サトウキビ育種における温湯除雄法

誌名	沖縄県農業試験場研究報告 = Bulletin of the Okinawa Agricultural Experiment Station
ISSN	03877841
著者名	金城,鉄男
発行元	沖縄県農業試験場
巻/号	13号
掲載ページ	p. 1-12
発行年月	1989年11月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council Secretariat

AgriKnowledge

沖縄県農業試験場研究報告：第13号 1-12
Bull. Okinawa Agric. Exp. Sta. No.13, 1 -12(1989)

サトウキビ育種における温湯除雄法

金 城 鉄 男
作物部さとうきび育種研究室

Method of Emasculation of Sugarcane Flower by Hot-water Treatment in Sugarcane Breeding

Kaneo KINJYO

Laboratory of Sugarcane Breeding Okinawa Prefectural Agricultural Experiment Station
4-222 Sakiyama, Shuri, Naha, Okinawa 903, Japan

Summary

This study was conducted to establish proper method of flower Emasculation. Sugarcane inflorescenses were dipt in 44-48℃ Hot-water in order to know optimum method of emasculation in 1985 and 86 crossing season.

The results were summarized as followings.

1. In order to find process of pollen restoration after Hot-water treatment, two kinds of pollen germination media were used i.e modified Cook and Walden (1965) and Moore (1975). In JW 4 (*Ripidium kanashiroi*) the medium Cook and Walden (1965) gave significantly higher Ratio of Pollen Germination than Moore (1975), whereas in CP70-1133, KF69-43 Moore (1975) gave siginificantly higher R.P.G. than Cook and Walden (1965). In JW176(*S. spontaneum*) no siginificant difference was observed in both media.
2. Treatment at 44℃ for the duration of 12, 14, 16 minutes, R.P.G. was nil or few after 1 to 2 days, and increased R.P.G. after 2 to 3 days in that order. At 46 ℃ treatment under the duration of 10, 12, 14, minutes, R.P.G. was nil or few after 2 to 3 days, and increased R.P.G. after 3 to 4 days in that order. At 48℃ treatment for 6, 8, 10 minutes, R.P.G. was nil or few after 3 to 4 days. and after 4 to 5 days pollen germination was observed gradually in that order.

   Flower damages at first day after Hot-water treatment at 46℃ using Commercial variety failed to open spiklet, whereas JW176 induced at 48℃ for 8 to 10 minute showing drooping of flower.
3. It was observed that for reducing male fertility, treatment at 46℃ for to three times were effective, but stigma damege was also caused by successive treatment. Viable seedlings decreased by 46℃ 14 minutes treatment for two times in CP70-1133, KF69-43 and also reduced by 46 ℃ for 14 minutes treatment for three times in JW 4.

   Five hours lighs period (2 hours fluorescent lighting + 3 hours day-lighting) treatment followed by Hot-water treatment reduced ratio of anthers opening and also reduced R.P.G., therefore these treatment were especially reduced pollen germination probability.
4. In conclusion Hot-water treatment at 46℃ for 14 minutes and / or 46℃ for 12 minutes double treatment followed by five hours light period treatment were thought effective and further practical use to the female material without apparent damaging stigma.

1987年 8 月30日 受理
現 沖縄県農業試験場名護支場果樹育種研究室

緒　　論

サトウキビは、遺伝的に高次倍数性、高次異数性の染色体構成とされる。それは、有用特性を集積するための種・属間交配の後代実生から、経済品種を選抜育成する過程で生み出された。さらに、同一品種の染色体数においても、細胞により変異の認められるChromosome Mosaicisum（板倉ら、1984[b]）の存在が報告されている。このように複雑な遺伝的背景があるが、出穂開花後の交配種子が得られない品種・系統はほとんどない。

例年の交配法を紹介すると、サトウキビの穂における全小花は両性花であり、機能上イネ、ムギとなんら変わることはない。しかし沖縄においては、遺伝的、気象的要因のいずれかの影響による雄性不稔品種が数多く報告された（板倉ら、1984[ab]）。他方、外国導入品種あるいは本県の育成品種などの中に雄性可稔品種がある。通常の交配では、雄性不稔品種は母本に、雄性可稔品種は父本に利用される。ところが、雄性可稔品種は自家受精種子を生産するが（さとうきび育種試験成績書、1980～85）、日最低気温が低下し、花粉の飛散がなくなると交配母本として利用される。その理由としては、目的とする交配を正確に行い、種子の獲得を効率的にし、遺伝子組換え個体の出現をうながし、優良遺伝子の集積を図ることと、交配結果が次回に反映されることに配慮したためである。このような正確な交配作業の継続と、有用特性の集積のために、雄性可稔個体を除雄し、母本利用する育種法は将来とも増大するものと推測する。

サトウキビの除雄法は、台湾のTang（1962）により温湯除雄法が開発され、44℃10分および15分間処理が効果的であることを報告し、42℃では効果がなく、46℃以上では雌蕊の損傷が見られることを報告した。また、Krishnamurthi（1977）は50℃10分間処理で雌蕊の損傷が発生する事を報告した。Divinagracia（1980）は蒸気発生機を考案し、機内温度が50℃のとき蒸気を10分間穂に噴射して処理し、効果的に除雄できることを報告している。

本研究では、1985年にTang（1962）の温湯除雄法を再検討し、除雄を試みたが、明確な成果が得られなかった。そのため、1986年に適正な処理温度の検討と、除雄後の花粉の回復過程を、人工の花粉発芽培地を利用して解明したので報告する。

材料および方法

試験１．温湯除雄法の検討

1985年に沖縄県農試の交配用品種圃場で成育した20品種・系統で、出穂開花後１～２日の穂を材料としたが、穂の既に開花した小花はハサミで切るか、指で摘み取った。穂は取り木あるいは株上げ法によって維持した。

除雄は、Tang（1962）の方法で、44℃12分間処理を行った。自作除雄機による除雄は、縦36cm×横76cm×高さ38cmのガラス水槽の水を投入式パイプヒーター1.3kwで加温し、水銀式のマグコンサーモレギュレーターで温度制御させ、モータースクリューにより温湯を循環させて行った。設定温度の確認は温度計３本によって行った。設定温度からの誤差は、加温直後の温湯で0.5℃高くなったが、処理中の穂に直接循環水が到達しないように配水した。加温の際のヒーターの使用では、サトウキビの穂が大きいため大水槽を利用せざるを得ず、加温容量を大きくする必要があったが、最終的に温度誤差を小さくし、加温効率を良くするために1.3kwを用いた。また、温湯の表層２cmにおいては、設定温度より0.3℃低くなった。

除雄処理後の穂は、他家受精を避けるため、ガラス室内において無風状態を保ち、更にビニールのカーテンで仕切りを設けて開花させた。

試験２．花粉発芽培地の使用適性の検討

材料は、1986年に取り木または鉢植えした４品

第１表　花粉発芽培地組成(mg/リットル)

培地名	$CaCl_2$	$Ca(NO_3)\cdot 2H_2O$	H_3BO_3	$MgSO_4\cdot 7H_2O$	KNO_3	Sucrose	Agar
Cook's	300	—	100	—	—	250000	8000
Moor's＊	—	500	50	200	100	250000	8000

＊pH5.0の調整はSucrose,Agar を加える前に行う

種のJW４（Japanese Wild No. 4＝*Ripidium-kanashiroi*），JW176（*Saccharum spontaneum*），KF69-43，CP70-1133を用いた。

花粉発芽培地はCook and Walden (1965) の修正培地（Cook's培地），Moor and Jung (1974)，Moor (1975) の培地（Moor's培地）である。培地組成については第1表に示した。培地は冷蔵した濃厚液から、花粉を置床する朝か前日の夕方に所定の液を作り、厚さ３～４mmとなるようにシャーレに分注し、分注後はシャーレ内壁への水分の付着を防ぐため、蓋を開けたまま冷やした。冷却後のシャーレは室温下に置いた。この一連の花粉発芽培地作成方法は、余剰水分による花粉内容物の突出（バースト）を防止するためである。

発芽試験に供する花粉は、常に同一の穂から午前９時前後に採集し、直ちにシャーレ培地上に置床した。シャーレは、25℃下に１～２時間置いた後、発芽状況を観察した。

試験３．効果的な除雄温度と処理時間の検討

沖縄におけるサトウキビの効果的な除雄温度と処理時間を検討するために、1986年に取り木および鉢植え法による４品種JW176，JW349（S. *spontaneum*），KR66-102，KF69-101を供試した。

除雄の方法は試験１に同じ、除雄温度、処理時間は以下に示した。

	12分		10分		６分
44℃	14分	46℃	12分	48℃	８分
	16分		14分		10分

花粉発芽にはMoor's培地のみ用いた。

試験４．除雄効果を継続させる処理の検討

供試材料は、試験３と同じ維持法を利用し、JW４，KF69-101，KF69-43，CP70-1133 の４品種を用いた。

除雄の方法は試験１と同じであるが、温度は46℃で、処理時間は10分、12分、14分であり、２回目、３回目の反復除雄処理の際も同様に行った。５時間の明期処理は、サトウキビの日長処理装置を利用し、明期として午前７時から２時間の蛍光ランプによる照明に続き、３時間の自然光のもとに置き、その後は暗期になるように周期調整して行った。

花粉発芽試験は、JW４にCook's培地、その他はMoor's培地を利用して行った。

試験結果および考察

試験１．

温湯除雄に供試した品種の自家受精種子の発芽数（自殖実生数）を第２表に示した。1980～1985年の交配期に父本として供試されており、穂わた１グラム当たりの自殖実生数は0.0～188.0本であった。毎年F_1実生の親として用いられたこれらの品種について、育種の効率化と有用変異の利用拡大を図った交配父母本の正逆交配をするため、44℃12分間の温湯除雄処理を行った。CP57-603，KF69-101，RK63-26，Glagah Kleotの品種は、無処理区に比べ処理区は自殖実生数が減少し、処理効果が認められる傾向にあった。他方、CP70-1133，KR66-102，JW50では無処理区に比べ処理区に自殖実生数が多く、除雄処理の効果が判然としない品種が認められた。その理由としては、除雄処理の効果を自殖実生数の多少で判定したため、あるいは除雄処理後の花粉の受精能力の回復経過を無視したために起こったと推測した。Tang (1962)，Krishnamurthi (1977)，Divinagracia(1980) の報告でも、除雄処理後の花粉の回復経過については明確に報告してない。また、３氏の報告以外に、除雄処理を行った後、その効果を継続させる何らかの措置を講ずる必要性があることが伺われた。そのため次の試験では、まず除雄温度と除雄処理後の花粉の回復過程を解明することと、除雄処理の効果に二次的にその効果を継続させる処理について、検討する必要があると思われた。

一方、44℃の除雄処理後の穂および小花雌蕊には外観上特に障害は観察されず、交配に供試した穂は、穂わた１グラム当たりで0.7～441.7本の実生が得られた。実生数の数値の範囲が大きいのは、交配父本の花粉飛散量の多少によるものと思われる。

試験２

除雄処理の効果を無処理の花粉と迅速に比較する手段として、２種類の花粉発芽培地を用いて検討した。花粉採取時のガラス室の温度は22～27℃の範囲内にあり、採取に10～15分を要したが、その後は25℃の設定温度下においた。Sartoris (1942) は22～30℃、Moor and Jung (1974)，Moor (1975) は23～25℃、トウモロコシを材料としたCook and Walden (1965) は22～26℃、Pfahier (1970) は27℃の恒温条件で実験を行っており、

いずれの使用培地も25℃を中心とし、22～30℃の範囲内で発芽試験を行っている。花粉発芽培地とサトウキビ雌蕊上における花粉の温度条件は、極力一致させた。また、花粉発芽培地として用いたCook's培地はトウモロコシの花粉発芽について良好であることが報告されている（Cook and Walden, 1965)。トウモロコシはサトウキビの近縁属であることから、今回サトウキビの花粉発芽試験に用いた。

第2表　供試品種の1980～1985年における穂わた1グラム当たり自殖実生数と、44℃12分除雄処理後の自殖および交配実生数

品種名	自殖実生数 1980～1984	自殖実生数 1985 無除雄	自殖実生数 1985 44℃12分除雄	44℃12分除雄後の交配 穂数	44℃12分除雄後の交配 実生数 min. ～max.
Co 740	0.0～ 1.0	—	3.0	7	13.3～441.7
Co 775	0.0～ 9.0	0.0	—	1	21.3
Co 798	0.5～ 2.0	0.0	0.0	3	0.3～ 44.0
CP57-603	3.0	1.0	0.0	3	3.9～ 39.0
CP70-1133	2.0～ 28.0	9.7	10.7	6	2.7～297.0
CP71-1086	26.5	—	—	2	12.7～ 26.8
CP71-1555	5.5	—	0.0	3	2.0～ 15.5
F 122	0.5	—	—	1	13.3
F 172	0.0～ 2.0	—	—	1	80.7
KF69-43	1.0～188.0	70.0	—	5	9.3～ 85.0
KF69-101	2.5	56.7	4.3	2	29.7～193.3
KR66-102	0.0～ 9.5	1.0	5.0	8	4.3～205.7
NiF 4	0.0～ 11.0	0.0	—	7	22.7～172.7
PS 41	1.0	2.0	—	3	0.7～ 6.1
RK63-26	44.0	14.7	0.0	1	155.3
RK63-35	1.0	—	22.3	5	43.7～115.3
RK77-86	20.0	—	3.0	5	11.3～215.0
Glagah kleot＊	—	162.5	27.5	1	87.8
JW 50＊	—	3.0	16.7	1	4.7
JW 510＊＊	—	—	16.5	1	75.5

＊*Saccharum spontaneum*,　＊＊*Miscanthus* species

第3表にCook's とMoor's の両培地上におけるJW 4 , JW176, CP70-1133, KF69-43の花粉発芽率を示した。JW 4 の発芽率について、両培地間の有意差の検定を行ったところ、t=4.051＊＊の高い数値が得られ、Cook's 培地で発芽率が高くなった。JW176では、t=1.25となり、有意な差はなかった。CP70-1133, KF69-43の発芽率における両培地間の差の検定では、t=2.629が得られ、Moor's 培地において発芽率が高くなった。

本試験では、2種類の人工の花粉発芽培地上において、高い花粉発芽率が確保されるかを比較検討したが、両培地間の発芽率について有意差の認められたJW 4 のみCook's 培地を、差の認められたCP70-1133, KF69-43 および差の認められなかったJW176についてはMoor's 培地を利用する。また、今後の試験に供試するJW349, KF69-101, KR66-102についてもMoor's 培地を利用する。

試験3.

1985年に行った同じ方法で、JW349とJW176について44℃の除雄処理をした後、花粉発芽培地上における花粉の発芽調査を行い、その結果を第4表、第5表に示した。まずJW349では、処理後1日目より開花した小花の花粉で発芽が認められたが、

無処理区に比べ顕著に低い発芽率であった。処理後2日目から発芽率が高くなる傾向にあり、3日目では無処理区の半分程度に発芽率が高まった。4日目では、小花の開花が終了し、調査値が乱れた。除雄後の穂わた1グラム当たりの自殖実生数では、12分間処理で20本の個体が得られたが、14分、16分間処理はゼロであった。JW176では、JW349と同様の傾向が認められ、除雄処理後1日目と2日目に開花した小花の花粉は、発芽が認められなかった。その後、処理後3～5日目において、処理区の発芽率が無処理区に近似する値を示した。処理時間の違いによる効果では、12分間処理に比べ14分、16分間処理は発芽率が低い傾向にあった。自殖実生数では、無処理区および処理区ともに多い数値であったが、無処理区に比べ処理区は半分程度かそれ以下にあった。この原因としては、小花雌蕊の健全さに加え、除雄処理後3日目より花粉発芽率が高くなり始めたこと、あるいは調査終了後に花粉発芽率がかなり高まったことが推測された。そのため、除雄温度を上げ、処理の強度を高める必要性があると考えられた。

第3表　人工の花粉発芽培地上における花粉の発芽率検定

1　JW 4

	供試回数							
培地名	1	2	3	4	5	6	7	8
Cook's	45.5	88.6	91.7	42.9	46.0	62.6	76.2	58.8
Moor's	40.7	82.9	91.5	23.3	40.9	53.5	64.3	46.5

$t=4.051^{**}$

2　JW 176

	供試回数						
培地名	1	2	3	4	5	6	7
Cook's	9.2	26.4	30.4	14.2	11.2	10.6	12.2
Moor's	10.5	28.4	29.4	19.5	11.1	12.6	10.3

$t=1.250$

3　CP70－1133，KF69－43

	供試回数					
培地名	1	2	3	4	5	6
Cook's	14.5	30.1	6.1	38.1	76.3	35.3
Moor's	12.8	35.3	9.7	41.2	81.1	46.8

$t=2.629^{*}$

46℃では、44℃で観察されず、さらに数値で示し得ない処理効果が認められた。つまり、JW349，JW176では小花の葯の裂開不良、葯の褐変枯死、葯の裂開はあるが花粉が塊状になり飛散しないなどの障害が、観察された。第6表のKR66-102，KF69-101では、処理後1日目に小花の開花が見られなくなった。このいずれかの障害は処理後に、JW349では処理時間により1～2日目まで観察され、JW176においても同様に2～4日目まで観察され、一時的であるが、除雄の効果とみなされる。特に問題となるのは、KR66-102，KF69-101の小花の開花のないことであったが、2品種の全ての処理温度で発生し、それは回復し得る軽度の穂の萎凋と推察され、2日目から開花した。この2品種については46℃以上に除雄温度を上げて処理することはひかえた。花粉発芽率でみた除雄処理の効果は、10分、12分、14分間と処理時間が増すにつれ高まり、花粉発芽率は処理時間が増すと低下することが伺われた。処理効果の高い12分、14分間処理後において、JW349では2日間、JW176では3日間、KR66-102では3日間、KF69-101では2日間にわたり花粉の発芽が皆無であり、44℃処理に比べ効果が1～2日間延長し、発芽は3～4

第４表　JW349(*S. spotaneum*)における44℃，46℃除雄処理後の花粉発芽率　　除雄処理日　10月８日

調査日	無処理	44℃処理時間(分)			46℃処理時間(分)		
		12	14	16	10	12	14
10，9	33.3	1.3	1.3	0.3	0.6	(－)	(－)
10，10	23.5	3.4	4.2	－	1.0	0.0	(－)
10，11	34.4	16.9	13.3	10.6	10.1	6.4	6.0
10，12	8.2	5.2	－	1.1	5.1	－	3.2
実生数＊	11	20	0	0	0	0	0

＊穂わた１グラム当たり自殖実生数
(－)小花の開花あるが花粉の飛散ない

第５表　JW176(*S. spotaneum*),における44℃，46℃，48℃除雄処理後の花粉発芽率　除雄処理日　11月１日

調査日	無処理	44℃処理時間(分)			46℃処理時間(分)			48℃処理時間(分)		
		12	14	16	10	12	14	6	8	10
11，2	10.5	0.0	0.0	0.0	(－)	(－)	(－)	(－)	(－)	(－)
11，3	28.4	0.0	0.0	0.0	(－)	(－)	(－)	(－)	(－)	(－)
11，4	29.4	10.6	5.3	4.3	0.5	(－)	(－)	(－)	(－)	(－)
11，5	19.5	11.1	12.6	10.3	5.6	3.3	(－)	1.9	1.8	(－)
11，6	23.1	20.3	19.9	19.4	15.1	13.0	8.4	3.1	4.1	1.3
実生数＊	454	153	230	184	162	220	93	136	174	63

＊穂わた１グラム当たり自殖実生数。　(－)小花の開花あるが花粉の飛散ない
～～花粉が塊状になり、本来の無い上がるような飛散ない。

第６表　KR66－102，KF69－101における46℃除雄処理後の花粉発芽率　除雄処理日　11月29日

KR66－102

調査日	無処理	46℃処理時間(分)		
		10	12	14
11，30	－	開花なし		
12，1	26.1	0.0	0.0	0.0
12，2	19.2	1.2	0.0	0.0
12，3	17.4	7.4	0.8	0.0
12，4	7.3	10.9	10.4	6.0
12，5	8.2	14.3	14.0	10.8
実生数＊	94	15	7	4

＊穂わた１グラム当たり自殖実生数

KF69－101

無処理	46℃処理時間(分)		
	10	12	14
	開花なし		
5.4	0.0	0.0	0.0
16.3	2.1	1.6	0.0
10.8	0.0	0.0	0.0
2.6	6.6	0.0	0.0
6.1	－	－	－
－	－	－	－

日目から認められた。その後、処理区の花粉発芽率が無処理区なみに高まることでは、44℃処理と同様の傾向であった。除雄後の自殖実生数では、JW349はいずれの処理時間でも全く認められなかったが、JW176は44℃処理と同様に多く、その多くなった原因も調査終了後に花粉の飛散が多くなったためと推測された。KR66-102では、無処理区に比べ著しく自殖実生数が減少したが、わずかな数が観察され、受粉機会が残存することが明確であった。

48℃除雄処理の効果ではJW176について示した。処理後3日目まで6分、8分、10分間の各処理で小花葯の裂開不良、葯の褐変枯死が観察された。さらに処理後4日目の花粉発芽率は低いか、あるいは全く認められず、44℃、46℃のいずれの処理に比べても効果の継続がみられた。しかし、8分、10分間処理の処理後1日目に、穂の萎凋が観察された。特に10分間処理ではその程度が進み、枯死する寸前にあったが、回復した。そのため、48℃の10分間処理は、JW176の穂の枯死発生の限界にあることが推察された。6分、8分間処理では、46℃12分、14分間の処理と同程度か、それ以上の効果のあることが考えられた。JW176の除雄では、48℃6分、8分間の処理が除雄の効果が高く、実用性も高いことが伺われた。

試験4.

試験3においては、KR66-102, KF69-101において、46℃処理が44℃処理に比べ除雄の効果が1～2日間延長されることが認められた。しかし、46℃では処理後1日目で、穂の軽度の萎凋による小花の不開花が観察された。そのため除雄温度は46℃のままで、除雄処理穂の自殖種子の形成を防ぐため46℃の2回、3回目の処理と、46℃の1回除雄処理の後に、5時間明期処理を組み合せ検討を行った。なお5時間明期処理は、倒伏したサトウキビの茎が出穂した場合、周囲の直立茎の葉に日光が遮蔽されることにより、葯の裂開および花粉稔性が低下する傾向があることを利用し行った。

第7表にJW4における46℃の2回および3回除雄処理と、KF69-101における2回除雄処理の効果を示した。JW4, KF69-101の処理とも、1回目の除雄処理の後花粉発芽がなくなり、2～4日後に発芽が回復し、2回目の除雄処理の後再度花粉発芽がなくなり、また2～4日後に回復するという規則的なパターンになる傾向にあった。JW-4の14分3回除雄処理においてもほぼ同様の傾向が認められた。除雄処理後の自殖実生数では、K-

第7表　JW4, KF69-101における46℃2回および3回除雄(JW4. 14分のみ)処理後の花粉発芽率

JW4　除雄処理日(1)10,26(2)10,29(3)11,1

調査日	無処理	46℃処理時間（分） 10	12	14
10,27	—	—	—	(—)
10,28	45.5	—	—	0.0
10,29	88.6	—	—	29.2
10,30	91.7	0.0	(—)	0.0
10,31	42.9	0.5	0.5	0.6
11,1	46.0	2.8	0.7	3.0
11,2	62.6	0.0	0.0	0.0
11,3	76.2	0.0	0.0	0.0
11,4	58.8	3.0	0.8	—
実生数＊	—	211	151	1

KF69-101　除雄処理日(1)11,28(2)12,2

調査日	無処理	46℃処理時間（分） 12	10	14
11,29	—	開花なし		
11,30	—	—	—	—
12,1	5.4		—	—
12,2	16.3	2.3	1.7	0.0
12,3	10.8	0.0	0.0	0.0
12,4	2.6	0.0	0.0	0.0
12,5	6.1	0.0	0.0	0.0
実生数＊	1.2	0.3	0.2	0.0

＊穂わた1グラム当たり自殖実生数
(—)小花の開花あるが花粉の飛散ない

F69-101では各処理区とも非常に少数かゼロであった。JW 4の自殖実生数は、無処理区の供試茎の折損により採種がなかったが（試験実施前年の数は452本)、10分、12分の2回除雄処理ではそれぞれ211本、151本であった。この自殖実生数の多いことについては、除雄後の小花の雌蕊が健全であったことに加え、調査終了後に受粉の機会が高くなったことが考えられる。3回の温湯除雄の行われたJW 4の14分処理は自殖実生が1本であり、除雄効果が高かったが、一部には雌蕊の損傷が関与している可能性が示唆された。

第8表にKF69-43，CP70-1133を46℃で2回の処理を行った後、交配に供試した結果を示した。供試花粉量を多くして試験誤差が出ないように図った。その結果、14分処理は10分および12分処理に比べ、実生数が減少する傾向が認められた。このことは、JW 4の46℃14分の3回処理と同様に小花雌蕊に対し損傷を与えている可能性が大きいことが示唆された。さらに、46℃14分の処理は2回目の反復処理から実用性が減少することが伺われた。

第9表に無除雄のKF69-101について、5時間の明期処理を行ったときの葯の裂開率と花粉発芽率の調査結果を示した。葯の裂開率、花粉発芽率とも

表8　46℃ 2回除雄処理後の交配による獲得実生生数

品種名	無処理＊	46℃処理時間（分） 10	12	14
KF 69' 43	349	41	68	20
CP70-1133	77	123	65	19

＊穂わた1グラム当たり自殖実生数

第9表　KF69-101の5時間明期処理における葯の裂開率および花粉発芽率の経過

調査法	処理法	調査月日 11,25	11,26	11,27	11,28	11,29	11,30	12,1	12,2	12,3
葯の裂開率	無処理	—	52.6	56.9	27.0	28.1	30.0	18.7	26.5	19.4
	5h明期	—	14.2	10.9	9.4	4.8	5.9	1.4	0.2	2.0
花粉発芽率	無処理	33.3	45.1	35.7	42.1	24.2	10.6	31.8	29.0	33.1
	5h明期	—	11.4	9.5	11.2	4.1	3.6	3.5	3.1	4.4

に処理区は無処理区に比べかなり低い率で経過し、花粉の飛散量および花粉発芽率に抑制的な効果が認められた。そのため、小花雌蕊に受粉される花粉量は顕著に減少することが推測される。同時に花粉発芽率の低下は、受精の機会の低下をまねき、種子数の減少を引き起こすと考えられる。

温湯除雄処理後に5時間明期処理を行い、その結果を第10表に示した。KF69-43,CP70-1133の小花葯の裂開率および花粉発芽率、花粉発芽確率について調査した。なお、花粉発芽確率は、葯の裂開率×花粉発芽率の算定式により求めた。その結果、KF69-43では葯の裂開率は無処理区に比べ低く推移し、受粉機会が低下し、花粉発芽率でも低く、花粉発芽確率は極端に低くなった。CP70-1133においてもほぼ同様に、葯の裂開率および花粉発芽率の低下により、花粉発芽確率が低下した。そのため自殖実生数が少ないことについては、温湯除雄と5時間明期処理によるものと解釈されるが、自殖実生数が最も少ないのは両品種とも46℃14分の温湯処理に明期処理を組み合わせたものであった。しかし、依然として自殖実生が数本あり、完全に除雄し得ないことが示唆された。

適正に除雄処理を行ったにも関わらず、完全に除雄し得ないことについては、Tang (1962) の開花のない穂孕後期の処理とほぼ同じ結果であるが、供試品種の差によると考えられる。また、Divinagracia(1980) は蒸気発生機の温度を除雄温度としているが、除雄によって自殖実生の発芽はなくなっている。この場合にも供試機材の違いと、品種間差が主な相違点と解釈される。

以上のことから、適正な温湯除雄処理法としては、次の2通りにまとめることができる。つまり、

第10表　46℃ 1回除雄後に5時間明期処理を組み合わせたときの花粉発芽率、葯の裂開率および花粉発芽確率

調査	KF69-43	46℃除雄時間（分）			CP70-1133	46℃除雄時間（分）		
形態	無処理	10	12	14	無処理	10	12	14
葯	97.3				92.0			
花粉	41.2(40.1)	開花なし			12.8(11.8)	開花なし		
葯	96.4				87.3	30.4	37.1	26.5
花粉	81.1(78.2)	開花なし			31.7(27.7)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
葯	93.1	16.7	4.8	6.0	90.6	40.0	18.7	16.1
花粉	46.8(43.6)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	9.7(8.8)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
葯	95.9	8.3	1.3	2.9	42.1	15.9	24.8	17.9
花粉	35.8(34.3)	1.6(0.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	12.3(5.2)	7.4(1.2)	5.3(1.3)	3.3(0.6)
葯	95.1	18.2	4.6	3.3	51.8	41.5	41.3	38.3
花粉	42.4(40.3)	2.9(0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	21.7(11.2)	18.6(7.7)	6.1(2.5)	2.9(1.1)
葯	90.7	27.0	2.9	3.0	58.9	7.8	3.6	5.2
花粉	29.7(26.9)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	14.1(8.3)	2.7(0.2)	1.7(0.1)	0.7(0.04)
葯	91.6	34.8	5.5	1.6	26.3	6.5	1.4	1.7
花粉	31.4(28.8)	12.3(4.3)	10.6(0.6)	1.4(0.02)	9.4(2.5)	—	12.3(0.8)	6.5(0.1)
葯	98.8	41.8	32.4	17.1	23.1	10.1	16.9	10.3
花粉	45.0(44.5)	35.2(14.7)	31.3(10.1)	23.6(4.0)	19.8(4.6)	15.6(1.6)	8.3(1.4)	0 (0.0)
発芽数＊	349	10	5	3	77	4	5	1

＊穂わた1グラム当たり自殖実生数

・調査形態の葯は葯の裂開率、花粉は花粉の発芽率を示す。

・カッコ内の数値は花粉発芽確率（花粉発芽確率＝葯の裂開率×花粉発芽率）を示す。

46℃では14分1回処理とし、その後は5時間明期処理を全小花の開花が終了するまで行う。46℃で2回の除雄を行う場合には、小花雌蕊の損傷を極力回避するため、1回目の処理の後3～4日目に2回目の処理をするが、2回とも12分間の処理で採種数の向上が図れる。さらに、この2回の温湯除雄でも、処理後に5時間の明期処理を行うことにより、自殖種子を低減させ、交配母本としての実用性が向上すると思われる。

摘　　要

本試験は、サトウキビの適正な温湯除雄法を確立するために、1985，86年の交配期で行った。その結果、次のことが明確にされた。

1．温湯除雄処理後の花粉の回復過程を解明するために、Cook and Walden (1985) の修正培地とMoor (1975) の花粉発芽培地の適正を検討したが、両培地間に有為な差が認められ、Cook and Walden (1965) の修正培地はJW 4 (Japanese Wild No.4, *Ripidium kanashiroi*) において、Moor (1975) の培地はCP70-1133, KF69-43において、花粉発芽率が高く示された。JW176 (*S. spontaneum*), の花粉発芽率では、両培地間に有為な差が認められなかった。

2．除雄処理の効果では、44℃処理後の花粉発芽率は、12分、14分、16分の各処理時間において、1～2日間にわたり無処理区より低いかゼロであったが、1～3日目より処理時間の順に回復した。46℃処理後の花粉発芽率は、10分、12分、14分の各処理時間において、2～3日間にわたり無処理区より低いかゼロであったが、3～4日目より処理時間の順に回復した。48℃処理後の花粉発芽率は、6分、8分、10分の各処理時

間において、3～4日間にわたり無処理区より低いかゼロであったが、4～5日目に処理時間の順に回復が認められた。

温湯除雄による穂の損傷では、サトウキビ経済品種において、46℃処理後1日目で小花の不開花が観察され、JW176の48℃ 8分,10分処理後1日目で穂に萎凋が観察された。

3．46℃の除雄処理を2回および3回行ったところ、効果的に花粉発芽率が抑制されたが、CP70-1133, KF69-43の46℃14分2回処理、JW 4の46℃14分3回処理において、除雄後の実生数が減少し、小花雌蕊の損傷が発生したことが考えられた。

一方、温湯除雄処理後の穂に5時間明期（2時間蛍光ランプ＋3時間自然光）処理を行ったところ、葯の裂開率と花粉発芽率の低下により、花粉の発芽する確率を著しく低下させた。

4．温湯除雄処理を行う際には、処理効果の高い46℃14分の1回処理か、46℃12分の2回処理を行い、処理後に5時間明期処理を行うとさらに効果的であり、外観上小花雌蕊の損傷がなく交配母本として実用性が高いと思われた。

引　用　文　献

1．Cook F. S. and D. B. Walden (1965) The Male Gametophyte of *Zea mays* L., Ⅱ *In-vitro* Germination. Ca. J. Bot. 43:779-786

2．Divinagracia N. S. (1980) Emasculation of Sugarcane flowers. Steam method. Proc. ISSCT, 17:1287-1295

3．板倉登・工藤政明・島袋正樹・仲宗根盛徳 (1984[a]) 沖縄におけるサトウキビの花粉稔性に関する研究、Ⅰ．自然条件下における花粉稔性、沖縄県農試研究報告、9:29-36

4．――――・――――・――――(1984[b]) サトウキビ品種の染色体数沖縄県農試研究報告9:47-53

5．Krishnamurthi M. (1977) The Sugarcane pollen, Proc. ISSCT, 16:157-164

6．Moor P. H. and W. L. Jung (1974) Studies in Sugarcane pollen, I *In-vitro* Germination of pollen, Phyton 32(2):147-157

7．―――― (1975) Sugarcane pollen Viability, Sugarcane Breeding Newsletter, 36:65-66

8．沖縄県農業試験場 (1979—1982) さとうきび育種試験成績書

9．Pfahler P. L. (1967) *In-vitro* Germination and pollen tube growth of Maize (*Zea mays* L.) pollen, Ⅰ Calcium and Boron effects, Ca. J. Bot. 43:839-845

10．Sartoris G. B. (1942) Longevity of Sugarcane and Corn pollen, A method for Long-distance Shipment of Sugar-cane pollen by Airplane, Am. J. Bot 29:395-400

11．Tang K. C. (1962) A study on Emasculation of Sugarcane by Use of Hot Water Treatment. Rept. TSES 26:11-161den(1965)

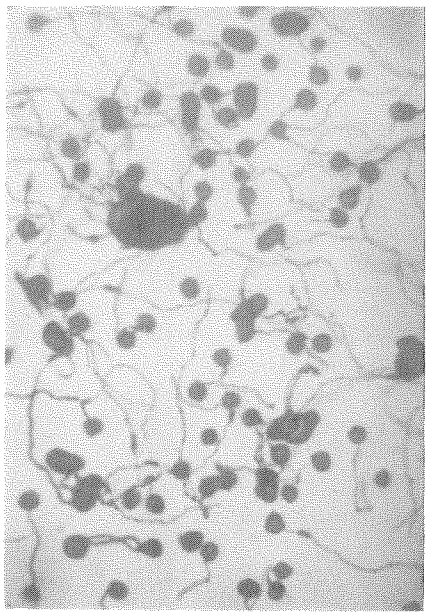

写真１．花粉発芽培地上における花粉の発芽

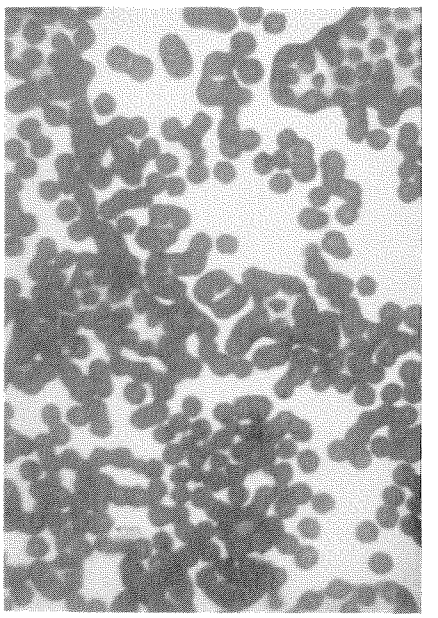

写真２．除雄処理後の花粉の無発芽

写真３．除雄処理後の塊状花粉
（無発芽）

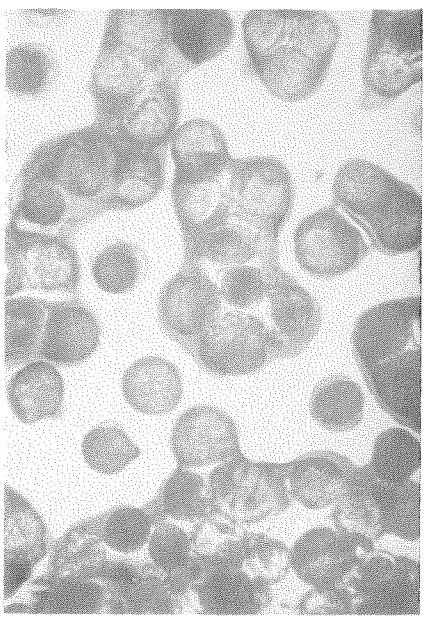

写真４．除雄処理後の塊状花粉の拡大写真
（無発芽）一部には花粉の内容物の突出＝burstも認められる。

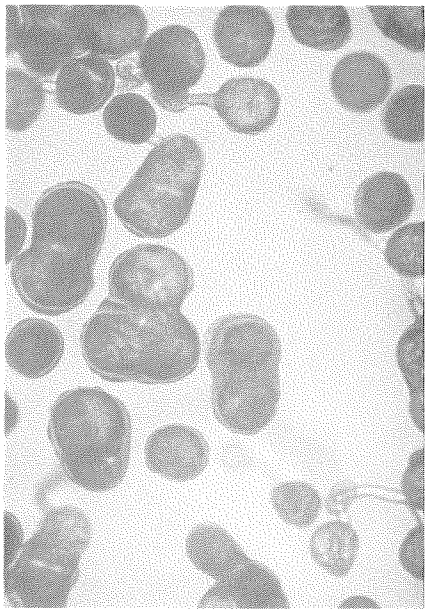

写真５．除雄処理後における花粉発芽
花粉管先端より内容物の突出も認められる。

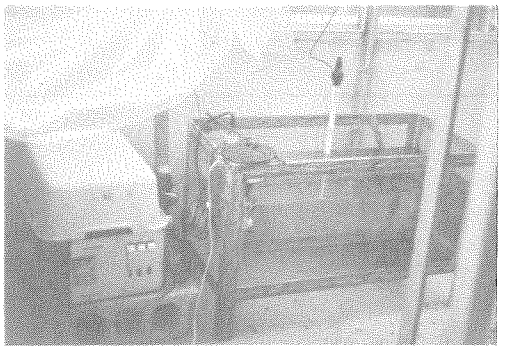

写真６．温湯除雄機
水銀温度計が水槽内の水温を感知し投入式パイプヒーターの電源の切り換えを行う。

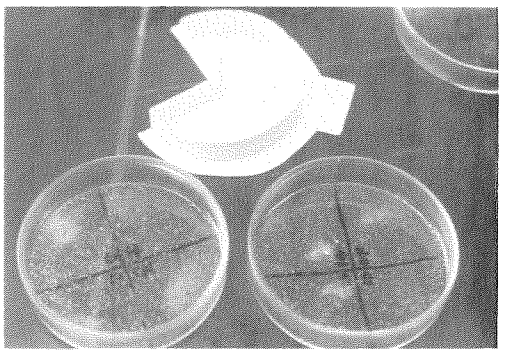

写真７．寒天培地に置床された花粉
厚紙で作った上蓋を寒天培地に押しつけ区画を明確にした後目的の位置に花粉を置床する。