

水稻花粉の成熟過程に於ける温湯処理の効果

原 田 賢 之・村 上 道 夫

KENSHI HARADA and MICHIO MURAKAMI : The Effect of Hot Water Treatment in Growing Stages of Rice Pollen.

I 緒 言

作物の集団除精法として温湯を利用する方法は、STEPHENS 及び QUINBY (1933), JODON (1938), 近藤 (1939, 1942), 長尾及び河村 (1942), 村上 (1954, 1955), 宮司他 (1955) 等により種々の作物に適用されて、極めて効果的であることが報告されている。之等によれば、該方法に供試する個体はいづれも開花直前の穎花であり、処理に際しては穂中の穎花の成熟程度を均一にすることが必要とされている。然るに牧草では、一穂中に含まれる多数の穎花には成熟程度に著しく差がみられるので、十分注意しても未熟花をも同時に処理することをまぬがれない。而も水稻にみられる如く、処理後の開穎促進程度により未熟花を摘除することは極めて困難である。従つて花器の成熟過程に於ける花粉の熱に対する抵抗力、即ち花粉がその形成初期より完成に至るまでの過程において、熱に対して如何なる抵抗力を示すかを知ることは、該方法の適用時期に対する一指針を与えるものと思う。此の点を明らかにする為に、筆者等は比較的花粉の生成過程の追跡が容易である水稻を用いて、その幼穂の成熟過程の種々なる時期に於いて二三の条件で温湯処理を適用し、処理が其の後の花粉の発芽力に如何なる影響を及ぼすかを調べた。更に雌蕊の受精力に及ぼす影響及び結実種子の発芽力に対する影響をも同時に調査し、温湯法適用の最適時期に対する考察を試みた。

II 材料及び方法

供試材料としては西京大学圃場に於いて育成中の水稻品種「千本旭」を用いた。供試個体の成熟程度をなるべく均一ならしめる様に注意し、5月13日に播種して健全に生育した苗令6の苗を、5万分の1 wagner's pot に間隔1寸の2本植で6月29日に移植して育成した。処理に当つてはその内より故障なく正常に生育した個体を選んで供試した。幼穂の発生時期及び経過に関して、なるべく個体間差異を小ならしめるために、供試穂はすべて各株の主穂のみに限つた。温湯処理

の方法は既報(村上, 1954, 1955)の如く2重槽を用い、内槽の温湯に供試穂が十分浸漬する様に注意した。処理条件の決定に際しては、従来水稻に於いて最適処理条件として用いられている43°C—8分區を標準区とし、又花粉の棧能が処理後も70%近く保たれている40°C—8分區を低温区とし、更に之に高温区として46°C—8分區を加えて、計3処理区を設定した。処理時期としては、普通温湯処理の適用される開花直前の処理、即ち通常処理期と、出穂期及び出穂の約4日、8日、12日前の計5期を決定した。出穂前日数の決定には後述の如く、出穂以前の温湯処理によつて爾後の出穂期に変動を来さしめないことを認めたので、各処理日が処理穂の出穂に先立つ日数を以つてした。猶千本旭に於ける幼穂の伸長経過、並びに花粉の成熟経過をも観察した。処理穂はいづれも直ちに袋掛けを施し、花粉の発芽力は自家結実の程度によつて檢した。又雌蕊の受精力は処理穂の出穂後に、従来のClipping Methodによつて除雄し、健全花粉を授粉してその結実状態によつて調べた。

実験はすべてガラス室内で行い、供試穂は各処理区共、花粉の発芽力の檢定には3穂を、雌蕊の受精力檢定には2穂を用い、別に無処理区として花粉檢定用10穂、雌蕊檢定用3穂を用意した。

III 実験結果及び考察

1. 処理が出穂期に及ぼす影響 寺田他(1940)は水稻の冷害研究に於いて、出穂前の種々の時期に低温処理を施した場合、出穂前日数の決定は、供試個体と同一生育状態にあるものの主穂出穂期より、各処理開始期が先立つ日数を以つて間接に求めている。筆者等は本実験に於ける出穂前日数の決定に際して、処理がその穂の出穂期に先立つ日数を以つてしたが、若し出穂前の温湯処理によつて出穂期に変動を来さしめるならば、この方法は妥当なものとは言えない。従つて豫め出穂期に対する処理の影響を見る目的で「千本旭」に対し、その出穂期前8日頃に43°C—8分及び46°C—8分の2処理条件で温湯処理を行つた。各株主穂の出

Table 1. The heading date of panicles which were treated by hot water on about 8 days before heading

Treatment	Heading date						Total	M ± σ
	Sept. 4	5	6	7	8	9		
43°C-8 minutes		3	9	5	3		20	6.40±0.92
46°C-8 minutes	1	2	6	6	4	1	20	6.65±1.19
Control	1	4	8	5	2		20	6.15±1.01

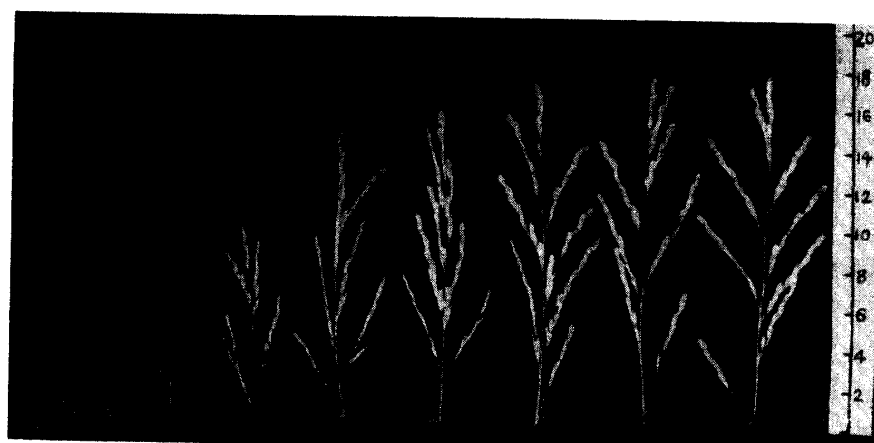
穂期の変異は第1表に示す如くである。之によれば46°C-8分は無処理に比して平均0.5日の遅延を示しているが、この兩者の間には統計的に有意な差は見られなかつた。即ち出穂前の温湯処理がその穂の出穂期に影響するとは思われない。従つて本実験に於ける出穂前日数の決定には上述の方法を採用することにした。

2. 水稲幼穂の发育過程に於ける花粉の状態 出穂期以前の種々の時期に於いて温湯処理を行う際、その処理時の花粉の成熟状態を知る為、処理株と略々同様の发育状態にあり且つ健全に发育している6-7株の主穂を解剖して観察した。「千本旭」の幼穂長は出穂前20日では0.3cmであり、其後出穂14日前迄は緩慢な成長をして2.0cmになるが、其頃より急速に伸長し始めて出穂前8日迄には穂の殆ど大部分の伸長を終る様である。以後は除々に伸長を続けるが出穂期以後は殆どその成長を停止するその状態は第1図に示す如くである。猶その幼穂の成長に伴う花粉の成熟程度を観察した。花粉母細胞の観察には Aceto-carmin 及び Aceto-orcein による Smear Method により、花粉粒の染色には cotton blue を用いた。その結果は第2表及び第2図に示す如くである。一穂中の穎花

Table 2. The aspect of maturity of rice pollen in several growing stages

Days before heading	Upper branches	Middle branches	Lower branches
13	F	G-F	G
12	E	F-E	G-F
11	E-D	E	F
9	C	D-C	E-D
8	C	C	D
7	C-B	C	D-C
5	B	C-B	C
4	B	B	C-B
3	B-A	B	C-B
0	A	A	B-A
-1	A	A	A
-2	A	A	A
-3	A	A	A

- A : Complete pollen
- B : Increase in the protoplasm of pollen
- C : Completion of outer hull of pollen
- D : Formation of outer hull of pollen
- E : Immediately after the meiosis of pollen mother cell
- F : Meiosis of pollen mother cell
- G : Before meiosis of pollen mother cell



0.3 1.0 2.0 5.0 10.5 15.0 16.0 17.5 18.0 18.0 Length of panicle (cm)
20 16 14 12 10 8 6 4 2 0 Days before heading

Fig. 1. The aspect of growing panicles in several stages before heading.

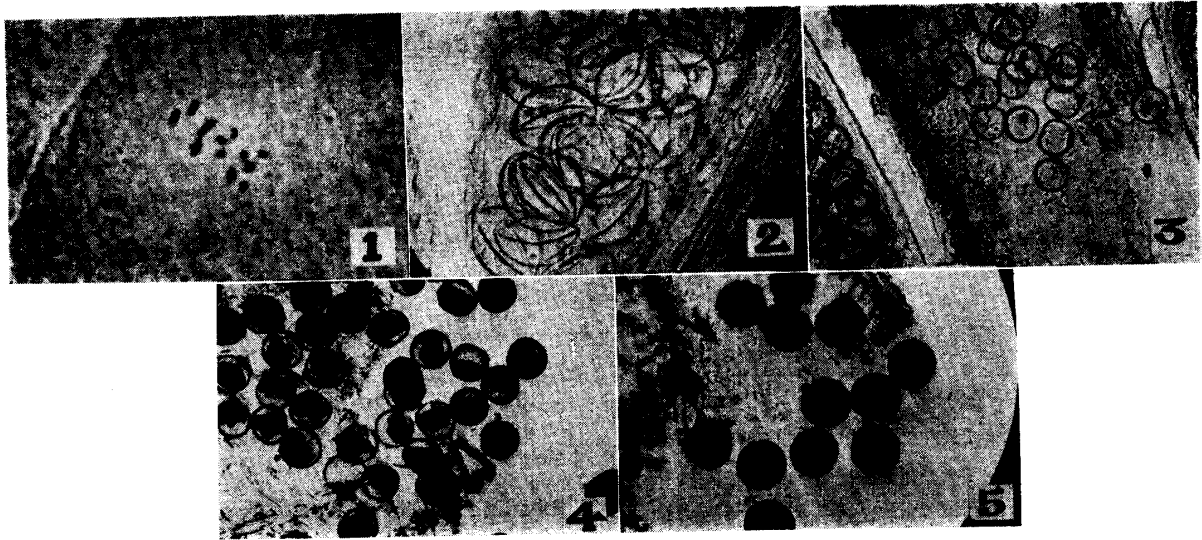


Fig. 2. The aspect of maturity of rice pollen in several growing stages.

- 1: Meiosis of pollen mother cell (12 days before heading) ×2600
- 2: Formation of outer hull of pollen (10 days before heading) ×500
- 3: Completion of outer hull of pollen (8 days before heading) ×250
- 4: Increase in the protoplasm of pollen (4-6 days before heading) ×250
- 5: Complete pollen (2 days before heading) ×250

の位置により花粉の成熟程度の異なるのは当然である。従つて豫め穂を上、中、下の三部にわけた。即ち頂部より1—3枝梗を上部枝梗、4—6枝梗を中部枝梗、7枝梗以下を下部枝梗と定めた。温湯処理時期に予定した出穂前4、8、12日の夫々前後1日の余裕を許して、出穂前3—5日、7—9日、11—13日として区分して観察したが、その区分により花粉成熟程度に明らかな相違を認めることが出来た。各時期共、下部枝梗に於いては、成熟程度がかなりおくれる様である。穂の上、中部に於ける観察では略々同様の成熟程度が認められた。之によれば、出穂前11—13日は大体花粉母細胞の Meiosis 或はその直後と見てよく、出穂前7—9日頃は花粉の外殻が形成され、更に出穂前3—5日になれば花粉の原形質が増加し始め、出穂期以後ではいずれも花粉は完成していた。猶穂の各部の第二次枝梗の穎花は成熟がや、遅れている為にすべて除去し。観察は枝梗上部の6—10花の平均を以つて示した。更に他の方法として処理穂自身の主稈の側面を鋭利な刃で1—2cm 切開し、2、3の穎花を摘出して花粉の状態を直接調べる方法を試みた。然し此の方法では処理穂の出穂は著しく遅延し、又不出穂に終るものも多かつた。之は稈の損傷部により穂の伸長を妨げる結果であると思われる。従つて処理穂の直接観察法は此の場合不適當であつた。

3. 処理が花粉発芽力に及ぼす影響 以上の如くにして決定した出穂期以前の3時期と、出穂期及び通常

処理期の5期に、夫々 40°C—8分、43°C—8分、46°C—8分の3処理条件を以つて温湯処理を行つた。処理後直ちに袋掛けを行い、結実期に之を採取してその結実状態を調査した。その結果は第3表に示す通りである。表中の数値はすべて供試穂の合計値を以つて示した。調査は各穂共上部及び中部の30—40穎花について行い、下部及び第2次枝梗の穎花はすべて除去した。猶この結実率を図示すれば第3図の如くである。之等によれば、花粉の発芽力即ち熱に対する花粉の抵抗力は、一般に成熟過程の若いもの程大であることがわかる。低温の40°C区では、出穂前11—13日には無処理区と略々同様の高い結実率を示した。通常処理期に至つて60%に低下したが他はすべて80%以上の良好な結実率を示した。43°C、46°Cと高温になるにつれ結実率は急激に減少するが、以上3処理区共出穂前11—13日即ち花粉母細胞の Meiosis 時の処理は、夫々最高の結実率を示した。之は処理が花粉母細胞の Meiosis に差程異常を来さしめないことを示しており、低温障害の場合と全く異なる現象である。次いで出穂前7—9日区即ち花粉外殻の形成期になると、3処理区共結実率は低下するが、出穂前3—5日即ち花粉の内容が充実する時期の処理に於いて再び上昇の傾向がみられる。更に出穂期処理では標準区の43°C—8分処理で23%、高温区の46°C—8分処理でも4%の結実率を示した。猶通常処理期に於けるこの兩処理区はいずれも不結実であつた。出穂期の花粉は内容充実し、外観

Table 3. The seed fertility of treated panicles pollinated with treated pollen

Treatment	11-13 days before heading			7-9 days before heading			3-5 days before heading			Heading date			Optimum time of treatment		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
40°C-8 minutes	144	139	96.5	146	118	80.8	138	118	85.5	117	99	84.6	95	58	61.1
43°C-8 minutes	119	97	81.5	126	81	64.3	114	89	78.1	116	27	23.3	115	0	0.0
46°C-8 minutes	131	81	61.8	123	55	44.7	124	65	52.4	127	5	3.9	129	0	0.0
Control	429*		419*		97.7										

I : Number of florets (sum of 3 panicles)
 II : Number of seed setting (")
 III : Percentage of seed setting
 * : Sum of 10 panicles

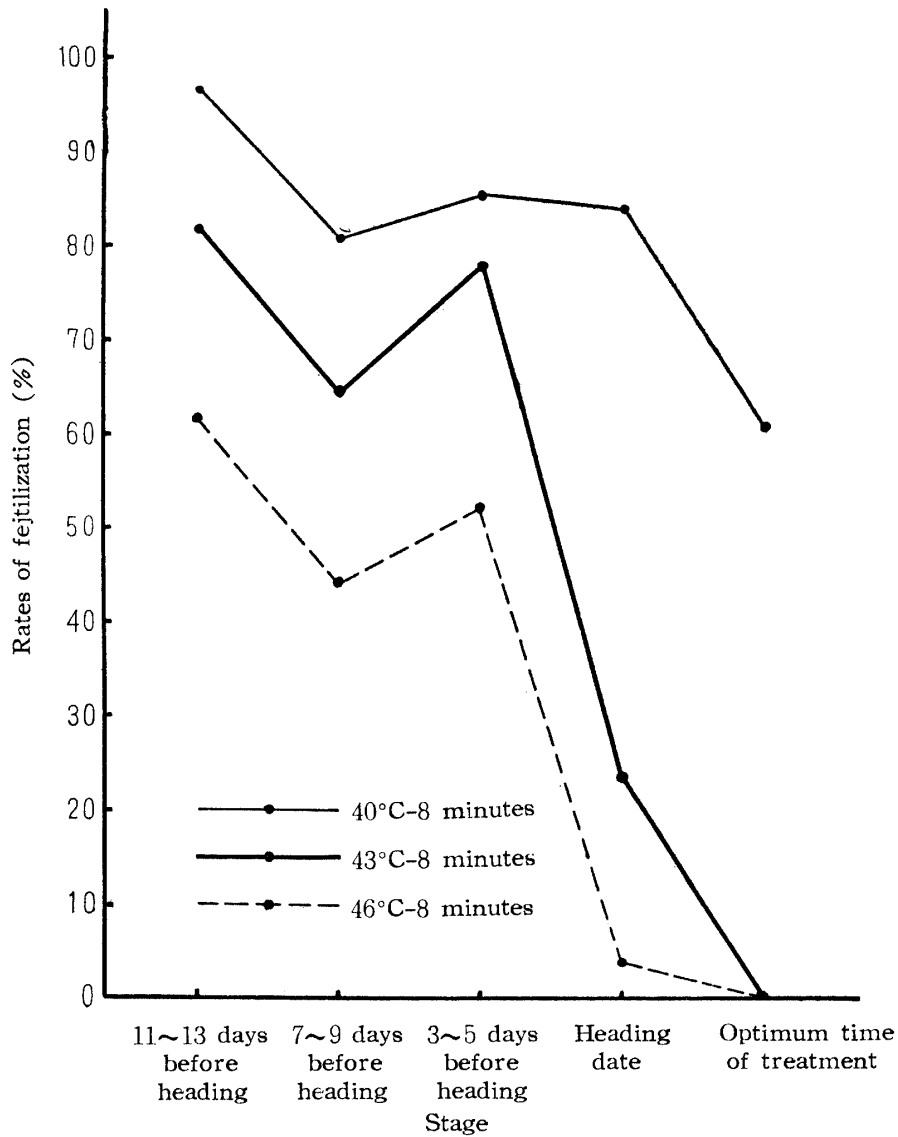


Fig. 3. Relation between the fertilization rates of treated panicles pollinated with treated pollen and the stages of hot water treatment.

上開花直前のものと何等異なる所はない。にも関らずかゝる結実能力を有することは、兩者の間に熱に対する抵抗力に差のあることを示している。猶こゝに示された数値は、処理花粉自身の真の機能を表しているとは言えない。即ちこの結実率は、同時に処理された雌蕊に対するものである為、花粉と雌蕊の兩者の複合結果とみられる。然し乍ら、温湯法を実際に適用する見地よりすれば、処理花粉の機能は、処理穂の自家結実状態で判定して差支えないと考えられる。猶本実験の結実率には第4表に示す如く、処理条件及び時期間に夫々1%水準にて有意差が認められた。

4. 処理が雌蕊の受精力に及ぼす影響 次に雌蕊の受精力に温湯処理が如何に影響するかを調べる目的で、各処理区の同一処理の2穂を出穂後に従来行なわれている Clipping method によつて除雄し、直に他の健全花粉を授粉した。之を結実期に採取して結実率を調査した。その結果は第5表及び第4図に示す如くである。之等によれば、無処理区に於ける結実率は60%以上であつたが、処理区は一般に之より低い結実率を示した。処理条件の間にはその結実程度に顕著な差がみ

られなかつたが、時期の相違によつてはかなり明らかな変化がみられた。即ち出穂前7—9日に処理した場合に於いては、3処理区共わづかに20%内外の結実率を示すにすぎなかつた。寺尾他(1940)が胚嚢母細胞の状態を観察した結果によれば、胚嚢母細胞の Meiosis は花粉母細胞のそれよりも幾分おくれる様であり、この時期は略々 Meiosis 直後乃至胚嚢四分子の退化の時期に相当している。従つて之等の温度処理が胚嚢形成過程に何らかの影響を及ぼす結果結実率の低下を来さしめたのではないかと思われる。猶上述の花芽発芽力の場合にこの時期に於ける処理が自家結実率を低下せしめたのも恐らくこの為であらう。出穂期前後の処理に於いて高い結実率を示したが、之はこの時期に於ける雌蕊の熱に対する抵抗力は、花粉のそれよりも著しく強いことを示している。猶この場合には Clipping method の技術上の誤差をかなり含むものと思われるが分散分析の結果、第6表に示す如く処理条件間に有意差なく、時期間には1%水準で有意差が認められた。

Table 4. Analysis of variance in seed fertility of treated panicles pollinated with treated pollen

Source of variation	S. S.	N.	S. S/N.	F.	P.
Treatment	6228.544	2	3114.272	14.98	0.01—0.001
Stage	7482.869	4	1870.717	9.00	0.01—0.001
Error	1663.523	8	207.940		
Total	15374.936	14			

Table 5. The seed fertility of treated panicles pollinated with normal pollen

Stage	11-13 days before heading			7-9 days before heading			3-5 days before heading			Heading date			Optimum time of treatment		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
40°C-8 minutes	52	30	57.7	51	12	23.6	60	30	50.0	57	31	54.4	51	24	47.1
43°C-8 minutes	55	31	56.4	61	11	18.0	55	19	34.5	59	39	64.3	49	27	55.0
46°C-8 minutes	57	24	42.0	46	8	17.4	64	27	42.2	40	19	47.5	68	22	32.4
Control	86*	53*	61.5												

I : Number of florets (sum of 2 panicles)

II : Number of seed setting (")

III : Percentage of seed setting

* : Sum of 3 panicles

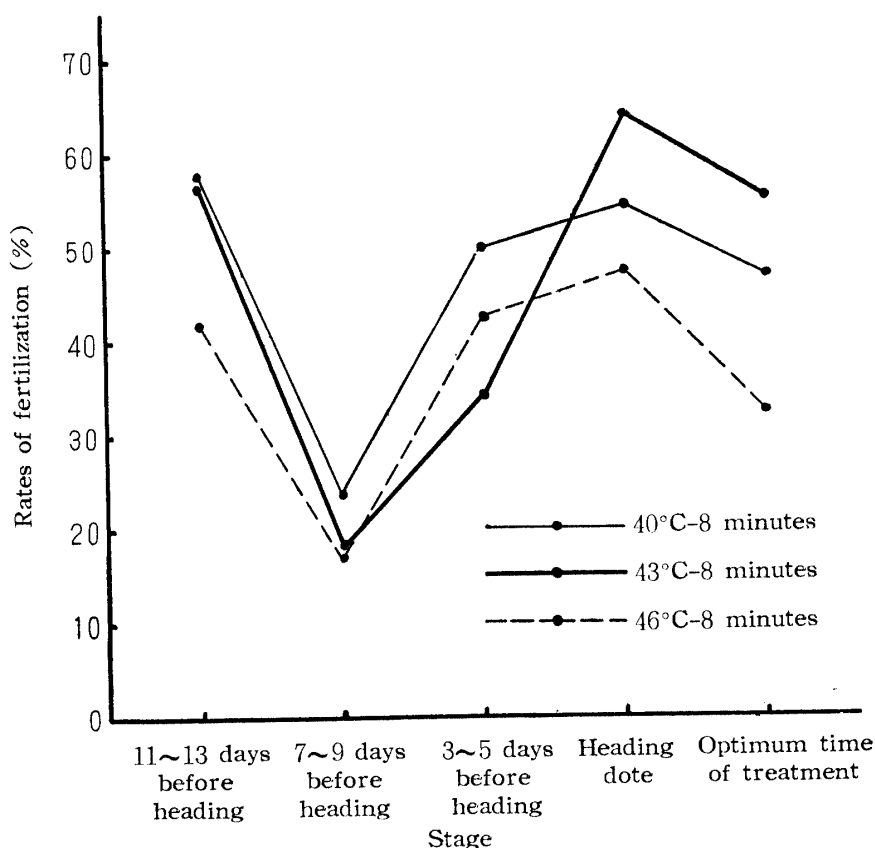


Fig. 4. Relation between the fertilization rates of treated panicles pollinated with normal pollen and the stages of hot water treatment.

Table 6. Analysis of variance in seed fertility of treated panicles pollinated with normal pollen

Source of variation	S. S.	N.	S. S. /N.	F.	P.
Treatment	322.250	2	161.130	3.40	0.20-0.05
Stage	2350.847	4	587.712	12.41	0.01-0.001
Error	378.817	8	47.340		
Total	3051.914	14			

5. 結實種子の発芽力 自家及び交配結実種子の発芽試験の結果は第7表に示す如くである。同試験は14日間で締切つた。処理及び時期と発芽率との間に一定の傾向が見られなかつたが、一般に処理区は無処理区に比してかなり発芽は悪かつた。然し従来水稻で温湯法の適用される処理条件、即ち通常処理期における43°C—8分処理の場合には、交雑種子は著しく高い発芽率を示し、処理の影響はみとめられない様である。然し交雑種子の場合に於いて発芽率の分散分析を行つた結果、第8表に示す如く処理条件及び時間には

共に有意差が認められなかつた。

6. 結論 以上の如く水稻を用いて行つた実験に於いて、花粉の熱に対する抵抗力は成育初期に於いて強く、開花直前に至つて最も弱いことを認めた。又このことは筆者が牧草の温湯除精法を行うに際しても、屢々経験して来た所である。故に作物に温湯法を適用する際には、供試花の成熟程度を常に均一ならしめると共に、開花直前の穎花を選ぶ様にしなければならない。特に牧草等の如く一穂中に成熟程度の異なる多数の穎花を含む場合に於いては、供試花中未熟花を

Table 7. (A). The germination of fertile seed by pollination with treated pollen

Stage Treatment	11-13 days before heading			7-9 days before heading			3-5 days before heading			Heading date			Optimum time of treatment		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
40°C-8 minutes	139	89	64.0	118	82	69.5	118	41	34.7	99	40	40.4	58	47	81.0
43°C-8 minutes	97	78	80.2	81	30	37.0	89	39	43.8	27	17	63.0	0	0	0.0
46°C-8 minutes	81	80	98.8	55	35	63.7	65	13	20.0	5	4	80.0	0	0	0.0
Control	419* 410* 98.1														

I : Number of seed (sum of 3 panicles)

II : Number of germination (")

III : Percentage of germination

* : Sum of 10 panicles

(B). The germination of fertile seed by pollination with normal pollen

Stage Treatment	11-13 days before heading			7-9 days before heading			3-5 days before heading			Heading date			Optimum time of treatment		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
40°C-8 minutes	30	18	60.0	12	6	50.0	30	18	60.0	31	22	71.0	24	22	91.6
43°C-8 minutes	31	18	58.0	11	8	72.9	19	7	36.8	39	22	56.3	27	26	96.3
46°C-8 minutes	24	17	71.0	8	6	75.0	27	16	59.1	19	11	58.0	22	15	68.2
Control	53* 51* 96.2														

I : Number of seed (sum of 2 panicles)

II : Number of germination (")

III : Percentage of germination

* : Sum of 3 panicles

Table 8. Analysis of variance in germination of fertile seed by pollination with normal pollen

Source of variation	S.S.	N.	S.S./N.	F.	P.
Treatment	18.265	2	9.133	—	—
Stage	1794.530	4	448.633	2.58	0.20-0.05
Error	1392.202	8	174.025		
Total	3205.997	14			

多く含む穂は幾分処理条件を高めなければならない。従つてこの不都合を除くためには、処理に先立つて穂上の同一部位にあつて成熟程度の均一な穎花群のみを残し、他はすべて摘除して後処理を開始することが必要である。

IV 摘 要

1. 温湯法による集団除精法を種々の作物に適用する際に、供試花の成熟程度によつて花粉の熱に対する抵抗力に差がある様に思われる。此の点を明らかにす

る為に、水稻品種「千本旭」を用いて幼穂並に花粉の成熟過程の観察と、その種々なる時期に於ける温湯処理が、花粉及び雌蕊の機能に対し如何なる響影を及ぼすかを調査した。

2. 処理条件は、低温区 40°C—8分、標準区 43°C—8分、高温区 46°C—8分の3区とし、処理時期を、通常処理期、出穂期、出穂前3~5日、7~8日、11~13日の5期とし、兩者を組合せて15試験区を設けた。

3. 出穂期以前の処理により、供試穂の出穂期に変動を来さしめなかつたので、出穂前日数の決定は、処理がその穂の出穂期に先立つ日数を以つてした。

4. 花粉の成熟状態は、出穂前11~13日では花粉母細胞のMeiosis, 7~9日では花粉の外殻形成期, 3~5日は花粉内容の充実期であり、出穂期以降に於いては花粉粒はすべて完成していた。

5. 温湯処理後直ちに袋掛けを行い、自家結実の状態によつて花粉の機能を調査し、一方 Clipping method による結実率によつて雌蕊の機能を調査した。更に結実種子の発芽試験を行い、之等に対する処理の影響を考察した。

6. 花粉の熱に対する抵抗力は、成熟過程にあるものは一般に強く、出穂期に於いて著しく弱まり、開花直前の成熟花粉が最も弱かつた。又出穂期以降に於ける雌蕊の熱に対する抵抗力は、花粉のそれに比して著しく強いものと思われる。

7. 結実種子の発芽は、最適処理条件区のもものが最も良好であつたが、処理、時期による差は認められな

かつた。

8. 以上の結果より、温湯法により集団除精を行うに際しては、処理に先つて開花直前の成熟程度均一なる穎花を選び、未熟花はつとめて摘除する必要があることが判明した。

引用文献

- 1) JODON, N. E. (1938) : Jour. Amer. Soc. Agron. **30** : 294-306.
2. 近藤頼己 (1939) : 農業及園芸, **14** : 41-52.
3. —— (1942) : 科学, **12** : 413-416.
4. 宮司佑三・酒井慎介・石秋炯 (1954) : 粟の温湯除精に関する実験. 日本育種学会第六回講演.
5. 村上道夫 (1954) : 育種学雑誌, **4-1** : 14-17.
6. —— (1955) : 西京大学報. 農学, **7** : 134-138.
7. 長尾正人・河村幸次郎 (1942) : 遺伝学雑誌, **18** : 58-68.
8. 長戸一雄 (1941) : 日本作物学会紀事, **13-2** : 156-169.
- 9) STEPHENS, J. C. and QUINBY, J. R. (1933) : Jour. Amer. Soc. Agron. **25** : 233-234.
- 10) 寺尾博・大谷義雄・白木実・山崎正枝 (1940) : 日本作物学会紀事, **12-3** : 177-195.
- 11) ——・——・土井弥太郎・趙重九 (1940) : 日本作物学会紀事, **12-3** : 196-202.
- 12) ——・——・——・泉清一 (1941) : 日本作物学会紀事, **13-3, 4** : 317-336.

Summary

1. The present paper deals with the results of investigations on the observation of growing stages of immature panicle and pollen grain of rice variety "SENBON-ASAHI" and on the effect of hot water treatments in several times of these stages upon the function of pollen and ovule.

2. In this tests, 3 conditions of hot water treatment were adopted, that is low (40°C for 8 minutes), standard (43°C for 8 minutes) and high (46°C for 8 minutes) temperature section. These treatments were carried out on 5 different stages namely optimum time of treatment, heading date, 3 to 5 days before heading, 7 to 9 days before heading and 11 to 13 days before heading.

3. Heading date of treated panicle was unchanged owing to the treatment before head-

ing, for this reason "days before heading" was determined by the number of days preceding the heading date of treated panicle.

4. The aspect of growing pollen was observed as follows :

Meiosis of pollen mother cell was found in 11 to 13 days before heading, outer hull of pollen was formed in 7 to 9 days before heading, protoplasm of pollen was increasing in 3 to 5 days before heading and all pollen grains were complete after heading date.

5. Pollen function was tested by the fertility of treated panicles pollinated with treated pollen and ovule function was by the fertility of treated panicles pollinated with normal pollen by clipping method.

6. About the heat resistance of pollen, pollen in growing stages was generally stronger than complete pollen and especially the pollen just before the flowering was most inferior. It was considered that heat resistance of ovule was very strong as compared with the pollen after heading.

7. The germination of seeds which raised

under the optimum time of treatment were best of all, but no evident tendency due to different conditions and stages of treatment was recognized in germination of seed.

8. According to these results, it was identified that we must select uniform florets on degree of maturity and must remove immature florets in treated panicle as much as possible.