

## ブラシカ (*Brassica*) 属の子房培養

猪俣伸道\*

(1986年6月7日受理)

### 1. はじめに

子房培養の研究は、大きく二つに分けることができるといえる。一つは花器の一部である未発達の子房を人工的に培養して、果実の肥大機構や初期胚発生の研究をすることであり、他は、遠縁植物の交配で雑種胚が発達初期で発育を停止して雑種個体が得られない場合に、胚のうを含む子房全体を培養して雑種を育てることにある。

子房培養は La Rue<sup>1)</sup> によって2, 3の被子植物で試みられ、小花柄から根の形成がみられたことにはじまるが、実際には発芽可能な種子を得た Nitsch<sup>2)</sup> に始まるといってよい。彼はトマト (*Lycopersicon esculentum*) の開花後約2日目の子房を人工培養に移して果実の生長曲線を調べたら、果実は小さくなったが、その生長は植物体に付いた時と同じようにS字型を示すことを観察した。

また、キュウリの1種 (*Cucumis anguria*) では、交配後4日目以後の子房を培養すると発芽可能な種子が得られた。これらの研究が子房培養の研究の先鞭をつけ、これ以後、ケシ (*Papaver somniferum*)<sup>3,4)</sup>、タマスダレの1種 (*Zephyranthes*)<sup>5)</sup>、マガリバナ (*Iberis anara*)<sup>6)</sup>、イノンド (*Anethum graveolens*)<sup>7)</sup>、タマネギ (*Allium cepa*)<sup>8)</sup>、タバコ (*Nicotiana tabacum*)<sup>9)</sup>、クローバー (*Trifolium repens*)<sup>10)</sup> など、種々の植物の子房や胚珠培養が試みられるようになった。

ここでは、アブラナ科作物の *Brassica campestris* の子房培養について、種子形成の立場から、培地と培養条件の検討を述べるとともに、子房培養法による *B. campestris* と *B. oleracea* の種間雑種育成等とその後代について述べてみる。

### 2. 培地と培養条件

Inomata は子房培養における培地の無機塩組成と

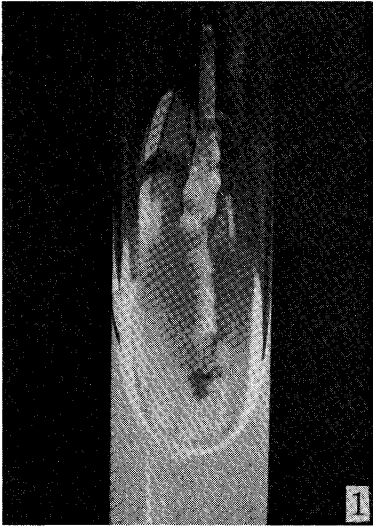
ビタミン類の添加による種子形成を調べた<sup>11)</sup>。材料は *B. campestris* の2倍体と同質4倍体で、開花時にそれぞれきょうだい交配を行い、交配後4日目に子房を小花柄を付けて切り取り、無菌操作後寒天培地に植え植んだ(第1図)。用いた培地の無機塩組成は Heller<sup>12)</sup>、Murashige と Skoog<sup>13)</sup>、Nitsch<sup>2)</sup>、と White<sup>14)</sup> をそれぞれ基本培地として、ビタミン類を全く含まない区、修正 White のビタミン類<sup>15)</sup>を添加した区、Morel<sup>16)</sup> のビタミン類を添加した区、修正 White と Morel のビタミン類を同時に添加した区、計16の実験区を作った。なお、いずれの実験区においてもショ糖 (50g/l) と寒天 (8g/l) を加えた。植え込んでから36日後に、蒴果を収穫し、種子形成を調査した。

その結果、2倍体のきょうだい交配においては、種子形成の最も良かった培地は White の無機塩の区で、逆に最も悪かったのは Murashige と Skoog のそれであった。一方同質4倍体のきょうだい交配においては、種子形成の最も良かった培地は Murashige と Skoog の無機塩の区で、最も悪かったのが Heller のそれであった。添加したビタミン類については、著しい効果はみられず、まったく添加しないいずれの基本培地においても発芽種子が得られた<sup>11)</sup>。

子房培養の種子形成と培地の無機塩組成の関係を調べたが、さらに培地に添加する糖の種類、濃度、培養時の温度と光条件、または子房の植え込み時期についても検討した。実験材料はいずれも上記と同じ *B. campestris* の2倍体と同質4倍体のきょうだい交配の子房を植え植んだ。子房培養の種子形成と培地に添加する糖の種類についての実験で用いた炭素源はショ糖、グルコース、ラフィノース、フルクトースとマンノースでそれぞれ 50g/l を培地に添加した。種子形成はマンノース以外の糖でみられた。得られた種子の発芽率をみると、ショ糖とグルコースが最も良かった<sup>17)</sup>。培地に添加するショ糖濃度について調べると、無添加区では種子形成はまったくなかった。2倍体のきょうだい交配では、稔実種子はショ糖濃

\* Nobumichi INOMATA: Culture in vitro of Ovaries in *Brassica*

岡山大学教養部生物学教室(〒700 岡山市津島中2-1-1)  
Department of Biology, College of Liberal Arts and Sciences, Okayama University (2-1-1, Tsushima-naka, Okayama 700)



第1図 試験管に植えた子房。胚珠の発達が認められる。

度が高くなるにつれて良くなり、210g/l で最も良かった。しかし、得られた種子の発芽率は、低濃度のショ糖を培地に添加して得た種子の発芽率より低かった。同質4倍体のきょうだい交配の場合、稔実種子は培地に添加するショ糖濃度が30g/l から70g/l までが良かった<sup>17)</sup>。

子房培養時の温度については、2倍体と同質4倍体のきょうだい交配のいずれの種子形成についても、17°C から22°C が適していて、それより低温(12°C)あるいは高温(32°C)では種子形成は減少した。また、光の強度についてみると、種子形成は300~500lux の蛍光灯による連続照明が良く、暗黒や2,000lux の条件下では減少した<sup>11)</sup>。

子房の植え込み時期と種子形成について調べてみると、2倍体と同質4倍体のきょうだい交配後、1日目から日を追って10日目まで順に植え込んだ結果、いずれの組み合わせでも子房を植え込む日時が遅くなるほど、良い種子形成がみられた。組織学的な観察では、受粉後2日目までは受精は認められないが、その時期までの子房を培養しても発芽種子が得られた<sup>18)</sup>。

### 3. 植物生長調節物質

*B. campestris* の2倍体と同質4倍の正逆交雑では、通常いずれの組み合わせにおいても3倍体の雑種は得られない。この原因について組織学的な観察を行うと、いずれの組み合わせでも受精がおこり、初期の胚発生は認められるが、やがて胚乳の発達が異常になり、胚珠の崩壊がおこって不稔種子になる<sup>19)</sup>。この2倍体と同質4倍体の正逆交雑から発達初期の子房を切り取り、人工培養すること

によって3倍体雑種育成を試みた。

#### 3.1 オーキシン、カイネチンとジベレリン

子房培養での種子形成と培地に添加する植物生長調節物質の効果について調べた。実験材料は、*B. campestris* の2倍体と同質4倍体の正逆交雑を行った子房である。なお対照区として2倍体と同質4倍体のきょうだい交配を行った子房を用いた。受粉後4日目後に第1図のように植え込んだ。用いた基本培地は Nitsch<sup>20)</sup> の無機塩に修正 White<sup>15)</sup> のビタミン類ショ糖(50g/l)と寒天(9g/l)を添加したものである。基本培地に添加した植物調節物質はインドール酢酸(0, 1, 5mg/l)、カイネチン(0, 0.1, 0.5mg/l)とジベレリン(0, 1, 5mg/l)で、インドール酢酸とカイネチン、とインドール酢酸とジベレリンをそれぞれ組み合わせて、各々対照区を含んで9つの実験区を作ってそれらの効果を調べた。

それらの効果の調査は2つの方法によって行った。1つは植え込み後36日目に種子形成を、他は植え込み後11日目に固定し、組織学的に胚珠の発達状態をそれぞれ調べた。その結果、インドール酢酸とカイネチンの区、とインドール酢酸とジベレリンのそれぞれの区において、インドール酢酸の濃度が高くなるにつれて、小花柄の先端あるいは子房のつけねからカルス形成が良くなった。

インドール酢酸とカイネチンの組み合わせによる種子形成について、2倍体と同質4倍体のそれぞれのきょうだい交配の場合では、発芽可能な種子が得られた。2倍体のきょうだい交配の子房培養よりも同質4倍体のその方が全般によい種子形成がみられた。一方、正逆交雑においては、4x×2xの場合に3粒の種子を得たが、いずれも発芽しなかった。逆の交雑では、どの区からも種子は得られなかった<sup>15)</sup>。組織学的観察による胚珠の発達についてみると、2倍体と同質4倍体のきょうだい交配の場合では、いずれの実験区からも自然条件下よりも発達の良い胚が胚珠の中に観察された。一方、正逆交雑においては、2つの実験区(インドール酢酸0とカイネチン0.1、インドール酢酸1.0とカイネチン0.1)で自然条件下より発達の良い胚が観察された以外は、ほとんどの胚珠の中には胚が観察されなかった<sup>20)</sup>。

インドール酢酸とジベレリンの組み合わせによる種子形成について、2倍体と同質4倍体のそれぞれのきょうだい交配の場合では、得られた発芽可能な種子はインドール酢酸とカイネチンの組み合わせの場合と同様に、同質4倍体のきょうだい交配の子房培養の方が2倍体のそれよりよい種子形成がみられた。一方、正逆交雑においては、いずれの交配組み合わせと実験区からも種子は得られなかった<sup>15)</sup>。組織学的観察による胚珠の発達について、

2倍体と同質4倍体のきょうだい交配の場合ではいずれの実験区からも自然条件下よりも発達の良い胚が胚珠の中に観察された。一方、正逆交雑においては、どの実験区においても自然条件下よりも発達の良い胚が胚珠の中に観察されたものはなく、ほとんどの胚珠の中にすでに胚がなかった<sup>20)</sup>。

ケン<sup>3)</sup>とタマネギ<sup>8)</sup>の交配後の子房の培養では、培地にオーキシンとカイネチンを添加した方が胚珠の生育は促進された。一方、タマスタレの1種<sup>5)</sup>の培養では、それらを培地に添加しても胚珠の生育は促進されなかった。これまでの結果、*B. campestris*の2倍体と同質4倍体の正逆交雑を行い、子房培養によって3倍体雑種を育成するのに、培地に添加したインドール酢酸、カイネチンとジベレリンのそれぞれを単独に、あるいはそれらを種々の濃度で組み合わせても、効果がなかったし、2倍体と同質4倍体のきょうだい交配の子房培養の場合においても、それらの効果はあまりなかった。

#### 4. 天然抽出物

植物生長調節物質を単独あるいは種々の組み合わせで培地に添加して、カルスを作らせたり、胚珠や子房培養を行う研究報告は多数ある。また、チョウセンアサガオの幼胚を人工的に生育するのに、ココナットミルクを培地に添加すると、幼胚の生育は著しく促進されるという報告以来、イースト抽出物、カゼイン加水分解物など種々の天然抽出物を培地に添加すると、幼胚の人工培養やカルスの生育に効果があることも報告されている。

そこで、子房の人工培養で、培地に添加する種々の天然抽出物の効果が種子形成について有効かどうかを2倍体と同質4倍体のきょうだい交配で調べるとともに、自然条件下では雑種形成が困難な組み合わせの種子形成について検討した。用いた基本培地と培養条件は、植物生長調節物質と種子形成の関係を検討した場合と同じであった。基本培地に添加した天然抽出物は、熟したトマトジュース(15%)、イースト抽出物(2g/l)、カゼイン加水分解物(300mg/l)、ココナットミルク(10%)、とココナットミルク(10%)とカゼイン加水分解物(300mg/l)の5つで、対照区を入れて6つの実験区を作った。さらに、これらの各実験区にインドール酢酸(1mg/l)、カイネチン(0.1mg/l)とジベレリン(1mg/l)を各々単独に添加した区、これらを全部添加した区と対照区を作った。各天然抽出物を添加した区で植物生長調節物質を加えて5区の実験区を作り、合計30区で実験を行い、子房培養における種子形成を検討した。

子房培養と種子形成の関係は植物生長調節物質について調べたと同じように、1つは種子形成で、他は組織学的な観察によって行った。2倍体と同質4倍体のきょうだい交配の子房培養の種子形成についての結果を第1表に示す。培地に添加した植物生長調節物質の効果はほとんどなかった。培地に添加したイースト抽出物などの天然抽出物と植物生長調節物質の関係についても同じことがいえた。培地に添加した天然抽出物の効果についてみると、子房培養の種子形成に対し、トマトジュースの添加は基本培地よりも悪かった。他の天然抽出物を添加したものでは基本培地よりも種子形成は良くなって、カゼイン加水分解物を添加した区が最も良く、次いでココナットミルクとカゼイン加水分解物、イースト抽出物、ココナットミルクをそれぞれ添加した区の順になった<sup>15)</sup>。組織学的観察の結果も、種子形成について出たものと同じで、培地に添加した植物生長調節物質の効果はほとんどなく、添加した天然抽出物においては、トマトジュース以外の実験区ではいずれの区においても、自然条件下で胚珠中の胚の発達よりも良いものが観察された<sup>20)</sup>。

第1表 *Brassica campestris*の2倍体と同質4倍体のきょうだい交配の子房培養によって得られた種子と培地の関係<sup>15)</sup>

培地	添加物					計
	None	IAA	K	GA	T	
BM	8	0	6	4	1	19
BM-TJ	0	0	0	0	0	0
BM-YE	6	12	5	9	16	48
BM-Ch	26	15	13	23	9	86
BM-CM	14	8	9	9	8	48
BM-CM-Ch	10	8	18	15	15	66
計	64	43	51	60	49	267

結果は2x×2xと4x×4xの両者を含んでいる。

BM：基本培地， TJ：トマトジュース(15%)，  
YE：イースト抽出物(2g/l)， Ch：カゼイン加水分解物(300mg/l)， CM：ココナットミルク(10%)，  
CM-Ch：ココナットミルク(10%)とカゼイン加水分解物(300mg/l)， None：無添加， IAA：インドール酢酸(1mg/l)， K：カイネチン(0.1mg/l)， GA：ジベレリン(1mg/l)， T：IAA+K+GA。

的観察によって行った。2倍体と同質4倍体のきょうだい交配の子房培養の種子形成についての結果を第1表に示す。培地に添加した植物生長調節物質の効果はほとんどなかった。培地に添加したイースト抽出物などの天然抽出物と植物生長調節物質の関係についても同じことがいえた。培地に添加した天然抽出物の効果についてみると、子房培養の種子形成に対し、トマトジュースの添加は基本培地よりも悪かった。他の天然抽出物を添加したものでは基本培地よりも種子形成は良くなって、カゼイン加水分解物を添加した区が最も良く、次いでココナットミルクとカゼイン加水分解物、イースト抽出物、ココナットミルクをそれぞれ添加した区の順になった<sup>15)</sup>。組織学的観察の結果も、種子形成について出たものと同じで、培地に添加した植物生長調節物質の効果はほとんどなく、添加した天然抽出物においては、トマトジュース以外の実験区ではいずれの区においても、自然条件下で胚珠中の胚の発達よりも良いものが観察された<sup>20)</sup>。

自然条件下では雑種形成がみられない2倍体と同質4倍体の正逆交雑の子房を培養した結果、4x×2xの雑種は基本培地にイースト抽出物とカゼイン加水分解物を添加したそれぞれの実験区で1個体ずつ得られ、また、逆の2x×4xでは、基本培地にココナットミルク、とココナットミルクとジベレリンを添加したそれぞれの実験区で1個体ずつ得られた(第2図a)<sup>15)</sup>。胚発生の組織学的観察では、4x×2xの雑種胚は基本培地にイースト抽

出物とカゼイン加水分解物をそれぞれ添加した実験区で、 $2x \times 4x$ の雑種胚は基本培地にココナットミルクを添加した実験区で胚珠の中に、自然条件下の胚の発達よりも良い胚が観察された<sup>20)</sup>。

ケシの胚珠培養では、培地に添加したカゼイン加水分解物とイースト抽出物は種子形成に効果がみられたが<sup>4)</sup>、タバコではその効果はなかった<sup>9)</sup>。またクローバーの胚珠培養では培地に未熟のキュウリ果汁を添加すると、種子形成に効果がみられた<sup>10)</sup>。このように実験材料により、培地に添加する天然抽出物の種子形成に関する効果がみられるものと、そうでないものがあった。*B. campestris*の2倍体と同質4倍体のきょうだい交配における子房培養では、イースト抽出物、カゼイン加水分解物、ココナットミルクなどの天然抽出物を培地に添加すると、無添加のものより良好な種子形成がみられた。また、正逆交雑からの雑種形成においても、これらの天然抽出物を培地に添加した培地で子房培養を行うと、通常自然条件下で得られない雑種が得られた。このことから、*B. campestris*の子房培養による種子形成では、培地に添加する天然抽出物がよりよい効果を示し、また、通常交雑不可能な組み合わせから雑種を得るに有効であることが明らかと

なった。

## 5. 種間雑種形成

### 5.1 これまでの結果

油料および飼料作物として重要なナタネ (*B. napus*,  $2n=38$ )は細胞学的には、ハクサイ類 (*B. campestris*,  $2n=20$ )とキャベツ類 (*B. oleracea*,  $2n=18$ )の自然複2倍体であることが知られている<sup>21)</sup>。Uは1935年に *B. campestris* と *B. oleracea* の人為交配を行い初めて両者の間の種間雑種作出を試みた。その後、多くの研究者が種間雑種作出を試みたが、第2表にみられるように非常に困難なことが分かった (第2表)。人為交配での雑種作出頻度をあげるために、混合受粉、柱頭切除後の受粉、植物体の接木、胚培養等を試みて、いく分その効果がみられたにすぎない。

Håkansson (1956) は *B. campestris* と *B. oleracea* の交配において、不稔種子が形成される原因を組織学的に追求した<sup>22)</sup>。その結果、*B. campestris* の2倍体と同質4倍体の正逆交雑における不稔種子形成の組織学的観察と類似していた<sup>19)</sup>。

### 5.2 子房培養

そこで、*Brassica campestris* の2倍体と同質4倍体の正

第2表 *Brassica campestris* × *B. oleracea* の種間雑種における歴史的な結果<sup>a</sup>

研究者	交配花数 (A)	得られた雑 種数 (B)	(B/A) ×100	文献
U (1935)	732	4	0.55	22
Mizushima (1946)	ca. 1,300	2	0.15	36
Feng (1955)	185	0	—	37
Feng (1955) <sup>c</sup>	45	1	2.22	37
Hoffmann and Peters (1958)	8,330	20	0.24	38
Olsson (1960)	10,395	16	0.15	39
Hosoda (1961)	670	2	0.30	40
Shiraishi et al. (?) <sup>b</sup>	1,269	18	1.42	41
Ito et al. (?) <sup>b</sup>	4,925	2	0.04	41
Nishi et al. (1962)	4,496	8	0.18	41
Hosoda et al. (1963)	143	0	—	42
Hosoda et al. (1963) <sup>d</sup>	178	14	7.87	42
Hosoda et al. (1963) <sup>e</sup>	130	6	4.62	42
Sarashima (1964)	10,341	4	0.04	43
Namai and Hosoda (1965)	435	2	0.46	44
Namai and Hosoda (1965) <sup>d</sup>	99	7	7.07	44
Sarashima (1966)	1,441	10	0.69	45
Nishi et al. (1970)	936	3	0.32	46
Nishi et al. (1970) <sup>f</sup>	539	17	3.18	46

<sup>a</sup> Hosoda ら (1969)<sup>47)</sup> を修正。

<sup>b</sup> 西ら (1962)<sup>41)</sup>。

<sup>c</sup> 混合受粉。

<sup>d</sup> 接木法。

<sup>e</sup> 柱頭切除

<sup>f</sup> 胚培養。

逆交雑の子房を人工培養することで、3倍体の雑種を得ることができた結果から、*B. campestris* と *B. oleracea* の雑種不稔を克服するために、それらの正逆交雑をし、子房の人工培養を試みた。用いた基本培地は White の無機塩<sup>14)</sup>に修正 White のビタミン類<sup>11)</sup>、50g/l のショ糖と 8g/l の寒天である。培養に用いた培地は基本培地にイースト抽出物 (0, 2, 5g/l) とカゼイン加水分解物 (0, 300, 500, 1,000mg/l) をそれぞれ添加して組み合わせた 6つの実験区であった。

*B. campestris* × *B. oleracea* の雑種形成について、植え込み後36日目に蒴果の胚珠の発達を調べると、正常に発達した種子も観察されたが、未発達の種皮を破って多数の胚が生育していた。それらの胚の発達程度は魚雷型から成熟型までみられ、それらの胚は新しい培地に植え替えられ、本葉と根が出ると土に移した。雑種形成についてイースト抽出物とカゼイン加水分解物の効果をみると基本培地のみとカゼイン加水分解物 (300mg/l) 添加のそれぞれの区で雑種が得られた (第2図b)。一方、逆の組み合わせ、*B. oleracea* × *B. campestris* の子房培養では、いずれの実験区からも種子や発達した胚が観察されなかった<sup>24)</sup>。

また、基本培地にカゼイン加水分解物 (0, 500mg/l) とココナットミルク (0, 10, 20%) をそれぞれ添加した 6つの実験区から、*B. campestris* × *B. oleracea* の雑種形成を試みた。基本培地、とカゼイン加水分解物とココナットミルクの混合添加区で良好であった。なお、逆の交配組み合わせ、*B. oleracea* × *B. campestris* では前述と同様に雑種形成はまったく認められなかった<sup>25)</sup>。

子房培養によって *B. campestris* と *B. oleracea* の種間雑種が比較的容易に得られ、White の無機塩にカゼイン加水分解物 (300mg/l) を添加した培地が適していることが分かった。

*B. campestris* には在来菜種類、小松菜類、水菜類、体菜類、白菜類など多数の有用な栽培品種がある。また、*B. oleracea* もケール類、結球キャベツ類、花やさい類、蕪カンラン類、芽キャベツ類など有用な栽培品種がある。これまで子房培養による *B. campestris* と *B. oleracea* の種間雑種作出は *B. campestris* の方は白菜類と体菜類を用い、*B. oleracea* の方は結球キャベツ類が用いられてきた。上記のように両者とも多数の品種を含むので、子房培養法でそれらの間においても種間雑種が作出できるかどうか試みた<sup>26)</sup>。その結果、*B. campestris* の種々の品種と *B. oleracea* の種々の品種のいずれか交配の子房培養からも種間雑種が得られることが分かった (第2図c)<sup>26,27)</sup>。

カゼイン加水分解物などの天然抽出物を添加した培地

で子房培養を行って雑種を得たが、その対照区として用いた基本培地からも雑種が得られたので、子房培養による種子形成により効果的な無機塩組成を調べてみた<sup>28)</sup>。用いた無機塩組成は、White<sup>14)</sup>、Nitsch<sup>2)</sup>、Heller<sup>12)</sup>、Nitsch と Nitsch<sup>29)</sup>、と Murashige と Skoog<sup>13)</sup> であり、培地はさらに 50g/l のショ糖と 8g/l の寒天を加えた。*B. campestris* × *B. oleracea* の交配後4日目の子房を植え込んだ。その結果、無機塩濃度の高い培地 (Nitsch と Nitsch、と Murashige と Skoog) の方が低いそれらよりも雑種形成頻度が高く、Nitsch と Nitsch の培地において最も高かった<sup>28)</sup>。

さらに雑種形成頻度を高めるための改良培地の検討がなされた。今までの培地は White の無機塩にカゼイン加水分解物を添加したものが用いられたが、培地の無機塩に Nitsch と Nitsch を用いてカゼイン加水分解物を添加すると、今までの雑種作出頻度より高くなりほしくないか、また子房培養には培地に添加する鉄の作用は如何なるものかの検討がなされた<sup>30)</sup>。その結果、雑種作出の頻度は White の無機塩にカゼイン加水分解物を添加した今までの培地より、Nitsch と Nitsch の無機塩にカゼイン加水分解物を添加した培地の方が高くなった。また鉄を無添加の培地からも雑種は作出された。またこの培地を用いて多数の種間雑種が作出された<sup>30)</sup>。

今まで述べたように、*B. campestris* と *B. oleracea* の種間雑種は子房培養法を用いると容易に作出できることが分かった。しかも *B. campestris* と *B. oleracea* にはそれぞれ種々の栽培品種があるが、それらの間で多数の雑種が作出されてきた。今まで子房培養で得られた雑種作出数とその報告年は第3表に示してある。

子房培養法による雑種作出頻度は、全体で比較すると第2表にみられるように人為交配や胚培養などで得られるものの約135倍であった。なお、改良された培地で子房培養を行うと、さらに高い頻度で雑種が作出された。

*B. campestris* と *B. oleracea* の間では容易に雑種が得られることが分かったが、さらに子房培養法によって雑種作出のわくの拡大を試みた。*B. oleracea* の野生近縁種がトルコ、ギリシャからヨーロッパ大陸に多数分布している<sup>31)</sup>。それらの野生近縁種の1種 *Brassica cretica* を花粉親に用いて *B. campestris* に交配した後、子房培養を試みた。その結果、*B. campestris* と *B. cretica* の間にも多数の雑種が作られた (第3表、第2図d)<sup>30,32)</sup>。

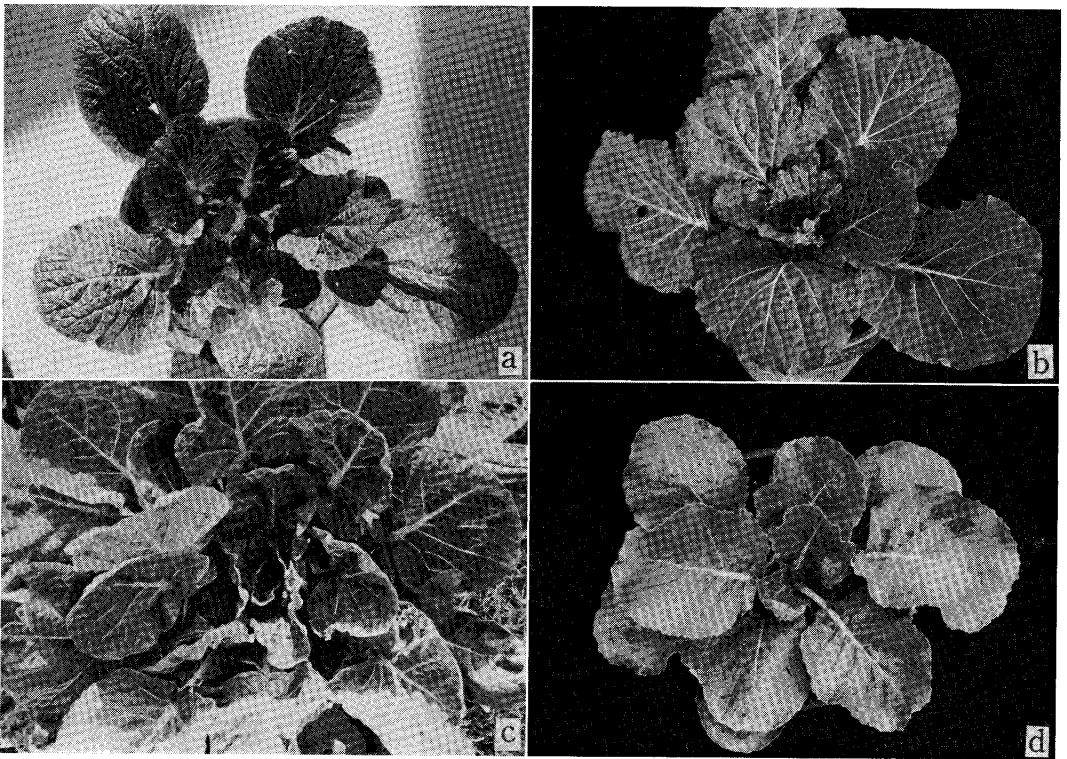
### 5.3 得られた雑種の後代

*B. campestris* と *B. oleracea* から得られた3種類の雑種について細胞学的研究がなされた<sup>33)</sup>。第1の型は2倍体 *B. campestris* ( $2n=20$ ) × *B. oleracea* ( $2n=18$ ) の  $F_1$  個

第3表 *Brassica campestris* × *B. oleracea* の子房培養より得られた種間雑種

研究者	調査蒴果数 (A)	得られた雑 種数 (B)	(B/A) × 100	文献
Inomata (1977)	132	9	6.82	24
Inomata (1978a)	116	15	12.93	25
Inomata (1978b)	692	44	6.36	26
Matsuzawa (1978)	400	155	38.75	48
Inomata (1979)	132	120	90.01	28
Takeshita <i>et al.</i> (1980)	154	30	19.48	49
Inomata (1983a)	190	80	42.11	27
Inomata (1985a)	568	381	68.08	30
Inomata (1985b) <sup>a</sup>	89	135	151.69	32

<sup>a</sup> *B. oleracea* を花粉親とする代わりに *B. oleracea* の野生近縁種 *B. cretica* ssp. *cretica* を用いて作出した雑種



第2図 子房培養で得られたブラシカ属の雑種個体

a: 2倍体 (*B. campestris* ssp. *chinensis*) と同質4倍体 (*B. campestris* ssp. *pekinensis*) から得た3倍体個体。  
 b: ハクサイ (*B. campestris* ssp. *pekinensis*) × 結球キャベツ (*B. oleracea* var. *capitata*) の F<sub>1</sub> 雑種。c: ハクサイ × 芽キャベツ (*B. oleracea* var. *gemmifera*) の F<sub>1</sub> 雑種。d: ハクサイ × *B. cretica* ssp. *cretica* の F<sub>1</sub> 雑種。

体、第2の型は胚の発達途中で自然倍化が起こり複2倍体化した個体、第3型は2倍体 *B. campestris* × 同質4倍体 *B. oleracea* の F<sub>1</sub> 個体である。第1の型の植物 (2n=19) の花粉稔性は0%から26.8%の範囲で平均2.6%であった。減数分裂第Iの染色体対合をみると9<sub>II</sub>+1<sub>I</sub>が44.7%を占め、ゲノム間の染色体の相同性が高く、3

価、4価と5価染色体の頻度はそれぞれ38.6%、10.3%と1.3%であった。第2の型の自然倍化して複2倍体化した個体 (2n=38) は2個体調査をした。花粉稔性は平均91.7%で、減数分裂第Iの染色体対合は19<sub>II</sub>が83.3%と高かった。第3の型の植物 (2n=28) の花粉稔性は0%から38.0%の範囲で平均14.9%であった。減数分裂第

Iの染色体対合は  $9_{II}+10_I$ ,  $10_{II}+8_I$  がそれぞれ40.9%と16.2%と染色体対合が良かった。

上述の3つの型の染色体数の異なる植物群について交配実験を試みた。いずれの植物についても自家受粉、放任受粉、両親への房交雑と *B. napus* の交配を行った。自家受粉と *B. oleracea* への房交雑ではほとんど種子が得られなかったが、放任受粉、*B. campestris* への戻し交雑と *B. napus* の交配では多数の種子が得られた。これらの種子を発芽させて根端で染色体数を調べた<sup>34)</sup>。第1型の植物では非還元分裂をした正常な卵細胞 ( $n=19$ ) が形成され、*B. campestris* と *B. napus* を交配した後代は、それぞれ  $2n=29$  と  $2n=38$  を持つ植物体が多数出現した。また、正常な花粉の染色体数は10であった。第2型の自然複2倍体化した植物では正常な卵細胞は染色体数19で、正常な花粉は染色体数が10と19の2種類形成され、自家受粉で得られた植物体の染色体数は29と38に分かれた。第3型の植物では正常な卵細胞の染色体数は10, 19, 28の3種類で、正常な花粉の染色体数は10であった。

*B. napus* 型の染色体数を持つ植物体 ( $2n=38$ ) が得られたが、細胞学的な研究からみると、第1型から得られたものが、第2型やコルヒチン処理して得た人為複2倍体化したものよりも安定していた<sup>35)</sup>。

## 6. おわりに

*Brassica campestris* のきょうだい交配直後の子房の培養条件を種子形成の立場から検討した結果、種子形成の程度は培地の無機塩の濃度と組織にそれほど厳密なものではなかった。また、培地に添加する植物生長調整物質は単独でも、また混合による組み合わせでも効果はみられず、培地に添加した天然抽出物(カゼイン加水分解物、イースト抽出物、ココナットミルク)に効果がみられた。培養条件としての光や温度についても一定の幅を持って適値が存在していた。また、植え込む時期についても受粉直後の未受精の子房からも発芽種子が得られた。このように子房培養では細胞培養、胚培養等におけるような厳密な条件を要求しないのは、子房が高い適応性を持つためと考えられる。

*B. campestris* と *B. oleracea* の種間雑種を人為交配で作出するのは困難であるが、子房培養を行うと容易に雑種を得ることができるようになった。また、両種には多数の栽培品種があるが、それらの間においても雑種が作出できた。雑種作出の培地は Nitsch と Nitsch の無機塩<sup>29)</sup> にカゼイン加水分解物 (300mg/l)、ショ糖 (50g/l) と寒天 (9g/l) を加えたものが適していた。

得られた雑種の後代を調べてみると、花粉稔性はほとんどないが、非還元分裂をした正常な卵が形成されるこ

とが分かり、雑種を母方に用いて *B. napus* を交配すると、細胞学的に安定した *B. napus* 型の植物を得た。このことは現在栽培されている多数の *B. campestris* と *B. oleracea* は *B. napus* の品種改良の遺伝子源として使用できることになる。また、*B. oleracea* の近縁野生種 *B. cretica* との雑種も可能であり、細胞学的な研究からみると、野生種から栽培品種への遺伝子導入の可能性が示唆される。

## 文 献

- 1) La Rue, C.D., 1942. Bull. Torrey Bot. Club, **69**: 332-341.
- 2) Nitsch, J.P., 1951. Am. J. Bot., **38**: 566-577.
- 3) Maheshwari, N., 1958. Science, **127**: 342.
- 4) Maheshwari, N., M. Lal, 1961a. Phytomorphology, **11**: 307-314.
- 5) Sachar, R.C., M. Kapoor, 1959. Phytomorphology, **9**: 147-156.
- 6) Maheshwari, N., M. Lal, 1961b. Phytomorphology, **11**: 17-23.
- 7) Johri, B.M., C.B. Sehgal, 1963. In "Plant Tissue and Organ Culture-Symposium," p. 245-256, Intern. Soc. Plant Morphologists, Delhi.
- 8) Guha, S., B.M. Johri, 1966. Phytomorphology, **16**: 353-364.
- 9) Dulieu, H.L., 1966. Phytomorphology, **16**: 69-75.
- 10) Nakajima, T., Y. Doyama, H. Matsumoto, 1969. Jpn. J. Breed., **19**: 373-378.
- 11) Inomata, N., 1976. Jpn. J. Breed., **26**: 229-236.
- 12) Heller, R., 1953. Ann. Sci. Nat. Bot. Biol. Veg., **14**: 1-223.
- 13) Murashige, T., F. Skoog, 1962. Physiol. Plant., **15**: 473-497.
- 14) White, P. R., 1963. In "The Cultivation of Animal and Plant Cells," p. 59, Ronald Press, New York.
- 15) Inomata, N., 1968. Jpn. J. Breed., **18**: 139-148.
- 16) Morel, G., 1948. Ann. Epiphyt. N.S., **14**: 123-234.
- 17) Inomata, N., 1977a. Jpn. J. Breed., **27**: 116-122.
- 18) Inomata, N., 1977b. Bull. Univ. Osaka Pref., Ser. B, **29**: 1-6.
- 19) Nishiyama, I., N. Inomata, 1966. Jpn. J. Genet., **41**: 27-42.
- 20) Inomata, N., 1975. Jpn. J. Genet., **50**: 1-18.
- 21) Morinaga, T., 1929. Cytologia, **1**: 16-27.
- 22) U.N., 1935. Jpn. J. Bot., **7**: 389-452.
- 23) Håkansson, A., 1956. Hereditas, **42**: 373-395.
- 24) Inomata, N., 1977c. Jpn. J. Breed., **27**: 295-304.

- 25) Inomata, N., 1978a. *Jpn. J. Genet.*, **53** : 1-11.
- 26) Inomata, N., 1978b. *Jpn. J. Genet.*, **53** : 161-173.
- 27) Inomata, N., 1983a. *Cruciferae Newslett.*, **8** : 18-19.
- 28) Inomata, N., 1979. *Jpn. J. Breed.*, **29** : 115-120.
- 29) Nitsch, J.P., C. Nitsch, 1969. *Science*, **163** : 85-87.
- 30) Inomata, N., 1985a. In "The Experimental Manipulation of Ovule Tissues," p. 164-176, Longman, New York, London.
- 31) Snogerup, S., 1980. In "*Brassica* Crops and Wild Allies," p. 121-132, Japan Scientific Societies Press, Tokyo.
- 32) Inomata, N., 1985b. *Cruciferae Newslett.*, **10** : 92-93.
- 33) Inomata, N., 1980. *Jpn. J. Genet.*, **55** : 189-202.
- 34) Inomata, N., 1983b. *Jpn. J. Genet.*, **58** : 433-449.
- 35) Inomata, N., 1985c. *Jpn. J. Genet.*, **60** : 359-371.
- 36) 水島宇三郎, 1946. *育種と農芸*, **1** : 31-32, 67-68.
- 37) Feng, W., 1955. *Acta Bot. Sinica*, **4** : 63-70.
- 38) Hoffmann, W., R. Peters, 1958. *Züchter*, **28** : 40-51.
- 39) Olsson, G., 1960. *Hereditas*, **46** : 351-386.
- 40) 細田友雄, 1961. *東京教育大学農学部紀要*, **7** : 1-94.
- 41) 西 貞夫, 川田譲一, 戸田幹彦, 1962. *育雜*, **13** : 99-107.
- 42) 細田友雄, 生井兵治, 後藤純一, 1963. *育雜*, **13** : 99-107.
- 43) 皿嶋正雄, 1964. *育雜*, **14** : 226-237.
- 44) 生井兵治, 細田友雄, 1965. *育雜*, **15** : 213.
- 45) 皿嶋正雄, 1966. *育雜*, **16**, 別冊(1) ; 157-158.
- 46) 西 貞夫, 戸田幹彦, 豊田 努, 1970. *園試報 A*, **9** : 75-100.
- 47) Hosoda, T., M. Sarashima, H. Namai, 1969. *Memo. Fac. Agric. Tokyo Univ. Educ.*, **15** : 193-209.
- 48) 松沢康男, 1978. *育雜*, **28** : 186-196.
- 49) Takeshita, M., M. Kato, S. Tokumasu, 1980. *Jpn. J. Genet.*, **55** : 373-378.