

氏 名 (本籍)	お ぐろ ひと し 小 黒 仁 司
学 位 の 種 類	農 学 博 士
学 位 記 番 号	農 博 第 3 1 5 号
学 位 授 与 年 月 日	昭 和 5 9 年 3 月 2 7 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
研 究 科 専 攻	東 北 大 学 大 学 院 農 学 研 究 科 (博 士 課 程) 農 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	<i>Panicum</i> 属 , <i>Atriplex</i> 属 における C_3 種 と C_4 種 の 比 較 遺 伝 学 的 研 究 - <i>Panicum</i> 属 の 種 間 形 態 比 較 と <i>Atriplex</i> 属 の 種 間 交 雑 か ら の 検 討 -
論 文 審 査 委 員 (主 査)	教 授 日 向 康 吉 教 授 菅 洋 助 教 授 星 川 清 親

論文内容要旨

序 言

C₃型、C₄型といわれる光合成の炭酸ガス固定径路の違いは、植物の種がそれぞれの環境に適応してゆく中で獲得してきた特性であろうが、このような代謝系の違いが他の形質とどのような関連を保ちつつ形成されているのかについて理解を深めることは、種の分化を理解する面からも、また作物の遺伝的改良を進める上でも重要な問題である。

Panicum 属、*Atriplex* 属は、それぞれC₃種、C₄種を同じ属中に含んでおり、C₃種、C₄種の比較に好適な材料である。さらに *Panicum* 属のC₄種には脱炭酸径路を異にする三つの代謝型の変異も知られている。

本研究では、まず *Panicum* 属内の種を比較検討することによって上述の問題に接近することを試みた (第一章)。さらに、C₃種、C₄種を交雑し、その後代における遺伝的変異を検討する目的で *Panicum* 属および *Atriplex* 属のC₃、C₄種間の交雑を試みた。*Panicum* 属では不成功だったが、*Atriplex* 属のC₃種とC₄種の正逆交雑に成功したので、その後代について、光合成および葉の諸形質の比較検討をした (第二章)。

第一章 *Panicum* 属の C₃、C₄ 種の比較形態学 的研究

1. *Panicum* 属に含まれる C₃、C₄、中間型種の比較形態学と光合成特性

Panicum 属のC₃種とC₄種を比較すると、7万ルクスの光条件下における光合成速度 (Po) は、C₄種が明らかに高く、蒸散速度 (Tr) はC₃種が高かった (図-1)、それらの比である水利用効率 (Po/Tr) にも有意な差がみられ、C₄種がC₃種より高かった。

葉の解剖学的形態についてC₃種とC₄種を比較すると、C₄種は葉の厚さ (Tv) が厚く、維管束間距離 (Dv) が小さかった。従ってこれらの比 (Tv/Dv) は、C₄種がC₃種より大きく両種には明瞭な差がみられた (図-2)。中間型種はC₃種に近かった。横走維管束間距離もC₄種において小さく、また大維管束部分の導管断面積もC₄種がC₃種、中間型種に比較して大きかった。これらのことから、C₄種では葉の厚さとバランスを保ちながら、縦走および横走の維管束系を良く発達させていることがわかった。また単位葉面積当りの水分含量は、C₄種がC₃種より大きい傾向にあり、(図-3)、導管部位をはじめとする維管束系の発達は、C₄種において水の貯蔵にも有利に働くものと推定された。

気孔密度にはC₃種とC₄種の間には顕著な差が認められなかった。また、気孔密度と光合成速

度あるいは、蒸散速度の間にも相関がみられなかった。しかし、気孔密度と維管束系の発達の間には、C₃種、C₄種において、それぞれに特有の相関関係があることが判明した。これらは、いずれも正に相関し、維管束の長さ当りの気孔密度はC₃種が高くC₄種は低かった(図-4)。

葉の外部形態と葉の解剖学的形態の関係もC₃種とC₄種では異なっていた。C₃種においては維管束間距離が長くなると葉は幅広くなり、葉の角度も水平に近い体制をとった。C₄種においては、維管束間距離の長短と葉の幅の間に相関はなく、葉の角度は、維管束間距離が短い種ほど水平に近くなることが示された(図-5)。

各種内の変異をみるとC₃種および中間型種では一例を除いて葉面積比(S.L.A.)を高めると水利用効率が高まった(図-6)。これは、維管束間距離を大きくし、葉を薄く広げる適応体制が光合成と蒸散のバランスに好ましいことを示唆している。一方C₄種では、S.L.A.を低くすると水利用効率が高まった。これは、葉肉が厚くなることによって、蒸散を抑えて、光合成速度を高めることを示し、C₄種が乾燥条件への適応体制をもっていることが推察された。

2. *Panicum* 属内 C₄ 種間の分化

Panicum 属のC₄種間では気孔密度と維管束鞘間距離に差がみられ、この差異はC₄種内の脱炭酸代謝型のちがいと強い相関があることがわかった(図-7)。NAD-ME型の種は、PEP-CK型、NADP-ME型より気孔密度が小さく、維管束鞘間距離は大きかった。また、NAD-ME型に似た代謝系をもつ中間型種は、三つのサブタイプとは異なり、気孔密度も高く、維管束鞘間距離も大であった。

維管束鞘細胞内の葉緑体は、PEP-CK型およびNADP-ME型においては遠心的、NAD-ME型では求心的に配置することが知られており、本研究でもほぼ同様の結果を得た。しかし、NAD-ME型である *P. coloratum* var. *Kablaba* は遠心的な葉緑体配置を示す例外的な種であることがわかり、更にこの気孔密度はPEP-CK型に近く、維管束鞘間距離は、NAD-ME型の集団より小さいことが示された。このことから、気孔密度の差は、葉緑体の配置と密に相関していることが示唆された。

気孔の配列をみると、NAD-ME型は、維管束中心から気孔までの距離および気孔間隔の双方を変化させて種が変異していた。このことがNAD-ME型の気孔密度の低い要因と考えられる。一方、PEP-CK型、NADP-ME型は維管束から気孔までの距離がほとんど変わらず、気孔間隔に種間の変異がみられた。

生態学的研究により、NAD-ME型は、特に降雨量の少ない乾燥地に多く生育することが知られており(Ellis 1980)、NAD-ME型の維管束系の少なさと気孔密度の低さは、乾燥適応による変異と推察された。

第二章 *Atriplex*属および*Panicum*属における 種間交雑の試みとその後代の遺伝学 的研究

1. *Atriplex*属、*Panicum*属のC₃×C₄、C₄×C₃の種間交雑の試み

*Panicum*属植物は花器が小さいため、温湯処理、Ethrel処理などの大量除雄の方法を検討したが有効な手法は確立できなかった。そのため、各種の開花特性に合わせて、ピンセットで除雄する方法を適用して、C₃、C₄、中間型種間の交配を試みたが雑種植物は得られなかった。

*Atriplex*属では、*A. rosea* (C₄) と *A. patula* (C₃) の間に雄花の着花状態および無限伸長性に差が認められた。*A. patula*を母本とした場合には交配後も適確に除雄を重ねる事によって、また、*A. rosea*を母本としたときには、枝の先端部を切除することによって除雄し、種間で正逆交雑F₁が得られることがわかった(表-1)。

C₃(♀)×C₄(♂)の組合せでは、*A. patula*×*A. rosea* 1個体(交配花数、991花)、*A. hortensis* f. *lutea*×*A. rosea* 1個体(交配花数、143花)が得られたが後者は幼植物で枯死した。C₄(♀)×C₃(♂)の組合せでは、*A. rosea*×*A. patula* 3個体(交配花数、923花)と*A. rosea*×*A. hastata* 1個体(交配花数、625花)が得られたが、この場合も後者は幼植物で枯死した。*A. patula*×*A. rosea*および*A. rosea*×*A. patula*の花粉稔性は、前者が72%、後者が83%で、それぞれを自殖してF₂種子を得ることができた。

2. *Atriplex*属C₃×C₄正逆雑種およびその後代の形態的特性と光合成特性

2-1. 雑種F₁

外部形態は、*A. rosea* (C₄)×*A. patula* (C₃) (以下C₄×C₃と記す)、*A. patula* (C₃)×*A. rosea* (C₄) (以下C₃×C₄と記す)のいずれもが*A. patula*に似ていたが、*A. patula*の特徴である十字対生はくずれ、ほぼ中間的な葉序であった。葉の内部形態は、正逆雑種とも維管束鞘細胞(B.S.C.)が発達不全であり、葉緑体は葉肉全体に分布していた。C₃親のδ¹³C値は-26.6‰であり、C₄親のそれは-17.5‰であった。C₃×C₄F₁は20.5‰で両親の中間の値を示した。C₄×C₃F₁の3個体は-34.6(‰)、-31.9(‰)、-30.7(‰)で、C₃親よりもさらに低かった。正逆交雑のF₁は形態的に類似するがδ¹³C値は異なり、¹²Cを分別する代謝活性が異なることが示唆された(図-8)。

2-2. 雑種F₂の外部形態

得られた雑種F₂個体は、C₃×C₄の組合せで52個体であり、このうち7個体は、子葉、葉

序、葉形等に変異が生じた。 $C_4 \times C_3$ では、22個体のうち1個体に変異が生じていた。花粉稔性は両親（98%以上）より低くほぼ74%~92%の範囲にあった。外部形態に変異が生じ花粉稔性が52%であった $C_3 \times C_4$ の1個体を除き、減数分裂期の染色体行動は正常であった。

2-3. 雑種 F_2 の内部形態

B.S.C.内に葉緑体の存在した個体は、 $C_3 \times C_4$ で2個体、 $C_4 \times C_3$ では、1個体であった。次に、 C_3 親、 C_4 親で差のみられる主要な8形質についての比較をまとめて図-9に例示した。 C_4 親を100とし、雑種 F_2 の形質の変異をみると、ある形質は C_3 親的に変異し、また、ある形質は C_4 親的に変異しており、全形質が C_4 親（楕円上）に重なる個体は出現しなかった。

2-4. 雑種 F_2 の光合成速度、蒸散速度、暗呼吸速度等

C_3 親と C_4 親の間には、光-同化曲線に顕著な差がみられるが、 $C_3 \times C_4$ の F_2 個体は、弱光下でも強光下でも C_3 親と同程度かあるいは、それよりも低く、 $C_4 \times C_3$ ではいずれも C_3 親より低かった（図-10：数個体の例を示す）。弱光（5,000ルクス）下と強光（60,000ルクス）下における光合成速度と蒸散速度をみると、雑種 F_2 個体は、蒸散速度の変異が大きく、強光下では、蒸散速度に比して光合成速度が増大しないことが示された（図-11）。暗呼吸速度は、 $C_3 \times C_4$ では、両親に近いものから中間的なものまで広く変異し、 $C_4 \times C_3$ では、 C_4 親に近いもの、 C_3 親に近いものがみられた（図-12）。 $\delta^{13}C$ 値は、図-8に雑種 F_1 の結果とともに示した。 $C_3 \times C_4$ の F_2 は、 $-22.9 \sim -28.2\%$ まで変異したが、全体的に C_3 親に近く $C_4 \times C_3$ もやはり C_3 親に近い値をとることが示された。

3. *Atriplex*属の F_3 、 $C_3 \times F_2$ および F_1 個体における CO_2 補償点、光呼吸、クロロフィル a/b 比

本節では、 F_2 植物において種々の葉形質に変異が生じた系統を F_3 に展開し供試するとともに $C_3 \times F_2$ 、および新たに得られた F_1 植物も比較に供した。

雑種 F_3 は、形態的には F_2 でみられた子葉や葉序の乱れがなお出現し、生育も両親にくらべ悪かった。 CO_2 補償点（C.C.P.）は F_3 においては、 C_3 親より若干低い個体もみられたが C_4 親に近い値をとるものはなかった。また正逆雑種間に顕著な差はみられなかった（図-13）。

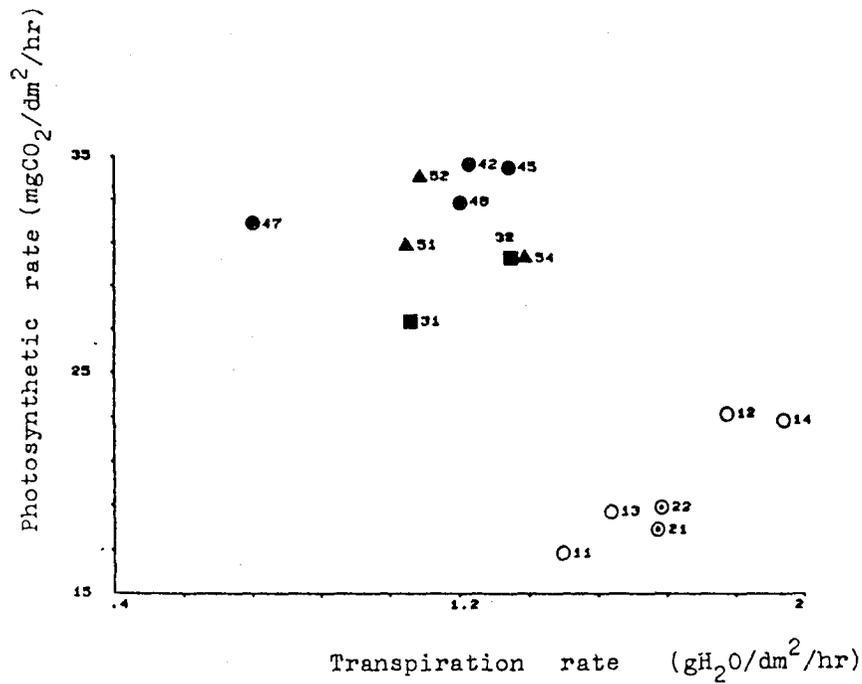
$C_3 \times F_2$ 個体は、 C_3 親より10 ppm程度低いC.C.P.を示す個体が1個体みられた。雑種 F_1 は、 C_3 親より低く、10~20 ppmのC.C.P.を示した。光呼吸活性は、測定した5個体の F_3 においては、いずれも C_3 親に近い値を示した。クロロフィル a/b 比は、 C_4 親が C_3 親より高く、雑種 F_3 では、クロロフィル総量の変異が大きいにもかかわらず、ほぼ両親の中間の値をとる

個体が多かった。 $C_3 \times F_2$ 個体のクロロフィル a/b 比は C_3 親に近く、雑種 F_1 のそれは、 C_4 親に近いことがわかった。

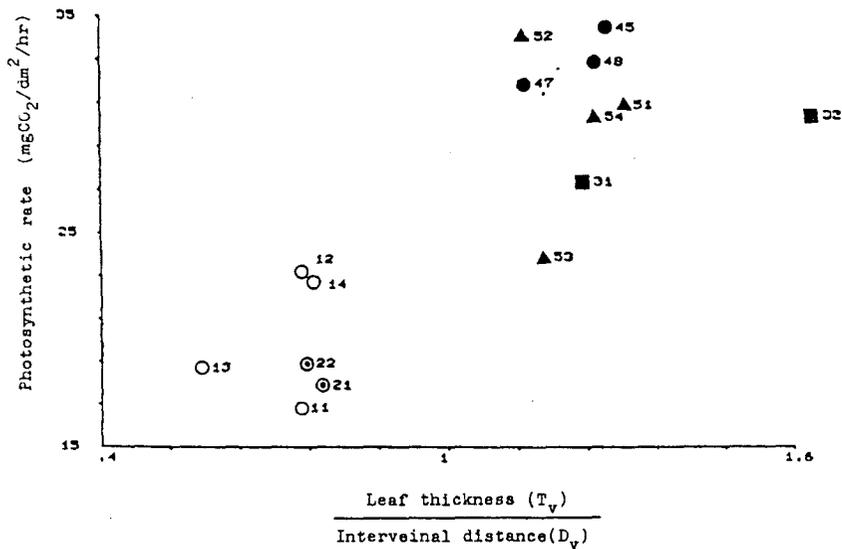
結 語

本研究で材料とした *Panicum* 属の C_3 種 C_4 種は、自然に成立している種であるが、これらを比較すると、光合成系のみならず、維管束系と気孔系も一定の法則性を保ちつつ変異しており、水分代謝系もまた適応的に変異していることが指摘できた。

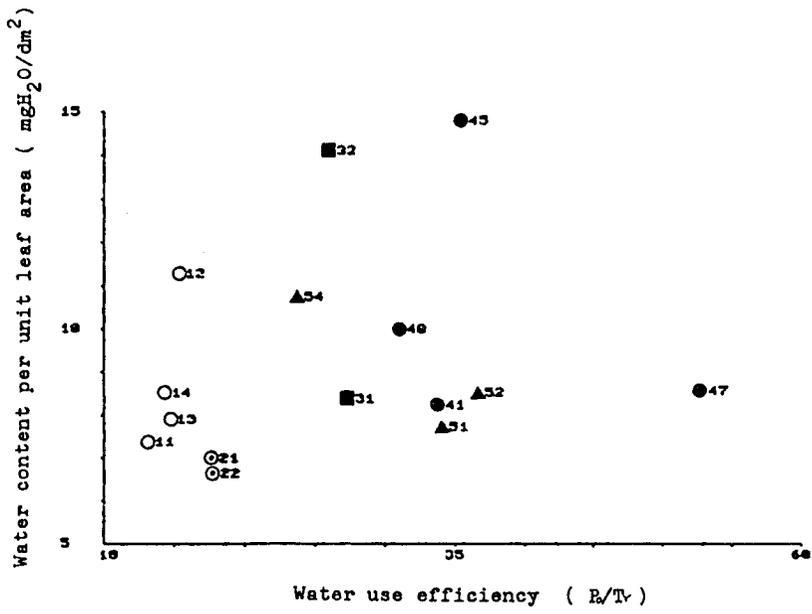
さらに、*Atriplex* 属の光合成系を異にする種間で人為種間交雑を試み、その後代を検討した。このうち、*A. rosea* (C_4) \times *A. patula* (C_3) は、Björkman ら (1971) も成功し分析しているところであるが、本研究では、その正逆交雑に成功し、特に葉構造に焦点をあてて雑種後代の特性を検討した。一部形質については、細胞質の関与が示唆されるが、核遺伝子の支配が相対的に強いことがわかった。また、このような光合成系の異なる種間雑種では、 F_2 、 F_3 における遺伝質の分離が顕著で、葉組織の整合性が得られず、光合成活性が低下するものと思われた。 C_3 種に C_4 光合成系を導入することを考えると、このような葉組織の整合性をどのように組み立てるかが主要な問題であると考えられる。



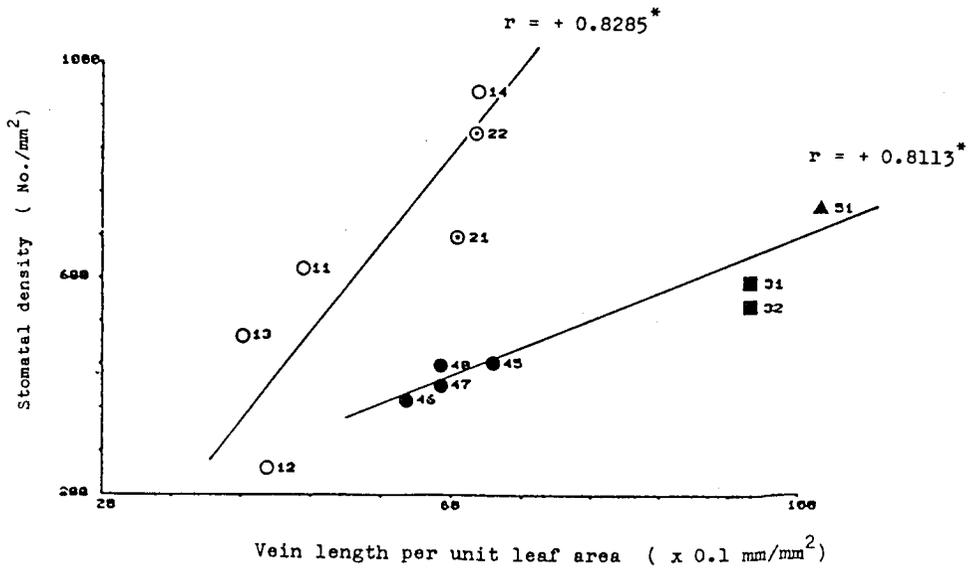
第1図 *Panicum* 属におけるC₄種, C₃種, 中間型種の光合成速度と蒸散速度の関係
 (○) C₃種, (●) 中間型種, (■) C₄ NADP-ME型,
 (●) C₄ NAD-ME型, (▲) C₄ PEP-CK型



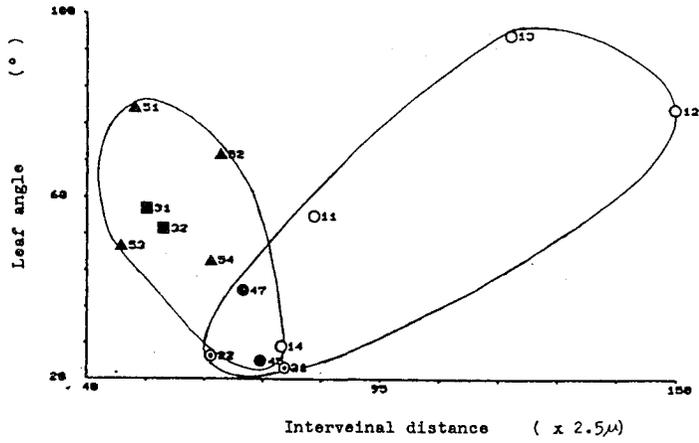
第2図 *Panicum* 属における光合成速度と(葉の厚さ/維管束間距離)の関係



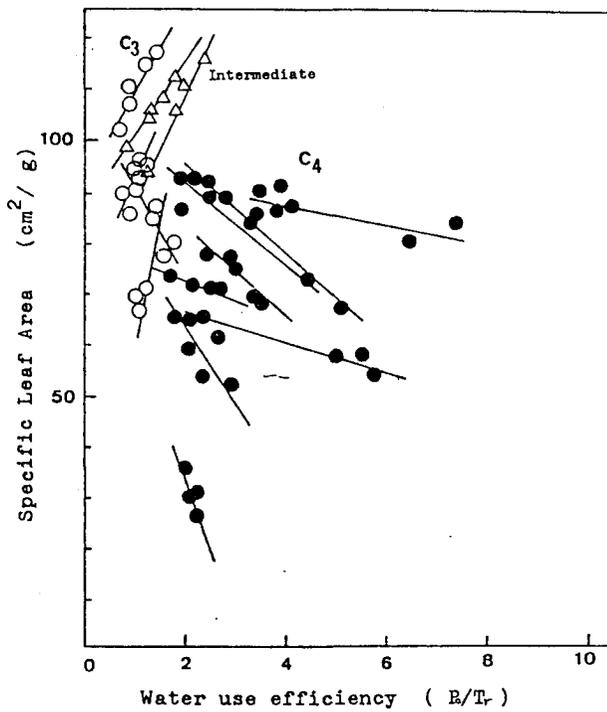
第3図 *Panicum* 属における単位葉面積当りの水分含量と水利用効率の関係



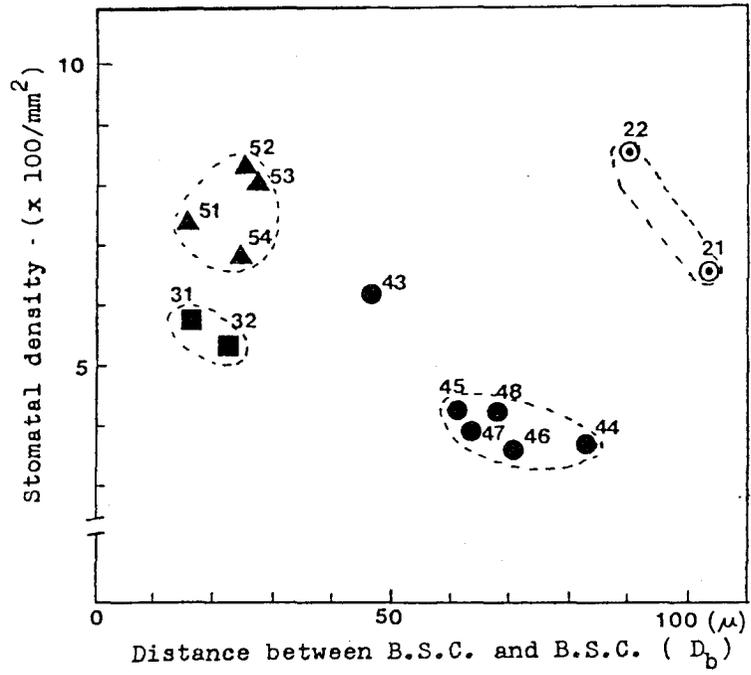
第4図 *Panicum* 属における気孔密度と維管束の長さの関係



第5図 *Panicum*属における葉の角度*と維管束間距離の関係
 * 止葉から数えて二番目の葉を測定した。角度は、母茎から葉の表面までとした。



第6図 *Panicum*属の葉面積比と水利用効率の関係
 各speciesの個体間による傾向をC₃種(○), 中間型種(△), C₄種(●)で比較した。

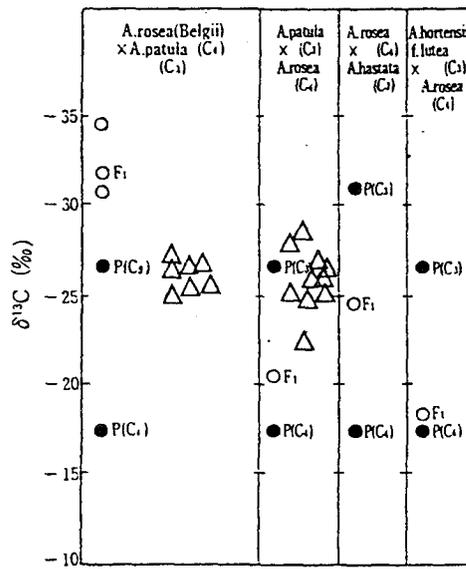


第7図 *Panicum* 属のC₄種の三つのサブタイプおよび中間型種における気孔密度と維管束鞘間距離の関係
 (■) NADP-ME型, (●) NAD-ME型,
 (▲) PEP-CK型, (◎) 中間型種

第1表 *Atriplex* 属におけるC₃ × C₄種間の正逆交雑実験

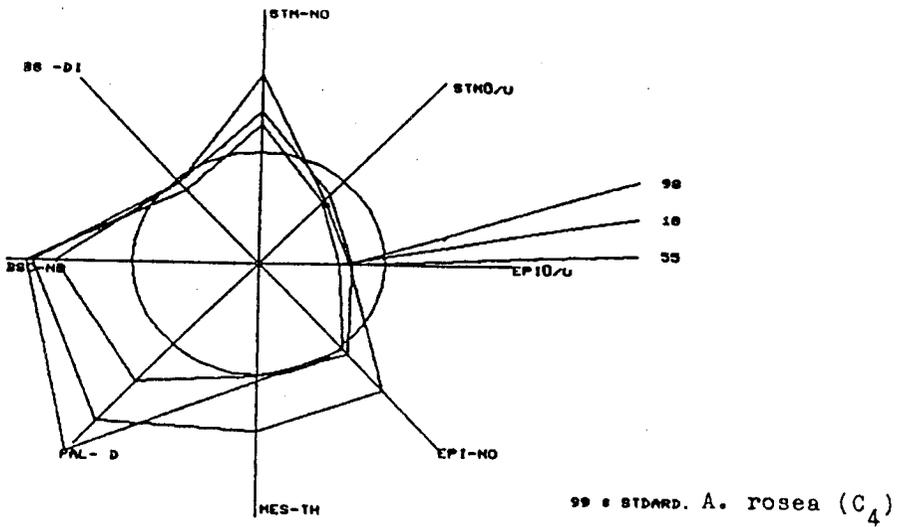
Cross combinations		No. of flws. crossed	No. of seeds obtained	Percentage(%) * seeds obtained	True Hybrid
(C ₃)	X (C ₄)				
<i>A. rosea</i> (Belgii)	X <i>A. patula</i>	923	85	9.21	3
<i>A. rosea</i> (Israel)	X <i>A. patula</i>	121	9	7.44	0
<i>A. rosea</i> (Belgii)	X <i>A. hastata</i>	625	135	21.60	1
<i>A. rosea</i> (Israel)	X <i>A. hastata</i>	186	86	46.24	0
<i>A. rosea</i> (Belgii)	X <i>A. hortensis</i> f. <i>rubra</i>	133	25	18.80	0
<i>A. rosea</i> (Israel)	X <i>A. hortensis</i> f. <i>rubra</i>	58	8	13.79	0
<i>A. rosea</i> (Belgii)	X <i>A. hortensis</i> f. <i>lutea</i>	51	0	0.00	0
<i>A. rosea</i> (Israel)	X <i>A. hortensis</i> f. <i>lutea</i>	64	18	28.13	0
<i>A. rosea</i> (Belgii)	X <i>A. hortensis</i> L	61	10	16.39	0
<i>A. sibirica</i>	X <i>A. hortensis</i> f. <i>lutea</i>	25	6	24.00	0
(C ₃)	X (C ₄)				
<i>A. patula</i>	X <i>A. rosea</i> (Belgii)	991	113	11.40	1
<i>A. patula</i>	X <i>A. rosea</i> (Israel)	73	3	4.11	0
<i>A. hastata</i>	X <i>A. rosea</i> (Belgii)	194	18	9.28	0
<i>A. hastata</i>	X <i>A. rosea</i> (Israel)	57	5	8.77	0
<i>A. hortensis</i> f. <i>rubra</i>	X <i>A. rosea</i> (Belgii)	97	20	20.62	0
<i>A. hortensis</i> f. <i>rubra</i>	X <i>A. rosea</i> (Israel)	34	0	0.00	0
<i>A. hortensis</i> f. <i>lutea</i>	X <i>A. rosea</i> (Belgii)	143	31	21.68	1
<i>A. hortensis</i> f. <i>lutea</i>	X <i>A. rosea</i> (Israel)	140	2	1.43	0
Total		3974	574		6

* (%) = $\frac{\text{No. of seeds obtained}}{\text{No. of flws. crossed}} \times 100$

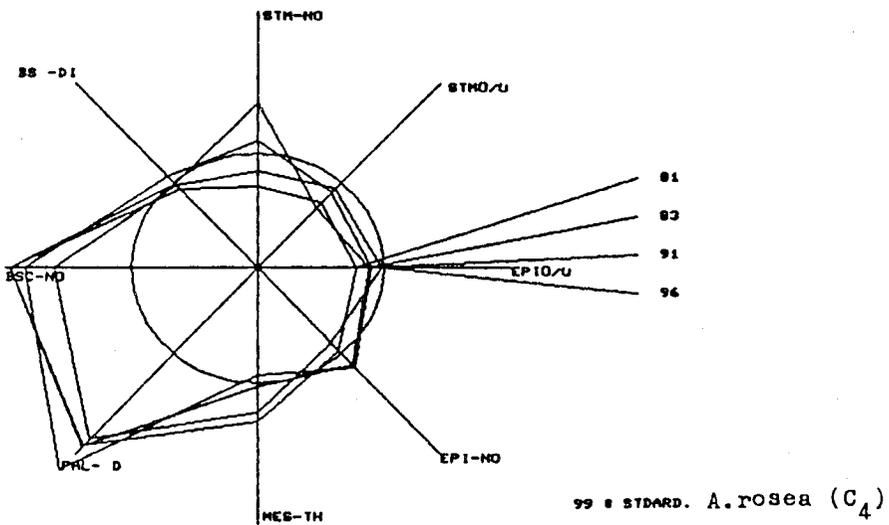


第8図 *Atriplex* 属の $C_3 \times C_4$ 正逆雑種 F_1 , および F_2 とその交配親の炭素同位体分別値 ($\delta^{13}C$)

● P : 両親 ○ : F_1 , △ : F_2



A
A. patula (C₃) x *A. rosea* (C₄)



B
A. rosea (C₄) x *A. patula* (C₃)

第9図 *A. rosea* (C₄) を基準(楕円)とした場合の雑種F₂における主要8形質の変異。

A : *A. patula* x *A. rosea* のF₂の数個体の例

B : *A. rosea* x *A. patula* のF₂の数個体の例

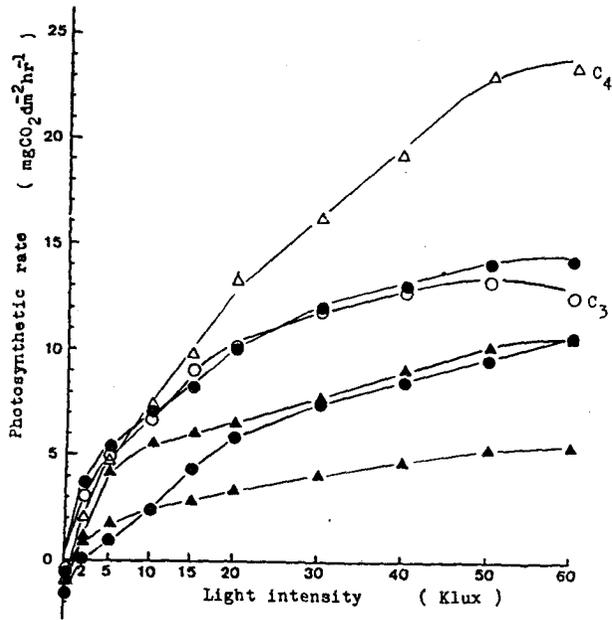
STM-NO : 気孔密度, STMO/U : 気孔密度比(表/裏),

EPIO/U : 表皮細胞密度比(表/裏), EPI-NO : 表皮細胞密度,

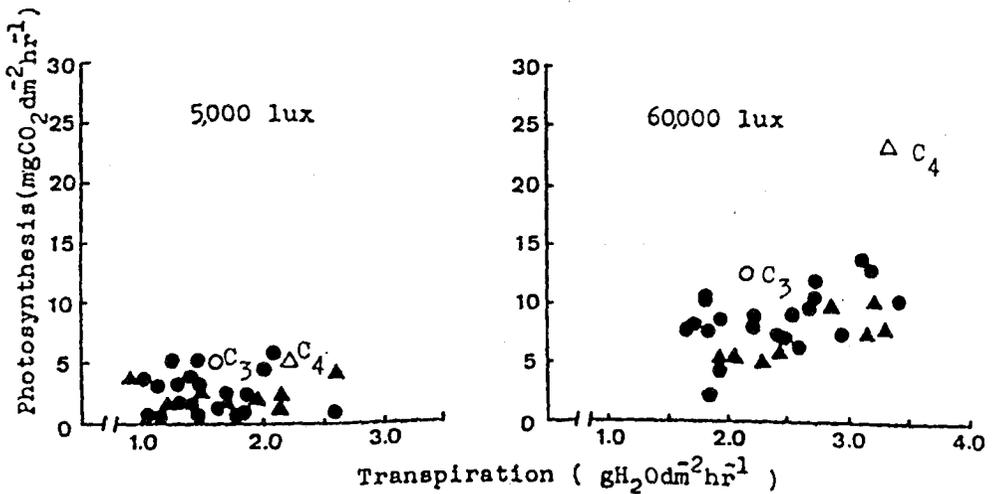
MES-TH : 葉肉の厚さ, PAL-D : 柵状組織細胞密度,

BSC-NO : 維管束鞘細胞数, BS-DI : 維管束鞘細胞を含めた維

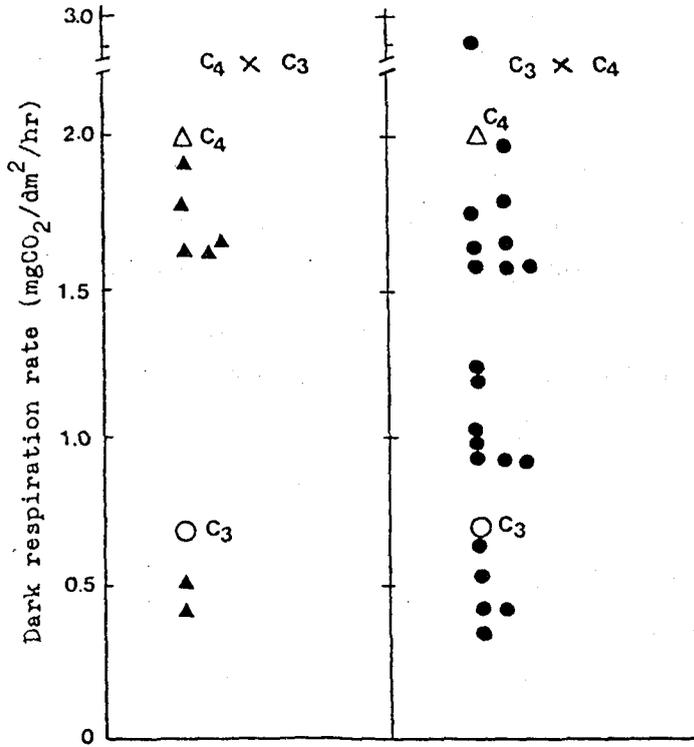
管束の直径



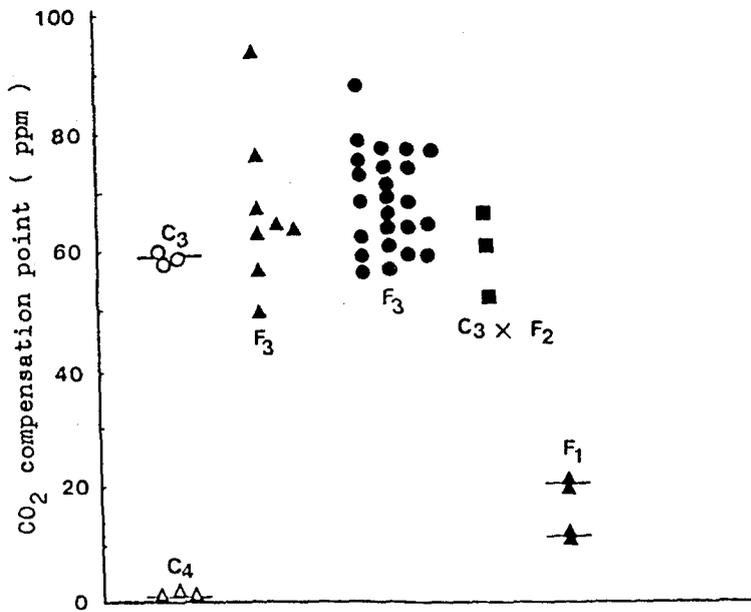
第10図 *A. rosea* (C₄), *A. patula* (C₃) およびその正逆雑種F₂の光-同化曲線, C₃ × C₄ (●), C₄ × C₃ (▲) の数個体の例。
21% O₂ 濃度, 0.03% CO₂ 濃度, 28 ± 2°C 葉温



第11図 弱光(5,000ルクス)および強光(60,000ルクス)下における正逆雑種F₂と両親の, 光合成速度および蒸散速度の比較
(●) C₃ × C₄, (▲) C₄ × C₃



第12図 正逆雑種F₂および交配親の暗呼吸速度



第13図 正逆雑種F₃, C₃ × F₂, F₁におけるCO₂補償点と交配親のそれとの比較
 (▲) C₄ × C₃, (●) C₃ × C₄, (■) C₃ × (C₄ × C₃)

審 査 結 果 の 要 旨

本研究は、高等植物の光合成系の変異型であるC₃光合成系とC₄光合成系の遺伝・分化の問題を種間比較および交雑実験を用いて解析したものである。

第一章においては、Panicum属中に含まれるC₃種・C₄種、中間型種を比較検討し、葉における水の出入口である維管束系と気孔数の間に、C₃種・C₄種それぞれに一定の関係があることを認め、C₃種およびC₄種がそれぞれに水分条件について適応していることを明らかにした。またC₄種内では脱炭酸酵素型によってもそれが異っていることを指摘した。これらの事から、C₃種・C₄種は光合成系と水分代謝系が関連を保ちつつ適応的に分化していることを明らかにした。

第二章においては更に、Atriplex属のC₃種とC₄種の正逆交雑に世界ではじめて成功し、そのF₂、F₃の後代について詳細な観察を行う一方、光合成の特徴と葉の組織形態の関連性を検討した。F₂以降においてはC₃型の光合成系をもつ個体のみが出現することを観察して、その理由の一つを葉の組織解剖的整合性の面から検討し、C₄光合成系は高度に組織化された系であって、その出現には相当数の遺伝子の組合せが必要であることを指摘した。

以上本研究は、光合成系の適応的変異および遺伝発生について、新しい知見を加えたものであって、本論文の著者に農学博士の称号を授与するに値するものと判定した。