HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Melilotus 属の種間雑種に関する育種学的基礎研究 : 第XII報　種間雑種 Melilotus segetalis x F1の細胞学的研究
Author(s)	喜多, 富美治; 前川, 雅彦; 伊勢, 一男
Citation	北海道大学農学部農場研究報告, 23, 23-28
Issue Date	1983-03-10
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/13374
Type	bulletin (article)
File Information	23_p23-28.pdf

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

北海道大学農学部農場研究報告第23号：23～28（1983）

Melilotus 属の種間雑種に関する育種学的基礎研究

第XII報　種間雑種 *Melilotus segetalis*×*M. infesta* F_1の細胞学的研究

喜多富美治・前川　雅彦
（北海道大学農学部附属農場）
伊勢　一男
（農林水産省農業研究センター）

緒　　言

Sweetclover 育種に於ては低クマリン含量の品種育成が，*Melilotus* 属の *Eumelilotus* 亜属に属し且つ多くの栽培種を含む *M. alba* と同亜属の野生種でクマリンを殆んど含有しない *M. dentata* との種間交雑により成功して以来，種間交雑育種の基礎となる種間相互の関係について，種々の観点から比較的多くの研究が実施されてきた[5,13,14]。

筆者らも細胞学的見地から *Melilotus* 属の種間相互の関係を明らかにする目的で，多くの交雑実験を行い，既に幾つかの種間でそれらの細胞学的関係[4,5,6,7,8,9]を報告してきた。今回は *Micromelilotus* 亜属に属する *M. segetalis* と *M. infesta* との交雑 F_1が新たに得られ，これについて細胞学的検討を加えたのでその結果を取纒め報告する。

材料及び方法

Micromelilotus 亜属に属する *M. segetalis Bdn* 863 と *M. infesta* M 70 を供試した。1979年5月から8月にかけ寒冷紗ハウス内で育成し，*M. segetalis* Bdn 863×*M. infesta* M 70 の交配を976花数について行い2粒の種子を得た。これらの種子は正常種子に比較しやゝ充実度に欠けていたが発芽し10月から翌年3月にかけて温室内で育成した。2個体とも正常に生育し形態的に両親の形質を併せ持ち，2月末に開花し，花粉稔性は10.1%を示し種間雑種 F_1 であると判定した。これら2個体の種間雑種 F_1について花粉母細胞の減数分裂に於ける染色体行動を観察した。交配方法，固定，染色および検鏡の方法は前報の通りである。

なお，供試した上記の種間雑種 F_1に先立ち，*M. infesta* M 70×*M. sulcata, segetalis* 2159 F_1が1503交配花数で1個体，および *M. infesta* 62－9×*M. segetalis* Bdn 863 の F_1が90の胚を培養し1個体得られた。*M. sulcata, segetalis* 2159 はカナダから導入された種であるが，*M. segetalis* と同じ染色体構造を持ち *M. sulcata* とは異なることが確認されている。また胚培養に用いた培地は前報に報告したごとくである。これら2個体の F_1は形態的に本研究に供試した F_1個体と同じで花粉稔性は平均して14.0%を示した。しかし細胞学的な解析を十分実施出来なかったので本報告から除外した。

結　　果

交配親に用いた *M. segetalis* Bdn 863 および *M. infesta* M 70 は花粉稔性も高く，花粉母細胞の減数分裂に於ける染色体行動も正常で細胞学的に安定した種である。なお，両親とも基本数8の2倍体で存在する。

種間雑種 *M. segetalis* Bdn 863×*M. infesta* M 70 F_1は高度の花粉不稔を示し，F_1から稔実種子は殆んど得られなかった。

F_1の花粉母細胞の減数分裂に於ける染色体行動を検討したが，Metaphase-1 の観察結果が Table 1 および Fig. 1 に示されている。すなわち，1 IV＋6 II が全観察細胞数の71.4%を占め

Table 1. Chromosome pairing at metaphase-1.

Cross combination		Frequencies of cells with						Total
		1IV+6II	1IV+5II+2I	1III+6II+1I	7II+2I	6II+4I	8II	
M. segetalis Bdn863 x *M. infesta* M70	Obs.	162	11	30	13	5	6	227
	(%)	(71.4)	(4.8)	(13.2)	(5.7)	(2.3)	(2.6)	(100.0)

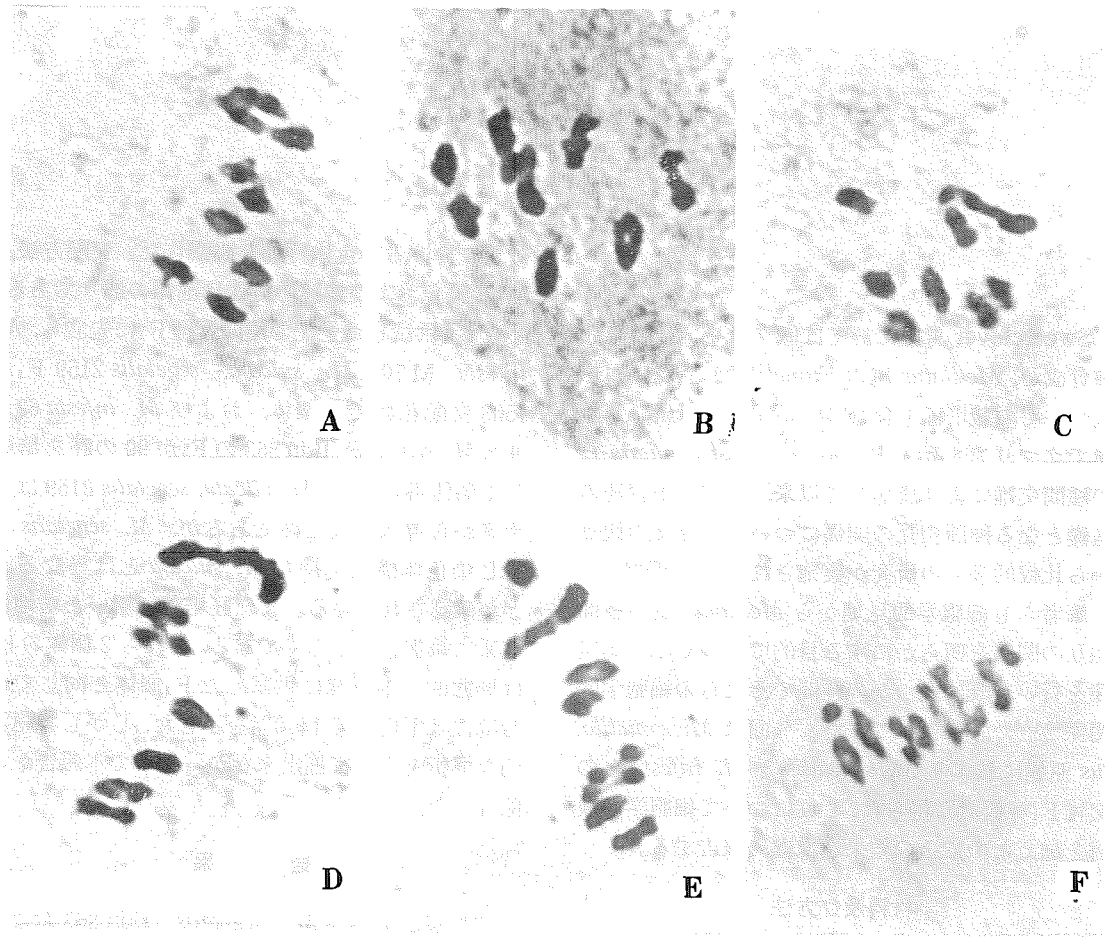

Fig. 1. Chromosome configuration at metaphase-1 of the interspecific F_1 hybrid, *M. segetalis* Bdn 863 x *M. infesta* M70.
A : $1_{IV}+6_{II}$. A ring of 4 chromosomes.
B : $1_{IV}+6_{II}$. N type of 4 chromosomes.
C : $1_{IV}+6_{II}$. V type of 4 chromosomes.
D : $1_{IV}+6_{II}$. I type of 4 chromosomes.
E : $1_{III}+6_{II}+1_{I}$
F : $7_{II}+2_{II}$.

る。このIV価の形成を基本として，時によりこのIV価から1～2本の染色体が離反することと，本来II価を形成すべき染色体が早期に離反することにより，Table 1に示される頻度で他の接合型が出現した。またIV価はO型 (Fig. 1_A)，N型 (Fig. 1_B)，V型 (Fig. 1_C)，およびI型 (Fig. 1_D) のごとく alternate separation および adjacent separation に結果する種々の接合型が観察され

Table 2. Chromosome behavior at anaphase-1.

Cross combination	Frequencies of cells with									Total
	Normal	9-7	1B+1F	1B+2F	1B	1F	1F+1Ld	2F+1Ld	Lds	
M. segetalis Bdn863 Obs. x	112	18	7	3	4	5		3	17	169
M. infesta M70 (%)	(66.3)	(10.7)	(4.1)	(1.7)	(2.4)	(3.0)		(1.7)	(10.1)	(100.0)

B: Dicentric chromatid bridge F: Acentric fragment Ld: Lagging chromosome

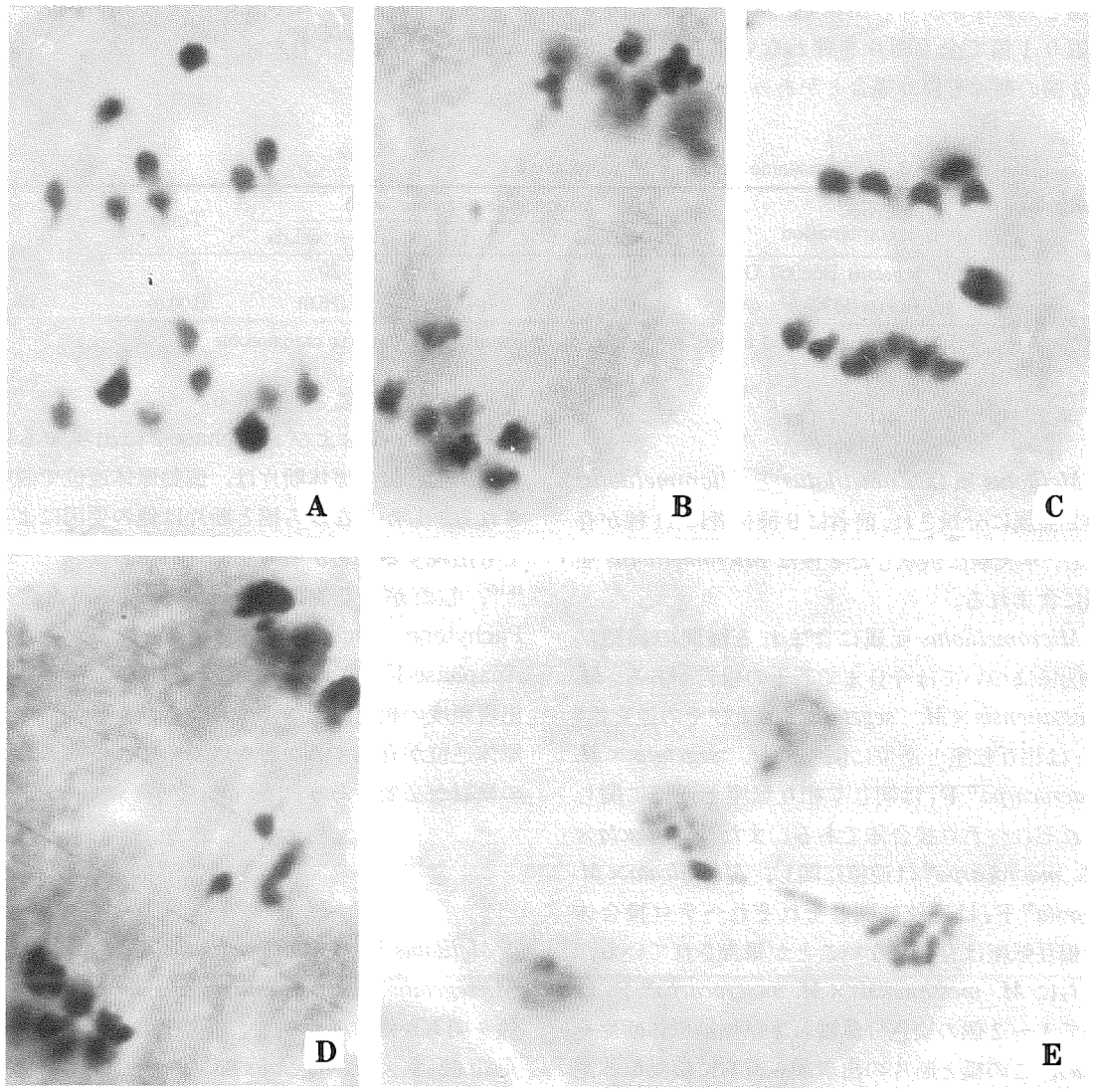

Fig. 2. Chromosome behavior at anaphase-1 and anaphase-2 of the interspecific F_1 hybrid, *M. segetalis* Bdn 863 x *M. infesta* M70.
A : Anaphase-1. Normal 8-8 separation.
B : Anaphase-1. A dicentric chromatid bridge and an acentric fragment.
C : Anaphase-1. Lagging chromosomes.
D : Anaphase-1. A lagging chromosome and chromatid separation
E : Anaphase-2. A chromatid bridge.

た。

Anaphase-1の観察結果がTable 2およびFig. $2_{A.B.C.D}$に示されている。すなわち，169細胞について観察した結果66.3%の細胞では染色体行動は正常であったが，その他の細胞に於て種々の異常が出現した。その主たるものは染色分体橋と無動原体断片の出現で，橋は本実験に関する限り1箇で全く断片を伴わない場合および1～2箇の断片を伴う場合とがあった。また橋は認められないが1～2個の断片が出現する場合が観察された。その他9～7の不等分離，および遅滞染色体の出現等の異常が認められた。

Anaphase-2の観察結果がTable 3およびFig. 2_Eに示されている。すなわち，77細胞中67.5%が正常であると考えられるが他は染色分体橋，無動原体断片，遅滞染色体の出現および小核の形成等の異常が観察された。

Table 3. Chromosome behavior at anaphase-2.

Cross combination		Frequencies of cells with			Total
		Normal	1B	Fs+/orLds	
M. segetalis Bdn863 × *M. infesta* M70	Obs.	52	5	20	77
	(%)	(67.5)	(6.5)	(26.0)	(100.0)

B: Dicentric chromatid bridge　F: Acentric fragment　Ld: Lagging chromosome

考　　察

*Melilotus*属は*Eumelilotus*と*Micromelilotus*の2亜属に分類され，前者に9種後者に11種が存在し，本実験に供試した2種は*Micromelilotus*亜属に含まれる。

*Micromelilotus*亜属に含まれる種間の細胞学的関係については今日まで若干の報告がある。*M. messanensis*×*M. segetalis*[14]およびその逆交雑[4] F_1は相互転座と逆位に関し，*M. segetalis*×*M. macrocarpa*[7] F_1は同じく相互転座と逆位に関しそれぞれヘテロ接合体である。また*M. sulacta*×*M. macrocarpa*[6]は逆位に関し，*M. sulcata*×*M. infesta*[8] F_1は逆位に関しそれぞれヘテロ接合体で相互転座は存在しないことが報告されている。さらに*M. messanensis*×*M. macrocarpa*[9] F_1に於て1～2個の染色分体橋および無動原体断片を認め，この橋と断片の出現から直ちに偏動原体逆位に結びつけるにはさらに詳細な検討を要することを指摘している。

本実験に供試した*M. segetalis* Bdn 863×*M. infesta* M 70 F_1の減数分裂のMetaphase-1に於て1個のIV価が明らかに出現する。*Melilotus*属のすべての種は2 n＝16で2倍体で存在していることから，このIV価は明らかに相互転座に由来すると結論することが出来る。

Anaphase-1およびAnaphase-2に出現する染色分体橋と無動原体断片は，偏動原体逆位で説明される。しかしながら橋と断片は他の要因によっても出現することが明らかにされており[1,2,3,10,11,12,-15,16]，したがって他の組合せの種間雑種も含めPachytene analysis，出現する断片の大いさ，Anaphase-1とAnaphase-2に於ける橋と断片の出現頻度の相互関係等の観点から，本種間に偏動原体逆位が存在するか否かについて，さらに今後の検討が必要である。

摘　　要

*Melilotus*属の*Micromelilotus*亜属に属する*M. segetalis*と*M. infesta*の2種間の細胞学的関係を明らかにする目的で，胚培養により*M. infesta* 62-9×*M. segetalis* 863 F_1を1個体，通常の交配により*M. infesta* M 70×*M. sulcata, segetalis* 2159 F_1を1個体，*M. segetalis* Bdn 863×*M. infesta* M 70 F_1を2個体育成し，これらのうち*M. segetalis* Bdn 863×*M. infesta* M 70の2個体を供試し花粉母細胞の減数分裂に於ける染色体行動を検討した。得られた結果は次のごとくである。

1．種間雑種F_1の花粉稔性は10.1%を示し高度

の不稔で F_1 個体の種子稔性は殆んど皆無であった。

2．Metaphase-1 で1個のIV価が出現したが，このIV価は両種間に相互転座による染色体の構造差が存在することによる。

3．Anaphase-1 に於て，1個の染色分体橋に1～2個の無動原体断片，または染色分体橋は存在せず1～2個の無動原体断片が存在する異常が認められた。Anaphase-2 に於ても染色分体橋および無動原体断片が観察された。これは偏動原体逆位で説明出来るが，他の要因でも出現する可能性もあり，さらに今後の検討が必要であると考える。

謝辞

本研究の遂行に当り，文部技官飛渡正夫，八嶋康広，渡会万治の3氏にご協力を戴いた。こゝに記して深甚なる謝意を表する。

引　用　文　献

1．BRANDHAM, P. E. : Inversion heterozygosity and sub-chromatid exchange in *Agave stricta, Chromosoma* (Berl.), **26** : 270-286. 1969

2．HAGA, T. : Meiosis in *Paris*. II. Spontaneous breakage and fusion of chromosomes, *Cytologia*, **18** : 50-66. 1953

3．JONES, G. H. : Further correlations between chiasmata and U-type exchange in rye meiosis, *Chromosoma* (Berl.), **26** : 105-118. 1969

4．喜多富美治：*Melilotus* 属の種間雑種に関する育種学的基礎研究，第II報　種間雑種 *Melilotus segetalis* × *M. messanensis* の細胞学的研究，北大農場報告，**12** : 74-82. 1964

5．KITA, F. : Studies on the genus *Melilotus* (sweet-clover) with special reference to interrelationships among species from a cytological point of view, *J. Fac. Agr. Hokkaido Univ.*, *54* : 23-122. 1965

6．喜多富美治・新関稔：*Melilotus* 属の種間雑種に関する育種学的基礎研究，第III報　種間雑種 *Melilotus sulcata* × *M. macrocarpa* の細胞学的研究，北大農場報告，**13** : 1-7. 1965

7．喜多富美治・新関稔：*Melilotus* 属の種間雑種に関する育種学的基礎研究，第IV報　種間雑種 *Melilotus segetalis* × *M. macrocarpa* の細胞学的研究，北大農場報告，**14** : 21-26. 1966

8．喜多富美治・新関稔：*Melilotus* 属の種間雑種に関する育種学的基礎研究，第V報　種間雑種 *Melilotus sulcata* × *M. infesta* の細胞学的研究，北大農場報告，14 : 27-31. 1966

9．喜多富美治・前川雅彦・伊勢一男・新関稔：*Melilotus* 属の種間雑種に関する育種学的基礎研究，第XI報　種間雑種 *Melilotus messanensis* × *M. macrocarpa* F_1 の細胞学的研究，北大農邦文紀，**13** : 235-241. 1982

10. LEWIS, K. R. and B. JOHN : The meiotic consequences of spontaneous chromosome breakage, *Chromosoma* (Berl.), **18** : 287-3040 1966

11. MATSUURA, H. : Chromosome studies on *Trillium Kamtschaticum* Pall. and its allis. XIX. Chromatid breakage and reunion at chiasmata, *Cytologia*, **16** : 48-57. 1950

12. NEWMAN, L. J. : Bridge and fragment aberrations in *Podophyllum pelatum, Genetics*, **53** : 55-63. 1966

13. SANO, Y. and F. KITA : Cytological studies of several interspecific F_1 hybrids in the subgenus *Eumelilotus, J. Fac. Agr. Hokkaido Univ.*, **58** : 225-246. 1975

14. SHASTRY, S. V. S., W. K. SMITH, and D. C. COOPER : Chromosome differentiation in several species of *Melilotus, Amer. J. Bot.*, **47** : 613-621. 1960

15. STUTZ, H. C. : Genetically controled chromosome breakage as an isolation barrier in the origin and maintenance of *Secale ancestrale, Can. J. Gene. Cytol.*, **18** : 105-109. 1976

16. WALTERS, M. S. : Spontaneous breakage and reunion of meiotic chromosome in the hybrid *Bromus trinii* × *B. bnaritimus, Genetics*, **35** : 11-37. 1950

Cytological Study of the Interspecific F_1 Hybrid, *Melilotus segetalis* x *M. infesta*

FUMIJI KITA · MASAHIKO MAEKAWA
(Experiment Farms, Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo, Japan)
KAZUO ISE
(Central Agricultural Experiment Station, Ministry of Agriculture, Forestry, and Fishery, Konosu 365, Japan)

Summary

The cytological relationships of two species, *Melilotus segetalis* and *M. infesta* were evaluated by studying the chromosome behaviors at meiosis of pollen mother cells of the parents and their interspecific F_1 hybrid. Two interspecific F_1 plants were obtained in the cross combination, *M. segetalis* Bdn 863 x *M. infesta* M70, and used for cytological analysis. The results obtained are as follows :

1. The parental species (2n=16), *M. segetalis* Bdn 863 and *M. infesta* M70, were high in pollen fertility and the chromosome behaviors at meiosis were completely normal. Pollen fertility of the F_1 hybrid were low, about 10.1%.

2. At metaphase-1, $1_{IV}+6_{II}$ configurations were observed in the frequency of 71.4%. The presence of a ring or chain of 4 chromosomes revealed that the interspecific F_1 hybrid was heterozygous for a reciprocal translocation.

3. At anaphase-1 and anaphase-2, the abnormal chromosome behaviors such as a dicentric chromatid bridge, acentric fragments, lagging chromosomes, micronuclei, and unequal disjunctions were observed. The further studies are needed to determine whether a dicentric chromatid bridge and acentric fragments observed at these meiotic stages are derived from paracentric inversion or not.