



花粉粒の胚形成機構に関する研究 第5報 : タバコおよびその祖先種の葯培養におけるゲノム構成, 倍数性レベルならびに細胞質の影響

三十尾, 修司
竹内, 久義
福原, 宏次
松林, 元一

(Citation)

神戸大学農学部研究報告, 16(1):35-42

(Issue Date)

1984

(Resource Type)

departmental bulletin paper

(Version)

Version of Record

(JaLCD01)

<https://doi.org/10.24546/00225519>

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/00225519>



花粉粒の胚形成機構に関する研究

第5報 タバコおよびその祖先種の葯培養におけるゲノム構成、 倍数性レベルならびに細胞質の影響

三十尾修司*・竹内久義**・福原宏次***・松林元一*

(昭和58年8月10日受理)

STUDIES ON THE MECHANISMS OF POLLEN EMBRYOGENESIS

V. Effects of Genome Constitutions, Ploidy Levels and Cytoplasm of Tobacco and its Ancestral Species on the Pollen Embryogenesis in their Anther Culture

Shūji MISOO*, Hisayoshi TAKEUCHI**,
Kōji FUKUHARA*** and Motokazu MATSUBAYASHI*

Abstract

To clarify the genetic factors contributing in anther culture of the genus *Nicotiana*, embryogenic and plantlet-forming behaviors of pollen grains were investigated using *N. tabacum*, its ancestral diploid species, *N. sylvestris* and *N. tomentosiformis*, and their induced autotetraploids and reciprocal amphidiploids.

Plantlets were produced in all the materials used. Their occurrence frequency, however, was different from one material to another, being highest in *N. tabacum* and considerably higher in both of the reciprocal amphidiploids compared to the two ancestral diploid species and their autotetraploids. The two amphidiploids showed nearly the same responses to anther culture and no differences were found among the ancestral diploid species and their respective autotetraploids.

From the results obtained, it is suggested that the high pollen embryogenic response found in *N. tabacum* may be attributable to the genome constitution, SSTT, of this species, comprising the SS genome from *N. sylvestris* and the TT genome from *N. tomentosiformis*.

Addition of activated charcoal to the medium and the cold pretreatment of buds seem to provide effective means for inducing pollen embryogenesis in species in which anther culture has been hardly successful. By employing such means, induction of pollen-derived plantlets in *N. tomentosiformis* has firstly been achieved in the present study.

緒 言

栽培タバコの葯培養では、花粉粒が容易に分裂を起こし、受精卵からの胚形成と同様の過程を経て、半数性の植物体が多数形成される^{8~11,13,15,16,19~23)}。この葯培養によるいわゆる半数性育種法を利用して、わが国でもタバコの新品種が育成され¹⁴⁾、実際の耕作種として導入されつつある。ところが、タバコの農業形質の改良に有用な耐病性等を有する *Nicotiana* 属の野生種においては、一般

に植物体形成率が極めて低い^{15,16)}。特に *Petunioides* 亜属に属するものでは非常に困難である¹³⁾。一方、*N. glutinosa* の葯培養では二倍体で全く反応がないにもかかわらず、四倍体系統で植物体が得られたという報告も出されている¹⁵⁾。このように *Nicotiana* 属の葯培養においては、供試親植物の遺伝的要因がその成否に大きく関わっているものと思われる。遺伝的要因としては、ゲノム構成、倍数性および細胞質などが考えられるが、この要因の解明を試みた研究は現在のところみあたらない。

栽培タバコ (*Nicotiana tabacum*) は、古くからの細胞遺伝学的研究および最近の細胞質の生化学的比較から、*N. sylvestris* を母親とし、*N. tomentosiformis* を

* 作物育種学研究室

** 古古川市役所

*** 伊藤ハム栄養食品KK

Table 1. *Nicotiana* species and their induced cytogenetic derivatives used in anther culture

Material*	Ploidy level	Genome constitution	Cytoplasm
<i>N. tabacum</i> cv. Bright Yellow (<i>tab</i>)	4 x	SSTT	<i>tab</i>
<i>N. sylvestris</i> (<i>syl</i>)	2 x	SS	<i>syl</i>
<i>N. sylvestris</i> , autotetraploid (<i>syl</i> -4 x)	4 x	SSSS	<i>syl</i>
<i>N. tomentosiformis</i> (<i>tom</i>)	2 x	TT	<i>tom</i>
<i>N. tomentosiformis</i> , autotetraploid (<i>tom</i> -4 x)	4 x	TTTT	<i>tom</i>
<i>N. syl.</i> × <i>N. tom.</i> , amphidiploid (<i>syl</i> × <i>tom</i> -4 x)	4 x	SSTT	<i>syl</i>
<i>N. tom.</i> × <i>N. syl.</i> , amphidiploid (<i>tom</i> × <i>syl</i> -4 x)	4 x	SSTT	<i>tom</i>

* The parenthesized letters denote the abbreviations of species names.

Table 2. The three characters connected with ploidy levels in the two *Nicotiana* species and their cytogenetic derivatives used in this study

	No. of chloroplasts per guard cell	Pollen diameter (μ)	Pollen stainability (%)
<i>syl</i>	8.7	32.2	91.7
<i>syl</i> -4 x	14.6	39.4	71.2
<i>tom</i>	5.2	29.6	92.1
<i>tom</i> -4 x	10.3	37.6	75.9
<i>syl</i> × <i>tom</i> -2 x	7.9	—	0.2
<i>syl</i> × <i>tom</i> -4 x	13.2	33.4	81.9

父親とした複二倍体起源であることが明らかにされている。^{2~4)}この両祖先種は、それぞれ *Alatae* 節および *Tomentosa* 節の異なる節に属しており、ゲノム構成のみならず細胞質も明らかに異なっていることが知られている^{7,18)}。本研究では両祖先種、それらの同質四倍体系統および正逆交雑によって得られた複二倍体系統の薬培養における花粉粒の胚形成反応を比較し、*N. tabacum*における高い薬培養反応性がどのような遺伝的要因によって支配されているかを解明しようとしたものである。

実験材料および方法

実験材料としては、Table 1 にあげたようにゲノム構成、倍数性および細胞質のそれぞれ異なる *Nicotiana* 属の3種と、それらの種から人為的に育成した4系統を用いた。栽培タバコおよび野生種2種は日本専売公社関西支社より分譲を受けた種子を播種し、育成した。野生種の同質四倍体は、播種した実生にコルヒチン処理後、倍加検定で四倍体と判断された倍加当代の植物体である。野生種間の複二倍体系統は、本研究室で交配を行なった

F₁ 雑種の実生にコルヒチン処理を施し、倍加検定で複二倍体と判断された倍加当代の植物体である。これら倍加処理系統の諸特性をTable 2 に示したが、倍数性の特徴をよく表わしており、アセトカーミン染色法による良花粉粒率もそれほど低下していなかったため、薬培養に供試することにした。

培地としては、前報⁸⁾と同様、田中の処方²²⁾よりインドール酢酸を除外した寒天培地を用いた。ショ糖濃度は2.5%、寒天濃度は0.8%とし、pHを6.0に調整した。また、活性炭（和光、特級）を添加する場合には、培地調製の最後に0.5%濃度になるように加え、その後pHを調整した。いずれの培地も50mlの三角フラスコ当たり20mlずつ分注し、120℃で15分間オートクレーブ殺菌を施した。

培養に先立ち、花粉粒の発育段階をアセトカーミン押しつぶし法によって調査し¹²⁾、一核期後期ないし二核期初期に相当する薬を蕾の長さで選定した。

低温前処理としては、内面を蒸留水で湿らせた100ml ビーカー中にガーゼで包んだ蕾を入れ、アルミホイルで

Table 3. Effects of the developmental stages of pollen grains and activated charcoal in the medium on the plantlet formation in *N. tabacum*, *N. sylvestris*, *N. tomentosiformis* and their cytogenetic derivatives

Material	Treat. no.	Pollen stage ¹⁾	A. C. ²⁾	No. of anthers cultured	Plantlet formation		
					No. of anthers	Frequency (%)	Ave. no. per anther
<i>syl</i>	1	U	—	120	0	0.0	—
	2	U	+	120	0	0.0	—
	3	B	—	120	0	0.0	—
	4	B	+	120	4	3.3	1.0
	Total			480	4	0.8	1.0
<i>syl</i> -4 x	1	U	—	43	0	0.0	—
	2	U	+	45	0	0.0	—
	3	B	—	30	0	0.0	—
	4	B	+	30	1	3.3	1.0
	Total			148	1	0.7	1.0
<i>tom</i>		U	—	126	2	1.6	4.0
<i>syl</i> × <i>tom</i> -4 x	1	U	—	90	0	0.0	—
	2	U	+	90	7	7.8	1.9
	3	B	—	90	0	0.0	—
	4	B	+	90	14	15.6	12.1
	Total			360	21	5.8	8.7
<i>tom</i> × <i>syl</i> -4 x	1	U	—	25	0	0.0	—
	2	U	+	24	3	12.5	8.3
	3	B	—	25	2	8.0	25.5
	4	B	+	25	1	4.0	32.0
	Total			99	6	6.1	18.0
<i>tab</i>	1	U	—	105	11	10.5	15.2
	2	U	+	120	49	40.8	11.8
	3	B	—	105	7	6.7	25.0
	4	B	+	120	53	44.2	11.7
	Total			450	120	26.7	12.8

Data were taken after 10 weeks of culture.

1) U: Late uninucleate stage. B: Early binucleate stage.

2) Added with 0.5% activated charcoal to the medium (+) and not (-).

ビーカー全体をおおって、5℃で7日間保存する方法をとった。

培養は昼間14時間を人工照明(約2,000lux)し、夜間10時間を暗黒条件とした27±1℃の培養室で行なった。

置床後毎週、外部からの観察を行ない、植物体形成率および葯当り形成植物体数を算定した。

培養葯内花粉粒の調査には、置床後2週間目および4週間目に、各系統ともそれぞれ10葯を固定した。常法に

よるFEULGEN染色を施し、1葯当り1,000粒以上の花粉粒を調べて各種分裂花粉粒の出現頻度を算定した。

実験結果

葯培養を行なう際の花粉粒の発育段階の影響および基本培地中に添加した活性炭の効果を試験系統間で比較した(Table 3)。供試した6系統すべてで植物体の形成が認められたが、その植物体形成率および葯当り形成植

Table 4. Effects of the cold pretreatment and activated charcoal in the medium on the plantlet formation in *N. sylvestris*, *N. tomentosiformis* and their cytogenetic derivatives

Material	Treat. no.	Cold pre- treatment ¹⁾	A. C. ²⁾	No. of anthers cultured	Plantlet formation		
					No. of anthers	Frequency (%)	Ave. no. per anther
<i>syl</i>	1	—	—	420	2	0.5	1.0
	2	—	+	345	10	2.9	2.0
	3	+	—	120	7	5.8	3.6
	4	+	+	150	34	22.7	4.3
	Total			1035	53	5.1	3.6
<i>syl</i> -4 x	1	—	—	270	4	1.5	2.5
	2	—	+	300	28	9.3	5.7
	3	+	—	90	1	1.1	2.0
	4	+	+	90	16	17.8	6.5
	Total			750	49	6.5	5.6
<i>tom</i>	1	—	—	300	1	0.3	1.0
	2	—	+	240	1	0.4	1.0
	3	+	—	255	0	0.0	—
	4	+	+	255	10	3.9	3.0
	Total			1050	12	1.2	2.7
<i>tom</i> -4 x	1	—	—	255	2	0.8	1.0
	2	—	+	225	0	0.0	—
	3	+	—	195	1	0.5	1.0
	4	+	+	195	5	2.6	1.4
	Total			870	8	1.0	1.6
<i>syl</i> × <i>tom</i> -4 x	1	—	—	267	5	1.9	56.8
	2	—	+	310	61	19.7	9.2
	3	+	—	224	2	0.9	28.5
	4	+	+	190	63	33.2	7.2
	Total			991	131	13.2	10.3

Data were taken after 10 weeks of culture.

1) Pretreated the excised buds with 5 °C for 7 days (+) and not treated (—).

2) Added with 0.5 % activated charcoal to the medium (+) and not (—).

物体数には系統間で大きな差異がみられた。

すなわち、*N. sylvestris*の場合は、非常に形成率が低く、二倍体も四倍体系統も二核期の発育段階の葯を活性炭添加培地に置床した時にのみ植物体が形成された。特に四倍体系統では、培養供試葯数が少なかったこともあるが、幼植物が1個体形成されたにとどまった。

*N. tomentosiformis*の場合、一核後期の発育段階の葯のみ126葯置床したが、その内の2葯から8本の幼植物体が形成された。これらの幼植物体は鉢上げを行ない6個体の株を得たが、5株までが花粉稔性を持った二倍体で、1株のみが不稔性の半数体であった。

人為複二倍体の2系統は、いずれも両親野生種より植物体形成率および葯当り形成植物体数が高く、*N. sylvestris*を母親とした系統で平均5.8%、*N. tomentosiformis*を母親とした系統では平均6.1%の形成率を示した。これら両系統でも活性炭添加培地の効果は著しく、植物体を発生した27葯のうち、25葯までが活性炭添加培地で培養したものであった。

上述した*N. tabacum*の祖先野生種およびそれらの複二倍体系統に比較し、*N. tabacum*では顕著に高い植物体形成率が得られた。すなわち、形成率の低い区で6.7%、高い区で44.2%を示し、全平均では26.7%の葯で植

物体が形成された。また、一核期と二核期の发育段階の違いによる差異はほとんど認められなかった。一方、それぞれの发育段階における活性炭添加培地の効果は明らかで、植物体形成率が4倍以上にも増加した。

次に、*N. tabacum* の蒴培養で効果があるとされている蕾の低温前処理と活性炭添加培地を組合わせて処理区を設定し、5系統間で比較した (Table 4)。なお、本実験では花粉粒の发育段階が、花粉粒有糸核分裂期前後のものを選定した。その結果、前実験と同様にいずれの系統でも植物体が形成されたが、その様相はやはり各系統間で顕著に異なった。

N. sylvestris の両系統は、前実験よりもかなり良好な植物体形成を示した。両系統とも、低温前処理と活性炭添加培地を併用した場合に特に著効が認められた。また、二倍体と四倍体系統を比較しても、植物体の形成には何ら差異は認められなかった。

N. tomentosiformis の両系統では、いずれも前実験と同様に非常に低い植物体形成率にとどまった。ただし、この両系統でも低温前処理と活性炭培地の併用が有効で、それぞれ3.9%および2.6%の値にまで植物体形成率が高まった。

以上の4系統に比較し、複二倍体系統ではさらに高い植物体形成率が得られ、その平均値は13.2%を示した。この系統でも低温前処理と活性炭培地併用区で植物体形成率が最高値を示した (33.2%)。特に、活性炭添加培地で高い形成率を示したのに対して、活性炭無添加培地

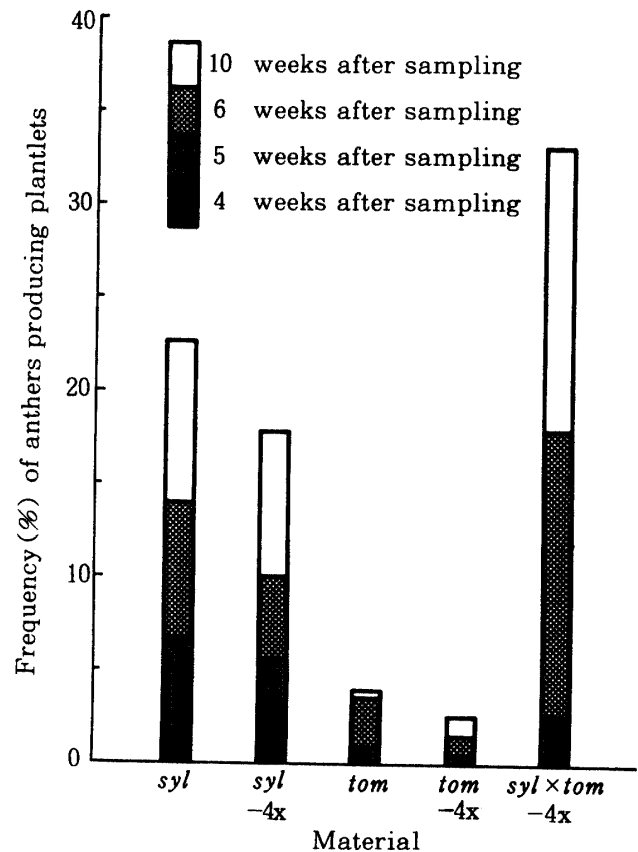


Fig. 1. Plantlet formation in anther culture of *N. sylvestris*, *N. tomentosiformis* and their cytogenetic derivatives.

The data of Treatment 4 in Table 4 are used in this graph.

Table 5. Distribution of pollen grains showing different mitotic behaviors in anther culture of *N. sylvestris*, *N. tomentosiformis* and their cytogenetic derivatives

Weeks after inoculation	Material	Frequency (%) of pollen grains with*								
		1 N or 2 G	2 V	G + V	3 - 6 N			7 N ≤	Emb	D
					nG + V	nV	G + nV			
2	<i>syl</i>	1.30	0.36	29.45	0.12	0.03	0.70	—	—	68.04
	<i>syl</i> -4 x	1.46	0.97	14.33	0.55	0.06	0.59	0.06	0.01	81.95
	<i>tom</i>	2.03	1.79	24.47	0.15	0.06	0.30	0.01	—	71.18
	<i>tom</i> -4 x	2.12	0.92	16.51	0.18	0.04	0.56	—	—	79.65
	<i>syl</i> x <i>tom</i> -4 x	4.50	1.21	53.76	0.14	0.02	0.24	0.01	—	40.12
4	<i>syl</i>	0.43	0.53	12.27	0.09	0.07	0.35	0.10	0.10	85.86
	<i>syl</i> -4 x	0.53	0.52	11.95	0.17	0.14	0.19	0.10	0.04	86.32
	<i>tom</i>	0.64	0.27	2.56	0.10	—	0.10	—	—	96.33
	<i>tom</i> -4 x	0.44	0.13	3.99	0.03	—	0.06	—	—	95.35
	<i>syl</i> x <i>tom</i> -4 x	0.18	0.04	1.79	—	0.01	0.06	0.06	0.43	96.80

Anthers were cultured without cold pretreatment of buds, on the medium which were supplemented with activated charcoal.

* N: Nucleus; G: Generative nucleus; V: Vegetative nucleus; n: The numbers of nuclei; Emb: Embryoid; D: Pollen grains which degenerated.

では植物体形成率が激減するのが特徴的であった。

以上述べたように、いずれの系統でも低温前処理と活性炭添加培地の両者を併用した4区で最も高い植物体形成率が得られたので、この区における植物体形成率の培養週数の経過に伴う推移を調べた。その結果を示したのがFig. 1である。この図からも明らかなように、最も良好な植物体形成を示したのは複二倍体系統であり、次いで*N. sylvestris*の両系統が高く、*N. tomentosiformis*の両系統が最も低かった。また、*N. sylvestris*の両系統では、蕾を採取後4週間目（置床後3週間目）に植物体が出現し始めたが、他の系統でも5週間目以後植物体が認められ、6週間目にはいずれも最終的な形成率の過半数に達した。

前述の2実験から、植物体形成に関して供試した各系統間に明らかな差異が存在することが判明した。この差異が培養過程のどの段階で生ずるのかに興味を持たれる。そこで、培養薬内花粉粒を検鏡し、各種分裂花粉粒および胚状体の出現頻度を2時期にわたって調査した（Table 5）なお、この調査にはTable 4の2区の薬を供試した。

置床後2週間目には、いずれの系統も3ないし6核となった多核化花粉粒が認められた。将来胚状体形成に関与すると考えられる栄養核が分裂した型（G+nV型）の頻度は、*N. sylvestris*の両系統で高く、次いで*N. tomentosiformis*、複二倍体系統の順であった。特に*N. sylvestris*の四倍体系統では、少数ではあるが7核以上のもの（ $7N \leq$ ）や球状胚状体まで发育したものもみられた。複二倍体系統では枯死粒（D）が少なく、多くの花粉粒が二核性花粉粒（G+V型）のままで生存していた。

置床後4週間目になると各系統間の差異が顕著に現われた。すなわち、*N. sylvestris*の両系統および複二倍体系統では7核以上の多核化花粉粒やさらに发育した胚状体（Emb）が形成され、複二倍体系統ではこの胚状体の割合が0.43%に達した。これに対して *N. tomentosiformis*の両系統では、7核以上の多核化花粉粒は全く認められず、6核までの多核化花粉粒の割合も2週間目より低下していた。

考 察

*Nicotiana*属の野生種における薬培養の報告は未だ少なく、各野生種間の比較を目的としたものは数編に限られている^{13,15,23)}。これらの報告から、栽培タバコである*N. tabacum*と*N. rustica*およびこれらの母親である*N. sylvestris*と*N. paniculata*では比較的良好に植物体が形成されることがわかっている。ところが、その他の

野生種では一般に薬培養による植物体の形成は困難であり、特に*Petunioides*亜属に属する種では*N. sylvestris*を除くとほとんど成功例がない。また、*N. tabacum*の花粉親とされている*N. tomentosiformis*に関しては培養報告さえみあたらない。本研究は、*N. tabacum*の遺伝的背景をなしているゲノム構成、倍数性および細胞質のいずれの要因がこの種の薬培養における高い反応性に関与しているのかを解明する目的で、遺伝的背景を異にする実験材料を育成し、薬培養を行なったものである。

まず、祖先種2種を比較すると、Table 3の実験ではいずれの種も植物体形成率は非常に低率で、両種間に差異は認められなかった。この実験では花粉粒の发育段階の影響を明らかにするために、花粉粒有糸核分裂期にあたると思われる蕾を除外し、これより蕾の小さいものを一核期、大きいものを二核期として供試した。このため、一般に最も高い反応性を示すと言われている花粉粒有糸核分裂期^{9,19,20,22)}の薬が除外され、結果的に低い形成率にとどまったものと思われる。同じ実験の*N. tabacum*では、いずれの发育段階でも高い形成率が得られていることから、これらの野生種では薬培養に適する发育段階の範囲が狭いとも考えられる。Table 4の実験では花粉粒有糸核分裂期前後の薬を培養し、供試薬数も増加させた。この結果をみると、いずれの処理区で比較しても*N. tomentosiformis*よりも*N. sylvestris*の方がすべての値で高く、明らかに反応性の異なることがわかる。この両種の反応性の違いは、培養薬内部花粉粒の調査結果から、培養初期の花粉粒の分裂時には特に現われないが、花粉粒が5,6核以上に多核化していく段階で起こるものと考えられる。一方、現在までに出版された報告では*N. tabacum*の方が*N. sylvestris*よりも植物体形成率の高いことが示されているが^{16,23)}、本研究の結果はこれを支持するものである。

*N. tabacum*の薬培養においては、花粉粒の分裂過程について調査がなされており、生殖核と栄養核からなる二核性花粉粒のうち、主として栄養核が分裂を続けて胚状体を形成するとされている^{10,20)}。本研究で供試した*N. sylvestris*と*N. tomentosiformis*の場合も、栄養核のみからなる多核化花粉粒の形成頻度は極めて低く、生殖核1個と栄養核数個を有するものが多核化花粉粒のほとんどをしめている。すなわち、花粉粒の分裂様式の点では両祖先種とも何ら違いは認められないわけで、薬培養反応性の違いが分裂様式の違いによるものであるとは考えられない。

*N. glutinosa*の薬培養では、二倍体で植物体が形成されないにもかかわらず四倍体では可能であるという報

告が出されている¹⁵⁾。この点を検討するため、本研究では供試した両祖先種の人為同質倍数体を育成して葯培養反応性を祖先種と比較した。ところが、両系統共に植物体形成率、葯当り形成植物体数、花粉粒の分裂様式および分裂花粉粒率のいずれにおいても原野生種と何ら異なる点は認められなかった。これらのことから、少なくとも本研究の供試野生種では倍数性の違いによる反応性の変化は生じないと結論される。

一方、本研究で供試した祖先種の複二倍体系統では、*N. tabacum*にはおよばないものの両祖先種よりも明らかに高い植物体形成率を示した。また、構成ゲノムは同じSSTTで細胞質が異なる正逆交雑系統間では反応性に差が認められなかった。これらの事実から、複二倍体系統の高い反応性はSSTTというゲノム構成に大きく影響されているものと考えられる。すなわち *N. tabacum* について言えば、*N. sylvestris* のSゲノムと *N. tomentosiformis* のTゲノムが併有されることによって、葯培養に好適な何らかの相補的な作用が働くのではないと思われる。栽培タバコの *N. rustica* は *N. paniculata* と *N. undulata* の複二倍体起源であるとされている⁶⁾。両祖先種のうち、*N. paniculata* ではある程度植物体が形成されるものの、*N. undulata* においては全く成功例がない^{15, 23)}。しかも、両野生種の複二倍体である *N. rustica* では非常に高率に植物体が形成される。このように2つの栽培タバコは葯培養に対してよく似た反応性を示している。*Nicotiana* 属のある特定の野生種間の交雑系統では遺伝的腫瘍を形成することが古くから知られているが、これは特定のゲノムの組み合わせによって、遺伝的に生長促進物質が増加することにより生ずるとされている^{17, 18)}。SゲノムとTゲノムが組合わされた場合にも、葯内もしくは花粉粒内の生長調節物質等の量が花粉粒の分裂に適した状態に保たれている可能性も考えられるが、この点に関しては今後の研究を待たねばならない。

栽培タバコの葯培養効率を高める方法として活性炭添加培地の使用^{1, 13)}や蕾の低温前処理²¹⁾が報告されている。本研究でも、*N. sylvestris* の両系統、複二倍体系統および *N. tabacum* では、活性炭添加培地の効果が特に顕著に現われている。さらに、低温前処理を同時に組合わせた場合に、いずれの系統でも最高の植物体形成率値を示している。現在までに、野生種に対してこれら両処理を同時に施した報告はみあたらないが、今後葯培養の困難な種に対しても有望であろう。現に、本研究ではこのような処理を施すことにより初めて *N. tomentosiformis* における植物体形成に成功した。

摘 要

1) *Nicotiana* 属の葯培養における遺伝的要因を解明する方法として、*N. tabacum*, その祖先種である *N. sylvestris* と *N. tomentosiformis*, 両祖先種の人為同質四倍体系統および正逆交雑倍加系統 (複二倍体系統) を育成し、これらの系統の葯培養に対する反応性の程度を比較検討した。

2) 供試したすべての系統で植物体が形成されたが、その形成率には各系統間で明らかな差異が認められた。すなわち、*N. tabacum* で最も高く、次いで複二倍体系統、*N. sylvestris* 系統および *N. tomentosiformis* 系統の順であった。

3) 正逆2種の複二倍体系統間ならびに両祖先種と各々の同質倍加系統間には、植物体形成の反応性に関して何ら差異は認められなかった。

4) *N. tomentosiformis* では、花粉粒の初期の分裂は生ずるものの、5ないし6核以上に多核化する段階ではとんどの花粉粒が発育を停止することが判明した。

5) これらの結果から、*N. tabacum* の葯培養における花粉粒の高い胚形成反応性には、細胞質や倍数性よりも、むしろ両祖先種由来のSゲノムとTゲノムが組合わさった形のゲノム構成を有していることが重要な役割を果たしているものと考えられる。

6) 活性炭添加培地の使用と蕾の低温前処理の適用により、今まで報告のなかった *N. tomentosiformis* での植物体形成が初めて成功し、今後他の種への応用の可能性が示唆される。

引 用 文 献

- 1) ANAGNOSTAKIS, S. L.: *Planta*, 115, 281-283, 1974.
- 2) GERSTEL D. U.: *Genetics*, 45, 1723-1734, 1960.
- 3) GOODSPEED, T. H. and R. E. CLAUSEN: *Univ. Calif. Publ. Botany*, 11, 245-256, 1928.
- 4) GRAY, J. C., S. D. KUNG, S. G. WILDMAN and S. J. SHEEN: *Nature*, 252, 226-227, 1974.
- 5) KOSTOFF, D.: *Zentr. Bakteriell., Parasitenk., Abt. II*, 81, 244-260, 1930.
- 6) ———: *Cytogenetics of genus Nicotiana*, 1071pp., State Printing House, Sofia, 1943.
- 7) KUNG, S. D., Y. S. ZHU and G. F. SHEN: *T. A. G.*, 61, 73-79, 1982.
- 8) 松林元一・三十尾修司: 神大農研報, 12 (2), 173-

- 181, 1977.
- 9) 三位正洋: 育種, **23**, 27-34, 1973.
- 10) MISOO, S., K. YOSHIDA and M. MATSUBAYASHI: *Sci. Rept. Fac. Agr. Kobe Univ.*, **13**, 193-202, 1979.
- 11) 三十尾修司・松林元一: 神大農研報, **14** (2), 273-278, 1981.
- 12) ———: 植物組織培養の技術 (竹内ら編), 114-116, 朝倉書店, 東京, 1983.
- 13) 中村明夫・板垣隆三: 育種, **23**, 71-78, 1973.
- 14) ——— 山田哲也・岡 克・立道美朗・江口恭三・綾部富雄・小林清: 磐田たばこ試験場報告, **7**, 29-39, 1975.
- 15) NITSCH J. P.: *Phytomorphology*, **19**, 389-404, 1969.
- 16) ———: *Z. Pflanzenzüchtg.*, **67**, 3-18, 1972.
- 17) SMITH, H. H.: *Brookhaven Lecture Ser.*, **52**, 1-8, 1966.
- 18) ———: *Advances in Genetics*, **14**, 1-54, 1968.
- 19) SUNDERLAND, N. and F. M. WICKS: *J. Exp. Bot.* **22**, 213-226, 1971.
- 20) ———: In *Haploids in Higher Plants, Advances and Potential* (ed. by K. J. KASHA), Univ. Guelph, Guelph, 91-122, 1974.
- 21) ——— and M. ROBERTS: *Ann. Bot.*, **43**, 405-414, 1978.
- 22) 田中正雄: 育種, **23**, 171-174, 1973.
- 23) TOMES, D. T. and G. B. COLLINS: *Crop Sci.* **16**, 837-840, 1976.