Kyozo EGUCHI and Masaru OKA : A mammoth mutant and its lethal action in flue-cured tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). (With English summary, p. 50)
Japan. J. Breeding Vol. 16, No. 1. 1966.

Synopsis. Selfed progeny of a mammoth mutant segregated 1:2 for normal and mutant plants which were dominant homozygotes and heterozygotes respectively for a single factor controlling photoperiodic response. Recessive homozygotes were lethal.

黄色種タバコに現われた多葉突然変異と接合体致死作用について

江 口 恭 三・岡 克

(秦野たばこ試
験場磐田分場)

(宇都宮たばこ試
験場水戸分場)

I. 緒 言

タバコの多葉突然変異は通常の着葉数より数枚多い低度多葉から、普通の栽培期節には開花しない、着葉数の著しく多い高度多葉まで多種類にわたり、その一部は実用に供されている。筆者らは、わが国の黄色種タバコの主要栽培品種ヒックスの葉数の少ない点を改良するため、通常の着葉数より 4~5 枚多い系統の育成を目的として、1959 年以來選抜を行なつてきた。1959 年にヒックス・ブロードリーフのなかから全葉数の約 4 枚多い個体を見出し、翌年系統栽培した結果、明らかに変異個体であることがわかった。しかし、この系統は葉数の多い個体と通常のヒックスと変らない個体とが分離し、以後 1963 年まで 4 回の選抜を行なつたにもかかわらず固定しなかつた。

そこで、2, 3 の実験を行ないこの系統の固定しない原因を明らかにすることができたので、その概要を報告する。

なお、多葉系統を選抜するにあつて、多大の御助力をたまわつた岡山たばこ試験場、篠原氏ならびに本稿の御校閲をいただいた同場、増田場長に厚く謝意を表す。

II. 実験材料および方法

ヒックス低度多葉系の選抜経過の概要をみると、まず 1959 年にヒックス・ブロードリーフ（コーカー）の普通栽培のうちから、1 個体の変異個体を見出し、さらに 1960 年にはヒックス（コーカー）のほか 4 系統を供試し、1 系統約 120 個体づつ普通栽培して、全葉数が系統平均値より 3 枚 (+1.5σ) 以上多い、30 枚以上の個体を 27 個体選抜し 1961 年には兩年の選抜個体を 1 系統 30 個体づつ栽培して選抜の効果をみた。この結果、1959 年に選んだ系統以外では選抜の効果を認めなかつた。1959 年の選抜系統は第 1 図のように、平均値が 30.9 枚で選抜効果が明らかであつたが、全葉数の頻度分布をみると、28 枚と 34 枚とにモードを持つ二頂分布をしていることがわかる。そこで、同様の選抜を 1963 年まで繰り返したが、固定系統をうる事が出来なかつた。この多葉系のうち、葉数の少ない普通型個体と葉数の多い多葉型個体とは葉数と開花日以外に形態的には第 2 図の写真でみるようにほとんど違いがなく、幼植物期には区別しえず、開花前になつてその遅速によつてある程度区別出来た。

Fig. 1. Frequency distributions of leaf number in the families derived from plants selected for leaf number in 1959~1961.

1965 年 7 月 29 日受領

Fig. 2. A normal and mutant plant from a selfed mutant plant selected from Hicks Broadleaf in 1959. Left is normal and right is mutant.

そこで、1963年にこれらの系統のうちから、全葉数の少ないモードに近い7個体と多いモードに近い4個体を選び、自殖ならびに交配試験を行ない、両型個体の分離比は自殖系統および交雑系統について、それぞれ2:1, 1:1の理論比に対して検定によつて適合度を検定した。この場合、葉数の頻度分布が連続していて、両型を明瞭に区分しえないときは、普通品種の正規分布頻度により各階級の普通個体数に相当する個体数を決定し、両型個体の観測比を算出した。また、普通品種と多葉型個体との交配を行ない、長日24時間と短日8時間の両条件下でF₁の分離を調べ、変異遺伝子の光週特性を検討した。

さらに、多葉型個体に不稔種子がみられたので、両型

個体から1個体3個の半熟蒴をとり、半熟種子について種子の色の濃淡によつて異常種子の区分を行ない、その頻度を調べ、成熟種子については検鏡により区分した種子を標準法によつて発芽試験をし、発芽の有無をみた。

III. 実験結果

1) 多葉自殖系統における普通型、多葉型個体の分離比について

上述したように、4回の連続した個体選抜を行なつた1963年の各系統別の全葉数の頻度分布を第1表に示した。第1表をみると、親品種ヒックスは25枚をモードとする正規分布を示しているが、それ以外の系統はほとんど二頂分布であり、変異の幅が大きく、固定しているとは認められない。したがつて、選抜の経過からみると、単純な主遺伝子のみの分離とは考えられない。選抜系統の全葉数頻度分布はほとんど連続的であり、区分することは難しいが、選抜系統の合計頻度分布について、親の上限階級である29枚を境として、一応普通型個体と多葉型個体とに区分し、その比をみると157:234となり、1:2の理論比に対し適合度をみると、 $P=0.05$ となり、適合は低い、上記の理論比に分離していると仮定しても差支えないと考えられる。しかし、1:2の分離比を示す遺伝様式として、遺伝子の致死作用が考えられる。

2) 多葉系統の普通型、多葉型個体の自殖後代とそれらの交雑後代における両型の分離について

1963年の選抜系統のうち、葉数の少ないモードおよび多いモードに近い個体を自殖し、その次代の全葉数の

Table 1. Frequency distribution of leaf number in the families derived from plants selected for leaf number in 1962 (1963)

Family	Number of plants	Leaf number																		Mean	Variance
		21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38		
Hicks Broadleaf	60			1	6	19	16	12	4	2										25.9	1.64
1	30							7	1	2	4	4	8	2	2					30.4	5.83
2	31				1		1	2	5	3	6	8	2	2		1				29.8	5.03
3	30					2	2	3		1	8	8	4	2						29.8	5.21
4	30					1	5	6	3	4	2	3	4	1	1					28.9	5.69
5	30					1	1	4	1	2	8	7	4	1	1					29.9	4.52
6	30					1	3	4	2	4	5	5	5	1						29.4	4.93
7	30					2		2	3	2	4	7	7	2	1					30.2	5.14
8	30			1		2	2	3	3	3	3	5	3	1	2	1	1			29.7	9.97
9	31					2	3	4	3	3	3	9	1	3						29.3	5.73
10	30					1	2	5	3	4	3	6	6							29.3	4.66
11	30					1	2	5	1		7	8	4	2						29.7	5.03
12	29					1	2	6	4		4	7	5							29.2	4.89
13	30						1	1	3	5	4	2	6	2	2	1	1			30.8	5.62
Total	391			1	1	14	24	52	32	33	61	81	59	19	9	3	2			29.7	5.66

Table 2. Frequency distribution of leaf number in the families derived from plants with 24~32 leaves grown in 1963 (1964)

Family	Leaf number of parent	Leaf number of family															Mean	Vari- ance
		25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38			
1	24		14	13	3		1									26.7	0.80	
2	24		2	4	15	8	2									28.1	0.90	
3	24		13	14	4											26.7	0.47	
4	24	2	8	19	1											26.6	0.45	
5	25		6	15	7	2	1									27.3	0.93	
6	26		3	13	11	1	1	1								27.6	1.14	
7	26		5	17	4	4			1							27.4	1.50	
8	26		4	14	12	1										27.3	0.57	
9	26			7	12	10	2									28.3	0.77	
10	26	1	10	14	4	1										26.8	0.72	
11	27		2	9	13	7										27.8	0.77	
12	29			3	8	2	2	5	3	3	5					30.4	5.81	
13	29			8	2	3	1	7	2	3	3	1				30.2	6.79	
14	30	1	1	5	5	2	1	4	6	4	1		1			31.1	7.47	
15	31		8	6	3	1	3	2	2	3	4					29.2	8.87	
16	31			1	7	7	2	4	1	2	4	3	1			30.8	7.26	
17	32		3	3	1	1	5	5	3	6	3			1		30.8	7.63	

Table 3. Frequency distribution of leaf number and chi-square tests for goodness-of-fit to segregation ratio 1:1 in F₁ families of crosses between normal and mutant individuals derived from a family grown in 1963 and between 3 normal varieties and a mutant plant grown in 1962 (1963, '64)

	Leaf number of parent	Number of plants	Leaf number of F ₁ family																				Observed * number of plants		Expected number of plants		P
			23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	Normal	Mutant	Normal	Mutant	
Normal × mutant F ₁ -1	24×29	30				5	3	4	3	1	7	4	1	1	1								16	14	15.0	15.0	0.80~0.70
F ₁ -2	24×30	31		1		3	7	8	2	1		5	1	2								23	8	15.5	15.5	<0.01	
F ₁ -3	24×30	27				2	2	5			6	4	1	3	4							10	17	13.5	13.5	0.20~0.10	
F ₁ -4	24×31	29				4	5	2	2	3	2	4	5		1	1						14	15	14.5	14.5	0.90~0.80	
F ₁ -5	25×29	31				2	7	3	1	2	3	3	2	3	1	4						14	17	15.5	15.5	0.70~0.50	
F ₁ -6	25×30	31				2	9	4	3	3	5	3	1	1								20	11	15.5	15.5	0.20~0.10	
F ₁ -7	26×30	31				1	8	2	5	1	4	5	1	1		1	1		1			16	15	15.5	15.5	0.90~0.80	
Hicks Broad leaf × mutant F ₁		40		8	8	7	3	2	6	4	1	1										26	14	20.0	20.0	0.10~0.05	
Bright Yellow No. 2 × mutant F ₁		40	1	3	3	6	3	5	4	6	7	2										17	23	20.0	20.0	0.50~0.30	
Bright Yellow No. 4 × mutant F ₁		40		1	6	11	4	3	1	6	5	2										23	17	20.0	20.0	0.50~0.30	

* Calculated from normal distributions of normal plants and varieties.

頻度分布を調べたのが第2表である。第2表の結果をみると、多葉型個体の次代の頻度分布は1963年の結果と全く同じであり、普通型個体の次代は通常の品種と同じく、固定していることがわかる。また、多葉型個体の次代は普通型個体と多葉型個体とに分離しているので遺伝子型はヘテロであるといえる。

つぎに、多葉型個体と普通型個体または通常品種との間の交雑 F₁ 世代の頻度分布は第3表のとおりである。第3表の結果は普通型個体または通常品種と交配したいずれの場合もともにその頻度分布はほぼ同じであり、多

葉型と普通型個体の割合は 1:1 に非常に近いことを示している。

以上の結果から、低度多葉系として選抜を繰り返してきた多葉型個体は、自殖後代では普通型個体と多葉型個体とが 1:2 の割合に、また普通型個体または通常品種との交雑次代では 1:1 の割合に分離することから、単遺伝子ヘテロの遺伝子型をもち、その選抜経過と分離比から考えると、致死遺伝子が関与していると推論出来る。

3) 長、短日条件下における多葉型個体の自殖ならびに通常品種との交雑次代の両型の分離について

Table 4. Frequency distribution of leaf number in mutant and F_1 families of crosses between 2 normal varieties and mutant plants under a long-day and a short-day condition (1963)

Family	Condition	Number of plants	Leaf number of family															Segregation	
			20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33			
Mutant	Longday	24					2	6			2	2	6	2		4	8	16	
	Shortday	24		6	10	8													
Hicks Broadleaf	Longday	12					2	5	4	1									
	Shortday	12		4	2	6													
Bright Yellow No. 4	Longday	12					4	5	3										
	Shortday	12	3	4	5														
Hicks Broadleaf × mutant	Longday	12					3	10	1	1	3	2	4				14	10	
	Shortday	12	1	3	16	3	1												
Bright Yellow No. 4 × mutant	Longday	23						4	4	1	2	1	6	2	2	1	8	15	
	Shortday	24	1	4	10	7	2												

多葉型個体，通常品種の自殖ならびにそれらの間の交雑次代と8時間短日と24時間長日との両条件下で育て，開花期に全葉数を調べた。

交雑世代については，正逆交雑間に差が認められなかったもので，それを合計し，それぞれの葉数の頻度分布を示したのが第4表である。第4表の結果のように，短日下では葉数が少なく多葉系においても，また，多葉系×品種においても固定しているが，長日下では葉数が多くなり，いずれも二項分布を示す。

このことから，この遺伝子は短日性遺伝子であり，既往の遺伝分析から推論すると，多葉型個体の遺伝子型は優性である普通系遺伝子とそれから突然変異によつて生じた劣性の短日性程度の高い遺伝子を持つヘテロ型であると考えられ，またその分離比からみると，単性遺伝の様式を示すように考えられる。

しかして，8000個体を供試した大規模な選抜試験においても，劣性ホモ個体を見出しえなかつたことから，この劣性突然変異遺伝子と致死作用を持つ遺伝子とは高

度なリンケージ関係にあるか，あるいは劣性突然変異遺伝子が多発的にホモで致死作用を現すのかのいずれかによつて，劣性ホモ個体を見出しえなかつたものと推論しうる。

4) 致死作用の機構について

植物では一般に遺伝子の致死作用として，配偶子致死作用と接合体致死作用が知られているが，この場合は上述のような次代の分離比から考えてこの後者であると推論できる。そこで，多葉型個体の次代の各葉数の個体から未熟蒴を3個づつとり，1蒴当たり100～150の種子について異常種子の割合を調査した。その結果，葉数の多い多葉型個体の半熟蒴中には淡色の普通種子にまじつて，やや濃色の異常種子が観察され，その割合は第5表のように，大部分の個体では21～22%であつた。葉数の少ない普通型個体では異常種子の割合が1～2%であることから，この種子が劣性ホモ個体に相当するものと考えられるが，その頻度は理論頻度の25%よりいくぶん小さいようである。この種子は蒴が完熟すると普通の

種子のような円みがなく，中央がくぼんでおり，さらにこれらの種子を鏡検すると，胚乳が全くなく種皮のみであり発芽試験の結果においても全く発芽しなかつた。したがつて，これらの種子は接合体致死作用による不稔種子であると認められ，劣性ホモ個体は胚，胚乳の発達途中において致死作用をうけるため不稔種子となり，出現しないものといえよう。

Table 5. Frequencies of percentage of sterile seeds produced in capsules of normal and mutant plants (1963)

Leaf number	Number of plants	Percentage of sterile seeds													Mean
		% 0~	1~	2~	3~	4~	5~	10~	15~	20~	25~	30~	35~		
24	9	6	3											0.7%	
25	4	2	1	1										1.0	
26	4	1	3											1.2	
27	1		1											1.4	
28	0														
29	1										1			29.0	
30	5							2		1	1	1		21.7	
31	8							3	2	1			2	19.8	
32	3								1		2			22.5	
33	5								1	3	1			22.6	
34	1									1				21.4	

IV. 考 察

タバコは短日性植物であつて、短日性程度に応じて開花期の早晚、葉数の多少がきまり、極端な晩生品種は短日性程度の高い単劣性突然変異遺伝子をもつことが明らかにされている。極端な晩生品種は葉数が非常に多くなるので、多葉種 (mammoth type) と呼ばれるが、そのうちにも各種の段階があり、それについては ALLARD (1919), 塚田 (1924), LANG (1947), 黒田 (1952), 岡 (1962) らの研究がある。しかし、黒田は葉数の多少によつて高度多葉種と低度多葉種とに分類し、地上葉数 50 枚以下のものを後者としているが、それについての研究は少なく、黒田の研究においても低度多葉系の葉数の分散は非常に大きい。

筆者らがヒックス・ブロードリーフのうちから選抜した低度多葉系は前述のように二項分布を示し固定しなかつたが、この分離は 1 遺伝子の違いによるものであり、普通系よりも高度の短日性を有し、また劣性ホモは接合体致死作用を受け、種子が不稔となるため現われないということがわかつた。すなわち、この選抜系統は 1 つの短日性遺伝子が劣性突然変異を起してヘテロ型となつており、高度多葉型と普通系との F_1 同様の遺伝子型をもち、さらにこの突然変異遺伝子が致死遺伝子と密接なリンケージ関係をもつか、あるいはこの遺伝子が多発的にホモ型で致死作用を現わすのかのいずれかによつて劣性ホモ個体が出現しないと考えられた。そこで、低度多葉型の個体はつねにヘテロであり、これを選抜の対象としたため固定しなかつたと推論できる。

タバコにおける致死遺伝子の報告は少なく、EAST ら (1925, '26, '27) による *N. alata* と *N. sanderae* についての研究において、不親和性の遺伝子群のうち、 S_3 , S_4 遺伝子は優性ホモで致死作用をもつことを報告しているのみである。筆者らの材料は *N. tabacum* であるため、この研究で見出した致死作用をもつ遺伝子は EAST らのいう不親和性遺伝子群と異なるものと考えられる。しかして、短日性遺伝子と致死遺伝子とがリンケージ関係にあるか、あるいはこの致死作用が遺伝子の多面発現によるものかについては今後さらに研究する必要がある。

V. 摘 要

栽培品種ヒックス・ブロードリーフから葉数の 4~5 枚多い低度多葉型個体を選抜し、育成固定をはかつたが、固定系統が得られなかつたので、その遺伝的原因を研究し、つぎのことを明らかにした。

- 1) 低度多葉型個体の自殖次代または通常品種との交雑次代において、普通型個体と多葉型個体とがそれぞれ 1:2 または 1:1 の割合に単性遺伝の分離を示した。
- 2) 多葉型個体は普通品種より高度の短日性を示す劣性遺伝子をもつヘテロ型であり、劣性ホモ個体は出現しなかつた。
- 3) 劣性ホモ個体は接合体致死作用により不稔種子となり枯死しているものと考えられた。
- 4) 接合体致死作用は劣性の短日性遺伝子がホモの場合にのみ認められ、両者はきわめて密接な関連をもつていた。

参 考 文 献

- ALLARD, H. A. 1919. Giantism in *Nicotiana tabacum* and its alternative inheritance. Amer. Natur. LIII: 218~233.
- EAST, E. M. 1925. A new interpretation of the hereditary behavior of self-sterile plants. Proc. Nat. Acad. Sci. 11: 166~171.
- 1926. Studies on self-sterility. VII. Genetics 11: 466~481.
- 1927. Peculiar genetic results due to active gametophyte factors. Hereditas X: 49~58.
- 黒田 実 1952. タバコ多葉性の遺伝について, 秦試報 36: 23~39.
- 岡 克 1962. 黄色種ブライト・エローの短日性遺伝子に関する研究, 岡試報 24: 31~37.
- 塚田秀男・寺尾 博・岡田清澄 1924. 多葉型タバコの突然発生ならびにその育種について, 遺雑 2: 77~93.
- LANG, A. 1947. Beiträge zur Genetik des Photoperiodismus, I. Faktorenanalyse des Kurztagcharakters von *Nicotiana tabacum* "Maryland-Mammut". Vernalization and Photoperiodism 175~183.

Summary

A mammoth mutant which produced about 4 more leaves than normal plants was obtained from a flue-cured tobacco variety, Hicks Broadleaf. It was found that selfed progeny of this mutant segregated into two types, normal plants with the same leaf number as Hicks Broadleaf, and mutant plants with the same leaf number as the parent. In spite of selection during four generations, these mutant plants could not be fixed.

The genetic studies with this mutant are summarized as follows,

1) Selfed mutant plants segregated 2 : 1 for normal and mutant plants, while normal segregates producing only normal progenies.

2) F_1 families of crosses between three normal varieties and mutant plants as well as crosses between normal and mutant individuals segregated 1:

1 for normal and mutant plants.

3) Photoperiodic response which greatly influenced determinations of leaf number was different in normal and mutant plants; normal plants were dominant homozygotes and the mutant plants were heterozygotes for a single factor controlling this characteristic.

4) It was observed that approximately 25% of the seeds produced in the capsules of mutant plants were sterile. These capsules of mutant plants were sterile. These sterile seeds might be considered recessive homozygotes.

5) It was suggested that this zygotic lethal action might be due to a lethal gene almost completely linked with a gene controlling photoperiodic response.