

スギの人為3倍体および異数体

染郷正孝⁽¹⁾・菊池秀夫⁽²⁾Masataka SOMEGO and Hideo KIKUTI: Cytogenetical Studies on Artificial Triploids and Aneuploids of Sugi (*Cryptomeria japonica* (Linn. fil.) D. Don)

要旨：筆者らは、陣内・千葉らが1950年に苗畑で選抜したスギの自然4倍体(29年生)の安定した細胞学的特性を利用して1973年、2倍体、精英樹佐賀3号との交雑を行い、これに成功した。4年生時における F_1 植物の細胞学的な観察から、これらは人為3倍体($2n=33$)、または異数体($2n=32$, $2n=34$)であり、その異数体に関与する染色体の形状および遺伝についての知見を得た。これらから、スギの人為3倍体の育成の可能性、および自然3倍体の成因、同質4倍体の特性、また、異数体から確認されたマーカー染色体を利用した遺伝実験等に関する示唆が得られた。

I ま え が き

最近、松田・宮島(1976)¹⁾らは、スギの稔性に関する一連の研究から、九州地方のサシスギ品種であるウラセバル、およびヒノダスギの2つの有用系統が、いずれも3倍体植物であったことを発見し、スギの倍数性とくに3倍体の林業的価値についての認識を新たにした。

筆者らは、陣内・千葉(1951)²⁾⁻⁴⁾らが1950年に苗畑から選抜したスギの自然4倍体(現在29年生)を引続き育成しており、その花粉母細胞における減数分裂を観察したところ、分裂様式は稔性のある配偶子の形成を示唆し、細胞学的に安定した植物と考えられた(染郷：未発表)。1973年、2倍体、精英樹佐賀3号との交雑による人為3倍体の育成を試み、予想どおり次代植物を育成することができたので、これら F_1 植物の体細胞染色体を調査し、スギの人為3倍体および異数体の形成過程と、その両親植物の細胞学的特性について2~3の知見が得られたので報告する。

II 材料および方法

交雑に供したスギ4倍体は、陣内・千葉(1951)²⁾らが1950年、林試砧苗畑で選抜した富岡 $4n$ 、または大分 $4n$ のいずれかの1個体である(ラベル等の記録が紛失したため不明)。

2倍体スギは、佐賀県で選抜された精英樹佐賀3号である。

交雑実験は1973年、林試浅川実験林苗畑で実施し、その交雑組合せは、4倍体の個体に雌花の着生をみないことから、2倍体 \times 4倍体の1方向とした。

交雑によって得られた F_1 苗は、現在5年生で、林試千代田苗畑に同家系の一部、10個体を育成中である。

細胞学的な調査に供した個体は計6個体で、体細胞染色体数および核型に関する調査、分析を行った。

プレパラートの作製は、おしつぶし法の処方すなわち、8-オキシキノリン0.002 Mol 溶液、12°C、24h~28hの前処理、固定、ホルゲン染色の順にしたがい、記録にはポラロイドフィルム(Type-665)を

使用し、顕微鏡写真の撮影等を行った。

核型の調査は、各々の染色体の形態的特性について、とくに動原体の位置、二次狭窄および非染色部分の有無、さらに染色体の各腕の長さを計測し、染色体の順位の決定および相同染色体の対合などを検討した。

III 実 験 結 果

1. スギ 2 倍体 (佐賀 3 号) × 4 倍体の交雑稔性

1973 年 4 月、林試浅川実験林苗畑で、交配実験を行い、同年 10 月、球果を採取、翌 1974 年 4 月、同苗畑にまきつけ、その発芽率を調査した (Table 1)。

交雑によって得たタネは苗畑において 9.3% の発芽率を示し雑種苗が得られた。また、ミドリスギを母親とした 2 倍体 × 4 倍体では、11.1% の値で雑種ができ、10% 前後の発芽率をもつものと考えられる。

これを母親である 2 倍体間の他殖 (佐賀 3 号 × ミドリスギ) の発芽率 30.2% と比較すれば約 1/3、また自殖 (佐賀 3 号 × 佐賀 3 号) からみれば 1/2 程度の発芽率の低下がみられるが、次代植物は十分得られることがわかった。

2. スギの 2 倍体 × 4 倍体の F_1 植物の生育と枝葉の形質

交配母樹のうち佐賀 3 号の針葉は、細く鋭い形態を示している。一方、4 倍体の針葉は肥厚し、変形したいわゆる倍数性特有のギガス型 (gigas type) である。樹型は不整で、根元で 3 つに分岐し、生長は遅く、29 年生時においても樹高は 3 cm に満たない。

その雑種、 F_1 No. 1~No. 10 の 10 個体について生育、針葉形、雌雄花の自然着生などの形質をみると (Table 2, Photo. 1)、それぞれ両親の形質を受け継いでいるが、発現の程度は多様であり、比較的正常的な枝葉をもち生育も良好な個体 (No. 2) から極度に矮生化し、幼形葉を示す個体 (No. 3) まで大きく変異している。

また、5 年生時に自然着花をみた個体 (No. 1, No. 2, No. 9) は比較的、正常な形態を示し、生育も良好な個体にその傾向がうかがわれる。

Table 1. スギの 2 倍体 (佐賀 3 号) × 4 倍体 (29 年生) の交雑における稔性
Fertility of hybrid plants between diploid (Saga-3) and
tetraploid of Sugi (29-year-old)

交 雑 組 合 せ Cross combination	タ ネ の 数 Seed yielded	発 芽 数 Seed germinated	発 芽 率 Germinating rate (%)
2 倍体 (佐賀 3 号) × 4 倍体 Diploid (Saga-3) Tetraploid	760	71	9.3
2 倍体 (佐賀 3 号) の自殖 Self pollination of diploid (Saga-3)	566	98	17.3
2 倍体 (佐賀 3 号) × 2 倍体 (ミドリスギ) Diploid (Saga-3) Diploid (Midori-sugi)	706	213	30.2
2 倍体 (ヨレスギ) × 4 倍体 Diploid (Yore-sugi) Tetraploid	270	30	11.1

交雑, 1973 年 3 月 Crossing. Mar. 1973 タネ採取, 1973 年 10 月 Seed collecting. Oct. 1973
まきつけ, 1974 年 4 月 Seed sown. Apl. 1974 発芽調査, 1974 年 6 月 Counting of seedling. Jun. 1974

Table 2. スギの2倍体(佐賀3号)×4倍体(29年生)のF₁植物における生育と形態的特性

Morphological character of 4-year-old hybrid plants between diploid and tetraploid of Sugi

個体 Materials	苗木高 Height (cm)	根元直径 Diameter (mm)	針葉の長さ Needle length (mm)	針葉の厚さ Needle thickness (mm)	雄花の数 Male flower	雌花の数 Female flower	形態的特徴 Characteristics of needle and branch
F ₁ No. 1	80	9.7	14.9	1.8	1	1	ギガス型針葉 Gigas type needle
2	144	21.8	8.3	1.1	1	1	枝下垂 Penduling branch
3	40	12.3	16.0	0.5	0	0	幼型葉型針葉 Juvenile type needle
4	93	12.8	11.6	1.6	0	0	ギガス型針葉 Gigas type needle
5	99	18.8	12.3	1.4	0	0	枝下垂 Penduling branch
6	133	20.5	11.6	1.4	0	0	" "
7	69	14.7	17.0	1.2	0	0	ヨレた針葉 Twisted needle
8	102	13.3	11.4	1.2	0	0	正常 Normal
9	117	20.7	14.8	1.4	2	2	ギガス型針葉 Gigas type needle
10	103	15.5	9.0	1.0	0	0	正常 Normal

Table 3. スギの2倍体(佐賀3号)×4倍体(29年生)のF₁植物の染色体数
Chromosome number of hybrid plants between diploid (Saga-3)
and tetraploid (29-year-old)

個体 Materials	体細胞染色体数 Somatic chromosome number	倍数性 Poliploidy
2倍体(佐賀-3号) Diploid (Saga-3)	2n=22	2倍体植物 Diploid plant
4倍体 Tetraploid	2n=44	4倍体植物 Tetraploid plant
Hybrid No. 1	2n=33	3倍体植物 Triploid plant
4	2n=32 (33-1)	異数体植物 Aneuploid plant
5	2n=32 (33-1)	" "
6	2n=34 (33+1)	" "
9	2n=33	3倍体植物 Triploid plant
10	2n=33	" "

これらのことから、2倍体×4倍体の交雑による次代植物のなかには優れた形質を示すものから劣性の個体まで、大きく変異の幅が拡大されることが示唆され、交雑の規模を大きくすれば、この組合せのなかから、有用形質の選抜も可能であろうと考えられた。

3. スギの2倍体×4倍体のF₁植物の染色体数

両親のうち4倍体の染色体数については、さきに陣内・千葉(1951)²⁾らが、稚苗時の観察で富岡4n、大分4nとして、それぞれ2n=44であることを報告している。27年生時の花粉母細胞における減数分裂でn=22が認められ(染郷:未発表)、また体細胞染色体数2n=44であったことから、これらはすべて一致し、本4倍体は、2n=44(n=22)の同質4倍体であると結論される。

一方、佐賀 3 号は、 $2n=22$ が算定され、明らかに 2 倍体であることが確認された。

2 倍体×4 倍体から生じた F_1 植物のうち、6 個体について観察した結果では、 $2n=33$ が算定される No. 1, No. 9 および No. 10 の 3 個体、また $2n=32$ を示す No. 4, No. 5 の個体、そして $2n=34$ を示す No. 6 の個体が確認され、これらはそれぞれ、3 倍体または異数体として認識された。

$2n=33$ の成因は両親のもつ $n=11$ (2 倍体側) および $n=22$ (4 倍体側) の正常な配偶子関係によって生じ、正規の 3 倍体と考えられる。しかし、 $2n=32$ または $2n=34$ の異数体は、前者からみれば $33-1$ 、または $33+1$ の関係にあり、それぞれ 1 本の染色体が増減した形で成立している。その原因は、4 倍体の減数分裂時にみられる染色体の異常によるものであり、その場合の花粉核の内容は $n=21$ であり、 $n=23$ であると考えられる。

4. スギの人為 3 倍体および異数体の核型

スギの基本的な核型については Sax & Sax (1933)⁶⁾ をはじめ Mehra (1956)⁸⁾、黒木 (1969)⁷⁾ らの研究があるが定説がない。最近、戸田 (1977)⁹⁾ は、3 倍体ウラセバルの核型を明らかにし、同時にスギの核型に関する知見を述べている。

本実験の結果もこれらとほぼ一致し、染色体の大きさは、大型、中型、小型に分けられ、動原体 (狭窄) の位置関係は、中部動原体型の染色体 10 対と、次中部動原体型 1 対、計 11 対からなっている。

これを基本として両親および $2n=33$ の 3 倍体 (No. 9)、 $2n=32$ と $2n=34$ を示す異数体 (No. 5, No. 6) の計 5 個体の染色体組成について検討を行った (Table 4, Photo. 3)。

まず、両親のうち 2 倍体である佐賀 3 号の核型は、形態的にも類似する 2 本の相同染色体、11 対の組成からなっている。

とくに D 染色体 (IV) の片腕には、二次狭窄が観察され注目された。

4 倍体の染色体組成も、前者と基本的に一致している。ただし各対は 4 本ずつの相同染色体からなっているのが観察された。この個体には、二次狭窄などの非染色部分などを示す染色体は観察されなかった。

$2n=33$ を示す人為 3 倍体、No. 9 の核型は、両親と基本的に一致する。ただし染色体組成は、11 対とも各 3 本からなり、とくに D 染色体の 3 本のうち 1 本には、明らかに佐賀 3 号の染色体とみられる二次狭窄をもつ染色体が存在した。

Table 4. スギの人為 3 倍体および異数体の核型分析
Karyotype analysis of parental plants, artificial triploids and aneuploids of Sugi

個 体 Materials	体細胞染色体数 Somatic chromosome number	核 型 Karyotype
Diploid (Saga-3)	22	$2A^m + 2B^m + 2C^m + 2D^m + 2E^m + 2F^{sm} + 2G^m + 2H^m + 2I^m + 2J^m + 2K^m$
Tetraploid	44	$4A^m + 4B^m + 4C^m + 4D^m + 4E^m + 4F^{sm} + 4G^m + 4H^m + 4I^m + 4J^m + 4K^m$
Artificial triploids (No. 5)	33 (11+22)	$3A^m + 3B^m + 3C^m + 3D^m + 3E^m + 3F^{sm} + 3G^m + 3H^m + 3I^m + 3J^m + 3K^m$
Artificial aneuploids (No. 6)	32 (11+21)	$3A^m + 3B^m + 3C^m + 3D^m + 3E^m + 3F^{sm} + 3G^m + 3H^m + 3I^m + 3J^m + 2K^m$
" (No. 9)	34 (11+23)	$3A^m + 3B^m + 3C^m + 3D^m + 3E^m + 4F^{sm} + 3G^m + 3H^m + 3I^m + 3J^m + 3K^m$

—印は、3 倍体の染色体組に変化を生じた部分を示す。
Under line shows the part of different from a trisomes.

$2n=32(33-1)$ を示す No. 5 の染色体組成は、大型の染色体 A から小型の J までの 10 対は、さきの No. 9 と同型で 3 本ずつの染色体からなるが、11 対目の最小である K 染色体の部分で 2 本で構成されており、正規の 3 倍体の核型からみれば、ここに 1 本の染色体の不足を生じた個体であることが判明した。ここでも D 染色体の 3 本のうち 1 本には二次狭窄が観察された。

$2n=34(33+1)$ を示す No. 6 の異数体は、中型または、小型とみなされる F 染色体の組成が、4 染色体からなり、他の 10 対はさきの 3 倍体と同様、各 3 本からなっている。すなわち、この個体にみられる 1 本の染色体の増加は、F 染色体に生じていた。なお、この F 染色体はスギの核型で唯一の次中部動原体型の形態的特徴をもっている。また、ここでも D 染色体に 1 本の二次狭窄をもつ染色体が存在した。

異数体の成因に関与した F および K 染色体の種類は、かならずしも同一ではなく、これらは任意に変動するものと考えられるが、本実験では、大型の染色体はこれに関与せず、比較的小型の染色体に集中する傾向がみられ、注目された。この種の染色体は、4 倍体の配偶子形成に起因していることは明らかであり、遅滞染色体となり異常行動をしていた染色体であることが、本実験から推察された。

また、異数体の成因となった染色体 (F および K 染色体) は、たまたま、スギの核型のなかで最小型であるか、唯一の次中部動原体型の染色体であり、識別が容易であるため、今後の遺伝的な究明にマーカー染色体として利用できるものと考えられた。

IV 考 察

スギを中心とする倍数性育種の試みは、1949 年の後半から 1950 年代にかけて集中的に行われ、自然 4 倍体の苗畑からの選抜^{2)~4)9)}や、コルヒチン処理による人為 4 倍体の育成が行われた¹⁰⁾¹¹⁾。また、38 年生の 3 倍体も造林地から発見され¹²⁾、それぞれ倍数体の特性について検討がなされたが、林業的な価値を見いだすことなく、今日に至っている。

最近の松田・宮島¹⁾らによる九州地方の 3 倍性有用サシスギ品種の発見は、スギの 3 倍体の特性を再認識する実証として注目された。これと前後して前田 (1977)¹³⁾ はヒノキの精英樹、富士 2 号が、ヒノキ×サワラの異質 3 倍体であることを明らかにしている。

かつてなされた倍数性育種の目的も、このような 3 倍体の育成であったが、人為 3 倍体の育成の試みは、これまで報告をみない。本実験はこれまでの倍数性育種を継承し、供試材料としたスギの 4 倍体も当時、苗畑から選抜された 1 個体である。本植物を 1970 年頃から、花粉母細胞における減数分裂を観察したところ、これまで 4 倍体は低稔性であると考えていたにもかかわらず、予想以上に安定しており (染郷：未発表)、そのような現象は、また、筆者の 1 人染郷 (1979)¹⁴⁾ が同質 8 倍体と認めたオオバヤシャブシと、きわめて類似した分裂様式を示し注目される。

このスギの 4 倍体は、減数分裂時において全細胞の約 70% が 22:22 のように均等に配分されるため正常な花粉を多く形成する。しかし約 30% は、1~2 個の遅滞染色体が存在し、異常行動をするため、わずかの異数花粉を形成する。これが 2 倍体との交雑によって異数体の成因となることが分かった。

2 倍体×4 倍体の交雑組合せでは、約 10% の発芽率で、人為による正規の 3 倍体や、異数体が得られるが、その出現頻度については、今回は明らかにすることができなかった。

また、異数体が形成される際の染色体の数および種類についても、正規の 3 倍体、 $2n=33$ から、1 個の染色体の増減による異数体、 $2n=32(33-1)$ および $2n=34(33+1)$ が確認される範囲にとどまって

いる。異数体に関与する染色体の種類は、比較的小型の染色体に集中したが、事例を増して検討する必要も考えられる。逆に大型染色体は、このような場合、どのようなかわりあいをもつかについても、今のところ不明確である。

異数体に関与した染色体は、たまたま、最小か、次中部動原体型の形態の特徴を有し、スギの核型のなかでも識別が容易であるため、今後の遺伝実験にマーカー染色体として利用できるものと考えられる。

さらに、人為3倍体の表現型は、矮性化する個体から正常型と全く変りない形態まで大きく変異し、生育も良好な個体が存在することが認められる。したがって、大規模な交雑によっては優良な個体選抜も可能であろうと考えられた。

以上、小規模なスギの2倍体×4倍体の交雑実験ではあるが、人為3倍体の育成の可能性^{15)~17)}および異数体の細胞学的特性と、これから考察される4倍体植物の特性などについて多くの示唆が得られた。

なお、この報文をまとめるにあたり、貴重な試料を提供された筑波大学 陣内 巖教授ならびに王子製紙林木育種研究所長 千葉 茂氏に敬意を表し、また、ご指導、ご助言を頂いた林業試験場 蜂屋欣二造林部長、同福原榎勝遺伝育種第二研究室長および同横山敏孝種子研究室長に対し心から感謝申し上げる。

引用文献

- 1) 松田 清・宮島 寛：スギの稔性に関する基礎的研究 IV, 87回, 日林講, 58, (1976)
- 2) 陣内 巖・千葉 茂：自然界に現われたスギの四倍体, 育種雑, 1, 43~46, (1951)
- 3) 千葉 茂：苗畑におけるスギ自然4倍体の選抜, 59回日林講, 129~130, (1951)
- 4) CHIBA, S.: Tryploid and tetraploid of Sugi (*Cryptomeria japonica* D. Don) selected in the forest nursery. 林試研報, 49, 99~108, (1951)
- 5) SAX, K. & H. J. SAX: Chromosome number and morphology in the conifers. Jour. Arnold Arbortum, 14, 356~375, (1933)
- 6) MEHRA, P. N. & T. N. KHOSHOO: Cytology of conifers, Jour. Genet, 54, 165~185, (1956)
- 7) 黒木嘉久：主要針葉樹の核型に関する研究, 宮大農演習林報, 5, 78~80, (1969)
- 8) 戸田義広：三倍体スギの核学的研究(予報), 染色体, II, 6, 186~190, (1977)
- 9) 陣内 巖：苗畑に現われたアカマツ四倍体, 日林誌, 34, (6), 185~187, (1952)
- 10) 金沢林助：コルヒチン処理に依り育成せる合黒松(茂道松)のミキソプロイド, 植及動, 10, 829~831, (1942)
- 11) 陣内 巖：コルヒチン処理に依り育成した二, 三針葉樹の倍数体, 東大演習報, 35, 15~25, (1947)
- 12) 斎藤雄一・橋詰隼人：造林地で選抜されたスギの三倍体に関する研究, 鳥取大農演習林報, 1, 21~55, (1958)
- 13) 前田武彦：ヒノキ精英樹の細胞学的研究—ヒノキとサワラの種間雑種と考えられる富士2号の細胞学的観察, 日林誌, 59(6), 213~220, (1977)
- 14) 染郷正孝：オオバヤシャブシ(8x)×ヒメヤシャブシ(2x)の人為5倍体植物の減数分裂, 90回日林論集, 259~260, (1978)
- 15) 陣内 巖：人為四倍体アカマツの花粉の形態と稔性, 日林誌, 35(8), 245~248, (1953)
- 16) 外山三郎：林木育種に関する知見, 林試研報, 66, 1~269, (1954)
- 17) 岩川盈夫・千葉 茂：スギ, マツの自然に於ける異常花粉の形成, 林試集報, 64, 1~12, (1952)

**Cytogenetical Studies on Artificial Triploids and Aneuploids
of Sugi (*Cryptomeria japonica* (LINN. fil.) D. DON)**

Masataka SOMEGO⁽¹⁾ and Hideo KIKUTI⁽²⁾

Summary

Urasebaru and Hinode-sugi, the valuable cultivars of Sugi in the Kyushu district, were found to be triploid plants. This suggests the necessity of more detailed study on poliploidy of Sugi.

A single tree planted in our nursery was suspected as a poliploid in 1950. The tree was located and the observation of the meiosis of the 29 year old tree confirmed that it has 44 chromosomes with 70% of the pollen mother cells producing pollen grains of 22 chromosomes. These observations indicate that the tree produces abundant fertile pollen with relatively normal meiotic divisions. Saga-3, a diploid plus tree, was pollinated by this tetraploid in 1973. The germination percentage of the seeds was 10%, and this indicates about one third of the ordinary germination percentage of Sugi.

A wide variation was observed in growth and types of leaves among these hybrids derived from the diploid and the tetraploid. It was confirmed that these hybrids were triploids with 33 chromosomes and aneuploids with 32 (33-1) or 34 (33+1) chromosomes. Aneuploids were attributed to pollen grains with an irregular number of chromosomes.

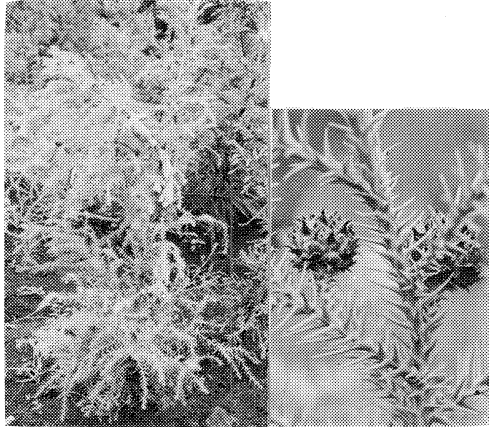
On the basis of karyotype analysis, it was found that the artificial triploid had eleven trisomes but one aneuploid lacked one chromosome in K-chromosome (tetrasomes) and the other tetraploid had one extra chromosome in F-chromosome (bivasomes). These F- and K-chromosomes were useful for genetic experiments as markers because of their morphological features. Also, these results suggest that triploid plants can be artificially produced with these specific clones.



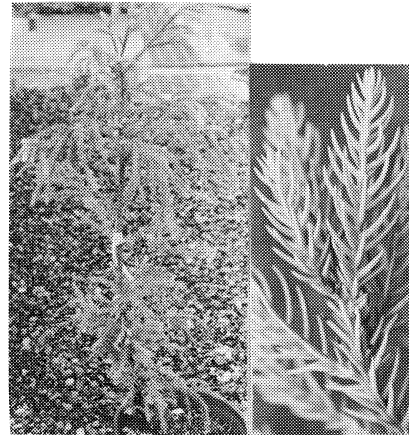
Saga 3 ($2n=22$)



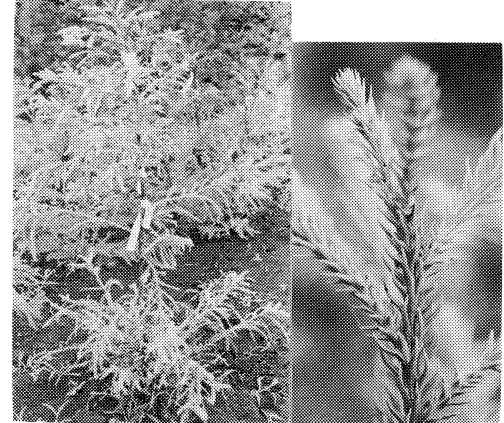
4n Sugi ($2n=44$)



F_1 9 ($2n=33$)

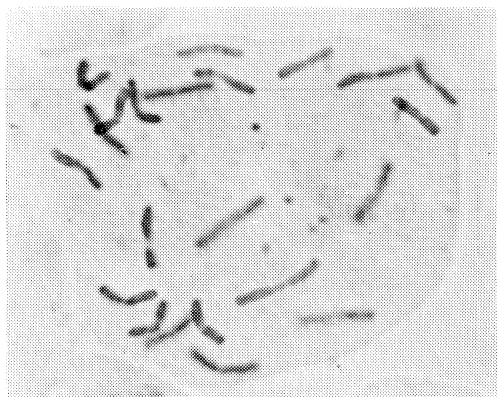


F_1 5 ($2n=32$) 33-1

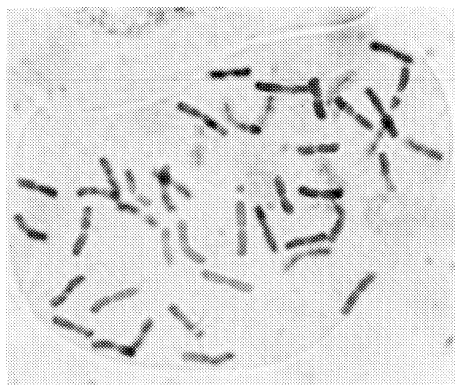


F_1 6 ($2n=34$) 33+1

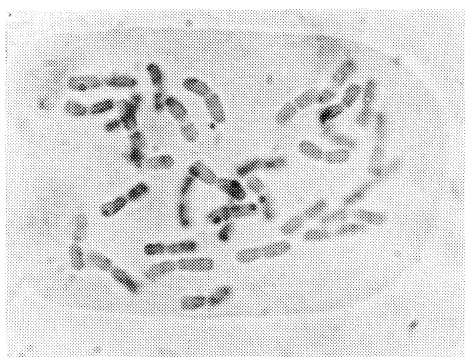
Photo. 1 スギの人為3倍体および異数体の苗木と枝葉
Seedling and shape of leaves in artificial triploid and aneuploid of Sugi (*Cryptomeria japonica*).



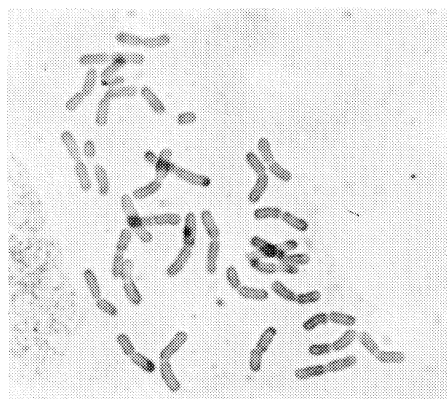
Saga 3 ($2n=22$)



4n Sugi ($2n=44$)



F_1 9 ($2n=33$)

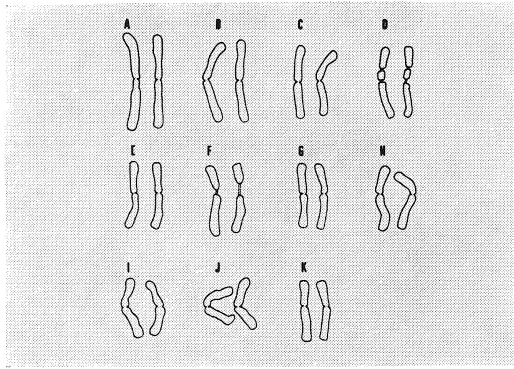


F_1 5 ($2n=32$) 33-1

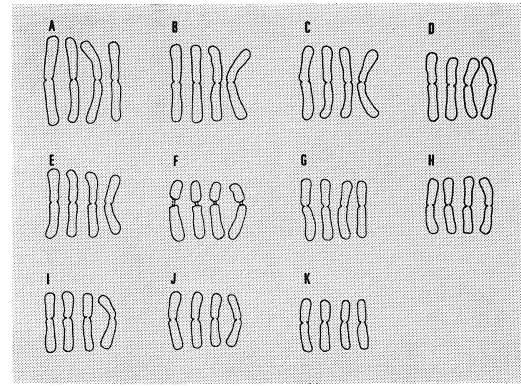


F_1 6 ($2n=34$) 33+1

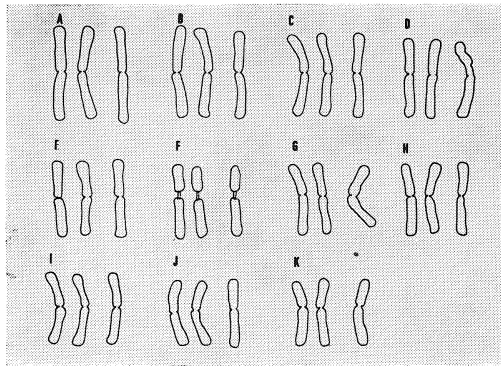
Photo. 2 スギの人為3倍体および異数体の体細胞染色体
Somatic chromosomes of artificial triploid and aneuploid
of Sugi (*Cryptomeria japonica*).



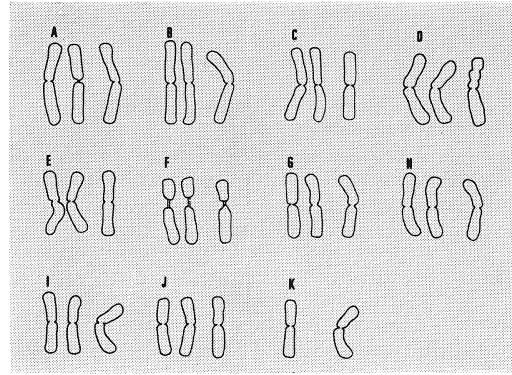
Saga 3 ($2n=22$)



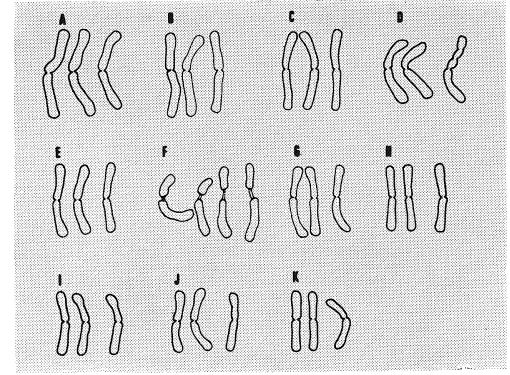
4n Sugi ($2n=44$)



F_1 9 ($2n=33$)



F_1 5 ($2n=32$) 33-1



F_1 6 ($2n=34$) 33+1

Photo. 3 スギの人為 3 倍体および異数体の核型
Karyotype of artificial triploid and aneuploid of Sugi (*Cryptomeria japonica*).