



# HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Melilotus 属の種間雑種に関する育種学的基础研究 : 第VI報 種間雑種、Melilotus polonica x M. alba およびM. polonica x M. hirsuta 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, 15, 38-43
Issue Date	1967-01-31
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/13297">https://hdl.handle.net/2115/13297</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	15_p38-43.pdf



# Melilotus 属の種間雑種に関する育種学的基礎研究

第 VI 報 種間雑種, *Melilotus polonica* × *M. alba* および  
*M. polonica* × *M. hirsuta* の細胞学的研究

喜多富美治・新 関 稔

## I. 緒 言

*Melilotus* 属すなわち Sweetclover の系統発生に関し核学的な見地より種間相互の関係を究明して来た。その結果種間相互に染色体の構造差が認められ、その構造差は相互転座および逆位等に起因することが部分的に明かとなった。

今回は *Melilotus* 属の亜属 *Eumelilotus* に属する *M. polonica* × *M. alba* および *M. polonica* × *M. hirsuta* の 2 種間雑種  $F_1$  について減数分裂の染色体行動を検討した。この結果核型分析より示唆された染色体の種間の構造差の性質が明らかとなると共に、さきに報告した *M. alba* × *M. hirsuta* の種間雑種  $F_1$  の細胞学的観察結果と相俟って、*M. alba*, *M. hirsuta*, *M. polonica* の 3 種間の相互関係が明かとなっ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御指導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るとともに、実際の試験遂行に当って御協力を載いた文部技官飛渡正夫、渡会萬治、赤川昭爾の 3 氏に対しここに記して厚く感謝の意を表する。

## II. 実験材料及び方法

用いた種は *M. alba* var. *common*, *M. hirsuta*, *M. polonica* の 3 種で共に *Melilotus* 属の *Eumelilotus* 亜属に属する 2 年生の種である。それらの原産地に関し、*M. alba* はもともと Eurasia の比較的広範な地域に分布していたと考えられ現在は栽培種として世界の温帯地域に広く分布している。*M. hirsuta* は南西ロシア、*M. polonica* はウラル山脈から南西ロシアとトルコにかけて分布していると考えられ、したがってこの両種はほぼ類

似の地域に分布し且つ比較的小地域に限定されていると考えられる。これらの種子はウイスコンシン大学の W. K. SMITH 博士の厚意により入手したものである。

1964 年温室内で *M. polonica* を母として交雑を行ない、得られた種子を直ちに播種し *M. polonica* × *M. alba*  $F_1$  3 個体および *M. polonica* × *M. hirsuta*  $F_1$  2 個体が得られた。これらの種間雑種は温室内で順調に生育を続け、1965 年に開花に至り検鏡に供した。

減数分裂および体細胞分裂の染色体の観察は、前報 (KITA, 1965) に報告した方法に従った。

## III. 実験結果

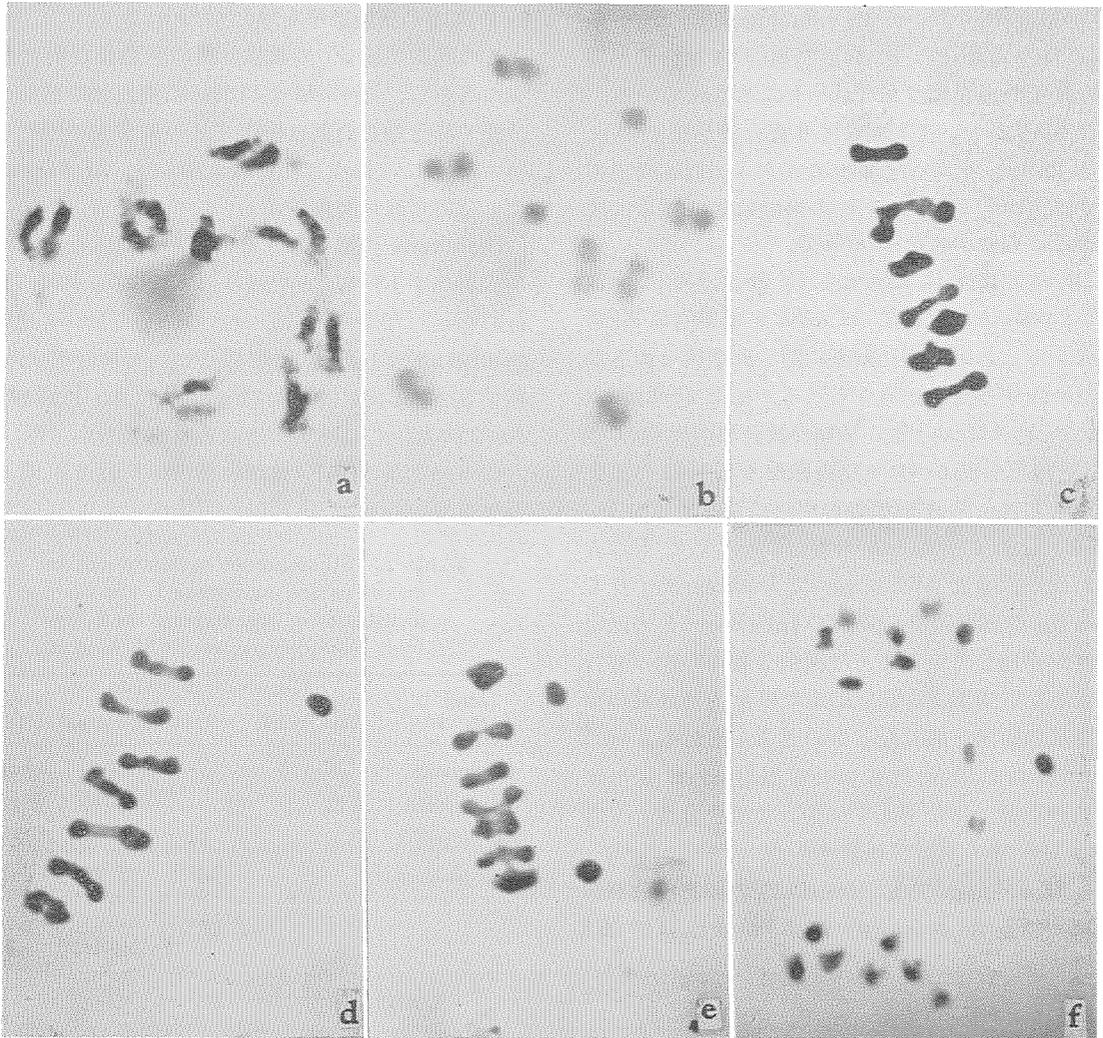
### 1. 親 species の細胞学的観察

*M. alba* および *M. hirsuta* の花粉稔率は共に 95% 以上を示し高度の稔性を示した。また減数分裂において規則的に 8n が形成され細胞学的に安定した種である。

一方 *M. polonica* の花粉稔率は盛夏頃非常に低く気温の低下に伴い次第に高くなる傾向を示し 9 月下旬において約 86% の花粉稔率を示した。したがって詳細に減数分裂の観察が行なわれたが、Diakinesis および M-1 で規則的に 8n が形成され染色体的な異常は見出せなかった。したがって多少の疑問が残るが一応細胞学的に正常であると考えられる。JARANOWSKI (1961) は *M. polonica* について、温室内で育成すると花粉稔性が低下するが減数分裂は正常であると指摘している。

### 2. *M. polonica* × *M. alba* $F_1$ の細胞学的観察

種間雑種 *M. polonica* × *M. alba*  $F_1$  は約 37.0% の花粉不稔率を示し、その減数分裂の過程において種々の不規則性が観察された。



**Fig. 1.** Meiosis of *M. polonica* × *M. alba* F<sub>1</sub>

- a. Diakinesis with 1<sub>IV</sub>+6<sub>II</sub>.      d. Metaphase-1 with 1<sub>III</sub>+6<sub>II</sub>+1<sub>I</sub>.  
 b. Diakinesis with 7<sub>II</sub>+2<sub>I</sub>.      e. Metaphase-1 with 7<sub>II</sub>+2<sub>I</sub>.  
 c. Metaphase-1 with 1<sub>IV</sub>+6<sub>II</sub>.      f. Anaphase-1 with a lagging chromosome and  
 chromatid separation.

**Table 1.** Chromosome configurations at diakinesis and metaphase-1 and their distribution in later stages in the F<sub>1</sub> hybrids: *Melilotus polonica* × *M. alba*.

stage of meiosis	frequency of PMCs with						
	1 <sub>IV</sub> +6 <sub>II</sub>	1 <sub>III</sub> +6 <sub>II</sub> +1 <sub>I</sub>	7 <sub>II</sub> +2 <sub>I</sub>	8 <sub>II</sub>	normal	abnormal	total
Diakinesis	32	31	37	26			126
Metaphase-1	18	75	36	20			149
Anaphase-1					27	26	53
Anaphase-2					20	27	47

Diakinesis において  $1_{IV}+6_{II}$  (Fig. 1-a),  $1_{III}+6_{II}+1_I$ ,  $7_{II}+2_I$  (Fig. 1-b), および  $8_{II}$  の 4 接合型が観察されその出現頻度が Table 1 に示されている。また M-1 においても同じく 4 接合型が観察された (Fig. 1-c, d, e)。しかしながら  $1_{IV}+6_{II}$  の出現頻度は減少し  $1_{III}+6_{II}+1_I$  の出現頻度が顕著に増加する傾向を示した (Table 1)。

この種間雑種  $F_1$  における IV 価の出現は両親の *M. polonica* および *M. alba* が規則的に  $8_{II}$  を形成することから相互転座に関し異型接合体となるため生ずるものと考えられる。また Diakinesis および M-1 における 4 種類の接合型の出現は当然 IV 価を形成すべき 4 染色体のうち 1~2 の染色体がキアズマの不形成等の理由により離反し  $1_{III}+6_{II}+1_I$  および  $7_{II}+2_I$  の接合型が生じたものと思われる。また M-1 において Diakinesis よりも  $1_{IV}+6_{II}$  の出現頻度が減少し  $1_{III}+6_{II}+1_I$  の出現頻度が増加していることは減数分裂の時期の進行にともない当然 IV 価を形成すべき染色体間の早期離反の傾向が強くなるものと考えられる。

An-1 および An-2 において遅滞染色体または小核の形成、また An-1 において染色分体の分離 (Fig. 1-f) 等の異常が観察された。

### 3. *M. polonica* × *M. hirsuta* $F_1$ の細胞学的観察

種間雑種 *M. polonica* × *M. hirsuta*  $F_1$  は約 96.8

% の高度の花粉稔率を示した (Fig. 2-a)。

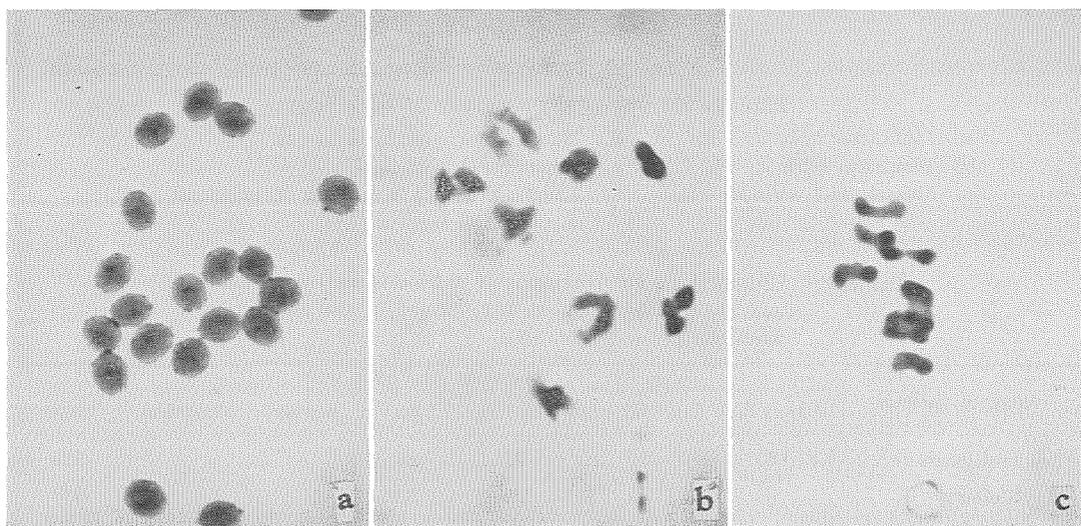
この種間雑種  $F_1$  の減数分裂の染色体行動の観察に当って、特に M-1 において染色体の拡がりが悪く接合型を明確に決定するのに多少の困難が伴った。この傾向は花粉親に用いた *M. hirsuta* にも認められた現象である。

Diakinesis の観察は比較的容易であったが、144 の観察核中 139 が  $8_{II}$  を残りの 5 つは  $7_{II}+2_I$  の接合型を示した (Fig. 2-b)。また M-1 において比較的明瞭に観察し得る 71 の核について検討したが総て  $8_{II}$  を形成していた (Fig. 2-c)。An-1 および An-2 においても不規則性は観察出来なかった。

以上の結果この  $F_1$  雑種の染色体行動は正常であると考えられる。

**Table 2.** Chromosome configurations at diakinesis and metaphase-1 and their distribution in later stages in the  $F_1$  hybrids, *Melilotus polonica* × *M. hirsuta*.

stage of meiosis	frequency of PMCs with				total
	$8_{II}$	$7_{II}+2_I$	normal	abnormal	
Diakinesis	139	5			144
Metaphase-1	71				71
Anaphase-1			51	4	55
Anaphase-2			133	10	143



**Fig. 2.** Meiosis of *M. polonica* × *M. hirsuta*  $F_1$

a. Highly fertile pollen grains. b. Diakinesis with  $8_{II}$ . c. Metaphase-1 with  $8_{II}$ .

## IV. 論 議

さきに著者らは *Melilotus* 属の 19 種の核型分析の結果にもとづき *Melilotus* 属の *Eumelilotus* 亜属に属する 11 種を Type-A 群に分類し、また Type-A 群内のそれぞれの種の核型を詳細に比較検討すると細部について構造的な差が存在することを指摘した (KITA 1965, 1966)。すなわち本研究に供試した *M. alba*, *M. hirsuta*, *M. polonica* の 3 種に収約して考察すると、共に核型にもとづき Type-A 群に入るが細部の構造において *M. alba* の 1 対の附随体染色体は第 1 次狭索を次中部に有し短腕に第 2 次狭索を有するが非常に小さい附随体を持つ。これに対し *M. hirsuta* と *M. polonica* の 1 対の附随体染色体は次中部の位置に第 1 次狭索を長腕に第 2 次狭索を有し、附随体に相当する部分が長い segment となっている (KITA; 1965, 1966)。

上述の如く核型により示唆される構造差の存在及びそれがいかなる性質のものであるかという証

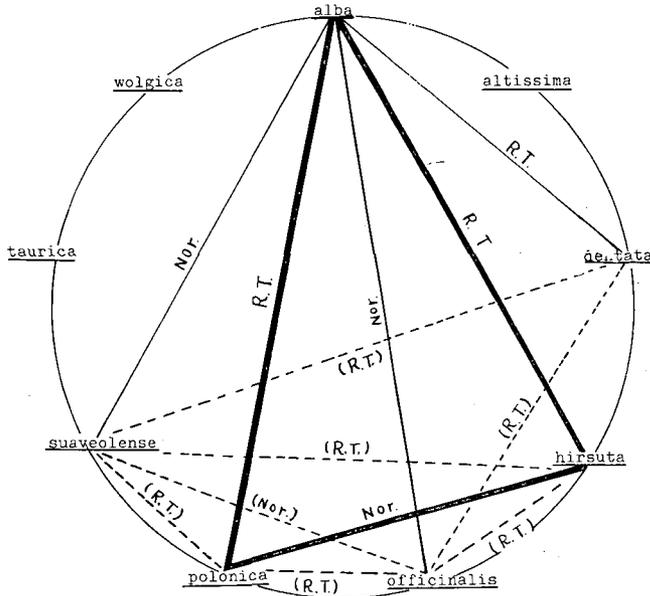
明は、3 種間の種間雑種  $F_1$  の減数分裂における染色体行動を検討することにより明かになりし得る。

本実験において種間雑種 *M. polonica* × *M. alba*  $F_1$  の減数分裂における細胞学的観察結果から、Diakinesis および M-1 に出現する IV 価は核型分析から示唆された構造差が相互転座に起因するものであることを示し、したがってこの種間雑種  $F_1$  は相互転座に関し異型接合体であるといえよう。この結果は JARANOWSKI (1961) が同じく *M. polonica* × *M. alba*  $F_1$  について報告した結果を支持する。

また種間雑種 *M. polonica* × *M. hirsuta*  $F_1$  の減数分裂の観察結果から、この種間雑種の減数分裂は正常に遂行されると考えてよいであろう。すなわち核型分析の結果附随体染色体の類似性が示唆されたが染色体が小さいため正確にその相似性を指摘することは困難であったが、この両種間の  $F_1$  の細胞学的な観察結果から両種は同じ染色体の構成を有すると考えてよいであろう。

さらに著者らの一人は *M. alba* × *M. hirsuta*  $F_1$

Table 3. Cytological relationship among *Eumelilotus* species.



- indicates the relationships studied by the authors.
  - - - indicates the relationships studied by the other workers.
  - · · indicates the relationships estimated by evidences have been worked out.
- R. T.: reciprocal translocation. NOR.: normal.

の細胞学的研究に関し、M-1において $6_{II}+1_{IV}$ の接合型が規則的に出現することを観察し、Pachytene analysisによりこのIV価は相互転座に由来することを明かにした(喜多, 1962)。

以上の結果を総合すると *M. alba*, *M. hirsuta*, *M. polonica* の3種間の相互関係は次の如く考えられる。

*M. alba*—*M. hirsuta*: 相互転座

*M. alba*—*M. polonica*: 相互転座

*M. hirsuta*—*M. polonica*: 正常

したがって、*M. hirsuta* と *M. polonica* は同一染色体構成を持ち、*M. alba* との種間雑種  $F_1$  は同じ性質の相互転座に関しそれぞれ異型接合体となる。

*Melilotus* 属の *Eumelilotus* 亜属に属する種間雑種に関する細胞学的研究については、WEBSTER (1950) が *M. alba* × *M. suaveolens*  $F_1$  の減数分裂は正常であるとし、また同氏は *M. officinalis* × *M. alba*  $F_1$  種子を胚培養により育成し SHASTRY, SMITH and COOPER (1960) がこの  $F_1$  雑種の減数分裂を観察し正常であると報告した。BRINGHURST (1951) は (*M. alba* × *M. dentata*) × *M. dentata* において相互転座が存在するであろうことを示唆した。また JARANOWSKI (1961) は *M. polonica* × *M. alba*  $F_1$  において相互転座を見出した。これらの研究結果は更に追試をして確認する必要があるが、一応正しいものとして著者等の研究結果に加えて種間相互の細胞学的関係を一括表示すると Table 3 の如くである。すなわち未だ種間雑種が育成されていない組合せにおいては  $F_1$  育成上葉緑素欠乏等の障害が報告されているが、接木等の方法によりこの障害を克服し、総ての種間について染色体の構造差にもとづく相互関係を明かにすることは、当面する興味ある問題の一つと考えられる。

## V. 摘 要

*Melilotus* 属の種間交雑育種の基礎資料を得る目的で、*M. polonica* × *M. alba* および *M. polonica* × *M. hirsuta* の2種間雑種  $F_1$  について主として細胞学的な研究を行なった。その結果さきに報告

した *M. alba* × *M. hirsuta*  $F_1$  の細胞学的研究結果と関連して、*M. alba*, *M. hirsuta* および *M. polonica* の3種間の相互関係が明かとなった。その結果を要約すると次の如くである。

1. *M. polonica* × *M. alba*  $F_1$  の Diakinesis および M-1 において  $1_{IV}+6_{II}$ ;  $1_{III}+6_{II}+1_1$ ,  $7_{II}+2_1$  の接合型が出現し、このIV価は相互転座に起因するものであり、したがってこの種間雑種  $F_1$  は相互転座に関し異型接合体であると考えられた。また  $1_{III}+6_{II}+1_1$  および  $7_{II}+2_1$  の出現はもともとIV価を形成すべき染色体のうち1~2の染色体が早期離反したもので  $1_{IV}+6_{II}$  の接合型と同一起源を有することを示した。

2. *M. polonica* × *M. hirsuta*  $F_1$  の花粉稔率は高く、また減数分裂は規則的に遂行されることが観察された。

3. さきに報告した如く *M. alba* × *M. hirsuta*  $F_1$  は相互転座に関し異型接合体であるので、*M. alba*, *M. hirsuta*, *M. polonica* の3種間の細胞学的な相互関係は次の如く考えられた。

*M. alba*—*M. hirsuta*: 相互転座

*M. alba*—*M. polonica*: 相互転座

*M. polonica*—*M. hirsuta*: 正常

## 参 考 文 献

- BRINGHURST R. S.: Genetic analysis of chlorophyll deficiency in *Melilotus alba* × *M. dentata* hybrids with some observations on meiotic irregularities. Summaries of Doctoral Dissertations, Univ. Wis., 11, 96-97, 1951.
- JARANOWSKI, K. J.: Semisterility in the interspecific hybrid, *Melilotus polonica* × *M. alba*. Amer. Jour. Bot. 48, 28-35, 1961.
- KITA, F., M. L. MAGOON, and D. C. COOPER.: Simple smear techniques for the study of chromosomes of *Melilotus*. Phytion, 12, 28-35, 1961.
- 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, 1962.
- KITA, F.: Studies on the genus *Melilotus* (Sweet-clover) with special reference to interrelationships among species from a cytological point of view. Jour. Fac. Agri. Hokkaido Univ., 54, 25-122, 1965.

- 6) ———: Studies on morphology of the somatic chromosomes of the genus *Melilotus* (Sweetclover). Japanese Jour. Bot. **19**, 149-174, 1966.
- 7) SHASTRY, S. V. S., W. K. SMITH, and D. C. COOPER.: Chromosome differentiation in several species of *Melilotus*. Amer. Jour. Bot. **47**, 613-621, 1960.
- 8) SMITH, W. K.: Viability of interspecific hybrids in *Melilotus*. Genetics, **39**, 266-279, 1954.
- 9) WEBSTER, G. T.: Fertility relationships and meiosis of interspecific hybrids in *Melilotus*. Agron. Jour. **42**, 315-322, 1950.
- 10) ———: Interspecific hybridization of *Melilotus alba* × *M. officinalis* using embryo culture. Agron. Jour. **47**, 138-142, 1955.

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

### VI. Cytological Studies of the Interspecific Hybrids, *Melilotus polonica* × *M. alba* and *M. polonica* × *M. hirsuta*.

Fumiji KITA and Minoru NIIZEKI

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

#### Summary

Two interspecific hybrids, *Melilotus polonica* × *M. alba* and *M. polonica* × *M. hirsuta*, were studied during the course of this investigations.

The F<sub>1</sub> hybrid, *M. polonica* × *M. alba*, is semisterile in pollen fertility (ca. 63% of fertile pollen grains). At diakinesis and metaphase-1, four types of configurations such as 1<sub>IV</sub>+6<sub>II</sub>, 1<sub>III</sub>+6<sub>II</sub>+1<sub>I</sub>, 7<sub>II</sub>+2<sub>II</sub>, and 8<sub>II</sub> are observed. Occurrence of a chain or ring of 4 chromosomes indicates that the F<sub>1</sub> hybrid is heterozygous for reciprocal translocation.

The F<sub>1</sub> hybrid, *M. polonica* × *M. hirsuta*, is highly fertile in pollen fertility (ca. 96.8% of fertile pollen grains). As far as examined, the course of meiosis of this hybrid is regular.

The F<sub>1</sub> hybrid, *M. alba* × *M. hirsuta*, is heterozygous for reciprocal translocation as reported previously (KITA, 1962).

Consequently, the cytological relationships among three species, *M. alba*, *M. hirsuta*, and *M. polonica*, was considered as follows:

*M. alba*—*M. hirsuta*: reciprocal translocation.

*M. alba*—*M. polonica*: reciprocal translocation.

*M. hirsuta*—*M. polonica*: normal.