

# アブラナ類合成三基六倍体の後代について

## 2. *B. Campestris* L × *B. Carinata* HARRON F<sub>1</sub> 復二倍体の後代

武 田 豊 蔵

すでに報告されたアブラナ類の合成三基六倍体は総て二基種♀×一基種♂から合成されたものであった (MGRINAGA, T. 1931. 水島 1952. OLSSON. 1963. IWASA 1964 武田 1964)。本報告は逆組み合わせの一基種♀×二基種♂のF<sub>1</sub>の倍加処理により合成された材料で、交雑と倍加処理は東北大でおこなわれその後著者の下で継代育成しているもので特に稔性を中心に調査した結果である。アブラナ類の雑種ではゲノム間の部分相同性にもとづく多価染色体の出現により異数性配偶子の生ずることが多くの研究で指摘されているが、本実験は新らしく合成された一基種×二基種からの合成三基六倍体の後代で純殖が可能かどうか？もし異数体に崩壊するとすればその方向性があるものか？後代で不規則に生ずる正倍数性配偶子と異数性配偶子の中からできるだけ多くの正倍数性配偶子接合の機会を得たいものと考え、後代を継代する受粉法を自殖だけでなく姉妹間の混合受粉、および姉妹間受粉後自殖で継代する三通りの方法を用い、それぞれの場合の種子稔性調査を中心におこない従来の一基種×二基種の場合と比較しようとするものである。

### 材 料 お よ び 方 法

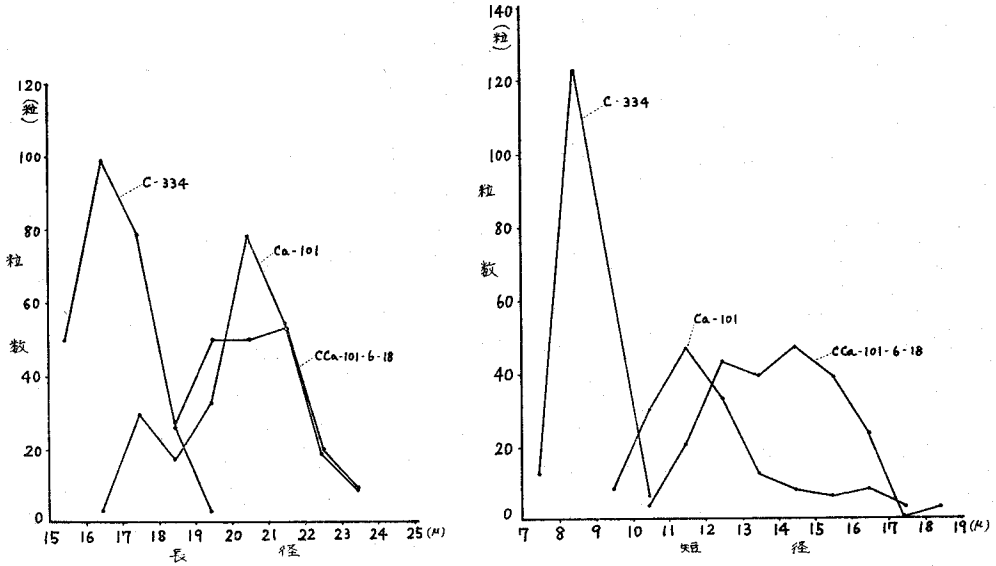
交雑に用いられた一基種は*B. Campestris* (雪菜) で二基種は*B. Carinata* HARRONでそのF<sub>1</sub>のコルヒチン処理で得られた復二倍体 (AA BB CC) CCa101-6-18の後代である。後代を養成する交配にあたり用いる花序にはあらかじめ袋掛をし、姉妹間の混合受粉は1系統5~20個体の姉妹各株から2~3花ずつ(花粉の出の悪いものは多くした) 葯と共に花粉を小型のシャーレにとり小筆で攪拌混合した後、あらためて花粉を採取した個体に受粉する方法で混合受粉後自殖は上記混合受粉を二世代実施後自殖で継代した。以下自殖 (S), 混合受粉 (M), 混合受粉後自殖 (MS), とし示し下方に数字を付し世代数を表わす。花粉稔性は醋酸カーミンによる染色で不稔花粉を区別した。種子稔性の調査は1個体2花序交配したものについて全莢調査し個体ごとに胎座数に対する稔実粒数の割合 (%) で示した。染色体の観察は花粉母細胞についてはアセトカーミンのおしつぶし法で、根端細胞については0.0002mol 8-オキシキノリン前処理2~3時間後I-N塩酸加水分解によるフォイルゲンのおしつぶし法で観察した材料植物の播種は9月中旬におこない育苗後30cm鉢植とし10月下旬からビニールハウス内で越冬させ冬期間は更にハウス内にトンネルによる保温マット被覆をして保護した。

### 実 験 結 果

1 開花期: 合成に用いられた母本親である雪菜の開花期は非常に早く3月上旬であり父本親

の *B. Carinata* は4月下旬でアブラナ類の中では遅い方であるが CCa101-6-18 植物は4月上旬で両親の中間にある。この開花期は世代の属す年度の気象条件で幾分異なっていた。

2 花粉の大きさおよび稔性：S<sub>2</sub>植物花粉の長径と短径を測定し粒径の頻度を図示すると図1の様になりCCa101-6-18植物の粒径分布の頻度は両親植物の中間からむしろ粒径の大きい方に



第1図 CCa-101-6-18 植物(自殖三代目)粒径の親植物との比較

偏る傾向がある。花粉の面積比で示した場合も *B. Campestris* の100に対し *B. Carinata* は150S<sub>3</sub>, CCa101-6-18は200で両親花粉の大きさを越えた大型花粉である。花粉稔性をS<sub>2</sub>, S<sub>7</sub>, M<sub>2</sub> S<sub>5</sub>, M<sub>7</sub> で調査した結果を表1に示した。初期世代でも7世代目でも、また自殖で継代したものも混合受粉後自殖で継代したものも、混合受粉のみで継代したものでも50~60%の稔性で継代のための受粉法を変えた後代の間で花粉稔性に顕著な差はみられなかった。自殖と混合受粉継代による後代の花粉稔性がわずかに低い。7世代目の花粉粒径は測定しなかったが顕微鏡下における肉眼観察の結果では幾分小型となり粒径がそろっていたが自然二基種あるいは一基種のような小型の一樣な大きさの花粉ではなかった。

表1 花粉稔性

系統	年世代			
	1966 S <sub>2</sub>	1971 S <sub>7</sub>	1971 M <sub>2</sub> S <sub>5</sub>	1971 M <sub>7</sub>
CCa-101-6-18	68.6 %	48.8 %	66.3 %	56.3 %
" "	65.9	53.6	65.0	

3 種子稔性： 1) 自殖継代種子稔性、自殖により継代した場合の種子稔性を表2に示した各世代の最高稔性はS<sub>2</sub>, S<sub>4</sub>, S<sub>5</sub>は30%台, S<sub>8</sub>は40%台, S<sub>7</sub>, S<sub>9</sub>は55%と60%で世代による変動はあるがいずれも50~60%以下の稔性で比較的高稔性を示す個体が生じた世代でも同一世代の大部分の個体は40%以下の低稔性域に分布しむしろ30%以下の低稔性個体の多いことが特徴である。又稔性0の個体も屢々みられる。S<sub>7</sub>で最高稔性55%を示した個体の種子を用いてその後代

を養成したがその後3世代経過後育苗中に枯死個体多く更に成体2個体も最終的には枯死し系統の維持ができなかった(世代経過図参照)。この受粉法で継代した時の植物生育は極めて悪く弱勢化の方向をたどるようである。

表2 自殖継代による稔性階級ごと個体数の分布

世 代	稔性%											
	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60
S <sub>2</sub>	1	4	3	8	5	6						
S <sub>3</sub>		2	1	0	2	2	1	1				
S <sub>4</sub>				1	0	1						
S <sub>5</sub>	0:1		5	3	0	1						
S <sub>6</sub>		3	3	3								
S <sub>7</sub>	0:1		1	3	0	0	1	1	0	0	1	
S <sub>8</sub>		4	1	7	5	2	1					
S <sub>9</sub>	1	1	1	3	8	3	4	3	0	1	1	1

2) 混合受粉の稔性, 姉妹間の混合受粉で継代した場合の種子稔性を表3に示した。この受粉法で継代したものは次代に用いる種子は各個体から採取した種子の中から同数ずつ種子をとり混合して播種し生じた個体を無差別に一定数定植して使った。この方法で継代した種子稔性を自殖継代のもとのと比較すると10%以下の極端な低稔性の個体は少なく25~30%にモードをもつ分布を示した。然し最高の稔性は50%以下でそれ以上の高い稔性を示す個体は生じなかったし世代による稔性の変動も自殖ほど顕著でなかった。この受粉法で継代した時の植物の形態は自殖あるいは混合受粉後自殖で継代したものに比べ草型の分離が後期の世代でもみられた。

表3 混合受粉継代による稔性階級ごと個体数の分布

世 代	稔性%									
	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50
M <sub>2</sub>			3	5	6	7	6	2	1	
M <sub>3</sub>		1	3	10	6	7	4			
M <sub>4</sub>				1	0	2	5	0	2	
M <sub>5</sub>			1	1	4	2	2	1	2	1
M <sub>6</sub>				4	2	1	2	2	3	2
M <sub>7</sub>		1	7	3	4	3	1	3		
M <sub>8</sub>	0:1		1	3	6	0	1	2	2	

3) 姉妹間混合受粉後自殖した稔性, 姉妹間の混合受粉を2世代おこないその後自殖で継代した稔性の分布を表4に示したがこの結果は自殖継代および混合受粉継代のもとのよく似ており30%以下の稔性を示したものが多く, 自殖だけで継代したもの, 混合受粉のみで継代したものと似た稔性の傾向で, ここでも最高の稔性は45%でそれ以上の高稔性の個体は得られなかった。

以上後代を継代する受粉法を変えて稔性調査をしたが三つの方法共に高頻度の高稔性個体の

表4 混合受粉後自殖継代の稔性階級ごと個体数の分布

世 代	稔性%									
	5	10	15	20	25	30	35	40	45	
M <sub>2</sub> S <sub>1</sub>	1	4	7	6	7	6	1	2	1	
M <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	1	3	4	4	3	5	4	1	1	
M <sub>2</sub> S <sub>3</sub>		3	4	7	8	6	7	3		
M <sub>2</sub> S <sub>4</sub>		5	5	5	4	4	1			
M <sub>2</sub> S <sub>5</sub>			4	4	1	1	2			
M <sub>2</sub> S <sub>6</sub>	1	3	3	5	4	0	3	1	1	
M <sub>2</sub> S <sub>7</sub>		4	6	4	2	2	1			

出現はみられなかったことからCCa101-6-18植物の後代が生殖細胞の形成にあたり細胞分裂が極めて不規則になっているのではないかと考えられる。また三通りの受粉法を変えた継代方法の間に稔性にはみられない植物の生育、形態の差がみられた。

4 初期世代で正倍数性を確認した後代の稔性：姉妹混合受粉を三世代繰返した後根端細胞で $2n=54$ の正倍数性を確認した個体を自殖した稔性は29.0%で低い。この材料を毎代10~15個体ずつ養成し種子稔性を調査した結果は表5のようであった。正倍数性を示した個体そのものの稔性も低くその次代の稔性も階級の中は広がったが5~45%の範囲でその翌代は前代で最高の稔性を示した個体の種子を用いて養成して自殖した結果、稔性は10~50%の範囲にあってこの世代でも特別に高稔性の個体は生じなかったし上記稔性範囲に分布する個体の頻度も大きな違いはみられなかった。染色体数確認後第3代目は前代稔性の高い方から第2位の33.8%の個体の種子を用いて養成し自殖した稔性は0~50%の範囲にあり、これも特別に高い稔性ではなかった。第4世代目は3世代目の稔性の高い方から第3位の稔性の35.8%を示した個体の種子を用いて15個体を養成し、その自殖稔性を調査した結果15~40%の範囲の稔性を示し前代までの稔性分布と大差はなかった。

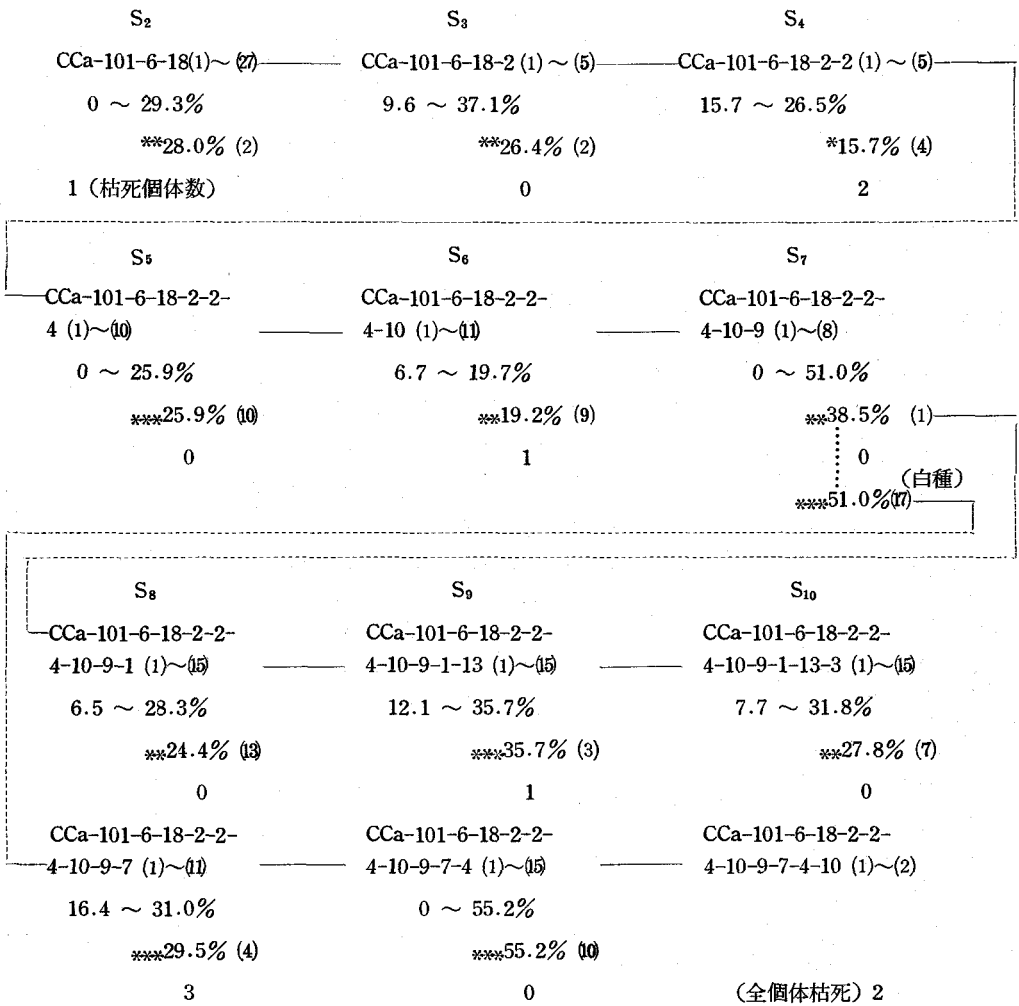
表5 混合受粉(M<sub>3</sub>)の染色体数調査で正六倍体と確認した後代の自殖稔性

CCa-101-6-18 M <sub>3</sub> S <sub>1</sub>	M <sub>3</sub> S <sub>2</sub>	M <sub>3</sub> S <sub>3</sub>	M <sub>3</sub> S <sub>4</sub>	M <sub>3</sub> S <sub>5</sub>
*29.0	6.9	14.5	0	18.5
	16.1	15.5	0	23.1
	21.0	24.5	17.4	23.7
	22.8	24.6	19.7	24.9
	24.7	26.5	28.6	26.3
	26.9	27.2	29.7	28.5
	27.2	28.3	34.4	31.7
	36.7	29.1	*35.8	32.7
	*40.9	30.6	45.0	34.8
		31.9	50.0	35.8
		32.3		36.4
		*33.8		37.6
		45.6		38.7
				39.6
				40.0

\*印は次代養成に用いた個体

以上の様に染色体数をチェックした後注意深く自殖で継代しても安定した高稔性の後代が得られなかった。一方染色体数チェック前の3世代にわたる同一系統内姉妹間混合受粉による継代で正倍数性が維持されていることも明らかである。

5 稔性を中心とした継代経過(後代育成経過) : 各世代間の稔性の関連と高稔性をねらった淘汰の効果をみるため図2と図3に育成経過を示した。各世代とも最低と最高の稔性を示し又次代養成に用いた種子をとった個体の稔性をその下に示し各世代間における相互の稔性の推移が解るようにした。自殖継代で次代養成に用いた当代の稔性はいずれの世代でも最高かもしくは最高に近い高稔性の個体から養成した結果、例えば自殖(S<sub>5</sub>)の25.9%の個体の種子を用いて次代11個体を養成したものは6.7%~19.7%の稔性で(S<sub>6</sub>)ここで又19.7%の最高稔性を示し



註: 各世代とも系統番号, 個体番号( )内, 個体ごとに調査した種子稔性範囲, 次代養成に用いた種子稔性個体番号( )内, 枯死個体数の順に表示した。S<sub>5</sub>以降二系統。次代用種子稔性の符号は当代の個体中 \*.....低稔性 \*\*.....高稔性 \*\*\*.....最高稔性 を示す。

図2 CCa101-6-18 自殖(s)継代系統図

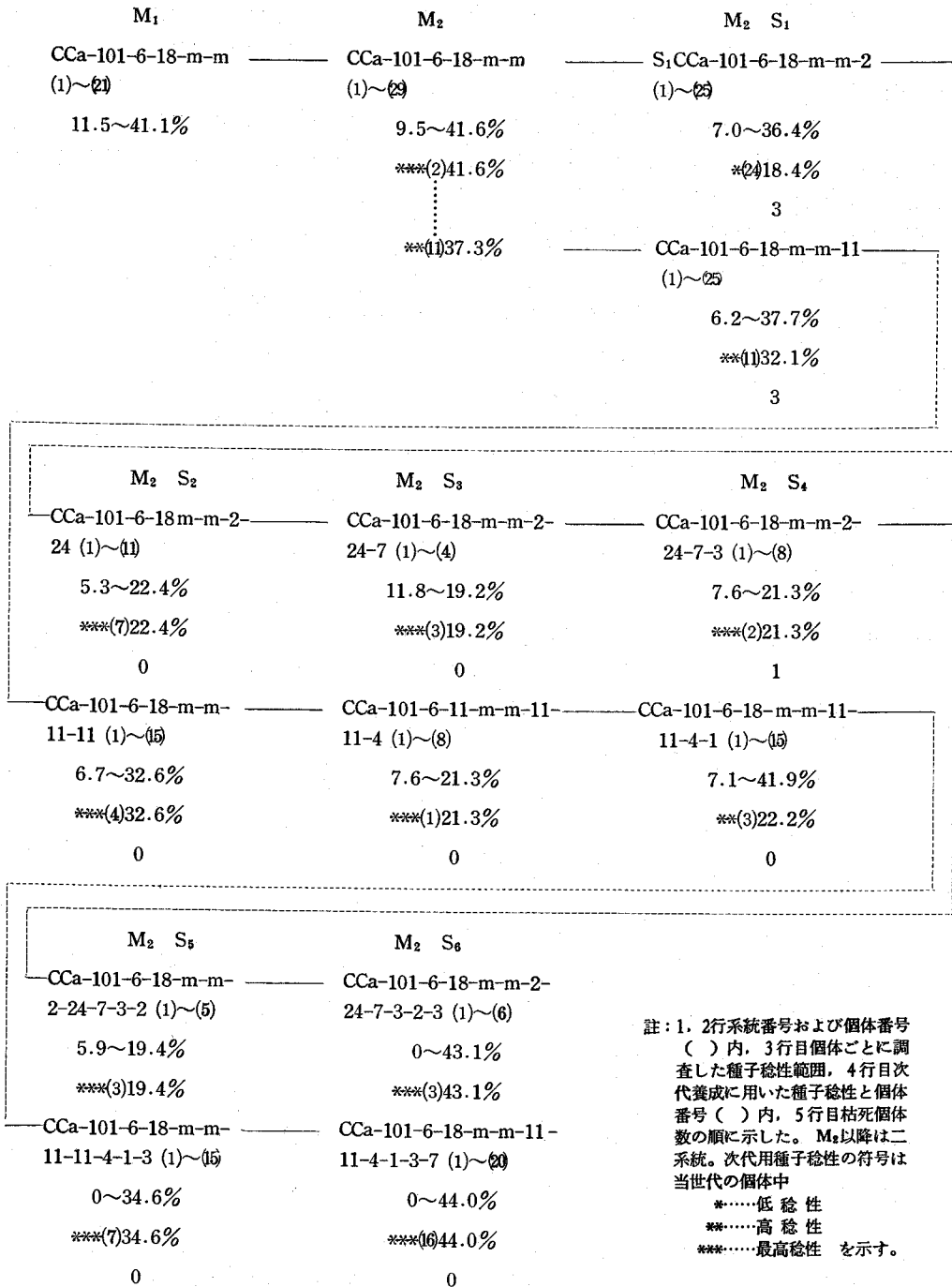


図 3 CCa101-6-18 姉妹混合受粉(M)後自殖(S)継代系統図

た個体から次代 ( $S_7$ ) 8個体を養成し0~51.0%の稔性を示した個体(いずれも当世代の高稔性個体)の種子を用いてそれぞれ2系統を養成したところ以後の稔性は図に示したごとく変化した。このうち51.0%の稔性を示したのから分系した系統は種皮色が白色の系統で $S_0$ で最高55.2%までの高稔性を示したがその翌代 $S_{10}$ では発芽まで15個体程あったがその後も枯死するものが多く定植後2個体も最終的には枯死し次代を養成する種子は得られずこの系統はこの世代で途絶えた。 $S_7$ のもう一方の38.5%の稔性を示した個体の後代は種皮色が黒褐色の系統で以後の世代でも35.7%が最高の稔性でそれ以上の稔性は得られなかったが以後の各世代で15個体ずつ安定した個体数の養成ができた。この結果は高稔性だけを目標にした選抜に当て注意を要する点である。

混合受粉後自殖で継代したもの(図3)についても同様の傾向であり、この場合も5世代にわたり常に前代で最高稔性を示した個体の種子を用いて次代を養成したが5世代通じての最高で43.1%の稔性がみられたのみであった。

混合受粉のみで継代した時は一切の選抜は行なわなかったが8世代を通じて8.1~43.2%の範囲でこの場合も50%以下の稔性であって、自殖、混合受粉後自殖継代した時と比較すると同様の傾向を示した。

**6 染色体数の変異:** 自殖4世代目植物のIMの対合を表6に示した。 $27n$ の対合が40.9%観察され、この世代ではかなりの高い頻度で規則正しい対合がなされている。他方4価の出現は細胞当たり1~3個又1価は1~6個観察され3価も1~3個観察された。更に世代数を重ねた $S_7$ では1価の出現頻度が高く1細胞当たり1価染色体数も2~8個と多くなった。4価の出現数は1~2個、3価は1個みられたのみであった。2価対合の数は21~27で $27n$ の対合頻度は極端に低くなっている。観察細胞数が少ないので余り確かでないが自殖継代の7世代までの間にこの様に各対合の頻度に違いが生じていることだけは確かである(図4参照)。

表6  $S_4$ 植物におけるIMの対合型と頻度

系統	対合型															
	I	19I+	20I+	21I+	22I+	23I+	24I+	25I+	26I+	27I	1II	2II	3II	1IV	2IV	3IV
CCa-101-6-18 $S_4$	1~6	1	1	2	2	2	1	1	3	9	2	1	1	2	5	1

根端細胞における染色体数もこれを裏付けるようなもので、いずれの受粉法で継代した後代でも染色体数は大きく変異している。表7は $2n$ 染色体数の変異を継代受粉法別、系統ごとに示した。この表から明らかなごとく自殖(S)後代でも正倍数の $2n=54$ を示すものがなく、混合受粉後自殖(MS)で継代したものには $2n=48$ の染色体数の頻度が高くなっている。混合受粉三世代後自殖したものもこの傾向がみられる。混合受粉で継代したものは調査数は少ないが極端な低染色体数を示すものと比較的高染色体数を示すものがみられ両極端に分れる傾向

表7 根端細胞における染色体数

系統	染色体数(2n)													
	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	
CCa-101-6-18 $S_7$				1	5	5	11	11	7	6	2			
CCa-101-6-18 $M_3 S_2$	3	1	9	4	18	12	22	9	7	0	8	1	1	
CCa-101-6-18 $M_2 S_4$	1	0	1	1	9	7	29	7	7	3	2	1		
CCa-101-6-18 $M_4$				1	0	0	0	3	5	1	1	0	1	

を示した。いずれにしても  $2n=54$  から総てマイナスの方向に巾広い変異を示し正倍数性の維持が難かしいものとみなされる (図4参照)。

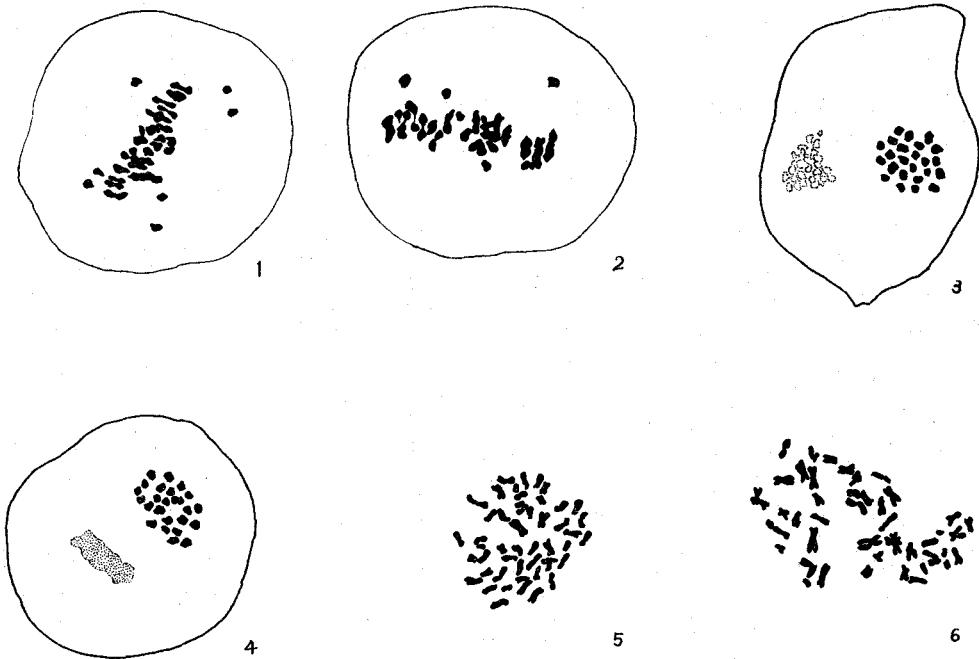


図4 CCa-101-6-18植物後代におけるIM, IIMおよびRTの染色体

- 1)  $S_7$  IM,  $1_{IV}+22_{I}+7_{I}$     2)  $S_7$  IM,  $1_{IV}+23_{I}+4_{I}$     3)  $M_3S_4$ ,  $24 : x$   
 4)  $M_4$ ,  $25 : x$     5)  $M_5$ ,  $2n=48$     6)  $M_5$ ,  $2n=50$

#### 考 察

CCa101-6-18の植物の花粉粒径を合成に用いた親植物と比較した結果図1に示したごとく長径では二基種親であるCa101の粒径に近い分布を示し、短径では合成に用いられた両親の中で粒径の大きいCa101よりも更に大きく完全に両親を越える粒径を示したことは含まれるゲノム数の増加と平行しているものと考えられる。この傾向は別の実験で合成に用いた二基種の親植物が人為キャリナータ(Nio)を用いたゲノムの組み合わせは全く同様の三基六倍体CNio-333~33の場合も同様の傾向を示し、二基種親のNioの粒径と似た分布を示したが短径は両親の中で粒径の大きいNioよりも更に大きな粒径を示し、CCa101-6-18の場合と類似している。然も粒径の絶対値はそれぞれの親植物の粒径の影響を受け親植物と一定の距離を保った粒径モードの周囲に分布していることは親植物とそれから生じた合成六倍体の相互の関係として重要と考えられる。

花粉総性は $S_2$ で調査しても又 $S_7$ で調査しても、更に自殖で継代した後代でも姉妹混合受粉後自殖で継代したものでもその総性に差はなく50~60%の総性を示すことは次に述べる種子総性を規定する要因になっているものと考えられる。



種子稔性は上記花粉稔性の影響を直接的に受け各世代とも低稔性を示す個体が多い。然し花粉稔性と種子稔性は必ずしも平行せず花粉稔性よりも種子稔性が低い傾向がみられることは受粉から受精そして種子形成までには尚何等かの障害があるもの様である。合成に用いた親植物のゲノム間の部分相同性が既に明らかなのでこれらゲノムを合わせて雑種を作った時異なるゲノム間に含まれる相同染色体の対合による多価染色体の形成ならびに1価染色体の出現による減数分裂の不規則性から異数性配偶子が形成されることが花粉不稔など受精に影響をおよぼし稔性の低下を来すものと考えられている。本実験の結果もIMでⅢ, IV価の対合が観察され、他方1価染色体も出現し(表6, 図4-1~2, 写真5.6.7), 後代で異数性配偶子の出現とそれに伴う異数体の出現を裏付けている。II Mの観察でも正倍数に必要な27の配分でなく24, 25染色体の配分が観察された(図4-3~4)。

根端細胞では $2n=42\sim 54$ の変異を示し正倍数の $2n=54$ を示した個体はごく少く、 $2n=48$ の頻度が最も高くII Mでの観察結果と一致している。このことからCCca101-6-18植物の後代は、この実験で用いた継代する受粉法のいかにかわらず6~7世代経過後 $2n=48$ を中心に(+)と(-)の両方向に染色体数変異をもつ異数体に崩壊することが明らかになった。種子稔性調査の結果もこのことを裏付けている。

7世代目, 8世代目で自殖継代稔性が上昇した個体も生じたがこの50%を越す稔性を示した個体の種子を用いてその後代を養成したらその後4世代目に育苗中枯死個体多く定植した2個体も最終的に枯死する結果になった。高稔性系として分系する前の個体で染色体数調査をしたらIV価が1~2個II価が22~25個I価が2~8個で $27n$ のみから成るものは観察されなかった。また混合受粉継代の三世代目で $2n=54$ の染色体数を確認した個体の種子稔性は29.0%でこの種子を使い後代を養成し稔性調査した結果(表5)でも正倍数性を示した個体そのものの粒性も低く更にその後4世代にわたり毎代高稔性個体の種子を用いて次代を養成したが高稔性系統が得られなかったことから正倍体の稔性が高く異数体の稔性は低いというようなことはなく、この点から正倍体と異数体を区別することは困難である。このことは継代経過図(図2.3)からも明らかなごとく、この場合も常に前代で高稔性を示した個体の種子を用いて次代を育成したにもかかわらず、後代に至っても稔性の向上はみられず殆んど50%以下の稔性とどまっていることから高稔性個体選抜による正倍数体の純殖も困難である。表7の $2n$ 染色体数の変異から、もし異数体として固定するとすれば染色体数 $2n=48$ 植物として固定する可能性はあるが表7からその頻度は27.8%である。

自殖継代の後代植物と姉妹混合受粉後自殖継代した後代植物では前者の葉がろう質のない軟葉で側枝は地際部から生ずるのに対し、後者はろう質葉で側枝が上部から生ずる傾向がある。(写真1.2.3参照)生育は共に遅い方で前者は蔬菜の菜類として利用可能な形質をもつが抽苔が早い。

以上の結果を二基種×一基種から合成した従来合成三基六倍体(MORINAGA, T. 1931 水島 1952. OLSSON 1963. IWASA. 1964)の場合と比較すると逆組合わせに由来する本実験の結果も極めてよく似た同様の傾向を示し、正倍数体としての純殖の可能性はきわめて少なく、 $2n=48$ 植物の異数体としての固定の可能性が僅かに期待される。

## 摘 要

1) 花粉粒径と稔性について調査し本材料の花粉は両親のいずれも越す大型の花粉で稔性は

50~60%で後期世代でも変らない。

2) 継代受粉法を自殖, 姉妹混合受粉, 姉妹混合受粉後自殖でおこない種子稔性を個体ごとに調査したらいずれの受粉法でも又どの世代でも50%程度以下の低い稔性である。

3) 上記三通りの方法で継代した時後代の植物の生育, 形態に差がみられる。

4) 正倍数体の稔性も29.0%程度で低くその後代を自殖した個体の稔性分布も50%以下の範囲にとどまった。

5) いくつかの世代で染色体数を調査したが異数性を示すものが多かった。

6) 高稔性個体を目標にした正倍体選抜がきわめて困難である。

7) 二基種×一基種から合成された三基六倍体の場合と類似の花粉母細胞における分裂の不規則性, 純殖の困難性が観察され, わずかに $2n=48$ の異数体としての固定の可能性が期待される。

### 引 用 文 献

- 1) IWASA, S. (1964) Cytogenetic studies on the artificially raised trigonomic hexaploid hybrid forms in the genus *Brassica*.
- 2) MORINAGA, T. (1931) Interspecific hybridization *Brassica*. IV. The cytology of  $F_1$  hybrids of *B. Carinata* and some other species with 10 chromosomes. *Cytologia*, 3. 77~83.
- 3) MIZUSIMA, U. (1950) On several artificial allopolyploids and Ginus hybrids in the tribe *Brassicaceae* of *Crucifera*. *Tohoku, Jour. Agri. Res.* vol. 1. No. 1.
- 4) 水島宇三郎 (1952) アブラナ類の核遺伝学的研究. 技報堂.
- 5) OLSSON, G. (1963) Induced polyploids in *Brassica*. *Recent plant breeding Research.* svalöf. 1946—1961.
- 6) 武田豊蔵 (1967) アブラナ類合成三基六倍体, *Brassica Carinata* HARRON × *B. Campestris* L. および (*B. Nigra* KOCH × *B. Oleracea* L.) × *B. Campestris* var. *SALSON* の稔性. 岩大教育研究年報, 27巻.
- 7) ——— (1973) *B. Chinensis* × *B. Carinata* 後代の稔性. 育雑23巻. 別 2.

### 写 真 説 明

- |                        |                             |                           |
|------------------------|-----------------------------|---------------------------|
| 1. $M_2S_4$ 植物抽苔期      | 2. $M_4$ 開花期                | 3. $M_3$ 着菜状態             |
| 4. $S_3$ 植物からの花粉       | 5. $S_5$ . I M. 1IV+23II+3I | 6. $S_4$ . II M. 24: 24   |
| 7. $S_4$ . II M. 24: x | 8. $S_5$ . RT. $2n=48$      | 9. $M_3S_2$ . RT. $2n=51$ |

