



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Melilotus 属の種間雑種に関する育種学的基础研究 : 第IV報 種間雑種 <i>Melilotus segetalis</i> x <i>M. macrocarpa</i> の細胞学的研究
Author(s)	喜多, 富美治; KITA, Fumiji; 新関, 稔 他
Citation	北海道大学農学部附属農場報告, 14, 21-26
Issue Date	1966-01-20
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/13289
Type	departmental bulletin paper
File Information	14_p21-26.pdf



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

喜多富美治・新 関 稔

I. 緒 言

Sweetclover (*Melilotus* 属) の種間交雑育種の基礎研究として、筆者等は過去数年間にわたって種間交雑和合性、各 species の核型分析、種間雑種の減数分裂における染色体行動等の諸問題について研究を進めて来たが、それらの結果は *Melilotus* 属の種の進化の究明に興味ある問題を提起しつつある。

すなわち供試 19 種は主として染色体の大きさに基礎をおいて 4 つの Type に分類され、各 Type 内の種は近縁関係にあると推定された。また各 Type 内の種間に認められる核型の微細な相違はそれらの種間に染色体の構造的分化が存在し、それが種の進化に関与していることが示唆された(喜多, 1965)。

今回は Type B-2 に属する 2 種間, *M. segetalis* × *M. macrocarpa*, の交雑に成功しその F_1 について主として細胞学的検討を行なった。その結果核型分析より示唆された染色体の構造分化の存在とその性質に関し若干の知見を得たのでここに取纏め報告する。

なお本実験の遂行と取纏めに関し種々御教示を賜った長尾正人博士および高橋萬右衛門博士に対し深甚なる謝意を表す。また実際の実験遂行過程において、文部技官飛渡正夫、渡会萬治、赤川照爾の 3 氏より絶大な協力を得た。ここに記して謝意を表す。

II. 実験材料及び方法

供試した *M. segetalis* N 80 および *M. macrocarpa* Ac 336 の 2 種は共に Wisconsin 大学の W. K. SMITH 博士の厚意により入手したものであ

る。1963 年に *M. segetalis* を母として両種間に交配が行なわれ 32 の F_1 種子が得られた。1964 年に温室内で播種され、うち 3 個体が種間雑種 F_1 であり他は自花受精個体であることが確認された。一方 *M. macrocarpa* × *M. segetalis* の交雑も行なわれ相当数の種子が得られたが総て自花受精個体であった。

したがって種間雑種 *M. segetalis* × *M. Macrocarpa* F_1 の 3 個体が本研究に供試された。

減数分裂および体細胞染色体の観察は前報に報告した方法に従った(喜多, 1964; 喜多・新関, 1965)。

III. 実験結果

1. 外部形態の比較

種間雑種 F_1 の外部形態を両親のそれと比較検討した。*M. segetalis* と *M. macrocarpa* は形態的に顕著な差があるが、主たる相違は花卉の大きさ、旗弁と竜骨弁の比較長、小葉の形および葉縁鋸歯、莢の表面にみられる肋脈等である。これらの遺伝支配の大きい諸形質について F_1 雑種とその両親とを対比すると Table 1 の如くである。

さらに実生時代に自花受精個体と交雑成功個体すなわち種間雑種 F_1 個体とを識別する必要があるが、 F_1 個体は本葉第 1 葉が展開する頃まで茎が若干黄色に富み赤紫色をおびる。つまり母親の *M. segetalis* に比し軽微の葉緑素欠乏を示すと考えられるが、その後完全に回復し正常な生育をする。

2. 細胞学的観察

親に用いた 2 種の花粉稔率は高く *M. segetalis* (ca. 99.1%) および *M. macrocarpa* (ca. 99.4%) を示した。減数分裂の M-1 において規則的に 8n を形成し (Fig. 2, a-b), またその他の時期において



Fig. 1. Inflorescences and leaves.

- a. *M. segetalis*.
 b. *M. segetalis* × *M. macrocarpa* F₁.
 c. *M. macrocarpa*.

Table 1. Comparison of the F₁ hybrid, *M. segetalis* × *M. macrocarpa*, with the two parents

morphological characters	<i>M. segetalis</i>	<i>M. macrocarpa</i>	<i>M. segetalis</i> × <i>M. macrocarpa</i> F ₁
leaflet margin	sharply toothed	inconspicuously toothed	sharply toothed
shape	elliptic or obovate	orbiculate or obovate	elliptic or obovate
raceme	longer than subtending leaf	longer than subtending leaf	longer than subtending leaf
flower standard	shorter than keel	equal to keel	equal to keel
size	6.6 mm	8.1 mm	7.5 mm
pod	corse surface with many vein	thin surface with less vein	corse surface with many vein

もほとんど正常な染色体行動を示した。したがって両親種は細胞学的に安定していると考えてよい。

種間雑種 F₁ は花粉稔性が非常に悪く、約 73.7% の花粉不稔率を示した (Fig. 2, c)。

F₁ 雑種の減数分裂においては種々の不規則性が観察された。すなわち Diakinesis で 1_{IV}+6_{II} の接合型を示し、この IV 価は 4 連染色体環もしくは鎖として出現した。53 の観察核中ただ 1 例のみ 1_{III}+6_{II}+1_I の接合型が観察された。

M-1 において主として 1_{IV}+6_{II} の接合型が観察され、また極く小頻度で 1_{III}+6_{II}+1_I, 7_{II}+2_I, 8_{II} の接合型が出現した。この I 価の出現は当然 IV 価を形成すべき 4 連染色体のうち 1~2 の染色体が早期離反したものと考えられる。すなわち M-1 の接合型は原則として 1_{IV}+6_{II} と考えられ、この IV 価は 102 の観察核中 45 が 4 連染色体環として残りが鎖として出現した。この 4 連染色体鎖は赤道板上で種々の形態をとり、すなわち alternate segregation および adjacent segregation に

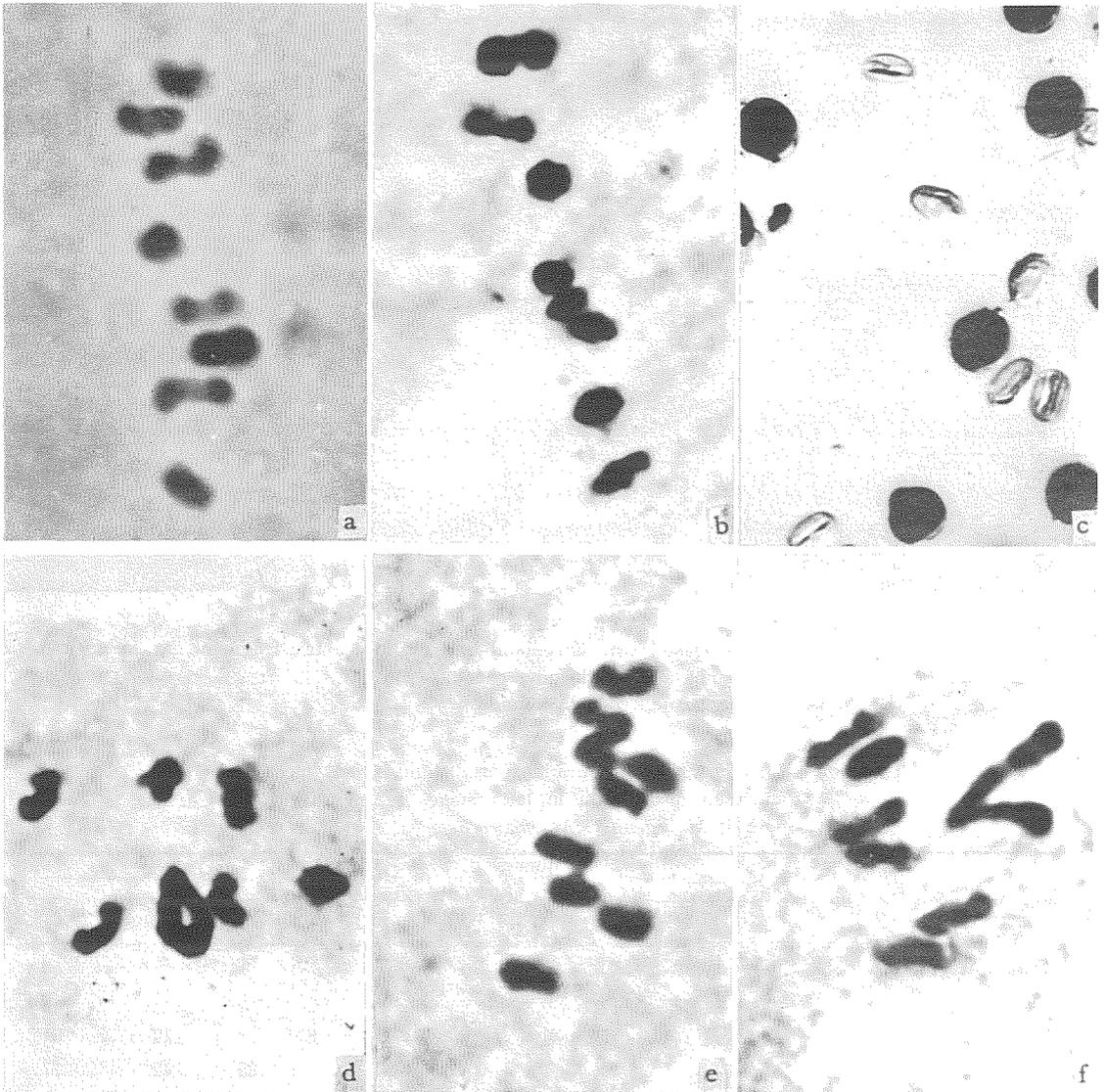


Fig. 2. a. *M. segetalis*. Metaphase-1 with 8II.
 b. *M. macrocarpa*. Metaphase-1 with 8II.
 c. *M. segetalis* × *M. macrocarpa* F₁. Normal and aborted pollen grains.
 d. *M. segetalis* × *M. macrocarpa* F₁. Metaphase-1 with 6II plus a ring of 4 chromosomes.
 e. *M. segetalis* × *M. macrocarpa* F₁. Metaphase-1 with 6II plus a chain of 4 chromosomes which show alternate separation.
 f. *M. segetalis* × *M. macrocarpa* F₁. Metaphase-1 with 6II plus a chain of 4 chromosomes which show adjacent separation.

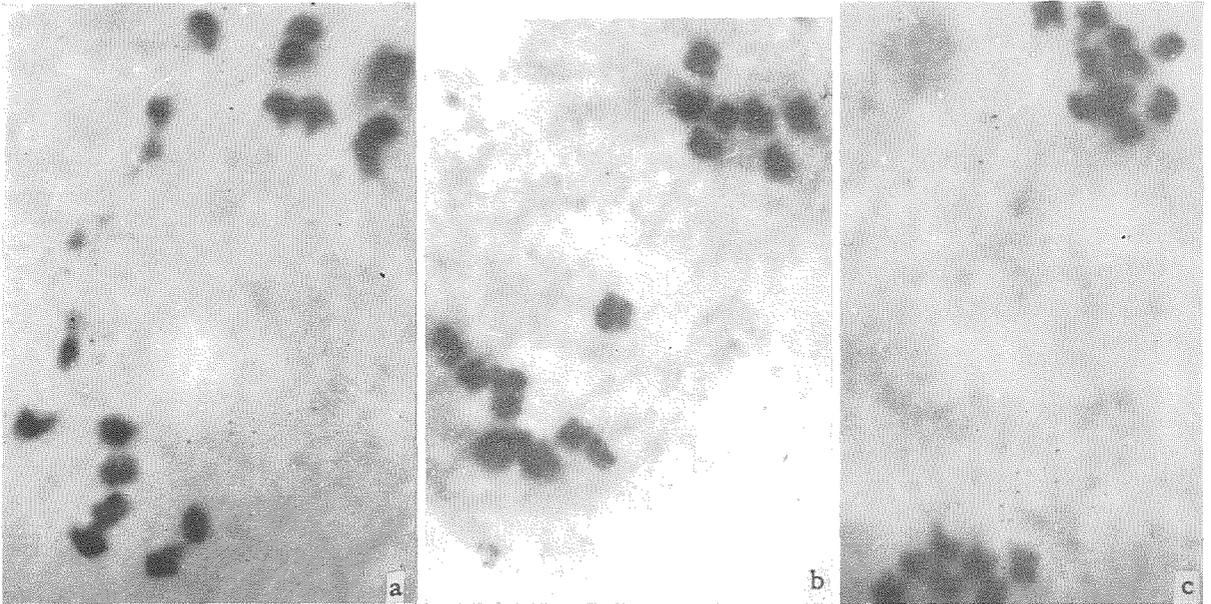


Fig. 3. *M. segetalis* × *M. macrocarpa* F₁.

- a. Anaphase-1 with chromatid bridge and acentric fragment.
- b. Anaphase-1 with lagging chromosome.
- c. Anaphase-1. 7-9 disjunction.

Table 2. Chromosome configurations at diakinesis and metaphase-1 and their distribution in later stages of meiosis in the F₁ hybrid, *M. segetalis* × *M. macrocarpa*

Stage of meiosis	Frequency of PMCs with										Total
	8 _{II}	7 _{II} +2 _I	1 _{III} + 6 _{II} +1 _I	1 _{IV} +6 _{II}	8-8	8-8+ fargment & bridge	8-8+ fragment	7-9	normal	abnormal or lagger	
Diakinesis			1	52							53
Metaphase-1	3	3	2	102							110
Anaphase-1					21	7	8	8		17	61
Anaphase-2									35	42	77

結果する種々の分離型を示した (Fig. 2, d-f)。この Diakinesis および M-1 に出現する IV 価は相互転座に由来すると考えるのが妥当であろう。

An-1 において acentric fragment および dicentric bridge を有するものが 68 核中 7 に、また acentric fragment のみが存在するものが 8 観察された。その他 7-9 の分離および遅滞染色体等の異常が観察された (Fig. 3, a-c)。この acentric fragment および dicentric bridge の出現は paracentric inversion の存在を示すものと考えられる。

An-II においても遅滞染色体の出現等の異常が観察された。減数分裂における各時期の接合型および出現頻度を示すと Table 2 の如くである。

IV. 考 察

Melilotus 属の種間雑種に関する細胞学的研究は既にいくつかの報告がある (BRINGHUST, 1951; SHASTRY, SMITH and COOPER, 1960; JARANÓWSKI, 1961; 喜多, 1962, 1964; 喜多, 新関, 1965)。これらのうち *Micromelilotus* 亜属に属する種間雑種について SHASTRY et al. (1960) は *M. messanensis* ×

M. segetalis F₁ の減数分裂を観察し F₁ 雑種は相互転座および逆位異型体であり高度の不稔を良く説明し得ると報告した。喜多 (1964) はその逆交雑 *M. segetalis* × *M. messanensis* F₁ において同一結論を得、さらに核型分析より *M. segetalis* の附随体染色体が相互転座もしくは逆位に関与しているであろうことを指摘した。

本研究において供試した *M. segetalis* × *M. macrocarpa* F₁ については、Diakinesis および M-1 に出現する IV 価の形成から F₁ 雑種は相互転座に関し異型体であると結論することが出来る。また An-1 において観察される dicentric chromatid bridge と acentric fragment からさらにこの F₁ 雑種は paracentric inversion に関し異型体であると云うことが出来る。すなわち相互転座と逆位による減数分裂の異常が 73.7% の高度の花粉不稔を引起すと考えてよいであろう。

さて本種間雑種、*M. segetalis* × *M. macrocarpa* F₁ に存在する相互転座および逆位は、*M. segetalis* × *M. messanensis* F₁ において観察されたそれらと極めて類似するものである。すなわち母親に用いた *M. segetalis* は両種間雑種に共通しているので *M. macrocarpa* と *M. messanensis* は細胞学的に同質のものという推測は一応成り立つ。

しかしながら、核型分析の結果から *M. messanensis* において附随体染色体が観察されるのに対して *M. macrocarpa* には観察されていないし、最大の 1 対の染色体はむしろ次端部に狭索を有する染色体と考えられる。これは両種とも染色体が極めて小さく精細な観察が困難であるので明確に相違を指摘することは困難であるが、*M. messanensis* と *M. macrocarpa* の核型が同一であると考えすることは出来ないであろう。また喜多；新関 (1965, 1966) は *M. sulcata* × *M. macrocarpa* F₁ および *M. sulcata* × *M. infesta* F₁ において、共に逆位の存在を報告した。前者の組合せにおいて供試された *M. macrocarpa* は本実験に用いた花粉親でもある。したがってここに見出された逆位も *M. segetalis* × *M. macrocarpa* F₁ に出現した逆位と何等かの関係があると考えられる。

さて以上の研究に用いられた種は総て核型分析

の結果一応 Type B-2 (*M. infesta*, *M. macrocarpa*, *M. messanensis*, *M. segetalis*, *M. speciosa*, *M. sulcata*) に属する種である。従って今日迄に得られた結果を総合してこれらの種間には主に相互転座、逆位等の一連の染色体の構造的分化が存在していると考えられるであろう。そしてその種間相互の関係はどのような姿で存在しているかということを明らかにするためにはさらに多くの組合せについて研究を進めることが必要である。

V. 摘 要

Melilotus 属の *Micromelilotus* 亜属に属する *M. segetalis* と *M. macrocarpa* の種間雑種、*M. segetalis* × *M. macrocarpa* F₁ について主として細胞学的実験を行なった。その結果を要約すると次の如くである。

1. Diakinesis および M-1 に通常 1_{IV}+6_{II} の接合型が観察され、この IV 価は 4 連染色体環または鎖として出現する。この IV 価の存在から種間雑種 F₁ は相互転座に関し異型体であると考えられる。

2. An-1 において Dicentric chromatid bridge および acentric fragment が観察された。すなわち F₁ 雑種は相互転座に加えて paracentric inversion に関し異型体である。

3. 核型に基礎をおいて分類された Type B-2 群内の種間に相互転座、逆位等の複雑な染色体の構造的分化が存在すると推測され、その種間相互の関係を明らかにするためには更に多くの種間雑種の組合せについて研究を進めることが必要である。

参 考 文 献

- 1) BRINGHURST, R. S. (1951): Genetic analysis of chlorophyll deficiency in *Melilotus alba* × *M. dentata* hybrids with some observations on meiotic irregularities. Summaries of Doctoral Dissertations, Univ. of Wis 11: 96-97.
- 2) GREENSHIELDS, J. E. R. (1954): Embryology of interspecific crosses in *Melilotus*. Canadian Jour. Bot. 32: 447-465.
- 3) JARANOWSKI, J. K. (1961): Semisterility in the

- interspecific hybrid *Melilotus polonica* × *M. alba*. Amer. Jour. Bot. 48: 28-35.
- 4) ————. (1962): Development of embryos and seeds in certain species and species crosses in *Melilotus*. Genetica Polonica 3: 45-59.
- 5) KITA, F., M. L. MAGOON, and D. C. COOPER (1959): Simple smear techniques for the study of chromosomes of *Melilotus*. Phytion 12: 35-38.
- 6) 喜多富美治 (1962): *Melilotus* 属の種間雑種に関する育種学的基礎研究, 第I報種間雑種 *Melilotus alba* × *M. hirsuta* の細胞遺伝, 北大邦文紀要, 第4巻, 第1号: 64-74.
- 7) ———— (1964): *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, 第12号: 74-82.
- 8) 喜多富美治・新関稔 (1965): *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, 第13号: 1-7.
- 9) KITA, F. (1965): Studies on the genus *Melilotus* (sweetclover) with special reference to interrelationships among species from a cytological point of view. Jour. Faculty of Agr. Hokkaido Univ.
- 10) 喜多富美治・新関稔 (1966): *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, 第14号: 27-31.
- 11) SHASTRY, S. V. S., W. K. SMITH and D. C. COOPER (1960): Chromosome differentiation in several species of *Melilotus*. Amer. Jour. Bot. 47: 613-621.
- 12) SMITH, W. K. (1954): Viability of interspecific hybrids in *Melilotus*. Genetics 39: 266-279.
- 13) WEBSTER, G. T. (1950): Fertility relationships and meiosis of interspecific hybrids in *Melilotus*. Agron. Jour. 42: 315-322.
- 14) ————. (1955): Interspecific hybridization of *Melilotus alba* × *M. officinalis* using embryo culture. Agron. Jour. 47: 138-142.

Studies of Interspecific Hybrids in the Genus *Melilotus* from the Plant Breeding Standpoint

V. Cytological Study of the Interspecific Hybrid, *Melilotus segetalis* × *M. macrocarpa*.

Fumiji KITA and Minoru NIIZEKI

(Department of Agronomy, Faculty of Agriculture,
Hokkaido University, Sapporo, Japan)

Summary

Two species of the subgenus *Micromelilotus* (*Melilotus segetalis* and *M. macrocarpa*) and the interspecific F₁ hybrid (*M. segetalis* × *M. macrocarpa*) were used during the course of this investigations.

The F₁ hybrid is grown normally without any indication of chlorophyll deficiency, but highly sterile (ca. 73.7%). During the course of meiosis, irregularities of chromosome behavior are observed at various stages. The configuration 1_{IV}+6_{II} regularly occurs at diakinesis and metaphase-1. Dicentric chromatid bridge and acentric fragment are observed at anaphase-1. These irregularities indicate that the F₁ hybrid is heterozygous for reciprocal translocation and paracentric inversion.