



Title	Beta 属のアイソザイム変異と系統分化に関する研究
Author(s)	阿部, 純; Abe, Jun
Citation	北海道大学農学部邦文紀要, 17(3), 324-355
Issue Date	1991-03-30
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/12131
Type	departmental bulletin paper
File Information	17(3)_p324-355.pdf



Beta 属のアイソザイム変異と系統分化に関する研究¹⁾

阿 部 純

(北海道大学農学部工芸作物学講座)
(平成 2 年 10 月 29 日受理)

Isozyme Variation and Phylogeny in the Genus *Beta*

Jun ABE

(Laboratory of Industrial Crops, Faculty of Agriculture,
Hokkaido University, Sapporo, 060, Japan)

目 次

第 1 章 序 論
第 2 章 <i>Beta</i> 属の種分類
第 3 章 <i>Beta</i> 節のアイソザイム変異
第 1 節 緒 言
第 2 節 電気泳動法と酵素染色法
第 3 節 アイソザイム変異の遺伝解析
第 4 節 種間のアイソザイム変異
第 5 節 考 察
第 4 章 <i>Beta</i> 節種間の生殖障害
第 1 節 緒 言
第 2 節 F ₁ 雑種の花粉および種子稔性
第 3 節 F ₂ 雑種崩壊
第 4 節 考 察
第 5 章 種間雑種後代の異常分離と 生殖障害の遺伝機構
第 1 節 緒 言
第 2 節 戻し交雑世代の異常分離
第 3 節 酵素遺伝子座と花粉不稔性との関連
第 4 節 考 察
第 6 章 生育習性の分化の遺伝機構
第 1 節 緒 言
第 2 節 1 年生習性の遺伝機構
第 3 節 開花習性の遺伝機構
第 4 節 考 察
第 7 章 総合考察
第 8 章 摘 要
引用文献
Summary

第 1 章 序 論

育種は遺伝変異の人為的な操作であり、進化の要因や過程の理解に基づく応用科学である⁷⁶⁾。

育種の基本は、一つに遺伝変異の作出にある。これは主に品種内外の交雑による遺伝子組換えや人為突然変異に依存するが、近縁野生種の持つ遺伝特性も作物の適応性や安定性の向上に貢献してきた^{38,80)}。近年の目覚ましい育種の進歩に伴い、栽培種の遺伝変異が枯渇するにつれ、多くの作物で近縁野生種に対する遺伝資源としての重要性が増大している。

北海道の基幹作物の一つであるテンサイ (*B. vulgaris* L. var. *saccharifera*) においても、他の作物同様に遺伝変異の狭さが指摘されてきた^{9,22,42)}。特に、その育種に不可欠な雄性不稔細胞質、1 年生因子および自殖因子などの遺伝特性は、育種目標となった病虫害抵抗性や単胚性ととともに既存の品種内より見いだされたものであり、今後の育種を考えたとき、遺伝変異の拡充が重要な課題である。古くから、その供給源として近縁野生種が注目され、これまでも *B. maritima* の褐斑病や根腐れ病抵抗性^{39,52)} および雄性不稔細胞質^{9,15)}、*Procumbentes* 節野生種のネマトーダ抵抗性^{40,71,72,79,95)} のテンサイへの導入が試みられてきた。

野生種利用の基礎となる *Beta* 属の系統分化の研究は、交雑親和性^{31,60,82)}、ゲノム分析^{8,14,73)}、核型分析^{6,7)}、生理・形態形質の比較^{28,29,30,89,97)} および葉緑体 DNA の制限酵素分析⁴⁵⁾ など、多角的な角度から進められてきた。これらの研究も、この属の系統分化

¹⁾ 本論文は、北海道大学農学博士論文の一部である。

を理解する上で十分な成果を与えてきたが、未解決な問題も多く残されている。特に、種分化や系統分化の遺伝的様相の理解に乏しいのが現状であろう。

系統分化を理解する第一の基本は、種間の遺伝的類似性を的確に評価することにある。従来、種間の類似性を評価する上で、生理・形態形質が中心的な役割を果たしてきたが、それらの多くは一般に複雑な遺伝機構に支配され、必ずしも表現型の類似性が遺伝的類似性を反映する訳ではない。また、異なる分類群間の収斂進化や平行進化が、表現型に基づく遺伝的類似性の評価を困難にする。

それに対し、同じ基質特異性を有するが分子量や電気的性質の異なる酵素分子種、すなわちアイソザイムの解析は、遺伝子の直接産物の比較を可能にし、分類群間の遺伝的類似性を的確に評価しうること¹⁸⁾から、系統分化の研究を始め集団遺伝学的研究に広く用いられてきた。また、アイソザイムの相加的な形質発現が、倍数体種の進化機構を解析する上においても有効である^{33,56,67)}。

系統分化を理解する第二の基本は、系統分化に付随した進化機構や形質進化の遺伝的様相を理解することにある。特に、異なる種の遺伝特性を栽培種の改良に利用するには、種間差の遺伝機構を明らかにすることが不可欠であろう。

一般に、種間の遺伝解析は、種内とは異なり、遺伝的不和合による雑種形成の阻害や接合体致死による分離集団サイズの減少により容易ではない。また、十分な雑種後代が得られる場合でも、異常分離が遺伝解析を困難にする。このような場合、イネ種間や変種間の不稔性^{58,68,70)}や矮性遺伝子⁴⁴⁾の解析のように、着目する特性の同質遺伝子系統の解析が有効な方法であろう。しかし、同質遺伝子系統の育成には多くの年月を必要とするばかりではなく、種ゲノムを構成する多数の遺伝子間の相互作用を理解するには必ずしも適切な方法ではない。それに対し、コムギにおける染色体置換系統^{48,54)}やトマトやトウモロコシにおける標識遺伝子^{51,86)}を用いた既知染色体との連鎖分析は、間接的ではあるが複雑な分離を示す形質の遺伝解析に有効である。さらに、これらの方法は、種間の連鎖群の異同や形質進化に及ぼす連鎖群の相対的役割を明らかにする上でも有用である。しかし、染色体置換系統や標識遺伝子の利用は特定の植物に限られているのが現状であり、本研究の対象とするテンサイでは、利用しうる標識遺伝子が少

なく十分な連鎖群も確立していないことから、他の手段に頼らざるを得ない。

近年、アイソザイムの染色体標識としての有用性が、トマト^{86,98)}、トウモロコシ⁸³⁾、コムギ³⁸⁾を始め多くの作物で報告されてきた。特に、アイソザイムは、

(1) 多くの場合遺伝子発現が特定の組織や発育段階に限られず、発芽種子や幼苗期に遺伝子型が同定できること、(2) 一般に共優性で、遺伝子座間にエピスタシスが存在しないこと、(3) 植物体に有害な副次的効果を持たず多数の遺伝子座の変異を一度に解析できることから、従来の生理・形態的標識に比べ染色体標識として優れている⁸⁴⁾。したがって、テンサイのように既存の標識遺伝子が少ない作物では、異なる種間の遺伝解析の染色体標識として、種内外に自然に存在するアイソザイム変異の利用が有効であろう。

本研究は、以上の視点に基づき、Beta 属種間のアイソザイム変異を明らかにし、種間の生殖障害と併せて種間関係を論じるとともに、アイソザイム変異を染色体標識とした解析から、Beta 属の系統分化や形質進化の遺伝機構を明らかにすることを目的とした。

本研究の遂行ならびに本論文の取りまとめに当たり、御懇篤なる御指導と御鞭撻をいただいた津田周彌博士に厚く感謝の意を表します。また、本論文を草するにあたり、終始、御懇篤なる御指導と御助言をいただいた後藤寛治博士、木下俊郎博士ならびに島本義也博士に謹んで感謝の意を表します。

第2章 Beta 属の種分類

生理・形態形質に基づく Beta 属の分類は、TRANSEL⁸⁸⁾、URBRICH⁹¹⁾およびZOSSIMOVICZ⁹⁹⁾により試みられ、COONS¹⁶⁾が交雑親和性を基準にこれらを総括して、*Vulgares*、*Corollinae*、*Nanae*および*Patellares*の4節13種を分類した。これらに加え、*B. corolliflora*と*B. intermedia*が*Corollinae*節に^{17,46)}、*B. adanensis*が*Vulgares*節に含まれる¹²⁾。しかし、*Vulgares*および*Patellares*の節名は、分類学上の理由により妥当ではない¹²⁾。すなわち、*Vulgares*の節名は、この属の基準種である*B. vulgaris*が含まれることから、*Beta*節とするのが適切であり、また*Patellares*の節名も、最初に命名したTRANSEL⁸⁸⁾が国際植物命名規約を遵守しなかった

ことから、7年後にURBRICH²¹⁾が命名した*Procumbentes*を用いるのが正しい¹²⁾。本研究では、COONS¹⁶⁾の分類を基本として、BUTTER¹²⁾に従い、*Beta*および*Procumbentes*の節名を用いた。これらの分類を一括してTable 1に示した。

*Beta*節には、栽培種*B. vulgaris*に加え、*B. maritima*、*B. atriplicifolia*、*B. macrocarpa*、*B. patula*および*B. adanensis*が含まれる。これらのうち、*B. macrocarpa*、*B. patula*および*B. adanensis*は自家和合種である²¹⁾。*B. maritima*は東部地中海を中心に、*Beta*属の分布域全般にわたって分布するが、*B. macrocarpa*は地中海沿岸やカナリア諸島に、*B. patula*はマディラ諸島に、*B. atriplicifolia*は南部スペインに、*B. adanensis*は東部地中海に分布が限られている。

*Corollinae*節には、*B. macrorrhiza*、*B. trigyna*、*B. corolliflora*、*B. lomatogona*、*B. foliosa*および*B. intermedia*が含まれる。これらの種は小アジアを中心に分布し、小麦畑や路傍の雑草として生育する。また、花冠様花被を特徴とし、多年生で倍数性に変異する。

*Nanae*節には、ギリシャの山岳地帯に分布する*B. nana*のみが含まれる。

*Procumbentes*節には、4倍体種*B. patellaris*と2倍体種*B. procumbens*および*B. webbiana*が含ま

れる。これらの種はつる性の単胚で、*B. patellaris*はカナリア諸島やモロッコ、スペインなど大西洋沿岸に、*B. procumbens*はカナリア諸島やケープベルデ諸島に、*B. webbiana*はカナリア諸島に分布する。

Table 1に示したCOONS¹⁶⁾の分類は、主にテンサイ育種における野生種の利用に着目したものであり、種生物学的な観点から幾つかの問題が提起されている。特に、*Beta*節の分類は研究者によって著しく異なる。

FORD-LLOYD and WILLIAMS³⁰⁾は、分類群間の形態的類似性および遺伝子流動の障害の欠如から、COONS¹⁶⁾の分類した6種を同一種*B. vulgaris*にまとめ、*B. vulgaris*、*B. maritima*、*B. patula*および*B. adanensis*をそれぞれ亜種に、また、*B. macrocarpa*と*B. atriplicifolia*をssp. *maritima*の変種に分類した。それに対し、BUTTLER¹²⁾は、特に地中海沿岸に分布する1年生型の花器や種球の形態から、*B. adanensis*や*B. macrocarpa*をそれぞれ他種とは異なる種として分類することを推奨している。このような*Beta*節の種分類の不一致について、BUTTLER¹²⁾は、(1)この節には野生型と栽培型が存在すること、(2)有効な交雑障害が欠如していること、(3)分布域が広く、生態型が広範に分化していることを原因としてあげている。それらに加え、これまでのこの節の種間関係の研究が、主に表現型の解析を中心としたものであり、分類群間の生殖障害の解析を始めとする遺伝学的研究が少なかったことも大きな原因であろう。このように、この属の分類については幾つかの問題が未解決のまま残されているが、以下の章では、COONS¹⁶⁾の分類を主体としたTable 1の分類に基づいて、種間のアイソザイム変異や生殖障害を解析し、分類群間の遺伝的関係を検討した。

第3章 *Beta*節のアイソザイム変異

第1節 緒言

トマトやトウモロコシを初めとする多くの作物に比べ、テンサイではアイソザイム変異の解析が少なく、これまでに6酵素6遺伝子座^{77,93,94,95)}が同定されているに過ぎない。また、近縁種間の変異についても十分明らかにはされていない。

本章では、最初に、酸性フォスファターゼ、グルタミン酸オキサロ酢酸転移酵素、グルタミン酸脱水素酵素、ロイシンアミノペプチダーゼおよびパーオ

Table 1. Species in the genus *Beta*.

Section	Species
<i>Beta</i> (<i>Vulgares</i>)	<i>B. vulgaris</i> L.
	<i>B. maritima</i> L.
	<i>B. macrocarpa</i> GUSS.
	<i>B. patula</i> AITON
	<i>B. atriplicifolia</i> ROUY
<i>Corollinae</i>	<i>B. adanensis</i> PAM.
	<i>B. macrorrhiza</i> STEVEN
	<i>B. trigyna</i> WALDST et KIT.
	<i>B. corolliflora</i> ZOSSIM.
	<i>B. lomatogona</i> FISCH et MEY.
<i>Nanae</i>	<i>B. foliosa</i> (Sencu HAUSSK.)
	<i>B. intermedia</i> BUNGE
	<i>B. nana</i> BOISS. et HELDER
<i>Procumbentes</i> (<i>Patellares</i>)	<i>B. patellaris</i> MOQ.
	<i>B. procumbens</i> CHR. SMITH
	<i>B. webbiana</i> MOQ.

キンダーゼのアイソザイムの遺伝解析を行い、酵素遺伝子座を同定する。次に、同定した遺伝子座ならびに既に関与遺伝子座が明らかにされているアコニターゼ、イソクエン酸脱水素酵素、リンゴ酸脱水素酵素およびフォスフォグルコムターゼの種内外の変異を明らかにし、アイソザイム変異に基づいて *Beta* 節の種間関係を検討する。

第2節 電気泳動法と酵素染色法

電気泳動は ENDO²⁵⁾ の方法を参考に、3%のショ糖を含む13%のデンプンゲルを担体として行った。電気泳動緩衝液は、(A)水酸化リチウム-ホウ酸緩衝液⁷⁵⁾と(B)トリス-ヒスチジン緩衝液⁷⁴⁾を用いた (Table 2)。

粗酵素液は、発芽後4~5週齢の十分に展開した葉より得た。100 mg~200 mgの試料を乳鉢で粉碎した後、3 mm×6 mm (ないし10 mm)の濾紙片 (東洋 No. 2)に染み込ませ、泳動に供試した。調査した酵素は、アコニターゼ (ACO), 酸性フォスファターゼ (APH), グルタミン酸オキサロ酢酸転移酵素 (GOT), グルタミン酸脱水素酵素 (GDH), イソクエン酸脱水素酵素 (IDH), ロイシンアミノペプチダーゼ (LAP), リンゴ酸脱水素酵素 (MDH), パーオキシダーゼ (PX) およびフォスフォグルコムターゼ (PGM) の9酵素である。各酵素の染色方法を Table 3 に示した。これらの酵素のうち、酸性フォスファターゼ、グルタミン酸オキサロ酢酸転移酵素およびパーオキシダーゼは水酸化リチウム-ホウ酸緩衝液で、他の酵素はトリス-ヒスチジン緩衝液で解析した。泳動は、5℃の低温恒温器内で、前者で200 Vの定電圧下で5時間、後者で50 mAの定電流下で6時間行った。

第3節 アイソザイム変異の遺伝解析

酸性フォスファターゼ、グルタミン酸オキサロ酢酸転移酵素、グルタミン酸脱水素酵素、ロイシンアミノペプチダーゼおよびパーオキシダーゼアイソザイムの遺伝機構を、*B. macrocarpa* と *B. vulgaris* および *B. atriplicifolia* との交雑後代で解析した。

結 果

1. アイソザイム変異の遺伝解析

酸性フォスファターゼ: 陽極側に16本のバンドが観察された (Fig. 1)。移動距離の長い APH-1 に5本のバンド (1, 2, 3, 4, 5) が観察され、これらのうち、バンド1, 3, 5について遺伝解析した。バンド1を有する *B. macrocarpa* とバンド3を有する *B. vulgaris* との F₁ 雑種は両バンド (1+3型) を示し、また *B. macrocarpa* とバンド3と5を有する *B. atriplicifolia* との F₁ 雑種は1+3型と1+5型を示した。F₂ の分離頻度は、両交雑とも単因子分離の期待頻度に適合した (Table 4)。したがって、これら3本のバンドは同一遺伝子座の対立遺伝子、*Aph-1^a*, *Aph-1^b* および *Aph-1^c* に支配されていると推定した。また、バンド2と4については遺伝解析は試みなかったが、それらの変異様式は、多くの植物種で観察される単量体酵素の共優性より期待されるものであり、同定した3対立遺伝子とともに、同一遺伝子座の *Aph-1^a* と *Aph-1^b* に支配されると推定した。また、APH-2に11本のバンドが観察されたが、これらは系統内外ならびに交雑後代で単独で行動することがなく¹⁾、イネの酸性フォスファターゼ²⁶⁾で観察されたような転写後のタンパク質構造の修飾による Multiple bands と考えられた。

グルタミン酸オキサロ酢酸転移酵素: 陽極側の2カ所 (GOT-1 と GOT-2) が染色された (Fig. 1)。GOT-1 は不鮮明であったが、GOT-2 に2本のバン

Table 2. Two electrophoretic buffer systems used in this study.

Buffer system	Electrode buffer		Gel buffer		Assayed enzyme
	Component	pH	Component	pH	
A. Lithium-Borate	0.03 M LiOH	8.1	0.046 M Tris	8.2	APH, GOT, PX
	0.19 M Boric acid		0.007 M Citric acid H ₂ O		
B. Tris-Histidine	0.4 M Tris	7.5	0.003 M LiOH	7.5	ACO, GDH, IDH
	0.124 M Citric acid H ₂ O		0.019 M Boric acid		
			0.009 M Tris		LAP, MDH, PGM
			0.015 M Histidine HCl		

Table 3. Staining solutions and buffers used for isozyme assays.

Enzyme	Staining recipes	Enzyme	Staining recipes
Aconitase EC 4. 2. 1. 3	50 ml/ 0.2 M Tris-HCl buffer (pH 8.0) 20 mg cis-Aconit acid 10 mg NADP 5 mg MTT 1 mg PMS 50 mg MgCl ₂ 40 units Isocitrate dehydrogenase	Isocitrate dehydrogenase EC. 1. 1. 1. 42	50 ml/ 0.1 M Tris-HCl buffer (pH 8.0) 20 mg DL-Isocitric acid, trisodium salt 10 mg NADP 5 mg MTT 1 mg PMS 50 mg MgCl ₂
Acid phosphatase EC. 3. 1. 3. 2	50 ml/ 0.1 M Acetate buffer (pH 5.0) 30 mg α -Naphthyl-phosphate 50 mg Fast Garnet GBC 50 mg MgCl ₂ 0.5 g NaCl 100 mg PVP	Leucine aminopeptidase EC. 3. 4. 11. 1	50 ml/ 0.1 M Phosphate buffer (pH 7.0) 30 mg L-Leucine- β -naphthylamide HCl Dissolved in 5 ml dimethyl formide 50 mg Fast Garnet GBC
Gultamate oxaloacetate transaminase EC. 2. 6. 1. 1	50 ml/ Substrate solution (pH 7.4) 37 mg α -Ketoglutaric acid 133 mg L-Asparatic acid 100 mg PVP 50 mg EDTA 50 mg Fast Blue BB 5 mg Pyridoxal-5-phosphate	Malate dehydrogenase EC. 1. 1. 1. 37	50 ml/ 0.1 M Tris-HCl buffer (pH 8.0) 3 ml 1 M DL-Malate (pH 7.5) 20 mg NAD 5 mg MTT 1 mg PMS 50 mg MgCl ₂
Gultamate dehydrogenase EC. 1. 4. 1. 2	50 ml/ 0.1 M Tris-HCl buffer (pH 8.0) 1 g L-Gultamic acid, monosodium salt 20 mg NAD 5 mg MTT 1 mg PMS 1 ml/ 0.1 M CaCl ₂	Peroxidase EC. 1. 11. 1. 7	50 ml/ 0.05 M Acetate buffer (pH 5.0) 50 mg 3-Amino-9-ethylcarbazole Dissolved in 5 ml dimethyl formide 1 ml/ 0.1 M CaCl ₂ 1 ml/ 3% H ₂ O ₂
		Phosphoglucomutase EC. 2. 7. 5. 1	50 ml/ 0.1 M Tris-HCl buffer (pH 8.0) 20 mg α -D-Glucose-1-phosphate disodium salt 20 mg NAD 5 mg MTT 1 mg PMS 50 mg MgCl ₂ 20 units Glucose-6-phosphate dehydrogenase (NAD)

NAD: Nicotinamide adenine dinucleotide.

NADP: Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate.

MTT: Tetrazolium thiazolyl blue

PMS: Phenazine methosulfate

ド (1, 2) が観察された。バンド 1 を有する *B. macrocarpa* とバンド 2 を有する *B. vulgaris* の F₁ 雑種は両バンドの間に染色帯を形成し、これらの酵素タンパク質が多量体であることを示唆した。F₂ 世代では、両親型と F₁ 型が分離した (Table 4)。分離頻度は単因子分離の期待頻度に適合せず、*B. vulgaris* 遺伝子の頻度が減少したが、これらは同一遺伝子座の対立遺伝子、*Got-2*¹ と *Got-2*² に支配されていると推定した。

グルタミン酸脱水素酵素: 陽極側の 2 カ所 (GDH-1 と GDH-2) が染色された (Fig. 1)。GDH-1 は不鮮明であったが、GDH-2 に 3 本のバン

ド (1, 2, 3) が観察された。これらのうち、バンド 1 が *B. macrocarpa* で、バンド 2 と 3 は *B. vulgaris* で観察された。両種の F₁ 雑種は、バンド 1 と 2 あるいはバンド 1 と 3 の間に染色帯 (H₁ と H₂) を形成し、これらの酵素タンパク質が多量体であることを示唆した。F₁ 雑種間の兄妹交配による F₂ 世代では、*B. macrocarpa* 型 (1)、F₁ 型 (H₁ と H₂) および *B. vulgaris* 型 (2, H₃, 3) が分離した (Table 4)。分離頻度は単因子分離に適合せず、*B. macrocarpa* 遺伝子の頻度が減少したが、3 本のバンドは同一遺伝子座の対立遺伝子、*Gdh-2*¹、*Gdh-2*² および *Gdh-2*³ に支配されていると推定した。

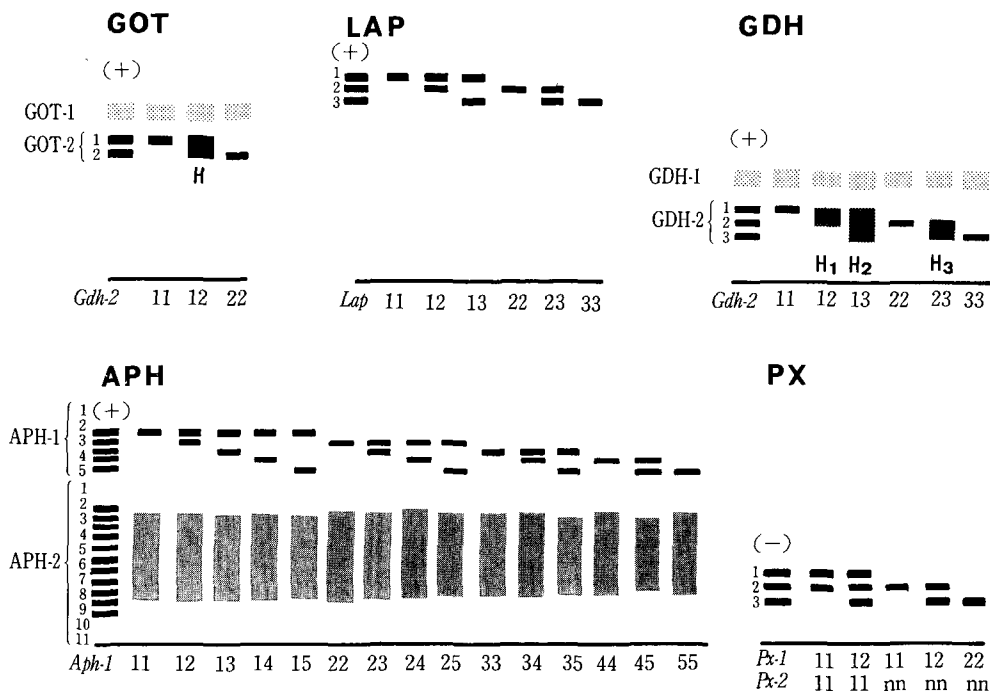


Fig. 1. Schematic of isozyme phenotypes and inferred genotypes for glutamate oxaloacetate transaminase (GOT), leucine aminopeptidase (LAP), glutamate dehydrogenase (GDH), acid phosphatase (APH), and peroxidase (PX).

Table 4. F₂ segregation for the GOT-2, LAP, GDH-2 and APH-1 isozymes in the crosses between *B. macrocarpa* and *B. vulgaris* (SP561001-0 and Seiyō Natsuna) or *B. atriplicifolia*.

Isozyme (Locus)	Crosses of <i>B. macrocarpa</i> with	Genotype of F ₁	Progeny distribution in F ₂	χ ² value ¹⁾
GOT-2	SP561001-0	(2 ¹ 2 ²)	53(2 ¹ 2 ¹)76(2 ¹ 2 ²)23(2 ² 2 ²)	11.84**
(<i>Got-2</i>)	Seiyō Natsuna	(2 ¹ 2 ²)	44(2 ¹ 2 ¹)76(2 ¹ 2 ²)28(2 ² 2 ²)	3.57
LAP	SP561001-0	(L ¹ L ² , L ¹ L ³)	10(L ¹ L ¹)19(L ¹ L ²)50(L ¹ L ³)11(L ² L ²)26(L ² L ³)36(L ³ L ³)	
(<i>Lap</i>)			10 69 73	55.31**
	Seiyō Natsuna	(L ¹ L ³)	21(L ¹ L ¹)75(L ¹ L ³)77(L ³ L ³)	39.31**
GDH-2	SP561001-0	(2 ¹ 2 ² , 2 ¹ 2 ³)	10(2 ¹ 2 ¹)35(2 ¹ 2 ²)55(2 ¹ 2 ³)7(2 ² 2 ²)15(2 ² 2 ³)24(2 ³ 2 ³)	
(<i>Gdh-2</i>)			10 90 46	25.67**
	Seiyō Natsuna	(2 ¹ 2 ² , 2 ¹ 2 ³)	6(2 ¹ 2 ¹)68(2 ¹ 2 ²)23(2 ¹ 2 ³)27(2 ² 2 ²)5(2 ² 2 ³)25(2 ³ 2 ³)	
			6 91 57	33.40**
APH-1	SP561001-0	(I ¹ I ²)	48(I ¹ I ¹)67(I ¹ I ²)37(I ² I ²)	3.72
(<i>Aph-1</i>)	Seiyō Natsuna	(I ¹ I ²)	35(I ¹ I ¹)69(I ¹ I ²)47(I ² I ²)	3.03
	<i>B. atriplicifolia</i>	(I ¹ I ² , I ¹ I ³)	43(I ¹ I ¹)14(I ¹ I ²)75(I ¹ I ³)5(I ² I ²)5(I ² I ³)20(I ³ I ³)	
			43 89 30	3.50

The genotype of *B. macrocarpa* was *Got-2*¹¹, *Lap*¹¹, *Gdh-2*¹¹ and *Aph-1*¹¹.

1). Tested against 1:2:1 for the *B. macrocarpa* type, the hybrid type, and the *B. vulgaris* or *B. atriplicifolia* type.

** : Significant at 1% level.

ロイシンアミノペプチダーゼ：陽極側に3本のバンド(1, 2, 3)が観察された(Fig. 1)。これらのうち、バンド1は*B. macrocarpa*で、バンド2と3は*B. vulgaris*で観察された。両種のF₁雑種は1+2型か1+3型を示し、これらの兄妹交配によるF₂世代では、*B. macrocarpa*型(1), F₁型(1+2, 1+3)および*B. vulgaris*型(2, 2+3, 3)が分離した(Table 4)。分離頻度は単因子分離に適合せず、*B. macrocarpa* 遺伝子の頻度が減少したが、これら3本のバンドは同一遺伝子座の対立遺伝子, *Lap*¹, *Lap*² および *Lap*³ に支配されていると推定した。

パーオキシダーゼ：陰極側の3本のバンド(1, 2, 3)に変異が認められた(Fig. 1)。バンド1と2を有する*B. macrocarpa*とバンド2と3を有する*B. vulgaris* SP561001-0のF₁雑種は、1+2型か1+2+3型を示し、これらの兄妹交配によるF₂世代では6種類のザイモグラムが分離した(Table 5)。一

方、バンド3のみを有する*B. vulgaris* var. *cicla*「西洋夏菜」と*B. macrocarpa*の交雑F₂では、*B. macrocarpa*型(1+2), F₁型(1+2+3), *B. vulgaris*型(3)がほぼ1:2:1に分離し、バンド1と2はグループとして行動した。しかし、前者の交雑で組換え型(1+3)が観察されたことから、バンド1は2の転写後の修飾によって生じたものではない。両交雑ともバンド1の存在と欠如は3:1の分離を示した。従って、バンド2と3は同一遺伝子座の対立遺伝子, *Px-1*¹と*Px-1*²に、バンド1は前者と密接に連鎖する異なる遺伝子座, *Px-2*に支配されていると推定した。

2. 連鎖関係

同定した6遺伝子座のうち、*Px-1*と*Px-2*は強く連鎖していた。他の酵素遺伝子座間ならびに植物体の着色に関与する*R*遺伝子座と酵素遺伝子座の連鎖を、F₁(*B. vulgaris* SP561001-0×*B. macrocarpa*)

Table 5. F₂ segregation for the cathodal peroxidase isozymes in the crosses between *B. macrocarpa* and *B. vulgaris* (SP561001-0 and Seiyō Natsuna).

Cross of <i>B. macrocarpa</i> with	Phenotype of F ₁	Phenotype in F ₂						χ ² value
		1 +2	1 +2 3	1 +3	2	2 +3	3	
SP561001-0	{ 1+2+3 1+2	51	62	1	9	7	22	
Segregation for band 1			114			38		0.00(3:1)
Seiyō Natsuna	1+2+3	28	78				45	
Segregation for band 1			116			45		1.86(3:1)
Segregation for bands 2 and 3		28(2)	78(2+3)			45(3)		3.99(1:2:1)

B. macrocarpa invariably had bands 1 and 2, whereas *B. vulgaris* SP561001-0 was polymorphic for bands 2 and 3, Seiyō Natsuna had only band 3.

Table 6. Linkage relation between *Got-2* and *R* in several B₁F₁ populations.

Seed parent ¹⁾	Combination of the alleles in male gametes of F ₁				Recombination value (%) ²⁾
	<i>R-2</i> ²	<i>R-2</i> ¹	<i>r-2</i> ²	<i>r-2</i> ¹	
<i>B. vulgaris</i> TK80-2-O	60	7	16	85	13.7±2.7
<i>B. macrocarpa</i>	16	2	8	37	15.9±4.6
<i>B. maritima</i> SP673000-0	76	6	32	137	15.1±2.3
Total	152	15	56	259	14.7±1.6

χ² value for heterogeneity, χ²=4.44, not significant.

1). F₁{*B. vulgaris* SP561001-0 × *B. macrocarpa*} (*R-Got-2*²/*r-Got-2*¹) was used as common male parents.
 2). Estimated by the maximum likelihood method.

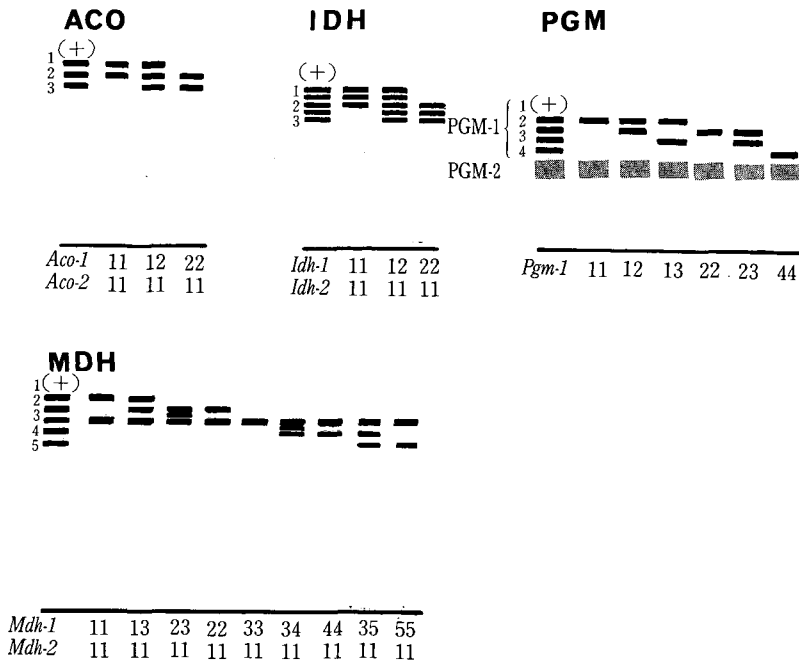


Fig. 2. Schematic of isozyme phenotypes and inferred genotypes for aconitase (ACO), isocitrate dehydrogenase (IDH), phosphoglucumutase (PGM), and malate dehydrogenase (MDH).

を花粉親として戻し交雑した 3 B₁ F₁ 集団で解析した。その結果、各酵素遺伝子座は互いに独立遺伝したが、*Got-2* と *R* の間に連鎖が認められた (Table 6)。調査した 3 交雑を込みにして最尤法より推定したところ、両遺伝子座間の組換え価は 14.7% ± 1.6% であった。

第 4 節 種間のアイソザイム変異

同定した 6 遺伝子座、ならびにアコニターゼ、イソクエン酸脱水素酵素、リンゴ酸脱水素酵素およびフォスフォグルコムターゼに關与する 4 遺伝子座 (*Aco-1*, *Idh-1*, *Mdh-1*, *Pgm-1*) について、*B. vulgaris* 16 系統、*B. maritima* 12 系統、*B. macrocarpa* 2 系統、*B. atriplicifolia*, *B. adanensis* および *B. patula* の各 1 系統の変異を調査した。なお、調査した *B. macrocarpa* の 2 系統中 1 系統はカナリア諸島に分布する 4 倍体系統である。

結 果

1. アコニターゼ、イソクエン酸脱水素酵素、リンゴ酸脱水素酵素およびフォスフォグルコムターゼアイソザイム

アコニターゼ、イソクエン酸脱水素酵素、リンゴ

酸脱水素酵素およびフォスフォグルコムターゼで観察された酵素表現型とそれらの推定遺伝子型を Fig. 2 に示した。

アコニターゼ (ACO) では 3 本のバンド (1, 2, 3) から成る 3 種類の表現型が観察された。これらのうち、バンド 1 と 3 は *Aco-1*¹ と *Aco-1*² に、バンド 2 は 単型的な *Aco-2* に支配されている⁹⁵⁾。

イソクエン酸脱水素酵素 (IDH) では 3 種類の表現型が観察された。これらの表現型は、座内外で雑種酵素を形成する二つの二量体遺伝子座、*Idh-1* と *Idh-2* に支配されている⁷⁷⁾。

リンゴ酸脱水素酵素 (MDH) では 9 種類の表現型が観察された。VAN GEYT *et al.*⁹⁵⁾ はバンド 3、バンド 3 と 5、および両バンドと両者の中間に雑種バンドを有する 3 種類の表現型の遺伝解析より、これらが座内のみで雑種酵素を形成する二つの二量体遺伝子座、*Mdh-1* と *Mdh-2* に支配されていると推定した。両遺伝子座のうち、*Mdh-2* はバンド 3 (*Mdh-2*¹) で固定した単型的な遺伝子座である。一方、他の表現型については遺伝解析されていないが、系統内外で観察された変異の様式が多く、植物種で観察される二量体酵素の共優性より期待されるも

の¹⁸⁾であったことから、*Mdh-1*に支配されると推定した。

フォスフォグルコムターゼ (PGM) では4本のバンド (1, 2, 3, 4) から成る6種類の表現型が観察された。これらのうち、バンド1と2は、単量体遺伝子座、*Pgm-1*に支配されている⁷⁾。バンド3と4については遺伝解析されていないが、MDHの場合同様に系統内外で観察された変異の様式から、*Pgm-1*に支配されると推定した。

2. 種間変異

上述した4遺伝子座ならびに前節で同定した6遺伝子座について、各々の種で観察された対立遺伝子をTable 7に示した。*B. vulgaris*では、テンサイおよびフダンソウ (var. *ciela*) の各8系統を調査した。テンサイでは、調査した10遺伝子座に関し、*Aco-1*², *Aph-1*³, *Aph-1*⁵, *Gdh-2*³, *Gdh-2*³, *Got-2*², *Idh-1*¹, *Idh-1*², *Lap*², *Lap*³, *Mdh-1*³, *Mdh-1*⁵, *Pgm-1*², *Pgm-1*³ および *Px-1*¹ の計15対立遺伝子が観察された。フダンソウでは、*Aph-1*⁵ が観察されなかったが、あらたに *Aph-1*¹, *Pgm-1*¹ および *Pgm-1*⁴ が観察され、テンサイと異なった。*B. maritima* では、*B. vulgaris* で観察された *Pgm-1*⁴ を除くすべての対立遺伝子と前者では観察されなかった *Aph-1*², *Aph-1*⁴, *Mdh-1*¹, *Mdh-1*² および *Mdh-1*⁴ が観察された。一方、*B. macrocarpa* は、*B. vulgaris* や *B. maritima* では観察されなかった *Got-2*¹, *Lap*¹, *Gdh-2*¹, *Pgm-1*⁴ および *Px-2*¹ を有し、これ

ら両種と著しく異なった。特に、*Px-2* は *B. macrocarpa* でのみ認められ、他種では表現されず null 型であった。4倍体 *B. macrocarpa* は *Got-2*² を有し、2倍体系統と異なったが、*Aco-1*, *Idh-1*, *Px-1* および *Px-2* では2倍体系統と同じ表現型を、一方残りの5遺伝子座ではヘテロ型表現型を示した。*B. atriplicifolia* および *B. patula* では、*B. vulgaris* 同様に観察されたすべての対立遺伝子が *B. maritima* でも認められ、各々の種に固有の変異は認められなかった。同様に、*B. adanensis* においても観察された対立遺伝子の多くが *B. maritima* でも認められたが、他種では稀な *Aph-1*⁴ や *B. macrocarpa* に特異的であった *Got-2*¹ と *Gdh-2*¹ を有し、*B. maritima* と異なった。

第5節 考察

5酵素のアイソザイム変異の遺伝解析より、6酵素遺伝子座を同定した。これらの遺伝子座中、*Got-2*, *Lap* および *Gdh-2* の F₂ 分離が遺伝解析に供した *B. macrocarpa* と *B. vulgaris* の交雑でメンデル比に適合せず、*Got-2* では *B. macrocarpa* 遺伝子が、*Lap* と *Gdh-2* では *B. vulgaris* 遺伝子が過剰に分離した。

酵素遺伝子座の異常分離は、配偶子や接合体の致死および受精競争などの生殖障害³⁴⁾ならびに遺伝翻訳後のタンパク質構造の修飾⁶³⁾により生じる。QURIOS and MCHALL⁶³⁾ は、バレイショの種間雑種

Table 7. The alleles at 10 enzyme-coding loci observed in six species of the section *Beta*.

locus	<i>B. vulgaris</i>		<i>B. maritima</i>	<i>B. macrocarpa</i>	<i>B. atriplicifolia</i>	<i>B. adanensis</i>	<i>B. patula</i>
	Sugar beet	Swiss chard					
<i>Aco-1</i>	1, <u>2</u>	1, <u>2</u>	1, <u>2</u>	2(2)	2	2	2
<i>Aph-1</i>	<u>3</u> , 5	<u>1</u> , 3	1, 2, <u>3</u> , 4, 5	1(1+5)	1, <u>3</u> , 5	4	1
<i>Gdh-2</i>	2, <u>3</u>	2, <u>3</u>	2, <u>3</u>	1(1+3)	3	1	3
<i>Got-2</i>	2	2	2	1(2)	2	1	2
<i>Idh-1</i>	<u>1</u> , <u>2</u>	<u>1</u> , <u>2</u>	<u>1</u> , <u>2</u>	1(1)	<u>1</u> , <u>2</u>	1	1
<i>Lap</i>	2, <u>3</u>	2, <u>3</u>	2, <u>3</u>	1(1+3)	2, <u>3</u>	3	3
<i>Mdh-1</i>	<u>3</u> , <u>5</u>	<u>3</u> , 5	1, 2, <u>3</u> , 4, <u>5</u>	1(1+3)	3	3	3
<i>Pgm-1</i>	<u>2</u> , <u>3</u>	1, <u>2</u> , <u>3</u> , 4	1, <u>2</u> , <u>3</u>	4(2+3)	1, 2, 3	2	2, 3
<i>Px-1</i>	1, <u>2</u>	1, <u>2</u>	1, <u>2</u>	1(1)	1	1	1
<i>Px-2</i>	null	null	null	1(1)	null	null	null

Underlines show predominant alleles within each taxon.

Parentheses show the phenotypes found in a tetraploid accession of *B. macrocarpa*.

後代で、変更因子の存在により共優性からは予期されない表現型を伴った異常分離をパーオキシダーゼ遺伝子座で観察した。しかし本実験の場合、F₂世代で観察された酵素表現型は、多くの植物種で観察されている単量体あるいは多量体酵素の共優性より期待される酵素表現型¹⁶⁾であり、観察された異常分離が変更因子の分離によって生じたとは考えにくい。むしろ次章以降で検討するように、異常分離は *B. macrocarpa* と *B. vulgaris* の間の様々な生殖障害に原因したと考えられる。

同定した6遺伝子座中、*Px-1* と *Px-2* は強く連鎖しており、オオムギのエステラーゼ⁴³⁾ や *Clarkia franciscana* のアルコール脱水素酵素³²⁾ で観察されたような複合遺伝子座を形成した。この両者以外、いずれも独立遺伝したが、*Got-2* は *R* 遺伝子座と14.7%の組換え価で連鎖し、第1連鎖群に所属した。*R* 遺伝子座には更に、*Idh-1* が17%の組換え価で連鎖しているが⁷⁷⁾、両酵素遺伝子座間の連鎖関係については明らかではない。

調査した10遺伝子座に関し、*B. vulgaris* で観察された *Pgm-1^a* を除くすべての対立遺伝子が *B. maritima* でも認められた。また、*B. maritima* には *B. vulgaris* では観察されなかった5個の対立遺伝子が存在し、生理・形態形質同様にアイソザイムレベルにおいても種内に多様な変異が存在した。同様に、*B. atriplicifolia* や *B. patula* で観察されたすべての対立遺伝子が *B. maritima* で認められた。それに対し、*B. macrocarpa* では、*B. maritima* では観察されなかった *Got-2¹*、*Gdh-2¹*、*Lap¹* および *Px-2¹*、ならびに稀な *Aph-1¹*、*Mdh-1¹* および *Pgm-1^a* が認められ、*Beta* 節の中でも最も遺伝的に分化していた。また、*B. adanensis* では、観察された多くの対立遺伝子が *B. maritima* でも認められたが、*B. macrocarpa* に特異的な *Got-2¹* と *Gdh-2¹* を有し、*Beta* 節の中でも *B. macrocarpa* と最も類似していた。

4倍体 *B. macrocarpa* はカナリア諸島に分布する *Beta* 節の中でも唯一の自然倍数体である¹²⁾。調査した4倍体系統は、*Aco-1*、*Idh-1*、*Px-1* および *Px-2* で2倍体系統と同じ対立遺伝子を有したが、*Aph-1*、*Gdh-2*、*Lap*、*Mdh-1* および *Pgm-1* の5遺伝子座ではヘテロ型表現型を示し、2倍体 *B. macrocarpa* に特異的な対立遺伝子に加え、*B. maritima* で観察された対立遺伝子を有した。一般に、酵素遺伝子

は共優性であることから、異質倍数体種はそのゲノム供与種の酵素遺伝子を相加的に有する^{33,56,67)}。したがって、4倍体 *B. macrocarpa* は同質倍数体ではなく、むしろ2倍体 *B. macrocarpa* とそれとは異なるゲノムから成る複2倍体であると考えられる。4倍体 *B. macrocarpa* は、減数分裂期に規則正しい18本のII価染色体を形成すること⁴⁷⁾、また葉緑体DNAの制限酵素分析から、2倍体 *B. macrocarpa* とは異なる細胞質を有すること⁴⁵⁾ が明らかにされている。これらの事実も、4倍体 *B. macrocarpa* が複2倍体起源であることを強く示唆する。

第4章 Beta 節種間の生殖障害

第1節 緒言

種間の生殖障害の解析は、種の分類や類縁関係を知る上で重要である。*Beta* 節の野生種は互いに雑種形成が容易で、生育旺盛なF₁雑種が得られる^{16,49)}ことから、これまで種間の生殖障害に関する知見が少なかった。

本章では、*Beta* 節種間の生殖障害を明らかにし、雑種崩壊の程度に基づいて、種間の遺伝的類似性を検討する。

第2節 F₁雑種の花粉および種子稔性

B. vulgaris SP 561001-0、*B. macrocarpa* および *B. patula* を片親として *B. vulgaris* var. *cicla* 「西洋夏菜」、*B. maritima* 6系統および *B. atriplicifolia* と交雑した26F₁雑種の花粉稔性を調査した。また、*B. macrocarpa* および *B. patula* を片親として *B. vulgaris* および *B. maritima* の各2系統と交雑した7F₁雑種の種子稔性を調査した。

花粉稔性は、コットンブルーによる染色花粉粒の調査全花粉粒に対する割合(%)で評価し、個体あたり2葯の平均で求めた。一方種子稔性は、個体あたり15種球の総花数に対する稔実種子の割合として求めた。F₁雑種の花粉稔性は、交雑組み合わせあたり5個体、種子稔性は3個体の平均値である。

結果

F₁雑種の花粉稔性をTable 8に示した。*B. vulgaris* SP 561001-0を片親としたF₁雑種は、*B. macrocarpa* との交雑を除き、正常な花粉稔性を示した。また、*B. patula* を片親としたF₁雑種の花粉稔性は、SP 561001-0を片親とした場合に比べやや低下したが、ほぼ正常であった。一方、*B. macrocarpa* と

Table 8. F₁ pollen fertility in interspecific hybrids of the section *Beta*.

		Pollen fertility (%) of F ₁ hybrids of the test crosses with		
		<i>B. vulgaris</i> SP561001-0	<i>B. patula</i>	<i>B. macrocarpa</i>
<i>B. vulgaris</i>	SP561001-0	—	85.4	65.8
	Seiyo Natsuna	95.0<	89.6	75.0
<i>B. maritima</i>	WB35	95.0<	86.8	73.9
	WB37	94.5	86.1	41.9
	SP581103-0	95.0<	88.7	74.7
	SP581105-0	95.0<	91.3	83.4
	SP673000-0	93.7	88.0	69.7
	SP733050-01	95.0<	77.9	75.5
<i>B. atriplicifolia</i>		95.0<	89.1	77.7

Table 9. F₁ seed fertility in interspecific hybrids of the section *Beta*.

		Seed fertility (%) of F ₁ hybrids with	
		<i>B. patula</i>	<i>B. macrocarpa</i>
<i>B. vulgaris</i>	SP561001-0	92.0	49.5
	Seiyo Natsuna	85.6	48.9
<i>B. maritima</i>	SP581103-0	91.5	45.5
	SP673000-0	not examined	52.9
Mean		89.7	49.0

他種の F₁ 雑種は、多くの交雑で花粉稔性が80%未満の部分不稔であった。

B. macrocarpa および *B. patula* と他種の F₁ 雑種の種子稔性を Table 9 に示した。*B. patula* と他種の F₁ 雑種は、親系統同様に高い種子稔性を示したが、*B. macrocarpa* と他種の F₁ 雑種では、空胚種子やしない種子が観察され、種子稔性も平均49%と低下した。

花粉と種子稔性がともに低下した *B. macrocarpa* と他種の F₁ 雑種について、稔性低下が同一の原因に起因するか否かを、F₁ (*B. vulgaris* SP 561001-0 × *B. macrocarpa*) を花粉親として *B. vulgaris* TK80-2-0 へ戻し交雑した B₁F₁ 集団で検討した。その結果、花粉稔性が低いにもかかわらず種子稔性の高い個体が観察され、花粉稔性と種子稔性はそれぞれ異なった要因に原因すると考えられた⁹⁾。

第3節 F₂ 雑種崩壊

F₁ 雑種はいずれの交雑でも旺盛な生育を示し、草姿に異状は認められなかった。次に、各 F₁ 個体間の

兄妹交配により F₂ 世代を育成し、草姿の異状や花粉稔性を調査した。

結 果

1. アルビノおよび弱勢個体の分離

B. vulgaris SP 561001-0 および *B. patula* を片親とした他種との交雑では、前者と *B. maritima* 1年生型 (WB35) の交雑を除き、F₂ 個体の草姿に異状は認められなかった。一方、*B. maritima* WB35 × *B. vulgaris* SP 561001-0 ならびに *B. macrocarpa* を片親とした他種との交雑でアルビノが分離した (Table 10)。アルビノ頻度は交雑間で異なり、*B. macrocarpa* と *B. maritima* 多年生型 (SP 581103-0 と SP 673000-0) の交雑で1%未満であったが、その他の交雑では3.4%~8.3%と、重複遺伝子を仮定したときの期待頻度、6.25%に近似した (Table 11)。

B. vulgaris SP 561001-0 との交雑で共にアルビノが分離した *B. macrocarpa* と *B. maritima* WB35 について、関与遺伝機構の相同性を、異なる F₁ 雑種間の交雑後代、F₁ (*B. maritima* WB35 × *B. vulgaris* SP561001-0) × F₁ (*B. macrocarpa* × *B. vulgaris*

Table 10. F₂ segregation of chlorotic plants in the crosses in which each of *B. vulgaris* SP561001-0, *B. patula*, and *B. macrocarpa* was used as a tester.

		Test crosses with		
		<i>B. vulgaris</i> SP561001-0	<i>B. patula</i>	<i>B. macrocarpa</i>
<i>B. vulgaris</i>	SP561001-0	-	-	+
	Seiyo Natsuna	-	-	+
<i>B. maritima</i>	WB35	+	-	+
	WB37	-	-	+
	SP581103-0	-	-	+
	SP581105-0	-	-	-
	SP673000-0	-	-	+
	SP733050-01	-	-	not examined
<i>B. atriplicifolia</i>	-	-	+	

- : Not observed. + : Observed.

Table 11. Frequencies of chlorotic plants in F₂ populations and χ^2 tests for fitness to the segregation ratio of duplicate recessive genes.

	No. of total plants	No. of chlorotic plants	Goodness of fit		
			χ^2 for 15 : 1		
<i>B. macrocarpa</i> × <i>B. vulgaris</i>					
SP561001-0	276	22	8.0% ¹⁾	2.60	10% < p < 25%
Seiyo Natsuna	240	18	7.5%	1.60	10% < p < 25%
<i>B. maritima</i> WB35 × <i>B. vulgaris</i>					
SP561001-0	375	31	8.3%	2.46	10% < p < 25%
<i>B. macrocarpa</i> × <i>B. maritima</i>					
WB37	352	19	5.4%	3.48	5% < p < 10%
SP581103-0	467	4	0.9%	23.67	p < 0.1%
SP673000-0	321	1	0.3%	19.41	p < 0.1%
<i>B. atriplicifolia</i> × <i>B. macrocarpa</i>					
	921	31	3.4%	12.65	p < 0.1%

1). Frequency of chlorotic plants.

SP 561001-0)で検討した。仮にアルビノ分離が二重劣性遺伝子(ch_1 および ch_2 と仮称する)に支配され、その遺伝機構が両交雑間で同じであれば、*B. vulgaris* SP561001-0 と両系統との F₁ 雑種間の交雑後代においても F₂ 世代同様に、6.25%のアルビノ分離が期待される。その結果、調査した 70 個体中 3 個体のアルビノが観察され、観察頻度は重複遺伝子の期待に適合した ($\chi^2=0.48$, $df=1$, $25\% < p < 50\%$)。したがって、*B. macrocarpa* と *B. maritima* WB35 は同じクロソニス遺伝子型を有すると考えられ、これを $ch_1ch_1 +_2+_2$ とすると、*B. vulgaris* SP 561001-0 の遺伝子型は $+_1+_1 ch_2ch_2$ と表され

た。一方、他種の遺伝子型は上記 3 系統との交雑結果 (Table 10) より、*B. vulgaris* 「西洋夏菜」と *B. maritima* WB 37 は SP 561001-0 と同様に $+_1+_1 ch_2ch_2$ と、*B. maritima* SP 581105-0 と *B. patula* は $+_1+_1+_2+_2$ と推定された。

アルビノの分離に加え、*B. macrocarpa* および *B. patula* と他種との交雑で、葉が肥厚し草姿の矮化した弱勢個体が分離した (Table 12)。弱勢個体の一部は幼苗期に枯死したが、その多くは開花まで達した。開花個体について花粉稔性を調査したところ、花粉稔性は 10% 未満から 90% 以上まで変異し、弱勢個体と後述する花粉不稔性の分離の間に特定の関連性は

Table 12. F₂ segregation of weak plants in the crosses of *B. patula* and *B. macrocarpa* with the other species of the section *Beta*.

		F ₂ segregation of weak plants in the crosses with					
		<i>B. patula</i>			<i>B. macrocarpa</i>		
		No. of total plants	No. of weak plants		No. of total plants	No. of weak plants	
<i>B. vulgaris</i>	SP561001-0	213	0	0.0% ¹⁾	246	0	0.0%
	Seiyo Natsuna	180	0	0.0%	212	0	0.0%
<i>B. maritima</i>	WB35	249	19	7.6%	not examined		
	WB37	not examined			215	7	3.3%
	SP581103-0	433	3	0.7%	376	1	0.3%
	SP673000-0	248	0	0.0%	180	0	0.0%
<i>B. atriplicifolia</i>		216	0	0.0%	302	16	5.3%

1). Frequency of weak plants

Table 13. Frequency distribution of pollen fertility in F₂ populations of the crosses of four species with *B. vulgaris* SP561001-0¹⁾.

		Distribution of pollen fertility (%)										No. of total plants	
		<1	-10	-20	-30	-40	-50	-60	-70	-80	-90		-100
<i>B. maritima</i>	WB35								1	1	7	51	60
<i>B. atriplicifolia</i>										3	8	71	82
<i>B. patula</i>		6	3	3	4	5	7	3	9	19	31	39	129
<i>B. macrocarpa</i>		6	3	6	8	7	10	16	29	26	19	8	139

1). *B. vulgaris* SP561001-0 was used as common male parents.

認められなかった。

2. F₂ 花粉不稔性

B. vulgaris SP 561001-0 を片親とした 1 年生野生系系統との交雑 F₂ 集団における花粉稔性の分離を Table 13 に示した。*B. maritima* WB35 および *B. atriplicifolia* と SP 561001-0 の交雑では、F₂ 個体の多くが 60% 以上の稔性を示し、50% 未満の低稔性個体は観察されなかった。一方、*B. macrocarpa* および

B. patula と SP561001-0 の交雑では、完全不稔個体が分離し、花粉稔性も 10% 未満の低稔性から 90% 以上の正常型まで連続的に変異した。また、*B. macrocarpa* と *B. patula* は *B. maritima* 1 年生型 (WB35 と WB37) や *B. atriplicifolia* との交雑においても部分不稔個体や完全不稔個体が分離した²⁾。

B. macrocarpa および *B. patula* と *B. vulgaris*

Table 14. F₂ segregation of pollen fertility under different cytoplasm in the crosses of *B. vulgaris* SP561001-0 with *B. patula* and *B. macrocarpa*.

		Distribution of pollen fertility (%)										No. of total plants	
		<1	-10	-20	-30	-40	-50	-60	-70	-80	-90		-100
<i>B. patula</i> × SP561001-0		2	2	2	1	1	2	1	2	5	11	9	38
SP561001-0 × <i>B. patula</i>		0	0	1	0	1	0	1	3	7	11	3	27
Kolmogorv-Smirnov test, D=0.172 < D _{0.05} = 0.330, not significant.													
<i>B. macrocarpa</i> × SP561001-0		6	3	6	8	7	10	16	29	26	19	8	139
SP561001-0 × <i>B. macrocarpa</i>		5	1	2	5	2	7	1	10	18	16	9	79
Kolmogorv-Smirnov test, D=0.165 < D _{0.05} = 0.194, not significant.													

SP 561001-0 との交雑について、不稔個体の F₂ 分離に及ぼす細胞質の効果を検討した (Table 14)。B. macrocarpa と B. vulgaris SP 561001-0 の交雑では、相反交雑ともに完全不稔個体や部分不稔個体が分離し、細胞質による差異は認められなかった。一方、B. patula と B. vulgaris SP 561001-0 の交雑では、調査個体数は少なかったものの、SP 561001-0 の細胞質下では完全不稔個体は観察されず、また低稔性個体の頻度も B. patula の細胞質下に比べ低いなど、不稔性分離が細胞質間で異なる傾向を示した。

第4節 考 察

Beta 節の種間雑種 F₁ および F₂ 世代の解析から、1 年生自家和合種 B. macrocarpa と B. vulgaris, B. maritima および B. atriplicifolia の間に F₁ 雑種の花粉および種子の部分不稔性、F₂ 世代におけるアルビノ、弱勢個体および不稔個体の分離が、また同じく 1 年生自家和合種 B. patula と後者 3 種の間に F₂ 世代における弱勢個体や不稔個体の分離が認められた。一方、B. vulgaris, B. maritima および B. atriplicifolia の間には、前者の 2 種間の特定交雑組み合わせでアルビノが分離したのを除き、一定した生殖障害は観察されなかった。一般に分類群間の生殖障害の程度は、それらの遺伝的分化の程度を反映する^{23,24)} ことから、上述の結果は、B. macrocarpa が Beta 節の中でも最も遺伝的に分化していることを示唆する。したがって、生殖障害の解析結果は前章のアイソザイム変異の解析結果と一致した。

第 2 章で述べたように、Beta 節の種分類は研究者によって異なる。FORD-LLOYD and WILLIAMS³⁰⁾ は、形態的類似性と交雑親和性より、B. vulgaris, B. maritima および B. patula を同一種に含まれる亜種として、また B. macrocarpa や B. atriplicifolia をそれぞれ ssp. maritima 内の変種として分類した。しかし、種間の生殖障害ならびにアイソザイム変異の解析結果に基づくならば、B. macrocarpa や B. patula はそれぞれ、B. vulgaris, B. maritima および B. atriplicifolia とは異なる種として、一方、後者の 3 種は同一種の亜種として分類することが妥当であろう。

B. macrocarpa は B. maritima 1 年生型や B. atriplicifolia と部分的に同所的である^{12,16)}。BUTTLER¹²⁾ は形態形質の解析から、地中海沿岸に分布する B. macrocarpa や B. adanensis などの 1

年生野生種は、多様な変異を有する B. maritima 多年生型から多能的に分化したと推察した。本章で観察された B. macrocarpa および B. patula と他種間の著しい生殖障害の存在も、Beta 節の種分化が単元的ではなく、多能的に生じたことを強く示唆する。

観察された生殖障害のうち、F₂ 世代で観察されたアルビノ分離の一部は重複遺伝子支配により説明できた。その遺伝子型は、種間および B. maritima 種内で変異し、B. macrocarpa は B. maritima 1 年生型 WB35 と同じ遺伝子型を示したが、同じ 1 年生型の B. maritima WB37 や B. patula とは異なっていた。このようなクロソシス遺伝子型の多型性も、これら 1 年生種が多能的に分化したことを示す証左となろう。

第 5 章 種間雑種後代における異常分離と生殖障害の遺伝機構

第 1 節 緒 言

Beta 節の中でも 1 年生種 B. macrocarpa は種固有の酵素変異体を多数有し、他種とは生殖的に隔離されていた。また、B. macrocarpa と他種との種間雑種 F₂ 世代で幾つかの酵素遺伝子座に異常分離が認められた。

本章では、B. macrocarpa と B. vulgaris および B. maritima との種間雑種戻し交雑世代の遺伝子分離の解析および酵素遺伝子座を染色体標識とした解析から、観察された異常分離の原因ならびに F₁ 不稔性の遺伝機構を検討する。

第 2 節 戻し交雑世代の異常分離

B. macrocarpa と B. vulgaris SP 561001-0 および B. maritima SP 581103-0 との交雑 F₁ (以下、F₁-A および F₁-B と略す) を花粉親 (以下、雄性戻し交雑と表す) および種子親 (以下、雌性戻し交雑と表す) として B. macrocarpa, B. vulgaris TK 80-2-0 および B. maritima 2 系統 (SP 673000-0 と WB35) に戻し交雑した B₁F₁ 集団について、第 2 章で同定した 5 酵素遺伝子座と R 遺伝子の分離を調査した。

B. macrocarpa は自家和合種である²¹⁾ ことから、この種への雄性戻し交雑は、植物体を除雄して得た。また、B. macrocarpa と他種の F₁ 雑種も部分的な自家和合性を示す²⁾ ことから、雌性戻し交雑 B₁F₁ 分離は、標識遺伝子の分離により後代で自家和合個体と戻し交雑個体を識別できた F₁-A (Lap^{1/2}) × B.

Table 15. B₁F₁ segregation for a marker locus and five enzyme-coding loci in the male backcrossing when F₁-A (*B. vulgaris* SP561001-0 × *B. macrocarpa*) was used as common male parents and the parental species and *B. maritima* as female parents.

Female parent	R			Got-2			Lap		
	+/+	+/M	$\chi^2(1:1)$	+/+	+/M	$\chi^2(1:1)$	+/+	+/M	$\chi^2(1:1)$
<i>B. vulgaris</i> TK80-2-O	29	40	1.75	32	37	0.36	35	34	0.01
<i>B. maritima</i> SP673000-0	82	170	30.73**	108	142	4.88*	152	100	10.73
<i>B. maritima</i> WB35	65	107	10.26**	67	134	8.01**	114	58	18.23
<i>B. macrocarpa</i>	21	45	8.73**	26	40	2.97	41	25	3.88
Total ¹⁾	197(+)	362(M)	48.70**	233(+)	324(M)	14.87**	342(+)	217(M)	27.95**
χ^2 for heterogeneity among female parents	$\chi^2=2.77$			$\chi^2=1.35$			$\chi^2=4.90$		

Female parent	Gdh-2			Aph-1			Px-2		
	+/+	+/M	$\chi^2(1:1)$	+/+	+/M	$\chi^2(1:1)$	+/+	+/M	$\chi^2(1:1)$
<i>B. vulgaris</i> TK80-2-O	40	27	2.52	40	29	1.75	38	31	0.71
<i>B. maritima</i> SP673000-0	162	81	27.00**	113	127	0.82	116	136	1.59
<i>B. maritima</i> WB35	110	57	16.82**	50	60	0.91	101	71	5.23*
<i>B. macrocarpa</i>	42	24	4.91*	20	46	10.24**	—	—	—
Total ¹⁾	354(+)	189(M)	50.14**	223(+)	262(M)	3.14	255(+)	238(M)	0.59
χ^2 for heterogeneity among female parents	$\chi^2=1.11$			$\chi^2=10.59^*$			$\chi^2=6.94^*$		

+ and M show the alleles from *B. vulgaris* or *B. maritima*, and *B. macrocarpa*, respectively.

1). Classified by the alleles derived from the F₁ hybrids.

*, **: Significant at 5% and 1% levels, respectively.

vulgaris TK 80-2-O(Lap^{3/3}) と F₁-B(*r/r*) × *B. vulgaris* SP 561001-0(*R/R*) について調査した。

酵素遺伝子座の分離を解析するにあたり、交雑に供試した *B. vulgaris* と *B. maritima* の各系統間に生殖障害が認められないこと、また両種が *B. macrocarpa* では観察されなかった *Aph-1*², *Aph-1*³, *Gdh-2*², *Gdh-2*³, *Got-2*², *Lap*², *Lap*³ および *Px-2*^{null} を共有したことから、両種由来の遺伝子を区別せず+遺伝子とし、*B. macrocarpa* 由来の遺伝子をM遺伝子とした。

結 果

1. B₁F₁ 分離

F₁-A を共通の花粉親とした雄性戻し交雑 B₁F₁ 分離を Table 15 に示した。調査した5酵素遺伝子座中、*Px-2* は *B. vulgaris* および *B. maritima* で null 型であったことから、*B. macrocarpa* への雄性戻し交雑では *B. macrocarpa* 遺伝子ホモ型とヘテロ型が区別できず調査しなかった。

戻し交雑に用いた種子親の種類にかかわらず、

R, *Got-2*, *Lap* および *Gdh-2* の B₁F₁ 分離が単因子分離の期待頻度と有意に異なった。分離様式は第3章の F₂ 世代の結果と一致し、連鎖対である *R* と *Got-2* では *B. macrocarpa* 遺伝子が過剰に、*Lap* と *Gdh-2* では過少に分離した。また F₂ 世代で正常な分離を示した *Aph-1* と *Px-2* においても、種子親の種類によって異常分離が認められた。特に *Aph-1* では、*B. maritima* 2 系統に戻し交雑したとき正常な分離が認められたが、*B. macrocarpa* および *B. vulgaris* TK 80-2-O へ戻し交雑したとき、それぞれの反復親の遺伝子が過剰に分離した。

雌性戻し交雑の B₁F₁ 分離を、それらの雄性戻し交雑の結果とともに Table 16 に示した。F₁-A × *B. vulgaris* TK 80-2-O では、*R* 遺伝子座を除くすべての遺伝子座に正常な分離が認められ、有意ではなかったが *Aph-1* と *Gdh-2* で *B. vulgaris* 遺伝子が過剰に分離した雄性戻し交雑の分離様式と異なった。同様に、F₁-B × *B. vulgaris* SP 561001-0 では、調査した5遺伝子座のすべてが単因子分離に適合し

Table 16. B₁F₁ segregation for a marker locus and five enzyme-coding loci in the female backcrossing and reciprocal differences of segregations.

Locus	Female backcrossing			Male backcrossing			χ^2 for heterogeneity
	+/+	+/M	$\chi^2(1:1)$	+/+	+/M	$\chi^2(1:1)$	
A: F ₁ -A × <i>B. vulgaris</i> TK80-2-O							
<i>R</i>	38	69	8.98**	29	40	1.75	0.71
<i>Got-2</i>	44	55	1.22	32	37	0.36	0.06
<i>Lap</i>	58	53	0.23	35	34	0.01	0.04
<i>Gdh-2</i>	57	54	0.08	40	27	2.52	1.17
<i>Aph-1</i>	52	54	0.04	40	29	1.75	1.33
<i>Px-2</i>	61	50	1.09	38	31	0.71	0.00
B: F ₁ -B × <i>B. vulgaris</i> SP561001-0							
<i>Got-2</i>	40	34	0.49	34	62	8.17**	5.81*
<i>Lap</i>	44	40	0.19	65	38	7.08**	2.14
<i>Gdh-2</i>	43	36	0.62	69	28	17.33**	4.86*
<i>Aph-1</i>	40	44	0.19	65	34	9.71**	5.91*
<i>Px-2</i>	40	37	0.12	52	43	0.85	0.13

F₁-A: F₁(*B. vulgaris* SP561001-0 × *B. macrocarpa*)F₁-B: F₁(*B. macrocarpa* × *B. maritima* SP581103-0)

*, **: Significant at 5% and 1% levels, respectively.

Table 17. Differential segregation between male and female backcrossings in B₂F₁ populations¹⁾ of *B. vulgaris* SP561001-0 × *B. macrocarpa*.

Locus	No. of families	No. of plants		χ^2 for	
		+/+	+/M	1:1	Heterogeneity among families
<i>Got-2</i>					
Male backcrossing	6	333	319	0.30	33.52**
Female backcrossing	4	226	293	8.65*	1.64
χ^2 for heterogeneity between male and female backcrossings, $\chi^2=6.55^*$					
<i>Lap</i>					
Male backcrossing	6	385	259	24.65**	7.10
Female backcrossing	4	255	268	0.32	6.18
χ^2 for heterogeneity between male and female backcrossings, $\chi^2=14.03^{**}$					
<i>Gdh-2</i>					
Male backcrossing	4	407	97	190.67**	23.30**
Female backcrossing	2	104	97	0.24	2.37
χ^2 for heterogeneity between male and female backcrossings, $\chi^2=48.37^{**}$					
<i>Aph-1</i>					
Male backcrossing	5	262	226	2.66	4.83
Female backcrossing	3	210	185	1.58	2.83
χ^2 for heterogeneity between male and female backcrossings, $\chi^2=0.03$					
<i>Px-2</i>					
Male backcrossing	3	171	75	37.46**	1.74
Female backcrossing	2	143	129	0.72	0.35
χ^2 for heterogeneity between male and female backcrossings, $\chi^2=14.82^*$					

1). B₁F₁ plants being heterozygous for each locus were backcrossed as male and female parents to *B. vulgaris* TK80-2-O, SP561001-0 and NK150'.

*, **: Significant at 5% and 1% levels, respectively.

たが、雄性戻し交雑では *Px-2* を除く 4 遺伝子座に異常分離が認められた。

相反交雑間で観察された分離様式の差異は、 F_1 - $A \times B. vulgaris$ TK 80-2-O の B_2F_1 世代でも認められ、*Aph-1* を除く 4 遺伝子座の分離が相反交雑間で有意に異なった (Table 17)。特に、*Lap*、*Gdh-2* および *Px-2* では、いずれも雄性戻し交雑で *B. macrocarpa* 遺伝子が著しく減少したが、雌性戻し交雑では正常な分離が観察された。*Got-2* では、雄性戻し交雑で調査全家系を込みにしたとき単因子分離に適合したが、個々の家系は異常分離を示し、雄性および雌性戻し交雑いずれにおいても異常分離が認められた。

2. 2 遺伝子分離

調査した 5 酵素遺伝子座間には連鎖関係は認められないが、それらの 2 遺伝子分離はしばしば独立遺伝から期待される遺伝子組合せと異なった。 F_1 - A を花粉親とした $4B_1F_1$ 集団について分離の独立性を G 検定した結果、全体で 5 組合せの 2 遺伝子分

離がランダムな遺伝子組合せからの期待と有意に異なった (Table 18)。これらのうち、*Lap* と *Gdh-2*、*Lap* と *Aph-1* および *Gdh-2* と *Px-2* では *B. macrocarpa* 遺伝子組合せが、*Lap* と *Px-2* では *B. vulgaris* 遺伝子組合せが、*Lap* と *Got-2* では新しい遺伝子組合せ (Lap^M と $Got-2^+$) が、それぞれ他の遺伝子組合せに比べ過剰あるいは過少に分離した。特に、*Lap* の分離は他の遺伝子座の分離と強く関連した。

非ランダムな 2 遺伝子分離は、多くの遺伝子座が正常な単因子分離を示した雌性戻し交雑でも認められた (Table 19)。 R -*Got-2* 連鎖対と *Gdh-2* の 2 遺伝子分離は、雄性戻し交雑では独立であったにもかかわらず、雌性戻し交雑では親遺伝子の組合せが、 F_1 - $A \times B. vulgaris$ TK 80-2-O では過少に、 F_1 - $B \times B. vulgaris$ SP 561001-0 では過剰に分離し、独立遺伝からの期待と有意に異なった。

第 3 節 酵素遺伝子座と花粉不稔性との関連

Table 18. Two-locus segregation in B_1F_1 populations in which F_1 - A (*B. vulgaris* SP561001-0 \times *B. macrocarpa*) was used as common male parents and the parental species and *B. maritima* as female parents.

Locus Pair A vs. B	Female parent	No. of plants				Deviation ¹⁾	G value
		A+B ⁺	A+B ^M	A ^M B ⁺	A ^M B ^M		
<i>Lap</i> vs. <i>Got-2</i>	<i>B. vulgaris</i> TK80-2-O	18	17	14	20	7	0.72
	<i>B. maritima</i> SP673000-0	67	84	41	59	1	0.28
	<i>B. maritima</i> WB35	53	60	14	44	23	8.57**
	<i>B. macrocarpa</i>	20	21	6	19	12	4.03*
<i>Lap</i> vs. <i>Gdh-2</i>	<i>B. vulgaris</i> TK80-2-O	17	17	23	10	-13	2.66
	<i>B. maritima</i> SP673000-0	88	59	74	22	-23	7.91**
	<i>B. maritima</i> WB35	69	40	41	17	5	0.92
	<i>B. macrocarpa</i>	28	13	14	11	12	0.98
<i>Lap</i> vs. <i>Aph-1</i>	<i>B. vulgaris</i> TK80-2-O	15	20	25	9	-21	6.64**
	<i>B. maritima</i> SP673000-0	57	90	56	37	-52	10.49**
	<i>B. maritima</i> WB35	33	41	17	19	-6	0.07
	<i>B. macrocarpa</i>	13	28	7	18	-4	0.10
<i>Lap</i> vs. <i>Px-2</i>	<i>B. vulgaris</i> TK80-2-O	23	12	15	19	15	3.21
	<i>B. maritima</i> SP673000-0	76	76	40	60	20	2.42
	<i>B. maritima</i> WB35	73	41	28	30	34	3.87*
<i>Gdh-2</i> vs. <i>Px-2</i>	<i>B. vulgaris</i> TK80-2-O	20	20	18	9	-9	1.80
	<i>B. maritima</i> SP673000-0	67	95	47	34	-41	5.99*
	<i>B. maritima</i> WB35	56	54	41	16	-23	6.93**

1). Calculated by $(A+B^+ + A^MB^M) - (A^+B^M + A^MB^+)$.

*, **: Significant at 5% and 1% levels, respectively.

Table 19. Two-locus segregation for a linked pair, *R* and *Got-2*, and *Gdh-2*.

Locus pairs		No. of plants				Deviation ¹⁾	G value
A	vs. B	A+B ⁺	A ^M B ^M	A ^M B ⁺	A ^M B ^M		
A: F ₁ -A × <i>B. vulgaris</i> TK80-2-O							
<i>R</i> vs. <i>Gdh-2</i>	Female backcrossing	15	23	41	28	-21	3.87*
	Male backcrossing	18	11	22	16	1	0.18
B: F ₁ -B × <i>B. vulgaris</i> SP561001-0							
<i>Got-2</i> vs. <i>Gdh-2</i>	Female backcrossing	26	13	12	18	19	4.81*
	Male backcrossing	23	43	8	18	-10	0.14

1). See Table 18.

F₁-A: F₁(*B. vulgaris* SP561001-0 × *B. macrocarpa*)

F₁-B: F₁(*B. macrocarpa* × *B. maritima* SP581103-0)

*: Significant at 5% level.

Table 20. Segregation for the partial-sterile plants in the backcrossed progeny between *B. vulgaris* and *B. macrocarpa*

Generation	Distribution of pollen fertility (%)										No. of		Frequency of PS
	-10	-20	-30	-40	-50	-60	-70	-80	-90	-100	PS	F	
B ₁ (<i>B. macrocarpa</i> , MB)		1	4	1		1	5	11	24	6	27	26	50.9%
B ₁ (<i>B. vulgaris</i> , MB)		1			2	3	8	8	7	21	24	26	48.0%
B ₁ (<i>B. vulgaris</i> , FB)		1	2	1	5	4	10	4	7	8	28	14	66.7%
χ^2 for heterogeneity between reciprocal crossings, $\chi^2=3.24$													
B ₂ (<i>B. vulgaris</i> , MB, 4 families)			1	2	7	8	14	21	9	114	56	122	31.5%
B ₂ (<i>B. vulgaris</i> , FB, 3 families)				1	3	10	20	16	17	54	57	69	45.2%
χ^2 for heterogeneity between reciprocal crossings, $\chi^2=6.00^{**}$													

PS and F show partial-sterile plants and fertile plants, respectively.

Parentheses show the direction and kind of backcrossing, and the number of families tested.

MB: male-backcrossing FB: female-backcrossing

** : Significant at 1% level.

観察された異常分離の原因の一つとして酵素遺伝子座と花粉不稔性との関連を, F₁-A を *B. macrocarpa* および *B. vulgaris* TK 80-2-O へ戻し交雑した B₁F₁ および B₂F₁ 集団で解析した。

結 果

B₁F₁ および B₂F₁ 世代の花粉稔性の分離を Table 20 に示した。戻し交雑の方向に拘わりなく部分不稔個体が分離した。花粉稔性の分離は F₂ 世代同様に連続的であったが、後者と異なり完全不稔個体は観察されなかった。花粉稔性が 85% 未満の個体を部分不稔個体と定義すると, B₁F₁ では, *B. macrocarpa* および *B. vulgaris* TK 80-2-O のいずれへ戻し交雑した場合でも, 雄性戻し交雑で約 50% の部分不稔個体が観察された。一方, TK 80-2-O への

雌性戻し交雑では, 部分不稔個体の頻度が雄性戻し交雑に比べ 67% と増加した。更に, 部分不稔個体を TK 80-2-O へ戻し交雑した B₂F₁ 集団においても, 部分不稔個体の頻度は雄性戻し交雑に比べ雌性戻し交雑で高く, 不稔性の分離様式が相反交雑間で有意に異なった。

酵素遺伝子型間の不稔個体頻度の異質性を χ^2 検定した結果, 調査した 5 遺伝子座中, *Lap* と *Gdh-2* に雄性戻し交雑で有意な遺伝子型間差異が認められた (Table 21)。*Lap* では, *B. macrocarpa* および TK 80-2-O のいずれへ戻し交雑した場合でもヘテロ型で不稔個体頻度が高く, 配偶子的に作用する不稔性遺伝子との連鎖が示唆された。一方 *Gdh-2* では, TK 80-2-O へ戻し交雑した場合のみに *B.*

Table 21. χ^2 test of heterogeneity for the frequency of the partial-sterile plants between genotypes at *Lap* and *Gdh-2* in the backcrossed progeny between *B. macrocarpa* and *B. vulgaris*

Locus	Generation	Homozygote(M/M or +/+)			Heterozygote(M/+)			χ^2 for heterogeneity
		PS	F	PS(%)	PS	F	PS(%)	
<i>Lap</i>								
	$B_1(B. macrocarpa, MB)$	5	10	33.3	22	16	57.9	2.46
	$B_1(B. vulgaris, MB)$	9	18	33.3	15	8	65.2	4.99*
	$B_1(B. vulgaris, FB)$	16	9	64.0	12	5	70.6	0.20
	χ^2 for heterogeneity between reciprocal crossings, $\chi^2=5.33$							
	$B_2(B. vulgaris, MB, 4 \text{ families})$	15	94	13.8	41	28	59.4	40.85**
	$B_2(B. vulgaris, FB, 3 \text{ families})$	24	39	38.1	33	30	52.3	2.60
	χ^2 for heterogeneity between reciprocal crossings, $\chi^2=17.34^{**}$							
<i>Gdh-2</i>								
	$B_1(B. macrocarpa, MB)$	8	7	53.3	19	19	50.0	0.05
	$B_1(B. vulgaris, MB)$	20	13	60.0	4	13	23.5	6.18**
	$B_1(B. vulgaris, FB)$	13	4	76.5	14	11	56.0	1.85
	χ^2 for heterogeneity between reciprocal crossings, $\chi^2=11.36^{**}$							
	$B_2(B. vulgaris, MB, 3 \text{ families})$	45	100	31.0	3	25	10.7	4.82*
	$B_2(B. vulgaris, FB, 2 \text{ families})$	16	20	44.4	12	19	38.7	0.23
	χ^2 for heterogeneity between reciprocal crossings, $\chi^2=32.91^{**}$							

M and + show the alleles from *B. macrocarpa* and *B. vulgaris*, respectively.

Parentheses show the direction and kind of backcrossing, and the number of families tested.

MB: male-backcrossing FB: female-backcrossing

*, **: Significant at 5% and 1% levels, respectively.

vulgaris 遺伝子ホモ型で不稔個体が過剰に分離し、胞子体的に作用する不稔性遺伝子との連鎖が示唆された。しかし、両遺伝子座ともに、雌性戻し交雑では不稔性遺伝子との連鎖関係は明確ではなかった。

第4節 考 察

B. macrocarpa と他種の交雑後代で、調査した5酵素遺伝子座と*R*遺伝子座のすべてに異常分離が認められた。遺伝子分離の歪みは、種間雑種後代でしばしば観察され、これまでも雑種不稔性^{13,58,65,68,70)}、接合体致死性^{64,86)}、受精競争^{55,66,98)}およびトマトの自家和合性⁸⁷⁾やトウモロコシの交雑不稔性⁶²⁾のような花粉と柱頭の相互作用に原因することが報告されている。第4章で明らかにしたように、*B. macrocarpa* と *Beta* 節の他種の間には様々な生殖障害が存在する。すなわち、 F_1 雑種の花粉および種子は部分不稔であり、 F_2 世代ではアルビノが分離した。しかし本章で調査した戻し交雑世代では、出芽から5ないし6週齢に至るまで致死性は認めら

れず、観察された異常分離の多くは、 F_1 雑種の配偶子形成から種子形成の過程で生じたと考えられる。

戻し交雑世代の遺伝子分離は、 F_1 雑種を花粉親あるいは種子親として戻し交雑するかにより大きく異なり、多くの遺伝子座で F_1 雑種を種子親としたとき正常に分離したが、花粉親としたとき異常分離した。このような雌性戻し交雑にのみ観察される異常分離の原因として、花粉不稔性^{13,58,68,70)}、受精競争^{55,66)}および花粉と柱頭の相互作用^{62,87)}による雌性配偶子の選択的除去が知られている。酵素遺伝子座を染色体標識とした解析から、調査した5遺伝子座中、*Lap* には配偶子体的に作用すると考えられる不稔性遺伝子が、一方*Gdh-2* には胞子体的に作用すると考えられる不稔性遺伝子が、それぞれ連鎖していた。不稔性遺伝子のうち、配偶子体的に作用する遺伝子だけが、連鎖する遺伝標識に異常分離を引き起こすことから、両酵素遺伝子座のうち、*Lap* で観察された異常分離が F_1 雑種の花粉不稔性に直接原因したと考えられる。また、両遺伝子座と不稔性

遺伝子との連鎖関係は、雌性戻し交雑では不明瞭であったことから、イネの遠縁交雑の雑種不稔性⁵⁸⁾で観察されたような受精競争による組換え型配偶子に対する選択的除去が、不稔性の分離と同時に生じている可能性が高い。

一方、*Lap* を除く他の遺伝子座の場合、異常分離の直接的原因として F_1 不稔性遺伝子との連鎖が考えられないことから、観察された異常分離の原因として、受精競争や花粉と柱頭の相互作用を考慮しなければならない。しかし、*R-Got-2* の連鎖対と *Gdh-2* の場合、雌性戻し交雑では、個々の遺伝子分離が正常であったにもかかわらず、両者の 2 遺伝子分離はランダムな遺伝子組み合わせからの期待と有意に異なった。このような遺伝子の分離様式ならびに第 4 章で観察された F_1 雑種の種子の部分不稔性から示唆されるように、 F_1 雑種の雌性配偶子の機能や受精後の胚の発育が必ずしも正常であったとはいえず、観察された遺伝子分離の相反交雑間差異が雌性配偶子の選択的除去のみに原因したとは考えられない。更に、酵素遺伝子座を染色体標識として *B. macrocarpa* の自家和合性を解析したところ、*R-Got-2* の連鎖対には自家和合性遺伝子が、一方、*Gdh-2* および *Aph-1* には種子の部分不稔性に関与する遺伝子が連鎖することが示唆された²⁾。したがって、これらの遺伝子座で観察された異常分離の原因を明らかにするには、*B. macrocarpa* の自家和合性や F_1 雑種における種子不稔性の遺伝機構を併せて解析することが必要であろう。

単因子分離の歪みに加え、酵素遺伝子座間の 2 遺伝子分離も独立遺伝からの期待としばしば異なった。特に *Lap* の分離は他の遺伝子座の分離と強く関連した。一般に、交雑の初期世代では、個々の遺伝子座は強い連鎖不平衡の状態にあり、標識遺伝子の近傍には大きな染色体断片が付随している³⁵⁾。*Lap* で観察された異常分離も、先に議論した花粉致死性のみ原因するのではなく、受精競争や接合体致死性が関与した複合的な結果であると考えらよう。染色体標識として用いた酵素遺伝子座の近傍には、単一の生殖障害ではなく複数の生殖障害に関与する遺伝子(群)が互い連鎖し、個々の酵素遺伝子座の複雑な分離をもたらしたと考えられる。

従来、種間の生殖障害に関与する遺伝機構として、単一遺伝子座の対立遺伝子間の不調和^{13,27,65,68,70)}や、重複遺伝子や補足遺伝子による遺伝子座間の相

互作用^{19,41,57,58,59,69,90,96)}が報告されてきた。戻し交雑世代で観察された非ランダムな 2 遺伝子分離は、異常分離を引き起こす生殖障害が異なる染色体上に位置する複数の遺伝子支配下にあること、また、*B. macrocarpa* と他種のゲノムが互いに調和のとれた遺伝子群から成ることを強く示唆する。

第 6 章 生育習性の分化の遺伝機構

第 1 節 結 言

Beta 節は、他節に比べ分布域が広く、種内外で生育習性や開花習性に変異する^{12,16)}。*B. macrocarpa* と *B. adanensis* は 1 年生種で、播種当年に開花し、種子形成後溺死する。*B. atriplicifolia* と *B. patula* も同様に播種当年に開花するが、良好な環境下では種子形成後栄養生長を再開する多年生である。*B. maritima* の生育習性は種内で変異し、播種当年に開花する 1 年生型と多年生型および開花に低温を必要とする多年生型を含む。2 年生作物であるテンサイにおいても、低温要求性の欠如した 1 年生型が存在する。この 1 年生型は一对の優性遺伝子に支配されている^{5,59)}が、野生種の 1 年生習性の遺伝機構は明らかにされていない。

本章では、*Beta* 節野生種の生育習性および開花習性の遺伝機構を、酵素遺伝子座と *R* 遺伝子座を染色体標識とした解析より検討する。

第 2 節 1 年生習性の遺伝機構

B. vulgaris SP 561001-0 を共通の親とした *B. maritima* 1 年生系統 (WB35)、*B. atriplicifolia*、*B. patula* および *B. macrocarpa* との交雑 F_2 集団、ならびに *B. macrocarpa* と抽苔・開花に低温を必要とする *B. maritima* 多年生型 (SP 581103-0) の交雑 F_2 集団を供試した。

これら F_2 集団を、親系統および F_1 雑種とともに温室内でペーパーポットに播種し、約 40 日間育苗した後、6 月上旬、北海道大学農学部付属農場に定植した。9 月上旬、各個体の抽苔と開花を調査した。

結 果

1 年生野生系統と *B. vulgaris* SP 561001-0 の F_1 雑種はいずれも低温処理することなく開花し、抽苔・開花に低温を必要としない非低温要求性(以下、1 年生習性とする)が要求性に対し優性であった。

F_2 世代の 1 年生習性の分離を Table 22 に示した。*B. atriplicifolia* と SP 561001-0 の交雑では、開

Table 22. F₂ segregation of annual habit in the crosses of *B. vulgaris* SP561001-0 with four species of the section *Beta*.

	R/-			r/r			Total			χ ² for Heterogeneity between groups	
	F	B	R	F	B	R	F	B	R		
<i>B. maritima</i> WB35	65	14	25	27	4	4	92	18	28	1.63	2.25
<i>B. atriplicifolia</i>	59		23	27		2	86		25	0.43	5.51*
<i>B. patula</i>	132	20	3	50	6	2	182	26	5	57.87**	0.41
<i>B. macrocarpa</i>	82	5	3	58	1	3	140	6	6	35.93**	0.22

1) Tested against 3:1 for the bolting plants and the non-bolting plants.

F: Flowering plants B: Bolting plants without flower buds R: Rossete plants.

*, **: significant at 5% and 1% levels, respectively.

花個体と未抽苔のロゼット個体がほぼ3:1に分離し、1年生習性が一對の優性遺伝子に支配されていた。*B. maritima* WB35とSP561001-0の交雑では、抽苔・開花個体とロゼット個体に加え、抽苔したが開花に至らなかった個体が分離し、抽苔個体の分離は単因子分離に適合したが、開花個体頻度は適合せず(χ²=5.11, p<5%)有意に減少した。したがって、*B. maritima* WB35の1年生習性には少なくとも二対の遺伝子が関与し、これらのうち一對は

抽苔に関与する優性遺伝子と推定できた。*B. patula*および*B. macrocarpa*との交雑では、前2種との交雑に比べ、ロゼット個体の頻度は、それぞれ2.3%および3.9%と著しく低下した。またこれらの交雑では、主茎は花芽形成しなかったが側枝が開花した個体や、主茎は存在しないが側枝が伸長し開花した個体など、生育習性に加え生育型の分離が複雑であった。

テンサイの1年生習性は一対の優性遺伝子(B)に

Table 23. G test of heterogeneity for the frequency of flowering plants among genotypes at five enzyme-coding loci in F₂ populations of the crosses of *B. macrocarpa* with *B. vulgaris* SP561001-0 and *B. maritima* SP581103-0.

Locus	Enzyme genotype						G value for heterogeneity among groups
	M/M		M/+		+/+		
	F	N	F	N	F	N	
<i>B. macrocarpa</i> × <i>B. vulgaris</i> SP561001-0							
<i>Got-2</i>	52	0	69	7	21	3	8.23*
<i>Lap</i>	10	0	66	3	66	7	2.55
<i>Gdh-2</i>	10	0	86	4	40	6	3.96
<i>Aph-1</i>	46	2	63	4	33	4	1.38
<i>Px-2</i> ¹⁾	111	3			31	7	9.05**
<i>B. macrocarpa</i> × <i>B. maritima</i> SP581103-0							
<i>Got-2</i>	58	19	89	37	20	9	0.68
<i>Lap</i>	29	7	95	30	43	28	6.64*
<i>Gdh-2</i>	6	3	97	37	64	25	0.13
<i>Aph-1</i>	50	17	83	34	34	14	0.33
<i>Px-2</i> ¹⁾	137	42			30	23	8.52**

1) Tested between M/- and +/+ because *Px-2* was not expressed in *B. vulgaris* and *B. maritima*.

F: Flowering plants N: Non-flowering plants

*, **: Significant at 5% and 1% levels, respectively.

Table 24. Test of significance for the difference in the lowest node with a seed ball¹⁾ on a central stem between the *R*/- and *r*/*r* in the crosses of *B. vulgaris* SP561001-0 with four species of the section *Beta*.

	<i>R</i> /-			<i>r</i> / <i>r</i>			t value
	No. of plants	Mean	SD	No. of plants	Mean	SD	
<i>B. maritima</i> WB35	50	13.5	4.9	22	10.9	2.9	2.31*
<i>B. atriplicifolia</i>	58	12.5	3.4	26	11.1	1.9	1.96
<i>B. patula</i>	103	13.7	5.3	40	11.0	4.2	2.89**
<i>B. macrocarpa</i>	76	6.3	3.4	63	4.2	2.0	4.32**

1). Presented by the number of nodes.

*, **: significant at 5% and 1% levels, respectively.

支配され、*R* 遺伝子座と 15.5%の組換え価で連鎖している^{5,53}。そこで、これら野生種の有する1年生遺伝子とテンサイの*B* 遺伝子との相同性を、*R* 遺伝子座との連鎖関係を通じて検討した。その結果、*B. maritima* WB35 および *B. atriplicifolia* と SP 561001-0 の交雑で、野生種由来の遺伝子のホモ型 (*r*/*r*) で着色型 (*R*/-) に比べ開花個体頻度が高く、*R* 遺伝子座とこれら野生種の1年生遺伝子との間に連鎖が認められた (Table 23)。

B. macrocarpa の1年生習性の遺伝機構を、5酵素遺伝子座を遺伝標識として解析した。調査した2交雑間で開花個体頻度が有意に異なり、*B. maritima* SP 581103-0 との交雑で、*B. vulgaris* SP 561001-0 との交雑に比べ開花個体の頻度が減少した。

酵素遺伝子型間の開花個体頻度に関する異質性のG検定の結果を Table 24 に示した。調査した5遺伝子座のうち、*Px-2* は *B. vulgaris* や *B. maritima* で null 型であったことから、*B. macrocarpa* 遺伝子のホモ型とヘテロ型が区別できず、これらをまとめて解析した。SP 561001-0 との交雑では、*Got-2* と *Px-2* で、*B. maritima* SP 581103-0 との交雑では、*Lap* と *Px-2* で、開花個体頻度に有意な遺伝子型間差異が認められた。いずれの遺伝子座でも、*B. macrocarpa* 遺伝子のホモ型あるいはヘテロ型で *B. vulgaris* あるいは *B. maritima* 遺伝子のホモ型に比べ開花個体頻度が高く、これら酵素遺伝子座の近傍に1年生習性に関与する遺伝子の存在が示唆された。したがって、*B. macrocarpa* の1年生習性には少なくとも二対ないし三対の遺伝子が関与し、これらのうち、*Px-2* と連鎖する遺伝子は交雑間で共通に

発現したが、他の2遺伝子の効果は遺伝背景で異なることが分かった。また、*Got-2* は14.7%の組換え価で *R* 遺伝子座と連鎖することから、*B. macrocarpa* も *B. maritima* WB35 や *B. atriplicifolia* と同様に、テンサイの *B* 遺伝子と類似した遺伝子を有することが推察された。

第3節 開花習性の遺伝機構

B. maritima WB35, *B. atriplicifolia*, *B. patula* および *B. macrocarpa* の開花早晚性の遺伝機構を、生育習性の解析に用いた *B. vulgaris* SP 561001-0 との交雑 F₂ 集団で検討した。

親種および分離個体の開花早晚性は、各個体の主茎上の花芽の位置により推定した。尚、前述のように、F₂ 世代ではロゼット個体や抽苔したが花芽形成をしなかった個体などが分離したことから、調査は開花個体についてのみ行った。

結 果

自生地である地中海沿岸では越年型1年生である *B. macrocarpa* は、北海道の春から夏にかけての長日条件下では、ロゼットを形成することなく抽苔し、平均2.3節の低節位から開花が始まった。同じく早生型である *B. maritima* WB35 と *B. patula* の平均着芽節位は、それぞれ6.7と7.2で、晩生型である *B. atriplicifolia* の平均着芽節位は9.6であった。一方、2年生である *B. vulgaris* SP 561001-0 の着芽節位は、越年個体を調査したところ、平均13.3節であった。

野生系統と *B. vulgaris* SP 561001-0 の F₁ 雑種の着芽節位は、それぞれ両親のはほぼ中間の値を示した。F₂ 世代の着芽節位の頻度分布は連続的であり、量的

形質に特徴的な変異が認められた。

R 遺伝子座を遺伝標識とした解析結果を Table 25 に示した。*B. atriplicifolia* との交雑を除く 3 交雑で、*R* 遺伝子座の表現型間に有意差が認められ、いずれも、着色型 (*R*/-) に比べ野生種由来の遺伝子のホモ型 (*r/r*) で着芽節位が低く、*B. vulgaris* SP 561001-0 とこれら野生種との間に観察された着芽節位の差異は、*R* 遺伝子座と連鎖する主動遺伝子(群)に部分的に支配されていることが分かった。また、*B. macrocarpa* と *B. maritima* SP 581103-0 との交雑においても、*R* 遺伝子座と連鎖する *Got-2* の近傍に同様の主動遺伝子の存在が認められている⁴⁾。

第4節 考 察

B. vulgaris SP 561001-0 を共通の親とした 1 年生野生種との交雑 F_2 世代の解析より、*Beta* 節野生種の生育習性および開花習性の遺伝機構を解析した。調査した 4 種のうち、*B. maritima* WB35 および *B. atriplicifolia* の 1 年生習性は比較的単純な遺伝機構に支配されており、前者では *R* 遺伝子座と連鎖する一対の遺伝子を含む少なくとも二対の遺伝子が、後者では *R* 遺伝子座と連鎖する一対の遺伝子が関与していた。テンサイの *B* 遺伝子も *R* 遺伝子座と連鎖していることから、これらの 2 種はテンサイの *B* 遺伝子と相同か類似した遺伝子を保有した。

一方、*B. macrocarpa* や *B. patula* の 1 年生習性の遺伝機構は、分離世代で様々な生育型が分離し、分離様式のみから関与する遺伝機構を推定するのは困難であった。両種のうち、*B. macrocarpa* の 1 年生習性については、酵素遺伝子座を遺伝標識として解析したところ、*Got-2*、*Lap* および *Px-2* と連鎖する少なくとも二ないし三対の遺伝子の存在が示唆された。これらのうち、*Got-2* は *R* 遺伝子座と連鎖することから、*B. macrocarpa* も *B. maritima* WB35 や *B. atriplicifolia* と同様に、テンサイの *B* 遺伝子と相同あるいは類似した 1 年生遺伝子を保有すると考えられる。

更に、この 1 年生遺伝子の近傍には、*B. atriplicifolia* を除き、開花早晚性に関与する主動遺伝子(群)が連鎖していた。この遺伝子は、1 年生遺伝子と *R* 遺伝子座との間に連鎖が検出できなかった *B. patula* と *B. vulgaris* SP 561001-0 の交雑においても認められたことから、1 年生遺伝子の多面発現

の結果とは考えられない。したがって、これら野生種の 1 年生習性や開花習性の分化が、それぞれ、同じ連鎖群上の相同あるいは類似した遺伝子(群)によってもたらされていることが分かった。これらの結果は、形質進化がゲノム全体に亘る微細な遺伝的变化の蓄積ではなく、むしろ特定染色体部分の遺伝的变化が重要な役割を果すことを示唆し、トウモロコシ⁵¹⁾ やオオパコ⁹²⁾ の解析結果と一致した。

異なる分類群間で観察される遺伝子の相同性は、個々の分類群が共通の起源集団から派生し、分化の過程で同祖的な遺伝子を共有した結果とも考えられよう。しかし、アイソザイム変異や生殖障害の解析結果から明らかなように、*Beta* 節の野生種にみられる 1 年生習性への分化は多元的に生じたと考えられることから、これらの遺伝子が同祖的遺伝子であるとは考えにくい。また、同じ連鎖群上に位置するテンサイの *B* 遺伝子が、MUNERRATI⁵³⁾ によって商業品種内より易抽苔個体として選抜されたことを考慮すると、テンサイを含むこれら野生種の 1 年生習性が、同一遺伝子座の平行突然変異として生じた可能性が高いであろう。

遺伝子の平行突然変異は稀な現象ではない。例えばイネの矮性遺伝子⁴⁴⁾ のように、放射線などの突然変異源により誘発された人為突然変異体が、既存の遺伝子あるいは起源を異にする突然変異体と同一の遺伝子座に支配されていることが少なくない。系統発生を異にする分類群の間で、平行突然変異により類似した形質表現が進化しうるとは、系統進化の遺伝機構を理解する上で興味深い。

第7章 総合考察

Beta 属の系統分化の研究は、交雑親和性や生理・形態形質の比較を中心に、核型やゲノム分析より多角的に進められてきた。これらもこの属の系統分化を理解する上で十分な成果を与えてきたが、未解決な問題も多く残されている。特に、*Beta* 節の種分類や種間関係については、栽培種 *B. vulgaris* を含むにもかかわらず、十分確立していない。その主な理由の一つは、従来のこの節の分類において Key character として用いられてきた花器や種球、葉形や草型などの形態形質の関与遺伝機構が十分に考慮されず、分類群間の遺伝的関係を的確に評価し得なかったことが大きな原因である。

本研究は、アイソザイム変異ならびに生殖障害の

解析を通じ、Beta 節種間の遺伝的類似性を的確に評価することを一つの目的とした。

Beta 節種間のアイソザイム変異を解析した結果、*B. vulgaris*、*B. maritima* および *B. atriplicifolia* の 3 種は互いに多くの遺伝子を共有し、近縁な関係にあったが、1 年生の自家和種 *B. macrocarpa* はこれら 3 種では観察されないか稀な遺伝子を多数有し、これら 3 種と著しく異なった。更に、*B. macrocarpa* と他種の間には、 F_1 雑種の部分不稔性、 F_2 世代でのアルビノ、弱勢個体および完全不稔個体の分離など、著しい生殖障害が発達していた。一般に、分類群間の生殖障害の程度はそれらの遺伝的分化の程度を反映することから、アイソザイム変異に基づくこれら種間の類似性は、生殖障害の解析結果からも支持され、*B. macrocarpa* は Beta 節の中でも最も遺伝的に異なると考えられた。

B. macrocarpa は地中海沿岸沿いに、*B. maritima* 1 年生型や *B. atriplicifolia* と一部同所的に分布する。しかし、開花期の違いや前者の自家和性により、これら間の遺伝子交流は非常に稀である^{12,16}。BUTTER¹² は、形態形質の比較から、これらの種が多様な変異を含む *B. maritima* 多年生型から多元的に分化したと推察したが、本研究で得られたアイソザイム変異ならびに生殖障害の解析結果も同様に、これらの種の多元的な分化を強く示唆した。

一般にアイソザイムは、共優性で座間にエピスタシスが存在しない。その結果、倍数体種はゲノム供与種のアイソザイム変異を相加的に保有する^{33,56,67}。*B. macrocarpa* の 4 倍体型はカナリア諸島に分布する Beta 節唯一の自然倍数体である¹²。この 4 倍体 *B. macrocarpa* は、調査した多くの酵素遺伝子座でヘテロ型表現型を示し、2 倍体型に特異的な対立遺伝子に加え、*B. vulgaris* や *B. maritima* で観察された対立遺伝子を保有していた。したがって、4 倍体 *B. macrocarpa* は、2 倍体 *B. macrocarpa* のゲノムに加え、それとは異なるゲノムを有する複 2 倍体であると推定された。これは、4 倍体 *B. macrocarpa* の減数分裂期の染色体行動⁴⁷ や葉緑体 DNA の制限酵素分析⁴⁵ からも支持されている。このように、アイソザイム変異の解析は、Beta 節種間の遺伝的関係を評価する有効な手段といえる。

系統分化の理解には、単に類縁性の評価のみならず、種あるいは系統としての分化に関連した進化機

構やその遺伝的様相を理解することが重要である。

多くの場合、異なる種間の遺伝解析は、遺伝的不和合による配偶子や接合体の致死性により容易ではない。また、種々の形質に関与する多くの遺伝子が同時に分離することから、着目する形質の遺伝子発現が他の遺伝子による直接的あるいは間接的な影響を受けやすい。この場合、着目する形質の同質遺伝子系統の解析が望ましいのは言うまでもない。しかし、特定の形質のみに着目するこの方法では、種間の連鎖群の異同や、種ゲノムを構成する染色体あるいは遺伝子(群)の間の相互作用を十分明らかにすることはできない。本研究では、種間に存在する酵素遺伝子座の変異を染色体標識として利用し、種間雑種後代における野生染色体の行動や複雑な分離を示す形質の遺伝機構を解析した。

Beta 節の中で最も遺伝的に分化したと考えられる *B. macrocarpa* の 1 年生習性の遺伝機構を、テンサイおよび *B. maritima* 多年生型との交雑より解析したところ、分離様式の解析からは関与する遺伝子系の複雑さが示唆されたが、酵素遺伝子座との連鎖分析により、1 年生習性が少数の主働遺伝子(群)に支配されていることがわかった。更に種間雑種戻し交雑世代の解析から、酵素遺伝子座の近傍には F_1 雑種の不稔性や接合体致死性、受精競争などの生殖障害に関与する様々な遺伝子が互いに連鎖しており、*B. macrocarpa* は、個々の遺伝子座の対立遺伝子的な差異のみならず連鎖群全体で *B. vulgaris* や *B. maritima* と異なった。

このように、遺伝標識として用いた酵素遺伝子座には、多くの形質に関与する遺伝子が互いに連鎖していた。これは、 F_2 や B_1F_1 のような分離の初期世代では、強い連鎖不平衡により染色体が大きな断片として行動すること³⁵ による。また、観察された遺伝子間の連鎖関係の中でも、特に生理・形態形質に関与する遺伝子と生殖障害に関与する遺伝子の連鎖関係は M-V linkage³⁴ として知られ、雑種後代の変異の構造に強く影響する。

遺伝標識として用いた各酵素遺伝子座の分離は、それらが異なる染色体上に位置するにもかかわらず、しばしば他の遺伝子座の分離に依存した。このような遺伝子分離にみられる座間の相互作用は、交雑に用いた *B. macrocarpa* と *B. vulgaris* および *B. maritima* のゲノムが互いに調和のとれた遺伝子群から成ることを示唆しよう。

調査した酵素遺伝子座中, *Got-2* には *B. macrocarpa* の1年生習性や開花早晚性に関与する遺伝子が連鎖していた。この連鎖群の種間の異同を, 同じ連鎖群の形態的標識遺伝子を用いて解析したところ, *B. atriplicifolia*, *B. maritima* 1年生型および *B. patula* は, それぞれ *B. macrocarpa* で認められた1年生遺伝子あるいは開花習性に関与する遺伝子と相同か類似した遺伝子を保有することが明らかとなった。前述のように, 1年生野生種は多年生型から多角的に進化したと考えられることから, これらの野生種で認められた生育習性や開花早晚性に関与する遺伝子は, 起源を同じくする同祖的遺伝子であるとするより, むしろそれぞれの種の分化の過程で平行突然変異として独自に生じたと考えられる。

Beta 節種間には, 染色体の巨視的な構造分化は認められていない^{6,7)}。これら種間にどの程度染色体の微細な構造分化が生じているのか明らかではないが, 1年生習性および開花早晚性を支配する遺伝子の類似性は, 個々の種が系統分化を異にするにもかかわらず平行突然変異の結果として類似した形質表現を取りうるような染色体の遺伝的相同性を保持することを示唆しよう。このような連鎖群の異同が他の連鎖群についても明らかになるならば, 様々な遺伝子間の連鎖関係の進化的意義を理解することも可能であろう。

以上のように, *Beta* 属におけるアイソザイム変異の解析は, 種間の遺伝的類似性の評価だけではなく, 染色体標識として種間差異の遺伝機構を解析する上でも有効である。*B. vulgaris* と *B. macrocarpa* の種間雑種後代で明らかにした酵素遺伝子座と様々な種間差異にかかわる遺伝子との連鎖関係が多くの遺伝子座で明らかになれば, TANKSLEY *et. al*⁸⁵⁾ がトマトで示したような種間雑種初期世代における酵素遺伝子座に基づいた有望形質や野生形質の効率良い選抜が可能である。

従来テンサイでは利用しうる遺伝標識が少なく, 十分な連鎖群も確立していない。今後のテンサイ育種を考えた場合, 酵素遺伝子座の遺伝標識としての利用は不可欠である。他殖性であるテンサイでは多くの酵素遺伝子座で品種・系統間に多型的な変異が存在するが, 酵素遺伝子座を遺伝標識として効率良く利用するには, 稀な変異体を多数有する標識系統の育成が必要であろう。この場合, テンサイ品種系統内の変異に限らず, 稀な変異体を多数有する *B.*

macrocarpa のような近縁野生種の利用が期待される。

第8章 摘 要

育種の進歩に伴い, 多くの作物で遺伝資源の枯渇が目ざされている。北海道の基幹畑作物の一つであるテンサイにおいても, 病虫害抵抗性や単性など有用形質の改良は既存の品種内選抜に基づくものであり, 近縁野生種に対する遺伝資源としての期待が増大している。野生種を持つ遺伝特性を効率良く利用するには, 種間の類縁関係を的確に評価し, 系統分化に係わる進化機構やその遺伝的側面を十分明らかにすることが必要である。本研究は, 酵素分子種(アイソザイム)の多様性に着目し, アイソザイム変異の解析ならびに酵素遺伝子座を染色体標識とした遺伝解析よりテンサイとその近縁種間の系統分化を検討した。

得られた結果は以下のように要約される。

1. *Beta* 節のアイソザイム変異

テンサイとその近縁野生種で観察されたグルタミン酸オキサロ酢酸転移酵素, ロイシンアミノペプチダーゼ, グルタミン酸脱水素酵素, 酸性フォスファターゼ, およびパーオキシダーゼアイソザイムの遺伝解析を行い, 6酵素遺伝子座を同定した。

同定した6遺伝子座中, *Px-1* と *Px-2* が強く連鎖し複合遺伝子座を形成したが, この両者以外, これらの遺伝子は互いに独立遺伝した。また, *Got-2* は着色遺伝子 (*R*) と14.7%の組換え価で連鎖した。

これら6遺伝子座に加え, アコニターゼ, イソクエン酸脱水素酵素, リンゴ酸脱水素酵素およびフォスホグルコムターゼに関与する4遺伝子座について, 6種33系統の変異を調査した。

この節の基幹種である *B. maritima* には多様な変異が存在し, *B. vulgaris*, *B. atriplicifolia* および *B. patula* で観察された対立遺伝子のほとんどすべてが前者で観察された。一方, 1年生自家和合種 *B. macrocarpa* は上記4種では観察されないか稀な対立遺伝子を多数有し, 他種と著しく異なった。また, *B. adanesis* は, *B. macrocarpa* に特異的であった *Got-2*¹ と *Gdh-2*¹ を有し, *Beta* 節の中でも *B. macrocarpa* と最も類似した。

Beta 節の唯一の自然倍数体である4倍体 *B. macrocarpa* は, 調査した10遺伝子座中4遺伝子座で,

その2倍体系統ならびに *B. vulgaris* のそれぞれが有する対立遺伝子からなるヘテロ型表現型を示した。したがって、この4倍体系統は異なるゲノムからなる複2倍体と考えられた。

2. *Beta* 節種間の生殖障害

種間の生殖障害を解析した結果、*B. vulgaris*, *B. maritima* および *B. atriplicifolia* と *B. macrocarpa* の間に、 F_1 雑種の花粉や種子の部分不稔性、 F_2 世代のアルビノ、弱勢個体および不稔個体の分離が、また、*B. patula* と上記3種の間に弱勢個体および不稔個体の分離が観察された。これらの結果は、アイソザイム変異の解析結果と一致し、*B. macrocarpa* が *Beta* 節の中でも最も遺伝的に分化していることを示唆した。

さらに、アイソザイム変異および生殖障害の解析結果から、*Beta* 節野生種の1年生習性の分化が多能的に生じたと考えられた。

3. 種間雑種後代の異常分離と生殖障害の遺伝機構

B. macrocarpa と *B. vulgaris* の種間雑種戻し交雑後代において、5酵素遺伝子座と *R* 遺伝子座の分離を解析したところ、調査したすべての遺伝子座に異常分離が認められた。各遺伝子座の分離様式は、戻し交雑の種類により異なり、多くの場合、 F_1 雑種を花粉親とした雄性戻し交雑で異常分離したが、種子親とした雌性戻し交雑では正常に分離した。

独立遺伝する5酵素遺伝子座を染色体標識として F_1 雑種不稔性を解析した結果、*Lap* および *Gdh-2* と花粉不稔性遺伝子との間に連鎖が認められた。これらのうち、*Lap* と連鎖する不稔遺伝子は配偶子体的に作用する遺伝子と推定され、*Lap* で観察された異常分離の一因と考えられた。

また、酵素遺伝子座間の2遺伝子分離が、しばしばランダムな遺伝子組合せからの期待と異なり、特定の遺伝子組合せが過剰あるいは過少に分離した。したがって、個々の遺伝子座で観察された異常分離は、単一の生殖障害に原因するのではなく、連鎖か多面発現による複数障害の複合的な結果として生じていると考えられた。

4. 生育習性の分化の遺伝機構

B. maritima 1年生型、*B. atriplicifolia*, *B. patula* および *B. macrocarpa* の生育習性および開花習性

の遺伝機構を検討した。

B. macrocarpa の1年生ならびに開花習性の遺伝機構を、独立遺伝する5酵素遺伝子座を染色体標識として解析した。この種の1年生習性は、*Px-2*, *Lap* および *Got-2* と連鎖する少なくとも二ないし三対の主働遺伝子(群)に支配されていた。これらのうち、*Lap* および *Got-2* に連鎖する1年生遺伝子の発現は、交雑に用いた多年生型の遺伝背景により異なった。また、*Got-2* は *R* 遺伝子座と連鎖することから、*B. macrocarpa* も *B. vulgaris* の1年生因子を支配する *B* 遺伝子と同様な類似した遺伝子を有すると考えられた。

B. atriplicifolia の1年生習性は一对の優性遺伝子に、また、*B. maritima* 1年生型の1年生習性は少なくとも二対の遺伝子に支配されていた。*R* 遺伝子座との連鎖分析の結果、両種は、*B. macrocarpa* 同様に *B. vulgaris* の *B* 遺伝子と同様な類似した1年生遺伝子を共有した。

B. maritima 1年生型、*B. macrocarpa* および *B. patula* には、*R* 遺伝子座と連鎖する1年生遺伝子の近傍に開花習性に関与する主働遺伝子が存在した。

アイソザイム変異や生殖障害の解析より、これらの1年生野生種は多能的に分化したと考えられることから、これら種間で認められた同一連鎖群上の1年生習性や開花習性に関与する遺伝子は、同一遺伝子座の平行突然変異の結果として独自に生じたものと考えられた。

これらの結果はさらに、種間の形質分化がランダムな遺伝的变化の蓄積結果ではなく、特定染色体の遺伝的变化の結果として生じたこと、またこれらの種が系統を異にするにもかかわらず平行突然変異を生じるような染色体の相同性を保持していることを示唆した。

5. 以上の結果に基づき、テンサイと近縁野生種の系統分化を議論した。*Beta* 節種間の遺伝的關係を明らかにし、ならびに形質進化の遺伝機構を解析する上での染色体標識としてのアイソザイム変異の有用性を議論した。

引用文献

1. 阿部 純・中嶋 博・津田周彌: *Beta* 属植物のアイソザイム変異と種間関係. 北大農邦文紀要 15: 124-132. 1987.

2. 阿部 純・吉川浩之・津田周彌: 着色遺伝子とアイソザイム遺伝子を用いたテンサイ近縁野生種の1年生と自家和合性の遺伝解析. てん菜研究会報第27号: 44-49. 1985.
3. ABE, J., H. YOSHIKAWA and Ch. TSUDA.: Reproductive barriers in sugar beet and its wild relatives of the section *Vulgares*, the genus *Beta*. J. Fac. Agr. Hokkaido Univ. **63**; 40-48. 1987.
4. ————.: Genetic analysis for annual and early-flowering habit of *Beta macrocarpa* GUSS., a related species of *B. vulgaris* L.: An analysis with enzyme-coding loci as chromosome markers. J. Fac. Agr. Hokkaido Univ. **63**: 245-252. 1987.
5. ABEGG, F. A.: A genetic factor for the annual habit in beets and linkage relationship. J. Agr. Res. **53**: 493-511. 1936.
6. ADACHI S. and S. MITSUISHI.: Karyotypic analysis in the *Beta* species. Bul. Fac. Agr. Mie Univ. **25**: 25-32. 1962.
7. 安藤 桜・高橋万右衛門.: *Beta* 属の核型 - 甜菜の倍數性品種に関する研究 第XIII報 北大農邦文紀要 **7**: 51 - 62. 1969.
8. BOSEMARK, N. O.: Interspecific hybridization in *Beta* L.; prospect and value in sugar beet breeding I. I. R. B. **4**: 112-121. 1969.
9. ————.: Genetic poverty of the sugar beet in Europe. In ZEVEN A. C. and A. M. VAN HARTEN eds. Broadening the genetic base of crop. 29-35. Centre for Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen. 1978.
10. BREWBAKER, J. L., M. UPADHYA, Y. MAKINEN and T. MACDONALD.: Isoenzyme polymorphism in flowering plants. III Gel electrophoretic methods and applications. Physiologia Plantarum. **21**: 930-940. 1968.
11. BROWN, A. H. D., E. NEVO, D. ZOHARY and O. DAGAN.: Genetic variation in natural populations of wild barley (*Hordeum spontaneum*). Genetica. **49**: 97-108. 1978.
12. BUTTLER, K. P.: Variation in wild populations of annual beet (*Beta*, *Chenopodiaceae*). Plant Syst. Evol. **128**: 123-136. 1977.
13. CAMERON, D. R. and R. MOAV.: Inheritance in *Nicotiana tabacum* XXVII. pollen killer, an alien genetic locus inducing abortion of microspores not carrying it. Genet. **42**: 326-335. 1957.
14. CLEIJ, G., Th. S. M. DE BOCK and B. LEKKERKERKER.: Crosses between *B. vulgaris* L. and *B. lomato-gona* F. et M. Euphytica **25**: 539-547. 1975.
15. COE, G. E. and D. STEWART.: Cytoplasmic male sterility, self-fertility, and monogermness in *Beta maritima*. Proc. Am. Soc. Sugar Beet Technol. **19**: 257-261. 1976.
16. COONS, G. H.: The wild species of *Beta*. Proc. Am. Soc. Sugar beet Technol. **8**: 142-147. 1954.
17. ————.: Interspecific hybrids between *B. vulgaris* L. and the wild species of *Beta*. Proc. Am. Soc. Sugar beet Technol. **18**: 281-306. 1975.
18. CRAWFORD, D. J.: Phylogenetic and systematic inference from electrophoretic studies. In TANKSLEY, S. D. and T. J. ORTON eds. Isozymes in plant genetics and breeding. 257-288, Elsevier, Amsterdam, 1983.
19. CHRISTIE, P. and M. R. MCNAIR.: Complementary lethal factors in two North American populations of the yellow monkey flower. J. Hered. **75**: 510-511. 1984.
20. CURTIS, G. J.: Observation of fruit shape and the other characters in the species of the section *Patellares*. Euphytica **17**: 485-491. 1968.
21. DALE, M. F. B. and B. V. FORD-LLOYD.: Reproductive characters associated with breeding behavior in *Beta* sect. *Beta* (*Chenopodiaceae*). Plant Syst. Evol. **143**: 277-283. 1983.
22. DE BOCK, Th. S. M.: The genus *Beta*: Domestication, taxonomy and interspecific hybridization for plant breeding. Acta Horticulture **182**: 335-343. 1986.
23. DOBZHANSKY, T.: Genetics of the evolutionary process. pp.505. Columbia Univ. New York. 1970.
24. ENDLER, J. A.: Geographic variation, speciation and clines. Princeton Univ. New Jersey. 1977.
25. ENDO, T.: Application of zymography to plant science. SABCO Jour. **2**: 120-126. 1966.
26. ————.: Developmental modification and hybridization of allelic acid phosphatase isozymes in homo- and hetero- zygotes for the *Acp-1* locus in rice. Biochem. Genet. **19**: 373-384. 1981.
27. ENDO, T. R. and TSUNEWAKI, K.: Sterility of common wheat with *Aegilops triuncialis* cyto-

- plasm. *J. Hered.* **66**: 13-18. 1975.
28. FILTOVICZ, A. and J. TRZEBINSKI.: Chenotaxonomic studies on species of the section *Corollinae* in the genus *Beta*. *Hodowla Roslin Aklimatyz. Nasiennictwo.* **13**: 229-234. 1969.
 29. FORD-LLOYD, B. V.: Biosystematics in the genus *Beta*. Ph. D. Thesis in Birmingham Univ. 1973.
 30. FORD-LLOYD, B. V. and J. T. WILLIAMS.: A revision of *Beta* section (*Chenopodiaceae*), with new light on the origin of cultivated beets. *Bot. J. Linn. Soc.* **71**: 89-102. 1975.
 31. GASKILL, J. O.: Viable hybrids from mating of chard with *B. procumbens* and *B. webbiana*. *Proc. Am. Soc. Sugar beet Technol.* **8**: 148-152. 1954.
 32. GOTTLIEB, L. D.: Gene duplication and fixed heterozygosity for alcohol dehydrogenase in the diploid plant *Clarkia franciscana*. *Pro. Nat. Acad. Sci. USA.* **71**: 1816-1818. 1974.
 33. ———.: Electrophoretic evidence and plant systematics. *Ann. Mo. Bot. Gard.* **64**: 161-180. 1977.
 34. GRANT, V.: Genetics of flowering plants, pp. 514. Columbia University Press, New York and London, 1975.
 35. HANSON, W. D.: The theoretical distribution of lengths of parental gene blocks in the gametes of an F_1 individual. *Genet.* **44**: 197-209. 1959.
 36. HARLAN, J. R.: Genetic resources in allied relatives of crops. *Crop Sci.* **16**: 329-333. 1976.
 37. HART, G. E. and P. J. LANGSTON.: Chromosomal location and evolution of isozyme structural genes in hexaploid wheat. *Hered.* **39**: 263-277. 1977.
 38. HART, G. E. and N. A. TULEEN.: Introduction and characterization of alien genetic materials. In TANKSLEY, S. D. and T. J. ORTON eds. *Isozymes in plant genetics and breeding.* 339-362, Elsevier, Amsterdam. 1983.
 39. HEIJBROEK, W., J. S. MCFARLANE and D. L. DONEY.: Breeding for tolerance to beet cyst eelworm *Heterodera schachtii* in sugar beet. *Euphytica* **26**: 557-564. 1977.
 40. HEIJBROEK, W., ROELANDS A. J. and DE JONG J. H.: Transfer of resistance to beet cyst nematode from *Beta patellaris* to sugar beet. *Euphytica* **32**: 287-298. 1983.
 41. HERMSEN, J. G. T.: The enetic basis of hybrid necrosis in wheat. *Genetica* **32**: 245-287. 1963.
 42. 細川定治.: 甜菜. pp. 188. 養賢堂, 東京, 1980
 43. KAHLER, A. L. and R. W. ALLARD.: Genetics of isozyme variants in barley. 1. Esterase. *Crop Sci.* **10**: 444-448.
 44. 菊地文雄.: 半分矮性イネの育種 - 成果と展望 育成種学雑誌 **35** 別冊 2: 364-367. 1985.
 45. KISHIMA, Y., T. MIKAMI, A. HIRAI, M. SUGIURA and T. KINOSHITA.: *Beta* chloroplast genome: analysis of fraction I protein and chloroplast DNA variation. *Theor. Appl. Genet.* **73**: 330-336. 1987.
 46. KNAPP, E.: てん菜の育種学 pp. 85 足立昇造訳. 1963.
 47. LANGE, W. and Th. S. M. DE BOCK.: The diploidized meiosis of tetraploid *Beta macrocarpa* and its possible application in breeding sugar beet. *Plant Breed.* **103**: 196-206. 1989.
 48. LAW, C. N. and M. D. GALE.: Cytological markers and quantitative variation in wheat. In THOMPSON, J. N. and J. M. THODAY. eds. *Quantitative genetic variation.* 275-293, Academic Press, New York, 1979.
 49. MCFARLANE, J. S.: Naturally occurring hybrids between sugar beet and *B. macrocarpa* in the Imperial Valley of California. *Pro. Am. Soc. Sugar beet Technol.* **18**: 245-251. 1975.
 50. ———.: Variety development. In JOHNSON, R. T., ALEXANDER, J. T., RUSH, G. E. and G. R. HAWKES. eds. *Advances in sugar beet production: principle and practices.* Iowa State Univ. Ames, 1971.
 51. MANGERSDORF, P. C.: Corn, its origin, evolution and improvement. 37-52. Harvard University Press, Massachusetts. 1974.
 52. MUNERATI, O.: Trois generation de *Beta vulgaris* dans l'escape dune annee. *C. R. Acad. Sci. Paris* **184**. 1927.
 53. ———.: L'eredita della tendenza alla annualita nella comune barbabietola coltivata. *Ztschr. Zuchtung, Reihe A, Pflanzenzuchtung* **17**: 84-89. 1931.
 54. MURAMATSU, M.: Spike type in two cultivars of *Triticum dicocuum* with its spelta gene *q* compared with the *Q*-bearing variety *liguliform*. *Jpn. J. Breed.* **35**: 232-238. 1985.
 55. NAKAGAHRA, M.: Genetic mechanism on the distorted segregation of marker genes belonging to the eleventh linkage group in cultivated rice.

- Jpn. J. Breed. **22**: 232-238. 1972.
56. NAKAI, Y.: Isozyme variation in *Aegilops* and *Triticum*, IV. The origin of the common wheat revealed from the study on esterase isozymes in synthesized hexaploid wheats. Jpn. J. Genet. **54**: 175-189. 1979.
 57. OKA, H. I.: Phylogenetic differentiation of cultivated rice. 15. Complimentary lethal genes in rice. Jpn. J. Genet. **32**: 82-87. 1957.
 58. ———: Analysis of genes controlling F₁ sterility in rice by the use of isogenic lines. Genet. **77**: 521-534. 1974.
 59. OKA, H. I. and Y. DOIDA.: Phylogenetic differentiation of cultivated rice. 20. Analysis of the genetic basis of hybrid breakdown in rice. Jpn. J. Genet. **37**: 24-35. 1962.
 60. OLDEMEYER, R. K.: Viable interspecific hybrids between wild species in the section *Vulgares* and species in the section *Patellares* in the genus *Beta*. Proc. Am. Soc. Sugar beet Technol. **8**: 153-156. 1954.
 61. ———: Sugar beet male sterility. Proc. Am. Soc. Sugar beet Tech. **9**: 381-386. 1957.
 62. PFAHLER, P. L.: Factor affecting male transmission in maize (*Zea mays* L.). In MULLICAHY, D. L. ed. Gamete competition in plants and animals. 115-124. North-Holland Publ. Amsterdam. 1975.
 63. QUIROS, C. F. and N. MCHALE.: Genetic analysis of isozyme variants in diploid and tetraploid potatoes. Genet. **111**: 131-145. 1985.
 64. RICK, C. M.: Differential zygotic lethality in a tomato species hybrid. Genet. **48**: 1497-1507. 1963.
 65. ———: Abortion of male and female gametes in the tomato determined by allelic interaction. Genet. **53**: 85-96. 1966.
 66. ———: Controlled introgression of chromosomes of *Solanum pennellii* into *Lycopersicon esculentum*; segregation and recombination. Genet. **62**: 753-768. 1969.
 67. ROOSE, M. L. and L. D. GOTTLIEB.: Genetic and biochemical consequences of polyploidy in *Trapaogon*. Evolution. **30**: 818-830. 1976.
 68. SANO, Y.: Genetic studies of speciation in cultivated rice. 3. A new gene controlling sterility in F₁ hybrids of two cultivated rice species: its association with photoperiod sensitivity. J. Hered. **74**: 435-439. 1983.
 69. SANO, Y. and F. KITA.: Reproductive barriers distributed in *Melilotus* species and their genetic bases. Can. J. Genet. Cytol. **20**: 275-289. 1978.
 70. SANO, Y., Y. CHU and H. I. OKA.: Genetic studies of speciation in cultivated rice. 1. Genic analysis for the F₁ sterility between *O. sativa* and *O. glaberrima* Steud. Jpn. J. Genet. **54**: 121-132. 1979.
 71. SAVITSKY, H.: Hybridization between *B. vulgaris* and *B. procumbens* and transmission of nematode (*Heterodera schachtii*) resistance to sugar beet. Can. J. Genet. Cytol. **17**: 197-209. 1975.
 72. ———: Nematode (*Heterodera schachtii*) resistance and meiosis in diploid plants from interspecific *Beta vulgaris* x *B. procumbens* hybrids. Can. J. Genet. Cytol. **20**: 177-186. 1978.
 73. SAVITSKY, H. and J. O. GASKILL.: A cytological study of F₁ hybrids between swiss chard and *B. webbiana*. Proc. Am. Soc. Sugar beet Technol. **9**: 433-449. 1957.
 74. SECOND, G.: Origin of the genetic diversity of cultivated rice (*Oryza* spp.): study of polymorphism scored at 40 isozyme loci. Jpn. J. Genet. **57**: 25-57. 1982.
 75. SHAW, C. R. and R. PRASAD.: Starch gel electrophoresis of enzymes - A complication of recipes. Bioch. Genet. **4**: 297-320. 1970.
 76. SIMMONDS, N. N.: Plant breeding; the state of the art. In KOSUGE T., C. P. MEREDITH and A. HOLLAENDER. eds. Genetic engineering of plants.- an agricultural perspective. 5-26. Plenum Press, New York and London, 1982.
 77. SMED, E., J. P. C. F. VAN GEYT and M. OLEO.: Genetical control and linkage relationships of isozyme markers in sugar beet (*B. vulgaris* L.) 1. Isocitrate dehydrogenase, adenylate kinase, phosphoglucumutase, glucose phosphate isomerase and cathodal peroxidase. Theor. Appl. Genet. **78**: 97-104. 1989.
 78. SMITH, G. A.: Sugar beet. In FEHR, W. R. and H. H. HADLEY. eds. Hybridization of crop plants. 601-616. The American Society of Agronomy, Inc. and the Crop Science Society of America Inc. 1980.
 79. SPECKMANN, G. J. and Th. S. M. DE BOCK.: The production of alien monosomic additions in *Beta vulgaris* as a source for the introgression

- of resistance to beet root nematode (*Heterodera schachtii*) from *Beta* species of the section *Patellares*. *Euphytica* **31**: 313-323. 1982
80. STALKER, H. T.: Utilization of wild species for crop improvement. *Advances in agronomy* **33**: 112-147. 1980.
81. STEPHENS, S. G.: The cytogenetics of speciation in *Gossypium*. I. Selective elimination of the donor parent genotype in interspecific backcrosses. *Genet.* **34**: 627-637. 1949.
82. STEWART, D.: Sugar beet x *B. procumbens*, the F₁ and backcross generations. *Proc. Am. Soc. Sugar beet Technol.* **6**: 176-179. 1950.
83. STUBER, C. W., M. M. GOODMAN and R. H. MOLL.: Improvement of yield and ear number resulting from selection at allozymic loci in a maize population. *Crop Sci.* **22**: 737-740. 1982.
84. TANKSLEY, S. D.: Gene mapping. In TANKSLEY, S. D. and T. J. ORTON. eds. *Isozymes in plant genetics and breeding*. 275-288, Elsevier, Amsterdam, 1983.
85. TANKSLEY, S. D., H. MEDIA-FILHO and C. M. RICK.: The effect of isozyme selection on metric characters in an interspecific backcross of tomato - Basis of an early screening procedure. *Theor. Appl. Genet.* **60**: 291-296. 1981.
86. ———.: Use of naturally occurring variation to detect and map genes controlling quantitative traits in an interspecific backcross of tomato. *Heredity* **49**: 11-25. 1982.
87. TANKSLEY, S. D. and F. LOAIZA-FIGUEROA.: Gametophytic self-incompatibility is controlled by a single major locus on chromosome 1 in *Lycopersicon peruvianum*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **82**: 5093-5096. 1985.
88. TRANSEL, V. A.: Obzor vidov roda *Beta* L. *Bull. Appl. Bot. Plant Breed.* **17**: 203-223. 1927.
89. TRZEBINSKI, J.: Chenotaxonomic investigations into wild species of the genus *Beta*. *Hodowla Roslin Aklimatyz. Nasiennictowo.* **17**: 41-46. 1973.
90. TSUNEWAKI, K. and KIHARA H.: Comparative gene analysis of common wheat and its ancestral species. I. necrosis. *Jpn. J. Genet.* **37**: 474-484. 1962.
91. URBRICH, E.: *Beta*. In ENGLER, A. and K. PRANTL eds. *Naturl. Pflanzenfam.* ed. 2, 16 C: 457-480. 1934.
92. VAN DIJK, H.: Genetic variability in *Plantago* species in relation to their ecology. II. Quantitative characters and allozyme loci in *P. major* subspecies. *Theor. Appl. Genet.* **68**: 43-52. 1984.
93. VAN GEYT, J. P. C. F. and E. SMED.: Polymorphism of some marker enzymes of the sugar-beet (*Beta vulgaris* L.) investigated by polyacrylamide gel electrophoresis and starch gel electrophoresis. *Z. Pflanzenzucht* **92**: 295-308. 1984.
94. VAN GEYT, J. P. C. F. and M. JACOBS.: Mode of inheritance and some general characteristics of sugarbeet alcohol dehydrogenase. *Plant Sci.* **46**: 143-149. 1986.
95. VAN GEYT, J. P. C. F., M. OLEO, W. LANGE and Th. S. M. DE BOCK.: Monosomic additions in beet (*Beta vulgaris*) carrying extra chromosomes of *Beta procumbens*. I. Identification of the alien chromosomes with the help of isozyme markers. *Theor. Appl. Genet.* **76**: 577-586. 1988.
96. WIEBE, G. A.: Complementary factors in barley giving a lethal progeny. *J. Hered.* **25**: 273-274. 1934.
97. WILLIAMS, J. T., A. J. SCOTT and B. V. FORD-LLOYD.: *Patellifolia* nomen novum (*Chenopodiaceae*). *Taxon* **26**: 284. 1977.
98. ZAMIER, D, S. D. TANKSLEY and R. A. JONES.: Haploid selection for low temperature tolerance of tomato pollen. *Genet.* **101**: 129-137. 1981.
99. ZOSIMOVIC, V. P.: Dikie vidy i proishozdenie kul'turnoj svekly. *Sveklodvodstvo* **1**: 17-85. 1940.

Summary

It has long been recognized that conventional and intensive breeding would eventually result in the exhaustion of genetic resources in cultivated plants. In sugar beet, *B. vulgaris* L., one of the main field crops in Hokkaido, most of the desirable traits for its yield improvement have been found mainly by selection within the species. The wild relatives are thus expected to be genetic sources for sugar beets. The effective utilization of the wild germ plasm should be based on the extensive information on the taxonomy and phylogeny in the genus.

Species relationships in the genus *Beta* have been discussed through various aspects such as crossing affinity, morphology, karyotype, and reproductive

barriers. Although each of these approaches has provided valuable information, there are still several problems left to be solved.

In this study, the author examined the isozyme variation in this genus, and discussed the phylogenetic relationships based on isozymic data and also on reproductive barriers found among species. In addition, the genetic bases for species differences were discussed based on the results of the linkage analysis using enzyme-coding loci as chromosome markers.

1. Isozyme variation in the section *Beta*

The variation in nine enzyme systems, aconitase, acid phosphatase, glutamate-oxaloacetic transaminase, glutamate dehydrogenase, isocitric dehydrogenase, leucine aminopeptidase, malate dehydrogenase, phosphoglucosmutase, and peroxidase, were examined.

The six enzyme-coding loci, *Aph-1*, *Got-2*, *Gdh-2*, *Lap*, *Px-1* and *Px-2*, were identified from the genetic analysis for electrophoretic variants in five enzyme systems, acid phosphatase, glutamate-oxaloacetic transaminase, glutamate dehydrogenase, leucine aminopeptidase, and peroxidase. Out of them, *Px-1* and *Px-2* were found tightly linked with each other, and formed a compound locus. The other loci inherited independently, of which *Got-2* was linked with a recombination value of 14.7% to *R* locus for red hypocotyl-color which belongs to the first linkage group.

As to the ten enzyme-coding loci assayed, *B. vulgaris*, *B. maritima* and *B. atriplicifolia* had most of alleles in common, and showed a high genetic identity with one another. On the other hand, *B. macrocarpa* had many unique alleles which were not detected or at least were rare in the former three species, suggesting that *B. macrocarpa* may be the most different species in the section *Beta*. *B. adanensis*, while only slightly different from *B. vulgaris*, *B. maritima* and *B. atriplicifolia*, was the most similar to *B. macrocarpa* in the section.

A tetraploid cytotype of *B. macrocarpa* showed heterozygous phenotypes at five enzyme-coding loci which were observed in the diploid hybrids between *B. macrocarpa* and *B. vulgaris*. This accession had both of the alleles which were predominant in each of the diploid *B. macrocarpa* and *B. vulgaris*. In general, polyploid species additively express isozymes observed in their diploid parents because of

their codominant expression. The hybrid phenotype found in the tetraploid *B. macrocarpa* may suggest that it has evolved through amphidiploidization.

2. Reproductive barriers in the section *Beta*

Reproductive barriers were examined in the inter-specific F_1 and F_2 generations. The barriers observed were the partial sterility of pollen and seed in F_1 hybrids, and chlorosis, weakness and sterility in F_2 generation. All these barriers existed between *B. macrocarpa* and *B. vulgaris*, *B. maritima* and *B. atriplicifolia*, whereas no reproductive barrier was recognized among the latter three species, except for F_2 segregation of the chlorosis in a cross between *B. vulgaris* and *B. maritima*. In addition, *B. patula* gave weak and sterile segregants in the crosses with these three species. These results may suggest polyphyletic differentiation of the annual species in the section *Beta*.

Of the barriers, the F_2 chlorosis was partly controlled by duplicate recessive genes, ch_1 and ch_2 . The chlorosis genotype was polymorphic among the species and also within *B. maritima*.

3. Distorted segregation and genetic basis of reproductive barriers

Genetic segregation of the *R* and the five enzyme-coding loci, *Aph-1*, *Got-2*, *Gdh-2*, *Lap* and *Px-2*, in the backcrossed progeny of the crosses between *B. macrocarpa* and *B. vulgaris* or *B. maritima* were examined. Transmission of the *B. macrocarpa* alleles into the progeny was strongly dependent on whether F_1 hybrids were used as male or female parents in the backcross. Distorted segregations occurred in most of the markers when F_1 hybrids were used as male parents; consistent deviations from the expected 1:1 ratio resulted from an excess of the *B. macrocarpa* alleles for a linked pair, *R-Got-2*, and a deficiency of the alleles for *Lap* and *Gdh-2*. Anomalous segregation also occurred for *Aph-1* and *Px-2*, depending on parental strains used in the backcross. In contrast to these results, the expected Mendelian ratio was observed in all the markers except *R* when F_1 hybrids were used as female parents.

Because of the lowering of the pollen and seed fertilities in the F_1 hybrids and no zygotic lethality after germination in the backcrossed progeny, the aberrant ratios appeared to arise from a linkage of the markers with genetic factors affecting

gametogenesis, pollen functions and embryo development in the hybrids. Of the markers, *Lap* was found to be linked to a gametophytic gene responsible for the abortion of part of the pollen grains.

In addition to the distorted monogenic ratio, two-locus segregation often deviated from the expected ratios from random association of the alleles. It was thus suggested that the causal factors of distortions might have complex multi-factorial and multi-chromosomal genetic origins.

4. Genetic basis for the differentiation of growth habit among species

The genetic basis of annual and early-flowering habit of *B. macrocarpa* was analyzed with the five enzyme-coding loci as chromosome markers in the crosses with *B. vulgaris* and a perennial accession of *B. maritima*. The annual habit was found to be controlled by at least two or three pairs of genes proximal to *Got-2*, *Lap* and *Px-2*. Of these, the effects of the genes linked to *Got-2* and *Lap* differed between the crosses examined, suggesting the existence of a gene interaction with the genetic background. In addition, a major factor affecting the early-flowering habit of *B. macrocarpa* was as-

sociated with the chromosome marked by *Got-2*.

The annual habit of *B. atriplicifolia* was controlled by a single dominant gene linked to the *R* locus. The annual habit of an annual accession of *B. maritima* was controlled by at least two pairs of genes, one of which was linked to the *R* as well. Thus, these two species, together with *B. macrocarpa*, had the same or a similar gene for the annuality at the first linkage group. Further, the annual accession of *B. maritima* and *B. patula* had a gene responsible for the early-flowering habit proximal to the *R*, as *B. macrocarpa* did. These were not the homoeologous genes originated from a common ancestral gene, and might result from a parallel mutation because these annual species were considered to have evolved polyphyletically.

Based on the results obtained in this study, the phylogeny of the section *Beta* and the genetic bases of the speciation and character evolution were discussed. In addition, the usefulness of enzyme-coding loci as chromosome markers was emphasized for the breeding and genetic research in sugar beet and its wild relatives.