

## ハトムギの有用突然変異作出法に関する研究

藤枝, 國光  
九州大学農学部

佐藤, 光  
九州大学農学部

<https://doi.org/10.15017/12660>

---

出版情報 : 九州大学農学部農場研究資料. 10, pp.28-33, 1988-03. 九州大学農学部附属農場  
バージョン :  
権利関係 :



# ハトムギの有用突然変異作出法に関する研究

藤 枝 國 光 ・ 佐 藤 光

## 1. 目 的

ハトムギは消費者の健康志向から、需要の伸びが期待できる。潜在生産力が高く、また水田転作に適した作物特性のために、昭和56年水田利用再編対策の特定作物に指定された。しかし、これまで計画的な品種改良が行われておらず、在来種や外国種を用いて産地技術が組み立てられている。これら品種は脱粒易、長稈・倒伏性など野性型形質を保持していて、安定的多収穫が望めないばかりか、機械化栽培適応性を欠き、ハトムギの生産性を物足りないものになっている。

それ故、これら不良形質の改良が望まれているが、それには難脱粒や短稈性などの遺伝子の有効利用が不可欠である。しかしハトムギについては、そのようなミュータントが見出されていないので、放射線や化学変異原処理、somaclonal 法などによる突然変異の誘起、もしくは遺伝子工学による遺伝資源の開発が前提となる。遺伝子工学による形質転換はハトムギでは将来的課題であり、現状では実用的手法とはいえない。

筆者ら (SATO H and OMURA, 1979) は、化学変異原によるイネの受精卵処理で、多くの有用突然変異体の作出に成功している。本研究は、その成果を踏まえ、化学変異原処理によるハトムギの有用突然変異作出法の確立を目指すものである。エチルメタンスルフォネート (EMS) による種子処理、メチルニトロソウレア (MNU) による受精卵処理、及びこれらによる不定胚処理などが計画されている。

## 2. 試験 1 EMSによる気乾種子処理

EMSは微生物に対し有効な化学変異原として知られている。また穀類や豆類などの種子繁殖植物でも、気乾種子の処理で効率よく突然変異を誘起できることが報告されている。ここではMNUによる受精卵処理とその効果を比較する目的で、気乾種子のEMS処理について検討した。

### 1) 材料及び方法

(1) 気乾種子処理のM<sub>1</sub> 「岡山在来」を供試し、脱穀種子を150・200・250・300mMのEMS溶液に浸漬、室温で2時間処理した(各区300粒)。処理後24時間水洗して苗箱に播種した。25日間育苗後、7月4日圃場に定植し、定法にしたがって栽培した。

(2) 気乾種子処理のM<sub>2</sub> 1985年、前項に準じてEMS気乾種子処理(ただし濃度は50・

100・150・200mM) を行った。M<sub>1</sub> 植物は定法で育成し、開花時に袋掛けを行って自殖 M<sub>2</sub> 種子をえた。これら M<sub>2</sub> 種子を1986年5月20日、苗代に1株1系統として播種した。突然変異の幼苗検定を行った後、7月4日に圃場に系統別に定植して定法によって栽培した。

## 2) 結果及び考察

- (1) 気乾種子処理の M<sub>1</sub> 発芽率及び幼苗の草文は処理濃度の高まりとともに低くなり、とくに300mM 区では生育障害が顕著に現れた。本圃では開花機に袋掛けを行い、多くの自殖種子をえたが、200mM 以上の処理区では不稔株出現頻度が高まり、また不稔の程度も大きかった。さらに300mM 区では生存率の低下も目立ち、これ以上の処理が不適当なことが示唆された。

なお、優性突然変異と見なせるような質的変異体は認められなかった。

- (3) 気乾種子処理の M<sub>2</sub> 播種3週間後の幼苗で、葉緑体及び草型について突然変異を調査した。第1表のように、変異率はEMSの処理濃度の高まりとともに上昇した。しかし、200mM 区においても変異率は16%程度であり、この区の M<sub>1</sub> における生育障害もそれほど著しくはなかったため、気乾種子のEMS処理はより高濃度で行うことが望ましい。前項の結果をあわせ考えると、200~300mM が適濃度域と思われる。

出現した変異体は黄緑葉(クロリナ; ch) がもっとも多く、縞葉(ストライプ; st) がこれに次ぎ、処理区間に変異体の種類について大きな差異はみられなかった。短稈突然変異は比較的多く誘発され、種々のタイプが認められた。矮性で葉幅が広く、濃緑葉で幼苗期に分げつを始める変異体も誘発された。

第1表 EMS気乾種子処理 M<sub>2</sub> 幼苗期の葉緑体および短稈突然変異率

処理	供試系統数	変異体の種類								計	変異率 (%)
		al	ch	st	v	z	d	nal	その他		
50 mM	196	2	7	2	0	0	1	0	0	12	6.1
100 mM	194	1	5	3	0	2	3	1	2	17	8.8
150 mM	188	3	5	4	1	0	4	1	1	19	10.1
200 mM	182	2	8	7	3	1	4	2	2	29	15.9
対 照	200	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0.5

第2表 短稈突然変異体の特性

	最長稈長(cm)	有効茎数	総苞数	稈性			100粒重	100麦粒重
				総粒数	不稈粒数	稈性(%)		
変異体-1	127	6	63	247	55	77	7.5	4.4
変異体-2	108	9	108	391	119	69	8.3	5.1
平均(A)	119	8	86	319	87	72	7.9	4.7
正常-1	135	5	57	170	77	54	8.2	5.2
正常-2	130	8	89	241	67	72	9.2	5.9
平均(B)	133	7	73	206	72	65	8.6	5.5
A/B (%)	89	115	117	155	-	111	92	86

第2表に幼苗期に選抜した短稈多げつ型変異体の成熟期における草型と着粒特性を示した。この変異体は稈長で10%矮化し、分げつ数が15%ふえていた。第3表のように1穂当たりの苞数当たりの着粒数が多く、かつ稈性がよかったこともあって、総粒数が原品種を50%も上回った。粒形はやや小さく、粒重が軽かったが、奇形粒にはならなかった。また、この変異体の短稈化は、節数の減少ではなく、各節間長が原品種よりも10%以上短縮することに基づくことが確かめられている(第4表)。大粒品種との交雑育種で短稈多収穫品種の育成が期待できる。

第3表 短稈突然変異体の主稈の着粒特性

	稈長(cm)	節数	苞数	1苞着粒数	着粒下位稈長(cm)	止葉長(cm)
変異体-1	114	18	31	4.5	56	13
-2	106	18	33	4.8	58	8
平均(A)	110	18	32	4.7	57	10.5
正常-1	130	18	15	4.1	75	
-2	137	18	31	4.1	70	
平均(B)	134	18	23	4.1	73	
A/B (%)	82	100	139	115	77	

なお、この変異体の自殖後代及び原品種とのF<sub>1</sub>を現在九州大学指宿試験地で育成中であるが、自殖系統はM<sub>2</sub>変異体に、F<sub>1</sub>系統は原品種に類似の草型を呈しており、その短稈性は劣性遺伝子支配であることが示唆されている。

第4表 突然変異体主稈の節間長

(cm)

節間*	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
変異体-1	4.5	5.3	8.4	13.8	16.8	16.9	15.4	13.3	8.3	4.3	3.5	1.8	1.5
-2	6.0	6.6	9.1	14.1	15.8	14.9	12.5	11.8	6.3	3.1	2.6	1.4	1.5
平均(A)	5.3	6.0	8.8	14.0	16.3	15.9	14.0	12.6	7.3	3.7	3.1	1.6	1.5
正常-1	4.5	6.4	9.8	14.2	17.0	17.4	16.2	13.8	13.1	6.4	4.7	2.6	1.7
-2	6.6	6.6	9.7	15.8	18.0	18.7	17.6	15.8	12.0	9.0	3.7	2.8	1.5
平均(B)	5.6	6.5	9.8	15.0	17.5	18.1	16.9	14.8	12.6	7.7	4.2	2.7	1.6
A/B (%)	95	92	90	93	93	88	83	85	58	48	72	59	94

\* 節間は最上位より1, 2, 3 ……とした。

このほかにも、短稈性や大粒性の変異株を数株えて自殖系統を作出した。難脱粒性については調査中である。

### 3) 今後の問題点

- (1) 1986年育成のM<sub>2</sub>系統の幼苗検定を行い、有望変異体について特性を調査する。
- (2) 1986年選抜の短稈・多げつ性突然変異系統について、農業特性の調査と変異形質の遺伝解析を行う。
- (3) 1986年選抜の有用変異体について特性調査を行う。

## 3. 試験2 MNUによる受精卵処理

化学変異原処理を受精直後の1細胞期に行うと、M<sub>1</sub>植物がキメラになりにくく、変異体の発見が容易になる。また細胞間の競合による変異細胞の淘汰が少なく、突然変異率が高まるなどの長所がある。一方、MNUがDNA合成期に作用することになり、複製中の遺伝子の変異率を著しく高めるので、高い効果が期待できる。イネでは、MNUの受精卵処理で種子処理よりも数倍高い変異率をえており、短稈性・早晚性・粒型・胚乳成分などについて多くの変異体が誘発されている。

ハトムギにおいても、この手法で有用突然変異の誘発が期待できるので、その処理に関する基礎的試験を行った。

### 1) 材料及び方法

- (1) 受精卵処理 「岡山在来」を適期よりも遅播きし(1986年6月10日播)、生育を抑制して供試した。処理は前年の結果を参照してMNU濃度は2及び4mMとし、1及び2時間の花穂浸漬処理を行った。処理後は24時間水洗し、ポット栽培で登熟させた。
- (2) 受精卵処理のM<sub>1</sub> 1985年にMNU 1及び2mMで1及び2時間受精卵処理した株から

採種したM<sub>1</sub> 種子を、1986年6月3日に苗箱に播種した。25日間育苗して幼苗検定を行った後、本圃に移植、定法にしたがって栽培した。

## 2) 結果及び考察

- (1) 受精卵処理 処理株を自殖しM<sub>1</sub> 種子をえたが、それらの稔性及び粒重は無処理区と差異がなかった。

なお、晩期播種でやや短稈化し、処理しやすくなったが、処理できる穎花数が限られ、開花期が遅れて晩熟化するなどの問題を生じた。早播または適期播種し、株切りもどして草姿を調節したほうがよさそうである。

- (2) 受精卵処理のM<sub>1</sub>・M<sub>2</sub>における優性突然変異を調査したが、短稈性や難脱粒性変異体は確認できなかった。しかし、粒形の大きい株や奇形粒株、不稔株などの出現が認められた。これらの変異株や正常株をランダムに選び、袋掛けしてM<sub>2</sub> 種子を採種した。

なお、本試験のM<sub>1</sub> 検定の結果からみて、MNU処理は濃度をやや高めた方がよさそうに思えた。

## 3) 今後の問題点

- (1) 1986年育成のM<sub>1</sub>・M<sub>2</sub> 系統の幼苗検定を行い、有望変異体について特性を調査する。
- (2) 株切りした再生株の受精卵処理法を検討する。
- (3) 受精卵処理と気乾種子処理の効果を比較検討する。

## 4. 試験3 Somaclonal 法による変異体作出

カルス培養からの再生植物に突然変異が発現する現象を somaclonal variation と呼んでいる。本試験では、ハトムギ組織を培養し、培養中のカルスや不定胚を化学変異原物質で処理し、突然変異体を効率よく作出する手法の開発を発想している。

本年度は、その実験系を作るために、ハトムギの幼苗及び未熟胚組織を培養し、脱分化と再分化のための条件を検討した。

### 1) 材料及び方法

- (1) 幼苗の組織培養 「岡山在来」を供試し、*in vitro* で発芽させ、その幼苗の胚軸(胚盤を含む)、鞘葉、尋常葉基部組織を外植体とした。MS培地(sucrose 30g/l, agar 10g/l, pH 5.5)にカザミノ酸3g/lを添加し、塩類濃度(1及び1/2)と2, 4-D(0及び2mg/l)処理を組合せ、25°C・暗黒下で継代培養を繰返し、カルス形成及び再分化能を調べた。ただし、2, 4-D無添加区は25°C・16時間日長に保った。
- (2) 未熟胚の培養 「岡山在来」を供試し、交配後12日と18日目の胚を外植体とした。培地並びに培養法は(1)に準じた。

## 2) 結果及び考察

- (1) 幼苗の培養 6月19日に播種し、6月26日に幼苗組織を2, 4-D 2mg/l 含む培地に置床して暗黒下で培養した。その後、2, 4-Dを含む培地で形成されたカルスを8月7日、8月27日、10月6日、11月11日、12月2日に継代した。その都度、2, 4-D無添加区を設け、16時間日長下で培養し、再分化を誘導した。

カルス形成は胚軸部を外植体とした場合に容易に起こり、これらは2, 4-Dを含む培地で継代培養を行うと、黄褐色のカルスの増殖を続けた。カルスの生長に及ぼす塩類濃度の影響は、試験の範囲では認められなかった。2, 4-D無添加培地に移すと、カルスは生長が緩慢になり、根様体を多数形成した。しかし shoot を分化したのは、延べ745培養体中3つに過ぎなかった。

- (2) 未熟胚の培養 9月4日に交配し、9月16日と22日に胚を摘出し、外植体とした。2, 4-D 2mg/l を含む培地に置床し、暗黒下で培養した。12日目の胚から形成されたカルスを10月20日、11月26日、12月17日に継代した。また、18日目の胚から形成されたカルスを12月10日、12月23日に継代培養した。それぞれに2, 4-D無添加区を設け、16時間日長で培養し、再分化を誘導した。

2, 4-D 2mg/l を含む培地で、未熟胚は黄褐色の脆いカルスを形成した。その生長速度は培地の塩類濃度を1/2に落しても影響を受けず、また継代培養してもあまり変化が見られなかった。一方、2, 4-D無添加培地に移すと培養は緑色部を生じ、ひげ状突起を多数形成した。このうち小植物体を再生したのは12日目の胚に由来する456培養体のうち4つにすぎなかった。

しかし、2, 4-D培地で3回継代培養したカルスを、1月16日に、BAを添加したMS培地で継代培養したら、BA 1mg/l 区では54培養体中11が、10mg/l 区では54培養体中14が shoot を分化した。これらはホルモンフリー培地で小植物体に育った。

以上の結果から、ハトムギではカルスからの再分化能は幼苗よりも未熟胚を外植体にした方が勝れ、また胚の age も関係することが示唆された。カルスからの再分化は培地のBA添加で促されるが、再分化率は25%以下であった。再分化誘導培地のホルモン組成の検討がなお必要である。

## 3) 今後の問題点

- (1) 登熟中の未熟胚を外植体とし、脱分化ホルモンに2, 4-Dを用いる。胚の age や再分化誘導培地のホルモン組成を検討し、再分化率の向上をはかる。
- (2) カルスや再分化誘導培地に化学変異原物質を処理し、効率よく有用変異体を作成する条件を明らかにする。