

チモシー (*Phleum pratense* L.) メオチャード グラス (*Dactylis glomerata* L.) の交雑得られ た植物体について

中住晴彦・古谷政道・下小路英男・藤井弘毅 (北見農試)

Production of Intergeneric Hybrid between *Phleum pratense* L. and *Dactylis glomerata* L.

(Haruhiko Nakazumi, Masamichi Huruya, Hideo Shimokouji and Hiroki Hugii
Kitami Agric. Exp. Sta. Kunneppu, Hokkaido, 099-14, Japan)

緒 言

著者らは、チモシーに異なる属の植物から有用な遺伝子を導入する目的で、属間雑種の作出を行っている³⁾。

本報では、胚培養によってコヌカグサ族 (Tribus Agrostae Nees) に属するチモシー (*Phleum pratense* L.) と、ウシノケグサ族 (Tribus Festuceae Dumortier) に属するオーチャードグラス (*Dactylis glomerata* L.) 間で遠縁雑種の作出に成功したので報告する。

材料および方法

交雑には、チモシー 4 栄養系 { 1646: 「北見在来」 (雄性不稔)、545: 「Clair」、Kunpu 4, 5: 「クンプウ」 } を母本、オーチャードグラス 3 栄養系 (Kitamidori 2, 3, 4: 「キタミドリ」) を父本として用いた。チモシーおよびオーチャードグラスの各栄養系は、他の栄養系の花粉の混入を避けるため、それぞれ別の隔離温室で生育させ、交雑も隔離温室内で行った。

交雑は、作業の効率化のため母本のチモシーの防雄をせずに行なったが、雄性不稔栄養系 (1646) 以外の正常な花粉稔性を持つ 3 栄養系については自殖率の調査をあわせて行った (Table 1、)。

交雑後 20 日~30 日で穂から小穂を外し、種子を持つ小穂については解剖顕微鏡下で胚を摘出した。摘出した胚は、M. Norstog 培地に置床し、25℃、18 時間日長で培養した。発芽して 3~4 葉に成長した植物体は 1/2 MS 培地に移植し、20℃、18 時間日長で生育させた。

染色体の観察は、根端組織を用いて酢酸カーミン染色法で行った。パーオキシターゼ⁵⁾およびエステラーゼ¹⁾のアイソザイムパターン¹⁾の分析は、若い葉を材料としてポリアクリルアミドゲル電気泳動法で行った。

結 果

チモシーにオーチャードグラスの花粉を交雑して 20 日以上経た穂から、正常種子より明らかに小さい種子が多数得られた (Table 2。) これらの種子は胚乳の発達が不良で、その多くは胚を持たなかったが、一部の種子は正常胚より明らかに小さい胚を持っていた。

Table 1. Results of self-pollination of *Phleum pratense* L.

<i>P. pratense</i>	No. of florets selfed	No. of selfed seeds obtained
545	360	0 (0 %)
Kunpu4	520	0 (0 %)
Kunpu5	805	2 (0.2%)

(): selfing rate

Table 2. Results of crosses between *Phleum pratense* L. and *Dactylis glomerata* L.

<i>P. pratense</i>	Parents		No. of florets pollinated	No. of F ₁ seeds obtained	No. of F ₁ embryos		No. of F ₁ hybrids obtained
	Female	Male			cultured	germinated	
1646	Kitamidori2		610	62	0	0	0
	Kitamidori3		2360	310	21	5	2
	Kitamidori4		2360	222	52	4	2
545	Kitamidori3		900	34	22	2	0
Kunpu4	Kitamidori3		1500	259	63	2	0
	Kitamidori4		480	8	8	0	0
Kunpu5	Kitamidori3		480	14	5	0	0
	Kitamidori4		340	7	3	0	0

合計 174 個の胚を抽出し培養したところ、1週間~4週間後に13個体が発芽した。発芽した13個体のうち9個体は第1葉を抽出しないまま枯死し、1個体は第2葉が展開した段階で枯死したが、3個体は培養開始後4カ月で20葉前後の葉を持つ植物体に生長した。これら3個体の形態は、出穂しないうえ、展開した葉が先端部から急速に枯れ始めたため (Fig. 1)、形態的特徴は調査できなかった。

次に、最も成長の良い1個体 (No.16) およびその両親 (チモシー: 1646、オーチャードグラス: Kitamidori3) の染色体数、パーオキシターゼおよびエステラーゼのアイソザイムパターンを調べた。

1646 (チモシー) の染色体数は42本、Kitamidori3 (オーチャードグラス) は28本であり、両者ともに正常の染色体数であった。それに対しNo.16 (チモシー: 1646×オーチャードグラス: Kitamidori3) の染色体数は35本であった (Fig. 2)。No.16のパーオキシターゼおよびエステラーゼのザイモグラムには、母本のチモシー (1646) 由来のバンドの他に、父本のオーチャードグラス (Kitamidori3) 由来のバンドが見られた (Fig. 3, 4)。

これらのことからNo.16はチモシーとオーチャードグラスのゲノムを完全に合わせ持つ雑種であると結論された。

〔Fig 1 ~ Fig 4〕



Fig.1. Intergeneric hybrid plant between *Phleum pratense* L. and *Dactylis glomerata* L.



Fig.2. Root-tip cell of the *Phleum pratense* L. × *Dactylis glomerata* L. hybrid plant with the somatic chromosome number of 35.

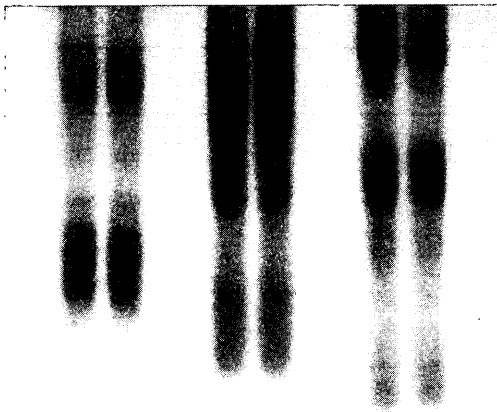


Fig.3. The electrophoretic banding patterns of leaf peroxidase isozymes in *Phleum pratense* L., female parent (two left zymograms), *Dactylis glomerata* L., male parent (two right zymograms) and intergeneric hybrid plant (two middle zymograms).

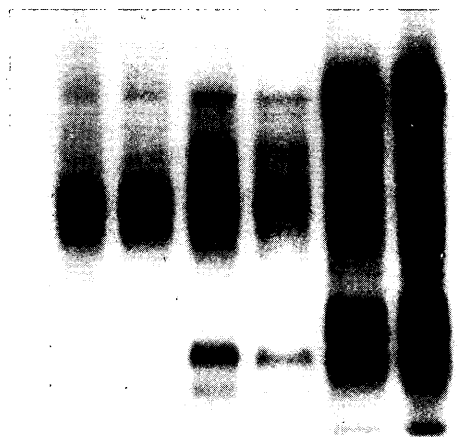


Fig.4. The electrophoretic banding patterns of leaf esterase isozymes in *Phleum pratense* L., female parent (two left zymograms), *Dactylis glomerata* L., male parent (two right zymograms) and intergeneric hybrid plant (two middle zymograms).

考 察

チモシーおよびオーチャードグラスを用いた属間雑種作出の試みは、Park, B. H. (1989)ら⁴⁾によって *Lolium multiflorum* (2x, 4x) × *Dactylis glomerata*, *Lolium multiflorum* (2x, 4x) × *Phleum pratense* の交雑で得られた胚をカルスを経て植物体に再分化させた例、およびF. Matzk (1981)²⁾ による *Festuca arundinacea* Schred. *Dactylis glomerata* L の雑種を胚培養によって作出した例があるが、チモシー×オーチャードグラス雑種の作出は本報告が最初の成功例である。

北海道東部の寒冷寡雪地帯では、越冬性に優れ、かつ再生の良好な放牧用のイネ科牧草の育成が必要とされている。本報告で越冬性に優れたチモシーと、再生の良好なオーチャードグラスの間で雑種が得られたことは、両者の優れた特性を合わせ持つイネ科牧草の作出に道を開くものである。

今後、交雑胚の摘出時期と、胚培養の培地条件を検討し、雑種植物の獲得率の向上を図りたい。

引用文献

- 1) Brewbaker, J., M. D. Upadhyya, M. Yrjo and T. Macdonald (1968) Isozyme polymorphism in flowering plants. III Gell electrophoretic methods and application *Physiologia plantarum* 21, 930-94.
- 2) Matzk, F. (1981) Successful Cross Between *Festuca arundinacea* Schred. and *Dactylis glomerata* L. *Theor. Appl. Genet.* 60, 119-122.
- 3) 中住晴彦・古谷政道・下小路英男・川村公一 (1991) チモシー (*Phleum pratense* L.) × メドウフオックステイル (*Alopecurus pratensis* L.) の属間雑種について、北草研報24、128-131
- 4) Park, B. H.; Kim M. H (1989) Studies on the interspecific and intergeneric hybridization in herbage grasses. I. Effects of hybrid embryo age on callus formation and plant regeneration. *Journal of the Korean Society of Grassland Science.* 9(2), 62-67.
- 5) 山本多聞・桃谷好英 (1971) ペルオキシターゼ・アイソザイムのゲル・エレクトロフォーカシングによる分離と検出、植化調 6、187-189.

SUMMARY

Intergeneric hybrid between *Phleum pratense* L. (2n=42) and *Dactylis glomerata* L. (2n=28) was produced by embryo culture method. Root tip cells of the plant possessed the expected somatic chromosome number of 35. The plant possessed the major bands of leaf peroxidase and esterase isozymes derived from the male parent as well as from the female parent.