	86	17(34)	6	
61	A ₂	10	6	642	41(82)		
	A ₂ ~	13	4	106	8(16)	12	東北141号育成
62	A ₂	12	9	1,211	104(104)		
	A ₃	10	4	98	11(22)	7	
63	A ₂	11	10	605	76(152)		
	A ₂ ~	13	12	126	30(57)	13	

3. 薬培養による育種年限の短縮

薬培養では通常の育種方法より、短期間に純系が得られるメリットがあるが、薬培養による

育種年限の短縮例について、図一2に従来の系統育種法、世代促進温室を利用した集団育種法と比較して示した。

育種法 年数	系 統 育 種 法	世 代 促 進 温 室 利 用	薬 培 養 + 世代促進温室利用
1	交配	交配	交配 A ₁
2	F ₁	F ₁ F ₂ F ₃	A ₂ 生産力検定1年目
3	F ₂	F ₄	A ₃ " 2
4	F ₃ 系統選抜	F ₅ 系統選抜	A ₄ 東北000号
5	F ₄	F ₆ 生産力検定1年目	A ₅ "
6	F ₅	F ₇ " 2	A ₆ "
7	F ₆ 生産力検定1年目	F ₈ 東北000号	A ₇ 新 品 種
8	F ₇ " 2	F ₉ "	
9	F ₈ 東北000号	F ₁₀ "	
10	F ₉ "	F ₁₁ 新 品 種	
11	F ₁₀ "		
12	F ₁₁ 新 品 種		

図一2 薬培養と従来の育種方法の育種年限の比較

図一2の左の系統育種法では、まず交配を行ってF₁を養成し、F₂世代以降は自殖を重ねながら選抜を行い固定を図って行くので、育種期間が長く、新品種の育成に11～12年以上要する。中央の世代促進温室利用の集団育種法は、初期世代を温室で栽培し、固定を早めるため、育種期間が短くなり、新品種育成まで9～10年程度に短縮される。

薬培養育種ではF₁の薬を培養すれば、すぐに遺伝的に固定した純系を得ることができるので、育種期間を大幅に短縮でき、7年で新品種育成が可能になる。いずれもの中には3年間の奨励品種決定調査の期間が含まれている。

ただし、いずれの場合にも、新品種が育成された時に、その時間を溯るとこのようになるといふことであり、系統育種法では11～12年、集

団育種法では9～10年、薬培養では7年で品種ができるというわけではない。

また、当場の世代促進温室では、日本品種の中で最も基本栄養生長性が長く、栽培日数の長くかかるササニシキ、トヨニシキでも1年に4作の栽培が可能であり、更に1年程度育種期間を短縮できるので、薬培養との育種年限の差は1年程度になる。更に、温室では1集団当たり2,000個体程度を養成しており、規模から見ても、必ずしも薬培養が有利とはいえない。

4. 古川農業試験場における薬培養育種の成果

昭和58年に培養した材料から早生で、耐冷性の強い、良質・良食味系統の東北141号を育成した。東北141号は、母親は後にハヤユタカと

命名された東北131号，父親は中部44号であり，このF₁の蒔培養により育成した系統である。

表—6 東北141号の特性概要（昭和62年）

系 統 名 又 は 品 種 名	出 穂 期 (月・日)	成 熟 期 (月・日)	倒 伏 程 度	稈 長 (cm)	穂 長 (cm)	穂 数 (本/㎡)	い 抵 も 抗 ち 性		耐 冷 性	玄 米 重 (kg/a)	同 準 左 対 標 比 %	千 粒 重 (g)	玄 米 品 質	食 味
							葉	穂						
東北141号	8.7	9.17	0.5	84.5	18.4	533	強	や強	や強	59.2	106	21.0	上中	上中
アキヒカリ	8.3	9.13	0	77.1	18.1	493	や強	や強	や弱	59.0	105	20.9	中中	中中
ササミノリ	8.10	9.20	4	82.7	18.4	553	強	中	や弱	56.0	(100)	21.7	中上	中中

東北141号の特性の概要は表—6 にアキヒカリ，ササミノリと比較して示した。東北141号の出穂期，成熟期はアキヒカリとササミノリの中間で，育成地では早生の晩の梗種である。稈長はやや長稈で，草型は偏穂数型，障害型耐冷性はアキヒカリ，ササミノリのやや弱に對しやや強と明らかに強く，東北地方の早生品種の中では，かなり強い方である。耐倒伏性はアキヒカリよりわずかに弱い，ササミノリより明らかに強くやや強である。いもち病抵抗性は真性抵抗性遺伝子型が＋と推定され，葉いもちが強，穂いもちがやや強である。玄米品質はアキヒカリ，ササミノリより良好で，食味はササニシキ並であり，早生グループのなかでは極めて良好である。収量性はササミノリ対比106と高く，多収品種のアキヒカリ並の収量である。東北141号は昭和62年から，東北各県の奨励品種決定調査に配布中であるが，試作成績の良かった岩手県において，平成元年度の新品種候補になる

見込みである。

5. 問 題 点

以上の育種試験の中から，いくつかの問題点が明らかにされたが，そのうち大きな問題として，カルスからの緑体再分化能力の品種間差異と，再分化した半数体倍加技術があげられる。

(1) 緑体再分化能力の品種間差異について

これまで実施した蒔培養育種の過程では，供試したF₁の交配組合せにより緑体の再分化率に差異が見られた。昭和59年に約30品種を供試し，緑体再分化能力の品種間差異を調査した結果，再分化培養したカルスの数に対する緑体を再分化したカルスの割合（これを緑体再分化カルス率とする）は，表—7のように0%から80%台まで分布し，日本稲品種間でも，著しい差異が見られた。また，東北地方の品種には，緑体再分化カルス率の高い品種は，少ない傾向が見られた¹⁾。

表—7 緑体再分化カルス率の品種間差異

再分化率%	0—10	11—20	21—30	31—40	41—50	51—60	61—70	71—80	81—90
品 種 数	16	3	3	1	2	1	1	1	1

更に，緑体再分化カルス率の高い品種ほど，その後昭和60年に更に調査を加えた結果，高い緑体再分化能力を示したヤマハウシ，日本晴，

コガネマサリ等の品種は近縁関係にあり、その系譜が明らかで、高い緑体再分化能力は、朝日に由来する遺伝的なものであることが明らかにされた⁸⁾。

また、現在、良食味品種として注目されているコシヒカリは、日本稲の中では最も緑体再分化率の低い品種であり、ササニシキもやや低い傾向がみられた。

したがって、コシヒカリおよびその近縁の品種を使った、薬培養による育種は、再分化率に問題が残されており、更に検討を要する。

(2) 染色体の効率的な倍加法の開発

当场における薬培養では、再分化緑体の自然倍加した2倍体の割合は年次により差があるが、昭和57、58年の事例では表-3のように25~45%、平均すれば30%以下である。また、7年間の平均は、表-4に示したように、再分化緑体のうち2倍体は約20%であり、染色体の効率的な倍加法の開発により、採種固体数は、大幅に

増加する可能性がある。

化学薬品による染色体の倍加は各地で試みられているが、稲の場合生長点が根元にあり葉鞘で包まれているため、極めて処理しにくく、十分な成果はあがっていない。更に、半数体を選んで処理するとすれば、そのために要する期間のために、育種年限が長くなり、薬培養のメリットがなくなってしまう。

コルヒチン処理による染色体の効率的な倍加技術は確立されていないが、最近、苗を根のついたままコルヒチン溶液に浸漬し吸収させる方法が有効であるという報告もあり、今後の成果が期待される。

以上のように、薬培養育種を更に発展させるには、緑体再分化率の向上と染色体の倍加方法の改善を図り、育種規模の大幅な拡大が必要である。

引用文献

- 1) 福井 希一. 1981. 中国における半数体育種の進展. 農園 56(3): 10-14.
- 2) 小宮山鐵朗. 1988. 東北地域農業におけるバイオテクノロジー研究の現状と課題. 農林水産技術研究ジャーナル 11(6): 48-56.
- 3) 松永和久, 佐々木武彦. 1984. 冷水によるイネの耐冷性検定方法の改善. 4. 東北地方における主要品種の不稔歩合による分級. 育種 34(別1): 348-349.
- 4) Niizeki, H.; Oono, K. 1968. Induction of haploid rice plants from anther culture. Proc. Japan Acad. 44: 554-557.
- 5) 佐々木武彦, 丹野 耕一, 松永 和久. 1981. 1980年冷害における水稻の障害不稔の品種間差異について 日作東北支部報 24: 41-43
- 6) ———, 松永 和久. 1983. 冷水によるイネの耐冷性検定方法の改善. 1. 恒温深水かんがい圃場の試作. 育種 33(別2): 144-145.

- 7) ————. 1984. 薬培養のイネ育種への利用. 第1報 培養技術の現状と問題点. 日作東北支部報 27:75—78.
- 8) ————. 1986. イネ薬カルスにおける高い再分化能力を持つ品種とその系譜. 育雑 36(別1): 64—65.

