

# レンゲ 4 倍体の不稔機構に関する研究

## V. 成熟分裂異常と配偶子機能との関係

林 喜 三 郎

(農学部育種学研究室)

## Studies on the mechanism of partial sterility in induced autotetraploids of renga (*Astragalus sinicus* L.)

### V. Relation between the abnormalities of meiosis and the function of gametes.

by

Kisaburo HAYASHI

(Laboratory of Plant Breeding, Faculty of Agriculture)

#### I. 緒 言

第1報(1961)では胚珠の約40%はその極核が融合しないことを、また第3報(1966)では、形態的に正常な花粉でも30%以上が発芽しないことを、それぞれ指摘しておいた。このように配偶子機能が低下する現象が、従来4x植物でしばしば指摘されて来たような、成熟分裂時の多価および1価染色体の不均等分配にもとづくものとすれば、種子稔性の高い系統では、低い系統よりも成熟分裂の異常が少なく、異数性配偶子の頻度も低くなるのではないかと考えられる。

本報はこの推論を確かめるために、稔性の著しく異なる2つの4x系統の間に、成熟分裂時の染色体行動、花粉核分裂時の中期核板の染色体数および花粉稔性などに有意な差異を認めうるか否かを検討した結果の概要を論述したものである。

#### II. 実験材料および方法

4xには1951年秋、岐阜大晩生種にコルヒチン処理して育成した多数の固定系統のなかから、種子稔性が最高に近く、第1報でも使用した系統(以下高稔系統と呼ぶ)、および最低に近い1系統(以下低稔系統と呼ぶ)の計2系統を、2xには同じ原品種より分離固定した1系統を用いた。これらの系統を1961および62年秋網室内に一株植えとし、翌春生育が良好で、正4倍体(2n=32)であることを確認した3~8個体ずつを選び、PMCのおしつぶし標本について成熟分裂を、また開花盛期の花より採取した400粒以上の花粉について花粉稔性をそれぞれ調査した。これらの標本の染色にはいずれも鉄サク酸カーミンを用いた。

なお、参考までに供試個体の種子稔性を系統別に平均値で示すと第1表のとおりである。

Table 1. Seed fertility in a diploid and the two tetraploid lines examined

Lines	Year	Percentage of legumes setting	Number of seeds per a legume	Percentage of fertilized ovules
Higher fertile tetraploid	1962	45.2	3.7	11.0
	1963	57.9	3.4	19.0
Lower fertile tetraploid	1962	25.3	3.0	6.5
	1963	11.3	1.5	2.1
Diploid	1962 1963	75.9	6.4	47.3

### III. 実験結果および考察

#### 1. 高および低稔系統の成熟分裂

##### (1). 第1成熟分裂中期の染色体接合

M1 で観察された染色体の接合型とその頻度を系統別および年次別に示すと第2表のとおりである。

Table 2. Chromosome configurations at first metaphase in the two tetraploid lines

Configurations				Higher fertile line				Lower fertile line			
IV	III	II	I	Number of sporocytes				Number of sporocytes			
				1962	1963	Total	%	1962	1963	Total	%
8								1	1	2	0.9
7		2		1		1	0.6	1	3	4	1.8
7	1	1	2					3		3	1.3
6		4			6	6	3.8	5	4	9	4.0
6		3	2					3	3	6	2.6
5		6		1	7	8	5.1	12	14	26	11.5
5		5	2	1	3	4	2.5	8	2	10	4.4
5		4	4	1	1	2	1.3		1	1	0.4
5		3	6		1	1	0.6				
4		8		6	12	18	11.4	16	15	31	13.7
4		7	2	4	2	6	3.8	5	6	11	4.8
4		6	4		3	3	1.9		2	2	0.9
4	1	6	1					1		1	0.4
3		10		11	18	29	18.4	14	19	31	14.5
3		9	2	4	5	9	5.7	7	2	9	4.0
3		8	4	2	2	4	2.5	3	2	5	2.2
3		7	6	1		1	0.6	1		1	0.4
3	1	8	1					1		1	0.4
2		12		9	16	25	15.8	12	20	32	14.1
2		11	2	7	7	14	8.9	6	4	10	4.4
2		10	4	3	2	5	3.2	2	1	3	1.3
2		9	6		1	1	0.6				
2	2	8	2	1		1	0.6				
1		14		3	3	6	3.8	4	7	11	4.8
1		13	2	4	1	5	3.2	6	2	8	3.5
1	1	12	1					1	1	2	0.9
1	1	11	3	1		1	0.6				
		16		2	2	4	2.5		2	2	0.9
		15	2	1	1	2	1.3			3	1.3
		14	4					1		1	0.4
	1	12	5	2		2	1.3				
Total				65	93	158	100.0	116	111	227	100.0

第 2 表によれば、年次間に多少の変動はあるが、接合型の種類は両系統ともほぼ一致している。しかし、個々の接合型の頻度は系統間に多少の差異がみとめられるので、さらに詳細な検討を行なうために、第 2 表の両年の合計値にもとずいて、IV および II の細胞あたり形成数の頻度分布を图示すると第 1 図のとおりである。また IV ~ I の細胞あたり平均形成数および形成細胞割合などを算出した結果は第 3 表のとおりである。

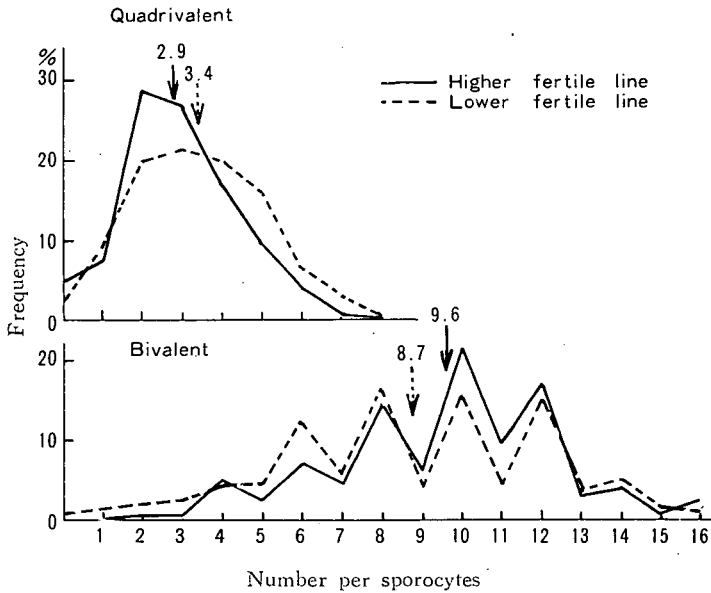


Fig. 1. Frequency of sporocytes with different number of quadri-, and bivalent chromosomes at first metaphase in the two tetraploid lines. Arrows stand for the average number of sporocyte.

Table 3. Frequency of sporocytes with quadri-, tri-, bi-, and univalent at first metaphase in two tetraploid lines

	Higher fertile line		Lower fertile line	
	Number of sporocytes (%)	Average number per sporocyte	Number of sporocytes	Average number per sporocyte
IV	150 (94.8)	2.9	227 (97.4)	3.4
III	4 (2.5)	0.03	4 (1.8)	0.02
II	158 (100)	9.6	225 (99.1)	8.7
I	61 (39.8)	0.9	77 (33.9)	0.8

すなわち、第 1 図によると、高稔系統における IV の分布は、低稔系統のそれよりも全般に少ない方に偏奇し、前者の最頻度数 2 ケは後者の 3 ケより 1 ケ少なく、平均値では 0.5 ケの減少である。これに対し、高稔系統の II の分布は低稔系統より逆に多い方に偏奇し、前者のモード 10 ケは後者の 8 ケより 2 ケ多く、したがって平均値では 0.9 ケの増加である。

一方第 3 表によると、III は高稔系統ではわずかに 2.5 % の細胞に平均 0.03 ケであり、これは低稔系統のそれぞれ 1.8 % および 0.02 ケに比らば著しい差異はない。また I は多少増加して高稔系統ではそれぞれ 39.8 % および 0.9 ケであり、これも低稔系統のそれぞれ 33.9 % および 0.8 ケと比らば顕著な差異があるとは云えない。

要するに以上の染色体接合状況を総合すれば、高稔系統においては低稔系統よりIVが0.5ケ減少するが、これはIIの約1ケの増加にあてられ、IおよびIII形成にはほとんど影響しないことを示すものである。

なお、高杉、ニツ寺(1959)がレンゲ4xの成熟分裂を観察した結果にもとずき、筆者が計算したところによれば、IVの平均値は4.5ケ、IIIは0.2ケ、IIは6.2ケおよびIは1.1ケであって、本実験結果に比らべ、とくにIVが多く、IIが少ない点が注目される。従来同一作物でも研究者によってこのような差異が生じる原因として、ELLERSTRÖM & SJODIN(1963)は供試系統、環境条件および観察技術などの差異によるものであろうとしている。レンゲの4xの場合にも同様の原因が関与するものと考えられるが、さらにGILES & RANDOLPH(1951)や、BREMER & BREMER-REINDER(1954)らが、長年高稔性への選抜によってIV形成数を減少せしめ得たとしており、本供試系統の場合にも長期の育成期間があるので、この間に上記の選抜効果があったとも考えられる。いずれにしてもこの点に関しては今後さらに十分な検討が必要かと思われる。

## (2) 第1分裂後期の遅滞染色体および4分子期の小核の形成

A1の遅滞染色体および4分子期の小核の形成頻度を観察した結果は第4表のとおりである。

Table 4. Frequency of lagging chromosomes at first anaphase and sporocytes with micronuclei at quartet stage in the two tetraploid lines

Stage	Line	Number of sporocytes (%)			Average number per sporocyte
		with	without	total	
AI	High.	60 (10.6)	554 (89.4)	614	1.6 (0-4)
	Low.	55 (13.4)	365 (86.6)	420	1.6 (0-4)
Quartet	High.	30 (13.0)	202 (87.0)	232	1.8 (0-5)
	Low.	32 (11.5)	246 (88.5)	278	1.6 (0-5)

第4表によると遅滞染色体は、高稔系統においては10.6%の細胞に平均1.6ケ形成され、これは低稔系統のそれぞれ13.4%および1.6ケに比らべ、細胞頻度がやや低いが一貫している。一方4分子期の小核は、高稔系統において13.0%の細胞に平均1.8ケ形成され、これも低稔系統のそれぞれ11.5%および1.6ケに比らべ、ともにやや高いが一貫しているといえる。したがって、低稔系統では高稔系統に比らべ、AI以降の異常がとくに著しく増加するとは云えない。一般に後期の染色体行動の異常はMIでのIV、IIIおよびIによるものとされているので、前(1)項で指摘の低稔系統では高稔系統よりもIVが0.5ケ多い傾向は、本項での実験結果と矛盾するようである。しかし中期のIV数の差異は0.5ケと僅少なために、後期の有意な差異が現われるほどでなかったのではないかと考えられる。

従来、稔性の高い4x系統では、低い系統に比らべMIのIVあるいはIが少なく、したがってAI以降の異常も少ないとする報告が多いが(KARPECHENKO 1938, KOSTOFF 1940, CHEN et al 1945, MYER 1945, CUA 1950, CHENDRA 1953, TSUCHIYA 1953, '57, ROSS & CHIN 1962), 系統の稔性と染色体行動との間に関連性がないとする報告も決して少なくない(MÜNTZUNG 1936, SPARROW et al 1942, MORRISON 1956, POVILATIS & BOYES 1956, HILPERT ÅKERBERG et al 1957, ELLERSTRÖM & SJOIN 1963, CHAUDHRI et al 1984)。レンゲ4xで(1)および(2)項の本実験結果は染色体行動に関する系統間の差異が極めて僅かであることより、レンゲでは後者の範疇に属すべきであり、上記のMÜNTZUNGらが主張するように、成熟分裂の異常に基因して生じる異数性配偶子が稔性を低下させる主要な原因とは考えられない。

2. 異数性配偶子頻度と配偶子機能の関連性

異数性配偶子頻度を知るために高稔系統についてMIIの娘核板の染色体数を数えた結果は第5表に、また、花粉核分裂時の中期核板の染色体数を数えた結果は第6表に示すとおりである。

Table 5. Chromosome numbers of daughter nucleus plate at second metaphase and their frequencies in the higher fertile line

Chromosome numbers	16 - 16	17 - 15	Total
Number of sporocytes (%)	65 (89.3)	7 (10.7)	72 (100)

Table 6. Chromosome numbers at mitotic metaphase of pollen nucleus and their frequencies in the higher fertile line

Chromosome numbers	14	15	16	17	Total
Number of pollen (%)	1 (3.8)	2 (7.7)	22 (84.6)	1 (3.8)	26 (100)

第5表によると、MIIでの娘核板の染色体数が異なる場合は17-15の10.7%であり、第6表によると異数性花粉は n=14, 15および17の計15.4%である。これらの値は完全に一致しないが、前第4表で遅滞染色体あるいは小核のある細胞頻度が10~13%であったことをも考慮すれば少なくとも10~15%の花粉が異数化すると考えて差支えなからう。

従来、UPEOTT (1935) はトマト、真島 (1952) はイネ、TSCIYA (1953) は大麦、POVILATES & BOYES (1956) は赤クローバー、および、MORRISON (1956) はライ麦などの4xで、それぞれMIIの娘核板の不均衡分配頻度より異数性配偶子の生成頻度を30~40%と推定しているが、本実験結果はこれらよりかなり低い。この理由は、これらの4xではMIでIVが多数形成され、全染色体の約%にも達するのに対し、レンゲの場合は第3表に示すとおり約1/3であって、著しく少ないためと考えられる。

一方、供試個体の花粉稔性を調査した結果は第7表に示すとおりである。

Table 7. Pollen fertility in the diploid and two tetraploid lines

	Good pollen	Abortive pollen
Higher fertile tetraploid line	92.4%	7.6%
Lower fertile tetraploid line	91.4%	8.6%
Diploid line	99.4%	0.6%

同表によると、高稔系統の不稔花粉は7.6%、低稔系統のそれは8.6%であってその差異は極めて小さい。これは前“1”項で、染色体行動が著しく異なるという観察結果とよく符合し、異数性花粉の頻度が系統によって著しく異なることを示すものと考えられる。

また、第7表によると、成熟分裂の規則正しい2xでは無能花粉がほとんどなく、高稔系統で7.6%の不稔花粉がみられるが、これは上述の異数性花粉頻度10~15%より3~8%低く、これらは異数性であってもカーミン染色では正常と判定しうる花粉と考えられる。しかし、第3報で形態的に正常な花粉でも30%以上が発芽しないことに比べるとこの3~8%の値は極めて低い。同様のことは第1報で指摘の極核が不融合に終る胚珠約40%についてもいえるものと思われる。したがってレンゲ4xでは単に異数性のみが配偶子の機能の低下を招くものでなく、むしろMÜNTZUNG (1936) や HÄKANNSON (1952) が指摘するような4x化自体にもとづく生理的異常が配偶子機能の低下としては重要ではないかと思ふ。

## IV. 要 約

第1および第3報で指摘したような配偶子機能の低下が、どの程度細胞遺伝学的要因にもとづくものかを明らかにするために、第1表に示すような種子稔性が著しく異なる4x系統について、成熟分裂時の染色体行動、異数性花粉の出現頻度および花粉稔性などを、比較検討した結果はつぎのとおりである。

1. 高稔系統において第1分裂中期に形成されるIV~I価染色体の1細胞当りの平均数は、 $2.9IV + 0.03III + 9.6II + 0.9I$ であり、低稔系統では $3.4IV + 0.02III + 8.7II + 0.8I$ である。

2. 両系統とも第1分裂後期の遅滞染色体および4分子期の小核の頻度は、それぞれ10~13%の細胞に平均1.6~1.8ヶである。

3. 高稔系統においては、第2分裂中期の娘核板の染色体数が等しくない場合は15:17のみで、その頻度は10.7%であり、花粉核分裂中期核板の染色体数が異数性のものは、14, 15および17であって、その頻度は計15.3%である。

4. 高稔系統における無能花粉率は7.6%であり、低稔系統の8.6%と著しく異ならない。またこれらの値は2xの0.6%と比べ著しい増加とも云えない。ただし、上記異数性配偶子頻度よりもやゝ低い。

5. 以上の実験結果を総合すれば、種子稔性が著しく異なっても成熟分裂の異常および異数性配偶子の出現頻度が顕著に異ならない。したがって、配偶子機能の低下は、成熟分裂異常よりも4x化自体にもとづく生理的異常による所が大きいのではないかと考えられる。

## V. 引 用 文 献

- ÅKERBERG, E., BINGEFORS, S., JOSEFSSON, A., and ELLERSTRÖM, S. 1963: Induced polyploids as fodder crops. *Recent Plant Breeding Research*, p. 125-149. John Willey Sons. New York.
- BREMER, G. and BREMER-REINDERS, C. E. 1954: Breeding of tetraploid rye in the Netherlands. I. Methods and cytological investigations. *Euphytica* 3, 49-63.
- CHANDRA DAS, B. 1953: Cytology of megasporogenesis as a basis for sterility in autotetraploid sweetclover, *Melilotus alba*. *Iowa St. Coll. J. Sci.* 27, 153-54.
- CHAUDHRI, A. P., APPA RAO, P. and MEHTA, R. K. 1964: Studies on induced polyploids in forage crops. IV. *Indian J. Agric. Sci.* 34, 101-19.
- CHEN, S., SHEN, S., and TANG, P. S. 1945: Studies on colchicine autotetraploid barley. I and II. *Amer. J. Bot.* 32, 103-06.
- CUA, L. D. 1950: Artificial polyploidy in Oryzae. I. *Rep. Kihara Inst. Biol. Res.* 4, 43-45.
- ELLERSTRÖM, S. and SJODIN, J. 1963: Fertility problems in autotetraploid rye. *Recent Plant Breeding Research*, p. 150-66. John Willey Sons. New York.
- GILLES, A. and RANDOLPH, L. F. 1951: Reduction of quadrivalent frequency in autotetraploid maize during a period of 10 years. *Amer. J. Bot.* 38, 12-17.
- HÅKANSSON, A. 1952: Seed development after 2x, 4x crosses in *Galeopsis pubescens*. *Hereditas* 38, 423-48.
- 林 喜三郎 1961: レンゲ4倍体の不稔機構に関する研究. I. 高知大学学研. 10, 自然科学II第11号
- 林 喜三郎 1966: レンゲ4倍体の不稔機構に関する研究. III. 高知大学学研. 15, 自然科学II第2号
- HILPERT, G. 1957: Effect of selection for meiotic behaviour in autotetraploid rye. *Hereditas* 43, 318-22.
- KARPECHENCO, G. D. 1938: Tetraploid barleys obtained by high temperature treatment. *Biol. Zhur.* 7, 287-94.
- KOSTOFF, D. 1940: Fertility and chromosome length. Correlations between chromosome length and variability of gametes of autopolyploid plants. *J. Hered.* 31, 33-34.
- 真島 勇雄 1952: 4倍体イネの不稔原因に関する考察. 育種. 1, 179-88.
- MORRISON, J. W. 1956: Chromosome behaviour and fertility of Tetra Petkus rye. *Can. Jour. Agric. Sci.* 36, 157-65.

- MUNTZUNG, A. 1936: The evolutionary significance of autotetraploidy. *Hereditas* 21, 263—378.
- MYERS, W. M. 1945: Meiosis in autotetraploid *Lolium perenne* in relation to chromosomal behavior in autotetraploids. *Bot. Gaz.* 106, 304—16.
- POVILAITIS, B. and BOYES, J. W. 1956: A cytological study of autotetraploid red clover. *Amer. J. Bot.* 43, 169—74.
- ROSS, J. G. and CHIN, C. H. 1962: Fertility differences in autotetraploid sorghum. *Hereditas* 48, 324—31.
- SPARROW, A. H., RUTTLE, M. L., and NEBEL, B. R. 1942: Comparative cytology of sterile and fertile inter varietal tetraploid of *antirrhinum majus* L. *Amer. J. Bot.* 29, 711—15.
- 高杉 喜一・二ツ寺 勉 1959: 4 倍体レンゲの育成とその実用化に関する研究, 育雑. 9, 145—53.
- TSUCHIYA, T. 1953: Fertility of autotetraploids and their hybrids in barley. I. Rep. Kihara Inst. Biol. Res. 6, 46—52.
- TSUCHIYA, T. 1957: Fertility of autotetraploids and their hybrids in barley. II. Rep. Kihara Inst. Biol. Res. 8, 27—32.
- UPCOTT, M. 1935: The cytology of triploid and tetraploid *Lycopersicum esculentum*. *J. Gen.* 31, 1—19.

## VI. Summary

In the first and third reports of this series (HAYASHI, 1961, 66), it was shown that in the tetraploid the polar nuclei in about 40 % of ovules are not fused and about 30 % of pollen are not germinated. In this report, in order to find out the causes of these decrease in the gamatic function, the abnormalities of meiosis and the frequency of aneuploid gametes are studied in the two tetraploid lines which fertility are much different as shown in the table 1. The results are summarized as follows:

1. The average number of quadri-, tri-, bi-, and univalent per sporocyte at first metaphase are  $2.9IV+0.03III+9.6II+0.9I$  in higher fertile tetraploid line and  $3.4IV+0.02III+8.7II+0.8I$  in lower fertile tetraploid line respectively (Table 2 & 3, Fig. 1).
2. The average number of lagging chromosomes per sporocyte at first anaphase and micronuclei at quartet stage are 1.6—1.8 in the 10—13 % sporocytes in both tetraploid lines (Table 4).
3. In the higher tetraploid line, unequal chromosome number of daughter nuclei plates at second metaphase is 15 : 17 only and that frequency is 10.7 % (Table 5), chromosome number at mitotic metaphase of pollen nuclei are observed 14, 15, 16, and 17, and the total frequency of the aneuploid gametes is 15.3 % (Table 6).
4. The frequency of abortive pollen is 7.6 % in the higher and 8.6 % in the lower fertile tetraploid line, respectively (Table 7). These frequency are not drastic increase, and are lower than the above-mentioned frequency of aneuploid gametes.
5. These results are suggested that there are not clear relation between abnormalities of meiosis and seed fertility in the tetraploid and the frequency of aneuploid gametes are almost same in both tetraploid lines. But the frequencies of physiological abnormal gametes in previous reports are much higher than the frequency of aneuploid gametes in this report. These differences may be owing to the physiological disturbance of tetraploid plant as suggested by MÜNTZUNG (1936) and HÅKANSSON (1952).

