

N-band法(Ag-I法)による二三のシナノグルミ実生の染色体

矢嶋征雄・田中今朝喜・倉島留次郎・庄村 茂・押金健吾

信州大学繊維学部附属農場

これまでの核型分析は、主に根端細胞を用い、分裂周期における中期染色体の数と形により行われてきた。最近では、染色体の中身を考慮して形態をとらえ、染色体の機能に関与した形態を対象とするようになり、染色体の数や形に加え、物質、構造、機能に対応させて研究するようになってきた(5)。木本の果樹類の染色体は、一般に微小である場合が多く、正中期の把握すらむずかしい。また、栄養系で繁殖される場合がほとんどで、挿木のできないものは、生長点や幼葉等の組織を用いざるを得ず、このことも核型分析進展の隘路となってきたことも事実である。

最近栄養繁殖が主流になってきたクルミにおいても同様であり、核板の検鏡も油浸によることがほとんどで、おしつぶし標本の場合、染色体を同一平面としてとらえることもむずかしい。このような染色体でも正確に区別できる特異的な形質を見いだすことができれば、それによって成木でも品種や系統の異同性を確かめることもできるし、突然変異、キメラ、同・異質倍数体の確定もできる。以上のような背景のもとに、本研究は二三のシナノグルミ系統について、エアードライ法とAg-I法を用いた場合における染色体の特徴の検索を試みたものである。

なお、この研究は平成2・3年度文部省科学研究費補助金(一般研究C、研究課題番号02660028)の助成を受けて実施されたものの一部である。

材 料 お よ び 方 法

クルミは現在のところ挿木が不可能なため、先ず鉢植え実生の根端組織を標本作成の材料とした。供試系統名と染色体観察材料の調整方法は第1表のとおりである。また、実生の母樹の概要を以下に記載した。

‘Franquette’はペルシャグルミのなかの一品種であり、シナノグルミの成立に大きく影響したものの一つとされている(3)。¹‘在来種’(No.101b)は本学附属大室農場の前所有者、塚田 茂氏が1932年定植し、維持されてきたものである。²‘豊園’‘豊笑’‘清香’‘要鈴’‘信鈴’‘美鶴’のそれぞれは、長野県東信地方に栽植されていたシナノグルミの個体群のなかから選抜されたもので、³‘信鈴’は、1964年農林省種苗名称登録第168号として登録されたものである。

第1表 供試系統名と材料の調整方法

系 統 名	固定月日・時間	固定組織	前処理方法
Franquette 隣花受粉実生	1991.4/18. 9:20	根端	0.002M Oxin 氷水下4hr
在来種(No.101b) 自然受粉実生	1991.4/18. 9:30	根端	0.002M Oxin 氷水下4hr
豊園 自然受粉実生	1991.4/11. 3:00	根端	—
豊笑 自然受粉実生	1989.8/ 3.10:30	根端	0.002M Oxin 5℃ 4hr
清香 自然受粉実生	1991.4/18. 9:20	根端	0.002M Oxin 氷水下4hr
要鈴 (No.26) 自然受粉実生	1991.4/11. 3:00	根端	—
信鈴 自然受粉実生	1989.8/ 3.10:30	根端	0.002M Oxin 4hr
美鶴 自然受粉実生	1989.9/ 8. 9:00	根端	0.002M Oxin 4hr

固定液は簡易カルノア液 (70% Ethanol 3 : Acetic Acid 1) を使用した。また、固定時間は1時間とした。固定終了後は酢酸匂のなくなるまで70% Ethanol で洗浄し、タンニン質色素が溶出しなくなるまで同液を入れかえてから貯蔵しておき、逐次取りだし供試した。材料の酵素解離の手順は以下に示すとおりである。1.根端の摘出。2.Ethanol シリーズ(70%-50%-30%-15%)を各30分通して蒸留水で一晩侵漬。3.酵素液 (4% CELLULASE ONOZUKA R-10 + 4% PECTOLYASE Y-23, pH4.5 Mcllvain buffer に溶解) 37℃の湯煎で60分間処理。4.蒸留水または pH4.5Mcllvain buffer で一晩洗浄して酵素粒子を完全に除去。5.蒸留水または pH4.5 Mcllvain buffer を捨て、簡易カルノア液(99.5% Ethanol 3 : Acetic Acid 1)で30分ずつ2回再固定。6.材料をピペットで吸いあげてスライドグラスに載せ、柄付き針で軽くつついて細胞を散らし、7.続けて素早く約10cmの真上から簡易カルノア液を1~2滴滴下して細胞を拡散。8.スライドグラスを一晩風乾 (スライドグラスを貯蔵する場合はデシケーターを用いた)。9.30% AgNO₃染色。染色は N-band 法 (Ag-I 法) に準じて実施した。手順は以下のとおりである。

① millipore フィルター(GSWPO 1300)を通した30% AgNO₃液を5~6滴スライドグラスに滴下し、ほぼスライドグラス大に切った200 μ mのナイロンメッシュを気泡が入らぬようにかける。②つついて55℃に加熱した温室中にスライドグラスを水平に並べて入れ、9分間処理。③スライドグラスを一枚ずつ取りだし、洗浄ピンを用いてナイロンメッシュとともに AgNO₃液を流してから蒸留水で1時間水洗。④2% Giemsa 液にて5秒染色。⑤蒸留水で1時間水洗。⑥スライドグラスを取りだして一晩風乾。⑦翌日カナダバルサムで封入、乾固させて検鏡。

調査のうち染色体数は、最多核板数を示した染色体数をもってその個体の染色体数とした。核型は篠遠の核型の表わし方 II. B(4)に準処し、染色体のよく広がった中期の核板を選んで個々の染色体長を計り、染色体長の最大から最大の1/2までをA、つぎのものからその1/2までをB、以下をCの組として形態的特徴も加味して配列した。

結 果

各系統の染色体数の調査結果を第2表に示した。最多核板数を示した染色体数をもってその系統の染色体数としたが、調査8系統の全てが $2n=32(2x)$ であった。

第3表には染色体長の測定結果にもとづき、その長い順に表示し、個々の合計値を全長としてその比も算出して示した。また第4表はその結果を取りまとめたものである。

第2表 供試系統の染色体数

系 統 名 (No.)	供試組織	染 色 体 数						合計
		29	30	31	32	33	34	
Franquette 隣花受粉実生	根端			1	21			22
在来種(No.101b) 自然受粉実生	根端				16	1		17
豊園 自然受粉実生	根端				21	2		23
豊笑 自然受粉実生	根端				8			8
清香 自然受粉実生	根端				12			12
要鈴 (No.26) 自然受粉実生	根端		1		14	1		16
信鈴 自然受粉実生	根端				18	1		19
美鶴 自然受粉実生	根端				23			23

Franquette 隣家受粉実生の最大染色体長は $3.96\mu\text{m}$ 、最小染色体長は $0.99\mu\text{m}$ で、平均染色体長は $2.32\pm 0.83\mu\text{m}$ であった。染色体の全長は $74.3\mu\text{m}$ あり、全長に対する最大染色体の比は5.3%で、最小染色体は1.3%あった。核型は $2n=32=25A+7B$ と表わされた。調査各系統の idiogram を第1図a～iに示し、特徴を第6表にまとめて示した。Franquette 隣家受粉実生の場合、第1図aに示すとおり、第III染色体のNo.5,6と第IX染色体のNo.18がi形で、狭窄を持つ染色体が3本観察された。

在来種(No.101b) 自然受粉実生の最大染色体長は $3.96\mu\text{m}$ 、最小は $0.99\mu\text{m}$ で、平均染色体長は $2.31\pm 0.64\mu\text{m}$ であった。全長は $73.9\mu\text{m}$ あり、全長に対する最大染色体の比は5.4%で、最小染色体は1.3%あった。核型は $2n=32=27A+5B$ と示された。この実生の場合、第I染色体のNo.1およびNo.2がi形であった(第1図b)。

豊園 自然受粉実生の最大染色体長は $4.49\mu\text{m}$ 、最小染色体長は $0.99\mu\text{m}$ で、平均染色体長は $2.31\pm 0.87\mu\text{m}$ であった。全長は $73.9\mu\text{m}$ あり、最大染色体の比は6.1%で最小染色体は1.3%あった。核型は $2n=32=16A+15B+1C$ と示された。この実生は、第V染色体のNo.10および第VI染色体のNo.11と第XI染色体のNo.21がi形で、第VI染色体のNo.12は亜鈴形であった(第1図c)。

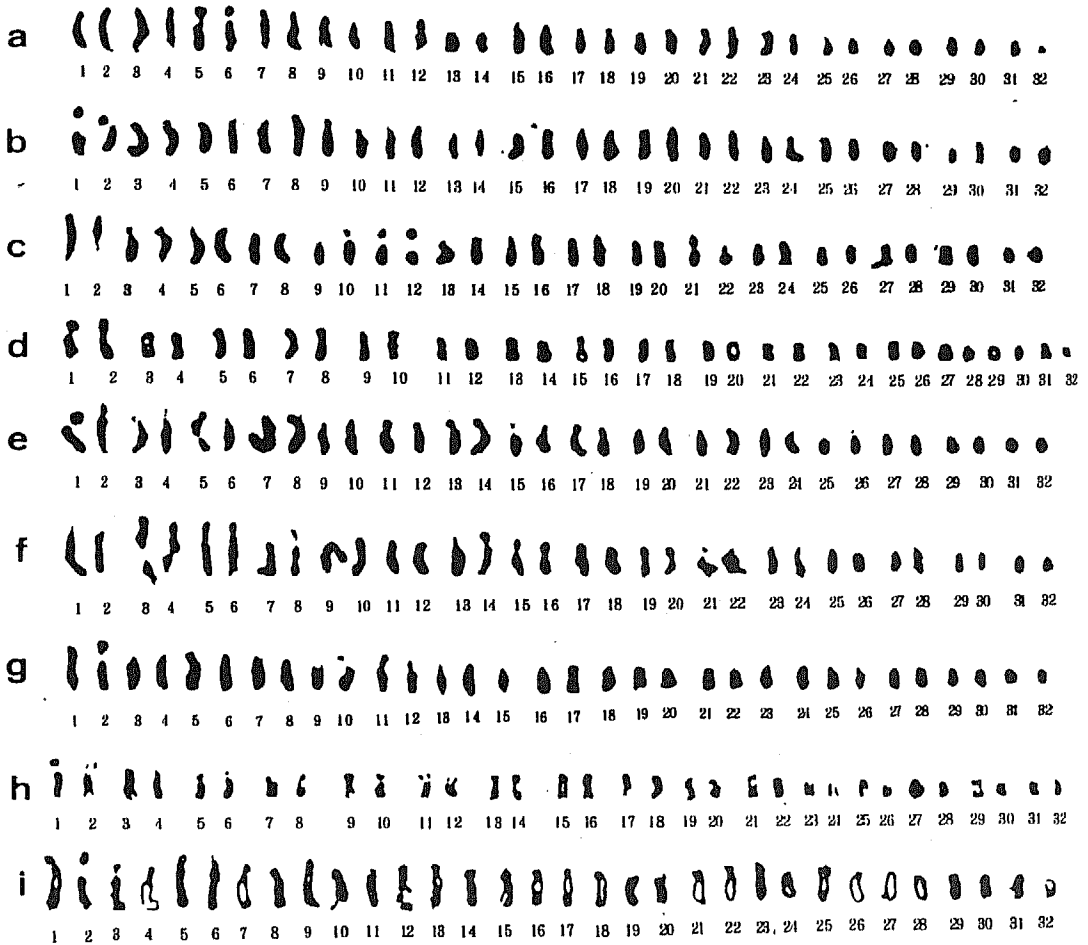
第3表 調査系統のAg-I法による染色体長

系統名	項目	I		II		III		IV		V		VI		VII		VIII	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Franquette 磷花受粉実生	長さ	3.47	3.96	3.96	3.96	2.97	2.97	2.97	2.97	2.97	2.97	2.48	2.48	2.97	2.48	1.98	1.98
	比	4.7	5.3	5.3	5.3	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	3.3	3.3	4.0	3.3	2.7	2.7
在来種(Na101b) 自然受粉実生	長さ	3.96	3.47	2.97	2.97	2.97	2.97	2.97	2.97	2.97	2.48	2.48	2.48	2.48	2.48	2.28	2.28
	比	5.4	4.7	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	3.4	3.4	3.4	3.4	3.4	3.1	3.1
豊園自然受粉実生	長さ	4.46	4.49	3.47	3.47	3.27	2.97	2.97	2.97	2.97	2.48	2.48	2.48	2.48	2.48	2.28	2.28
	比	6.0	6.1	4.7	4.7	4.4	4.0	4.0	4.0	4.0	3.4	3.4	3.4	3.4	3.4	3.1	3.1
豊笑自然受粉実生	長さ	2.67	2.38	1.90	1.90	1.90	1.90	1.90	1.90	1.90	1.90	1.43	1.43	1.43	1.43	1.43	1.43
	比	5.8	5.1	4.1	4.1	4.1	4.1	4.1	4.1	4.1	4.1	3.1	3.1	3.1	3.1	3.1	3.1
清香自然受粉実生	長さ	4.46	4.46	3.96	3.96	3.96	3.47	3.96	3.47	3.47	3.47	2.97	2.97	2.97	2.97	3.47	2.97
	比	5.0	5.0	4.4	4.4	4.4	3.9	4.4	3.9	3.9	3.9	3.3	3.3	3.3	3.3	3.9	3.3
要鈴(Na26) 自然受粉実生	長さ	3.97	3.97	4.47	3.97	3.97	3.97	3.47	3.27	3.47	2.98	2.98	2.98	2.98	2.48	2.48	2.48
	比	4.8	4.8	5.4	4.8	4.8	4.8	4.2	3.9	4.2	3.6	3.6	3.6	3.6	3.0	3.0	3.0
信鈴自然受粉実生	長さ	4.76	4.76	2.85	2.85	2.38	2.38	2.86	2.86	2.38	2.38	2.85	2.38	2.38	2.38	2.38	2.38
	比	6.7	6.7	4.0	4.0	3.4	3.4	4.0	4.0	3.4	3.4	4.0	3.4	3.4	3.4	3.4	3.4
美鶴自然受粉実生	長さ	2.86	2.86	2.38	1.90	1.90	1.90	1.90	1.90	1.90	1.90	1.90	1.90	1.90	1.90	1.71	1.90
	比	5.1	5.1	4.2	3.4	3.4	3.4	3.4	3.4	3.4	3.4	3.4	3.4	3.4	3.4	3.0	3.4

IX		X		XI		XII		XIII		XIV		XV		XVI		全長	平均染色体長(μm)
17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32		
1.98	1.98	1.98	1.98	1.98	1.98	1.98	1.98	1.98	1.49	1.49	1.49	0.99	0.99	0.99	0.99	74.3(μm) 100.1(%)	2.32±0.83
2.7	2.7	2.7	2.7	2.7	2.7	2.7	2.7	2.7	2.0	2.0	2.0	1.3	1.3	1.3	1.3		
1.98	1.98	1.98	1.98	1.98	1.98	1.98	1.98	1.98	1.98	1.49	1.49	1.49	1.98	1.49	0.99	73.9(μm) 100.3(%)	2.31±0.64
2.7	2.7	2.7	2.7	2.7	2.7	2.7	2.7	2.7	2.7	2.0	2.0	2.0	2.7	2.0	1.3		
1.99	1.99	1.98	1.99	1.99	1.68	1.78	1.49	1.49	1.49	1.39	1.49	1.39	1.29	1.49	0.99	73.9(μm) 100.2(%)	2.31±0.87
2.7	2.7	2.7	2.7	2.7	2.3	2.4	2.0	2.0	2.0	1.9	2.0	1.9	1.8	2.0	1.3		
1.43	1.24	1.24	1.33	1.14	1.05	1.14	1.05	1.05	1.05	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	46.3(μm) 100.5(%)	1.45±0.46
3.1	2.7	2.7	2.9	2.5	2.3	2.5	2.3	2.3	2.3	2.1	2.1	2.1	2.1	2.1	2.1		
2.97	2.48	2.97	2.97	2.97	1.98	1.98	1.98	1.98	1.98	1.98	1.98	1.49	0.99	0.99	0.99	89.6(μm) 100.0(%)	2.80±0.96
3.3	2.8	3.3	3.3	3.3	2.2	2.2	2.2	2.2	2.2	2.2	2.2	1.7	1.1	1.1	1.1		
1.98	1.98	1.98	1.98	1.98	1.98	1.98	1.98	1.98	1.49	1.78	1.98	1.98	1.98	1.49	0.99	83.4(μm) 100.8(%)	2.61±0.90
2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	1.8	2.1	2.4	2.4	2.4	1.8	1.2		
2.38	1.90	1.90	1.43	1.43	1.43	1.43	1.43	1.90	1.90	1.90	1.90	1.43	1.43	0.95	0.95	70.9(μm) 100.2(%)	2.22±0.86
3.4	2.7	2.7	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.7	2.7	2.7	2.7	2.0	2.0	1.3	1.3		
1.90	1.90	1.90	1.90	1.90	1.43	1.43	1.43	1.43	1.43	1.14	1.14	1.05	1.05	1.05	1.14	56.2(μm) 100.6(%)	1.76±0.43
3.4	3.4	3.4	3.4	3.4	2.6	2.6	2.6	2.6	2.6	2.0	2.0	1.9	1.9	2.0	2.0		

豊笑自然受粉実生における最大染色体長は2.67μm、最小は0.95μmで、平均は1.45±0.46μmであった。全長は46.3μmで調査系統のなかでもっとも短かった。最大染色体の比は5.8%で、最小染色体は2.1%あった。核型は2n=32=17A+15Bと示され、この実生の染色体は第I染色体のNo.1がi形であった(第1図d)。

清香自然受粉実生の最大染色体長は4.46μmで、最小は0.99μmであった。32本の平均染色体長は2.80±0.96μmで他の系統より大きかった。全長も89.6μmで長かった。最大染色体の比は5.0%で、最小染色体は1.1%あった。核型は2n=32=21A+11Bと示され、この実生の染色体も第



第1図 調査系統のidiogram

- | | |
|----------------------|--------------------------------|
| a : Franquette隣花受粉実生 | b : 在来種 (No.101b) 自然受粉実生 |
| c : 豊園自然受粉実生 | d : 豊笑自然受粉実生 |
| e : 清香自然受粉実生 | f : 要鈴 (No.26) 自然受粉実生 |
| g : 信鈴自然受粉実生 | h : 美鶴 (No.552) 自然受粉実生 |
| i : 美鶴 (No.552) 樹 | (注) a ~ h : 根端細胞, i : 生長点付近の細胞 |

I染色体の No.1 が i 形であった (第1図 e)。

要鈴 (No.26) 自然受粉実生の最大染色体長は $4.47\mu\text{m}$ で、最小は $0.99\mu\text{m}$ であった。平均は $2.61\pm 0.90\mu\text{m}$ であった。全長は $83.4\mu\text{m}$ であり、最大の比は5.4%、最小は1.2%あった。核型は $2n=32=16A+16B$ と示され、この系統は第VII染色体の No.14が i 形であった (第1図 f)。

信鈴自然受粉実生における最大染色体長は $4.76\mu\text{m}$ あり、調査系統のなかで最も大形で、最小は $0.95\mu\text{m}$ であった。平均染色体長は $2.22\pm 0.86\mu\text{m}$ であった。全長は $70.9\mu\text{m}$ あり、全長に対する

第4表 調査系統の染色体

系 統 名 (No.)	染色体 数(2n)	染色体長 (μm)				核 型
		最大	最小	平均	全長	
Franquette隣花受粉実生	32	3.96	0.99	2.32 ± 0.83	74.3	$2n=32= 25A+7B$
在来種(No.101b)自然受粉実生	32	3.96	0.99	2.31 ± 0.64	73.9	$2n=32= 27A+5B$
豊園 自然受粉実生	32	4.49	0.99	2.31 ± 0.87	73.9	$2n=32= 16A+15B+1C$
豊笑 自然受粉実生	32	2.67	0.95	1.45 ± 0.46	46.3	$2n=32= 17A+15B$
清香 自然受粉実生	32	4.46	0.99	2.80 ± 0.96	89.6	$2n=32= 21A+11B$
要鈴 (No.26)自然受粉実生	32	4.47	0.99	2.61 ± 0.90	83.4	$2n=32= 16A+16B$
信鈴 自然受粉実生	32	4.76	0.95	2.22 ± 0.86	70.9	$2n=32= 17A+15B$
美鶴 自然受粉実生	32	2.86	1.05	1.76 ± 0.43	56.2	$2n=32= 27A+ 5B$

最大染色体の比は6.7%で最小染色体は1.3%あった。核型は $2n=32=17A+15B$ と示され、この実生は第I染色体のNo.2がi形であった(第1図g)。

美鶴自然受粉実生の場合、最大染色体長が $2.86\mu\text{m}$ で調査系統のなかで最も小形であり、最小は $1.05\mu\text{m}$ で最も大きかった。平均染色体長は $1.76 \pm 0.43\mu\text{m}$ であった。染色体の全長は $56.2\mu\text{m}$ あり、最大の比は5.1%で最小は1.9%あった。核型は $2n=32=27A+5B$ と示され、この実生は第I染色体のNo.1がi形で、No.2は角(seta)形であった。また、第III染色体のNo.5、6と第VのNo.10はi形で、第VI染色体のNo.11,12も角形であった(第1図h)。

参考までに、この実生の母樹である美鶴(No.552)樹の生長点細胞25核板における個々の染色体の信頼限界を求めて第5表に示した。それによると、母樹の最大染色体は、 $4.169 \geq \mu \geq 3.491 * \mu\text{m}$ を示し、美鶴自然受粉実生より大きく、最小が $1.160 \geq \mu \geq 0.980 * \mu\text{m}$ であり、実生の最小は信頼限界内にあった。母樹の平均染色体長は $2.390 \geq \mu \geq 1.703 * \mu\text{m}$ の範囲にあり、美鶴自然受粉実生は母樹の信頼限界内に位置していた。美鶴母樹のこれよりもとめた核型は、 $2n=32=20A+12B$ となり、A組みの染色体長は $4.169 \geq \mu \geq 3.491 * \sim 2.117 \geq \mu \geq 1.783 * \mu\text{m}$ で、B組みは $2.071 \geq \mu \geq 1.708 * \sim 1.160 \geq \mu \geq 0.980 * \mu\text{m}(*95\%)$ であった(第1図i)。

考 察

遺伝物質の担い手である染色体は、生物の種類により様々な形態をとることが従来から知られ、染色体あるいはゲノムの形態および行動は、種・品種・系統の分化成立に密接な関連を持ち、形質発現の役割を担っている。果樹類のなかにはヒトの世代をこえて栽培されるものもあり、加えて栄養系で繁殖されることが多く、染色体の形態による分類、同定技術の確立は育種研究のみな

第5表 美鶴 (No.552) 樹各染色体の信頼限界

品 種	供試 組織	I		II		III		IV		V	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
美 鶴 (No.552)	頂芽	4.169	3.512	3.519	3.265	3.145	3.104	2.982	2.984	2.866	2.782
		$\geq \mu \geq$	$\geq \mu \geq$	$\geq \mu \geq$	$\geq \mu \geq$	$\geq \mu \geq$	$\geq \mu \geq$	$\geq \mu \geq$	$\geq \mu \geq$	$\geq \mu \geq$	$\geq \mu \geq$
		3.491*	2.835*	2.941*	2.795*	2.675*	2.616*	2.539*	2.496*	2.414*	2.339*

VI		VII		VIII		IX		X		XI	
11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
2.755	2.526	2.421	2.420	2.307	2.258	2.273	2.270	2.182	2.117	2.071	2.044
$\geq \mu \geq$	$\geq \mu \geq$	$\geq \mu \geq$	$\geq \mu \geq$	$\geq \mu \geq$	$\geq \mu \geq$	$\geq \mu \geq$	$\geq \mu \geq$	$\geq \mu \geq$	$\geq \mu \geq$	$\geq \mu \geq$	$\geq \mu \geq$
2.285*	2.074*	2.059*	2.040*	1.973*	1.942*	1.947*	1.890*	1.838*	1.783*	1.708*	1.656*

XII		XIII		XIV		XV		XVI		平均染色 体長 (μm)
23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	
2.029	1.958	1.853	1.807	1.688	1.604	1.546	1.451	1.426	1.160	2.390 $\geq \mu \geq$ 1.703*
$\geq \mu \geq$	$\geq \mu \geq$	$\geq \mu \geq$	$\geq \mu \geq$	$\geq \mu \geq$	$\geq \mu \geq$	$\geq \mu \geq$	$\geq \mu \geq$	$\geq \mu \geq$	$\geq \mu \geq$	
1.631*	1.542*	1.527*	1.473*	1.372*	1.296*	1.274*	1.189*	1.154*	0.980*	

核 型	
$2n=32=20A+12B$	
$A=4.169 \geq \mu \geq 3.491^* \sim 2.117 \geq \mu \geq 1.783^* +$	
$B=2.071 \geq \mu \geq 1.708^* \sim 1.160 \geq \mu \geq 0.980^* \mu\text{m}$	
(* 95%)	

らず、種・品種・系統の分化成立の検討や、さらには同名異種、異名同種等の同定にも役立てることができる。木本の染色体は、一般に微小なものが多く、このような染色体をより詳細に観察するために植物細胞特有の細胞壁を除去し、染色体を裸出させる方法がより効果的であることが知られている(2)(6)(7)。

本実験では2種類の酵素を用いて実施したが、pH4.5のMcIlvain bufferに4% CELLULASE ONOZUKA R-10と4% PECTOLYASE Y-23を氷水下で溶解し、管ビンに分注して凍結保存しておき、使用直前に室温で解凍して用いた場合、根端組織で37°C 60分、二次生長芽で90分の処理である程度裸出が可能であった。

N-band 法は仁形成部を特異的に染めだす方法として開発され(1)、多くの動植物で仁形成部

第6表 調査系統における染色体の特徴

系 統 名 (No.)	i または 歪鈴形染色体			そ の 他		
	形	位 置	数	形	位 置	数
Franquette隣花受粉実生	i	III-5,6, IX-18	3			
在来種 (No.101b) 自然受粉実生	i	I-1,2	2			
豊園 自然受粉実生	i	V-10, VI-11, X I-21	3			
		歪鈴 VI-12	1			
豊笑 自然受粉実生	i	I-1	1			
清香 自然受粉実生	i	I-1	1			
要鈴 (No.26) 自然受粉実生	i	VII-14	1			
信鈴 自然受粉実生	i	I-2	1			
美鶴 自然受粉実生	i	I-1, III-5,6, V-10	4	角	I-2, VI-11, 12	3

の推定が試みられている。クルミ染色体においてもこの方法により直ちに仁形成部を特異的に分染するかどうかは解らないが、エアードライをしたプレパラートを用い、30%のAgNO₃滴下し、約55℃の湿室で9分処理をしてから2%Giemsa液で5秒間染色することにより、個々の染色体を同一平面として観察することができ、数の算定と、一部ではあるが特徴を持った染色体を見いだすことができた。なかでも、調査したほとんどの系統で‘i’または‘歪鈴形’の狭窄のはっきりとした染色体が観察され、このことがクルミ染色体の分類の一つの指標になる可能性を示唆する結果であると思われた。また、個々の染色体長の測定もほぼ可能であった。この方法により染色体長を測定した結果、本調査系統の最大染色体は信鈴自然受粉実生の4.76μmで、最大染色体の最小は豊笑自然受粉実生の2.67μmであった。最小染色体はどの系統も1μm程度であった。

平均染色体長では清香自然受粉実生が2.80±0.96μmで他のより大きく、最も小さかったものは豊笑自然受粉実生の1.45±0.46μmであった。詳細な核型を決定するには全ての狭窄の把握が必要である。しかし、本方法では大部分の狭窄を見いだすことができなかつたため、染色体の最大のものからその1/2までをA、つぎのものからその1/2までをB、以下をC組みとして分類した。その結果、在来種 (No.101b) 自然受粉実生と美鶴自然受粉実生は2n=32=27A+5Bと同型となり、豊笑自然受粉実生と信鈴自然受粉実生は2n=32=17A+15Bで、この方法、つまり染色体長の示す核型の範囲内において一致し、両二者とも第I染色体の形態が類似していた。参考までに美鶴自然受粉実生の母樹である美鶴 (No.552) 樹の生長点付近の組織を使い、平均染色体長の範囲を算出して対比すると、美鶴自然受粉実生の平均染色体長は母樹の信頼限界内にあった。両者は同一型を示すものではないが、微小な染色体を保持する場合、複数の核板について、詳細な調査を実施したしうえて決定する必要がある。

摘 要

二三のシナノグルミ実生について、N-band法 (Ag-I法) による染色体の分類を試み、下記に示す結果を得た。

1. 細胞壁の解離に4% CELLULASE ONOZUKA R-10と4% PECTOLYASE Y-23の混合液を用いた場合、根端組織で37°C60分、二次生長芽で37°C90分処理で染色体の裸出が可能であった。
2. Ag-I法による明瞭なバンドの発現はみられなかったが、一部の染色体の形態と数の把握が可能であった。特に狭窄のはっきりとした'i'または'亜鈴形'の染色体が観察され、クルミ染色体の分類の指標になりうる可能性が示唆された。
3. Frnquette 隣家受粉実生の平均染色体長は $2.32 \pm 0.83 \mu\text{m}$ であった。染色体の特長は、第III染色体のNo.5、6と第IX染色体のNo.18がi形で、明瞭な狭窄を持つ染色体が3本観察された。
4. 在来種 (No.101b) 自然受粉実生の平均染色体長は $2.31 \pm 0.64 \mu\text{m}$ であった。この実生の場合、第I染色体のNo.1およびNo.2がi形であった。
5. 豊園自然受粉実生の平均染色体長は $2.31 \pm 0.87 \mu\text{m}$ であった。この実生は、第V染色体のNo.10および第VI染色体のNo.11と第XI染色体のNo.21がi形で、第VI染色体のNo.12は亜鈴形であった。
6. 豊笑自然受粉実生の平均染色体長は $1.45 \pm 0.46 \mu\text{m}$ であった。この実生は第I染色体のNo.1がi形であった。
7. 清香自然受粉実生の平均染色体長は $2.80 \pm 0.96 \mu\text{m}$ で他の系統より大きかった。この実生も第I染色体のNo.1がi形であった。
8. 要鈴自然受粉実生の平均染色体長は $2.61 \pm 0.90 \mu\text{m}$ であった。この実生の場合、第VII染色体のNo.14がi形であった。
9. 信鈴自然受粉実生の平均染色体長は $2.22 \pm 0.86 \mu\text{m}$ であった。この実生は第I染色体のNo.2がi形であった。
10. 美鶴自然受粉実生の平均染色体長は $1.76 \pm 0.43 \mu\text{m}$ であった。この系統は第I染色体のNo.1がi形で、No.2は角 (seta) 形であった。また、第III染色体のNo.5、6と第V染色体のNo.10はi形で、第VI染色体のNo.11、12も角形であった。

11. 美鶴 (No.552) 樹における生長点組織核板の平均染色体長の信頼限界は、 $2.390 \geq \mu \geq 1.703 * \mu\text{m}$ (*95%) であった。また個々の染色体の信頼限界値から核型を求めると、 $2n=32=20A+12B$ となり、A組みの範囲は $4.169 \geq \mu \geq 3.491 * \sim 2.117 \geq \mu \geq 1.783 * \mu\text{m}$ で、Bは $2.071 \geq \mu \geq 1.708 * \sim 1.160 \geq \mu \geq 0.980 * \mu\text{m}$ (*95%) であった。

引用文献

- 1) FUNAKI, K., S. MATSUI and M. SASAKI. 1975. Location of nucleolar organizers in animal and plant chromosomes by means of an improved N-banding technique. *Chromosoma*, 49: 357-370.
- 2) KURATA, N. and T. OMURA. 1978. Karyotype analysis in rice. I. A new method for identifying all chromosome pairs. *Japan. J. Genet.*, 53: 251-255.
- 3) 町田 博. 1979. クルミ・つくり方の実際. p.31-41, 農文協, 東京.
- 4) 篠遠喜人. 1943. 核型の表わし方. *科学*, 14: 36-38.
- 5) 田中隆荘. 1977. 新核型論. p.293-326. 小川和朗・黒住一昌・小池聖淳・佐藤正一編集. 植物細胞学. 朝倉書店, 東京.
- 6) 庄東紅・北島 宜・石田雅士・傍島善次. 1990. 栽培カキの染色体数について. *園学雑*, 59(2): 289-297.
- 7) 渡辺慶一・白戸一士・高橋文次. 1984. キウイ (*Actinidia chinensis*) の染色体について. *園学要旨*. 昭59秋: 58-59.