



Title	植物の細胞および組織培養に関する研究 : IX. ニコチアナ属植物の種間雑種の薬培養
Author(s)	新関, 稔; NIIZEKI, Minoru; 喜多, 富美治 他
Citation	北海道大学農学部農場研究報告, 21, 1-5
Issue Date	1979-03-20
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/13351
Type	departmental bulletin paper
File Information	21_p1-5.pdf



植物の細胞および組織培養に関する研究

IX. ニコチアナ属植物の種間雑種の薬培養

新関 稔*, 喜多富美治*, 高橋萬右衛門**
(*北海道大学農学部附属農場, **北海道大学農学部作物育種学教室)

緒 言

GUHA と MAHESHWARI (1964, 1966) が *Datura innoxia* の薬培養を通じて半数性植物の育成に成功して以来, 多くの研究者により種々の植物で薬培養が試みられてきた。それは半数性植物が細胞遺伝学, 作物育種に有用な材料を提供するからである。特に作物育種の分野では交雑育種による新品種育成に慣行法では 10 数年を要するものを, 薬培養の適用によりそれを数年に短縮することが可能になった。(NAKAMURA *et al.* 1974)。

本篇はニコチアナ属の種間雑種の薬培養による育種の利用の基礎資料を得るために遂行された研究の一部である。

材料および方法

用いた材料は *Nicotiana tabacum* ($2n=48$) × *N. sylvestris* ($2n=24$) の F_1 とその逆交雑 F_1 であり, 1 核期から 2 核期初期の花粉を含む薬を培養に供した。この薬培養に用いた培地は NITSCH と NITSCH (1969) の基本培地に 0.1 mg/ℓ のカイネチンとインドール酢酸 (IAA) を加えたものである。薬より分化した幼植物は植物生長調整物質を含まない NITSCH と NITSCH (1969) の基本培地に

移植され, 根の発育が図られた。十分発育した根の一部を採取し 0.002 M の 8-ヒドロキシキノリンで 4 時間処理し, カルノア液で固定後塩酸カーミン (SNOW 1963) で染色し検鏡した。染色体数検定の済んだ個体は鉢に移植され温室内で生育させられた。また種間雑種 F_1 の減数分裂の細胞遺伝学的観察を行ったが, これにはエタノール, クロロホルム, 酢酸 6 : 3 : 1 で花蕾を固定後酢酸カーミンで染色し観察に供した。

実験結果

種間雑種の花粉稔性を酢酸カーミン染色で行ったが, F_1 10 個体の平均値では *Nicotiana tabacum* × *N. sylvestris* は 8.0%, その逆交雑では 15.8% であり正逆交雑 F_1 には明らかに有意な差が認められた (Table 1)。

置床薬中植物体を分化した薬は *N. tabacum* × *N. sylvestris* では 1% あまり, その逆交雑では 5% あまりで, 花粉稔性の高い交雑組合せが分化頻度も高い傾向を示した (Table 2)。

分化植物の染色体数は Fig. 1 に示した如く *N. tabacum* × *N. sylvestris* で 32~36 と変異し染色体数 36 の植物が最も多く, その逆交雑では 33~36 と変異し, 35 の植物が最も高い頻度を示した。

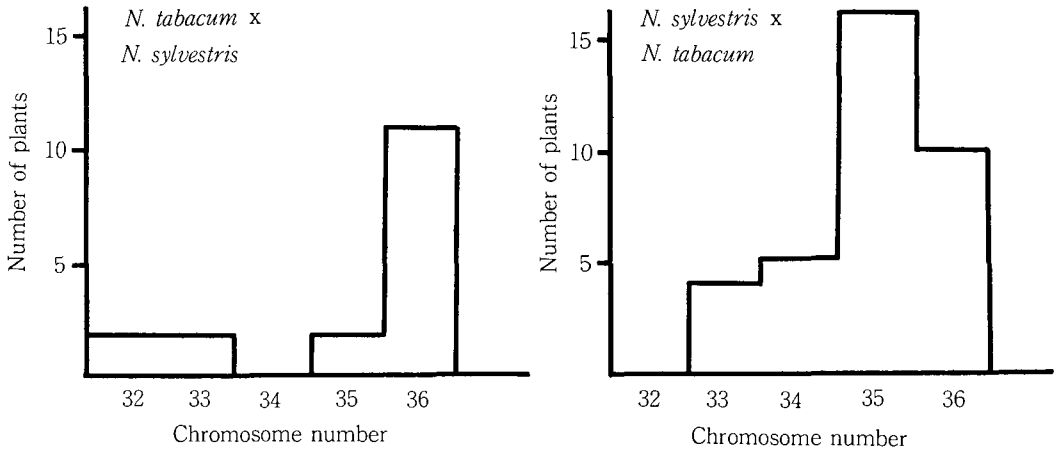
Table 1. Pollen fertility of interspecific hybrids in *Nicotiana tabacum* and *N. sylvestris*

Interspecific hybrids	Pollen fertility										Mean
<i>N. tabacum</i> × <i>N. sylvestris</i>	5.4	5.1	5.6	11.4	9.0	7.0	9.8	7.7	9.5	9.0	8.0
<i>N. sylvestris</i> × <i>N. tabacum</i>	15.3	16.8	16.1	15.0	11.5	21.1	14.2	14.2	18.4	15.7	15.8

Significant difference at 1% level.

Table 2. Anther culture of interspecific hybrids in *Nicotiana tabacum* and *N. sylvestris*

Interspecific hybrids	No. of anthers used for culture	No. of anthers produced plants	% of anthers produced plants
<i>N. tabacum</i> X <i>N. sylvestris</i>	575	6	1.043
<i>N. sylvestris</i> X <i>N. tabacum</i>	460	26	5.652

**Figure 1.** Chromosome number of plants produced by anther culture of interspecific hybrids in *Nicotiana tabacum* and *N. sylvestris*.

正逆交雑の両種間雑種の減数分裂の細胞遺伝学的観察によると、第一減数分裂中期では $12\text{ II} + 12\text{ I}$ が最も多く、次いで $11\text{ II} + 14\text{ I}$ 、 $10\text{ II} + 16\text{ I}$ であった (Table 3)。*N. sylvestris* は進化学的に異質倍数体である *N. tabacum* の片親であったと広く考えられているのでこのような染色体の対合が見られるものと思われる。第一減数分裂後期では染色体の分離が $18-18$ のものから $15-21$ のものまで種々観察され、1 から 8 本の遅滞染色体も多く観察された。また非還元分裂によって生ずると思われる $34-36$ の染色体数を持った生殖細胞も第一減数分裂後期に観察された (Photo 1)。第二減数分裂後期では四分子を形成するものが最も多

かったが、この時期にも非還元分裂によって生ずると考えられる染色体数を持った小胞子が観察された (Photo 1)。従って葯培養によって分化する植物体はこの非還元分裂によって生ずる花粉に起源しているものと推定された。非還元分裂がこのように高い頻度で生ずる原因は今のところ明らかでない。

分化植物では両種間雑種と同様の形質形態を示すものから花器形成不全や極狭葉等いろいろなものも観察された。また *N. tabacum* は赤色花、*N. sylvestris* は白色花で赤色が優性形質であるが、染色体数 35 の個体で度々白色花をつけるものが観察された。これは *N. tabacum* の赤色遺伝子を有す

Table 3. Chromosome configuration at metaphase-I in meiosis of interspecific hybrids in *Nicotiana tabacum* and *N. sylvestris*

Interspecific hybrids	Frequency of PMCs with			
	$12\text{ II} + 12\text{ I}$	$11\text{ III} + 14\text{ I}$	$10\text{ II} + 16\text{ I}$	
<i>N. tabacum</i> X <i>N. sylvestris</i>	60	20	6	86
<i>N. sylvestris</i> X <i>N. tabacum</i>	47	12	2	61

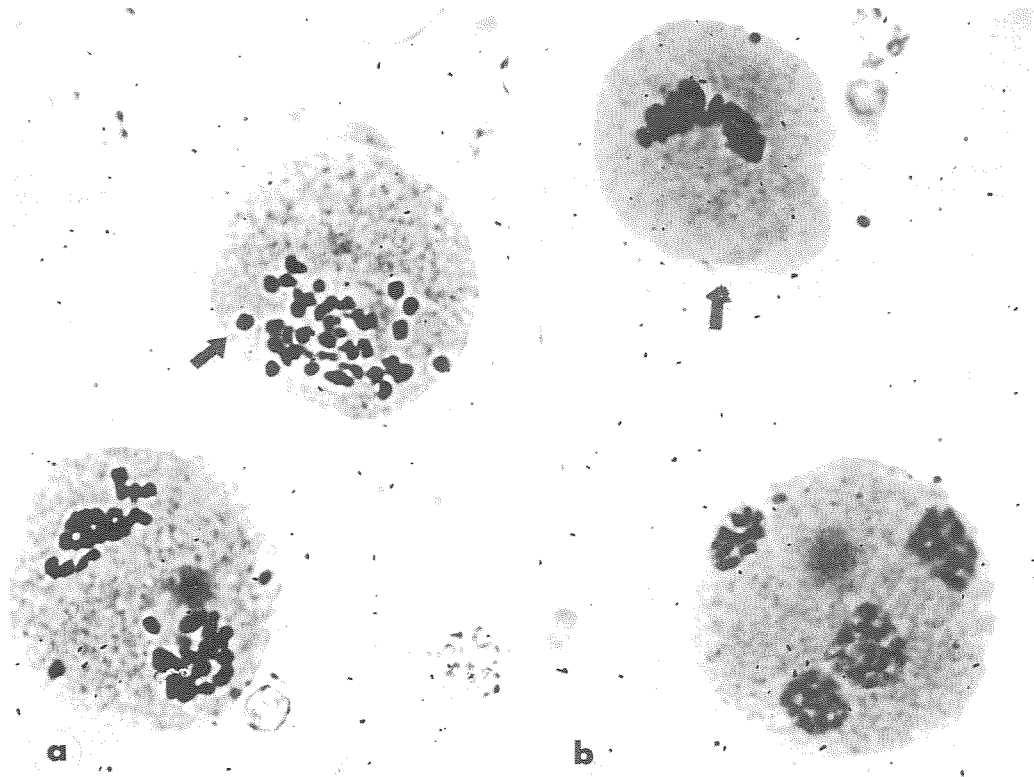


Photo. 1. Nonreductional chromosome in germ cells in anaphase-I and anaphase-II in microsporogenesis.
a, anaphase-I, b, anaphase-II.

る染色体を欠いたため生ずるものと考えられる。

論 議

種間雑種の正逆交雑において細胞質の違いによる花粉稔性の差異のみられた例は *Aquilegia*, *Begonia*, *Lotus*, *Epilobium* など多くの属で報告されている (EDWARDSON 1970)。*N. tabacum* × *N. sylvestris* およびその逆交雑にみられる花粉稔性の差異もおそらく細胞質の相異に起因するものと思われる。

花粉稔性の高さが葯培養における分化能力に影響するという報告は未だないが、この実験では高稔性の交雑組合せが分化能力も高い結果が得られている。すなわち分化能力を有する花粉は稔性ある花粉と考えられる。しかし稔性花粉が全て分化能力を有するかどうかは疑問である。というのはこの実験では分化植物は全て非還元分裂によって

生ずると考えられる染色体数 32~36 の花粉であったが、*N. tabacum* (*N. tabacum* × *N. sylvestris*) より生じた子孫の染色体数は 45~46 と変異し 33%あまりは還元分裂によって生じたと考えられる染色体数 21~24 の花粉が受精に寄与していることがわかったからである。染色体数 21~24 のような稔性花粉が分化能力を有しない理由は今のところ明らかでなく今後の課題である。

種間雑種の葯培養により得られる種々染色体数を示す個体の中で優良遺伝子を有する個体を倍加し固定系統を得ることが出来るならば種間雑種の葯培養は育種のひとつの手段となるであろう。

要 約

Nicotiana tabacum × *N. sylvestris* およびその逆交雑 F_1 の葯培養を試みた。両 F_1 の間で花粉稔性に差異がみられ *N. sylvestris* × *N. tabacum* がその

逆交雑より有意に花粉稔性が高かった。また葯培養による分化能力は花粉稔性の高い交雑組合せが高い傾向を示した。分化植物体の染色体数は両 F_1 とも32~36と変異し、これら染色体数は減数分裂の観察から非還元分裂花粉に由来しているものと推定された。

引用文献

1. EDWARDSON, J. R. 1970. Cytoplasmic male sterility. *Botanical Rev.* 36 : 341-420.
2. GUHA, S. and S. C. MAHESHWARI 1964. *In vitro* production of embryos from anthers of *Datura*. *Nature* 204 : 497.
3. GUHA, S. and S. C. MAHESHWARI 1966. Cell division and differentiation of embryos in the pollen grains of *Datura in vitro*. *Nature* 212 : 97-98.
4. NAKAMURA, A., T. YAMADA, N. KADOTANI, R. ITAGAKI and M. OKA 1974. Studies on the haploid method of breeding in tobacco. *SABRAOJ.* 6 : 107-131.
5. NITSCH, J. P. and C. NITSCH 1969. Haploid plants from pollen grains. *Science* 163 : 85-87.
6. SNOW, R. 1963. Alcoholic hydrochloric acid-carmin as a stain for chromosomes in squash preparations. *Stain Technol.* 38 : 9-13.

Studies on Plant Cell and Tissue Culture

IX. Anther Culture of Interspecific Hybrids in Genus *Nicotiana*

Minoru NIIZEKI*, Fumiji KITA* and Man-emon TAKAHASHI**

(*, Experimental Farm, Faculty, of Agriculture, Hokkaido University, **, Plant Breeding Institute, Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo, Japan)

Summary

Anther culture was carried out in interspecific hybrids of *N. tabacum* x *N. sylvestris* and of the reciprocal crossing F₁ plants. Pollen fertility was different in two lines of F₁ plants, namely, *N. sylvestris* x *N. tabacum* was higher than the plants of reciprocal cross. Totipotency of the anther culture was higher in interspecific hybrids of the high pollen fertility than the other reciprocal interspecific hybrids. The chromosome number of differentiated plants was varied between 32–36 in both F₁ plants. Microscopical observation showed that these chromosome numbers were considered to be arisen by nonreductional pollens in meiosis.