Yasumoto FUCHINOUE and Hiroko FUCHINOUE : Methodological study on the creation of the variety for seedage of tea plant.

I. On the analysis of self-incompatibility alleles of three main varieties (*Thea sinensis* L.) (With English summary, p.198) Japan. J. Breeding Vol. 16, No. 3, 1966.

Synopsis. Three main varieties of *Thea sinensis* L. were used as materials for the analysis of self-incompatibility alleles of the tea plant in 1961~64. The method of analysis was done by the progeny test of crossing the three varieties and the results may be explained if the following items are assumed : (a) Self-incompatibility alleles of the three main varieties are composed of five multiple oppositional alleles, (b) The reaction of the pollen is gametophytically determined.

茶樹実生繁殖用品種作成の方法論的研究

第 I 報 *Thea sinensis* L. 主要 3 品種の自家不和合性遺伝子分析

淵之上康元・淵之上弘子

(埼玉県茶業研究所)

I. 緒 言

1961 年以降当所では茶樹の実生繁殖用品種作成の方法論的研究を実施中であるが、この研究の中では実用形質の遺伝的純度を高めてゆくことが一つの大きな課題で、そのためには近親近縁間の交配を実施する機会が多い。しかしこのような場合自家不和合性を示す茶樹では、交雑和合性の低下してくることが当然心配されるので、その機構を究明しておくことも必要かと考えられる。

以上のような観点から筆者らは研究開始当時より sib-cross, back cross を主体にその和合性程度を調査して来たが、その過程において茶樹の場合の S 因子分析の可

能性が略ぼ明らかにされた。そこで緑茶用主要 3 品種を供試し、これらの間の正逆すべての組合せで得られた F₁ 株を対象に、その和合性程度を調査したところ、これら品種の S 因子分析ならびにその遺伝様式を略ぼ明らかにし得たので、ここにその結果を報告し、諸兄の御批判をこうものである。

なお本研究の遂行にあたり、終始温く激励して下さった当所松本武夫課長ならびに稿を草するに当つて、ご指導をいただいた農林省農業技術研究所の村上寛一博士、藤瀬一馬博士の諸氏に対し、深甚の謝意を表する次第である。

Table 1. Experiment materials in each year

Parental combination		1961			1962			1963			1964		
		Number of F ₁ plants	Number of combination sib-mating	Number of combination back cross	Number of F ₁ plants	Number of combination sib-mating	Number of combination back cross	Number of F ₁ plants	Number of combination sib-mating	Number of combination half-sib mating	Number of F ₁ plants	Number of combination back cross	Number of combination sib-mating
1	Sayamamidori × Yamatomidori	12	61	24									
2	Yamatomidori × Sayamamidori										8	16	
3	Sayamamidori × Yabukita				12	66	24	18	54	72			
4	Yabukita × Sayamamidori							15	45				
5	Yabukita × Yamatomidori				12	66	24						
6	Yamatomidori × Yabukita										11		44

1965 年 8 月 31 日受領

II. 実験材料および方法

(1) 材料と年度別調査経過 Table 1 に示すように 1961~62 年は 3 品種間 3 組合せ (両親の組合せ No. 1, 3, 5) で得られた F_1 12 株づつを対象に, それぞれの F_1 集団内での sib-cross を diallel cross 法により交配し, その和合性程度から不和合群を群別し, さらに両親への back cross での和合性をもあわせ調査した。1963 年はさやまみどり×やぶきた (両親の組合せ No. 3) の F_1 を新たに 18 株供試し, これを前年群別した不和合群 (同じ No. 3 組合せの F_1 株) にそれぞれ交配し, 新たな 1 群を発見するとともに, この 18 株をやぶきた×やまとみどり (両親の組合せ No. 5) の F_1 の不和合群にも half-sib-cross を行ない, これら両者

の間には同不和合群の存在することを認めた。また両親の組合せ No. 1, 3, 5 の逆交配 (組合せ No. 2, 4, 6) での F_1 の不和合群については 1963~64 年に, さらに reciprocal crossing 下での和合性程度については 1962 年にそれぞれ調査を行なった。

(2) 和合性程度の調査方法 上記供試材料, 組合せのもとで, それぞれの交配母樹の開花盛期に, 1 組合せ 15~20 花ずつ授粉したものにつき, その後受精発育の容易に確認出来るようになった授粉後 40 日目頃, 徒手で子房を横断切片とし, デラフィールド・ヘマトキシリンで染色し, 内乳細胞発育胚珠数を調べ, 総胚珠数 (茶樹は一般に 1 子房当り 12 個前後の胚珠を有する故, 1 組合せ約 180~240 個の胚珠について調査) に対する

割合を算出し, これをそれぞれの母樹の他家授粉 (out-breeding: 花粉樹にいんど使用) の場合のそれに対する指数で表示して和合性程度を判定した。すなわちつぎのとおりである。

$$\begin{aligned} (\text{in-breeding}) &\rightarrow \frac{\text{発育胚珠数}}{\text{総胚珠数}} \times 100 \\ (\text{out-breeding}) &\rightarrow \frac{\text{発育胚珠数}}{\text{総胚珠数}} \times 100 \end{aligned}$$

(3) 和合, 不和合の判定方法
その年々で, 供試したすべての組合せの上記指数別頻度分布図を作成した結果は, すべて 2 頂曲線を示したので, この 2 頂曲線の谷を境にして, 指数の低い方を不和合 (—), 高い方を和合 (+) とした。

III. 実験成績

(1) さやまみどり×やまとみどり F_1 1961 年 12 株供試の sib-cross および両親への back cross の和合性程度は Fig. 1-a に示すとおりであるが, これによつて Fig. 1-b に示すように不和合群を 2 群に群別出来ると同時に, その中の 1 群が父親に対し不和合を示すことが明らかとなった。

(2) さやまみどり×やぶきた F_1 1962 年 12 株供試の sib-cross および両親への back cross の和合性程度は Fig. 2-a に示すとおりで, これによつて Fig. 2-b (○印個体のところだけ) に示すように不和合群を 3 群に群別出来, これらの両親への back cross はすべて和合を示

Fig. 1-a. Cross-compatibility or cross incompatibility in the sib-crosses using Sayamamidori × Yamatomidori F_1 individuals and in the back crosses using them as male.

Notes; : Cross-compatible index and : Cross-incompatible index. Year: 1961

Fig. 1-b. The relations, intra-sterile and inter-fertile, among the F_1 individuals, grouped, in the Fig. 1-a.

♀	♂	Sayamamidori × Yabukita F ₁ plants ind.No.											
		106	103	97	100	105	101	104	107	99	98	108	102
Sayamamidori × Yabukita F ₁ plants ind.No.	106												
	103	10											
	97	91	77										
	100	94	50	96									
	105	105	105	97	6								
	101	3	0	94	76	94							
	104	5	0	63	77	47	3						
	107	110	79	141	7	0	101	73					
	99	76	81	22	109	97	104	84	102				
	98	91	77	100	3	8	90	71	38	69			
	108	77	68	89	5	27	67	72	3	83	11		
	102	8	3	70	75	85	5	0	71	75	85	61	
Sayamamidori		90	87	119	110	81	97	104	88	97	119	109	97
Yabukita		234	139	150	255	203	141	178	218	126	117	146	188

Fig. 2-a. Cross-compatibility or cross-incompatibility in the sib-crosses using Sayamamidori × Yabukita F₁ individuals and in the back crosses using them as male.

Notes are the same as in Fig. 1-a. Year: 1962

Fig. 2-b. The relations, intra-sterile and inter-fertile, among the F₁ individuals, grouped, in the Fig. 2-a. ○: 1962 (Fig. 2-a) and □: 1963.

した。翌 1963 年さらに新たな 18 株を供試し、上記 3 群の中からそれぞれ 1 株ずつを取り出し、これらに交配した結果は Fig. 2-b (□印個体のところ) に示すように、前年得られた 3 群にそれぞれ不和合を示す 3 群のみられる他、いつれの群にも和合を示す新たな 1 群のあることが明らかとなり、従つてこの組合せの不和合群は 4 群に群別しうのではないかと推察された。

(3) やぶきた × やまとみどり F₁ 1962 年 12 株供試の sib-cross および両親への back cross の和合

性程度は Fig. 3-a に示すとおりで、これによつて Fig. 3-b のとおり不和合群を 4 群に群別出来、これらの両親への back cross はすべて和合を示したが、これは前回のさやまみどり × やぶきた F₁ の場合と同様の傾向であつた。

(4) さやまみどり × やぶきた F₁ とやぶきた × やまとみどり F₁ との各不和合群間の関係 さきのさやまみどり × やぶきた F₁ 18 株を、1963 年にやぶきた × やまとみどり F₁ の各不和合群 4 群の中からそれぞれ 1 株ずつを任意にとり出したものに half-sib-cross を試みたところ、これら 2 組合せの F₁ 間では互に不和合を示し合う 2 群の存在を認めた (Fig. 5)。

(5) 上記 3 組合せの逆交配により得られた F₁ の場合 1964 年やまとみどり × さやまみどり F₁ 8 株を供試して両親に back cross した結果は、さやまみどり × やまとみどり F₁ 株の場合同様父親に対してのみ不和合を示す 1 群を認めた。また 1963~64 年やぶきた × さやまみどり F₁ 15 株とやまとみどり × やぶきた F₁ 11 株をそれぞれの正交配で得られた F₁ の各不和合群 3, 4 群の各群より 1 株ずつ任意にとり出したものに交配した結果は、いずれも全く同様の 4 不和合群よりなるであろうことが明らかとなつた (Fig. 5)。

(6) RECIPROCAL CROSSING での親和性 (1)~(3) の sib-cross, back cross の各組合せの中より任意に 20 組合せを取り出し、reciprocal crossing での和合性程度を比較調査したが、その結果は Fig. 4 のとおりでいずれの組合せでも正、逆で同様の和合性程度を示す結果が得られた。

(7) 因子的説明 以上の 1961~64 年までの成績をとりまとめてみると Fig. 5 のとおりとなるが、今これらの成績を因子的に説明するのに、5 個の複対立遺伝子 S₁~S₅ を想定し、さやまみどりを S₁S₂、やまとみどりを S₂S₃、やぶきたを S₄S₅ の因子構成と仮定し、これが受精に際しては配偶子型の遺伝様式をとるものとすれば、3 品種間交配で得られた F₁ のもつ因子構成ならびにその出現頻度は Fig. 6 に示されるとおりとなる。そして Fig. 5 と Fig. 6 とを比較すれば、過去 4 年間明らかにし得た事実はそのまゝ因子的にもよく

Fig. 3-a. Cross-compatibility or cross-incompatibility in the sib-crosses using Yabukita × Yamatomidori F₁ individuals and in the back crosses using them as male.

Notes are the same as in Fig. 1-a. ear : 1962

Fig. 3-b. The relations, intra-sterile and inter-fertile, among the F₁ individuals, grouped, in Fig. 3-a.

説明がつく。

VI. 考 察

植物の自家および交雑不和合性の遺伝については、1912年 CORRENS が自家不稔性の遺伝がメンデル法則に従うものであることを示してより今日まで、多くのすぐれた研究者達の努力によつてその複雑な機構が次第に明らかにされつつある。そして現在ではその遺伝機構は、① 1925年 EAST と MANGELSDORF の *Nicotiana*

Fig. 4. Cross-compatibility or cross-incompatibility in the reciprocal crossing.

Notes are the same as in Fig. 1-a.

Year : 1962

での提唱に始まる、不和合性が母植物の芽胞体の遺伝子型と父植物の配偶子の遺伝子型との相互関係によつて決定される、いわゆる gametophytic oppositional system, ② 1913年 CORRENS が *Cardamine* で、1936年 RILEY が *Capsella* で提唱したのに始まり、その後 HUGHES and BABCOCK ('50), GERSTEL ('50), CROWE ('54) および BATEMAN ('54) などによりその考え方が発展させられた、不和合性が雌雄両植物の芽胞体の遺伝子によつて決定されるとする、いわゆる sporophytic oppositional system, ③ 1930年 KAKIZAKI がタマナの実験成績を説明するために提唱したような、離反因子のほかに親和因子の存在を考えて不和合性

は両者の相互作用によつて決定されるとする associate type の三つに大きく分類されるというのが定説となっている。

しかし一方これら仮説をもつてしてもなお十分に説明のつかない複雑な場合が次第に明らかにされ、最近藤瀬 ('64) は甘藷の不和合性の遺伝現象を説明するのに *Capsella* type の遺伝様式に1系列の不和合性因子 Z, z および S, s, Z, z 系列にそれぞれ不完全優性因子 Sf,

Fig. 5. A diagram of the results given in 1961~64.

Zf を追加して考えることにより、また村上 ('65) は白菜 2 品種の 4 世代にわたる不和合性遺伝現象を説明するのに BATEMAN の考え方を更に発展させ sporophytic oppositional system の中で一連の離反因子 S のほかにこの S 因子の作用に拮抗して不和合性を制御する 1 対の遺伝子 F-f (F 因子を平衡因子と仮称) を想定することにより、それぞれよく実験結果の説明を試みた。

さて茶樹における自家不和合性の遺伝に関してはまだ研究されたものを見ないが、これは茶樹の育種が専ら栄養系選抜に終始して来たこと、永年生樹木作物で開花結実までかなりの年数を要する点さらに自家不和合性程度が強く幼老花授粉その他人為的処理をもつてしても自家種子を得るに成功しなかつた点などが主な原因と考えられようが、また一方では和合・不和合の判定方法に困難のあつた点もみのがすことが出来ない。すなわち茶樹は開花より結実まで 1 カ年を要しその間に生理的落果も多く結果率を直ちに受精率に結びつけることが出来ず、かといつて建部 ('44) の大根のように柱頭上の花粉発芽力のみによる判別も困難である。

筆者らは 1961 年より実生繁殖用品種作成の方法論的研究を開始し、まづ近親交配下の和合性程度を調べるの

に、そのテクニックとして授粉後約 40 日目の子房を横断徒手切片とし、デラフィールド・ヘマトキシリンで染色し、内乳細胞発育胚珠数を調べて比較する方法が和合・不和合を判定するのに適確かつ簡易な方法であることを明らかにした。そこでこの方法を採用して *Thea sinensis* L. 主要 3 品種間で得られた F₁ 株間 sib-cross, half-sib-cross ならびに back cross などの後代検定の結果より、これら 3 品種の因子分析を試みたのであるが、その結果は Fig. 5, 6 に示されるとおり sporophytic oppositional system や associate type などの様な複雑な遺伝機構を仮定するまでもなく、1925 年 EAST and MANGELSDORF がタバコ属で発見した gametophytic oppositional system の基本型がそのままよくあてはまるように推察された。今これら推察理由につき二、三の考察を試みよう。

EAST らの発見した上記 system では、2 つの交雑和合個体はその次代において 2 つあるいは 4 つの intra-sterile, inter-fertile classes を分離し、2 つの場合それらの 1 つが父親に不和合を示し、4 つの場合は両親にすべて和合を示すこととなり、このことを RILEY ('35) は *Nemesia* で、EMERSON ('39) は *Oenothera orga-*

Fig. 6. A genetic interpretation of results in Fig. 5. Notes are the same as in Fig. 5.

*ensis*でそれぞれ確めている。今回筆者らが供試した互に交雑和合の *Thea sinensis* 3品種間の後代検定の結果も上記事実と全くよく一致した。今後さらに多くの茶樹についてまたさらに F_2 後代などについて検討を加えないと茶樹がいつれの type に属するか確言は出来ないが、少なくとも今回供試材料下では gametophytic oppositional system がそのまま適用されるとみてさしつかえないであろう。

今一つ茶樹が gametophytic oppositional system に適合するのではないかとする理由として、不和合性が gametophytic control によるとすれば花粉と雌ずいの離反因子が必ず一致するのであるから自家和合個体は現われないはずである。当所の過去 1947~1951 年の 5 カ年間に主に *Thea sinensis* L. 87 株を供試してその自家結実歩合を調査した結果はいずれも低く、自家和合と思

われる個体の出現を認めていない。このことは志村・大曾根 ('56) の支那種・インド雑種での観察、呉 ('54) の台湾種・マニプリ種での観察を始め、わが国茶研究機関の多くの過去のデーターともよく一致し、茶樹の場合筆者らの知る範囲内では自家和合個体の出現を見ない。RILEY ('35) によれば genus *Nemesia* の 7 つの species のうち 2 つは自家和合植物であつたと報じており、茶樹でも今後多くの個体や種について調査の必要はあろうが、一応現段階では上記の事実は茶樹の自家不和合性を gametophytic control によるとする有力な証明事項となり得よう。

BREWBAKER ('57) は多くの同形ずいの不和合性植物で、不和合性の型と花粉の核数および花粉管抑制場所との間にある関係を見出し、gametophytic type の植物は 2 核性花粉をもち、花粉管は花柱の途中で伸長が止つて

Table 2. On the process of division and transfer of reproductive nucleus accompanied with pollen germination in the culture-medium
October~November, 1955

Past time	Varieties	Sayama-midori	Yabukita	Yamato-midori	Indo	Seishin-taipan	Hatsu-midori
Item							
1 hour	Length of Pollen Tubes Position of Reproductive Nucleus Percentage of Division*	152 μ 29 μ 0%	182 μ 37 μ 0%	113 μ 22 μ 0%	139 μ 28 μ 0%	106 μ 36 μ 0%	40 μ 0 μ 0%
2 hours	Length pf Pollen Tubes Position of Reproductive Nucleus Percentage of Division*	294 μ 176 μ 0%	541 μ 357 μ 0%	424 μ 316 μ 0%	468 μ 305 μ 0%	579 μ 503 μ 0%	176 μ 76 μ 0%
3 hours	Length of Pollen Tubes Position of Reproductive Nucleus Percentage of Division*	857 μ 752 μ 0%	866 μ 866 μ 0%	951 μ 951 μ 0%	742 μ 584 μ 0%	675 μ 675 μ 0%	195 μ 72 μ 0%
5 hours	Length of Pollen Tubes Position of Reproductive Nucleus Percentage of Division*	909 μ 909 μ 0%	1271 μ 1271 μ 0%	1015 μ 1015 μ 0%	962 μ 962 μ 0%	686 μ 686 μ 0%	266 μ 182 μ 0%
8 hours	Length of Pollen Tubes Position of Reproductive Nucleus Percentage of Division*	976 μ 976 μ 60.0%	1437 μ 1437 μ 12.8%	1161 μ 1161 μ 60.0%	1045 μ 1045 μ 50.0%	1082 μ 1082 μ 74.2%	422 μ 272 μ 15.0%
12 hours	Length of Pollen Tubes Position of Reproductive Nucleus Percentage of Division*	1008 μ 1008 μ 90.1%	1457 μ 1457 μ 75.0%	1201 μ 1201 μ 80.0%	1018 μ 1018 μ 81.6%	1151 μ 1151 μ 91.6%	509 μ 409 μ 20.6%
24 hours	Length of Pollen Tubes Position of Reproductive Nucleus Percentage of Division*	1200 μ 1200 μ 100.0%	1329 μ 1329 μ 78.3%	1402 μ 1402 μ 81.9%	1039 μ 1039 μ 94.8%	1200 μ 1200 μ 100.0%	675 μ 675 μ 37.7%

Note ; *percentage of division = $\frac{\text{number of dimidiate reproductive nucleus}}{\text{number of all reproductive nucleus}} \times 100$

Culture-medium : Agar 2% Sugar 5%

Temperature : 25°C (Constant)

Hatsumidori is a triploid, and the other varieties are diploid.

Fig. 7. The part of retardation of incompatible pollen-tube growth.

しまい、一方 sporophytic type の植物では3核性花粉をもち、通常柱頭で花粉発芽がおさえられるとしている。筆者らの過去における *Thea sinensis* L. の観察結

果は Table 2 および Fig. 7 に示されるとおり gametophytic type のそれによく一致がみられ、これらの点も興味深い。

V. 摘 要

茶樹実生繁殖用品種作成の方法論的研究の一部として、*Thea sinensis* L. 3品種の自家不和合性遺伝子の分析を行なった。その結果これらの供試材料のもとでは、つぎに示すような一連の gametophytic control をうけ離反因子を想定すれば、よく実験結果が説明できることを明らかにした。

1. 3品種の自家不和合性遺伝子の中には、5個の multiple oppositional alleles がみとめられ、それぞれの品種はつぎのような因子構成よりなる。

さやまみどり : S_1S_2

やまとみどり : S_2S_3

やぶきた : S_4S_5

2. 受精に際しての花粉の反応は、配偶体的に決定される。

上記の仮説により Fig. 5 の実験結果を Fig. 6 のよ

うに説明できた。

参 考 文 献

- BATEMAN, A. J. 1952. Self-incompatibility systems in angiosperms. I. Theory. *Heredity* 6: 285~310
 ——— 1954. *ibid.* II. *Iberis amara*. *ibid.* 8: 305~332.
 ——— 1955. *ibid.* III. *Cruciferae*. *ibid.* 9: 53~68.
 BREWBAKER, J. L. 1957. Pollen cytology and self-incompatibility systems in plants. *J. Heredity* 48: 271~277.
 EMERSON, S. 1939. Growth of incompatible pollen tubes in *Oenothera organensis*. *Botan. Gaz.* 101: 890~911.
 藤瀬一馬 1964. 甘藷品種の開花結実性と自家ならびに交配不和合性に関する研究. 九州農試彙報 9(2): 123~246.
 GERSTEL, D. U. 1950. Self-incompatibility studies in *Guayule*. II. Inheritance. *Genetics* 35: 482~506.
 呉 信 塗 1954. 茶樹自交不和合性の初步研究. 平鎮茶業試茶葉研究論文集 1: 97~101.
 HARLAND, S. C. and D. S. ATTECK 1933. Inheritance of self-sterility in *Petunia violacea*. *Genetica* 15: 89~102.
 HUGHS, M. B. and E. B. BABCOCK 1950. Self-incompatibility in *Crepis foetida*(L.) subsp. *rhoeadifolia* (BIEB.) SCHINZ et KELLER. *Genetics* 35: 570~588.
 KAKIZAKI, Y. 1930. Studies on the genetics and physiology of self-and cross-incompatibility in the common cabbage. *Japan. J. Botany* 5: 133~209.
 KNIGHT, R. and H. H. ROGERS 1955. Incompatibility in *Theobroma cacao*. *Heredity* 9: 69~77.
 村上寛一 1964-a. 選択受精に関する育種学的研究, I-1. 育種 14(3): 158~162.
 ——— 1964-b. 同上, I-2, 同上 14(4): 239~246.
 ——— 1965. 同上, I-3, 同上 15(2): 97~109.
 RILEY, H. P. 1934. A further test showing the dominance of self-fertility to self-sterility in shepherd's purse. *Amer. Nat.* 68: 60~64.
 1935. Self-sterility and self-fertility in species of the genus *Nemesia*. *Amer. J. Botany*. 22: 889~894.
 志村 喬・大曾根兼一 1956. 茶の受精に関する研究. 育種 6(2): 111~114.
 建部民雄 1944. ダイコンにおける自家並びに交雑不和合性の遺伝学的研究 (1). 園雑 15: 61~73.
 ——— 1956. 同上 (2). 同上 25: 157~162.
 ——— 1958. 同上 (3). 同上 27: 154~160.
 塘 二郎・淵之上康元・山根弘子 1956. 茶樹の自家受精に関する研究. 育種 5(4): 35~41.
 寺尾 博 1922. 自家不稔性の遺伝現象について. 遺雑 2(3): 145~155.
 寺尾 博・禹 長 春 1924. ペチュニヤにおける自家不稔性の遺伝現象. 遺雑 4(3): 158~161.

Summary

The analysis of self-incompatibility alleles of *Thea sinensis* L. was examined as a problem in the methodological study on the creation of the variety for seedage of the tea plant. In these experiments, three main varieties (Sayamamidori, Yamatomidori, and Yabukita) of *Thea sinensis* L. were used as materials in 1961~64. The method of analysis was done by the progeny test of crossing the three varieties and fertility was determined by the number of grown ovule on the fortieth day after pollination. The results of cross-pollination in the progeny test (by sib-cross, half-cross and back cross) are as follows: (a) In the case of the combination between Sayamamidori and Yamatomidori, these two cross-fertile plants yield a progeny which splits into intra-sterile, inter-fertile classes.

One is sterile with the father and fertile with the mother. (b) In the cases of each combination between Sayamamidori and Yabukita or Yabukita and Yamatomidori, two cross-fertile plants yield a progeny which splits into four intra-sterile, inter-fertile classes. These four classes are fertile with both parents.

These results may be explained if the following items are assumed: (a) Self-incompatible alleles of these three main varieties is composed of five multiple oppositional alleles as follows:

Sayamamidori : S_1S_2

Yamatomidori : S_2S_3

Yabukita : S_4S_5

(b) In fertilization, the reaction of the pollen is gametophytically determined.