

普通ソバにおける人為同質4倍体の 育成ならびに諸特性について

氏原暉男・俣野敏子・山本好文

信州大学農学部 作物・育種学研究室

I 緒 言

種実生産を目的とする人為倍数体利用による新品種育成例は比較的少なく、近年では倍数体からの選抜は主に稔性が伴わないことによって、あまり省みられなくなり、むしろ、複2倍体のような合成品種のための素材として価値が重要視されつつある。しかしながら、ライ麦や水稲などいくつかの作物では現在でも人為同質倍数体に関する研究が古くから引き続き実施されている。ソバもその一つであり、1935年に SANDO, W. J.¹⁾ がダットン種の人為同質4倍体を誘起し、諸器官の巨大化を報告したのを始め、日本においても篠遠ら²⁾ がコルヒチン処理により普通ソバの同質4倍体を作成して以来若干の研究³⁾ が実施されて来た。

最近ソ連においてはソバの倍数性に関する各種の実験^{4,5,6,7,12,13)} が積極的に進められているが、いまだ実用的な品種育成には至っていないようである。1967年に MARSHALL, H. G.⁸⁾ がアメリカで4倍品種“Pennquad”を育成し、品種登録を行ったのが唯一の実用例であるが、稔性などの点で問題は残されている。

筆者らも1970年より継続しているソバの育種および栽培技術に関する一連の基礎的研究の一部として、人為倍数体利用による多収性品種の育成の試みを実施しており、1976年4月にコルヒチン処理により普通ソバの人為同質4倍体を誘起し、現在処理後4代目(C₄)を養成している。ここでは主として倍数体の誘起経過ならびに処理次代(C₂)における諸特性の調査結果についてのべることにする。

II 供試系統および実験方法

供試した普通ソバ *Fagopyrum esculentum* M. は長野県塩尻市片丘産の在来系統であり、1976年にコルヒチン濃度0.3%、15°Cで48時間の条件で種子を浸漬した。処理後約30分間流水にて水洗したのち、素焼鉢に播種した。C₁(処理当代)以降の各世代における染色体数は、幼葉先端の分裂細胞および花粉母細胞(PMC)の第一分裂中期分裂像の観察によって確認した。なお、固定はすべてファーナー氏液により行い、フォイルゲン法および酢酸カーミン液により染色後おしつぶし法にて標本を作成し検鏡した。染色体倍加個体の確認あるいは後代の養成方法などについては次項の育成経過においてのべるので省略した。

III 実験結果および考察

1 人為同質4倍体の育成経過

処理当代におけるコルヒチンの影響は生育に伴って顕著になり、まず胚軸や子葉が肥厚し、個体によっては生育がいちじるしく遅延し、枯死する場合もみられた。開花まで到達した個体のうち Fig. 5 に示したように花弁が大型化し、先端が鈍頭化したものが出現したが、その花房の PMC の検鏡の結果すべて染色体数は倍加しており、野口ら³⁾ の報告とよく一致していた。このような花弁の鈍頭化と染色体倍加との関係をもとにして処理当代における倍数体個体の判定を行った。

Table 1. Relation between seedling thickness after colchicine treatment and chromosome doubling in buckwheat.

Degree of thickness*	No. of plants observed	No. of plants survived	No. of tetraploid plants	% of tetraploid plants induced
±	46	46	1	2.2
+	23	22	16	72.2
++	27	24	22	91.6
+++	42	18	7	38.9
Total	138	110	46	41.8

* : ±=normal, +++=very strong

Table 1 は処理したもののうち任意の138個体について幼植物の肥厚の程度を記録し、倍数体出現率との関係をみたものであるが、明らかに肥厚程度に比例して倍数体は増加し、中程度の肥厚で最も高い値を示し、強度の肥厚では逆に出現率が低下している。いずれにしても、処理後の生存個体数の約40%の効率で倍加個体を得ることができ、これまでの他の例^{2,3)} にくらべ明かに高い出現頻度であった。

染色体数の観察ならびに花弁の鈍頭化によって判定した処理当代の倍加個体は同一場所に隔離し、長花柱および短花柱個体間の放任受粉により結実した種子を次代 (C₂) 種子とした。

処理次代における4倍体の確認は可能なかぎり染色体数の観察によって行ったが、さきにもべた花弁の鈍頭化や茎葉の形態など明かに2倍体と区別が可能であったので、外部形態によって判定した場合もある。なお、処理当代ではキメラの状態では2倍体と倍数体が混在していることがあるが、本処理の次代においても2倍体と思われるものを若干含んでいたが、これらはすべて除去した。

2 細胞学的観察

2倍体の体細胞染色体数は Fig. 1 に示したようにすべて $2n=16$ で、また、PMC の第一分裂中期においては8個のII価染色体の対合が観察された (Fig. 2)。一方人為的に誘起された倍数体の後代では $4x$ の他に $3x$ あるいは異数体なども出現することが他の多くの作

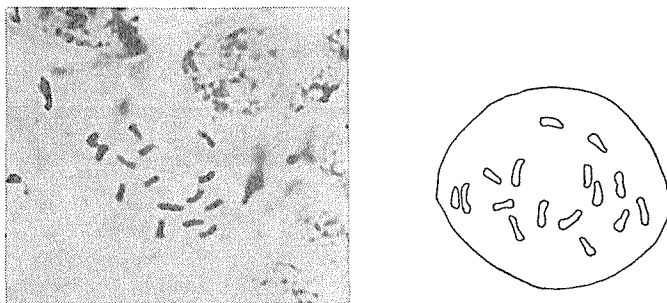


Fig. 1. Somatic plates in leaf bud cells of diploids ($2n=16$). Ca. $\times 2000$

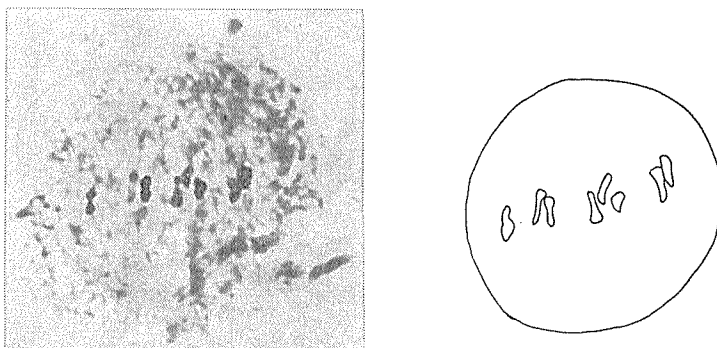


Fig. 2. First metaphase plates in PMC of diploids ($8II$). Ca. $\times 1500$

Table 2. Chromosome configuration and their frequencies in MI of diploid and tetraploid buckwheat.

Diploid		Tetraploid	
Chromosome configuration	No. of cells	Chromosome configuration	No. of cells
$8II$	20	$16II$	18
		$15II + 2I$	3
		$14II + 1IV$	4
		$14II + 1III + 1I$	2
Total	20		27

物で報告されているが、本実験の処理次代においては倍加個体の一部において観察されたにすぎない。異数体の一例を Fig. 3 に示した。なお、3倍体個体は観察されなかった。

C_2 世代における PMC の第一分裂中期の染色体構成は Table 2 にみられるように、約30%の細胞に I 価、III 価および IV 価を含む以外はすべて II 価染色体の対合を示した (Fig. 4)。減数分裂期以降の花粉4分子形成はほぼ正常であり、150細胞中わずか1.3%の割合で小核の形成がみられた。

人為的に誘起された同質4倍体は通常、種子稔性の著しい低下を伴うものであり、このことが、倍数化による実用品種育成の際の大きな障害となっている。このような稔性の低下は I 価や多価対合などによる減数分裂期の染色体の異常行動に基因する場合^{9, 10, 11}が多いと

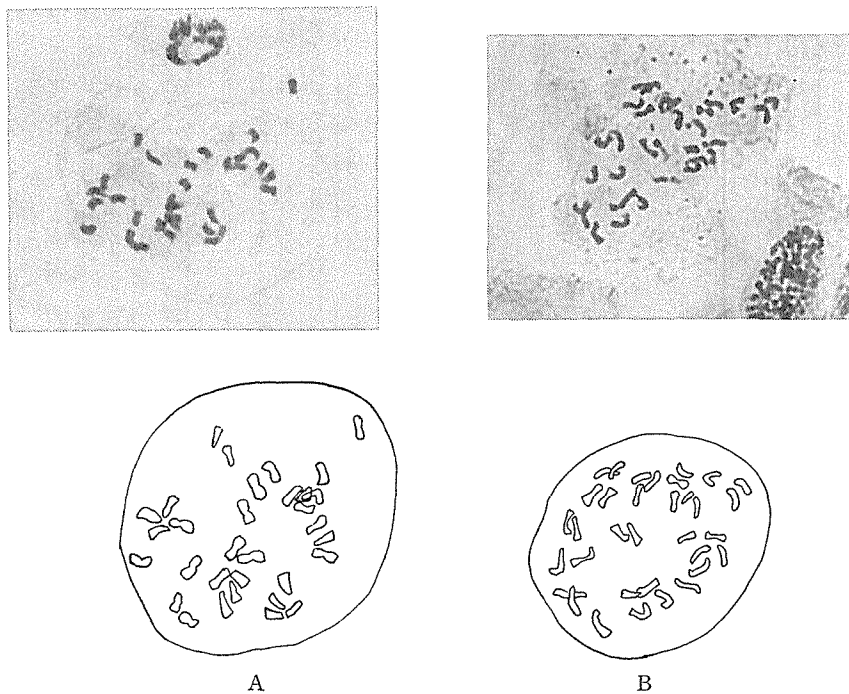


Fig. 3. Somatic plates in leaf bud cells of autotetraploids ($2n=32$) and aneuploids ($2n=34$)

A: autotetraploid, B: aneuploid. Ca. $\times 2000$

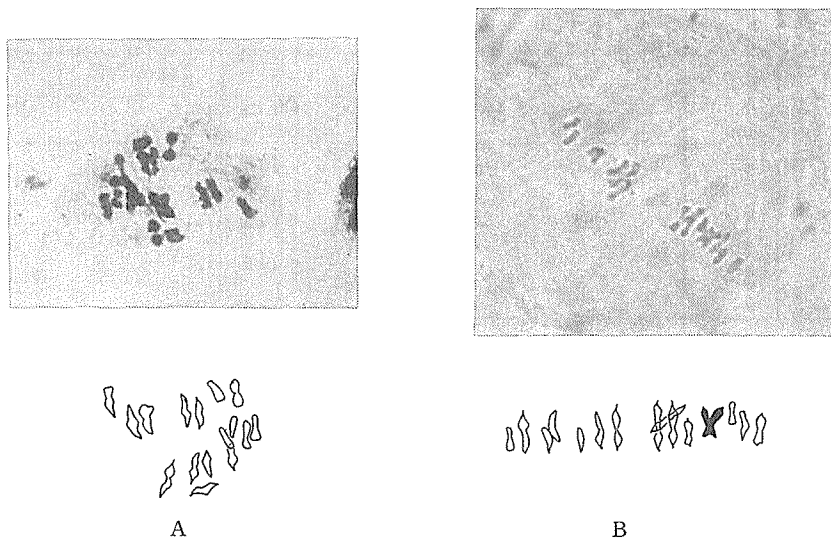


Fig. 4. First metaphase plates in PMC of autotetraploids.

A: 16II , B: $14\text{II} + \text{I IV}$. Ca. $\times 1500$

されているが、本実験における観察の結果では、上述のごとく約70%の細胞において、また全染色体の90%以上がII価対合をすることが明かとなり、後でのべる種子稔性の結果との関

係を考えると大変興味ある事実と思われる。このことに関連して、最近ソ連の TKACHEV, A. T¹²⁾ も普通ソバの人為4倍体において95%以上の染色体がII価対合することを報告している。また、AASTVEIT, K.¹³⁾ は10年以上ライ麦の人為同質4倍体の稔性向上に関する研究を続けており、稔性について選抜した系統では約75%の細胞においてII価の対合を確認している。さらに、ROSEWEIR, J.¹⁰⁾ らはライ麦の人為4倍体の後代におけるキアズマ頻度とIV価染色体の出現とは正の相関があり、種子稔性はIV価の頻度とともに高くなることを明らかにしているが、いずれにしても、人為倍数体の稔性の向上には、II価やIV価染色体の対合に基づく規則的な染色体分離が不可欠な条件の一つと云えよう。このようなキアズマ頻度あるいはII価染色体の形成は、遺伝的な支配を受けることが指摘されていることから、筆者らのソバの同質4倍体における高稔性系統の選抜の可能性は高いものと推察される。

3 同質4倍体の主要諸特性について

誘起された同質4倍体の処理次代(C₂)における生理、形態的諸特性を原種2倍体と比較した結果を Table 3 に示した。まず50%の個体が開花する迄の日数すなわち早晚性についてみると、4倍体では約1日遅延したにすぎず、一般的に云われている倍数化に伴う生育の遅延は軽微であった。次に主要外部形態についてみると、葉数、主茎の節数、分枝数、気孔の孔辺細胞の長さおよび花粉粒の大きさなどは一般的な同質4倍体にみられるように大型化する傾向を示した。特に気孔の孔辺細胞では4倍体では原種の約1.5倍にも達し、また花粉粒では15~20%増大した。参考までに、小花の巨大化と鈍頭化の状態および短花柱花個体の花粉粒の比較を Fig. 5 および6 に示した。一方、草丈、花房数あるいは花房当りの小花数などについては2倍体にくらべ若干減少する傾向がみられた。さらに、葉肉の厚さや茎の硬度は明らかに倍加にとまって増大することも認められた。

Table 3. Comparison of some characters of diploid and tetraploid buckwheat.

Characters	Diploid	Tetraploid
No. of days from sowing to 50% flowering*	31.5	32.3
Plant height (cm)*	44.0	41.7
No. of node*	9.3	10.8
No. of branch*	0.9	1.4
No. of flower cluster*	4.0	3.9
No. of florets per cluster*	31.6	24.0
Guard cell length of stoma (μ)**	38.5	60.4
Pollen grain length (μ)**		
(short style plant)	57.6	72.4
(long style plant)	41.3	50.4
% of pollen fertility***	97.2	79.5

* : Average values of 30 plants

** : Average values of 25 cells and grains

*** : Average values of about 2000 grains

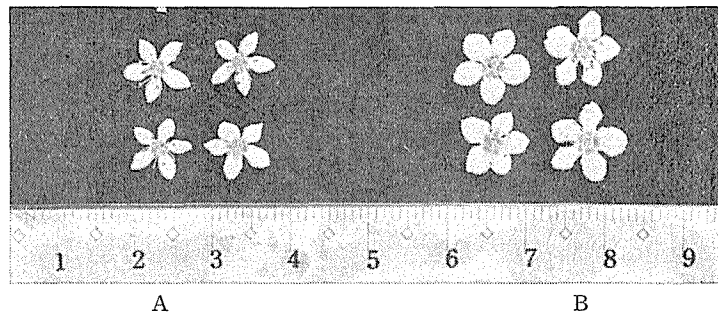


Fig. 5. Comparison of flowers.
A: diploids. B: tetraploids

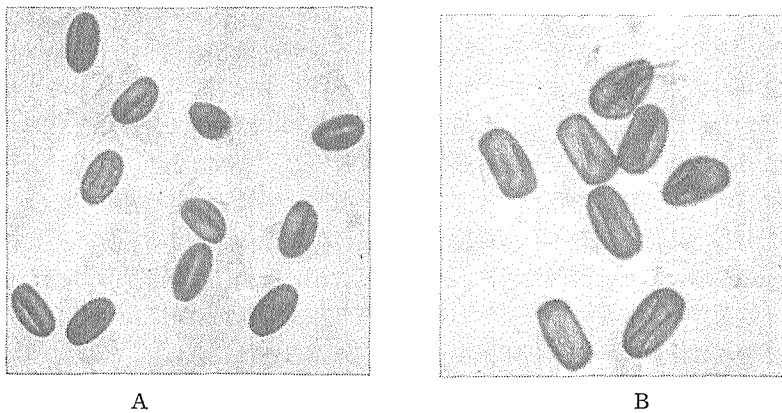


Fig. 6. Comparison of pollen grains (short style plants).
A: diploids. B: tetraploids. Ca. $\times 100$

4 同質4倍体の花粉および種子稔性について

これまでも若干ふれて来たように、種実生産を目標とする人為同質4倍体の育成に際しては、受精、結実の良否は重要な問題である。そこで、本実験においても処理次代の花粉稔性ならびに種子稔性について観察を実施し Table 4 に示すような結果を得た。花粉稔性は酢酸カーミンによる染分けにより判定し、また、種子稔性は完熟種子の着粒率によった。受精の有無は果皮が肉眼的に確認できる大きさ以上に発達したものを受精とみなした。

Table 4. Comparison of fertilization and seed set in diploid and tetraploid buckwheat.

Ploidy	No. of florets observed	No. of florets fertilized	% of florets fertilized	No. of seed set	% of seed set*
Diploid	3172	992	31.27	445	14.02
Tetraploid	2870	1049	36.55	373	13.00

*: % of seed set to florets

花粉稔性についてみると、2倍体では90%以上が形態的に正常であり、十分な稔性をもつものと推察されたが、4倍体では若干低く、67%から97%の範囲の個体変異を示すことが明らかとなった。小花当りの受精率は2倍体の31.3%に対し4倍体では36.5%と云う値を示し明かに増大した。しかし、開花小花数に対する結実率は2倍体の14%に対し4倍体では13%であり、殆んど差はなかった。

5 同質4倍体の種実の形状について

4倍体の種実の形状は Fig. 7 に示す通りであり、2倍体にくらべかなり巨大化することが認められた。大きさについてみると粒長で約25%、粒巾では約14%増大した。また、粒重については平均して4倍体では約50%増加していることが明らかとなった (Table 5)。

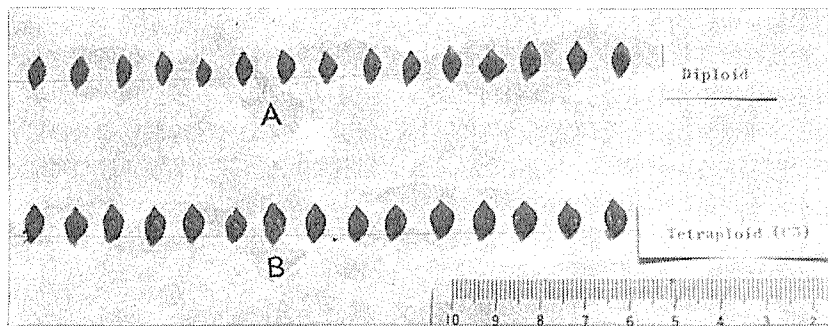


Fig. 7. Comparison of seed size.
A: diploids. B: tetraploids.

Table 5. Comparison of seed characters in diploid and tetraploid buckwheat.

Ploidy	Seed size (mm)*		Seed weight (mg)*
	length	width	
Diploid	6.06	4.13	2.76
Tetraploid	7.57	5.70	3.96

* : Average values of 20 grains.

以上のべて来たような普通ソバの人為同質4倍体の諸特性のうち、直接種実生産と関係をもつ種実の増大、細胞学的諸特性あるいは種子稔性など、従来の同質4倍体にみられないような有利な点を具えていることから、多収性系統の選抜は十分可能と考えられ、原系統の再検討あるいは採種方法の確立など残された問題は多いが、普通ソバにおける多収性育種法の一つとしての人為同質4倍体の利用は再度考慮されるべき手法と云えよう。

摘 要

1 1976年に普通ソバ (*Fagopyrum esculentum* M) の在来系統(長野県片岡産)のホルヒチン処理によって誘起した人為同質4倍体の次代(C₂)における細胞学的ならびに生理, 形態的諸特性について観察を行った。

2 コルヒチン濃度0.3%, 15°Cで48時間種子浸漬を行った結果, 約40%の効率で同質4倍体を誘起した。

3 同質4倍体のPMC 第一分裂中期の染色体対合は約70%の細胞および90%以上の染色体においてII価染色体の対合が観察され, I価や多価染色体の対合の頻度は少なかった。

4 同質4倍体の外部形態を2倍体と比較した結果, 明らかな巨大化を示し, とくに気孔の孔辺細胞や花粉粒は著るしく増大した。

5 花粉稔性は4倍化に伴って低下したが, 受精あるいは結実率は2倍体と大差なく, また, 4倍体の種実の大きさは2倍体の14~25%, 粒重は約50%それぞれ増大した。

6 普通ソバにおける人為同質4倍体の諸特性のうち, 減数分裂におけるII価染色体の対合, 種実の稔性あるいは種実の大型化など倍数体利用による多収性品種育成の可能性を示唆する結果を得た。

引用文献

- 1) SANDO, W.J. (1935) A colchicine induced tetraploid in buckwheat. J. Heredity **30** : 271—272
- 2) 篠遠喜人, 佐藤重平 (1939) コルヒチン法によるソバの倍数体 植物及動物 **7** : 1398—1402
- 3) 野口弥吉, 菅原友太 (1942) 蕎麦及び向日葵同質倍数性の育種の価値 科学 **12** : 42—46
- 4) PRIEZZEV, G.V. (1971) Increasing yield in tetraploid buckwheat. Rep. Timirijazev agric. Acad. **161** : 191—194 (Cited from Plant Breed. Abst. **41** : 7336)*
- 5) LAPINSKI, M. (1970) Methods of production and identification of autotetraploid forms of buckwheat (*Fagopyrum sagittatum* Gilib). Zeszyty Naukowe, Wyzsza Szkola Rolnicza w Szczecinie, Rolnictwo **32** : 201—215 (Cited from Plant Breed. Abst. **42** : 2250)*
- 6) DOROFEEVA, A.M. (1973) The problem of breeding tetraploid buckwheat. Referativnyi Zhurnal **7**, 55, 131 (Cited from Plant Breed. Abst. **45** : 8285)*
- 7) ZAKHAROV, N.V. (1975) Obtaining polyploid *Fagopyrum tataricum* by colchicine treatment in a vacuum. In Voprosy intensifikatsii Sel'skokhozyaistvennogo proizvodstva. Moscow 122—125 (Cited from Plant Breed. Abst. **46** : 2464)*
- 8) MARSHALL, H.G. (1967) Registration of Pennquad buckwheat. Crop Sci. **7** : 400
- 9) MORRISON, J.W. and T. RAJHATHY (1960) Frequency of quadrivalents in autotetraploid plants. Nature **187** : 528—530
- 10) ROSEWEIR, J. and H. REES (1962) Fertility and chromosome pairing in autotetraploid rye. Nature **195** : 203—204
- 11) 真島勇男, 内山田博士 (1955) 高稔性4倍体稲の育成に関する研究 農技研報告 **D, 5** : 104—136

- 12) ТКАЧЕВ, А.Т. (1976) Study of fertility and the nature of chromosome pairing in two populations of autotetraploid buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench.). In Biologicheskie osnovy povysheniya urozhainosti sel'skokhozyaistvennykh kul'tur. Moscow 81—83 (Cited from Plant Breed. Abst. 47 : 5442)*
- 13) ААСТВЕИТ, К. (1968) Variation and selection for seed set in tetraploid rye. Hereditas 60 : 294—316

* The authors could not read original paper.

Some Properties of Autotetraploid Buckwheat

By Akio UJIHARA, Toshiko MATANO and Yoshifumi YAMAMOTO

Laboratory of Crop Science and Plant Breeding, Fac. Agric., Shinshu Univ.

Summary

Cytological and morphological properties of autotetraploid buckwheat obtained through colchicine treatment were observed. The results may be summarized as follows ;

1. In 1976, treatment with colchicine to seed were applied to a local variety (KATAOKA) of buckwheat, *Fagopyrum esculentum* M. The authors have succeeded in obtaining about 40 per cent of autotetraploid plants.

2. In the second generaiton (C_2) after treatments, tetraploid showed more vigorous in growth or large size in some morphological characteristics as compared with diploids. The size of guard cell of stoma and pollen grain were about one and a half times and twenty per cent greater, respectively.

3. About 90 per cent of chromosome paired as bivalents in the first metaphase of tetraploid buckwheats, and consequently univalents, trivalents and quadrivalents chromosome pairings were observed rarely. This fact seems to be important with regard to the ability of seed set or grain yield.

4. Seed set of tetraploid was decreased only a few per cent as compared with diploid. But, the seeds from tetraploid plants were greater than those from diploids, about 15 to 20 per cent in size and 40 per cent in weight increased than those in diploids.

From the results described above, we may suppose that the present autotetraploid of buckwheat were useful for breeding materials.