



# HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Melilotus属の種間雑種に関する育種学的基礎研究 : 第13報 Melilotus officinalisとM. albaの交雑和合性とF1の細胞遺学的研究
Author(s)	哈, 森; Ha, Sen; 前川, 雅彦 他
Citation	北海道大学農学部農場研究報告, 26, 53-63
Issue Date	1989-03-25
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/13396">https://hdl.handle.net/2115/13396</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	26_p53-63.pdf



## Melilotus 属の種間雑種に関する育種学的基礎研究

### 第13報 *Melilotus officinalis* と *M. alba* の交雑和合性と F<sub>1</sub> の細胞遺伝学的研究

哈 森

(北海道大学農学部作物育種学教室)

前川 雅彦・喜多富美治

(北海道大学農学部附属農場)

(1988年12月3日受理)

#### 緒 言

*Melilotus* 属 (Sweetclover) は *Medicago* 属および *Trigonella* 属に近縁な属で、*Eumelilotus* 亜属と *Micromelilotus* 亜属に大別される。*Eumelilotus* 亜属には9種が分類され、すべての種は  $2n=16$  の2倍体で存在する。これらのいくつかの種間には交雑不和合性が存在し、また種間雑種 F<sub>1</sub> に葉緑素欠乏による雑種弱勢が認められ、種の隔離機構の重要な要因として考えられている<sup>1,2,4,9,12,13</sup>。さらに、特定の種間には相互転座に由来する染色体の構造差が存在することが報告され、*M. alba* と *M. hirsuta*, *M. officinalis*, *M. polonica* および *M. suaveolens* の4種との間に一つの相互転座が、また *M. alba* と *M. dentata*, *M. taurica* および *M. wolgica* の3種との間にも同様に一つの相互転座が存在することが報告された<sup>5,6,8,9</sup>。一方、*M. hirsuta*, *M. officinalis*, *M. polonica* および *M. suaveolens* の4種からなるグループと *M. dentata*, *M. taurica* および *M. wolgica* の3種からなるグループの間の細胞遺伝学的関係については、両グループ間の種間雑種 F<sub>1</sub> は強度の葉緑素欠乏を示し、開花登熟まで生育できないことにより、現在のところ不明である。この両グループの細胞遺伝学的関係を明らかにするための一方策として、筆者らはまず交雑和合性のある *M. alba* と *M. officinalis* を含むグループの4種との間の F<sub>1</sub> 雑種を作出し、この F<sub>1</sub> 雑種に

*M. dentata* を含むグループの3種と交雑する三系交雑を試みている。この実験の第1段階における *M. alba* と *M. officinalis* を含むグループとの F<sub>1</sub> 雑種の作出にあたり、*M. officinalis* (10系統) と *M. alba* (15系統) の総当り交雑を行った結果、いままで報告されていない *M. officinalis* の1年生の4系統および2年生系統で既報の P. I. 178985<sup>5,7,8</sup> 以外の1系統と *M. alba* の種間雑種 F<sub>1</sub> を胚培養することなしに新たに作出することに成功した。そこで本報告では、*M. officinalis* と *M. alba* との詳細な交雑和合性ならびに新しく得られた F<sub>1</sub> 雑種の細胞遺伝学的関係についての結果を取りまとめた。

#### 材料および方法

*Eumelilotus* 亜属には9種が含まれるが、本実験に用いた *M. alba* と *M. officinalis* の各系統は Table 1 のごとくである。

1987年5月、各供試系統の種子は硬実打破のため種皮に傷をつけ、シャーレ内常温 25°C の条件下で発芽後、播種した。第2本葉展開後、1系統5個体ずつ素焼鉢に個体植えし、寒冷しゃで覆ったハウス内で約18時間の長日下で栽培した。交雑は真空ポンプで除雄して行い、除雄後交雑して得られた F<sub>1</sub> 種子は親系統と同様な方法で発芽させ育成した。減数分裂の観察は喜多<sup>4)</sup>の方法に従った。

## 結 果

### 1. 種間雑種 $F_1$ の判定とその生育特性

交雑成功についての判定は交雑で得られた種子の形態、発芽後の幼苗の形態および開花後の花色で容易に可能であった。交雑で得られた種子は Fig. 1 のごとく概ね正常、小粒(その多くは緑色を呈する)、および退化種子に分けられた。これらの種子を別々に発芽させ、育苗したところ、Fig. 2 に示されるように、小粒種子からの幼苗は正常種子からの幼苗に比べ、種々の程度の葉緑素欠乏を呈した。その一部は生長につれて葉緑素欠乏が次第に回復し、開花登熟まで生育することができ、乳黄色の花色を示すと共に、花と莢の大きさは Fig. 3 のごとく両親のほぼ中間であった。これらの結果は従来この2種間の  $F_1$  雑種についての報告<sup>2,4,5,9,14)</sup>と殆ど一致し、従って、幼苗時に葉緑素欠乏を呈するものが  $F_1$  雑種で、呈しないものが自殖個体であることが簡単に判定できた。

### 2. 種間交雑和合性

*M. officinalis* と *M. alba* 両種の交雑においては、*M. officinalis* を雌性親に供試した場合にのみ  $F_1$  の作出が可能であるという従来の報告<sup>6,7,9,14)</sup>に基づいて、Table 2 に示したような合計 150 組み合わせの交雑を行った。その結果、*M. officinalis* の

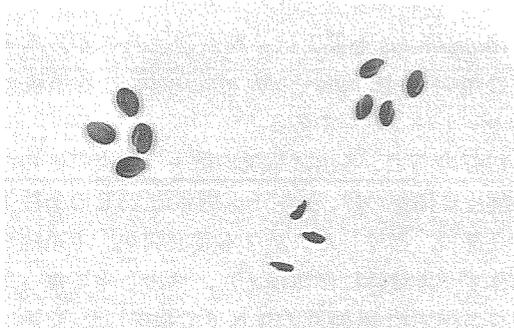


Fig. 1. Seeds obtained from the cross combination, *M. officinalis* P200-1 × *M. alba* Arctic.  
left : small normal and greenish seeds.  
under : aborted seeds.

2年生6系統の中、P. I. 178985 と Bdn 62-13 が *M. alba* との間に交雑和合性を持つことが明らかに認められたが、他の4系統との間では認められなかった。一方、1年生4系統は *M. alba* と、いくつかの特定の系統間に限られるが、発芽可能な  $F_1$  種子が得られ、いずれも交雑和合性が認められた。

$F_1$  雑種が得られた交雑組み合わせの詳細をみると (Table 3), 正常種子は発芽し、幼苗時から葉緑素欠乏を示さず健全に開花まで生育し、花色からも自殖個体であることがわかった。一方、退化種子は発芽能力を持たなかった。小粒種子は  $F_1$  雑種であることが上述のようにわかるが、その葉

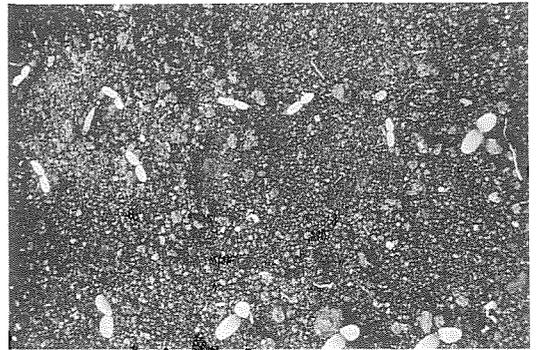


Fig. 2. The seedlings obtained from the cross combination, *M. officinalis* P200-2 × *M. alba* Spanish. The 7 smaller seedlings were  $F_1$  hybrids, showing chlorophyll deficiency. The larger seedlings were normal green and not hybrids.



Fig. 3. Photograph of parental species and the  $F_1$  hybrid plant.  
left : *M. officinalis* P197-1.  
middle : *M. officinalis* P197-1 × *M. alba* Bdn 928.  
right : *M. alba* Bdn 928.

**Table 1.** List of parental species, strains used and their pollen fertility

Species	Strain	Pollen fertility(%)
Annual		
<i>M.alba</i>	Bdn 631	97.4
	Bdn 633	93.5
	Hubum(F.C.39955)	94.5
	F.C.40076	95.8
<i>M.officinalis</i>	P197-1	99.3
	P198-1	99.5
	P200-1	99.5
	P200-2	99.3
Biennial		
<i>M.alba</i>	Bdn 647	94.2
	Bdn 660	97.7
	Bdn 664	98.8
	Bdn 928	96.8
	Spanish(F.C.37893)	95.7
	Evergreen(F.C.36062)	96.3
	Arctic	95.5
	Denta	99.3
	Cumino	97.8
	Brandon Dwarf	97.1
Common White	95.5	
<i>M.officinalis</i>	P.I.178985	99.0
	P.I.314385	99.1
	Bdn 62-1	97.5
	Bdn 62-13	99.0
	F.C.40032	99.1
	F.C.40001	98.3

**Table 2.** Cross combinations between *M.officinalis* and *M.alba* and number of flowers pollinated

♀	♂ <i>M.alba</i>															
	Bdn 631	Bdn 633	Bdn 647	Bdn 660	Bdn 664	Bdn 928	Denta	Cumino	Evergreen	Spa-nish	Arctic	Hubum	F.C. 40076	Common White	Brandon Dwarf	Total
<i>M.officinalis</i>	631	633	647	660	664	928							40076	White	Dwarf	
P197-1	31	55*	16*	30*	25	24*	16	30	27	26	35	21*	39	22	22	419
P198-1	34*	23*	19	27	21	33*	21	30	29	25	28*	30	35*	30	28	413
P200-1	33*	30	23	26	60	25	24	32	29	24*	20*	20*	51*	22	28	447
P200-2	64*	34	35	21*	31*	24*	26	30	27	23*	69*	19*	35*	19	21	478
P.I.178985	18*	21*	27*	25	26*	25	26*	19*	21*	23*	28*	20*	22*	22*	23*	346
P.I.314385	28	26	25	24	25	28	31	32	26	24	28	22	24	25	24	392
Bdn 62-1	43	44	24	29	26	26	25	28	29	35	20	30	20	24	26	429
Bdn 62-13	26	20	20	26*	20	22	27	24	28	30*	19	24	24	26*	22*	358
F.C.40032	26	20	21	21	25	22	25	24	22	31	25	50	25	21	25	383
F.C.40001	22	26	25	29	25	30	28	28	27	32	20	20	28	27	28	395
Total	325	299	235	258	284	259	249	277	265	273	292	256	303	238	247	4060

\* means cross combination in which F<sub>1</sub> hybrid seedlings were obtained.

**Table 3.** Cross combinations between *M.officinalis* and *M.alba* in which F<sub>1</sub> hybrids were obtained and characteristics of the F<sub>1</sub> hybrids

Cross combination		No.of seeds			No.of germinated seeds		No.of seedlings			Color of hybrid seedling*	No.of hybrids reached to flowering stage
<i>M.officinalis</i>	<i>M.alba</i>	Normal	Aborted	Total	Self	Hybrid	Total				
P197-1	× Bdn 633	11( 6)	0	11	11	5	6	11	3 ~ 5	2	
	× Bdn 647	7( 1)	0	7	7	6	1	7	5 ~ 6	0	
	× Bdn 660	14( 7)	3	17	13	6	7	13	4	1	
	× Bdn 928	11( 6)	0	11	11	5	6	11	3 ~ 4	1	
	× Hubum	4( 1)	0	4	4	3	1	4	4 ~ 5	0	
P198-1	× Bdn 631	3( 1)	0	4	4	3	1	4	5	0	
	× Bdn 633	2	1	3	2	1	1	2	4	0	
	× Bdn 928	13(10)	4	17	13	3	10	13	3 ~ 6	8	
	× Arctic	11( 2)	0	11	10	9	1	10	5	0	
	× F.C.40076	4( 2)	0	4	4	2	2	4	4 ~ 5	0	
P200-1	× Bdn 631	12( 7)	1	13	12	5	7	12	4 ~ 5	3	
	× Spanish	5( 2)	0	5	5	3	2	5	4	0	
	× Arctic	8( 4)	3	11	8	4	4	8	4 ~ 5	3	
	× Hubum	3( 1)	0	3	3	2	1	3	5	0	
	× F.C.40076	8( 1)	1	9	8	7	1	8	3	0	
P200-2	× Bdn 631	21( 8)	0	21	21	13	8	21	5 ~ 6	2	
	× Bdn 660	10( 2)	0	10	10	8	2	10	4 ~ 5	1	
	× Bdn 664	12( 4)	2	14	12	8	4	12	5 ~ 6	2	
	× Bdn 928	4( 2)	0	4	4	2	2	4	5	0	
	× Spanish	8( 7)	1	9	8	1	7	8	4 ~ 5	0	
	× Arctic	13( 7)	1	14	13	6	7	13	5 ~ 6	3	
	× Hubum	4( 1)	2	6	4	3	1	4	5	0	
× F.C.40076	8( 3)	0	8	8	5	3	8	3 ~ 4	2		
P.I.178985	× Bdn 631	10( 9)	1	11	10	0	10	10	5	0	
	× Bdn 633	20( 8)	0	20	20	7	8	15	5 ~ 6	2	
	× Bdn 647	15( 7)	1	16	15	5	7	12	5 ~ 6	3	
	× Bdn 664	17( 8)	9	26	12	0	10	10	5 ~ 6	5	
	× Denta	11( 4)	1	12	9	3	4	7	5	2	
	× Cumino	2( 1)	3	5	3	2	1	3	4 ~ 5	0	
	× Evergreen	7( 2)	4	11	5	3	2	5	5 ~ 6	1	
	× Spanish	4( 2)	0	4	4	2	2	4	5 ~ 6	0	
	× Arctic	7( 4)	0	7	7	1	4	5	5 ~ 6	0	
	× Hubum	11( 1)	0	11	11	1	9	10	5 ~ 6	4	
	× F.C.40076	15(10)	0	15	14	2	12	14	5 ~ 6	2	
	× C.White	6( 3)	1	7	6	3	3	6	5	0	
	× B.Dwarf	10( 4)	0	10	10	4	4	8	5 ~ 6	0	
	Bdn 62-13	× Bdn 660	8( 2)	1	9	8	6	2	8	5 ~ 6	2
× Spanish		7( 1)	0	7	7	6	1	7	5	0	
× C.White		13( 6)	0	13	13	9	4	13	4 ~ 5	2	
× B.Dwarf		7( 2)	0	7	7	5	2	7	5	2	

\* ;Color of hybrid seedling on scale was 1-very pale, 6-normal green.

( ) ;No.of small and greenish seeds obtained.

緑素欠乏の程度を6段階の評点法、すなわち1：very pale～6：normal greenで評価したところ、4以上の個体は殆ど開花登熟まで生育する傾向が一般に認められたが、しかし、*M. officinalis* P 197-1 × *M. alba* Bdn 633 と *M. officinalis* P 200-2 × *M. alba* F.C. 40076 のような F<sub>1</sub> は幼苗初期の葉緑素欠乏程度がそれぞれ3～5および3～4と比較的顕著であるものの、次第に回復し開花登熟まで生育した。逆に、*M. officinalis* P 200-2 × *M. alba* Spanish と *M. officinalis* P.I. 178985 × *M. alba* Bdn 631 のような F<sub>1</sub> の葉緑素欠乏程度は幼苗初期に4～5および5でそれほど顕著でなかったが、結局生育途中で全部枯死し、開花するまでに至らなかった。これは葉緑素欠乏の外に F<sub>1</sub> を致死させる何らかの遺伝的要因の存在を示唆するものと考えられた。

多くの交雑実験の中で、*M. alba* Bdn 928 という Leningrad から導入した系統が *M. officinalis* P 198-1 と極めて高い交雑和合性を示した。Table 2 および Table 3 に示したように、*M. officinalis* P 198-1 × *M. alba* Bdn 928 の交雑において、33個の花を交雑に供試し、10個体の F<sub>1</sub> の中8個体が開花登熟まで生育した。

### 3. 親系統および F<sub>1</sub> 雑種の細胞学的観察

交雑親に用いた *M. alba* と *M. officinalis* の各系統について花粉稔性を調査し、減数分裂における染色体行動の観察を行った。両親の供試系統の花粉稔性を Table 1 および Fig. 4 a, c に示した。各親系統はいずれも90%以上の高い花粉稔率を示し、減数分裂の diakinesis および M-1 で規則的に8 II を形成し、外の時期にも染色体行動の異常は認められなかった。これらのことから、供試各系統は細胞学的に安定していると言える。

また、開花まで育成した F<sub>1</sub> 雑種についても同様に花粉稔性を調査した。F<sub>1</sub> 雑種の花粉稔率は交雑組み合わせにより48.3～66.1%と変動し、半不稔を示した (Table 4, Fig. 4b)。さらにこれらの F<sub>1</sub> 雑種の減数分裂の染色体行動を調べたところ (Table 5, Fig. 5)、各組み合わせとも共通した染色体行動の異常が観察された。すなわち、diakinesis では1 IV + 6 II の接合型が多く出現し、M-1においては1 III + 6 II + 1 I の接合型が高頻度に出現した。また低頻度ではあるが、An-1 および An-2 において染色体の9対7の異常分離や遅滯染色体などが観察された。

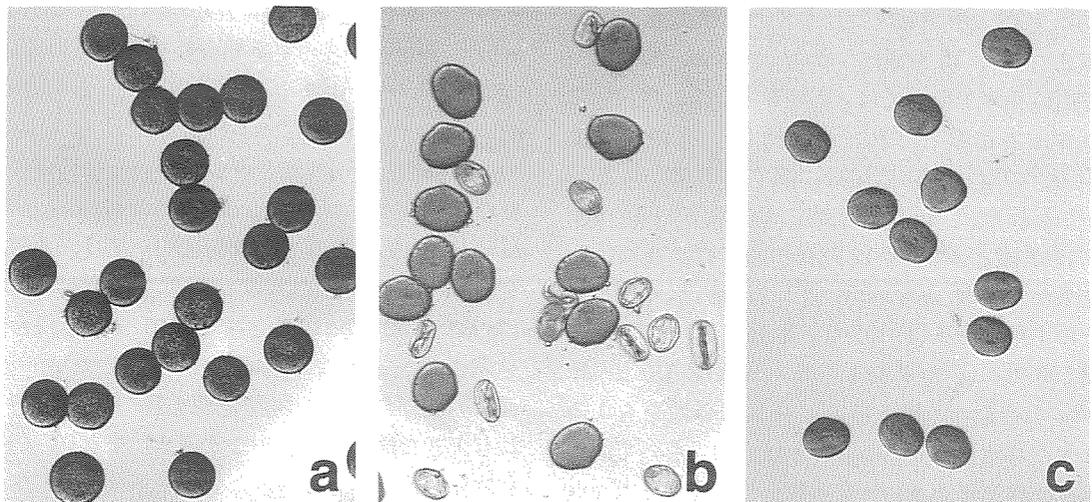


Fig. 4. Pollen of parental species and the F<sub>1</sub> hybrid. (× 107)

a : *M. officinalis* P197-1.

b : *M. officinalis* P197-1 × *M. alba* Bdn 928.

c : *M. alba* Bdn 928.

**Table 4.** Pollen fertility of interspecific F<sub>1</sub> hybrids between *M. officinalis* and *M. alba*

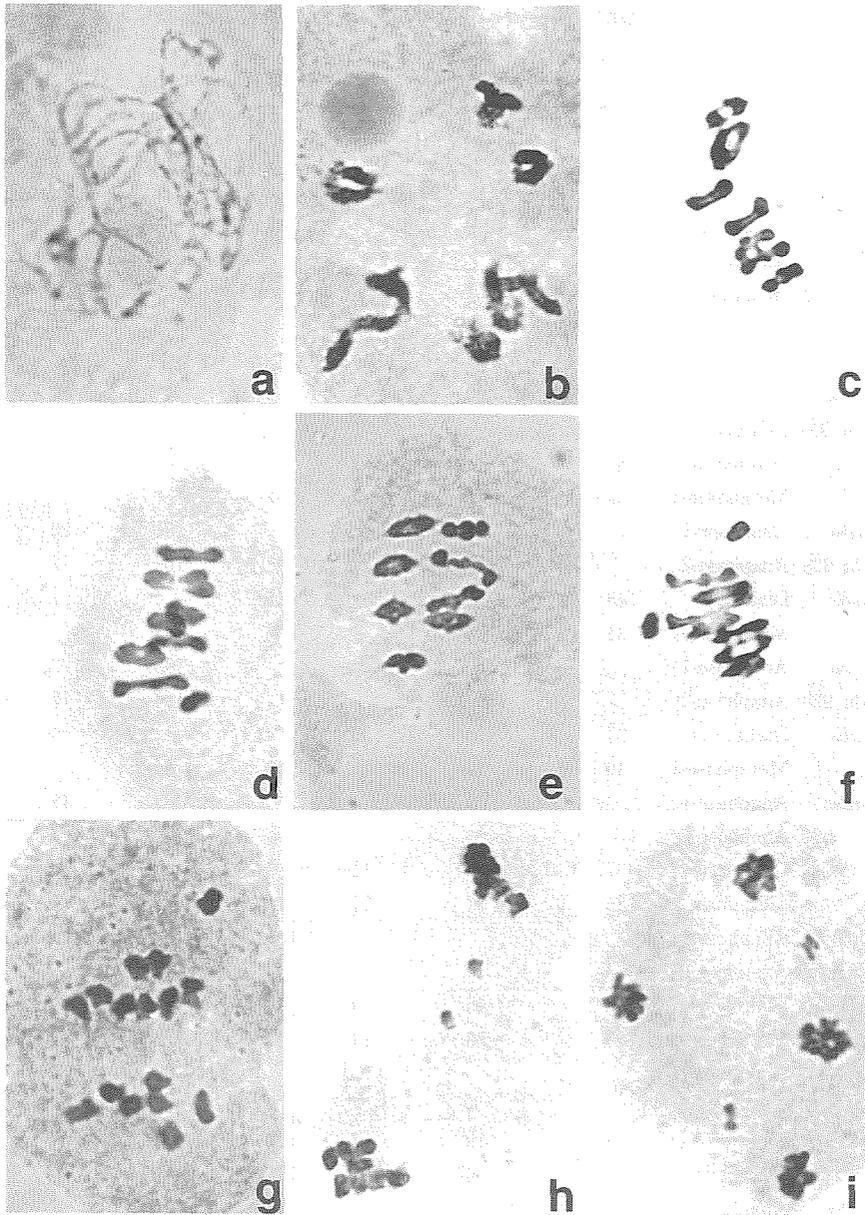
Cross combination		Pollen fertility(%)
<i>M. officinalis</i>	<i>M. alba</i>	
P197-1	× Bdn 633	59.6
	× Bdn 660	48.7
	× Bdn 928	55.4
P198-1	× Bdn 928	52.8
P200-1	× Bdn 631	51.8
	× Arctic	56.4
P200-2	× Bdn 631	55.5
	× Bdn 664	60.0
	× F.C.40076	48.3
	× Arctic	60.5
P.I.178985	× Bdn 633	56.9
	× Bdn 647	62.0
	× Bdn 664	54.3
	× Hubum	58.9
	× F.C.40076	56.4
	× Denta	66.1
	× Evergreen	62.1
	× Bdn 62-13	53.6
Bdn 62-13	× Brandon Dwarf	62.9
	× Common White	50.9

## 考 察

*Melilotus* 属の *Eumelilotus* 亜属に含まれる *M. alba* と *M. officinalis* には多くの経済的栽培品種があるが、両種間には *M. officinalis* の P. I. 178985 系統を除いては、交雑不和合性の存在していることが報告されている<sup>1,2,3,9,14</sup>。このことは KIRK<sup>2)</sup> の行った自然交雑に関する実験からもうかがわれた。しかし、本実験における *M. officinalis* 10 系統と *M. alba* 15 系統の間の総当り交雑の結果から、*M. officinalis* P. I. 178985 以外にも新たに 1 年生系統 (P 197-1, P 198-1, P 200-1, P 200-2) と 2 年生 1 系統 (Bdn 62-13) が *M. alba* の特定の系統との間に交雑和合性を有することが判明した。胚培養の手段を用いなくて、F<sub>1</sub> 雑種が作出可能という交雑和合性に関する Table 2 の結果をまとめてみると Table 6 に示したように、まず *M. alba* の各系統と極めて低い和合性を示す *M. officinalis* 群 (F. C. 40001, Bdn 62-1, F. C. 40032, P. I. 314385) が明らかとなった。但し、

WEBSTER<sup>14)</sup> によれば、胚培養を用いることによって、*M. officinalis* F. C. 40032 (Madrid) と *M. alba* との F<sub>1</sub> 雑種が作出された。*M. alba* でも *M. officinalis* との交雑和合性の組み合わせから、15 系統を 10 群に群別した (Table 6)。これらは Denta 群を除き、すべて *M. officinalis* の 2 系統以上との交雑和合性を示しており、一方 Denta 群は P. I. 178985 としか交雑和合性を示さず、特異的な群であることが推定された。元来、Denta と Cumino は共に接木と戻し交雑によって *M. dentata* の低クマリン遺伝子を *M. alba* に導入した系統であり<sup>11)</sup>、このことが *M. officinalis* との交雑和合性に特異性をもたらした可能性があった。また Leningrad から導入した *M. alba* Bdn 928 と *M. officinalis* P 198-1 との F<sub>1</sub> 雑種は他の組み合わせの F<sub>1</sub> 雑種より極めて良好な生育を示したこと、本実験では成功しなかった *M. officinalis* P. I. 178985 × *M. alba* Bdn 928 の交雑で、SANO and KITA<sup>7)</sup> は多くの F<sub>1</sub> を作出し開花まで育成したことを考え併せると、この Bdn 928 系統は種間交雑育種において重要な系統と考えられる。従来の報告<sup>5,6,7,9)</sup> どおり、P. I. 178985 は *M. alba* の各系統と巾広い交雑和合性を有することが指摘できるが、しかし、本実験において *M. alba* の Bdn 660 系統との間には F<sub>1</sub> 雑種が得られなかった。一方、*M. alba* の Bdn 660 との交雑和合性を示したのは *M. officinalis* の P 197-1, P 200-2 および Bdn 62-13 であり、これらの系統はいずれも *M. alba* の他の系統との交雑和合性の組み合わせについては異なっていた。*M. officinalis* P. I. 178985 と *M. alba* Bdn 660 との交雑和合性については、さらに交雑実験が必要であるが、*M. officinalis* P. I. 178985 が *M. alba* の殆どすべての系統と和合性を示すこと、および Table 6 に示した *M. officinalis* と *M. alba* との和合性を持つ系統はいずれも大きな種子 (P 198-1 が最大) を有し、一方交雑和合性を示さなかった 2 年生系統は小粒であることを考えると、交雑和合性の詳細な検討が *M. officinalis* あるいは *M. alba* の系統分化を解明する一助となることが期待される。

本実験で新たに得られた F<sub>1</sub> の雌性親である



**Fig. 5.** Different stages in meiosis of  $F_1$  hybrids, *M. officinalis*  $\times$  *M. alba*. ( $\times 1960$ )

- M. officinalis* P200-2  $\times$  *M. alba* Arctic  $F_1$  Pachytene with a cross-shaped configuration.
- M. officinalis* P197-1  $\times$  *M. alba* Bdn 928  $F_1$  Diakinesis with 1 IV + 6 II.
- M. officinalis* P197-1  $\times$  *M. alba* Bdn 633  $F_1$  M-1 with 6 II plus a ring 4 chromosomes.
- The same  $F_1$  as b, M-1 with 1 III + 6 II + 1 I.
- The same  $F_1$  as b, M-1 with 8 II.
- The same  $F_1$  as c, M-1 with 7 II + 2 I.
- The same  $F_1$  as b, An-1 showing 9-7 disjunction.
- The same  $F_1$  as b, An-1 showing abnormal of 2 lagging chromosomes.
- The same  $F_1$  as b, An-2 showing abnormal of 2 lagging chromosomes.

**Table 5.** Chromosome configurations at diakinesis and metaphase-1 and their distribution in later stages in the interspecific F<sub>1</sub> hybrids, *M.officinalis* × *M.alba*

Cross	Stage	Frequency of PMCs with						Total
		1IV+6II	1III+6II+1I	8II	7II+2I	normal	abnormal	
<i>M.officinalis</i>	Diakinesis	46	18	16	6			86
P197-1	Metaphase-1	33	95	24	18			170
× <i>M.alba</i>	Anaphase-1					75	36	111
Bdn 633	Anaphase-2	47				91	14	105
<i>M.officinalis</i>	Diakinesis	47	40	21	8			116
P197-1	Metaphase-1	45	108	31	17			201
× <i>M.alba</i>	Anaphase-1					83	25	108
Bdn 660	Anaphase-2					86	17	103
<i>M.officinalis</i>	Diakinesis	83	73	53	21			230
P197-1	Metaphase-1	42	102	50	32			226
× <i>M.alba</i>	Anaphase-1					101	20	121
Bdn 928	Anaphase-2					105	12	117
<i>M.officinalis</i>	Diakinesis	48	42	35	15			140
P198-1	Metaphase-1	31	148	52	45			276
× <i>M.alba</i>	Anaphase-1					108	32	140
B Bdn 928	Anaphase-2					124	17	141
<i>M.officinalis</i>	Diakinesis	31	10	9	4			54
P200-1	Metaphase-1	19	47	28	13			107
× <i>M.alba</i>	Anaphase-1					85	18	103
Bdn 631	Anaphase-2					108	13	121
<i>M.officinalis</i>	Diakinesis	37	13	11	5			66
P200-1	Metaphase-1	23	92	29	20			164
× <i>M.alba</i>	Anaphase-1					93	11	104
Arctic	Anaphase-2					108	9	117
<i>M.officinalis</i>	Diakinesis	43	15	9	3			72
P200-2	Metaphase-1	35	58	24	19			136
× <i>M.alba</i>	Anaphase-1					90	32	122
Bdn 631	Anaphase-2					117	20	137
<i>M.officinalis</i>	Diakinesis	38	19	17	4			78
P200-2	Metaphase-1	13	50	14	9			86
× <i>M.alba</i>	Anaphase-1					71	23	94
Bdn 664	Anaphase-2					82	9	91
<i>M.officinalis</i>	Diakinesis	41	14	17	3			75
P200-2	Metaphase-1	19	70	28	10			127
× <i>M.alba</i>	Anaphase-1					83	15	98
Arctic	Anaphase-2					111	9	120
<i>M.officinalis</i>	Diakinesis	36	13	10	6			65
P200-2	Metaphase-1	41	63	21	8			133
× <i>M.alba</i>	Anaphase-1					101	12	113
F.C.40076	Anaphase-2					131	14	145

**Table 6.** Relationship of cross compatibility between *M. officinalis* and *M. alba*

<i>M. officinalis</i> (female)	<i>M. alba</i> (male)									
	Bdn631 F.C.40076 Arctic	Denta Cumino Evergreen	Common White Brandon Dwarf	Bdn633	Bdn647	Bdn660	Bdn664	Bdn928	Spanish	Hubum
P197-1 <sup>1)</sup>				S	S	S		S		S
P198-1 <sup>1)</sup>	S			S				S		
P200-1 <sup>1)</sup>	S								S	S
P200-2 <sup>1)</sup>	S					S	S	S	S	S
P.I.178985 <sup>2)</sup>	S	S	S	S	S		S	A	S	S
Bdn 62-13 <sup>2)</sup>			S			S			S	
F.C.40001 <sup>2)</sup>										
F.C.40032 <sup>2)</sup>										
Bdn 62-1 <sup>2)</sup>										
P.I.314385 <sup>2)</sup>										

1); Annual. 2); Biennial.

Note. "S" meant that F<sub>1</sub> hybrid seedlings were obtained in the cross combination.

"A" meant that F<sub>1</sub> hybrid seedlings were obtained by SANO and KITA<sup>9)</sup>

*M. officinalis* の各 1 年生系統も *M. alba* との間に喜多・佐野<sup>5)</sup> の報告したような相互転座に由来する染色体の構造差が存在するか否かを明らかにするために、開花まで生育した各 F<sub>1</sub> 雑種について細胞学的観察を行った。この F<sub>1</sub> 雑種の減数分裂の観察から、diakinesis および M-1 において基本的に一つの IV 価染色体が形成されることが判明した。また、M-1 に 1 III + 6 II + 1 I の接合型が高頻度で観察されたが、これは IV 価を形成する染色体の 1 本が多くの場合早期離反しやすいためと推定された。この F<sub>1</sub> 雑種の両親は 2n = 16 の 2 倍体であり、減数分裂の M-1 において規則的に 8 II を形成し、90% 以上の高い花粉稔率を示した。また、各 F<sub>1</sub> は diakinesis や M-1 で IV 価染色体を形成し、ほぼ 50% の花粉稔率を示しており、このことは Fig. 5 に示した pachytene において 'cross shape' の染色体接合が観察されたことと併せて、明らかにこれらの F<sub>1</sub> は相互転座に関してヘテロ接合体であると結論された。従って、*M. officinalis* の各 1 年生系統も *M. alba* との間に、喜多・佐野<sup>5)</sup> が報告した *M. officinalis* 2 年生系統と *M. alba* に存在する細胞学的関係が成立していた。これは SHASTRY *et al.* の結果<sup>10)</sup> と異なる。

これまで *M. officinalis* P. I. 178985 のみが *M. alba* と *M. officinalis* の間の遺伝子交換の橋渡しの役割を持つ系統として注目されてきたが、本実験の結果から、*M. officinalis* P 197-1, P 198-1, P 200-1, P 200-2 および Bdn 62-13 も同様な役割を果たす系統として期待できる。今後さらに詳細な交雑実験を行うことによって、*M. officinalis* および *M. alba* の系統発生、分化に関して興味ある結果が析出するものと期待される。

摘 要

*Melilotus* 属の *Eumelilotus* 亜属に含まれる多くの栽培品種を持つ *M. officinalis* と *M. alba* の間で *M. officinalis* (10 系統) × *M. alba* (15 系統) の総当り交雑を行い、150 交雑組み合わせの中、40 組み合わせが成功し、さらにその内 21 組み合わせの F<sub>1</sub> 雑種は開花登熟まで生育した。本実験では P. I. 178985 を除く *M. officinalis* の 1 年生 4 系統および 2 年生 1 系統も *M. alba* と交雑和合性を持つことが明らかになった。これらの新たに得られた F<sub>1</sub> 雑種について細胞学的に詳細な観察を行った。これらの結果を要約すると次のごとくである。

1. *M. officinalis* の 1 年生 4 系統 P 197-1, P

198-1, P 200-1, P 200-2 および2年生の1系統 Bdn 62-13 は胚培養をせずに *M. alba* と交雑して発芽可能な  $F_1$  種子が得られた。これらの  $F_1$  はいろいろな程度の葉緑素欠乏を呈したが、一部分は枯死することなく開花登熟まで生育した。

Leningrad から導入した *M. alba* Bdn 928 系統は *M. officinalis* P 198-1 系統と極めて高い交雑和合性を示した。

2. このことから、*M. officinalis* P. I. 178985 の1系統のみが胚培養することなしに *M. alba* と交雑可能で遺伝子交換ができる唯一の橋渡し系統として考えられていたが、この外に *M. officinalis* P 197-1, P 198-1, P 200-1, P 200-2 および Bdn 62-13 の5系統が橋渡しの系統として利用可能であることが明らかとなった。

3. *M. officinalis* (1年生系統) × *M. alba*  $F_1$  の減数分裂における diakinesis および M-1 において、1つのIV価染色体が出現し、pachytene においても 'cross shape' が観察されたことにより、これらの種間雑種  $F_1$  は相互転座に関してヘテロ接合体であるとする従来の報告<sup>9)</sup> を支持する結果を得た。

## 謝 辞

本研究の一部は昭和62-63年度文部省科学研究費補助金(課題番号62560002)によって行った。

本実験の遂行にあたり、様々な御援助をいただいた文部技官飛渡正夫・角田貴敬両氏に対して厚く謝意を表す。

## 引用文献

1. GREENSHIELD, J. E. R. : Embryology of interspecific crosses in *Melilotus*. *Canad. J. Bot.* **32** : 447-465. 1954
2. KIRK, L. E. : Natural crossing between white-flowered and yellow flowered sweetclover. *Sci. Agr.* **9** : 313-315. 1929
3. KIRK, L. E. : Abnormal seed development in sweetclover species cross. A new technique for emasculating sweetclover flower. *Sci. Agr.* **10** : 321-327. 1930
4. KITA, F. ; Studies on genus *Melilotus* (Sweetclover) with special reference to interrelationships among species from a cytological point of view. *J. Fac. Agr. Hokkaido Univ.* **54** : 22-121. 1965
5. 喜多富美治・佐野芳雄 : *Melilotus* 属の種間雑種に関する育種学的基礎研究, 第VII報, 種間雑種 *Melilotus officinalis* P. I. 178985 × *M. alba* var. Cumino の細胞遺伝, 北大農場報告 **18** : 1-6, 1972
6. 喜多富美治 : 種間交雑によるスイートクローバ育種の問題点, 育種学最近の進歩 **18** : 117-128, 1977
7. LANG, R. C. and GORZ, H. J. : Factors affecting embryo development in crosses of *Melilotus officinalis* × *M. alba*. *Agr. J.* **52** : 71-74. 1960
8. 佐野芳雄・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X報, *Melilotus officinalis* の系統間雑種に関する細胞学的研究, 北大農場報告 **19** : 1-7, 1974
9. SANO, Y. and KITA, F. : Cytological studies of several interspecific  $F_1$  hybrids in the subgenus *Eumelilotus*. *J. Fac. Agr. Hokkaido Univ.* **58** : 225-264. 1975
10. SHASTRY, S. V. S., SMITH, W. K. and COOPER, D. C. : Chromosome differentiation in several species of *Melilotus*. *Amer. J. Bot.* **47** : 613-621. 1960
11. SMITH, W. K. : Propagation of chlorophyll-deficient sweetclover hybrids as grafts. *J. Hered.* **34** : 135-140. 1943
12. SMITH, W. K. : Variability of interspecific crosses in *Melilotus*. *Canad. J. Bot.* **32** : 447-465. 1954
13. STEVENSON, T. M. and KIRK, L. E. : Studies in interspecific crossing with *Melilotus*, *Medicago* and *Trigonella*. *Sci. Agr.* **15** : 580-589. 1935
14. WEBSTER, G. T. : Interspecific hybridization of *Melilotus* using embryo culture. *Agr. J.* **47** : 138-142. 1955

## Studies of Interspecific Hybrids in the Genus *Melilotus* from the Plant Breeding Stand Point, XIII.

### Studies of Interspecific Cross Compatibility between *M. officinalis* and *M. alba*, and Cytogenetics of the F<sub>1</sub> Hybrids Obtained

Sen HA,

Plant Breeding Institute, Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo, 060 Japan

Masahiko MAEKAWA and Fumiji KITA

Experiment Farms, Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo, 060 Japan

(Received December 3, 1988)

#### Summary

In order to obtain interspecific F<sub>1</sub> hybrids between *M. officinalis* and *M. alba*, 150 cross pollinations were conducted, using 10 strains of *M. officinalis* and 15 strains of *M. alba*. In 40 cross combinations, F<sub>1</sub> hybrids were obtained and in 21 of them F<sub>1</sub> hybrids grew to flowering stage. Although it has been generally considered very difficult or impossible to get F<sub>1</sub> hybrids between the two species, except to use *M. officinalis* P. I. 178985, introduced from Turkey by LANG and GORZ<sup>2)</sup>, or without employing embryo culture, 4 annual and 1 biennial strains of *M. officinalis* beside P. I. 178985, were found to have cross compatibility with *M. alba* in this experiment. The newly obtained interspecific F<sub>1</sub> hybrids were studied from the cytological view point. The results obtained were summarized as follows :

1. Four *M. officinalis* annual strains ; P197-1, P198-1, P200-1, P200-2, and 1 biennial strain ; Bdn 62-13 were found to have crossability with *M. alba* without using embryo culture. The F<sub>1</sub> hybrids obtained showed several degrees of chlorophyll deficiency and some of them were able to grow to flowering stage. *M. alba* Bdn 928, an introduction from Leningrad, was found to possess higher compatibility with *M. officinalis* annual strains, especially with P198-1.
2. It is clear that these 4 *M. officinalis* annual strains and the biennial strain Bdn 62-13 would be utilized as gene exchange strains for breeding program.
3. In the F<sub>1</sub> hybrids of *M. officinalis* (annual strains) × *M. alba*, a cross-shaped configuration at pachytene and a ring or chain of 4 chromosomes at diakinesis and metaphase I were observed, indicating that the F<sub>1</sub> hybrids were heterozygous for a reciprocal translocation.