Megumi SAWA: On the Interspecific Hybrdization between the Adzuki Bean, *Phaseolus angularis* (WILLD) W.F.WIGHT and the Green Gram, *Phaseolus radiatus* L. I. Crossing between a Cultivar of the Green Gram and a Semi-Wild Relative of the Adzuki Bean, in Endemic Name "Bakaso" (with English Summary, p.66)

Synopsis. In a breeding program for incorporating cyst-nematode resistance of the green gram into the adzuki bean, an interspecific cross between a cultivar of the green gram and a semi-wild relative of the adzuki bean, in endemic name "Bakaso" was made reciprocally. From the cross, using the green gram as a female plant, seven F_1 hybrid plantlets were obtained by means of embryo culture technique, and four plants grew and developed in pod bearing stage, but they were entirely sterile, and produced no seed.

アズキとリヨクトウの種間交雑

I. リヨクトウの栽培品種とアズキの近縁半野生植物バカソとその交雑

沢 恩

(岩手大学農学部, 盛岡市)

緒 言

Phaseolus 属の種間交雑としては, *P. vulgaris* と *P. coccineus* の交雑について, 古くからかなり多くの報告があり (KEDAR and BEMIS 1960; AL-YASIRI and COYNE 1966; SMARTT 1970), F_1 の性状および後代の分離についても, かなり明らかにされている。このほか, 種間雑種のえられた例としては, *P. vulgaris* × *P. acutifolius* (HONMA 1956) およびその逆交雑 (SMARTT 1970), *P. vulgaris* × *P. lunatus* (HONMA and HEECKT 1959), *P. vulgaris* × *P. mungo* (STRAND 1943), *P. vulgaris* × *P. dumosus* (BUISHAND 1956), *P. coccineus* × *P. lunatus* (HONMA and HEECKT 1958), *P. acutifolius* × *P. coccineus*, および, 3系雑種 *P. acutifolius* × [*P. vulgaris* × (*P. vulgaris* × *P. coccineus*)] (COYNE 1956), さらに *P. lunatus* × *P. polystachyus* (LORZ 1952) などがある。

なお, これらの報告は, 主としてアメリカおよびヨーロッパを主産地とする *Phaseolus* 属植物に関するものである。AL-YASIRI and COYNE (1966) は, 東洋産のアズキ (*P. angularis* (WILLD) W.F.WIGHT), リヨクトウの近縁種ケツルアズキ (Black gram: *P. mungo* L.) およびツルアズキ (*P. calcaratus* ROXB.) の3種に,

P. vulgaris, *P. acutifolius*, *P. coccineus*, *P. lunatus* の4種, 計7種を用いて種間交雑を行なったが, 先に述べた *P. vulgaris* と *P. coccineus* との正逆交雑のみ成功したことを報じていて, 上記東洋産植物からは種間雑種がえられていない。

著者は, 1969年以来, リヨクトウ *P. radiatus* L. のもつているシスト線虫抵抗性をアズキ, *P. angularis* (WILLD) W.F.WIGHT に付与することを目的として, 両者間の種間交雑を試みてきたが, 1970年には, 新たな交配材料として, アズキの近縁半野生植物, バカソを用いて交雑を行なった。その結果, リヨクトウを母本とし, バカソを父本として交雑した種子を胚培養した場合にのみ, 種間雑種をうることができた。本報では, このリヨクトウとバカソの正逆交雑の結果, および, 雑種 F_1 の性状についてのべる。

実験材料および方法

交配材料の1つとして用いたバカソについて述べれば, つぎのとおりである。この植物は福岡県大川市に自生していたもので, かつては, アズキと同様の目的に, 食用として採集利用されることもあつたといわれる。主要な生理・形態的特性としては, 1年生, 地下子葉性, 蔓性, アズキの栽培品種にはみられない密毛のある鋭尖形の葉, 裂莢性などがあり, 晩生(9月中旬開花, 盛岡)である。また, 種子の色は褐色で通常の赤アズキとほとんど

1972年5月28日 受領

変らないが、その形からみるとツルアズキ (カニノメ) *P. calcaratus* ROXB. に近い(第2表)。さらに、バカソとアズキの栽培品種との交雑を試みた結果、完全な親和性がなく、この植物を母本とし、アズキを父本として交雑した場合にのみ、胚培養により F_1 植物がえられただけであつた。なお、この F_1 は稔性であつた(沢, 未発表)。これらのことからみて、バカソはアズキとは異なるものと考えられる。しかし、この植物がアズキと別の種かはいまだ分類学的に解明されていないので、本報では、かりにアズキの近縁植物として記載する。

交雑は、上記のバカソとリヨクトウの栽培品種、明緑豆(取寄先: 農林省東北農業試験場, 盛岡市)を用い、正逆で試みた。開花前日に除雄を行ない、交配はすべて圃場で午前中に行なつた。

得られた交雑種子は、一部を発芽試験に用い、残りを胚培養に供した。胚培養のための胚の摘出方法と培地の選定は、HONMA (1956) の方法にしたがつた。すなわち、交配により結実した莢が萎凋と褪色を示しはじめた段階で、胚珠をとりだし、アンチフォルミンの 10% 液で 10 分間消毒したのち、胚を摘出して、試験管(径 15 mm)内の、WHITE の固形培地上に置床した。その後は、26°C 白色光(約 1,500 lux)の連続照明条件下で培養した。生育した幼植物は、バーミキュライトを満たした 2.5 寸鉢に仮植し、ハイポネックスを与えて十分に活着・生育させてから、さらに、通常の土壌を入れた 6 寸鉢に定植した。

このようにしてえられた、リヨクトウ×バカソの種間雑種の形態的特性について、両親との比較調査を行なつた。 F_1 植物およびバカソの染色体数は、根端および花粉母細胞を用い、それぞれ、酢酸オルセイン染色およびホイルゲン染色によりおしつぶし法で観察した。また、 F_1 および両親の花粉稔性を、コットン・ブルー染色法により調査した。

実験結果および考察

1. 交雑および胚培養の成績

第1表に示した正逆交雑および胚培養の結果について、以下、順次にのべる。

A) リヨクトウ×バカソ

この組合せでは第1表のように、かなり高い着莢率がえられた。また、莢の生育も良好で、交配後 2~3 週間は全く正常な莢の肥大が見られたが、25日目をすぎるところから莢の内部に空隙を生じ、生育の停滞と萎凋を示した。しかし、これらの莢の大部分は、そのまま放置された場合でも、裂莢あるいは落莢するにいたらず、1 莢あたり平均約 9 粒の形状の不整な種子をつけた。前述の AL-YASIRI and COYNE (1966) の報告によれば、*Phaseolus* 属の 7 種による正逆 42 組合せの種間交雑実験では、完全な親和性を示したのは、*P. vulgaris* と *P. coccineus* の正逆交雑だけであり、交配後、莢があるていどまで生育して不完全な親和性を示した 12 の組合せを除けば、残りの組合せはすべて結莢率 0% で全く不親和であつた。本実験の組合せに近いと思われるアズキとケツルアズキ (*P. mungo* L.) の組合せでは、アズキを♀親にした場合に不完全な親和性(着莢期間, 10日)がみられているが、その逆は完全な不親和であつた。またツルアズキとケツルアズキの組合せは、正逆ともに完全な不親和であつた。これらの結果にくらべると、本実験のリヨクトウ×バカソの場合も親和性は完全ではないが、前述のように、落莢はなく、不完全ながら着粒もあるので、そのていどはかなり高く、したがって、両者の近縁性のていどもかなり大であるといえそうである。

胚培養は、第1表に示したように、交配後 20~30 日前後の胚を用いて行なつた。これらの胚の大多数は、開花後同ていどの日数を経過したリヨクトウの莢から摘出した胚にくらべると、子葉の肥大度が劣り、細長い外観を呈していたが、楕状、約 2mm 大で、胚発達のでい

Table 1. Results of hybridization and embryo culture of the hybrids

Combination		No. of pollination (A)	No. of pods in 2 weeks after pollination (B)	B/A %	No. of embryos cultured	Developmental stage of the embryos when cultured	
Female	Male					Dayys from pollination	Size (mm)
Green gram	Bakaso	47	16	34.3	23	17~33	1:0~3.0
Bakaso	Green Gram	29	0	0	—	—	—

Combination		No. of embryos showed some differentiation	No. of plantlets transplanted to pot	No. of plants developed	
Female	Male	Total (Shoot Root)			
Green gram	Bakaso	17 (17 13)	7	4	
Bakaso	Green Gram	— (— —)	—	—	

どはかなり進んだものと思われた。培養の結果は、第1表のように、置床した胚の70%以上が何らかの生育の動きを示した。さらに、その2/5に当る7個体が仮植しうるまでに生育し、うち4個体(置床した胚の17%)が、定植後、活着し、成体までに生育した。HONMA (1956) は、*P. vulgaris*×*P. acutifolius* において、数百個の胚を用いて培養を試みたが、わずかに4個体のF₁植物がえられたにすぎなかつた。本実験における胚培養の成功率は、この結果にくらべて、きわめて高かつたが、この原因は、おそらく、前述のように、使用した胚の発達ていどがよかつたためと思われる。

なお、以上の胚培養とは別に、収穫した交雑乾燥種子を用い、バーミキュライト培地上で発芽試験を試みたが、1粒の発芽も認められなかつた。したがって、この交雑種子をF₁雑種として発芽・生育させるのに、胚培養がきわめて有効な手段であることは、明らかであると考えられる。

B) バカソ×リヨクトウ

この交配では、第1表に示したとおり、着莢が全くみられなかつた。交配花数が少ないので、全く不親和であるかどうかの断定はできないが、A) でのべた正交配の場合に比較して、この逆交配では交雑親和性がきわめて低いといえる。これまでの *Phaseolus* 属の種間交雑に関する諸研究においても、たとえば、*P. vulgaris*×*P. coccineus* (AL-YASIRI and COYNE 1966; SMARTT 1970),

P. vulgaris×*P. acutifolius* (HONMA 1955; AL-YASIRI and COYNE 1966), *P. vulgaris*×*P. lunatus* (HONMA and HEECKT 1959; AL-YASIRI and COYNE 1966) および *P. lunatus*×*P. polystachyus* (LORZ 1952) など、多くの場合に、正逆で交雑親和性が著しく異なる例が報告されており、本実験の結果もその一例と考えられる。この原因については、今後さらに検討をすすめたい。

2. リヨクトウ×バカソ雑種F₁の諸特性

A) 形態的特性

得られたF₁植物、4個体は、形態的に互によく似ており、その生育はいずれの個体も両親よりきわめて旺盛で、明らかにヘテロシス現象を示した。第2表は、両親とこれらF₁植物の形態的特性を比較したものである。

まず、F₁植物は、外観上、もつとも顕著な特徴として、きわめて典型的な蔓性を示した。発蕾期(4月中旬～5月上旬)ころから著しい節間伸長がみられ、草丈は同じ条件で栽培された両親のリヨクトウおよびバカソが、それぞれ、約0.7, 1.5mであつたのにひきかえ、F₁植物では3m以上に達した。SMARTT (1970) は、有限伸育性の *P. vulgaris* と無限伸育性の *P. coccineus* との交雑において、種内交配の場合と同様に、無限伸育性が優性を示したと報じているが、本実験の場合も、バカソの無限伸育性が優性を示した(第1図)。同様に、いずれか一方の親に似た形質としては、第2表にもみられるとおり、幼植物における初生葉の葉形、同じくその葉柄

Table 2. Morphological characteristics of the green gram×Bakaso F₁'s and their parents

Craracter		Green gram (♀)	Bakaso (♂)	F ₁
Cotyledon	position	epigeal	hypogeal	
Primary leaf	shape petiole length	oblong short	lanceolate long	oblong short
Leaf	width/length shape of apex pubescence	0.83 obtuse hard and rough	0.61 acuminate soft and thik	0.71 intermediate intermediate
Stem	growing habit pubescence color of pubescence	a little volubile rough and long light brown	volubile thik and short white	highly volubile rough and long light brown
Flower	size color	comparatively large greyish yellow	large yellow	large yellow
Pod (immature)	pubescence color	hairy light green	smooth dark green	smooth dark green
Seed	length width/length color	4.9 mm 0.73 light green	6.6 mm 0.56 brown	— — —

Fig. 1. Morphological comparison among parents and the F_1 hybrid. Left : green gram (♀), Center : F_1 hybrid, Right : Bakaso (♂).

Fig. 2. Leaf shape of parents and the F_1 hybrid. Left : green gram (♀), Center : F_1 hybrid, Right : Bakaso (♂).

Fig. 3. Flower and inflorescence shape of the F_1 hybrid and the parent. Left : green gram (♀), Right : F_1 hybrid.

長および生育期の茎の毛茸の着生状態などがあり、これらはリョクトウに近かった。また、花の大きさ（第3図）、花色、稚莢の表面の色や毛茸などはバカソに似ていた。概して、幼苗時代に観察しうる形質は♀親に似るが、生育後期にみられる形質には♂親に近い特性をもつたものが多い傾向が認められた。

また、両親の中間を示した特性としては、生育期の葉の形状（縦/横比、葉の尖端の形）および毛茸の状態などがあつた（第2図）。

HONMA (1956) は、*P. vulgaris* × *P. acutifolius* の種間雑種 F_1 について、本実験の結果とは逆に、幼植物の形質は♂親に似た特性を示し、生育後期の特性は♀親に近い傾向のあつたことを報じている。しかし、SMARTT (1970) が、同じ組合せの種間交雑（正逆）について F_1 の特性をしらべた結果では、正逆いずれの交雑においても、幼植物の特性は *P. vulgaris* に近く、花序や花など、生育後期の形質は *P. acutifolius* に近い特性を示したことを報じている。このように、*Phaseolus* 属における種間雑種 F_1 の形質発現について、一般的傾向は明らかでないようである。これらの点については今後の研究で明らかにしたい。

また、リョクトウの染色体数については、すでに、 $2n=22$ が認められている (DARLINGTON and WYLIE 1945) が、 F_1 植物およびバカソでは、根端の調査により、いずれも $2n=22$ であることが確認された。

B) 不稔性とその原因

F_1 の4個体は、6月上旬～7月上旬、開花始期に達した。いずれの個体においても初期の花はほとんど結莢せず、まれに結莢しても、2～3cm に生育したのち、1～2週間ですべて落莢したが9～10月になると、長さ10cm 程度のものを含む生育のよい莢がきわめて数多く着莢した。また、開花期間はどの個体も気温が 0°C 以下に降りはじめた11月中旬まで、著しく長期にわたつたが、しかし、自殖種子は1粒もえられず、各個体とも完全な不稔性であつた。

この不稔の原因を確かめるため、各 F_1 個体4～5の花からえた2～300粒の花粉についてその稔性をしらべた結果は、第3表に示すとおり、どの個体についても花粉稔性は0～8% で、両親に比較してきわめて低かつた。また、花粉粒の大きさも両親より平均して小さい上、その標準偏差もお

Table 3. Pollen fertility and pollen grain size of the green gram×Bakaso F₁'s and their parents

Parent or F ₁	Pollen fertility (%)	Diameter of pollen grain (μ)
Green gram (♀)	93.3	54.1±3.9
Bakaso (♂)	90.1	47.7±4.3
F ₁ 1—1	0	37.9±7.7
1—2	7.9	38.0±9.4
1—3	2.0	32.1±5.2
2—1	0.5	36.5±6.5

Table 4. Frequency of abnormal polyspory observed after pollen mother cell division in the green gram×Bakaso F₁ plants

Parent or F ₁	No. of PMC's observed	No. of spores in a PMC				
		4	5	6	7	8
Green gram (♀)	120	120	0	0	0	0
Bakaso (♂)	91	91	0	0	0	0
F ₁ 1—1	139	100	12	25	2	0
1—2	124	79	22	17	6	0
1—3	180	144	13	26	7	0
2—1	183	114	18	46	6	1

よそ2倍であつた。DHARIWAL *et al.* (1962) も、*Phaseolus* 属の不稔性の種間雑種、*P. lunatus*×*P. polystachyus* について F₁ の花粉をしらべ、その稔性が著しく低く、形状の不整な花粉粒がきわめて多かつたことを報告している。また、SMARTT (1970) も、*P. vulgaris* と *P. acutifolius* の正逆交雑によりえられた雑種 F₁ がいずれも不稔を示し、それらの花粉稔性が 10% 以下であつたことを報告している。

また、さらに、この不稔花粉の形成と関連のある事実として、著者は、第4表に示したように、どの F₁ 個体においても、花粉母細胞からの異常な多胞子形成、すなわち、4分子のほかに、5分子以上8分子までの形成が、かなりの頻度で行なわれることを観察した。DHARIWAL *et al.* (1962) も、前述の報告で、*P. lunatus*×*P. polystachyus* の F₁ 植物が不稔を示すのは、花粉母細胞の減数分裂のさい、染色体の不对合、解対合、染色体橋および遅滞染色体の形成や、分裂後期における染色体の不等配分などとならんで、相当の頻度で多胞子形成が起るためであるとし、これら一連の減数分裂の異常が、F₁ における花粉稔性の低下の原因であることを細胞学的に観察している。本報の F₁ において稔性ある花粉がほとんど生じなかつたのも、これと同じ原因によるものと推測される。著者は、細胞学的観察の結果、F₁ 植物の花粉母

細胞の分裂中期に、2価および1価染色体が各々7および8個ずつ存在する染色体不对合の1例を認めている。これらの点についても、今後さらに検討を加え、明らかな結論をえたい。

摘 要

リョクトウ、*Phaseolus radiatus* L. のもつシスト線虫抵抗性をアズキ、*P. angularis* (WILLD) W.F.WIGHT に付与する目的で種間交雑を試み、その一環として、リョクトウの栽培品種、明緑豆および半野生のアズキの近縁植物、地方名バカソを用い、正逆の交配を行なつた。また、えられた F₁ 種子については胚培養を試みた。その結果はつぎのとおりである。

1) リョクトウ×バカソでは、かなり高い結実率 (34%) を示した。健全な F₁ 種子はえられなかつたが、交雑後約 25 日間経過した稚莢から摘出した 23 の胚を用いて胚培養を行なつた結果、4 個体の F₁ 植物がえられた。しかし、この逆交雑では全く結実もみられず、F₁ 種子はえられなかつた。

2) えられた 4 個体の F₁ 植物の染色体数は、根端細胞の調査により、両親のリョクトウおよびバカソと同数の、2n=22 であることが認められた。

3) F₁ は両親とくらべて著しく旺盛な生育を示し、きわめて典型的な蔓性であつた。幼植物時代に観察する形質は♀親のリョクトウに近く、生育後期にみられる形質には、♂親のバカソに近い特性をもつたものが多かつた、その他の形質は、ほぼ両親の中間を示した。

4) F₁ は開花期が著しく長く、数多く着実したが、種子は1粒もえられず、完全に不稔であつた。花粉の稔性も 0~8% できわめて低かつた。また、花粉母細胞の細胞学的観察により、減数分裂過程の異常を示す多胞子形成が高い頻度で認められた。

謝 辞：この研究を行なうに当たり、ご教示とご鞭撻をいただいた岩手大学農学部福井重郎教授に深謝する。また、細胞学的テクニックに関し貴重なご助言をいただいた同教育学部武田豊蔵助教授に厚くお礼申し上げる。

引用文献

- AL-YASIRI, S. A. and D. P. CONNE 1966. Interspecific hybridization in the genus *Phaseolus*. *Crop Sci.* 6: 59~61.
- BUISHAND, T. J. 1956. The crossing of beans (*Phaseolus* spp.). *Euphytica* 5: 41~50.
- COYNE, D. P. 1964. Species hybridization in *Phaseolus*. *J. Hered.* 55: 5~6.
- DARLINGTON, C. D. and A. P. WYLIE 1945. Chromosome atlas of flowering plants. GEORGE ALLEN

- and UNWIN. London. pp.172.
- DHALIWAL, A.S., L.H. POLLARD and A.P. LORZ 1962. Cytological behaviour of an F_1 species cross (*Phaseolus lunatus* L. var. *Fordhook* × *Phaseolus polystachyus* L.). *Cytologia* 27 : 369~374.
- HONMA, S. 1956. A bean interspecific hybrid. *J. Hered.* 47 : 217~220.
- and O. HEECKT 1958. Bean interspecific hybrid involving *Phaseolus coccineus* and *P. lunatus*. *Proc. Am. Hort. Sci.* 72 : 360~364.
- and ——— 1959. Interspecific hybrid between *Phaseolus vulgaris* and *P. lunatus*. *J. Hered.* 50 : 233~237.
- KEDAR (Kammerman) N. and W.P. BEMIS 1960. Hybridization between two species of *Phaseolus* separated by physiological and morphological blocks. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.* 76 : 379~402.
- LORZ, A.P. 1952. An interspecific cross involving the lima bean *Phaseolus lunatus* L. *Science* 115 : 702~703.
- SMARTT, J. 1970. Interspecific hybridization between cultivated American species of the genus *Phaseolus*. *Euphytica* 19 : 480~489.
- STRAND, A.B. 1943. Species crosses in the genus *Phaseolus*. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.* 42 : 569~573.

Summary

In order to incorporate cyst-nematode resistance of the green gram, *Phaseolus radiatus* L. into the adzuki bean, *Phaseolus angularis* (WILLD) W.F. WIGHT, an interspecific hybridization was carried out reciprocally, using a cultivar of the green gram, "Meiryokuto" and a semi-wild relative of the adzuki bean, "Bakaso" in endemic name. Embryo culture technique was applied to obtain F_1 plants from undeveloped hybrid seeds.

Results obtained were as follows :

1. Four F_1 plants from the cross between the green gram and Bakaso were successfully grown, but no F_1 seed was obtained from the reverse crossing. The chromosome number of the F_1 plants was ascertained to be $2n=22$ by observation of root-tip preparations, and the number is the same as those of parent species.

2. Vegetative growth of the F_1 hybrids was

very vigorous, as compared with both parents, and their growing habit of stem was highly voluble. Some characteristics of F_1 hybrids observed in seedling stage, rather resembled the seed parent, green gram, and some in later stage were tend to be similar to the characteristics of the pollen parent, Bakaso, but the other ones were intermediate.

3. Flowering duration of the hybrids was long extraordinarily, as compared with that of both parents. The F_1 plants had abundant pods, but no viable seed, and then those were entirely sterile. The pollen fertility of F_1 plants was calculated at 0 to 8%. In the observation of pollen mother cell division abnormal polyspores were frequently found and seemed to be responsible for the hybrid sterility.

M. SAWA

Faculty of Agriculture, Iwate University, Morioka