

# コルヒチン處理に依り育成した二, 三針葉樹の倍數體

囑 託 陣 内 巖

IWAO ZINNAI: Colchicine-induced polyploidy in some coniferous trees.

## 目 次

緒 言	17
材料及び方法	17
観 察 結 果	18
考 察	20
摘 要	22
文 献	22

## コルヒチン處理に依り育成した二、三針葉樹の倍數體

### 緒 言

コルヒチン處理に依る倍數體育成が BLAKESLEE & AVERY (1937) によつて發表されて以來、細胞遺傳學の基礎學及び應用學上に於ける進歩は目覺しく、特に農業及び園藝方面に於て擧げた功績は偉大である。然るに生産目標及び其手段を異にする林木に關して研究報告が少いのは林木が開花結實に長期間を要し、從つて次代及び其以後の子孫の研究に多くの年月を費すことが主な原因であらう。從來、コルヒチン處理に依る針葉樹倍數體の育成は MIROV & STOCKWELL (1939) が *Pinus ponderosa* の混數體に就て發表したものが初めて其後の研究報告も少いが、當研究室に於ては數年前よりその研究に着手してゐる筆者は其實驗研究結果を茲に報告する次第である。

### 材 料 及 び 方 法

スギ	秋田縣上小阿仁營林署管内	昭和 18 年産
カラマツ	長野縣妻籠出張所管内	昭和 18 年産
大道アカマツ	高知縣川崎營林署管内	昭和 17 年産
日向アカマツ	宮崎縣延岡營林署管内	昭和 17 年産
クロマツ	秋田縣本庄營林署管内	昭和 17 年産

以上5種類の種子を對照區、處理區共に 200 粒をとり、昭和 19 年 4 月 11 日に浸水し、24 時間後に處理區は 0.3% コルヒチン水溶液に浸漬し、對照區は更に浸水を續け、24 時間後に處理區は同濃度コルヒチン滲潤濾紙、對照區は水道水滲潤濾紙上に夫々播種し恒溫器内に置いた。爾後、適宜對照區には水、處理區には 0.3% コルヒチン水溶液を添加し、處理區は發芽後更に 0.3% コルヒチン滲潤濾紙片で主として上長生長點附近を被覆し、肥厚適當と認めた時期に溫室内の鉢に移植した。

染色體數倍加確認の爲、昭和 19 年に根端を、更に昭和 20 年に地上部の幼芽を MAVASCHIN 氏液で固定し、何れも 10 $\mu$  の厚さに連續切片を作り、ゲンチアンバイオレットに依り染色、檢鏡した。又氣孔の觀察にはスンプ法を用ひた。

# 観 察 結 果

處理區は對照區と同時に發芽を開始した種類もあるが稍々遅れるのが普通で、發芽率も亦スギを除き幾分低い傾向がある(第1表)。種子の發芽狀態は根端のみ瘤狀を呈したもの或はスギ及びカラマツの1部に全面的に稍々肥厚したものを認めた以外は對照區と殆んど變りなく正常の伸長を續け、コルヒチン滲潤濾紙片の被覆に依つて始めて十分に肥厚した。

第1表 播種後發芽開始までの日數及び發芽率

	發芽開始日數		發芽率(%)	
	對照區	處理區	對照區	處理區
スギ	5	7	45	47
カラマツ	4	6	68	56
大道アカマツ	5	5	65	55
日向アカマツ	5	6	68	50
クロマツ	6	6	73	62

及びカラマツの1部に外圍條件不良の爲枯死したものがあつた。尙、昭和19年夏にマツノミドリハバチの害でアカマツ及びクロマツに相當の被害を受けたが枯死するには到らなかった。

根端の觀察に依ると染色體數 $2n$ の組織中に散在的に倍加染色體數の細胞を有するものと、倍加染色體のみから成ると思はれるものとが僅かにあり(第2表)、他は全然倍加染色體を有する細胞は觀察し得なかつた。然るに翌年地上部幼芽の觀察に於ては、前年根端で倍加染色體を有したものが幼芽では染色體數 $2n$ になつてゐるもの或は又根端で $2n$ であつたものが幼芽では倍加染色體のみから成ると思はれるものがあつた。倍数體の決定は地上部幼芽の觀察により行つたものであり、昭和20年8月31日現在に於ける結果は第3表の通りである。但しマツ屬では數本の倍数體に就てのみ染色體數の倍加を確認し、他は肉眼的識別に依つた。特に春期倍数體の針葉は2倍體より伸長速度が遅いので容易に

第2表 根端に於て倍加染色體を觀察した個體數

	觀察數	實數	百分率(%)
スギ	9	3	33.3
カラマツ	10	2	20.0
大道アカマツ	35	2	5.7
日向アカマツ	21	3	14.3
クロマツ	40	18	45.0

第3表 幼芽に於て観察した倍数體<sup>(1)</sup>

	生存 個體 (本)	混 數 體		倍 數 體	
		實 數 (本)	百分率 (%)	實 數 (本)	百分率 (%)
ス       ギ	17	—	—	(4)	(23.5)
カ   ラ   マ   ツ	25	—	—	(3)	(12.0)
大道アカマツ	46	5	10.9	6	13.0
日向アカマツ	24	3	12.5	7	29.2
ク   ロ   マ   ツ	49	22	44.9	2	4.1

識別し得た。

得られた混數體には種々の型があるが、クロマツに於てのみ次の様な6種類の型が見られた(第8—9圖)。即ち

1. 1年生は混數, 2年生は $2n$
2. 2年生から枝分れをなし,  
一方は $2n$ , 他方は倍數

3. 1年生は混數, 2年生は倍數

4. 1年生, 2年生共に混數

5. 1年生, 2年生共に混數であるが, 2年生の途中から倍數に移行

第4表 氣孔の大きさ及び出現數

	染 色 體 數	測 定 數	氣 孔 の 大 き さ				出 現 數	
			長 徑 ( $\mu$ )		短 徑 ( $\mu$ )		測 定 面 積 又 是 長 又 是 ( $\text{mm}^2$ )	1mm又は 1mm <sup>2</sup> 當
			平均 値	割 合	平均 値	割 合		
ス       ギ <sup>(2)</sup>	$2n$	50	27.00	100	16.20	100	0.3	66.7
	倍 數	"	39.30	146	20.10	124	"	59.4
カ   ラ   マ   ツ	$2n$	"	28.14	100	12.19	100	1.8	13.3
	倍 數	"	40.44	144	16.59	136	"	9.4
大道アカマツ	$2n$	"	25.59	100	15.96	100	"	11.7
	倍 數	"	32.95	129	23.66	148	"	8.9
日向アカマツ	$2n$	"	22.52	100	17.56	100	"	10.6
	倍 數	"	29.81	132	21.49	122	"	8.9
同   混 數 <sup>(3)</sup>	$2n$	"	22.91	102	15.68	89	"	11.7
	倍 數	"	32.21	143	22.57	129	"	9.4
ク   ロ   マ   ツ	$2n$	"	23.88	100	19.61	100	"	8.9
	倍 數	"	34.26	144	24.62	126	"	6.7
同   混 數 <sup>(4)</sup>	$2n$	"	22.57	95	20.01	102	"	8.3
	倍 數	"	26.28	110	23.03	117	"	7.8

(1) スギ及びカラマツは生存個體全部の檢鏡未了。(2) スギは散在するが他は線狀配列をなす。

(3) 第6圖中央の個體。(4) 第8圖中央の分枝せる個體。

6. 1 年生は  $2n$ , 2 年生は倍數であるが, 1 年生の本葉は 2 年生と同時に 2 年目に展開した。

倍數體の氣孔の大きさ及び出現數は明らかに倍數體の特長を示して居るが(第 4 表), 往々 2 倍體と同大の氣孔が散在的に出現し, 大きさの變異が對照區より大であり, 且氣孔の相互排列及び方向も一般に不規則であつた。

## 考 察

種子浸漬法に依るコルヒチン効果は農作物を初めとし, 林木に於てはキリ等で認められて來たが, 筆者の實驗材料ではスギ及びカラマツの 1 部に肥厚せるものを認めただけで, 全般的に其効果は不確實であつた。

豫備實驗に於けるコルヒチン效果に就て見ても, スギの處理區が稍々發芽が遅れたのみで, 處理時間に依る差異は認められず(第 5 表), 又發芽後の肥厚狀態も對照區と殆んど變りなく

第 5 表 0.4% コルヒチン處理に依る發芽  
開始までの日數及び發芽率

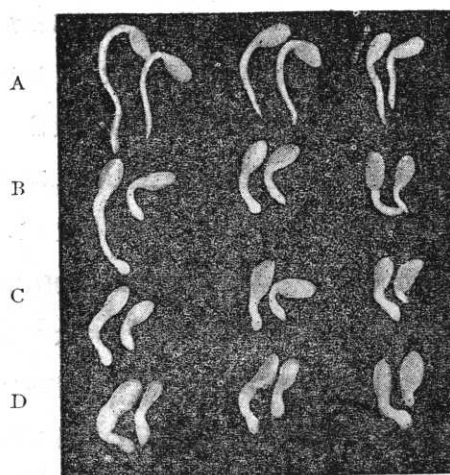
	處理時間		發芽開始 日 數	發 芽 率 (%)
ス ギ	48	對 照	13	14
		處 理	15	18
	96	對 照	13	19
		處 理	15	15
ア カ マ ツ	48	對 照	6	61
		處 理	6	50
	96	對 照	7	69
		處 理	7	71

正常の伸長を續け, 1 部に根端が瘤狀を呈するのを認めた程度で, これ亦, 處理時間に依る差異が現はれないのみならず, 更に發芽後にコルヒチン滲潤濾紙上で發芽せしめても尙十分な肥厚を示すものが少く, 發芽直後の被覆に依つてのみ始めて肥厚を完全ならしめ得たことは, 浸漬に於けるコルヒチンの種子滲透が不十分であることを意味する

るのである。依つて筆者は供試材料が少くとも處理時間 96 時間及びコルヒチン濃度 0.4% 以内の組合せに依る種子浸漬法ではコルヒチン効果が不十分であり, 其原因が寧ろ處理時間及び濃度以外にあると考へたので處理時間及び濃度の組合せを 1 組のみに止め, コルヒチン効果を被覆法に期待したわけである(第 1 圖)。被覆の効果は發芽種子の全面にコルヒチンを滲潤させる點にあり, 根端は移植後の發根を阻害しない程度に被覆せねばならぬ(第 2 圖)。

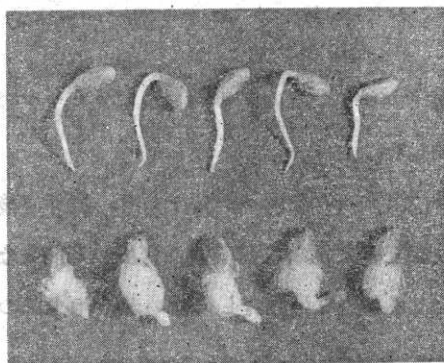
豫備實驗に於ける處理時間及び濃度が農作物或はキリ種子の浸漬には中庸以上と思はれるにも拘らず, 針葉樹種子に對してはコルヒチン効果が十分でない原因は主として種子含有物

第 1 圖 アカマツに於ける處理時間別の 0.4% コルヒチン効果



- A: 對照區  
 B: 浸漬後水道水滲潤濾紙上で發芽  
 C: // 同濃度コルヒチン滲潤濾紙上で發芽  
 D: Cを發芽直後同濃度コルヒチン滲潤濾紙片で被覆

第 2 圖 コルヒチン滲潤綿に依る被覆



例へば樹脂等に依りコルヒチン溶液の滲透が困難なこと或は發芽に際して農作物及びキリ等に比し細胞分裂速度が遅い點等があると推定される。例へばスギ及びカラマツでは浸漬に依つて全面的に稍々肥厚したものもあつたが、マツ屬ではそれが認められなかつたことは樹脂の多少に依る結果と思はれる。又發芽後マツ屬は勿論、スギ及びカラマツの肥厚したものでも被覆が不完全であると正常の形態に戻るのは細胞分裂が速に行はれないため、全面的に分裂組織にコルヒチンの効果が到らないためと考へられる。

其故完全な倍数體育成のためには相當長期間被覆を行ふ必要があるが、その間に或は藥害に依つて枯死し、或は  $4n$  になつた細胞が更に  $8n$  に倍加して混數體になることがある

ので MIROV & STOCKWELL (1939), 筆者が育成した倍數體を地下部は勿論地上部に於ても亦完全な 4 倍體として確言し得ない理由があると同時に, 地下部と地上部に關して屢々觀察結果に相異があるので, 倍數體の決定を根端のみの觀察に依ることは非常に危險であると考へる。然し一方, 本實驗に於ける地上部染色體の觀察の結果倍數體と決定せる個體は何れも  $4n$  の分裂像のみ觀察され,  $2n$  或は  $8n$  等の分裂像を觀察し得なかつた事は個體生長の或段階に於て各種染色體數を有する細胞群の競争分裂によつて 4 倍體として落着いたのではないかと考へられる。例へばクロマツに於ける各種混數體の形態的移行型が裏書してゐる様に思はれる。然し又一方, 氣孔の大きさの變異が倍數體では一般に大で, 且對照區と同大の氣孔が散在してゐること或は倍數體の針葉が波狀的長縮を示すのは藥害に依ることもあらうが, 各種染色體數を有する細胞又は組織の混淆に依る生長速度の相異に原因するとも考へられること等は完全 4 倍體として決定することを躊躇させるが, 更に今後の生理, 生態的觀察と共に花粉母細胞の成熟分裂の觀察結果に俟たねばならぬ。

最後に, 育成せる倍數體の生長はカラマツ及びクロマツ以外は對照區と殆んど同一であるが, 今後の變化を觀察せねば確言し得ない。

### 摘 要

1. スギ, カラマツ, 大道アカマツ, 日向アカマツ及びクロマツの種子を 0.3% コルヒチン處理に依り倍數體を育成した。
2. 供試材料は何れも種子浸漬法のみでは不十分であり, 發芽直後コルヒチン滲潤濾紙片の被覆に依つて始めて十分な肥厚を示し, 倍數體の育成が可能となる。
3. 育成した倍數體は完全な 4 倍體とは確言し得ないが, 地上部のみに關しては 4 倍體として染色體數を確認した。
4. 形態的にカラマツ以外は倍數體の特長を示して居り, 又生長狀態はカラマツ及クロマツのみ生長緩慢で他は對照區と同様に正常な發育をなしてゐる。

終りに臨み, 本實驗中御教示を賜つた中村賢太郎, 野口彌吉の兩教授並に岩川盈夫, 金澤林助の兩氏に深く感謝の意を表する次第である。

### 文 献

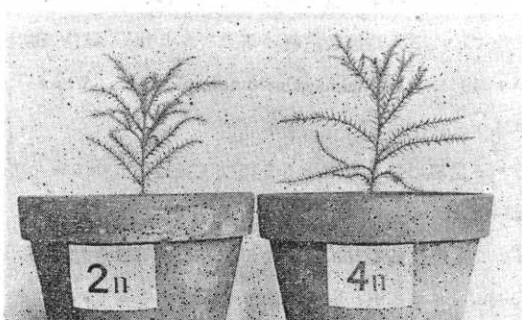
- BLAKESLEE, A. F., & A. G. AVERY 1937. Methods of inducing doubling of chromosomes in plants.  
Journ. Heredity 28: 393-412.



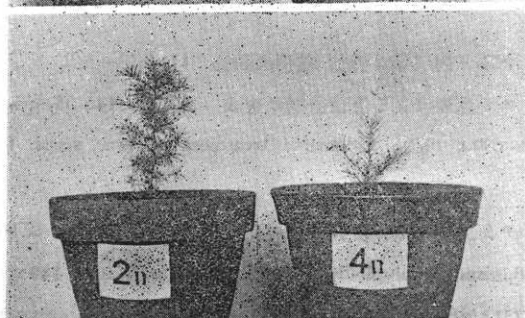
- 古里 和夫 1940. コルヒチンにて創生されたる倍數植物 植物及動物 8: 1303—1311.
- GYÖRFFY, B. 1940. Die Colchicinmethode zur Erzeugung polyploider Pflanzen. Der Züchter 12: 139—149.
- 長谷川孝三 1930. 浸水と林木種子の發芽に就て 農學研究 14: 339—353.
- 平 吉 功 1942. 森林植物に於ける人爲倍數植物の研究 (第1報) 植物及動物 10: 766—768.
- JENSEN, H., and A. LEVAN 1941. Colchicine-induced tetraploidy in *Sequoia gigantea*. Hereditas 27: 220—224.
- 金澤 林助 1942. コルヒチン處理に依り育成せる合黒松 (茂道松) のミクソプロイド 植物及動物 10: 829—831.
- 1943. コルヒチン處理に依る林木育種の研究 日本林學會誌 25: 126—131, 170—174.
- , 大村 章 1942. コルヒチン處理に依つて作成せるキリの4倍體 植物及動物 10: 1122—1125.
- , ———— 1943. 同 (第2報) 植物及動物 11: 829—832.
- 倉田益二郎 1942. コルヒチン處理による倍數體桐の育成 新農藥 14: 53—55.
- MIROV, N. T., & P. STOCKWELL 1939. Colchicine treatment of pine seeds. Journ. Heredity 30: 389—390.
- 宮林 達夫 1941. コルヒチン處理に依る倍數植物の研究 植物及動物 9: 251—262.
- NEBEL, B. R. 1937. Mechanism of polyploidy through colchicine. Nature 140: 1101.
- , & M. L. RUTTLE 1938. The cytological and genetical significance of colchicine. Journ. Heredity 26: 3—9.
- 西山市三, 古里和夫, 望月 明, 安本 徹 1939. 人爲的倍數植物の研究 (第2報) 植物及動物 7: 1241—1246.
- SAX, H. J. 1938. The relation between stomata counts and chromosome number. Journ. Arn. Arb. 19: 437—441.
- SAX, K. & H. J. SAX 1937. Stomata size and distribution in diploid and polyploid plants. Journ. Arn. Arb. 18: 164—172.
- SIMAMURA, T. 1939. Cytological studies of polyploidy induced by colchicine. Cytologia 9: 486—494.
- 竹 中 要 1943. 倍數性と器官の大きさに氣孔の大きさに就て (綜合抄録) 遺傳學雜誌 19: 21—45.
- 戸田 真吉 1942. コルヒチン處理に依つて得たハゼノキの倍數體 植物及動物 10: 485—487.
- 豐 福 徹 1939. コルヒチン處理による染色體倍加に就て (綜合抄録) 植物及動物 7: 621—631.

第 3-6 圖

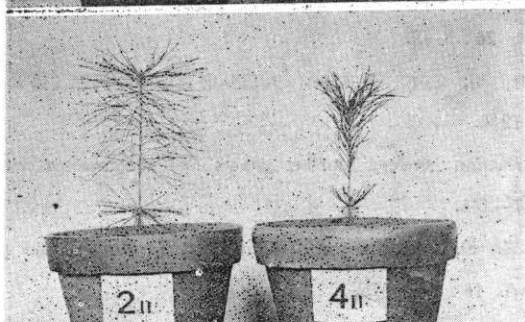
3.



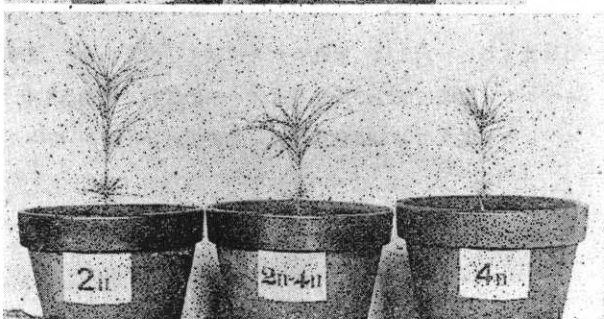
4.



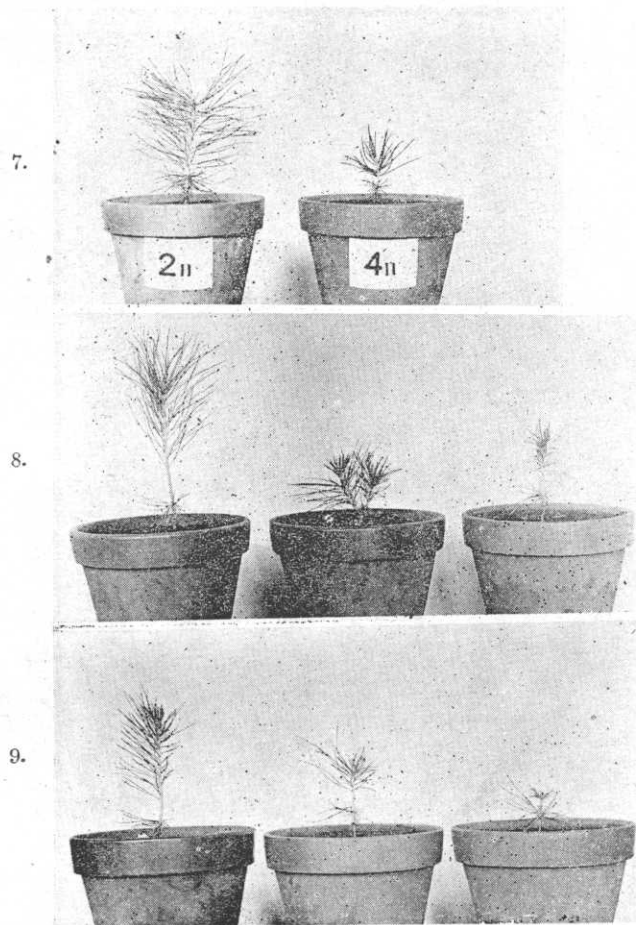
5.



6.



第 7-9 圖



〔説明〕

3. スギ 4. カラマツ 5. 大道アカマツ 6. 日向アカマツ  
 7. クロマツ 8. 9. クロマツの混数體 (本文説明参照)