

培養変異を利用した高消化性「飼料イネ」の作出

(課題番号: 13460119)

平成13年度～平成15年度科学研究費補助金(基盤研究(B)(2))
研究成果報告書

平成 16 年 3 月

代表者: 川 村 修
(宮崎大学農学部教授)

は し が き

本報告書は、平成13～15年度科学研究費補助金基盤研究(B)(2)の交付を受けて行った「培養変異を利用した高消化性「飼料イネ」の作出」の結果をとりまとめたものである。

培養によって再生した植物に生ずる変異(ソマクロナル変異)を利用して、われわれはすでに暖地型牧草バヒアグラスの種子由来懸濁培養細胞から茎葉の消化性に優れる個体を得ている。本研究ではこの成果に基づいて、新しいタイプの「飼料用イネ」を作出することを主目的とし、あわせてソマクロナル変異に現れる消化性の向上がどのようなメカニズムによるものかを追求することを目的とした。

牧草の育種目標が収量から品質へとシフトしてきているなかで、品質と密接に関係する遺伝力の高い形質を指標とした効果的な育種操作が要望されている。われわれはこれまでバイオテクノロジー的手法による牧草・飼料作物の品質改良を志向し、培養系の利用すなわちソマクロナル消化性変異の利用をはじめ、遺伝子組換えによる牧草のリグニン含量の低下、含硫アミノ酸含量の上昇などに一定の成果を得てきた。このような中で、遺伝子組換えにおいては指標とする形質に明確性はあるが、安全性に対する議論の方向が未だ定まっていない。これに対してバイオテクノロジー的手法の原点ともいえるべき培養系の利用は、安全性の論議には抵触せず、優良な系統があれば即実用に移すことが出来るが、育種効果の因果関係が不明であることも多い。事実、われわれが作出したソマクロナル変異による高消化性バヒアグラスは、植物細胞壁の消化性とリグニン含量との間に全く相関関係が認められない新奇なものであった(平成12年度、日本草地学会において発表)。したがって、本研究においてこのメカニズムが解明できれば、牧草品質の改善分野に新たな方法を提供できるものと思われる。

「米余り」の中で水田を利用しながら維持していくことの大切さは多言を要しないであろう。そのために水田の畜産的利用はどうあるべきかを考えるとき、その中心に「飼料イネ」が位置づけられると考える。

これまでの国・県レベルでの飼料用イネの育種を振り返ってみると、1971年より始まった生産調整をうけて、まず「他用途利用米」としてイタリー品種の「アルポリオ」や韓国の半矮性インディカ品種の利用が模索された。次いで農水省の「超多収」および「新形質米」プロジェクトの一環として1981年より15年にわたって、日本の気候に適し、低コスト生産可能な「超多収稲」の育種が実施されてきた。しかし、これらは育種目標が子実収量の向上に力点が置かれたためほとんど実用に移行することはなかった。このことから現在の育種目標は、茎葉をも含めたホールクロップ、特にサイレージでの利用を旨として、乾物収量を最重点課題とし、次いで飼料品質の向上を目標にしている。しかしながら、品質の向上に結びつく形質が十分明らかになっていないので、現在可能な方途として茎葉の収量を維持しつつ栄養価の高い子実部分の比率を高めるこ

ととなっている。これに対して本研究では、培養系が確立されている品種「日本晴」を用い、まず、茎葉の消化性に優れる系統を作出した。この系統は、それ自体かなりの有用性を持つと考えられるが、今後、いろいろな特徴を持つ在来の品種との交雑によって新たな品種が育成される可能性を秘めている。

研究組織

研究代表者： 川村 修 (宮崎大学農学部教授)
 研究分担者： 福山喜一 (宮崎大学農学部附属自然共生フィールド
 科学教育研究センター教授)
 研究分担者： 明石 良 (宮崎大学農学部助教授)
 研究分担者： 新美光弘 (宮崎大学農学部助手)
 研究協力者： 石井康之 (宮崎大学農学部助教授)

研究経費

平成 13 年度 10, 300 千円
 平成 14 年度 2, 300 千円
 平成 15 年度 2, 300 千円
 計 14, 900 千円

研究発表

AUTHERS; TITLE OF ARTICLE	JOURNAL, VOLUME:PAGE (YEAR)
Kawamura O. et al.; Dry matter and lignin distributions in maize internodes.	Grassland Science, 47:578-582 (2002)
Akashi R. et al.; Bialaphos-resistant cells of dalliesgrass through particle bombardment with a simple self-bult inflow gun.	Grassland Science, 47:588-593 (2002)
Tsuruta S. et al.; Phylogenetic variation of morphological characteristics and their relationship with brix and lignin content in napiergrass.	Grassland Science, 47:604-609 (2002)
Gondo T. et al.; Efficient embryogenic callus induction derived from mature seeds and the examination of the genetic transformation condition by particle bombardment in bahiagrass.	Grassland Science, 49:33-37 (2003)
Akashi R. et al.; Fundamental studies on the improvement of some warm-season grasses by means of plant biotechnology.	Grassland Science, 49:79-87 (2003)
Saleng k. et al.; Variation in morphological and feeding characteristics in plant regenerated from embryogenic suspension cultures derived from a single genotype of bahiagrass.	Grassland Science, 49:456-459 (2003)
Saleng k. et al.; Chemical composition and in vitro digestibility of bahiagrass regenerated from suspension culture.	Bulletin of the Faculty of Agriculture, University of Miyazaki, 50:25-30 (2004)

研究成果

Akashi and Kawamura (1998) の方法により、イネ品種「日本晴」種子を用い常法により滅菌後、2.0 mg/L 2,4-D添加のMS培地によりカルスを誘導した。本研究で用いた再生個体は、1) カルス誘導後、直ちに再分化培地に継代し再分化に促した再生個体と、2) カルスを3ヶ月間懸濁培養した後に再分化培地で継代して再分化させた再生個体の計約100個体である。再生個体の多くは、通常の再分化経路（体細胞不定胚）を経て緑色個体を再分化したが、一部、懸濁培養由来再生個体においてアルビノ個体が認められた。このことは、懸濁培養の方がカルス培養よりも強いストレスを受けたものと示唆する。その後、全ての再生個体から無作為に約50個体を選び、市販の滅菌済無肥料の黒ぼく土を充填した1/2000aワグネルポットに移植し、栽培した。なお、比較対照個体として、種子から発芽させた個体を用い、再生個体と同様に栽培した。

2~3 葉期の全再生個体から無作為に 53 個体を抽出し、野外のワグネルポットで生育させた。再生個体と生育段階を同じくする種子由来イネ 37 個体を対照個体として生育させた。その結果、再生個体群は対照個体群に比べて出穂が遅い傾向にあった。再生個体群は対照個体群に比べて穂数が多く、種子全重は小さく、葉部の割合が高く、リグニン濃度が低かった。草丈、乾物収量、乾物消化率、可消化乾物量については両群の間に有意差は見られなかったが、再生個体群の中には、飼料として良好な性状を示す個体が認められた。また大半の調査項目について、再生個体群は対照個体群に比べて分布の幅が広い傾向にあり、頻度分布も異なっていた。

これらの結果から、比較的良好な飼料的性質を具備していると思われた 3 再生個体の自殖後代を次年度に栽培し、調査を継続した。その結果、自殖後代群は対照個体群に比べ、出穂時期の幅が広がった。自殖後代 3 系統のうち、1 系統は茎葉の可消化乾物量が対照個体群より高かったが、種子重については対照

個体群と同等もしくはそれ以下であった。また大半の調査項目について、自殖後代群は対照個体群に比べて分布の幅およびその頻度分布が異なっていた。各自殖後代群の中には、種子重が大で、かつ茎葉の可消化乾物量の多い個体がいくつか認められた。

以下、研究経過と得られた結果の詳細について記述する。

培養変異を利用した高消化性「飼料イネ」の作出

目 次

第1章	緒論	1
第2章	種子からのエンブリオジェニックカルス誘導と植物体の再分化	2
第3章	再生個体の生育および外部形態の調査と飼料的性状	4
第4章	再生個体自殖後代における飼料的性状の検討	11
第5章	総括	17
	写真および図表	18
	引用文献	68

第1章 緒論

わが国の畜産を支える飼料構造は極めて特異的と言わねばならない。すなわち、わが国では配合飼料等の原料穀物ばかりでなく粗飼料までも大量に輸入されており、純国内産飼料自給率は TDN ベースで 25% と極めて低い値となっている²⁶⁾。

このような中で、輸入飼料を介して発生したと考えられる家畜疾病（牛海綿状脳症、口蹄疫）の問題や『家畜排泄物の管理の適正化及び利用の促進に関する法律』などいわゆる農業環境三法の成立により、飼料や食の『安全性』と『環境』の両面から、自給飼料の増産が早急に必要とされている。

一方、米の消費低下によるイネの生産調整が行われ、遊休水田が拡大している。そこで、水田を利用した飼料生産、特にイネの飼料的利用が注目されるようになってきた。

イネの飼料的利用には、次のような利点があると考えられる。まず、その栽培技術の基礎が確立されていることから普及が容易である点、そして、種子輸入の必要性が無く干ばつや湿害を受けにくい点が挙げられる。しかしながら、これらの利点を有するイネは飼料としての品種が少なく、またそれらは必ずしも十分な飼料品質を具備するものではないので、今後、新たな品種の育種が必要であると考えられる。

様々な育種技術のうち、植物における突然変異は新品種の開発や遺伝子の機能解析などに用いられる重要な技術の一つである。主な変異原としては放射線などの物理的変異原や化学物質などの化学的変異原が知られているが、組織培養およびこれに由来する植物でも遺伝変異を伴うのが一般的であり、遺伝的恒常性を必要とする育種や大量増殖にとっては不都合である反面、変異体を得る手段としての利用には有効である²⁾。

組織培養による突然変異（体細胞突然変異）は、カルスやプロトプラスト培養により変異形質が現れるため、当代で変異体を得ることができる大きな利点がある。そのため、変異体の選抜・固定の操作が削減できると共に、無性生殖の栄養繁殖性植物や単為生殖のアポミクシス性植物の変異拡大に有効であると考えられる。

イネは単子葉植物の中で最も培養技術が進んでおり、カルス^{20, 22, 23)}、懸濁細胞¹⁾ およびプロトプラスト^{8, 10)} の全てにおいて植物体再分化が可能である。その培養変異は、カルス培養で高頻度に認められ、これまで耐塩性²¹⁾、耐冷性¹⁵⁾、病害抵抗性²⁴⁾ など多くの有用な形質を保持する変異体が作出されている¹¹⁾。

そこで本研究では、良好な飼料的性状を具備するイネを作出することを目的として、カルス培養により再生させた個体の作出を試み、その生育調査および化学分析を行い、飼料的性状を検討した。

第2章 種子からのエンブリオジェニックカルス誘導と植物体再分化

2.1. 目的

本章では、イネの培養変異による育種を展開する第1段階として、完熟種子からのカルス誘導および植物体再分化における一連の培養過程について検討し、再分化個体を得るとともにその培養特性について調査した。

2.2. 材料および方法

2.2.1. カルス誘導

イネ(品種:日本晴)種子の外穎を取り除き、滅菌処理後(70%エタノール1分, 12%次亜塩素酸60分), 滅菌水で3回洗浄し, 実験に供した。

2.0 mg/l 2,4-D, 0.3%ゲランガムを添加した N6 培地⁷⁾に置床し, 暗条件下でカルスを誘導した。培養 28 日後, 形成されたカルスは増殖旺盛で良質なもののみを選抜し, 14 日間隔で同条件の下, 継代培養した。

2.2.2. 植物体の再分化

植物体再分化は, 14日間隔で継代培養下のカルスの一部を2.0 mg/l BAP, 1.0 mg/l NAA, 2.0 g/l カゼイン, 3.0%ソルビトールおよび0.4%ゲランガムを添加した Murashige and Skoog (MS) 培地¹⁴⁾に置床し, 明条件下で培養することにより行った。その後, 再分化したシュートは0.8%の寒天を添加した MS ホルモンフリー培地で発根させて土に順化した。なお, 培養に供した全ての培地は pH 5.6~5.8 に調節し, 培養温度は 25~27°C とした。

2.3. 結果および考察

2.3.1. エンブリオジェニックカルスの形成と継代培養

カルス誘導は, 2 mg/l 2,4-D 添加の N6 培地に完熟種子を置床し, 培養することにより行った。培養を開始して約7日目頃から種子の胚盤部が膨れ(写真1-a), 14日後には形成した初期カルスの一部より粒状のエンブリオジェニックカルス塊が認められた(写真1-b)。それらのエンブリオジェニックカルス塊は連続的に形成しながら増殖し(写真1-c), 培養開始28日後には増殖旺盛, かつ表面が乾燥し, 直径2mm以下の均一なサイズである小粒状カルスが多数認められるエンブリオジェニックカルスが得られた(写真1-d)。このことは, これまでの報告と同様の結果²³⁾であり, 高濃度の2,4-D存在下で種子を培養することでカルスが胚盤部位より誘導され, 小粒状のカル

ス塊が増殖することで良質で再分化能力の高いエンブリオジェニックカルスを形成させることができるものと考えられた。また、この培養特性は、その他のイネ科植物におけるものと類似していた^{3, 18, 25)}。

その後、得られたエンブリオジェニックカルスは小粒状に分割し、同培養条件の下、増殖旺盛で再分化能力を保持するカルスのみを14日間隔で継代培養した。

2.3.2. エンブリオジェニックカルスからの植物体再分化

植物体再分化は、培養開始 60 日目以降の継代カルスの一部を再分化培地で培養することにより行った。カルスは再分化培地で培養するとすぐにその表面に初期不定胚が形成され（写真 2-a）、やがてそれが成熟した後（写真 2-b）、多くの shoot が分化し（写真 2-c）、植物体へと成長した（写真 2-d）。このように、本培養法による植物体再分化は、体細胞不定胚形成を経て植物体が再生するイネ科植物特有の植物体再生過程であることが認められた^{3, 17, 19)}。その後、再分化した植物体は 0.8% の寒天を添加した MS ホルモンフリー培地で発根させて土に順化した。

以上により、本実験において 145 個の植物体が再生し、89 個の順化再生個体を得ることができた。

2.4. 要約

イネの培養変異による育種を展開するため、完熟種子からのカルス誘導および植物体再分化における一連の培養過程について検討した。

カルスは種子の胚盤部位より誘導され、培養開始 28 日後には小粒状のカルス塊が多数認められる増殖旺盛で再分化能力の高いエンブリオジェニックカルスが形成された。得られたエンブリオジェニックカルスについて、継代培養を行った後、再分化培地に移植したところ、体細胞不定胚形成を経て多くの植物体が再生し、89 個の順化再生個体を得ることができた。

第3章 再生個体の生育および外部形態の調査と飼料的性状

3.1. 目的

前章で得た再生個体の飼料的性状を検討するため、野外で栽培してその生育を調査するとともに化学分析を行い、種子由来の対照個体と比較した。

3.2. 材料および方法

3.2.1. 材料草の栽培，生育調査および分析試料の調製

平成14年6月に、2~3葉期の再生個体から無作為に53個体を抽出し、市販の殺菌済無肥料の黒ぼく土（宮崎焼土；山宗商会製）を充填した1/2000aワグネルポットに2もしくは3個体ずつ移植し、野外で生育させた。基肥として化成肥料（15:15:15）を6kg/a施し、同年8月にも同量の追肥を施した。

また、再生個体と同じ生育段階にある種子由来イネ（品種：日本晴）計37個体に同様の処理を施し、対照個体として生育させた。

全個体について生育経過ならびに出穂状況を観察、記録した。平成14年10月に落水させ、11月6日に草丈を測定した後、地上5cmで刈り取った。刈取り後は一個体ずつ穂数を測定し、種子のみを取り外してその重量（生体重）を測定した。

枝梗を含め、茎葉部を50℃で24時間通風乾燥し、茎部および葉部に分別して秤量した。なお、枝梗は茎部とした。茎部、葉部は合してミルミキサー（TML15；テスコム社製）で1mmのフルイを通るように粉碎した。粉碎試料は常圧加熱乾燥法で乾物率を求め、茎葉部の風乾物重量に乗じて、茎葉部の乾物収量を求めた。

3.2.2. 化学分析

Morisonの方法¹³⁾により茎葉部のリグニン濃度を測定した。なお、本研究ではリグニンの濃度を、分光光度計（UV-1200；島津製作所製）による吸光度（波長：280nm）により表示した。

茎葉部の *in vitro* 乾物消化率を測定した⁹⁾。すなわち、ペプシン（1：10000，豚胃粘膜由来；和光純薬工業社製）の0.1規定塩酸による0.2%溶液およびセルラーゼ（オノズカ，飼料分析用；ヤクルト薬品工業社製）の酢酸緩衝液（ $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ：6.8 g/ℓ， CH_3COOH ：2.9 ml/ℓ，pH：4.6）による2.5%溶液で39℃下，48時間ずつ培養し，培養残渣を不消化物として算出した。

3.3. 結果および考察

3.3.1. 外部形態と生育の概要

図 1 に、再生個体群および対照個体群の出穂状況を、相対頻度（出穂時期を同じくする個体数／全個体数）で示した。観察の結果、37 の対照個体全てが 8 月下旬に出穂したのに対し、再生個体では 23 個体が同じく 8 月下旬、16 個体が 9 月上旬、14 個体が 9 月中旬に出穂した。このように、再生個体は対照個体に比べて全体的に出穂が遅い傾向にあった。

表 1 に、再生個体および対照個体の草丈を示した。再生個体群は 50.0～77.8 cm、対照個体群が 53.6～78.0cm の範囲にあり、各々の平均値は 64.98, 66.78 cm で両群の平均値には統計的に有意な差は見られなかった。

図 2 に、両群の草丈について、相対的な頻度（5cm 刻みで同じ草丈の個体数／全個体数）の分布で示した。再生個体群と対照個体群の分布状況に大きな差は見られなかった。

図 3 に、再生個体の草丈を降順に示し、対照個体群の平均値と比較した。その結果、半数以上の再生個体が対照個体を下回る結果となった。したがって、再生個体の草丈は対照個体に比べて低い傾向にあったが、特異的に草丈の低い個体は見当たらなかった。那須¹⁶⁾はバヒアグラスにおける懸濁培養細胞由来再生個体において葉身長が短く極端に草高の低い矮化した個体を見出しているが、本研究で用いた再生個体中にはそのような個体は存在せず、矮性イネに該当する個体は確認できなかった。

表 2 に、再生個体および対照個体の穂数を示した。一個体当りの穂数は、対照個体群で 3～17 本であるのに対し、再生個体群では 1～31 本の範囲に分布しており、再生個体群の平均値は対照個体群のそれより 1%水準で有意に高かった。

図 4 に、両群における一個体当りの穂数を 5 本刻みにより相対的な頻度分布で示した。再生個体は対照個体に比べ、穂数の多い区間により多く分布していた。

図 5 には、再生個体の穂数を降順に示し、対照個体の平均値と比較した。その結果、再生個体の過半数が対照個体の平均値に比べて穂数が多かった。特に No. 22 については 31 本の穂を有しており、再生個体群の中でも特異的に多かった。

表 3 には再生個体および対照個体の種子全重（生体重）を示した。再生個体群が 0.28～17.20 g、対照個体群が 0.85～19.68 g の範囲にあった。各々の平均値は 6.32 g, 9.43 g であり 1%水準で再生個体群が有意に低かった。

図 6 に、両群における一個体当りの種子全重を 5g 刻みによる相対的な頻度分布で示した。その結果、再生個体の種子全重は対照個体に比べて全体的に低い範囲に分布し、最頻区間（モードの位置）も低くなっていた。

図 7 には、再生個体の種子全重を降順に示し、対照個体の平均値と比較した。再生個体群の大半が対照個体の平均値を下回ったが、10 個体は上回っていた。

表 4 に、再生個体および対照個体の葉部割合を示した。なお、この場合の葉部割合は茎葉部に占める葉部の重量割合（風乾物）である。再生個体群では 0.22~0.40、対照個体群では 0.28~0.39 の割合であった。また、各々の平均値は 0.30 および 0.32 であり、対照個体群が 5%水準で有意に高かった。

図 8 に、両群における一個体の葉部割合を 0.05 刻みの相対的な頻度分布で示した。最頻値はほぼ同じ位置にあったものの、再生個体は対照個体に比べて葉部割合が低い区間にも一定の分布が見られた。

図 9 には、再生個体における葉部割合を降順で示し、対照個体の平均値と比較した。再生個体においては対照個体群の平均値を下回る個体が多かった。したがって再生個体は対照個体に比べて葉の割合が少なく、茎の割合が多い傾向にあると思われた。

表 5 に、再生個体および対照個体における茎葉部の乾物収量の個体間変異を示した。再生個体群で 1.87~21.51 g、対照個体群で 2.43~17.47 g であり、各々の平均値は 9.09g と 9.17g でわずかに対照個体群が多収であったが、統計的に有意な差は認められなかった。

図 10 に、両群における茎葉部の乾物収量を 5g 刻みによる相対的な頻度分布で示した。対照個体および再生個体の両群では最頻値と頻度分布が異なっていた。すなわち、再生個体は対照個体に比べて茎葉部乾物収量の高い個体の頻度が高くなる傾向が示された。

図 11 に、再生個体における茎葉部の乾物収量を降順に示し、対照個体の平均値と比較した。再生個体の No. 22 および No. 36 は乾物収量が顕著に高かった。

図 12 に、草丈と乾物収量との関係を示した。両群において、草丈と乾物収量との間に正の有意な相関が見られた。このことから、草丈と乾物収量との間には強い相関が認められ、再生個体においても対照個体と同様に草丈が乾物収量に及ぼす影響が強いことが推察された。

以上の結果より、再生個体は対照個体に比べ、葉部割合および乾物収量が広い範囲に分布しており、種子全重は低いものの穂数が多い傾向にあり、外部形態的に変異が拡大する傾向が観

察された。

3.3.2. リグニン濃度および乾物消化率

表 6 に、再生個体および対照個体における茎葉部のリグニン濃度を、乾物 1 g 当りの吸光度で示した。リグニン濃度 (ABS/g DM) は、再生個体群で 29.39~59.74, 対照個体群で 42.18~57.13 の範囲にあった。平均値は各々 44.93, 48.93 で、再生個体が 0.1% 水準で有意に低かった。

図 13 に、両群における茎葉部のリグニン濃度 (吸光度) を 5 刻みにより相対的な頻度分布で示した。再生個体群は対照個体群に比べてリグニン濃度が低くなる傾向が見受けられた。

図 14 には、再生個体の茎葉部におけるリグニン濃度を降順に示し、対照個体群の平均値と比較した。再生個体の半数以上が対照個体の平均値を下回っており、特に No. 39, 37 および 46 はリグニン濃度が顕著に低かった。

これらのことより、再生個体はその細胞壁に何らかの変化が生じ、リグニン濃度が低下したと推察された。

表 7 に、再生個体および対照個体における茎葉部の乾物消化率を示した。再生個体群では 36.68~57.77%, 対照個体群では 34.39~55.59% の範囲にあり、各々の平均値は 44.85% および 42.97% であり、再生個体群がわずかに高かったものの、両群の平均値間に有意差は認められなかった。

図 15 に、両群における茎葉部の乾物消化率を 5% 刻みにより相対的な頻度分布で示した。50% を上回る乾物消化率を有する個体が対照個体群では 37 個体中 2 個体 (相対頻度 5.4%) しか存在しなかったのに対し、再生個体群では 53 個体中 9 個体 (相対頻度 17%) と高い頻度で存在した。

また図 16 には、再生個体の茎葉部における乾物消化率を降順に示し、対照個体群の平均値と比較した。再生個体の過半数が対照個体の平均値より高く、再生個体 No. 36, 38 および 50 については対照個体の平均値を 10% 以上も上回った。

3.3.3. 測定値間の相関関係

表 8 に、再生個体における各測定値間の相関関係を示した。茎葉部の乾物消化率と有意な関係にあったのは種子全重、葉部割合および茎葉部のリグニン濃度であった。すなわち種子全重においては 1% 水準で負の、葉部割合においては 0.1% 水準で正の、リグニン濃度については 0.1% 水準で正の有意な相関が乾物消化率との間に見られた。

図 17 に、再生個体、対照個体の両群における種子全重と茎葉部の乾物消化率との関係を示した。両群において、負の有意な相関が認められた。一般に、出穂後、種子生産力の低い個体においては、光合成により同化された光合成産物が稈中にデンプンとして蓄積されると考えられる。本実験でも同様に、種子全重の小さい個体はその稈中のデンプン蓄積量が高く、易消化性の部分が相対的に増加して、乾物消化率が高くなったものと推察された。

図 18 に、両群におけるリグニン濃度と乾物消化率との関係を示した。両群において、リグニン濃度と乾物消化率との間に負の有意な相関が見られたが、各々の回帰式の間には有意な差は認められなかった。したがって、リグニンが乾物消化率を低下させる程度に両群の差は無いと考えられ、両群の植物体内のリグニンにおける性状に大差はないと推察された。

ところで、リグニンの濃度は、前述のとおり再生個体群が対照個体群に比べて有意に低かった（表 6）。しかしながら、両群において乾物消化率に差は見られなかった（表 7）。これらの結果は、乾物消化率を決定する要因がリグニンの他にも存在することを示唆している。

図 19 には葉部割合と乾物消化率との関係を示した。その結果、両群において、葉部割合と乾物消化率の負の有意な相関が認められた。一般の牧草においては、葉部は茎部に比べてリグニン含量が低いので、葉部は茎部に比べて消化性が高く、葉部割合と乾物消化率との間には正の相関関係が認められる²⁷⁾。しかしながら、本実験ではこれと異なる結果が得られたので、葉の消化性が茎のそれに比べて必ずしも高いわけではないと推察される。

イネは、リグニンと並んで乾物消化率を低下させる原因物質としてのケイ酸を多く含み、ケイ酸は葉部に高い割合で含まれることが知られている。したがって葉の消化率が茎よりも低いかもしれない。また葉部の割合は再生個体群が対照個体群より有意に低かった（表 4）ので、再生個体のケイ酸含量は対照個体群に比べて低くなる可能性がある。

以上のことより、両群の消化性の差をリグニンとケイ酸のみから説明することは出来ず、セルロースやヘミセルロースの化学的性状など、細胞壁を構成するその他種々の要因が乾物消化率に関与しているものと推察された。

3.3.4. 可消化乾物量

表 9 に、再生個体および対照個体における茎葉部の可消化乾

物量を示した。なお、一 個体当りの茎葉部における可消化乾物量は、その乾物収量に乾物消化率を乗じて算出した。再生個体では 0.69~9.99 g, 対照個体では 0.88~7.90 g の範囲にあり、各々の平均値は 4.11g および 3.91g でわずかに再生個体群が高かったが、両群の間に有意差は認められなかった。

図 20 に、両群における茎葉部の可消化乾物量を 2g 刻みにより相対的な頻度分布で示した。再生個体群は対照個体群に比べて、高い可消化乾物量を示す個体が高頻度で見られる傾向があった。

図 21 には、再生個体の茎葉部における可消化乾物量を降順に示し、対照個体群の平均値と比較した。再生個体の No. 36 および No. 22 の個体は特異的に高い値を示した。この理由を、前述した乾物収量および乾物消化率から考察すると、No. 36 は乾物収量および乾物消化率、No. 22 は乾物収量が高いことによるものであると考えられた。

一般に種子の乾物消化率は茎葉部のそれに比べて高いことから、種子全重およびその稔性が個体全体の可消化乾物量に大きく影響すると予測される。再生個体の No. 36 は茎葉の可消化乾物量が顕著に高かったものの、その種子に粘性がなく、種子全重は極めて低かった。再生個体 No. 22 は可消化乾物量および種子全重がともに高く、良好な飼料的性質を有する個体であると思われた。No. 38 および 29 は可消化乾物量が高かったものの、種子全重は上位に位置しなかった。No. 17 は可消化乾物量が高く、種子全重も上位にあったため、優良な個体であると考えられた。No. 40 は No. 38 および 29 と同様に、種子全重が上位に位置しなかった。No. 23 および 30 は可消化乾物量に大差がないものの、No. 30 の種子全重は No. 23 に比べて上位に位置したことから、No.30 もまた優良な個体であると考えられた。したがって、茎葉部における可消化乾物量が高く、かつ種子全重が大であった No. 22, 17 および 30 の 3 個体の自殖後代を次年度の実験に供することとした。

表 10 に、自殖後代の検定に供する 3 個体の諸性状を示した。それらの草丈は対照個体に比べて高い値を示し、再生個体群の中でも上位に位置するものであった。穂数は必ずしも上位に位置するものではなかったが、種子全重は最上位に位置した。葉部割合は中庸であり、乾物収量は上位に位置した。茎葉部のリグニン濃度および乾物消化率は中庸であったが、可消化乾物量は上位に位置するものであった。

3.4. 要約

前章において得た再生個体を野外で栽培して、その生育調査および化学分析を行い、飼料的性状を対照個体と比較した。

2~3 葉期の全再生個体から無作為に 53 個体を抽出し、野外のワグネルポットで生育させた。再生個体と生育段階を同じくする種子由来イネ（日本晴）37 個体に同様の処理を施し、対照個体として生育させた。

その結果、再生個体群は対照個体群に比べて出穂時期が遅い傾向にあった。再生個体群は対照個体群に比べて穂数が多く、種子全重は少なく、葉部の割合が低く、リグニン濃度が低かった。草丈、乾物収量、乾物消化率および可消化乾物量については両群の間に有意差は見られなかったが、再生個体群の中には、可消化乾物量の点から飼料として良好な性状を示す個体が存在した。また大半の調査項目について再生個体群は対照個体群に比べて分布の幅が広い傾向にあり、頻度分布も異なっていた。

両群のリグニン濃度と乾物消化率との関係から、両群におけるリグニンの化学的性状に大差は無いと推察された。

種子の重量および稔性と茎葉部の可消化乾物収量を検討し、比較的良好な飼料性質を具備していると思われた 3 個体の自殖後代を次年度の実験に供することとした。

第4章 再生個体自殖後代における飼料的性状

4.1. 目的

前章で再生個体の飼料的性状を検討した結果比較的良好な飼料性質を具備していると思われた No. 17, 22 および 30 の 3 系統について、各々の自殖後代を生育させ、その飼料的性状を対照個体と比較し検討した。

4.2. 材料および方法

4.2.1. 材料草の栽培，生育調査および分析試料の調製

材料草として、前章で生育させた再生個体 No. 17, 22 および 30 における自殖後代を供した。各々の種子から無作為に抽出して発芽させた、2~3 葉期の 30, 31, 29 個体を用いた。それらは平成 15 年 5 月に、市販の殺菌済無肥料の黒ぼく土（宮崎焼土；山宗商会製）を充填した 1/5000a ワグネルポットへ 1 個体ずつ移植した。また、基肥として化成肥料（15:15:15）を 6 kg/a 施し、同年 7 月にも同量の追肥を施した。

また対照個体として、再生個体後代と同じ生育段階の種子由来イネ（品種：日本晴）計 17 個体に同様の処理を施して生育させた。

平成 15 年 8 月下旬に落水させ、同年 9 月 19 日に草丈を測定して地上 5 cm で刈り取った。

刈取り後は一個体ずつ穂数を測定し、種子のみを取り外して新鮮種子を秤量した。

枝梗を茎葉部に含め、茎葉部を 50°C で 24 時間通風乾燥し、茎部および葉部に分別して秤量後、風乾物での葉部割合を算出した。茎部、葉部は合してウィレー式粉砕機で 1mm のフルイを通るように粉砕した。粉砕した風乾試料は常圧加熱乾燥法で乾物率を求め、茎葉部の風乾物重量に乾物率を乗じて、茎葉部における乾物収量とした。

4.2.2. 化学分析

リグニン濃度および *in vitro* 乾物消化率を、3.2.2. と同様の方法で測定した。

4.3. 結果および考察

4.3.1. 外部形態と生育の概要

図 22 に、再生個体群および対照個体群の出穂時期を、相対頻度（出穂時期を同じくする個体数／全個体数）で示した。各々の出穂時期を観察した結果、17 の対照個体中 15 個体が 8 月上旬であった。一方、再生個体 No. 17 の自殖後代（以下 F₁-17 と略す）においては、30 個体中 18 個体が 8 月中旬に出穂し、再

生個体 No. 22 自殖後代（以下 F_1 -22 と略す）では 31 個体中 22 個体が 8 月上旬に出穂し，再生個体 No. 30 自殖後代（以下 F_1 -30 略す）では 30 個体中 21 個体が 8 月上旬に出穂した。各々の F_1 群中には，対照個体に比べて早い時期に出穂した個体も存在した。したがって， F_1 群の出穂時期は対照個体群と比べて幅広い時期にあることが示された。

表 11 に，各 F_1 群および対照個体の草丈を示した。各々の範囲は対照個体群で 87.0~100.3 cm， F_1 -17 群では 75.5~109.2 cm， F_1 -22 群では 78.0~107.6 cm， F_1 -30 群では 81.0~104.6 cm であった。また，対照個体群における平均値の 93.9 cm に対し， F_1 -17 群の平均値は 95.9 cm でわずかに高かったものの，両群の間に統計的に有意な差は見られなかった。 F_1 -22 群の平均値は 94.9 cm であり，対照個体群に比べてわずかに高かったものの，両群の間に有意な差は見られなかった。 F_1 -30 群における平均値は 92.6 cm であり，同様に対照個体群との間に有意な差は見られなかった。

図 23 に，各 F_1 群の草丈を 5cm 刻みにより相対的な頻度分布で示した。 F_1 -17 群の草丈は対照個体群のそれより広い範囲に分布し，最頻区間は F_1 -17 群が高かった。また F_1 -22 群の分布も同様に対照個体群に比べて広い範囲にあり， F_1 -30 群では対照個体群に比べて頻度のピーク位置が低かった。

図 24 に， F_1 群個体の草丈を降順に示した。 F_1 -17 群においては 30 個体中 19 個体， F_1 -22 群では 31 個体中 18 個体， F_1 -30 群は 29 個体中 13 個体が対照個体の平均値を上回った。各 F_1 群個体の親である再生個体 No. 17，22 および 30 の草丈は，同一条件下で生育させた対照個体の平均値に比べて顕著に高かった（表 10）ものの，各 F_1 群において草丈の高い個体も見られたが約半数の個体が対照個体群の平均値を下回った。

表 12 に，各 F_1 群および対照個体の穂数を示した。各々の範囲は対照個体群で 17~39 本， F_1 -17 群では 17~41 本， F_1 -22 群では 12~43 本， F_1 -30 群では 19~32 本の範囲であった。また，各 F_1 群の平均値はそれぞれ 30.2，32.0 および 26.4 本であり，各 F_1 群において対照個体群の平均値との間に有意な差は見られなかった。また F_1 群の平均値は F_1 -22 で最も高く，次いで F_1 -17， F_1 -30 の順であり，各群の親である再生個体（表 10）とその順位を同じくした。

図 25 に，各 F_1 群の穂数を相対的な頻度分布で示した。 F_1 -17 群および F_1 -22 群は対照個体に比べ最頻値が高く， F_1 -22 群においては変異の幅が顕著に広がった。一方 F_1 -30 群は最頻値の位置は対照個体と同じく，半数以上の個体はその範囲に集中分

布しており、変異の幅は対照個体に比べて狭かった。

図 26 に、 F_1 群個体の穂数を降順に示した。 F_1 -17 群においては 30 個体中 19 個体、 F_1 -22 群では 31 個体中 24 個体、 F_1 -30 群は 29 個体中 9 個体が対照個体の平均値を上回った。 F_1 -17 群および F_1 -22 群では全体的に穂数が多い傾向にあるものの、 F_1 -30 群は目立って穂数の多い個体は見当たらなかった。

表 13 に、各 F_1 群および対照個体の種子全重（生体重）を示した。各々の範囲は対照個体群では 12.9~20.3 g、 F_1 -17 群では 8.9~22.3 g、 F_1 -22 群では 8.2~22.2 g、 F_1 -30 群では 7.7~20.1 g の範囲にあった。また各々の平均値を比べると対照個体群の 17.34 g に対し、 F_1 -17 群では 15.52 g で有意差は見られず、 F_1 -22 群では 14.26 g であり 5% 水準で有意に低く、 F_1 -30 群については 14.21 g であり 1% 水準で有意に低かった。

図 27 に、各 F_1 群の種子全重を 5g 刻みにより相対的な頻度分布で示した。 F_1 -17 群および F_1 -22 群は対照個体群に比べて最頻値が低く、全ての F_1 群において、対照個体群に比べて低い区間での分布が見られた。

図 28 に、 F_1 群個体の種子全重を降順に示した。 F_1 -17 群においては 30 個体中 9 個体、 F_1 -22 群では 31 個体中 9 個体、 F_1 -30 群は 29 個体中 6 個体が対照個体の平均値を上回った。一方、各 F_1 群の親である再生個体 No. 17, 22 および 30 の種子全重を見ると、No. 22, 17, 30 の順に多かった（表 10）。しかしながら、それらの自殖後代では、全 F_1 群で半数以上の個体が対照個体の平均値を下回っていた。

表 14 に、各 F_1 群および対照個体の葉部割合を示した。各々の範囲は対照個体群で 0.34~0.40、 F_1 -17 群では 0.33~0.39、 F_1 -22 群では 0.29~0.38、 F_1 -30 群では 0.32~0.38 であった。また各々の平均値を比べると対照個体群の 0.37 に対し、 F_1 -17 群については 0.36 で有意差は見られず、 F_1 -22 群は 0.34 であり 1% 水準で有意に低く、 F_1 -30 群は 0.35 であり 1% 水準で有意に低かった。

図 29 に、各 F_1 群の葉部割合を 0.05 刻みにより相対的な頻度分布で示した。全ての F_1 群は対照個体群に比べて最頻値に大きな差は見られなかったものの、葉部割合の低い区間の分布が高い割合で確認された。

図 30 に、 F_1 群個体の葉部割合を降順に示した。 F_1 -17 群においては 30 個体中 20 個体、 F_1 -22 群では 31 個体中 29 個体、 F_1 -30 群は 29 個体中 28 個体が対照個体の平均値を下回った。各 F_1 群で葉部割合が低く茎部割合の高い傾向が見られ、 F_1 -22 群および F_1 -30 群においては対照個体と比べて顕著に葉部割合の

低い個体が多かった。

表 15 に、各 F_1 群および対照個体における茎葉部の乾物収量の個体間変異を示した。各々の範囲は対照個体群で 20.6~28.5 g, F_1 -17 群で 17.9~33.7 g, F_1 -22 群で 15.0~36.0 g, F_1 -30 群では 19.3~29.8 g の範囲であった。また各々の平均値を比べると、対照個体群の 24.58 g に対し、 F_1 -17 群は 26.86 g であり 5%水準で有意に高く、 F_1 -22 群は 28.15 g であり 1%水準で有意に高く、 F_1 -30 群は 25.60 g で有意差は認められなかったもののわずかに高かった。これら F_1 群の親はいずれも高い乾物収量を示しており、それらを比較すると再生個体 No. 22 で最も高く、次いで 17, 30 の順であった (表 10)。各 F_1 群の平均値は F_1 -22, F_1 -17, F_1 -30 の順に高く、親の再生個体と順位を同じくした。

図 31 に、各 F_1 群における茎葉部の乾物収量を 5g 刻みの相対的な頻度分布で示した。 F_1 -17 群は対照個体群に比べて最頻値が高い位置にあり、変異の幅は広がった。 F_1 -22 群については対照個体群に比べて最頻値が顕著に高く、変異の幅は広がった。 F_1 -30 群は対照個体群に比べて最頻値がやや高く、半数以上がその区間に分布した。

図 32 に、 F_1 群個体の乾物収量を降順に示した。 F_1 -17 群においては 30 個体中 23 個体、 F_1 -22 群では 31 個体中 25 個体、 F_1 -30 群は 29 個体中 19 個体が対照個体の平均値を上回った。

4.3.2. リグニン濃度と乾物消化率

表 16 に、各 F_1 群および対照個体における茎葉部のリグニン濃度を示した。乾物 1 g 当りのリグニン濃度は対照個体群で 61.0~77.5, F_1 -17 群で 59.4~75.6, F_1 -22 群では 55.8~74.3, F_1 -30 群では 57.6~73.6 の範囲であった。また、対照個体群における平均値が 69.23 であったのに対し、 F_1 -17 群の平均値は 67.51 でわずかに低かったものの、両群の間に統計的に有意な差は見られなかった。 F_1 -22 群の平均値は 65.85 であり、対照個体群に比べて 5%水準で有意に低かった。また、 F_1 -30 群における平均値は 66.61 であり、対照個体群との間に有意な差は見られなかった。

図 33 に、各 F_1 群の茎葉部におけるリグニン濃度 (吸光度) を 5 刻みにより相対的な頻度分布で示した。 F_1 -17 群の半数以上が 65~70 の範囲に集中的に分布した。 F_1 -22 群は対照個体群に比べて最頻値の位置が低く、半数以上が吸光度 70 以下であり、全体的にリグニン濃度の低い傾向を示した。 F_1 -30 群においては約半数が吸光度 70 以下に分布した。

図 34 に、 F_1 群個体のリグニン濃度を降順に示した。 F_1 -17 群においては 30 個体中 24 個体、 F_1 -22 群では 31 個体中 24 個体、

F₁-30 群は 29 個体中 22 個体が対照個体の平均値を下回った。各 F₁ 群個体において半数以上の個体が、対照個体群におけるリグニン濃度の平均値を下回った。

表 17 に、各 F₁ 群個体および対照個体における茎葉部の乾物消化率を示した。茎葉部の乾物消化率は対照個体群で 38.1～49.2%，F₁-17 群では 36.7～50.6%，F₁-22 群では 39.7～54.1%，F₁-30 群では 37.3～46.4% の範囲であった。また、対照個体群の平均値は 43.62% であった。これに対し、F₁-17 群の平均値は 44.44% であり対照個体群に比べてわずかに高かったものの統計的に有意な差は認められず、F₁-22 群の平均値は 46.56% であり対照個体群に比べて 5% 水準で有意に高く、F₁-30 群については平均値が 41.5% で対照個体群に比べて 5% 水準で有意に低かった。

図 35 に、各 F₁ 群における茎葉部の乾物消化率を 5% 刻みにより相対的な頻度分布で示した。F₁-17 群は最頻値を示す区間が対照個体群と同じく、分布状況に大きな差は見られなかった。F₁-22 群は対照個体群に比べて全体的に高い範囲で分布しており、F₁-30 群は最頻値を示す区間が対照個体群より低かったものの、分布の幅には大きな差は見られなかった。

図 36 に F₁ 群個体の乾物消化率を降順に示した。F₁-17 群においては 30 個体中 19 個体、F₁-22 群では 31 個体中 20 個体、F₁-30 群は 29 個体中 9 個体が対照個体の平均値を上回った。F₁-17 群および F₁-22 群では半数以上の個体が、対照個体における乾物消化率の平均値を上回ったが、F₁-30 群は全体的に乾物消化率の低い傾向にあった。

4.3.3. 可消化乾物収量

表 18 に、各 F₁ 群および対照個体における茎葉部の可消化乾物収量を示した。各々の範囲は対照個体群で 7.9～14.0 g、F₁-17 群で 7.5～17.0 g、F₁-22 群では 7.2～17.4 g、F₁-30 群では 8.3～13.4 g の範囲であった。また各々の平均値は対照個体群の 10.74 g に対し、F₁-17 群は 12.01 g でわずかに高かったものの統計的に有意な差はなく、F₁-22 群は 13.13 g であり 1% 水準で有意に高く、F₁-30 群は 10.65 g で有意な差は認められなかった。

図 37 に、各 F₁ 群の茎葉部における可消化乾物収量を 2g 刻みにより相対的な頻度分布で示した。F₁-17 群については、最頻値の位置を対照個体群と同じくするものの、茎葉部における可消化乾物収量の高い個体が比較的高い割合で存在した。F₁-22 群は対照個体群の分布状況とは顕著に異なり、茎葉部における可消化乾物収量の高い個体が高頻度で存在した。F₁-30 群は最頻値が対照個体群に比べて低く、変異の範囲も小さかった。

図 38 に F_1 群個体の可消化乾物収量を降順に示した。 F_1 -17 群においては 30 個体中 18 個体、 F_1 -22 群では 31 個体中 23 個体、 F_1 -30 群は 29 個体中 12 個体が対照個体の平均値を上回った。 F_1 -17 群および F_1 -22 群において、半数以上の個体が対照個体の平均値を上回り全体的に高い傾向を示したのに対し、 F_1 -30 群では対照個体群との間に大差は見られないものと推察された。

以上の結果から、本章で得た再生個体の自殖後代において、前年の再生個体に引き続き、対照個体群に比べて良好な飼料性質を具備した個体を見出すことが出来た。しかしながら、全ての F_1 群個体は変異の広がりが見られ、形質の固定化が不十分であると推察された。したがって、本章で得た F_1 群の中から飼料的性質の良好な個体を選抜し、 F_2 世代以降での育種展開による固定化が必要とされる。

4.4. 要約

前章において得た再生個体のうち、比較的良好な飼料性質を具備していると思われた 3 系統の自殖後代 (F_1) を栽培し、その生育調査および化学分析を行い、飼料的性状を対照個体と比較した。

2~3 葉期の自殖後代 3 系統から各々 30, 31 および 29 個体を抽出し、野外のワグネルポットで生育させた。これらの個体と生育段階を同じくする種子由来イネ (日本晴) 17 個体に同様の処理を施し、対照個体として生育させた。

その結果、全ての調査項目で F_1 の変異に広がりが見られ、形質の固定化が不十分であると推察された。したがって、本章で得た F_1 の中から飼料的性質の良好な個体を選抜し、 F_2 世代以降での育種展開による固定化が必要とされた。

第5章 総括

本研究では良好な飼料的性質を具備したイネを作出するため、組織培養を介した変異による育種を試みた。イネ（品種:日本晴）完熟種子からカルスを誘導し、植物体再分化について検討するとともに再生個体およびその自殖後代について飼料的性状を調査した。

カルスは種子の胚盤部位より誘導され、培養開始 28 日後には小粒状のカルス塊が多数認められる増殖旺盛で再分化能力の高いエンブリオジェニックカルスが形成され、継代培養を行った後、再分化培地に移植したところ、体細胞不定胚形成を経て多くの植物体が再生し、89 個の順化再生個体を得ることができた。

2~3 葉期の全再生個体から無作為に 53 個体を抽出し、野外のワグネルポットで生育させた。再生個体と生育段階を同じくする種子由来イネ 37 個体を対照個体として生育させた。その結果、再生個体群は対照個体群に比べて出穂が遅い傾向にあった。また、再生個体群は対照個体群に比べて穂数が多く、種子全重は小さく、葉部の割合が高く、リグニン濃度が低かった。草丈、乾物収量、乾物消化率および可消化乾物量については両群の間に有意差は見られなかったが、再生個体群の中には、飼料として良好な性状を示す個体が認められた。また大半の調査項目について再生個体群は対照個体群に比べて分布の幅が広い傾向にあり、頻度分布も異なっていた。この結果から、再生個体において一定の変異が認められたと推察された。

次年度には、比較的良好な飼料的性質を具備していると思われた 3 再生個体の自殖後代を栽培し、調査を継続した。その結果、自殖後代群は対照個体群に比べ、出穂時期の幅が広がった。自殖後代 3 系統のうち、1 系統は茎葉の可消化乾物量が対照個体群より高く、全ての自殖後代群は対照個体群に比べて変異の幅が広がった。種子全重については、自殖後代群は対照個体群と同等もしくはそれ以下にあった。また大半の調査項目について、自殖後代群は対照個体群に比べて変異の幅が拡大し、頻度分布が異なっていた。各自殖後代群の中には、種子全重が比較的大きく、かつ茎葉の可消化乾物量の多い、良好な飼料的性質を有する個体が認められた。また、種子全重は低い、その茎葉部の可消化乾物量が顕著に高く、茎葉部において特に良好な飼料的性質を有する個体も認められた。

以上、本実験で得た再生個体およびその自殖後代において、対照とした品種「日本晴」より良好な飼料的性質を具備する個体を見出すことが出来た。しかしながら、それらにおける形質の固定化は未だ不十分であるため、 F_2 世代以降での育種展開を必要とする。

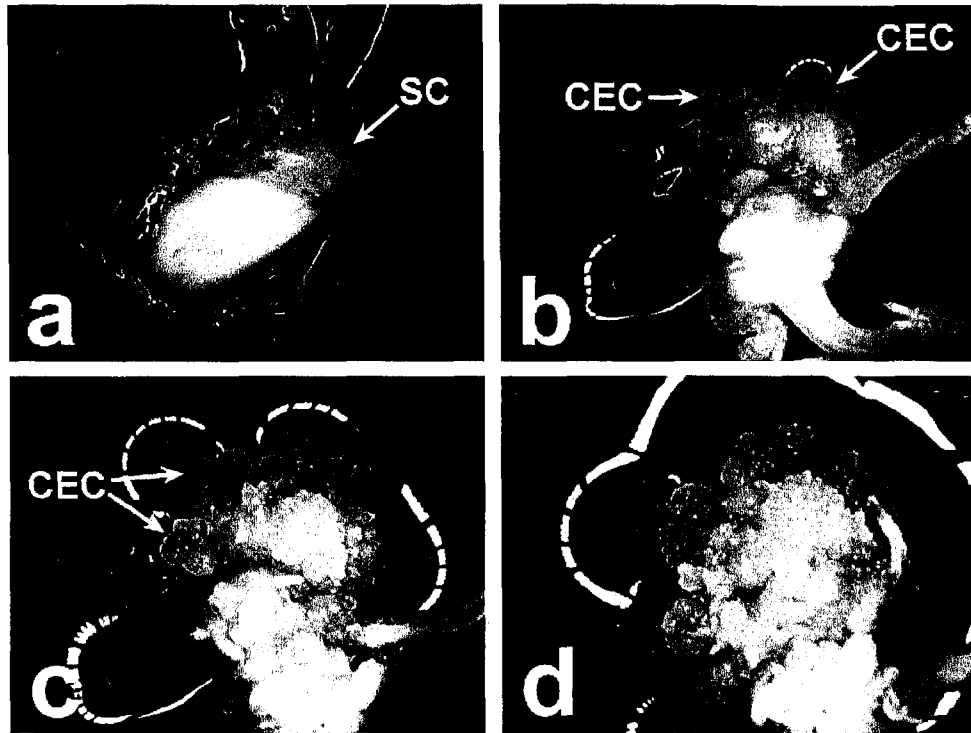


写真1. イネ完熟種子からのカルス誘導. a) カルス誘導7日目. b) 14日目.
c) 21日目. d) 培養28日目のエンブリオジェニックカルス. SC: 胚盤、CEC: エンブリオジェニックカルス塊.

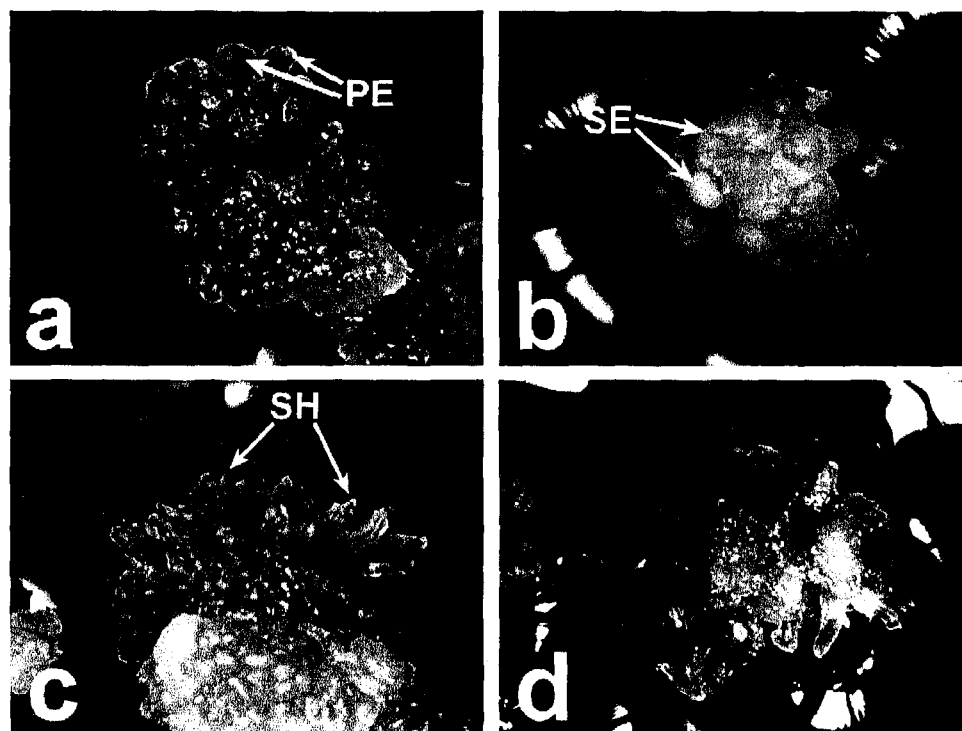


写真2. イネエンブリオジェニックカルスからの植物体再分化. a, b) 体細胞不定胚形成. c) 植物体の分化. d) 植物体の伸張. PE: 初期不定胚、SE: 体細胞不定胚、SH: 植物体.

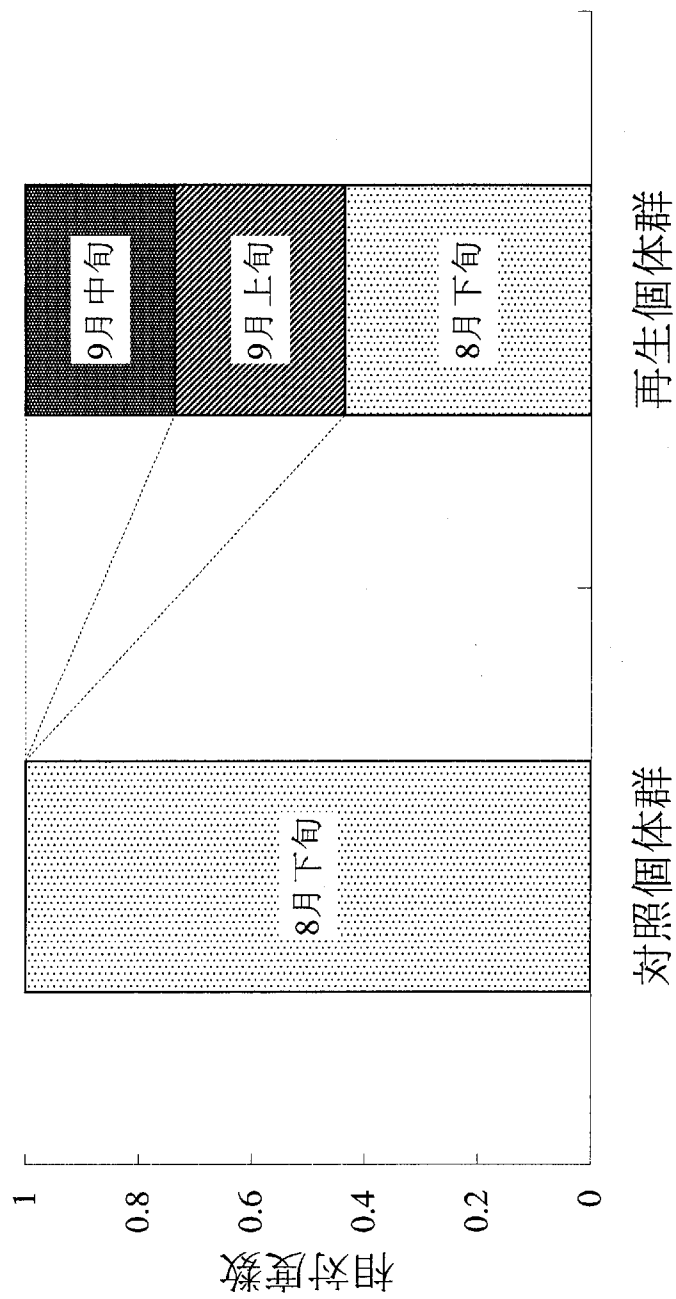


図1.出穂時期.

表1. 草丈の個体間変異.

再生個体			対照個体	
個体番号	草丈(cm)		個体番号	草丈(cm)
1	64.2		1	68.0
2	63.0		2	65.0
3	67.0		3	65.0
4	69.0		4	73.0
5	77.8	max	5	67.0
6	66.0		6	69.0
7	66.0		7	65.0
8	65.8		8	75.0
9	64.6		9	77.0
10	70.0		10	74.0
11	66.0		11	72.0
12	65.8		12	78.0
13	60.0		13	74.0
14	69.0		14	70.0
15	64.0		15	71.0
16	69.0		16	67.0
17	76.4		17	68.0
18	51.0		18	68.8
19	70.0		19	64.2
20	60.2		20	71.0
21	70.0		21	73.8
22	77.0		22	71.2
23	68.0		23	64.8
24	62.0		24	69.8
25	63.0		25	59.8
26	64.0		26	67.2
27	65.0		27	53.6
28	58.6		28	59.2
29	62.0		29	61.4
30	74.0		30	65.4
31	69.0		31	61.2
32	61.2		32	66.6
33	66.0		33	61.4
34	64.8		34	60.2
35	60.0		35	60.2
36	72.5		36	58.2
37	57.2		37	54.8
38	70.0			
39	65.1			
40	64.6			
41	50.2			
42	60.2			
43	65.0			
44	50.0	min		
45	70.4			
46	76.4			
47	51.8			
48	73.0			
49	63.2			
50	52.0			
51	65.0			
52	60.8			
53	67.4			
平均(±SD)	64.98 ±6.55	NS		66.78 ±6.01

SD: 標準偏差.

NS: 両群の平均値間に有意差なし.

^{max}: 各群における最大値; ^{min}: 各群における最小値.

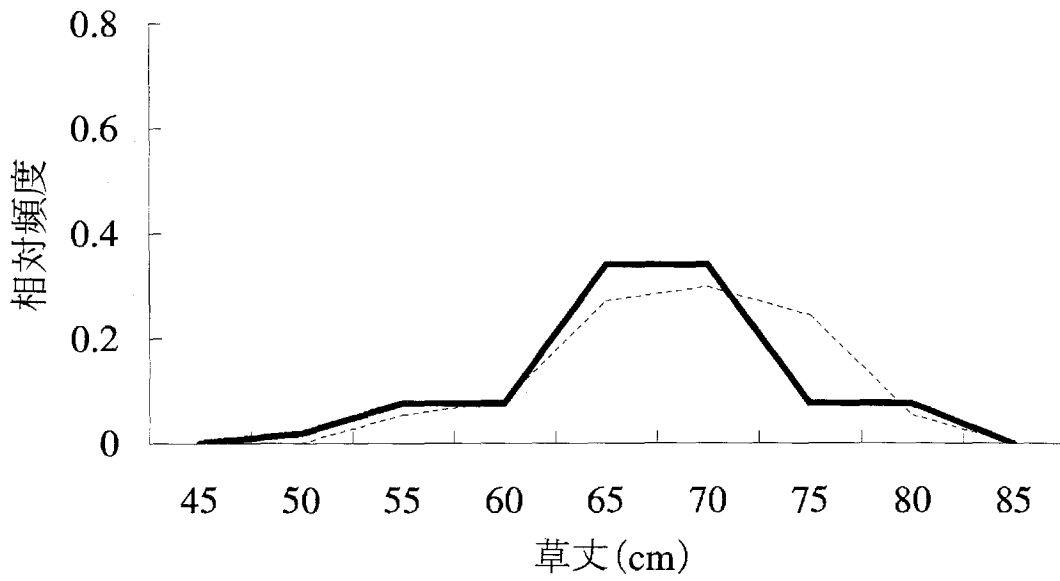


図2. 草丈の相対頻度

——:再生個体 - - - - :対照個体

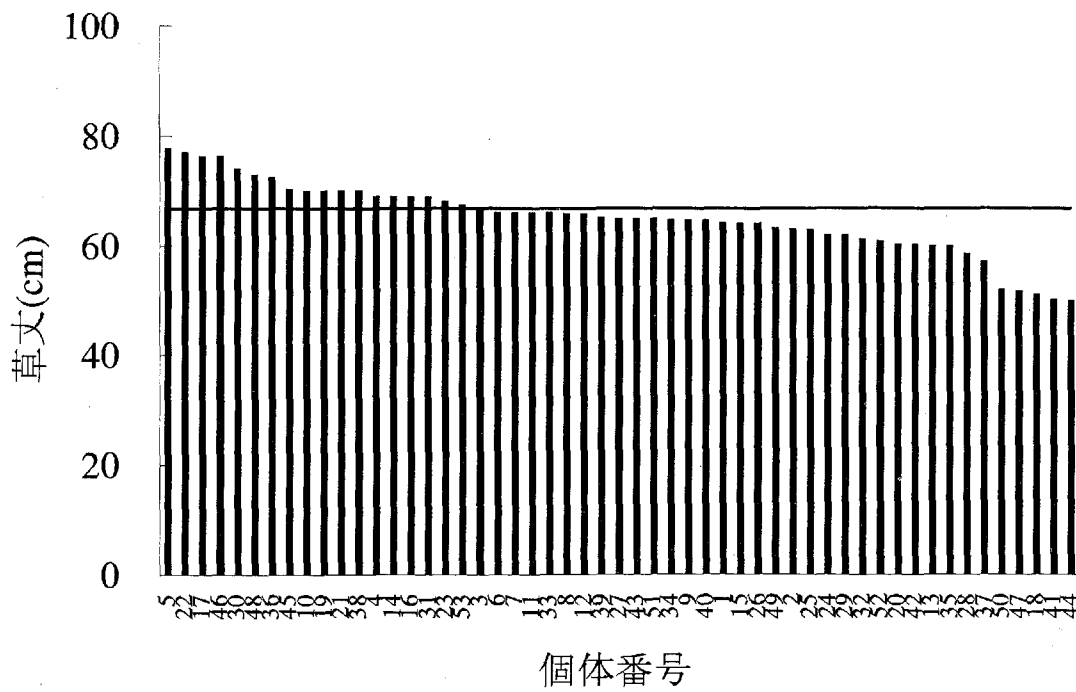


図3. 再生個体の草丈.

——:対照個体の平均値

表2. 穂数の個体間変異.

再生個体		対照個体	
個体番号	穂数(本/株)	個体番号	穂数(本/株)
1	16	1	10
2	15	2	9
3	14	3	9
4	26	4	14
5	17	5	3
6	10	6	10
7	14	7	11
8	25	8	9
9	11	9	16
10	12	10	17
11	17	11	9
12	10	12	13
13	9	13	14
14	21	14	13
15	22	15	16
16	15	16	11
17	21	17	15
18	5	18	7
19	19	19	7
20	10	20	14
21	17	21	17
22	31	22	16
23	18	23	8
24	23	24	7
25	19	25	7
26	10	26	9
27	11	27	3
28	10	28	7
29	19	29	7
30	14	30	6
31	10	31	4
32	14	32	9
33	8	33	10
34	15	34	5
35	16	35	4
36	22	36	9
37	20	37	7
38	17		
39	10		
40	10		
41	1		
42	9		
43	8		
44	6		
45	9		
46	12		
47	7		
48	7		
49	8		
50	12		
51	8		
52	6		
53	7		
平均(±SD)	13.6 ±6.09	**	9.8 ±4.02

SD: 標準偏差.

** : 両群の平均値間に1%水準で有意差あり.

max: 各群における最大値; min: 各群における最小値.

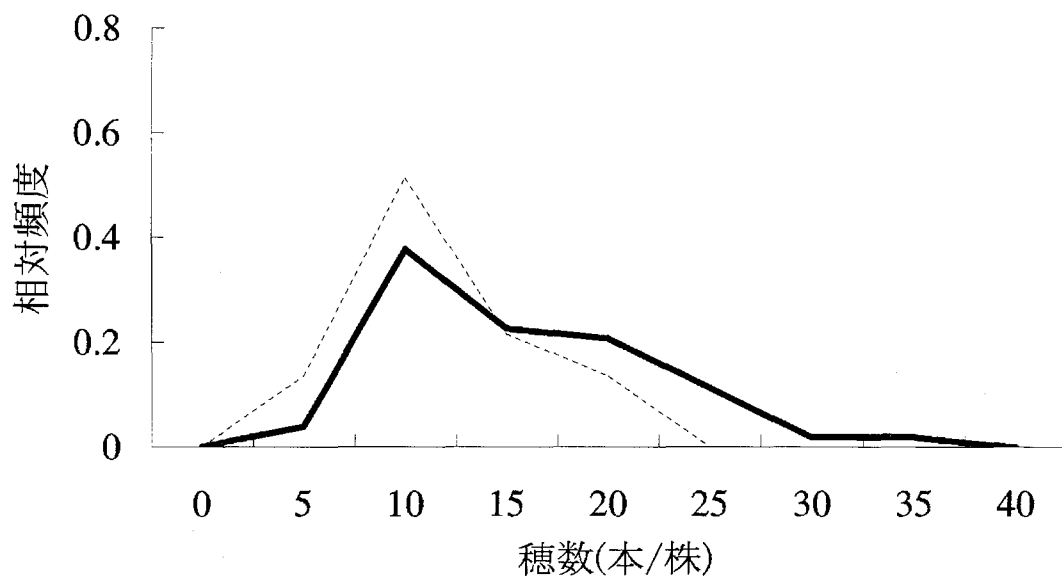


図4. 穂数の相対頻度

——:再生個体 - - - - :対照個体

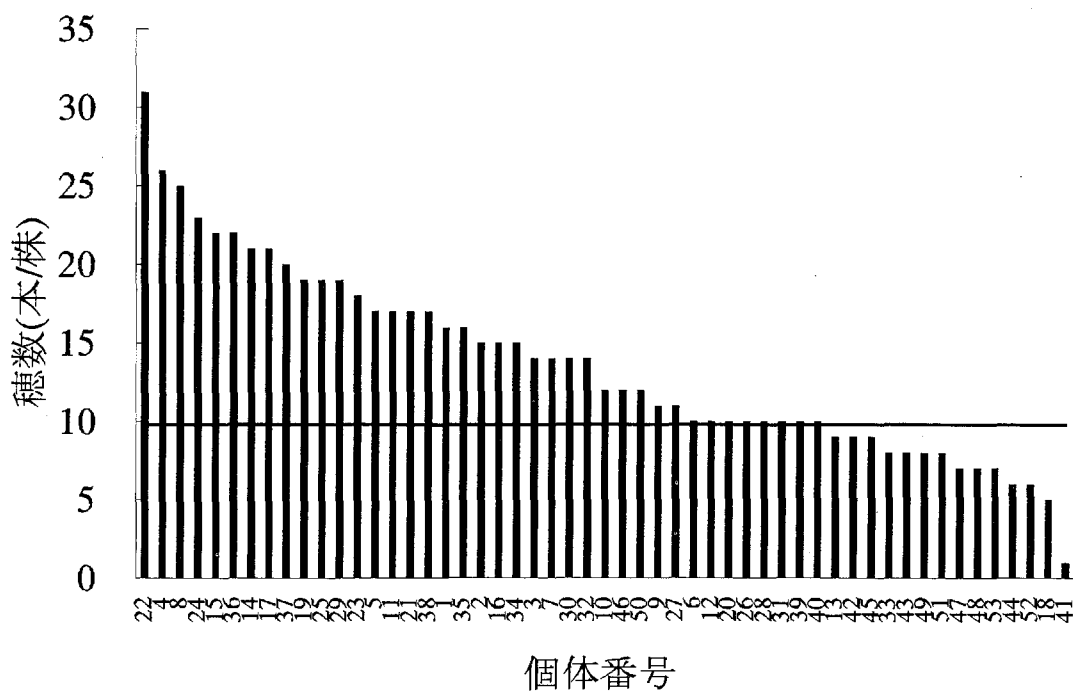


図5. 再生個体の穂数.

——:対照個体の平均値

表3. 種子全重の個体間変異.

再生個体		対照個体	
個体番号	生体重(gFM/株)	個体番号	生体重(gFM/株)
1	9.2	1	9.5
2	5.0	2	9.2
3	5.4	3	9.8
4	6.2	4	17.3
5	7.3	5	2.8
6	6.7	6	12.9
7	11.7	7	9.8
8	11.1	8	10.0
9	5.9	9	16.3
10	7.9	10	19.5
11	7.8	11	5.4
12	7.8	12	14.0
13	6.3	13	17.3
14	5.2	14	8.7
15	12.7	15	14.7
16	5.0	16	5.3
17	16.3	17	15.0
18	0.6	18	7.6
19	10.2	19	6.6
20	4.4	20	19.7
21	10.9	21	17.9
22	17.2	22	18.0
23	12.2	23	7.9
24	9.1	24	6.0
25	5.1	25	7.4
26	3.4	26	7.6
27	7.9	27	0.9
28	4.7	28	5.4
29	8.3	29	8.0
30	14.0	30	5.5
31	8.1	31	4.1
32	4.0	32	4.2
33	3.8	33	6.6
34	10.3	34	5.3
35	7.4	35	2.5
36	3.4	36	6.4
37	1.8	37	4.0
38	2.6		
39	4.6		
40	6.7		
41	0.3		
42	2.5		
43	2.9		
44	0.7		
45	3.3		
46	2.0		
47	0.8		
48	3.8		
49	4.6		
50	1.0		
51	4.7		
52	5.6		
53	4.6		
平均(±SD)	6.32 ±3.92	**	9.43 ±5.27

SD: 標準偏差.

** : 両群の平均値間に1%水準で有意差あり.

^{max}: 各群における最大値, ^{min}: 各群における最小値.

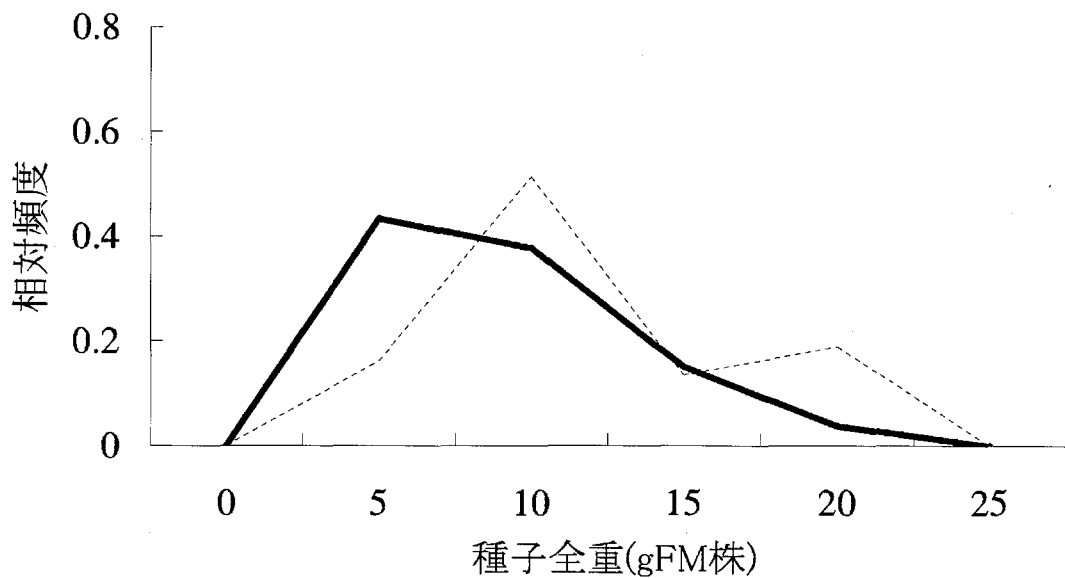


図6. 種子全重の相対頻度.

——:再生個体 - - - - :対照個体

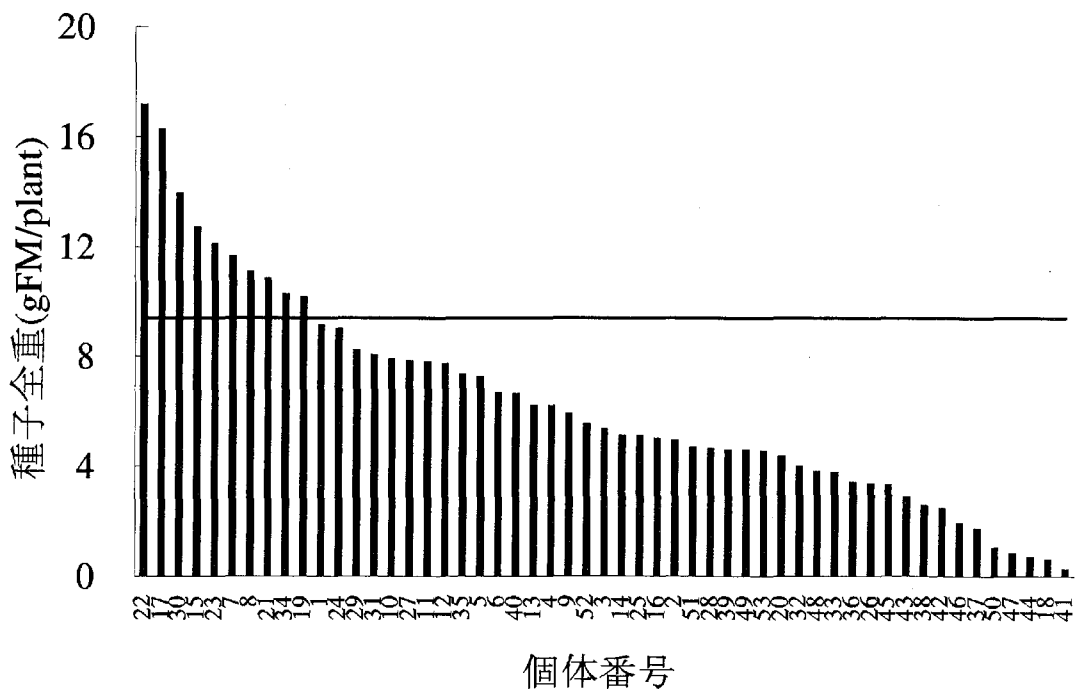


図7. 再生個体の種子全重.

——:対照個体の平均値

表4. 葉部割合の個体間変異.

再生個体		対照個体	
個体番号	割合	個体番号	割合
1	0.31	1	0.33
2	0.27	2	0.34
3	0.32	3	0.32
4	0.26	4	0.32
5	0.28	5	0.39
6	0.37	6	0.35
7	0.32	7	0.31
8	0.33	8	0.30
9	0.33	9	0.29
10	0.33	10	0.32
11	0.32	11	0.35
12	0.40	12	0.32
13	0.31	13	0.32
14	0.29	14	0.31
15	0.32	15	0.31
16	0.31	16	0.33
17	0.30	17	0.31
18	0.33	18	0.35
19	0.31	19	0.34
20	0.35	20	0.33
21	0.31	21	0.32
22	0.28	22	0.35
23	0.31	23	0.30
24	0.26	24	0.38
25	0.29	25	0.35
26	0.35	26	0.29
27	0.37	27	0.34
28	0.33	28	0.29
29	0.26	29	0.29
30	0.33	30	0.29
31	0.33	31	0.32
32	0.34	32	0.29
33	0.32	33	0.32
34	0.33	34	0.29
35	0.32	35	0.28
36	0.25	36	0.31
37	0.27	37	0.29
38	0.26		
39	0.22		
40	0.24		
41	0.29		
42	0.24		
43	0.31		
44	0.38		
45	0.22		
46	0.24		
47	0.28		
48	0.31		
49	0.33		
50	0.27		
51	0.33		
52	0.26		
53	0.29		
平均(±SD)	0.30 ±0.04	*	0.32 ±0.03

SD: 標準偏差.

*: 両群の平均値間に5%水準で有意差あり.

max: 各群における最大値; min: 各群における最小値.

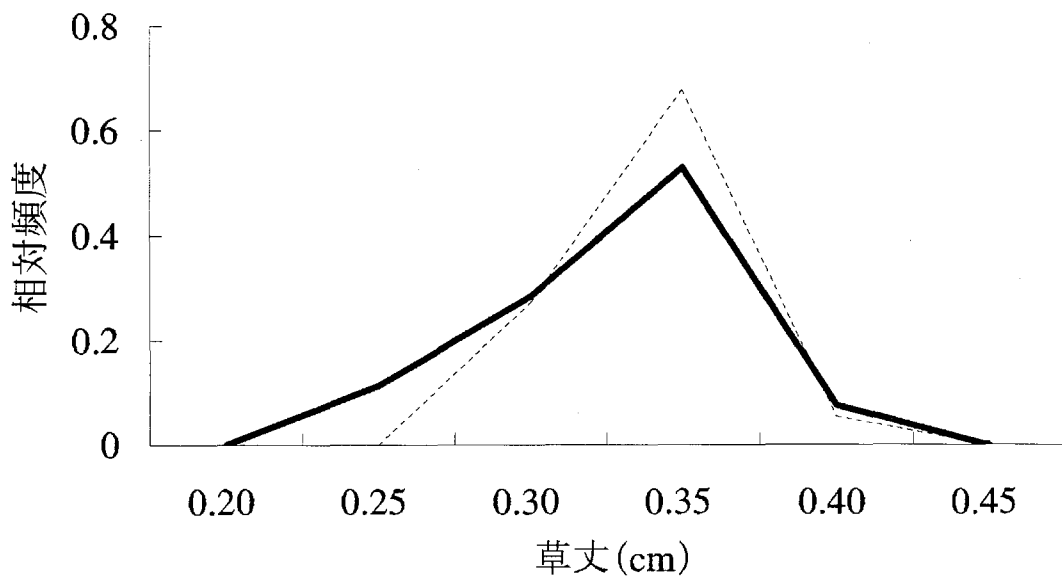


図8. 葉部割合の相対頻度

——:再生個体 - - - - :対照個体

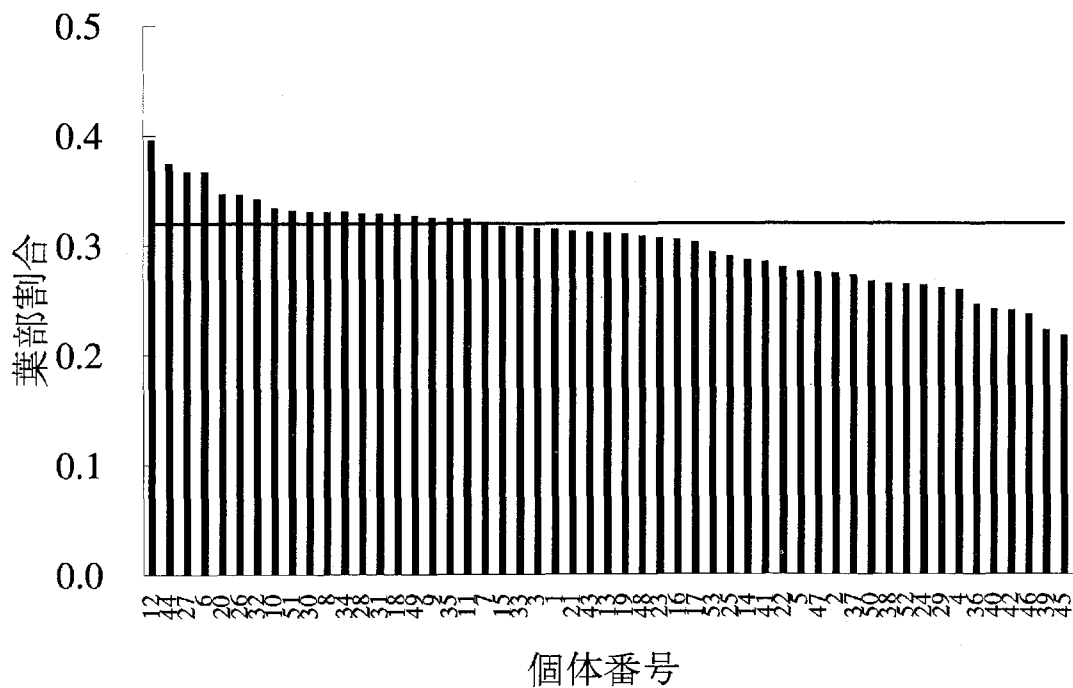


図9. 再生個体の葉部割合.

——:対照個体の平均値

表5. 乾物収量(茎葉部)の個体間変異.

再生個体		対照個体		
個体番号	乾物収量(gDM/株)	個体番号	乾物収量(gDM/株)	
1	10.7	1	8.9	
2	6.5	2	7.7	
3	12.0	3	6.5	
4	11.4	4	13.9	
5	11.8	5	2.4	min
6	6.1	6	10.6	
7	10.9	7	10.7	
8	10.1	8	12.0	
9	5.6	9	17.5	max
10	10.4	10	15.3	
11	11.7	11	6.3	
12	8.2	12	10.9	
13	6.3	13	13.3	
14	10.7	14	9.6	
15	11.7	15	15.5	
16	11.6	16	9.6	
17	14.3	17	14.2	
18	1.9	18	7.0	
19	10.3	19	7.2	
20	5.4	20	14.5	
21	10.6	21	15.8	
22	21.5	22	13.7	
23	12.3	23	6.5	
24	11.8	24	6.0	
25	8.1	25	6.8	
26	7.1	26	10.9	
27	6.6	27	2.7	
28	4.6	28	6.7	
29	14.3	29	7.3	
30	12.8	30	7.0	
31	9.4	31	5.7	
32	7.7	32	6.7	
33	8.7	33	8.5	
34	9.2	34	4.8	
35	7.5	35	4.3	
36	17.3	36	6.4	
37	9.0	37	5.4	
38	13.9			
39	6.1			
40	12.5			
41	2.3			
42	8.4			
43	8.0			
44	4.5			
45	9.4			
46	9.7			
47	4.5			
48	7.0			
49	7.9			
50	4.1			
51	5.8			
52	5.8			
53	5.8			
平均(±SD)	9.09 ±3.67	NS	9.17 ±3.93	

SD: 標準偏差.

NS: 両群の平均値間に有意差なし.

^{max}: 各群における最大値; ^{min}: 各群における最小値.

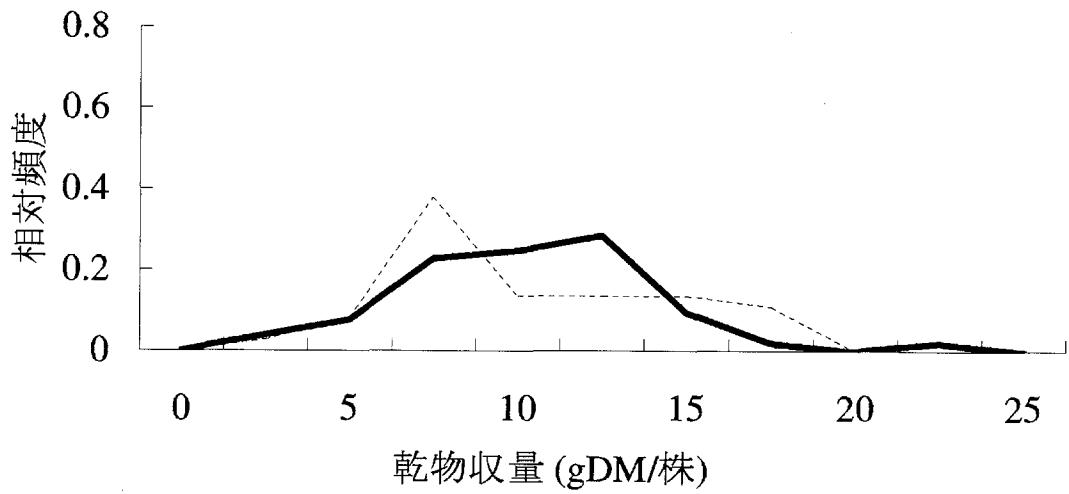


図10. 乾物収量(茎葉部)の相対頻度

——:再生個体 - - - - :対照個体

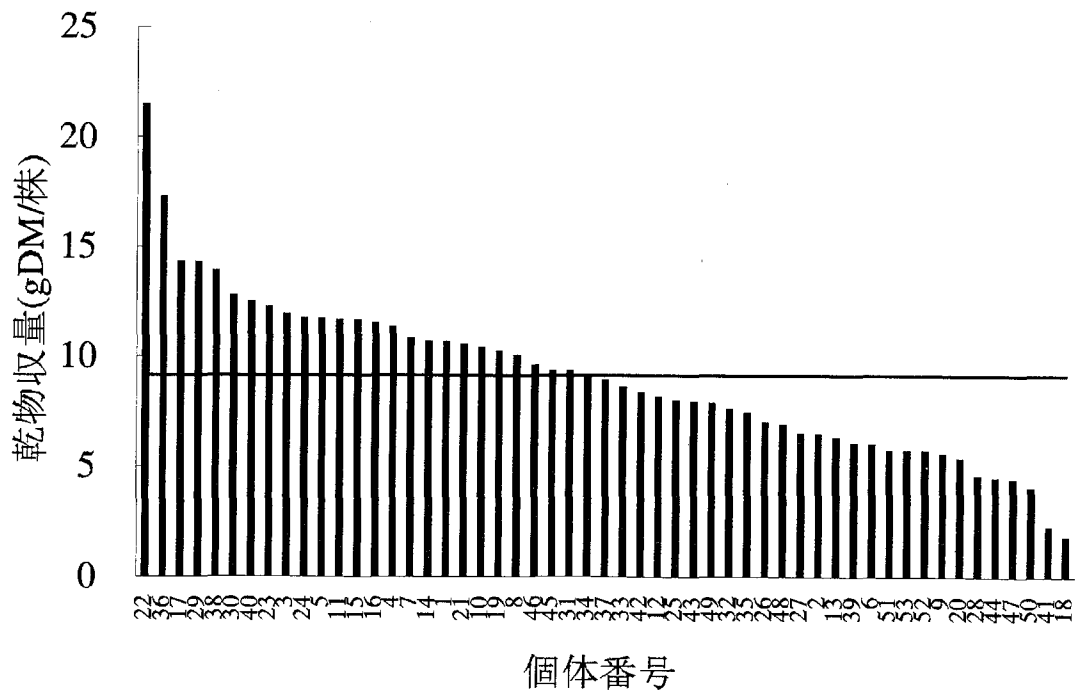


図11. 再生個体の乾物収量(茎葉部).

——:対照個体の平均値

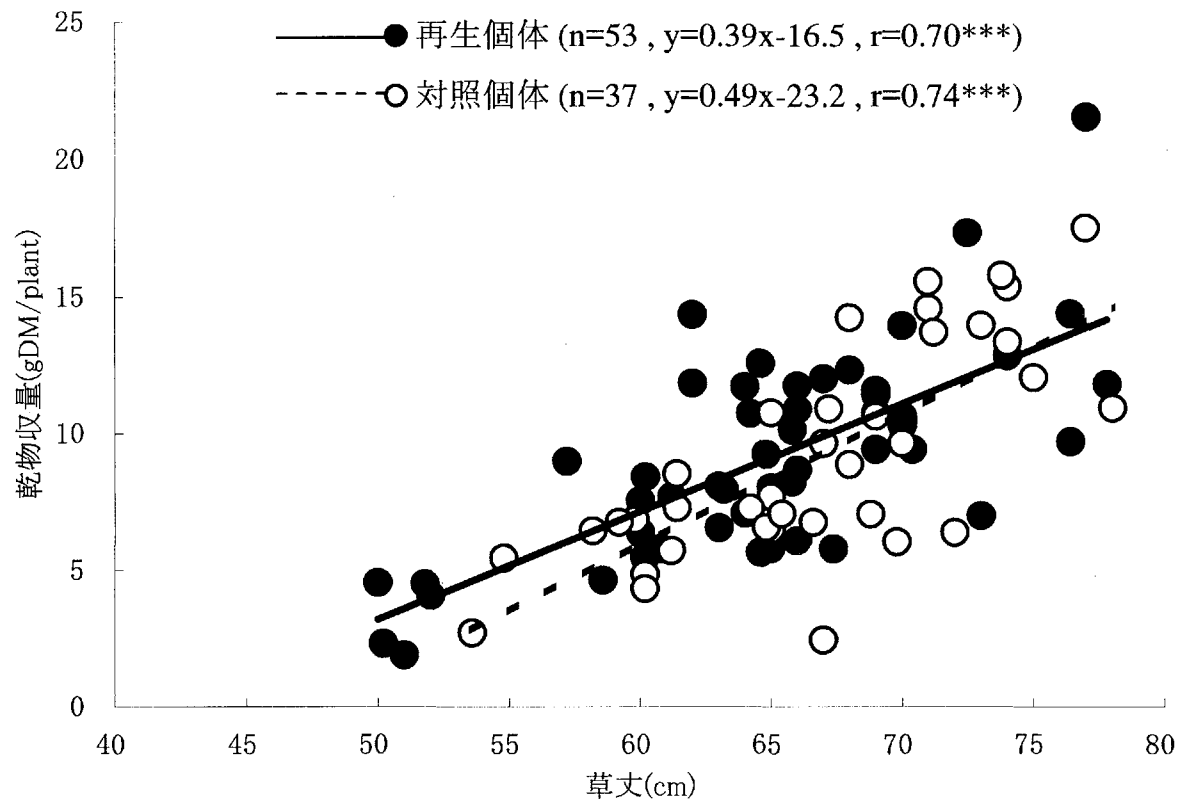


図12. 草丈と乾物収量との関係.

表6. リグニン濃度(茎葉部)の個体間変異.

再生個体		対照個体	
個体番号	濃度(ABS/gDM)	個体番号	濃度(ABS/gDM)
1	56.7	1	48.0
2	59.7	2	48.7
3	51.4	3	53.5
4	52.0	4	50.6
5	46.4	5	49.8
6	53.0	6	54.4
7	50.2	7	46.2
8	52.0	8	43.7
9	45.3	9	46.2
10	45.9	10	53.6
11	46.0	11	46.0
12	50.4	12	51.7
13	47.1	13	52.5
14	45.0	14	47.1
15	42.4	15	47.6
16	46.3	16	46.2
17	47.5	17	48.2
18	48.8	18	45.8
19	49.1	19	44.0
20	44.8	20	53.8
21	41.8	21	47.9
22	47.6	22	48.6
23	48.3	23	48.0
24	45.4	24	48.3
25	43.6	25	48.1
26	44.8	26	42.2
27	47.3	27	43.7
28	48.6	28	51.6
29	49.7	29	54.8
30	51.4	30	49.3
31	51.5	31	57.1
32	48.2	32	48.8
33	49.9	33	47.9
34	45.6	34	52.2
35	48.6	35	52.7
36	38.1	36	46.5
37	29.8	37	45.3
38	35.5		
39	29.4		
40	42.3		
41	37.3		
42	37.3		
43	37.7		
44	38.8		
45	45.5		
46	30.0		
47	41.5		
48	41.9		
49	39.4		
50	37.4		
51	42.6		
52	41.6		
53	42.9		
平均(±SD)	44.93 ±6.29	***	48.93 ±3.54

SD: 標準偏差.

***: 両群の平均値間に0.1%水準で有意差あり.

^{max}: 各群における最大値; ^{min}: 各群における最小値.

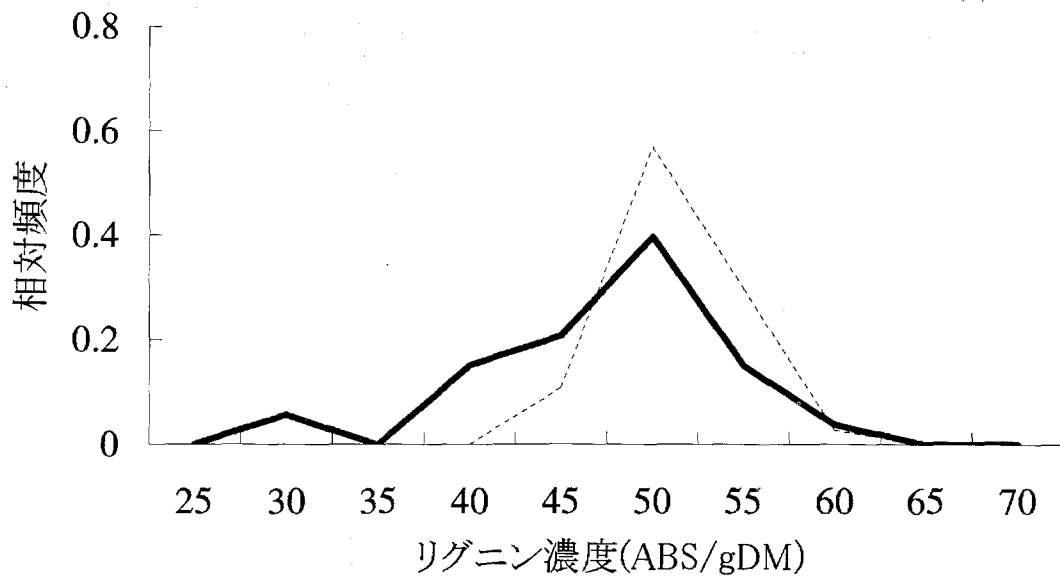


図13. リグニン濃度(茎葉部)の相対頻度

— : 再生個体 - - - : 対照個体

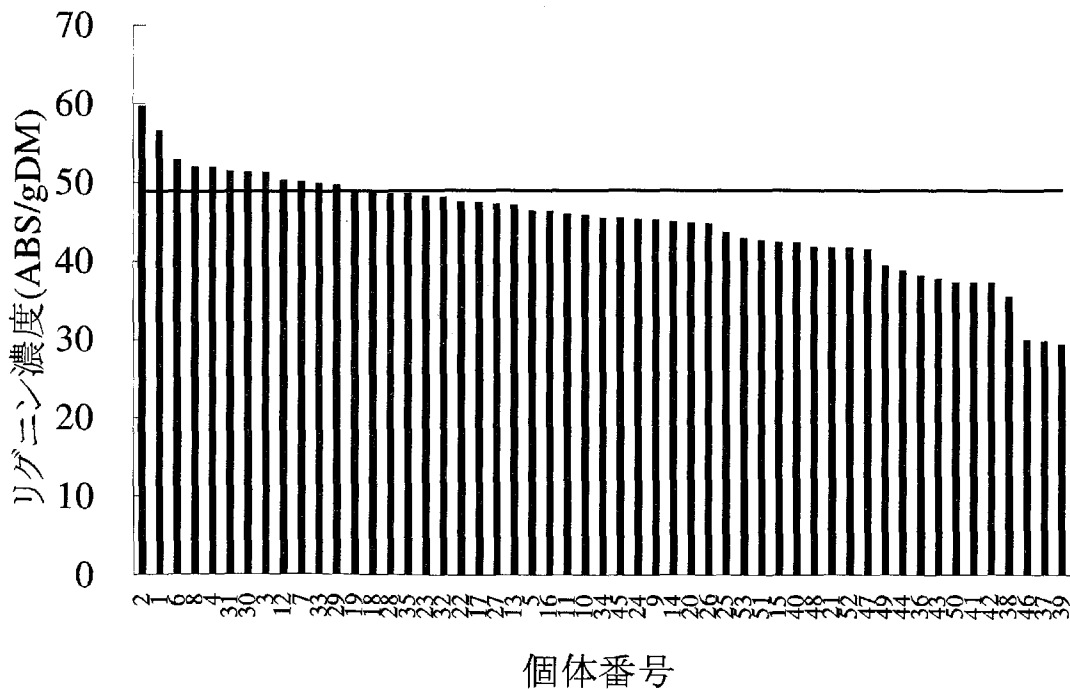


図14. 再生個体のリグニン濃度(茎葉部).

— : 対照個体の平均値

表7. 乾物消化率(茎葉部)の個体間変異.

再生個体		対照個体		
個体番号	消化率(%)	個体番号	消化率(%)	
1	44.1	1	40.3	
2	42.5	2	37.2	
3	44.3	3	34.4	min
4	43.9	4	36.6	
5	44.9	5	36.1	
6	38.5	6	42.9	
7	38.8	7	37.7	
8	42.4	8	47.9	
9	45.0	9	45.2	
10	43.9	10	43.2	
11	45.1	11	38.9	
12	38.8	12	40.5	
13	44.1	13	37.0	
14	48.8	14	44.9	
15	41.1	15	43.4	
16	44.9	16	43.4	
17	47.4	17	42.3	
18	36.7	18	41.4	min
19	42.8	19	47.2	
20	38.0	20	35.2	
21	40.8	21	42.5	
22	44.8	22	42.4	
23	44.6	23	45.4	
24	42.3	24	41.3	
25	42.7	25	49.4	
26	37.3	26	54.5	
27	37.6	27	55.6	max
28	42.3	28	43.8	
29	47.7	29	42.7	
30	42.6	30	46.6	
31	40.5	31	41.0	
32	37.9	32	45.5	
33	41.9	33	44.7	
34	41.7	34	42.1	
35	43.6	35	45.9	
36	57.8	36	44.1	max
37	52.1	37	46.9	
38	54.3			
39	45.1			
40	48.8			
41	47.5			
42	50.7			
43	50.6			
44	48.9			
45	52.9			
46	50.4			
47	51.5			
48	46.9			
49	48.8			
50	53.7			
51	42.1			
52	46.3			
53	44.4			
平均(±SD)	44.85 ±4.78	NS	42.97 ±4.71	

SD: 標準偏差.

NS: 両群の平均値間に有意差なし.

max: 各群における最大値; min: 各群における最小値.

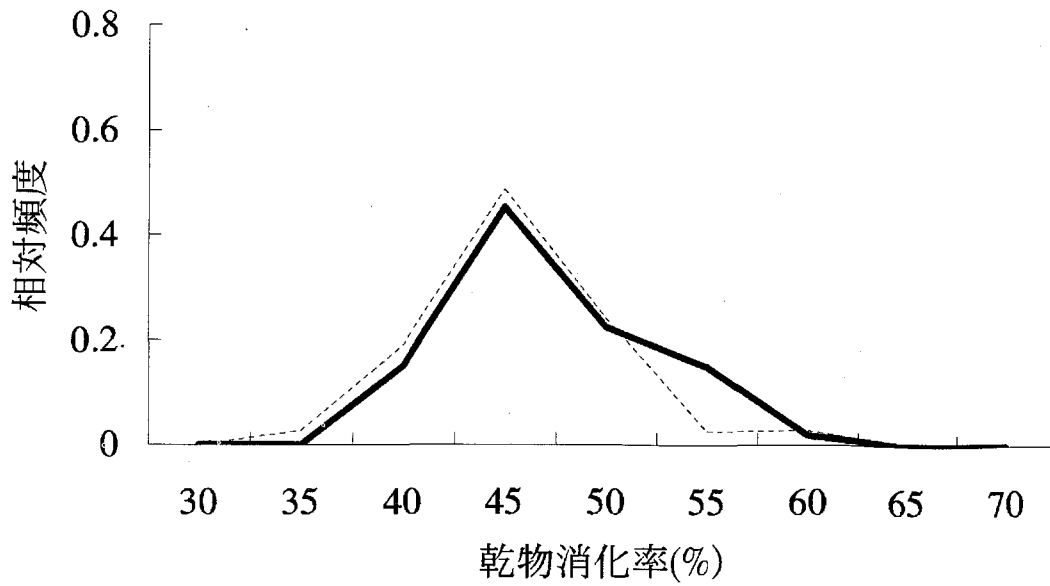


図15. 乾物消化率(茎葉部)の相対頻度
 — : 再生個体 - - - : 対照個体

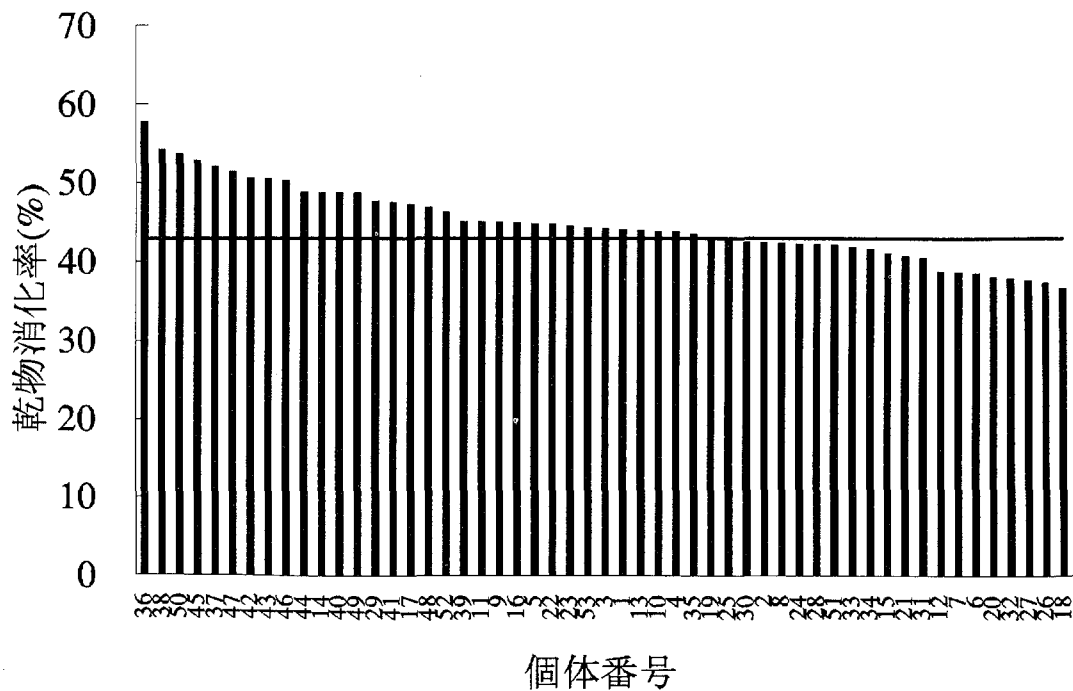


図16. 再生個体の乾物消化率(茎葉部).
 — : 対照個体の平均値

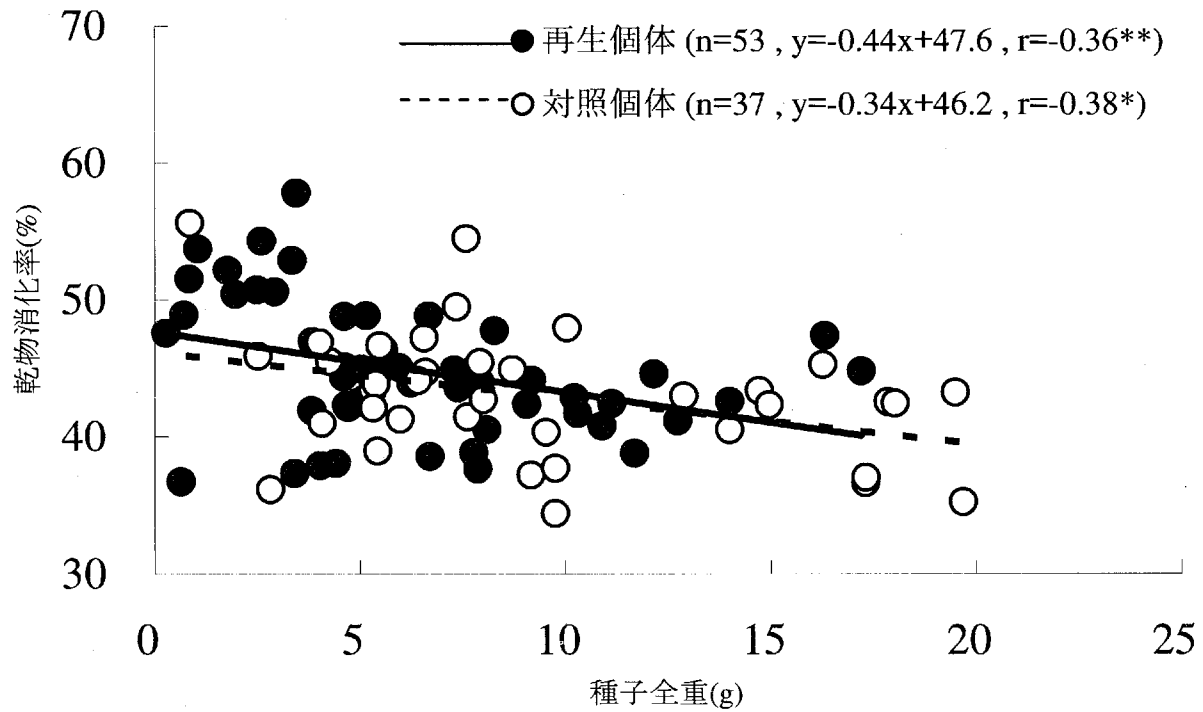


図17. 種子全重と乾物消化率との関係.

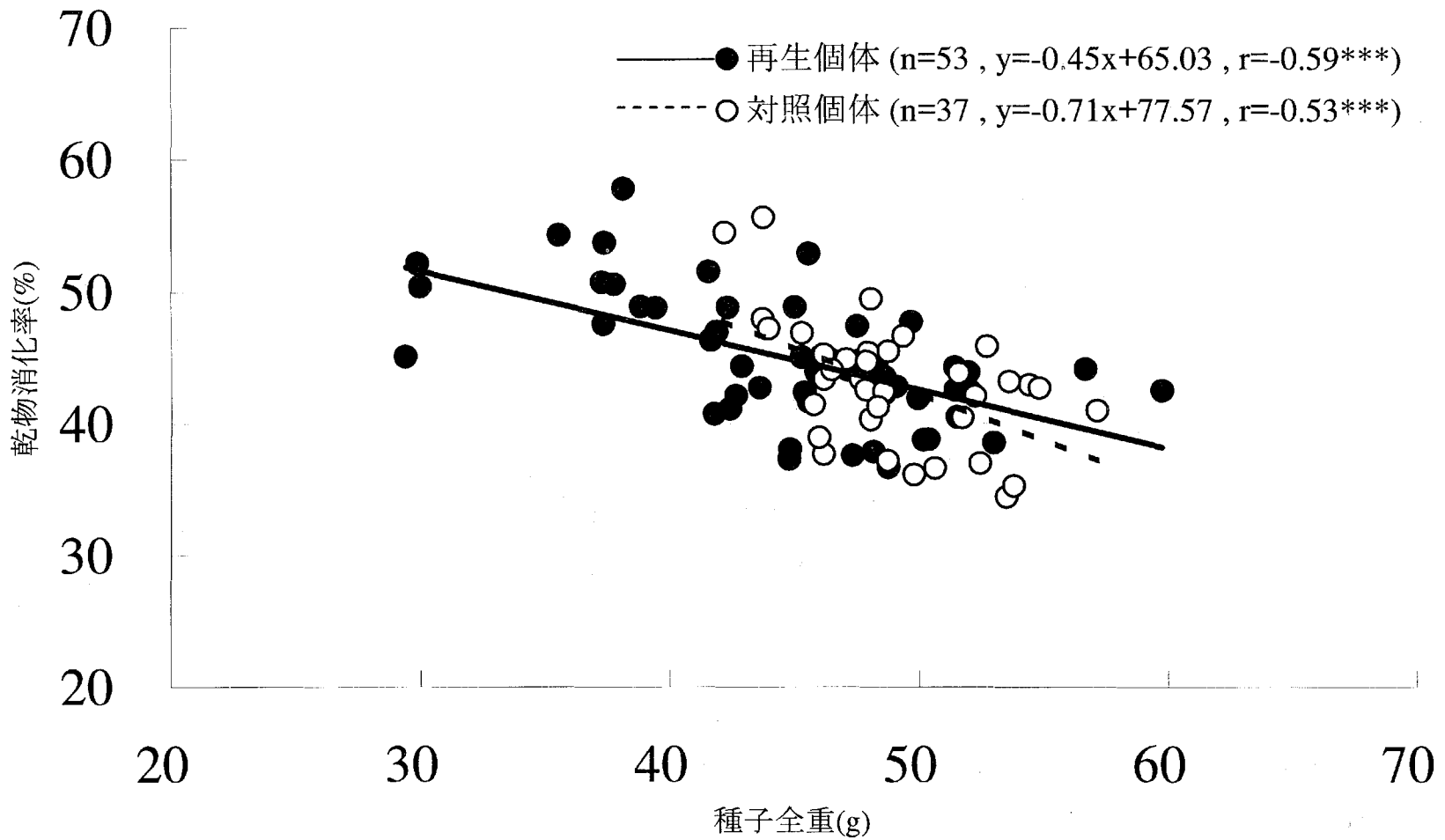


図18. 茎葉部におけるリグニン濃度と乾物消化率との関係.

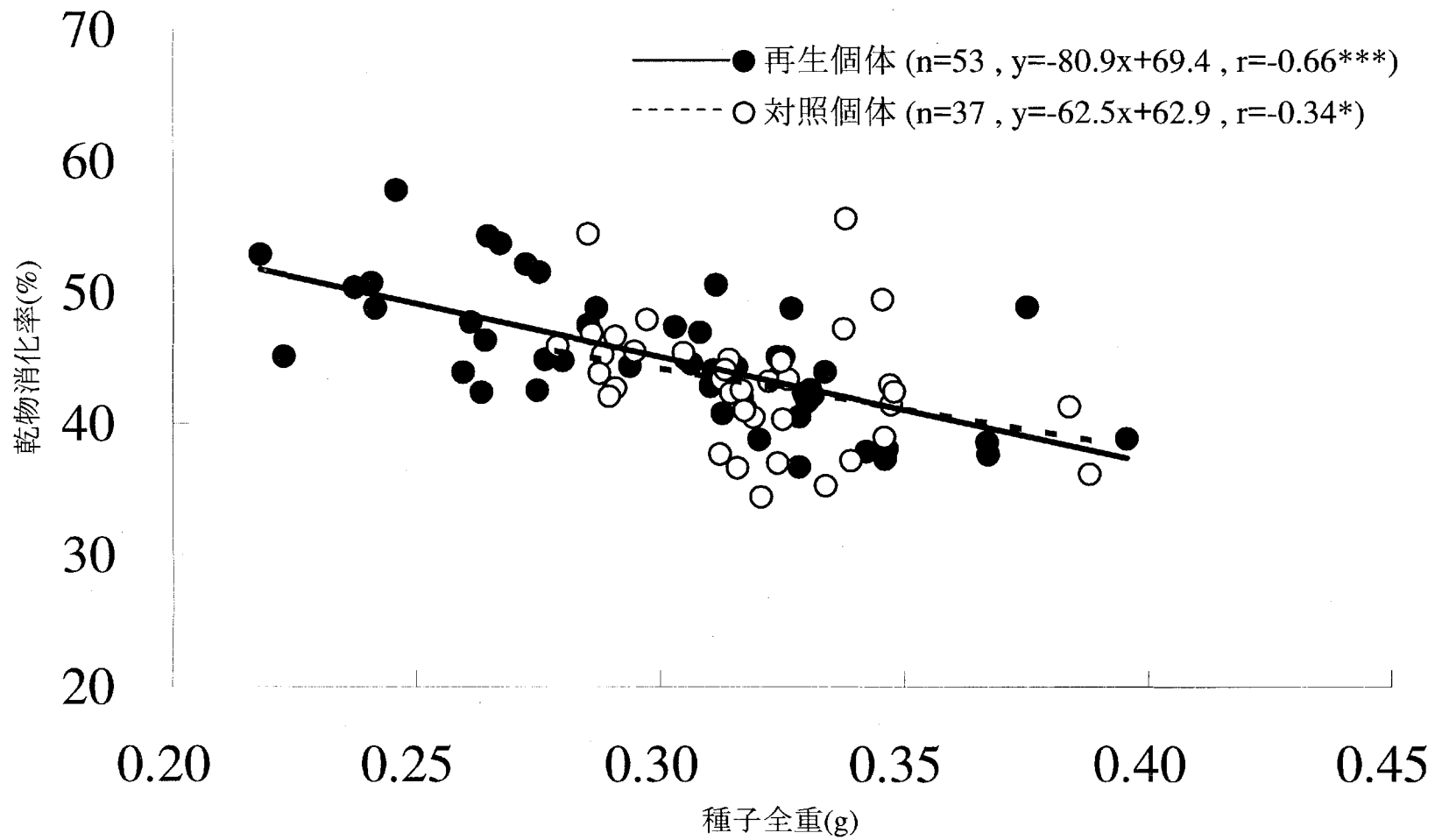


図19. 葉部割合と乾物消化率との関係.

表8. 測定値間の相関関係.

	草丈	穂数	種子重	葉部割合	乾物収量	リグニン 濃度	乾物 消化率
草丈	-	-	-	-	-	-	-
穂数	0.46 ***	-	-	-	-	-	-
種子重	0.55 ***	0.61 ***	-	-	-	-	-
葉部割合	-0.14 NS	-0.19 NS	0.19 NS	-	-	-	-
乾物収量 (茎葉部)	0.70 ***	0.77 ***	0.63 ***	-0.27 *	-	-	-
リグニン濃度 (茎葉部)	0.15 NS	0.22 NS	0.48 ***	0.43 **	0.14 NS	-	-
乾物消化率 (茎葉部)	0.02 NS	0.04 NS	-0.36 **	-0.66 ***	0.22 NS	-0.59 ***	-

表中の数字は相関係数.

NS: 相関なし ; *: 5%水準で相関あり ; **: 1%水準で相関あり ; ***: 0.1%水準で相関あり.

表9. 可消化乾物量(茎葉部)の個体間変異.

再生個体		対照個体	
個体番号	可消化乾物量 (gDM/株)	個体番号	可消化乾物量 (gDM/株)
1	4.7	1	3.6
2	2.8	2	2.9
3	5.3	3	2.2
4	5.0	4	5.1
5	5.3	5	0.9 ^{min}
6	2.3	6	4.6
7	4.2	7	4.0
8	4.3	8	5.8
9	2.5	9	7.9 ^{max}
10	4.6	10	6.6
11	5.3	11	2.5
12	3.2	12	4.4
13	2.8	13	4.9
14	5.2	14	4.3
15	4.8	15	6.7
16	5.2	16	4.2
17	6.8	17	6.0
18	0.7 ^{min}	18	2.9
19	4.4	19	3.4
20	2.1	20	5.1
21	4.3	21	6.7
22	9.6	22	5.8
23	5.5	23	3.0
24	5.0	24	2.5
25	3.4	25	3.4
26	2.6	26	5.9
27	2.5	27	1.5
28	2.0	28	2.9
29	6.8	29	3.1
30	5.5	30	3.3
31	3.8	31	2.3
32	2.9	32	3.1
33	3.6	33	3.8
34	3.8	34	2.0
35	3.3	35	2.0
36	10.0 ^{max}	36	2.8
37	4.7	37	2.5
38	7.6		
39	2.8		
40	6.1		
41	1.1		
42	4.3		
43	4.0		
44	2.2		
45	5.0		
46	4.9		
47	2.3		
48	3.3		
49	3.9		
50	2.2		
51	2.4		
52	2.7		
53	2.6		
平均(±SD)	4.11 ±1.85	NS	3.91 ±1.67

SD: 標準偏差.

NS: 両群の平均値間に有意差なし.

^{max}: 各群における最大値; ^{min}: 各群における最小値.

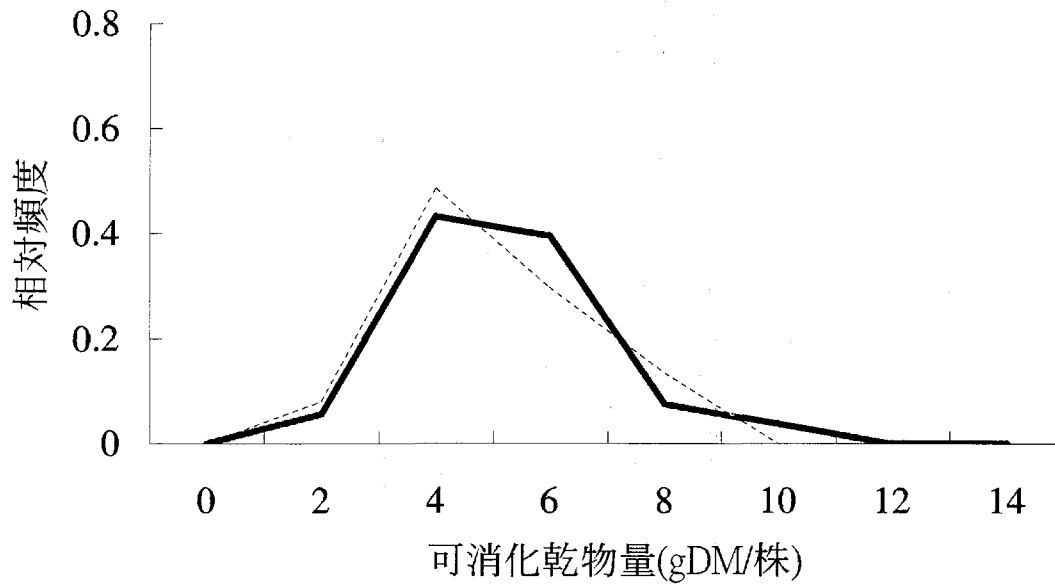


図20. 可消化乾物量の相対頻度
 — : 再生個体 - - - : 対照個体

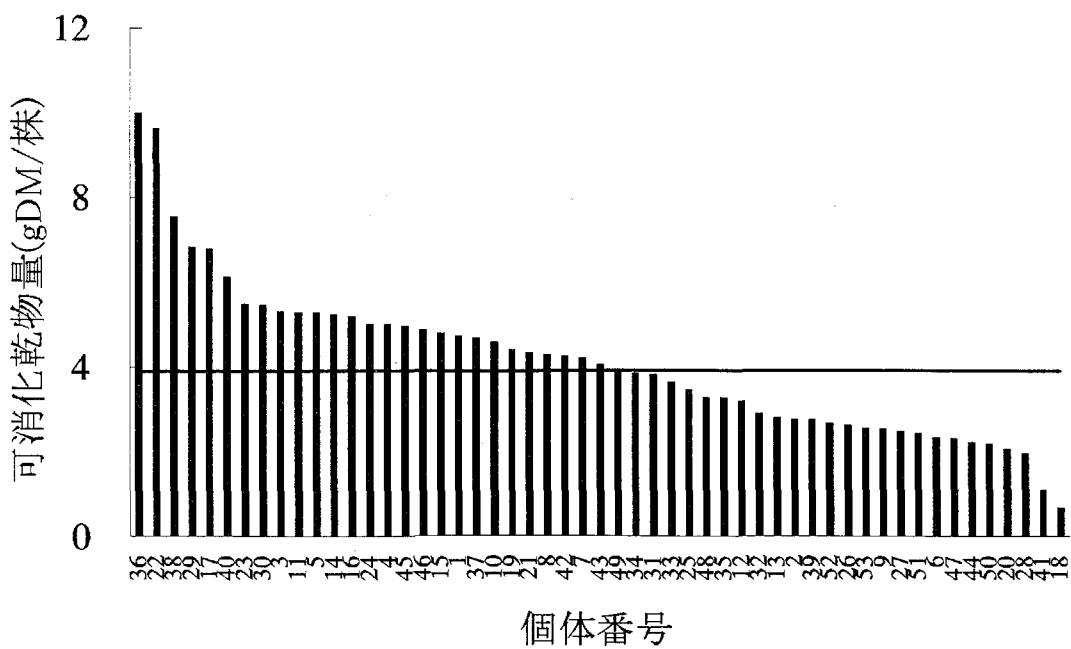


図21. 再生個体の可消化乾物量(茎葉部).
 — : 対照個体の平均値

表10. 自殖後代の検定に供する再生個体3系統の諸性状.

	草丈		穂数		種子全重		葉部割合		乾物収量 (茎葉部)		リグニン濃度 (茎葉部)		乾物消化率 (茎葉部)		可消化乾物量 (茎葉部)	
	cm	順位	個	順位	g	順位	%	順位	gDM	順位	ABS	順位	%	順位	gDM	順位
再生個体 17	76	3	21	7	16	2	30	32	14	3	48	20	47	16	6.8	5
22	77	2	31	1	17	1	28	37	22	1	48	19	45	24	9.6	2
30	74	5	14	23	14	3	33	10	13	6	51	7	43	35	5.5	8
対照個体	67	-	10	-	9	-	32	-	9	-	49	-	43	-	3.9	-

順位: 再生個体53個体における降順位.

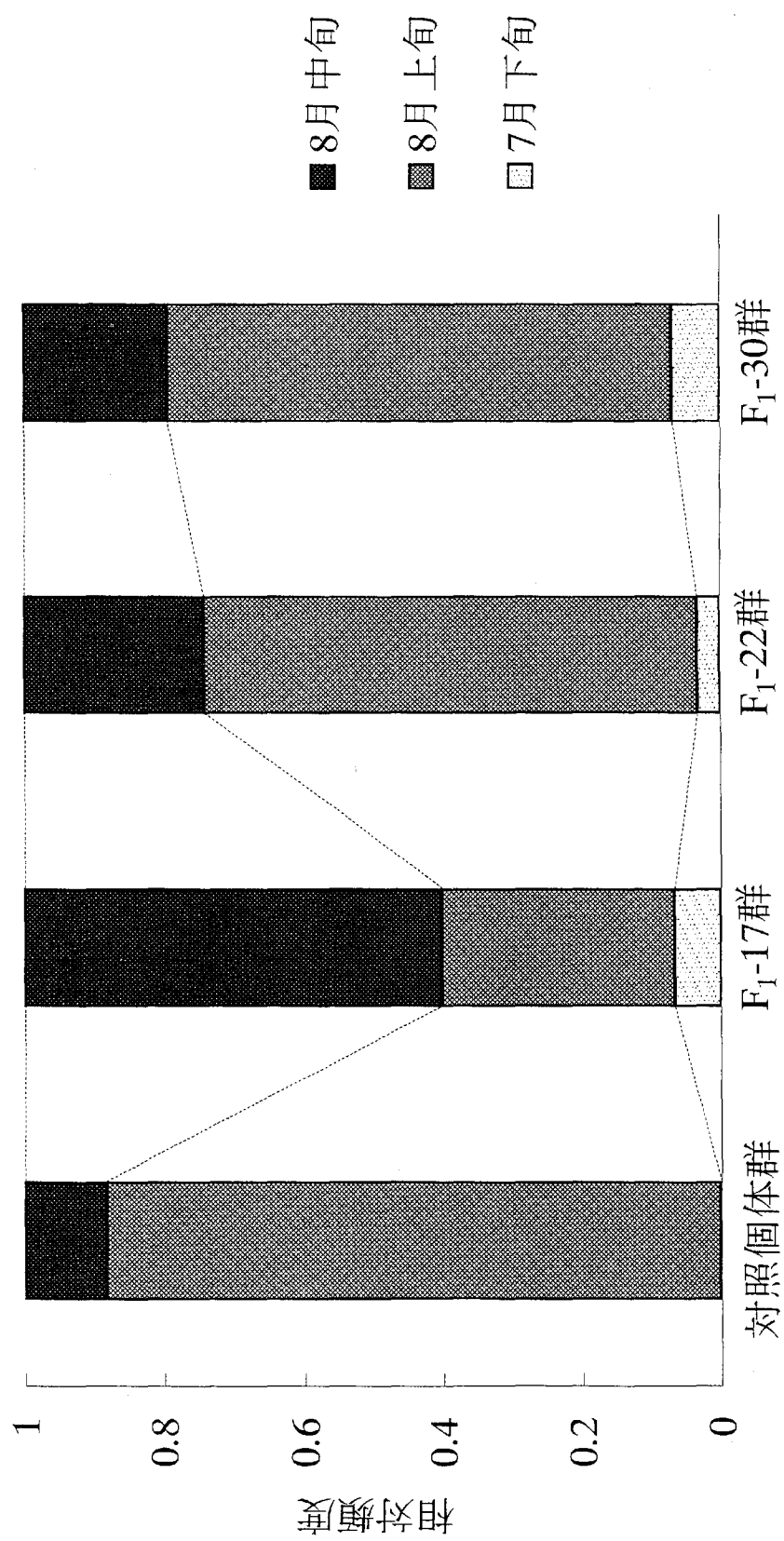


图22. 出穗时期.

表11. 草丈における選抜系統(F₁)の個体間変異.

F ₁ -17		F ₁ -22		F ₁ -30		対照個体	
No.		No.		No.		No.	
1	101.0	1	95.4	1	88.0	1	87.0 ^{min}
2	84.8	2	90.4	2	95.2	2	95.4
3	97.4	3	88.0	3	93.8	3	94.6
4	102.2	4	104.0	4	101.8	4	89.2
5	102.4	5	95.0	5	94.1	5	100.3 ^{max}
6	102.0	6	94.0	6	88.0	6	97.2
7	85.8	7	100.8	7	91.0	7	96.8
8	86.7	8	90.2	8	97.0	8	95.2
9	98.8	9	107.6 ^{max}	9	86.8	9	97.0
10	93.4	10	101.4	10	91.0	10	96.9
11	82.4	11	101.8	11	90.0	11	92.4
12	101.3	12	98.6	12	100.0	12	94.3
13	85.0	13	87.8	13	95.2	13	97.1
14	75.5 ^{min}	14	101.8	14	95.0	14	88.0
15	99.0	15	102.4	15	89.6	15	91.3
16	98.4	16	94.8	16	87.4	16	89.0
17	104.8	17	91.6	17	87.2	17	95.3
18	95.4	18	78.0 ^{min}	18	85.4		
19	93.2	19	98.8	19	81.0 ^{min}		
20	87.8	20	91.7	20	104.6 ^{max}		
21	104.8	21	89.6	21	98.6		
22	94.4	22	90.2	22	91.0		
23	100.2	23	103.0	23	94.0		
24	103.2	24	102.2	24	96.8		
25	102.6	25	96.2	25	94.2		
26	93.0	26	92.2	26	85.5		
27	105.8	27	92.2	27	84.6		
28	109.2 ^{max}	28	97.4	28	93.8		
29	91.2	29	82.7	29	104.4		
30	95.0	30	97.8				
		31	84.6				
平均(±SD)	95.89 ±8.07	94.91 ±6.84	92.59 ±5.92	93.94 ±3.82			
対照個体との差	NS	NS	NS	NS			

max: 各群における最大値; min: 各群における最小値.
SD: 標準偏差; NS: 有意差なし.

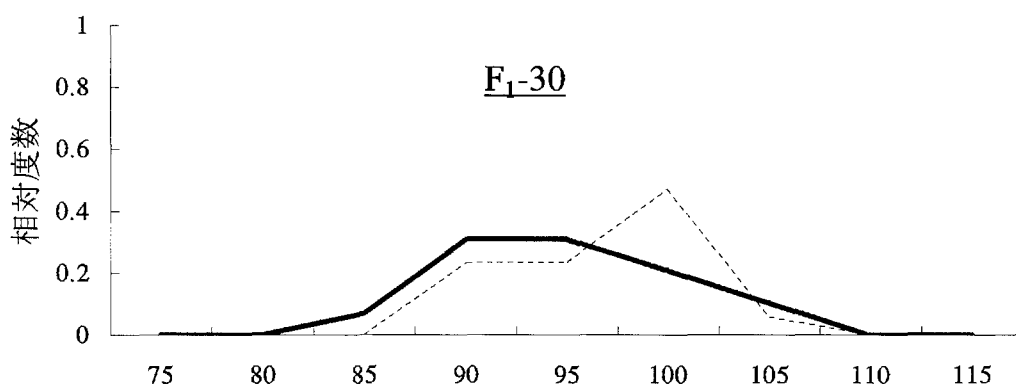
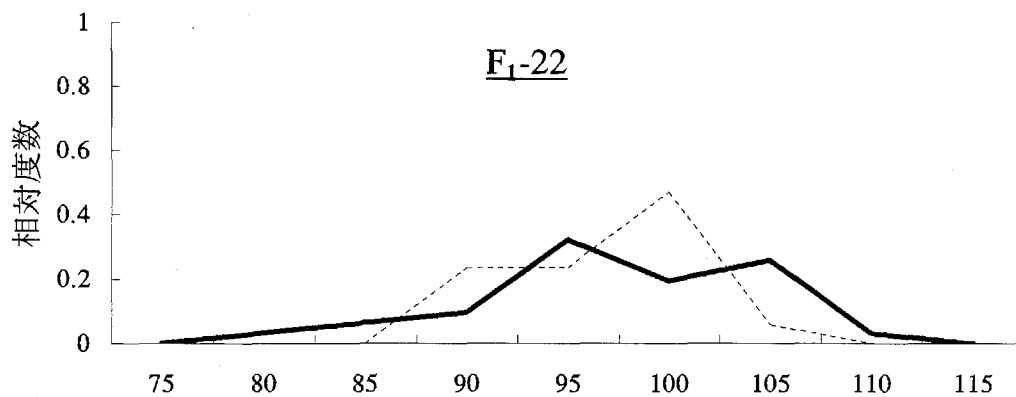
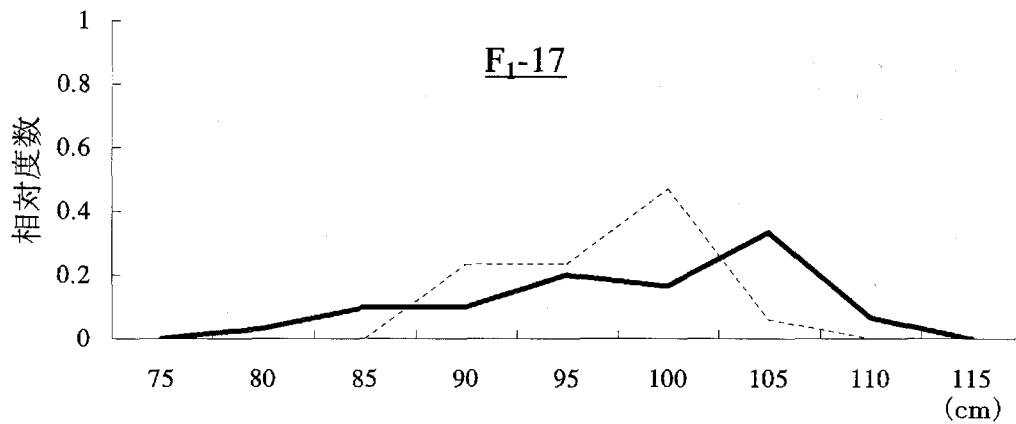


図23. 草丈の相対頻度

— F₁群 ; - - - - 対照個体

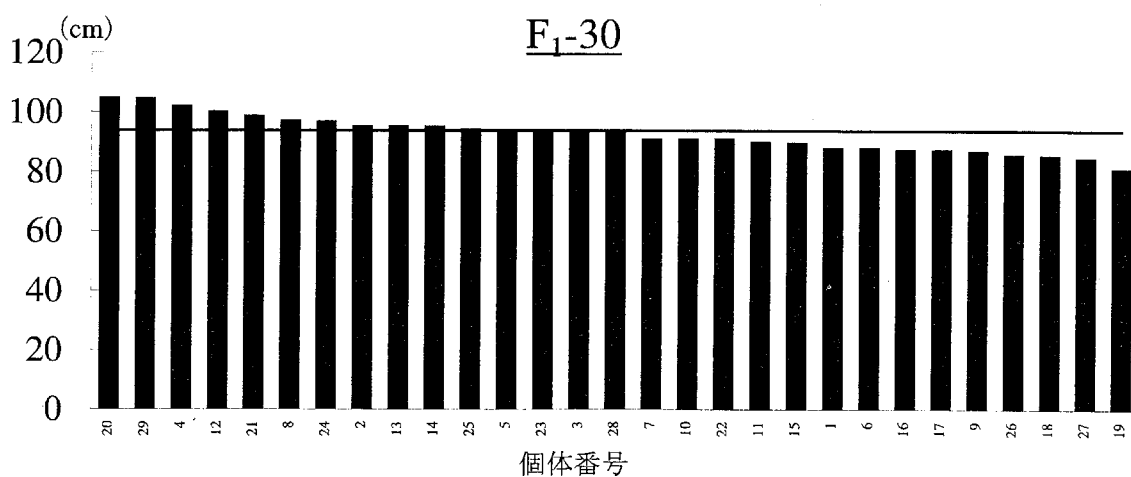
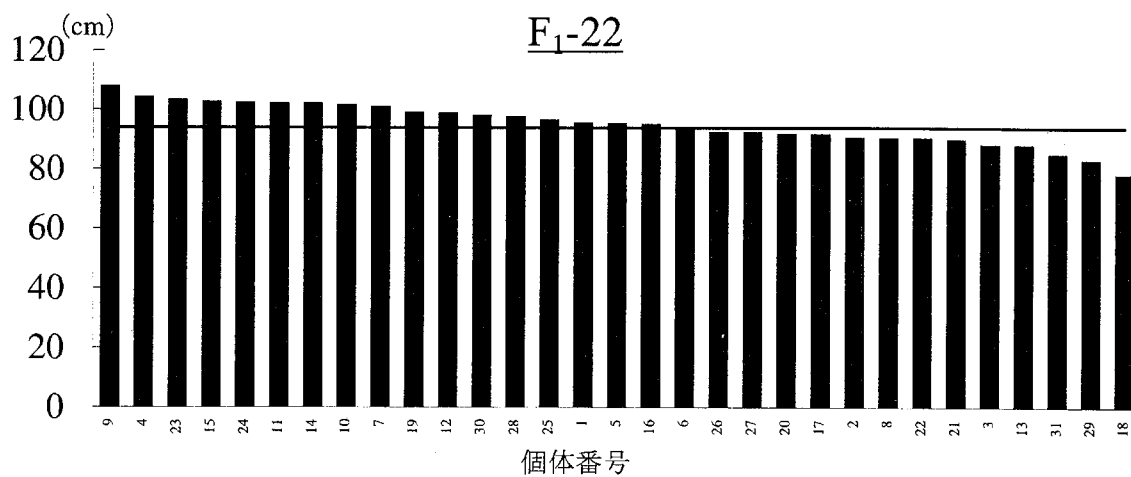
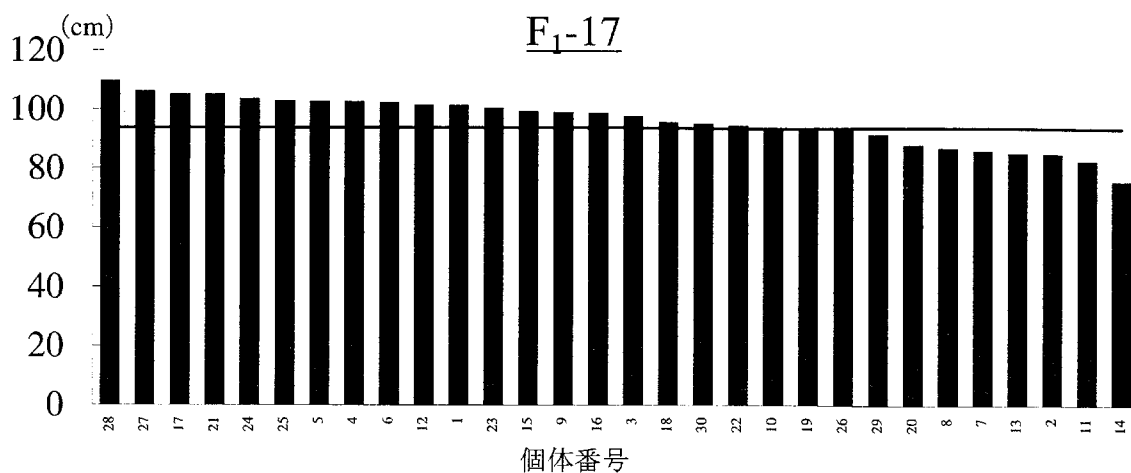


図24. F₁群個体の草丈

— : 対照個体の平均値

表12. 穂数における選抜系統(F₁)の個体間変異.

F ₁ -17			F ₁ -22			F ₁ -30			対照個体			
No.			No.			No.			No.			
	1	31		1	39		1	30		1	22	
	2	31		2	43		2	25		2	29	
	3	29		3	33		3	23		3	17 ^{min}	
	4	33		4	23		4	26		4	26	
	5	17 ^{min}		5	36		5	29		5	25	
	6	34		6	38		6	29		6	28	
	7	35		7	25		7	26		7	32	
	8	25		8	36		8	25		8	31	
	9	28		9	35		9	30		9	32	
	10	25		10	31		10	26		10	24	
	11	26		11	36		11	29		11	26	
	12	24		12	30		12	23		12	29	
	13	32		13	43 ^{max}		13	24		13	39 ^{max}	
	14	35		14	32		14	23		14	29	
	15	40		15	28		15	32 ^{max}		15	30	
	16	36		16	39		16	26		16	36	
	17	31		17	32		17	29		17	24	
	18	34		18	12 ^{min}		18	28				
	19	34		19	31		19	28				
	20	36		20	30		20	29				
	21	24		21	36		21	23				
	22	30		22	38		22	19 ^{min}				
	23	32		23	35		23	27				
	24	28		24	28		24	25				
	25	23		25	39		25	22				
	26	29		26	38		26	25				
	27	24		27	31		27	28				
	28	32		28	35		28	30				
	29	26		29	15		29	27				
	30	41 ^{max}		30	29							
				31	16							
平均(±SD)	30.2 ±5.36				32.0 ±7.56						28.2 ±5.23	
対照個体との差	NS				NS						—	

^{max}: 各群における最大値; ^{min}: 各群における最小値.

SD: 標準偏差; NS: 有意差なし.

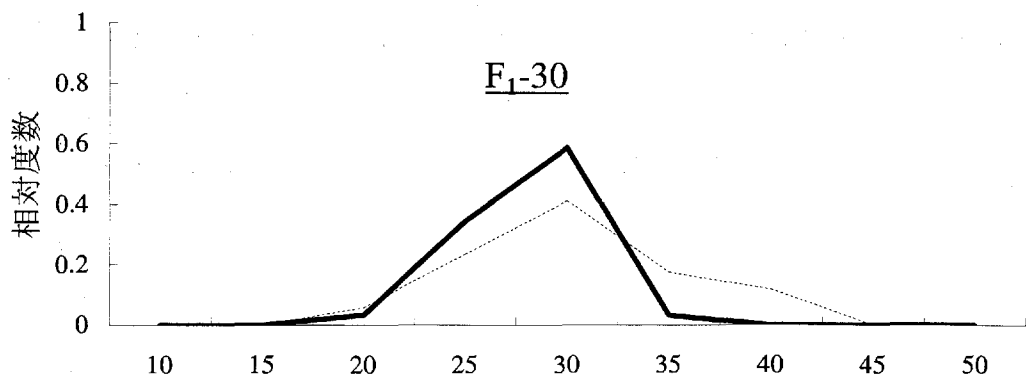
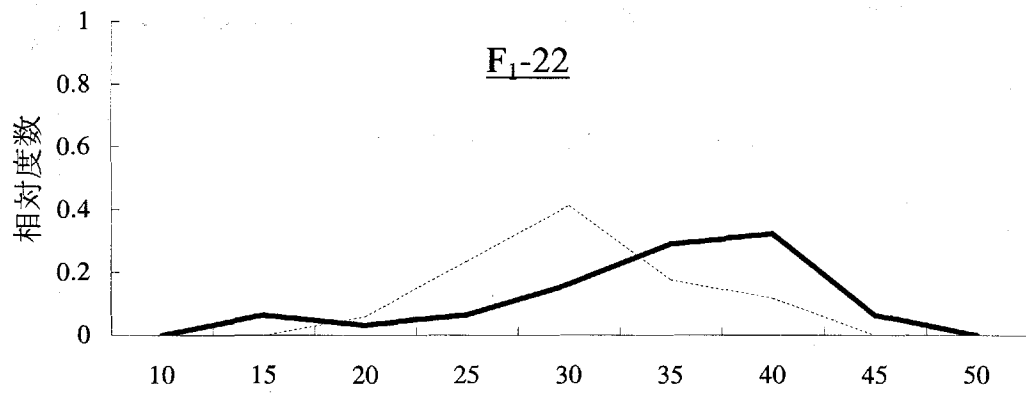
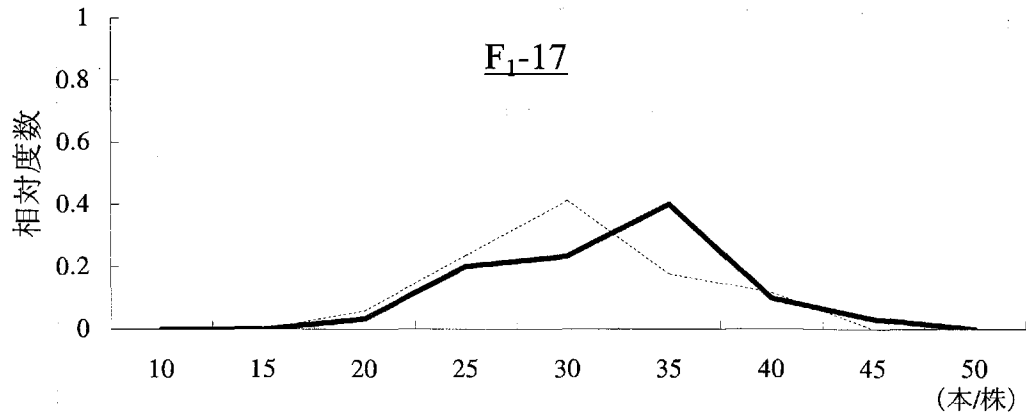


図25. 穂数の相対頻度

— F1群 ; 对照个体

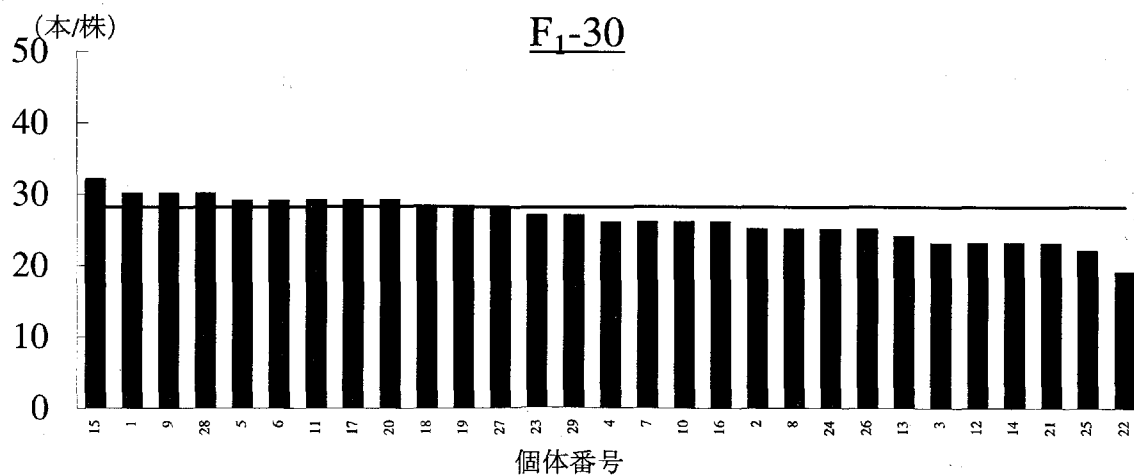
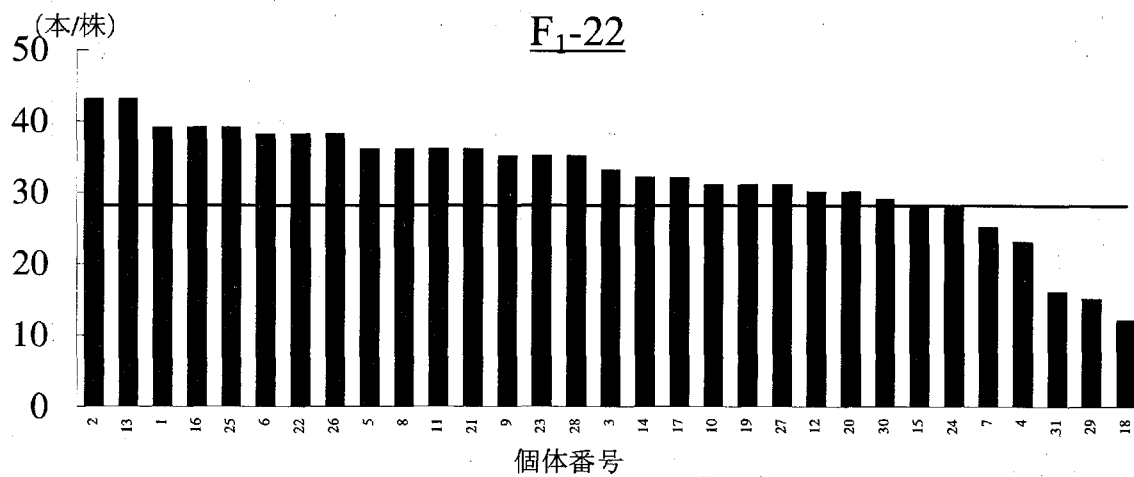
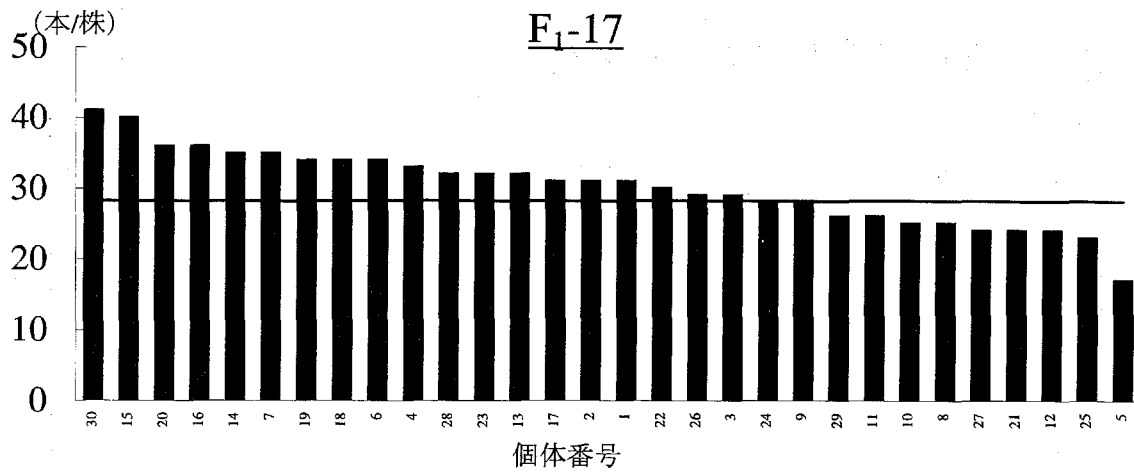


図26. F₁群個体の穂数

— : 対照個体の平均値

表13. 種子全重における選抜系統(F₁)の個体間変異.

F ₁ -17			F ₁ -22			F ₁ -30			対照個体		
No.	1	20.5	No.	1	8.2 ^{min}	No.	1	7.7	No.	1	16.7
	2	11.8		2	8.3		2	12.4		2	12.9 ^{min}
	3	13.3		3	15.7		3	17.6		3	16.0
	4	8.9 ^{min}		4	20.0		4	17.9		4	19.1
	5	17.2		5	9.7		5	11.8		5	17.9
	6	12.5		6	11.1		6	15.1		6	16.4
	7	11.5		7	9.8		7	16.8		7	15.6
	8	15.3		8	9.0		8	13.3		8	15.5
	9	17.4		9	17.1		9	7.7 ^{min}		9	16.3
	10	13.5		10	9.4		10	11.3		10	19.6
	11	15.1		11	16.3		11	12.3		11	19.6
	12	17.4		12	18.4		12	15.3		12	20.3 ^{max}
	13	12.6		13	9.6		13	15.9		13	15.6
	14	10.5		14	17.8		14	13.7		14	20.2
	15	12.2		15	22.1		15	13.1		15	18.9
	16	13.0		16	15.0		16	13.5		16	16.5
	17	15.6		17	13.6		17	8.8		17	17.5
	18	12.6		18	13.6		18	13.4			
	19	10.8		19	9.9		19	12.7			
	20	16.2		20	20.8		20	18.0			
	21	22.3 ^{max}		21	9.1		21	20.1 ^{max}			
	22	20.5		22	16.2		22	16.6			
	23	21.2		23	20.8		23	15.1			
	24	15.9		24	22.2 ^{max}		24	18.2			
	25	17.2		25	11.6		25	16.1			
	26	14.7		26	14.9		26	12.3			
	27	21.1		27	19.8		27	10.7			
	28	14.5		28	9.9		28	15.6			
	29	19.6		29	15.1		29	19.4			
	30	21.1		30	20.2						
				31	6.8						
平均(±SD)		15.52 ±3.69			14.26 ±4.76			14.21 ±3.25			17.34 ±2.03
対照個体との差		NS			*			**			—

^{max}: 各群における最大値; ^{min}: 各群における最小値.

SD: 標準偏差; NS: 有意差なし; *: 5%水準で有意差あり; **: 1%水準で有意差あり.

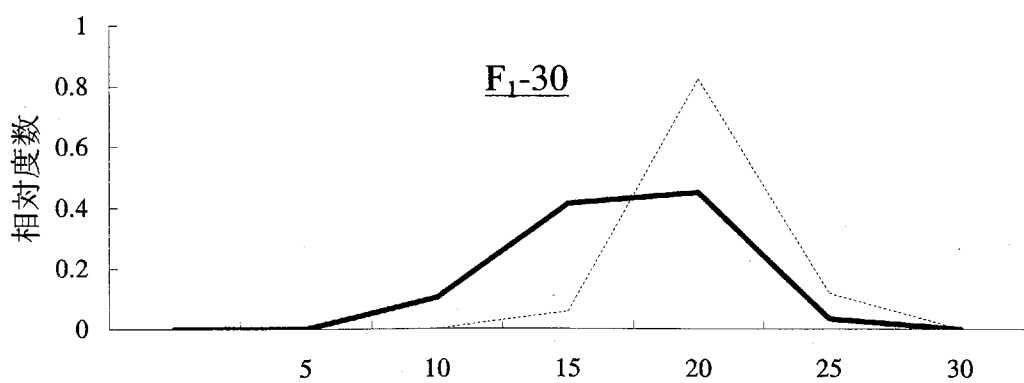
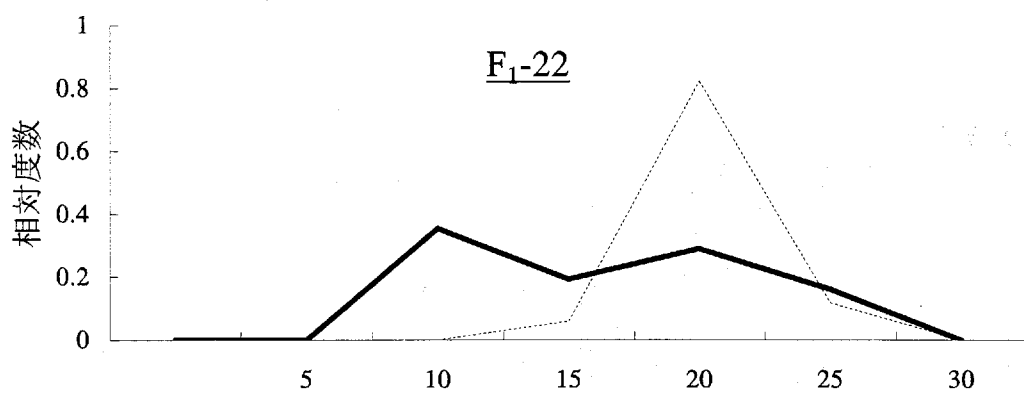
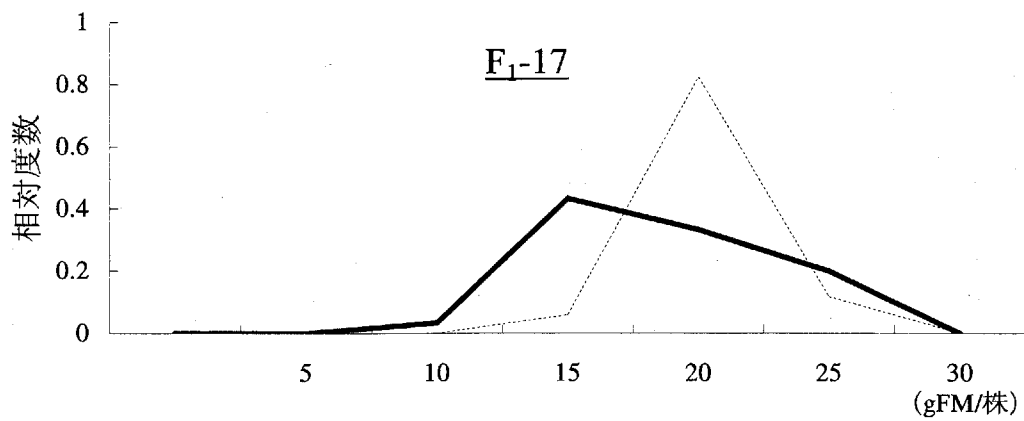


図27. 種子全重の相対頻度

— F₁群 ; 対照個体

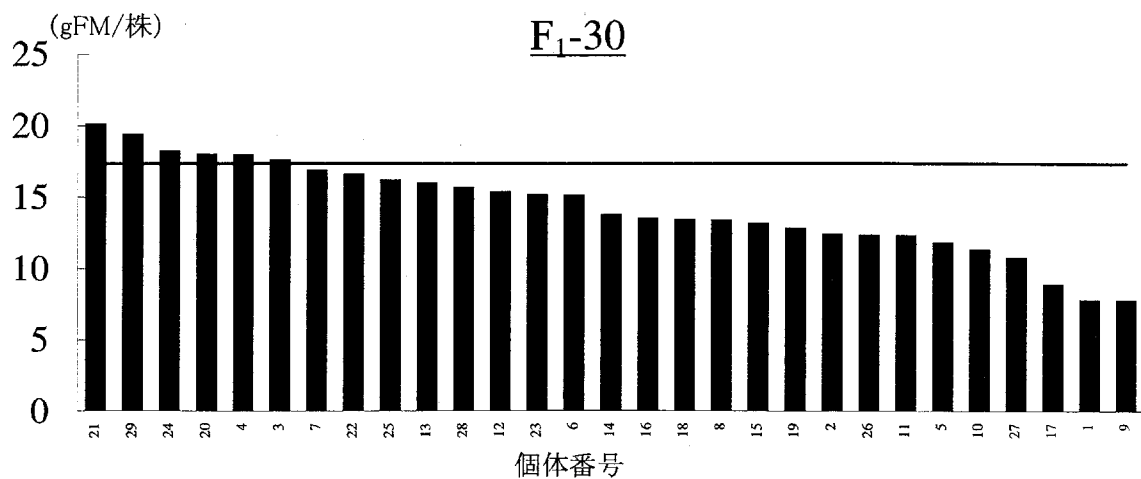
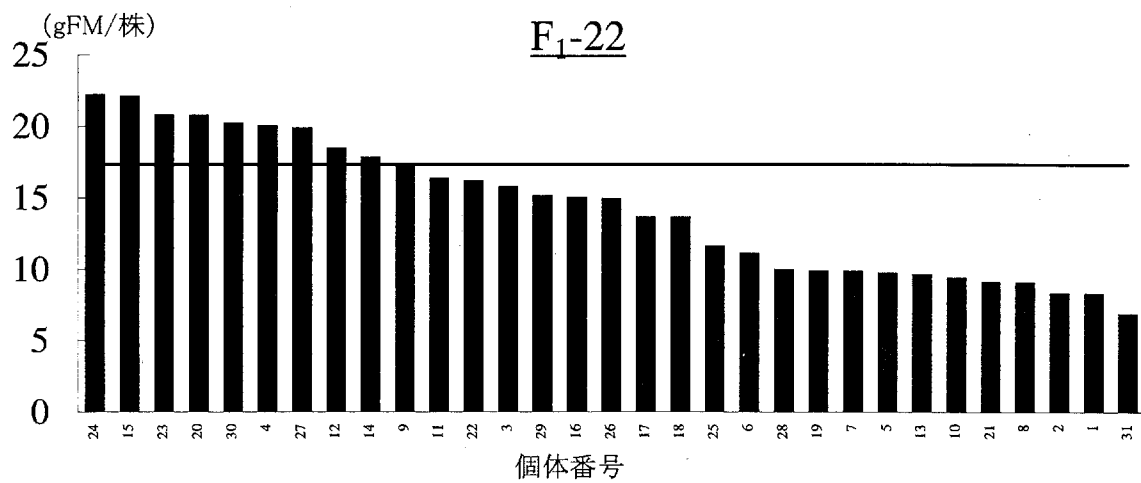
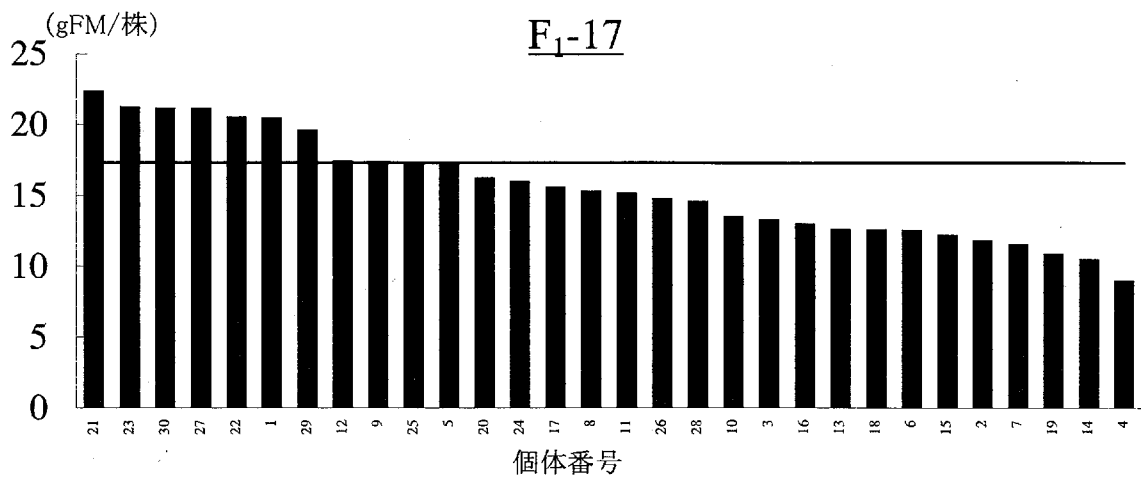


図28. F₁群個体の種子全重

— : 対照個体の平均値

表14. 葉部割合における選抜系統(F₁)の個体間変異.

F ₁ -17			F ₁ -22			F ₁ -30			対照個体		
No.			No.			No.			No.		
	1	0.34		1	0.29 ^{min}		1	0.36		1	0.38
	2	0.38		2	0.33		2	0.34		2	0.38
	3	0.37		3	0.34		3	0.34		3	0.37
	4	0.35		4	0.33		4	0.35		4	0.37
	5	0.34		5	0.32		5	0.35		5	0.38
	6	0.35		6	0.38		6	0.36		6	0.36
	7	0.37		7	0.31		7	0.34		7	0.35
	8	0.37		8	0.35		8	0.33		8	0.38
	9	0.38		9	0.37		9	0.36		9	0.40 ^{max}
	10	0.39		10	0.35		10	0.37		10	0.37
	11	0.38		11	0.37		11	0.36		11	0.37
	12	0.35		12	0.36		12	0.36		12	0.36
	13	0.36		13	0.34		13	0.33		13	0.37
	14	0.38		14	0.37		14	0.36		14	0.38
	15	0.35		15	0.37		15	0.34		15	0.38
	16	0.35		16	0.35		16	0.36		16	0.38
	17	0.38		17	0.35		17	0.36		17	0.34 ^{min}
	18	0.36		18	0.33		18	0.36			
	19	0.37		19	0.35		19	0.36			
	20	0.37		20	0.35		20	0.37			
	21	0.38		21	0.33		21	0.34			
	22	0.39 ^{max}		22	0.38 ^{max}		22	0.32 ^{min}			
	23	0.37		23	0.35		23	0.36			
	24	0.36		24	0.36		24	0.34			
	25	0.34		25	0.32		25	0.35			
	26	0.35		26	0.36		26	0.36			
	27	0.36		27	0.32		27	0.38 ^{max}			
	28	0.33 ^{min}		28	0.33 ^{min}		28	0.35			
	29	0.34		29	0.33		29	0.35			
	30	0.34		30	0.36						
				31	0.32						
平均(±SD)	0.36 ±0.02		0.34 ±0.02		0.35 ±0.01		0.37 ±0.01				
対照個体との差	NS		**		**						

^{max}: 各群における最大値; ^{min}: 各群における最小値.

SD: 標準偏差; NS: 有意差なし; **: 1%水準で有意差あり.

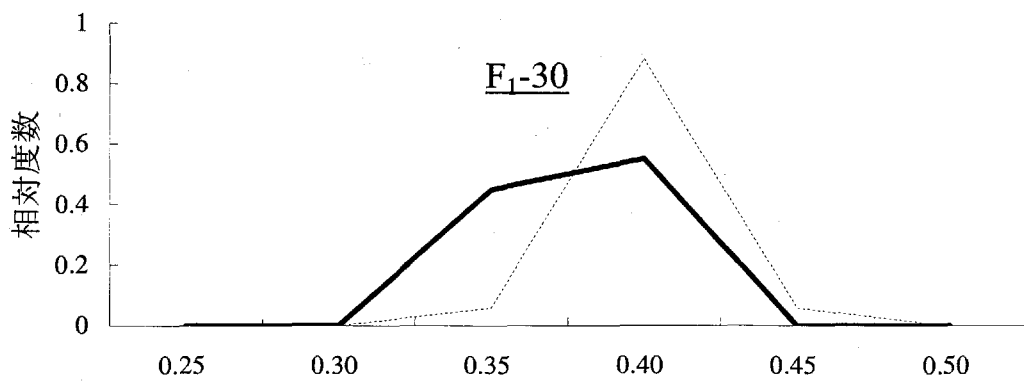
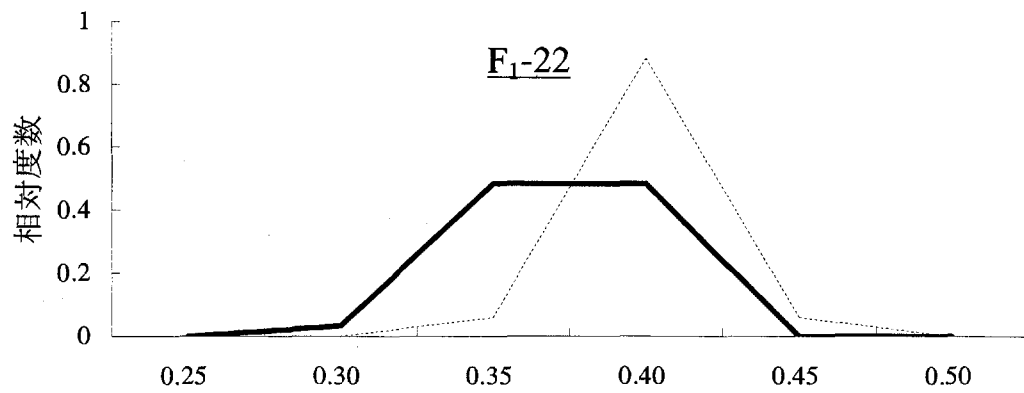
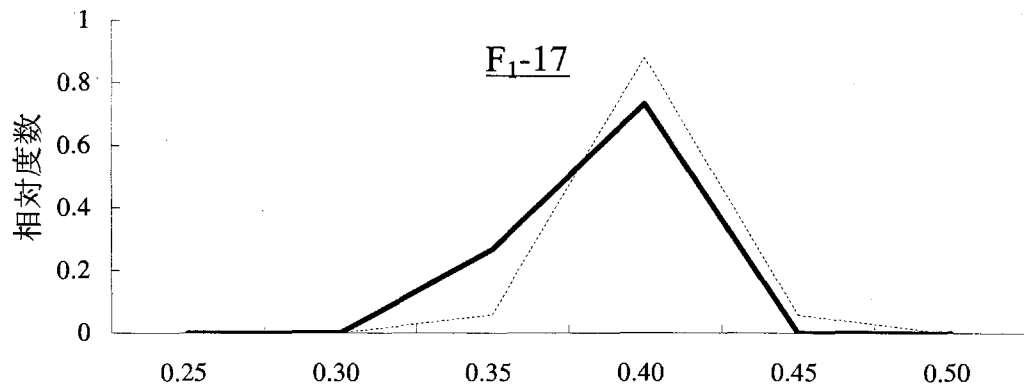


図29. 葉部割合の相対頻度

—— F₁群 ; 対照個体

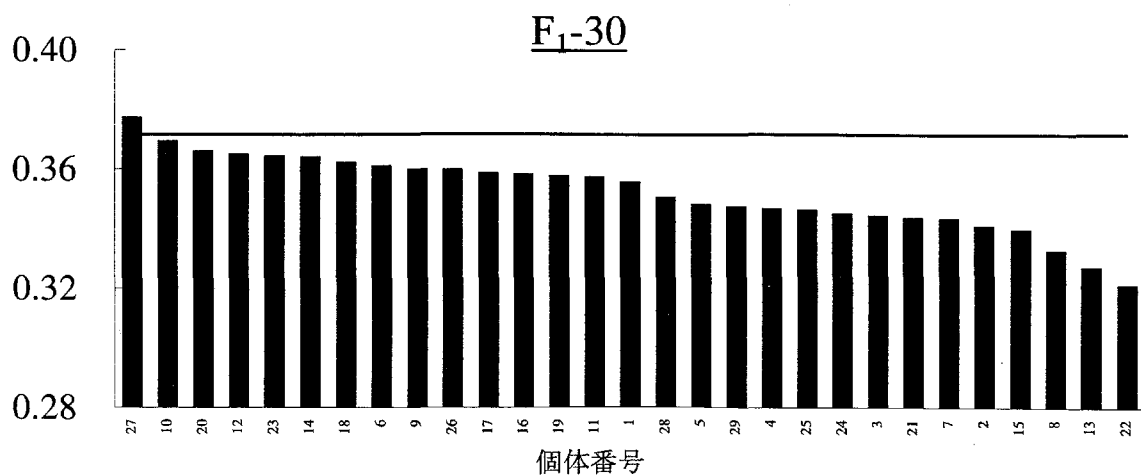
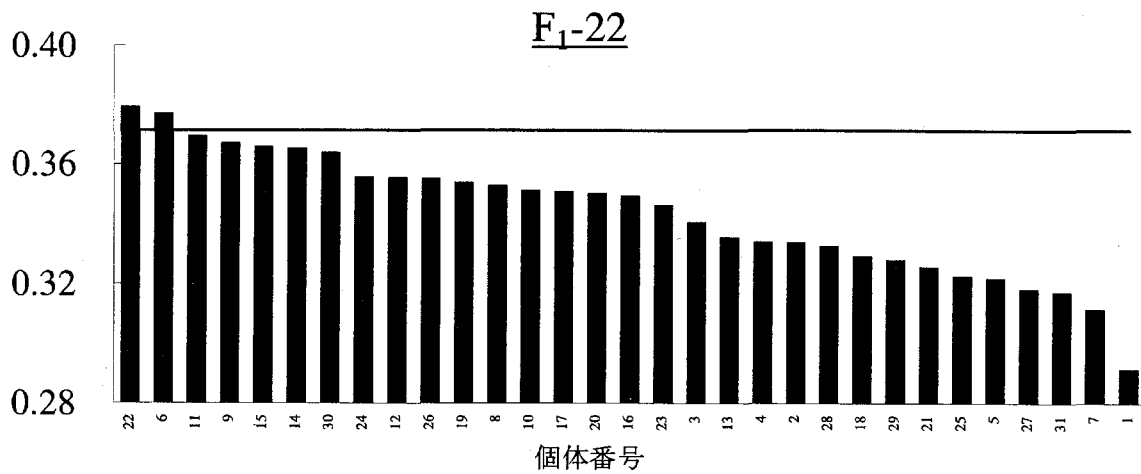
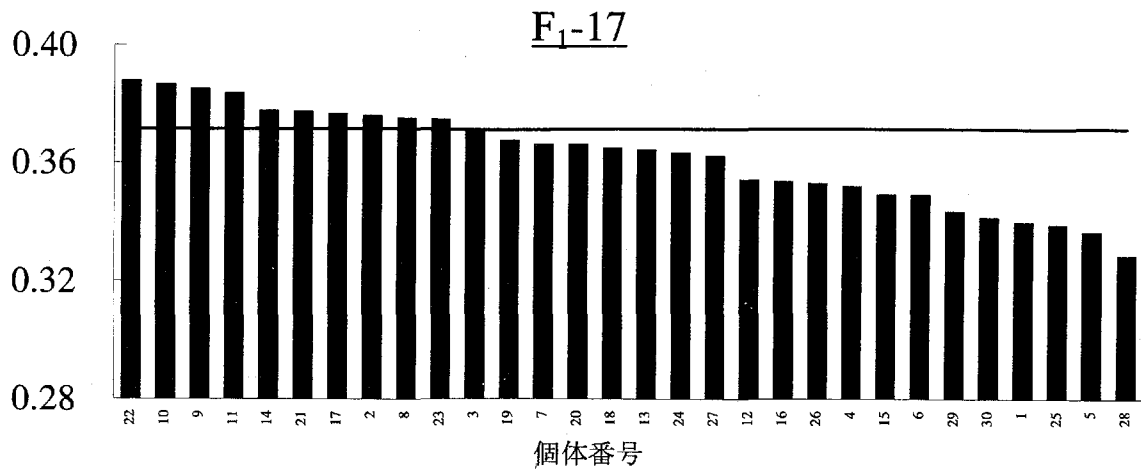


図30. F₁群個体の葉部割合

— : 対照個体の平均値

表15. 茎葉部の乾物収量における選抜系統(F₁)の個体間変異.

F ₁ -17			F ₁ -22			F ₁ -30			対照個体		
No.			No.			No.			No.		
	1	25.0		1	32.1		1	26.2		1	27.1
	2	22.0		2	33.4		2	24.9		2	23.1
	3	25.3		3	21.4		3	23.9		3	24.3
	4	33.7 ^{max}		4	23.1		4	24.0		4	23.3
	5	17.9 ^{min}		5	31.3		5	27.4		5	20.6
	6	24.8		6	34.2		6	26.2		6	26.0 ^{min}
	7	27.4		7	25.0		7	23.5		7	24.1
	8	27.0		8	29.0		8	19.3 ^{min}		8	28.5 ^{max}
	9	27.7		9	28.7		9	29.2		9	26.2
	10	26.4		10	31.2		10	26.9		10	21.1
	11	22.7		11	23.9		11	25.2		11	21.2
	12	22.4		12	21.8		12	22.3		12	22.9
	13	25.1		13	27.1		13	27.5		13	25.8
	14	24.1		14	25.4		14	24.2		14	25.4
	15	31.7		15	25.3		15	29.8 ^{max}		15	24.1
	16	33.5		16	30.1		16	27.8		16	28.2
	17	30.3		17	33.4		17	26.9		17	26.0
	18	31.3		18	15.0 ^{min}		18	28.4			
	19	32.9		19	36.0 ^{max}		19	23.1			
	20	27.7		20	26.2		20	23.9			
	21	23.5		21	34.8		21	26.3			
	22	26.2		22	28.4		22	19.4			
	23	26.6		23	26.7		23	24.9			
	24	29.8		24	26.1		24	25.1			
	25	20.1		25	32.8		25	24.3			
	26	28.1		26	31.3		26	25.5			
	27	25.9		27	29.4		27	28.2			
	28	33.2		28	32.3		28	28.8			
	29	26.6		29	17.4		29	29.2			
	30	26.7		30	27.5						
				31	32.4						
平均(±SD)		26.86 ±3.96			28.15 ±5.04			25.6 ±2.66			24.58 ±2.37
対照個体との差		*			**			NS			—

^{max}: 各群における最大値; ^{min}: 各群における最小値.

SD: 標準偏差; NS: 有意差なし; *: 5%水準で有意差あり; **: 1%水準で有意差あり.

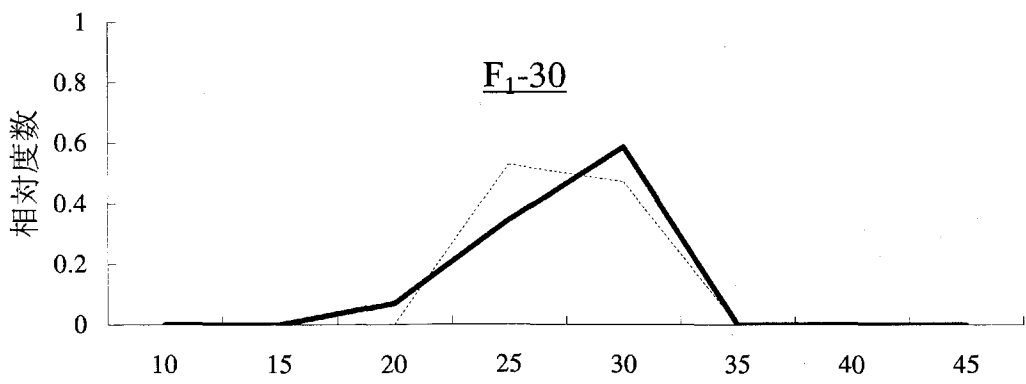
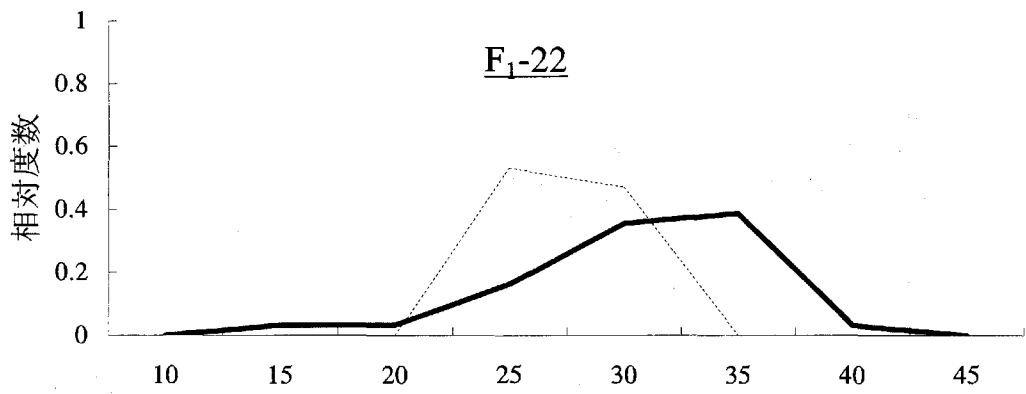
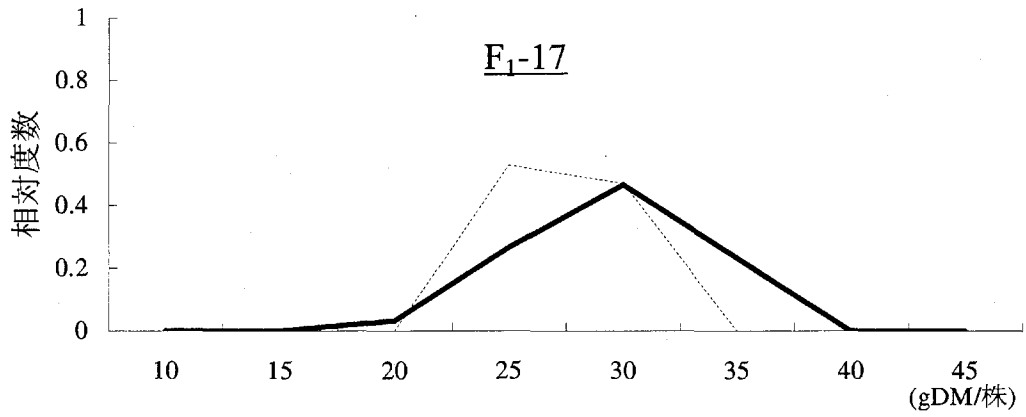


図31. 乾物収量の相対頻度

— F₁群 ; 対照個体

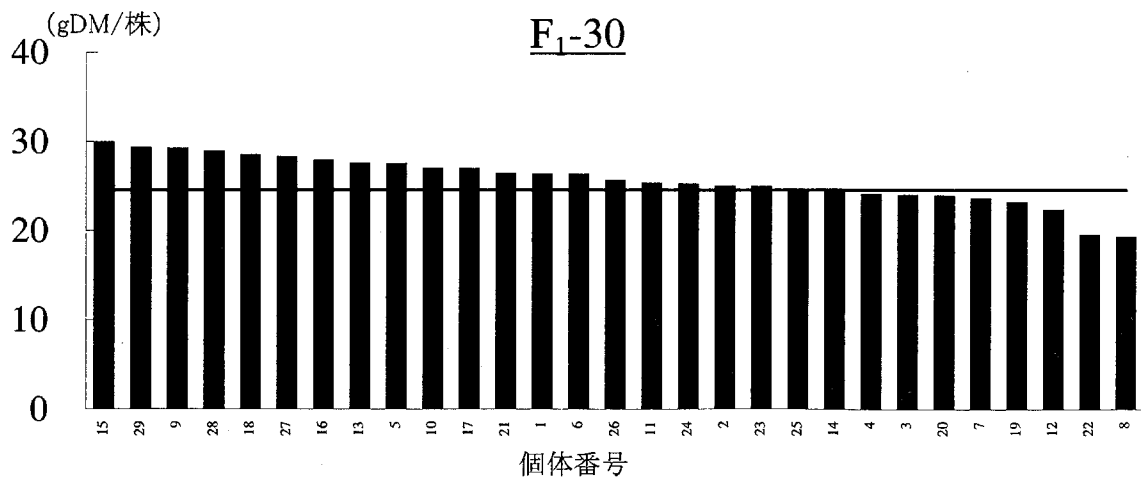
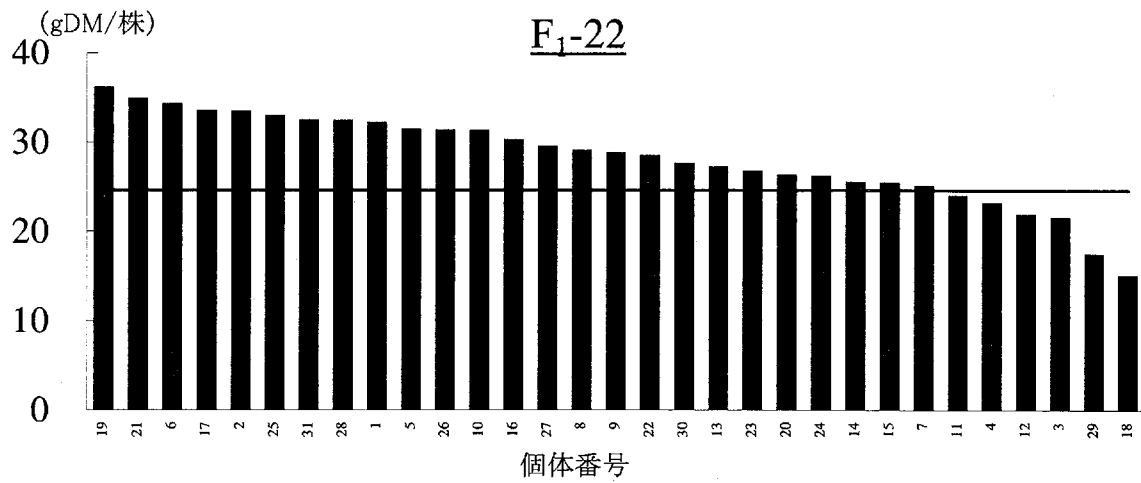
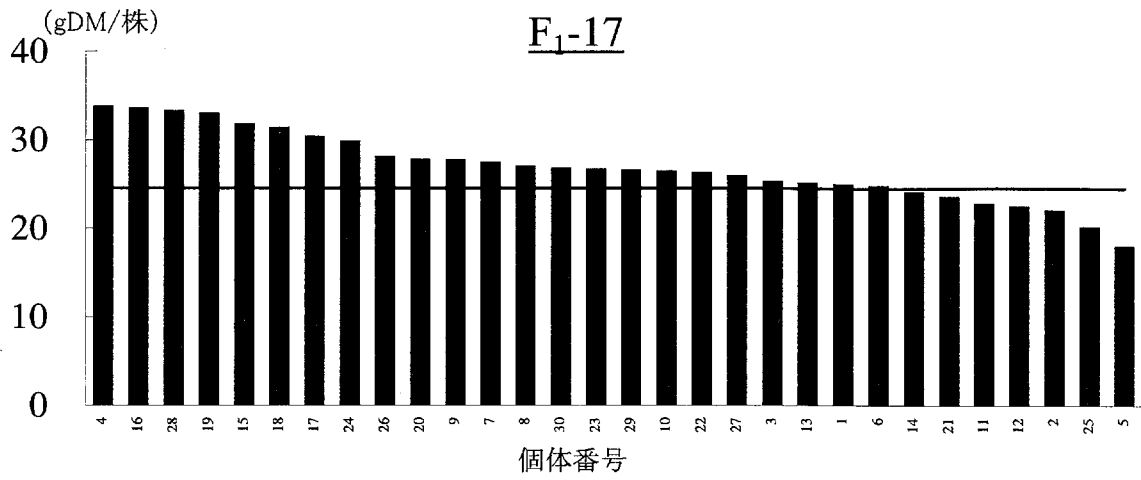


図32. F₁群個体の乾物収量(茎葉部)

— : 対照個体の平均値

表16. リグニン濃度(茎葉部)における選抜系統(F₁)の個体間変異.

F ₁ -17			F ₁ -22			F ₁ -30			対照個体		
No.	1	70.9	No.	1	64.1	No.	1	67.4	No.	1	72.7
	2	59.4 ^{min}		2	68.8		2	63.2		2	71.4
	3	65.3		3	74.3 ^{max}		3	68.7		3	70.5
	4	66.0		4	64.3		4	71.2		4	65.1
	5	64.3		5	66.5		5	65.5		5	72.4
	6	65.4		6	64.1		6	64.5		6	73.8
	7	67.4		7	65.8		7	71.7		7	61.0 ^{min}
	8	68.8		8	68.0		8	65.2		8	65.1
	9	66.1		9	71.2		9	72.8		9	72.1
	10	63.1		10	71.1		10	72.5		10	65.0
	11	74.8		11	64.8		11	70.8		11	63.7
	12	66.9		12	70.4		12	66.3		12	67.0
	13	71.3		13	72.4		13	67.4		13	69.5
	14	68.2		14	74.2		14	73.6 ^{max}		14	76.5
	15	69.1		15	73.8		15	73.3		15	77.5 ^{max}
	16	67.1		16	68.7		16	66.0		16	65.5
	17	68.7		17	66.0		17	59.1		17	68.1
	18	64.7		18	55.8 ^{min}		18	67.2			
	19	65.3		19	60.4		19	60.1			
	20	64.5		20	60.4		20	65.3			
	21	68.1		21	62.6		21	67.4			
	22	67.5		22	65.6		22	57.6 ^{min}			
	23	69.6		23	61.9		23	68.6			
	24	66.8		24	58.4		24	67.3			
	25	64.8		25	62.0		25	68.7			
	26	66.7		26	69.3		26	59.0			
	27	69.0		27	66.1		27	63.7			
	28	67.9		28	64.1		28	62.1			
	29	72.3		29	57.3		29	66.0			
	30	75.6 ^{max}		30	64.5						
				31	64.5						
平均(±SD)	67.51 ±3.33		65.85 ±4.84		66.61 ±4.38		69.23 ±4.67				
対照個体との差	NS		*		NS		—				

^{max}: 各群における最大値; ^{min}: 各群における最小値.
SD: 標準偏差; NS: 有意差なし; *: 5%水準で有意差あり.

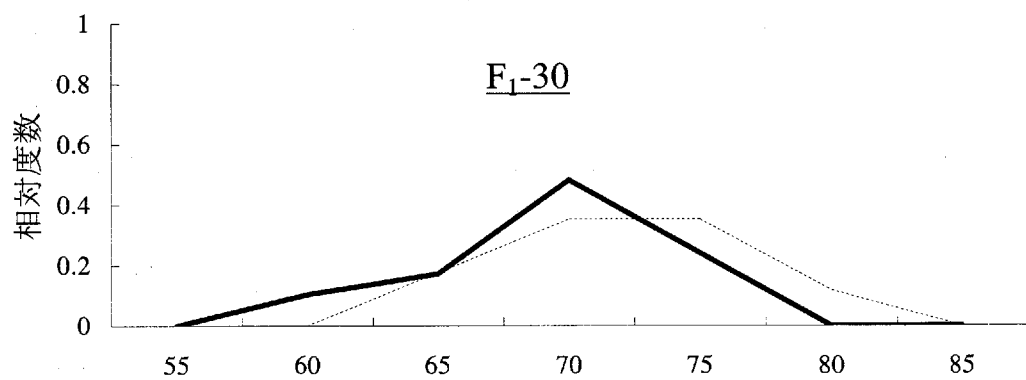
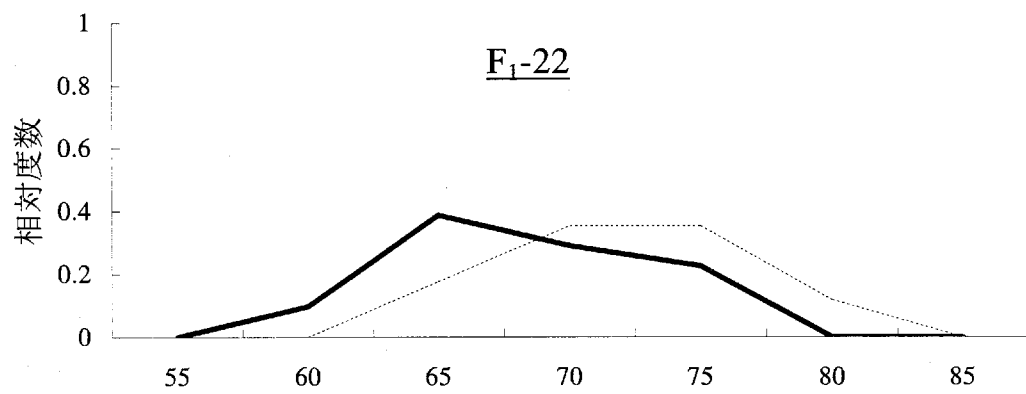
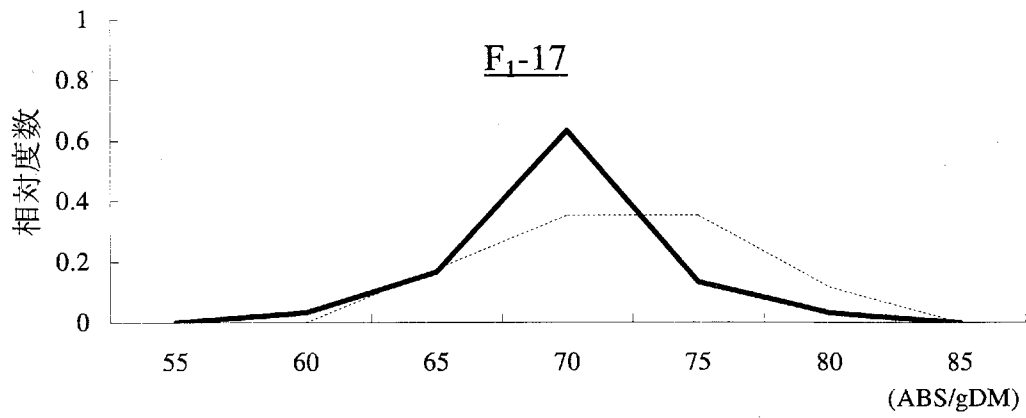


図33. リグニン濃度の相対頻度.

— F₁群 ; 対照個体

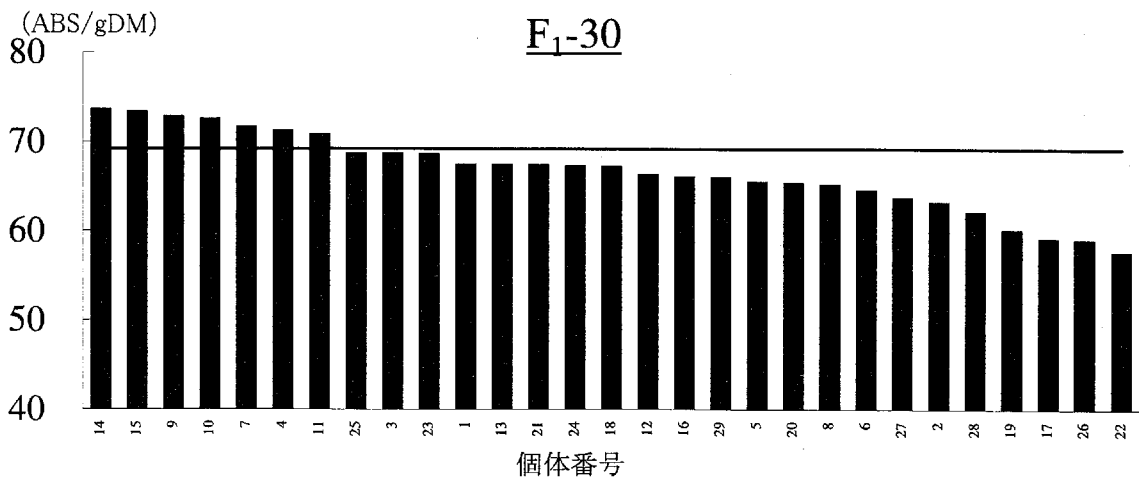
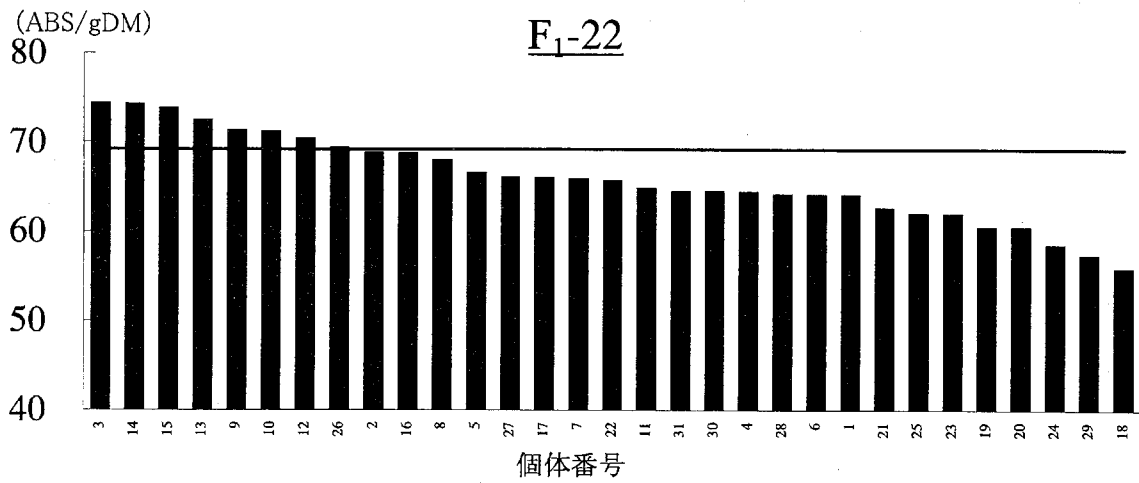
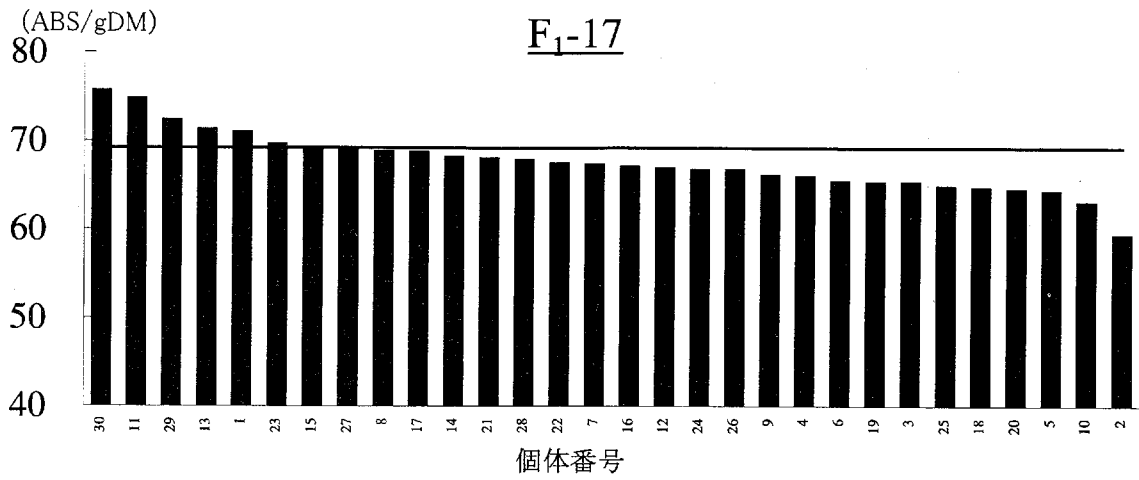


図34. F₁群個体のリグニン濃度(茎葉部)

— : 対照個体の平均値

表17. 乾物消化率(茎葉部)における選抜系統(F₁)の個体間変異.

F ₁ -17			F ₁ -22			F ₁ -30			対照個体		
No.			No.			No.			No.		
	1	36.7 ^{min}		1	49.9		1	45.1		1	39.1
	2	48.3		2	41.3		2	40.1		2	39.9
	3	44.0		3	39.7 ^{min}		3	42.5		3	38.1
	4	50.5		4	45.7		4	39.5		4	46.1 ^{min}
	5	41.9		5	50.7		5	42.2		5	38.5
	6	43.9		6	47.9		6	39.4		6	40.2
	7	46.8		7	44.5		7	38.6		7	47.6
	8	44.5		8	39.8		8	43.3		8	49.2 ^{max}
	9	46.2		9	39.7		9	41.2		9	38.8
	10	47.2		10	42.5		10	41.0		10	43.5
	11	42.1		11	42.7		11	42.0		11	47.2
	12	43.3		12	40.0		12	44.6		12	43.6
	13	41.6		13	43.5		13	44.9		13	48.6
	14	43.2		14	40.5		14	37.9		14	44.2
	15	45.9		15	40.4		15	37.3 ^{min}		15	43.9
	16	45.1		16	47.5		16	38.3		16	46.9
	17	45.8		17	41.2		17	45.3		17	46.3
	18	49.9		18	47.8		18	41.4			
	19	50.6 ^{max}		19	48.3		19	42.3			
	20	48.2		20	51.6		20	39.5			
	21	44.5		21	48.7		21	40.4			
	22	45.2		22	48.5		22	43.8			
	23	45.4		23	53.4		23	37.7			
	24	47.0		24	52.8		24	37.5			
	25	39.3		25	52.9		25	37.5			
	26	39.1		26	46.4		26	45.5			
	27	41.1		27	50.9		27	45.5			
	28	46.6		28	52.5		28	46.4 ^{max}			
	29	40.0		29	54.1 ^{max}		29	45.1			
	30	39.1		30	46.6						
				31	51.4						
平均(±SD)		44.44 ±3.54			46.56 ±4.79			41.58 ±2.94			43.62 ±3.83
対照個体との差		NS			*			*			—

^{max}: 各群における最大値; ^{min}: 各群における最小値.
SD: 標準偏差; NS: 有意差なし; *: 5%水準で有意差あり.

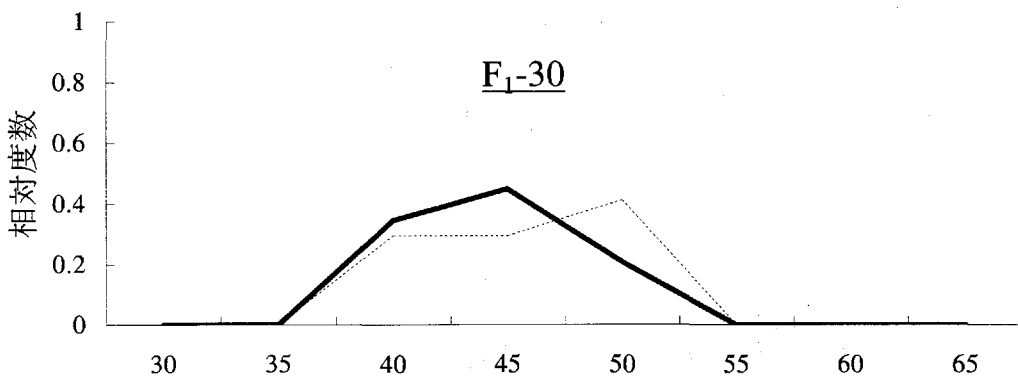
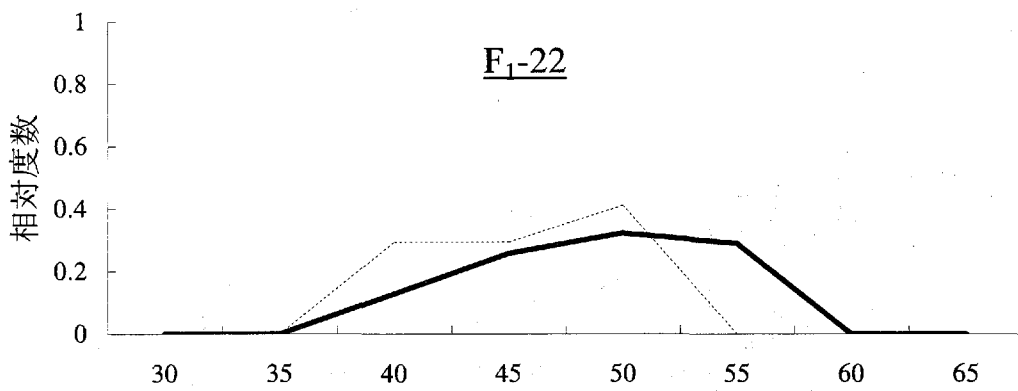
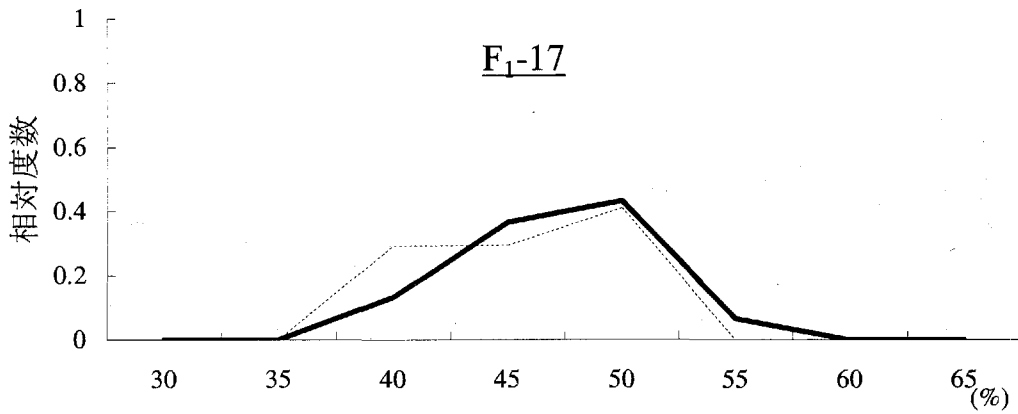


図35. 乾物消化率の相対頻度.

— F₁群 ; 対照個体

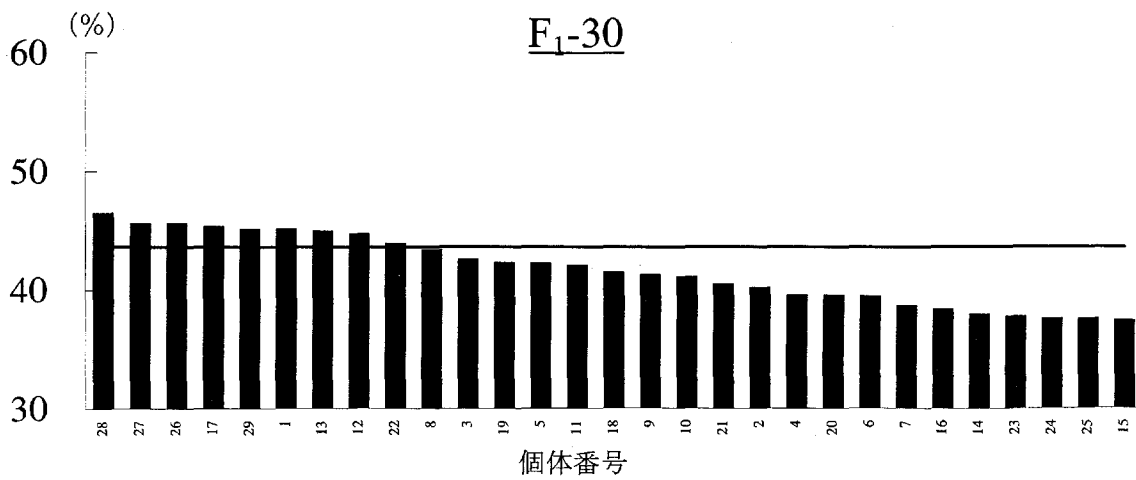
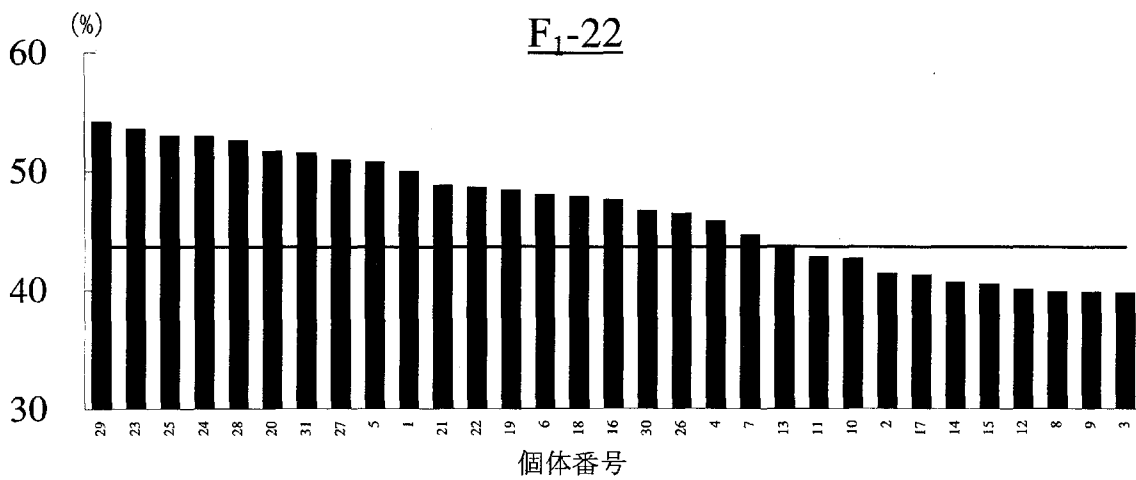
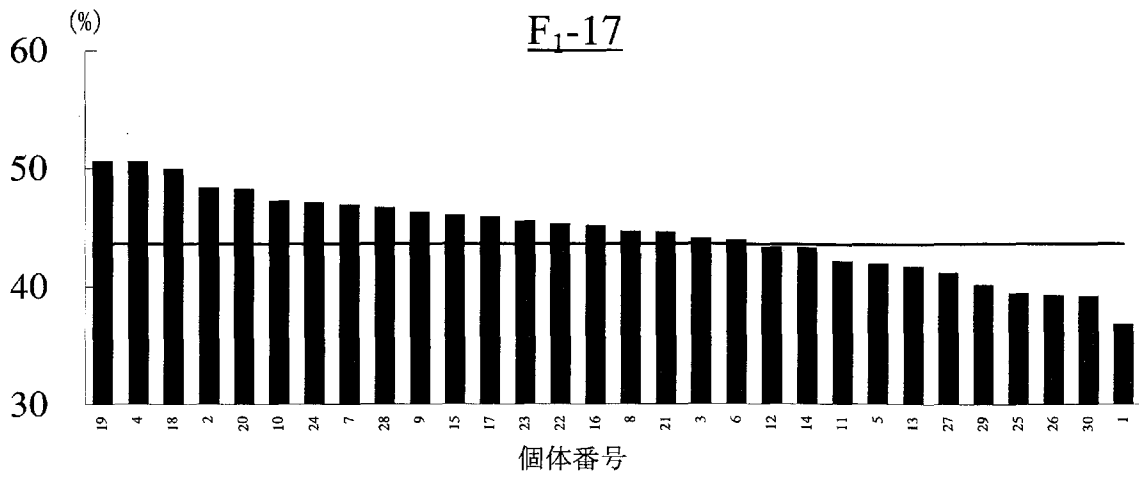


図36. F₁群個体の乾物消化率(茎葉部)

— : 対照個体の平均値

表18. 可消化乾物量(茎葉部)における選抜系統(F₁)の個体間変異.

F ₁ -17			F ₁ -22			F ₁ -30			対照個体		
No.	1	2	No.	1	2	No.	1	2	No.	1	2
	9.2 ^{min}	10.6		16.0	13.8		11.8	10.0		10.6	9.2
	11.1	8.5 ^{min}		8.5 ^{min}	10.2		10.2	9.3		10.8 ^{min}	9.3
	17.0	10.6		10.6	15.9		9.5	10.8 ^{min}		7.9	10.4
	7.5	10.9		16.4	11.1		11.6	10.3		11.5	11.5
	12.8	12.8		11.1	11.5		9.1	9.1		14.0 ^{max}	14.0
	12.0	12.0		11.5	11.4		8.3	8.3		10.2	10.2
	12.8	12.5		11.4	13.3		12.0	12.0		9.2	9.2
	9.6	9.6		10.2	10.2		11.0	11.0		10.0	10.0
	9.7	9.7		8.7	8.7		9.9	9.9		10.0	10.0
	10.4	10.4		11.8	11.8		12.3	12.3		12.5	12.5
	10.4	10.4		10.3	10.3		9.2	9.2		11.2	11.2
	14.6	14.6		10.2	10.2		11.1 ^{min}	11.1 ^{min}		10.6	10.6
	15.1	15.1		14.3	14.3		10.6	10.6		13.2	13.2
	13.9	13.9		13.8	13.8		12.2	12.2		12.0	12.0
	15.6	15.6		7.2	7.2		11.8	11.8		12.0	12.0
	16.7 ^{max}	16.7 ^{max}		17.4	17.4		9.8	9.8		12.0	12.0
	13.3	13.3		13.5	13.5		9.4	9.4		10.6	10.6
	10.5	10.5		16.9	16.9		10.6	10.6		8.5	8.5
	11.9	11.9		13.8	13.8		8.5	8.5		9.4	9.4
	12.1	12.1		14.2	14.2		9.4	9.4		9.4	9.4
	14.0	14.0		13.8	13.8		9.4	9.4		9.1	9.1
	7.9	7.9		17.4	17.4		11.6	11.6		12.8	12.8
	11.0	11.0		14.5	14.5		13.4 ^{max}	13.4 ^{max}		13.2	13.2
	10.6	10.6		14.9	14.9		13.2	13.2			
	15.5	15.5		17.0	17.0						
	10.6	10.6		9.4 ^{max}	9.4 ^{max}						
	10.4	10.4		12.8	12.8						
				16.6	16.6						
平均(±SD)	12.01 ±2.45		13.13 ±2.87			10.65 ±1.41			10.74 ±1.56		
対照個体との差	NS	**	NS	**		NS			NS		

^{max}, 各群における最大値; ^{min}, 各群における最小値.
SD: 標準偏差; NS: 有意差なし; **: 1%水準で有意差あり.

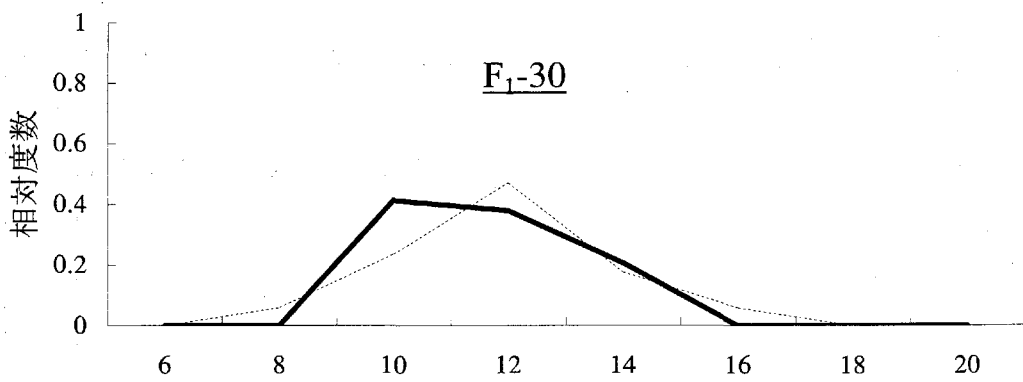
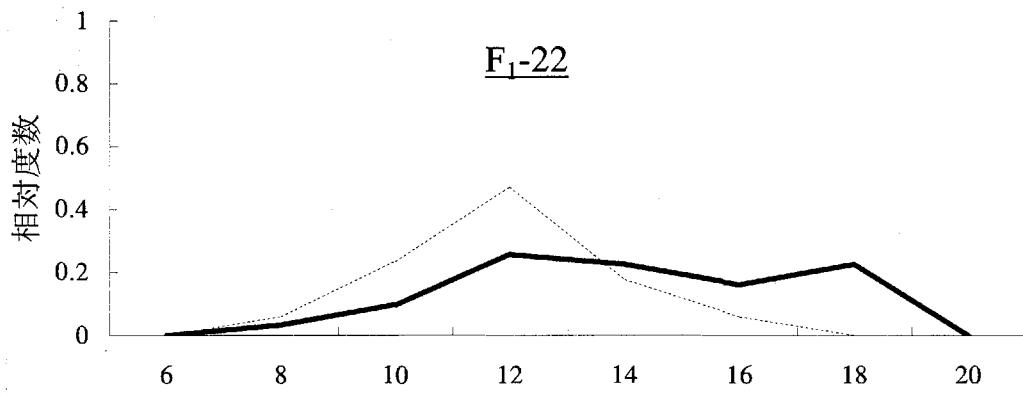
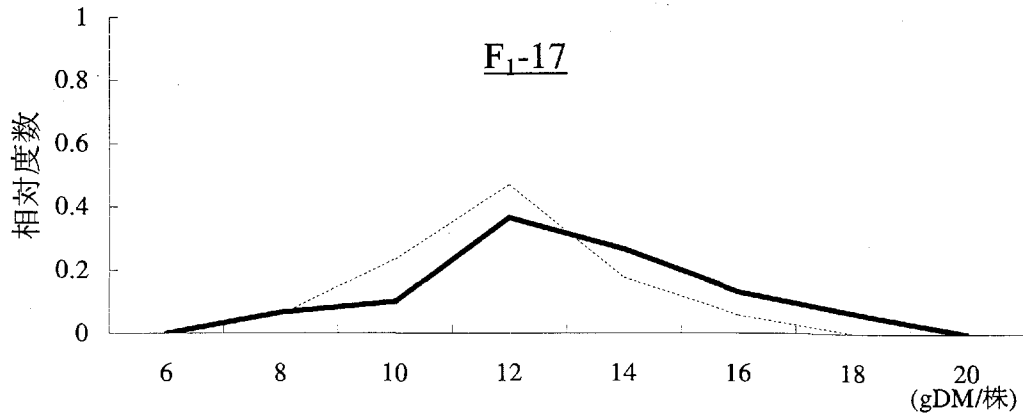


図35. 可消化乾物の相対頻度.

— F1群 ; 対照個体

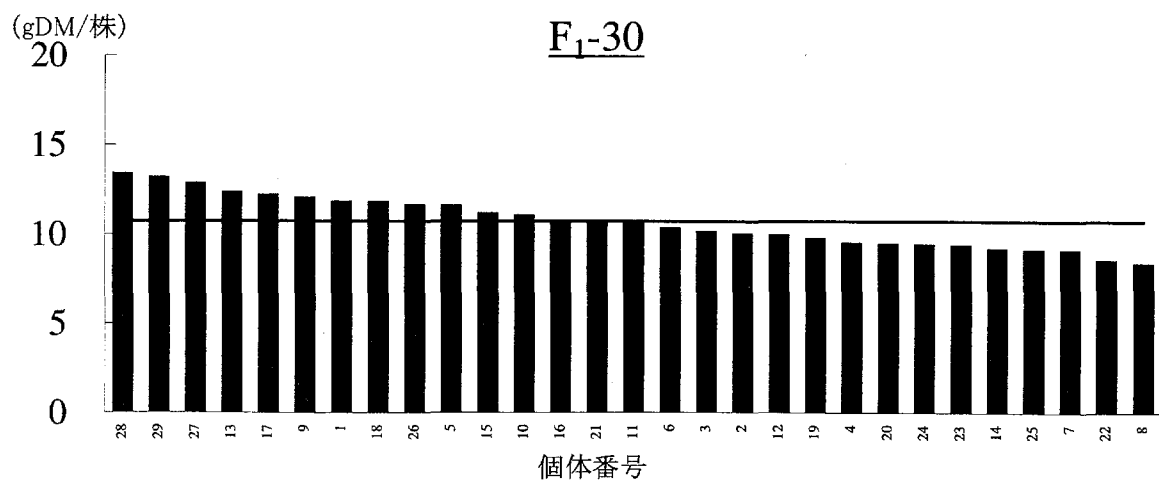
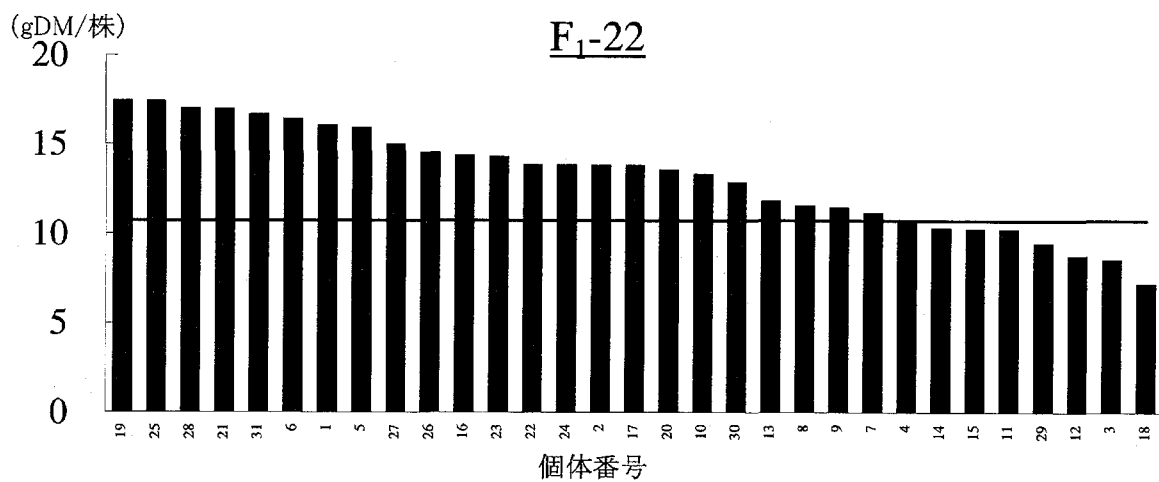
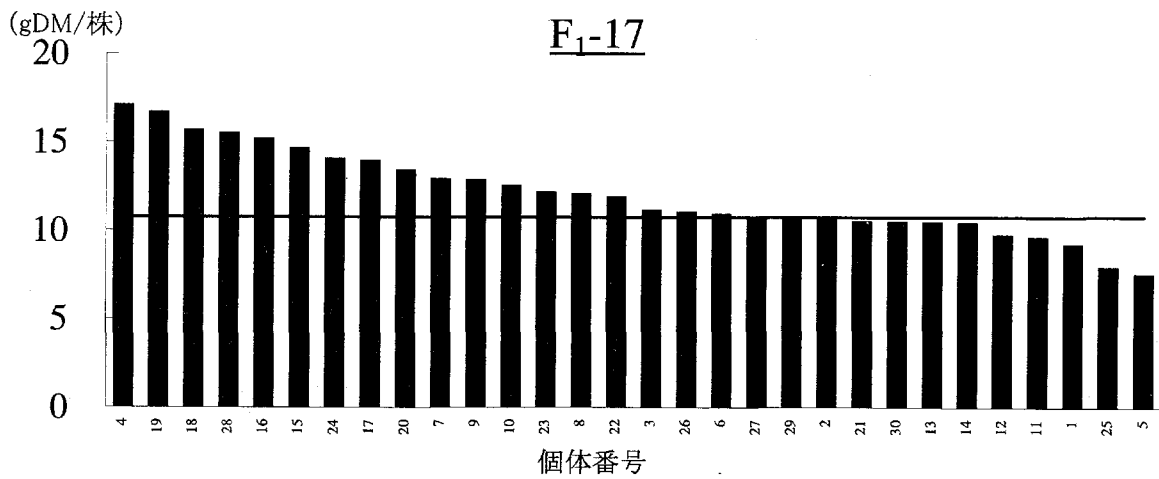


図38. F₁群個体の可消化乾物量(茎葉部)

— : 対照個体の平均値

引用文献

1. Abe, T. and Y. Futsuhara (1986) Plant regeneration from suspension cultures of rice (*Oryza sativa* L.). *Jpn.J.Breed.* 36: 1-6.
2. 明石 良・権藤崇裕・川村 修 (2003) バイオテクノロジーを利用した暖地型イネ科牧草の育種. *日草誌* 49: 79-87.
3. Akashi, R. and T. Adachi (1993) Plant regeneration from seed-derived embryogenic callus and cell suspension cultures of bahiagrass (*Paspalum notatum*). *Plant Sci.* 90: 73-80.
4. 川辺俊夫 (1998) ソルガム褐色中央脈変異体 (BMR-6) の組織化学的性状. 平成 9 年度宮崎大学大学院農学研究科学位論文, pp.1-111
5. 川村 修 (1996) ソマクローナル変異を利用した暖地型牧草・バヒアグラスの品質改良. 伊藤記念財団, 平成 7 年度食肉に関する助成研究調査成果報告書 14: 235-239.
6. 川村 修 (1997) ソマクローナル変異選抜による高品質バヒアグラスの作出. 伊藤記念財団, 平成 8 年度食肉に関する助成研究調査成果報告書 15: 249-253.
7. Chu, C.C., C.C. Wang, C.S. Sun, C. Hsu, K.C. Yin, C.Y. Chu and F.Y. Bi (1975) Establishment of an effective medium for anther culture of rice through comparative experiments on the nitrogen sources. *Sci. Sin.* 18: 659-668.
8. Fujimura T., M. Sakurai, H. Akagi, T. Negishi and A. Hirose (1985) Regeneration of rice plants from protoplasts. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture Let.* 2: 74-75.
9. Goto, I. and D.J. Minson (1977) Prediction of the dry matter digestibility of tropical grasses using a pepsin-cellulase assay. *Anim. Feed Sci. Techn.* 2: 247-253

10. Kyojuka, J., Y. Hayashi and K. Shimamoto (1987) High frequency plant regeneration from rice protoplasts by novel nurse culture methods. *Molecular and General Genetics* 206: 408-413.
11. Ling, D.H., Z.R. Ma, M.F. Chen and W.Y. Chen (1987) Male sterile mutant from somatic cell culture of rice. *Theor. Appl. Gen.* 75: 127-131.
12. 森 宏一・木下俊郎 (1987) イネの除草剤に対する植物体と種子カルスでの耐性について. 育種学研究 37 (別 2): 94-95.
13. Morison, I.M. (1972) Improvements in the acetyl bromide technique to determine lignin and digestibility and its application to legumes. *J. Sci. Fd. Agric.* 23: 1463-1469
14. Murashige, S. and F. Skoog (1962) A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 473-497.
15. 中曾根正一・丸山清明 (1988) イネの幼植物とカルスの耐冷性の品種間差異. 育種学研究 38 (別 2): 132-133.
16. 那須幹夫 (1995) バヒアグラスにみられたソマクローナル消化性変異とこれに関する二, 三の要因についての検討. 平成 6 年度宮崎大学農学部卒業論文.pp.1-44
17. Nonohay, J.S., J.E.A. Mariath and H. Winge (1999) Histological analysis of somatic embryogenesis in Brazilian cultivars of barley, *Hordeum vulgare*, Poaceae. *Plant Cell Rep.* 18: 929-934.
18. Oka, S., N. Saito and H. Kawaguchi (1995) Histological observations on initiation and morphogenesis in immature and mature embryo derived callus of barley (*Hordeum vulgare* L.) *Ann, Bot.* 76: 487-492.

19. Oldach, K.H., A. Moregenstern, S. Rother, M.Girgi, M. O'Kennedy and H. Lorz (2001) Efficient *in vitro* plant regeneration from immature zygotic embryos of pearl millet (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.) and *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Plant Cell Rep.* 20: 416-421.
20. Raina S.K. and S.T. Irfan (1998) High-frequency embryogenesis and plantlet regeneration from isolated microspores of indica rice. *Plant Cell Reports* 17: 957-962.
21. Reddy, P.J. and K. Vaidyanath (1986) *In vitro* characterization of salt stress effects and the selection of salt tolerant plants in rice (*Oryza saliva* L.). *Theor. Appl. Gen.* 71: 757-760.
22. Rout, J.R. and W.J. Lucas (1996) Characterization and manipulation of embryogenic response *in vitro* cultured immature inflorescences of rice (*Oryza saliva* L.). *Planta* 198:127-138.
23. Rueb, R., R.A. Leneman and L.A.M. Schiperoort (1994) Efficient plant regeneration through somatic embryogenesis from callus induces on mature rice embryos (*Oryza saliva* L.). *Plant Cell, Tissue Organ Culture* 36: 259-264.
24. 山本幹博・島本 功 (1990) テヌアゾン酸を用いたカルス選抜によるイネいもち病抵抗性個体の作出. 育種学研究 40 (別 1): 94-95.
25. Welter M.E., D.S. Clayton, M. A. Miller and J.F. Petolino (1995) Morphotypes of friable embryogenic maize callus. *Plant Cell Rep.* 14: 725-729.
26. 農畜産業振興機構(2003) 畜産 2003 年度国内編／畜産物の需給動向 7:飼料需要量の推移.
27. Minson D.J. (1990) Forage in Ruminant Nutrition. Academic, Inc., California, USA. : pp.95-109.