Hiroko TAKAGI, Hyoji NAMAI and Kan-ichi MURAKAMI : Evaluation of the Hematoxylin Staining Method for Detecting Wheat Tolerance to Aluminum (English summary on p.160)

ヘマトキシリン染色によるコムギのアルミニウム耐性検定法の評価

高木 洋子・生井 兵治・村上 寛一
(筑波大学農林学系, 茨城県桜村)

コムギのアルミニウム耐性の早期検定法として, POLLE ら (1978) がヘマトキシリン染色法を開発した。この方法の精度を耐性既知の品種を用いて追試し, さらにこれまでアルミニウム耐性や耐酸性が調べられていた日本の品種について, ヘマトキシリン染色法を適用し, メキシコ・ブラジル産品種とその耐性程度を比較した。その結果, ヘマトキシリン染色法は, 従来から早期検定法として使われてきた水耕法に匹敵する精度を示し, そのうえ操作が簡便で発芽4日後に検定ができる, 多数個体が同時に扱える, 検定後の植物が利用できるなど長所があり, コムギ育種の早期簡易検定法として極めて有効であることを確めた。また, 供試した日本の品種にはアルミニウム耐性が極強の品種 (ヘマトキシリン染色法の評価, 1) はなかったが, ヒラキ小麦, 農林 54 号などの4品種はブラジルの耐性品種 (評価, 3) に匹敵するものであることを明らかにした。

緒 言

アフリカや南米など熱帯地域に広く分布する酸性土壌は, 作物生産発展の大きな障害の一つとなっている (SANCHEZ ら 1975)。これら酸性土壌の害としては, アルミニウムやマンガンの過剰, 有効リン酸の欠乏, 低 pH が主としてあげられる (FRIDE ら 1946 ; SCHMEHL ら 1950 ; RAGLAND ら 1959)。多くの国で石灰やリン酸肥料の多量投与による土壌改良を計っているが, 経済的困難から大規模な土壌改良は望めず, 現実には限られた地域で生産が行なわれているにすぎない。

一方, 作物間・品種間に不良土壌耐性についての遺伝的差異があるという多くの報告があり, 耐性遺伝子の導入による新品種育成が作物生産の発展に大きく貢献することが知られている。近年, 国際トウモロコシ・コムギ改良センター (略称, CIMMYT) や国際イネ研究所 (略称, IRRI) などが, 不良土壌耐性育種を活発に行なっており, その成果があがりつつあると言われる。

しかし, さらに育種効率を高めるためには, なお解決しなければならない問題も多く残され, アルミニウム耐性を含む作物の不良土壌耐性の, 簡便で確実な早期検定法の開発もその一つである。

作物のアルミニウム耐性については, 種間差についての研究のほかにイネ・ダイズ・トウモロコシなどでは品種間差に関してもさまざまな研究があり (ARMIGER ら 1970 ; LUTZ ら 1971 HOWELER ら 1976), コムギでは NEENAN (1960) 以来多くの報告がある (FOY ら 1965 a ; MESTAG ら 1969 ; KERRIDGE ら 1971 ; LAFEVER ら 1977)。

アルミニウムイオンの直接の害は根の伸長の阻害に顕著に表われる。そのため, アルミニウム耐性の早期検定は根の伸長量を指標として行なわれることが多く, 特に地下部の観察が容易な水耕法による検定が一般的方法となってきた (FOY ら 1967 ; REID ら 1971)。しかし, 実際育種への利用という観点からは多くの問題があり, 特に ① 根長の測定に時間がかかり多数個体を同時に扱えない, ② 温度・水耕条件など環境の変化の影響を受け, 測定値にふれがでやすい, ③ 水耕に多量の

蒸溜水またはイオン交換水を必要とする、④検定期間中の水耕液の pH 管理がわずらわしいなどの欠点あげられる。これらの欠点をできるだけ小さくするため MOORE ら (1976) は、コムギの根の伸長が完全に阻害されるアルミニウム濃度をあらかじめ求め、その濃度でも伸長をつづける品種を耐性と評価する方法で、測定の手間を省くことを考えた。また、KONZAK ら (1976) は、水耕液管理を省くためにアルミニウム水溶液を吸わせたろ紙に作物種子をはさみこみ、発芽させて根の伸長阻害の程度を調べる方法を考案した。しかし、どちらも大量個体を扱う選抜には必ずしも適当とはいえない。

一方、根の伸長量で耐性を判定する方法以外に、組織学的手法や化学分析で根中に吸収されたアルミニウムの量を指標として判定する方法がある。McLEAN ら (1927) は、アルミニウム溶液で処理した作物の根をヘマトキシリンで染色し、耐性の大きい種ほど根の皮層へのアルミニウム吸収が少ないと報告している。これは、アルミニウム耐性の高い種は耐性の低いものより根のカチオン交換容量が低く、アルミニウムの吸収がより少ない傾向があるためだといわれている (VOSE ら 1962)。相見ら (1964) や池田ら (1964, 1965) は、アルミニウム溶液処理または酸性土壌で生育させたコムギの根にアルミノン染色を行ない、根中に吸収されたアルミニウムの量が、耐酸性の大きい品種ほど少ないことを報告しており、品種間差にもこの方法が利用できることを示唆した。

最近、POLLE ら (1978) はコムギにアルミニウムを吸わせ、ヘマトキシリンで生体染色することによって、アルミニウム耐性の品種間差異が簡単に判定できることを報告した。

このヘマトキシリン染色法は開発された直後であり、その実用的評価についての報告が見られないので、早期検定法としての実用性を確かめることを目的として、耐性既知の品種を用い、水耕法や圃場試験の結果と比較・検討した。

その結果、ヘマトキシリン染色法は、コムギのアルミニウム耐性の早期検定法として高い精度を持ち、簡便で効率の良い方法であることが確認でき、そのうえ日本産コムギ品種のなかにも、メキシコやブラジル産の品種に匹敵する耐性品種のあることも明らかにできたので報告する。

材料および方法

材料：ヘマトキシリン染色法と従来からアルミニウム耐性の早期検定法として使われてきた水耕法の比較を行なった実験 1 では、圃場耐性既知のメキシコとブラジルの 10 品種を材料とした (Table 4)。いずれも CIMMYT で品種保存中のものを直接入手したものであり、種子発芽はすべて正常であった。

日本のコムギ品種について、ヘマトキシリン染色法を用いアルミニウム耐性程度を検定した実験 2 では、これまでに耐酸性・アルミニウム耐性が調べられている 35 品種を用いた (Table 5)。これらは農事試験場で品種保存中のものであって、採種年次は同一でなく発芽は必ずしも整一ではなかったが、実験には支障がなかった。なお、実験 2 では反復を通して染色程度の標準品種として Atlas 66, Brevor の 2 品種を加えた。Atlas 66 は強として知られ、POLLE ら (1978) が強の標準品種に用いたものである。Brevor は弱として知られる品種で、POLLE ら (1978) の実験材料にも使われている (FOY ら 1973; MOORE ら 1976)。いずれも、農業技術研究所種子貯蔵管理室に保存中のものを譲り受けた。

方法：ヘマトキシリン染色法の手法と手順の概要を Table 1 に示した。具体的には次のとおりである。

台所用水切りかごの底に網を取りつけたものを幅 28 cm、長さ 48 cm、深さ 11 cm のプラスチック製容器に固定して検定用バットとした。1 反復試験につき 4 濃度のアルミニウム処理をするた

Table 1. Procedure of hematoxylin staining method

1) Wheat seeds were placed on the germination tray which was floated on aerated deionized water.	
	↓ 24 hours
2) After germination the water was replaced with aerated nutrient solution adjusted to pH 4.0 as shown in Table 2.	
	↓ 30 hours
3) The solution was replaced with a nutrient solution containing aluminum. Al concentrations were adjusted to 0.18, 0.36, 0.72, and 1.40mM respectively.	
	↓ 17 hours
4) The solution containing Al was replaced by aerated deionized water.	
	↓ 60 minutes
5) The water was discarded, and 0.2% hematoxylin solution was added for staining.	
	↓ 15 minutes
6) The germination tray was washed with running water for a minute, and seedlings were placed in aerated deionized water.	
	↓ 30 minutes
7) The rank of Al tolerance was scored according to the staining pattern shown in Table 3 and Plate 2.	

め、検定用バットを4個用意した。この検定用バットに3lの溶液をいれた時、置床種子がちょうど水面に接するようになっている。

第1日目午前9時、3lのイオン交換水を入れたそれぞれの検定用バットに各品種6粒ずつの種子を置床し、乾燥をできるだけ防ぐためその上をサランラップで覆った。これらのバットを25℃、12時間日照の恒温庫内に設置し、24時間の催芽処理を行なった。なお、第1日目の催芽処理から4日目のアルミニウム処理終了までの期間は、常にコンプレッサーで溶液に通気を行なった。

第2日目午前9時、発芽が始まった状態でイオン交換水を水耕液に交換した。水耕液の組成はTable 2に示すとおりであり、0.25 M 塩酸でpH4.0に調整した。

第3日目午後4時、根が2~3cm伸びた状態でアルミニウムを含むpH4.0の水耕液に交換した。アルミニウムは、塩化アルミニウム6水塩として加え、0.18, 0.36, 0.72, 1.40 mMの倍量ずつの4処理区を設けた。

第4日目午前9時、アルミニウム処理開始17時間後にアルミニウムを含む水耕液を捨て、バットを流水で洗った後、イオン交換水3lを入れ、通気しながら1時間水洗した。次いでイオン交換水を捨て、ヘマトキシリン溶液を根が浸る程度にバットにいれ、時々液を動かしながら15分間染色した。ヘマトキシリン溶液は、0.2%ヘマトキシリン水溶液に0.02%のヨウ素酸ナトリウムを加えたものである。染色後、1分間流水で余分な染色液を洗い流し、イオン交換水で通気しながら30分間水洗後、約1.5cm以上の根を持った個体について根端の染色程度でアルミニウム耐性を

Table 2. Composition of nutrient solution

Source	Concentration of element (mM)
CaCl ₂	4.0
KNO ₃	6.5
MgCl ₂ ·6H ₂ O	2.5
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.1
NH ₄ NO ₃	0.4

判定した。

アルミニウム耐性の判定は Plate 1 のとおり、各濃度のアルミニウム処理区とも先端 5~6 mm がまったくあるいはほとんど染らないものを耐性、染っているものを感受性と評価した。さらに Table 3 に示すとおり、どの濃度にまで耐性を示すかによって、その程度を階級 1 (極強, 1.4 mM でも染まらない), 3 (強, 0.72 mM まで染まらない), 5 (中, 0.36 mM まで染まらない), 7 (弱, 0.18 mM まで染まらない), 9 (極弱, 0.18 mM でも染まる) の 5 段階に分けた。

Plate 1. Differential response of wheat varieties to 0.36mM Al. Root tips of two tolerant plants (left) were not stained and those of two susceptible plants (right) were stained.

Table 3. Scoring aluminum tolerance

Observation	Score	Remarks	Staining patterns of root tips			
			Al concentration (mM)			
			0.18	0.36	0.72	1.40
Tolerant to 1.40mM Al	1	Highly tolerant	U	U	U	U
" 0.72mM Al	3	Tolerant	U	U	U	U
" 0.36mM Al	5	Intermediate	U	U	U	U
" 0.18mM Al	7	Susceptible	U	U	U	U
Non-tolerant to 0.18mM Al	9	Highly susceptible	U	U	U	U

予備試験の結果、反復・個体間の染色結果が非常によく揃っていたので、本試験では6個体・2反復として耐性程度を判定した。また、予備試験の対照区 (Al を加えない) では、どの品種も根端がまったく染色されなかったため、本試験からは 0.18 から 1.40 mM のアルミニウム区だけを設けた。

ヘマトキシリン染色法との比較に用いた水耕法は、ヘマトキシリン染色法と同じ検定用バットを用い、25℃、12 時間日照下でイオン交換水で催芽し、2 日目から 0.36 mM のアルミニウムを含む pH 4.0 の水耕液 (Al 処理区) と、pH 4.0 のアルミニウムを含まない水耕液 (対照区) の 2 処理で、5 日間育苗した。水耕液はコンプレッサーで通気し、毎日交換した。アルミニウム耐性程度は、各品種とも 5 日目の根長を測定し、(Al 処理区の根長/対照区の根長)×100 の根長指数で表わして評

価した。なお、水耕法の場合は1品種 20 個体，3 反復とした。

結果および考察

ヘマトキシリンで染色した根は，Plate 1 右2 個体に示すとおり，濃染される場合は根端 5～6 mm の範囲が濃紫色に染まるため，各アルミニウム濃度におけるその範囲の染色程度により耐性程度を評価した。いずれの品種も，アルミニウム濃度が増すにつれ根端の染色範囲は広くなり，染色がすすむパターンは共通していた。すなわち，まず根毛形成部位がうすく染まり，次に根の先端（根冠）が染色され，上下から分裂組織部位に向かって染色がすすむ。さらにアルミニウム濃度が高くなるにつれ染色部分が増加し，ついには先端から 5～6 mm のところまで全体が濃染される。なお，染色後根を蒸溜水につけておくと，少しでも白い部分が分裂組織部位に残っている根は緩慢ながら伸長を始める。しかし，先端まで濃染されたものは再び伸長することはなかった。

耐性程度が各階級に属する品種の典型的な根端の染色程度を Plate 2 に示した。いずれも左から 0.00, 0.18, 0.36, 0.72, 1.40 mM のアルミニウム処理区の根を先端から 1.2 cm 切りとったものである。

水耕法とヘマトキシリン染色法を比較した実験 1 の結果を Table 4 に示した。ヘマトキシリン染色法の結果では，10 品種中階級 1 が 1 品種，3 が 6 品種，5 が 2 品種，7 が 1 品種となり 9 は認められなかった。水耕法の結果とヘマトキシリン染色法の結果を比較すると，全体の傾向としては，両者はよく一致した。しかし，CNT 8 がヘマトキシリン染色法では階級 3 にランクされているが，水耕法では他の階級 3 の品種より弱くなった点が若干異なった。この 2 つの方法の結果を CIMMYT の圃場試験の結果と比べると，ヘマトキシリン染色法で階級 5（中），水耕法で 27.8%（やや弱）の pel 73380-Arthur-B 13374-0A-0L-106 T が圃場試験では T（強）と，食い違った品種があった。また Torim 73 と Pavon 76 がヘマトキシリン染色法で 3（強），水耕法でも強であるのに圃場で MR（やや強）といくらか食いちがっていたが全体の傾向はほぼ一致した。

以上の結果から，ヘマトキシリン染色法は従来早期検定法として用いられてきた水耕法に十分匹敵する精度を持ち，さらに水耕法と比較して，① 簡便で再現性が高い，② 発芽後 4 日で検定ができる，③ 多数個体が同時に扱える，④ 検定後の植物が利用できるなどの実用上の利点が多いことが判った。このことからヘマトキシリン法は水耕法に代わる有力なアルミニウム耐性の簡易早期検定技術であるといえる。

Table 5 に実験 2 の結果を示した。日本のコムギ 35 品種のうち，階級 3 が 4 品種，5 が 11 品種，7 が 20 品種で，極強と極弱の標準品種としていれた Atlas 66 と Brevor に匹敵する階級 1 と

Plate 2. Patterns of hematoxylin staining in root of wheat varieties. Root groups, from top to bottom, are IAS 58 (Score 1), Torim 73 (Score 3), Kitakami (Score 5), Norin No.25 (Score 7), and Brevor (Score 9). Each root in a group, from left to right, was treated with 0.00, 0.18, 0.36, 0.72, and 1.40 mM Al, respectively.

Table 4. Aluminum tolerance of CIMMYT wheat varieties as measured by various methods

Variety	Hematoxylin staining method	Solution culture	Field test (by CIMMYT)
IAS 58	1 ¹⁾	96.9 ²⁾	T ³⁾
B 7455	3	83.5	T
PAT 73121	3	79.3	T
Jacui	3	74.7	T
Torim 73	3	72.4	MT
Pavon 76	3	66.3	MT
CNT 8	3	47.8	T
pel 73380-Arthur B 13374-0 A-0 L-106 T	5	27.8	T
Nacozari 76	5	20.3	S
PIMA 77	7	14.7	S

Note : 1) Scoring is shown in Table 3.

2) $\frac{\text{Root length under solution culture with 0.36mM Al}}{\text{Root length under solution culture without Al}} \times 100(\%)$

3) T : Tolerant, MT : Moderately tolerant, S : Susceptible

9のものは認められなかった。なお、標準品種の Atlas 66 は、Polle ら (1978) は 1.2 mM 以上のアルミニウムで先端が濃染されると述べているが、著者らの結果では 1.40 mM でも先端部分が 3~4 mm 程度白く残っていた。今回の試験において先端が 1.40 mM でも白く残るのは IAS 58 と Atlas 66 のみであり、これらを 1 と判定した。しかし、Atlas 66 は IAS 58 に比べると 1.40 mM で白く残る部分が少なく、耐性程度が IAS 58 より低いと判断された。

また、本実験を通して同一品種内の各個体の染色程度はよく揃っていたが、実験 2 で用いた農林 56 号には階級 5 と 7 が混っており、Polle ら (1978) が述べているとおり適切な濃度を設ければ、雑種集団のアルミニウム耐性の分離も検出できることを示唆している。

ヘマトキシリン染色法による結果を、Table 5 にあげた他の研究者の評価と比較すると、農林 63, 67, 68, 71 号の 4 品種は花房 (1958)・池田ら (1965) の圃場試験で T (耐性) となっているが、ヘマトキシリン染色法では階級 7 (弱) となり、食い違いがあった。相見ら (1964) の結果とヘマトキシリン染色法はよく一致したが、これは相見らの評価法が水耕法であったためと考えられる。

今回とりあつかった日本のコムギ 35 品種には、耐酸性程度が中からやや弱のものが多く、極強の品種は認められなかったが、在来種であるヒラキ小麦・赤坊主・三州小竹と農林省登録品種の農林 54 号が階級 3 (強) を示した。この階級 3 は、酸性土壌が多く分布するためにアルミニウム耐性品種が多いといわれるブラジルの耐性強品種 (B 7455, PAT 73121 など) に匹敵する耐性程度である。このことは、中南米の酸性土壌地帯での比較的晩生・長稈品種の改良に、わが国の早生・短稈品種が育種素材として利用できる可能性があることを示唆している。

実験 1, 2 をとおして、圃場試験の結果とヘマトキシリン法の結果が食い違うものが 45 品種中 5 品種あった。この理由については明らかではないが、例えば Table 5 の農林 9 号にみられるように、鉦質酸性土壌と腐殖質酸性土壌での試験結果が食い違っている。このように圃場試験ではアルミニウムばかりでなく、低 pH, リン酸欠乏, マンガン過剰など複数の害が同時に作用したり、同じ土壌であっても他の環境要因のため害作用が同様に現われないことがありうる。また、植物根がイオンの不平等吸収や分泌物によって根圏の環境を変化させ、アルミニウムの害を軽減する (Foy

Table 5. Aluminum tolerance of Japanese wheat varieties tested by hematoxylin staining and other screening methods

Variety	Hematoxylin staining method	Hanabusa (Acid soil)	Aimi <i>et al.</i> (Solution culture)	Ikeda <i>et al.</i> (Mineral acid soil)	Ikeda <i>et al.</i> (Humic acid soil)	FAO
Hiraki Komugi	3	T ¹⁾		T	MT ²⁾	
Akabouzu	3		T	MT	T	
Sanshuu Kotake	3			T	MT	
Norin No. 54	3			T	T	
Shinchuunaga	5			MS	I ³⁾	
Shirasaya 2	5			I	MS ⁴⁾	
Norin No. 16	5			T	T	
" 30	5			MS	MS	
" 46	5			MS	I	
" 59	5			MT	I	
" 61	5			MT	I	
" 69	5	T		MT	I	
" 70	5	T				
" 72	5	I		I	MS	
Kitakami Komugi	5					T
Norin No. 56	5 & 7			I	M	
Saitama 27	7		S ⁵⁾	S	MS	
Iga Chikugo	7			S	S	
Ejima Shinriki	7			S	S	
Norin No. 4	7			I	I	
" 9	7			MT	MS	
" 19	7			I	MT	
" 23	7			I	I	
" 25	7		S			
" 26	7			MS	I	
" 34	7			I	I	
" 43	7			MT	I	
" 50	7			MS	I	
" 52	7	S		—	MS	
" 53	7			I	MT	
" 63	7*			T	MT	
" 64	7			I	MT	
" 67	7*			T	MT	
" 68	7*			MT	T	
" 71	7*	T				
Atlas 66	1					
Brevor	9					

Note : 1) T : Tolerant.

2) MT : Moderately Tolerant.

3) I : Intermediate.

4) MS : Moderately Susceptible.

5) S : Susceptible.

* Degree of Al tolerance by hematoxylin staining method does not correspond to other screening methods.

ら 1965 b ; CLARKSON 1967) など, 発芽 4 日後の幼苗では十分に検定できないと考えられる現象も存在する。これらのことから, ヘマトキシリン染色法の結果が圃場試験の結果と完全に一致しないこともありうる。

謝 辞

本実験の遂行にあたり, 供試材料を快くお譲り下さった農事試験場作物部大畠秀弥室長に深く感謝します。

引用文献

- 相見靈三・村上高 1964. 作物の生育におよぼすアルミニウムの影響に関する細胞生理的研究, 農技研報告 D 11: 331~396.
- ARMIGER, W. H., C. D. FOY, A. L. FLEMING and B. E. CALDWELL 1968. Differential tolerance of soybean varieties to an acid soil high in exchangeable aluminum. *Agron. J.* **60**: 67~70.
- CLARKSON, D. T. 1967. Interactions between aluminum and phosphorus on root surfaces and cell wall material. *Plant and Soil* **27**: 347~356.
- FOY, C. D., R. H. ARMIGER, L. W. BRIGGLE and D. A. REID 1965 a. Differential aluminum tolerance of wheat and barley varieties in acid soils. *Agron. J.* **57**: 413~417.
- , G. R. BURNS, J. C. BROWN and A. L. FLEMING 1965 b. Differential Al^{3+} tolerance of two wheat varieties associated with plantinduced pH changes around their roots. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* **29**: 64~67.
- , A. L. FLEMING and G. R. BURNS 1967. Characterization of differential aluminum tolerance among varieties of wheat and barley. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* **31**: 513~521.
- , ——— and J. W. SCHWARTS 1973. Opposite aluminum and manganese tolerances of two wheat varieties. *Agron. J.* **65**: 123~126.
- FRIED, M. and M. PEECH 1946. Comparative effects of lime and gypsum upon plants grown on acid soils. *J. Amer. Soc. Agr.* **38**: 614~623.
- 花房堯士 1958. 耐酸性小麦育種における戻交配を併用したラムシュ育種の効果, 植物の集団育種法研究, p. 225~232 養賢堂
- HOWELER, R. H. and L. F. CADAVID 1976. Screening of rice cultivars for tolerance to Al toxicity in nutrient solutions as compared with a field screening method. *Agron. J.* **68**: 551~555.
- 池田利良・東駿次・龍橋悟 1964. 麦類品種の酸性土壌適応に關与する 2, 3 の特性について, 日作紀 **33**: 77~81.
- , ———, ———, 守屋高雄 1965. 酸性土壌における麦類品種の適応性に関する研究, 東海近畿農試報 **12**: 64~79.
- KERRIGE, P. C., M. D. DAWSON and D. P. MOORE 1971. Separation of degrees of aluminum tolerance in wheat. *Agron. J.* **63**: 586~591.
- KONZAK, C. F., E. POLLE and J. A. KITTRICK 1976. Screening several crops for aluminum. *Proc. of workshop on plant adaptation to mineral stress in problem soils*. M. J. WRIGHT and A. S. FERRARI (ed.) (Beltsville, MD) Cornell Univ. Press, Ithaca, New York.
- LAFEVER, H. N., L. G. CAMBELL and C. D. FOY 1977. Differential response of wheat cultivars to Al. *Agron. J.* **69**: 563~568.
- LUTZ, J. A., JR., G. W. HAWKINS and C. E. GENTER 1971. Differential response of corn inbreds and single crosses to certain properties of acid soil. *Agron. J.* **63**: 803~805.
- McLEAN, F. T. and B. E. GILBERT 1927. The relative aluminum tolerance of crop plants. *Soil Sci.* **27**: 163~177.
- MESTAG, J. and A. J. SLOOTMAKER 1969. Classifying wheat varieties for tolerance to high soil acidity. *Euphytica* **18**: 36~42.
- MOORE, D. P., W. E. KRONSTAD and R. J. METZGER 1976. Screening wheat for Al tolerance. *Proc. of workshop on plant adaptation to mineral stress in problem soils*. M. J. WRIGHT and A. S. FERRARI (ed.) (Beltsville, MD) Cornell Univ. Press, Ithara, New York.
- NEENAN, M. 1960. The effects of soil acidity on growth of cereals with particular reference to the differential reaction of varieties thereto. *Plant Soil* **12**: 324~328.
- POLLE, E., C. F. KONZAK and J. A. KITTRICK 1978. Visual detection of aluminum tolerance levels in wheat by hematoxylin staining of seedling roots. *Crop Sci.* **18**: 823~827.

- RAGLAND, J.L. and N.T. COLEMAN 1959. The effect of soil solution aluminum and calcium on root growth. *Soil. Sci. Soc. Amer. Proc.* **23** : 355~357.
- REID, D.A., A.L. FLEMING and C.D. FOY 1971. A method for determining aluminum response of barley in nutrient solution in comparison to response in Al-toxic soil. *Agron. J.* **63** : 600~603.
- SANCHEZ, P.A. and S.W. BOUL 1976. Soils of the tropics and the world food crisis. *Science* **188** : 598~603.
- SCHMEHL, W.R., M. PEECH and R. BRADFIELD 1950. Cause of poor growth of plants on acid soils and beneficial effects of liming. I. Evaluation of factors responsible for acid soil injury. *Soil Sci.* **70** : 393~410.
- VOSE, P.B. and P.J. RANDALL 1962. Resistance to aluminum and manganese toxicities in plants related to variety and cation-exchange capacity. *Nature* **196** : 85~86.

Summary

Since the principal injury of Al on crop plants is an inhibition of root cell division, most of the methods for screening for Al tolerance are based on measuring inhibition of root growth. This approach has some inconvenient procedures as a screening method for Al tolerance, for example, it requires much time for the measurements and the complexity of maintaining the pH of the nutrient solution.

It is known that crop species or varieties tolerant to Al accumulate less Al in their roots than susceptible ones (VOSE *et al.* 1962). It was recently reported that hematoxylin staining of Al absorbed in wheat roots was of use for detecting Al tolerance (POLLE *et al.* 1978). Therefore, we have conducted experiments to evaluate the hematoxylin staining method from the viewpoint of practical wheat breeding.

In Exp. 1 ten wheat varieties for which Al tolerances had already been established in field tests by the International Maize and Wheat Improvement Center (CIMMYT) were used for the materials in the hematoxylin staining method (Table 4). The level of tolerance was scored by the staining patterns of root tips (Table 3 and Plate 2). Grading by the hematoxylin staining method strongly coincided with those based upon the nutrient solution culture method which has been in general use. The hematoxylin staining method was found to be superior in that it had the merit of simplicity and speed and it required minimal space and labor.

In Exp. 2 the hematoxylin staining method was applied to thirty-five Japanese wheat varieties for detecting their Al tolerance. Their grading was similar to what has been reported in Japan (Table 5). It was found that four varieties, Hiraki Komugi, Akabouzu, Sanshuu Kotake, and Norin No. 54 had score 3 tolerance which is equivalent to that of Brazilian tolerant wheat varieties, B 7455 and PAT 73121. None, however, showed highly tolerance (Score 1) found for IAS 58. Several of the varieties tested had scores which differed from those reported by other workers.

H. TAKAGI

H. NAMAI

K. MURAKAMI

Institute of Agriculture and Forestry, University of Tsukuba, Sakura, Ibaraki 305