

イネの育種における葯培養

石川県農業総合研究センター 育種栽培部

農業研究専門員 小 牧 正 子

石川県農業短期大学農業資源研究所

所長・教授 島 田 多喜子

1. はじめに

昭和2年に、水稻の交雑育種を中心とする育種組織として、全国9カ所(後に1カ所減)の指定試験地が定められて以来、昭和61年の自由化(下注)まで、イネの組織的な育種事業はおもに国および県の研究機関で行われてきた。育種は素材や手法が何であっても、長期間を要する仕事である。交雑と選抜による育種の体系が確立しているイネでは、系統育種法(=毎世代選抜を行う)で新品種ができるまでに平均して10年~11年かかり、集団育種法(=温室で世代を進めて固定を早める)でも9~10年を要する。これでは目標とする性質を備えたイネの新品種ができあがるころには、消費者や生産者の要求とのずれが大きくなってしまふ。そこで、この期間を少しでも短縮したいという強い要望に応じて、葯培養をイネ育種に利用する研究が行われてきた。F₁に対して葯培養を行うと、交雑育種の期間は平均で7~8年となり、最短で済む。

“葯培養”と呼ばれるが、葯(雄しべの袋)の中に入っている多数の花粉を培養するのがねらいである。1粒の花粉が培養によって細胞分裂を開始し、やがて植物体になると半数体ができる。新関と大野(1968年)によって、世界で初めてイネの半数体がつくられ、それ以後およそ30年にわたる歴大な試行錯誤の積み重ねがあった。特に1970年代の中華人民共和国での組織的な研究は大きな成果をおさめた。今日では各県の農業試験場でも葯培養を育種の手法のひとつに位置づけるところ

注)昭和61年以降、民間(企業・個人含む)育成のイネ品種を、各県の奨励品種に指定できる制度が整いつつある。これ以前も、民間のイネ育種が禁止されていたわけではないが、事実上、栽培や販売の道が閉ざされていた。

が増えている(後述)。なお県農試は、最近名称が変更されて県農業研究センターとか県生物工学研究所などと呼ばれる場合も多い。石川県でもかつての県農試が上記のようになった。

ここでは葯培養を用いたイネ育種の現状を、石川県の場合を中心にして紹介する(小牧ら、1995年)。培養という手法は、遺伝子導入の基盤技術として、別な方面へ大きく展開しているが、その面は割愛する。

2. 葯培養の実際

出穂直前の、葉に包まれた若い穂を切り取るところから始まる。穂を10日間ほどやや低温(10℃)で光をあてない状態に置く。この前処理により培養の効率があがることが経験的に知られている。

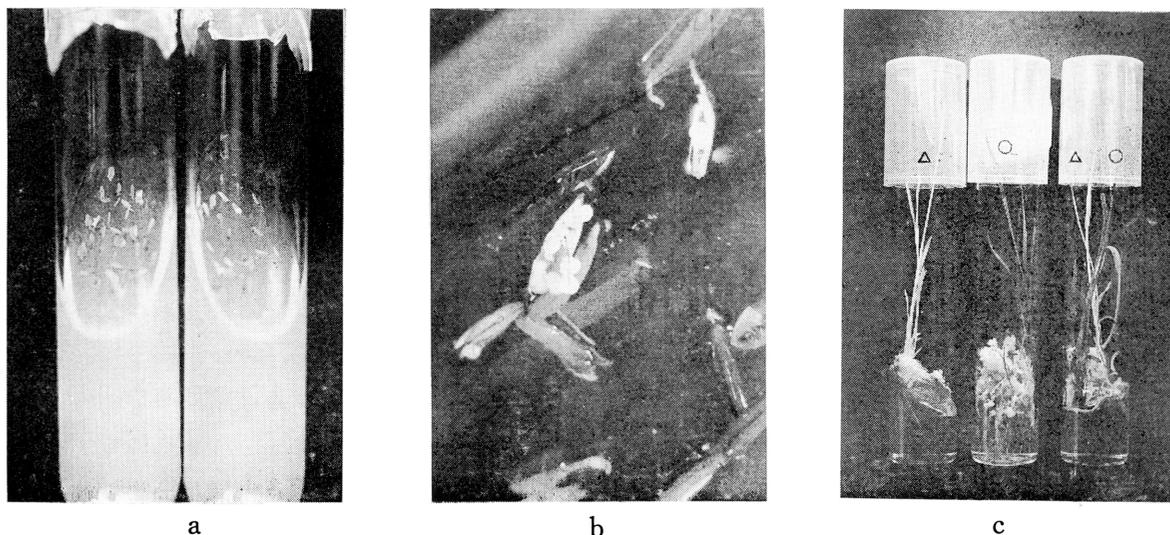
次に“葯の置床”と呼ぶ作業を無菌状態で行う。クリーンベンチという作業台に、滅菌した培地や器具、前処理した穂などを持ち込む。ひとつの花(イネ科の花は穎花=えいかと呼ばれる)の中に6本の雄しべがあるが、この葯をピンセットでつまみだして、培地にのせるのである(図1)。最初に使う培地は、2,4-Dなどの植物ホルモンを含む“カルス形成培地”という。様々な無機塩・ビタミン・糖も含んでおり、ゲルライトという寒天類似の物質で固めてある。我々はイネ用に開発されたN6培地を基本にして、2,4-Dをやや多めに加えているが(表1)、かなりの効率でカルスと呼ぶ黄色の細胞の固まりが花粉からできてくる(図1)。

表1 イネの葯培養に用いる培地組成

カルス 形成培地	N6、	2, 4-D	4mg
		サッカロース	50mg
		ゲルライト	4g
			1ℓあたり
再分化 培地	MS、	NAA	2mg
		カイネチン	1mg
		カザミノ酸	2g
		MES	1g
		サッカロース	30g
		ソルビトール	30g
		ゲルライト	4g
			1ℓあたり

葯の置床は大変細かい手作業であり、花のちょうど良い時期の見分け方、穂の殺菌や切り分け方

図1 イネの薬培養



a) カルス形成培地に置床した薬。

b) カルスが成長している。

c) 緑色植物 (○印) とアルビノ (=白色植物, △印)。右端の試験管のように同一カルスから両者が生じることもある。

など熟練した人手が特に必要な段階である。ここで手抜きするとたちまちカビで汚染されてしまうので、実験室や培養室の清潔を保つことも大切である。

さて、置床後20~30日たつと、カルスが成長して肉眼でも見えてくる。次に多数のカルスをひとつひとつ“再分化培地”に植え替えてゆく。この培地は、別な種類の植物ホルモン(オーキシンやカイネチン)を含んでいる(表1)。やがてカルスの表面に緑色の点ができはじめ、新しい芽が見えてくる。再分化培地への植え替え後40~60日たつと、試験管いっぱいになった苗を外に出すことができるようになる。

試験管内で育った植物はひ弱なので、バーミキュライトなど肥料分を含まない(あるいはごく少ない)土に植え、1~2週間室内に置いて(必要ならラップなどで覆い)急激に水分が失われるのを避ける。しっかりした苗を温室の土に定植する。数か月後、1株あたり5粒以上の種子をつけた穂を取り、選抜の素材とする。

ここで注意したいのは、試験管からでるのは元々1粒の花粉に由来するイネなので、そのままでは半数体であって、種子ができないことである。ところがうまくいって、カルスの状態の期間が長くなると、自然に染色体の倍加が起こり、ちゃん

と種子が取れる倍加半数体と呼ぶものができてくる。この自然倍加の仕組みはまだよくわかっていないが、薬培養の意義は正に倍加半数体を得るという点にある。

つまり交雑育種では、両親の遺伝的な性質をさまざまな組合せでもつ子孫がほしいのだが(その中から両親の長所だけを兼ね備えた株を選びたい)、その性質が遺伝的に固定されている必要がある。選抜した株からの種子を播いて、同じ優良な性質の株が育ってくれなければ困るのである。これを遺伝的固定と呼ぶ。倍加半数体では、完全な遺伝的固定が保証される。確認のため、倍加半数体1株からは5粒以上ついた穂をとるが、実際に選抜の際にはその5粒からそろって同じ性質の株が育ってくる。そして、選抜後の子世代もその同じ性質の株となる。

3. F₁ 薬培養の育種の体系への組み込み

交雑育種の強力な1手法となるには、1連のF₁薬培養の過程を年間のスケジュールにうまく組み込むことが大切である。薬培養を行った後、次世代での選抜のためには、4月上旬(これは石川県の場合である)という決まった時期にいっせいに播種しなければならない。つまり薬培養で種子を得るには、3月末日が絶対的な限界となる。ここでの1週間の遅れは、来年まで1年間待つことを

意味し、せっかくの育種年限の短縮という意義が損なわれてしまう。ただし、蒔培養には先段に述べたように、完全な遺伝的固定という意義があるので、1年の遅れのため全く無意味になるというわけでもない。

さてここで、時間をさかのぼり、両親の交雑で F_1 種子を得たところまで戻ろう。 F_1 種子は例年8～9月に取れるので、急げば10月に播種できる。これが F_1 蒔培養の出発点であり、締切り日の1年半前である。私達は11月～1月上旬までの間に、2～3回に分けて播種を行っている。蒔の置床作業のピークを分散させるためである。冬期なので温室で温度と日長を調整しながら栽培していると、3月末～6月中旬ごろに良い状態の若い穂が取れてくる。

ここから実験室での作業となる。締切り日から逆算して各段階の終了予定日を経験的に次のとおりに決めている。蒔の置床は6月末で完了し、カルスの再分化培地への植え替えは8月末で打ち切る。土への定植は10月末で終わる。これらの目安から遅れると絶対に間に合わないという意味ではないが、労力や時間が結局無駄になる割合がふえるので、打ち切りにする方が賢明であろう。

そして最後の段階として、温室での倍加半数体の栽培と選抜用種子（5粒以上の穂）の収穫となる。実はこの時期には次年度の F_1 種子の播種・育成も行わねばならない。倍加半数体は短日条件（冬期なのでなりゆき）で確実に早く稔実させたいし、他方の F_1 株は長日処理を行ってりっぱな植物にしたい。目的別に温室が2つあればよいが、そうでない場合、一方の日長処理の影響を最小にするような設備（遮光カーテン等）が必要である。

4. 効率と規模

表2に平成7年度の F_1 蒔培養の結果を示す。ここ数年、培養効率だけでなく順化など全体の効率が上がっており、規模は増えつつある。さて両親の組合せにより、培養が容易な場合と難しい場合とがある。これは親品種の遺伝的性質による。困ったことにコシヒカリは培養しにくい品種として有名である。片親がコシヒカリやその近縁の品種であると要注意である。しかし、もう片親の影

響もあり、毎年異なる育種目標を立てて新しい組合せを扱うので、一般的な予想をすることは難しい。そこで我々は次のような方策をとることにした。特長として、まず始めにとりたい倍加半数体の目標穂数を設定する。理論的な詳細は略すが、ふつう50穂/組合せとし、やや遠縁交雑では100穂を目標とする。

さて難易とりまぜて毎年20～30組合せを扱い、カルス形成率＝カルス形成蒔数/置床蒔数（25日目の調査）は10～30%、カルス当りの緑色植物再分化率は20～50kg（なおほぼ同率でアルピノも生ずる。図1）、土に定植した緑色植物中の倍加半数体の割合は20～30%である（表2）。この3種類の率は互いに独立であって、カルス形成が悪くても再分化は良い組合せがあり、あるいはその逆もしばしばである。ただし出発点であるので、カルス形成が悪いと、あとあとまで影響することになる。培養の難易とはこれらの総合をさす。

目標を達成するために、どの段階でもまず標準数を行い、一部を調査して先へ進む率が基準以下の場合、追加をすることにした。たとえば蒔の置床は4千個/組合せを標準とする。そしてカルス形成率が10%以下の場合、率に応じて最高3千個までの蒔置床の追加を行う。同様にカルスの移植は600個/組合せを標準とし、緑色植物の再分化率が35%以下の場合、最高カルス400個までの追加を行う。順調にいくと、200株以上/組合せの緑色植物が得られ、うちほぼ4分の1の50株程度が穂を収穫できる倍加半数体である。残り4分の3は半数体、高次倍数体あるいは不稔の倍加半数体などである（表2）。これらは、穎花の大きさや稔性によって、容易に見分けられる。たとえば半数体は、花が正常のものよりも明らかに小さく、かつ全く実らない。

なお収穫した穂は遺伝的に別個な点が重要なので、重複は避ける。つまり1花粉からは1カルスだけを取り、1カルスからは1緑色植物だけを、ついで1穂だけをとるようにする。数が目標に満たないからと言って、同一蒔由来のカルスを無理に多数とったり（重複する可能性が増す）、1カルス由来の複数植物を出すなどは一般的に無意味である。多数の組合せを扱う場合、培養困難で目

表2 平成7年度 F₁ 葯培養結果

交配 No	葯 培 養					順 化 と 採 種			
	目標 穂数	置 床 葯 数	カルス 形成率	カルス 移植数	緑色植物 再分化率	定 植 植物数	採種穂数 (割合)	半数体株数 (割合)	その他株数 (割合)
1	50穂	4632個	49.5%	850個	41.5%	353株	74(21.0%)	127(36.0%)	152(43.1%)
2	50	3920	32.4	656	68.9	452	114(25.2)	167(36.9)	171(37.8)
3	50	4484	39.9	650	66.6	433	99(22.9)	172(39.7)	162(37.4)
4	50	4603	38.3	946	35.4	335	90(26.9)	121(36.1)	124(37.0)
5	50	3815	32.9	857	29.9	256	70(27.3)	90(35.2)	96(37.5)
6	50	5470	24.8	1037	34.8	361	80(22.2)	155(42.9)	126(34.9)
7	50	5753	39.8	619	48.1	298	73(24.5)	89(29.9)	136(45.6)
8	50	4864	31.3	613	49.9	306	100(32.7)	98(32.0)	108(35.3)
9	50	5292	33.0	871	54.9	478	115(24.1)	134(28.0)	229(47.9)
10	50	6270	15.4	1020	38.3	391	98(25.1)	95(24.3)	198(50.6)
11	50	5526	27.3	891	42.2	376	88(23.4)	103(27.4)	185(49.2)
12	100	8923	16.6	1227	48.8	599	143(23.9)†	211(35.2)	245(40.9)
13	100	8694	12.7	2001	17.8	357x	103(28.9)	136(38.1)	118(33.1)
14	100	9360	22.4	1507	33.8	510	136(26.7)†	169(33.1)	205(40.2)
15	100	10243	13.6	1365	31.3	427	104(24.4)†	109(25.6)	214(50.1)
16	100	8976	16.0	1465	26.1	383x	103(26.9)	135(35.2)	145(37.9)
17	100	8182	18.9	1500	26.8	402	105(26.1)	86(21.4)	211(52.5)
18	100	11518	12.1	1390	37.1	516	95(18.4)†x	84(16.3)	337(65.3)
19	100	8999	16.8	1500	33.3	499	238(47.7)	113(22.6)	148(29.7)
20	100	10727	21.0	1700	31.2	530	142(26.8)	136(25.7)	252(47.5)
21	100	8667	11.0	940	27.1	255x	74(29.0)†x	55(21.6)	126(49.4)
22	100	8850	15.0	1264	45.7	578	275(47.6)	178(30.8)	125(21.6)

注1) 目標穂数：目標として設定した倍加半数体の株数 (=穂数)、
カルス形成率：カルス形成葯数/置床葯総数 (25日目の調査)、
緑色植物再分化率：土に定植した緑色植物数/再分化培地にのせたカルス総数。

注2) x印は定植時および採種時の目標数に達しなかったもの。

注3) 採種穂数は締切時点の値であり、間にあわなかった株数はその他に含めた。但しその数は多くない。
普通数%程度である。†印の5組合せでは採種総数の15%を越えた (一部株の出穂遅延のため)。

標穂数に満たない組合せができることがあるが、やむをえない。このような場合も予想して、葯置床が終わっても F₁ 株を生かしておき、F₂ 種子をとっておくと良い。そして系統育種法または集団育種法で対応すれば、通常の育種法からの遅れも生じない。

5. 培養変異による有用系統の育成

上述のように、F₁ 葯培養は両親の遺伝子の組合せを固定する目的で行うのであるが、ここで述べることは、全く性質の異なった葯培養のイネ育種への利用である。組織培養によって、まれに元のものとは全く違う性質を持った個体が生ずることがある。これは、培養という過程を経ることによ

って生ずる突然変異であり、培養変異あるいはソマクローナル変異とよばれている。残念ながら、我々はまだ培養変異を制御することができないので、生じた変異体の中から農業上有用なものを選抜して、品種あるいは育種素材として利用している。葯培養でも低頻度ではあるが培養変異は起こり、区別してガメトクローナル変異とも呼んでいる。

我々は、有用な変異体を得るという目的でコシヒカリ単品種の葯培養を行った。花粉由来植物の大部分は親植物と同じ性質を持っていたが、突然変異体も生じ、不稔・矮性・長稈・短稈・熟期が少し早いもの・遅いものなど様々な農業形質の変異

表3 コシヒカリ 葯培養由来の石川32号の特性概要

(農総試のデータ)

系統名	項目	出穂期 (月・日)	成熟期 (月・日)	稈長 (cm)	穂長 (cm)	穂数 (本/m ²)
石川32号		7・28	9・05	88	20.1	361
標) ハウネンワセ		7・30	9・02	83	19.1	428
比) 能登ひかり		7・31	9・04	83	21.0	340
比) コシヒカリ		8・06	9・15	91	19.9	348

系統名	項目	倒伏	玄米重 (kg/a)	対標比 (%)	千粒重 (g)	品質	食味
石川32号		無～微	56.3	99	20.9	上下	0.52
標) ハウネンワセ		微～小	57.1	100	21.0	上下	0.00
比) 能登ひかり		無	58.2	102	23.4	中上	0.13
比) コシヒカリ		微～小	55.2	97	21.9	上下	0.34

注) 平6と平7の平均値を示す。食味はハウネンワセを基準とした。

を示す個体が得られた。これらの中から、稈長が10～15cm程度短いものや1週間程度早生の個体を選んでさらに形質を調査し選抜していった。ある系統は、短稈であり、コシヒカリの倒伏しやすいうい欠点が改善されているが、穂長も短くなり収量が低下していた。また、ある系統は早生で短稈であるが、食味が悪くなっていた。選抜を重ねていった結果、稈長が10cm程度短く、耐倒伏性が強化され、1週間以上早生でしかもコシヒカリ並の良食味である系統が得られ、石川32号とされた(表3)。これは品種登録の準備がなされている。

6. 現状と今後

平成7年(1995年)の統計によると、全国の53カ所(ふつう各県1カ所の農業試験場、および国の指定試験地を加える)で、水稻の育種が組織的に行われている。そのうち葯培養に力を入れているところは、大分県(100%)、高知県(90%)、石川県・岐阜県(作物部)・愛媛県(各30%)などである。カッコ内の数字は水稻の育種全体のうちで、葯培養に配分される材料の割合を示す。また34カ所はこの割合が20%未満である。葯培養を全く行っていないところも14カ所ある。なお新潟県や広島県では、この割合の数字は低いけれども、精力的に葯培養を行っている。

農水省農研センター編集の「水稻の育成品種・系統の来歴と品種名一覧」1995年版をみると、培養由来(F₁葯培養が主であるが、F₂やF₃での葯

培養あるいは培養変異、種子カルス、プロトプラスト培養も含む)で系統名が付けられたものが全国で122系統、さらに品種登録されたものが10品種あった。この数は徐々になつて増えつつある。ただし企業・民間はこの統計に含まれない。民間は自由化以来なので、まだごく少数である。

石川県農業短期大学付属農業資源研究所では、イネの組織培養のパイオニアである新関宏夫教授が中心となって、イネ以外の作物も含めて培養の基礎研究を盛んに行ってきた。平成元年に、県農試(当時の名前)

の栽培部長であった横谷氏の呼び掛けもあって、農短資源研と県農試の稲作科と生物工学科との3者協力体制ができ予算もついて、イネの葯培養の研究と事業化が始まったのであった。そして一進一退があったが、現在では育種の体系の中に相当の位置を占めるようになった。平成7年度末で石川番号がついた培養由来の系統は、先述の石川32号を含め、34号、36号、37号の4つがある。

上に述べたように、葯培養は多くのメリットもっている。しかし培養の規模を広げてイネの育種の主流になるには、まだ工夫が必要であろう。石川県方式は現時点でかなり良い達成を示すと思われるが、カルス形成率の改善を当面の目標にしてさらに研究を重ねていきたい。最後に、この研究と事業は大勢の人々の協力で成り立っており、ここに感謝すると共に紙面の関係で名前を省略したことをお許し願いたい。

文 献

- Niizeki H. and Oono K. (1968) Induction of haploid rice plant from anther culture. Proc. Jpn. Acad. 44: 554—557.
- 小牧ら (1995) 石川県のイネの育種における F₁ 葯培養の利用. 育種学雑誌 vol 45, suppl 2: p 64.