

氏 名（本籍） まつ 松 ざわ 澤 やす 康 お 男

学位の種類 農 学 博 士

学位記番号 農 第 227 号

学位授与年月日 昭和 57 年 11 月 11 日

学位授与の要件 学位規則第 5 条第 2 項該当

学位論文題目 アブラナ科作物の種・属間交雑
親和性に関する研究

学位論文題目（主 査）

教授 角田重三郎 教授 高橋成人

助教授 日向康吉

論文内容要旨

アブラナ科作物の種・属間交雑による遺伝育種学的研究は、今世紀の初頭より勢力的になされ、MORINAGA (1928, 1929, 1931, 1934) は、*Brassica* 属のゲノム分析を行い、本属の栽培種が三つのモノゲノム種と、それらの間に生じた複二倍体種から成り立っていることを明らかにした。次いで U (1935) は、a ゲノム種の *B. campestris* と c ゲノム種の *B. oleracea* との交雑から、既存種の *B. napus* とゲノム組成を同じくする人為複二倍体種を育成した。また、*Brassica* 属と近縁の *Raphanus* 属との交雑は、KARPECHENKO (1927) や TERASAWA と SHIMOTOMAI (1928) によってなされ、属間の新しい複二倍体種が合成された。

このような基礎的研究を土台に、その後多くの研究者が種・属間交雑を行い、いくつかの育種的成果を得ている。現在、これら種・属間交雑の育種は、有用形質の他種属からの導入や新種の合成による新型野菜の育成、核・細胞質の相互交換による雄性不稔系統の育成等の目的で進められている。

種・属間交雑の成否は、各々の組合せに用いた種や品種によって異なっており、兩種属間の生殖的隔離機構である交雑不親和性の質的、量的相違によって左右されるものと考えられる。

本研究は、*Brassica* 属の三つのモノゲノム種、*B. campestris*、*B. nigra*、*B. oleracea* および *Raphanus* 属の *R. sativus* の計四種の種・属間交雑を多数の品種を用いて試み、交雑不親和性の特徴を明らかにしたものである。すなわち、交雑不親和性には、種の組合せ或は交雑方向により、pre-zygotic 型(花粉発芽から受精に至る過程)の不親和性が強い場合と、post-zygotic 型(雑種胚の形成と発育過程)の不親和性が強く働く場合があることを明らかにし、それぞれの交雑組合せにおける不親和性解消の問題を、自家和合性母本の選択、胚或は子房培養法の適用と培養時等の好適温度条件の選択との観点から考察して交雑実験を行い、これらすべての種・属間雑種を作出する可能性を検討した。一つの交雑組合せを除くすべての組合せで雑種 F₁ 植物を作成することができ、さらに、いくつかの複二倍体系統を育成できた。

1. Pre-zygotic 型交雑不親和性

種・属間交雑の障害は、はじめ異種雌ずいでの花粉発芽および花粉管伸長過程にみられ、pre-zygotic 型不親和性といわれている。本実験では、pre-zygotic 型不親和性を指数で表わす方法を用い、種間の組合せによって結果をまとめたのが表 1 である。各々の交雑組合せやその方向によって指数が異なり、また同一組合せ内でも使用品種の組合せによって幅広い変異を示し、品種によって親和性を異にしていた。種間の交雑組合せで比較すると、一般に *B. campestris* を母本にした場合にはいずれの種属の花粉も発芽状況が良好であった。しかし、*R. sativus* を母本とした場合にはこの指数が低かった。

表1. *Brassica* 属と *Raphanus* 属の種・属間交雑の花粉発芽状況

| 雌蕊親 | 花粉親 | <i>B. campestris</i> | <i>B. nigra</i> | <i>B. oleracea</i> | <i>R. sativus</i> |
|----------------------|-----|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| <i>B. campestris</i> | | | A : 2.7 B : 1.9~3.5 C : 25 | A : 3.0 B : 0.6~3.9 C : 42 | A : 3.3 B : 1.1~4.0 C : 32 |
| <i>B. nigra</i> | | A : 2.7 B : 2.3~3.0 C : 6 | | A : 3.3 B : 2.9~3.6 C : 6 | A : 1.1 B : 0.8~1.6 C : 15 |
| <i>B. oleracea</i> | | A : 2.4 B : 0.7~3.8 C : 32 | A : 2.2 B : 0.4~3.5 C : 24 | | A : 2.6 B : 1.4~3.4 C : 22 |
| <i>R. sativus</i> | | A : 1.3 B : 0.1~3.2 C : 26 | A : 0.7 C : 0~3.2 C : 24 | A : 1.2 B : 0~2.9 C : 24 | |

A : 平均花粉発芽指数, B : 花粉発芽指数の範囲, C : 調査組合わせ数

$$\text{花粉発芽指数} = \frac{b+2c+3d+4e}{a+b+c+d+e}$$

- a : 柱頭に花粉粒がみられない雌蕊数
- b : 柱頭に花粉粒がみられるが、発芽していない雌蕊数
- c : 柱頭上で花粉が発芽しているが、花柱へ伸長していない雌蕊数
- d : 花粉管が花柱まで伸入している雌蕊数
- e : 花粉管が胚珠またはその付近まで到達している雌蕊数

2. Post-zygotic 型交雑不親和性

種・属間交雑で得られる雑種胚は、その発育過程で生長を停止し、退化するものが多く、この現象は post-zygotic 型不親和性といわれているものである。従って、これら雑種胚の形成率と生長程度を示す胚長は交雑不親和性の尺度にもなり得る。表2には、各々の組合わせについてそれらの結果を示した。*B. campestris* を母本とした場合は、いずれの種属を花粉親にしても雑種胚数が多く得られるが、*R. sativus* を母本にすると雑種胚数は極めて少ない。*B. campestris* × *B. nigra*, *B. campestris* × *B. oleracea*, *B. campestris* × *R. sativus*, *B. nigra* × *B. oleracea* および *R. sativus* × *B. oleracea* では雑種々子が得られるものもみられ、交雑に用いる品種によって、post-zygotic 型不親和性が軽度のものもあった。

表 2. *Brassica* 属と *Raphanus* 属の種・属間交雑における雑種胚の発育

| 花粉親 雌蕊親 | <i>B. campestris</i> | <i>B. nigra</i> | <i>B. oleracea</i> | <i>R. sativus</i> |
|----------------------|---|--|--|--|
| <i>B. campestris</i> | | A : 3.7 (0~11.0) B : 450±196 C : 25 | A : 1.9 (0~6.6) B : 194±107 C : 42 | A : 2.4 (0.5~6.4) B : 414±205 C : 32 |
| <i>B. nigra</i> | A : 0.6 (0.1~1.1) B : 214±22 C : 6 | | A : 1.2 (0.4~1.9) B : 453±82 C : 6 | A : 0 B : — C : 15 |
| <i>B. oleracea</i> | A : 0.9 (0~4.8) B : 360±161 C : 35 | A : 0.6 (0~3.4) B : 354±129 C : 24 | | A : 0.7 (0~3.6) B : 262±96 C : 22 |
| <i>R. sativus</i> | A : 0.02 (0~0.2) B : 371±103 C : 26 | A : 0.006 (0~0.1) B : 420±123 C : 24 | A : 0.19 (0~1.3) B : ※ C : 24 | |

A : 莢当たりの雑種胚数 (その範囲), B : 雑種胚長 (μ), C : 調査組合わせ数

※この交雑組合わせでは, 得られた雑種々子数から A を求めた。

3. 交雑不親和性に及ぼす温度の影響

交雑不親和性は, 基本的には両種間の遺伝的特性であるが, 外的要因の関与も指摘されているので, 本研究では温度条件を制御して, pre-zygotic 型と post-zygotic 型の不親和性に対するその影響を検討した。

花粉発芽は, 通常, 交配24時間後に完了するが, 15℃の低温下では遅延され, 花粉管伸長も抑制される。しかし, その程度は組合わせによって異なっており, 例えば, *B. campestris* × *B. oleracea* よりもその逆交雑で著しく抑制された。一方, 25℃程度の高温下では低温下より順調な花粉発芽および花粉管伸長がみられる。従って, この過程を比較的高温下で経過させるのが望ましいと考えられる。

雑種胚の発育に及ぼす温度の影響は, 表 3 に示した。雑種胚数と温度条件との間には明らかな関係はみいだされなかったが, 胚は高温下でより大きくなる傾向がみられ, その生長が促進された。特に, *B. campestris* を母本にした組合わせの子房培養では, 高温下で雑種胚がよく伸長し, 種子としては未成熟なまま発芽に至り, その後の胚培養の操作上も好都合であった。

表3. *Brassica*属の雑種胚の発育に及ぼす温度の影響

| 温 度 | | 15℃ | | 20℃ | | 25℃ | |
|--|---|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| 雌 蕊 親 | 花 粉 親 | A | B | A | B | A | B |
| <i>B. campestris</i> 無双ハクサイ 雪 菜 | <i>B. oleracea</i> 弥生カンラン 弥生カンラン | 2.8 3.0 | 68 140 | 3.6 6.2 | 105 188 | 4.0 4.4 | 110 180 |
| <i>B. oleracea</i> サボイカンラン 弥生カンラン | <i>B. campestris</i> 平塚系-1ハクサイ 芝罘ハクサイ | 0.4 0.3 | 220 335 | 2.2 0.7 | 443 535 | 1.6 0.4 | 438 688 |
| <i>B. campestris</i> 平塚系-1ハクサイ 野崎ハクサイ | <i>B. nigra</i> Ni 110 Ni 110 | 4.2 2.4 | 198 220 | 2.1 1.6 | 333 293 | 1.5 1.8 | 540 833 |
| <i>B. nigra</i> Ni 110 Ni 116 | <i>B. campestris</i> 平塚系-2ハクサイ 芝罘ハクサイ | 0.6 0.4 | 183 190 | 0.6 0.6 | 285 238 | 0.9 0.8 | 365 223 |
| <i>B. nigra</i> Ni 110 Ni 110 | <i>B. oleracea</i> サボイカンラン 台湾早生カンラン | 1.8 1.4 | 148 140 | 1.0 1.2 | 415 490 | 1.3 1.0 | 573 600 |
| <i>B. oleracea</i> 富士早生-1カンラン 野崎中生カンラン | <i>B. nigra</i> Ni 110 Ni 110 | 0.1 0.1 | 125 138 | 1.7 0.3 | 540 210 | 0.5 0.5 | 440 330 |

A：英当たり雑種胚数，B：雑種胚の平均長（ μ ）

4. 雑種 F₁ 植物の作出

交雑不親和性の知見をもとに，通常交配法に加えて胚および子房培養法を用い，雑種 F₁ 植物の作出を試み，その結果を表4に示した。

B. campestris と *B. oleracea* との交雑は，通常の交配法ではごく希にしか雑種々子が得られなかったが，*B. campestris* × *B. oleracea* では子房培養法と胚培養法の併用を，逆交雑では胚培養法を利用することによって交雑成功率が高められた。また，交配時および雑種胚の発育期を比較的高温下で経過させることによって，より健全な雑種胚が多く得られ，成功率がさらに高められた。

B. nigra と *B. campestris* および *B. oleracea* との正逆交雑では対照的な交雑親和性を示し，交雑成功率も異なっている。*B. campestris* × *B. nigra* では比較的容易に種子が得られる組み合わせが多かったが，その逆交雑では雑種胚の摘出数も少なく，胚培養によって得られた雑種 F₁ 植物も少なかった。*B. nigra* × *B. oleracea* では雑種々子が得られたが，その逆交雑では

胚培養で雑種植物が得られたにすぎなかった。

R. sativus と *Brassica* 属の 3 モノゲノム種との属間交雑も、各々の交雑組合せやその方向によって成功率が異なっていた。*B. campestris* × *R. sativus* では多くの組合せで雑種々子が得られたが、ハクサイ品種 (*B. campestris* ssp. *pekinensis*) を母本にした場合はそれが殆ど得られず、子房培養と胚培養の併用によって雑種植物を作出することができた。逆交雑では種子が得られず、僅かに得られた雑種胚を培養することによって 2 個体の雑種植物を得た。

B. nigra と *R. sativus* との正逆交雑は、顕著な交雑不親和性を示し、これまで交雑に成功したという報告は見当たらない。本実験では、*R. sativus* × *B. nigra* の 2 組合せで数少ない雑種胚を培養して 3 個体の雑種 F_1 植物を得た。逆交雑では、通常交配で雑種胚の形成が殆どみられなかったが、子房培養によって雑種胚の形成が認められた。

B. oleracea × *R. sativus* では、雑種胚の培養によって、また、逆交雑では比較的容易に種子が得られ、正逆とも雑種 F_1 植物を作出することができた。

上述のように、交雑の成否はそれぞれの交雑組合せやその方向によって左右されることが明らかになった。各々の交雑における不親和性の特徴と交雑の難易について、それぞれ図 1 および図 2 に整理した。これらの交雑不親和性の要因に基づき、培養条件や環境条件を制御することによって程度の差はありながらも、いずれの交雑組合せでも交雑の可能性を見出し得るにいたった。

表 4. *Brassica* 属と *Raphanus* 属の種・属間雑種 F_1 植物の作出

| 花粉親 雌蕊親 | <i>B. campestris</i> | <i>B. nigra</i> | <i>B. oleracea</i> | <i>R. sativus</i> |
|----------------------|-----------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|
| <i>B. campestris</i> | | A : 348 B : 11.40 C : S | A : 261 B : 14.50 C : O, E | A : 407 B : 12.60 C : S |
| <i>B. nigra</i> | A : 17 B : 0.76 C : E | | A : 75 B : 3.86 C : S | A : 0 B : 0 C : O, E |
| <i>B. oleracea</i> | A : 93 B : 2.89 C : E | A : 18 B : 0.65 C : E | | A : 13 B : 0.54 C : E |
| <i>R. sativus</i> | A : 2 B : 0.07 C : E | A : 3 B : 0.12 C : E | A : 493 B : 19.73 C : S | |

A : 得られた雑種 F_1 植物数, B : 交雑成功率 (A/交配花数×100)

C : 交雑方法, S (通常交配法), E (胚培養法), O (子房培養法)

5. 交雑親和性と自家不和合性

ハクサイ類、カンラン類およびダイコンの品種群は、それぞれ交雑親和性を異にし、系統、さらには個体(株)によってもそれが異なる場合がみられた。また、交雑親和性の平行的関係がみられ、例えば、富士早生系やサボイ等のカンラン品種は、いずれの種属を花粉親にした場合でも親和性が高い傾向がみられた。表5には、本実験で調査した交雑親和性の強弱両品種を挙げてみた。

交雑親和性(雑種胚形成率)と自家和合性(自殖種子稔実率)との間に特定の関係がみられる場合があった。*B. oleracea* × *B. campestris* の31組合せでは、二特性間に正の相関々係 ($r = 0.670^{**}$) がみられた。しかし、*B. campestris* × *B. oleracea* の40組合せ ($r = 0.125$) や *R. sativus* × *B. oleracea* の24組合せ ($r = 0.075$) ではそれが明らかでなかった。Pre-zygotic型不親和性が強い *B. oleracea* を母本にした交雑では、交配母本に自家和合性が高い系統や個体を用いることによって、交雑成功率をさらに高め得る可能性があるものと考えられる。

表5. ハクサイ類、カンラン類およびダイコン品種の交配母本としての交雑親和性

| 交雑親和性 作物 | 高 い 品 種 | 低 い 品 種 |
|-------------------------------|--|---|
| <i>B. campestris</i> ハクサイ類 | 雪白体菜 (ssp. <i>chinensis</i>) おり菜 (ssp. <i>japonica</i>) 天王寺カブ (ssp. <i>rapifera</i>) 聖護院カブ (ssp. <i>rapifera</i>) | ハクサイ品種群 (ssp. <i>pekinensis</i>) |
| <i>B. oleracea</i> カンラン類 | 富士早生系 (var. <i>capitata</i>) サボイ (var. <i>capitata</i>) Böhmer.-2 (var. <i>capitata</i>) 渡辺系-2 (var. <i>capitata</i>) | Böhmer.-1 (var. <i>capitata</i>) 渡辺系-1 (var. <i>capitata</i>) ケール (var. <i>acephala</i>) |
| <i>R. sativus</i> ダイコン | 方領 聖護院 | みの早生系 練馬 |

6. 雑種後代系統の育成

種・属間交雑によって得られる雑種植物は、多くの場合複半数体であり、配偶子の形成が異常なため種子稔実性が低く、後代が得難い。そのため、コルヒチン処理等によって複二倍体化して種子を得ている。表6には、これまで育成された複二倍体系統を示した。これらの中の合成したCO系統 (*B. campestris* と *B. oleracea* の雑種後代) では、早生性や耐病性など有用形

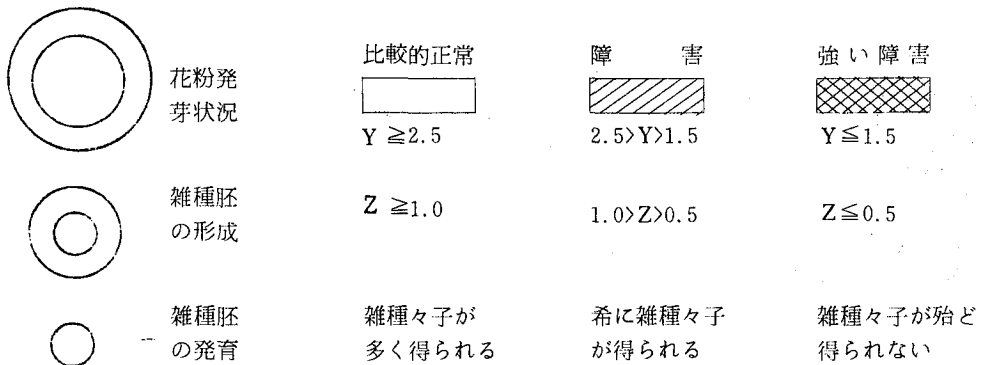
質を具備することから、育種素材として有望視され、実用化のために供試されているものもある。また、他の交雑組合せの中にも系統育成途上の雑種植物があり、将来、アブラナ科作物の形質導入、新型野菜の育成、雄性不稔系統の作出等のための育種素材として有望と思われるものも生じている。

表 6. 種・属間交雑によって育成された複二倍体系統

| 育 成 系 統 | 交 雑 組 合 わ せ | |
|---|-------------------|-------------|
| | 母 本 系 統 | 花 粉 親 系 統 |
| <i>B. campestris</i> × <i>B. oleracea</i> | | |
| CO-1 | 王 将 | 台 湾 早 生 |
| CO-2 | 京 都 3 号 - 1 | 台 湾 早 生 |
| CO-3 | 京 都 3 号 - 1 | 葉 深 系 - 1 |
| CO-4 | 松 島 新 2 号 | 葉 深 系 - 1 |
| CO-5 | 平 塚 系 - 1 | 台 湾 早 生 |
| CO-6 | ひ ば り | 台 湾 早 生 |
| CO-7 | 極 早 生 芝 罌 | Böhmer. - 1 |
| CO-8 | 平 塚 系 - 3 | Böhmer. - 1 |
| CO-9 | 千 歳 系 - 1 | Böhmer. - 1 |
| CO-10 | 早 生 千 歳 | Böhmer. - 1 |
| CO-11 | 芝 罌 | Böhmer. - 1 |
| CO-12 | 野 崎 早 生 | Böhmer. - 1 |
| <i>B. oleracea</i> × <i>B. campestris</i> | | |
| OC-1 | 富 士 早 生 - 1 | 平 塚 系 - 1 |
| OC-2 | ゴ ー ル デ ン エ ー カ ー | 京 都 3 号 - 1 |
| OC-3 | ゴ ー ル デ ン エ ー カ ー | 平 塚 系 - 1 |
| OC-4 | 野 崎 | 平 塚 系 - 1 |
| OC-5 | 兵 庫 系 - 1 | 平 塚 系 - 1 |
| OC-6 | 台 湾 早 生 | ひ ば り |
| OC-7 | 豊 田 夏 播 | 平 塚 系 - 2 |
| OC-8 | Böhmer. - 2 | 平 塚 系 - 1 |
| OC-9 | Böhmer. - 1 | 平 塚 系 - 1 |
| <i>B. oleracea</i> × <i>R. sativus</i> | | |
| OR-1 | 4 × サ ボ イ | 4 × 大 蔵 |
| OR-2 | 4 × サ ボ イ | 4 × 練 馬 細 尻 |
| <i>R. sativus</i> × <i>B. oleracea</i> | | |
| RO-1 | 4 × 大 蔵 | 4 × サ ボ イ |
| RO-2 | 4 × み の 早 生 | 4 × サ ボ イ |

| | | | | |
|------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| Male | <i>Brassica campestris</i> (aa) | <i>Brassica nigra</i> (bb) | <i>Brassica oleracea</i> (cc) | <i>Raphanus sativus</i> (rr) |
| Female | | | | |
| <i>Brassica campestris</i> (aa) | | | | |
| <i>Brassica nigra</i> (bb) | | | | |
| <i>Brassica oleracea</i> (cc) | | | | |
| <i>Raphanus sativus</i> (rr) | | | | |

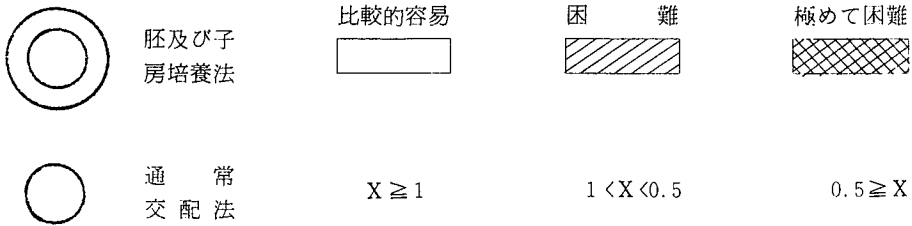
図1. *Brassica*属3モノゲノム種と *Raphanus sativus*の交雑不親和性



Y : 花粉発芽指数, Z : 英当たり雑種胚数

| | | | | |
|------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| Male | <i>Brassica campestris</i> (aa) | <i>Brassica nigra</i> (bb) | <i>Brassica oleracea</i> (cc) | <i>Raphanus sativus</i> (rr) |
| Female | | | | |
| <i>Brassica campestris</i> (aa) | | | | |
| <i>Brassica nigra</i> (bb) | | | | |
| <i>Brassica oleracea</i> (cc) | | | | |
| <i>Raphanus sativus</i> (rr) | | | | |

図2. *Brassica* 属 3 モノゲノム種と *Raphanus sativus* の交雑の難易



$$X : \text{交雑成功率} = \frac{\text{得られた雑种植物数}}{\text{交配花数}} \times 100$$

審査結果の要旨

種を超えた遺伝質の交換の手段として細胞工学、遺伝子工学などの新手法も研究されはじめているが、通常の有性生殖による種・属間交雑もその重要性を失うものではない。本研究は、アブラナ科のアブラナ属3種とダイコン属1種の4種を交配親とする正逆16組合せの種・属間交雑について、交雑の成功に及ばず諸要因を解析したものである。

- (1) 著者は、柱頭上における花粉の付着、花粉の発芽、花粉管の花柱への伸入、花粉管の胚珠またはその付近までへの到達、雑種胚数、雑種胚長などを観察し、種の組合せおよび交雑方向により、pre-zygotic型（花粉発芽から受精に至る過程）の不親和性が強い場合、post-zygotic型（雑種胚の形成と発育過程）の不親和性が強く働く場合があることを明らかにしている。
- (2) 同じ種の属間交雑でも、用いる品種、特に雌蕊親として用いる品種により、交雑親和性が異なることを、ハイサイ類（*Brassica campestris*）、カンラン類（*B. oleracea*）およびダイコン（*Raphanus Sativus*）について実証し、夫々交雑親和性の高い品種、低い品種を列挙している。
- (3) Pre-zygotic型不親和性が強い *B. oleracea* を雌蕊親とした交雑では、雌蕊親に自家和合性が高い系統や個体を用いることにより、交雑成功率が高まることを確認している。
- (4) 交雑不親和の種々の過程に対する温度の影響を調査し、比較的高温（25℃）で経過させることが花粉の発芽、花粉管の伸長、胚の発育を促進することを認めている。
- (5) 以上の知見に基づき、通常交配法に加えて、組合せにより胚および子房培養法をも用い、従来成功例のない組合せを含めて種・属間雑種を得、さらに複二倍体系統を得て、それらは育種素材となっている。

以上の諸点を含む本論文は、アブラナ科植物の種・属間交雑育種の遂行上、また一般に遠縁植物交配上、有用な基礎知見を加えたものと評価でき、著者に対して農学博士の学位を授与して然るべきものと認めた。