

4倍体アカクローバの不稔発生機構

第3報 細胞学的異常と稔性の関係

嶋 田 徹

(帯広畜産大学草地生産学研究室)

1977年5月30日受理

Occurrence of sterility in tetraploid red clover

3. Cytological aspects of sterility

Tohru SHIMADA*

緒 言

減数分裂における染色体行動の異常程度が稔性とならずしも相関しないという多くの報告が知られているが、やはり多価染色体形成にもなる染色体行動の乱れから生ずる異数性配偶子あるいは接合体の致死現象が、人為4倍体における不稔発生のもっとも基本的な原因であろう。しかしながら4倍体アカクローバにおけるこの分野の研究は、アカクローバの染色体が小さいことや、観察に適したステージをうる事が非常に困難なことから少なく、減数分裂を観察した報告は POVILAITIS and BOYES (1956)¹⁾ のものだけが知られている。彼らの結果は、その減数分裂が他の作物の人為同質倍数体にもみられた結果と基本的には異なっていないことを示したが、そこでは稔性との関係が検討されなかった。そこでここでは前報²⁾の実験において選抜した高稔性5個体および低稔性6個体を材料とし、その細胞学的特性とダイアルル交配で得た稔性との関係を検討した。

材料および方法

前報のダイアルル交配で用いた11個体を材料とした。圃場に個体植で養成したこれらの栄養系個体から1971年10月蕾を採取し、酢酸アルコール液(酢酸1:100%アルコール3)で固定、冷蔵庫に保存した。観察に際しては少量の塩化鉄を溶した酢酸アルコール液にこれを持ち、一昼夜おいた後プレパラートを作成した。減数分裂の観察はアセトカーミンによる押しつぶし法によった。また、花粉稔性はアセトカーミンにより染色した600粒の花粉粒から求めた。また花粉の発芽率は KENDALL (1967)³⁾ の液体培地により置床24時間後の400粒の花

* Department of Grassland Production, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, Obihiro, Hokkaido, Japan.

粒から、また花粉管の長さはその30粒から求めた。

結果および考察

胞原細胞における有糸分裂の過程において核が染色質の糸によって連絡されている異常がかなりの頻度で認められた。POVILAITIS and BOYES (1956)¹⁾ はこのような減数分裂以前の有糸分裂の異常から生じた異数性核の存在を第1分裂中期に認めているが、本材料ではそのような異常は認められず、いずれの核も28の正倍数性を示した。したがって根端細胞の染色体を数えるまでもなく、本材料がいずれも正倍数体であることが確認された。第1分裂中期の各種染色体対合では低稔性個体群に幾分不安定な傾向が認められるが両群間に大きな差異はなく、全個体平均でそれぞれ0.43 I, 9.35 II, 0.19 III, 2.07 IVであった(第1表)。これをPOVILAITIS and BOYES (1956)¹⁾ がC₂世代集団について求めた0.49 I, 6.63 II, 0.30 III, 3.31 IVと比較すると本材料がより安定していることがわかる。

減数分裂の種々の段階で観察された異常の頻度を花粉稔性や種子稔性を表わす種々の形質値とともに示すと第2表のようである。第1分裂および第2分裂後期における異常はほとんどが染色体の不等分配と遅滞染色体の存在によるもので、その他まれに染色体橋などが観察された。本材料におけるこれら異常の頻度はPOVILAITIS and BOYES (1956)¹⁾ の結果と比較するとかなり高く第1分裂および第2分裂後期の平均でそれぞれ49.3および56.1%であった。これら異常の頻度は第1分裂中期で1個染色体数を持つ花粉母細胞の平均頻度24.1%から予想されるものより高く、これらの異常が1個あるいは3個染色体によってだけでなく、4個染色体の不

第1表 第1分裂中期における各種染色体対合の頻度

個 体	染 色 体 対 合					観 察 数
	I	II	III	IV	VI	
L1	0.52	9.23	0.29	2.01	0.01	69
L2	0.28	8.71	0.10	2.48	0.01	69
L3	0.26	9.81	0.07	1.98	-	42
L4	0.77	10.31	0.36	1.38	-	39
L5	0.50	8.85	0.10	2.38	-	25
L6	0.42	8.79	0.42	2.19	-	43
H7	0.29	7.30	0.14	3.16	0.03	80
H8	0.60	9.28	0.42	1.88	-	26
H9	0.22	11.47	0.03	1.19	-	32
H10	0.60	8.67	0.05	2.48	-	21
H11	0.29	10.39	0.08	1.67	-	49
L群平均	0.46	9.28	0.22	2.07	0.00	
H群平均	0.40	9.42	0.14	2.08	0.01	
全平均	0.43	9.35	0.19	2.07	0.00	

第2表 減数分裂の各時期における異常頻度と花粉および種子稔性

個体	MIで1価をもつPMC(%)	MIにおける4価の頻度	異常分裂の頻度 (PMC %)			アセトカミンによる花粉稔性 (%)	培地における花粉発芽率 (%)	花粉管の長さ (mm)	ダイアレル交配における稔実率 (%)	
			A I	A II	花粉4分子				雄親	雌親
L1	19.6	2.01	45.4 (42)	54.8(20)	18.5(1254)	75.4	72.8	3.7	49.3	33.5
L2	11.6	2.48	42.8(110)	57.6(14)	15.0(1445)	72.4	75.3	3.6	39.1	36.4
L3	15.3	1.98	41.2 (48)	38.5(23)	9.5 (922)	73.0	70.3	3.8	65.0	37.4
L4	50.6	1.38	61.5 (52)	56.8(21)	43.6(1572)	79.4	69.0	3.5	25.1	39.6
L5	36.8	2.38	55.0 (16)	65.0(23)	29.8(1362)	83.9	61.3	3.2	21.9	40.5
L6	26.8	2.19	51.4 (69)	70.0(13)	10.5(1265)	80.1	71.3	3.6	41.3	42.6
H7	15.4	3.09	41.6 (83)	62.5(22)	16.5(1287)	80.0	75.8	3.2	46.7	43.0
H8	26.6	1.88	46.7 (26)	54.5(18)	13.2(1397)	81.8	64.5	3.4	57.0	47.7
H9	14.6	1.19	45.7 (23)	40.6(20)	13.3(1368)	77.0	78.0	4.1	50.8	48.6
H10	28.6	2.48	61.0 (21)	65.0(21)	30.0(1243)	82.0	68.0	3.9	16.7	52.8
H11	18.8	1.67	50.0 (36)	51.6(19)	13.2(1414)	83.9	75.0	4.1	65.7	58.2
L群平均	26.8	2.07	49.6	57.1	21.2	77.4	70.0	3.6	40.3	38.3
H群平均	20.8	2.06	49.0	54.8	17.2	80.9	72.3	3.7	47.7	50.1
全平均	24.1	2.05	49.3	56.1	19.4	79.0	71.0	3.7	43.3	43.7

第3表 減数分裂の異常と花粉および種子稔性を示す種々の形質間の相関係数

	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8	X9
MIで1価をもつPMC % (X1)									
MIでの4価の頻度 (X2)	-.240								
A I での異常分裂 (X3)	.851**	-.198							
A II での異常分裂 (X4)	.405	.601	.476						
異常4分子 (X5)	.848**	-.087	.817**	.374					
花粉稔性 (X6)	.526	.015	.601	.475	.343				
花粉発芽率 (X7)	-.659*	-.103	-.507	-.360	-.441	-.458			
花粉管の長さ (X8)	-.357	-.565	-.007	-.544	-.276	-.175	.449		
雄親稔実率 (X9)	-.625*	-.279	-.728**	-.657*	-.788**	-.244	.437	.362	
雌親稔実率 (X10)	.002	-.203	.323	.012	-.060	.690*	.067	.462	.127

等分配によっても多く生じていることが推察された。

また花粉の発芽率は、減数分裂を観察した材料とは異なった年次に採取した花粉についてはあるが、平均71%であった。これは2倍体アカローバについての平均93%に比較して22%低く、4倍体では成熟した花粉の多くが機能を持っていないことを示した。

第2表に示した10形質について総当たりの求めた相関係数は第3表のようである。第1分裂中期において1価染色体をもつ花粉母細胞の頻度、第1分裂後期における異常分裂の花粉母細胞の頻度、および異常4分子の頻度の間には有意で大きい正の相関が認められた。また、これらの形質と第2分裂後期における異常分裂の頻度との関係は、観察することができた花粉母細胞の数が少ないこともあって、いずれも有意とはならなかったが、やはり同じ傾向を

示す相関が得られた。これら減数分裂の異常を示す諸形質と花粉の発芽率およびダイアレル交配における花粉親としての稔性の間には大きな負の相関が認められ、その多くは1%水準で有意であった。これらの関係をさらに相関図を画いて詳しく検討すると、高い相関の多くが主として部分雄性不稔個体である H 10, L 4, L 5 個体の減数分裂の著しい異常とそれに対応する雄親としての低い稔性、あるいは低い花粉発芽率によって生じたものであることが認められた。

相関係数のこのような傾向は減数分裂の第1分裂前期における染色体対合の不規則が以後における異常の原因となって多くの異数性配偶子を生じさせること、その異数性配偶子の多くはその後退化するか、あるいは機能を持たないので、結局このような配偶子を多く生産する個体は雄親としての稔性が著しく減少することを示している。しかしながら、これらの減数分裂の異常を示す諸形質とダイアレル交配における雌親としての稔性の間にはいずれも有意な相関が認められず、減数分裂の異常が雌親としての稔性に関する個体間変異の変因としてあまり重要でないか、あるいは両者の関係をマスクする他の要因が存在することが予想された。

このような要因の一つとしてアカクロバの特殊な結実習性あげられる。アカクロバでは子房に二つの胚珠が着生するが通常どちらか一方は退化し、一方の胚珠だけが稔実する(一粒莢形成)。このような淘汰機構は異数性配偶子や胚の致死による不稔の発現をマスクする機能を果すであろう²⁾。しかしまた、異数性の雌性配偶子や接合体が雄性配偶子に比較して淘汰される程度が少ないという傾向も両者の関係をあいまいにするもう一つの要因である。異数性の雄性配偶子がどの程度機能的であるかはまだよく知られていないが、その多くが受精競争をとおして淘汰されると考えられている。これに対して異数性の雌性配偶子や接合体はこのような強い淘汰を受けることは少なく、条件さえ良ければ多くが機能ある胚のうあるいは接合体として発達し異数性種子を形成するものと考えられている。倍体化後の世代数を異にする4倍体アカクロバの20集団について異数性個体の頻度をみた MAIZONNIER and PICARD (1970)³⁾は、異数性個体の頻度が世代数にかかわらずほぼ50%前後(36.1~71.4%)で平衡していることを認めた。また、彼ら³⁾は染色体数が27本から30本までの個体間でダイアレル交配を行い、後代における異数性個体の頻度をみたが、異数性個体間の交配でも高い稔実率と高い頻度の正倍数性後代が得られること、各組合せの稔実率や後代の染色体構成が主として雌親の染色体数によっていることも認めた。これらの結果は本実験で観察された異常な減数分裂の高い頻度も決して例外的な値でないこと、また異数性の雌性配偶子や接合体の多くが種子にまで生育しうることを示している。

また、4倍体アカクロバの種子集団中における異数性個体の頻度については28~72%⁴⁾あるいは18%⁵⁾などの値が報告されているが、その頻度は集団により著しく異なっている。この理由は各材料における異常な減数分裂の発生程度の違いとあわせて、異数性配偶子や接合体が発生中に淘汰される程度が材料によってまた異なったためであろう。ELLERSTROM and

SIODIN (1963)⁴⁾ はライムギにおいて粒重や子実収量が高くなるような良好な生育環境のもとでは、稔実率や子実中の異数性個体の頻度が高くなること、逆に倒伏がおきたような条件のもとではこれらの値が著しく低くなることを認め、草勢と異数性個体の淘汰圧との間に相関関係があると述べている。

かくして以上の考察から4倍体アカローバについて異常な減数分裂の発生頻度と稔実率が一致しない原因は、一部その結実習性の不稔をマスクする効果にあり、また一部には異数性配偶子や接合体の淘汰圧が雌親の草勢によって異なってくるためであると結論される。前報²⁾において稔実率の個体間差異を決定する遺伝的要因として雌親の遺伝子型の重要性を指摘したが、雌親の遺伝子型はこのような異数性配偶子や接合体の淘汰圧を決定する発生理的条件をとおして稔実率の発現に影響しているものと考えられる。

摘 要

1. 材料として用いた11個体の総てが28本の染色体をもつ正倍数体であった。これらの第1分裂中期における各種染色体対合の平均数は0.43 I, 9.35 II, 0.19 III, 2.07 IVであった。

2. 多くの分裂異常が減数分裂後期に認められた。もっとも著しい異常は1価染色体あるいは4価染色体の不等分配による異数性娘核の生成で、このような分裂異常が認められた花粉母細胞の頻度は第1分裂および第2分裂後期でそれぞれ49.3%および56.1%であった。

3. 減数分裂の異常を表わす種々の形質値と雌親としての稔性の間には有意で大きい負の相関係数が認められ、減数分裂の異常が雌性不稔の重要な原因となっていることがわかった。しかし、これらの形質値と雌親としての稔性との相関は小さく、両者の関係をマスクする要因の存在が予想された。このような要因としてアカローバの特殊な結実習性および雌性配偶子や接合体の発生過程の生理的環境を支配する母株の遺伝子型が重要であると推察された。

謝 辞

本実験を遂行するにあたり、本学草地生産学研究室教授・村上 馨博士には、貴重なる御指導と御便宜を賜った。記して深甚なる謝意を表します。

引用文献

- 1) POVILAITIS, B. and J. W. BOYES: Amer. J. Bot., 43, 169-174 (1956).
- 2) 嶋田徹: 帯大研報, 10, 773-780 (1977).
- 3) KENDALL, W. A.: Crop Sci., 7, 342-344 (1967).
- 4) ELLERSTROM, S. and J. SJODIN: Rec.-Plant Breed. Res., 150-166 (1963).
- 5) MAIZONNIER, D. and J. PICARD: Ann. Amélior. Pl., 20, 407-420 (1970).
- 6) MAIZONNIER, D., PICARD, J. and J. BERTHAUT: Ann. Amélior. Pl., 421-431 (1970).
- 7) JULEN, G.: Europ. Grassl. Cong., Paris, OEEC, 67-72 (1954).
- 8) ELLERSTROM, S. and J. SJODIN: Hereditas, 55, 166-182 (1966).

Summary

Meiosis was studied in 11 tetraploid red clover selections, of which the fertility as male and female parent had been evaluated previously by the diallel cross test. All were euploids with 28 chromosomes respectively. The mean number of chromosomal associations at metaphase I was observed to be 0.43 I, 9.35 II, 0.19 III, 2.07 IV plus a very small number of higher associations. The following percentages of meiotic irregularities were found: PMC's with univalents at metaphase I-24.1; abnormal at division I-49.3; abnormal at division II-56.1; abnormal quartets-19.4.

Many of the correlation coefficients between percentages of meiotic irregularity at the above stages, germination rate of pollen, and fertility as male parent were significant. Apparently the frequency of these abnormalities in meiosis was associated with partial male sterility in some plants. On the other hand, no significant correlations were found between percentages of meiotic irregularities, rate of aborted pollen, and fertility as female parent.

From these results it was concluded that the correlations between meiotic abnormalities and female fertility were masked by some other predominant factor.