HOKKAIDO UNIVERSITY

| | |
|---|---|
| Title | テンサイにおける人為誘発の細胞質雄性不稔性に関する遺伝学的研究 |
| Author(s) | 三上, 哲夫 |
| Citation | 北海道大学農学部邦文紀要, 13(2), 187-223 |
| Issue Date | 1982-03-30 |
| Doc URL | http://hdl.handle.net/2115/11974 |
| Type | bulletin (article) |
| File Information | 13(2)_p187-223.pdf |

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

# テンサイにおける人為誘発の細胞質雄性不稔性に関する遺伝学的研究[1)]

三上哲夫
(北海道大学農学部作物育種学教室)
(昭和56年11月2日受理)

# Genetical Studies on the Artificial Mutants of the Cytoplasmic Male Sterility in Sugar Beets

Tetsuo MIKAMI
(Plant Breeding Institute, Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo, Japan)

目　次

第1章　緒　論 …… 187
第2章　ガンマー線処理により誘発された雄性不稔性の遺伝様式 …… 189
1. 緒　言 …… 189
2. 実験材料および方法 …… 189
3. 実験結果 …… 190
1) 雄性不稔性の伝達様式 …… 190
2) 不稔細胞質と花粉稔性回復遺伝子との関係 …… 192
3) $F_2$ における花粉稔性変異 …… 196
4. 考　察 …… 196
第3章　花粉稔性回復遺伝子の同定とそれに基づく不稔細胞質の異型性検定 …… 197
1. 緒　言 …… 197
2. 実験材料および方法 …… 198
3. 実験結果 …… 198
1) $S$ 細胞質型に対する維持花粉親(O型)による検定交雑 …… 198
2) 誘発不稔細胞質 $S_{i-2}$ および $S_{i-3}$ を有する稔性回復系統の育成とこれを用いた交雑実験 …… 202
3) 原系統 H-2002 よりの検定花粉親による交雑 …… 203
4) 花粉稔性回復性と胚数性の関係 …… 204
5) 細胞質型を異にする稔性回復型個体間での相反交雑 …… 207
4. 考　察 …… 207
第4章　雄性不稔変異体における花粉退化の細胞学的特異性 …… 209
1. 緒　言 …… 209
2. 実験材料および方法 …… 209
3. 実験結果 …… 209
1) 減数分裂 …… 209
2) 小胞子形成過程 …… 210
3) 葯壁組織の澱粉反応 …… 213
4. 考　察 …… 213
第5章　綜合論議 …… 214
摘　要 …… 215
引用文献 …… 216
Résumé …… 221

## 第1章　緒　論

細胞質雄性不稔性は高等植物に広汎に見出され，EDWARDSON の綜説[19)]によれば，その報告例は25属80種に及ぶという。同氏はこれらの雄性不稔性をそれぞれの由来に基づき，1) 異属間，2) 異種間および 3) 種内交雑起源ならびに 4) 自然発見の4種に分けた。不稔性を誘起する細胞質型の成因やそれが特定集団に保持されている機構については未だ充分に明らかにされていない。しかし細胞質雄性不稔性が染色体外にある，自己複製機能を有する細胞質遺伝子によって担われているとするならば，その細胞質遺伝子も半保守的であり，遺伝変異を偶発し得る核遺伝子の如き属性を備えると考えてよい。事実，トウモロコシにおいては第7染色体に座乗

1) 北海道大学農学部作物育種学教室業績

する *iojap* 遺伝子により細胞質雄性不稔性が生ぜしめられ[78]，更に人為誘発例としてモロコシのコルヒチン処理[23]，テンサイでのガンマー線照射[48]，トウモロコシのガンマー線あるいは速中性子照射[107]およびパールミレットの ethidium bromide 処理[10]の4種の成功例が報告されている。また不稔細胞質型から正常細胞質型への偶発復帰変異とみられる事例もトウモロコシ[102]やパールミレット[7),13]で知られており，したがって細胞質遺伝子に生じ得る遺伝的変化が単なる遺伝子欠失に止らぬことも容易に理解されよう。

しかも雄性不稔細胞質は一種一型とは限らない。細胞質型の多様性は種間あるいは属間交雑に起源をもつ異質細胞質 (alloplasmic) 雄性不稔には広く認められる現象であり[19),112]，トウモロコシやパールミレットなどの如く同質細胞質 (autoplasmic) 雄性不稔においても見出されている[3),8),17]。

テンサイにおける細胞質雄性不稔性の研究は ARCHIMOWITSCH[1]による発見が最初である。次いで OWEN[72),73]は品種「US 1号」より見出した雄性不稔性の遺伝機構として不稔細胞質 $S$ と2対の補足的に働く花粉稔性回復核遺伝子 $X$, $Z$ との相互作用を仮定した。花粉稔性の回復に与る核遺伝子の対数や作用の仕方に関しては遺伝子座間の上位性を想定する仮説[4),74]や単因子説[4),82),83),109]，三因子説[39]およびポリジーン説[81]などが提起され，その外に花粉稔性を向上せしめる優性遺伝子 $Sh$[35]を始めとして種々の変更遺伝子が関与する可能性も示された[59),65]。しかし OWEN の2遺伝子仮説は基本的には他の研究者の多くにより支持を得ているといってよい[52),59),65),111]。

花粉不稔性と他形質の間の関係については $X$ 遺伝子と単胚遺伝子 ($m$) との連鎖[35),60]や，稔性回復性と葯の着色性の遺伝的関連[105]が指摘されている。特に単胚性は重要な育種形質の一つとして注目され[76),93),94),95),96]，これと細胞質雄性不稔を併せ利用した単胚性三倍体一代雑種の育成が，我国や欧州諸国における育種の主流となっている[91]。

以上の遺伝解析と併行して，花粉不稔性の細胞組織学的検討も進められ，小胞子退化が葯のタペート細胞の異常肥大と密接な関連を有することが ARTSCHWAGER[2]を始め，その後の研究者によって共通して確認された[36),59),69),80]。また葯組織の組織化学的考察[37),38),62]や微細構造に関する電子顕微鏡レベルでの観察[61]も行なわれたが，不稔の原因とその副次的効果を正確に区別することは必ずしも容易ではない。

雄性不稔細胞質の本性や遺伝的変異の問題に論及した報告としては，先ず接木に基づく不稔性の無性的伝達の成功例[15]や不稔個体の高温処理あるいはこれと生長点培養を組合せた稔性回復例[12),56]があげられる。雄性不稔の決定子 (determinant) がウイルスないしエピゾーム様因子であるとする仮説はペチュニア[20),25),26),27]などで提出されているが，同時に否定的な試験結果も少くない[16),47),54),70),90),101),110),115]。また *Beta macrocarpa* やトルコ起源の wild leaf beet からも新たな雄性不稔株が発見され[71]，最近パキスタン，トルコ，中国など由来の異なる不稔細胞質間での遺伝的分化も論議されている[108]。

一方，KINOSHITA and TAKAHASHI[48]，木下・高橋[49]はガンマー線処理による細胞質雄性不稔の人為誘発に成功し，得られた不稔細胞質の下での花粉稔性回復機構は，自然発見の $S$ 細胞質におけるものとは異なることを指摘した。誘発細胞質が既知の $S$ と相違するなら，それは遺伝的な細胞質変異が人為的手段によって生起せしめられたことの裏付けとなり，同時にそのことは細胞質遺伝子も核遺伝子と同様な変異性を有し，かつその変異を人為的に拡大し得る可能性を示しているといってよい。

本研究ではガンマー線処理によって誘発された雄性不稔変異体を扱い，花粉稔性回復性の遺伝機構を精査し，次いでそれぞれの維持する不稔細胞質型間に予想される遺伝変異の解析を企てた。すなわち花粉稔性回復性に関する遺伝子分析を試み，細胞質因子と稔性回復遺伝子との相互作用における特異性を検出した上で，細胞質型の異同を推定した。かかる細胞質的差異をここに「細胞質の異型性」と仮称し，区別された各々を「異型雄性不稔細胞質」と呼ぶことにする。また各不稔変異体における小胞子退化の細胞学的機作にも検討を加え，以上を綜合して人為誘発による細胞質雄性不稔性の遺伝的機構に関する解析の一助とした。

本論文は北海道大学に提出した学位論文の概要であり，研究の遂行と取り纒めに終始懇切な御指導を賜った北海道大学名誉教授高橋萬右衛門博士，同教授木下俊郎博士，ならびに論文校閲の労をとられた同名誉教授細川定治博士，同教授津田周彌博士に謹んで感謝の意を表する。また供試系統の一部は農林水産省北海道農業試験場てん菜部およびウィスコンシン大学の BLISS, GABELMAN 両博士によって育成されたものである。各位の御厚意に対し御礼申し上げる。

## 第2章 ガンマー線処理により誘発された雄性不稔性の遺伝様式

### 1. 緒　言

テンサイ育種に現用されている細胞質雄性不稔性はいずれも自然集団ないし栽培品種から見出されたものである。一方 KINOSHITA and TAKAHASHI[48] はガンマー線を突然変異源として正常細胞質型 ($N$) 系統 H-19 および H-2002 より7種の雄性不稔変異株を得た。その一部については不稔性が $M_4$ 代まで高頻度で母系伝達され，原系統との相反交雑試験によって細胞質遺伝も確かめられた。しかしこれらの雄性不稔系統を育種的に利用するには，更に細胞質変異の安定性や稔性回復の遺伝機構を詳細に検討する必要がある。

本章では H-2002 由来の細胞質突然変異系統を供試し，雄性不稔性の後代への伝達性を調査するとともに，自然集団起源の $S$ 型不稔検定系統との比較対照の下に各系統における稔性回復性の遺伝様式を分析した。

### 2. 実験材料および方法

供試系統を一括して Table 1 に示した。表中の雄性不稔系統 $\gamma$-60, $\gamma$-114, $\gamma$-130 および $\gamma$-165 はいずれも正常型細胞質 ($N$) を有する複胚系統 H-2002 の乾燥種子に総線量 50 kR をもってガンマー線照射 ($^{60}$Co 線源，線量率 1.75 R/M) を行い，作出した突然変異体に由来する。自然発見の $S$ 細胞質を保有する検定系統としては単胚系統 H-19 MS を用いた。

交雑に当っては各不稔系統より完全不稔型あるいは部分不稔-b 型個体を選んで母体とし，これらに雄性不稔突然変異体の原系統である H-2002 または単胚性の検定系統 H-19 から任意抽出した個体を花粉親として配した。

系統あるいは個体番号の表示は以下の通りである。

**Table 1.** List of strains used in the experiments

| Strain | Type of crop | Type of cytoplasm* | Germ type | Description |
|---|---|---|---|---|
| $\gamma$-27 | Sugar beet | $S_{i-1}$ | Monogerm | Progeny of cytoplasmic mutant induced from H-19 |
| $\gamma$-60 | do | $S_{i-2}$ | Multigerm | Progeny of cytoplasmic mutant induced from H-2002 |
| $\gamma$-114 | do | $S_{i-4}$ | do | do |
| $\gamma$-130 | do | $S_{i-3}$ | do | do |
| $\gamma$-165 | do | *do* | do | do |
| H-19 | do | $N$ | Monogerm | A selection from monogerm strain 'M-10' |
| H-19 MS | do | $S$ | do | Male sterile strain bred in Hokkaido University |
| H-2002 | do | $N$ | Multigerm | A selection from Japanese variety 'Donyu-2 go' |
| K-strain | do | $S$ | do | Male sterile line selected from the variety 'Hon-iku-192' |
| TK 81-O | do | $N$ | Monogerm | Type-O line introduced from Hokkaido Agr. Exp. Station |
| TK 81-CMS | do | $S$ | do | Isogenic line of TK 81-O, with male sterility |
| SLC 129-CMS | do | *do* | do | Male sterile line introduced from Hokkaido Agr. Exp. Station |
| SLC 133-CMS | do | *do* | do | do |
| TA-1-CMS | do | *do* | do | Annual male sterile line introduced from Hokkaido Agr. Exp. Station |
| W 162-6 | Table beet | $N$ | Multigerm | Type-O line introduced from the University of Wisconsin |
| W 162-A-4 | do | $S$ | do | Isogenic line of W162-6, with male sterility |

*$N$; Normal or fertile, $S$; Sterile.

例えば$\gamma$-60-206：598と表記した場合には重点記号を挟んで$\gamma$-60-206が系統番号を，598が個体番号をそれぞれ示すものとする。なお放射線誘発の細胞質型に対して$S_{i-1}$から$S_{i-4}$に至る4種の遺伝子記号を与え，自然発見の$S$細胞質と区別した。これに伴い，稔性回復遺伝子に対しても$Rf$に一連のアラビア数字を付した記号を新たに対応せしめ，既知の$X$, $Z$も以上にならって各々$Rf_1$ $Rf_2$と改めた。

雄性不稔型の分類はNAGAO and KINOSHITA[59]の規準によった。すなわち正常型（$N$），部分不稔-a型（S. S. a），部分不稔-b型（S. S. b）および完全不稔型（C. S.）の4階級の区分である（Table 2）。花粉稔性はコットンブルー染色により検鏡調査し，百分率で示した。

**Table 2.** Classification of male sterility

| | Type of male sterility (Abbr. of type) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Normal (N) | Partial fertile (S. S. a) | Sterile (S. S. b) | Complete sterile (C. S.) |
| Color of anther | Yellow | Yellow | Orange | White |
| Dehiscence | + | ± | − | − |
| Pollen sterility (%) | 0-30 | 30-80 | 80-100 | 100 |

### 3. 実験結果

#### 1) 雄性不稔性の伝達様式

H-2002より作出した4種の雄性不稔系統$\gamma$-60, $\gamma$-114, $\gamma$-130および$\gamma$-165の育成経過は以下の如くである。すなわち照射当代（$M_1$）の個体から開放受粉下で母本別に採種を行い，$M_2$系統に展開した。$M_1$代の50 kR区には正常型の外に24個体の部分不稔-b型および2個体の完全不稔型（出現頻度は各々12%，1%）が生じ，一方無処理区にはかかる不稔植物は全く出現しなかった[48]。4種の不稔系統（以下ガンマー系統と呼ぶ）はいずれも$M_1$でS. S. b型を示した個体の後代であり，$M_1$から$M_2$への母本別の不稔性（S. S. b型およびC. S. 型）伝達率は46～84%の高い価を示した。次いで$M_2$以降の伝達様式を調査したところ，Table 3, 4にみられる如く$M_2$から$M_3$へは59～97%，更に$M_3$から$M_4$へは49～93%と，共に比較的高い母系伝達率をもって雄性不稔性が維持されていることが確かめられた。

EKBERG[21]はオオムギの人為誘発による不稔の成因を 1) 転座や 2) 逆位，3) 25%の種子不稔あるいは 4) 50%の種子ないし配偶体不稔および 5) 劣性ホモ接合型の生存不能，の5種に分類した。第5の型には遺伝子雄性不稔が含まれているが，細胞質雄性不稔については言及されていない。またテンサイでは先にX線処理によって遺伝子雄性不稔が誘発された事例[75]があり，本実験においても$M_1$集団中には上記の如き各種の不稔性が含まれていた可能性は充分にある。しかし4種のガンマー

**Table 3.** Transmission of male sterility from $M_2$ plants to $M_3$ lines

| Line | Phenotype of $M_2$ plant | Phenotype of $M_3$ line | | | | Total | Seed setting (%) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | N | S. S. a | S. S. b | C. S. | | Mean | Range of var. |
| $\gamma$-60：206 | C. S. | 2 ( 2)* | 14 (13) | 52 (49) | 39 (36) | 107 (100) | 67 | 30-96 |
| $\gamma$-114：778 | C. S. | 3 ( 3) | 10 ( 9) | 29 (26) | 68 (62) | 110 (100) | 64 | 15-94 |
| $\gamma$-130：419 | C. S. | 19 (24) | 14 (18) | 21 (27) | 25 (32) | 79 (101) | 76 | 45-94 |
| $\gamma$-165：465 | C. S. | 0 ( 0) | 2 ( 3) | 45 (75) | 13 (22) | 60 (100) | 66 | 35-93 |

Homogeneity among four $M_3$ lines：$\chi^2=82.31$, d.f.$=6$, $P<0.001$.

* The percentage is given in parenthesis.
N and S. S. a were pooled in the calculation of chi-square.

**Table 4.** Transmission of male sterility from $M_3$ plants to $M_4$ lines

| Line | Phenotype of $M_3$ plant | Seed set. of $M_3$ plant (%) | Phenotype of $M_4$ line | | | | Total | Seed setting (%) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | N | S. S. a | S. S. b | C. S. | | Mean | Range of var. |
| γ-60-206 : 598 | C. S. | 91 | 11 (13)* | 4 ( 5) | 23 (26) | 50 (57) | 88 (101) | 74 | 23–97 |
| : 617 | C. S. | 76 | 12 (31) | 6 (15) | 9 (23) | 12 (31) | 39 (100) | 68 | 31–90 |
| : 628 | C. S. | 86 | 9 (18) | 6 (12) | 20 (41) | 14 (29) | 49 (100) | 72 | 53–86 |
| : 645 | C. S. | 89 | 5 (16) | 4 (13) | 10 (32) | 12 (39) | 31 (100) | 69 | 42–91 |
| : 650 | C. S. | 87 | 9 (13) | 7 (10) | 19 (28) | 32 (48) | 67 ( 99) | 70 | 26–88 |
| γ-114-778 : 727 | C. S. | 75 | 7 (19) | 2 ( 5) | 12 (32) | 16 (43) | 37 ( 99) | 67 | 38–96 |
| : 736 | C. S. | 73 | 6 (10) | 2 ( 3) | 32 (54) | 19 (32) | 59 ( 99) | 73 | 40–97 |
| : 750 | C. S. | 77 | 10 (13) | 6 ( 8) | 27 (36) | 33 (43) | 76 (100) | 81 | 28–89 |
| : 763 | C. S. | 81 | 22 (23) | 16 (17) | 30 (32) | 27 (28) | 95 (100) | 68 | 23–95 |
| : 773 | C. S. | 85 | 20 (27) | 5 ( 7) | 35 (47) | 14 (19) | 74 (100) | 75 | 35–89 |
| : 775 | C. S. | 74 | 18 (35) | 8 (16) | 7 (14) | 18 (35) | 51 (100) | 79 | 50–98 |
| γ-130-419 : 544 | C. S. | 87 | 32 (42) | 7 ( 9) | 13 (17) | 25 (32) | 77 (100) | 64 | 43–89 |
| : 546 | C. S. | 83 | 7 (20) | 4 (11) | 8 (23) | 16 (46) | 35 (100) | 75 | 40–93 |
| : 556 | C. S. | 83 | 7 (15) | 2 ( 4) | 20 (43) | 18 (38) | 47 (100) | 72 | 23–97 |
| : 557 | C. S. | 83 | 7 (12) | 4 ( 7) | 14 (24) | 33 (57) | 58 (100) | 67 | 35–81 |
| : 560 | C. S. | 83 | 14 (28) | 2 ( 4) | 13 (26) | 21 (42) | 50 (100) | 73 | 49–92 |
| γ-165-465 : 681 | C. S. | 68 | 16 (18) | 7 ( 8) | 35 (39) | 31 (35) | 89 (100) | 75 | 45–93 |
| : 682 | C. S. | 65 | 1 ( 4) | 2 ( 9) | 13 (57) | 7 (30) | 23 (100) | 66 | 32–91 |
| : 695 | C. S. | 70 | 6 ( 6) | 5 ( 5) | 47 (47) | 43 (43) | 101 (101) | 69 | 42–83 |
| : 698 | C. S. | 62 | 1 ( 2) | 2 ( 5) | 20 (48) | 19 (45) | 42 (100) | 69 | 27–95 |

Homogeneity among 20 $M_4$ lines: $\chi^2=142.98$, d.f.$=40$, $P<0.001$.

* The percentage is given in parenthesis.

N and S.S.a were pooled in the calculation of chi-square.

系統の維持する雄性不稔性は $M_4$ 代まで比較的安定して母系伝達されており，世代更新に当っては種子着粒率の高い個体が選抜されていることなどをも考え併せるなら，これらは細胞質変異によるものとみてよいであろう。因みに γ-165 の現わす雄性不稔性に関しては $N$ 細胞質型の原系統 H-2002 との相反交雑により細胞質遺伝が確かめられている[48]。

なお $M_3$ あるいは $M_4$ 系統は全て完全不稔型個体の次

代であるにもかかわらず，雄性不稔各型の出現頻度は母系間でかなり異なっていた。これは開放受粉下の採種故，花粉制御がなされていないために生じた現象とも考えられるが，別にガンマー線処理により細胞質遺伝子と核遺伝子の相互作用に新たな遺伝変異が生起せしめられたことに起因する可能性もある。この点に関して以下に検討を加えた。

**2) 不稔細胞質と花粉稔性回復遺伝子との関係**

4種のガンマー系統について花粉稔性回復性の遺伝機構を明らかにするために，各系統の $M_2$ に生じた S. S. b 型および C. S. 型個体を母本として，これらに5種の花粉親個体 H-2002 : 1, H-2002 : 2, H-2002 : 3, H-19 : 1 および H-19 : 2 を交配した。いずれの組合せにおいても $F_1$ では雄性不稔型 (S. S. b および C. S.) の外に稔性回復型 (N あるいは S. S. a) の分離をみたが，これは花粉親植物が各ガンマー系統の不稔細胞質に働く稔性回復遺伝子をヘテロ型で保持していたためと解される。続いて $F_1$ の稔性回復型個体間で姉妹交配を行い $F_2$ 集団を養成した。なお $S$ 細胞質型の不稔性についても H-19 MS よりの完全不稔型個体と H-2002 : 1, H-2002 : 2 あるいは H-2002 : 3 との交雑による $F_1$ および $F_2$ での遺伝子分析を行って，ガンマー系統における場合との比較対照に資した。

$S$ 細胞質の下では花粉稔性回復に2対の補足遺伝子 $Rf_1$, $Rf_2$ が関与し，$Rf_1$ は単胚遺伝子 $m$ と連鎖関係にある[59),60)]。本実験でも H-19 MS : 822×H-2002 : 1 の $F_2$ 分離をみると，N+S. S. a : S. S. b : C. S.=9 : 6 : 1 の理論比をほぼ満足する成績が得られ (Table 5), 更に $Rf_1$

**Table 5.** $F_1$ and $F_2$ segregations of male sterile types in the crosses between H-19 MS and pollen parents chosen from H-2002

| Cross combination | | Generation (Cal. ratio) | Male sterile type | | | Total | Goodness of fit | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Female | Male | | N S. S. a $Rf_1$-$Rf_2$- | S. S. b $Rf_1$-$rf_2rf_2$ $rf_1rf_1Rf_2$- | C. S. $rf_1rf_1rf_2rf_2$ | | $\chi^2$ | d. f. | P |
| H-19 MS : 822 (C. S.) | H-2002 : 1 | $F_1$ Obs. | 3 | 2 | 8 | 3 | 16 | | |
| | | | 5 | | | | | | |
| | | $F_1$ Cal. (1 : 2 : 1) | 4.00 | | 8.00 | 4.00 | 16.00 | 0.33 | 1* | 0.5–0.7 |
| do | do | $F_2$ Obs. | 76 | 26 | 73 | 26 | 201 | | |
| | | | 102 | | | | | | |
| | | $F_2$ Cal. (9 : 6 : 1) | 113.06 | | 75.38 | 12.56 | 201.00 | 15.53 | 2 | <0.001 |
| do | H-2002 : 2 | $F_1$ Obs. | 4 | 6 | 20 | 15 | 45 | | |
| | | | 10 | | | | | | |
| | | $F_1$ Cal. (1 : 2 : 1) | 11.25 | | 22.50 | 11.25 | 45.00 | 1.67 | 2 | 0.3–0.5 |
| do | H-2002 : 3 | $F_1$ Obs. | 3 | 9 | 14 | 10 | 36 | | |
| | | | 12 | | | | | | |
| | | $F_1$ Cal. (1 : 2 : 1) | 9.00 | | 18.00 | 9.00 | 36.00 | 2.00 | 2 | 0.3–0.5 |

* S. S. b and C. S. were pooled in the calculation of chi-square.

**Table 6.** Linkage relation between the gene $m$ for monogerm and the gene $Rf$ for pollen fertility restoration in the coupling phase

Cross : H-19 MS : 822 (C. S.)×H-2002 : 1 $F_2$

| Germ type | Multigerm | | Monogerm | | Total |
|---|---|---|---|---|---|
| Male sterile type | Male fertile (N, S. S. a) | Male sterile (S. S. b, C. S.) | Male fertile (N, S. S. a) | Male sterile (S. S. b, C. S.) | |
| Genotype | $Rf_1$-$Rf_2$-$M$- | $Rf_1$-$rf_2rf_2M$- $rf_1rf_1Rf_2$-$M$- $rf_1rf_1rf_2rf_2M$- | $Rf_1$-$Rf_2$-$mm$ | $Rf_1$-$rf_2rf_2mm$ $rf_1rf_1Rf_2$-$mm$ $rf_1rf_1rf_2rf_2mm$ | |
| Obs. | 89 | 62 | 13 | 37 | 201 |
| Cal. (R. C. V. = 23.4%) | 97.51 | 53.24 | 15.55 | 34.70 | 201.00 |

Recombination value : 23.4±5.63%.
$\chi^2$=2.74, d.f.=3, 0.3<P<0.5.

**Table 7.** $F_1$ and $F_2$ segregations of male sterile types in the crosses between $M_2$ plants from γ-60 and pollen parents chosen from H-2002 and H-19

| Cross combination | | Generation (Cal. ratio) | Male sterile type | | | | Total | Goodness of fit | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Female | Male | | N S.S.a $Rf_4$-$Rf_5$- | S.S.b $Rf_4$-$rf_5rf_5$ | C.S. $rf_4rf_4Rf_5$-$rf_4rf_4rf_5rf_5$ | | | $\chi^2$ | d.f. | P |
| γ-60 :213 (C.S.) | H-2002 : 1 | $F_1$ Obs. | 14 | 7 | 21 | 4 | 46 | | | |
| | | Cal. (1 : 1 : 2) | 21 | 11.50 | 11.50 | 23.00 | 46.00 | 10.46 | 1* | 0.001 -0.01 |
| | | Cal. (3 : 1 : 4) | 17.25 | | 5.75 | 23.00 | 46.00 | 1.30 | 1* | 0.2-0.3 |
| do | do | $F_2$ Obs. | 209 | 77 | 95 | 110 | 491 | | | |
| | | Cal. (9 : 3 : 4) | 286 | 276.19 | 92.06 | 122.75 | 491.00 | 1.77 | 2 | 0.3-0.5 |
| do | H-19 : 1 | $F_1$ Obs. | 1 | 5 | 6 | 8 | 20 | | | |
| | | Cal. (1 : 1 : 2) | 6 | 5.00 | 5.00 | 10.00 | 20.00 | 0.80 | 2 | 0.5-0.7 |
| | | Cal. (3 : 1 : 4) | | 7.50 | 2.50 | 10.00 | 20.00 | 0.48 | 1* | 0.3-0.5 |

* S. S. b. and C. S. were pooled in the calculation of chi-square.

**Table 8.** $F_1$ and $F_2$ segregations of male sterile types in the crosses between $M_2$ plants from γ-114 and pollen parents chosen from H-2002 and H-19

| Cross combination | | Generation (Cal. ratio) | Male sterile type | | | | Total | Goodness of fit | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Female | Male | | N S.S.a $Rf_8$-$Rf_9$- | S.S.b $Rf_8$-$rf_9rf_9$ $rf_8rf_8Rf_9$- | C.S. $rf_8rf_8rf_9$ $rf_9$ | | | $\chi^2$ | d.f. | P |
| γ-114 : 783 (S.S.b) | H-2002 : 3 | $F_1$ Obs. | 6 | 8 | 22 | 18 | 54 | | | |
| | | Cal. (1 : 2 : 1) | 14 | 13.50 | 27.00 | 13.50 | 54.00 | 2.44 | 2 | 0.2-0.3 |
| do | H-19 : 2 | $F_1$ Obs. | 22 | 1 | 24 | 8 | 55 | | | |
| | | Cal. (3 : 4 : 1) | 23 | 20.63 | 27.50 | 6.88 | 55.01 | 0.90 | 2 | 0.5-0.7 |
| γ-114 : 775 (C.S.) | H-19 : 1 | $F_1$ Obs. | 5 | 24 | 28 | 0 | 57 | | | |
| | | Cal. (1 : 1 : 0) | 29 | 28.50 | 28.50 | 0.00 | 57.00 | 0.02 | 1 | 0.8-0.9 |
| do | do | $F_2$ Obs. | 45 | 21 | 31 | 4 | 101 | | | |
| | | Cal. (9 : 6 : 1) | 66 | 56.81 | 37.88 | 6.31 | 101.00 | 3.40 | 1* | 0.05-0.1 |
| do | H-19 : 2 | $F_1$ Obs. | 1 | 11 | 31 | 4 | 47 | | | |
| | | Cal. (1 : 2 : 1) | 12 | 11.75 | 23.50 | 11.75 | 47.00 | 0.01 | 1* | >0.9 |

* S. S. b and C. S. were pooled in the calculation of chi-square.

と $m$ との間には相引で23.4%なる組換え価が算出された(Table 6)。また花粉親の遺伝子型をヘテロ型($Rf_1rf_1$ $Rf_2rf_2$)と仮定するならば，$F_1$ 分離比は Table 5 の如く N+S. S. a : S. S. b : C. S.=1 : 2 : 1 と期待されよう。

これに対して，新たに誘発された雄性不稔においては花粉稔性の回復に不稔細胞質と2対の核遺伝子の相互作用が認められ，その点では従来とかわりないが，2遺伝子の相互作用については $S$ 細胞質下とは明らかに異なった。すなわちγ-60 : 213×H-2002 : 1 の $F_2$ 分離は N+S. S. a : S. S. b : C. S.=9 : 3 : 4 の比となり，2対の稔性回復遺伝子の内，一方の劣性アレーレ($rf_4$)が他方の優性アレーレ($Rf_5$)に対し上位性を示した(Table 7)。

**Table 9.** $F_1$ and $F_2$ segregations of male sterile types in the crosses between $M_2$ plants from γ-130 and pollen parents chosen from H-2002 and H-19

| Cross combination | | Generation (Cal. ratio) | Male sterile type | | | Total | Goodness of fit | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Female | Male | | N S.S.a $Rf_6$-$Rf_7$-$Rf_6$-$rf_7rf_7$ | S.S.b $rf_6rf_6Rf_7$- | C.S. $rf_6rf_6rf_7rf_7$ | | $\chi^2$ | d.f. | P |
| γ-130 : 424 (S.S.b) | H-2002 : 1 | $F_1$ Obs. | 2 6 8 | 11 | 0 | 19 | | | |
| | | $F_1$ Cal. (1 : 1 : 0) | 9.50 | 9.50 | 0.00 | 19.00 | 0.47 | 1 | 0.3-0.5 |
| do | H-2002 : 2 | $F_1$ Obs. | 6 9 15 | 26 | 0 | 41 | | | |
| | | $F_1$ Cal. (1 : 1 : 0) | 20.50 | 20.50 | 0.00 | 41.00 | 2.95 | 1 | 0.05-0.1 |
| do | H-19 : 2 | $F_1$ Obs. | 18 10 28 | 8 | 0 | 36 | | | |
| | | $F_1$ Cal. (1 : 1 : 0) | 18.00 | 18.00 | 0.00 | 36.00 | 11.11 | 1 | <0.001 |
| γ-130 : 425 (C.S.) | H-2002 : 1 | $F_1$ Obs. | 5 5 10 | 8 | 7 | 25 | | | |
| | | $F_1$ Cal. (2 : 1 : 1) | 12.50 | 6.25 | 6.25 | 25.00 | 1.08 | 2 | 0.5-0.7 |
| do | do | $F_2$ Obs. | 34 1 35 | 14 | 6 | 55 | | | |
| | | $F_2$ Cal. (12 : 3 : 1) | 41.25 | 10.31 | 3.44 | 55.00 | 3.79 | 1* | 0.05-0.1 |
| do | H-2002 : 2 | $F_1$ Obs. | 8 11 19 | 12 | 10 | 41 | | | |
| | | $F_1$ Cal. (2 : 1 : 1) | 20.50 | 10.25 | 10.25 | 41.00 | 0.41 | 2 | 0.8-0.9 |
| γ-130 : 425 (C.S.) | H-19 : 2 | $F_1$ Obs. | 6 4 10 | 6 | 0 | 16 | | | |
| | | $F_1$ Cal. (2 : 1 : 1) | 8.00 | 4.00 | 4.00 | 16.00 | 1.00 | 1* | 0.3-0.5 |
| do | do | $F_2$ Obs. | 23 7 30 | 9 | 1 | 40 | | | |
| | | $F_2$ Cal. (12 : 3 : 1) | 30.00 | 7.50 | 2.50 | 40.00 | 0.00 | 1* | 1.0 |

* S.S.b and C.S. were pooled in the calculation of chi-square.

更にγ-130およびγ-165の2系統を用いた組合せでは，Table 9および10にみる如くN+S.S.a : S.S.b : C.S.=12 : 3 : 1なる$F_2$分離が得られたが，これは2遺伝子の内，一方の優性アレーレ($Rf_6$)が他方の劣性アレーレ($rf_7$)に対して上位に働く場合の理論比である。

かかる遺伝子仮定の妥当性は各組合せの$F_1$分離からも確かめられた。H-2002 : 1, : 2およびH-19 : 2が各々$S_{i-3}$細胞質に対する2対の稔性回復遺伝子をヘテロ($Rf_6rf_6Rf_7rf_7$)に有し，母本のC.S.型が二重劣性型と仮定するならば，$F_1$ではN+S.S.a : S.S.b : C.S.=2 : 1 : 1の分離比が得られるはずである。またS.S.b型を母本とした交雑では，母本の遺伝子型が下位に作用する座について優性ホモ($rf_6rf_6Rf_7Rf_7$)の場合に1 : 1 : 0，これがヘテロの場合($rf_6rf_6Rf_7rf_7$)には4 : 3 : 1の$F_1$分離が期待されるが，実際にこの様な分離比が各種の交雑組合せで認められた(Table 9, 10)。なおγ-165 : 461×H-19 : 1およびγ-165 : 478×H-19 : 1における$F_1$分離が共に1 : 1 : 0となったのは，H-19 : 1の遺伝子型が$Rf_6rf_6Rf_7Rf_7$であったためと推察される。

ただ，以上の実験を通じて理論値に対する適合度の必ずしも良くない成績が一部にあることが指摘されよう。これは供試個体数が少いことにもよろうが，その外に環境要因や基本遺伝子以外の種々の遺伝的要因，例えば変更遺伝子などの影響も考えられる。

一方，γ-114を含む交雑ではN+S.S.a : S.S.b : C.S.=9 : 6 : 1なる$F_2$分離が得られ，2対の稔性回復遺伝子の作用様式は$S$細胞質下の場合と同様であった(Table 8)。ただしγ-114 : 775を母本とした2組合せの$F_1$分離が1 : 1 : 0および1 : 2 : 1と互いに相違したのは花粉親H-19 : 1においては一方の回復遺伝子が優性ホモ，他方がヘテロであり，H-19 : 2では二座共にヘテロであったためと考えられる。以上の様にγ-114では関与

**Table 10.** $F_1$ and $F_2$ segregations of male sterile types in the crosses between $M_2$ plants from γ-165 and pollen parents chosen from H-2002 and H-19

| Cross combination | | Generation (Cal. ratio) | Male sterile type | | | | Total | Goodness of fit | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Female | Male | | N S.S.a $Rf_6$-$Rf_7$-$Rf_6$-$rf_7rf_7$ | S.S.b $rf_6rf_6Rf_7$- | C.S. $rf_6rf_6rf_7rf_7$ | | | $\chi^2$ | d.f. | P |
| γ-165 : 471 (S.S.b) | H-2002 : 1 | $F_1$ Obs. | 13 | 11 | 14 | 9 | 47 | | | |
| | | $F_1$ Cal. (4 : 3 : 1) | 24 | 23.50 | 17.63 | 5.88 | 47.01 | 2.42 | 2 | 0.2–0.3 |
| do | H-2002 : 2 | $F_1$ Obs. | 7 | 7 | 10 | 8 | 32 | | | |
| | | $F_1$ Cal. (4 : 3 : 1) | 14 | 16.00 | 12.00 | 4.00 | 32.00 | 0.50 | 1* | 0.3–0.5 |
| do | H-19 : 2 | $F_1$ Obs. | 14 | 9 | 9 | 4 | 36 | | | |
| | | $F_1$ Cal. (4 : 3 : 1) | 23 | 18.00 | 13.50 | 4.50 | 36.00 | 2.78 | 1* | 0.05–0.1 |
| γ-165 : 478 (S.S.b) | H-2002 : 1 | $F_1$ Obs. | 16 | 13 | 32 | 4 | 65 | | | |
| | | $F_1$ Cal. (4 : 3 : 1) | 29 | 32.50 | 24.38 | 8.13 | 65.01 | 0.75 | 1* | 0.3–0.5 |
| do | H-2002 : 2 | $F_1$ Obs. | 2 | 11 | 13 | 3 | 29 | | | |
| | | $F_1$ Cal. (4 : 3 : 1) | 13 | 14.50 | 10.88 | 3.63 | 29.01 | 0.31 | 1* | 0.5–0.7 |
| do | H-2002 : 3 | $F_1$ Obs. | 5 | 4 | 22 | 5 | 36 | | | |
| | | $F_1$ Cal. (4 : 3 : 1) | 9 | 18.00 | 13.50 | 4.50 | 36.00 | 9.00 | 1* | 0.001–0.01 |
| γ-165 : 478 (S.S.b) | H-19 : 1 | $F_1$ Obs. | 11 | 6 | 10 | 1 | 28 | | | |
| | | $F_1$ Cal. (1 : 1 : 0) | 17 | 14.00 | 14.00 | 0.00 | 28.00 | 1.29 | 1* | 0.2–0.3 |
| do | H-19 : 2 | $F_1$ Obs. | 28 | 10 | 19 | 1 | 58 | | | |
| | | $F_1$ Cal. (4 : 3 : 1) | 38 | 29.00 | 21.75 | 7.25 | 58.00 | 5.59 | 1* | 0.01–0.02 |
| γ-165 : 461 (C.S.) | H-2002 : 1 | $F_1$ Obs. | 6 | 3 | 5 | 0 | 14 | | | |
| | | $F_1$ Cal. (2 : 1 : 1) | 9 | 7.00 | 3.50 | 3.50 | 14.00 | 1.14 | 1* | 0.2–0.3 |
| do | do | $F_2$ Obs. | 156 | 101 | 77 | 18 | 352 | | | |
| | | $F_2$ Cal. (12 : 3 : 1) | 257 | 264.00 | 66.00 | 22.00 | 352.00 | 2.75 | 2 | 0.2–0.3 |
| do | H-19 : 1 | $F_1$ Obs. | 10 | 5 | 5 | 0 | 20 | | | |
| | | $F_1$ Cal. (1 : 1 : 0) | 15 | 10.00 | 10.00 | 0.00 | 20.00 | 5.00 | 1 | 0.02–0.05 |
| do | do | $F_2$ Obs. | 123 | 56 | 66 | 20 | 265 | | | |
| | | $F_2$ Cal. (12 : 3 : 1) | 179 | 198.75 | 49.69 | 16.56 | 265.00 | 8.03 | 2 | 0.01–0.02 |
| γ-165 : 461 (C.S.) | H-19 : 2 | $F_1$ Obs. | 17 | 11 | 8 | 1 | 37 | | | |
| | | $F_1$ Cal. (2 : 1 : 1) | 28 | 18.50 | 9.25 | 9.25 | 37.00 | 9.76 | 1* | 0.001–0.01 |
| do | do | $F_2$ Obs. | 121 | 38 | 56 | 20 | 235 | | | |
| | | $F_2$ Cal. (12 : 3 : 1) | 159 | 176.25 | 44.06 | 14.69 | 235.00 | 6.84 | 2 | 0.02–0.05 |

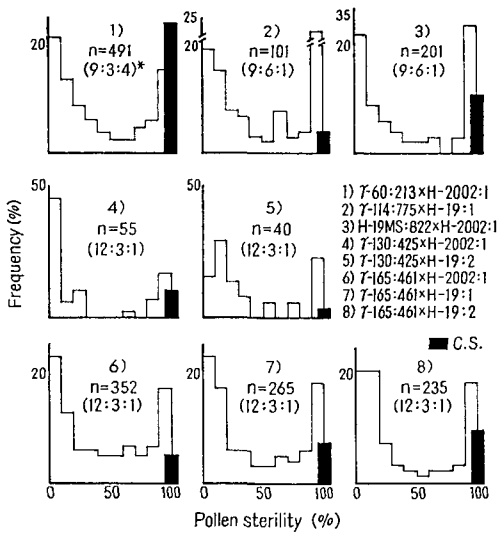
* S.S.b and C.S. were pooled in the calculation of chi-square.

遺伝子の作用様式は $S$ 細胞質に対応する $Rf_1$, $Rf_2$ の場合と等しいとみられるが，その種類は次章に述べる如く同一ではない。

**3) $F_2$ における花粉稔性変異**

花粉稔性の回復にはこれまでに解析した $Rf$ 遺伝子に加えて，他の遺伝的ないし生理的要因も同時に影響を及ぼすことが予想される。THEURER[109] によればテンサイの雄性不稔系統 SLC 03 CMS とテーブルビート品種 'Ruby Queen' との交雑 $F_2$ および $B_1$ において，花粉を生ずる個体を稔性回復型，花粉を生ぜず葯が白色を呈する個体を不稔型とするなら両者の分離はそれぞれ 3:1 ($F_2$) および 1:1 ($B_1$) の理論比に適合するものの，稔性回復型個体の花粉稔性は 10% あるいはそれ以下の低稔性から 90% 以上の高稔性まで連続分布していた。この個体間変異の原因として，同氏は 1) 環境要因の影響，2) 変更遺伝子の関与，3) 細胞質遺伝子の分離および 4) STEIN ら[106] が示唆した拡散性細胞成分に基づく変化の4種の可能性をあげている。

本章に扱った8種の $F_2$ 集団について花粉稔性変異を比較したところ，頻度分布はいずれもほぼ連続的となり，しかも組合せ間で分布の様相にかなりの相違が認められた (Fig. 1)。H-19 MS : 822 × H-2002 : 1 では完全不稔型を除くと高稔性と低稔性の頻度がともに顕著に高く急傾斜の谷型分布を示したが，同様の傾向は $\gamma$-60 : 213 × H-2002 : 1, $\gamma$-130 : 425 × H-2002 : 1 および $\gamma$-165 : 461 × H-19 : 2 の如く $F_2$ 分離比を異にする組合せ (9 : 3 : 4 型および 12 : 3 : 1 型) においても見出された。これに対して $\gamma$-114 : 775 × H-19 : 1, $\gamma$-165 : 461 × H-2002 : 1 あるいは $\gamma$-165 : 461 × H-19 : 1 では不稔率 50% 前後の部分不稔個体が前4者に較べて相対的に多く分離し，谷型の傾斜もより緩慢となった。更に 4), 5) あるいは 6), 7), 8) の組合せでは各々母本が同一個体であり，$F_2$ 分離比も例外なく 12 : 3 : 1 型を示したにもかかわらず，稔性の頻度分布は組合せ間で一様でない。不稔率 80% 以下の稔性回復型における稔性変異の均一性を検定したところ，4), 5) 間では $\chi^2=24.90$ ($P<0.001$), 6), 7), 8) の場合には $\chi^2=20.04$ ($0.1<P<0.2$) と均一性は高くなかった。




* $F_2$ ratio for male fertile (N and S. S. a), sterile (S. S. b) and complete sterile (C. S.)

**Fig. 1.** Frequency distribution of pollen sterilities in $F_2$ populations of the crosses between C. S. type plants ($M_2$) from $\gamma$-lines and pollen parents chosen from H-2002 and H-19.

この様な分布様式の差異を単に環境の影響のみに帰することは困難である。交雑親間に存在する微小な遺伝子差もかかる変異の多様性をもたらしたのであろう。

## 4. 考　　察

放射線や化学物質を変異源として得られた雄性不稔性はエンドウ[32] やオオムギ[30] などで報告されている如く，核遺伝子単独の支配による場合が多いが，細胞質雄性不稔の作出例も著者の知る限りではモロコシ[23]，テンサイ[48]，トウモロコシ[107] およびパールミレット[10] の4種において記載されている。ただモロコシとテンサイの場合を除く他の2例では，花粉稔性の回復に与る核遺伝子の対数や作用様式に関する分析は発表されていない。

本章に取扱った4種のガンマー系統の保持する雄性不稔は 1) いずれも $M_1$ で発現をみ，以後 $M_4$ 代まで母系伝達されており，2) その伝達率も単胚系統 H-19 起源の3種の細胞質突然変異体での場合[48] に劣らない。しかも 3) $\gamma$-165 の維持する不稔に関しては原系統 H-2002 との相反交雑より細胞質遺伝が確かめられ[48]，加えて 4) 世代更新に当っては種子着粒率の高い個体が選抜され，5) 後述の如く減数分裂における染色体行動にも異常が認められないこと (Table 22) などを勘案するなら，これらの不稔は核遺伝子突然変異や染色体的異常によるものではなく，細胞質変異に起因するとみてよいであろう。また JINKS[42] はインゲンマメなどで知られている永続変異 (Dauermodification) を表型模写 (Phenocopy) と細胞質突然変異 (Extrachromosomal mutation) との中間的な段階としての，不安定な細胞質変異とみなしているが，各ガンマー系統の雄性不稔性は $M_4$ に至るまで比較的高率で母系伝達されているから，誘発された細胞質変

異はいずれも安定度の高い型とみることができる。しかしその不稔性の遺伝機構は自然起源の $S$ 細胞質下の場合と同一ではなかった。

従来の代表的な遺伝仮説によれば，細胞質型は正常型 $N$ と不稔型 $S$ の2型のみで細胞質型が $S$，これに相互作用を有する核遺伝子が通常劣性型の構成の下で完全不稔型が現われるとされてきた。この様な核遺伝子の対数と作用の仕方に関しては緒論に述べた如く種々の相異なる遺伝子仮定が提出されている。本実験においては $S$ 細胞質には2対の稔性回復遺伝子 $Rf_1$, $Rf_2$ が補足的に作用することが確認され，これは NAGAO らの仮説[59] を支持するものであった。放射線誘発の雄性不稔性に関しても不稔細胞質と2対の核遺伝子の相互作用が例外なく認められ，その作用レベルも $S$ 細胞質下の場合と同様に芽胞体的であり，イネ[98),99] やトウモロコシの $S$ 型不稔[6] の事例の如き配偶体的作用はみられなかった。しかるに2種の核遺伝子の相互作用性については，既知の $S$ 細胞質下のそれとも，またガンマー系統間でも相違する場合が見出された訳である。

自然集団起源の雄性不稔性に関する遺伝子仮説が研究者により異なっているのは雄性不稔型の分類規準や環境条件の違いにもその一因があろうが，同時に不稔細胞質の異型性の問題も含めて，供試材料の遺伝構成の差異に起因するところが少くないと推察される。他方今回の結果は同一分類規準，同一年次，同一環境の下で得られたものであり，交雑に配した花粉親もほとんど共通している。したがってガンマー線処理によって $N$ 型細胞質から誘発された不稔細胞質と稔性回復遺伝子との間に $S$ 型不稔の場合とは異なる新たな遺伝的関係が生ぜしめられたとするのが至当であろう。

かかる変異が細胞質の異型性に起因するか否かについては章をあらためて論述するが，ここでは作出された細胞質が既知の $S$ とは異なると想定して，$S_i$ なる遺伝子記号を与えることにする。すなわち H-19 起源の $\gamma$-20 および $\gamma$-27 に関して先に得られた成績[48),49] をも併せるならば，新たに誘発された不稔細胞質はそれぞれに対応する稔性回復遺伝子の対数あるいは作用様式の相違より，少くも $S_{i-1}$ ($\gamma$-27), $S_{i-2}$ ($\gamma$-20, $\gamma$-60), $S_{i-3}$ ($\gamma$-130, $\gamma$-165) および $S_{i-4}$ ($\gamma$-114) の4種に類別できよう。

ところでテンサイにおいても他の多くの植物種の場合[19),55] と同様に花粉稔性が日長や温度などの各種の外囲条件に左右されること[14),47] が知られている。また NIELSON and NEMAZI[65] は遺伝的純度の高い完全不稔型系統を育成せんとする際には完全不稔型とO型（不稔性維持花粉親）のそれぞれが保有する変更遺伝子が問題となることも指摘している。

今回の実験からも稔性回復型内の花粉稔性の頻度分布に交雑組合せ間でかなりの不均一性が見出され，変更遺伝子や環境要因に起因する変異を無視し得ぬことが示唆された。今後 isoplasmic に近い雄性不稔系統や純度の優れた花粉親系統を養成し，環境条件の制御も考慮しながら更に精度の高い遺伝子分析を進める必要があろう。

## 第3章　花粉稔性回復遺伝子の同定とそれに基づく不稔細胞質の異型性検定

### 1. 緒　　言

前章ではガンマー線誘発の雄性不稔細胞質がいずれも自然起源の $S$ 型とは異なっており，$S_{i-1}$, $S_{i-2}$, $S_{i-3}$ および $S_{i-4}$ の4型に類別され得ることを述べた。

しかしこの仮説はあくまでも $F_1$ あるいは $F_2$ での不稔型分離から推定される，稔性回復遺伝子の作用様式の相違に基づくものであり，その妥当性を確かめるには種々の検証試験を必要とする。細胞質間の異型性を知るためには例えばコムギ[22),112] で採用されている如く核置換によって isoplasmic な核・細胞質雑種を育成し，それらの示す形質の比較分析から異種細胞質間の関係を推察する方法がある。ただテンサイは本来2年生の他殖性植物故に核置換には多くの時間を要する点や，たとえ自家受精遺伝子を導入しても自殖性植物に劣らぬ固定度を有する純系が容易には得られぬなどの不利を伴い，コムギと同様の手法を直ちに適用することは難しい。したがって遺伝的純度の比較的優れたO型やRf型（稔性回復花粉親）を利用して検定交雑を行い，細胞質型と稔性回復遺伝子との相互関係の特異性を検出する方法がテンサイでは今のところ最も実際的な便法といえよう。

すなわち，ある細胞質 $S_A$ に対応する稔性回復遺伝子 $Rf_A$ が異種起源の $S_B$ には作用力を有さず，また $S_B$ に対する $Rf_B$ が $S_A$ には働かないという相互作用関係が認められれば $Rf_A$ と $Rf_B$ は異種遺伝子であり，$S_A$ および $S_B$ も互いに異型細胞質とみなしてよいと考えられる。

本章では既存のO型 ($N\ rf_1rf_1rf_2rf_2$) を共通の花粉親に供した交雑を用い，$F_1$, $F_2$ ないし $F_3$ 代における遺伝子分析から同花粉親の，各 $S_i$ 細胞質に対する $Rf$ の遺伝子型を推定した。この様な解析を通じて $S$ と $S_i$ 群中の1つ，あるいは $S_i$ 相互間の細胞質型同定を試みた。

細胞質型と稔性回復遺伝子との間に特異的な相互作用関係が存するなら，不稔系統の各々に対応するO型や

Rf 型を育成することも可能なはずであり，実際に一部の細胞質に対する Rf 型の選抜やこれを用いた検定交雑も企てた。また単胚遺伝子と稔性回復遺伝子間の連鎖分析や各種の遺伝子型を有する検定花粉親との交雑を行なって遺伝仮説の妥当性を確かめるとともに，不稔細胞質型を異にする稔性回復個体間での相反交雑により直接的に細胞質の異同を検証する実験も試みた。

## 2. 実験材料および方法

供試したガンマー系統は $\gamma$-27, $\gamma$-60, $\gamma$-114, $\gamma$-130 および $\gamma$-165 の5種である。$S$ 細胞質型の検定系統としては，テンサイ H-19MS, K, SLC 129-CMS, SLC 133-CMS, TK 81-CMS, TA-1-CMS およびテーブルビート W 162-A-4 の計7系統を用いた。

検定交雑に当っては各雄性不稔系統より完全不稔型あるいは部分不稔-b 型個体を選んで母本とし，これらに $N$ 型細胞質系統 H-2002, H-19, W 162-6 および TK 81-O を花粉親として交配した。W 162-6 は $S$ 細胞質型の C. S. 植物に対する O 型であり，自家受精遺伝子および茎葉・根部の着色に関する遺伝子を有する。また H-19 と O 型の TK 81-O は単胚遺伝子を保有する検定系統である (Table 1)。相反交雑実験は各不稔系統から任意に選んだ稔性回復型2個体間で行った。

## 3. 実験結果

### 1) $S$ 細胞質型に対する維持花粉親 (O 型) による検定交雑

4種のガンマー系統 $\gamma$-60, $\gamma$-114, $\gamma$-130 および $\gamma$-165 においては花粉稔性回復に例外なく2対の核遺伝子が関与しているが，それら2遺伝子の相互作用様式は系統間で相違し，また $S$ 細胞質下での場合とも異なっていた。花粉稔性回復の機構に見出された，かかる遺伝的変異については以下の3種の成因を想定できよう。

1) ガンマー線処理によって $Rf_1$, $Rf_2$ の相互作用関係にのみ新たな変化が生じ，一方作出された不稔細胞質は自然発見の $S$ と同型であった。

2) $S$ とは異型の不稔細胞質が誘発され，これに応じて $Rf_1$ と $Rf_2$ の間の相互作用様式にも変化を生じた。

3) $S$ とは異型の不稔細胞質が誘発され，これらの新型細胞質の下では稔性回復に $Rf_1$, $Rf_2$ とは異なる新たな核遺伝子組が必要となった。

以上の仮定のいずれが最も妥当であるかを検証するには先ず $S$ 型細胞質に対する O 型系統を用いた検定交雑により誘発不稔型および $S$ 型細胞質間で，関与する稔性回復遺伝子の同定を行う必要がある。すなわち，もしも誘発細胞質に $Rf_1$ あるいは $Rf_2$ 以外の核遺伝子が作用し (仮定3)，$S$ 細胞質に対応する O 型がこれらの遺伝子を優性ホモまたはヘテロに保持している場合には，同 O 型はガンマー系統よりの完全不稔個体に対しては O 型として働かないことになる。

Table 11 に示す如く，$S$ 細胞質を有する検定系統中の C. S. 型個体に2種の O 型系統 W 162-6 および TK 81-O から任意抽出した個体の花粉を交配したところ，次代には H-19 MS : 821 × W 162-6 : 3 の組合せに1個体，K : 2 × W 162-6 : 4 の組合せに2個体の S. S. b 型が例外的に分離した以外は全て完全不稔型を生じた。したがって供試した O 型はいずれも $Rf_1$, $Rf_2$ を劣性ホモ型 ($N\ rf_1rf_1rf_2rf_2$) に維持していたことが確かめられた訳である。これに反して $\gamma$-60, $\gamma$-114 および $\gamma$-165 の3系統より選んだ C. S. 型個体を母本とした場合には，次代に C. S. 型の外に N 型，S. S. a 型および S. S. b 型の全て，あるいはそれらのいずれかを分離した。故にここに用いた花粉親には誘発細胞質に対応する稔性回復遺伝子が1対以上はヘテロで保持されていたことになる。

なお W 162-6 は茎葉および根部の着色に関する優性遺伝子を有しており，これとの交雑の $F_1$ 植物は例外なく着色型となったから，異種花粉混入による稔性回復の可能性は考慮する必要がない。また，TK 81-O との交雑集団はいずれも隔離採種によったものであり，加えて後述の如く (Table 20) $F_2$ では同系統由来の単胚遺伝子 $m$ の分離に基づいて複胚：単胚＝3 : 1 の期待比によく適合する結果も得ているので，実験精度上の問題はないとみなされる。したがってここに認められた稔性回復型の出現は供試した O 型個体にヘテロで保持されていたところの，$Rf_1$, $Rf_2$ 以外の核遺伝子の分離に起因すると考えるのが至当である。

次いでこれらの遺伝子の対数や作用の仕方を確かめ，併せて花粉親個体の遺伝子型を推定するために，上記の検定交雑の一部について $F_1$, $F_2$ および $F_3$ 代における雄性不稔型の分離様式を経代的に調査した。先に $S_{i-2}$ 細胞質には $Rf_4$ および $Rf_5$ が作用を有し，これら2遺伝子のうち劣性アレーレ $rf_4$ は優性アレーレ $Rf_5$ に対して上位性を示すとする仮説を樹てた。$\gamma$-60-213 : 69 × W 162-6 : 1 の組合せで得られた結果はこれをほぼ満足するものであり，$F_1$ においては N＋S. S. a : S. S. b : C. S. ＝ 3 : 1 : 4，また N 型の $F_1$ 植物の自殖による $F_2$ では 9 : 3 : 4，C. S. 型と N 型の間の相互交配による $F_2$ では 1 : 1 : 2 なる分離をそれぞれ生じた (Table 12 a)。更に3種の 9 : 3 : 4 型の $F_2$ 集団から任意選抜した稔性回復型 (N あるいは S. S. a) を自殖して $F_3$ 系統を育成したところ，得

**Table 11.** Frequencies of male sterile types in the crosses between C. S. type plants from different sources and tester plants from O-type strains

| C. S. type | Type-O | Male sterile type | | | | Total |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | N | S. S. a | S. S. b | C. S. | |
| γ-60-213 : 1 | W 162-6 : 4 | 2 | 3 | 5 | 15 | 25 |
| γ-60-213 : 2 | do | 4 | 2 | 4 | 12 | 12 |
| γ-60-213 : 3 | TK 81-O : 1 | 3 | 5 | 24 | 104 | 136 |
| γ-60-213 : 4 | do | 2 | 1 | 2 | 3 | 8 |
| γ-60-213 : 69 | W 162-6 : 1 | 14 | 24 | 15 | 40 | 93 |
| γ-114 : 775 | W 162-6 : 2 | 1 | 7 | 12 | 30 | 50 |
| do | W 162-6 : 3 | 3 | 7 | 13 | 20 | 43 |
| γ-114-778 : 1 | TK 81-O : 1 | 24 | 8 | 68 | 60 | 160 |
| γ-165-461 : 203 | W 162-6 : 1 | 25 | 1 | 1 | 22 | 49 |
| γ-165-465 : 2 | W 162-6 : 4 | 0 | 0 | 6 | 8 | 14 |
| γ-165-465 : 3 | TK 81-O : 1 | 0 | 2 | 23 | 49 | 74 |
| H-19 MS : 818 | W 162-6 : 3 | 0 | 0 | 0 | 25 | 25 |
| H-19 MS : 821 | do | 0 | 0 | 1 | 30 | 31 |
| H-19 MS : 822 | do | 0 | 0 | 0 | 34 | 34 |
| H-19 MS-822 : 2063 | W 162-6 : 1 | 0 | 0 | 0 | 32 | 32 |
| H-19 MS : 826 | W 162-6 : 2 | 0 | 0 | 0 | 19 | 19 |
| W 162-A-4 : 1 | do | 0 | 0 | 0 | 50 | 50 |
| W 162-A-4 : 2 | W 162-6 : 3 | 0 | 0 | 0 | 50 | 50 |
| K : 1 | W 162-6 : 4 | 0 | 0 | 0 | 82 | 82 |
| K : 2 | do | 0 | 0 | 2 | 162 | 164 |
| TK 81-CMS : 1 | do | 0 | 0 | 0 | 45 | 45 |
| TK 81-CMS : 2 | do | 0 | 0 | 0 | 11 | 11 |
| TK 81-CMS : 5 | TK 81-O : 1 | 0 | 0 | 0 | 17 | 17 |
| TA-1-CMS : 1 | W 162-6 : 4 | 0 | 0 | 0 | 14 | 14 |
| TA-1-CMS : 2 | do | 0 | 0 | 0 | 6 | 6 |
| TA-1-CMS : 4 | TK 81-O : 1 | 0 | 0 | 0 | 65 | 65 |
| SLC 129-CMS : 10 | do | 0 | 0 | 0 | 5 | 5 |
| SLC 133-CMS : 1 | W 162-6 : 4 | 0 | 0 | 0 | 12 | 12 |
| SLC 133-CMS : 2 | do | 0 | 0 | 0 | 21 | 21 |

られた系統比は期待される理論比，すなわち稔性回復型 (N および S. S. a) に固定する系統…1, N+S. S. a : S. S. b=3 : 1 なる分離を示す系統…2, N+S. S. a : C. S.=3 : 1 なる分離を示す系統…2, 9 : 3 : 4 型の分離系統…4 の比率におおむね一致し，上述の遺伝子仮定の妥当性が確認された (Table 13)。かかる仮定に基づくなら花粉親 W 162-6 : 1 の遺伝子型は $Rf_4rf_4Rf_5rf_5$ であったと推定される。

一方，γ-165-461 : 203×W 162-6 : 1 の交雑組合せにおいては $F_1$, $F_2$ 両代を通じて少数の S. S. b 型個体の分離がみられたものの，これらを稔性回復型 (N および S. S. a) に併せるならば単遺伝子分離比とみなしてよい成績が得られた (Table 12 b)。γ-165 に関しては前章で N+S. S. a : S. S. b : C. S.=12 : 3 : 1 なる 2 因子型の $F_2$ 分離

**Table 12.** $F_1$ and $F_2$ segregations of male sterile types in the crosses between C. S. type plants from $\gamma$-lines and a 'O' type plant, W 162-6 : 1

a) Cross : $\gamma$-60-213 : 69 ($S_{i-2}$)* C. S. × W 162-6 : 1

| Male sterile type | | N S. S. a | S. S. b | C. S. | Total | Goodness of fit | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Genotype | | $Rf_4$-$Rf_5$- | $Rf_4$-$rf_5rf_5$ | $rf_4rf_4Rf_5$-<br>$rf_4rf_4rf_5rf_5$ | | $\chi^2$ | d. f. | P |
| $F_1$ | Obs. | 14 24<br>38 | 15 | 40 | 93 | | | |
| | Cal.<br>(3 : 1 : 4) | 34.88 | 11.63 | 46.50 | 93.01 | 2.17 | 2 | 0.3- 0.5 |
| $F_2$ Nⓧ** | Obs. | 96 63<br>159 | 63 | 100 | 322 | | | |
| | Cal.<br>(9 : 3 : 4) | 181.13 | 60.38 | 80.50 | 322.01 | 7.54 | 2 | 0.02-0.05 |
| Nⓧ | Obs. | 172 96<br>268 | 87 | 107 | 462 | | | |
| | Cal.<br>(9 : 3 : 4) | 259.88 | 86.63 | 115.50 | 462.01 | 0.88 | 2 | 0.5- 0.7 |
| Nⓧ | Obs. | 142 64<br>206 | 81 | 128 | 415 | | | |
| | Cal.<br>(9 : 3 : 4) | 233.44 | 77.81 | 103.75 | 415.00 | 9.02 | 2 | 0.01-0.02 |
| C. S. × N | Obs. | 22 19<br>41 | 40 | 116 | 197 | | | |
| | Cal.<br>(1 : 1 : 2) | 49.25 | 49.25 | 98.50 | 197.00 | 6.23 | 2 | 0.02-0.05 |

b) Cross : $\gamma$-165-461 : 203 ($S_{i-3}$) C. S. × W 162-6 : 1

| Male sterile type | | N S. S. a | S. S. b | C. S. | Total | Goodness of fit | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Genotype | | $Rf_6$-$rf_7rf_7$ | | $rf_6rf_6rf_7rf_7$ | | $\chi^2$ | d. f. | P |
| $F_1$ | Obs. | 25 1<br>27 | 1 | 22 | 49 | | | |
| | Cal.<br>(1 : 0 : 1) | 24.50 | | 24.50 | 49.00 | 0.51 | 1 | 0.3- 0.5 |
| $F_2$ Nⓧ | Obs. | 189 23<br>234 | 22 | 97 | 331 | | | |
| | Cal.<br>(3 : 0 : 1) | 248.25 | | 82.75 | 331.00 | 3.27 | 1 | 0.05- 0.1 |
| C. S. × N | Obs. | 75 37<br>129 | 17 | 123 | 252 | | | |
| | Cal.<br>(1 : 0 : 1) | 126.00 | | 126.00 | 252.00 | 0.14 | 1 | 0.7- 0.8 |

* Type of cytoplasm. ** Selfed.

が認められているが，2因子のうち上位に作用する $Rf_6$ についてのみ遺伝子分離を生じた場合，換言すれば W 162-6 : 1 が $Rf_6rf_6rf_7rf_7$ の遺伝子型を有していた場合には当然単因子分離が期待されるはずであり，既往の2遺伝子仮説の下で矛盾なく本項の結果を説明し得る。因みに 3 : 0 : 1 と 1 : 0 : 1 の分離型を示す2種の $F_2$ 組合せから任意に選んだ稔性回復型 (N あるいは S. S. a) を自殖して $F_3$ 系統を育成したところ，前者では固定系統と分離系統が 1 : 2 の比率で，また後者では分離系統のみが生じた (Table 14)。ただかかる遺伝子仮説からは期待されない S. S. b 型が若干出現した原因については今後の検討にまたねばならないが，多分微働遺伝子の集積や変更遺伝子あるいは環境要因などの影響によるのであろう。

以上の遺伝子仮定に基づくなら，W 162-6 : 1 にヘテロ型で保有されていた $Rf_4$, $Rf_5$ および $Rf_6$ は $S$ 細胞質に作用する $Rf_1$, $Rf_2$ と種類が異なり，加えてこれら3種の遺伝子は少くとも $S$ 細胞質の下では稔性回復作用を示さないと考えられる。したがって $S_{i-2}$ および $S_{i-3}$ と

**Table 13.** Segregation of $F_3$ lines which are produced by the self fertilization of male fertile (N or S.S.a) plants randomly chosen from the $F_2$ of the cross '$\gamma$-60-213 : 69 (C. S.)×W 162-6 : 1'

| Type of segregation N+S. S. a : S. S. b : C. S. | Ratio | No. of lines observed | No. of lines expected |
|---|---|---|---|
| 1 : 0 : 0 | 1/9 | 6 | 5.33 |
| 3 : 1 : 0 | 2/9 | 12 | 10.67 |
| 3 : 0 : 1 | 2/9 | 7 | 10.67 |
| 9 : 3 : 4 | 4/9 | 23 | 21.33 |
| | Total | 48 | 48.00 |

$\chi^2=1.64$, d. f. $=3$, $0.5<P<0.7$.

**Table 14.** Segregation of $F_3$ lines which are produced by the self fertilization of male fertile (N or S. S. a) plants randomly chosen from the $F_2$ of the cross '$\gamma$-165-461 : 203 (C. S.)×W 162-6 : 1'

| Type of segregation N+S. S. a : S. S. b : C. S. | Ratio | No. of lines observed | No. of lines expected |
|---|---|---|---|
| a) Type of cross in $F_1$ : N⊗* | | | |
| 1 : 0 : 0 | 1/3 | 2 | 2.67 |
| 3 : 0 : 1 | 2/3 | 6 | 5.33 |
| | Total | 8 | 8.00 |
| | | | $\chi^2=0.25$, d. f. $=1$, $0.5<P<0.7$. |
| b) Type of cross in $F_1$ : C. S.×N | | | |
| 3 : 0 : 1 | | 3 | 3.00 |

* Selfed.

**Table 15.** $F_1$ and $F_2$ segregations of male sterile types in the cross between a C. S. type plant from $\gamma$-114 and a 'O' type plant, TK 81-O : 1

Cross : $\gamma$-114-778 : 1 ($S_{i-4}$)*C. S.×TK 81-O : 1

| Male sterile type | | N S. S. a | S. S. b | C. S. | Total | Goodness of fit | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Genotype | | $Rf_8$-$Rf_9$- | $Rf_8$-$rf_9rf_9$ $rf_8rf_8Rf_9$- | $rf_8rf_8rf_9rf_9$ | | $\chi^2$ | d. f. | P |
| $F_1$ | Obs. | 24 8 32 | 68 | 60 | 160 | | | |
| | Cal. (1 : 2 : 1) | 40.00 | 80.00 | 40.00 | 160.00 | 13.40 | 2 | 0.001 -0.01 |
| $F_2$ | N×N Obs. | 13 13 26 | 16 | 6 | 48 | | | |
| | N×N Cal. (9 : 6 : 1) | 27.00 | 18.00 | 3.00 | 48.00 | 0.08 | 1** | 0.7- 0.8 |
| | C. S.×N Obs. | 21 15 36 | 65 | 40 | 141 | | | |
| | C. S.×N Cal. (1 : 2 : 1) | 35.25 | 70.50 | 35.25 | 141.00 | 1.09 | 2 | 0.5- 0.7 |
| | C. S.×N Obs. | 8 6 14 | 27 | 16 | 57 | | | |
| | C. S.×N Cal. (1 : 2 : 1) | 14.25 | 28.50 | 14.25 | 57.00 | 0.30 | 2 | 0.8- 0.9 |

* Type of cytoplasm.

** S. S. b and C. S. were pooled in the calculation of chi-square.

$S$ 間の異型関係はこの様な稔性回復遺伝子との特異的な対応性からも確かめられたことになる。更に，$S_{i-2}$, $S_{i-3}$ 両細胞質についても作用遺伝子のうち少くも1対は種類を異にしており，互いに異型であるとする作業仮説と矛盾しない。なお両交雑組合せで分離をみた稔性回復遺伝子はいずれも茎葉および根部に関する着色遺伝子とは独立関係にあったが，この点は $Rf_1$, $Rf_2$ におけると同様である。

かかる細胞質間の異型関係は $S_{i-4}$ と $S$ の両者間でも確認された。Table 15 に示す如くO型個体TK 81-O : 1 は $S_{i-4}$ 細胞質を有する C. S. 型個体に対してO型となっておらず，$\gamma$-114-778 : 1×TK 81-O : 1 の $F_1$, $F_2$ 両代にみられた雄性不稔型の分離様式は $S_{i-4}$ に作用する2対の補足遺伝子 $Rf_8$, $Rf_9$ が同花粉親にヘテロ ($Rf_8rf_8$ $Rf_9rf_9$) で含まれていたことを示唆していた。故にこれら2因子は $Rf_1$ あるいは $Rf_2$ とは種類を異にすると推定される。

**2) 誘発不稔細胞質 $S_{i-2}$ および $S_{i-3}$ を有する稔性回復系統の育成とこれを用いた交雑実験**

前項で推定した細胞質の異型関係を更に確かめるには実際に各細胞質型に対応するO型ないしRf型を育成し，これを用いて検定交配を試みる必要がある。しかもこれらは将来ガンマー系統の育種的利用を図る際にも不可欠となろう。

既述の如く $\gamma$-60-213 : 69×W 162-6 : 1 および $\gamma$-165-461 : 203×W 162-6 : 1 の交雑組合せの $F_3$ 集団から，$S_{i-2}$ 型に対しては6種の，また $S_{i-3}$ 型に対しては2種の稔性回復系統 ($S_{i-2}Rf_4Rf_4Rf_5Rf_5$ および $S_{i-3}Rf_6Rf_6rf_7rf_7$) をそれぞれ選抜し得た (Table 13, 14)。ただここに育成された系統はいずれも $S_{i-2}$ あるいは $S_{i-3}$ 型の不稔細胞質を保有するものであり，加えて系統内での花粉稔性変異に関しては例えば No. 195 あるいは No. 249 の如く低稔性個体を僅かながら分離する系統も認められた (Table 16)。これは花粉稔性回復に主働遺伝子以外の，前記の諸要因が影響を及ぼしているためと考えられ，特

**Table 16.** Variation in pollen sterility of $F_3$ lines showing partial or complete pollen fertility restoration

a) Cross : $\gamma$-60-213 : 69 ($S_{i-2}$)* C. S.×W 162-6 : 1

| $F_3$ line | Pollen sterility (%) | | | | | | | | | | Total |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | ---10 | ---20 | ---30 | ---40 | ---50 | ---60 | ---70 | ---80 | ---90 | ---100 | |
| 131 | 33 (80)** | 3 ( 7) | 2 ( 5) | 2 ( 5) | 0 ( 0) | 1 ( 2) | 0 ( 0) | 0 ( 0) | 0 ( 0) | 0 ( 0) | 41 ( 99) |
| 182 | 17 (44) | 3 ( 8) | 3 ( 8) | 5 (13) | 2 ( 5) | 4 (10) | 3 ( 8) | 1 ( 3) | 0 ( 0) | 1 ( 3) | 39 (102) |
| 185 | 21 (91) | 1 ( 4) | 1 ( 4) | 0 ( 0) | 0 ( 0) | 0 ( 0) | 0 ( 0) | 0 ( 0) | 0 ( 0) | 0 ( 0) | 23 ( 99) |
| 191 | 13 (62) | 3 (14) | 2 (10) | 1 ( 5) | 0 ( 0) | 0 ( 0) | 1 ( 5) | 0 ( 0) | 0 ( 0) | 1 ( 5) | 21 (101) |
| 195 | 16 (52) | 4 (13) | 3 (10) | 4 (13) | 2 ( 6) | 0 ( 0) | 0 ( 0) | 0 ( 0) | 1 ( 3) | 1 ( 3) | 31 (100) |
| 230 | 18 (72) | 3 (12) | 3 (12) | 1 ( 4) | 0 ( 0) | 0 ( 0) | 0 ( 0) | 0 ( 0) | 0 ( 0) | 0 ( 0) | 25 (100) |

b) Cross : $\gamma$-165-461 : 203 ($S_{i-3}$) C.S.×W 162-6 : 1

| $F_3$ line | Pollen sterility (%) | | | | | | | | | | Total |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | ---10 | ---20 | ---30 | ---40 | ---50 | ---60 | ---70 | ---80 | ---90 | ---100 | |
| 249 | 4 (31) | 0 ( 0) | 2 (15) | 1 ( 8) | 0 ( 0) | 1 ( 8) | 1 ( 8) | 2 (15) | 2 (15) | 0 ( 0) | 13 (100) |
| 262 | 3 (25) | 2 (17) | 1 ( 8) | 0 ( 0) | 2 (17) | 1 ( 8) | 2 (17) | 1 ( 8) | 0 ( 0) | 0 ( 0) | 12 (100) |

* Type of cytoplasm.

** The percentage is given in the parenthesis.

に遺伝的純度の高いO型やRf型を選抜育成する際には変更遺伝子や微働遺伝子についても充分な考慮が払われるべきことを示している。

一方，$F_3$ 中には No. 185 や No. 230 の如く花粉不稔率が40%以下に固定した系統も同時に得られ (Table 16)，これらはRf型系統として直ちに利用できる。Table 17 には No. 185 由来の1個体を供試した検定交雑例を示したが，同個体は $S_{i-2}$ 細胞質型の完全不稔に対しては期待通りRf型として作用し，次代 ($F_1$) には花粉不稔率50%以下の稔性回復型のみを生じた。これに反して，$S$ あるいは $S_{i-3}$ 細胞質を有する完全不稔植物を母本に用いた場合には次代に稔性回復型の外に不稔型を分離し，少数ながら出現したC.S.型をS.S.b型に併せるならば，$F_1$ 分離はいずれも稔性回復型 (N+S.S.a)：不稔型 (S.S.b+C.S.)=1:1 の理論比に適合した。ただしC.S.型個体を生じた原因についてはおそらく前述の交雑諸例におけると同様の理由によるのであろう。

以上の結果は No. 185:1 が $Rf_1$ と $Rf_2$ のいずれか一方と $Rf_6$ をそれぞれヘテロ ($Rf_1rf_1Rf_2Rf_2$ あるいは $Rf_1Rf_1Rf_2rf_2$, $Rf_6rf_6Rf_7Rf_7$) に保持していたと仮定すれば矛盾なく説明され，$S_{i-2}$ と $S$, $S_{i-2}$ と $S_{i-3}$ の各細胞質間では稔性回復遺伝子の種類が少くとも1対ずつは異なると考えられる。この様に $S_{i-2} \neq S$, $S_{i-2} \neq S_{i-3}$ なる異型関係はRf型を用いた交雑からもあらためて確かめられたことになる。

**Table 17.** Frequency distribution of pollen sterility in the crosses between C.S. type plants from γ-60, γ-130 and SLC 133-CMS, and a pollen restored plant, No. 185:1 ($S_{i-2}Rf_4Rf_4Rf_5Rf_5$)

| C.S. plant | Pollen sterility (%) | | | | | | | | | | | Total | Ratio (N+S.S.a : S.S.b : C.S.) | Goodness of fit | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | -10 | -20 | -30 | -40 | -50 | -60 | -70 | -80 | -90 | -100 | C.S. | | | $\chi^2$ | d.f. | P |
| γ-60-213-72:8 ($S_{i-2}$)* | 24 | 3 | 0 | 1 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 31 | 1:0:0 | — | — | — |
| γ-130-425-873:4 ($S_{i-3}$) | 26 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 4 | 8 | 3 | 45 | 1:1:0 | 5.00 | 1** | 0.02 -0.05 |
| γ-130-419-544:1 ($S_{i-3}$) | 7 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 1 | 0 | 16 | 1:1:0 | 1.00 | 1 | 0.3-0.5 |
| SLC 133-CMS:5 ($S$) | 10 | 7 | 2 | 1 | 0 | 8 | 1 | 1 | 8 | 12 | 1 | 51 | 1:1:0 | 1.59 | 1** | 0.2-0.3 |
| SLC 133-CMS:6 ($S$) | 3 | 2 | 1 | 0 | 1 | 6 | 2 | 3 | 2 | 22 | 3 | 45 | 1:1:0 | 1.80 | 1** | 0.1-0.2 |

* Type of cytoplasm.

** S.S.b and C.S. were pooled in the calculation of chi-square.

**3) 原系統 H-2002 よりの検定花粉親による交雑**

誘発細胞質に作用を有する稔性回復遺伝子はこれまでに述べた如く，原系統 H-2002 をはじめ検定系統 H-19, W 162-6, TK 81-O などの集団中に広く保持されている。したがって例えばH-2002から任意抽出した個体を共通の花粉親とし，細胞質型の異なる完全不稔個体にこれを交配することによっても，$F_1$, $F_2$ 代における雄性不稔分離様式の相違に基づき細胞質の異型性を確かめ得るはずである。

Table 18 に示した結果はその1例であるが，$S$ 細胞質を保有するC.S.型個体 W 162-A-4:3 に H-2002:5 の花粉を交配したところ，次代にはS.S.b型とC.S.型がほぼ等頻度で分離し，故に H-2002:5 は $Rf_1$ 座あるいは $Rf_2$ 座のいずれか一方が劣性ホモで他方がヘテロ型 ($Rf_1rf_1rf_2rf_2$ または $rf_1rf_1R_2rf_2$) なる遺伝子構成であったと推察される。しかるに $S_{i-3}$ 型の完全不稔個体 γ-130-419:581 あるいは γ-165-465:473 を母本とした場合には次代 ($F_1$) の分離は N+S.S.a : S.S.b=1:1 となり，また $F_2$ においてはN型同士の姉妹交配により N+S.S.a : S.S.b : C.S.=12:3:1, N型とS.S.b型の相互交雑によっては4:3:1の比がそれぞれ得られ，花粉親個体 H-2002:5 の遺伝子型は上位の座 ($Rf_6$) がヘテロで他方 ($Rf_7$) が優性ホモ ($Rf_6rf_6Rf_7Rf_7$) と推定された。すなわち先に論じた $Rf_6$ (Table 12) に加え $Rf_7$ についても，$Rf_1$ および $Rf_2$ とは別種の遺伝子とみなし得る訳である。

同様の成績は H-2002:6 を共通の花粉親に配した交雑においても得られており，この場合には $S$ と $S_{i-3}$,

**Table 18.** $F_1$ and $F_2$ segregations of male sterile types in the crosses between C. S. type plants from $\gamma$-130, $\gamma$-165 and W 162-A-4, and a pollen parent, H-2002 : 5

a) Cross : $\gamma$-130-419 : 581 ($S_{i-3}$)* C. S. × H-2002 : 5

| Generation (Cal. ratio) | | Male sterile type | | | Total | Goodness of fit | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | N | S. S. a | S. S. b | C. S. | | $\chi^2$ | d. f. | P |
| $F_1$ | Obs. | 35 | 4 | 33 | 0 | 72 | | | |
| | Cal. (1 : 1 : 0) | 39<br>36.00 | | 36.00 | 0.00 | 72.00 | 0.50 | 1 | 0.3–0.5 |
| $F_2$ N×N | Obs. | 34 | 1 | 10 | 4 | 49 | | | |
| | Cal. (12 : 3 : 1) | 35<br>36.75 | | 9.19 | 3.06 | 49.00 | 0.33 | 1** | 0.5–0.7 |
| $F_2$ S. S. b×N | Obs. | 19 | 21 | 33 | 13 | 86 | | | |
| | Cal. (4 : 3 : 1) | 40<br>43.00 | | 32.25 | 10.75 | 86.00 | 0.70 | 2 | 0.7–0.8 |

b) Cross : $\gamma$-165-465 : 473 ($S_{i-3}$) C. S. × H-2002 : 5

| Generation (Cal. ratio) | | Male sterile type | | | Total | Goodness of fit | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | N | S. S. a | S. S. b | C. S. | | $\chi^2$ | d. f. | P |
| $F_1$ | Obs. | 25 | 5 | 26 | 0 | 56 | | | |
| | Cal. (1 : 1 : 0) | 30<br>28.00 | | 28.00 | 0.00 | 56.00 | 0.29 | 1 | 0.5–0.7 |
| $F_2$ N×N | Obs. | 32 | 17 | 19 | 15 | 83 | | | |
| | Cal. (12 : 3 : 1) | 49<br>62.25 | | 15.56 | 5.19 | 83.00 | 22.14 | 2 | <0.001 |

c) Cross : W162-A-4 : 3 ($S$) C. S. × H-2002 : 5

| Generation (Cal. ratio) | | Male sterile type | | | Total | Goodness of fit | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | N | S. S. a | S. S. b | C. S. | | $\chi^2$ | d. f. | P |
| $F_1$ | Obs. | 0 | 2 | 67 | 46 | 115 | | | |
| | Cal. (0 : 1 : 1) | 2<br>0.00 | | 57.50 | 57.50 | 115.00 | 4.60 | 1*** | 0.02<br>–0.05 |

* Type of cytoplasm.
** S. S. b and C. S. were pooled in the calculation of chi-square.
*** N, S. S. a and S. S. b were pooled in the calculation of chi-square.

$S_{i-3}$ と $S_{i-4}$ との間でそれぞれ少くも1対の $Rf$ 遺伝子が別種である可能性が示された (Table 19)。ただ組合せによっては基本遺伝子以外の要因に基づくと考えられる，理論値との適合度の不良あるいは期待されぬ不稔型の分離をみた。W 162-A-4 : 3 × H-2002 : 5, $\gamma$-114-778 : 727 × H-2002 : 6 および W 162-A-4 : 4 × H-2002 : 6 の組合せで基本遺伝子の分離からは原則的に出現が期待されない高稔性個体が若干生じたが，これはその好例といえる。

**4) 花粉稔性回復性と胚数性の関係**

$S$ 細胞質に作用する稔性回復遺伝子 $Rf_1$ は単胚遺伝子 $m$ と連鎖関係にあることが知られている[35),60)]。著者も今回 H-19 MS : 822 × H-2002 : 1 の $F_2$ において両遺伝子間に 23.4% (Table 6) の組換え価を得た。もし，$Rf_1$

**Table 19.** $F_1$ and $F_2$ segregations of male sterile types in the crosses between C. S. type plants from γ-114, γ-130 and W 162-A-4, and a pollen parent, H-2002 : 6

a) Cross : γ-114-778 : 727 ($S_{i-4}$)* C. S.×H-2002 : 6

| Generation (Cal. ratio) | | Male sterile type | | | | Total | Goodness of fit | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | N | S. S. a | S. S. b | C. S. | | $\chi^2$ | d. f. | P |
| $F_1$ | Obs. | 3 | 3 | 53 | 38 | 97 | | | |
| | Cal. (0 : 1 : 1) | 6 | 0.00 | 48.50 | 48.50 | 97.00 | 4.55 | 1** | 0.02 -0.05 |

b) Cross : γ-130-419 : 544 ($S_{i-3}$) C. S.×H-2002 : 6

| Generation (Cal. ratio) | | Male sterile type | | | | Total | Goodness of fit | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | N | S. S. a | S. S. b | C. S. | | $\chi^2$ | d. f. | P |
| $F_1$ | Obs. | 60 | 12 | 31 | 14 | 117 | | | |
| | Cal. (2 : 1 : 1) | 72 | 58.50 | 29.25 | 29.25 | 117.00 | 11.17 | 2 | 0.001 -0.01 |
| $F_2$ | N×N Obs. | 32 | 53 | 41 | 10 | 136 | | | |
| | N×N Cal. (12 : 3 : 1) | 85 | 102.00 | 25.50 | 8.50 | 136.00 | 12.52 | 2 | 0.001 -0.01 |
| | S. S. b×N Obs. | 14 | 8 | 19 | 3 | 44 | | | |
| | S. S. b×N Cal. (4 : 3 : 1) | 22 | 22.00 | 16.50 | 5.50 | 44.00 | 0.00 | 1*** | 1.0 |
| | C. S.×N Obs. | 42 | 37 | 47 | 56 | 182 | | | |
| | C. S.×N Cal. (2 : 1 : 1) | 79 | 91.00 | 45.50 | 45.50 | 182.00 | 4.05 | 2 | 0.1-0.2 |

c) Cross : W 162-A-4 : 4 ($S$) C. S.×H-2002 : 6

| Generation (Cal. ratio) | | Male sterile type | | | | Total | Goodness of fit | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | N | S. S. a | S. S. b | C. S. | | $\chi^2$ | d. f. | P |
| $F_1$ | Obs. | 2 | 3 | 23 | 21 | 49 | | | |
| | Cal. (0 : 1 : 1) | 5 | 0.00 | 24.50 | 24.50 | 49.00 | 1.00 | 1** | 0·3-0.5 |

* Type of cytoplasm.
** N, S. S. a and S. S. b were pooled in the calculation of chi-square.
*** S. S. b and C. S. were pooled in the calculation of chi-square.

座の遺伝子が誘発不稔細胞質に対してその作用を現わさないなら，ガンマー系統を含む交雑では花粉稔性の回復性と胚数性の間に独立関係が認められてもよいことになり，この様な関係を示す成績は細胞質の異型性を検証する上での一つの傍証となり得るはずである。

単胚性の検定系統 H-19 あるいは TK 81-O を花粉親に配した 5 種の交雑 $F_2$ 集団を用いて，かかる連鎖分析を行ったところ Table 20 の如く γ-114 : 775×H-19 : 1 の組合せで弱い連鎖を示唆する組換え価 (43.9%) が算出された以外はむしろ独立とみなしてよい結果となった。調査個体数が少い点や連鎖の相がいずれも相反であることに加え，$S_{i-1}$ および $S_{i-2}$ 型細胞質にそれぞれ作用を現わす $Rf_3$ と $Rf_4$ については，$m$. との間に 36.2 または 40.1% ($Rf_3$) および 38.0 あるいは 40.9% ($Rf_4$)

**Table 20.** Combined segregations between the gene for monogerm and the gene or genes for pollen fertility restoration in $F_2$ populations of the crosses involving $\gamma$-lines

| Cross combination | Type of cross | Germ type / Male sterile type | Multigerm Fertile | Multigerm Sterile | Monogerm Fertile | Monogerm Sterile | Total | Fitness for independent ratio $\chi^2$ | d. f. | P | Link. phase | R.C.V. (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| $\gamma$-114 : 775 × H-19 : 1 | N×N | Obs. | 48 | 27 | 18 | 8 | 101 | | | | | |
| | | Cal.* (9 : 7) (3 : 1) | 42.61 | 33.14 | 14.20 | 11.05 | 101.00 | 3.68 | 3 | 0.2–0.3 | r | 43.9 |
| $\gamma$-114-778 : 1 × TK 81-O : 1 | N×N | Obs. | 17 | 14 | 9 | 8 | 48 | | | | | |
| | | Cal.* (9 : 7) (3 : 1) | 20.25 | 15.75 | 6.75 | 5.25 | 48.00 | 2.91 | 3 | 0.3–0.5 | r | 51.9 |
| | C. S. ×N | Obs. | 70 | 28 | 31 | 12 | 141 | | | | | |
| | | Cal.** (3 : 1) (3 : 1) | 79.31 | 26.44 | 26.44 | 8.81 | 141.00 | 3.13 | 3 | 0.3–0.5 | r | 49.5 |
| | C. S. ×N | Obs. | 28 | 12 | 13 | 4 | 57 | | | | | |
| | | Cal.** (3 : 1) (3 : 1) | 32.06 | 10.69 | 10.69 | 3.56 | 57.00 | 1.21 | 2*** | 0.5–0.7 | r | 45.3 |
| $\gamma$-130 : 425 × H-19 : 2 | N×N | Obs. | 23 | 5 | 7 | 5 | 40 | | | | | |
| | | Cal.* (3 : 1) (3 : 1) | 22.50 | 7.50 | 7.50 | 2.50 | 40.00 | 1.24 | 2*** | 0.5–0.7 | r | >60 |
| $\gamma$-165 : 461 × H-19 : 1 | N×N | Obs. | 195 | 13 | 50 | 7 | 265 | | | | | |
| | | Cal.** (15 : 1) (3 : 1) | 186.33 | 12.42 | 62.11 | 4.14 | 265.00 | 1.72 | 2*** | 0.3–0.5 | r | >60 |
| $\gamma$-165 : 461 × H-19 : 2 | N×N | Obs. | 157 | 15 | 58 | 5 | 235 | | | | | |
| | | Cal.** (15 : 1) (3 : 1) | 165.23 | 11.02 | 55.08 | 3.67 | 235.00 | 2.16 | 2*** | 0.3–0.5 | r | 48.2 |

* S.S.b and C. S. are included in 'Sterile' class.

** N, S. S. a and S.S.b are included in 'Fertile' class.

*** Male sterile types in 'Monogerm' were pooled in the calculation of chi-square.

なる組換え価をもって弱い連鎖が認められる場合[48),49)]も報告されているので，ここに述べた遺伝関係に関してはなお再確認のための試験が必要であろう。しかし今回の成績にみる限り $S_{i-3}$ あるいは $S_{i-4}$ 細胞質に作用する稔性回復遺伝子 ($Rf_6$, $Rf_7$, $Rf_8$ および $Rf_9$) は $Rf_1$ 座の遺伝子とは種類を異にするといえる。

ただ $S$ 細胞質の下での両形質の関係については ROUNDY and THEURER[82),83)] によってテーブルビート 'Ruby Queen' の交雑後代および黄葉突然変異体系統から由来した単純優性の稔性回復遺伝子 $Rf_2$ あるいは $Rf_3$ はそれぞれ単胚遺伝子と独立関係にあることが報告されている。また IMANISHI[40)] も北米合衆国起源の一年生雄性不稔系統を用いた交雑実験で，関与する2種の稔性回復遺伝子と $m$ との間に同様の関係を認めている。

しかし緒論に述べた如く稔性回復性に関する遺伝子仮説は研究者によってかなり異なっており，それぞれにおいて仮定された遺伝子を文献上から同定することは極めて困難である。例えば著者の材料では $S$ 細胞質の下で単純優性の稔性回復遺伝子が関与する例はほとんど見出されていない。故に ROUNDY らの $Rf_2$ あるいは $Rf_3$ は本論考に扱った $Rf_1$ や $Rf_2$ とは別種の遺伝子である可能性が高い。

一方 IMANISHI の実験については，雄性不稔型の分類法を本稿で採用した規準に置き換えて考察した場合，2対の補足遺伝子関与の点では著者の仮定と一致するが，$F_2$ 分離様式は 9 : 6 : 1 よりもむしろ 9 : 3 : 4 型に近い比となる。したがって同氏のいう $X$ あるいは $Z$ 遺伝子を著者の $Rf_1$ や $Rf_2$ と同一遺伝子とすることには疑問

が残り，必ずしも $Rf_1$ と $m$ の連鎖関係を否定したものとはいえないはずである。

本実験においては $S_{i-3}$ および $S_{i-4}$ 細胞質に働く稔性回復遺伝子として仮定した $Rf_6$, $Rf_7$, $Rf_8$ および $Rf_9$ がいずれも $Rf_1$ 座の遺伝子ではないことが判明した。以上の結果は $S_{i-3} \neq S$ および $S_{i-4} \neq S$ なる細胞質の異同関係についての証左の1つとなろう。

**5) 細胞質型を異にする稔性回復型個体間での相反交雑**

もしも異型細胞質のそれぞれに，互いに相異なる稔性回復遺伝子の組が作用を有しているならば，不稔細胞質型を異にする稔性回復 (N) 型個体間で相反交雑を行うことによって，次代における雄性不稔型の分離様式に相反交雑間で差異を生じてもよいはずである。ただし，両親の遺伝子型を特定し得ぬ場合には $F_1$ 分離についての理論比を予め算出しておくことは困難であり，本実験では雄性不稔各型の観察数を相反交雑間で対応せしめ，カイ自乗検定によって均一か否かを検討するに止めた。

$\gamma$-27 ($S_{i-1}$) と $\gamma$-114 ($S_{i-4}$), $\gamma$-27 ($S_{i-1}$) と $\gamma$-130 ($S_{i-3}$) の如く，互いに細胞質型の異なる稔性回復個体間で交配した6種の組合せについてそれぞれ均一性検定を行ったところ，いずれにおいても相反交雑間に明らかな有意差が認められた (Table 21)。ここに得られた成績は母傾効果などの可能性が除外されるなら，細胞質の異型性に関しての傍証の1つとなり得る。

**Table 21.** $F_1$ segregation of male sterile types in the reciprocal crossings between pollen fertile plants (N) with different types of sterile cytoplasm

| Cross combination | Male sterile type | | | | Total | Homogeneity** $\chi^2$ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | N | S. S. a | S. S. b | C. S. | | |
| $\gamma$-27×$\gamma$-114 ($S_{i-1}$)*($S_{i-4}$) | 74 | 24 | 49 | 76 | 223 | 17.74 |
| reciprocals | 123 | 22 | 45 | 49 | 239 | (P<0.001) |
| $\gamma$-27×$\gamma$-130 ($S_{i-1}$) ($S_{i-3}$) | 131 | 37 | 57 | 2 | 227 | 66.19*** |
| reciprocals | 170 | 16 | 1 | 0 | 187 | (P<0.001) |
| $\gamma$-27×$\gamma$-165 ($S_{i-1}$) ($S_{i-3}$) | 130 | 57 | 67 | 3 | 257 | 87.25*** |
| reciprocals | 222 | 59 | 2 | 0 | 283 | (P<0.001) |
| $\gamma$-60×$\gamma$-114 ($S_{i-2}$) ($S_{i-4}$) | 60 | 33 | 26 | 0 | 119 | 17.34 |
| reciprocals | 65 | 52 | 47 | 20 | 184 | (P<0.001) |
| $\gamma$-114×$\gamma$-130 ($S_{i-4}$) ($S_{i-3}$) | 77 | 29 | 23 | 49 | 178 | 27.38 |
| reciprocals | 105 | 41 | 60 | 22 | 228 | (P<0.001) |
| $\gamma$-114×H-19 MS ($S_{i-4}$) ($S$) | 155 | 28 | 15 | 49 | 247 | 54.14 |
| reciprocals | 193 | 29 | 21 | 0 | 243 | (P<0.001) |

* Type of cytoplasm.
** Homogeneity between reciprocal crossings.
*** S. S. b and C. S. were pooled in the calculation of chi-square.

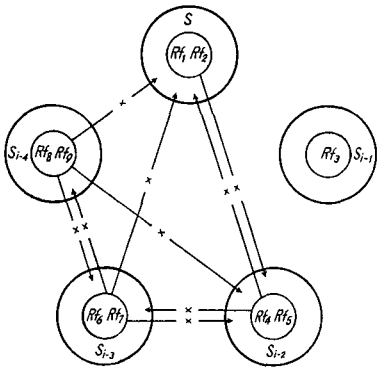
## 4. 考　　察

雄性不稔を誘起する細胞質型に遺伝的変異の存することはトウモロコシ，パールミレット，タマネギ，コムギあるいはタバコなどの主要作物で知られており，その進化的意義や育種的利用が論議の対象となっている[3),8),17),33),45),46),97),104),112)]。例えばトウモロコシでは同一種内の栽培品種から起源の異なる不稔細胞質が多数発見され，これらは稔性回復遺伝子との交互反応性の相違に基づき $T$, $S$ および $C$ の3種の基本群と，これには含まれない5種の異型細胞質に区別されるという[3),33)]。また近縁種・属間に細胞質の分化が見出されている場合もあり，KIHARA[46)] や TSUNEWAKI ら[112)] がコムギやエギ

ロプス属を用いて細胞質の分化の系譜を明らかにした一連の研究はその好例である。

一方テンサイにおいてはガンマー線処理によって自然発見の $S$ とは異なる4種の不稔細胞質が誘発された。本章では稔性回復遺伝子の同定試験を行い，各細胞質型との相互作用の関係に検討を加えたが，$N$ 細胞質型の H-2002 から作出された $S_{i-2}$, $S_{i-3}$ および $S_{i-4}$ 細胞質に関する限りそれぞれに作用を現わす稔性回復遺伝子の組は $S$ 細胞質に働く $Rf_1$, $Rf_2$ の組とは異なっていた。すなわち $S$ 細胞質に対する O 型個体 W 162-6 : 1 は $S_{i-2}$ に作用する $Rf_4$ および $Rf_5$ ならびに $S_{i-3}$ に働く $Rf_6$ を，また別の O 型個体 TK 81-O : 1 は $S_{i-4}$ に対応する $Rf_8$ および $Rf_9$ をおのおのヘテロ型で保持していることが，以上の O 型を花粉親に用いた交雑実験より判明した。したがってこれらの稔性回復遺伝子は同花粉親個体に劣性ホモで維持されている $Rf_1$, $Rf_2$ とは種類を異にしており，ここに供試した O 型個体は $S$ 細胞質型以外には O 型としての作用を示さぬ訳であった。

更に $S_{i-2}$ 型不稔に対する Rf 型個体 No. 185 : 1 は $S$ あるいは $S_{i-3}$ 細胞質をもつ完全不稔型には Rf 型となっておらず，加えて原系統 H-2002 より任意に選んだ検定花粉親を用いた交雑や単胚遺伝子との連鎖分析からも各異型細胞質にはそれぞれ特異的に異なる稔性回復遺伝子の組が関与していることを示唆する傍証が得られた。Fig. 2 には細胞質型と稔性回復遺伝子の各組との間に認められた相互対応の関係がまとめて図示されてあるが，これに基づくなら少くとも $S_{i-2}$, $S_{i-3}$ および $S_{i-4}$




× denotes the absence of interaction between the set of pollen fertility restoring genes and the sterile cytoplasm.

**Fig. 2.** Diagrammatic scheme showing the specific relationship between the cytoplasm types and the set of pollen fertility restoring genes.

が $S$ とは異型の細胞質であり，かつ誘発細胞質間にも異型関係が仮定されるとするのが今のところ至当と考えられる。

細胞質型と稔性回復遺伝子間に特異的な相互作用の関係が存することはコムギ，トウモロコシあるいはパールミレットなどで見出された事例に類似している。しかしコムギなどにおいては細胞質や稔性回復遺伝子に関する遺伝変異を専ら異属，異種あるいは異品種に求めており，テンサイの場合とはその点で様相を異にする。すなわちテンサイではガンマー線照射を施し細胞質突然変異を誘起せしめることによって $N$ 細胞質型の同一品種ないし系統内から異型細胞質を得ることができた訳であり，しかもそれぞれに作用する稔性回復遺伝子は原系統や既存の O 型系統中に広く保持されていた。

したがって各細胞質に対応する稔性回復遺伝子の各々の組について劣性型あるいは優性型を固定せしめれば，各不稔細胞質型に対する O 型あるいは Rf 型が育成できるはずであり，事実 $\gamma$-60-213 : 69 × W 162-6 : 1 および $\gamma$-165-461 : 203 × W 162-6 : 1 の2組合せの $F_3$ 集団より $S_{i-2}$ および $S_{i-3}$ 型のそれぞれに対する Rf 型が選抜され，その一部は既述の如く検定交雑に供された。

先に KNAPP[52] は4種の雄性不稔個体と複数の花粉親との pair cross を行って次代での雄性不稔分離様式が組合せ間で顕著に異なる成績を得たが，同氏はその原因を細胞質型の変異よりもむしろ核遺伝子型の多様性に帰した。また BOSEMARK[5] による I. I. R. B. での試験結果は良好な O 型が，用いられた雄性不稔系統の全てに有効であることを示しており，細胞質型の分化については否定的である。著者の実験においても既存の不稔細胞質 ($S$) 間に異型関係は見出されなかった。

本論考に扱った雄性不稔変異体はいずれもガンマー線誘発によるものであり，細胞質変異と併せて核遺伝子にも種々の新たな変異が生起し，そのために既存の O 型がこれらに対しては作用を示さなくなる場合も可能性として考慮する必要があろう。しかしこれまでに述べた結果は全て細胞質の異型性を前提とする作業仮説の下で互いに矛盾なく説明され，加えて不稔細胞質型を異にする稔性回復個体間での相反交雑からもこの仮説を裏付ける証左が得られた。かかる相反交雑試験は細胞質型の相違を確認するための補完的な便法として今後利用できる。

トウモロコシでは従来広汎に用いられてきた $T$ 型不稔細胞質が胡麻葉枯病菌の T レースに対し特異的に罹病性を示すことが判明し，雄性不稔の育種利用を今後も継続せんとするなら早急に他型の細胞質で置換える必要

性が生じている。現在トウモロコシ育種においては不稔細胞質の探索やこれの人為作出法も新たな課題となり[18]，更にこれまでの育種方式に替わるものとして異型の不稔細胞質の混合使用（multiplasm 方式）が提案された[34]。またパールミレットでは一方の不稔細胞質型に対しては不稔維持親となり他方の細胞質には稔性回復親となる様な遺伝的関係(reciprocal maintainer-restorer relationship) を有する系統を育成して，これを相互循環選抜に利用する試みも企てられている[9]。本章に樹てた遺伝仮説によれば，テンサイにおいてもこの様な遺伝子型を選抜することは可能なはずである。ガンマー線処理に基づく異型不稔細胞質の人為誘発は育種的意義も大きいと考える。

## 第4章　雄性不稔変異体における花粉退化の細胞学的特異性

### 1. 緒　　言

テンサイの細胞質雄性不稔における花粉退化は葯壁のタペート細胞の異常と関連している[2),36),47),69),80)]。すなわち減数分裂での染色体行動に軽微の不規則性が認められる場合[47]もあるものの，これは完全不稔の主因とはみなされず，むしろ花粉四分子期から小胞子期にかけてしばしば生ずるタペート組織の plasmodium 化とその異常肥大が完全不稔性との連関現象として特に注目された。また KINOSHITA and TAKAHASHI[48] は正常細胞質型系統 H-19 に由来する3種の雄性不稔変異体 $\gamma$-20, $\gamma$-27 および $\gamma$-54 についても同様のタペート異常を確認している。

本章では前2章の遺伝解析に扱った3種の誘発細胞質型 $S_{i-2}$, $S_{i-3}$ および $S_{i-4}$ をそれぞれ保有する完全不稔個体を用いて，自然起源の $S$ 細胞質を有する完全不稔植物（以下 $S$ 型不稔と略称）との比較の下に減数分裂時の染色体行動や小胞子および葯壁組織の発育過程を観察し花粉退化の細胞学的機構に検討を加えた。

### 2. 実験材料および方法

供試材料は自然起源の雄性不稔検定系統 H-19 MS ならびにガンマー線誘発の $\gamma$-60, $\gamma$-114, $\gamma$-130 および $\gamma$-165 の計5系統からそれぞれ任意に選んだ完全不稔型個体である。開花時の葯はいずれも萎縮して白色を呈し，葯中には発育を停止した花粉あるいはそれらの残渣のみが観察された。

標本作成に当っては各個体より開花約1週間前の花蕾を採取し，カルノア液で1分間前固定の後，Karpechenko 液で24時間固定した。12 $\mu$m のパラフィン切片を作りデラフィールドのヘマトキシリン液とエオシン液で二重染色を行った。なおタペートの形態異常の観察には，異常を示す葯胞を1個体につき約50個調査した。一方葯壁の澱粉反応性に関してはキシロールで切片のパラフィンを溶除しエタノールで洗滌後直ちにヨードヨードカリ液で染色して反応を調べた。

以上の試験に供した完全不稔植物の一部は減数分裂の観察にも用いられたが，その場合には試料を全て少量の塩化第2鉄を添加したカルノア液で固定し酢酸カーミンで染色後，圧し潰し法により一時プレパラートを作成して検鏡した。

葯の発育時期の表示は中嶋・細川の報告[63]にしたがった。すなわち花粉四分子期を起点として小胞子の大きさ，核の位置，花粉外壁の発達程度ならびに液胞の変化などを基に小胞子前期，中期，後期に区分し，更に形態的に花粉粒が完成した時をもって花粉期とした。各時期の特徴を略述するなら以下の如くとなる

1. 花粉四分子期……4個の娘細胞が互いに近接し，これらをカロス壁が含む。核は中央部に位置する。
2. 小胞子前期……四分子の各々が分れて独立した小胞子となる。核は中央部にあり，液胞は未だ観察されない。花粉外壁の発達も不充分である。
3. 小胞子中期……小胞子の大きさが増し外壁の発達が次第に顕著になる。稔性葯では通例タペート細胞が消失し始める。
4. 小胞子後期……花粉外壁が更に肥厚し発芽孔も認められる。液胞が肥大し細胞質の大部分を占め核は偏在する。
5. 花粉期……花粉外壁，発芽孔は共に完成し，花粉内容物の集積が顕著となる。これに伴い液胞は観察されなくなる。

### 3. 実験結果

#### 1) 減数分裂

先に $S$ 型不稔植物について調査した結果[47]によれば，減数分裂の第1分裂後期で例えば9+8+1などの不規則的な染色体配分が極めて低頻度ながら観察されている。

ここに用いた4種のガンマー系統はいずれもガンマー線誘発による突然変異体の後代であるが，既述の如く系統育成の過程で種子着粒率の高い個体が毎代意識的に母系選抜された。故に少くも相互転座などの，著しい種子不稔を生ぜしめる様な染色体異常はほとんど淘汰されたと考えられる。

事実減数分裂の調査 (Table 22) においても，全てのガンマー系統で $S$ 型不稔の場合と同様に染色体の接合

**Table 22.** Meiotic behaviours in C. S. type plants from four kinds of $\gamma$-line and the $S$ cytoplasm strain, H-19 MS

| Line | Type of cytoplasm | Chromosome configuration at diakinesis or metaphase I | | | Chromosome distribution at anaphase I | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 9 II | Others | Total | 9+9 | Others | Total |
| H-19 MS | $S$ | 43 | 0 | 43 | 51 | 0 | 51 |
| $\gamma$-60 | $S_{i-2}$ | 13 | 0 | 13 | 27 | 0 | 27 |
| $\gamma$-114 | $S_{i-4}$ | 38 | 0 | 38 | 25 | 0 | 25 |
| $\gamma$-130 | $S_{i-3}$ | 20 | 0 | 20 | 27 | 2 (9+8+1) | 29 |
| $\gamma$-165 | $S_{i-3}$ | 16 | 0 | 16 | 14 | 0 | 14 |

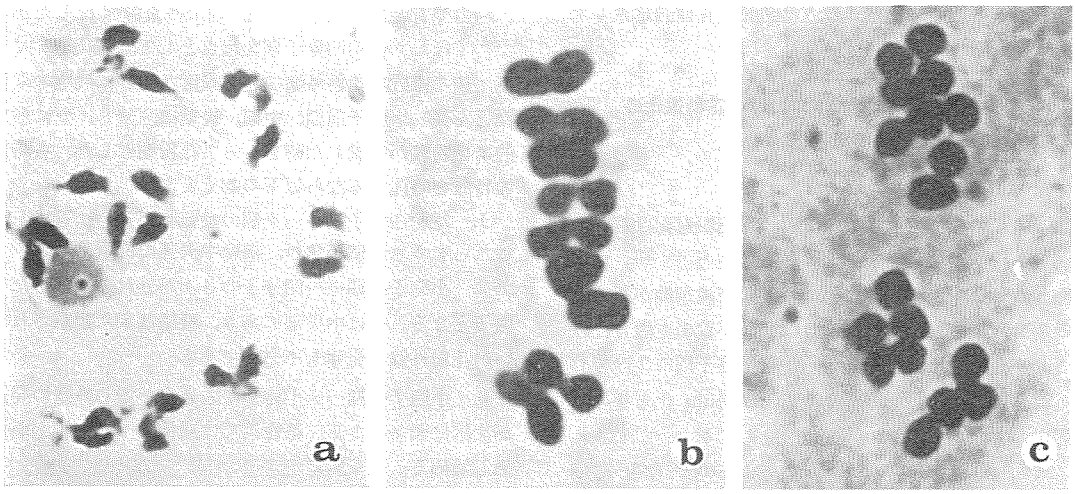



**Fig. 3.** a, b: Chromosome association (9II) in diakinesis and metaphase I of complete sterile plants (×1000, ×1500).
c: Regular chromosome distribution (9+9) in anaphase I observed in complete sterile plants (×1500).

様式には不規則性が認められなかった。すなわち供試個体の花粉母細胞の大部分について移動期および第1分裂中期では9個の2価染色体 (Fig. 3 a, b) が，また第1分裂後期では9+8+1の配分を示した2細胞 ($\gamma$-130) を除けば全て9+9なる染色体分配 (Fig. 3 c) が観察され，不稔細胞質型の如何にかかわらず，染色体行動の異常は極くまれであった。

**2) 小胞子形成過程**

$S$ 型不稔についてはこれまでに ARTSCHWAGER[2] をはじめ少なからぬ研究者により詳しい細胞組織学的調査がなされてきた。本実験でもガンマー系統における小胞子退化機構との比較対照に資するために H-19 MS を再び用いて観察を行ったが，供試個体の如何を問わず花粉四分子期から小胞子中・後期にかけてタペート細胞の plasmodium 化とその肥大が認められた。これらは多核で種々の大きさの液胞を含み，その形状や肥大発達の様相に基づけば先に細川ら[36] が試みた如き類型化が可能である (Table 23)。

すなわちここに風船状 (I 型) 肥大と称するのは1ないし数個のタペート細胞のみが特に葯腔の中心に向って風船玉様に膨大し，いわゆる pseudopodiumlike incursions を形成するもの (Fig. 4 a) であり，他方より多数の隣接したタペート細胞が互いに癒合し，あたかも丘陵の様に肥厚する型 (Fig. 4 b) を丘状 (II 型) と呼ぶことにする。通例同一の分枝中，時には同一花蕾中に両肥大型が共存する如くであったが，両者の生起頻度は個体によって相違し，中にはいずれか一方の型よりみられない場合もあった。また1つの葯胞内に2型が混在する例は見出されなかった。

小胞子はタペートの異常発達開始後に発育を停止し，

**Table 23.** Abnormalities of microsporogenesis in C. S. type plants from four kinds of $\gamma$-line and the $S$ cytoplasm strain, H-19 MS

a) Abnormality of tapetum

| Line | Type of abnormality[1] | | | Initiate stage of abnormality | | | | Observed plants |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Microspore | | | |
| | I | II | III | Tetrad | Early | Middle | Late | |
| H-19 MS ($S$)[2] | 493[3] (65.6) | 258 (34.4) | 0 | 1 | 5 | 9 | | 15 |
| $\gamma$-60 ($S_{i-2}$) | 618 (73.2) | 226 (26.8) | 0 | | 9 | 8 | 1 | 18 |
| $\gamma$-114 ($S_{i-4}$) | 592 (58.4) | 138 (13.6) | 283 (27.9) | 3 | 6 | 12 | | 21 |
| $\gamma$-130 ($S_{i-3}$) | 626 (60.4) | 411 (39.6) | 0 | 2 | 11 | 7 | | 20 |
| $\gamma$-165 ($S_{i-3}$) | 403 (81.9) | 89 (18.1) | 0 | 1 | 6 | 3 | | 10 |

b) Abnormality of microspores

| Line | Abortive stage | | | | Observed plants |
|---|---|---|---|---|---|
| | Microspore | | | | |
| | Early | Middle | Late | Pollen | |
| H-19 MS | | 4 | 9 | 2 | 15 |
| $\gamma$-60 | | 4 | 10 | 4 | 18 |
| $\gamma$-114 | 2 | 5 | 10 | 4 | 21 |
| $\gamma$-130 | 1 | 6 | 9 | 4 | 20 |
| $\gamma$-165 | 1 | 0 | 8 | 1 | 10 |

1) I: Balloon type of tapetal hypertrophy. II: Hill type of tapetal hypertrophy. III: Vacuolated tapetal cells without conspicuous swelling.
2) Type of cytoplasm.
3) Number of anther loculi. The percentage is given in parenthesis.

タペート組織の崩壊と共に破壊されて，葯腔内は空虚となるか僅かに退化花粉の残渣が確認されるのみとなる (Fig. 4 c)。なおタペート異常の発現時期は光学顕微鏡による観察の範囲内では小胞子退化に先行する如くで，タペート異常が花粉不稔の直接的な原因であることを示唆しているようにもみえるが，その因果関係は必ずしも明らかでない。タペート肥大と小胞子退化の生起時期に関しては Table 23 に示す如く個体間変異が小さくなく，前者については四分子期より小胞子中期まで，後者では小胞子中期より花粉期に至るまでの変異幅がみられた。

一方ガンマー系統の完全不稔型についても $S$ 型不稔の場合に似て四分子期ないし小胞子の各期にタペート組織の plasmodium 化を呈する個体が多数を占めた。これらの不稔個体では $S$ 型不稔におけると同様の小胞子退化機構が働いているとみなされる。ただ $S_{i-4}$ 細胞質を保有する $\gamma$-114 よりの完全不稔型中には以上の様な退化経過をたどる型に加えて，これとは明らかに区別されるところの，タペート組織の発育経緯を示す個体が含まれていた (Table 23, 24)。$\gamma$-114 : 2, : 4, : 8 および : 18 においてはタペート細胞の肥大は生ずるものの，その多くは典型的な pseudopodiumlike incursions を形成せずに各タペート細胞が高度に液胞化したまま残存し (Fig. 5 a), 小胞子退化と共に崩壊 (Fig. 5 b) して葯腔はこれらの残渣をとどめるのみとなる。$\gamma$-114 : 1 や : 15 ではタペート細胞は顕著な周縁肥大や極端な液胞化も起すことなく (Fig. 5 c) 小胞子中期または後期に至って急速

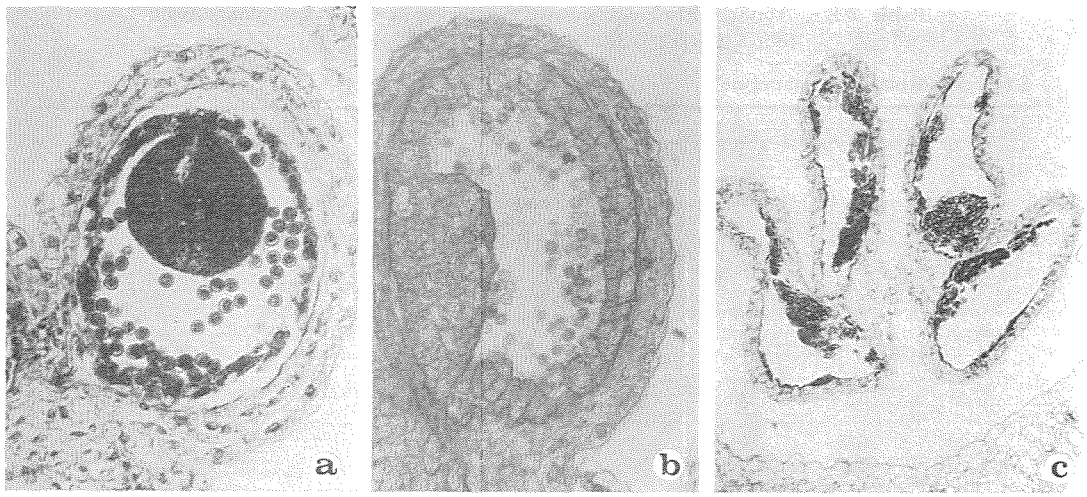



**Fig. 4.** Abnormalities of tapetum and microspores in complete sterile plants with *S* cytoplasm.
a: Balloon type hypertrophy (×550). b: Hill type hypertrophy (×550).
c: Degeneration of tapetal plasmodium and microspores (×250).

**Table 24.** Microsporogenesis in C. S. type plants from the $S_{i-4}$ cytoplasm strain, γ-114

a) Abnormality of tapetum

| Plant No. | Type of abnormality[1] | | | Developmental stage[2] | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Microspore | | | |
| | I | II | III | Tetrad | Early | Middle | Late | Pollen |
| γ-114 : 1 | 0[3] | 0 | 54 | | | ←——→ | × | |
| : 2 | 0 | 0 | 55 | | | ← ——→ | | × |
| : 4 | 0 | 0 | 48 | | | ←——→ | × | |
| : 8 | 0 | 0 | 56 | ←——→ | × | | | |
| : 15 | 1 | 5 | 38 | | ←——→ | × | | |
| : 18 | 8 | 0 | 32 | | ←——→ | | × | |

b) Reaction of starch by IKI in endothecium and middle layer

| Plant No. | Developmental stage | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Microspore | | | |
| | P. M. C. | Tetrad | Early | Middle | Late | Pollen |
| γ-114 : 1 | +[4] | ++ | + | − | −[5] | |
| : 2 | + | + | − | − | − | − |
| : 4 | + | ++ | + | + | + | |
| : 8 | + | ++ | − | | | |
| : 15 | + | + | + | + | | |
| : 18 | + | ++ | + | + | + | |

1) and 3) are as indicated in Table 23.
2) ←——→: Tapetal abnormality ×: Stage of microspore abortion.
4) −: No reaction. +: Small. ++: Large.
5) Microspores are broken down at this stage.

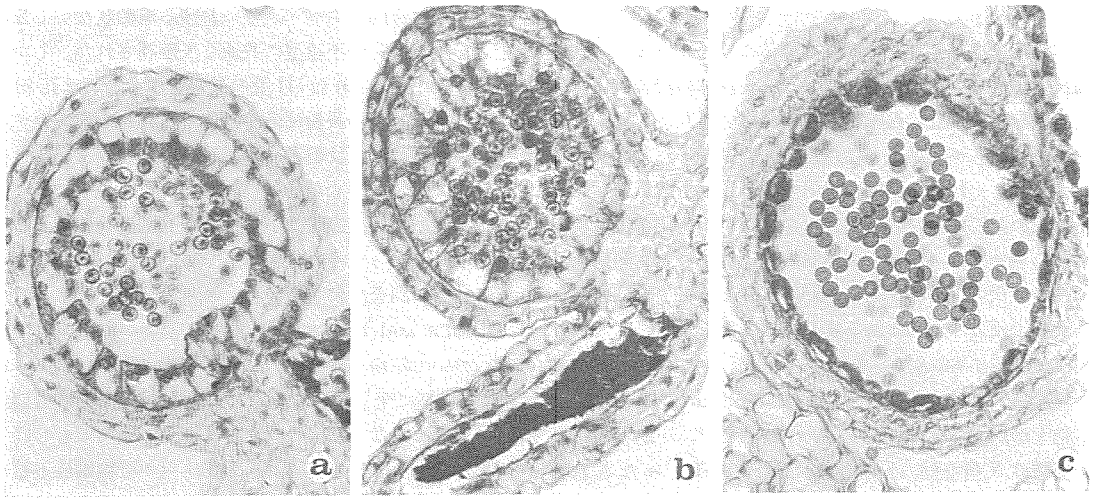



**Fig. 5.** Abnormalities of tapetum and microspores in complete sterile plants with $S_{i-4}$ cytoplasm.

a: Vacuolated tapetal cells without swelling (×550).
b: Degeneration of microspores and highly vacuolated tapetum (×550).
c: Degeneration of tapetum with slight vacuolation (×550).

に崩壊し，葯壁の内側に細い帯状の層として残る。また，小胞子は同時期には既に発育を停止し退化を始めていた。

これに似た現象はメンデル性雄性不稔[2),50)]や $S$ 細胞質型を有する部分不稔個体[2),36)]などでも見出されているが，今回は $S_{i-4}$ 細胞質型の完全不稔個体に限って観察され (Table 23), 細胞質の異型性との関連において注目された。

なおいずれのガンマー系統にも風船状および丘状肥大の両型が認められ，各系統共に前者の割合が多い点では $S$ 型不稔の場合 (H-19 MS) とかわらなかった。これら2型の発生機構がいかに異なるかについては更に詳細な検討を要するが，$\gamma$-165 では他系統に較べて風船状肥大の生起頻度が高く，他方 $\gamma$-130 においては相対的にこれが低い傾向にあった (Table 23)。

また調査個体が全て C. S. 型であり表現型的には斉一であったにもかかわらず，小胞子退化の時期やタペート異常の発現時期に関してはたとえ同一系統内でも個体間変異が小さくない。特に $\gamma$-114 や $\gamma$-130 ではその変異がかなり大きい様であった。

3) 葯壁組織の澱粉反応

完全不稔型の葯においては正常稔性を示す葯とは異なって内被や中間層に澱粉が異常に集積し，開花に至ってもなお残存することが知られている[37)]。

今回の調査でもタペートの plasmodium 型肥大を生ずる完全不稔個体については細胞質型に関係なく同様の傾向が認められた。しかるに $S_{i-4}$ 細胞質を有する $\gamma$-114 では III 型のタペート異常を示す完全不稔型において小胞子退化以前に澱粉反応が消失する個体も見出され (Table 24), 他型の不稔とは明らかに様相を異にしていた。

## 4. 考　　察

高等植物の細胞質雄性不稔においてはニンジン[114)]やシントウガラシ[68)]などの報告例を除き減数分裂時の染色体行動に不規則性のみられる場合は少く，むしろ減数分裂ないし四分子期以降に生ずるタペート組織の異常発育と関連して花粉退化が起こる事例が多い[55)]。しかしカンランやダイコン類[66)]あるいはイネ[100)]ではタペートの形態的異常は認められず，前者においては小胞子の発達とタペートの崩壊過程との時間的不均衡 (timing unbalance) が，後者では小胞子自体の遺伝子型に基づく致死がそれぞれ花粉不稔の主因と考えられている。またペチュニアやモロコシ[24),28),41),113)]の如くカロス壁の早期消失がその原因とみなされるものもある。その外 JOPPA ら[44)]はチモフェービ細胞質を有する六倍性コムギで花糸の維管束構造の異常を観察し，テンサイにおいてもこれと類似の現象がタペート異常と共に報告されている[80)]。この様に雄性不稔生起の細胞組織学的機構は一様では

ない。

本研究に供試した完全不稔型個体についてはガンマー系統の場合も含め減数分裂における染色体の接合および配分の様式に目立った不規則性は見出されなかった。ここに用いた各不稔系統では花粉稔性回復にそれぞれ異型の細胞質とそれに特異的に対応する核遺伝子組が相互作用を現わしている。故に調査した各完全不稔個体は表現型的に斉一であっても，細胞質と核遺伝子の遺伝的構成は同一でない。小胞子退化の経緯に関しても異型細胞質系統間で相違の認められる場合があった。

すなわち $\gamma$-60 ($S_{i-2}$), $\gamma$-130 ($S_{i-3}$) および $\gamma$-165 ($S_{i-3}$) の3系統ではタペート細胞の plasmodium 化とその異常肥大が供試個体の如何を問わず観察され，小胞子退化の機構は $S$ 型不稔におけるとおおむね同様とみなされた。しかるに $S_{i-4}$ 細胞質を保有する系統 $\gamma$-114 中にはタペート細胞がやや肥大し液胞化したまま残存して，顕著な plasmodium 化を呈することなしに崩壊する場合が見出された。

先に ARTSCHWAGER[2] は $S$ 型の部分不稔において個々のタペート細胞が高度に液胞化してほとんど葯腔をふさぎ小胞子が中央部に圧迫される例を観察した。後に細川ら[36] も同様の現象を確認して放射状肥大として記載した。また $S$ 型不稔や $\gamma$-20, $\gamma$-27 の完全不稔でも類似した退化経過が報告されている[47]。$\gamma$-114 中に見出された III 型の異常過程に関してはかかる顕著な放射状肥大は少く，むしろ野生ビート *Beta maritima* L. の遺伝子雄性不稔[50] にみられる如く空胞化したタペートの肥大程度はより軽微であった。

本実験による限り，$\gamma$-114 以外の系統ではこの様な特異な異常型 (III 型) を呈する葯は認められない。ただ同系統内にも I または II 型を示す個体が混在しており，かかる系統内変異がいかなる原因によるかが問題点として残る。しかし同一環境下の試験で III 型が $S_{i-4}$ 細胞質型の完全不稔個体にのみ検出された事実は，これが $S_{i-4}$ 細胞質型に関連した特異的現象である可能性を示唆するともいえよう。

一方細川ら[37] は正常型個体の葯においては一般に小胞子期に内被や中間層の澱粉反応が消失し始め，かわって還元糖の反応が顕著になるのに反し，不稔葯では澱粉が開花期まで残存し還元糖の集積も緩慢であるとの成績を得た。イネの低温処理による不稔でも同様の指摘[92] があるが，これは花粉不稔の成因の1つが花粉発育のエネルギー源または花粉内容の組成分となる還元糖の，母体から花粉への供給阻害にあることを示していよう。かかる傾向は今回もタペートのいわゆる風船状ないし丘状肥大を生ずる完全不稔型に共通して確認された。しかし $\gamma$-114 中に見出された III 型の異常を示す葯では花粉の壊疽以前に葯壁の澱粉反応が消失する場合もあった。

また風船状や丘状肥大の生起頻度は個体間でかなり相違していた。イネの低温不稔の電子顕微鏡観察[67] によれば，両型の肥大過程は中間型を介して連続的であるという。したがってその発生機構や遺伝的規制に関しては更に詳しい調査を要する。

LASER and LERSTEN[55] は被子植物の細胞質雄性不稔について花粉不稔発現の時期を小胞子母細胞期から3核花粉期に至る8期に区分し，これを基に発現時期が種・属間で異なり，場合によっては同一種内でもしばしば相違することを指摘した。またトマトでは雄性不稔に関与する6種の核遺伝子がそれぞれ相異なる発育時期に小胞子崩壊を生ぜしめる事実が知られている[79]。本実験に扱った個体数は充分多いとはいい難いが，$\gamma$-114 と $\gamma$-130 の2系統でタペート異常および小胞子崩壊の生起時期についての変異幅が特に広い様であった。これらの傾向が細胞質の異型性に起因するか否かを明らかにするには更に制御環境下で観察を重ねなければならない。

## 第5章　綜合論議

核と同様に細胞質中にも自律的な遺伝担荷体が存し，たとえ異種ないし異属間で核置換を行ってもそれの恒常性が保持されることはアカバナ属[57] やコムギあるいはエギロプス属[29),45] を用いた研究から明らかにされた。つまり自己増殖能をもち細胞分裂を通じて娘細胞に伝達される細胞質遺伝子の存在に1つの実験的根拠が与えられた訳である。一方葉緑体やミトコンドリアなどの細胞質オルガネラ中には，比重や塩基組成の点で核 DNA とは相違するものの，核酸物質が検出され[11),64),85]，最近では遺伝子操作技術の導入によってようやく核外 DNA の解析も活潑になってきた[77]。

しかし細胞質遺伝子の分離や再組合せの様式，あるいはその所在などについては微生物の一部の事例を除けば知見の集積は必ずしも多くない。特に高等植物においては有効な実験手法が充分に確立されておらず，先にアカバナ属で提出された細胞質遺伝子の複製と分離に関する理論模型[58] にしても単純化に付随する多くの前提を必要とし，適用場面も今のところ同属植物の特定形質に限られている。

一方テンサイにおいては遺伝的に安定した雄性不稔細胞質がガンマー線を変異源として誘発され[48]，しかも本

論文に述べた如く誘発細胞質はいずれも既知の $S$ 型（自然起源）とは異なっていた。したがってここに得られた不稔性は原系統集団に含まれていた変異ではなく，新たに生じた細胞質変異に起因することが確かめられた訳である。

細胞質変異が人為的にも誘発され得るなら，遺伝子の属性としての半保守性が確認されたことになり，それは細胞質遺伝子の実在性に対する証左の1つとなろう。テンサイ以外にもモロコシでのコルヒチン処理をはじめとして細胞質雄性不稔の作出例が増えつつある。ただかかる遺伝的変化の機作が核遺伝子の点突然変異の場合と同一であるか，あるいは細胞質遺伝子の体細胞分離も含めた別種の機序に基づく組換えであるかは明らかでない。しかしアカバナ[43]，トウモロコシ[102]，パールミレット[7),13)]およびテンサイ[56]の雄性不稔では正常細胞質型への復帰変異例が報告されており，細胞質遺伝子に起こり得る遺伝的変化の内容は単に欠失のみに止まらぬと結論できる。

EDWARDSON の綜説[19]によれば細胞質雄性不稔の多くは細胞質遺伝子と稔性回復遺伝子の相互作用に支配される型であり，種によっては核遺伝子分析を通じて細胞質型についての遺伝変異が明らかにされている。例えば GRACEN and GROGAN[33]はトウモロコシにおいて起源を異にする38種の不稔細胞質を複数の核親に導入し，不稔細胞質型と稔性回復遺伝子の交互反応の特異性より3種の基本群 $T$, $S$, $C$ およびそれらには含まれない5種の細胞質型に類別した。同様にパールミレット[8]では $S_1$, $S_2$ および $S_3$ の3型，タマネギ[97]では $S$ と $T$ の2型，ライムギ[31]においては少くとも "*Pampa*" および "*Primitive Persion*" なる2群の不稔細胞質型の分化がそれぞれ知られている。

これらの不稔細胞質はいずれも同一種内に，自然突然変異の結果生起したものと解釈されるが，変異機構の詳細は不明である。ただし高度の自殖性を示す植物では自然に細胞質変異が誘発されても変異体が稔性回復遺伝子を保有していなければその個体は不稔となり，生じた変異は1代限りで消失する確率が高いであろう。逆に他殖性植物においては同一種内に多様な細胞質変異が前者に較べて維持され易いことになる。事実コムギ[45),112]やタバコ[104]などではかかる分化が種間ないし属間にのみ検出されており，この場合には細胞質の分化が核ゲノムと共に種の形成に一定の役割を果している。

しかるにテンサイでは $N$ 細胞質型の同一系統あるいは品種から複数の異型不稔細胞質変異体が誘発され，しかも各々において作用を現わす稔性回復遺伝子は原系統や既存の O 型中に広く保持されていた。自然集団中にもこの様な細胞質型の分化が存するなら，稔性回復遺伝子に関する変異が保有されていたことも容易に理解されるところである。BOSEMARK[5]の実験や著者の予備的な検定交雑においてはかかる分化を示唆する成績は得られなかったが，最近パキスタン，トルコ，中国など起源を異にする不稔細胞質間には異型関係が認められるとの研究[108]もある。

細胞質遺伝の分析に当ってはこれまで変異体に乏しい点と単親性の遺伝様式が最大の障害となってきた。しかしクラミドモナスでは主にストレプトマイシンを誘発源として多様な細胞質突然変異体が作出され，加えて交配に先立ち雌性親細胞を紫外線で処理することにより遺伝様式を両親性に変える方法も案出された[86),87),88]。その後組換えや極性を利用して，葉緑体を担荷体と仮想する遺伝子地図が試作されている[89]。高等植物においても今後細胞融合による細胞質雑種（cybrid）の作出法や組換え DNA 技術を適用した核外 DNA の直接的な解析法が定着するであろう。したがって本稿に論じた如く複数の異型不稔細胞質の人為誘発が可能となったことは細胞質遺伝の機構を解明する上でも一つの興味深い知見と素材を得たことを意味しよう。

## 摘　　要

1) 本研究ではガンマー線処理によって誘発されたテンサイの細胞質雄性不稔性に関して遺伝学的ならびに細胞学的解析を試みた。

2) 正常型細胞質を有する複胚系統 H-2002 から作出された4種の雄性不稔系統 $\gamma$-60, $\gamma$-114, $\gamma$-130 および $\gamma$-165 においては，雄性不稔性が少くとも $M_4$ 代に至るまで比較的高率に母系伝達された。以上に加え，原系統との相反交雑や細胞学的観察から，これらの不稔性が安定度の高い細胞質突然変異に起因することを推論した。

3) いずれのガンマー系統においても花粉稔性回復には例外なく2対の核遺伝子の関与が認められた。しかしこれらの2遺伝子間の相互作用様式は系統間で互いに異なっていた。すなわち $\gamma$-60 を含む交雑の $F_2$ では N+S.S.a : S.S.b : C.S.=9:3:4, $\gamma$-130 および $\gamma$-165 を用いた組合せにおいては 12:3:1, また $\gamma$-114 については $S$ 型系統の場合の如く 9:6:1 なる分離比がそれぞれ得られた。

4) 単胚性正常細胞質型系統 H-19 より誘発された細胞質突然変異体 $\gamma$-20 および $\gamma$-27 に関しても $S$ 型不稔

とは異なる相互作用様式が見出されており，それらの成績も併せるならば，$S$ とは異型の4種の不稔細胞質 $S_{i-1}$, $S_{i-2}$, $S_{i-3}$ および $S_{i-4}$ がガンマー線処理によって新たに誘発せしめられたとする作業仮説を樹てることができる。

5) $S$ 型あるいは誘発細胞質型の下での花粉稔性回復にはここに分析した基本遺伝子組に加えて作用力の小さな変更遺伝子や各種の環境要因なども影響を及ぼしていることを $F_2$ 分離集団における花粉稔性変異の多様性より推論した。

6) $S_{i-2}$, $S_{i-3}$ および $S_{i-4}$ の各細胞質について $S$ 型との異同を検証するため，$S$ 細胞質に対する2種のO型系統 W 162-6, TK 81-O より任意抽出した個体 ($N\,rf_1\,rf_1rf_2rf_2$) を花粉親に用いて検定交雑を行った。その結果 W 162-6 : 1 は $S_{i-2}$ に作用を現わす2遺伝子組 $Rf_4$, $Rf_5$ と $S_{i-3}$ に対応する2遺伝子の内の上位の遺伝子 $Rf_6$ を，TK 81-O は $S_{i-4}$ に働く2対の補足遺伝子組 $Rf_8$ および $Rf_9$ をそれぞれヘテロ型で保有していたことが示された。したがってこれらの遺伝子は同O型に劣性ホモで保持されていた $Rf_1$, $Rf_2$ とは種類を異にし，しかもかかるヘテロ接合型の $Rf$ 遺伝子はいずれも $S$ 細胞質に対しては稔性回復作用を有していない故に，$S_{i-2}$, $S_{i-3}$ および $S_{i-4}$ は $S$ とは異型細胞質と推定した。また $S_{i-2}$ と $S_{i-3}$ 間でも関与遺伝子の種類が少くも1対は相違しているので，両細胞質も互いに異型とみなされた。

7) 2種の交雑組合せ $\gamma$-60-213 : 69 × W 162-6 : 1 および $\gamma$-165-461 : 203 × W 162-6 : 1 の $F_3$ 集団から，$S_{i-2}$ および $S_{i-3}$ 細胞質型の各々に対する Rf 型 ($S_{i-2}Rf_4Rf_4\,Rf_5Rf_5$ および $S_{i-3}Rf_6Rf_6rf_7rf_7$) を選抜した。前者の Rf 型系統中の1個体 No. 185 : 1 を花粉親として，細胞質型の異なる C. S. 個体との交雑を試みた結果，同花粉親は少くとも $S$ および $S_{i-3}$ 細胞質を有する C. S. 型に対しては Rf 型として作用しないことが判明した。故に $S_{i-2} \neq S$, $S_{i-2} \neq S_{i-3}$ なる異型関係があらためて検証された。

8) 異型細胞質と稔性回復遺伝子の各組との間にみられる特異的な対応関係については $N$ 細胞質型の原系統 H-2002 より任意に選んだ個体を花粉親に供した交雑試験からも傍証が得られた。また胚数性と稔性回復性との連鎖分析においても，$S_{i-3}$ および $S_{i-4}$ 細胞質の下では $S$ 細胞質に対する $Rf_1$ と $m$ との間に見出される如き顕著な連鎖関係は認められず，したがって両誘発細胞質下で分離をみた稔性回復遺伝子は $Rf_1$ 座以外の遺伝子と考えられる。各細胞質と稔性回復遺伝子組との間の対応関係を図示すると Fig. 2 の如くになる。

9) 不稔細胞質型を異にする稔性回復個体間で相反交雑を行ったところ，次代 ($F_1$) における雄性不稔型の分離様式に相反交雑間で顕著な差異が見出された。これも細胞質の異型性に関する証左の1つと考えることができる。

10) $S_{i-2}$, $S_{i-3}$ および $S_{i-4}$ 細胞質をそれぞれ保有する完全不稔型個体においては減数分裂での染色体の対合様式に不規則性はみられず，移動期および第1分裂中期では9個の2価染色体が，第1分裂後期では9+9なる染色体配分がほぼ例外なく観察された。

11) 花粉四分子期以降の小胞子形成過程をみると，各ガンマー系統よりの完全不稔型についても $S$ 型不稔の場合に似てタペート細胞の plasmodium 化を伴った異常肥大を示す個体が多数を占めた。しかし $S_{i-4}$ 細胞質を有する $\gamma$-114 中にはいわゆる pseudopodiumlike incursions 型の異常肥大を起さずに，タペート細胞が液胞化したまま残存するという異常を示す個体が含まれていた。

12) かかる異常型では正常型個体における如く葯壁の澱粉反応が小胞子の壊疽以前にみられなくなる場合も見出された。以上の結果は $S_{i-4}$ 型の完全不稔に限り観察された現象であり，細胞質の異型性とも何らかの関連を有するものとして注目される。

13) plasmodium 化したタペートはその形状や肥大発達の様相より風船状と丘状の2型に大別できた。いずれの系統にも両種の肥大型が混在していたものの，$\gamma$-165 では他系統に較べて前者の生起頻度が高い傾向を示した。また調査対象が全て完全不稔型植物であったにもかかわらず，小胞子退化やタペート異常の発現時期に関しては同一系統で個体間にかなりの変異が認められた。特に $\gamma$-114 や $\gamma$-130 においてその変異幅が広い様であった。

## 引用文献


1. ARCHIMOWITSCH, A.: The problem of inbreeding in sugar beets. Byull. Byelotserkovskoi Selektsionnoi Stansii. Ref. KNAPP, E: Beta-Rüben des Zuckerrüben. *Handbs. Pflanzenz.* **3**: p. 262, 1931
2. ARTSCHWAGER, E.: Pollen degeneration in male-sterile sugar beets, with special reference to the tapetal plasmodium. *J. Agr. Res.* **75**: 191-197. 1947
3. BECKETT, J. B.: Classification of male-sterile

cytoplasm in maize (*Zea mays* L.). *Crop Sci.* **11**: 724-727. 1971

4. BLISS, F. A. and GABELMAN, W. H: Inheritance of male sterility in beets, *Beta vulgaris* L. *Crop Sci.* **5**: 403-406. 1965
5. BOSEMARK, N. O.: Studies of cytoplasmic male sterility in sugar beet. Report of an I. I. R. B. joint study. *I. I. R. B.* **5** (4): 232-251. 1972
6. BUCHERT, J. G.: The stage of the genome-plasmon interaction in the restoration fertility to cytoplasmically pollen-sterile maize. *Proc. Nat. Acad. Sci.* **47**: 1436-1440. 1961
7. BURTON, G. W.: Natural sterility maintainer and fertility restorer mutants in Tift 23 $A_1$ cytoplasmic male-sterile pearl millet, *Pennisetum typhoides*, (Burm.) Stapf & Hubb. *Crop Sci.* **12**: 280-282. 1972
8. BURTON, G. W. and ATHWAL, D. S.: Two additional sources of cytoplasmic male-sterility in pearl millet and their relationship to Tift 23 $A_1$. *Crop Sci.* **7**: 209-211. 1967
9. BURTON, G. W. and ATHWAL, D. S.: Reciprocal maintainer-restorer relationship between $A_1$ and $A_2$ sterile cytoplasms facilitates millet breeding. *Crop Sci.* **8**: 632-634. 1968
10. BURTON, G. W. and HANNA, W. W.: Ethidium bromide induced cytoplasmic male sterility in pearl millet. *Crop Sci.* **16**: 731-732. 1976
11. CHUN, E. H. L., VAUGHAN, M. H. and RICH, A.: The isolation and characterization of DNA associated with chloroplast preparation. *J. Mol. Biol.* **7**: 130-141. 1963
12. CLEIJ, G.: Influencing of the cytoplasmic male sterility and fertility in beets. *Euphytica* **16**: 23-28. 1967
13. CLEMENT, W. M.: Plasmon mutations in cytoplasmic male-sterile pearl millet, *Pennisetum typhoides*. *Genetics* **79**: 583-588. 1975
14. CORTESSI, H. A.: Investigations made into male sterile beets. *Euphytica* **16**: 425-432. 1967
15. CURTIS, G. J.: Graft-transmission of male sterility in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Euphytica* **16**: 419-424. 1967
16. DASKALOFF, S.: A male sterile pepper (*C. annuum* L.) mutant. *Theoret. Appl. Genet.* **38**: 370-372. 1968
17. DUVICK, D. N.: Cytoplasmic pollen sterility in corn. *Adv. Genet.* **13**: 1-56. 1965
18. DUVICK, D. N.: Potential usefulness of new cytoplasmic male steriles and sterility systems. *27th Annual Corn & Sorghum Res. Confer. Proceed.* pp. 10. 1972
19. EDWARDSON, J. R.: Cytoplasmic male sterility. *Bot. Rev.* **36**: 341-420. 1970
20. EDWARDSON, J. R. and CORBETT, M. K.: Asexual transmission of cytoplasmic male sterility. *Proc. Nat. Acad. Sci.* **47**: 390-396. 1961
21. EKBERG, I.: Different types of sterility induced in barley by ionizing radiations and chemical mutagens. *Hereditas* **63**: 257-278. 1969
22. ENDO, T. R. and TSUNEWAKI, K.: Genetic diversity of the cytoplasm in *Triticum* and *Aegilops*. I. On the origin of the cytoplasm of *Aegilops triuncialis* L. *Seiken Ziho* **25-26**: 55-66. 1975
23. ERICHSEN, A. W. and ROSS, J. G.: Inheritance of colchicine-induced male sterility in sorghum. *Crop. Sci.* **3**: 335-338. 1963 a
24. ERICHSEN, A. W. and ROSS, J. G.: Irregularities at microsporogenesis in colchicine-induced male sterile mutants in *Sorghum vulgare* Pers. *Crop Sci.* **3**: 481-483. 1963 b
25. FRANKEL, R.: Graft induced transmission to progeny of cytoplasmic male sterility in Petunia. *Science* **124**: 684-685. 1956
26. FRANKEL, R.: Further evidence on graft-induced transmission to progeny of cytoplasmic male sterility in Petunia. *Genetics* **47**: 641-646. 1962
27. FRANKEL, R.: Genetical evidence on alternative maternal and Mendelian hereditary elements in *Petunia hybrida*. *Heredity* **26**: 107-119. 1971
28. FRANKEL, R., IZHAR, S. and NITSAN, J.: Timing of callase activity and cytoplasmic male sterility in Petunia. *Biochem. Genet.* **3**: 451-455. 1969
29. FUKASAWA, H.: Constancy of cytoplasmic property during successive backcrosses. *Am. Naturalist* **101**: 41-46. 1967
30. GAUL, H., BENDER, K., ULONSKA, E. and SATO, M.: EMS-induced genetic variability in barley. *In*: '*Mutations in plant breeding*' *Symp. FAO/IAEA, Vienna, Jan.* **17-21** (1966): 63-84. 1966
31. GEIGER, H. H. and MORGENSTERN, K.: Angewandt-genetische Studien zur cytoplasma-

tischen Pollensterilität bei Winterroggen. *Theoret. Appl. Genet.* **46**: 269–276. 1975

32. GOTTSCHALK, W. and JAHN, A.: Cytogenetische Untersuchungen an desynoptischen und männlich-sterilen Mutanten von *Pisum*. *Z. Vererbungsl.* **95**: 150–167. 1964
33. GRACEN, P. E. and GROGAN, C. O.: Diversity and suitability for hybrid production of different sources of cytoplasmic male sterility in maize. *Agron. J.* **66**: 654–657. 1974
34. GROGAN, C. D.: Multiplasm, a proposed method for the utilization of cytoplasms in pest control. *Plant Disease Reporter* **55**: 5. 1971
35. HOGABOAM, G. J.: Factors influencing phenotypic expression of cytoplasmic male sterility in the sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *J. Am. Soc. Sugar Beet Tech.* **9**: 457–465. 1957
36. 細川定治・武田竹雄・大谷義雄・池畑瑞子： 甜菜雄性不稔の細胞組織学的研究 第1報 花粉退化とタペート細胞の異常肥大について．育種学雑誌 **4**: 196–202. 1954
37. 細川定治・津田周彌・武田竹雄： てん菜の雄性不稔現象に関する組織化学的研究（葯組織の水素イオン濃度，炭水化物及びアミノ酸の消長について）育種学雑誌 **13**: 117–124. 1963
38. 細川定治・津田周彌・武田竹雄： てん菜の雄性不稔現象に関する組織化学的研究（メンデル雄性不稔現象に伴う葯の組織化学的変化）甜菜研究会研究報告 **4**: 1–12. 1965
39. 今西 茂・武田竹雄： てん菜の雄性不稔利用に関する育種学的研究 特にO型選抜に関する諸問題 てん菜研究報告 **11**: 1–325. 1971
40. IMANISHI, S.: Inheritance and linkage studies of cytoplasmic male sterility and monogermity in sugar beets. *Japan J. Breed.* **26**: 6–16. 1976
41. IZHAR, S. and FRANKEL, R.: Mechanism of male sterility in Petunia. The relationship between pH, callase activity in the anthers and the breakdown of the microsporogenesis. *Theoret. Appl. Genet.* **44**: 104–108. 1971
42. JINKS, J. L.: Extrachromosomal inheritance. *Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliffs, New Jersey.* 1964
43. JONES, C. M. and GABELMAN, W. H.: Cytoplasmic inheritance in *Epilobium*. Intraclone variation of cytoplasmic hereditary determinants. *J. Hered.* **56**: 144–148. 1966
44. JOPPA, L. R., MCNEAL, F. H. and WELSH, J. R.: Pollen and anther development in cytoplasmic male sterile wheat (*Triticum aestivum* L.). *Crop Sci.* **6**: 296–297. 1966
45. KIHARA, H.: Substitution of nucleus and its effect on genome manifestations. *Cytologia* **16**: 177–193. 1951
46. KIHARA, H.: Cytoplasmic male sterility in relation to hybrid wheat breeding. *Zuchter* **37**: 86–93. 1967
47. KINOSHITA, T.: Genetical studies on the male sterility of sugar beets (*Beta vulgaris* L.) and its related species. *J. Fac. Agr. Hokkaido Univ.* **56**: 435–541. 1971
48. KINOSHITA, T. and TAKAHASHI, M.: Induction of cytoplasmic male sterility by gamma ray irradiation in sugar beets. *Japan J. Breed.* **19**: 445–457. 1969
49. 木下俊郎・高橋萬右衛門： 放射線処理によって生じたてん菜の細胞質雄性不稔性における花粉稔性回復の遺伝様式について．てん菜研究報告補巻 **14**: 63–67. 1972
50. KINOSHITA, T. and TAKAHASHI, M.: Genic male sterility found in *Beta maritima* L. *Japan J. Breed.* **22**: 11–19. 1972
51. KINOSHITA, T., TAKAHASHI, M. and CHILDERS, W. R.: Cytoplasmic male sterility in autotetraploid beets. XV. Studies in polyploid varieties of sugar beets. *Japan J. Breed.* **22**: 159–167. 1972
52. KNAPP, E.: Zur plasmonisch kontrollierten Pollensterilität der Zuckerrüben. *Zuchter* **25**: 231–236. 1955
53. KNAPP, E.: Zur Genetik der plasmatisch kontrollierten Pollensterilität der Zuckerrübe. *I. I. R. B.* **4**: 147–159. 1969
54. LACADENA, J. R.: Hybrid wheat. VII. Tests on the transmission of cytoplasmic male sterility in wheat by embryo-endosperm grafting. *Euphytica* **17**: 439–444. 1968
55. LASER, K. D. and LERSTEN, N. R.: Anatomy and cytology of microsporogenesis in cytoplasmic male sterile angiosperm. *Bot. Rev.* **38**: 425–454. 1972
56. LICHTER, R.: The restoration of male fertility in cytoplasmic male-sterile sugar beet by heat treatment and meristem culture. *Z. Pflanzenzüchtg.* **81**: 159–165. 1978
57. MICHAELIS, P.: Cytoplasmic inheritance in *Epilobium* and its theoretical significance. *Adv.*

*Genet.* **6**: 287–401. 1954

58. MICHAELIS, P.: Cytoplasmic inheritance and the segregation of plasmagenes. *Proc. Xth Intern. Congr. Genetics, McGill Univ. Canada,* **1**: 376–385. 1958
59. NAGAO, S. and KINOSHITA, T.: Causal genes and character expression of male sterility in beets. *J. Fac. Agr. Hokkaido Univ.* **52**: 51–69. 1962
60. NAGAO, S., TAKAHASHI, M. and KINOSHITA, T.: A basic gene for mono-germ character in beets. *J. Fac. Agr. Hokkaido Univ.* **52**: 246–255. 1962
61. 中嶋　博：作物の細胞質雄性不稔性に関する組織化学的研究　第4報　テンサイの葯の電子顕微鏡的観察．北海道大学農学部邦文紀要 **9**: 247–252. 1975
62. 中嶋　博・細川定治：テンサイの雄性不稔葯の酵素活性に関する組織化学的観察．てん菜研究会報 **16**: 89–94. 1974
63. 中嶋　博・細川定治：てん菜の花粉発育時期の区分とその特徴　てん菜研究会報 **18**: 167–176. 1977
64. NASS, M. M. K., NASS, S. and AFZELIUS, B. A.: The general occurrence of mitochondrial DNA. *Exp. Cell. Res.* **37**: 516–539. 1965
65. NIELSON, K. and NEMAZI, J.: Selection for the type O character in *Beta vulgaris. J. Am. Soc. Sugar Beet Tech.* **14**: 368–376. 1967
66. 西　貞夫・平岡達也：そ菜の一代雑種に関する研究 (I) 雄性不ねん性の利用に関する研究（第1報）2, 3 そ菜における雄性不ねん性の組織学的研究．農技研報告 **E, 6**: 1–41. 1958
67. NISHIYAMA, I.: Male sterility caused by cooling treatment at the young microspore stage in rice plants. XII Classification of tapetal hypertrophy on the basis of ultrastructure. *Proc. Crop Sci. Soc. Japan* **45**: 254–262. 1976
68. NOVÁK, F. and BETLACH, J.: Meiotic irregularities in pollen sterile sweet pepper. *Cytologia* **35**: 335–343. 1970
69. 太田朋子・松村清二：ビートの雄性不稔性に関する細胞・組織学的観察．生研時報 **11**: 78–82. 1960
70. OHTA, Y.: Grafting and cytoplasmic male sterility in *Capsicum. Seiken Ziho* **12**: 35–39. 1961
71. OLDEMEYER, R. K.: Sugar beet male sterility. *J. Am. Soc. Sugar Beet Tech.* **9**: 381–386. 1957
72. OWEN, F. V.: Male sterility in sugar beets produced by complementary effects of cytoplasmic and Mendelian inheritance. *Am. J. Bot.* **29**: 692. 1942
73. OWEN, F. V.: Cytoplasmically inherited male-sterility in sugar beets. *J. Agr. Res.* **71**: 423–440. 1945
74. OWEN, F. V.: The sugar beet breeder's problem of establishing male sterile populations for hybridization purposes. *Proc. Am. Soc. Sugar Beet Tech.* **6**: 191–194. 1950
75. OWEN, F. V.: Mendelian male sterility in sugar beets. *Proc. Am. Soc. Sugar Beet Tech.* **7**: 371–376. 1952
76. OWEN, F. V., MURPHY, A. M., SMITH, C. H. and RYSER, G. K.: Preliminary yield tests with $F_1$ male-sterile monogerm hybrid sugar beets. *Proc. Am. Soc. Sugar Beet Tech.* **8**: 45–48. 1954
77. PRING, D. R. and LEVINGS, C. S.: Heterogeneity of maize cytoplasmic genomes among male-sterile cytoplasms. *Genetics* **89**: 121–131. 1978
78. RHOADES, M. M.: Gene induced mutation of a heritable cytoplasmic factor producing male sterility in maize. *Proc. Nat. Acad. Sci.* **36**: 634–635. 1950
79. RICK, C. M.: Genetics and development of nine male-sterile tomato mutants. *Hilgardia* **18**: 599–633. 1948
80. ROHRBACH, U.: Beiträge zum Problem der Pollensterilität bei *Beta vulgaris* L. I. Untersuchungen über die Ontogenese des Phänotyps. *Z. Pflanzenzüchtg* **53**: 105–124. 1965 a
81. ROHRBACH, U.: Beiträge zum Problem der Pollensterilität bei *Beta vulgaris* L. II. Untersuchungen über die Wirkung der Herkunft auf den Phänotyp des Merkmals 'Pollensterilität'. *Z. Pflanzenzüchtg* **54**: 23–45. 1965 b
82. ROUNDY, T. E. and THEURER, J. C.: Inheritance of a yellow leaf mutant and a pollen fertility restorer in sugarbeet. *Crop Sci.* **14**: 62. 1974 a
83. ROUNDY, T. E. and THEURER, J. C.: Linkage and inheritance studies involving an annual pollen restorer and other genetic characters in sugarbeets. *Crop Sci.* **14**: 230–232. 1974 b
84. SAGER, R.: Cytoplasmic genes and organelles. *Academic Press New York.* 1972
85. SAGER, R. and ISHIDA, M. R.: Chloroplast DNA in *Chlamydomonas. Proc. Nat. Acad. Sci.* **50**: 725–730. 1963

86. SAGER, R. and RAMANIS, Z.: Recombination of non-chromosomal genes in *Chlamydomonas*. *Proc. Nat. Acad. Sci.* **53**: 1053–1061. 1965

87. SAGER, R. and RAMANIS, Z.: Biparental inheritance of non-chromosomal genes induced by ultraviolet irradiation. *Proc. Nat. Acad. Sci.* **58**: 931–937. 1967

88. SAGER, R. and RAMANIS, Z.: The pattern of segregation of cytoplasmic genes in *Chlamydomonas*. *Proc. Nat. Acad. Sci.* **61**: 324–331. 1968

89. SAGER, R. and RAMANIS, Z.: A genetic map of non-Mendelian genes in *Chlamydomonas*. *Proc. Nat. Acad. Sci.* **65**: 593–600. 1970

90. SAND, S. A.: Autonomy of cytoplasmic male sterility in grafted scions of tobacco. *Science* **131**: 665. 1960

91. 佐々木正剛：てん菜単胚一代雑種の育成経過．てん菜研究報告補巻 **14**: 157–168. 1972

92. SATAKE, T.: Determination of the most sensitive stage to sterile-type cool injury in rice plants. *Res. Bull. Hokkaido Natl. Agr. Exp. Stn.* **113**: 1–35. 1976

93. SAVITSKY, H.: Obtaining tetraploid monogerm self fertile, self sterile, and male sterile beets. *Proc, Am. Soc. Sugar Beet Tech.* **8**: 50–58. 1954

94. SAVITSKY, V. F.: Methods and results of breeding work with monogerm beets. *Proc. Am. Soc. Sugar Beet Tech.* **7**: 344–350. 1952

95. SAVITSKY, V. F.: Genetische studien und Züchtungsmethoden bei monogermen Rüben. *Z. Pflanzenzüchtg.* **40**: 1–36. 1956

96. SAVITSKY, V. F.: Sucrose and weight of root in tetraploid monogerm and multigerm sugar beet populations under different mating systems. *J. Am. Soc. Sugar Beet Tech.* **8**: 676–711. 1962

97. SCHWEISGUTH, B.: Étude d'un nouveau type de stérilité mâle chez l'oignon *Allium cepa* L. *Ann. Amel. Pl.* **23**: 221–233. 1973

98. SHINJYO, C.: Distribution of male sterility-inducing cytoplasms and fertility-restoring genes in rice. I. Commercial lowland-rice cultivated in Japan. *Japan J. Genet.* **47**: 237–243. 1972 a

99. SHINJYO, C.: Distribution of male sterility-inducing cytoplasms and fertility-restoring genes in rice. II. Varieties introduced from sixteen countries. *Japan J. Breed.* **22**: 329–333. 1972 b

100. SHINJYO, C.: Genetical studies of cytoplasmic male sterility and fertility restoration in rice, *Oryza sativa* L. *Sci. Bull. Coll. Agr. Univ. Ryukyus* **22**: 1–57. 1975

101. SHUMWAY, L. K. and BAUMAN, L. F.: The effect of hot water treatment, X-ray irradiation and mesocotyl grafting on cytoplasmic male sterility of maize. *Crop Sci.* **6**: 341–342. 1966

102. SINGH, A. and LAUGHNAN, J. R.: Instability of *S* male sterile cytoplasm in maize. *Genetics* **71**: 607–620. 1972

103. SLONIMSKI, P. P., PERRODIN, G. and CROFT, J. H.: Ethidium bromide-induced mutation of yeast mitochondria: Complete transformation of cells into respiratory-deficient non-chromosomal 'petites'. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **30**: 232–239. 1968

104. SMITH, H. H.: Recent cytogenetic studies in the genus *Nicotiana*. *Adv. Genet.* **14**: 1–54. 1968

105. STEIN, H. and GABELMAN, W. H.: Pollen sterility in *Beta vulgaris* associated with red pigmentation of the anthers. *J. Am. Soc. Sugar Beet Tech.* **10**: 612–618. 1959

106. STEIN, H., GABELMAN, W. H. and STRUCKMEYER, B. E.: Reversion in cytoplasmic male sterile plants of *Beta vulgaris*. *J. Am. Soc. Sugar Beet Tech.* **10**: 619–623. 1959

107. STOILOV, M.: Possibility of producing male sterile forms and restoring fertility in maize by means of gamma-ray and fast-neutron irradiation. In Induced Mutations in Plants. *IAEA, Vienna* 509–515. 1969

108. SUZUKI, A., OLDEMEYER, R. K. and ERICHSEN, A. W.: (unpublished)

109. THEURER, J. C.: Inheritance studies of a pollen restorer from Ruby Queen table beet. *J. Am. Soc. Sugar Beet Tech.* **16**: 354–358. 1971

110. THEURER, J. C., HECKER, R. J. and OTTLEY, E. H.: Attempted graft transmission of cytoplasmic male sterility in sugar beets (*Beta vulgaris* L.). *J. Am. Soc. Sugar Beet Tech.* **14**: 695–703. 1968

111. THEURER, J. C. and RYSER, G. K.: Inheritance studies with a pollen fertility restorer

sugarbeet inbred. *J. Am. Soc. Sugar Beet Tech.* **15**: 538–545. 1969

112. TSUNEWAKI, K. and ENDO, T.: Genetic relatedness among five cytoplasms in *Triticum* and *Aegilops*. *Proc. IV Int. Wheat Genet. Symp.* 391–397. 1973

113. WARMKE, H. E. and OVERMAN, M. A.: Cytoplasmic male sterility in sorghum I. Callose behavior in fertile and sterile anthers. *J. Hered.* **63**: 103–108. 1972

114. ZENKTELER, M.: Microsporogenesis and tapetal development in normal and male-sterile carrots (*Daucus carota*). *Am. J. Bot.* **49**: 341–348. 1962

115. ZEVEN, A. C.: Transfer and inactivation of male sterility and sources of restorer genes in wheat. *Euphytica* **16**: 183–189. 1967

## Résumé

A review of cytoplasmic male sterility has been presented by EDWARDSON[19], who made a survey of the literatures published on 80 species of 25 genera in plants. He classified the source of male sterility into the following categories: 1) arising from intergeneric crosses, 2) arising from interspecific crosses, 3) arising from intraspecific crosses and 4) occurring apparently spontaneously.

The possibility of the genetic alteration or changes in the cytoplasmic factors concerning male sterilities was suggested in some species of higher plants. RHOADES[78] described that the mutaplasmic gene, *ij* induced both cytoplasmic male sterility and plastid mutations in maize. In addition, pollen sterility caused by the alteration of the cytoplasmic factors was reported in sorghum, sugar beet, maize and pearl millet after the treatment of colchicine, gamma ray, fast neutron or ethidium bromide, respectively[10),23),48),107].

Although mutagens such as ionizing radiation and some chemicals, and interspecific crossing have been reported to induce cytoplasmic male sterility, the nature of the affected cytoplasmic factors and their location are unknown. Our knowledge of cytoplasmic inheritance in general, and in higher organisms in particular, is limited partly for lack of suitable experimental methods. However, cytoplasmic hereditary factors are realized to constitute a part of the genetic system and they may participate in the evolutionary process, together with the nuclear factors. The evidences for genetic differentiation of cytoplasm types inducing male sterility have been shown in maize, pearl millet, wheat and so forth.

In sugar beets, the first example of cytoplasmic male sterility was discovered in the variety 'US-1' by OWEN[73]. This type of sterility is extensively utilized for the seed production of commercial hybrid varieties and triploid varieties of sugar beets. Recently, as stated above, cytoplasmic male sterility was induced from diploid varieties with *N* cytoplasm, by the gamma irradiation of dried seeds.

The present investigation dealt with the mode of inheritance of pollen fertility restoration in four male sterile mutants, $\gamma$-60, $\gamma$-114, $\gamma$-130 and $\gamma$-165, which were induced from the *N* cytoplasm strain, H-2002. Further, the identification of male sterile cytoplasms both in spontaneous (*S*) and induced origins was performed on the basis of the pattern of interaction with the set of pollen fertility restoring genes. Cytological observations were carried out on the breakdown of microspores in the complete sterile plants derived from these mutants.

The results obtained are summarized as follows:

1) Mode of inheritance on male sterility induced by gamma irradiation

The transmission of the male sterility was examined in each of four mutant lines, $\gamma$-60, $\gamma$-114, $\gamma$-130 and $\gamma$-165. These lines transmitted male sterility up to $M_4$ generation through mother plants at relatively high frequencies. This shows that male sterility was caused by cytoplasmic mutations after the treatment of gamma rays.

Phenotypic ratios of male sterility differed among the $M_3$ and $M_4$ lines produced from complete sterile type plants chosen from each of mutant lines, under open pollination. It may be partly caused by genetic variations in the interaction between nuclear genes and cytoplasmic factors of mother plants.

The inheritance mode of the pollen fertility restoration was studied in the four mutant lines. It may be said that at least two major genes were responsible for pollen restoration in all kinds of male sterility. However, the modes of $F_2$ segregation in three cross combinations involving $\gamma$-60, $\gamma$-130 and $\gamma$-165, differed from the 9:6:1 ratio for

male fertile (N and S. S. a), sterile (S. S. b) and complete sterile (C. S.) which was manifested in the presence of $S$ cytoplasm. Namely, in the $F_2$ population of the cross between $\gamma$-60 and H-2002, the recessive allele in one locus ($Rf_4$) was epistatic to the dominant allele in the other locus ($Rf_5$), while in the case of $\gamma$-130 or $\gamma$-165, the dominant allele in one locus ($Rf_6$) was epistatic to the recessive allele in the other locus ($Rf_7$), showing 9 : 3 : 4 and 12 : 3 : 1 ratios, respectively. In addition, the 9 : 6 : 1 ratio was confirmed in the $F_2$ of the cross involving $\gamma$-114.

On the basis of the results mentioned above, it may be surmised that the new genetic interrelations between nuclear genes and genetic factors of the sterile cytoplasms were established as a probable consequence of the cytoplasmic mutations induced by the gamma irradiation. The cytoplasmic factors induced from $N$ factor were designated tentatively as $S_{i-1}$, $S_{i-2}$, $S_{i-3}$ and $S_{i-4}$.

The pattern of the frequency distribution of pollen sterility in $F_2$ populations varied remarkably in most of the cross combinations involving four mutant lines and $S$ cytoplasm strain, H-19MS. It was considered that the presence of some nuclear gene or genes other than fundamental genes of pollen fertility restoration and the influence of environmental factors might alter the degree of male sterility.

2) Identification of male sterile cytoplasms among spontaneous and induced origins, based on the pattern of interaction with pollen fertility restoring genes

In order to identify the nuclear genes required for pollen fertility restoration under the four types of sterile cytoplasm, $S$, $S_{i-2}$, $S_{i-3}$ and $S_{i-4}$, test cross experiments were made by using of two O-type strains, W 162-6 and TK 81-O.

A test plant used for pollen parent, W 162-6 : 1 possessed the genotype of $N\,rf_1rf_1rf_2rf_2$ and was crossed with complete sterile plants from $\gamma$-60 ($S_{i-2}$) and $\gamma$-165 ($S_{i-3}$). The offsprings of the both crosses segregated into normal (N), partial fertile (S. S. a), sterile (S. S. b) and complete sterile (C. S.), indicating that the pollen parent was heterozygous for fertility restoring genes other than $Rf_1$ and $Rf_2$ which were interacted with $S$ cytoplasm. Segregation patterns in $F_1$, $F_2$ and $F_3$ generations of the cross, $\gamma$-60-213 : 69 (C. S.) × W 162-6 : 1, were satisfactorily explained by the postulation of an epistatic relation between the genes, $Rf_4$ and $Rf_5$.

In the segregating populations from cross, $\gamma$-165-461 : 203 (C. S.) × W 162-6 : 1, it was assumed that the gene $Rf_6$ which shows the epistasis to $rf_7$ was responsible for the pollen restoration. Thus, the genotype of W 162-6 : 1 was estimated as homozygous recessive for $Rf_1$, $Rf_2$ and $Rf_7$, and heterozygous for $Rf_4$, $Rf_5$ and $Rf_6$, respectively, showing $N\,rf_1rf_1$, $rf_2rf_2$, $Rf_4rf_4$, $Rf_5rf_5$, $Rf_6rf_6$, $rf_7rf_7$. Therefore, three sets of pollen fertility restoring genes were revealed to have the specific interaction with three kinds of cytoplasm, $S$, $S_{i-2}$ and $S_{i-3}$.

In the crossing experiment between $\gamma$-114-778 : 1 (C. S.) and TK 81-O : 1, it was demonstrated that the new genes $Rf_8$ and $Rf_9$ were interacted with $S_{i-4}$ cytoplasm, but the segregation mode caused by these additive genes was similar to those in $S$ cytoplasm.

Pollen restorers which possess the set of fertility restoring genes for each of $S_{i-2}$ and $S_{i-3}$ cytoplasms in homozygous dominant conditions ($S_{i-2}$ $Rf_4Rf_4Rf_5Rf_5$ and $S_{i-3}$ $Rf_6Rf_6rf_7rf_7$) were bred true in $F_3$ lines of the crosses, $\gamma$-60-213 : 69 (C. S.) × W 162-6 : 1 and $\gamma$-165-461 : 203 (C. S.) × W 162-6 : 1, respectively. One plant having the former genotype, No. 185 : 1 was crossed with complete sterile plants chosen from the strains $\gamma$-60, $\gamma$-130 and SLC 133-CMS ($S$). The all plants in the offspring ($F_1$) of the cross, $\gamma$-60-213-72 : 8 (C. S.) × No. 185 : 1 consisted of pollen restored plants (N or S. S. a), while the monogenic segregation for male fertile (N and S. S. a) and sterile (S. S. b and C. S.) types occurred in the $F_1$ of the crosses between C. S. plants from $\gamma$-130 or SLC 133-CMS and No. 185 : 1. This indicates that different kind of nuclear genes other than $Rf_4$ or $Rf_5$ are responsible for pollen fertility restoration under $S$ and $S_{i-3}$ cytoplasms. Thus, the relations such as $S_{i-2} \neq S$ and $S_{i-2} \neq S_{i-3}$ were reconfirmed in the crosses involving the new tester, No. 185 : 1.

Different relations between the sets of pollen restoring genes and the cytoplasmic factors were recognized among $S$, $S_{i-3}$ and $S_{i-4}$, in the progenies of the crossings with the tester plants chosen from the strain H-2002.

Furthermore, an independent relation was established between the gene for pollen fertility res-

toration and the gene ($m$) for monogerm character under $S_{i-3}$ and $S_{i-4}$ cytoplasms, while the gene $Rf_1$ interacting with $S$ cytoplasm showed repeatedly the linkage relation with the gene $m$. Therefore, the genes other than $Rf_1$ locus are supposed to be responsible for pollen fertility restoration under the induced types of sterile cytoplasm, $S_{i-3}$ and $S_{i-4}$ in these crosses.

Reciprocal crossings were made between two pollen restored plants from the different cytoplasm strains. A significant difference on the segregation mode was observed between the reciprocal $F_1$s in the six kinds of cross combination. These data also sustained the independent relationship among the five types of cytoplasm.

On the basis of the above experimental results, the interrelation among the genes and cytoplasms are indicated diagrammatically as shown in Fig. 2. Namely, the hypothesis was proposed that the specific set of pollen restoring genes corresponds to the specific cytoplasm both in the spontaneous and the induced male sterility.

If the maintainer (O-type) and fertility restorer lines for the induced cytoplasms were selected based on the inheritance mode of pollen fertility restoration, they are utilized effectively for breeding works related to the hybrid seed production.

3) Cytological observations on the breakdown of microspores in cytoplasmic male sterility induced by gamma irradiation

Meiotic behaviours and the abnormalities of microsporogenesis with special reference to the tapetum were investigated in the complete sterile plants from four kinds of $\gamma$-line, and these sterile plants were compared with those of H-19MS with $S$ cytoplasm in spontaneous origin.

In the meiosis, there was no chromosomal abnormalities showing the association of nine bivalents and the regular distribution of chromosomes irrespective of the source of cytoplasms.

After the liberation of quartets, conspiquous deformity of tapetal cells occurred in the complete sterile plants throughout all kinds of $\gamma$-line and H-19 MS. The hypertrophy of anther tapetum were classified into balloon (type-I) and hill (type-II) types based on the form of the tapetal plasmodium. Generally the two types existed in the different loculi from a same plant. In addition to this, a modificated type of the tapetum named as type-III was newly found in several plants from $\gamma$-114. The tapetal cells surrounding anther cavity enlarged slightly without the formation of tapetal plasmodium in this type. The feature rather resembled those of the Mendelian male sterility which had been found in a wild beet, *Beta maritima* L. by KINOSHITA *et al.*[50].

The frequency of type I, II and III loculi differed significantly among the $\gamma$-lines and H-19 MS. The relative ratio of type I was highest in $\gamma$-165 while type II dominated in $\gamma$-130. It is also noted that type III alone observed in the several plants from $\gamma$-114. It implies that the different mechanism on pollen sterility has something to do with the cytoplasmic types which are responsible for the expression of complete sterile plants.

The starch reaction in the middle layer and the endothecium of the anther also correlated with the type of tapetal abnormality. In the type III, the starch disappeared before the breakdown of young pollens indicating a reaction similar to those of normal plants. Further studies are needed by using more refined genetic lines under a controlled environment.