

熱帯牧草の細胞遺伝学ならびに  
育種法に関する基礎的研究

Cytogenetical Study and Breeding  
of Some Tropical Grasses

中 川 仁

Hitoshi NAKAGAWA

# 目 次

|                                        |     |
|----------------------------------------|-----|
| 第1章 緒 論                                | 1   |
| 第2章 熱帯牧草の細胞遺伝学的研究                      | 3   |
| 第1節 ローズグラスおよび近縁種の細胞遺伝学的研究              | 3   |
| (1) ローズグラスの減数分裂と花粉形成                   | 3   |
| (2) ローズグラス四倍体品種の四価染色体                  | 11  |
| (3) クロリス属の染色体数、生殖様式および形態的特性            | 14  |
| 第2節 ギニアグラスおよび近縁種の細胞遺伝学的研究              | 30  |
| (1) ギニアグラスおよび近縁種の生殖様式                  | 30  |
| (2) 二倍体、四倍体、および六倍体ギニアグラスの細胞遺伝学的調査      | 35  |
| (3) アポミクシス品種「ナツカゼ」の細胞遺伝学的調査            | 46  |
| 第3章 熱帯牧草の育種法の確立に関する研究                  | 53  |
| 第1節 ローズグラスの育種法の確立に関する研究                | 55  |
| (1) ローズグラス導入系統の特性調査                    | 57  |
| (2) ローズグラスの個体変異と草型による個体選抜の効果に関する研究     | 63  |
| i) 11系統より生育旺盛な43母系の選抜                  | 63  |
| ii) 生産力予備検定による43母系から多収9母系の選抜           | 65  |
| iii) 9母系360個体の草型による分類と選抜               | 67  |
| iv) A、B、およびCタイプの選抜とポリクロス               | 82  |
| v) ローズグラス「九州1号」の育成と特性調査                | 87  |
| vi) 四倍体系統 Q3307 のストロンの形態変異             | 95  |
| vii) 個体選抜と世代促進技術                       | 97  |
| 第2節 ギニアグラスの育種法の確立に関する研究                | 99  |
| (1) 二倍体有性生殖系統のコルヒチン倍加処理による四倍体有性生殖系統の育成 | 101 |
| (2) 異なる有性生殖系統を母本とした交雑後代の特性比較           | 109 |
| (3) アポミクシス育種法の現状と将来                    | 122 |

第4章 総合考察 ..... 125

第5章 要 約 .....131

謝 辭 ..... 135

引用文献 ..... 137

**Summary** .....144

## 第1章 緒

## 論

熱帯牧草の育種の歴史は新しい。その原因はいくつか考えられる。第一の原因は、以下に示す重要な熱帯牧草はすべて自然界で同一種内に倍数性の異なるサイトタイプが存在することである。すなわち、ローズグラス (*Chloris gayana* KUNTH) やバヒアグラス (*Paspalum notatum* FLUGGE) には二倍体 ( $2n=20$ ) と四倍体 ( $2n=40$ ) が存在し、ギニアグラス (*Panicum maximum* JACQ.) には二倍体 ( $2n=16$ )、四倍体 ( $2n=32$ )、六倍体 ( $2n=48$ ) が存在する。また、アワの仲間の *Setaria anceps* STAPF ex MASSEY には二倍体 ( $2n=18$ )、四倍体 ( $2n=36$ )、六倍体 ( $2n=54$ )、八倍体 ( $2n=72$ )、および十倍体 ( $2n=90$ ) が存在することが報告されている<sup>20)</sup>。そして、この倍数性の問題は、バヒアグラスとギニアグラスのようなアポミクシス種の場合では次に述べる生殖様式の問題と深く関わっている。

第二の原因は、熱帯牧草の生殖様式が多様なことである。パールミレット (*Pennisetum americanum* (L.) K. SCHUM.) のように雌蕊先熟ではあるが自殖可能なものやローズグラスのように他殖性のものの他に、アポミクシスと呼ばれる無融合生殖 (agamospermy) によって種子を形成するものも多い。BROWN and EMERY<sup>8)</sup> および BOGDAN<sup>6)</sup> によれば、アポミクシスの一種である無孢子生殖 (apospory) によって種子形成を行う種には、ギニアグラス、バッフェルグラス (*Cenchrus ciliaris* L.), キクユグラス (*Pennisetum clandestinum* HOCHST. ex CHIOV.), モラセスグラス (*Melinis minutiflora* BEAUV.), およびバヒアグラスやダリスグラスが属する *Paspalum* 属や *Brachiaria* 属があり、やはりアポミクシスの一種の複相孢子生殖 (diplospory) で種子を形成する種にはウイーピングラブグラス (*Eragrostis curvula* NEES) やトウモロコシ近縁種の *Tripsacum dactyloides* L. が含まれ、これらを合計すると40種以上の主要熱帯牧草の生殖様式がアポミクシスということになる。一方、沖縄の草地で広く栽培されているネピアグラス (*Pennisetum purpureum* SCHUMACH), ジャイアントスターグラス (*Cynodon aethiopicus* CLAYTON & HARLAN), およびバンゴラグラス (*Digitaria decumbens* STENT.) のように稔実種子がほとんどあるいは全く形成されないために、茎の移植によって草地造成を行っている種も多い。そのため、熱帯牧草の品種とは、原産地において探索導入した系統をそのまま品種にしたり、系統選抜あるいはエリート個体を選抜して合成しただけのものが多かった。このことは、熱帯牧草の細胞学および細胞遺伝学的研究が遅れていることと無縁ではない。

本研究では西南暖地や南西諸島において最も有望な熱帯牧草の中から、生殖様式が有性



生殖で他殖性を示すローズグラスとアポミクシスによって種子を形成するギニアグラスを取り上げた。この研究の目的は、両牧草の交雑育種を可能にする育種法を確立することであった。そこで、まず、両種および近縁種の染色体数、染色体行動や花粉形成、胚囊の形態からみた生殖様式などの調査を行った。そして、ローズグラスについては、他殖性牧草の育種のための基礎となる、既導入系統の特性調査および草型による分類と個体選抜の効果についての調査を行った。また、ギニアグラスについては、ほとんどの系統が四倍体で交雑育種が困難なアポミクシス種であることから、二倍体有性生殖系統にコルヒチン処理による染色体倍加を行って四倍体有性生殖系統を作出し、四倍体レベルでの交雑育種を可能にする試みを行った。なお、本研究を遂行する過程でローズグラス農林1号の「ハツナツ（旧系統名ローズグラス「九州1号」）」が育成され、また、中間母本として有望なほふく型の「九州2号」と直立型の「九州3号」が育成された。また、ギニアグラスについては、中間母本として有望な一年生四倍体有性生殖系統「熱研1号（農林登録後はギニアグラス中間母本農1号）」および多年生四倍体有性生殖系統「熱研3号」が育成された。

## 第2章 熱帯牧草の細胞遺伝学的研究

### 第1節 ローズグラスおよび近縁種の細胞遺伝学的研究

ローズグラスはクロリス (*Chloris*) 属に属するほふく性の多年生熱帯牧草である。原産地はエチオピア、南アフリカの一部を含む東アフリカとされ、現在はアフリカのみならず、導入によってアジア、南アフリカ、およびオーストラリアの熱帯、亜熱帯圏に広く分布している。このクロリス属には約40種が含まれ、形態的変異に富んでいるが<sup>6)</sup>、生産力はローズグラス (*Chloris gayana* KUNTH) が最も高い。このローズグラスには二倍体の系統と四倍体の系統が存在することが知られるが<sup>34)</sup>、葉幅や草丈などの形態的変異は重複しているため、両者を識別する規準とはならない。一方、ローズグラスの市販種子の稔実率や発芽率は30%以下と低く、花粉あるいは胚嚢形成や種子形成に異常があることも考えられた。また、生殖様式は有性生殖で他殖性とされているが<sup>3,30)</sup>、アポミクシスの可能性も示唆されていた<sup>8,28)</sup>。

また、ローズグラスの近縁種の中には耐寒性に優れるものや稈の細いものなど、ローズグラスにない遺伝子を持っているものがあり、これら有用遺伝子をローズグラスに導入するための種間交雑の可能性を考えるためには、ローズグラス導入系統や近縁種の染色体数や生殖様式を明らかにすることが必要であり、以下の細胞遺伝学的研究を行った。

#### (1) ローズグラス品種系統の染色体数および減数分裂と花粉形成

ローズグラスは本来多年生牧草であり、熱帯、亜熱帯圏では採草あるいは放牧用永年草地の基幹牧草になっている。ところが、わが国では冬季に霜があるために、長期の降霜に弱いこの牧草は南西諸島を除いて、青刈り、採草用の一年生栽培が行われている。

この研究の目的は、まず、わが国の一年生栽培に適したローズグラス品種の育種を開始するにあたり、導入系統の染色体数を調査することにある。目的の第二は、九州農業試験場での手取り採種においては、種子稔実率は40%近いのに対して、海外から輸入された市販種子の発芽率が20%以下のために栽培農家でも問題となることがあることから、この原因を明らかにすることであり、そのために花粉の形成過程と柱頭上での花粉発芽を調査した。



## 材料および方法

供試材料は、フォーズカタンボラ (Fords Katambora) の長牧系 (長野種畜牧場系) および熊牧系 (熊本種畜牧場系), ガンソン (Gunsons), パイオニア (Pioneer), カタンボラ (Katambora), ムバララ (Mbarara), エルンバ (Elmba), マサバ (Masaba), ポコット (Pokot) と表27に示した農業技術研究所種子貯蔵管理室 (現農業生物資源研究所ジーンバンク) 保存の22品種系統および表28に示した草地試験場が南アフリカ共和国より導入した18品種系統を供試した。

花粉母細胞の減数分裂の調査には、穂ばらみ期の穂をそのまま酢酸アルコール (酢酸 : エチルアルコール = 1 : 3) で固定し, 2, 3 日後に小花から葯を抽出して酢酸カーミン押し潰し法で染色した。

花粉の稔性および成熟度の調査には、ヨード・ヨードカリ溶液 (ヨードカリ 3 g / 100 ml + ヨード 1 g) を用いた。

また、カタンボラを供試して、柱頭上での自殖花粉の発芽調査を以下のように行った。まず、開花直前の穂の着いた稈を三角フラスコに挿し、風を遮断した室内に放置して開花時に穂を揺すって、裂開したばかりの葯から出た花粉を柱頭に振りかけた。そして、数時間後に子房を切除し、スライドグラス上に置き、コットンブルー溶液を1滴落し、カバーグラスをかけてから10分程度染色した。次いで、コットンブルー溶液を1 Nの水酸化ナトリウム溶液で置換して柱頭を脱色し、柱頭内に侵入した花粉管を識別可能にした。

## 結 果

### a. 染色体数および花粉母細胞の減数分裂の過程

花粉母細胞の減数分裂像より確認した9品種系統の染色体数を表1に示した。フォーズカタンボラの長牧系と熊牧系, ガンソン, パイオニアおよびカタンボラは  $2n=20$  の二倍体で、ポコット, ムバララ, エルンバおよびマサバは  $2n=40$  の四倍体であった。農業技術研究所種子貯蔵庫保存の品種系統の染色体数はQ3307の2系統が四倍体であり、他は二倍体であった (表27)。また、草地試験場が南アフリカ共和国より導入した品種系統は、すべて二倍体であった (表28)。

減数分裂の過程は、二倍体および四倍体とも、細糸期 (leptonema : 写真1-1), 太糸期 (pachynema : 写真1-2), 移動期 (diakinesis : 写真1-3, 17, 18, 20), 第一分裂中期 (first metaphase : 写真1-4, 5, 19), 第一分裂後期 (first anaphase : 写真1-6),

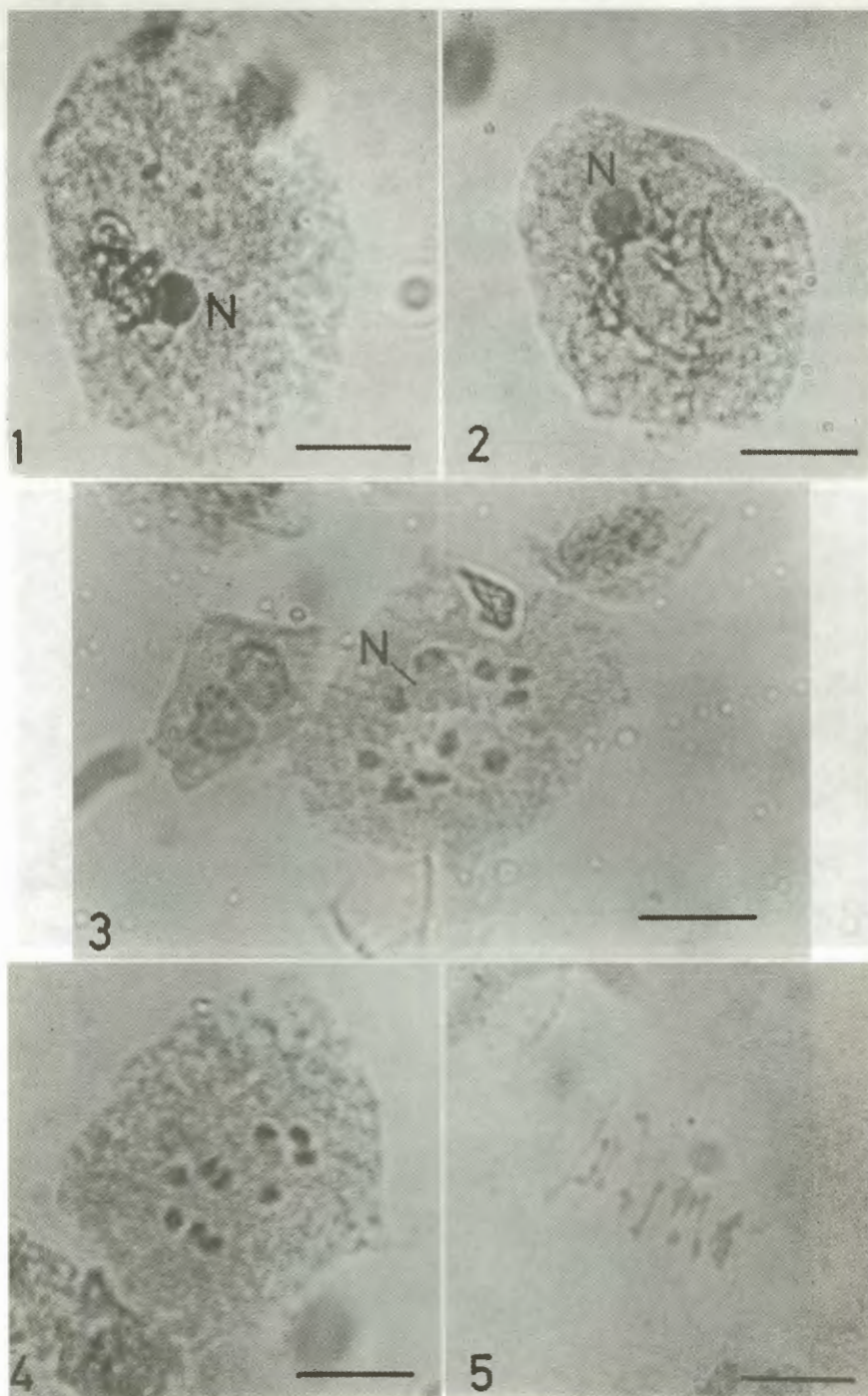


写真1 ローゼグラス花粉母細胞の減数分裂および柱頭上での発芽 (NAKAGAWA and SATO, 1981)。

1: 細糸期(×2000, ガンソン); 2: 太糸期(×2000, ガンソン); 3: 移動期, 10 II (×2000, カタンボラ); 4: 第一分裂中期, 10 II (×2000, パイオニア); 5: 第一分裂中期, 10 II (×2000, 長牧系)

写真中の直線の長さ=10 $\mu$ m, N: 仁



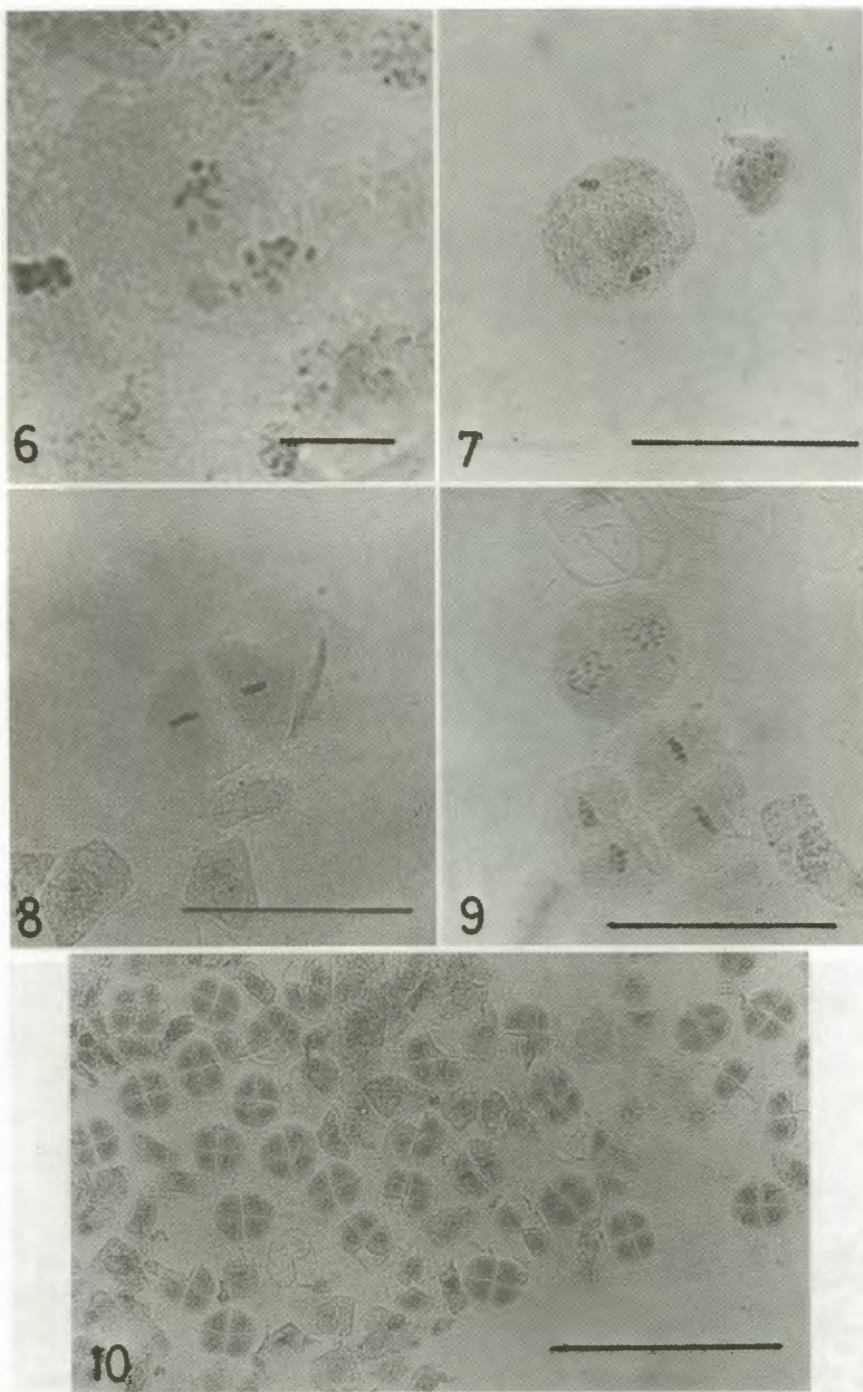


写真1 (続き)

6: 第一分裂後期 ( $\times 2000$ , 長牧系); 7: 中間期 ( $\times 800$ , ムバララ); 8: 第二分裂中期 ( $\times 800$ , ムバララ); 9: 第二分裂後期 ( $\times 800$ , ムバララ); 10: 四分子期 ( $\times 400$ , ムバララ)

写真中の直線の長さ, 6=10 $\mu$ m, 7, 8, 9=50 $\mu$ m, 10=100 $\mu$ m

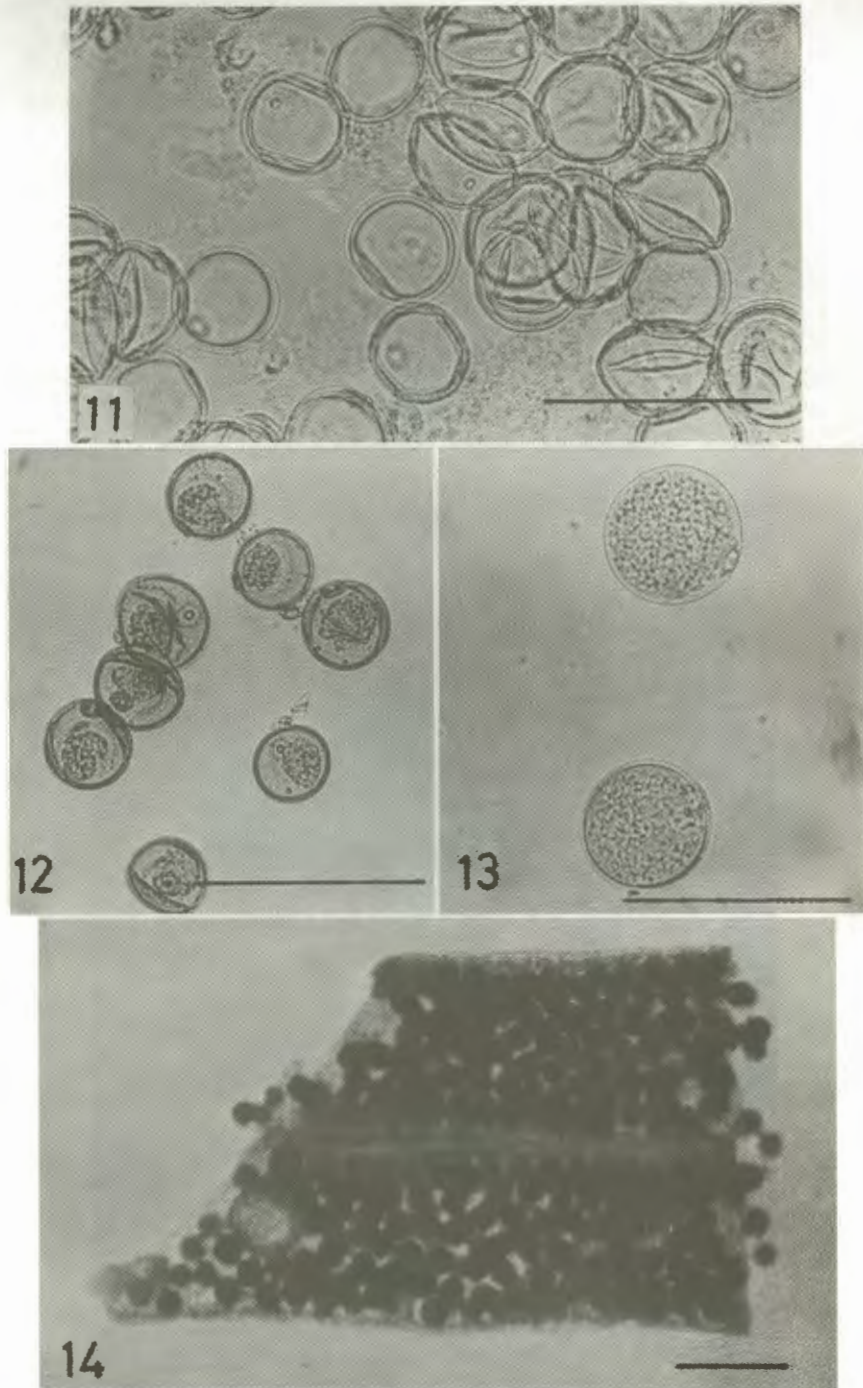


写真1 (続き)

11: 未成熟花粉 ( $\times 800$ , 長牧系); 12: ヨード・ヨードカリで染色した未成熟花粉 ( $\times 400$ , 長牧系); 13: 成熟花粉 ( $\times 800$ , 長牧系); 14: ヨード・ヨードカリで染色した葯中の成熟花粉 ( $\times 100$ , 長牧系)

写真中の直線の長さ, 11, 13= $50\mu\text{m}$ , 12, 14= $100\mu\text{m}$



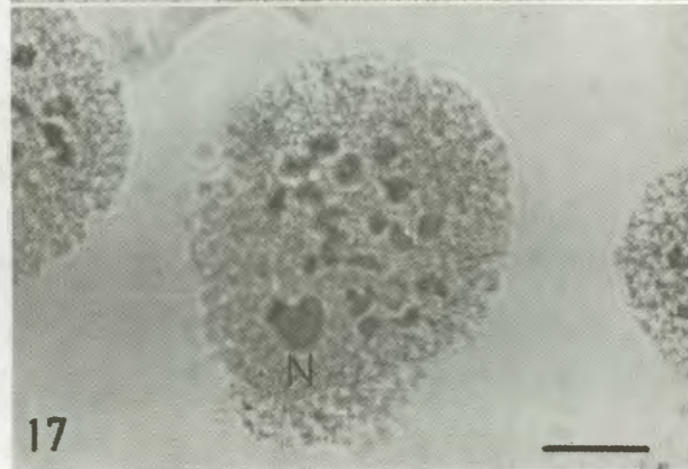
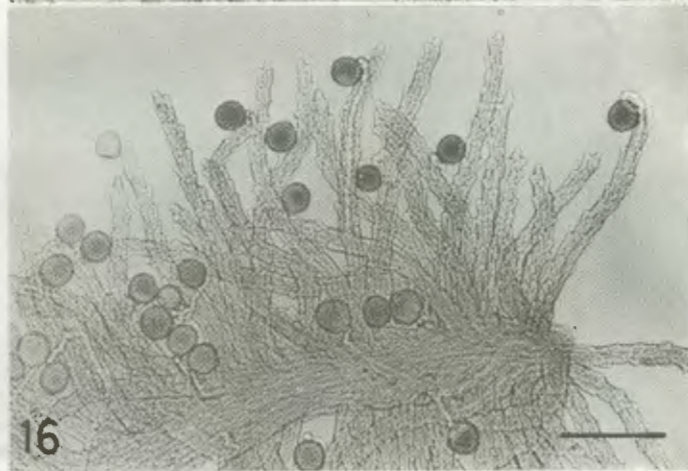
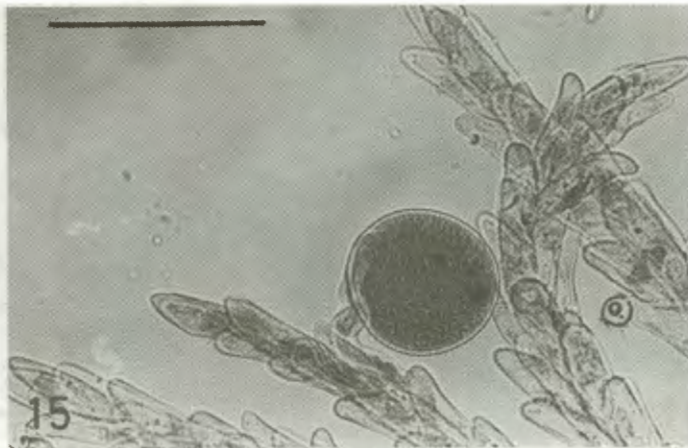


写真1 (続き)

15: 酢酸カーミンで染色した柱頭上での花粉発芽と柱頭反応( $\times 800$ , 長牧系);  
 16: コットンブルーで染色した, 柱頭内部に花粉管を伸長している花粉 ( $\times 200$ , 長牧系), 17: 四倍体品種の花粉母細胞の移動期, 20 II ( $\times 2000$ , ムバラ)

写真中の直線の長さ, 17=10 $\mu$ m, 15=50 $\mu$ m, 16: 100 $\mu$ m, N: 仁



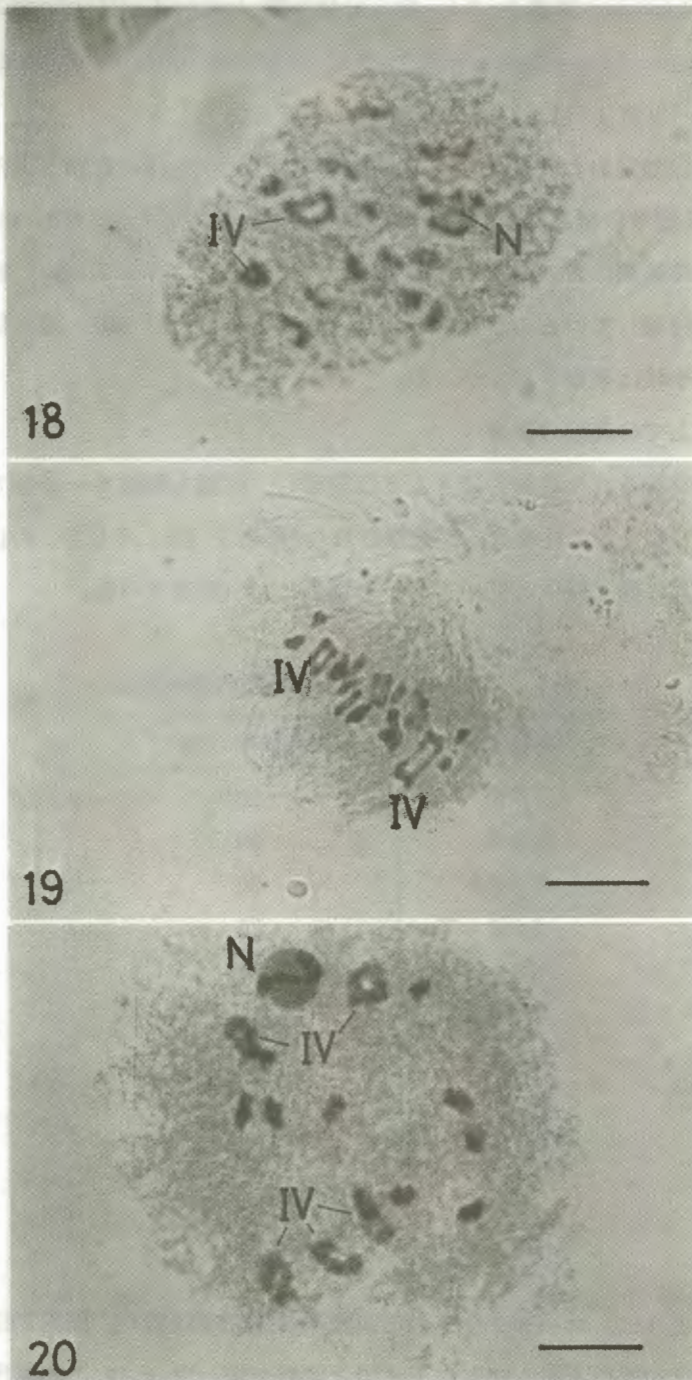


写真1 (続き)

18：四倍体品種の花粉母細胞の移動期,  $2\text{ IV} + 16\text{ II}$  ( $\times 2000$ , ムバララ)；19：四倍体品種の第一分裂中期に現れた四価染色体( $\times 2000$ , ムバララ)；20：四倍体品種の花粉母細胞の移動期,  $5\text{ IV} + 10\text{ II}$  ( $\times 2000$ , ポコット)

写真中の直線の長さ =  $10\mu\text{m}$ , N：仁, IV：四価染色体

分裂間期 (interkinesis : 写真 1-7), 第二分裂中期 (second metaphase : 写真 1-8), 第二分裂後期 (second anaphase : 写真 1-9), 四分子期 (quartet : 写真 1-10) をへて花粉が形成された (写真 1-11, 12, 13, 14)。

二倍体では, 移動期および第一分裂中期で10対の二価染色体が観察されたのに対して, 四倍体では0-5個のO型あるいはN型の四価染色体が出現した (写真 1-18, 19, 20)。また, 二倍体では移動期において1対の染色体が仁に付着し (写真 1-3), 四倍体では2対の染色体が仁に付着しているのが観察された (写真 1-17, 18, 20)。遅滞染色体はまれに観察されたが, 小核は観察されなかった。

#### b. 自家柱頭上での花粉の発芽

自家柱頭上に受粉された花粉のほとんどは発芽し, 柱頭を酢酸カーミンで染色した場合に渡辺<sup>87)</sup>が報告したように柱頭反応が観察された (写真 1-15)。そして, 約12時間後には花粉管が柱頭の内部に深く侵入しているのが観察された (写真 1-16)。

表 1 確認した供試 9 品種系統の染色体数

| 品種系統名 | 染色体数 (2n) |
|-------|-----------|
| 長牧系   | 20        |
| 熊牧系   | 20        |
| ガンソン  | 20        |
| パイオニア | 20        |
| カタンボラ | 20        |
| ムバララ  | 40        |
| エルンバ  | 40        |
| マサバ   | 40        |
| ポコット  | 40        |

## 考 察

すでに述べたように, ローズグラスの市販種子の発芽率は低く, 国内で採種された種子の精選率の変異は80%以上から10%以下までと変異が広い<sup>48)</sup>。当初, この原因は花粉形成あるいは種子形成の過程に問題があるのではないかと推定した。しかし, 花粉形成に関する限りほとんど異常は観察されず, 自家柱頭上ではあるが花粉発芽も問題なく, 花粉管も柱頭深く侵入しているのが観察された。

ローズグラスの生殖様式は有性生殖の他殖性あるいはアポミクシスという報告があり,



九州農試で行われた袋掛け受粉の種子稔実率は1.4~5.6%<sup>61)</sup>であり、生井ら<sup>59)</sup>も袋掛け受粉による種子稔性は最高0.42%であったと報告している。しかし、自家柱頭上でも花粉は発芽し、柱頭深くまで侵入していた。これは、志佐ら<sup>82)</sup>の総説にある、ライムギの自家および他家受粉で、柱頭の花粉の発芽時間、発芽率、花粉管の初期の伸長速度に差を認めなかった（渡辺、未発表）という事実に一致する。ローズグラスの自殖の阻害は柱頭反応ではなく、胚形成あるいは胚乳形成における不和合であることを示唆している。

供試系統の染色体数は二倍体 ( $2n=20$ ) および四倍体 ( $2n=40$ ) であり、それ以外の倍数体も異数体も存在しなかった。また、農業技術研究所種子貯蔵管理室保存の22品種系統および草地試験場が南アフリカ共和国より導入した18品種系統はほとんどが二倍体であった。ただ、Q3307の2系統のみが四倍体であった。その原因は後の章で考察するが、これらの導入品種系統全てが形質調査あるいは種子増殖のために四国農試あるいは草地試験場で一度栽培されたものであり、極晩生の四倍体系統はこれらの地域では採種困難であることから、結果的に早生から中生の二倍体系統と中生の四倍体系統が選抜され、これらの地域では未出穂の四倍体系統が捨て去られたことが考えられる。

## (2) ローズグラス四倍体品種の四価染色体

上記の研究でも示したように、ローズグラスは自然界において二倍体 ( $2n=20$ ) と四倍体 ( $2n=40$ ) が存在し、四倍体品種系統では花粉母細胞の減数分裂の過程で四価染色体が出現することを確認した。ここでは、四倍体品種系統の四価染色体出現頻度とその品種間差について報告する。

### 材料および方法

材料は、上記の研究で染色体数を確認したポコット、ムバララ、エルンバ、マサバ、Q3307（種子貯蔵庫保存番号800004および800007）と1977年に種子販売業者が導入した品種名不明系統を供試した。

四価染色体出現頻度の調査は花粉母細胞減数分裂移動期の像を用いた。

### 結 果

すべての供試品種系統で、写真1-17, 18, および20と同様に、0個 (20 II) ~ 6個 (6 IV + 8 II) のO型 (環状) あるいはN型 (鎖状) の四価染色体が観察された。

なお、供試品種系統ごとに数個の葯を用いて四価染色体の出現頻度を求めて  $\chi^2$  検定を



表2 同一品種内における四価染色体出現頻度の均一性

| 品種系統名            | 供試葯数 | P (%)*  |
|------------------|------|---------|
| ポコット             | 9    | 0.5—0.3 |
| ムバララ             | 2    | <1.0    |
| エルンバ             | 8    | 0.3—0.2 |
| マサバ              | 7    | 0.9—0.8 |
| Q 3307(800004)** | 6    | 0.8—0.5 |
| Q 3307(800007)   | 7    | 0.8—0.5 |
| 品種名不明            | 3    | 0.8—0.5 |

\* : Pは  $\chi^2$  の値の検定

\*\* : ( )内は生物研, 種子貯蔵管理室の品種番号

行い、葯間の差を調査した結果を表2に示した。供試した全ての品種系統で、葯間には5%水準で有意差があるとはいえず、同一品種内では同一傾向を示すと推定された。次いで、供試品種系統の四価染色体の出現数と頻度および  $\chi^2$  検定を行った結果を表3に示した。供試品種系統はポコットのグループ、ムバララのグループ、およびエルンバ、マサバ、Q 3307のグループの3グループに分類された。すなわち、ポコットは1花粉母細胞当り2個の四価染色体が形成されるものが最も多く、3個あるいは4個形成されるものがこれに次いで多く、1細胞当りの平均出現数は2.26であった。一方、ムバララも2個の四価染色体が形成される花粉母細胞が最も多いが、3個あるいは4個形成されるものよりも1個あるいは2個形成されるものの方が多く、平均出現率は1.65であった。また、そのほかの品種系統の含まれるグループは0個あるいは1個出現する花粉母細胞が最も多く、また4個以上出現するものはほとんどなく、平均出現数は0.8前後であった。そして、品種名不明の系統はポコットとムバララの中間で平均出現数は1.55であった。

## 考 察

供試四倍体品種系統の簡単な来歴を以下に示す。ポコットはケニアのポコット地方に自生する集団の中から5個体選抜して合成した品種である<sup>6)</sup>。ムバララは西ウガンダのムバララ地方起源の、ケニアの導入品種である<sup>6)</sup>。エルンバはこのムバララの中から個体選抜を行って育成した品種である<sup>7)</sup>。マサバはケニアのエルゴン山の西にあるエンデベスで収集された系統を品種にしたものである<sup>6)</sup>。また、Q 3307はオーストラリアからわが国に導入されたジャイアントタイプの系統で、オーストラリアの育成系統のカリーデの元の系統番号であ

表 3 四倍体品種系統の四価染色体出現数および頻度

| 品種系統名           | 四 価 染 色 体 数   |               |              |              |              |            |              | 合計  | 平均出現数 | 有意差検定* |
|-----------------|---------------|---------------|--------------|--------------|--------------|------------|--------------|-----|-------|--------|
|                 | 0             | 1             | 2            | 3            | 4            | 5          | 6            |     |       |        |
| ポコット            | 13<br>(9.3)   | 30<br>(21.4)  | 39<br>(27.9) | 31<br>(22.1) | 20<br>(14.3) | 6<br>(4.3) | 1<br>(0.7)** | 140 | 2.26  | a      |
| ムバララ            | 34<br>(21.5)  | 38<br>(24.1)  | 55<br>(34.8) | 16<br>(10.1) | 10<br>(6.3)  | 4<br>(2.5) | 1<br>(0.6)   | 158 | 1.65  | b      |
| エルンバ            | 74<br>(40.0)  | 69<br>(37.3)  | 33<br>(17.8) | 8<br>(4.3)   | 1<br>(0.5)   | 0<br>(0.0) | 0<br>(0.0)   | 185 | 0.88  | c      |
| マサバ             | 48<br>(40.7)  | 41<br>(34.7)  | 25<br>(21.2) | 4<br>(3.4)   | 0<br>(0.0)   | 0<br>(0.0) | 0<br>(0.0)   | 118 | 0.87  | c      |
| Q 3307 (800004) | 22<br>(41.5)  | 22<br>(41.5)  | 6<br>(11.3)  | 3<br>(5.7)   | 0<br>(0.0)   | 0<br>(0.0) | 0<br>(0.0)   | 53  | 0.81  | c      |
| Q 3307 (800007) | 112<br>(43.4) | 109<br>(42.2) | 34<br>(13.2) | 2<br>(0.8)   | 1<br>(0.4)   | 0<br>(0.0) | 0<br>(0.0)   | 258 | 0.72  | c      |
| 品種名不明           | 9<br>(20.9)   | 12<br>(27.9)  | 12<br>(27.9) | 9<br>(20.9)  | 1<br>(2.3)   | 0<br>(0.0) | 0<br>(0.0)   | 43  | 1.55  | a b    |

\* : a, b, c の異記号間では差異あり。

\*\* : ( ) 内は出現頻度 (%)。

る<sup>65)</sup>。このカリデーは、タンザニアのムプワプワ試験場からジャイアントローズグラスの名でオーストラリアに導入されたものである<sup>6)</sup>。

これらの品種の中でQ3307は大型で、出穂期も他の四倍体品種より1か月以上早いことなど特異な性質を示す(表27, 28)ことから、他の品種とは異なった系統分化の道をたどったことが推定されるが、この系統は四価染色体の出現頻度が低いグループに属している。来歴と四価染色体の出現頻度の関係を見ると、ポコットやムバララなどはほとんど導入したまま品種にしたものであり、四価染色体の出現頻度が高い。エルンバは種子の生産性や草勢で選抜した系統であるため<sup>7)</sup>、花粉稔性の高い二価染色体が多発する個体が選抜された、あるいは育成中になんらかの変異が生じた可能性が考えられる。

供試した全ての品種系統で出現頻度の差こそあれ、四価染色体が出現したことから、多少の分化の差はあるが同質四倍体であると推定された。

### (3) クロリス属の染色体数、生殖様式および形態的特性

クロリス (*Chloris*) 属には形態的ならびに生態的特性や倍数性の異なる約40種が含まれている。この属の染色体の基本数は10で、 $2n=20, 30, 40, 50, 80$ およびいくつかの異数体の種の存在が知られている<sup>15)</sup>。これらの中で、最も広く栽培されているローズグラスの細胞遺伝学的研究が最も進んでおり、前章でも導入品種系統の染色体数や花粉形成過程について述べた。ところが、他の種については分類学的研究以外はほとんど研究が行われていないのが現状である。しかし、このローズグラスでさえ、生殖様式については一般に有性生殖の他殖性と考えられているが<sup>4,30)</sup>、アポミクシスであるとの報告がある<sup>8,28)</sup>など不明な点も多い。

本研究の細胞遺伝学および形態学的研究の第一の目的は、例えばウイーピングクロリス (*C. distichophylla*) の持つ耐寒性遺伝子、あるいはクロリス属のなかではこの種だけが持つ光合成における NAD-ME 回路をローズグラスに導入する可能性を探索することである。その第二は、BROWN and EMERY<sup>8)</sup>が報告した無性生殖の系統あるいは個体がわが国のローズグラスあるいはクロリス属遺伝資源の中に存在するかどうかを調査することである。

本研究では、宝示戸・堀端<sup>25)</sup>が1971年から1973年にかけて熱帯牧草の探索導入を行った膨大なコレクションの中のクロリス属系統と、九州農業試験場草地部が南アフリカ共和国およびオーストラリアの試験場から導入した系統を供試した。これらは現在日本に導入されているほとんどの系統にあたる。



## 材料および方法

供試した品種系統名、および探索導入した国名あるいは導入した試験場名を表4に示した。試験は、これらの品種系統を1987年4月15日に苗床に播種し、1系統当り15個体を5月30日に九州農業試験場草地部（熊本県菊池郡西合志町）圃場において、1区2m×3m=6m<sup>2</sup>、一列条播で株間20cm、乱塊法2反復で移植した。

染色体数の調査は出穂2、3日前の穂を固定して、主に花粉母細胞減数分裂の移動期の像で確認した。固定および染色法はすでに前章で述べた方法を用いた。

生殖様式は以下に示す透明化による胚嚢分析法と袋掛け法による種子稔実率の調査によって確認した。

胚嚢分析法：柱頭が小花から抽出したばかりの穂をナワシン溶液で固定し24時間浸漬した後に、70%エチルアルコールに移して保存しておく。透明化には次の2法を用いた。

A. 穂を、乳酸：抱水クロラル：フェノール：ユーゲノール：キシレン=10：10：10：10：5（重量比）の透明化混合液に48時間浸漬して透明化する<sup>70)</sup>。

B. YOUNG *et al.*<sup>93)</sup>の方法を修正し、穂を70%エチルアルコール、85%エチルアルコール、100%エチルアルコール（2回）、エチルアルコール：サリチル酸メチル=1：1混合液、エチルアルコール：サリチル酸メチル=1：3混合液の順に各々2時間以上浸漬して、最後に100%サリチル酸メチルに浸漬して透明化し、検鏡するまで保存する。

上記のいずれかの方法で透明化した雌ずいをピンセットを用いて解剖顕微鏡下で取り出し、スライドガラス上に約1.2cmの間隔で張り付けた2枚のカバーガラスの間に整然と並べ、その上に橋をかけるようにもう1枚のカバーガラスを乗せて透明化液を注入する（写真2）。このように、1系統当り約50の雌ずいを取り出し、ノマルスキー微分干渉位相差顕微鏡で検鏡し、胚嚢および核の形態から生殖様式を判定した。すなわち、有性生殖の場合は1個の卵核、2個の助細胞、2個の極核、および3個の反足細胞が観察されるのに対して、無孢子生殖（apospory）のアポミクシス胚の場合は1個の卵核と1個の極核が観察され、反足細胞は形成されない<sup>55,70)</sup>。

袋掛け法による種子稔実率の調査は株を堀上げ、温室内で行った。そして、袋掛けを行ったものと袋掛けを行っていない穂から得られた小穂を軟エックス線で透視して調査した。そして、両者の稔実率を比較することによって他殖か自殖かを推定した。

形態的特性の調査項目と調査日は以下に示すように生育期間の全期にわたった。初期草丈と初期草勢（6月10日および7月4日調査）、草型（直立性かほふく性かの2段階評価：

表4 供試した *Chloris* 属品種の系統名と来歴

| 番号 | 種 名                      | 系 統 名            | 導入相手国                 |
|----|--------------------------|------------------|-----------------------|
| 1  | <i>C. acicularis</i>     | CPI 59648        | オーストラリア <sup>3</sup>  |
| 2  | <i>C. barbata</i>        | 72-267           | エチオピア <sup>1</sup>    |
| 3  | <i>C. barbata</i>        | 73-937           | ケニア <sup>1</sup>      |
| 4  | <i>C. barbata</i>        | 72-3             | ナイジェリア <sup>1</sup>   |
| 5  | <i>C. castilloniana</i>  | CPI 53922        | オーストラリア <sup>3</sup>  |
| 6  | <i>C. ciliata</i>        | CPI 53923        | オーストラリア <sup>3</sup>  |
| 7  | <i>C. distichophylla</i> | 26785            | オーストラリア <sup>3</sup>  |
| 8  | <i>C. distichophylla</i> | 26785 64/5       | オーストラリア <sup>3</sup>  |
| 9  | <i>C. distichophylla</i> | 32420            | オーストラリア <sup>3</sup>  |
| 10 | <i>C. distichophylla</i> | CPI 53924        | オーストラリア <sup>3</sup>  |
| 11 | <i>C. distichophylla</i> | 67050 (u/53/181) | 南アフリカ共和国 <sup>2</sup> |
| 12 | <i>C. divaricata</i>     | Munduberra       | オーストラリア <sup>3</sup>  |
| 13 | <i>C. gayana</i>         | Katambora        | オーストラリア <sup>4</sup>  |
| 14 | <i>C. gayana</i>         | Fords Katambora  | 南アフリカ共和国 <sup>2</sup> |
| 15 | <i>C. gayana</i>         | Gunsons          | 南アフリカ共和国 <sup>2</sup> |
| 16 | <i>C. gayana</i>         | Pioneer          | オーストラリア <sup>4</sup>  |
| 17 | <i>C. gayana</i>         | Callide          | オーストラリア <sup>4</sup>  |
| 18 | <i>C. gayana</i>         | Boma             | ケニア <sup>1</sup>      |
| 19 | <i>C. gayana</i>         | Samford          | オーストラリア <sup>4</sup>  |
| 20 | <i>C. pilosa</i>         | 72-192           | ナイジェリア <sup>1</sup>   |
| 21 | <i>C. pilosa</i>         | 72-50            | ナイジェリア <sup>1</sup>   |
| 22 | <i>C. polydactyla</i>    | CPI 53926        | オーストラリア <sup>3</sup>  |
| 23 | <i>C. pycnothrix</i>     | 72-111           | ナイジェリア <sup>1</sup>   |
| 24 | <i>C. pycnothrix</i>     | 72-308-2         | エチオピア <sup>1</sup>    |
| 25 | <i>C. radiata</i>        | 75293            | 南アフリカ共和国 <sup>2</sup> |
| 26 | <i>C. roxburghiana</i>   | 73-483           | ケニア <sup>1</sup>      |
| 27 | <i>C. roxburghiana</i>   | 73-493           | ケニア <sup>1</sup>      |
| 28 | <i>C. roxburghiana</i>   | 73-877           | ケニア <sup>1</sup>      |
| 29 | <i>C. roxburghiana</i>   | 73-951           | ケニア <sup>1</sup>      |
| 30 | <i>C. truncata</i>       | Munduberra       | オーストラリア <sup>3</sup>  |
| 31 | <i>C. virgata</i>        | 67052 (u/63/178) | 南アフリカ共和国 <sup>2</sup> |
| 32 | <i>C. virgata</i>        | 74353            | 南アフリカ共和国 <sup>2</sup> |
| 33 | <i>C. virgata</i>        | 75294            | 南アフリカ共和国 <sup>2</sup> |
| 34 | <i>C. virgata</i>        | 73-809           | ケニア <sup>1</sup>      |
| 35 | <i>C. virgata</i>        | 73-891           | ケニア <sup>1</sup>      |
| 36 | <i>C. virgata</i>        | 67052            | 南アフリカ共和国 <sup>2</sup> |

1 : 熱帯農業研究センターによる探索導入系統(宝示戸・堀端, 1982)。

2 : 南アフリカ共和国, Division of Plant and Seed Control, Pretoria からの導入系統。

3 : オーストラリア, CSIRO, Division of Tropical Crops and Pastures からの導入系統。

4 : オーストラリア, クイーンズランド州, Division of Primary Industries からの導入系統。





写真2 透明化法による胚囊分析のために、スライドガラス上に約1cm間隔で2枚のカバーガラスを張り付け、その間にギニアガラスの雌ずいを並べ、もう1枚のカバーガラスをかぶせて透明液で封入したところ (NAKAGAWA, 1990)。

7月4日調査), ほぼ全系統が出穂した9月5日に一斉調査で, 稈長および稈径, 草型(1=直立型, 9=ほふく型の9段階評価), 被度(1=低, 9=高の9段階評価), 出穂日(7月1日を起算日とした出穂までの日数), 穂長, 枝梗数, 分けつ数, 節数, 止葉長, 止葉幅, 止葉下の第1葉の葉長および葉幅, 止葉の裏, 節, 葉鞘, 葉舌の毛の有無(0=無, 1=有の2段階評価), および生草重を調査した。また, 葉の表面および裏面の気孔の数と大きさの調査には, 完全に展開した止葉の下第1葉の中央部をマニキュアを用いたスンプ法で鋳型にし, それを顕微鏡下で計測した。気孔数は一定面積当りの数で, また気孔の大きさは長径を用いた。これら26形質の数値を用いて, 12種34系統に対してクラスター分析を行った。計算は農林水産省農林水産計算センターのデータベース用パッケージプログラム「GRIMS/CGS」を用い, クラスター分析は「CLUSTUS」<sup>84)</sup>を用いた。

### 結果および考察

#### ロ a. 染色体数

確認した供試14種の染色体数を表5に示した。ローズグラスのカタンボラ(Katambora:



表5 確認したクロリス属14種の染色体数

| 種 名                      | 染色体数 (2n) |
|--------------------------|-----------|
| <i>Chloris gayana</i>    |           |
| Fords Katambora          | 20        |
| Gunsons                  | 20        |
| Katambora                | 20        |
| Pioneer                  | 20        |
| Boma                     | 40        |
| Callide                  | 40        |
| Samford                  | 40        |
| <i>C. pilosa</i>         | 20        |
| <i>C. roxburghiana</i>   | 20        |
| <i>C. virgata</i>        | 20        |
| <i>C. acicularis</i>     | 40        |
| <i>C. barbata</i>        | 40        |
| <i>C. divaricata</i>     | 40        |
| <i>C. polydactyla</i>    | 40        |
| <i>C. pycnothrix</i>     | 40        |
| <i>C. radiata</i>        | 40        |
| <i>C. distichophylla</i> | 80        |
| <i>C. ciliata</i>        | 80        |
| <i>C. castilloniana</i>  | 100       |
| <i>C. truncata</i>       | 120       |

写真3A), フォーズカタンボラ (Fords Katambora), ガンソン (Gunsons), およびパイオニア (Pioneer), *C. pilosa* SCHUMACH. (PIL), *C. roxburghiana* SCHULT. (ROX), および *C. virgata* Sw. (VIR) は二倍体 ( $2n=20$ ) であり, ローズグラスのボマ (Boma : 写真3B), カリーデ (Callide), およびサンフォード (Samford), *C. acicularis* LINDL. (ACI), *C. barbata* Sw. (BAR), *C. divaricata* R. BR. (DIV), *C. polydactyla* Sw. (POL), *C. pycnothrix* TRIN. (PYC), および *C. radiata* Sw. (RAD) は四倍体 ( $2n=40$ ) であった。また, *C. distichophylla* LAG. (DIS : 写真3C) と *C. ciliata* Sw. (CIL) は八倍体 ( $2n=80$ ), *C. castilloniana* (CAS : 写真3D) は十倍体 ( $2n=100$ ), *C. truncata* R. BR. (TRU : 写真3E) は十二倍体 ( $2n=120$ ) であった。すでに示したように, 本研究でもローズグラスには二倍体のものと四倍体のものが存在し, 四倍体では四価染色体が観察され

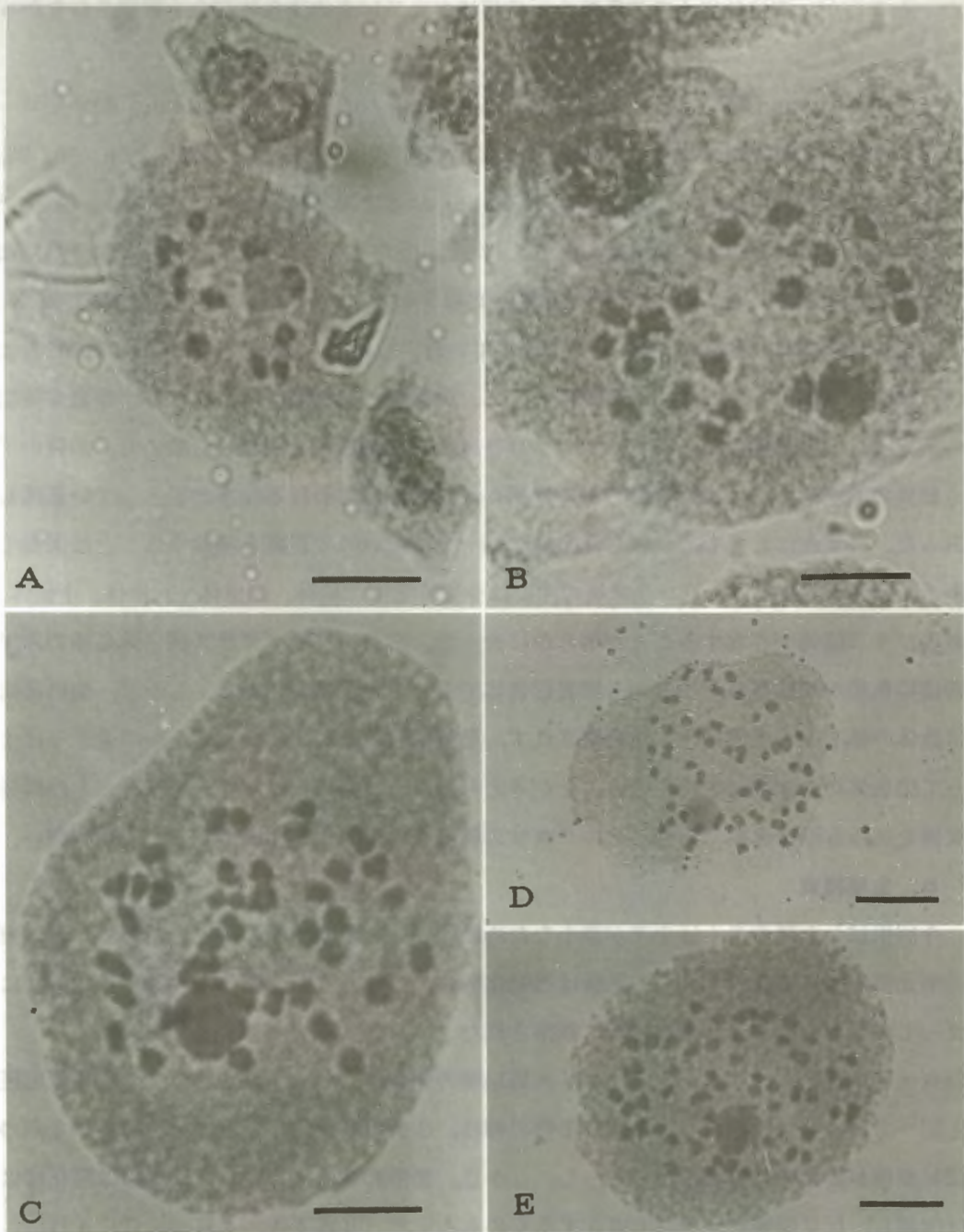


写真3 クロリス属の花粉母細胞の減数分裂移動期 (NAKAGAWA *et al.*, 1987)。

A : ローズグラス (*Chloris gayana*) のカタンボラ ( $n=10$ ) ; B : ローズグラスのボマ ( $n=20$ ) ; C : ウイーピングクロリス (*C. distichophylla* :  $n=40$ ) ; D : *C. castilloniana* ( $n=50$ ) ; E : *C. truncata* ( $n=60$ )

写真中の直線の長さ : A, B, C =  $10\mu\text{m}$  ; D, E =  $20\mu\text{m}$



た。ところが、四倍体以上の倍数性を示す種においては多価染色体が全く観察されなかった。

DARLINGTON and WYLIE<sup>15)</sup>は、「Chromosome Atlas of Flowering Plants」の中でローズグラスと BAR は  $2n=20$  および  $40$ 、DIS は  $2n=20$ 、PIL は  $2n=30$ 、PYC は  $2n=30$ 、 $36$ 、および  $40$ 、TRU は  $2n=40$ 、VIR は  $2n=20$ 、 $26$ 、および  $40$  と記載している。また、GOULD<sup>9)</sup> は CIL が  $2n=40$ 、POL が  $2n=72$  であったと報告している。また、BOGDAN<sup>6)</sup> は ROX は  $2n=20$  と記載している。本研究の調査結果と比較すると、ローズグラス、BAR、PYC、ROX、および VIR に関しては上記の記載と一致していた。しかし、CIL、DIS、PIL、POL および TRU は一致しなかった。その原因として、分類学上の問題が考えられる。筆者が英国の王立キュー植物園のハーバリウムでクロリス属の植物標本を閲覧した際にも、同種内でも変異の幅が大きく、また筆者の目には明らかに異種と思われる標本が混入している種もあった。いずれにしても、供試した系統が同一ではないので正誤を議論することは困難である。今回の調査では、クロリス属の中には少なくとも二倍体、四倍体、八倍体、十倍体、および十二倍体が存在することが明らかになった。また、ローズグラス四倍体品種のみで四価染色体が観察されたことから同質四倍体であることが推定された。しかし、他の高次倍数体の種で全く多価染色体が観察されず、異質倍数体かあるいはなんらかの遺伝子によって染色体対合が制御されていることが考えられた。このことは、ローズグラスとの種間交雑を試みる際に重要であり、かつクロリス属の種の起源や進化を考える上で興味深い。

#### b. 生殖様式

今回供試した種の多くは小花が微小なために雌ずいを取り出すのが困難であったが、両透明化液によってクロリス属の胚嚢は透明化され、ノマルスキー微分干渉位相差顕微鏡によって胚嚢の構造および核が鮮明に観察された。

ローズグラスをはじめとするクロリス属14種の胚嚢は、*Polygonum* タイプの有性生殖胚と同一であった。すなわち、胚嚢は1個の卵核、2個の助細胞、2個の極核および3個の反足細胞が観察される8核性であった。しかし、発生初期には存在した助細胞は開花時には消滅し、反足細胞が4個以上存在するものもあった(写真4A, 4B, 4C, 4D)。

ローズグラスに関するこの結果は、HUTTON<sup>28)</sup> や JONES and PRITCHARD<sup>30)</sup> の結果を支持し、四倍体の中に4核性のアポミクシス胚を持つものが存在するという BROWN and EMERY<sup>8)</sup> の結果とは異なった。しかし、この研究では核の融合については調査を行っていないので、HUTTON<sup>28)</sup> の指摘するような8核性のアポミクシス胚を持つものが存在するのか、また、生井ら<sup>59)</sup> の報告にある、花粉稔性が0%であるにもかかわらず袋掛け受粉によって

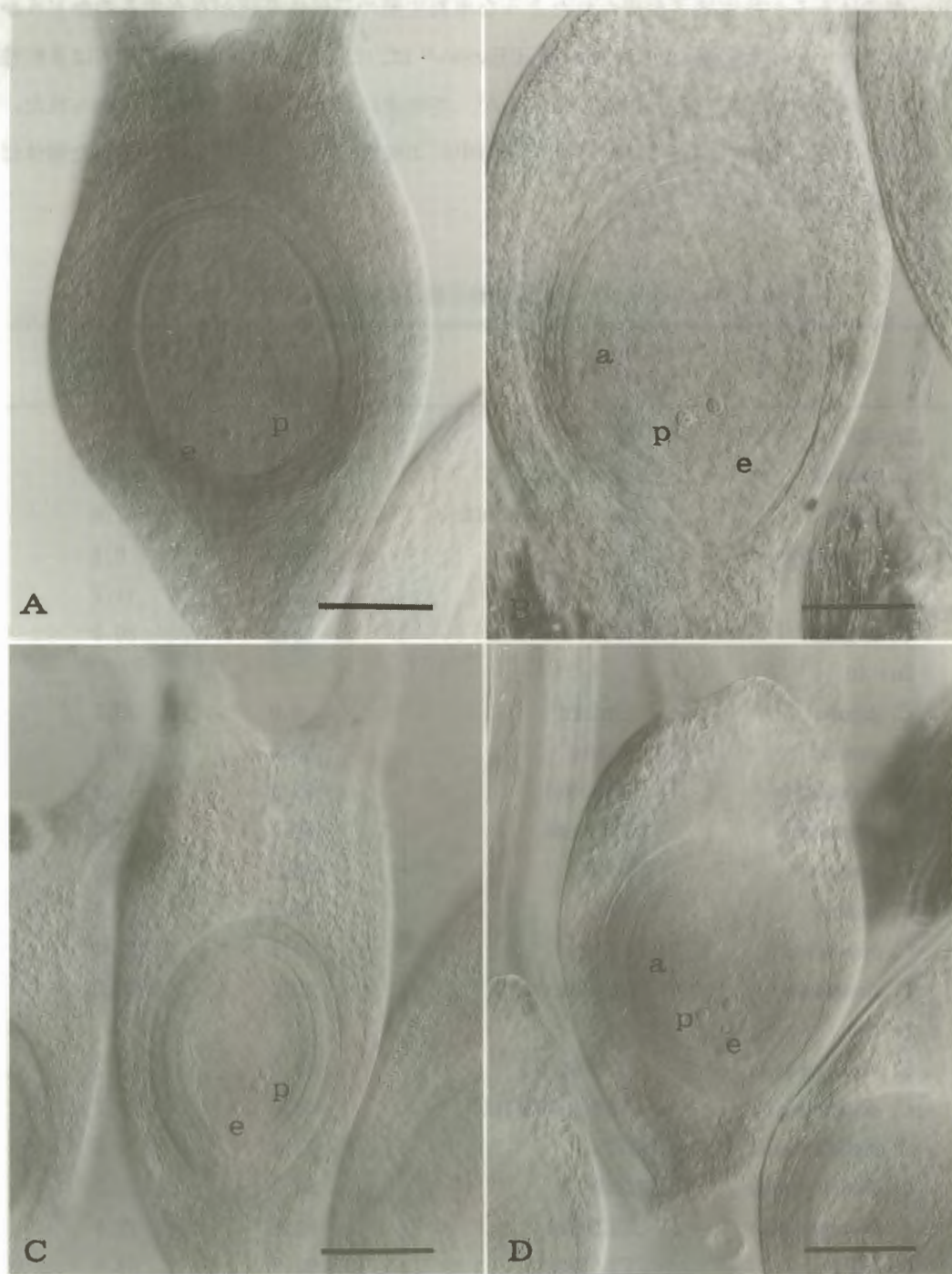


写真4 透明化した後にノマルスキー微分干渉位相差顕微鏡で検鏡したクロリス属の胚囊 (NAKAGAWA *et al.*, 1987)。A : ローズグラス (*Chloris gayana*) のカリーデ ; B : *C. ciliata* ; C : *C. divaricata* ; D : *C. polydactyla*  
a : 反足細胞 ; p : 極核 ; e : 卵核  
写真中の直線の長さ=0.1mm



低い率ではあるが稔実種子が得られたような単為生殖の二倍体系統が存在するのかどうかは結論できなかった。また、BROWN and EMERY<sup>8)</sup> は、CIL, DIS, および TRUは8核性の有性生殖胚を備えていると報告しているが、本研究においても同様の結果が得られた。以上のように、今回の調査ではクロリス属の中に4核性のアポミクシス胚を備えた個体は全く発見できなかった。

表6 クロリス属14種の自家受粉と放任受粉の場合の種子稔実率

| 種 名                      | 系 統 名            | 種子稔実率(%) |      |
|--------------------------|------------------|----------|------|
|                          |                  | 自家受粉     | 放任受粉 |
| 2n=20                    |                  |          |      |
| <i>C. gayana</i>         | Katambora        | 0.0      | 65.0 |
| <i>C. gayana</i>         | Fords Katambora  | 10.1     | 67.0 |
| <i>C. roxburghiana</i>   | 73-483           | 14.2     | 0.2  |
| <i>C. pilosa</i>         | 72-50            | 83.9     | 41.2 |
| <i>C. virgata</i>        | 74353            | 88.2     | 80.0 |
| 2n=40                    |                  |          |      |
| <i>C. gayana</i>         | Samford          | 0.0      | 40.2 |
| <i>C. gayana</i>         | Callide          | 10.8     | 40.7 |
| <i>C. polydactyla</i>    | CPI 53926        | 13.5     | 18.8 |
| <i>C. acicularis</i>     | CPI 59648        | 60.1     | 72.0 |
| <i>C. barbata</i>        | 73-937           | 60.2     | 77.3 |
| <i>C. radiata</i>        | 75293            | 60.5     | 72.4 |
| <i>C. pycnothrix</i>     | 72-111           | 70.4     | 72.4 |
| <i>C. divaricata</i>     | Munduberra       | 73.1     | 60.0 |
| 2n=80                    |                  |          |      |
| <i>C. distichophylla</i> | 26785 64/5       | 42.0     | 50.2 |
| <i>C. distichophylla</i> | 67050 (u/53/181) | 43.7     | 52.7 |
| <i>C. distichophylla</i> | 26785            | 73.4     | 71.6 |
| <i>C. distichophylla</i> | 32420            | 80.3     | 76.7 |
| <i>C. distichophylla</i> | CPI 53924        | 81.6     | 72.8 |
| <i>C. ciliata</i>        | CPI 53923        | 93.0     | 88.3 |
| 2n=100                   |                  |          |      |
| <i>C. castilloniana</i>  | CPI 53922        | 82.2     | 67.8 |
| 2n=120                   |                  |          |      |
| <i>C. truncata</i>       | Munduberra       | 87.2     | 50.7 |



本研究で用いた2種類の透明化液を比較した場合、SAVIDAN<sup>70)</sup>が記述した混合液を用いて透明化した雌ずいは弾力性を備えていることから、雌ずいの摘出がたやすく、透明化手順も簡単であった。ところが、この混合液にはフェノールなどの毒性の強い薬品が含まれているので、ドラフトなどで通気しないと危険であること、透明化後は2、3日以内に検鏡しないと透明化液そのものが暗色化して検鏡に適さなくなるという欠点を持っていた。一方、サリチル酸メチルを用いて透明化した雌ずいはガラス状になるために柱頭が折れ易く、摘出に多少技術を要した。また、この透明化手順は一見煩雑であるが、透明化のどの段階でも保存性が高く、大量の雌ずいを一度に処理するのに適していた。しかし、透明化の性能については、観察した限り両者に差はなかった。

穂ばらみ期の穂に袋掛けをした場合としなかった場合の種子形成率を表6に示した。ACI, BAR, CAS, CIL, DIS, DIV, PYC, RAD, および TRU は袋掛けを行った場合も行わなかった場合も種子稔実率が50~95%と高かった。これとは逆に POL と ROX はどちらの場合も種子稔実率が低かった。一方、ローズグラス4品種は袋掛けを行わなかった場合には高率で種子が形成されたにもかかわらず、袋掛けを行った場合には0あるいは10%前後と種子稔実率が低かった。このことから、ACI, BAR, CAS, CIL, DIS, DIV, PYC, RAD, および TRU は自殖性であり、ローズグラスは BOGDAN<sup>4)</sup>や JONES and PRITCHARD<sup>30)</sup>が報告したように他殖性であることが明らかになった。また、POL と ROX は両処理とも種子稔実率が低かったが、ほとんど同程度の数値であることから自殖性であろうと推定した。しかし、この原因については今後の研究が必要である。

### c. 形態的特性

クロリス属14種の出穂期を表7に示した。供試した種の中で PIL の出穂が最も早く7月5日であった。一方、ローズグラス四倍体品種のボマの出穂が最も遅く11月1日であり、未出穂の系統はなかった。ローズグラスのみの出穂日をみると、もう一つの四倍体品種であるカリードは9月10日、二倍体品種のフォーズカタンボラは7月20日、カタンボラは8月15日であった。このように四倍体品種は短日植物であり、二倍体に比べて出穂が遅かった。しかし、他の種を見ると二倍体においても四倍体においても同一倍数性内に出穂性について異なるものが存在し、全体的にみると7月下旬から8月下旬にかけて出穂するものが多く、倍数性と出穂反応との間に明らかな関係はなかった。

クロリス属14種の出穂期における稈長、稈径および節数を表7に示した。供試系統の稈長の範囲は60~170cmで大きかった。この中でローズグラスの稈長が最も長く、四倍体品種は二倍体品種よりも10~20cm長かった。一方、VIR, POL, および CAS は二倍体ローズ

表7 クロリス属14種の出穂始日および出穂期の稈の特性

| 種 名                      | 系 統 名           | 出穂始日<br>(月.日) | 稈長(cm) | 稈径(mm) | 節 数  |
|--------------------------|-----------------|---------------|--------|--------|------|
| 2n=20                    |                 |               |        |        |      |
| <i>C. pilosa</i>         | 72-50           | 7.05          | 89     | 2.2    | 7.1  |
| <i>C. gayana</i>         | Fords Katambora | 7.20          | 145    | 2.2    | 9.2  |
| <i>C. virgata</i>        | 75294           | 7.31          | 122    | 2.3    | 8.8  |
| <i>C. gayana</i>         | Katambora       | 8.15          | 160    | 2.2    | 11.1 |
| <i>C. roxburghiana</i>   | 73-877          | 8.19          | 78     | 2.8    | 4.0  |
| 2n=40                    |                 |               |        |        |      |
| <i>C. divaricata</i>     | Munduberra      | 7.17          | 67     | 1.0    | 5.3  |
| <i>C. acicularis</i>     | CPI 59648       | 7.19          | 62     | 1.3    | 5.8  |
| <i>C. radiata</i>        | 75293           | 7.21          | 76     | 1.1    | 5.5  |
| <i>C. barbata</i>        | 73-937          | 7.30          | 80     | 1.6    | 6.5  |
| <i>C. polydactyla</i>    | CPI 53926       | 8.28          | 125    | 2.7    | 4.6  |
| <i>C. pycnothrix</i>     | 72-111          | 8.29          | 57     | 1.4    | 8.0  |
| <i>C. gayana</i>         | Callide         | 9.10          | 172    | 2.9    | 13.0 |
| <i>C. gayana</i>         | Boma            | 11.01         | 170    | 3.1    | 14.0 |
| 2n=80                    |                 |               |        |        |      |
| <i>C. ciliata</i>        | CPI 53923       | 8.08          | 78     | 1.7    | 4.6  |
| <i>C. distichophylla</i> | 26785 64/5      | 8.20          | 101    | 2.4    | 4.1  |
| 2n=100                   |                 |               |        |        |      |
| <i>C. castilloniana</i>  | CPI 53922       | 8.24          | 110    | 2.6    | 5.8  |
| 2n=120                   |                 |               |        |        |      |
| <i>C. truncata</i>       | Munduberra      | 8.21          | 75     | 1.3    | 6.3  |
| 5% LSD                   |                 |               | 12.0   | 0.35   | 1.37 |

グラスよりも20~30cm短く、他の種は100cm以下であり、最も短い種はほふく性の強いPYCで約60cmであった。また、稈径の範囲は1.0~3.1mmで、四倍体ローズグラス, ROX, POL, およびCASが太く、DIV, RAD, ACI, TRU, およびPYCは細かった。二倍体ローズグラスの稈径は四倍体に比べて約1mm細かったが、全体的にみると倍数性と稈長および稈径との間に相関関係はなかった。

クロリス属14種の節数の範囲は4~14であった。ローズグラスの節数が最も多く出穂期が遅いほど節数が多い傾向が認められた。ローズグラスにおいては、出穂期は倍数性と密



表8 クロリス属14種の穂の特性

| 種 名                      | 系 統 名           | 穂 長 (cm) | 枝梗数 (本) |
|--------------------------|-----------------|----------|---------|
| 2n=20                    |                 |          |         |
| <i>C. pilosa</i>         | 72-50           | 6.5      | 10.8    |
| <i>C. gayana</i>         | Fords Katambora | 8.8      | 11.2    |
| <i>C. virgata</i>        | 75294           | 10.0     | 9.1     |
| <i>C. gayana</i>         | Katambora       | 10.2     | 8.2     |
| <i>C. roxburghiana</i>   | 73-877          | 12.7     | 91.4    |
| 2n=40                    |                 |          |         |
| <i>C. barbata</i>        | 73-937          | 5.8      | 12.9    |
| <i>C. acicularis</i>     | CPI 59648       | 8.0      | 7.8     |
| <i>C. pycnothrix</i>     | 72-111          | 8.2      | 12.2    |
| <i>C. radiata</i>        | 75293           | 9.6      | 9.6     |
| <i>C. gayana</i>         | Boma            | 10.0     | 12.0    |
| <i>C. gayana</i>         | Callide         | 14.3     | 14.8    |
| <i>C. polydactyla</i>    | CPI 53926       | 16.8     | 18.2    |
| <i>C. divaricata</i>     | Munduberra      | 17.0     | 6.5     |
| 2n=80                    |                 |          |         |
| <i>C. distichophylla</i> | 26785 64/5      | 10.9     | 11.7    |
| <i>C. ciliata</i>        | CPI 53923       | 11.5     | 2.8     |
| 2n=100                   |                 |          |         |
| <i>C. castilloniana</i>  | CPI 53922       | 14.3     | 16.6    |
| 2n=120                   |                 |          |         |
| <i>C. truncata</i>       | Munduberra      | 7.5      | 4.9     |
| 5% LSD                   |                 | 1.28     | 2.02    |

接に関係しているために、結果として四倍体品種の節数が二倍体品種よりも多かった。しかし、他の種では倍数性と節数との間には明らかな関係はなかった。

クロリス属14種の穂長と枝梗数を表8に示した。14種の穂長の範囲は5.8~17.0cmであった。一見して穂が他の種と異なる特異な種は、穂の長い DIV と枝梗数の多い ROX であった。DIV は稈長が短いにもかかわらず、穂は最も長くて約17cmもあった。そして、POL, CAS, およびローズグラス四倍体品種のカリーデがこれに次いだ。一方、BAR, VIR, および TRU は短く、8 cm以下であった。枝梗数を見ると ROX が極端に多くて約100本の枝梗を持っていた。一方、CIL の枝梗は少なく、2, 3本しかなかった。他の種の穂は、

互いに共通した懸型を持つ ACI, PYC, および RAD を除いてすべてローズグラス型の穂であった。四倍体ローズグラス品種の枝梗数は二倍体ローズグラス品種よりも多い傾向がみられた。しかし、全体的には穂長や枝梗数と倍数性との間に明らかな関係はなかった。止葉およびその1枚下葉の葉長および葉幅を表9に示した。DISの全ての系統の止葉は全くないか、存在しても痕跡程度であった。止葉の葉長はローズグラスと ROX で長く、特に四倍体ローズグラスでは約21cmもあった。一方、高次倍数体の種である CIL, CAS, および DIV が3cm以下と短かった。止葉の葉幅は ROX が8.3mmと最も広く、四倍体ローズグラス品種がこれに次いだ。一方、高次倍数体の CIL, TRU, および DIV は2mm以下

| 種 名                      | 系 統 名           | 止葉長<br>(cm) | 止葉幅<br>(mm) | 下位葉長<br>(cm) | 下位葉幅<br>(mm) |
|--------------------------|-----------------|-------------|-------------|--------------|--------------|
| Zn=20                    |                 |             |             |              |              |
| <i>C. virgata</i>        | 75294           | 4.8         | 3.8         | 41.0         | 8.0          |
| <i>C. pilosa</i>         | 72-50           | 7.7         | 3.9         | 18.5         | 8.0          |
| <i>C. gayana</i>         | Fords Katambora | 10.8        | 3.9         | 29.8         | 7.0          |
| <i>C. gayana</i>         | Katambora       | 12.5        | 3.7         | 34.2         | 6.0          |
| <i>C. roxburghiana</i>   | 73-877          | 17.3        | 8.3         | 22.9         | 10.0         |
| Zn=40                    |                 |             |             |              |              |
| <i>C. divaricata</i>     | Munduberra      | 2.8         | 1.0         | 9.6          | 2.0          |
| <i>C. polydactyla</i>    | CPI 53926       | 3.4         | 3.6         | 28.9         | 11.0         |
| <i>C. pycnosthrix</i>    | 72-111          | 3.6         | 4.2         | 5.9          | 5.0          |
| <i>C. radialis</i>       | 75293           | 3.8         | 3.4         | 8.3          | 6.0          |
| <i>C. barbata</i>        | 73-937          | 4.6         | 3.4         | 13.2         | 6.0          |
| <i>C. acicularis</i>     | CPI 59648       | 6.0         | 2.7         | 10.6         | 6.0          |
| <i>C. gayana</i>         | Callide         | 21.2        | 6.7         | 42.6         | 11.0         |
| <i>C. gayana</i>         | Boma            | 21.5        | 7.4         | 41.0         | 9.0          |
| Zn=80                    |                 |             |             |              |              |
| <i>C. distichophylla</i> | 26785 64/5      | 0.0         | 0.0         | 10.2         | 8.0          |
| <i>C. citrata</i>        | CPI 53923       | 2.1         | 1.3         | 18.6         | 7.0          |
| Zn=100                   |                 |             |             |              |              |
| <i>C. castilloniana</i>  | CPI 53922       | 2.7         | 4.2         | 22.9         | 8.0          |
| Zn=120                   |                 |             |             |              |              |
| <i>C. truncata</i>       | Munduberra      | 3.8         | 2.0         | 12.3         | 2.0          |
| 5% LSD                   |                 | 2.59        | 2.14        | 5.43         | 0.16         |

表9 クロリス属14種の止葉および下位葉の特性



表10 クロリス属14種の気孔の数と大きさ

| 種 名                      | 系 統 名           | 氣孔長<br>( $\mu\text{m}$ ) | 氣孔數/ $\text{mm}^2$ |       |
|--------------------------|-----------------|--------------------------|--------------------|-------|
|                          |                 |                          | 表                  | 裏     |
| 2n=20                    |                 |                          |                    |       |
| <i>C. roxburghiana</i>   | 73-877          | 19.8                     | 579                | 682   |
| <i>C. gayana</i>         | Fords Katambora | 20.5                     | 67                 | 1064  |
| <i>C. gayana</i>         | Katambora       | 20.5                     | 52                 | 1353  |
| <i>C. pilosa</i>         | 72-50           | 21.5                     | 119                | 1152  |
| <i>C. virgata</i>        | 75294           | 22.0                     | 41                 | 842   |
| 2n=40                    |                 |                          |                    |       |
| <i>C. pycnothrix</i>     | 72-111          | 17.3                     | 542                | 904   |
| <i>C. acicularis</i>     | CPI 59648       | 18.0                     | 537                | 862   |
| <i>C. radiata</i>        | 75293           | 18.0                     | 537                | 863   |
| <i>C. polydactyla</i>    | CPI 53926       | 19.5                     | 439                | 749   |
| <i>C. divaricata</i>     | Munduberra      | 20.5                     | 387                | 630   |
| <i>C. barbata</i>        | 73-937          | 21.3                     | 103                | 976   |
| <i>C. gayana</i>         | Boma            | 26.3                     | 31                 | 697   |
| <i>C. gayana</i>         | Callide         | 26.5                     | 57                 | 687   |
| 2n=80                    |                 |                          |                    |       |
| <i>C. ciliata</i>        | CPI 53923       | 24.5                     | 351                | 429   |
| <i>C. distichophylla</i> | 26785 64/5      | 28.0                     | 72                 | 594   |
| 2n=100                   |                 |                          |                    |       |
| <i>C. castilloniana</i>  | CPI 53922       | 30.3                     | 31                 | 532   |
| 2n=120                   |                 |                          |                    |       |
| <i>C. truncata</i>       | Munduberra      | 30.3                     | 278                | 526   |
| 5% LSD                   |                 | 3.30                     | 55.1               | 156.3 |

と細かった。止葉の1枚下葉の葉長を見ると、止葉の場合とは多少傾向を異にし、四倍体ローズグラス品種と VIR が40cm以上と長く、二倍体ローズグラス品種と POL がこれに次いだ。葉幅はカリーデと POL が広く、DIV および TRU が狭かった。ローズグラスに関するかぎり、四倍体は二倍体に比べて大きな葉を持っていることがわかったが、全体的には倍数性と葉の大きさの間に関係はなかった。

クロリス属14種の葉の表面および裏面の気孔の数と大きさを表10に示した。気孔の大きさは高次倍数体で大きく、十二倍体のTRUおよび十倍体のCASが最も大きく、八倍体のDISがこれに次ぎ、四倍体ローズグラス品種や八倍体のCILも大きかった。しかし、ロ

# TAXODIST WPGM

LEVEL x 10

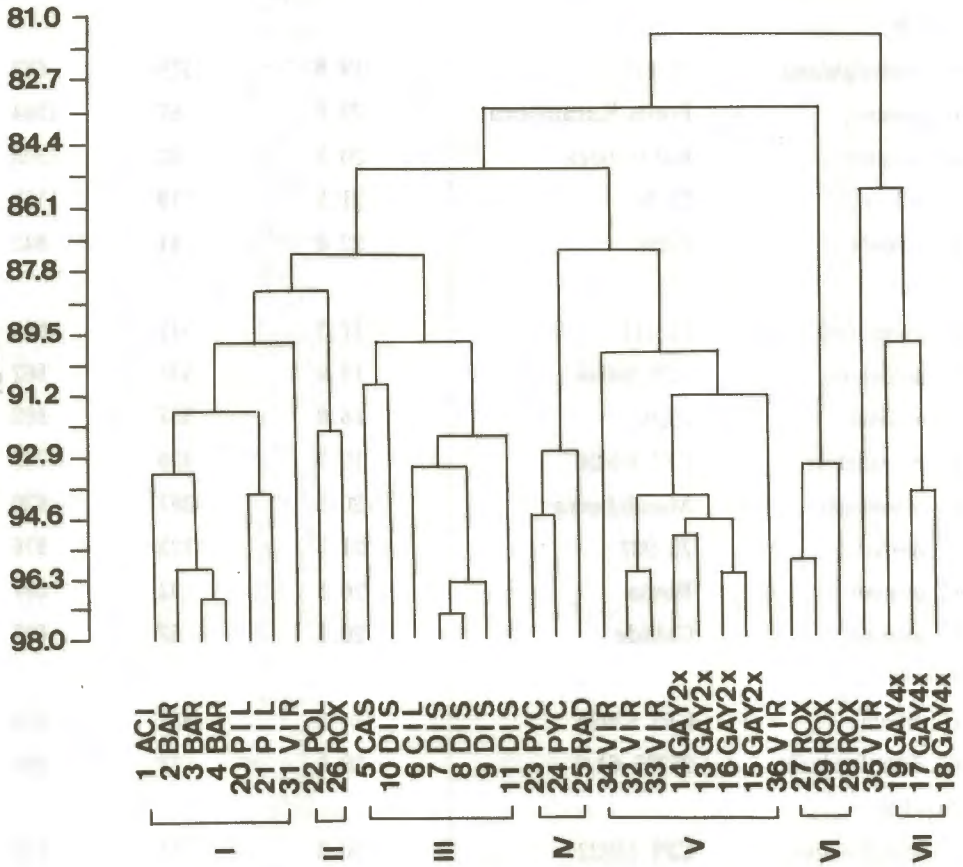


図1 クロリス属34系統のクラスター分析による樹状図  
系統の番号は第4表に示した (NAKAGAWA *et al.*, 1987)

ーズグラス以外では二倍体種と四倍体種の間では差が明確でなかった。表面および裏面の気孔の数を比較した場合、全ての供試した種で裏面の方が表面よりも多かった。しかし、表面および裏面の気孔数に大きな差がない種と裏面に極在しており表面には少ない種に分類することができた。前者に属する種は、ROX, PYC, ACI, RAD, POL, DIV, CIL, および TRU であった。一方、後者に属する種はローズグラス, PIL, VIR, BAR, DIS, および CAS であった。また、四倍体ローズグラス品種の裏面の気孔数は二倍体品種に比べて明らかに少なかった。しかし、全体的にみた場合、気孔の大きさとは逆に倍数性が高くなるにしたがって気孔数が減少するという傾向が認められたものの、ROX のように二倍



体でありながら気孔数が少ない種も存在した。

供試したクロリス系統の中で、12種34系統について、上記の特性をはじめとする26形質の数値データを用いてクラスター分析を行った樹状図を図1に示した。34系統は以下の7グループに分類された；I：ACI (4x), BAR (4x), および PIL (2x), II：POL (4x), III：CAS (10x), CIL (8x), および DIS (8x), IV：PYC (4x) および RAD (4x), V：VIR (2x) およびローズグラス (2x), VI：ROX (2x), VII：ローズグラス (4x)。個々の形質をみた場合は、気孔の大きさおよび数以外では倍数性との間に関係が認められなかったにも関わらず、これらのグループ内には同じ倍数性の種が含まれる傾向があった。例えばグループIIIには八倍体と十倍体の種が属した。これらの種の特徴は草丈が低く、直立型で分けつ数が少ないことである。また、グループVには二倍体のローズグラスと VIR の4系統が属した。このグループの特徴は草丈が高く、ほふく型で生産力が高くて早生であることである。また、VIR と ROX を除いて同一種は同一のグループに分類された。VIR の場合は出穂期および生産力の種内変異が大きかったこと、ROX の場合は枝梗数の少ない系統が存在したことがその原因と考えられる。以上のように、クロリス属は供試した14種を調査しただけでも倍数性は二倍体から十二倍体まで存在し、形態的特性の変異も幅広かった。その中で、現在牧草として世界各国で栽培されているローズグラスの生産力が最も高かった。当初、この研究の一つの目的であったアボミクシス種あるいはアボミクシス系統の探索という面では、全てが有性生殖であったために目的は達せられなかった。しかし、有性生殖であるということは種間交雑が可能であるということであり、今後、染色体倍加による倍数性の障害の除去や交雑方法を確立した後に、ローズグラスに近縁種の有望な遺伝子の導入を試みる際の有益な情報が得られた。

## 第2節 ギニアグラスおよび近縁種の細胞遺伝学的研究

ギニアグラス (*Panicum maximum* JACQ.) は、東アフリカを原産地とし、熱帯、亜熱帯圏で広く栽培されている最も重要な熱帯牧草の1つである。ギニアグラスの飼料作物としての優秀性は、生産力が高い上に家畜の嗜好性が高く、永続性に優れることである。ところが、ギニアグラスの生殖様式は絶対的アポミクシスではないが有性生殖率がきわめて低い条件的アポミクシスといわれ<sup>86)</sup>、通常の方法では交雑育種が不可能とされていた。しかし、アフリカのコートジボアールに所在するフランスの研究機関の ORSTOM (Office de la Recherche Scientifique Outre-Mer) やアメリカ合衆国においての精力的な東アフリカを中心とする遺伝資源の探索導入や生殖様式を知るための簡易な胚嚢分析技術の開発にともない、二倍体レベル<sup>12)</sup>あるいは四倍体レベル<sup>24,83)</sup>で有性生殖個体が発見され、交雑育種への道が拓かれた。わが国においても、1971~1973年まで2回にわたり合計6か月間におよぶ東アフリカにおける探索導入の結果、約2,300点にのぼる熱帯牧草が収集された<sup>25)</sup>。NAKAJIMA *et al.*<sup>54)</sup> は、アフリカコレクションと呼ばれるこのコレクションの中のギニアグラス124系統を供試して後代検定法による生殖様式の調査を行い、二倍体および四倍体の有性生殖個体を単離して、わが国でのギニアグラスの交雑育種法確立への道を拓いた。この後代検定の過程で、草地試験場保存番号 GR297 (導入番号73-1126) を母本として圃場での自然交雑で生じた個体が「B7-1」であり、これがギニアグラス農林1号の「ナツカゼ」(旧系統名ギニアグラス「九州1号」)である<sup>53)</sup>。このように、ギニアグラスの育種研究の歴史をみると、生殖様式や染色体数の調査およびアポミクシスの遺伝的背景と発現機構を解明することが育種に重要であることがわかる。ここでは、透明化法による胚嚢分析法を確立するために行ったギニアグラスおよび近縁種の胚嚢調査、倍数性と生殖様式の関係を知るために行った異なる倍数性の系統の花粉母細胞減数分裂における染色体行動と生殖様式、および雑種個体でのアポミクシスの発現を知るために行った、有性生殖とアポミクシス個体の交雑で生じたナツカゼの細胞学的調査について報告する。

### (1) ギニアグラスおよび近縁種の生殖様式

アポミクシスの細胞学的分類は複雑で、広義のアポミクシスは栄養体繁殖も含めた無性生殖をさすが、植物育種の研究者達は育種学的視点からアポミクシスの定義を「無性生殖による種子形成」に限定することを提唱している。この狭義のアポミクシスは胚嚢を形成



する組織の起源によって、無孢子生殖 (apospory)、複相孢子生殖 (diplospory)、不定胚形成 (adventitious embryony)、および単為生殖 (parthenogenesis) に分類される<sup>1)</sup>。この分類法によるとギニアグラスの生殖様式は偽受精を伴う無孢子生殖に属する<sup>86)</sup>。偽受精とは卵に精核が融合する必要はないが、胚乳の形成のために極核と精核の融合が必要な生殖様式である。

ここでは、ギニアグラスおよび近縁種の生殖様式を胚嚢分析法で調査した結果について報告する。

### 材料および方法

供試材料として、表11に示したギニアグラスの20品種系統と1変種および表12に示した *Panicum coloratum* L. 19系統と第13表に示した *P. antidotale* RETZ. 1系統、*P. deustum* THUNB. 1系統および *P. milioides* 2系統を用いた。

生殖様式の調査は、すでに記述した SAVIDAN<sup>70)</sup>の方法で透明化した後にノマルスキー微分干渉位相差顕微鏡で検鏡して核および胚珠内の組織を観察した。

有性生殖率は、 $S/(S+SA+AS+A) \times 100$ で算出した。ここで、Sは1個の有性生殖胚のみの胚珠の数、SAは有性生殖胚とアポミクシス胚が混在し、有性生殖胚が大きくて優勢である胚珠の数、ASはやはり有性生殖胚とアポミクシス胚が混在するがアポミクシス胚が大きくて優勢である胚珠の数、Aは1個以上のアポミクシス胚のみの胚珠の数を示す。

### 結果および考察

供試したギニアグラス21系統および1変種の胚嚢分析の結果を表11に示した。二倍体の有性生殖系統として知られている GR297<sup>54)</sup>のみが100%の有性生殖率を示し、他は0.0~25.0%の有性生殖率を示す条件的アポミクシスであった。この中で比較的高い有性生殖率を示した品種系統は、ナツカゼ、PI364366、Tift PM23、およびB7-7であった。また、変種のグリーンパニックはほとんど有性生殖胚が観察されなかった。

カラードギニアグラス17系統の胚嚢分析の結果を表12に示した。PI295645、PI277963、およびPI299428の3系統で減数分裂の失敗による形態異常と思われる多胚型のアポミクシス胚の可能性のある胚珠がきわめて低い率で存在した。HUTCHSON and BASHAW<sup>27)</sup>は、カラードギニアグラスの生殖様式の細胞学的研究の中で、成熟時期を過ぎた胚の約2%で無孢子生殖と思われる多胚を観察したと報告しているが、これと同様の現象と考えられる。しかし、愛知県農業総合試験場育成の系統およびソライ(写真5A)、PI196361(写真5B)



表11 胚囊分析法によるギニアグラス21系統および1変種の有性生殖率の検定

| 系 統 名       | 保存番号 <sup>1</sup> | 観察数 | 出 現 数 |    |    |                | 有性生殖率 <sup>3</sup><br>(%) |
|-------------|-------------------|-----|-------|----|----|----------------|---------------------------|
|             |                   |     | S     | SA | AS | A <sup>2</sup> |                           |
| ナツカゼ(九州1号)  | 2285              | 48  | 7     | 5  | 8  | 28             | 14.6                      |
| 九州2号        | 1819              | 53  | 4     | 1  | 0  | 48             | 7.6                       |
| 九州3号        | 1820              | 110 | 4     | 2  | 2  | 102            | 3.6                       |
| 九州4号        | 1821              | 61  | 3     | 4  | 8  | 46             | 4.9                       |
| ナツユタカ(九州5号) | 1817              | 63  | 1     | 1  | 6  | 55             | 1.6                       |
| Gatton      | 2508              | 43  | 2     | 7  | 5  | 29             | 4.7                       |
| Riversdale  | 1830              | 29  | 2     | 3  | 0  | 24             | 6.9                       |
| PI 290964   | 1967              | 48  | 0     | 0  | 4  | 44             | 0.0                       |
| PI 300060   | 2500              | 15  | 1     | 0  | 2  | 12             | 6.7                       |
| PI 354146   | 2507              | 24  | 0     | 0  | 1  | 23             | 0.0                       |
| PI 364366   | 2506              | 24  | 6     | 1  | 2  | 15             | 25.0                      |
| PI 364969   | 2503              | 36  | 2     | 5  | 4  | 25             | 5.6                       |
| Tift PM3    | 1988              | 63  | 0     | 0  | 0  | 63             | 0.0                       |
| Tift PM7    | 1989              | 25  | 2     | 0  | 1  | 22             | 8.0                       |
| Tift PM16   | 1983              | 30  | 3     | 0  | 2  | 25             | 10.0                      |
| Tift PM23   | 1990              | 16  | 3     | 0  | 1  | 12             | 18.8                      |
| Tift PM39   | 1991              | 27  | 0     | 1  | 2  | 24             | 0.0                       |
| Ku 5954     | 5954              | 69  | 1     | 1  | 2  | 65             | 1.4                       |
| GR297       | 1681              | 206 | 206   | 0  | 0  | 0              | 100.0                     |
| B7-7        | 4741              | 27  | 4     | 3  | 2  | 18             | 14.8                      |
| B7-10       | 4742              | 28  | 0     | 5  | 5  | 18             | 0.0                       |
| グリーンパニック    | 0236              | 38  | 0     | 0  | 3  | 35             | 0.0                       |

注1：九州農業試験場草地部保存番号

注2：S：胚珠内に性生殖胚1個が存在；SA：有性生殖胚1個と1個以上のアポミクシス胚が混在し、有性生殖胚が優勢；AS：有性生殖胚1個と1個以上のアポミクシス胚が混在し、アポミクシス胚が優勢；A：有性生殖胚は存在せず、1個以上のアポミクシス胚が存在

注3：有性生殖率=S/(S+SA+AS+A)×100

表12 胚囊分析法によるカラードギニアグラスの有性生殖率の検定

| 系 統 名               | 保存番号 <sup>1</sup> | 観察数 | 出 現 数 |    |    |                | 有性生殖率 <sup>3</sup><br>(%) |
|---------------------|-------------------|-----|-------|----|----|----------------|---------------------------|
|                     |                   |     | S     | SA | AS | A <sup>2</sup> |                           |
| タミドリ(東海1号)          |                   | 61  | 61    | 0  | 0  | 0              | 100.0                     |
| 東海3号                |                   | 33  | 33    | 0  | 0  | 0              | 100.0                     |
| 東海4号                |                   | 30  | 30    | 0  | 0  | 0              | 100.0                     |
| Solai               | 1832              | 70  | 70    | 0  | 0  | 0              | 100.0                     |
| PI 196361           |                   | 51  | 51    | 0  | 0  | 0              | 100.0                     |
| PI 295645           |                   | 49  | 48    | 0  | 0  | 1              | 98.0                      |
| PI 298988           |                   | 38  | 38    | 0  | 0  | 0              | 100.0                     |
| PI 207990           |                   | 48  | 48    | 0  | 0  | 0              | 100.0                     |
| PI 208000           |                   | 53  | 53    | 0  | 0  | 0              | 100.0                     |
| PI 354139           |                   | 35  | 35    | 0  | 0  | 0              | 100.0                     |
| var. kabulabula     |                   |     |       |    |    |                |                           |
| PI 253240           | 2495              | 18  | 18    | 0  | 0  | 0              | 100.0                     |
| PI 253241           | 2496              | 22  | 22    | 0  | 0  | 0              | 100.0                     |
| PI 253254           | 2497              | 44  | 44    | 0  | 0  | 0              | 100.0                     |
| PI 284152           | 2498              | 27  | 27    | 0  | 0  | 0              | 100.0                     |
| var. makarikariense |                   |     |       |    |    |                |                           |
| PI 277963           | 2505              | 21  | 19    | 0  | 0  | 2              | 90.5                      |
| PI 299428           | 2513              | 11  | 10    | 0  | 0  | 1              | 90.9                      |
| PI 253249           | 2514              | 13  | 13    | 0  | 0  | 0              | 100.0                     |

注1：九州農業試験場草部保存番号

注2：S：胚珠内に有性生殖胚1個が存在；SA：有性生殖胚1個と1個以上のアポミクシス胚が混在し、有性生殖胚が優勢；AS：有性生殖胚1個と1個以上のアポミクシス胚が混在し、アポミクシス胚が優勢；A：有性生殖胚は存在せず、1個以上のアポミクシス胚が存在

注3：有性生殖率=S/(S+SA+AS+A)×100



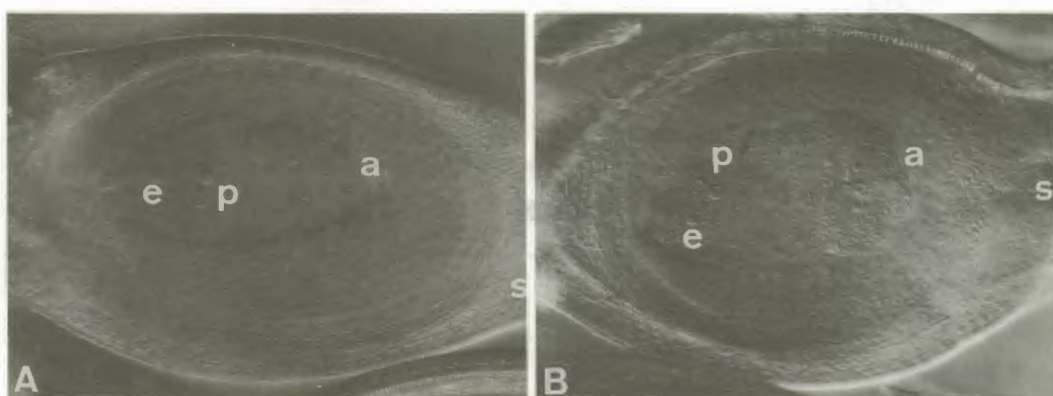


写真5 透明化の後にノマルスキー微分干渉位相差顕微鏡で検鏡したカラードギニアグラスの有性生殖胚 (×150) (中川・佐藤, 1988)。

A: ソライ, B: PI196361; a: 反足細胞; p: 極核; e: 卵核; s: 柱頭

表13 胚嚢分析法によるギニアグラス近縁種の有性生殖率の検定

| 系 統 名                | 保存番号 <sup>1</sup> | 観察数 | 出 現 数 |    |    |                | 有性生殖率 <sup>3</sup><br>(%) |
|----------------------|-------------------|-----|-------|----|----|----------------|---------------------------|
|                      |                   |     | S     | SA | AS | A <sup>2</sup> |                           |
| <i>P. antidotale</i> |                   |     |       |    |    |                |                           |
| PI 315719            | 1962              | 20  | 4     | 0  | 0  | 16             | 20.0                      |
| <i>P. deustum</i>    |                   |     |       |    |    |                |                           |
| PI 364951            | 1964              | 69  | 5     | 0  | 0  | 64             | 7.3                       |
| <i>P. milioides</i>  |                   |     |       |    |    |                |                           |
| PI 285220            | 2519              | 10  | 3     | 0  | 0  | 7              | 30.0                      |
| PI 310042            | 2518              | 8   | 3     | 0  | 0  | 5              | 37.5                      |

注1: 九州農業試験場草地部保存番号

注2: S: 胚珠内に性生殖胚1個が存在; SA: 有性生殖胚1個と1個以上のアポミクシス胚が混在し, 有性生殖胚が優勢; AS: 有性生殖胚1個と1個以上のアポミクシス胚が混在し, アポミクシス胚が優勢; A: 有性生殖胚は存在せず, 1個以上のアポミクシス胚が存在

注3: 有性生殖率 =  $S / (S + SA + AS + A) \times 100$

をはじめとする14品種系統は, HUTCHSON and BASHAW<sup>27)</sup>が報告したように, 卵核1, 発生と共に消滅する助細胞2, 極核2, および反足細胞3個以上からなる *Polygonum* 型の8核性の完全な有性生殖胚が形成された。カラードギニアグラスの1品種であるソライ (Solai) は品種内個体間の形態的変異が小さいことからアポミクシスの可能性があるとの報告がある<sup>6)</sup>。しかし, 本試験の結果はこれとは逆の結論を裏づけることとなった。

また, *P. antidotale*, *P. deustum*, および *P. milioides* の胚嚢分析の結果を表13に示

した。*P. antidotale*と*P. deustum*は有性生殖率が各々20%および7%の条件的アポミクシスであり、ギニアグラスの場合と形態的によく似ていた。HUTCHSON and BASHAW<sup>27)</sup>は、30%程度の胚珠で多胚現象を観察しながらも、有性生殖が主であるとし、これとは異なった報告をしている。

一方、*P. milioides*の2系統は共に、有性生殖率が30~40%と高い条件的アポミクシスであろうと推定されるが、供試個体数が少ないため詳しく調査する必要がある。

このように、パニカム属の中にはギニアグラスに代表されるアポミクシスの種とカラードギニアグラスに代表される有性生殖の種が存在し、その中間とも言える有性生殖率が高い条件的アポミクシスの種も存在することが明らかとなった。同属内にこのような生殖様式の変異が存在することは、この属の進化の過程を考える上で非常に興味深い。

クロリス属において、透明化による胚嚢分析法の有効性をすでに述べたが、パニカム属においても同様に有効で、生殖様式の簡易検定法として雌ずいがギニアグラス程度かそれ以下の大きさの他の属にも適用できる。

## (2) 二倍体、四倍体、および六倍体ギニアグラスの細胞遺伝学的調査

自然界に存在するギニアグラスの染色体数は基本数8の倍数系列であり、 $2n=16$ ,  $32^{12)}$ ,  $2n=32$ ,  $48^{85,86)}$ の報告があるが、そのほかに $2n=18^{16)}$ や $2n=32$ ,  $44^{35)}$ といった異数体の報告やB染色体の報告<sup>31)</sup>もある。JAUHAR<sup>29)</sup>はこの種の染色体数と系統分化について報告している。

生殖様式との関係では、二倍体は有性生殖であり<sup>12,54)</sup>、ほとんどの四倍体系統はアポミクシスである<sup>86)</sup>。一方、実験的にはコルヒチン倍加処理で誘導した四倍体有性生殖系統と四倍体アポミクシス系統との交雑によって生じた六倍体や八倍体もアポミクシスであるとの報告がある<sup>71)</sup>。しかし、自然界に四倍体の有性生殖個体も存在する<sup>24,54,83)</sup>。

本研究は、二倍体、四倍体、および六倍体系統の染色体行動、生殖様式、花粉および種子稔性を調査し、ギニアグラスの系統分化における倍数性の役割を明らかにするのが目的である。

## 材料および方法

二倍体系統としては、タンザニアで探索導入された GR297 (九州農業試験場保存番号 Ku1681)、四倍体系統としては Ku5954、六倍体系統としては、四倍体アポミクシス系統 PI298996の放任受粉後代から選抜した個体を供試した。PI298996は耐寒性が強く<sup>23)</sup>、この



六倍体の個体以外のほとんどは四倍体である。

各系統の種子は温室内で播種箱に播種し、約10cmに育った幼苗を直径5cmの素焼ポットに移植し、発芽後約6週間の植物体を1986年5月20日にジョージア大学の Coastal Plain Experiment Station (Tifton, Georgia 31793, USA) の圃場に、1m×1mで個体植えた。

調査項目の中で出穂始日は最初の出穂を見た日とした。稈長は個体内の最長の稈の地際から穂首までの長さとし、穂長は1個体当たり3穂調査しその平均値を取った。葉幅は止葉の一枚下葉3枚の中央部を計測して平均値を取った。

染色体数の調査は、根端をモノブロムナフタレン飽和水溶液に2時間浸漬して前処理し、室温下で5N塩酸に8分間浸漬後、フォイルゲン染色を行った後に酢酸カーミンで染色した。花粉母細胞の減数分裂における染色体行動の調査は、葉鞘から穂先が2-3cm抽出した穂を酢酸アルコール(1:3)で48時間固定後、酢酸カーミンで染色した。

生殖様式の調査は、開花期の穂をFAA溶液(5mlホルマリン+5ml酢酸+90ml70%エチルアルコール)で固定後、第三ブチルアルコールで段階的に脱水した後に、パラフィンに包埋し、12 $\mu$ mの厚さで切断し、サフラニン・ファーストグリーンで分染した。

花粉稔性の調査はすでに記述したヨード・ヨードカリ液で染色した花粉の割合を調査することによって推定した。

種子稔性は、放任受粉の種子稔性と袋掛けによる自家受粉の種子稔性を調査し、両者を比較することによって推定した。

## 結果および考察

### a. 形態的特性

二倍体(2n=16)、四倍体(2n=32)、五倍体(2n=40)、および六倍体植物(2n=48)の

表14 16-, 32-, 40-, および48-染色体植物の形態的特性

| 染色体数<br>(2n) | 出穂始め日<br>(月・日) | 稈 長<br>(cm) | 穂 長<br>(cm) | 葉 長<br>(cm) | 葉 幅<br>(mm) | 節 数       |
|--------------|----------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-----------|
| 16           | 7.17±10.2      | 132.7±16.8  | 23.4±1.87   | 23.4±3.2    | 13.9±0.72   | 7.06±0.61 |
| 32           | 6.18± 4.8      | 132.7±16.8  | 23.4±3.2    | 23.4±3.2    | 13.1±0.7    | 7.1 ±0.6  |
| 40           | 6.30           | 100.5       | 23.3        | 25.7        | 11.3        | 6.7       |
| 48           | 6.24± 2.1      | 129.5±22.0  | 22.2±1.9    | 22.2±1.9    | 11.4±1.6    | 7.0 ±0.6  |





写真6 六倍体植物に形成された正常の柱頭（右）および3本の柱頭を備えた雌ずい（左）。

表15 16-, 32-, 40-, および48-染色体植物の柱頭異常発生率

| 染色体数<br>(2n) | 出現数(率)     |          |        |
|--------------|------------|----------|--------|
|              | 正常(2本)     | 3本       | 4本     |
| 16           | 251(100.0) | 0(0.0)   | 0(0.0) |
| 32           | 50(100.0)  | 0(0.0)   | 0(0.0) |
| 40           | 80(80.0)   | 20(20.0) | 0(0.0) |
| 48           | 493(95.7)  | 20(3.9)  | 2(0.4) |

形態的特性を表14に示した。このうち四倍体および六倍体植物は、当初四倍体と同定されていたアポミクシス系統 PI298996の後代であり、五倍体植物は根端の染色体数の調査過程で発見された。

この六倍体の出穂始日は四倍体よりも6日程度遅く、草丈と穂長は四倍体と差はなかった。しかし、六倍体の葉幅は四倍体よりも幾分狭かった。五倍体は1個体のみであったが、出穂始日は六倍体よりも6日、四倍体よりも12日程度遅く、稈長も100cmと最も低く、草勢も弱かった。しかし、五倍体の穂長や葉幅は六倍体とほぼ同様であった。PI298996は倍数性によって異なる特性を示したが、倍数性と穂長、草丈などの形態的特性との間に相関は認められなかった。タンザニアで探索された二倍体のGR297は有性生殖であることが知られており<sup>54)</sup>、そのために系統内の変異が非常に大きかった。この二倍体系統は全体的に草丈が高く、茎は太く、穂も大きく、葉幅は広く、出穂は他の倍数体よりも遅かった。

ギニアグラスの四倍体の中に高い頻度で柱頭が3本あるいは4本形成される系統が存在し、この現象は染色体異常や雌性不稔と深く関わっている(中川、未発表)。ここで供試した四倍体植物では柱頭の異常は観察されなかったが、六倍体では約3.9%の雌ずいが3本の柱頭を備え(写真6)、0.4%が4本の柱頭を備えていた(表15)。また、五倍体植物では4本の柱頭を備えたものは観察されなかったが、3本の柱頭を備えたものは20%と高頻度であり、倍数化にともなって形態発生の過程でなんらかの異常が発生していることが考えられた。

#### b. 染色体行動および花粉稔性

花粉母細胞の減数分裂時における、二、四、五、および六倍体の染色体対合を表16に示

表16 減数分裂中期における二倍体(2n=16)、四倍体(2n=32)、  
および六倍体(2n=48)の染色体対合の平均出現数

| 染色体対合 <sup>1</sup> | 染 色 体 数 (2n)         |              |              |
|--------------------|----------------------|--------------|--------------|
|                    | 16                   | 32           | 48           |
| I                  |                      | 0.06(0 - 2)  | 0.13(0 - 2)  |
| II                 | 8.00(8) <sup>2</sup> | 8.68(2 - 16) | 7.33(1 - 17) |
| III                |                      | 0.01(0 - 1)  | 0.06(0 - 2)  |
| IV                 |                      | 3.55(0 - 7)  | 3.48(0 - 8)  |
| VI                 |                      |              | 3.08(0 - 7)  |

二倍体、四倍体、および六倍体の調査花粉母細胞数は各々50, 77, および107。

1 : I, II, III, IV, VIは各々一価, 二価, 三価, 四価, 六価染色体を示す。

2 : ( )内は出現数のレンジを示す。



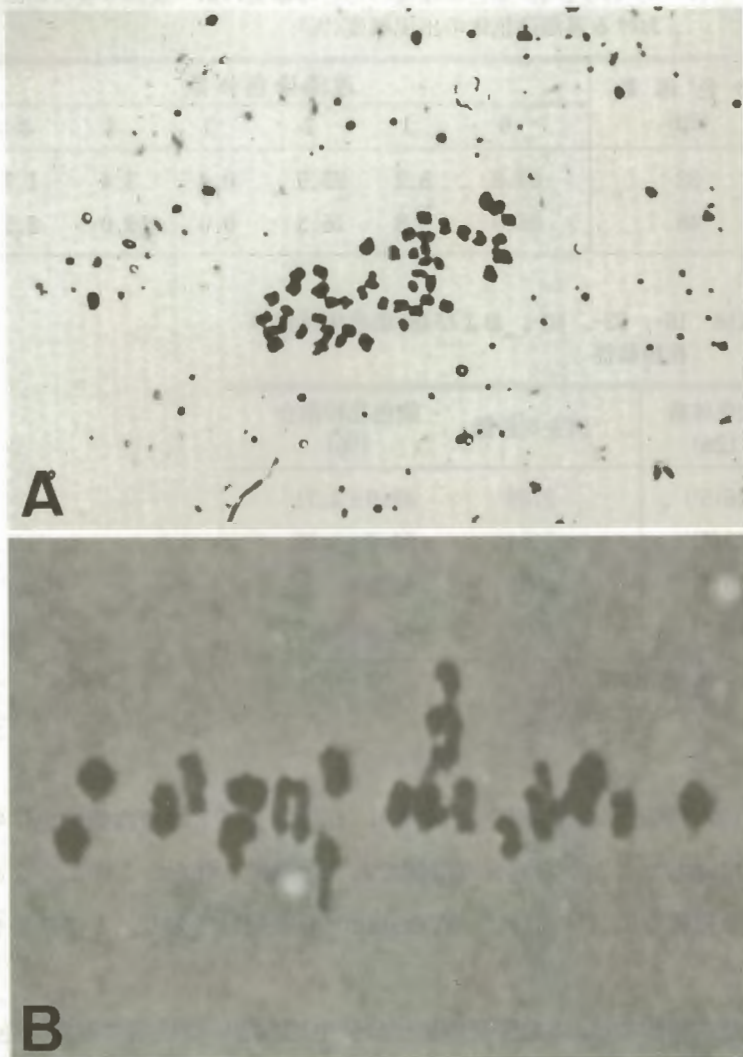


写真7 六倍体系統の根端の体細胞分裂および花粉母細胞の減数分裂。

A：根端細胞の分裂像 ( $2n=48$ ： $\times 1000$ )；

B：花粉母細胞減数分裂中期像 ( $13\text{II}+2\text{III}+1\text{IV}+2\text{VI}$ ： $\times 2000$ )

した。二倍体 (写真11A) はほぼ完全に二価染色体を形成し (写真11C)，四倍体 (写真9 A, 11B) は主に二価染色体と四価染色体 (写真9 B, 11D)，六倍体 (写真7 A) は二価，四価，および六価染色体を形成した (写真7 B)。最も頻度の高い対合は，二倍体では  $8\text{II}$  (100%)，四倍体では  $10\text{II}+3\text{IV}$  (26%)，また，六倍体では  $7\text{II}+4\text{IV}+3\text{VI}$  (12%) であった。染色体の対合の変異の範囲を見ると，四倍体では1細胞当たり最高で7対の四価染色体が観察された。この割合は全体の6%にあたり，これらのことから同質四倍体であると推定された。一方，六倍体においては47種の異なった染色体対合が観察され，1細胞当

表17 32-および48-染色体植物の花粉母細胞の第一成熟分裂後期における遅滞染色体の出現頻度(%)

| 染色体数<br>(2n) | 遅滞染色体数 |     |      |     |      |     |
|--------------|--------|-----|------|-----|------|-----|
|              | 0      | 1   | 2    | 3   | 4    | ≥ 5 |
| 32           | 63.8   | 5.2 | 25.9 | 0.0 | 3.4  | 1.7 |
| 48           | 66.9   | 3.8 | 16.3 | 0.0 | 10.0 | 3.1 |

表18 16-, 32-, 40-, および48-染色体植物の花粉稔性

| 染色体数<br>(2n)        | 調査花粉数 | 染色花粉割合<br>(%) |
|---------------------|-------|---------------|
| 16(5 <sup>1</sup> ) | 2769  | 89.9±4.71     |
| 32(5)               | 3520  | 80.5±4.68     |
| 40(1)               | 388   | 67.5          |
| 48(7)               | 2306  | 74.8±10.57    |

注1：供試個体数

り最高で7対の六価染色体が観察され(2%), 6対および7対の六価染色体の頻度を合計すると約8%に達したことから同質六倍体であると推定された。このような六倍体ギニアグラスにおける複雑な染色体対合は, WARMKE<sup>85)</sup>も観察しており, この結果を裏づけるものである。

四倍体および六倍体では, 減数分裂の第一分裂中期あるいは後期に遅滞染色体が出現し, その頻度は四倍体では約36%, 六倍体では約33%と高頻度であったが(表17), これらは結果的にはどちらかの核に合体するのか, 小核は観察されなかった。

ヨード・ヨードカリ法による染色花粉の割合から推定した, 二, 四, 五, および六倍体の花粉稔性を表18に示した。ヨード・ヨードカリ溶液で染色される花粉の割合は二倍体で約90%, 四倍体で約81%, 六倍体で約75%と倍数性が高くなるにしたがって低下した。また, 五倍体の花粉では67.5%と最も低かった。四倍体および六倍体植物の減数分裂時の染色体対合の複雑さと遅滞染色体の出現頻度から考えると, これらの倍数体が比較的高い花粉稔性を示したことは予想外であった。しかし, 小核がほとんど観察されなかったことが花粉稔性が高い原因と考えられ, 今後詳細な研究が必要である。



表19 16-, 32-, 40-, および48-染色体植物  
の自殖あるいは他殖種子の稔実率

| 染色体数<br>(2n) | 種子稔実率(%) |      |
|--------------|----------|------|
|              | 袋掛け      | 放 任  |
| 16(5)        | 1.5      | 51.0 |
| 32(5)        | 54.1     | 52.0 |
| 40(1)        | 0.0      | 0.0  |
| 48(7)        | 4.7      | 1.7  |

表20 ギニアグラス系統PI 298996の32-, 40-および  
48-染色体植物の子房無形成雌ずいの出現率

| 染色体数<br>(2n) | 調査数 | 出現率 (%) |      |
|--------------|-----|---------|------|
|              |     | 正 常     | 無形成  |
| 32           | 90  | 100.0   | 0.0  |
| 40           | 30  | 76.7    | 23.3 |
| 48           | 127 | 70.9    | 29.1 |

表21 16-, 32-, 48-染色体植物の雌性不稔率と生殖様式

| 染色体数<br>(2n) | 雌性不稔率<br>(%) | 出現率 (%) |     |                |
|--------------|--------------|---------|-----|----------------|
|              |              | A       | AS  | S <sup>1</sup> |
| 16           | 27.1         | 0.0     | 0.0 | 100.0          |
| 32           | 21.3         | 93.7    | 4.2 | 2.1            |
| 40           | 60.3         | 0.0     | 0.0 | 100.0          |
| 48           | 35.6         | 93.2    | 3.8 | 3.0            |

注 1 : S : 胚珠内に有性生殖胚 1 個が存在 ; AS : 有性生殖胚 1 個と  
1 個以上のアポミクシス胚が混在 ; A : 有性生殖胚は存在せ  
ず, 1 個以上のアポミクシス胚が存在

### c. 袋掛けあるいは放任受粉による種子稔性

袋掛けあるいは放任受粉を行った際の種子稔性を表19に示した。二倍体では放任受粉の場合に約50%の種子稔性を示し、袋掛けを行った場合には1.5%の種子稔性であった。四倍体は袋掛け、放任受粉共に50%以上の高い種子稔性を示した。一方、六倍体では袋掛け、

放任受粉共に5%以下の低い種子稔性であった。また、五倍体では袋掛け、放任受粉共に全く種子は形成されなかった。これらの結果から、二倍体と四倍体においては種子形成は正常であるが、五倍体と六倍体においてはなんらかの異常があることが推察された。

#### d. 生殖様式

六倍体と五倍体に柱頭が3本あるいは4本形成される雌ずいの形態異常が多発することはすでに記述した。それ以外にも、柱頭は正常に形成されているものの子房が全く退化したような雌ずいの不稔も観察された。その発生率を表20に示した。四倍体では異常は全く観察されず、五倍体および六倍体では各々23.3%、29.1%と高頻度の発生率であり、このことが五倍体および六倍体の種子稔実率の低さの一因であることが考えられる。

供試した二倍体、四倍体、五倍体、および六倍体の胚嚢分析の結果を表21に示した。供試した全ての系統で雌性不稔が観察された。この雌性不稔は、上記の子房が退化した形態異常とは異なり、外見は全く正常の雌ずいと区別はできないにもかかわらず、子房内に胚嚢が形成されないものを示す(写真12B)。二倍体系統における雌性不稔率の個体変異は大きく、10個体を調査しただけでも30%以上のものから10%以下のものまで存在し(表53)、50%を越えるものも存在する。しかし、ここで供試した10個体の平均値は約27%であり、四倍体は少し低く、約21%であった。一方、六倍体では雌性不稔率は四倍体よりも高く、35%以上であり、五倍体は最も高く、60%に達した。

二倍体系統、GR297はNAKAJIMA *et al.*<sup>54)</sup>の報告にあるように、生殖様式は8核性の胚嚢(写真12A)を備えた有性生殖であった。放任受粉においては約50%の種子形成が認められたにもかかわらず袋掛け受粉では1.5%と種子稔性が低いことから、二倍体の有性生殖系統は他殖と考えられる。一方、PI298996の本来の系統と思われる四倍体は有性生殖率が約2.1%の条件的アポミクシスであった。ギニアグラスの六倍体植物については、自然界に存在するもの<sup>85)</sup>と交雑によって生じたもの<sup>71)</sup>についての報告があり、共に絶対的アポミクシスであったとしている。しかし、ここで供試した六倍体は有性生殖率が四倍体の場合とほぼ同様の約3.0%の条件的アポミクシスであった。また、予想外の事に、五倍体は完全な有性生殖であった。

六倍体植物の放任受粉で得られた58個体の後代を圃場に展開したところ、明らかに草丈の低い2個体のオフタイプが観察された。このことは、低率ではあるが存在する有性生殖胚が機能していることを示唆している。同様に、ここで供試した五倍体植物が六倍体植物の後代として生じた事実も六倍体植物の有性生殖胚が機能していることを示唆している。すなわち、減数分裂を終了した還元卵( $n=24$ )に四倍体の花粉の雄核( $n=16$ )が受精し



4 倍体アポミクシス系統  
(P I 298996,  $2n=32$ )

↓  
非還元卵  
( $n=32$ )

4 倍体系統  
( $2n=32$ )

↓  
還元雄核  
( $n=16$ )

×

↓  
6 倍体  
( $2n=48$ , Apo)

↓  
4 倍体系統  
( $2n=32$ )

↓  
還元卵  
( $n=24$ )

×

↓  
還元雄核  
( $n=16$ )

↓  
5 倍体  
( $2n=40$ , Sex)

図2 ギニアグラス 4 倍体アポミクシス系統からの異倍数体の出現機構  
(NAKAGAWA and HANNA, 1990)

たという可能性が考えられる。これらの推定過程を図2に示す。

六倍体植物の種子形成が不良である原因は、第一に子房無形性の雌ずいの率が約30%と高いこと、第二に子房の形成されている雌ずいの中の約35%で胚嚢が形成されない雌性不稔であることが主と考えられる。この二つの要因だけで種子形成の可能な雌ずいは45.5%

( $0.70 \times 0.65 = 0.455$ )となる。ところが、実際の種子形成率は、自殖種子、放任受粉種子共に5%以下と極端に低い。ギニアグラスの種子形成は偽受精を伴う無孢子生殖のアポミクシスと分類されている<sup>86)</sup>。これは、胚珠内の体細胞に由来する4核性の非還元胚嚢の卵核は受精する事なく分裂して胚になるが、胚乳の形成には有性生殖の場合と同様に、極核と雄核の融合が不可欠であるという生殖様式である。六倍体植物において不稔種子が多い原因は、この極核と雄核との不和合かなんらかの遺伝的な欠陥による可能性が考えられる。

HANNA *et al.*<sup>23)</sup> の報告によると、PI298996は四倍体の絶対的アポミクシスとされ、後代にオフタイプは出現しないとされていた。ところが、本研究の結果では、四倍体植物も

有性生殖胚が全く形成されない絶対的アポミクシスではなく、有性生殖率は低いが条件的アポミクシスであった。また、ここで供試した六倍体は、PI298996の種子増殖の過程で生じたことがわかっている。このことから、最も可能性の高い六倍体植物の形成過程は、四倍体植物の非還元卵 ( $2n=32$ ) と四倍体植物の還元雄核 ( $2n=16$ ) との受精によって生じたということである(図2)。ただ、この非還元卵がアポミクシス胚に由来するのか、あるいはまれに形成される有性生殖胚に由来するのかは不明である。

アポミクシスはホモ接合体 (homozygous) であれ、ヘテロ接合体 (heterozygous) であれ、固定された遺伝子型がそのまま種子を通して後代に伝わっていくために後代に変異が生じないことから、かつて「不稔からの回避であるが、進化の袋小路への転落である<sup>14)</sup>」と考えられた。しかし、*Bothriochloa-Dichanthium* の複合種においては、二倍体の有性生殖個体とこれが倍加して生じた四倍体有性生殖個体が橋渡しとなって四倍体アポミクシス個体と交雑し、有性生殖あるいはアポミクシスの新たな遺伝子型を作出することによって環境に適応していくことが明らかになった<sup>17)</sup>。SAVIDAN and PERNES<sup>76)</sup>は、ギニアグラスにおいても二倍体 (有性生殖) × 四倍体 (アポミクシス) の交雑によって起こる四倍体化、四倍体有性生殖個体による交雑、および後代の半数体化 (有性生殖あるいは不稔の二ゲノム性半数体) のサイクルによって二倍体有性生殖の遺伝子プールと四倍体アポミクシスの遺伝子プールの遺伝子交換が可能であるとの仮説を提出している (図3)。本研究の結果は、六倍体個体が、非還元の有性生殖胚かアポミクシス胚のいずれが起源かは不明であるが、四倍体個体の還元花粉との受精から生じ、この六倍体個体の還元有性生殖胚と四倍体の還元花粉との受精によって五倍体個体が生じたことを示唆している (図2)。中島ら<sup>57)</sup> および NAKAJIMA<sup>52)</sup> は、ギニアグラスは生殖様式がアポミクシスであるにもかかわらず、生殖様式が有性生殖であるカラードギニアグラスよりも種内変異の幅が大きいという一見矛盾する事実を指摘している。ギニアグラスは、二倍体有性生殖個体や四倍体有性生殖個体のみならず、アポミクシス個体にまれに生じる還元あるいは非還元有性生殖胚をも橋渡しにして新たな倍数体や遺伝子型を作出し、偶然性のある環境に適応した遺伝子型をアポミクシスで固定し、その環境に適応した遺伝子型を種子によって速やかに増殖していくという、進化の上で非常に優れた適応戦略を持っている。これが、アポミクシス種であるにもかかわらず種内変異が非常に大きい原因であると考えられる。このように、アポミクシスは決して進化の袋小路ではなく、進化の上で最も洗練された生殖様式である。

HANNA and DUJARDIN<sup>22)</sup> はアポミクシスを育種に利用する利点の一つとして、交雑によって生じる倍数体や異数体がアポミクシスによって固定されていれば不稔からの回避にな



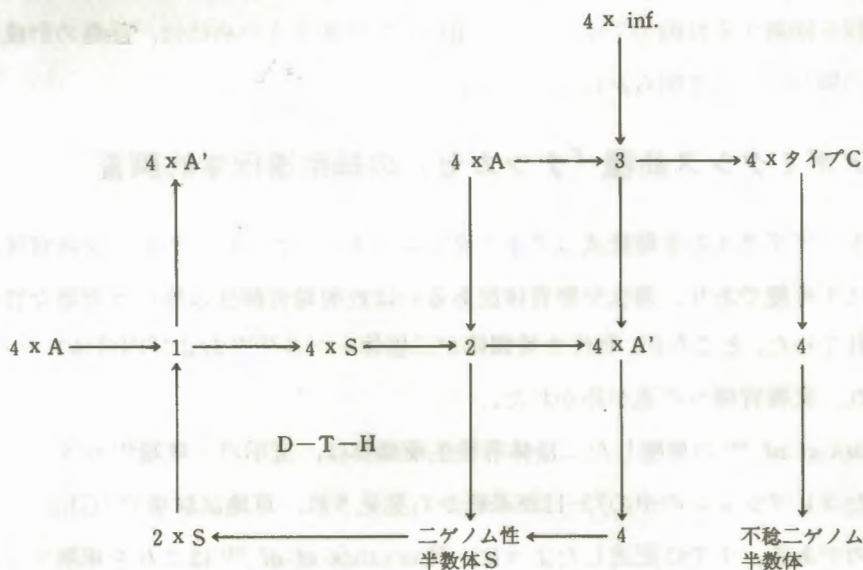


図3 ギニアグラスの進化における有性生殖二倍体—四倍体—二ゲノム性半数体（D—T—H）サイクルの役割と遺伝子の流れ（SAVIDAN, 1975より改写）。

1. 二倍体有性生殖（ $2 \times S$ ）×四倍体アポミクシス（ $4 \times A$ ）の種内交雑。  
この結果、四倍体レベルの有性生殖（ $4 \times S$ ）と新たな四倍体アポミクシスが生じる。
2. 四倍体有性生殖×四倍体アポミクシスの種内交雑。この結果、新たな四倍体アポミクシスが生じ、その中に有性生殖率の高いものも存在する。また、有性生殖の二ゲノム性半数体（dihaploid）も生じる。
3. 有性生殖の *P. infestum*（ $4 \times \text{inf}$ ）×四倍体アポミクシスとの種間交雑。  
この結果、新たな四倍体アポミクシスと有性生殖率の高い種間雑種（ $4 \times \text{タイプC}$ ）が生じる。
4. アポミクシス雑種で有性生殖率が高まり、同質四倍体からは有性生殖二ゲノム性半数体が生じ、異質四倍体からは不稔二ゲノム性半数体が生じる。

ることを想定し、「種子生産時に生じる不稔の回避になり、遺伝資源をすばやく有効に利用できる点」をあげている。しかし、アポミクシスで固定されている六倍体系統の種子稔性が非常に低いことを考えると、特に倍数体が異なるもの同士の交雑の場合には必ずしもアポミクシスは完全な不稔の回避にはならない。ただ、非常に低率ではあっても、母株と全く同一の遺伝子型を備えた後代が生じる意義は進化上のみならず育種においても大きく、種子そのものを利用するのではなく、牧草のように茎葉を利用する作物でかつギニアグラスのように種子生産量の多い種ではある程度の不稔率ならば利用上問題にならない場合も

考えられ、今後大いに育種への応用は広がるであろう。

今後不稔を回避する目的でアポミクシス遺伝子を利用するためには、胚嚢の形成に関わる遺伝子の関与について明らかにしていく必要がある。

### (3) アポミクシス品種「ナツカゼ」の細胞遺伝学的調査

当初、ギニアグラスの生殖様式はアポミクシスと考えられていたため、交雑育種は従来の方法では不可能であり、選抜分離育種法あるいは放射線育種法以外には有効な育種法がないとされていた。ところが、有性生殖個体が二倍体レベル<sup>12,54)</sup> および四倍体レベル<sup>24,54,89)</sup> で発見され、交雑育種への道が拓かれた。

NAKAJIMA *et al.*<sup>54)</sup> の単離した二倍体有性生殖個体は、宝示戸・堀端<sup>25)</sup> がタンザニアより導入したコレクションの中の73-1126系統から発見され、草地試験場で「GR297」と命名されたものである。すでに記述したように、NAKAJIMA *et al.*<sup>54)</sup> はこれを単離する方法として後代検定法を用いた。この過程で、二倍体有性生殖個体の放任受粉後代220個体の中から選抜された、生育旺盛でかつアポミクシスで固定されたB 7-1がギニアグラス農林1号「ナツカゼ」である<sup>53)</sup>。

ナツカゼは初期生育に優れ、一年生栽培の結果では、現在までに知られているどの品種よりも多収であることから<sup>33,69)</sup>、主に西南暖地において青刈りあるいは乾草用の夏季の飼料作物として栽培されている。また、線虫抑制効果を備えていることから<sup>69)</sup>、野菜栽培農家の注目も集め、緑肥用作物としての栽培も増加傾向にある。

また、アポミクシス育種法の有効性を立証し、ギニアグラスのアポミクシス遺伝子を有効に利用するためには、この有性生殖個体とアポミクシス個体の交雑によって生じたナツカゼの細胞遺伝学的研究を行うことが重要である。しかし、ナツカゼの染色体数、染色体行動、生殖様式、あるいは花粉稔性などの細胞遺伝学的研究はほとんど行われていなかった。この研究の目的は、ナツカゼの細胞遺伝学的調査を行うことによって、自然界のアポミクシス個体と雑種アポミクシス個体を比較し、今後いくつかの有性生殖系統を母本として行う交雑育種の可能性を知ることである。

### 材料および方法

ナツカゼ種子は九州農業試験場草地部圃場で増殖した Ku4920を用いた。対照として、ナツカゼの母系統である GR297 (Ku1681) と四倍体アポミクシス系統の Ku5954を用いた。各品種系統の種子は温室内で播種箱に播種し、約10cmに達した幼苗を直径5 cmの素焼ポ



ットに移植し、発芽後約6週間目の植物体を1986年5月20日にジョージア大Coastal Plain Experiment Stationの圃場に1m×1mで個体植えにし、適宜調査した。

生殖様式の調査は、すでに示したパラフィン切片法とサリチル酸メチルを用いた透明化法を併用した。根端の染色体数の調査には、フォイルゲン染色後、酢酸カーミンを用いて染色する方法を用いた。染色体対合および染色体行動の調査は花粉母細胞を供試し、酢酸カーミン押し潰し法を用いて行った。花粉の稔性はヨード・ヨードカリ法を用いて、染色される花粉の割合を調査することによって推定した。種子稔性は、放任受粉による種子と開花前に袋掛けを行った自殖種子を供試して、無作意に抽出した種子100粒の稔実種子数を数えることによって、3反復で調査した。

圃場における後代の変異の調査は、1984年に九州農業試験場圃場において、4月10日にテンサイ用紙ポットに播種して育苗した苗を6月10日に畦幅1m、株間30cmで移植した。そして60個体について、開花時に稈の節、葉鞘、止葉の葉舌、下位葉の葉身（長毛および短毛）の毛の有無を1個体ずつ調査した。

## 結果および考察

### a. 生殖様式

パラフィン切片法による、ナツカゼ、GR297、およびKu5954の胚嚢分析の結果を表22に示した。GR297はNAKAJIMA *et al.*<sup>54)</sup>の報告にあるように完全な有性生殖であった。また、Ku5954は有性生殖率が2%程度の条件的アポミクシスであった。一方、ナツカゼは主に1個（写真8A）あるいは2個以上（写真8B）のアポミクシス胚が形成される胚珠が多かったが、有性生殖率、すなわち雌性不稔の雌ずいを除いた1個の有性生殖胚のみが形成さ

表22 パラフィン切片法を用いた胚嚢分析による「ナツカゼ」、GR-297、および5954の生殖様式

| 系統名                 | 供試個体数 | 調査胚珠数 | 胚 珠 数 |    |    |     |                 | 有性生殖率 <sup>3</sup><br>(%) |
|---------------------|-------|-------|-------|----|----|-----|-----------------|---------------------------|
|                     |       |       | S     | SA | AS | A   | ab <sup>2</sup> |                           |
| ナツカゼ                | 10    | 379   | 34    | 29 | 24 | 231 | 61              | 10.7                      |
| GR297               | 5     | 59    | 43    | 0  | 0  | 0   | 16              | 100.0                     |
| Ku5954 <sup>1</sup> | 5     | 159   | 3     | 1  | 5  | 135 | 15              | 2.1                       |

注1：九州農業試験場草地部牧草第一研究室(現育種法研究室)保存番号

注2：S：胚珠内に有性生殖胚1個が存在；SA：有性生殖胚1個と1個以上のアポミクシス胚が混在し、有性生殖胚が優勢；AS：有性生殖胚1個と1個以上のアポミクシス胚が混在し、アポミクシス胚が優勢；A：有性生殖胚は存在せず、1個以上のアポミクシス胚が存在

注3：有性生殖率=S/(S+SA+AS+A)×100

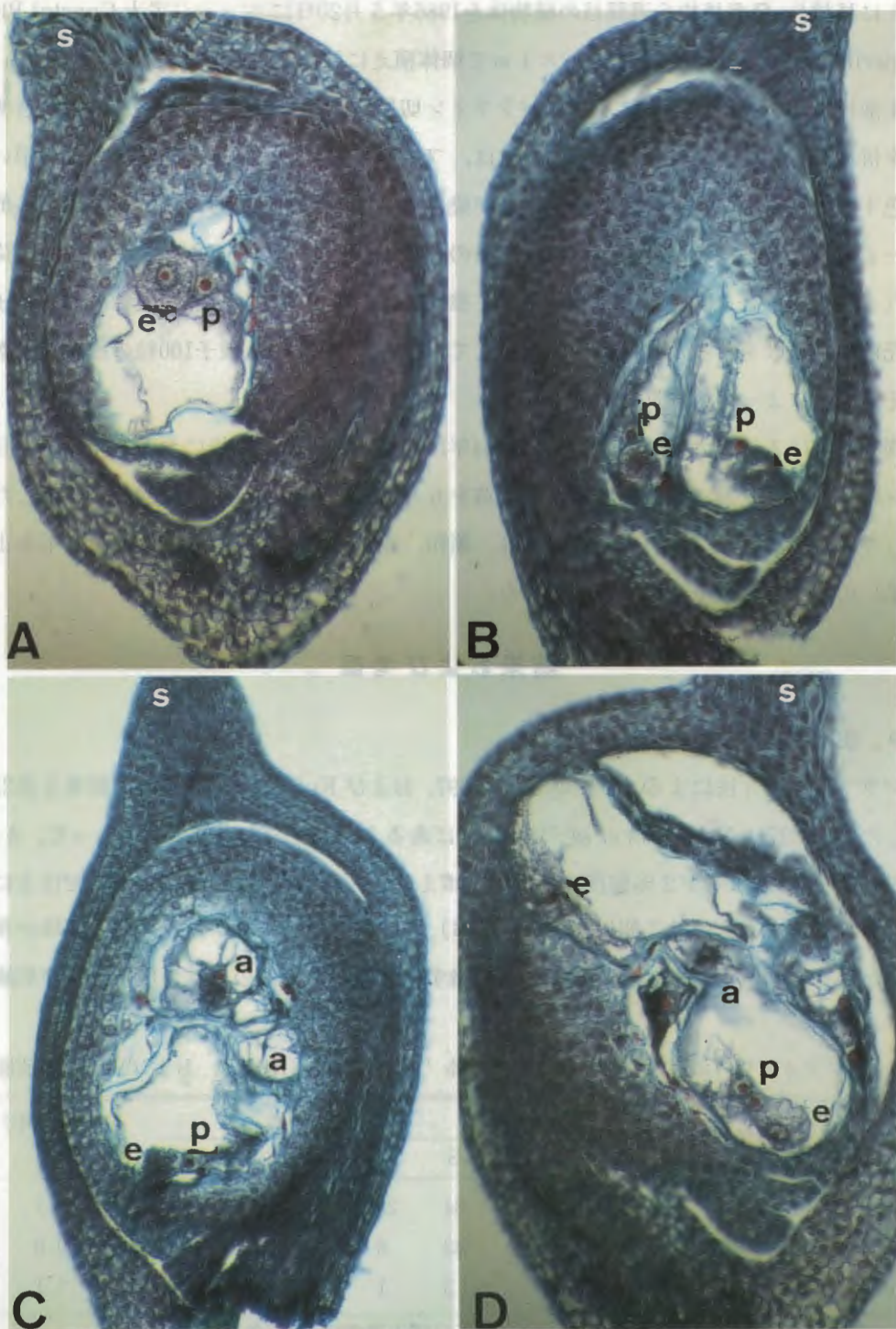


写真8 パラフィン切片法によるナツカセ胚珠内の胚嚢。

A：1個のアポミクシス胚が形成されている胚珠；B：2個のアポミクシス胚が形成されている胚珠；C：1個の有性生殖胚が形成されている胚珠；D：1個の有性生殖胚と1個のアポミクシス胚が形成されている胚珠  
a：反足細胞；p：極核；e：卵核；s：柱頭（×250）



れる胚珠(写真8 C)の出現率は11%と自生のアポミクシス系統である Ku5954 よりも高かった。また、有性生殖胚とアポミクシス胚が混在する胚珠(写真8 D)の割合も16.7%と Ku5954 の5%よりもかなり高かった。表11に示した他の試験結果でも、選抜分離育種法で育成されたアポミクシス品種系統の九州2号、3号、4号、ナツユタカ(九州5号)、ガットン、およびグリーンパニックの有性生殖率が0~8%であるのに対して、ナツカゼおよびこの兄弟系統にあたる B7-7 の有性生殖率は各々14.6%, 14.8%と高かった。このことは、有性生殖系統とアポミクシス系統との交雑によって生じた雑種アポミクシス系統の有性生殖率は、従来のアポミクシス系統よりも高率になることを示唆している。中島・望月<sup>56)</sup>は、有性生殖個体とアポミクシス個体の交雑で得られた雑種の生殖様式の調査を行った結果、有性生殖とアポミクシスがほぼ1:1に分離し、かつ有性生殖率の分離は連続的で、有性生殖率が0~10%と90~100%にモードを持つことから、アポミクシスは1遺伝子支配で有性生殖に対して優性であるとしながらも、有性生殖率に関してはポリジーンニック支配である可能性があると結論した。ナツカゼの有性生殖率がやや高いことはこの結果と一致する。しかし、通常のアポミクシス系統の胚嚢とナツカゼの胚嚢で有性生殖率が異なる原因がポリジーンニックな遺伝子支配であるのか、それとも他の主働遺伝子が関与しているのかについては今後の研究を待たねばならない。

#### b. 染色体行動

ナツカゼの根端細胞の体細胞分裂中期の像を写真9 Aに、四価染色体の出現する花粉母細胞減数分裂中期の像を写真9 Bに示した。これによって、ナツカゼの染色体数は  $2n=32$  で四倍体であることが確認された。

ナツカゼおよび Ku5954 の花粉母細胞減数分裂時の染色体対合を表23に示した。両品種共

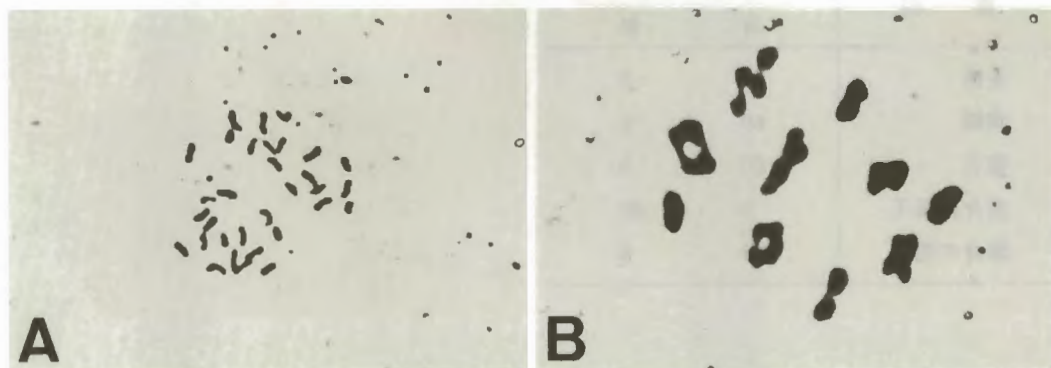


写真9 ナツカゼの根端の体細胞分裂および花粉母細胞の減数分裂。  
A: 根端細胞の分裂像( $2n=32$ :  $\times 1000$ ); B: 花粉母細胞の減数分裂中期像  
(6 IV + 4 II:  $\times 2000$ )

表23 花粉母細胞(PMC)成熟分裂中期における、ナツカゼおよび Ku5954の染色体対合

| 品種名    | 調査細胞数 | 1細胞当平均出現数(レンジ) |              |             |                 |
|--------|-------|----------------|--------------|-------------|-----------------|
|        |       | I              | II           | III         | IV <sup>1</sup> |
| ナツカゼ   | 142   | 0.06(0 - 2)    | 9.96(2 - 16) | 0.01(0 - 1) | 2.99(0 - 7)     |
| Ku5954 | 27    | 0.22(0 - 2)    | 8.70(4 - 12) | 0.00(0)     | 3.59(2 - 6)     |

注1: I = 一価染色体, II = 二価染色体, III = 三価染色体, IV = 四価染色体

表24 ナツカゼ, GR297, および Ku5954の花粉稔性

| 品 種 名                  | 調査花粉数 | 染色花粉割合(%) |
|------------------------|-------|-----------|
| ナツカゼ(10 <sup>1</sup> ) | 7705  | 76.9      |
| GR297(5)               | 2203  | 89.5      |
| Ku5954(5)              | 3158  | 80.4      |

注1: 供試個体数

表25 ナツカゼ, GR297, および Ku5954の自殖あるいは他殖種子の稔実率

| 品 種 名  | 種子稔実率(%) |      |
|--------|----------|------|
|        | 放 任      | 袋掛け  |
| ナツカゼ   | 46.3     | 33.3 |
| GR297  | 51.1     | 1.5  |
| Ku5954 | 52.0     | 54.2 |

表26 ナツカゼの放任受粉後代60個体の茎および葉における毛の発現の有無

| 部 位   | 出現個体数 |    |
|-------|-------|----|
|       | 有     | 無  |
| 茎節    | 60    | 0  |
| 葉鞘    | 60    | 0  |
| 葉舌    | 60    | 0  |
| 葉身の長毛 | 0     | 60 |
| 葉身の短毛 | 60    | 0  |



に四価染色体が1細胞当たり0～7個のレンジで観察され、同質四倍体であることが推定された。しかし、その出現頻度は、自然界に自生する四倍体の Ku5954が1細胞当たり約3.6個であるのに対して、ナツカゼは約3.0個と少し低かった。また、両者に染色体異常は認められなかった。

#### c. 花粉稔性および種子稔性

ナツカゼ、GR297、および Ku5954について、ヨード・ヨードカリ法を用いて調査した染色花粉率を表24に示した。ナツカゼの母系に当たる二倍体有性生殖の GR297の花粉稔性が最も高く、約90%であり、四倍体アポミクシス系統の Ku5954 では約80%であったのに対して、ナツカゼの花粉稔性はそれよりもやや低く、約77%であった。

ナツカゼ、GR297、および Ku5954の放任あるいは袋掛け受粉による種子稔性を表25に示した。有性生殖率が約3% (表22) と低い条件的アポミクシス系統の Ku5954は放任および袋掛け受粉共に種子稔実率は高く、各々52%、54%であった。一方、生殖様式が完全な有性生殖である GR297の種子稔実率は、放任受粉の場合に約51%と高いにも関わらず袋掛け受粉の場合には1.5%と低く、二倍体有性生殖系統は他殖性で自殖率が低いとしたSAVIDAN<sup>71)</sup>の結果を追認した。また、ナツカゼは放任受粉の場合の種子稔実率は Ku5954と同様に46%と高かったが、袋掛け受粉の場合は33%とやや低かった。この原因として極核と精核との間のなんらかの不和合が原因と考えられるが、実証するためにはより詳細な研究が必要である。

#### d. ナツカゼ後代の形態的変異

多くの形態的に異なる品種系統と共に栽培された圃場において放任受粉で採種された種子を圃場に展開して、後代60個体について茎葉の毛の有無を調査し、変異個体の出現率を推定した結果、変異個体は全く出現しなかった(表26)。ギニアグラスの生殖様式の推定法としては、有性生殖胚の出現率を実際に調査する胚嚢分析法と放任受粉あるいは交雑による後代を圃場に展開してオフタイプの出現率から推定する後代検定法があり、後代検定法は圃場で最も簡単にアポミクシス個体あるいは有性生殖個体を単離する方法であるとも指摘され<sup>21)</sup>、NAKAJIMA *et al.*<sup>54)</sup> もこの方法で有性生殖個体を単離した。また、NAKAJIMA and MOCHIZUKI<sup>55)</sup>は、胚嚢分析の結果と圃場での変異出現率がほぼ一致したと報告している。すでに示したように、ナツカゼの有性生殖率は10%以上であり、この有性生殖胚がすべて機能するのであれば数個体の変異個体が生じるはずである。ところが、実際には調査した毛の有無のみならず、草丈などの変異も確認されなかった。このことは、ナツカゼの有性生殖胚はなんらかの原因で交雑が阻害され、結果的には十分にアポミクシスで固定されてい

ることを示し、採種の際にはオフタイプの出現はほとんどなく、やや高い有性生殖率は採種事業においてほとんど問題にならないことを示している。なぜ、後代に生じるオフタイプの出現率が低いのか、また、強制受粉をさせた場合にこの有性生殖胚が機能するのかどうかについては今後の研究が必要である。

ナツカゼが四倍体であったこととこの品種の母本にあたる GR297 が二倍体であることを考えあわせると、ナツカゼは二倍体植物の非還元卵と四倍体植物の還元雄核との受精によって生じた可能性が高い。SAVIDAN<sup>71)</sup> は、ギニアグラス有性生殖系統は約15%と高い出現率で非還元卵を形成し、この率は、*Bothriochloa* における出現率とほぼ等しいと報告している。このことから、ナツカゼが生じたように二倍体有性生殖個体の後代に四倍体が生じることはまれな現象ではないので、今後交雑によって系統を育成する際には、染色体数の調査を十分に行う必要がある。GR297 は初期生育が旺盛である反面、生産力は低く、永続性に劣る。また、GR297 の特性調査の際に周辺に植えられていた系統リストから、ナツカゼの花粉親は晩生で、ほとんどのアポミクシス系統が示すように、初期生育が遅く、多年生栽培で多収かつ再生力の強い系統と推定される。この両者の交雑によって、初期生育に優れ、母本の GR297 よりも再生力が強い、多収の雑種が生じたことは、今後のギニアグラス育種における交雑育種の大きな可能性を示している。