

# 小麦切除穂のショ糖液培養による完熟種子の獲得（予報）

加藤 鎌 司・林 喜 三 郎

（農学部 作物・育種学研究室）

## Modification Method to Obtain Mature Dry Seeds by Sucrose Solution Culture of Detached Wheat Ears (preliminary report)

Kenji KATO and Kisaburo HAYASHI

*Laboratory of Crop Science and Plant Breeding, Faculty of Agriculture*

**Abstract :** It is needed to establish the method to obtain dry wheat seeds which have already treated with chemical growth substances during embryogenesis or ripening. Then it will be possible to clarify the effect of some chemicals on the growth of wheat plant, especially on growth habit, i. e. winter or spring habit. Our idea for this method is to culture the detached wheat ears on sucrose solution with some chemicals, without sterilization of plant materials and culture medium for easiness' sake.

As the first step, we examined the possibility to gain mature dry seeds, which are able to germinate, by sucrose solution culture of detached wheat ears, cut before anthesis, without any sterilization. And the results obtained are summarized as follows.

During liquid culture, stem elongation, anthesis, fertilization and ripening proceeded successfully, even the ears cut at booting stage. And well matured dry seeds were obtained without any sterilization throughout culture, after 30 days of culture at 20 and 25°C, and after 60 days at 15°C. Grain weight of some cultivars were the same as grains from field-grown plants. After 10 days of air-drying, seeds of some cultivars, which are not in a state of dormancy, could germinate well. Favourable cultural condition to obtain well matured seeds is as follows, that is, cultural temperature is 15°C and the concentration of sucrose is 10~30%, in addition, the stage to cut ears is just after heading.

### 緒 言

化学物質処理による到穂日数の短縮化は、春化機構の解明のみならず、育種に於ける世代促進の効率化をはかる上で極めて有効と考えられ、これまでに精力的な研究が行なわれてきた。その結果、出穂促進物質として、ヌクレオチドのウリジル酸<sup>1,2)</sup>、蛋白質分解酵素のトリプシン<sup>3)</sup>、植物ホルモンの GA<sub>3</sub><sup>1)</sup>及びカイネチン<sup>4)</sup>などが明らかにされた。しかしながら、研究者間で結果が一致しない場合があり、また出穂促進効果が認められた場合にも秋播性を完全に消去できないために、未だ実用化には至っていない。

上記の現状から、筆者ら<sup>5)</sup>も数種化学物質の処理による出穂促進効果について検討した結果、トリプシン（100~1000ppm）等を低温条件で処理すると、低温要求性は軽減されないが、純粋早晩性が小さくなって出穂が促進されることを明らかにした。ただし、この実験では低温処理せずに化学物質を処理した時の出穂促進効果を明らかにできなかった。これは、高温下で長期間の化学物質処理をすると移植による損傷が大きくなるために、わずか4日間しか処理できなかったためと考えられる。したがって、高温条件下で化学物質を十分な期間処理するための方法を新たに確立する必要

がある。

この点に関連して、菅<sup>1)</sup>は小麦育種に於ける世代促進技術を確立するため、登熟中の穂を切除して水に挿した状態で低温処理を試みたが、未熟粒しか得られず、種子の発芽率も低く実用に適さなかった。しかし、同氏は同様の未熟粒をつけた穂をジベレリン水溶液中に挿して低温処理し、得られた種子を育てたところ、ジベレリン無添加の場合より早く出穂したことを報告している。

一方、Jenner<sup>6)</sup>は、小麦の登熟生理に関する研究方法の一つとして、開花後6日目の穂を切除してショ糖液中に数日間挿し、子実中でのんぶん増加量を測定する方法を確立し、数日間の培養ではあるが、子実中でのんぶん量の増加を確認した。これに対して、Donovanら<sup>7)</sup>は、長期間培養を可能とするために、無菌状態で切除穂の水挿し培養を行う方法を確立し、さらにSinghら<sup>8)</sup>は、この方法を適用して出穂期から開花後20日までの様々なステージの穂を長期間培養し、発芽可能な完熟種子を得たと報告している。

以上の報告よりすると、培養液の交換や切り戻しをたびたび行なって切り口の腐敗を防げば、無菌処理しなくても出穂期の穂の長期間培養によって完熟種子を簡便に得られる可能性があり、また培養中にショ糖液に化学物質を添加したり、低温処理することにより、春化された完熟種子を得られるのではないかと考えられる。

そこで、これらの可能性を検討する端緒として、穂ばらみ期から開花完了日までの様々なステージの穂を切除して、種々の濃度のショ糖液によって培養した結果、発芽力のある完熟種子を得るにはショ糖濃度、培養温度とともに穂を切除するステージが重要であり、また品種間差異も著しいことを明らかにした。本報告は、これら検討結果の概要である。

#### 材料及び方法

切除穂の水挿し培養により完熟種子を得る方法を確立するための検討条件として、実験Ⅰでは温度、ショ糖濃度などの培養条件ならびに穂を切除するステージを、そして実験Ⅱでは品種による培養の難易を検討した。

両実験とも、1983年11月より圃場で栽培してきた植物体を用い、翌春、穂が止葉葉鞘より抽出し始めた日(出穂日)などに第2節間の中間で切除したもの(以下、切除穂と呼ぶ)を、培養液を4ml含んだ試験管に挿して人工照明(700lux)のもとで培養した。

実験Ⅰでは、小麦8品種、即ち、鴻巣25号、農林42号、赤坊主、水原92号、Triple Dirk、Dawson-1、IL-186(アルメニア)及びIL-209(ネパール)を供試し、15、20及び25℃の3培養温度区ならびに培養液のショ糖濃度として0、3、5、10、20及び30%の6区を設けて、出穂期に切除した穂を培養した。なお、8品種のすべてについて3(温度条件)×6(ショ糖濃度)の18処理区を設けたわけではなく、処理区の組合せは品種により異なった。また、穂切除のステージに関する実験では、農林42号、アオバコムギを供試し、穂ばらみ期(開花前10日)、出穂期(開花前7日)、開花開始前日及び全小花の開花完了日(開花後4日)の4ステージの穂を切除し、20℃、10%ショ糖液で培養した。

実験Ⅱでは、世界各地の在来品種を含む小麦101品種を供試し、出穂期に切除した穂を15℃、20%ショ糖液によって培養した。

なお、両実験とも培養中は2~3日毎に培養液を取り替え、稈の切り戻しを行った。また収穫は、子実が穂上で乾燥した後、即ち、20、25℃区では培養開始後1ヶ月、15℃では2ヶ月後に行い、子実稔性(1小穂あたりの着粒数)、子実乾物重、1000粒重及び発芽率を調査した。

## 結 果

## 1. 培養条件 (実験 I)

## 1). 穂に於ける乾物蓄積量からの検討

培養液中に含まれるショ糖は、稈の維管束より吸収され、穂へ転流された後に、子実中にとりこまれてんぷんとして蓄積される<sup>9)</sup>。そこで、培養条件について検討するための指標として、上記過程の効率を表わす穂での乾物蓄積量、即ち、1穂あたり子実乾物重に注目し、これと培養温度、ショ糖濃度との関係を Fig. 1. 及び Table 1. に示した。

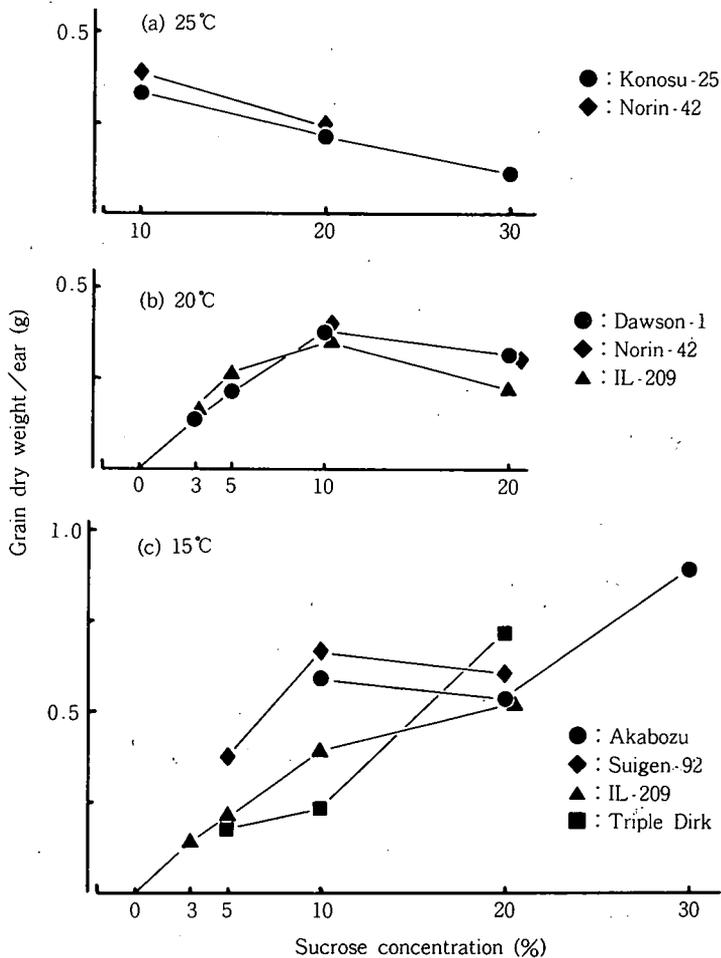


Fig. 1. Effect of sucrose concentration on grain dry weight per ear when cultured at (a) 25°C, (b) 20°C and (c) 15°C, respectively.

Table 1. Effects of temperature on grain weight and on grain number per spikelet and their varietal differences when cultured on 20% sucrose solution

Temperature (°C)	Cultivar			
	Triple Dirk	Norin-42	Dawson-1	IL-186
(a) Grain dry weight/ear (g)				
15	.71	.36	.30	.44
20	.23	.30	.31	.13
25	.19	.24	.26	.08
(b) Grain number/spikelet				
15	1.09	1.17	1.55	1.71
20	.83	1.06	2.36	1.77
25	.51	1.21	2.19	1.62
(c) 1000 grain weight (g)				
15	36.0	25.7	9.8	15.1
20	15.3	17.6	6.6	4.2
25	18.8	14.1	5.5	3.0

Fig. 1. より, 乾物蓄積量は, 25°Cでの培養では, 20, 30%ショ糖液区に比し10%区で多く (a 図), また20°Cでは10~20%の濃度区で, そして15°Cでは10~30%の濃度区で多いこと (b, c 図) が示された。これらの事実より, 培養温度が低くなるほど最適ショ糖濃度が高濃度域へ広が

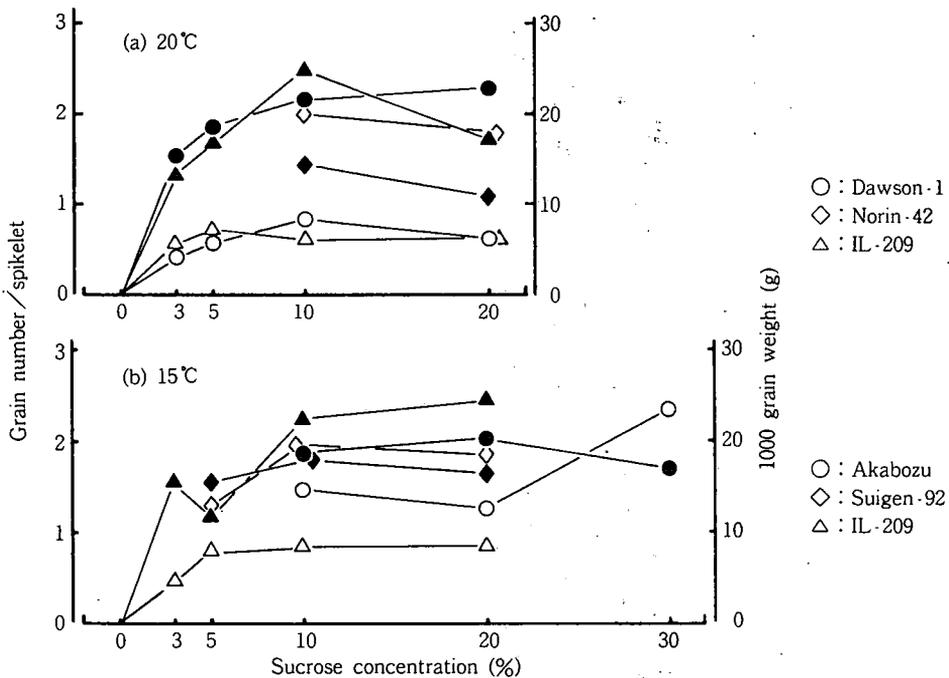


Fig. 2. Effects of sucrose concentration on grain number per spikelet and on 1000 grain weight when cultured at (a) 20°C and (b) 15°C, respectively.

\*: Grain number per spikelet and 1000 grain weight are represented by solid and open symbols, respectively.

る傾向が認められた。

また、20%ショ糖液によって温度を変えて培養した結果、培養温度が高くなるほど乾物蓄積量が減少した (Table 1.)。同様に、10%ショ糖液を用いた場合は15~25°Cで乾物蓄積量が多かったが、15°C、20%ショ糖液の場合には及ばなかった。以上の結果より、子実へのショ糖の取り込み量を最大にする培養条件は、15°C、20%ショ糖液と考えられる。

### 2). 千粒重及び稔性からの検討

次によく充実した種子を効率良く得るための培養条件を明らかにすべく、千粒重及び稔性と培養条件との関係を示したのが Fig. 2. 及び Table 1. である。

Fig. 2. より、どの品種でもショ糖濃度の増加とともに千粒重及び稔性は高くなるが、10~20%の間ではほとんど変わらず、むしろ品種による差異の方が顕著であった。これに対して、千粒重に対する培養温度の影響は大きく、低温化するほど大粒化し、とくに15°Cでは稔性を低下させることなく大粒を形成し得ることが判明した (Table 1.)。ただし、この場合にも Dawson-1 のように稔性が低下し、大粒を形成しにくい品種も存在したが、これは品種によって培養の最適温度やショ糖濃度が異なるためと思われる。

これらの結果より、大部分の品種では切除穂を15°C条件で10~30%のショ糖液によって培養すれば、よく充実した子実を得やすいものと考えられる。

### 3). 穂切除のステージと培養の難易

完熟種子を効率良く得るための穂切除の時期を検討したところ、Table 2. に示す結果を得た。同表より、切除したステージが穂ばらみ期 (小孢子形成期) から開花完了日までの間、ステージが

Table 2. *Effects of cutting stage on grain weight and on grain number per spikelet when cultured at 20°C*

Cultivar	Concentration of sucrose (%)	Stage			
		After anthesis	Before anthesis	Heading	Booting
(a) Grain dry weight/ear (g)					
Norin-42	10	.46	.38	.40	.33
	20	.66	.81	.30	.24
Aobakomugi	10	.72	.55	.34	—
	20	.67	.58	.41	—
(b) Grain number/spikelet					
Norin-42	10	2.16	1.81	1.43	1.00
	20	2.89	2.63	1.06	.79
Aobakomugi	10	3.82	2.35	1.86	—
	20	3.19	2.60	1.65	—
(c) 1000 grain weight (g)					
Norin-42	10	11.2	13.1	20.0	22.0
	20	12.0	16.2	17.6	21.8
Aobakomugi	10	8.6	11.7	13.1	—
	20	10.0	11.2	14.6	—

進むほど稔性が高くなるのに対し、粒重はむしろ減少することが認められた。このことより、よく充実した種子を多数得るためには、出穂期の穂を培養に供するのが好ましいと考えられる。なお、穂ばらみ期の穂でも培養中に出穂、開花ならびに結実し、低稔性ながらもよく充実した発芽可能な種子を得られたことは注目に値する。

## 2. 品種による培養の難易 (実験Ⅱ)

## 1). 千粒重及び稔性

品種による培養反応の違いを明らかにするために、101品種の切除穂を15°C条件で20%ショ糖液によって培養した結果を Fig. 3. に示した。なお、図中の曲線は、乾物蓄積量、即ち、1小穂あたりの粒重が同一になる点を表わす。

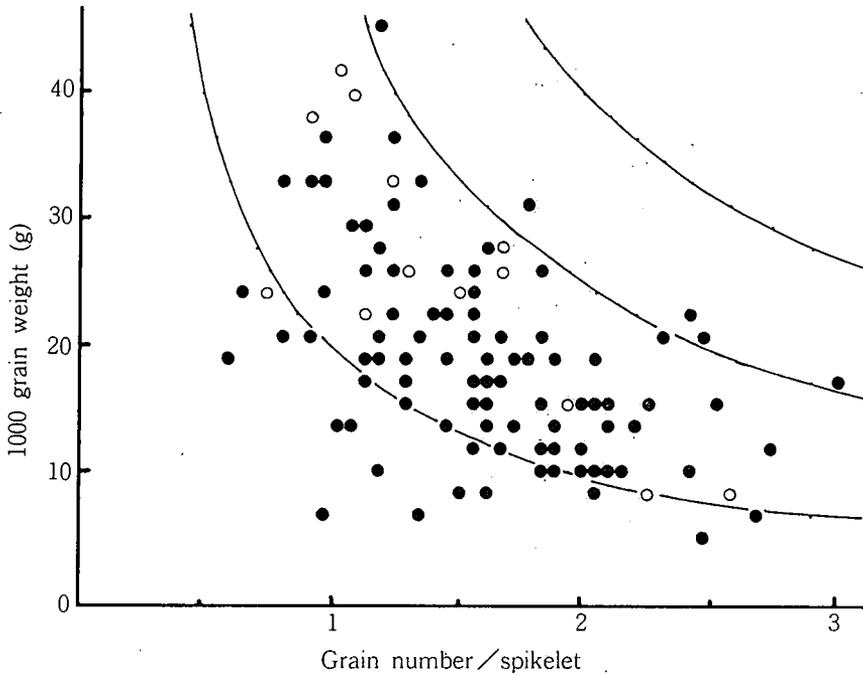


Fig. 3. Varietal differences in grain number per spikelet and in 1000 grain weight when cultured on 20% sucrose solution at 15°C.

\*: Some cultivars were tested for germinability after 10 days of air-drying, and the cultivars that more than half seeds could germinate are represented by open circles.

同図より、千粒重には 5.7~44.1g の変異が認められ、また稔性には 0.6~3.1 の変異が認められたが、概して千粒重の大きい品種は稔性が低く、稔性の高い品種は千粒重が小さかった。一般に植物体上で登熟した場合の千粒重が 30~35g、また稔性が 3 前後であるが、切除穂培養によってこれに匹敵する成績は得られなかった。しかしながら、品種のなかには Triple Dirk のように植物体上と同程度によく充実した子実を得ることのできる品種も存在した。

## 2). 得られた種子の発芽

収穫後、一部品種の種子を約10日間風乾して発芽試験した結果、休眠の浅い品種ではよく発芽した。なお、Fig. 3. に発芽率が50%以上の品種を○印で示したが、千粒重が 10g 前後の未熟粒でもよく発芽するものもあり、充実度の悪いことが必ずしも発芽率の低下につながらないことが示された。

## 考 察

以上の本実験の結果、切除穂をシヨ糖液で長期間培養する際に、無菌培養しなくともよく充実した発芽可能な種子を得られることが明らかになり、培養温度は15°C、シヨ糖液濃度は10~30%が最適と結論された。従来、Jenner<sup>6)</sup>や Donovan ら<sup>7)</sup>がシヨ糖濃度を3~4%以上に高めても子実中のでんぷん蓄積量は増加しないとした点に比べると、本実験の最適シヨ糖濃度は極めて高いと云わねばならない。この大きな違いは、両氏が培養温度を25°Cとしたことによるものと思われる。即ち、高温下での活発な蒸散流を支えるためには、低浸透圧の培養液が好ましいためであろう。しかしながら、20°C、10%シヨ糖液に比し、15°C、20%シヨ糖液による培養の方がより多くの乾物を蓄積できたことを考えるならば、切除穂培養による種子の獲得には、高温、低濃度シヨ糖液よりも15°C前後の低温、高濃度シヨ糖液により行うのが望ましいと考えられる。ただし、15°C条件では完熟までに約2ヶ月を要するのに対して、20°C条件では、充実歩合こそ低下する(Table 1.)ものの、培養開始後約1ヶ月で完熟し、またよく発芽した。これらのことより、実験目的或は許容期間に応じて培養温度を決めるのが好ましいと考えられる。

培養すべき穂を切除するステージについては、Singh ら<sup>8)</sup>が出穂期以降の穂を切除して無菌培養したところ、開花3日前から開花4日後までのどのステージの穂を用いても、着粒数、粒重ともに一定であったと報告している。本実験でも、開花日から開花後4日目の穂では、着粒数、粒重ともによく似た値を示し、Singh ら<sup>8)</sup>の結果とよく一致し、ステージによる差がないことが認められた。これに対して、もっと未熟なステージ、即ち、開花前7~10日の穂では、上記したステージに比し稔性が減少するものの粒重が増加することが示された(Table 2.)。これらの事実は、開花直後の栄養条件によって結実粒数を増減させる自己調節機能<sup>10)</sup>によってうまく説明できる。つまり、開花後の穂では、栄養条件の良い状態で多くの粒を結実させた後に、切除穂培養という劣悪条件に移されるために各粒の登熟を支えられなくなるが、一方、出穂期以前のステージで切除した場合には、開花前に既に劣悪条件に置かれているために、その条件で正常に登熟させられる粒数だけ結実させるので、よく充実した種子が得られると考えられる。

なお、本実験では穂に於ける乾物蓄積量や充実歩合に注目して培養条件を検討してきたが、本研究の終局の目的からすれば今後は得られた種子の発芽率を中心とした検討を行う必要がある。また、Dawson-1 のみが、15°Cと20°Cの各培養区で同じような粒重を示したが(Table 1.)、このような培養温度に対する反応の品種による相違、或は、Fig. 2. で認められた大粒を形成しやすい品種と小粒しか形成できない品種の存在など、切除穂のシヨ糖液培養に対する反応の品種間差についても検討する必要がある。

## 要 約

小麦の出穂性に及ぼす様々な化学物質の効果を明らかにするためには、登熟中に化学物質処理が完了した気乾種子を得ることができれば好都合である。本研究ではこの方法を確立するための端緒として、穂ばらみ期から開花完了日までの穂を切除し、シヨ糖液培養しても、よく充実した発芽可能な種子が得られるか否かを検討した、その結果、以下のことが明らかになった。

1). 出穂期の穂でも、シヨ糖液によって培養すれば、開花、結実、登熟が進行し、培養温度が20、25°Cの時には1ヶ月後に、また、15°Cでは2ヶ月後にそれぞれ完熟種子を得ることができた。

2). 得られた種子を、収穫後10日前後風乾して播種したところ、休眠の浅い品種ではよく発芽した。

3). 以上より培養に際しては、培養液の交換や切り戻しをたびたび行えば、特別の無菌処理をしなくとも完熟種子が得られ、この場合、よく充実した種子を得るための好適培養条件は、15°C、10~30%のショ糖液であり、また穂を切除するステージは出穂日前後が好ましい。

#### 引用文献

- 1) 菅 洋, 麦類における花成の生理的研究, 農技研報告D, 17, 21-73 (1970).
- 2) Tomita, T., Studies on vernalization and flowering substances IV. *Tohoku J. Agr. Res.*, 15, 1-7 (1964).
- 3) Tomita, T., Crop diagnostic study and its application. Vernalization in winter wheat caused by protease. *Bull. Nat. Inst. Agric. Sci., Japan, Ser. A*, 20, 1-16 (1973).
- 4) Barabas, Z. and Csepely, I. T., Shortening vernalization of winter wheat. *Euphytica*, 27, 831-835 (1978).
- 5) 加藤鎌司・山縣弘忠, 小麦の出穂性に及ぼす化学物質の効果, 四国育種談話会報, 18, 印刷中(1984).
- 6) Jenner, C. F., Synthesis of starch in detached ears of wheat. *Aust. J. Biol. Sci.*, 21, 597-608 (1968).
- 7) Donovan, G. R. and Lee, J. W., The growth of detached wheat heads in liquid culture. *Plant Sci. Lett.*, 9, 107-113 (1977).
- 8) Singh, B. K. and Jenner, C. F., Culture of detached ears of wheat in liquid culture: Modification and extension of the method. *Aust. J. Plant Physiol.*, 10, 227-236 (1983).
- 9) Jenner, C. F. and Rathjen, A. J., Factors regulating the accumulation of starch in ripening wheat grain. *Aust. J. Plant Physiol.*, 2, 311-322 (1975).
- 10) Sofield, I., Evans, L. T., Cook, M. G. and Wardlaw, I. F., Factors influencing the rate and duration of grain filling in wheat. *Aust. J. Plant Physiol.*, 4, 785-797 (1977).

(昭和59年9月29日受理)

(昭和60年1月14日発行)