

4倍体シナノグルミの花粉発芽率と 原系統の染色体について

矢嶋征雄・押金健吾

信州大学繊維学部附属農場

1970年コルヒチン法により育成した4倍体シナノグルミ樹の諸形質^{14,15,16,17)}を調べてきた。今回は4倍体の花粉発芽率の再調査と、花粉管の伸長状態及び4倍体の原系統である2倍体美鶴樹の二次生長芽並びに2倍体の自然受粉実生個体を材料としてそれらの染色体を観察した。特に、後段の問題は染色体観察に用いる根端がクルミは挿木が不可能なため実生苗に頼らざるを得ず、従って同一個体の染色体を詳細に分析することが困難であるので、この点の解決をはかることを目的として意図されたものである。

尚、この結果の概要は園芸学会平成2年度秋季大会に報告した。

材料及び方法

花粉発芽率と花粉管長は4倍体美鶴母樹 (No. 451、19年生、以下4x) と2倍体美鶴 (No. 403、24年生、以下2x) を用い、1988年それぞれ24時間樹上で開薬したものと、開薬中の雄花穂を採取し24時間室内で開薬させたものに大別して、採取直後と5℃10日貯蔵後の花粉の発芽力について調べた。即ち、樹上開薬区のうち4x樹からは1988年5月4日17時から5月5日17時までの24時間、開薬中の雄花穂にパラピン紙小袋を掛けて花粉を採取し、同日発芽床に播き採取当日播種区とした。同様に2x樹からは5月12日14時から5月13日14時の間に樹上で開薬したものをを用いた。一方、室内開薬区は4xからは5月4日17時に開薬中の雄花穂を採取し5月5日17時まで、2xからは5月12日14時から5月13日14時まで室内で開薬させたものをを用い、採取当日に発芽床へ播種をした。また、5℃10日貯蔵の場合それぞれの所定日の前夜に冷蔵庫より出して室温に順化させたものをを用いた。発芽床の組成は蔗糖7%、寒天2%、pH 6.0 (pHの調製はHCl、NaOHによる) とした。関係湿度も考慮してデシケーターを用い濃硫酸と蒸留水の混合比により、40%、60%、80%、100%の4段階を設定、25℃恒温下播種24時間後に鉄酢酸カーミンで染色し、花粉粒の直径以上花粉管が伸長したものを発芽花粉と見做してその数を調べた。花粉管長は同時に各区150を接眼測微計を用いて測定した。

染色体観察材料採取個体のうち2x (No. 552、10年生、以下2x No. 552) については1989年7月27日に強剪定を行ない8月31日発生した二次生長芽を、2x美鶴自然受粉実生は1988年産の殻果を翌春素焼鉢に播き9月8日根端を採取した。二次生長芽は0.002M Oxinで4hr前処理後

5℃の簡易カルノア液で1 hr 固定した。根端の前処理は8 hr とし固定液のEthanolの濃度を80%とした。それぞれの材料は70% Ethanol で貯蔵しておき逐次実験に供した。細胞壁の解離には4% CELLULASE 'ONOZUKA' R-10 と4% PECTOLYASE Y-23 混合液 (pH 4.5 Mcllvain buffer に溶解) を用い、葉の原基2-3枚の成長点で37℃75分、根端では50分とした。染色法はAg-I法 (30% AgNO₃, 55℃湿室9分、2% Giemsa 5秒) によりプレパラートを作製して鏡検した。染色体は中期の個々の全長を計りその構成は篠遠の核型の表わし方⁹⁾に準じ、全長の最大から最大の1/2までをAの組とし、次のものからその1/2までをBの組とした。

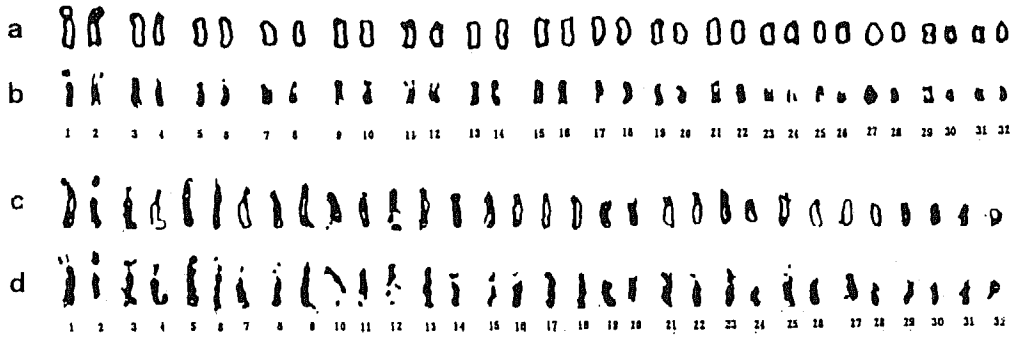
結 果

4x 花粉の発芽率と花粉管長の測定結果を第1表に示した。樹上で開葯した場合と室内で開葯させた場合に大別し関係湿度をかえて検討したが、2x 樹上開葯採取当日の発芽率は最高12.5% (湿度60%)、最低8.7% (湿度40%) で平均発芽率は10.2%であった。4x は最高8.2% (湿度80%、100%)、最低5.2% (湿度40%) 平均7.3%で4x が低く、これは試みたいずれの湿度条件においても同様であった。花粉管長は平均2x 0.243±0.147 mm、4x 0.157±0.089 mm で4x の伸長が悪く偏差も少なかった。また、5℃で10日貯蔵後の発芽率は2x が平均8.5%に対し4x は

第1表. 4倍体シナノグルミ花粉 (4x美鶴No. 451樹) の発芽率と花粉管長 (1988)

区	関係湿度	採取当日			5℃貯蔵10日後			区	関係湿度	採取当日			5℃貯蔵10日後				
		調査数	発芽率(a)	花粉管長(mm)	調査数	発芽率(b)	(a)-(b)			調査数	発芽率(a)	花粉管長(mm)	調査数	発芽率(b)	(a)-(b)		
樹上開葯	2x 40%	1963	8.7	0.242±0.183	2222	8.2	0.5	室内開葯	2x 40%	1973	11.1	0.177±0.088	2437	6.1	5.0		
	4x "	1578	5.2	0.136±0.080	2264	0.7	4.5		4x "	1778	6.1	0.167±0.093	1968	2.6	3.5		
	2x 60	1769	12.5	0.240±0.123	2113	7.7	4.8		2x 60	2066	10.4	0.335±0.233	2578	6.9	3.5		
	4x "	1557	7.5	0.150±0.081	2299	1.1	6.4		4x "	1822	8.5	0.191±0.115	1799	1.5	7.0		
	2x 80	1993	10.3	0.221±0.143	1971	9.3	1.0		2x 80	2348	13.7	0.229±0.138	2298	8.5	5.2		
	4x "	1869	8.2	0.171±0.097	2212	1.2	7.0		4x "	1858	5.4	0.180±0.102	2012	2.5	2.9		
	2x 100	1972	9.4	0.267±0.138	1999	8.6	0.8		2x 100	2187	13.0	0.250±0.167	2582	6.3	6.7		
	4x "	1867	8.2	0.171±0.099	1503	2.5	5.7		4x "	1888	8.0	0.188±0.114	2339	1.1	6.9		
	平均2x	-	1924.	10.2	0.243±0.147	2326.	8.5		1.7	平均2x	-	2143.	12.1	0.248±0.157	2473.	7.0	5.1
	4x	-	1717.	7.3	0.157±0.089	2069.	1.4		5.9	4x	-	1836.	7.0	0.182±0.106	2004.	1.9	5.1

1.4%であった。仮に、採取当日の発芽率と5℃10日貯蔵後の発芽率の差を発芽減少率とした場合、2x の平均が1.7%であったのに対し4x は5.9%で4x が高率であった。室内開葯花粉の採取当日の発芽率は2x が最高13.7% (湿度80%)、最低10.4% (湿度40%) 平均12.1%で、4x の場合最高8.5% (湿度60%)、最低5.4% (湿度80%) 平均値では7.0%で前者と同様の結果を示した。平均花粉管長は2x 0.248±0.157 mm、4x 0.182±0.106 mm であり同様に4x が劣っていた。5℃10日貯蔵後は平均2x 7.0%、4x 1.9%で樹上開葯花粉を用いた場合とほぼ同様であった。しかし、室内開葯2x の発芽減少率は樹上開葯に比べ高率であった。



第1図. 2x美鶴自然授粉実生個体 (a, b) と2x美鶴No. 552樹生長点 (c, d) の染色体 (Ag-1法, 500X位相差, a, cは染色体の輪郭を強調したもの)

第2表. 2x美鶴自然授粉実生個体と2x美鶴No. 552樹の相同対ごとの染色体

系 統	供 試 組 織	I		II		III		IV		V		VI	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
2x美鶴自然授粉実生	根 端	2.86*	2.86*	2.38	1.90	1.90	1.90	1.90	1.90	1.90	1.90	1.90*	1.62*
2x美鶴 (No. 552)	生長点	3.81*	3.33*	3.33*	3.33*	3.05	2.86	2.86	2.86	2.86	2.86	2.67	2.57

VII		VIII		IX		X		XI		XII		XIII	
13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
1.90	1.90	1.71	1.90	1.90	1.90	1.90	1.43	1.90	1.43	1.43	1.43	1.43	1.43
2.38	2.38	2.38	2.38	2.38	2.38	2.38	2.38	2.38	2.19	2.19	1.90	1.90	1.90

XIV		XV		XVI		平均染色 体長(μm)	核 型
27	28	29	30	31	32		
1.43	1.14	1.14	1.05	1.05	1.14	1.73±0.43	2n=32=27A+5B
1.90	1.71	1.62	1.52	1.43	1.43	2.42±0.59	2n=32=27A+5B

(注)*: マーカー染色体

第1図に調査2系統の idiogram を、第2表にその全腕長の測定結果を示した。第1図の a、b と c、d はともに同一核板であるが、a、c はコンデンサーの操作により個々の染色体の輪郭を強調して全腕長の長い順に配列したものである。2x 美鶴自然授粉実生根端の染色体長は最大 2.86、最小 1.05、平均 $1.73 \pm 0.43 \mu\text{m}$ でその全腕長及びその形態から 16 対に分類されたが、その形態は第 I 染色体の No. 1、2 のうち No. 1 は頭 (caput、以下 c) 型で No. 2 は角 (seta、以下 s) 型であり、第 VI 染色体の No. 11、12 はともに s 型であった。2x No. 552 の生長点を材料とした場合最大 3.81、最小 1.43、平均 $2.42 \pm 0.59 \mu\text{m}$ で、第 I 染色体のうち No. 1 は s 型で No. 2 は c 型であった。また、第 II 染色体の No. 3、4 は s 型であった。更に、これら 32 本を個々の全長により相同対を求めたところ両材料区とも 16 対に分けられ、ともに第 XIV 対 No. 27 までが A 群で他が B 群と見做され両者の核型は $2n=32=27A+5B$ と示された。

考 察

人為倍数性植物において往々にして生じる低稔性機構については雌雄双方について説明がなされなければならない。これらの観点から先ず 4x の花粉発芽率について検討したが、もとより花粉はその熟度、採取方法、発芽床の組成、温湿度等の発芽環境他により微妙に変化するものでもあり本実験においても同様で⁶⁾ 1988年再度検討した。^{14,15,16)} 花粉の熟度の点から24時間樹上で開薬したものと開薬中の雄花穂を採取して室内で開薬させたものに大別し、関係湿度を変えて実施したが採取当日の場合及び 5℃ で10日貯蔵した場合とも 4x は 2x より劣っていた。このことは同じ木本性の桑でも同様で、¹⁰⁾ 関らはコルヒチン処理により育成し処理5年目に着生した雄花穂で調べ、4倍性の花粉の発芽率は2倍性(長五郎)に比べ1%の有意性をもって悄悄劣ると述べている。また、トウガラシ (*Capsicum annuum* L.) では、新鮮な 2x 花粉つまり4倍体の発芽率は x 花粉つまり2倍体の1/2で、x および 2x とも貯蔵時間が長くなるにつれて発芽率は減退するが、その傾向は 2x 花粉で強いとしている。¹⁾ 本研究ではそれぞれ 5℃ で10日貯蔵後の発芽率について調査したが 4x は 2x より劣り、花粉の採取方法の違いはみられなかった。また、採取当日の発芽率と 5℃ 10日後の発芽率の差を発芽減少率としたが、樹上開薬区において差が顕著で 4x の減少率が高く、トオガラシの結果を支持することができる。また、2x 室内開薬花粉の減少率が樹上開薬した場合より高く、このことが花粉の採取方法の違いであろう。人為的に作出された多くの倍数性植物のなかで、花粉管の伸長まで言及した報告は比較的少ないが、先のトウガラシにおいて人工発芽床上で貯蔵後 0~96時間の花粉について調べられている。それによると置床後12時間後の花粉管の伸長値はタカノツメの x-花粉の場合、新鮮花粉の 119 μ が最高で、24時間 96 μ 、48時間 72 μ 、72時間 26 μ 、96時間 0 μ と貯蔵時間の増加につれて伸長力は低下した。また、2x-花粉では新鮮花粉で 72 μ であったが貯蔵時間の増加につれて伸長力は48時間では 31 μ となり、2x-花粉管は x-花粉管に比して3/5程度であったと述べている。本実験では経時的な観察は実施しておらないが、採取24時間後の花粉管長は 2x が 0.243~0.248 mm、4x は 0.157~0.182 mm で、4x の伸長が 2x よりも悪く、開薬方法や関係湿度の差による違いもみられなかった。花粉管の伸長を花柱上での生長に関連させると、4倍体ブドウの巨峰系品種のなかに無核小粒果が混入する原因として、^{3,4,7)} 胚のうの発育と花粉管の珠孔部への侵入のずれが指摘されており、本実験からもその可能性をうかがうことができる。

クルミ科植物の染色体数は1930年 ROBERT H. WOODWORTH により English Walnut (=Persian Walnut, *Juglans regia* L.) ほか6種類について調査され、いずれも X-16 と報告している。⁸⁾ しかし、現在のところ核型についての報告はまだない。シナノグルミという名称は俗称で、

遺伝学的にはペルシャグルミとテウチグルミ (*J. regia* L. var. *orientis* KITAMURA) の間生種とされている⁵⁾。供試樹の美鶴 (みつる) は1960年からの長野県の母樹指定事業の際、シナノグルミの個体群のなかから発見されたもので来歴等の詳細は明らかでない。最近、各種酵素の開発により細胞壁の解離が容易となり、微小染色体を保持する果樹類の染色体観察にも応用されている^{11,12,13)}。染色体の数と形が種や属などの分類学上の単位に対応してほぼ一定なことが従来から知られ、最近栄養系で繁殖することの多いクルミにおいても正確に区別できる特異的形質を見いだすことができれば、それによって成木や穂木においても品種、系統の異同性を確かめることができるし、突然変異、キメラ、同・異質倍数体の同定等の確定もできる。以上のような点から比較的微小染色体の輪郭が把握しやすい Ag-I 法を用い、先ず 4x の原系統である 2x No. 552 樹の生長点と、その自然受粉実生根端の染色体観察を行なった。その結果、生長点の全腕長の平均は $2.42 \pm 0.59 \mu\text{m}$ で第 I 染色体の No. 1、2 と第 II 染色体の No. 3、4 に特徴があり、No. 1 及び No. 3、4 は篠遠の示す s 型であり、No. 2 は c 型に該当した。自然受粉実生根端の全腕長の平均は $1.73 \pm 0.43 \mu\text{m}$ で、生長点を材料にした場合よりやや短かったが、第 I 染色体の No. 1 は、c 型で、No. 2 及び第 VI 染色体の No. 11、12 は s 型であった。両者の核型は $2n=32=27A+5B$ と表わされたが、この範囲の核型の比較では供試材料による差は認められないものと見做された。今後個々の染色体について狭窄等の特徴の把握が必要であり、更に詳細な核型分析を進める必要がある。

摘 要

1970年コルヒチン生長点滴下法により育成した4倍体シナノグルミ (4x 美鶴 No. 451 樹) の花粉発芽率の再検討と、原系統 2x 美鶴の生長点組織及び自然受粉実生根端を用いその染色体の観察を行なった。

1. 樹上開葯花粉の採取当日の発芽率は 2x が 10.2% に対し 4x は 7.3% で、5℃10日貯蔵後の発芽率は 2x が 8.5% に対し 4x は 1.4% であり、いずれも 4x が低率であった。
2. 室内開葯花粉の採取当日の発芽率は 2x が 12.1% に対し、4x は 7.0% で、前者とほぼ同様の結果を示した。また、5℃10日貯蔵後の発芽率は、2x の 7.0% に対し、4x は 1.9% で同様に 4x が低率であった。
3. 樹上開葯採取当日の花粉管長は、平均 2x $0.243 \pm 0.147 \text{ mm}$ 、4x $0.157 \pm 0.089 \text{ mm}$ で 4x の伸長が悪く偏差も少なかった。また、室内開葯花粉の平均花粉管長は 2x $0.248 \pm 0.157 \text{ mm}$ 、4x $0.182 \pm 0.106 \text{ mm}$ であり同様に 4x が劣っていた。

4. 2x 美鶴自然受粉実生根端の染色体長は最大2.86、最小1.05、平均 $1.73 \pm 0.43 \mu\text{m}$ で、その全腕長及びその形態から16対に分類され、第I染色体のNo.1、2のうちNo.1はc型でNo.2はs型であり、第VI染色体のNo.11、12はともにs型であった。
5. 2x No. 552の生長点を材料とした場合最大3.81、最小1.43、平均 $2.42 \pm 0.59 \mu\text{m}$ で、第I染色体のうちNo.1はs型で、No.2はc型であった。また、第II染色体のNo.3、4はs型であった。
6. これら32本の相同対を求めたところ、両材料区とも16対に分けられ、ともに第XVI対No. 27までがA群で、他がB群であり、両者の核型は $2n=32=27A+5B$ と示された。

引 用 文 献

1. 飯塚宗雄. 1955. 育雑. 4(4): 27-30.
2. 北村四朗・村田源. 1979. 原色日本植物図鑑木本編(II). p. 343. 保育社. 大阪.
3. 小松春喜・折尾伸一・藤原展嘉・坂井健輔. 1987. 園学要旨. 昭62秋: 94-95.
4. 小松春喜・上田敬祐・田村伸二・坂井健輔. 1987. 園学要旨. 昭62秋: 96-97.
5. 黒上泰治. 1965. 果樹園芸各論. p. 282. 養賢堂. 東京.
6. 町田博. 1969. 園学要旨. 昭44秋: 2-3.
7. 岡本五郎・山本恭子・島村和夫. 1984. 園学雑. 53: 251-258.
8. ROBERT, H.W. 1930. Amer. J. Bot. 17(9): 863-869.
9. 篠遠喜人. 1943. 科学. 14: 36-38.
10. 関博夫・押金健吾. 1953. 信大繊維研報. 3: 11-17.
11. 庄東紅・北島宜・石田雅士・傍島善次. 1990. 園学雑. 59: 289-297.
12. 渡辺慶一・白戸一士・高橋文次郎. 1984. 園学要旨. 昭59秋: 58-59.
13. 渡辺慶一・白戸一士・高橋文次郎. 1986. 園学要旨. 昭61春: 92-93.
14. 横沢弥五郎・矢嶋征雄・中村久幸・押金健吾・町田博. 1984. 園学要旨. 昭59秋: 136-137.
15. 矢嶋征雄・横沢弥五郎・高橋久美子・渡辺泰光. 1986. 園学要旨. 昭61春: 90-91.
16. 矢嶋征雄・横沢弥五郎・斎藤茂美. 1987. 園学要旨. 昭62春: 148-149.
17. 矢嶋征雄・横沢弥五郎. 1988. 園学要旨. 昭63秋: 210-211.