タバコ属植物の細胞遺伝学的研究 XIII

タバコの半数体*

竹 中 要・田 中 正 雄**

Yô TAKENAKA and Masao TANAKA: Cytogenetic studies in *Nicotiana*, XIII.
Haploid plant of *Nicotiana tabacum*.

1956 年 2 月 20 日 受付

本研究の目的は (1) 種間交配による育種の優良形質の発見, (2) 雑種の減数分裂異常を利用したの優良劣悪両形質の分離, (3) タバコ属の核学的研究方法による系統進化の究明である。

材 料

N. alata の花粉に 4,800 γ の X 線を照射して *N. tabacum* の 1 品種 Bright Yellow に交雑して多数の朔を得た。そのうちの 12 朔の種子約 8,730 粒を 1954 年の 2 月 10 日に温床に播種した。この交雑種子は充実不良のため発芽が悪く、僅かに約 150 箇が発芽したにすぎなかつた。しかもこの苗は非常に虚弱で、つぎつぎに枯死し、定植期には 7 本になつた。苗の全部を本圃に定植したところ、その内の 5 本は枯死し、開花期に達したものは 2 本だけであつた。その内の 1 本は茎葉が *N. alata* に酷似し、花は *N. alata* と *N. tabacum* との中間の形を具え、色は薄桃色であつた。残りの 1 本は茎葉花ともに *N. tabacum* に酷似しているが、やや小型であつた。細胞学的研究の結果は前者は種間雑種で、後者は *N. tabacum* の半数体であつた。

外 形

この半数体は原品種 Bright Yellow の 2 倍体と比較すると、概形がやや小型で葉が薄く、気孔の長さや細胞の大きさが小さく、花粉の充実が不良で

完全に不稔である等、いわゆる半数体としての一般的特徴を示した。早蕾性ではないが、非常に早生で通常の 2 倍体よりも開花が 16 日も早かつた。また腋芽を叢生すること、柵状組織に比して海綿状組織がよく発達していること等の特徴が見られた。細胞が小さく、海綿状組織の発達が良好なことは「葉たばこ」の質が緻密で老化の進んでいることを意味するから、半数体は 2 倍体よりも品質的に良好であると推察される。また葉面における

a
Photo. Diploid and haploid tobaccos.

a. Flowers,
left: diploid, right: haploid.

b. Leaves,
left: diploid, right: haploid.

各種の毛茸については、毛茸密度と短毛歩合とは半数体がまさっているが、腺毛歩合と絨毛歩合とは 2 倍体が高い。また各種の毛茸の細胞数には両者間に大した差はないが、毛茸の長さは 2 倍体が高い。花粉充実度が圧倒的に低いのは他の半数体での通りである。(第 1 表～第 6 表参照)

* Contributions from the National Institute of Genetics, Japan. No. 153.

** 国立遺伝学研究所

第 1 表 開花期及び生育状況

区 分	開花始 ¹⁾	草 丈	幹 周	葉 数	最 大 葉			腋 芽
					長 さ	巾	比	
X	6 月 1 日	104.0cm	7.0 cm	13.0枚	50.5 cm	18.4 cm	2.75	叢 生
2 X	6 月 17 日	161.7	8.7	17.2	53.7	19.9	2.71	少 し

1) 両者の移植期 X は 4 月 25 日，2 X は 4 月 21 日

第 2 表 葉の構造及び気孔に関する調査

区 分	全 厚	柵状組織	海綿状組織	組織肥厚比	葉長1mm当 り柵状細胞	気 孔 密 度 数 ²⁾	気 孔 の 長 さ ³⁾	孔辺細胞中 の葉緑粒数
X	0.412 mm	0.140 mm	0.218 mm	1.60	30.9	50.5	3.24	6.53
2 X	0.450	0.172	0.212	1.26	22.4	38.4	4.42	11.10

2) 1 mm² 当り気孔数 3) 気孔長単位 10⁻² mm

第 3 表 毛茸密度及び各種毛茸の発生歩合

区 分	毛 茸 密度 ⁴⁾	腺毛歩合	絨毛歩合	短毛歩合
X	17.74	72.8%	8.7	18.9
2 X	13.86	75.3	10.3	14.4

4) 葉面 10 mm² 当り総毛茸数

第 6 表 花粉粒の充実状況

区 分	総花粉粒	充 実 花粉粒	不 良 花粉粒	充実花粉 粒 歩 合
X	907	6	891	0.66%
2 X	1235	1195	40	96.9

減 数 分 裂

第 4 表 各種毛茸の細胞数

区 分	腺 毛		絨 毛	短 毛	
	柄	腺		柄	腺
X	3.16	1.92	3.00	1.00	5.58
2 X	3.12	2.54	3.00	1.00	6.50

第 5 表 各種毛茸の長さ

区 分	腺 毛		絨 毛	短 毛	
	柄	腺		柄	腺
X	21.8	4.5	10.5	3.1	3.5
2 X	29.2	6.5	22.4	3.6	3.6

前期：染色糸の外面的変化は細糸期から太糸期
まで，取立てて変つたところは見られない。しか
し捻糸期から複糸期になつても染色糸の折れ曲つ
て，ねじれあう状態は現れない。時期の進むとと
もに染色糸は次第に太さをまし，移動期に入るが，
染色体の対合するものはない。時おり，2～3 箇の
染色体が近接して基質が接着しているのではないか
と思われるものがある程度である。

第一中期：ごく稀に見られる 2 価染色体以外
の 1 価染色体は，核内に分散していて，核板を
つくることは殆どない。ただし 2～3 箇の染色体
が二次接合的な接着，すなわち基だしく近接して
いて，基質で接着していると思われるもの，或は
染色体も接着しているのではないかと思われるも
のがある。しかしこれ等といえども核板をつくつ
て紡錘糸の方向に列ぶことはなく，斜や横の不規

Fig. 1. Haploid tobacco.
MI, $2n+20r$.

則な型をとる。これ等の接触集合 (attached association, adherence of two chromosomes) というべきものと、ごく稀に現われる対合 (2 価染色体) とを合せて、第一中期の接着型染色体の数を示すと第 7 表のようである。

第 7 表 第一中期接着型染色体数

接 着 型 染 色 体 数	0	1	2	3	4	5	合 計
頻 度	19	38	37	17	10	3	124

これに対して核の中央にきて紡錘糸の方向に縦に列ぶ、いわゆる 2 価染色体と思われるもののだけの頻度を見ると次のようである。

第 8 表 第一中期 2 価染色体頻度

2 価 染 色 体 数	0	1	2	3	合 計
頻 度	71	22	7	1	101

すなわち 2 価染色体のない花粉母細胞が絶対多数で、僅かに 1 箇の 2 価染色体をもつものが約 22 % である。2 箇、3 箇のものはごく稀れである。

第一後期：染色体は機会的に両極に集るが、時おり 1 価染色体が紡錘体の中央に残つて染色体橋をつくることあつて染色体の断片化が起ることがある。染色体橋は 1 価染色体ばかりでなく、2 価染色体或は接触集合型のものもつくることがある。

第二分裂：第二分裂は染色体片や紡錘体外に放出された染色体を除けば、通常の通りの分裂を行う。しかし第一分裂で両極に分れた染色体数に差のあること、或は第一分裂で 3 極以上に分れたもののあること、及び染色体片や紡錘体外染色体があるので、四分子期の母細胞は同形同大の四分子

ばかりを含んでいるわけではない。すなわち核の大きさにも大小があり、幾分か多孢子現象が見られ、余分の微細小孢子及び微細核をもつものがある。

若い花粉：大小の小孢子は休止期に入つていくが染色糸の間に色素によく染まる球或は楕円体の染色体様のものが 1~2、時には 3 箇も長く残つて見られることがある。稀れには染色体そのものの形を思わせるものがある。

Fig. 2. Haploid tobacco.
Two young pollen grains with chromosome-like heteropycnotic bodies.

論 議

Clausen と Mann (1924) は *N. tabacum* の品種 “purpurea” の半数体の減数分裂を研究して対合するものが完全でないことを報告したが、同じ材料で Chipman と Goodspeed (1927) は第一分裂中期で時おり 1 箇の 2 価染色体を見た。しかし移動期や、それより前の時期に染色体の集合がないから、太糸期対合の結果による 2 価染色体ではなく、単に第一中期の紡錘体中で、近接した 2 染色体の接着のために起つたものであらうと説明した。Kostoff (1941) は *N. triplex*—*N. tabacum* × (*N. sylvestris* × *N. tomentosiformis*) からできた稔性のあるタバコと *N. sylvestris* × *N. tomentosiformis* の複 2 倍体との、両者からできた 2 種の半数体の研究をして、これ等は *N. tabacum* の半数体と同じということを見た。すなわち 2 価染色体の数は 0~3 箇であつて、母細胞の大多数には零であり、若干のものに 1 箇、それより少数に 2 箇で、3 箇のものは極く稀れであることを見た。そして全花粉母細胞中約 27% に 2 価染色体があり、1 母細胞当り 2 価染色体の数は *N. triplex* からの半数体では 0.35 であり、*N. sylvestris* × *N. tomentosiformis* の複 2 倍体からの半数体では 0.34 であることを報告した。Lammerts (1934)

もまた *N. tabacum* の半数体を研究して、同じく 0~3 箇の接合が起ることを見たが、温室で育てたものでは1母細胞当たり 0.43, 野外でのものは 0.18~0.19 の割合に 2 価染色体をつくつたと述べている。Kostoff と Lammerts のものを合計して計算すると 1 母細胞当たり 0.307 の 2 価染色体が見られることになるし、1~3 箇の 2 価染色体をもつ母細胞は全体の 22% に達する。

筆者等の上記の研究においても約 30% の母細胞に 2 価染色体を見たのであるし、また 1 母細胞当たり約 0.39 の 2 価染色体を生ずる計算となるから、彼等の研究と大差はないといえよう。

さて竹中 (1954, 1955, 及び印刷中) は F_1 *N. sylvestris* × *N. tomentosiformis*, F_1 *N. sylvestris* × *N. otophora* 及び F_1 *N. sylvestris* × *N. tomentosa* において、それぞれ 4 箇をモードとして 1~9 箇の、2 箇をモードとして 0~5 箇の、3 箇をモードとして 0~7 箇の 2 価染色体を観察した。

Kostoff (1941-43) もまた F_1 *N. sylvestris* × *N. tomentosa* 及び F_1 *N. sylvestris* × *N. tomentosiformis* において、前者では 5 箇以上は非常に稀れであるが 1~4 箇の 2 価染色体を見ているし、後者でもほぼ同様の 2 価染色体が形成されることを報告した。Goodspeed (1934, 1954) もまた tomentosa group の *N. otophora*, *N. Setchellii* 及び *N. tomentosa* と *N. sylvestris* との交配 F_1 において、3 者とも 3 箇をモードとして 0~7 箇の 2 価染色体が形成されるのを見た。すなわち Kostoff, Goodspeed 及び筆者の研究はほぼ一致する。

N. sylvestris と Tomentosa group のあるものとのゲノムが *N. tabacum* の 2 つのサブゲノムであるということは、ゲノム分析からも、また *N. tabacum* の合成からも既に証明されている。しか

るに *N. tabacum* の半数体では対合する 2 価染色体の数が甚だ少なく、これに反し *N. sylvestris* と tomentosa group のものとの F_1 ではそれが多数見られるのは何故であろうか。

N. tabacum の 2 つのサブゲノムは天然にタバコが合成された最初の高い二重性の完全な構成を持つていたに違いないが、長い間にその二重性を減じ 2 つのサブゲノムの間の雑種相同性 (cross homology) が減少したのであろう。(Clausen 1941)

事実種々の変異形質をもつ *N. tabacum* の品種間の交配の研究においても同様の現象が見られる。すなわちこれは交配による形質の研究と、染色体の対合との間に平行関係の見られる好例といえることができよう。

なおここに一層面白いのは、第 7 表に示した通り、接合染色体 (2 価染色体) と接触集合型のものとの合せた全接着染色体が、1~2 をモードとして 0~5 箇存在することである。これは tomentosa group のものと *N. sylvestris* との交配 F_1 の 2 価染色体の数に近似である。このことは *N. tabacum* が天然に合成されて以来長年の間に雑種相同性の減少が起つていても、なおかつ 2 つのサブゲノムの若干数の染色体の間に、相同の遺伝子が存在していて、接合に到らないまでも、少量の親和性の名残をとどめて、接触集合を起したものと考えることができよう。

ただここに一つ不思議であるのは、Kostoff のつくつた *N. triplex* と *N. sylvestris* × *N. tomentosiformis* の複 2 倍体とからの半数体に於て、2 価染色体が余りにも少ないことである。この両者は未だ十分老熟した親からきた半数体とはいえないから、筆者等は例外的事実としてしか取扱うことができない。

Abstract

A variety of *Nicotiana tabacum*, "Bright Yellow" was pollinated with pollen of *N. alata* treated by X-rays (4,800γ). From the seed obtained, 8,730 were sown, 150 germinated but only two plants reached maturity. One of them was a hybrid, and the other was a haploid tobacco plant which was a little smaller than the parental diploid "Bright Yellow."

In studying MI in PMC's of the haploid plant, most frequently 24 univalents

were found; in about 30 % of PMC's one to three bivalents were observed. On the average 0.39 bivalents occurred per PMC.

An early study on meiotic behavior in haploid *N. tabacum* "purpurea" was reported by Clausen and Mann (1924). They indicated complete lack of pairing at MI, while in the same material Chipman and Goodspeed (1927) saw an occasional bivalent and interpreted it as a product of adherence of two chromosomes closely associated on the MI spindle rather than a reflection of pachytene pairing, since association was not observed at diakinesis or earlier. Kostoff found in a haplont of *N. "triplex"*—*N. tabacum* × (*N. sylvestris* × *N. tomentosiformis*)—and in a haplont of amphidiploid *N. sylvestris* × *N. tomentosiformis*, both of which he considered equivalent to haploid *N. tabacum*, a range of zero to three pairs. The former had 0.35 and the latter 0.34 bivalents per PMC. The above mentioned observations in the haploid tobacco plant agree with these results.

On the contrary, in the three hybrids, *N. otophora* × *N. sylvestris*, *N. sylvestris* × *N. Setchellii*, and *N. sylvestris* × *N. tomentosa*, Goodspeed (1934, 1954) found a range of zero to seven bivalents with the mode at 2–3, and also Takenaka (1954, 1955) counted, in the hybrids *N. sylvestris* × *N. tomentosiformis*, *N. sylvestris* × *N. tomentosa* and *N. sylvestris* × *N. otophora*, 1–9 bivalents with the mode at 4, 0–7 with the mode at 3 and 0–5 with the mode at 2 respectively, in the above cited order. Takenaka's observations generally agree with Goodspeed's findings concerning chromosome affinity between the *sylvestris* genome and those of the *tomentosa* group.

Accordingly, bivalent number at MI of the hybrid between *N. sylvestris* and the species of *tomentosa* group is always higher than that of haploid tobacco. Concerning the decrease of intragenomatic affinity in haploid tobacco, Clausen (1941) advocated the following assumption: "the alterations which have diminished its duplicational completeness must have arisen largely since it became established as an amphidiploid."

On the contrary, in the hybrid *N. sylvestris* × *N. tomentosa*, Kostoff found usually univalent chromosomes or 1 to 4 bivalents, rarely more than 4, and in F_1 *N. sylvestris* × *N. tomentosiformis* somewhat less bivalents than in the former. He stated that meiosis of the *N. "triplex"* haploid and the haploid of amphidiploid *N. sylvestris* × *N. tomentosiformis* could not be distinguished from the meiosis in F_1 *N. sylvestris* × *N. tomentosiformis*.

The difference between Kostoff's and Goodspeed's as well as Takenaka's findings in the hybrids between *N. sylvestris* and *tomentosa* group are ascribed to the different methods of cultivation. Nevertheless, it is certain that the bivalent number in haploid tobacco is less than that of the hybrids between *N. sylvestris* and species of the *tomentosa* group.

Literature Cited

Chipman, R. H. and Goodspeed, T. H., Univ. Calif. Publ. Bot. 11: 141–158 (1927). Clausen, R. E.,

Amer. Nat. 76 : 291-306 (1941). — and Mann, M. C., Proc. Nat. Acad. Sci. 10 : 121-124 (1924).
 Kostoff, D., Bibliogr. Genet. 13 : 1-148 (1941). Lammerts, W. E., Cytologia, 6 : 3-850 (1934).
 Takenaka, Y., Ann. Rep. Nat. Inst. Genet. Jap. 4 : 34-35 (1954). —, Ann. Rep. Nat. Inst. Genet. Jap. 5 : 64 (1955).

花粉の生理學的研究 X

糖の吸収と 2, 3 の酵素作用について*

岩 波 洋 造**

Yōzō IWANAMI: Physiological Researches of Pollen X
 The Absorption of Sugars and some Enzyme Reactions.

前報¹⁾では花粉が形成される過程において幾度か細胞内澱粉粒の消長がみられること、及び開花時の花粉は sucrose, glucose, fructose などの糖をもっていることなどについて述べたが、今回はこれらの花粉が花粉管を伸して生長する間に外から吸収する糖の種類、及び amylase など炭水化物分解酵素についての実験の結果を報告する。

I 培養基からの糖の吸収

花粉が生長して伸す花粉管の長さは、自体の幾千倍にも達するのであるから、この間において管膜の材料に使用されたり、呼吸の為に消失する炭水化物の量は、開花時に花粉が自己の中に貯えている僅かの種類で間に合う筈がない。それにもかゝらず従来花粉が外からの養分を使っていることについての結論がでていないのは、人工培養に際して必ずこの中に sucrose などの糖を含ませてはいるが、これらの糖が花粉の破裂を防ぐ為に外液の滲透圧を調節する役目を一方で果していることがあまりにも明らかであつたからであろう。又花粉が外からこれらの糖を吸収することが実験的に認められていなかったこと、更に或る種の花

は無糖の培養基でも可成り花粉管を伸すことなどがこの辺の問題を複雑にしていたものと考えられる。Fig. 1 は寒天 1.5% pH 6.5 の無糖の培養

Fig. 1. 無糖の培養基 (寒天 1.5%) 上で伸長する *Impatiens Balsamina* L. の花粉管

* 本研究は文部省科学研究助成金によるものの一部である。

** 横浜市立大学文理学部生物学教室