

# 桑科 (*Moraceae*) 植物の細胞学的研究

## (VII) 二, 三の桑科植物における染色体数\*

関 博 夫\*\*

Hiroo SEKI: Cytological Studies of *Moraceae* Plants.

(VII) Chromosome Numbers of Several Species of *Moraceae* Plants.

(1955年12月10日受理)

著者は桑科植物の細胞学的研究に従事し、桑属 (*Morus*) を主体として、これと近縁関係にある楮属 (*Broussonetia*) の研究もその一部として行い、その結果を第 I ~ VI 報において報告した。本論文においてはその後、染色体数を観察した二, 三の桑科植物について報告する。したがって桑属及び楮属における本報告は補遺の意味が含まれている。

これ等の研究は将来、蚕児飼料新植物の創成を目的として行つたものである。

### 研究材料並に方法

桑の研究材料である新桑 1, 2 号は新潟県蚕業取組所村上支所より寄贈を受けたものである。これ等の品種は新潟県桑樹試験場において、耐胴枯病優良品種として育成選出されたもので、その両親は;

新桑 1 号……野田早生 × 大倉

新桑 2 号……清水早生 × 八石早生

上記の人為交配の結果出来たものと報告されている。

楮は高知県農業試験場別府分場より寄贈されたもので、黒楮、高楮、手折、赤楮等である。この他群馬県妙義山麓より採集した野生楮を研究材料とした。

くわくさ *Fatoua japonica* BLUME. (= *Urlica japonica* THUNB. non. L.; *U. villosa* THUNB.; *F. villosa* NAKAI; *Boehmeriopsis pallida* KOMAR.) は各地各処に見られる一年生草本である。葉の形態は卵形にして小さく、葉肉は薄いが桑葉に酷似している。夏秋の頃葉脈に聚繖花序を成して多数の小花を撰簇し、雌雄同株である。種子も亦瘦小であるが桑の種子に似ている。

この植物の葉を 5 齢蚕児に給与した処、飢餓の状態に

おいてはこれを食することを認めた。

楮 *Vanieria tricuspidata* HU (= *Cudrania triloba* HANCE) は本学部に栽植してあるもので、支那及び満州地方の原産と称され灌木にして節毎に刺がある。葉は楕円形で小さく、葉縁には鋸歯がなく先端近く屢々浅く三裂し、葉の両面はともに平滑無毛である。花は単生で雌雄ともに球形花序に配列し、雌雄異株である。

この植物の葉は従来蚕児の飼料として供試しており、現在桑葉の代用飼料としては主なるものである。本植物の染色体数は篠達 (1929) によつて、その花粉母細胞において 28 であることを報告され且この染色体数の決定は仲々困難であると云われている。

以上の桑科植物を研究材料として、その根端を Nava-shin 液にて固定し、paraffin 切片 (12~15 $\mu$ ) をつくり Heidenhain's iron alum hematoxylin 法にて染色し鏡検した。しかし楮の体細胞における染色体数の算定は甚だ困難であつたため芽先を Carnoy 液にて固定し、Feulgen 法により染色体数を決定した。亦一方、花を着生したくわくさ、楮、黒楮等はその花粉母細胞を Carnoy 液にて固定し、なすりつけ Aceto-Carmine 法により染色体を観察した。

### 観 察 結 果

*Morus* の新桑 1, 2 号は未だ開花しないので根端細胞における染色体により第 1, 2 図のように、ともに  $2n=42$  と決定した。即ち明かに 3 倍性品種である。

なおこれ等新桑 1, 2 号の両親である野田早生、大倉、清水早生、八石早生等の穂木を豊林省小千谷桑園より分与して戴き、それ等の染色体数を観察した処、ともに  $2n=28$  を数えたので明に 2 倍性である。

このように 2 倍交雑より 3 倍体の個体が発生し、しかもそれが実用品種として選出され普及しつつあることは自然生 3 倍体桑樹の発生、選出、普及の経過を暗示するように思われて興味が深い。

\* 本報告の要旨は昭和 28 年 4 月、日本蚕糸学会及び昭和 29, 30 年 11 月、日本蚕糸学会中部支部において発表したものである。

\*\* 信州大学維学部 栽桑学研究室

*Broussonetia* の黒構及び手折の染色体数は根端細胞においてともに  $2n=39$  を数え、明らかに3倍性である(第3, 4図)。

なお黒構は本年雌花穂を着生したので、花粉母細胞の第1分裂中期における染色体接合状態を観察した結果は概して3個染色体が多い(第1表, 第5図)。

第1表 黒構の花粉母細胞における第1分裂中期の染色体接合状態

染色体接合	観察母細胞数	100分率
$13_m$	2	1.6
$12_m + 1_x + 1_r$	5	4.0
$11_m + 2_x + 2_r$	10	8.0
$10_m + 3_x + 3_r$	29	23.2
$9_m + 4_x + 4_r$	36	28.8
$8_m + 5_x + 5_r$	23	18.4
$7_m + 6_x + 6_r$	17	13.6
$6_m + 7_x + 7_r$	3	2.4
計	125	100.0

高構並に赤楮の染色体数は根端細胞において  $2n=26$  と決定したので明かに2倍性である(第6, 7図)。

なお妙義山麓より採集した野生楮の染色体数は花粉母細胞で  $n=13$  を示し、根端細胞においては予期したように  $2n=26$  を数えられたから明かに2倍体(第8, 9図)で、成熟分裂は規則正しく行われている。

*Fatoua* のくわくさの染色体数は花粉母細胞においては  $n=13$  を示し(第10図)、成熟分裂は規則正しく行われている。根端細胞における染色体数は予期したように  $2n=26$  を数えた(第11図)。したがってくわくさの染色体基本数を13とすれば、桑属の染色体基本数  $n=14$  に比すれば1個少なく、楮属の染色体基本数と同じである。

*Vanieria* の栝の染色体数は篠遠(1929)の報告のように叢がっており、その数の算定は困難であつたが花粉母細胞においては  $n=28$  を数え(第12図)、篠遠の報告を確認した。根端細胞の染色体数は予期したように  $2n=56$  と決定した(第13図)。なお成熟分裂は規則正しく行われている。

栝の染色体基本数を28とすれば桑属の染色体基本数の2倍に当るが、体細胞の染色体の形態は桑属と趣を異にする。

## 摘 要

著者は二、三の桑科植物の染色体数を次のように決定

した。なお桑属(*Morus*)並に楮属(*Broussonetia*)における、本報告はその補遺となる。

1) *Morus* の新桑1, 2号の染色体数は体細胞において  $2n=42$  で、両品種ともに3倍性である。

なおこれ等品種の3倍性は、2倍交雑の結果出たものである興味深い。

2) *Broussonetia* の黒構並に手折の体細胞における染色体数は  $2n=39$  を数え、3倍性である。

なお黒構の花粉母細胞の第1分裂中期における染色体接合状態は概して3個染色体が多い。

高構、赤楮及び群馬県妙義山麓の野生楮の体細胞における染色体数は  $2n=26$  で2倍性である。

3) *Fatoua* のくわくさの花粉母細胞における染色体数は  $n=13$  で、体細胞における染色体数は予期したように  $2n=26$  を数えた。くわくさの染色体基本数を13とすれば、桑属の染色体基本数に比して1個少ない。

4) *Vanieria* の栝の花粉母細胞における染色体数は篠遠(1929)により報告されたように  $n=28$  を確認することが出来、体細胞の染色体数は予期したように  $2n=56$  を数えた。栝の染色体基本数を28とすれば、桑属の染色体基本数の2倍に当るが、体細胞の染色体の形態は異なる。

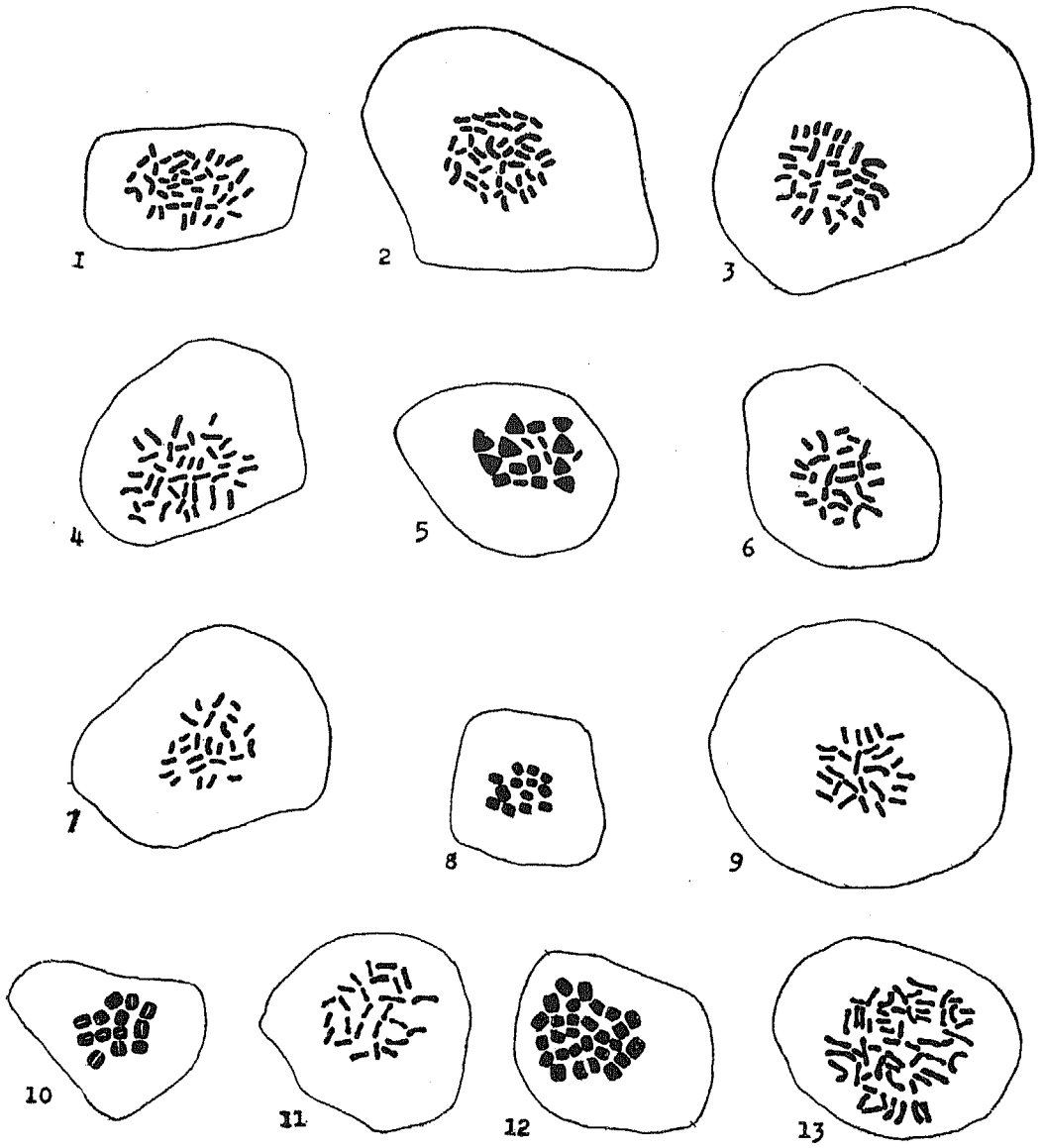
擧げするに当り種々御懇篤なる御指導を賜つた京都大学教授西山市三博士並に常に多大の御援助を与えられ且御校閲の勞をとられた当学部教授田口亮平博士に対し、深甚なる謝意を表するとともに、終始助力された押金健吾氏に深謝する。

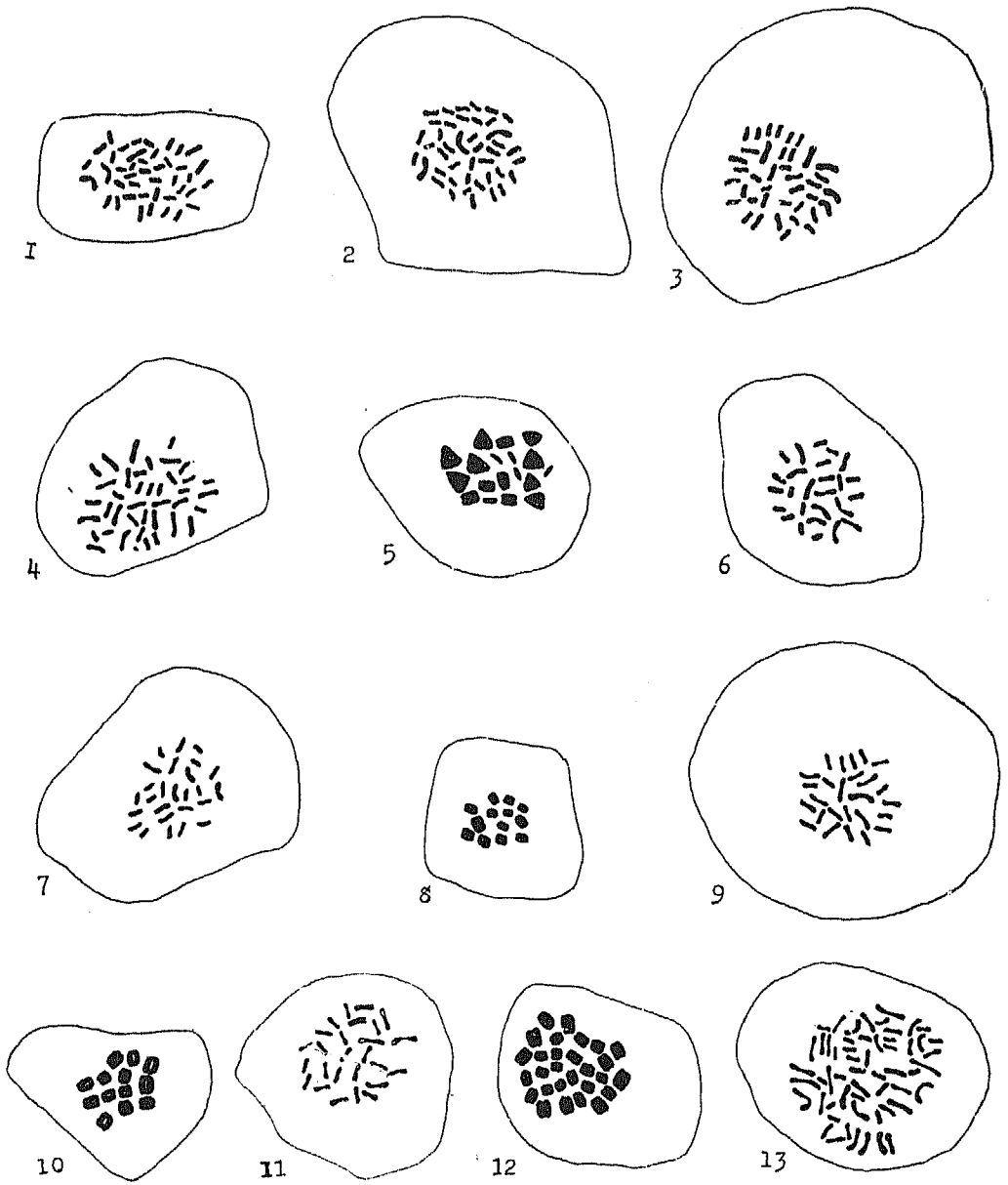
なお貴重なる研究材料を御寄附下された新潟県桑業取締所村上支所、高知県農業試験場別府分場及び農林省小千谷桑園に対し、厚く御礼申上げる次第である。

本研究の一部は文部省科学研究助成補助金によつて行つたものである。

## 参 考 文 献

1. 高知県農試別府分場：楮三種試験成績書, (1952)
2. 小泉 源一：蚕試場報告, 3(1), (1917)
3. 牧野富太郎：日本植物図鑑, (1940)
4. 新潟県桑樹試験場：新桑1号の特性, プリント
5. —————：新桑2号の特性, プリント
6. 成田義三・吉永金省：育種学雑誌, 4, 222 (1955)
7. 大沢 一衛：蚕試場報告, 1(4), (1916)
8. SINTO, Y.: Cytologia, 1, 109 (1929)





9. 関 博夫：遺伝学雑誌, 25, 123 (1950)
10. —————：日 蚕 誌, 20, 27 (1951)
11. —————：同 誌, 21, 211 (1952)
12. —————：同 誌, 21, 229 (1952)
13. —————：信大織報, 2, 13 (1952)
14. —————：同 誌, 4, 5 (1954)
15. —————：日蚕中部, 講義集, 8, 20 (1954)
16. —————：同 誌, 10, 15 (1955)
17. TAHARA, M. : Bot. Mag., 24, 281 (1910)
18. 田中 義磨：蚕学, (1943)
19. WRAY M. & BOWDEN. : Amer. Jour. Bot., 32 (2, 4), (1945)
20. 遠藤保太郎・樋口琢磨：日本桑樹栽培論, (1916)

### Summary

The writer has decided the chromosome numbers of several species of *Moraceae* plants as follows.

These are supplements to his previous reports on the chromosome numbers of *Morus* and *Broussonetia*.

1) The chromosome number of Shinso No. 1 and No. 2, *Morus*, is  $2n=42$ . They are of triploid races. Furthermore, it is of great interest that these triploid races are obtained by crossing diploid and diploid ( $2x \times 2x$ ).

2) The chromosome number of Kurokaji and Taori, *Broussonetia*, is  $2n=39$ . They are of triploid. Furthermore, trivalent chromosomes are generally many in number in the Configuration of chromosome in the first division metaphase of the Kurokaji PMC. The chromosome number of Takakaji, Akaso and the wild paper mulberry-trees (*B. Kazinoki* STEB) growing at the foot of mt. Miyogi, Gunma prefecture, is  $2n=26$ . They are of diploid.

3) The chromosome number of PMC of *Faloua japonica* BLUME is  $n=13$  and its somatic chromosome number is  $2n=26$  as expected.

If the basic chromosome number of *Faloua* is 13, it is one less than  $n=14$  of *Morus*.

4) He has ascertained that the chromosome number of PMC of *Vanieria tricuspidata* HU is 28 as reported by Dr. Shinoto (1929) and also that its somatic chromosome number is  $2n=56$  as expected by the writer. If the basic chromosome number of *Vanieria* is 28, it is twice that of *Morus*. But their karyotypes are different.

(Laboratory of Mulberry-Tree Growing, Faculty of Textile and Sericulture, Shinshu University.)

### 図 版 説 明

第1図, 新桑1号の根端細胞における染色体,  $2n=42$ , 約1,863倍.

第2図, 新桑2号の根端細胞における染色体,  $2n=42$ , 約1,863倍.

第3図, 黒構の根端細胞における染色体,  $2n=39$ , 約1,863倍.

第4図, 手折の根端細胞における染色体,  $2n=39$ , 約1,863倍.

第5図, 黒構の花粉母細胞における染色体, 第1分裂中期極面観,  $n=8_{III}+5_{II}+5_{I}$ , 約1,863倍

第6図, 高構の根端細胞における染色体,  $2n=26$ , 約1,863倍.

第7図, 赤楮の根端細胞における染色体,  $2n=26$ , 約1,863倍.

第8図, 妙義山麓野生楮の花粉母細胞における染色体, 第1分裂中期極面観,  $n=13_{II}$ , 約1,863倍.

第9図, 妙義山麓野生楮の根端細胞における染色体,  $2n=26$ , 約1,863倍.

第10図, くわくさの花粉母細胞における染色体, 第1分裂中期極面観,  $n=13_{II}$ , 約1,368倍.

第11図, くわくさの根端細胞における染色体,  $2n=26$ , 約1,863倍.

第12図, 柘の花粉母細胞における染色体, 第1分裂中期極面観,  $n=28$ , 約1,304倍.

第13図, 柘の芽先にける染色体 (Feulgen 法による),  $2n=56$ , 約1,863倍.

**Table 3.** Effect of vitamins on the growth (dry weight mg) of *Rosellinia necatrix* (HART.) BERL.

Kind of strain		1	2	3	4	5	Mean
R 1	Vitamine free	(2)	(1)	0	0	0	(0.6)
	+ T	(1)	(1)	(1)	0	0	(0.6)
	+ B	(3)	(2)	(3)	0	0	(1.6)
	+ T B	163	63	72	45	24	73.4
	+ T B I P	97	68	80	57	27	65.8
R12	Vitamine free	(1)	0	0	0	0	(0.2)
	+ T	(1)	0	0	0	0	(0.2)
	+ B	(2)	(1)	(2)	0	0	(1.0)
	+ T B	36	31	30	20	39	31.2
	+ T B I P	31	24	34	23	38	30.0

Analysis of variances

Kind of strain	Factor	S S	DF	V	F
R 1	Vitamine	144.40	1	144.40	2.27
	Replicate	11993.40	4	2998.35	5.57
	Error	2154.60	4	538.65	
	Total	14292.40	9		
R12	Vitamine	3.60	1	3.60	0.33
	Replicate	333.40	4	83.35	7.68*
	Error	43.40	4	10.85	
	Total	380.40	9		

Note ; Vitamine free, +T and +B Plots are omitted.

る。この場合にも Inositol, Pyridoxine の重複添加による生育促進効果はみられなかった (第3表の変量分析表参照)。

**実験 II Vitamine 添加量と生育との関係**

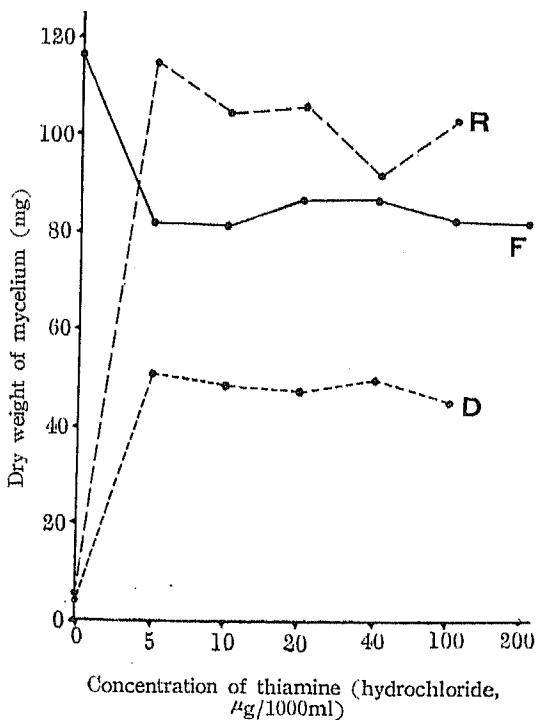
実験 I によつて各菌が要求する Vitamine の種類がわかつたので、この実験においてはそれら Vitamine の添加量と生育促進効果との関係を明らかにしようとした。なお *F. lateritium* については Thiamine 添加量と生育抑制作用の関係をみた。基本培養液の組成は実験 I と同様である。Vitamine 添加量の段階は、基本培養液 1000ml 当り Thiamine (塩酸塩) は 0, 5, 10, 20, 40 及び 100 $\mu$ g (F1 については更に 200 $\mu$ g 区を設けた)、Biotin は 0, 0.1, 0.5, 1.0, 5.0 $\mu$ g とした。なお *R. necatrix* の場合には、Thiamine 添加量をみるとときには

基本培養液 1000ml に対して 5 $\mu$ g の Biotin を、Biotin の添加量をみるとときには 100 $\mu$ g の Thiamine (塩酸塩) を加えた。その他の方法は実験 I と同様である。

供試菌は、*F. lateritium* は F1, *D. Nomurai* は D1, *R. Necatrix* は R1 である。

(1) Thiamine 添加量と生育との関係

各菌について 3 回反復実験し、各回ともほぼ同一傾向の結果を得た。その平均値を Fig. 1 に示す。



**Fig. 1** Effect of concentration of thiamine on the growth of *Fusarium lateritium* (NEES) S. et H., *Diaporthe Nomurai* HARA and *Rosellinia necatrix* (HART.) BERL.

F.....*Fusarium lateritium* (NEES) S. et H., D.....*Diaporthe Nomurai* HARA, R.....*Rosellinia necatrix* (HART.) BERL.

この結果は、*D. Nomurai* 及び *R. necatrix* に対する Thiamine 添加量は基本培養液 1000ml 当り 5 $\mu$ g で十分であることを示している。それ以上添加量をましても、*D. Nomurai* では著しい変化はみられないが、*R. necatrix* に対しては反つて阻害的にはたらくかのようである。

また、*F. lateritium* に対する Thiamine 生育抑制作用はすでに  $5\mu\text{g}/1000\text{ml}$  で現われるが、それ以上添加量をまして  $200\mu\text{g}/1000\text{ml}$  にしても抑制作用には殆んど変化がみられない。

## (2) Biotin 添加量と生育との関係

この実験は Biotin の不可欠な *R. necatrix* だけについて行つた。3 回実験の平均値を Fig. 2 に示す。

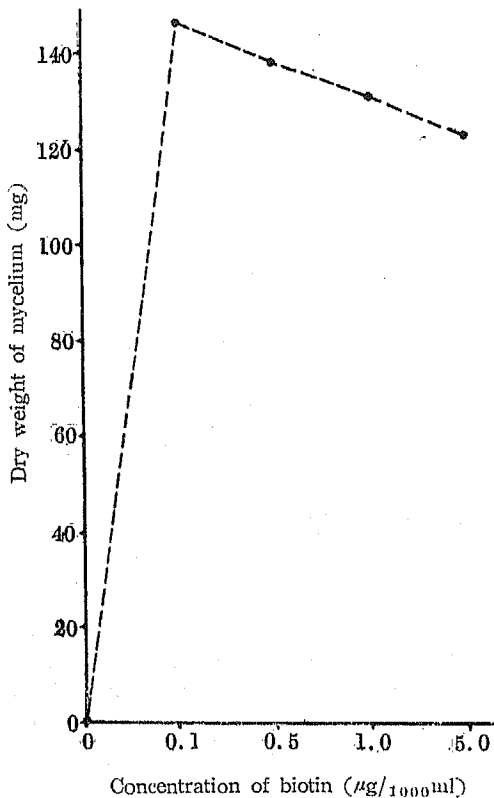


Fig. 2 Effect of concentration of biotin on the growth of *Rosellimia necatrix* (HART.) BERL.

この結果によれば、*R. necatrix* に対する Biotin の最適添加量は  $0.1\mu\text{g}/1000\text{ml}$  前後にあるものゝようであり、それ以上の添加は反つて生育を阻害することを示している。

## 総 括

以上の実験結果から、*F. lateritium* はその生育に外部からの Vitamine の供給を必要としないことがわかつた。LILLY 及び BARNETT<sup>(3)</sup>によれば、同氏等が試験した *Fusarium* の殆んど species は self-sufficient で

あつたというから、これは *Fusarium* 菌の一般的な性質のように思われる。しかし、研究室保存 64 号菌の I saltant (F64-1) が Thiamine-deficient であつたのは興味深いことである。

Vitamine について self-sufficient の菌に Vitamine を添加すると、反つて生育が阻害されることについては ELLICOTT<sup>(2)</sup>の報告があり、特に Thiamine の抑制作用については LILLY 及び BARNETT<sup>(3)</sup>、WIRTH 及び NORD<sup>(4)</sup>、SCHOPFER 及び GUILLOU<sup>(5)</sup>、MATHUR、BARNETT 及び LILLY<sup>(4)</sup> などが明らかにしている。筆者等が供試した *Fusarium lateritium* の 2 培養系についても Thiamine の生育阻害作用がみられた。この阻害作用はすでに Thiamine (塩酸塩)  $5\mu\text{g}/1000\text{ml}$  で現れるが、それ以上 Thiamine 添加量をまして  $200\mu\text{g}/1000\text{ml}$  にしても殆んど変化がみられなかつた。なお LILLY 及び BARNETT<sup>(3)</sup>によれば *Rhizopus sinensis* に対する Thiamine の阻害作用は Inositol を加えることによつて抑えられるというのが本実験の範囲内で *F. lateritium* についてはそういう現象はみられなかつた。

*D. Nomurai* の生育には Thiamine の供給が必要であることがわかつた。その添加量と生育との関係は、培養液 1000ml 当り  $5\mu\text{g}$  から  $100\mu\text{g}$  の間では殆んど変りがない。 $5\mu\text{g}/1000\text{ml}$  より少く添加した場合にどうなるかはこの実験の結果からは不明である。なお Inositol 及び Pyridoxine 添加は特別な効果を示さなかつた。

*R. necatrix* の生育と Vitamine の関係については、筆者等の講演発表<sup>(6)</sup>と同年に渡辺<sup>(7,8)</sup>の報告がある。それによれば Biotin, Thymine 及び  $B_{12}$  はそれぞれ単独で本菌の初期の発育に促進効果をもつが発育全期について不可欠の因子であるかどうか不明であるという。なお同報告にある Thymine は Thiamine の誤植ではないかと思ひ、同氏に問合せたところ、これは Thiamine とは無関係の物質であることがわかつた。氏の通信によれば Thiamine もこの菌に対して生育促進効果をもつことが追試されたい。安部及び河野<sup>(9)</sup>は茶樹から分離した *R. necatrix* 3 培養系についてその生育と Vitamine の関係を試験し、Thiamine と Biotin は菌糸の生長を促す重要な要素であるが、重複添加による特別な効果は認められなかつたと報告している。

しかし上述のように、筆者等の桑から分離した *R. necatrix* の 2 培養系は何れも Thiamine 又は Biotin の単独添加では生育せず、この両 Vitamine を重複添加したときにはじめて生育がおこる。すなわちこれらの培養

系は Thiamine 及び Biotin 両者に対して multiple deficiency を示しており、上記の渡辺<sup>(7,8)</sup>及び安部及び河野<sup>(9)</sup>の結果とはちがっているが、これは供試菌系の相違によるものであろうか。

なお Thiamine 及び Biotin 添加量と生育との関係は、本実験の範囲内で、Thiamine (塩酸塩) では  $5\mu\text{g}/1000\text{ml}$ 、Biotin では  $0.1\mu\text{g}/1000\text{ml}$  で最も生育がよく、それ以上の添加は反つて生育を阻害するかのようである。Biotin ではこの傾向ははつきりしている。添加量を更に少くした場合の効果は今後の検討にまたねばならない。

Inositol, Pyridoxine の重複添加はこの場合も特別の効果を示さなかつた。

### 引用文献

- (1) 安部卓爾・河野又四：日植病報, 20, 45 (講演要旨). (1955)
- (2) ELLICOTT, E. S. : Proc. West Va. Acad. Sci., 20, 65 (1949)
- (3) LILLY, V. G. & H. L. BARNETT : Physiology of the fungi (1951)
- (4) MATHUR, R. S., H. L. BARNETT & V. G. LILLY : Phytopath., 40, 104 (1950)
- (5) 松尾卓見・桜井善雄：日植病報 19, 66 (講演要旨). (1954)
- (6) SCHOPFER, W. H. & M. GULLLOUD : Zeit. Vitaminforsch., 16, 181 (1945)
- (7) 渡辺文吉郎：日植病報, 18, 156 (講演要旨). (1954)
- (8) 渡辺文吉郎：宮崎植防協誌, 1, 55 (1954)
- (9) WIRTH, J. C. & F. F. NORD : Arch. Biochem., 1, 143 (1942)

### Summary

The effect of vitamins (thiamine, biotin, inositol and pyridoxine) on the growth of *Fusarium lateritium* (NEES) SNYDER et HANSEN, *Diaporthe Nomurai* HARA and *Rosellinia necatrix* (HART.) BERL. has been studied. The constitution of standard medium used was as follows: glucose 10g, asparagine 2g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.5g,  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  0.001g,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.001g,  $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  0.001g and a litre of distilled water. The following results were obtained from the studies.

1. *Fusarium lateritium* (NEES) SNYDER et HANSEN was generally self-sufficient with respect to vitamins, and the growth of the mycelium was depressed a little by the addition of Thiamine (hydrochloride, 5~200  $\mu\text{g}/1000\text{ml}$ ). But a saltant derived from a natural isolate of the same fungus was proved to be thiamine-deficient.

2. *Diaporthe Nomurai* HARA was thiamine-deficient. The optimum concentration of thiamine (hydrochloride) for the growth of the mycelium was about  $5\mu\text{g}/1000\text{ml}$  or less than it.

3. *Rosellinia necatrix* (HART.) BERL. was thiamine and biotin-deficient so far as the writers' strains were concerned. The optimum concentration of thiamine (hydrochloride) in the medium was about  $5\mu\text{g}/1000\text{ml}$  or less (when the medium contained  $5\mu\text{g}/1000\text{ml}$  biotin) and that of biotin was about  $0.1\mu\text{g}/1000\text{ml}$  or less (when the medium contained  $100\mu\text{g}/1000\text{ml}$  thiamine hydrochloride). (Laboratory of Phytopathology and Mycology, Faculty of Textile and Sericulture, Shinshu Univ.)