

## イネの2倍体，3倍体間の交雑に関する研究，特に交雑種子の発達について

永松，土巳  
九州大学農学部育種学教室

大村，武  
九州大学農学部育種学教室

古賀，義昭  
九州大学農学部育種学教室

<https://doi.org/10.15017/22913>

---

出版情報：九州大學農學部學藝雜誌. 21 (1), pp.25-34, 1964-01. 九州大學農學部  
バージョン：  
権利関係：



# イネの2倍体，4倍体間の交雑に関する研究，特に交雑種子の発達について<sup>1,2)</sup>

永松 土巳・大村 武・古賀 義昭

Studies on the crossing experiments between diploid and auto-tetraploid rice plants, *Oryza sativa* L., with special reference to the development of hybrid seeds

Tsutsumi Nagamatsu, Takeshi Omura and Yoshiaki Koga.

## 緒 言

著者らは多年にわたり，イネの連鎖分析を研究してきたが，常法によつては所期の成果を納めることができなかつた。そこで新しい進展をはかるために，3染色体植物の利用を企図してきた。イネの連鎖分析には理論的に可能な12種類の一次3染色体植物の作出が望ましい。3染色体植物の作出には3倍体植物を利用する方法が考えられる。3倍体植物は通常4倍体植物および2倍体植物間の交雑によつて得られるが，両者間の交雑成功率は必ずしも高くない。なかでもイネはこの交雑成功率が極めて低いものとされ，岸川，大倉らはいずれも不成功におわり，盛永らは交配技術の改善によつて最高1%の3倍体を作成したと報じている。

著者らも1959～'61年の3年間に約9000花の交配を行なつたが，わずかに2個体(0.022%)の3倍体を得たにすぎなかつた。このようなイネの3倍体雑種作出の困難性の原因を究明するために，交雑種子の発達経過について組織学的，顕微化学的観察をおこない，若干の知見を得たのでここにその概要を報告し，さらに3倍体イネ作出方法の改善について検討を加えた。

## 材料および方法

交配母木には九州大学農学部育種学教室で継続保存中の10数品種の2倍体と，偶発およびコルヒチン処理で育成された同質4倍体系統を用い，1959～'61年の3カ年にわたつて，常法の温湯除雄法による交配を行ない，着粒率，種子重，発芽性の調査のほか，染色体数の決定を行なつた。

なお組織学的観察には，巴まさりの2倍体および4倍体間で1961年7月下旬より8月上旬にかけて相反交雑した材料を用いた。この場合には授粉後3, 5, 7および9日目の顕花を採取して，ナワシン液で固定し，パラフィン法によつて厚さ10μの切片を作成し，Lillie氏法によつて染色し，形態的観察とともに多細胞の動向をも併せて調査した。なお対照として温湯除雄して人工授粉した2倍体および4倍体の自殖顕花を用いた。

## 実験結果

I. 交雑成績；3年間の交雑結果を集計して第1表に示した。この表から明らかなように，完全種子の着生は極めて少なく，交雑方向のいかに拘らず1%以

Table 1. Results of crossing during three years 1959, '60 and '61.

Cross combination	No. of flowers pollinated	Perfect seeds		Imperfect seeds*		Triploids obtained
		No.	%	No.	%	
2X×4X	6500	53	0.82	469	21.84	0
4X×2X	2422	24	0.99	478	36.18	2

\*Sum of two years during 1960 and '61 is shown, because the number of imperfect grains was not counted in 1959.

1) 育種学教室業績。 2) 日本育種学会第19および21回講演会で発表。

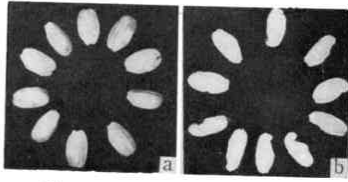


Fig. 1. a: Perfect grains,  
b: Imperfect grains.

下で、4倍体を母方にした場合がやや高い。それに対し、果皮と種皮は外形ができてはいるが、胚乳がほとんど含まれず、胚部だけが僅かに膨らんだ程度の不完全種

子(第1図)はかなり多く22~36%着生した。この場合も4倍体を母方にした場合が高い。着粒率の良否を検討するために、相反交雑を行なった組合せのみを抽出して第2表に示した。この表から、完全種子、不完全種子とも組合せによつて着粒率にかなりの変動がみられるが、総計においては第1表の結果と大差なく、完全種子の着粒率は著しく低く、1%前後にすぎず4倍体を母方にした場合が僅かに高い。不完全種子の着粒率はかなり高く *O. sativa spontanea* を除けば、とくに4倍体を母方にした場合が高い。

Table 2. Comparison of seed set between reciprocal crosses.

Cross combination	Year	No. of flowers pollinated	Perfect seeds		Imperfect seeds		
			No.	%	No.	%	
2X × 4X	Hayashinriki 2X × (Henpeito × Koto) 4X	1960	365	4	1.1	13	3.6
	Shinriki 2X × Shima-ine 4X	"	150	0	0.0	39	25.7
	<i>O. sativa spontanea</i> 2X × 4X	"	102	0	0.0	46	45.1
	"	1961	287	3	1.1	125	43.2
	Isshaku-ine 2X × 4X	"	205	1	0.5	20	9.8
	Omachi-senshutsu 2X × 4X	"	99	3	3.0	23	23.2
	Shima-ine 2X × 4X	"	198	1	0.5	91	46.1
Total		1406	12	0.9	357	25.4	
4X × 2X	(Henpeito × Koto) 4X × Haya-shinriki 2X	1960	158	4	2.5	33	20.9
	Shima-ine 4X × Shinriki 2X	"	111	0	0.0	77	69.4
	<i>O. sativa spontanea</i> 4X × 2X	"	121	5	4.3	14	11.6
	"	1961	139	3	2.2	18	13.0
	Isshaku-ine 4X × 2X	"	140	0	0.0	57	40.7
	Omachi-senshutsu 4X × 2X	"	127	0	0.0	67	52.8
	Shima-ine 4X × 2X	"	290	0	0.0	159	54.1
Total		1086	12	1.1	425	39.1	

完全種子の発芽は良好で77粒のうち65個体が生育したが、真性の3倍体は2個体にすぎず、他はすべて母型の2倍体または4倍体であった。不完全種子は第3、4表に示すように粒重は非常に軽く、2倍体自殖種

子の1/10~1/20程度にすぎず、発芽率も極めて悪かつた。なお、粒重、発芽率についても4倍体を母方にした場合が、逆交雑の場合より著しく優れていた。もつとも、これらの不完全種子から発芽した個体は鞘葉が伸

Table 3. Weight of imperfect hybrid seeds and normal selfed seeds. (1960)

Materials	Mean weight (mg)	No. of seeds weighed
2X × 4X imperfect hybrid seed	1.06	175
4X × 2X "	2.05	177
2X (Shima-ine)	20.99	20
4X ( " )	31.95	20

Table 4. Result of germination test of imperfect hybrid seeds (1960).

Cross combination	Seeds sown	Germination	
		No.	%
2X × 4X	175	4	2.3
4X × 2X	177	29	16.4

長ただけで、本葉を展開することなくまもなく枯死してしまつた。ただ、4倍体×2倍体の1個体のみが第4葉まで展開したが、その後枯死した。

本実験では交雑種子の完全粒から母型の出現率が予想外に高かつたこと、ならびに4倍体の自殖種子にも不完全な交雑種子に類似した着粒がみられたので、別に除雄後授粉せずに放置した場合の着粒状態を調査し

た。その結果は第5表に示す如く、交雑の場合とは逆に、完全粒の着粒率が不完全粒のそれより高く、さらに2倍体と4倍体で若干傾向が異なっている。即ち2倍体では不完全種子の着生は全たくみられず、完全粒が0.9%の低率に着生した。4倍体の場合には不完全粒が1%強着生したのに対して、完全粒は3.4%と交雑の場合かなり高い。これらのことは除雄操作が完

全でなく、とくに4倍体の場合は除雄温度に対する抵抗性が2倍体よりも高いことを示唆しているようである。この結果から、先きの述べた交雑種子の完全粒の多くは除雄操作の不備に基づく自殖種子に由来するものとも推察されるが、一方不完全種子の高い着生率は、これら不完全種子の多くが、雑種種子の不完全な発達に由来するものと考えられる。

Table 5. Seed set on the flowers without pollination after emasculation (1960 and '61).

Materials	No. of flowers emasculated	Perfect seeds		Imperfect seeds	
		No.	%	No.	%
2X varieties	325	3	0.9	0	0.0
4X varieties	471	16	3.4	5	1.1

II. 胚の発達：(1)生長；生長を胚長および胚厚の測定値で表わし、第6表に示した。授粉後3日目には、胚長では4倍体×2倍体が逆交雑および自殖胚をかな

り上回っているが、他は大差なく、胚厚では4倍体母本胚がわずかに大きい。

Table 6. Growth of embryos.

Days after pollination	Cross combination	Length (mm)	Thickness (mm)	No. of embryos observed
3	2X × 2X	0.07 ± 0.019	0.04 ± 0.011	10
	2X × 4X	0.07 ± 0.025	0.04 ± 0.016	4
	4X × 2X	0.14 ± 0.044	0.06 ± 0.015	22
	4X × 4X	0.07 ± 0.013	0.05 ± 0.007	2
5	2X × 2X	0.50 ± 0.158	0.22 ± 0.065	9
	2X × 4X	0.10 ± 0.038	0.06 ± 0.017	2
	4X × 2X	0.55 ± 0.277	0.25 ± 0.101	25
	4X × 4X	0.31 ± 0.283	0.16 ± 0.131	3
7	2X × 2X	1.18 ± 0.078	0.52 ± 0.055	6
	2X × 4X	0.24 ± 0.143	0.12 ± 0.073	11
	4X × 2X	1.58 ± 0.572	0.68 ± 0.302	18
	4X × 4X	—	—	—
9	2X × 2X	1.39 ± 0.086	0.61 ± 0.044	9
	2X × 4X	0.40 ± 0.191	0.23 ± 0.092	13
	4X × 2X	1.89 ± 0.666	1.07 ± 0.365	19
	4X × 4X	1.52 ± 0.180	0.70 ± 0.013	2
Matured embryo	2X × 4X	0.41 ± 0.020	0.29 ± 0.010	8
	4X × 2X	3.42 ± 0.286	2.12 ± 0.269	10

5日目には、自殖および4倍体×2倍体胚とも順調な生長を示しているのに反し、2倍体×4倍体胚ではほとんど生長を示さず、他の胚に比して明らかな遅延がみられる。

7日目には、4倍体×2倍体胚は自殖胚をかなり凌駕しているが、逆交雑ではほとんど生長せず、2倍体自殖胚の約1/5にすぎなかつた。胚厚についても胚長と同様な傾向がみられる。

この差異は、9日目に至つて更に拡大され、胚長では、4倍体×2倍体胚が約1.9mmに達し、2倍体および4倍体の自殖胚がそれぞれ1.4および1.5mmなのに優っているが、2倍体×4倍体胚では僅かに0.4mmにすぎなかつた。胚厚についても、ほぼ同様の傾向が認められる。

成熟胚では、自殖胚の観察を欠くが、2倍体×4倍体胚では胚長は9日目胚と大差はないが、4倍体×2

倍体胚では9日目以後も生長をつづけ、胚長も胚厚も9日目の2倍に達している。

(2) 分化; 胚の発達段階を次の6期に大別し、観察結果を第7表に総括した。

Table 7. Development of embryos.

Cross combination	Age*	Stage						No. of embryos observed
		I	II	III	IV	V	VI	
2X × 2X	3	100.0						10
	5		22.2	33.3	44.5			9
	7					100.0		6
	9					25.0	75.0	8
2X × 4X	3	100.0						4
	5	100.0						2
	7	72.7	27.3					11
	9	58.8	41.2					17
	M. E. †	87.5	12.5					8
4X × 2X	3	100.0						22
	5	12.0	16.0	56.0	16.0			25
	7	11.1		38.9	50.0			18
	9			47.8	43.5	8.7		23
	M. E. †			20.0	70.0	10.0		10
4X × 4X	3	100.0						2
	5	33.3	33.3	33.3				3
	7							—
	9					100.0		2

Note: Table is shown in %. \* Days after pollination. † Matured embryo.

I期: 前胚期 (Pl. 1, Fig. 1); 数十個の細胞からなり正卵形を示す。

II期: 分化前兆期 (Pl. 1, Fig. 2); 長卵形となり、細胞数も増え、胚の腹面上部に凹部を生じ、始原生長点および幼根始原体の発生すべき部位の細胞は分裂が盛んで、緻密に配列し、方向性がみられる。

III期: 分化初期 (Pl. 1, Fig. 3); 始原生長点、幼根始原体および幼芽鞘始原体の分化が明らかとなり、盤状体および胚軸維管束細胞が識別され、長卵形から三角形に変形する。

IV期: 第1葉分化期 (Pl. 1, Fig. 4); 第1葉(不完全葉)の分化がみられる。

V期: 第2葉分化期 (Pl. 1, Fig. 5); 第2葉(第1完全葉)の分化がみられる。

VI期: 第3葉分化期 (Pl. 1, Fig. 6); 第3葉(第2完全葉)の分化がみられる。

雑種胚では後述するように、正常胚の発達と趣きを異にするので、上記の发育段階に類別することが困難な場合も多かったが、これに準じて分級した。

(1) 2倍体自殖胚: 授粉後3日目; すべての胚はまだI期の段階に属した。

5日目; 観察胚の約半数は既にIV期に達したが、残りはII-III期に属し、分化の程度にかなりの個体差

がみられた。

7日目; 分化はさらに進み、観察胚のすべてがV期に属した。

9日目; 大部分の胚がVI期に達したが、V期に属する胚も認められた。

(2) 4倍体自殖胚: 2倍体の自殖胚とおおむね同様の発達経過をたどるが、发育はややくれ、9日目に第2葉の分化までしか認められなかった。

(3) 2倍体×4倍体胚: 3日目; すべての胚がI期に属し、自殖胚と変らなかつた (Pl. 1, Fig. 7)。

5日目; 分化はみられず3日目の状態に止まり、むしろ崩壊の様相を呈する胚が認められた (Pl. 1, Fig. 8)。

7日目; 27%の胚がII期に属し、分化の兆候がみられた。しかし、自殖胚のII期では始原生長点および幼芽始原体が識別されたが、雑種胚では両者が認められる場合は少なく、細胞の配列に方向性が認められる程度であつた (Pl. 1, Fig. 9, Pl. 2, Fig. 10)。

9日目; III期の段階にある胚が41%を占め、7日目より増加しているが、分化の程度は7日目とほとんど変わらず、それ以上に発達した胚は認められなかつた (Pl. 2, Fig. 11)。

成熟胚; 完全に崩壊し、細胞内容物は消失してみられない (Fig. 2)。

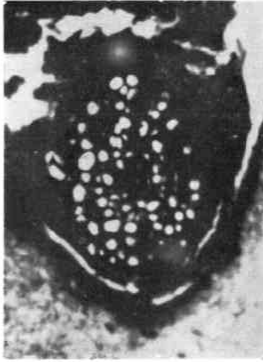


Fig. 2. Matured embryo of 2X x 4X hybrid seed (ca x160).

(4) 4倍体 x 2倍体胚：3日目；自殖胚および2倍体 x 4倍体胚と変わらず、すべてがI期に属した (Pl. 2, Fig. 12).

5日目；分化が始まり，I期～IV期までに属する胚がみられたが，約50%はIII期の分化初期の胚であり，16%はIV期に属し，第1葉の分化が認められた。分化の程度は2倍体自殖胚にほぼ等しく，4倍体自殖胚よりやや進んでいた。この期の自殖胚では長卵形より三角形に変形するが，この雑種胚では不整形で畸形的なものが多かった (Pl. 2, Figs. 13, 14, 15, 16).

7日目；2倍体自殖胚ではすべてV期に達していたのに，この雑種胚ではI，IIIおよびIVに属する胚も観察された。IV期の頻度は5日目より高く50%に達したが，胚の形態的異常は5日目のものより著しかった (Pl. 4, Figs. 11 a, b, c).

9日目；大部分の胚はIII期あるいはIV期のものであったが，約9%はV期の第2葉分化期まで進んだ。しかし，形態的にはますます畸形的様相を呈するものが多かった (Pl. 4, 4 Figs. 14a, b, c).

成熟胚；9日目以後V期胚の頻度はやや高まったが，VI期に達した胚は見当らなかつた (Fig. 3).

さきに始原生長点，胚軸維管束，幼根，幼芽鞘等の始原体が分化する時期をIII期としたが，上述のようにこの期に属する胚は変異の幅が大きかつたので，さらに詳しく観察して第8表を作製した。自殖胚では上記の4器官がすべて分化しているが，4倍体 x 2倍体胚では1～2の器官が未分化であり，これらの器官の分化にはかなりの時間的なずれが認められた。このように，雑種胚では分化の調和が保たれていないようである。

4倍体 x 2倍体胚はかなり生長し，かつある程度の分化を示したが，5日目以後の胚には畸形胚がみられ

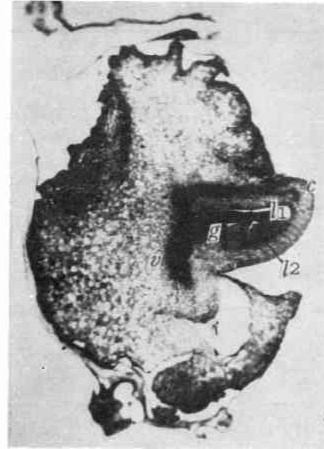


Fig. 3. Matured embryo of 4X x 2X hybrid seed (ca x16). c: Coleoptyle, g: Growing point, l<sub>1</sub>: 1st foliage leaf, l<sub>2</sub>: 2nd foliage leaf, r: Radicule, v: Vascular tissue of hypocotyle.

た。畸形胚の形態的特徴は概ね次の通りである。自殖胚は種子の基部中央より外顎部よりに傾斜して位置し，腹側部（幼芽の伸長する方向）を直接種皮に接し，背側部（胚盤部）は胚乳に接している。これに対し，雑種胚は例外なく種子の基部中央に直立し，腹，背側部とも直種皮に接している (Pl. 4, Figs. 11a, b, c)。また，胚の方向性が乱れ，胎座を軸として90°回転したものもみられ (Pl. 4, Fig. 14c)，さらに幼芽と幼根のなす角度が180°に開いているものから，極めて狭くほとんど同一方向に向いているものまで観察された (Pl. 4, Figs. 11b, 14b)。概して幼芽，幼根，胚軸部等の内部器官は正常であつたが (Pl. 2, Fig. 17)，胚盤の周辺部の組織に崩壊がみられた。2倍体 x 4倍体胚は分化しないため，だ円形のままと止まつた。

(3) 多糖類の蓄積：多糖類の消長を観察し，赤紫色粒状体として認められるものについてのみ調査してその結果を第9表にまとめた。多糖類は，自殖胚ではまず胎座部に現われ，ついで幼根始原体の発生とともにこの部分に現われ，さらに授粉後7日目には胚盤部，9日目には幼芽部に認められた。一般に多糖類は日数の経過とともに増加するようであり，幼根部ではとくに著しい。

2倍体 x 4倍体胚では，自殖胚と同様，授粉後3日目から5日目までのものに胎座部に認められたが，7日目以後消失した。他の組織は未分化のため観察できなかった。

4倍体 x 2倍体胚では，自殖胚と大差なく，むしろ，

Table 8. Development of embryos belonging to the Stage III.

Cross combination	Age*	Radicle	Hypocotyle	Coleoptyle	Growing point	Observed embryos		
						No.	%	
2X × 2X	5	+	+	+	+	3	100.0	
4X × 2X	5	{				3	21.5	
						1	78.5	
						2		
						1		
						1		
	7	{					4	57.1
							1	42.9
							1	
	9	{					7	63.6
							1	36.4
							1	
							1	
4X × 4X	5	+	+	+	+	1	100.0	

Note: +; Differentiation. -; Non differentiation. \*; Days after pollination.

Table 9. Accumulations of polysaccharides in embryo.

Age*	Cross combination	Embryo before differentiation	Placenta	Vascular tissue of hypocotyle	Radicle	Leaf organ	Scutellum
3	2 X × 2 X	-	+				
	2 X × 4 X	-	+				
	4 X × 2 X	-	+				
	4 X × 4 X	-	+				
5	2 X × 2 X	-	+	-	+	-	-
	2 X × 4 X	-	+	-	+	-	+
	4 X × 2 X	-	+	-	+	-	-
	4 X × 4 X	-	+	-	+	-	-
7	2 X × 2 X	-	+	-	+	-	+
	2 X × 4 X	-	+	-	+	-	+
	4 X × 2 X	-	+	-	+	-	+
	4 X × 4 X	-	+	-	+	-	+
9	2 X × 2 X	-	+	-	+	+	+
	2 X × 4 X	-	+	-	+	+	+
	4 X × 2 X	-	+	-	+	+	+
	4 X × 4 X	-	+	-	+	+	+

Note: Accumulations of polysaccharides are observed in the most developed embryos.

+ or ++; Granular type, -; Non granular type, \*; Days after pollination.

胚盤部では自殖胚よりも早く現われるようであつた。

III. 胚乳の発達: Lillie 氏の染色法により澱粉は赤紫色に染まり、蓄積がよく観察できた。胚乳の発達状況を Pl. 3, Fig. 3 および Pl. 5 に示した。

(1) 2倍体自殖胚乳; 授粉後3日目には胚乳細胞膜が形成され始める。核は淡赤紫色に染まり、胚乳細胞

胞は胚嚢内に散在して認められた。澱粉粒は果皮および珠皮内にみられたが、胚乳内にはまだ認められなかった。

5日目には胚乳細胞は胚嚢内全面に拡がり、澱粉粒が形成され、赤紫色に染まつた。

7日目には5日目より大粒の澱粉粒が蓄積され、胚

乳細胞内に充満し、塊状をなし、濃赤紫色に染まつた。

9日目には7日目とほぼ同じ状態が観察された。

(2) 4倍体自殖胚乳；7日目の材料を欠いているが、2倍体自殖胚乳とほぼ同様な発達過程が観察された。

(3) 2倍体×4倍体胚乳；授粉後3日目では、2倍体自殖胚乳と大差はなく、細胞膜が形成され始め、胚嚢内に散在し、淡赤紫色に染まつた。

5日目には胚乳の周辺部に胚乳細胞の増加がみられただけで、他の部分ではほとんど増加がみられず、澱粉粒の蓄積も認められず、細胞膜は消失し、胚乳の崩壊が観察された。

7および9日目に至つても、胚乳細胞の増加、澱粉の蓄積はまつたく認められず、崩壊がさらに進んだ。

(4) 4倍体×2倍体胚乳；授粉後3日目にはすでに胚乳細胞が形成され、胚乳中には澱粉粒の蓄積がみられて赤紫色に染まり、その程度は自殖胚乳の発達程度を著しく凌駕した。

5日目には、胚乳細胞の増加および澱粉蓄積は3日目よりは進んだが、胚嚢内を完全に満たすには至らず、自殖胚乳に比しやや劣つた。

7日目には澱粉粒は濃赤紫色に染まつたが、発育は停止し、むしろ崩壊の兆候が認められた。

9日目のものは7日目とほぼ同程度の状態が観察されたが、崩壊はむしろ著しく進んでいた。

### 考 察

ここでは交雑の結果についての考察を省き、主として交雑種子の発達について論ずることとする。さきに述べた結果から、交雑種子では授粉後3日目にすでに幼胚が認められるので、受精は一応成功しており、イネの2倍体、4倍体間交雑の不和合の原因は、受精後の胚および胚乳の発達過程の不調にあることが推察される。

2倍体×4倍体の組合せでは、正常な発達がみられるのは授粉後5日目前後までで、完全に発達の停止をみるのは9日目である。しかし、5日目以後の発達は胚の大きさがやや増大するのみで、むしろ退化を伴っており、従つて5日目には発達がほとんど停止するものと考えられる。

他方、4倍体×2倍体の組合せでは、最初に異常がみられるのは2倍体×4倍体交雑の場

合同様に、授粉後5日目であるが、その後分化の遅延異常がみられるにもかかわらず、2倍体×4倍体のような致命的な障害はないようである。分化は9日目に停止するが、その後も旺盛な生長がつづき、成熟期には胚長および胚厚がそれぞれ3.24、2.12 mmに達している。自殖種子の成熟胚では、生胚の測定値で、胚長および胚厚が2倍体ではそれぞれ2.16、1.66 mmであり4倍体では2.67、1.75 mmであつた。また、普通品種の胚の大きさはCho, 末次および山川らの報告によると品種、栽培環境で多少異なるが、永久標本での測定ではおおむね胚長、胚厚はそれぞれ2 mm、1 mm程度である。これらの数値と比較して4倍体×2倍体胚はむしろ強勢な生長を示しているということができよう(第2図)。

これまで、栽培品種では胚の分化の最高限界は第3葉までとされており、第3葉分化期以後もやや大きさを増大するが、その後の生長はほとんど停止するようである(末次, 山川)。これに対し、4倍体×2倍体胚では第2葉までしか分化していないにもかかわらず、成熟胚の大きさは自殖胚の大きさを後駕していることから、分化停止後の生長は自殖胚に勝るものと考えられる。しかし、4倍体×2倍体胚の発達限界期も一応授粉後9日目頃と考えて差つかえないようである。

一方、交雑によつて得られた不完全種子は約16%が発芽したが、このことは雑種種子が発達停止以後すべ

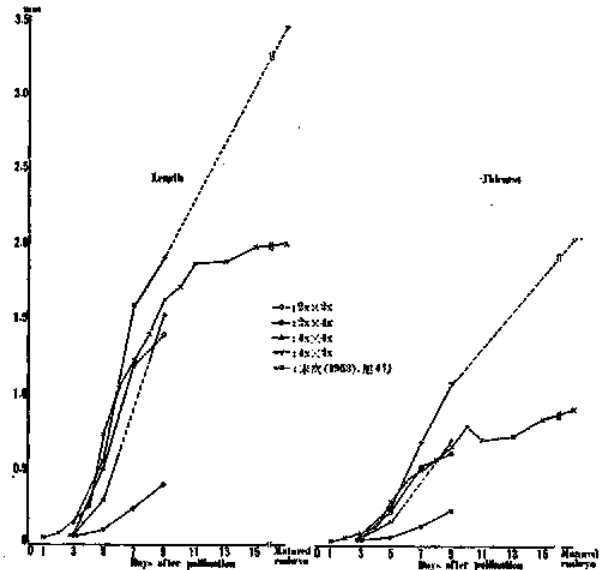


Fig. 4. Growth of embryo.

で壊死するものではなく、1部の胚は生命を保持していたことを示唆しているものといえよう。イネの幼胚が始めて発芽力を有するに至る時期の分化程度は、雨宮らおよび山川らによると第2葉とされている。したがって雑種種子で発芽した不完全種子は、おそらく第2葉までの分化を達成したものであろう。

雑種胚乳の発達が正常であつたと考えられるのは授粉後3日目までで、それ以後はほとんど発達せず、成熟種子では、第2葉の分化がみられた種子でも完全に崩壊していた。発芽した不完全種子が木葉を展開しえなかつた原因の1つはこのような胚乳の未発達によるものと考えられる。

イネにおける胚の形態的異常については中島らの種間雑種胚および高橋の4倍体自殖胚で報告されている。とくに中島らの種間雑種胚の異常は盤状体組織に崩壊がみられる点、および胚の方向性に異常がみられる点で木実験の4倍体×2倍体の雑種胚と類似している。また、高橋の観察した異常胚の中には、異数性胚が存在することが報告されており、他の植物でも種間雑種等の染色体数を異にする植物間の雑種胚では形態異常が知られているので、このような形態異常は染色体の数的平衡を欠いた胚に共通する現象と考えられる。

このような発達不完全な種子から植物を育成するには、胚培養法の適用が考えられるが、一般に幼胚を培養基上に移すと胚的生長を停止して直ちに苗えの生長を開始し、そのために発芽後十分生育しうるために必要な発達段階まで達していない胚は培養不可能なものとされている。また雨宮らはイネの幼胚の培養限界について、発芽しさえすれば、その後の生育を続けさせることを明らかにし、その時期は第2葉分化期に該当するとしている。これらの事実から、2倍体×4倍体雑種胚はその分化程度から発芽可能限界期に遠く及ばず、胚培養による育成は不可能と考えられる。これに反し、4倍体×2倍体雑種胚は、発達停止期に当る授粉後9日目に、約10%の胚が発芽可能限界期に達している。異常胚についても、正常胚と同様に発芽力を有する胚が培養可能かどうかについては疑問であるが、中島はイネ属の種間雑種胚において、第3葉まで分化した4倍体×2倍体胚に類似した異常胚の培養に成功しており、このことから木実験での異常胚の培養の可能性も考えられる。

雑種胚を培養基に移す適期は分化を終えた9日目以後と考えられるが、それ以後は日数の経過につれて異常発達も増大するので、むしろ授粉後9日目頃が適期

ではあるまいか。しかし、生理的にはなお発育を継続しているかどうか不明であり、さらに口数を経過した胚を培養に移すのがよいかどうかはなお検討の余地があろう。

J. Overbeek はココヤシの胚乳中に胚的生長を促進する物質が存在することを発見し、これを培地に注加することにより *Datura* の未分化の幼胚を培養することに成功した。イネの場合にもこのような培養法を利用すれば培養が容易となることが推察され、とくに2倍体×4倍体雑種胚のような極めて初期の段階で発育を停止する胚の培養にはこの方面からの検討も必要であらう。

なお盛永らは温湯除雄を早期に行なうことにより、イネの雑種3倍体の作出を高めている。このような交配方法の改善も併せて考えて困難なイネの3倍体作出に努力してゆく所存である。

## 摘 要

1. イネの染色体地図作成の効率を高めるために、3染色体植物の利用を企図し、そのためまず3倍体イネの育成を試みた。

2. 1959~61年の3カ年間に約9000花の4倍体×2倍体間の相反交雑を試み、77粒の完全種子と948粒の不完全種子を得た。着粒率は4倍体を母親にした場合が逆交配より勝れていた。

3. 完全種子から65個体の植物を養成できたが真性3倍体は僅かに2個体(0.022%)にすぎず、他は母型の2倍体または4倍体であつた。不完全種子は16%の発芽を示したが1個体のみが4葉期まで生育して枯死し、他は鞘葉を伸長したのみで枯死した。

4. 温湯除雄後放任した穎花では、2倍体と4倍体で着粒性の相違がみられ、2倍体には不完全種子はなく、極めて低率に完全種子が得られたのに対し、4倍体では1%の不完全種子と3.4%の完全種子が得られた。

4. 4倍体×2倍体交雑の不和合性を究明するために、授粉後3, 5, 7, 9日目の種子の永久標本を作つて、種子の発達過程を組織学的、顕微化学的に観察して次の知見を得た。

(a) 2倍体、4倍体の自殖種子(温湯除雄後人工交配したもの)では胚の生長、分化、多糖類、澱粉の蓄積、胚乳の形成は順調に進み、授粉後9日目で2倍体胚は第3葉まで、4倍体胚は第2葉まで分化し、胚乳の澱粉蓄積も順調であつた。

(b) 2倍体×4倍体の雑種種子では早期に胚の発

育停止がみられ，組織の分化は認められず，胚乳の形成も早期に崩壊して，極めて貧弱な雑種種子しか形成されない。

(c) 4倍体×2倍体の雑種種子では胚の生長は自殖胚を凌駕する程度に発達するが，分化は2葉で止まり，かつ畸形状のものが多く，胚乳の形成は崩壊過程を示し，成熟種子では不完全種子となる。

(d) 3倍体イネ育成の困難性は受精後の胚および胚乳発達の不調和によることを明らかにした。

6. 3倍体イネ作出の困難性を打破する手段として，胚培養法の適用と，交配方法の改善に関し，従来の研究を検討して考察を試みた。

### 参 考 文 献

- 1) 雨宮 昭，明峯英夫，鳥山岡士，1956. イネの胚培養に関する研究，農技研報告，D(6)：1-60.
- 2) Boyes, J. W. and W. P. Thompson, 1937. The development of the endosperm and embryo in reciprocal interspecific crosses in cereals. *J. Genet.*, **29**：57-64.
- 3) Cooper, D. C. and R. A. Brink, 1940. Soma-toplastic sterility as a cause of seed failure after interspecific hybridization. *Genet.*, **25**：593-617.
- 4) — and —, 1944. Collapse of the seed following the mating of *Hordeum jubatum* × *Secale cereale*. *Genet.*, **29**：370-390.
- 5) —, 1951. Caryopsis development following matings between diploid and tetraploid strains of *Zea mays*. *Amer. J. Bot.*, **38**：702-708.
- 6) Cho, J., 1938. The anatomical observations of the embryo in the rice. *Bot. Mag.*, **52**：520-531.
- 7) Håkansson, A., 1953. Endosperm formation after 2X, 4X, crosses in certain cereals, especially in *Hordeum vulgare*. *Hereditas*, **29**：57-64.
- 8) 岸川英利，1952. 水稲における4倍体と2倍体の交雑成績および特異なF<sub>1</sub>植物について，佐大農彙報，**1**：47~55.
- 9) 水島宇三郎，村上寛一，北条良夫，1955. 稻胚発生時での異常環境の影響について。I. 正常胚発

- 生の組織化学的観察，育雑，**5**：154-162.
- 10) Morinaga, T. and E. Fukushima, 1953. Cytogenetical studies on *Oryza sativa* L., II Spontaneous autotriploid mutants in *Oryza sativa* L., *Jap. J. Bot.*, **7**：207-225.
  - 11) — and H. Kuriyama, 1959. A note on the cross results of diploid and tetraploid rice plants. *Jap. J. Breed.*, **9**：187-193.
  - 12) 中島哲夫，森島啓子，1958. 植物の胚培養に関する研究。II. イネ種間雑種の胚培養について，育雑，**8**：105-110.
  - 13) " , 1962. 作物の種子形成，とくに胚および胚乳の発育に関する基礎的研究，一とくに胚培養を中心として一。 *Bull. Univ. Osaka Pref.*, Series B, **13**：13-48.
  - 14) Nishiyama, I. and H. Kihara, 1932. The genetics and cytology of certain cereals, III. Different compatibility in reciprocal crosses of *Avena*, with special reference to tetraploid hybrids between hexaploid and diploid species. *Jap. J. Bot.*, **6**：245-305.
  - 15) 西山市三，田中正武，1961. 同質倍数性育種の現況，育雑，**11**：106-110.
  - 16) Overbeek, J., M. E. Conclin and A. F. Blakeslee, 1942. Cultivation in vitro of small *Datura* embryo. *Amer. J. Bot.*, **29**：472-477.
  - 17) —, R. Sui and A. J. Haagensmit, 1944. Factors affecting the growth of *Datura* embryos in vitro. *Amer. J. Bot.*, **31**：219-224.
  - 18) 大倉英治，1940. 稲における4倍体植物と2倍体植物との間に生じたる2倍雑種(予報)。遺雑，**16**：228-233.
  - 19) 末次 勲，1935. 稲品種における胚の発育に関する形態学的研究。農技研報告，D(4)：23-52.
  - 20) 高橋方右エ門，1955. 稲の交雑に関する研究，第XVII報 4倍体稲の種子形成。遺雑，**30**：62-70.
  - 21) Wakakuwa, S., 1935. Embryological studies on the different seed development in reciprocal inter-specific crosses of wheat. *Jap. J. Bot.*, **7**：151-184.
  - 22) 山川 寛，岸川英利，1959. 水稲幼胚の発芽力を得る最初の時期に及ぼす栽培時期の影響。日作九支報，14号：14-15.
  - 23) —, 1962. 暖地における栽培時期の移動に伴う水稲の生態変異に関する研究，佐大農彙，(14)：23-159.

### Summary

The senior author has long been engaged to establish the chromosome map of rice plant by the usual F<sub>2</sub> analysis method. The results were rather fruitless notwithstanding the enormous F<sub>2</sub> combinations were analyzed. Recently the present authors tried to introduce another methods to promote this study, namely teisomic and translocation analysis using the lines which were obtained in the progenies of atomic bombed rice plants in Nagasaki. However, these materials

were not desirable for trisomic analysis, the authors decided furthermore to produce 12 kinds of primary trisomic lines from triploid plants artificially. This attempt was supported by the fact that 12 kinds of primary trisomic lines are theoretically well known as the haploid chromosome number of the rice plant is 12.

In the first step, in order to obtain triploid rice plants, the authors attempted to cross between diploid and auto-tetraploid. During three years from 1959 to 1961, 9822 flowers were crossed reciprocally after usual hot water emasculation method. From these crossings, 77 normal fully developed grains and 947 wrinkled imperfect grains were obtained, although seed setting was better when the tetraploid plant was used as maternal plant than reciprocal crosses. Normal grains germinated well and grew to maturity, but only two of them, that is 0.022 % of pollinated flowers, were true triploids and the others were maternal ones. Germination of imperfect grains were bad, representing 16 % of 177 seeds sown, and no viable seedlings were obtained. Weight and germination rate of imperfect grains were also better in  $4X \times 2X$  crosses than reciprocals.

To make clear what is the cause of difficulty for getting triploid rice plants by crossing between diploid and tetraploid plants, embryological studies were carried on and the results were as follows.

In the selfed seeds, both diploid and tetraploid, normal growth and development were observed and the 1st, 2nd and 3rd foliage leaves were differentiated on 5, 7 and 9 days after pollination respectively. Accumulation of polysaccharides in young primordia of embryonal organs proceeded quite normally and development of endosperm was also normal.

In the hybrid seeds of  $2X \times 4X$ , growth and differentiation were very poor and abnormal, that is, in the most advanced cases pro-embryo or sign of differentiation were only observed and no progress of differentiation were found. On the other sides endosperm developed pretty normally during 3 days after pollination, but soon afterwards it began to degenerate and entirely collapsed at the end.

In the hybrid seeds of  $4X \times 2X$ , development of embryo was better than that of  $2X \times 4X$ , and the differentiation of 1st and 2nd foliage leaves were observed in the materials of 5 days and 7 or 9 days after pollination respectively. As compared with the selfed samples, differentiatinal feature was nearly equal to selfed  $4X$  embryos and a little inferior to selfed  $2X$  embryos and very malformed types were observed. In spite of such abnormal differentiation mentioned above, the growth was very vigorous and final size of the matured embryo was rather larger than the selfed ones. Development of hybrid embryo was thought to finish at 9 days after pollination. The development of endosperm was normal in earlier stage and exceeded the selfed one till 3 days after pollination but soon afterwards it rushed in degeneration process and most of the matured endosperm was collapsed.

From the above experiment, the authors concluded that the difficulty of obtaining the triploid rice plants by crossing between diploid and auto-tetraploid plants was not due to the failure of fertilization but to the poor development of embryo and endosperm and unbalanced development of these organs.

In addition, the authors discussed the introduction of the embryo-culture method and the improvement of crossing technique to facilitate the efficiency for getting triploid rice plants from the literature.

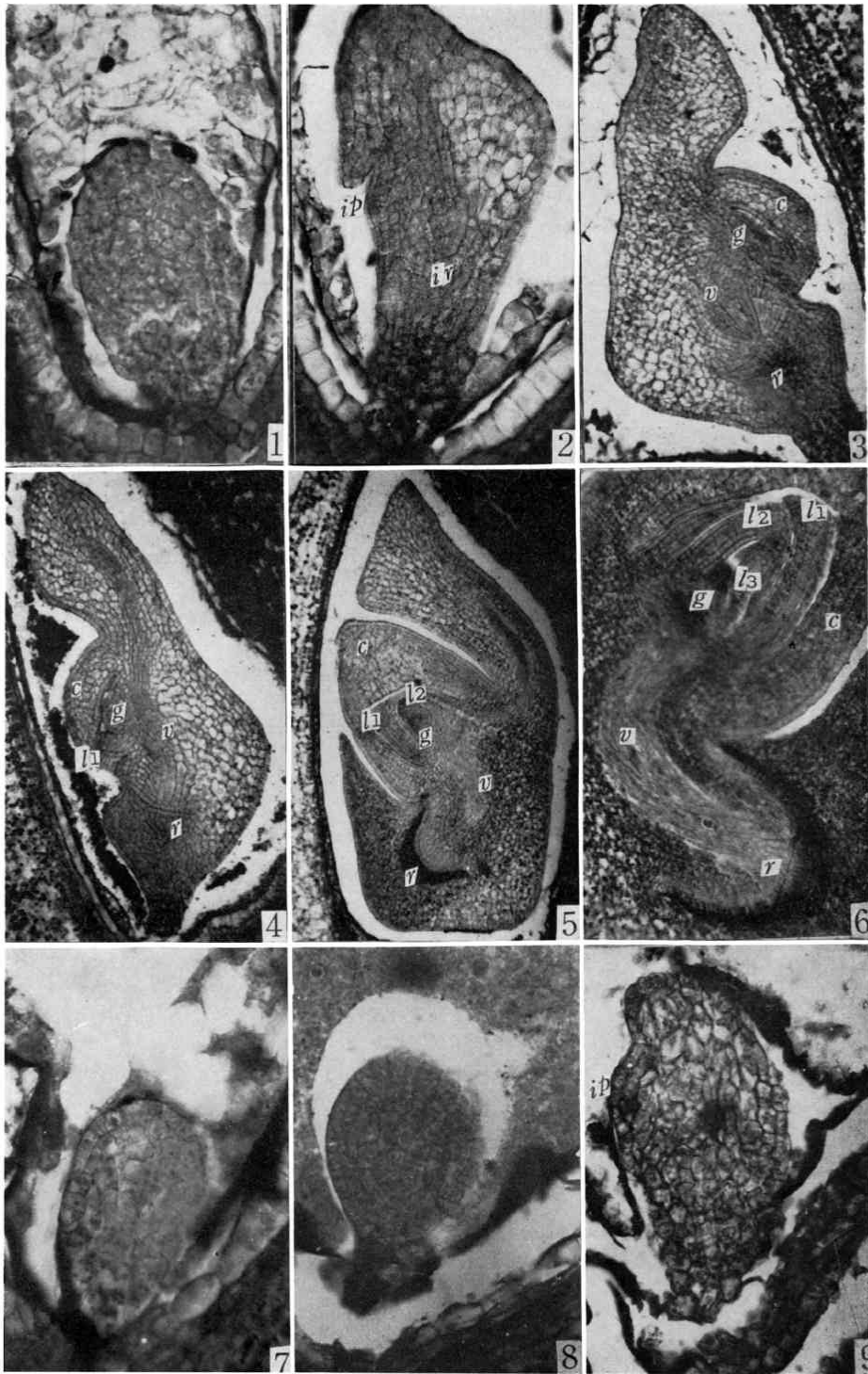
### Explanation of Plate 1

#### Figs. 1-6. Development of selfed 2X embryos.

1. Embryo on 3 days after pollination ; Egg-shaped pro-embryo (Stage I), ca×320.
2. Embryo on 5 days after pollination ; Initiation of plumule and radicle are seen (Stage II), ca×370.
3. Embryo on 5 days after pollination ; Primordia of growing point, coleoptyle, radicle and vascular tissue of hypocotyle are seen (Stage III), ca×100.
4. Embryo on 5 days after pollination ; Primordium of 1st foliage leaf is seen (Stage IV), ca×100.
5. Embryo on 7 days after pollination ; Primordium of 2nd foliage leaf is seen (Stage V), ca×80.
6. Embryo on 9 days after pollination ; Embryonal organs are almost completed, primordium of 3rd foliage leaf is seen (Stage VI), ca×200.

#### Figs. 7-9. Development of 2X×4X hybrid embryos.

7. Embryo on 3 days after pollination ; Egg-shaped pro-embryo (Stage I), ca×320.
8. Embryo on 5 days after pollination ; Egg-shaped pro-embryo (Stage I), ca×320.
9. Embryo on 7 days after pollination ; Initiation of plumule is seen (Stage II), ca×190.



イネの2倍体，4倍体間の交雑

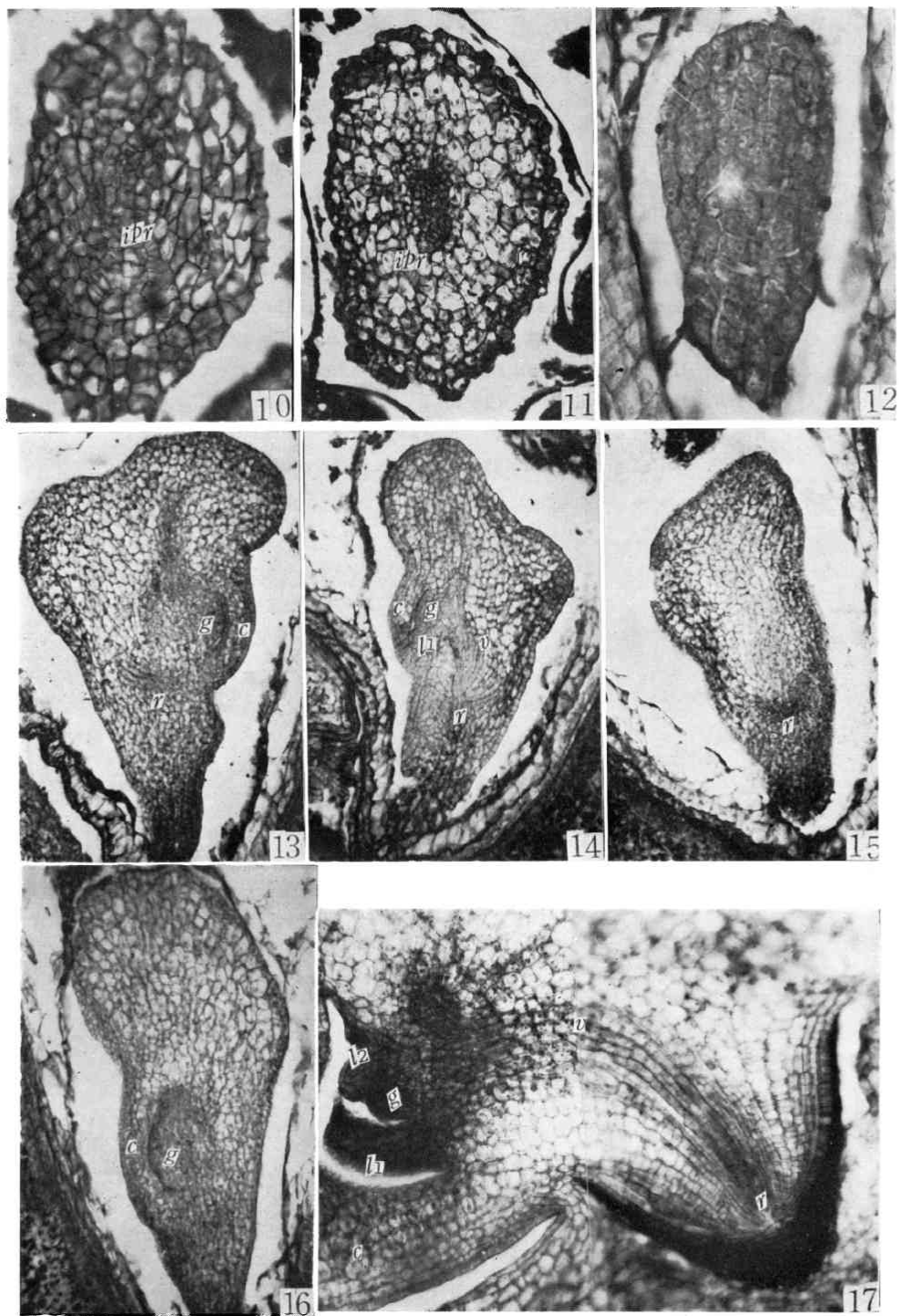
## Explanation of Plate 2

Figs. 10-11. Development of 2X×4X hybrid embryos.

10. and 11. Embryo on 7 and 9 days after pollination respectively ; In the central region where primordia must be initiated, the cells are arranged compactly and in the outer region the cells are collapsed (Stage II), Fig. 10-ca×160, Fig. 11-ca×100.

Figs. 12-17. Development of 4X×2X hybrid embryos.

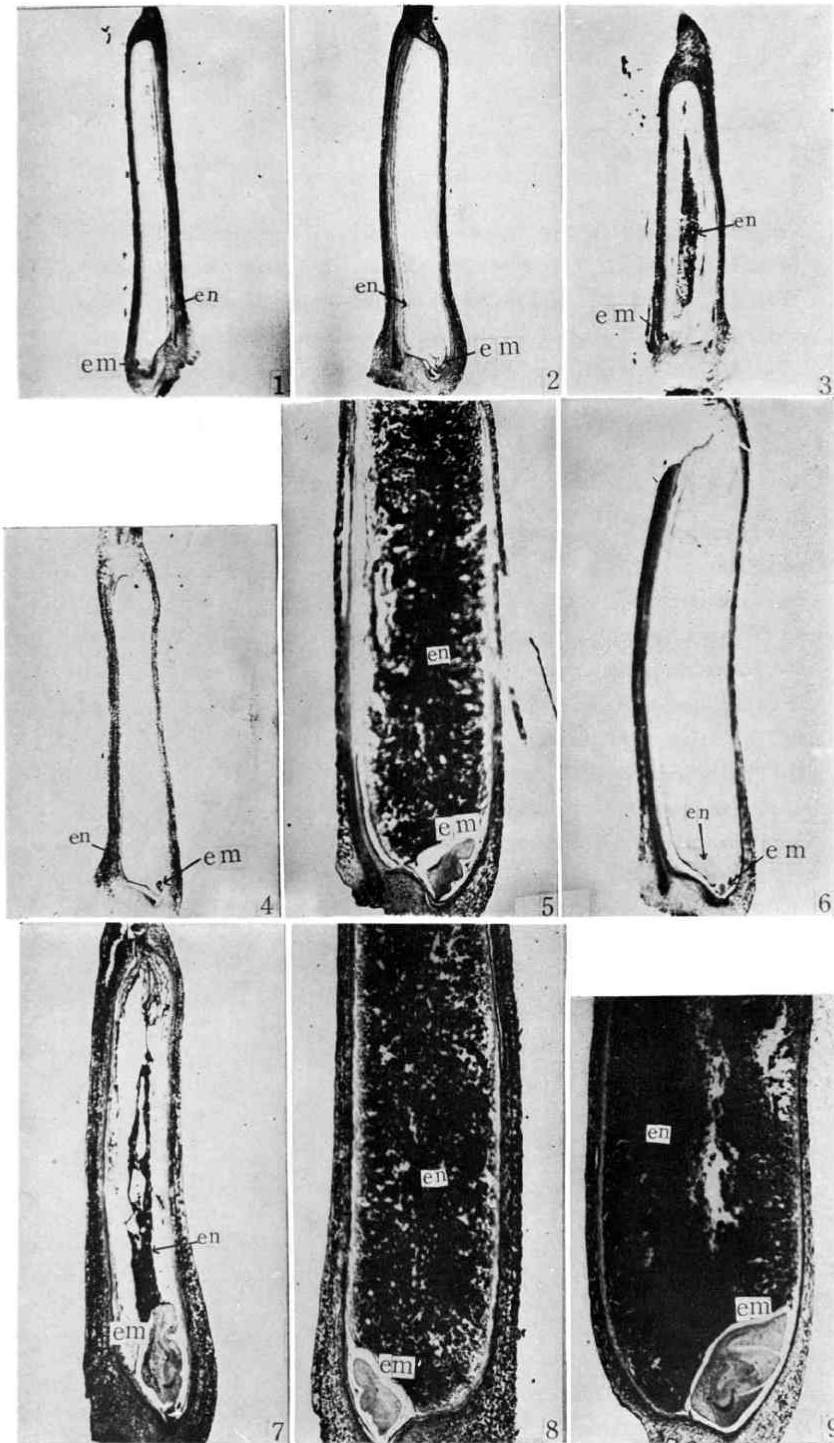
12. Embryo on 3 days after pollination ; Egg-shaped pro-embryo (Stage I), ca×320.
13. Embryo on 5 days after pollination ; Primordia of growing point, coleoptyle and radicle are seen (Stage III), ca×100.
14. Embryo on 5 days after pollination ; Primordia of 1st foliage leaf is seen (Stage IV), ca×100.
15. Embryo on 5 days after pollination ; Embryo has only a primordium of radicle (Stage III), ca×100.
16. Embryo on 5 days after pollination ; Embryo has only a primordium of plumule (Stage III), ca×100.
17. Embryonal organs of 9 day's embryo ; Primordium of 2nd foliage leaf is seen (Stage V), ca×240.  
Embryos on 7 and 9 days after pollination are shown in Plate 4, Fig. 11 and 14 respectively.



イネの2倍体, 4倍体間の交雑

Explanation of Plate 3 (ca×16)

- Fig. 1. Selfed seed of  $2X \times 2X$  on 3 days after pollination.
- Fig. 2. Hybrid seed of  $2X \times 4X$  on 3 days after pollination.
- Fig. 3. Hybrid seed of  $4X \times 2X$  on 3 days after pollination.
- Fig. 4. Selfed seed of  $4X \times 4X$  on 3 days after pollination.
- Fig. 5. Selfed seed of  $2X \times 2X$  on 5 days after pollination.
- Fig. 6. Hybrid seed of  $2X \times 4X$  on 5 days after pollination.
- Fig. 7. Hybrid seed of  $4X \times 2X$  on 5 days after pollination.
- Fig. 8. Selfed seed of  $4X \times 4X$  on 5 days after pollination.
- Fig. 9. Selfed seed of  $2X \times 2X$  on 7 days after pollination.



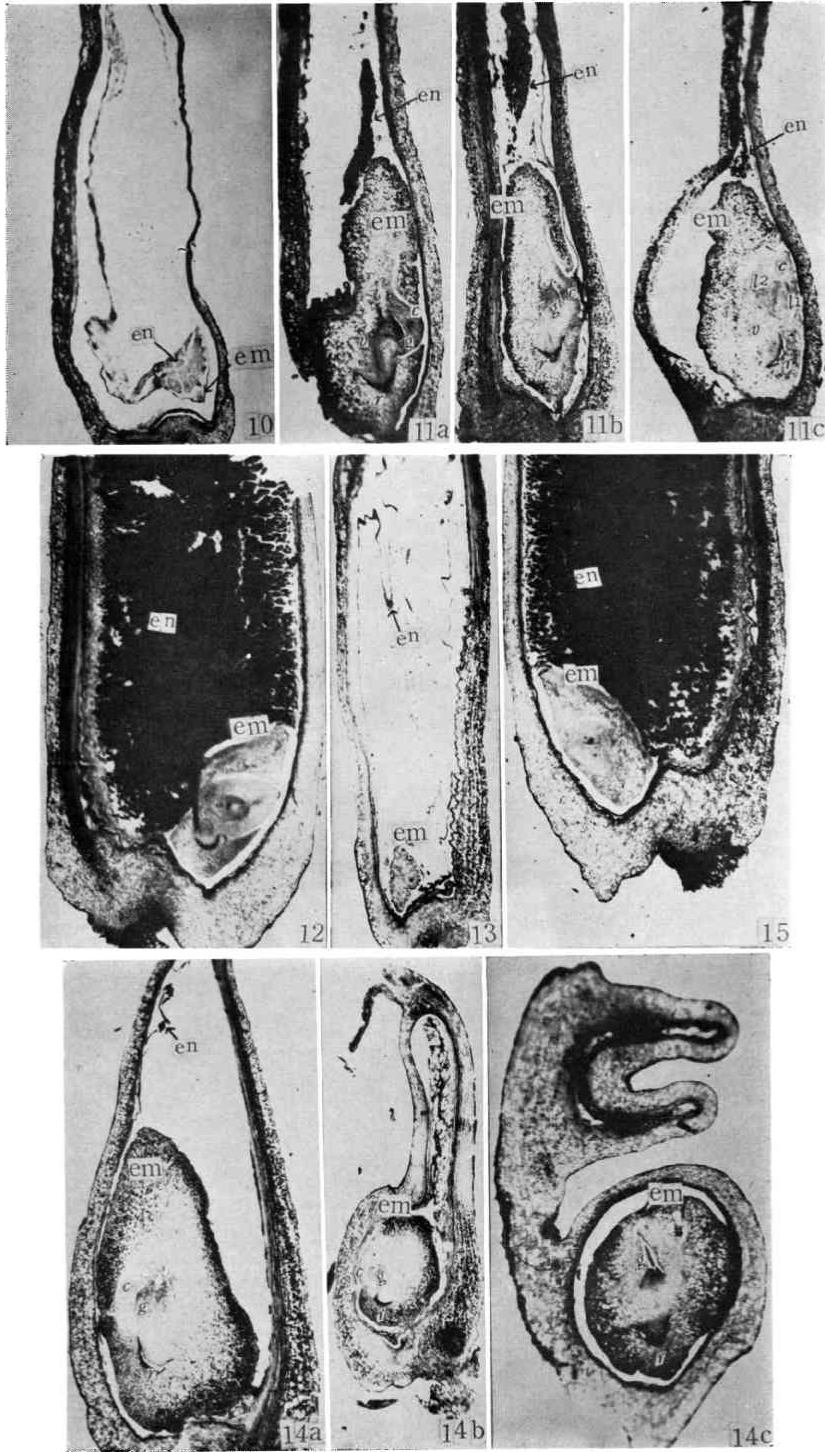
イネの2倍体、4倍体間の交雑

#### Explanation of Plate 4 (ca×16)

- Fig. 10. Hybrid seed of 2X×4X on 7 days after pollination.  
Fig. 11. (a, b, c), Hybrid seed of 4X×2X on 7 days after pollination.  
Fig. 12. Selfed seed of 2X×2X on 9 days after pollination.  
Fig. 13. Hybrid seed of 2X×4X on 9 days after pollination.  
Fig. 14. (a, b, c), Hybrid seed of 4X×2X on 9 days after pollination.  
Fig. 15. Selfed seed of 4X×4X on 9 days after pollination.

#### Abbreviation in the Plates 1-4

- c : Primordium of coleoptyle.  
em : Embryo.  
en : Endosperm.  
g : Growing point.  
ip : Initiation of plumule.  
ir : Initiation of radicle.  
ipr : Initiation of primordia.  
l<sub>1</sub> : Primordium of 1st foliage leaf.  
l<sub>2</sub> : Primordium of 2nd foliage leaf.  
l<sub>3</sub> : Primordium of 3rd foliage leaf.  
r : Primordium of radicle.  
v : Vascular tissue of hypocotyl.



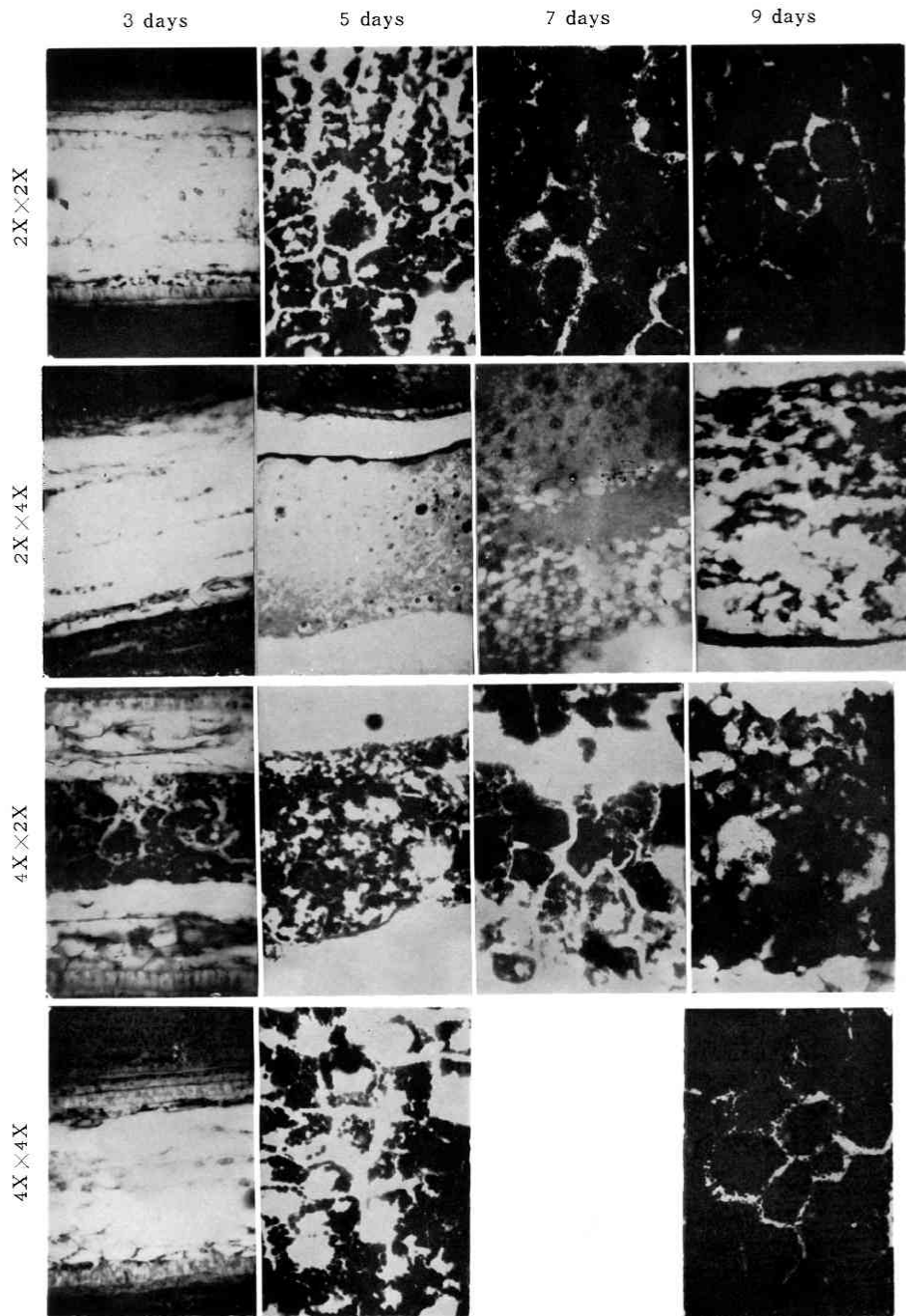
イネの2倍体，4倍体間の交雑

### Explanation of Plate 5

Accumulation of polysaccharides and starch grains in endosperm.

Left to right : Days after pollination, 3, 5, 7 and 9 days respectively.

Up to down : Cross combinations,  $2X \times 2X$ ,  $2X \times 4X$ ,  $4X \times 2X$  and  $4X \times 4X$  respectively.



イネの2倍体，4倍体間の交雑