

補足遺伝子による大麦雑種の幼苗致死の研究

II. 幼苗の形態解剖学的研究

富久保男*・高橋隆平

エチオピア産大麦の或る数系統を北満州の在来大麦品種と交雑して得た F_1 雑種は第1葉の展開と前後して先端から黄化をはじめ、ふつう第2葉の展開をまたぎ枯死する。この致死現象は遺伝学的には二つの優性致死遺伝子 L_{S_E} と L_{S_M} との補足作用によるものと説明される(高橋・林・守屋 1970)。これと類似の、補足遺伝子による雑種致死現象は他の高等植物においても数多く見出されている。しかし、それぞれ単独ではまったく無害の遺伝子が一つの遺伝子型中に共存するようになるとその個体を死へと導く作用機作とか生理的経過に関してはどの植物においてもほとんど明らかにされていない。雨宮・明峯(1963)は稲の F_1 雑種致死の詳細な生理・生化学的研究の結果から、それがホルモンなどの特殊物質の不足によるものではなく、根端の呼吸あるいはそれに関連ある代謝系における生理機能の抑圧によるものと推測している。この報告で取扱う大麦の幼苗致死も、とくに幼根の伸長阻害が甚だしい点からみて、同様の原因によることが予想される。しかし大麦では、稲などの場合よりも、地下部はもちろん地上部の生育阻害がずっと早期に起り、したがって死への経過ははるかに急速なようであるから、致死遺伝子の作用を追跡するのにより一層好適した材料とも考えられる。それで、この種の研究の最初の手掛りを得る目的で致死性 F_1 雑種の形態、とくに根の組織の解剖学的特異性をしらべ、生育阻害の起り始める時期などについて若干の知見を得た。観察と調査の結果をとりまとめてみると、なお不完全で今後の研究にまつべき所も少なくないと思われたが、著者の一人がこの仕事を一時中断せねばならぬ状況になったので、ここに得られた知見の概要を予報的に記述することとした。

本実験を遂行するに当り種々御援助を与えられた林二郎・守屋勇の両氏に謝意を表する。また図の作製について小西猛朗氏の労を煩わしたことを記し、併せて同氏に感謝する。

実験材料と方法

致死性および正常個体の種子重や幼苗の発育状況の比較には、 L_{S_E} 遺伝子をホモに持つことの明らかなエチオピア産大麦の6系統、すなわち、E. 36, E. 290, E. 454, E. 474, E. 484 および E. 444 と、両劣性 $l_{S_E} l_{S_E} l_{S_M} l_{S_M}$ 型の早木曾2号との F_1 雑種に、 L_{S_M} 遺伝子をホモにもつ夏大根麦をかけたもの (A)、あるいは夏大根麦×早木曾2号の F_1 にエチオピアの数系統をかけた三系雑種 (B)を造り、それらから分離してくる致死性および正常の個体を測定用材料として用いた。ただし種子重に関しては、播種前に乾燥粒を1

* 現岡山県新見農林事務所勤務

粒ずつ秤量記録しておき、幼苗の型がわかってから2種類の種子重を計算した。なお交雑の順序を異にするA、B2種類の三系雑種について測定した結果、同じエチオピア系統を用いたA、B両雑種間には調査した諸形質について統計的に有意な差がなかったので、A、B両雑種の調査結果を一緒にして平均値を求めた。これらの調査材料はすべて室内の北窓に近くおいた四面ガラス張りの20°Cの恒温箱中で育成した。播種床は飽和水量の60%の川砂床あるいは Myhill and Konzak (1967) の示したものにない、吸取紙に粒をはさみ、その紙の一端を水中に垂らしたものを使用した。

幼根の発育の解剖学的調査には、致死性幼苗材料としてE.36×夏大根麦のF₁交雑種子を、またその対照の正常型の材料としては、片親のE.36の種子を用いた。これらは25°Cのガラス製恒温槽中で砂耕培養し、それぞれ所定の時期に苗のサンプルをとって胚の部分を摘出し、直ちに Müntzing の改良ナワシン液で固定した後、パラフィン切片法によって厚さ8μに縦断あるいは横断した。切片はクリスタル・バイオレットとオレンジGの二重染色を行なった。なお、種子根の試料としては正常および致死型個体ともに発育のもっとも早い主根を用いた。そして予備調査の結果から、正常型と致死型の違いが置床後24時間ごろに明らかにあらわれてくることを知ったので、この時期を中心にして観察するようにした。試料は多数同時にまいたものの中から無作為的に毎回6個体を供試し、そのうちよい切片のできた3個体を観察測定に用いた。また、細胞分裂像の数は、前期、中期および後期までの像のものを対象に、各個体について根の中心部の10の縦断切片を観察して、それらの平均数であらわした。その他の縦断切片による組織観察には各個体ごとに根の中心部1切片を供用した。

結 果

1. 碩果の重さおよび幼植物の生長比較

粒 重：第1表には6種類の三系雑種の各々から分離して正常および致死型個体を生じた種子(碩果)、それぞれ約40の、置床前における平均重量が示されている。これらの

第1表 表示のエチオピア産6系統のそれぞれと早木曾2号と夏大根麦との三系雑種から分離した正常および致死性個体の発芽前における乾燥碩果の平均重量(単位g)

交 雑 親系統	正常型	致死型
E. 36	45.3±0.68	47.2±1.69
E. 290	48.2±1.54	51.5±1.51
E. 444	41.8±2.05	43.7±2.39
E. 454	44.5±1.38	43.7±1.84
E. 474	46.4±1.12	42.2±1.97
E. 484	46.7±1.76	45.9±1.79
平 均	45.5±0.89	45.7±1.37

粒はいずれも中央列約20の小花について芒だけを切除した上で交雑して得たものである。第1表の結果によると、どの交雑においても、粒重に関して正常型と致死型との間にはまったく差が認められないことは明らかである。

種子根の伸長：致死性F₁雑種および正常親のE.36の種子を25°Cで置床すると、24時間前後にはほとんどすべてが発根をはじめ、致死型と正常型との間に発根の時期についてははっきりした違いは認められなかった。しかし次の24時間には正常型の根が急速

な伸長を行なうのに反し、致死型の根の伸長はゆるやかであり、置床 48 時間以後はほとんど成長を停止した（第 1 図）。

正常および致死型植物の成長は温度によって著しい影響をうけ、とくに致死型の成長は 20°C においては、25°C の場合より可なり強く抑制されるようであった。この点については改めて報告の予定であるが、ここでは 6 種類の三系雑種を 20°C で育てた場合、正常型および致死型個体群が置床後 7 日において示した幼根数と最長根の長さをしらべ、それらの平均値を第 2 表に示した。この結果によると、正常型個体の根は速かに、かつ、持続的に伸長し、側根も 5 本以上が伸びたのに反

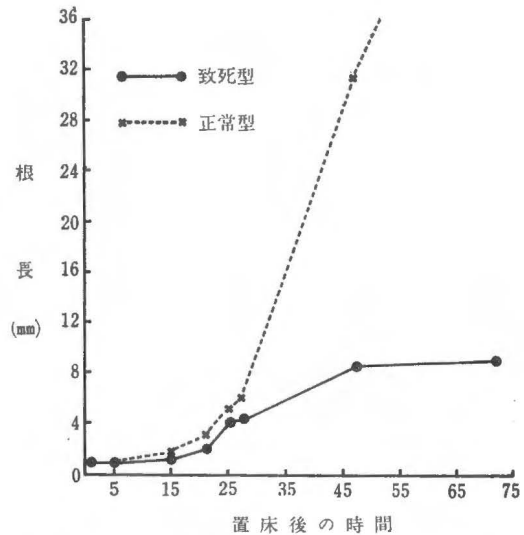
し、致死型個体の根は僅か 4 mm 内外しか伸びず、また側根も平均 1 本足らず発生したに止まり、発根後急速に活力を失ってしまうことがわかる。ことに E. 444 を親にした致死型個体は幼根が僅かに粒端から白くのぞく程度でその後はまったく伸長せず、他の 5 交雑から生じて来る致死性個体よりもさらに一層根の発育抑制が著しかった。

第 2 表 三系雑種から分離した正常および致死性個体の置床後 7 日における平均の幼根数と根長

交 雑 親 系 統	根 数 (7 日後)		根 長 (7 日後) mm	
	正 常 型	致 死 型	正 常 型	致 死 型
E. 36	6.4±0.11	2.3±0.22	48.1±1.25	4.2 ±0.46
E. 290	6.5±0.17	2.5±0.22	46.5±1.38	6.1 ±0.50
E. 444	5.9±0.11	1.0*	43.6±0.88	0.7*±0.17
E. 454	6.1±0.12	2.2±0.24	50.0±1.38	5.4 ±0.41
E. 474	6.3±0.13	1.7±0.18	48.5±0.99	4.7 ±0.27
E. 484	6.5±0.13	1.1±0.03	45.1±0.81	3.0 ±0.52
平 均	6.3±0.10	2.0±0.25	47.0±0.96	4.7 ±0.53

* の数字は平均値から除外

幼芽の伸長：幼根の成長開始と同時に地上部も伸長を始めるが、致死型の幼芽は正常型にくらべてその発育が著しくゆるやかである。第 2 図には E. 36×夏大根麦の致死性 F₁ 雑種とその一方の親 E. 36 の 25°C における置床から 48 時間に至る間の鞘葉と第 1 葉の長さの増加状況が示されている。この図に明らかなように、幼芽の伸長は置床後 15 時間ごろ

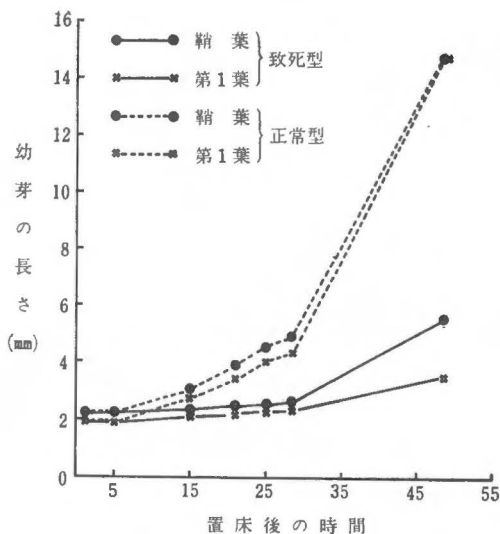


第 1 図 致死性 F₁ 雑種 (E. 36×夏大根麦) と正常型 (E. 36) との 25°C における種子根の初期伸長状況の比較

から始まるが、このころからすでに両者間に僅かながら差があらわれる。そして正常型は27時間以後には急速に伸長するのに反し、致死性F₁雑種では鞘葉も第1葉もごく僅かしか伸長しない。しかし、致死型の幼芽は完全に成長を止めるのではなくて、極めてゆるやかではあるが、その後も引き続き僅かずつ伸長し、また同時に分化を続けてゆく。

第3表には6種類の三系雑種を20°Cで育て、それらの各々から分離してきた正常型および致死型個体の幼芽が粒端から出現した日と播種後12日における草丈の平均値が示されている。この結果によると、幼芽が粒端から現れてくるのに、致死型は正常型の2倍

以上の日数を要する。また置床後12日における幼芽の長さについて、致死型は正常型の $\frac{1}{2}$ 以下である。この時期には致死型の葉は黄緑色を呈し、みるからに生氣を欠いている。なお、E. 444との雑種から生じた致死型個体は幼根はもちろん幼芽もほとんど伸びず、粒端から芽の現われるものはごくまれである。



第2図 致死性F₁雑種 (E. 36×夏大根麦) と正常型 (E. 36) との25°Cにおける幼芽伸長状況の比較

第3表 三系雑種から分離した正常および致死性個体の出葉日 (幼芽の顕端から現われた日) と置床後12日の草丈

交 雑 親 系 統	出 葉 日		草 丈 (12日後) mm	
	正常型	致死型	正 常 型	致 死 型
E. 36	4.5	8.9	213±5.43	17±1.62
E. 290	4.4	9.0	220±5.47	33±2.82
E. 444	4.2	—	207±5.15	—
E. 454	4.3	8.2	204±4.83	29±3.07
E. 474	4.0	8.2	212±5.35	24±1.89
E. 484	4.1	8.5	209±5.85	19±2.56
平 均	4.3	8.5	211±2.27	24±2.99

上述の諸結果に明らかなように、ここに取り扱った大麦の致死性雑種は、母植物上にある間はその致死遺伝子の影響をまったくうけないようであるが、一旦独立して発芽を始めると同時にその強力な作用を受けて、地下部はもちろん地上部も著しく生長が抑制され活力を失って、急速に死の転帰をたどるに至るものとみられる。

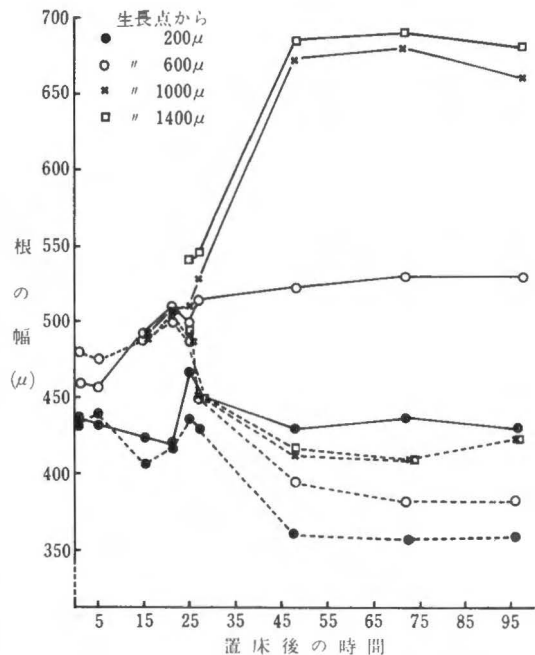
2. 種子根の形態と組織の観察

致死性 F_1 雑種の種子はその大きさや重さについて正常型の種子とほとんど違いのないことはさきに述べた。いま吸水後間もない胚の切片について致死性 F_1 と E. 36 の間の比較を行なってみると、幼芽の部分の諸器官の分化の程度や幼根の大きさなどに関してまったく差が認められない。幼根の全長はどちらも約 850μ で、また根冠を除く根の先端部から 200μ および 600μ の部分における太さはそれぞれ 430μ および 470μ 内外であった。そして、置床直後から 15 時間後くらいまでの間は、幼根の表皮、皮層および中心柱のいずれの組織においても細胞の大きさや形やその配列について致死型と正常型 (E. 36) との間にとくに認めうべき明らかな違いはなかった。

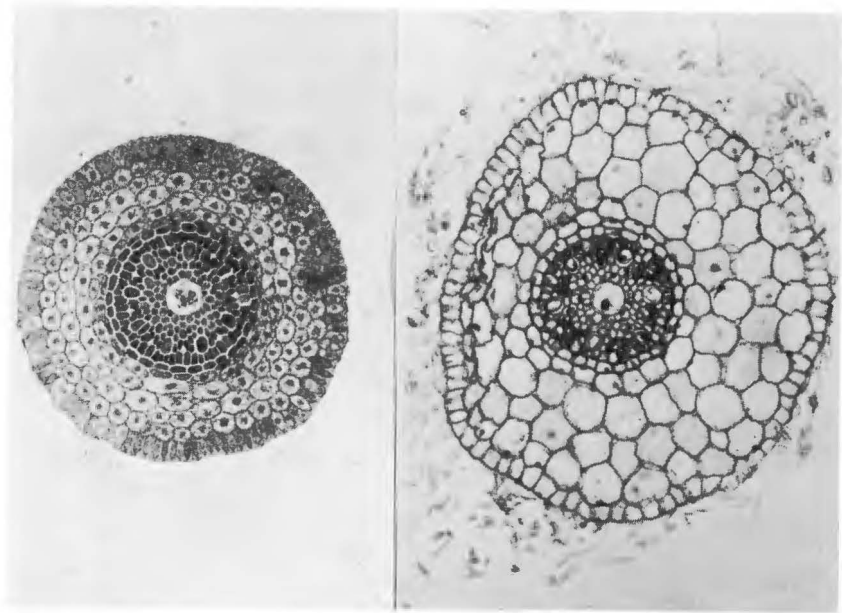
しかし置床後 21 時間ごろからようやく雑種の幼根に、E. 36 のそれに比して、伸長の遅れが認められはじめ、その後数時間で両者の長さの差は著しく顕著となり、同時に根の外観にも違いがあらわれてくる。とくに注目されるのは雑種の根の先端部の肥大と褐変である。第 3 図は置床 1 時間後から 96 時間後に至る間に数回正常型と F_1 雑種の幼根をとり、それらの各部分の幅を測定した結果を示したものである。これによると、置床後 25 時間までは正常型と F_1 雑種の間に根の幅についてほとんど違いはないが、置床後 27 時間から 48 時間の間に、 F_1 雑種の根の、生長点から 600μ 以上の部分に、急速な肥大が起ることがわかる。そして F_1 のもっとも幅広い部分は正常型の同じ部分の 1.7 倍にも達する。このような根端の異常肥大の結果として、 F_1 雑種の幼根はどれも棍棒状となる。そして、2~3 日のうちに褐色になり、表面にかなり顕著な凹凸がみられるようになる。

このような幼根の外観の異常にともない、その内部組織における細胞の形や大きさ、あるいは根端における細胞分裂の頻度などにも顕著な違いが現われてくる。

まず、置床後 1 時間から 48 時間までの間適宜の時刻にとった種子根の縦断切片について、表皮、皮層および中心柱の組織細胞の平均の幅 (但し中心柱では組織の直径) を根端から 400μ まで、 $400\sim 800\mu$ 、 $800\sim 1200\mu$ および $1200\sim 1600\mu$ の部分別に測定し、 F_1 雑種と正常型 E. 36 とを比較した。その結果、置床後 24 時間ごろまではどの組織のいずれの部分の細胞幅についても F_1 と正常型との間に違いは認められなかった。しかし置床 27 時



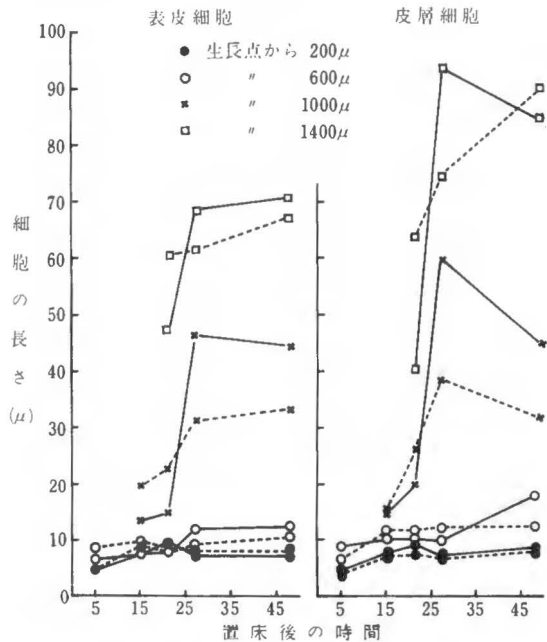
第 3 図 致死性 F_1 雑種 (実線) と正常型 (破線) の幼根先端各部分の幅の変化状況比較



第4図 正常(左)および致死性 F_1 雑種(右)の置床後48時間における主根の根端(根冠部を除く)から 1000μ の部分の横断面比較。 F_1 雑種では細胞が肥大し、不整形で、内容が空虚である。また毛根が多数生じている。

間から48時間の間に、根端から 1200μ 以上の部分の、とくに皮層の細胞において著しい肥大が起ることが認められた。その状況は F_1 および E.36 の置床48時間後における根端から 1000μ の部分の横断切片を示した第4図に明らかである。すなわち、E.36の根の組織は一見整然として細胞の形も正常であるのに反し、 F_1 雑種の根の、とくに皮層の部分では細胞が著しく拡大して不定形となり、細胞壁に皺曲が目立つ。

つぎに、根の各組織の細胞の縦方向への伸長状況を、細胞の横幅の測定に供したと同じ根の縦断切片について測定した。第5図には表皮および皮層組織の細胞の長さが、根端から種々の部分別に示されている。この図で注目されるのは、置床後21時間から27時間に



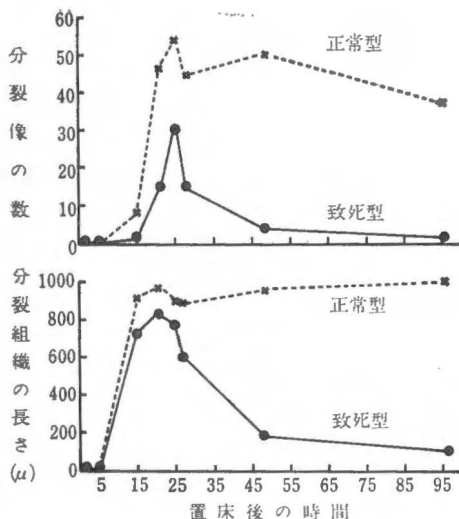
第5図 致死性 F_1 雑種(実線)および正常型(破線)幼根根端の各部分における表皮細胞(左)および皮層細胞(右)の平均の長さの比較。致死型では置床21~27時間後に急速な縦の伸長がみられる。

かけて、表皮と皮層の両組織の根端から800 μ 以上の部分に急速な縦方向への細胞伸長が起り、そしてこの場合F₁雑種の根の方が正常型の根より伸長率が可なり大きいことである。

致死性F₁雑種の生育障害の様相をもっとも明瞭かつ直接的に示す事実は根端における細胞分裂像の数と分裂機能のある組織の大きさの比較調査から得られた。第6図に示すように、25°Cで育てた場合、置床後15時間には正常型E.36の根に若干の分裂像が認められはじめ、F₁雑種の根端の表皮の部分においてもごく少数ながら最初の分裂像が見出された。

そして置床後21時間目には正常型もF₁雑種でも分裂像の数は可なり増加し、25時間後にはともにそれぞれの最高数に達した。もっとも、この場合正常型の54に

対して致死性F₁ではその半数強の30位であって、F₁は正常型より細胞分裂能力がもっとも可なり低いことを示している。そしてその後2時間たった置床27時間後の根では、正常型が僅かの頻度低下を示したのに対して、F₁雑種では急激に減じて半数の15となり、さらに48時間後の根では、正常型の51に対し、4.3とさらに一層の減少を示した。このことは、F₁雑種の根端の分裂組織にある細胞の多くは第1回の分裂を終るとその後は分裂不能に陥るのではないかと推測される。それで次には根端の縦断切片について、根端（根冠部を除く）から、胚の方へ向って、最も遠いところに見られる分裂像までの距離を測定比較してみた。これは一応根端の分裂可能な組織の大きさを示すものと考えられるが、第5図に示したように、正常型のE.36の根では、その長さは700～1000 μ であって、置床27時間以後はほとんど一定である。これに反して、致死性F₁雑種の根では置床21時間後を頂点として、その後、25、27時間には僅かずつその長さは短くなり48時間後の根では最盛期の約5分の1の200 μ になってしまうことがわかる。したがって、F₁雑種では根端の細胞増殖能力が急速に衰えて根の機能を失うものと考えられる。



第6図 致死性F₁雑種（実線）と正常型（破線）の幼根端で見られた細胞分裂像の数（上図）と分裂組織の長さ（根端から胚へもっとも近い分裂像に至る距離）の比較

摘

要

大麦の品種間雑種の幼苗致死をもたらす優性補足遺伝子のはたらき方についての研究の手掛りを得る目的で、致死性F₁雑種と正常型個体の幼苗の生育とその内部および外部形態の比較を行なった。主材料には致死遺伝子L_{SE}とL_{SM}をそれぞれ保有することの明らかなエチオピア産の数系統、とくにE.36、と夏大根麦とのF₁雑種を用いた。結果は次の如く要約される。

致死性 F_1 雑種は種子の形、大きさなどについて正常型とまったく変りがなく、また発芽のごく初期までは何等の異常も示さない。しかし 25°C に置床して大体一昼夜くらいたつと正常型との間に次のような顕著な違いが生じ、置床 48 時間後には幼根の発育はほぼ停止する。なお幼芽の部分も幼根と同様に、発芽開始直後から強い発育抑制が認められ、ふつう第 2 葉の展開前に黄化して枯死する。

1) 根端の細胞分裂は置床後 25 時間に最高頻度に達するが、当時の F_1 雑種の分裂細胞数は正常型の約 $3/5$ 程度であり、しかもその後急速に減少する。根端の分裂組織の大きさも置床 21~25 時間後を最高として 48 時間後には最大期の $1/5$ 程度に縮小してしまう。

2) F_1 雑種の根では置床後 21~27 時間ごろ、その根端から 1 mm 以上離れた部分の、とくに皮層と表皮組織に急激な縦方向への細胞伸長、またそれに続いて水平方向への細胞伸長が起り、根端部はそのため異常肥大し、根の外観は棍棒状となる。

文 献

- 雨宮 昭・明峯英夫. 1963. イネの致死補足遺伝子に関する遺伝生化学的研究 (イネの胚培養に関する研究 3). 農技研報告 D. 10: 139—226.
- Myhill, R. R. and C. F. Konzak. 1967. A new technique for culturing and measuring seedlings. *Crop Sci.* 7: 275—276.
- 高橋隆平・林 二郎・守屋勇. 1971. 補足遺伝子による大麦雑種の幼苗致死の研究. I. その遺伝様式と関与遺伝子の地理的分布. 農学研究 53 (4): 197—204.