

新 制
農
450
京大附図

普通系コムギにおける染色体対合の 変動に関する研究

加 藤 恒 雄

1986

普通系コムギにおける染色体対合の
変動に関する研究

加藤恒雄

1986

目次

	頁
序論	1
第 I 編 染色体対合に対する高温および 3 B 染色体欠失の効果	3
序説	3
第 1 章 高温の効果	4
第 1 節 緒言	4
第 2 節 材料および方法	4
第 3 節 結果	5
(1) 相同染色体対合	5
(2) 同祖染色体対合	7
第 4 節 考察	7
第 5 節 摘要	9
第 2 章 高温効果の細胞分裂ステージ依存性	10
第 1 節 緒言	10
第 2 節 材料および方法	10
第 3 節 結果	11
(1) 処理 V (15→30°C)	11
(2) 処理 II (15→30(10 時間) →15°C)	16
(3) 処理 III(15→30(30 時間) →15°C)	17
(4) 処理 IV (15→30(90 時間) →15°C) および 処理 I (15→30(3 時間) →15°C)	17
第 4 節 考察	17
第 5 節 摘要	20
第 3 章 3 B 染色体欠失の効果	21
第 1 節 緒言	21
第 2 節 材料および方法	21
第 3 節 結果	22

第4節 考察	24
第5節 摘要	25
第II編 高温および3B染色体欠失の対合に及ぼす作用様式	26
序説	26
第4章 同腕染色体の腕間対合に対する作用	27
第1節 緒言	27
第2節 材料および方法	27
第3節 結果	28
(1) 高温の影響	28
(2) 3B欠失の影響	28
第4節 考察	30
第5節 摘要	31
第5章 紡錘体に対する作用	32
第1節 緒言	32
第2節 材料および方法	33
第3節 結果	34
(1) 3B欠失の効果	34
(2) 高温処理の効果	35
第4節 考察	35
第5節 摘要	38
総括	39
英文摘要	44
引用文献	50

序論

普通系コムギ (*Triticum aestivum* L.) は3種のゲノムから構成される異質6倍体であり、各染色体は3つのゲノムのいずれかに属する。同時に各染色体は7つの同祖群(祖先を同じくする染色体の群)のいずれかにも分類され(Sears 1952; Sears and Okamoto 1956)、同じ同祖群に属する染色体(同祖染色体)は互いに類似した遺伝的機能を有することが知られている(Sears 1954; Sears 1966; McIntosh 1973)。

一方、普通系コムギの通常の成熟分裂においては、上記同祖染色体同士は全く対合せず相同染色体のみが対合する。しかしOkamoto(1957)、Riley and Chapman(1958)、およびSears and Okamoto(1958)は、コムギ5B染色体が存在しない遺伝子型においては同祖染色体の間でも対合が生じることを見だし、このことから、普通系コムギにおける同祖染色体対合の抑制は5B染色体上の遺伝子(Ph1)によって制御されていることが明らかになった。

このように同祖染色体対合が遺伝的に制御されているという事実は、コムギの育種において極めて重要な意味をもつ。何故なら同祖染色体対合を遺伝的に操作することによって、コムギ染色体と同祖関係にある近縁種の染色体から有用遺伝子をコムギに導入することができるからである。実際、これまでに同祖染色体の対合と組換えを遺伝的に誘発することによって、種々の有用遺伝子が *Ae. comosa*(Riley et al. 1968)、*Ag. elongatum*(Sears 1972)、*Ae. speltoides*(Dvorak 1977)、*Ag. intermedium*(Wang et al. 1977)、あるいは *T. turgidum*(Kushnir and Halloran 1984)からコムギに導入されている。

このような同祖染色体対合の操作を普通系コムギの育種において十分に活用するためには、染色体の対合に関連する一連の過程(対合過程)、およびこの過程を制御する対合制御機構を、同祖染色体対合、相同染色体対合の双方について詳細に解明しておく必要があるが、この解明の端緒は、種々の要因によって誘起される対合の変動現象を数多く解析することによって得られることができると思われる。

コムギ染色体の対合変動に関与する要因としては、前記の5B上のPh1(Riley and Law 1965; Riley 1966a; Dover 1973; Riley 1974; Sears 1976; 村松 1980)、過剰染色体(Mochizuki 1963; Vardi and Dover 1972; Dover 1973; Sano and Tanaka 1982; Ohta and Tanaka 1982)、コルヒチン(Driscoll et al. 1967; Driscoll and Darvey 1970; Dover 1972; Dover and Riley 1973)、低温(Riley 1966b; Bayliss and Riley 1972a; Bayliss and Riley 1972b)等が知られており、その作用が解析されつつある。

一方、コムギ以外の種において多数報告のある高温の作用(Wilson 1959参照)につ

いては、普通系コムギではまだ十分に解明されているとは言い難い。また、上にあげたコムギの対合変動に関する研究のうち遺伝的要因を取扱ったものを概観すると、その多くは研究対象が同祖染色体対合であり、また相同染色体対合については、研究の多くが5D欠失の作用を対象としており、常温下での対合を減少させる3B欠失に関しては、Sears(1954)、Kempanna and Riley(1962)および Riley(1966a)の報告が見られる程度である。

本研究は以上の諸点を考慮し、普通系コムギ染色体の対合を操作する上での基礎的知見を得るという観点より、高温および3B欠失によって誘起される対合変動を解析し、さらに対合に対する両要因の作用様式を検討することによって対合過程並びにその制御機構を究明しようとしたものである。本論文では、まず第I編において高温および3B染色体欠失が普通系コムギの対合にどのような効果を示すのかを観察し、次に第II編において、第I編で観察された両要因の対合に対する効果がどのような作用様式によって発現するかを解析した。

なお本論文では、成熟第1分裂中期における染色体間の接着を「対合(pairing)」、成熟第1分裂接合糸期における染色体間の接着を「接合(synapsis)」、また成熟分裂期直前の中間期を「前成熟分裂期(premeiosis, premeiotic interphase)」と呼ぶ。

本研究を遂行するにあたり、京都大学農学部教授、山縣弘忠博士より終始適切な指導を賜った。また、京都大学農学部教授、常脇恒一郎博士、同、重永昌二博士、京都産業大学教授、岡本正介博士、岐阜大学農学部教授、西川浩三博士、Dr. E.R.Sears, Dr. M.D.Bennett, Dr. M.Feldman, Dr. L.Avivi 各氏からは、数々の貴重な助言や情報、実験材料を提供していただいた。さらに、京都大学農学部助教授、米沢勝衛博士、同講師、藤本光宏博士、同助手、谷坂隆俊氏をはじめとする京都大学農学部育種学研究室の諸氏からは、多大な援助と励ましをいただいた。上記の各位に対してここに心から感謝の意を表わす。

第 I 編 染色体対合に対する高温および 3 B 染色体欠失の効果

序説

本編では、第II編で取扱う高温および3B染色体欠失の対合に対する作用様式の解析に先だち、高温および3B染色体欠失が相同染色体対合および同祖染色体対合に対してどのような影響を及ぼすかを観察した。このうち高温の影響に関しては、各種の温度処理を行い、対合に対する高温効果と処理時の細胞分裂ステージとの関係を検討した。

第1章 高温の効果

第1節 緒言

染色体対合や組換その他成熟分裂中の染色体行動が温度の影響を受けることは、Plough(1917)以来多数の種で報告されている(Wilson 1959参照)。

一方、普通系コムギにおいては、染色体対合量が高温(Li *et al.* 1945; Bayliss and Riley 1972a; Fu and Sears 1973)、低温(Riley 1966b)いずれの処理によっても減少することが明らかになっている。このうち低温の効果は5D染色体を欠く個体において顕著にあらわれることから、5Dとの関連性を中心として詳細な解析が行われている(Hayter and Riley 1967; Bayliss and Riley 1972a; Bayliss and Riley 1972b; Attia 1977; Attia *et al.* 1977; Viegas 1979; Chapman and Miller 1981)。しかし、高温の効果については、上記の報告がみられる程度で未だ十分に検討されておらず、特に同祖染色体対合に対する効果を扱った報告はない。

本章では、高温処理が相同染色体対合および同祖染色体対合に及ぼす影響を観察し、対合に影響を与える他のいくつかの要因の効果と比較しつつ、高温効果の特徴を把握する。あわせて、対合過程における高温の作用様式について推論する。

第2節 材料および方法

相同染色体対合の観察には普通系コムギ品種 Chinese Spring(*Triticum aestivum* L. var. Chinese Spring)(以下CSと略す)を、また同祖染色体対合の観察にはCSとライムギ品種 Petkus(*Secale cereale* L. var. Petkus)との交雑F₁で、5Bまたは3Dを欠くものおよび両者をともに有するものを各々材料として用いた。後者の3種のコムギ×ライムギF₁は、以下それぞれ ABDR-5B、ABDR-3D および ABDR と称する。ABDR-5BはCS由来の monosomic 5B を、また ABDR-3Dは同じく monosomic 3D を母親に用いて作成したものである。記載の便宜上、供試品種ならびに3種のF₁をそれぞれ系統と呼ぶことにする。

供試系統はいずれも根端細胞で染色体数を確認した後に鉢植にして戸外で育成し、各系統ごとに、最初の止め葉が展開する頃に連続照明で15°C一定(CS、ABDR-3D)または20°C一定(ABDR-5B、ABDR)の環境下へ搬入した。搬入して約1日以上経過した後、CSは25および30°C、ABDR-5B、ABDRは15、25、および30°C、ABDR-3Dは30°Cの定温

下に移動したが、各系統とも一部はそのまま15または20°C下に残した。

以上のように、15、25、および30°C(CS)、15、20、25 および30°C(ABDR-5B、ABDR)、15 および30°C(ABDR-3D)の各定温下に配置した各系統から、成熟第一分裂中期の花粉母細胞(PMC)を後に述べる方法で採取し、カルノア氏液で固定、酢酸カーミンで染色、ついで通常の押しつぶし法によってプレパラートを作成し、染色体対合の様相、および1細胞当り対合腕対数(paired-arm frequency per PMC、以下対合腕数と略する)を観察した。対合腕数は、1対の一価染色体、棒状二価染色体、環状二価染色体、鎖状三価染色体、鎖状四価染色体および環状四価染色体は各々0、1、2、2、3および4個の対合腕対を有すると仮定して算出し、これを対合量の指標とした。

PMCの採取に際しては、どの系統、どの定温区についても、定温処理開始時点で分裂ステージが前成熟分裂期初期あるいはそれ以前にあったと見られるPMCを選んだ。

Bennett *et al.*(1972)およびBennett *et al.*(1974a)は、20°C下におけるCS、ABDR、CSの nullisomic 5B-tetrasomic 5D、ならびに15、25°C下におけるCS、各々の成熟分裂時間(細糸期から四分子期まで)を、さらにBennett *et al.*(1971)およびBennett *et al.*(1973)は、20°C下におけるCSの前成熟分裂期と成熟分裂期の各ステージの長さを測定している。本実験では、分裂各ステージの長さの全体に対する比率は遺伝子型、温度によって変わらない、ABDR-3DとABDRの間には分裂時間に差がない、30°C下での分裂時間は25°C下のものと同じかやや短い、さらに分裂は温度を変化させた直後でもその細胞がおかれた定温下での速度で進行する、と仮定し、Bennett *et al.*の結果を参照してCS、ABDR-5B、ABDR-3DおよびABDRの各々について、各定温区ごとに前成熟分裂期から第一分裂中期までの時間を推定した。PMCの採取に当ってはこの時間を採取判定の基準に用いた。

なお、相同染色体対合に関する実験は1977、1978 および1979年の各年次に、また同祖染色体対合に関する実験は1977年(ABDR-5B、ABDR) および1979年(ABDR-3D)に、いずれも京都大学ガンマ線照射施設内対照室を用いて行った。

第3節 結果

(1) 相同染色体対合

第1表は、各年次、各定温区のCSにおいて観察された、相同染色体対合に関する結果を示す。

この表で明らかのように、15、25°C両区においては同様な対合様式が観察され、環

Table 1. Homologous chromosome pairing in common wheat(Chinese Spring) under different kinds of constant temperature

Year	Temperature(°C)	No. of anthers observed	No. of PMCs observed	Chromosome configuration; Mean(S.D.)/PMC					Paired-arm frequency / PMC
				I+I	Rod II	Ring II	III+I	IV	
1977	15	5	944	0.001(0.033)	1.24(1.14)	19.76(1.15)	0	0	40.75(1.15)
	25	5	497	0.012(0.109)	1.59(1.23)	19.40(1.23)	0	0	40.38(1.25)
	30	5	519	0.079(0.27)	4.65(1.89)	16.27(1.90)	0	0	37.19(1.96)
1978	15	5	459	0.009(0.093)	1.36(1.15)	19.63(1.15)	0	0	40.62(1.16)
	25	8	1036	0.022(0.154)	1.24(1.13)	19.74(1.15)	0	0	40.72(1.18)
	30	10	609	0.684(0.825)	5.90(2.00)	14.41(2.15)	0.003(0.057)	0	34.73(2.57)
1979	15	10	1223	0.033(0.191)	1.52(1.23)	19.45(1.26)	0	0	40.42(1.32)
	25	6	587	0.065(0.260)	2.39(1.50)	18.55(1.54)	0	0	39.96(1.63)
	30	9	698	0.838(0.911)	6.41(2.05)	13.73(2.24)	0.003(0.053)	0.007(0.084)	33.90(2.71)

Table 2. Chromosome pairing in wheat(Chinese Spring) x rye(Petkus) F₁ with or without 5B, 3D chromosomes under different kinds of constant temperature

Geno-type*	Temperature(°C)	No. of anthers observed	No. of PMCs observed	Chromosome configuration; Mean(S.D.)/PMC					Paired-arm frequency/ PMC
				I	Rod II	Ring II	III	IV	
ABDR-5B	15	11	1324	15.88(2.98)	5.83(1.49)	0.927(0.923)	0.518(0.711)	0.014(0.119)	6.76(2.00)
	20	10	1220	14.82(2.76)	5.92(1.49)	1.292(1.045)	0.570(0.765)	0.011(0.103)	7.67(2.02)
	25	2	175	13.54(3.07)	4.75(1.58)	1.537(1.044)	0.351(0.571)	0.023(0.184)	8.55(2.02)
	30	15	1787	20.42(3.14)	2.85(1.46)	0.507(0.597)	0.097(0.323)	0.004(0.067)	3.65(1.88)
ABDR-3D	15	9	972	24.12(2.26)	1.32(1.08)	0.078(0.276)	0.030(0.170)	0.001(0.032)	1.54(1.23)
	30	3	415	25.35(1.74)	0.79(0.85)	0.024(0.154)	0.007(0.085)	0	0.86(0.92)
ABDR	15	8	1874	27.47(1.06)	0.26(0.53)	0.001(0.035)	0.001(0.033)	0	0.27(0.54)
	20	7	1372	27.45(1.09)	0.27(0.54)	0.001(0.038)	0.001(0.038)	0	0.28(0.55)
	25	8	1832	27.37(1.24)	0.32(0.62)	0.001(0.025)	0.001(0.053)	0	0.32(0.62)
	30	16	2604	25.20(2.71)	1.31(1.29)	0.053(0.245)	0.024(0.160)	0.001(0.028)	1.47(1.45)

* See text for the abbreviation.

状二価染色体が大部分で高い対合腕数が示された。一方、30°C区では、15、25°C区に比べて環状二価染色体数が減少し、代って棒状二価染色体および一価染色体の数が増加したため、対合腕数は15、25°C区よりも明らかに低い値になった。この傾向は、3年次のいずれにおいても認められた。さらに、1978、1979年の実験では、30°C区においてのみ低頻度ではあるが三価、および四価染色体が観察された。

(2) 同祖染色体対合

第2表は、各定温区におけるABDR-5B、ABDR-3D、およびABDRの染色体対合を示す。

同祖染色体対合は、3種のF₁のうち5Bを欠くABDR-5Bおよび3Dを欠くABDR-3Dにおいて多数誘発された。第2表で判るように、15、20、25°C区においては、ABDR-5Bの示す対合腕数はいずれもほぼ同じ値であった。また、15°C区でのABDR-3Dの対合腕数は、ABDR-5Bよりもやや低かったが、これは5Bの持つ同祖染色体対合の抑制力が3Dよりも強いという従来報告と一致する(Sears 1976)。一方、30°C区においては、ABDR-5B、ABDR-3D両者の対合腕数は、共に15、20、25°C区よりも明らかに低い値となった。これは、棒状および環状二価染色体が減少し、一価染色体が増加したこと、および多価染色体が殆ど形成されなかったことによる。

ABDRにおいては、5B、3Dが存在するため、同祖染色体対合は生じないことが予想された。本実験の15、20、25°C区においては、確かに予想通りABDRの示す対合腕数はごく僅かであった。しかし、30°C区では、ABDR-5B、ABDR-3Dの場合とは逆に、15、20、25°C区よりも明らかに高い対合腕数が示された。これは、環状二価染色体や多価染色体が多く形成されたことからみて、非相同染色体間の偶発的な対合ではなく、同祖染色体間の対合が増加したためと考えられる。

第4節 考察

本実験の結果、高温(30°C定温)処理は、普通系コムギの相同染色体対合量を減少させると共に、低頻度ではあるが多価染色体を形成すること、さらに高温処理は、5B、3Dが欠失したコムギ×ライムギF₁においては同祖染色体対合量を減少させるが、5B、3Dが共に存在するF₁ではむしろ増加させることが明らかになった。

Feldman(1966)およびYacobi *et al.*(1982)は、本実験と同様CSを用い、5B長腕のドースを過剰(6本)にすると(以下過剰5BLと略す)、一価染色体が増加して相同染色体対合量が減少すると共に、多価染色体やinterlocking bivalentが出現する

ことを観察している。また、Driscoll *et al.* (1967) は、CSの幼穂にコルヒチン処理を行うと、やはり相同染色体対合量が減少し、多価染色体が出現することを報告している。さらに、Dover and Riley (1973)は、同祖染色体対合量は、CSにコルヒチン処理を行った場合は減少するが、本実験と同じABDRにコルヒチン処理を行った場合には増加することを認めている。

このように、高温は普通系コムギの染色体対合に及ぼす影響に関して過剰5BL およびコルヒチン処理の両者と類似した特徴を有している。

Feldman(1966) は、過剰5BL の対合に対する作用を説明するために、次の様な仮説を提唱した。

(i) 染色体が正常に対合するためには、対合する染色体同士が成熟分裂接合糸期もしくはそれ以前のステージにおいて空間的に接近している必要がある。

(ii) 5B長腕上の遺伝子(Ph1) は、このような染色体の核内配置に関与することによって染色体対合に作用を及ぼす。

(iii) 5B長腕を全く欠くものでは、相同染色体、同祖染色体共に接近し、その結果各々の間で対合が生じる。

(iv) 5B長腕を通常の2ドーズ有するものでは、相同染色体のみが接近し、同祖染色体は互いに離れるような配置をとる。従って、相同染色体間でのみ対合が行われる。

(v) 5B長腕を過剰に有するものでは、同祖染色体のみならず相同染色体も互いに離れ、染色体はランダムに配置される。それによって相同染色体間の対合量が減少すると同時に、同祖染色体同士が偶発的に接近し対合を生じる。また配置の乱れによって interlocking bivalentが形成される。

以上のようなFeldman の仮説は、高温およびコルヒチン処理の場合に対しても適用することができるであろう。

また、高温と5B長腕の両者が上記の仮説の如く染色体の配置に影響を及ぼすとすれば、コムギ×ライムギF₁で得られた本実験の結果は次のように説明できる。即ち、高温処理によりABDR-5B で同祖染色体対合量が減少したのは、5B欠失による同祖染色体同士の接近が高温によって乱されたためであり、一方、ABDRに対する高温処理で対合量が増加したのは、5Bと高温が共に染色体をランダムに配置させ、同祖染色体同士が偶発的に接近したことによる。コルヒチン処理の同祖染色体対合に対する作用(Dover and Riley 1973) も同様に説明できると考えられる。

Buss and Henderson(1971)は、*Locusta migratoria*の精原細胞に高温(40 °C) 処理を行うと interlocking bivalentが多数出現すること、またこの結果は、高温が染色体配置、特に核膜との付着を乱したためであることを報告している。同様の結果は

Triturus vulgaris を用いた Callan and Pearce(1979)の実験においても得られている。これらは、高温の作用機構に関する前述の考察を支持するものである。

以上の如く、本章で観察された高温の染色体対合に及ぼす諸影響は、高温が5B長腕やコルヒチンと同じく、接合に先立つ染色体の核内配置に対して作用し、正常な配置を乱すことによって生じると推論することができる。

第5節 摘要

品種 Chinese Spring およびコムギ×ライムギ F₁ で5Bを欠くもの、3Dを欠くものならびに両者とも有するものを供試し、普通系コムギの相同染色体対合および同祖染色体対合に対して、高温(30 °C) 処理がどのような影響を及ぼすかを検討した。

高温処理の結果、Chinese Springでは相同染色体対合の減少と低頻度ながら同祖染色体対合の出現が認められた。また、5Bまたは3Dを欠くコムギ×ライムギF₁では同祖染色体対合が抑制され、5B、3Dを有するコムギ×ライムギF₁では逆に同祖染色体対合が促進された。

これらの結果から、対合する染色体同士は、接合糸期よりも前の核内で互いに接近するように配置されていること、高温および5B長腕(Ph1) は、共にこのような染色体配置を乱し、そのことによって結果的に対合に影響を及ぼすことが推論された。

第2章 高温効果の細胞分裂ステージ依存性

第1節 緒言

染色体対合や組換えに影響を及ぼす環境要因の多くは、その作用程度や方向が、被処理細胞の分裂周期上の時期(分裂ステージ)によって大きく異なることがムラサキツユクサ、トウモロコシ、ショウジョウバエ等多くの生物種で知られている(Lawrence 1961; Henderson 1966; Maguire 1968; Peacock 1970; Grell 1973; Raju and Lu 1973)。例えば普通系コムギにおけるコルヒチン処理による対合量の減少は、処理が前成熟分裂期の初期以前に行われた場合にのみ認められる(Dover and Riley 1973)。また5D欠失個体に低温処理を行っても、その時期が前成熟分裂期のDNA合成期直前に当たる短い期間と一致しない限り対合量は減少しない(Bayliss and Riley 1972b)。従ってある処理の対合に及ぼす作用様式を探るには、その作用が処理ステージに依存するか否かを知る必要があると考えられる。

本章ではこのような観点より、第1章で観察された高温の相同染色体および同祖染色体の対合に対する効果が、処理ステージ依存性を有するか否かを、種々の温度処理を用いて検討する。

第2節 材料および方法

第1章と同様、普通系コムギ品種 Chinese Spring(CS)、および CS とライムギ品種 Petkusとの交雑F₁で5Bを欠くもの(ABDR-5B) ならびに有するもの(ABDR)計3系統を供試した。

材料は鉢植にして戸外で育成し、各系統ごとに最初の止め葉が展開するころに15°C一定・連続照明の環境下に搬入した。搬入して1日以上経過した後、CSは6群、ABDR-5B、ABDR は各々3群に群別し、各系統とも1群は対照区として15°C下にそのまま放置する一方、他の群については次のように30°Cの温度処理を行った。即ちCSの場合は残りの5群のうち4群を各々3、10、30 および 90 時間 30 °C下に置いて再び15°C下に戻し、最後の1群を 30 °C下に放置した。以後これらの温度処理を順次、処理 I、II、III、IV、V と略記する。また処理の開始、終了は I - V の各処理とも30°C処理の開始、終了を意味するものとする。一方、ABDR-5B および ABDR の場合は、いずれについても前述の II および V の温度処理を行った。

処理後、成熟第1分裂中期のPMCを採取し、対合の様相および1細胞当り対合腕対数(対合腕数)を観察した。

上記各処理の開始時における被処理細胞の分裂ステージの推定、および対合腕数の算出は、第1章で述べた方法に従った。

第3節 結果

第1～3図は実験結果を示したものであって、これらの図の縦軸は対合腕数(薬内PMC間平均値)を、また横軸は30℃処理の開始時(第1図)又は終了時(第2、3図)から薬固定までの時間を表している。薬固定の時点が成熟第1分裂中期の開始点(MIと略す)と仮定すると、各処理が行われた細胞分裂ステージは、図の横軸の値から推定できる。

これらの図から明らかなように、対合腕数は、第3-c図を除きどの場合も図中横軸の値によって大きく変化した。即ち、相同染色体対合、同祖染色体対合いずれについても、対合量は30℃処理の行われた分裂ステージに大きく依存することが判った。このことは、本章第1節で述べた他の生物と同様、普通系コムギにも対合過程に高温に対して高い感受性を示す時期が存在することを意味している。以下この時期を「高温感受性ステージ」と呼び、個々の処理結果の解析によって、これが分裂周期中に占める位置を推定する。

(1) 処理 V (15 → 30℃)

第1-a、-b、-c図は、それぞれCS、ABDR-5B、ABDRに対する処理Vの結果を示す。これらの図から明らかなように、処理時期による対合腕数変化のパターンは3系統とも類似していた。即ち、横軸の値がある時点に至るまでは対合腕数は15℃定温下における値であるが、この時点を過ぎると対合腕数はCS、ABDR-5Bの場合は減少、ABDRの場合は増加し、いずれの場合も30℃定温下における値(第1、2表参照)に達した後この値を持続した。

上記のような30℃処理時期と対合量との関係を説明するため、第4図に示す仮定を設けた。即ち処理Vにおいては、30℃処理が高温感受性ステージの終了点以降に開始された場合は高温処理にもかかわらず15℃定温下に置かれたままの場合と同じ対合量が得られるが、感受性ステージ終了点以前に開始された場合は30℃定温下に置かれた場合と同じ対合量が検出されるとする。このように仮定すると、処理Vによって対合量が15℃の下での値から30℃の下での値に転換した時点(第1-a、-b、

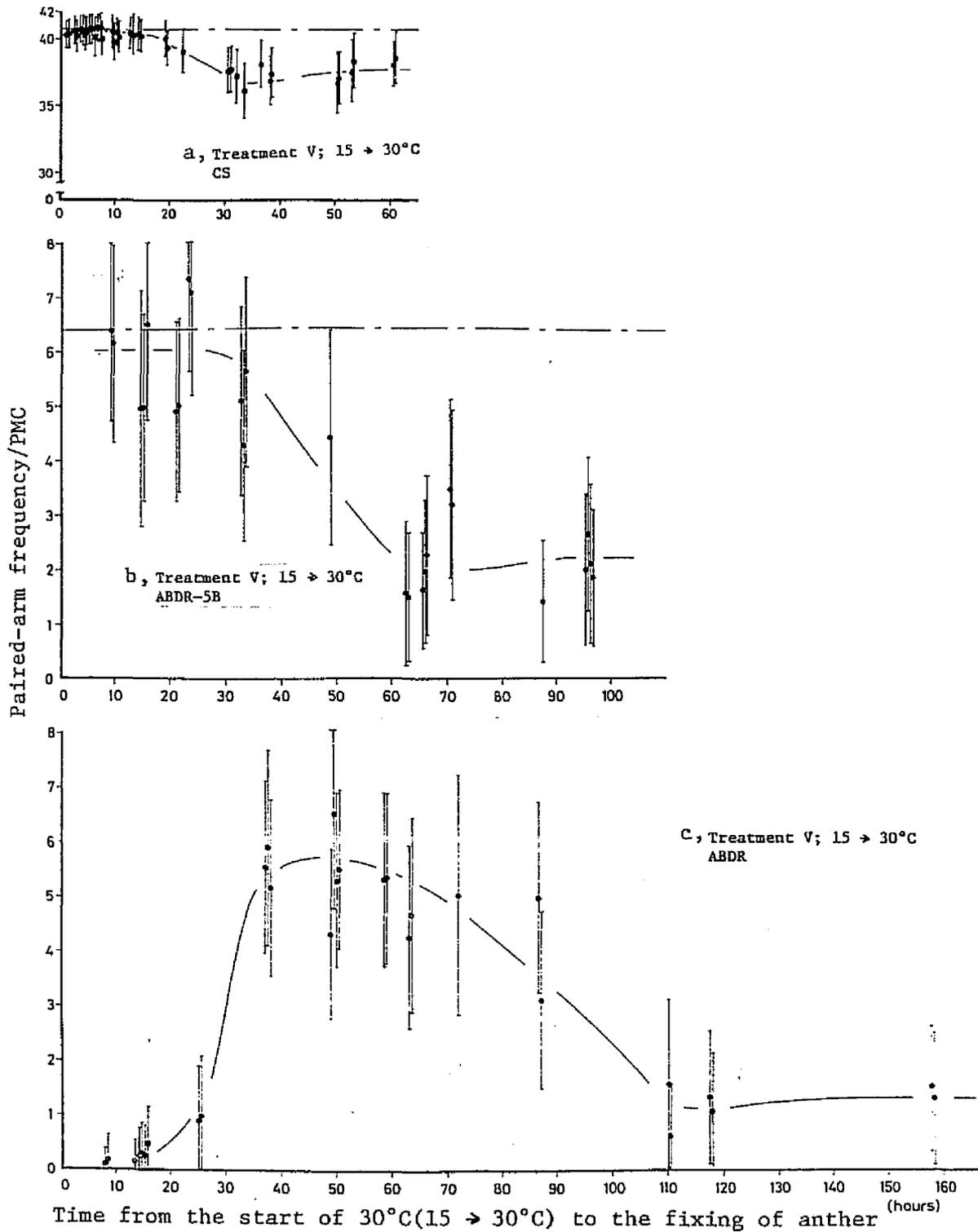


Fig. 1. Time-dependent responses of chromosome pairing in Treatment V to CS(-a), ABDR-5B(-b) and ABDR(-c).

----- ; Paired-arm frequency at constant 15°C.

In Fig. 1-c, paired-arm frequency at 15°C was not presented because of its extremely low value.

⊥=S.D. for each anther.

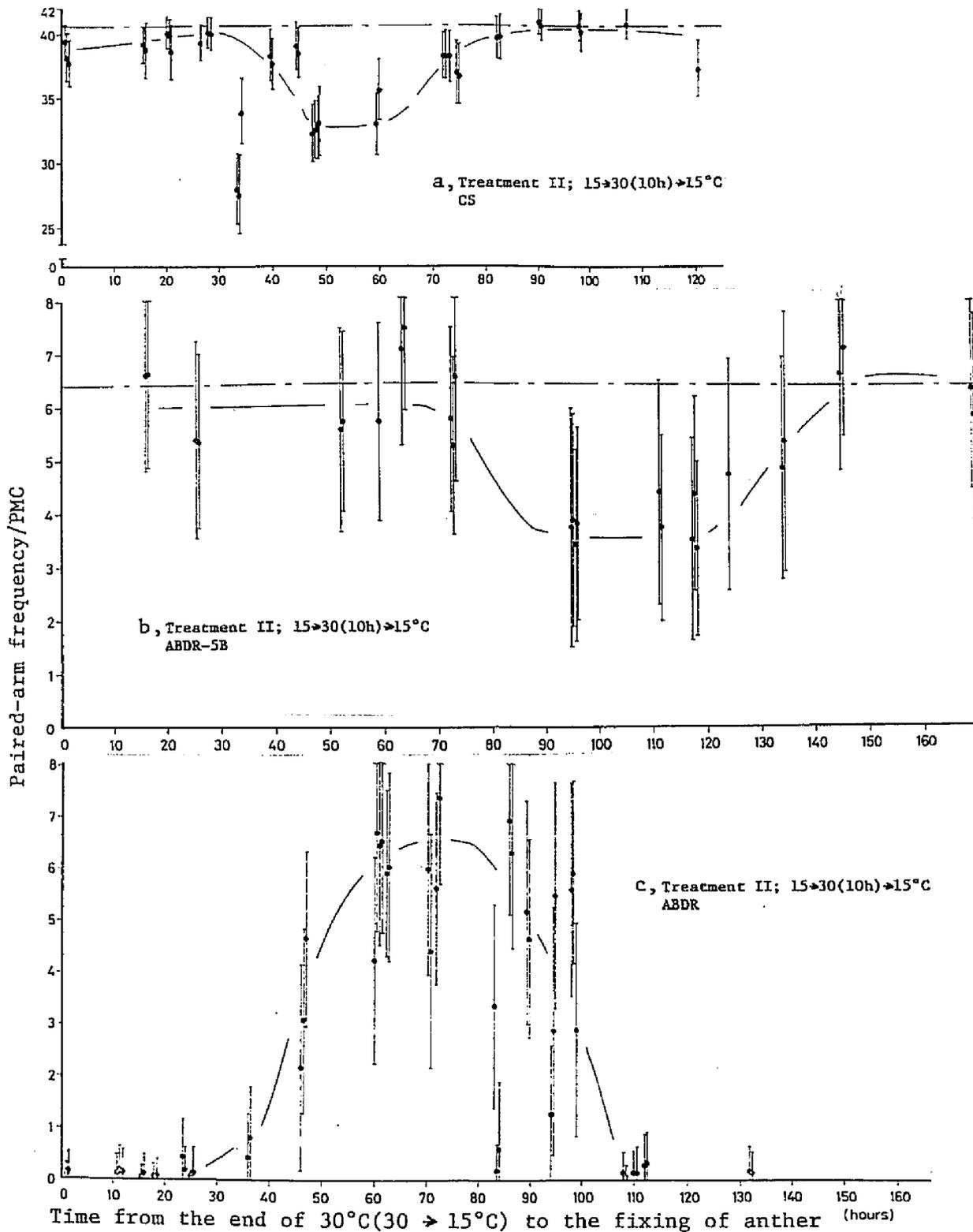
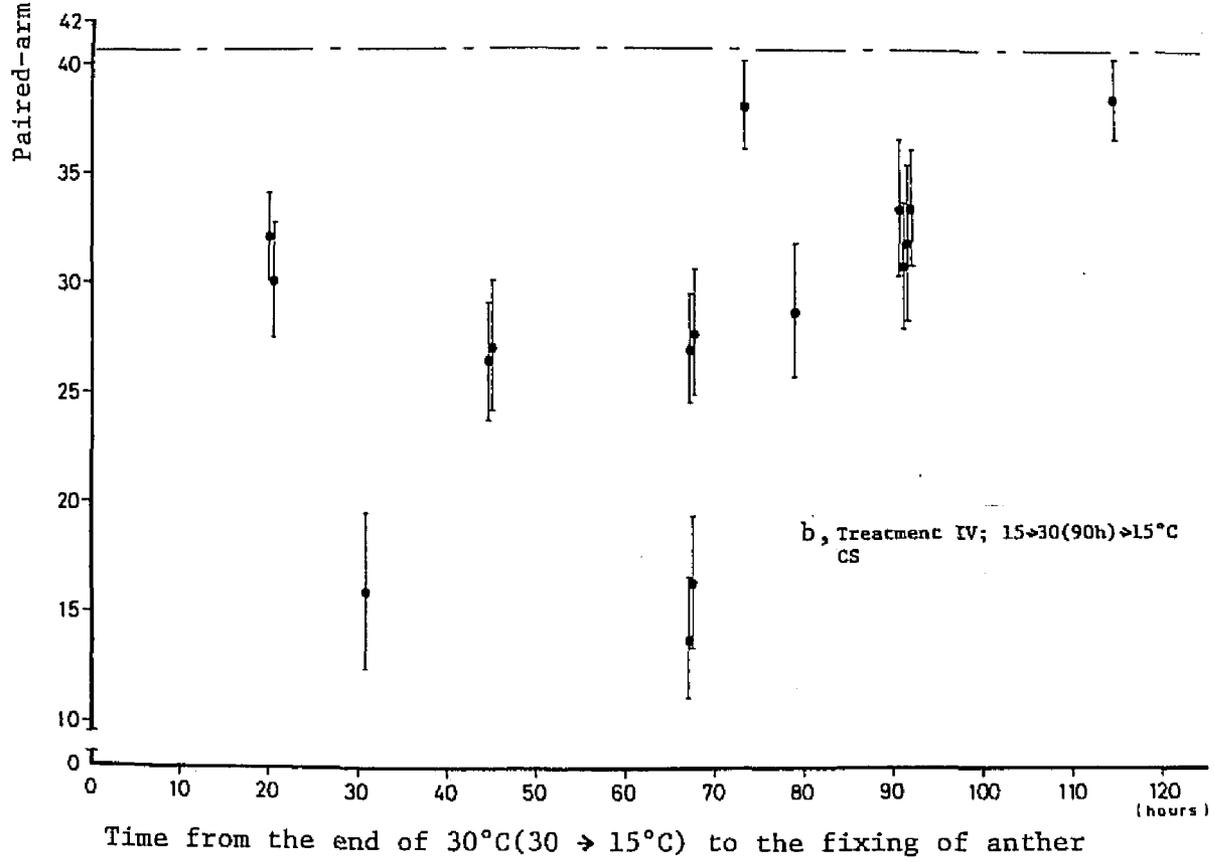
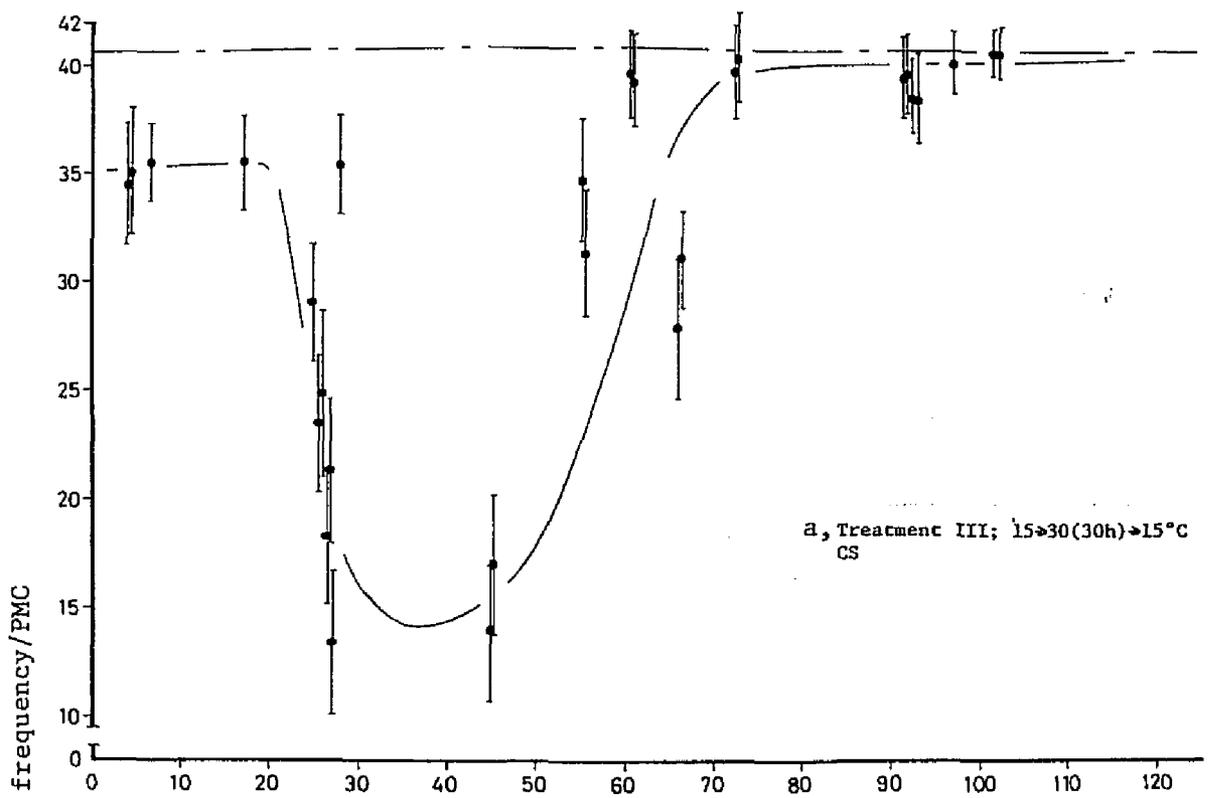


Fig. 2. Time-dependent responses of chromosome pairing in Treatment II to CS(-a), ABDR-5B(-b) and ABDR(-c).

Symbols in this figure are the same as in Fig. 1.

In Fig. 2-c, paired-arm frequency at 15°C was not presented because of its extremely low value.



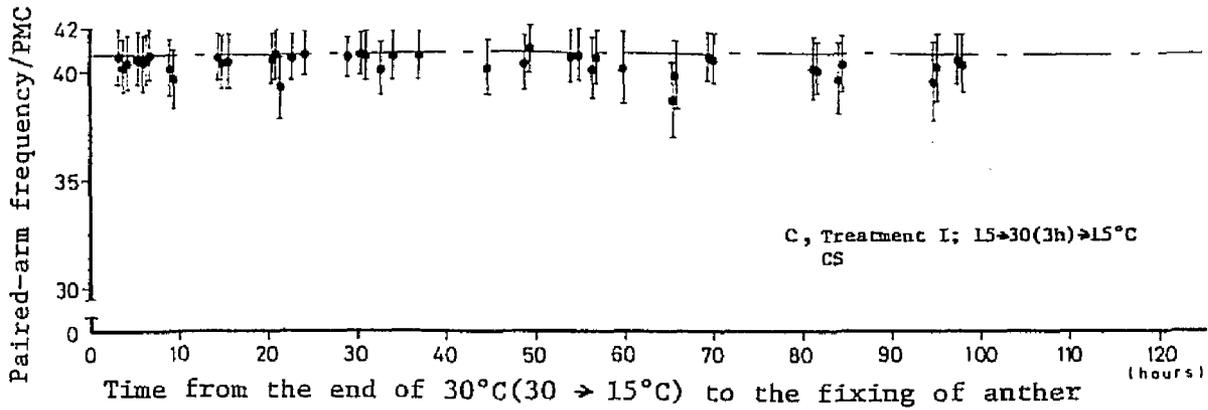


Fig. 3. Time-dependent responses of chromosome pairing in Treatment III (-a), IV(-b) and I(-c) to CS. Symbols in this figure are the same as in Fig. 1.

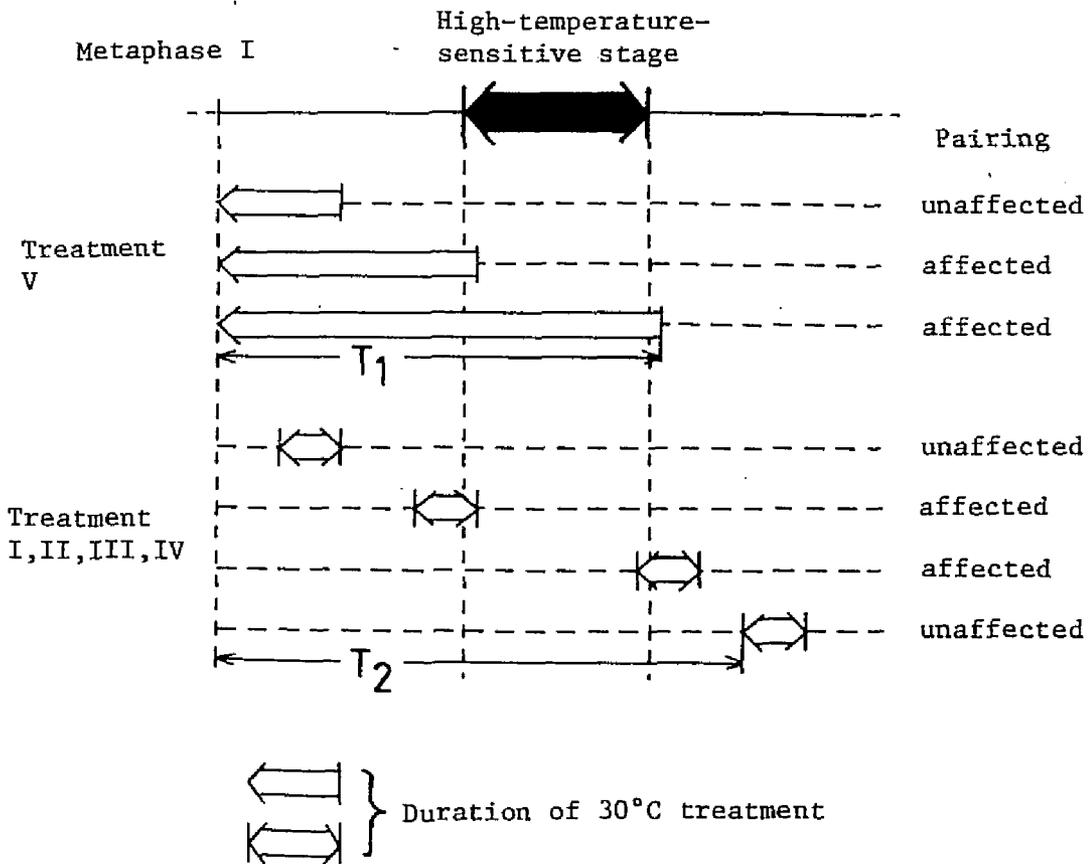


Fig. 4. Schema of the stage dependency of high-temperature effect.
 T_1 : Time from the start of 30°C(15 → 30°C) to the fixing(under 30°C).
 T_2 : Time from the end of 30°C(30 → 15°C) to the fixing(under 15°C).

- c 図中对合腕数の遷移期間の中間点とする)は、高温感受性ステージの終了点を示すと考えられるので、処理 V の結果から感受性ステージの終了点は、本実験の処理温度である30°Cの下では、図から読みとれるように CS の場合は MI の25時間前、ABDR-5B の場合は約45時間前、ABDRの場合は約30時間前にそれぞれ位置すると推定される。この時期は、Bennett *et al.*(1972)の報告に従って15°C下の場合に換算すると各々60時間、108 時間、72時間に相当する。

(2) 処理 II (15 → 30(10時間) → 15 °C)

第2-a、-b、-c図は、各々 CS、ABDR-5B、ABDR に対する処理 II の結果を示す。これらの図から判るように、3系統ともその対合腕数の変化は互いに類似していた。即ち、処理 II では、横軸の値が特定の範囲にある場合にのみ30°C定温下と同程度の対合腕数(第1、2表参照)が得られ、それ以外の時期では30°C処理の影響は認められなかった。この範囲は、CSの場合は処理終了後約40時間から70時間、ABDR-5Bの場合は約80時間から130 時間、ABDRの場合は約45時間から100 時間であると判断された。

ここで、処理 II および後でふれる処理 I、III、IV における対合の変動を説明するため、前記処理 V の場合と同様第4図に示すような仮定を設けた。即ち30°C処理が高温感受性ステージの終了点以後に開始されるかまたは感受性ステージの開始点以前に終了している場合は15°C定温下に置かれた場合と同じ対合量が得られ、それ以外の場合はすべて30°C処理の効果が生じるとする。このように仮定すると、先に述べた30°C処理終了後70時間(CS)、130 時間(ABDR-5B)、および100 時間(ABDR)の時点において各系統の高温感受性ステージの開始点と処理 II の終了時が一致したと考えることができる。30°C処理後材料はすべて15°C下にあるので、上記の時間はそのまま、15°C下では各感受性ステージの開始点が MI より何時間前にあるかを示しているとみてよい。一方、30°C処理後40時間(CS)、80時間(ABDR-5B) および45時間(ABDR)の時点は、各系統の感受性ステージの終了点と処理 II の開始時が一致した時点であると考えられる。従ってこのデータから感受性ステージの終了点を推定する際には、30°C処理後15°C下で経過した時間とともに、30°C処理中に経過した時間10時間(15 °C下に換算して24時間)を考慮しなければならない。

以上の事項を総合すると、高温感受性ステージは15°C下に換算してCSの場合はMIの70時間前から64(=40+24)時間前、ABDR-5B の場合は130 時間前から104(=80+24) 時間前、ABDRの場合は100 時間前から69(=45+24)時間前に位置すると推定される。なお、ABDRに対する処理 V(第1-c図) および処理 II(第2-c図) では、30°C定温処理の場合(第2表) よりもかなり高い対合腕数を示すPMC が存在したが、この点について

ては後に論議する。

(3) 処理 III (15 → 30(30時間) → 15 °C)

第3-a 図は、CSに対する処理 III の結果を示す。この処理では、横軸が 0の時点(30 °C終了時点) で30°C定温処理と同程度の対合腕数(第1表参照) が得られた。この結果は、30°C処理が30時間であったことから予想されたものである。対合腕数は処理終了後約25時間の時点まで30°C定温下での値を持続したが、この時点をかえると急激に減少し、その後暫時増加して約70時間の時点で15°C定温下での値まで回復した。この「70時間」は、処理 II において対合腕数が15°C定温下の値まで回復するまでの時間と一致しており、高温感受性ステージの開始点を示すものと考えられる。

しかし、横軸が約25時間から45時間の範囲で観察された異常に低い対合量は、上記高温感受性ステージの存在のみによっては説明できない。前述の処理 II(第2-a 図) においても、これに相当する時期に特に低い対合腕数を示す葯が3つ認められる。これらの結果は、CSの場合上記高温感受性ステージの終了後に、もう一つ別の温度感受性ステージが存在することを暗示している。

(4) 処理 IV (15 → 30(90時間) → 15 °C)および処理 I (15 → 30(3時間) → 15 °C)

第3-b 図は、CSに対する処理 IV の結果を示したもので、対合腕数の経時的变化は、処理 V、II、III の場合のように明確な反応曲線で表すことはできなかったものの、処理 III で得られたパターンに類似していた。処理 IV では、対合量が15°C定温下での値にまで回復するのが処理 III よりも遅れたが、これは30°C処理の時間が90時間と長く、植物体の生育に異常が生じたためと考えられる。

第3-c 図に示すように、CSに対する処理 I においては、処理がどの時期に行われても対合腕数に変化は認められなかった。これは、30°C処理の時間が3時間と短かすぎたことによると思われる。

第4節 考察

本実験の結果より、CS、ABDR-5B、ABDR のいずれについても、染色体対合に関して高温感受性のステージが存在することが明らかになった。このことから、高温は、対合過程を制御する多くの機構のうち高温感受性ステージ中に機能するものに対して特異的に作用してその機能を乱し、結果的に染色体対合に影響を及ぼすことが示唆され

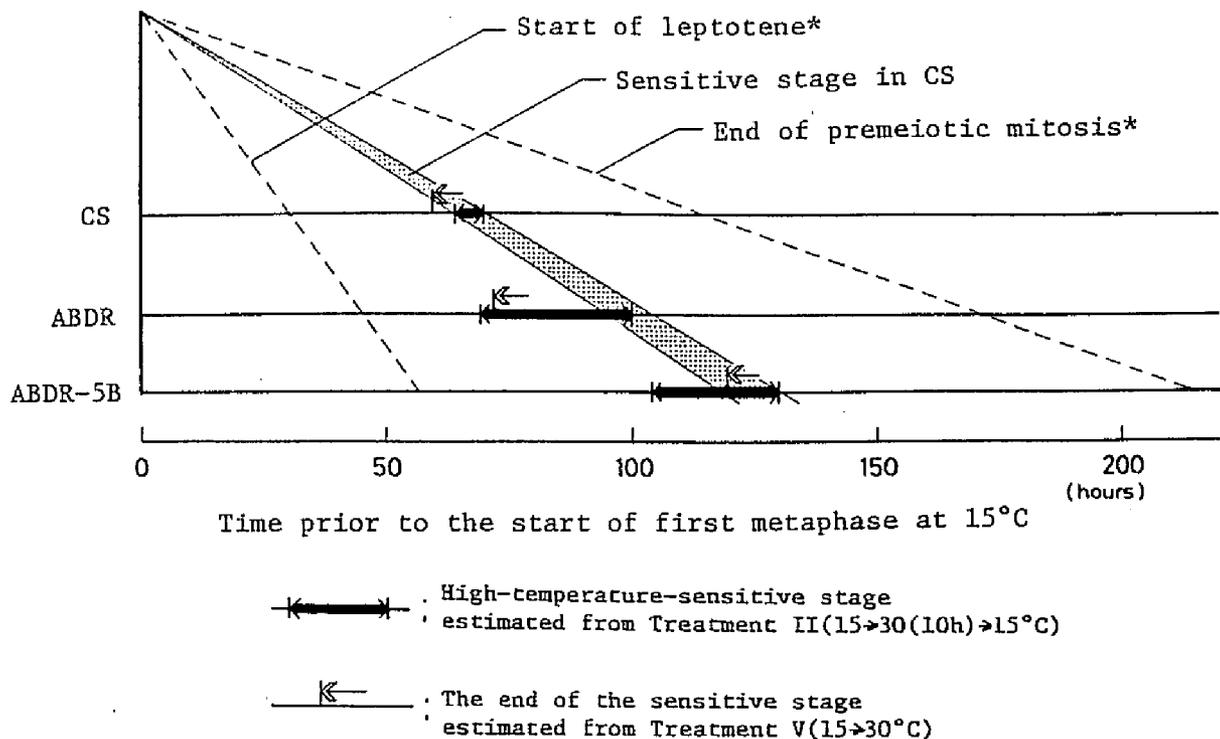


Fig. 5. High-temperature-sensitive stages of three genotypes shown with the period in premeiosis.

* After Bennett *et al.* (1974a).

る。

第5図は本実験の結果に基づき、供試3系統各々の高温感受性ステージが分裂周期上どこに位置しているかを示したものである。このうち、同ステージの終了点については、処理 V、処理 II という異なる方法で推定された2つ値が各系統ごとに示されているが、両者はどの系統においてもよく一致した。また、同ステージは、系統によってその期間に若干の差異はあるものの、3系統とも概ね同じ時期に位置しており、特に同ステージの開始時点は三者ともほぼ同一であった。高温感受性ステージのこの位置は、前成熟分裂期の間部分に相当しDNA 合成期に含まれる(Bennett *et al.* 1979b)。このように供試系統間で感受性ステージの位置が極めて類似しているという結果は、高温に感受性の対合制御機構が相同染色体対合、同祖染色体対合いずれに対しても同一の機能を発揮することを示唆するものである。この機能は、第1章で論議した核内における染色体の近接配置に強く関与していると考えられる。

本実験で得られた高温感受性ステージの時期は、Bayliss and Riley(1972b)が示した nullisomic 5D-tetrasomic 5Bに対する低温(15 °C) 処理、およびCSに対する高温(35 °C) 処理の感受性ステージと一致する。一方、コルヒチン感受性ステージは、ユ

り(Bennett *et al.* 1979a)や4xコムギx6xライコムギ(Thomas and Kaltsikes 1977)においては本実験で検出された高温感受性ステージをその中に含むが、CSにおいては前成熟分裂期の初期以前に位置しており、高温感受性ステージとは重ならない(Dover and Riley 1973)。第1章で述べたように、コルヒチンは高温と同様染色体の配置に作用し、対合に影響を及ぼすことが推察されている。それにも拘らず、両者の感受性ステージの位置が異なることは、上記の染色体配置の制御が少なくとも2つ以上の異なる対合制御機構から構成されており、高温とコルヒチンは、それぞれ異なる対合制御機構に作用すると考えることができる。

本実験では、CSへの処理 II、III、および IV で上記の高温感受性ステージでは説明できない特異的な対合量の減少が認められ、もう一つ別の、いわば第2の温度感受性ステージが存在するのではないかと考えられた。この第2の温度感受性ステージは、対合量の特異的な減少が、30°C処理の時間に関係なく処理終了時に特定のステージ(細糸期の直前)にあったPMCに限られていたことから、高温そのものではなく高温から低温への変化に反応するような制御機構が機能するステージであろうと推察される。一方、ABDRに対する処理 II および V で異常に高い対合量が得られたことは、この現象が第2の感受性ステージと何らかの関係を持つことを暗示している。しかし、ABDR-5B に対する各処理や CS に対する処理 V では、第2の感受性ステージを認めることはできなかった。この第2の感受性ステージ、およびそこで機能する対合制御機構については、さらに解析する必要がある。

いずれにせよ、ABDRに対する処理 II および Vにおいて、ABDR-5B の15、20および25°C区に匹敵する対合量が得られたことは、育種的観点から見て重要である。序論でふれたように、コムギ育種において通常対合できない近縁種染色体から優良遺伝子を導入する際には、従来は放射線照射による転座の誘発(Sears 1956; Elliott 1957; Wienhues 1963; Driscoll 1968; Knott 1971; 百足ら 1975; Dvorak and Knott 1977)、*Ae. speltoides*の遺伝子によるPh1の作用の抑制(Riley *et al.* 1968; Dvorak 1977)突然変異遺伝子 *ph1b* の利用、(Sears 1972; Wang *et al.* 1977; Kushnir and Halloran 1984)等の方法が用いられてきた。しかしいずれの方法も効率的なものではない。今回の結果は、たとえPh1が存在していても適当な温度処理を行えば同祖染色体間の対合を十分誘発しうることを示すものである。このような温度処理は比較的容易に実施でき、近縁種から優良遺伝子を導入する一方法としてコムギ育種上有用であると思われる。

第5節 摘要

第1章と同じ材料を用い、各種の温度処理を行うことにより、対合に及ぼす高温の影響が被処理細胞の分裂ステージによって異なるか否かを検討した。

その結果、相同染色体対合、同祖染色体対合いずれについても、高温の影響は、高温が被処理細胞の特定の分裂ステージ(高温感受性ステージ)に与えられた場合にのみ確認された。このステージは、相同染色体対合、同祖染色体対合いずれについても、コルヒチン感受性ステージより遅く、前成熟分裂期のほぼ中間にあたる比較的短い範囲に位置していた。高温は、この時期に機能する対合制御機構に対して作用すると考えられる。

また、コムギ×ライムギF₁が5Bを持つ場合であっても、適当な温度処理を施した場合にはかなり高い頻度で同祖染色体対合が得られることが判った。この現象は、コムギの育種において近縁種の遺伝質を導入する際、有用であると思われる。

第3章 3B染色体欠失の効果

第1節 緒言

普通系コムギの相同染色体対合量は、3B染色体が1対欠失することによって減少する(Sears 1954)が、このことは相同染色体対合の過程制御に関与する遺伝子(以後、対合遺伝子と称する)が3B上に存在することを示している。また、Kempnana and Riley(1962)は、3Bと5Bを同時に欠くコムギ×ライムギF₁において、3Bと5Bが同時に欠失すると、5Bのみが欠失した場合よりも同祖染色体対合の量が減少することを報告した。3B欠失が同祖染色体の対合量を減少させる効果はコムギ×*Ae. speltooides* F₁でも認められたが、その程度は親として用いた *Ae. speltooides* の系統によって大きく異なっていた(Riley 1966a)。

このように、3B上の対合遺伝子は相同染色体対合のみならず同祖染色体対合にも影響を及ぼしており、普通系コムギの対合過程制御に重要な役割を果たしていると考えられるが、この対合遺伝子に関する研究は上記以外十分になされているとは言えない。序論で触れたように、普通系コムギの染色体対合には数多くの遺伝的要因が関与しており、これらが総合的に機能することによって正常な対合過程が進行すると考えられる。従って、対合過程の遺伝的制御を究明するには、数多くの要因の各々について詳細な解析を行うことが重要であると思われる。

本章では、3B上の対合遺伝子の作用を解析するに先立って必要な染色体レベルでの知見を得るため、3B短腕(3BS) および3B長腕(3BL) 各々が相同染色体対合に及ぼす影響を検討する。

第2節 材料および方法

Chinese Spring(CS)に由来し、3BS のドース 0、1、2の各々と 3BLのドース 0、1、2 の各々とのすべての組合せを含む 9系統を供試した。第3表に供試系統の染色体構成および作成方法を示す。

供試系統はいずれも鉢植にして戸外で育成し、各系統ごとに、最初の止め葉が展開する頃に20℃一定・連続照明の環境下に搬入した。搬入後4日以上経過した個体から適宜成熟第1分裂中期のPMCを採取してカルノア氏液で固定、酢酸カーミンで染色し通常の押しつぶし法によってプレパラートを作成して染色体対合の様相、および1腕

Table 3. Production methods for the materials having different doses of short and long arms of 3B chromosome

Genotype	Dose of 3B-arm		Cross combination	No. of chromosomes
	short	long		
Disomics	2	2	-	42
Monotelo-disomic 3BS	1	2	Disomics x Ditelosomic 3BL	41+1telo(L)*
Monotelo-disomic 3BL	2	1	Disomics x Ditelosomic 3BS	41+1telo(S)*
Ditelosomic 3BL	0	2	-	40+2telo(L)
Monosomic 3B	1	1	-	41
Ditelosomic 3BS	2	0	-	40+2telo(S)
Monotelo-somic 3BL	0	1	Monosomic 3B x Ditelosomic 3BL	40+1telo(L)
Monotelo-somic 3BS	1	0	Monosomic 3B x Ditelosomic 3BS	40+1telo(S)
Nullisomic 3B	0	0	-	40

* telo(S), telo(L); telosome of short arm and that of long arm, respectively.

対当り対合腕対数(対合腕数と略す)を観察した。本章以降で使用する対合腕数とは1細胞で観察された対合腕対数をその細胞中に存在する相同腕対数で除したものである。対合腕対数の算出は第1章の方法に従った。

第3節 結果

第4表は供試9系統の対合の様相を示したもの、また第6図は第4表の結果から算出した対合腕数を、3BSのドースと3BLのドースの組合せごとに示したものである。

Table 4. Homologous chromosome pairing in the genotypes of Chinese Spring with different doses of short and long arms of 3B chromosome

Genotype	Dose of 3B-arm		No. of anthers observed	No. of PMCs observed	Chromosome configuration; Mean(S.D.)/PMC					
	short	long			Telo.I*	I	Telo.II*	Het.II*	Rod II	Ring II
Disomics	2	2	7	740	-	0.04(0.29)	-	-	1.55(1.19)	19.43(1.21)
Monotelodisomic 3BS	1	2	7	628	0.04(0.20)	0.25(0.68)	-	0.96(0.20)	3.22(1.41)	16.68(1.40)
Monotelodisomic 3BL	2	1	7	532	0.07(0.26)	0.29(0.69)	-	0.93(0.26)	3.35(1.37)	16.54(1.39)
Ditelosomic 3BS	0	2	8	832	0.03(0.25)	0.12(0.47)	0.98(0.12)	-	2.37(1.40)	17.57(1.41)
Monosomic 3B	1	1	3	211	-	1.18(0.61)	-	-	2.86(1.44)	17.05(1.49)
Ditelosomic 3BS	2	0	7	406	0.47(0.85)	2.09(1.88)	0.77(0.42)	-	6.83(2.14)	12.13(2.35)
Monotelosomic 3BL	0	1	8	526	1.00(0.00)	0.16(0.54)	-	-	3.12(1.37)	16.80(1.40)
Monotelosomic 3BS	1	0	10	916	1.00(0.00)	2.42(2.01)	-	-	7.71(1.89)	11.08(2.03)
Nullisomic 3B	0	0	9	700	-	2.33(1.97)	-	-	7.46(1.99)	11.38(2.11)

* Telo.I; telosomic univalent, Telo.II; telosomic bivalent, Het.II; heteromorphic bivalent

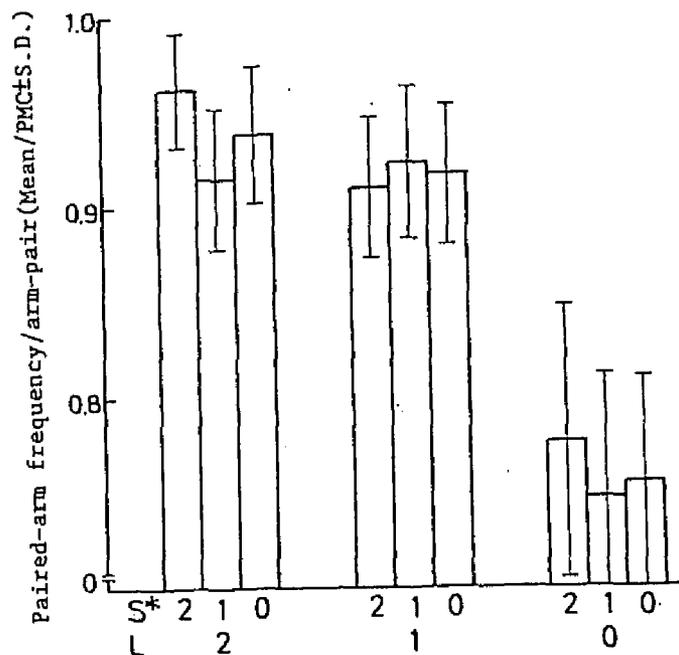


Fig. 6. Effect of the difference in the doses of 3B-short and long arm on the paired-arm frequency.

* S; Dose of short arm, L; Dose of long arm.

これらの結果から明らかなように、対合腕数は、3BL のドースが 0 の系統においてのみかなり低い値を示した。このような低い対合腕数は、主に棒状二価染色体の増加によって、また部分的には一価染色体対の出現によってもたらされた。3BL 欠失の効果を第 1 章で示した高温の効果と比較すると、3BL 欠失の場合は高温処理の場合に比べて棒状二価染色体、一価染色体ともにやや多く、そのため対合腕数も幾分低かった。しかし、高温処理において見られたような対合量の減少に伴う多価染色体の形成は、全く観察されなかった。

3BL のドースが 1 の系統においても、CS に比べるとやや低い対合腕数を示した。従って、3BL は対合量に関して弱いドース効果を持つと考えられる。この場合の対合腕数の低下は、専ら棒状二価染色体の増加によるものであった。

一方、3BS については、3BL のドースが 2 および 0 の系統において、3BS 欠失による対合腕数の低下が認められた。しかし、その程度は 3BL 欠失の場合に比べると極く僅かであった。

第 4 節 考察

従来、3B 上の対合遺伝子は、長腕側にあることが経験的に知られていたが、本実験の結果はそれを確認するものとなった。さらに、本実験では、この対合遺伝子のドースが 1 の場合でも対合量がやや低下すること、即ち対合遺伝子は弱いドース効果を持つことが新たに認められた。

普通系コムギでは、同祖染色体対合の制御に関与する染色体のうち、5B、3A および 3D については、それぞれ長腕(5BL)、 α 腕(3A α) および短腕(3DS) に対合を抑制する遺伝子が座乗し、その反対側の 5BS、3A β および 3DS に、逆に対合を促進する遺伝子が座乗することが知られている(Driscoll 1972; Mello-Sampayo 1971; Sears 1976)。一方、本実験の結果によると、3BS の欠失は 3BL の場合と同様対合量を減少させるがその作用は 3BL に比べて極めて弱く、従って 3B 上の対合遺伝子の所在を考える際には無視することができると考えられる。

3BL 欠失による対合量の減少程度は、高温処理の場合よりもやや大きかった。第 1 章で述べた如く、高温処理、過剰 5BL あるいはコルヒチン処理では、対合量の減少に伴って多価染色体や interlocking bivalent が形成されるようになるが、この現象は高温等の要因が対合に先行する染色体の近接配置の機構に作用すると仮定することで説明される。これに対して、3BL の欠失によって対合量の減少した PMC は、多価染色体も interlocking bivalent も全く観察されなかった。このことから、3BL 上の対合

遺伝子の作用は、高温、5BL、コルヒチンとは異なり、染色体近接配置には影響を及ぼさないことが推論される。Kempanna and Riley(1962)は、3Bの欠失はキアズマ形成を阻害することによって不対合を誘起するのに対して、5Bの欠失はキアズマ形成に先立つ染色体接合を抑制して無対合をもたらすことを推論し、上記の如く3BL 上の対合遺伝子は高温や5BL とは作用が異なるという本実験の考察と一致する見解を示している。

第5節 摘要

Chinese Spring(CS)および 3B 短腕、3B長腕を各々1本または2本欠く系統、計9系統を供試してそれらの染色体対合量を観察し、3B上に存在する対合遺伝子の作用を検討した。

その結果、3B長腕が1対欠失した場合は 3B 全体の欠失と同程度に対合量が減少すること、3B長腕が1本欠失してもある程度に対合量の減少が見られること、および3B短腕が1対欠失しても対合量は減少するがその程度は長腕の欠失に比べて無視しうる程低いことが明らかになった。これらの結果から、相同染色体対合に関与する3B上の対合遺伝子は長腕側に存在すると推定された。なお、高温処理の場合に認められたような、相同染色体対合量の減少に伴って同祖染色体対合が出現する現象は3B欠失の場合には全く観察されなかった。

第 I I 編 高温および 3 B 染色体欠失の 対合に及ぼす作用様式

序説

第 I 編においては、染色体対合に対する高温および 3B 欠失の効果を観察し、対合する染色体同士は接合に先立って核内で予め接近して存在するが、高温はこの配置を乱すことで接合あるいは対合に作用すること、一方、3B 欠失はこのような染色体の配置には作用しないことが推論された。

Farberge(1942)は、対合の機構を物理学の立場から考察し、対合過程は、互いに離れていた染色体が接近する部分と、緊密に接近した後に接合する部分の 2 つに大別できることを示し、2 つの部分間で染色体間に働く作用力が異なることを論じている。

本編では、染色体対合に対する高温と 3B 欠失の作用様式を解明するため、第 I 編における考察、および Farberge の推論を総合して下記の様な作業仮説を設け、種々の実験によりこの仮説の妥当性を検討していく。

(i) 普通系コムギにおいて染色体対合の過程が正常に進行するためには、次の 2 つの段階を順次経過することが必要である。その第 1 段階とは、対合する染色体同士が接合糸期より前の核内において十分接近した状態で配置されること(近接配置)であり、第 2 段階とは、接近を完了した染色体の間で接合糸期以降接合、交叉、分離等が遂行されることである。以下、第 1 段階を染色体対合の前接合過程、第 2 段階を後接合過程と称する。

(ii) 高温処理は、上記 2 段階中、前接合過程における染色体近接配置の制御機構を乱すことによって結果的に対合に影響を及ぼす。

(iii) 3BL 上の対合遺伝子は、後接合過程の制御機構に関与しており、そのため 3BL が欠失すると後接合過程中の染色体行動に異常が生じ、対合が抑制される。

第4章 同腕染色体の腕間対合に対する作用

第1節 緒言

同腕染色体は、一对の相同な染色体腕がそれらの動原体部分で互いに付着したものである。従って、同腕染色体の両腕は、高温処理その他どのような処理を受けても互いの相対的位置を乱されることはない。

ここで、対合に影響を及ぼすある要因があり、この要因は対合過程中前接合過程での染色体の近接配置に対しては作用するが、後接合過程には何等関与しないと仮定すれば、この要因は通常の染色体の対合には影響するが、同腕染色体の腕間対合には全く影響を及ぼさないと推論することができる。

本章では、高温処理および3B欠失が同腕染色体の腕間対合に及ぼす影響を観察し、上述の推論に基づいて両要因が後接合過程における染色体の行動、即ち接合、交叉、分離等に作用するか否かを検討する。

第2節 材料および方法

高温処理効果の検討には Chinese Spring(CS) と monoisosomic 1A-long-arm(以降 MilAL と略す) の2系統を用い、1977年の12月(77W) と1979年の4月(79S) の2回にわたって実験を実施した。また3B欠失の効果の検討には、CS、MilAL、nullisomic 3B(N3B)、および monoisosomic 1A-nullisomic 3B(MilAL-N3B)の4系統を用い、1980年の12月に実験を行った。これらの異数体系統はいずれもCSに由来するもので、系統ごとに個体の根端細胞の染色体数を調べ、目的とする個体を選抜して供試した。なお、MilAL-N3B については、第7図に示す方法で作成した。

これらの系統はすべて鉢植にして最初の止め葉が展開する前までは戸外で育成した。高温処理の実験に供試した2系統、CSおよび MilALについては、止め葉が展開する頃に77S では20°C一定・連続照明、79S では15°C一定・連続照明の環境下に搬入した。両系統とも、搬入後約1日以上経過させた後30°C定温下に移動すると共に、一部はそのまま15または20°C下に残した。また3B欠失の実験に供試した4系統についてはいずれも止め葉展開後20°C一定・連続照明下に搬入しそのまま放置した。

以降、高温処理の実験では各系統、各定温区から、また3B欠失の実験では各系統から成熟第1分裂中期のPMC を採取し、対合の様相および1腕対当り対合腕対数(対合

Table 5. Effect of high temperature on the paired-arm frequency per arm-pair in isochromosome and ordinary homologous chromosomes

Year*	Genotype*	Temperature(°C)	No. of anthers observed	No. of PMCs observed	Paired-arm frequency; Mean(S.D.)/PMC	
					Isochromosome	Ordinary homologous chromosomes
77W	Disomics (CS)	20	7	1006	-	0.96(0.03)
		30	3	144	-	0.88(0.05)
	MILAL	20	6	538	0.89(0.31)	0.94(0.04)
		30	6	408	0.88(0.32)	0.86(0.06)
79S	Disomics (CS)	15	10	1223	-	0.96(0.03)
		30	9	698	-	0.81(0.07)
	MILAL	15	6	443	0.88(0.33)	0.95(0.03)
		30	5	282	0.87(0.33)	0.86(0.05)

* See text for the abbreviation.

Table 6. Heterogeneity test for the number of PMCs having paired isochromosome

Year*	Temperature(°C)	Heterogeneity; Values of χ^2 (d.f.)		
		Among anthers within temp.	Between temp. within year	Between years
77W	20	2.94(5)	0.32(1)	0.69(1)
	30	3.98(5)		
79S	15	2.72(5)	0.05(1)	
	30	4.58(4)		

* See text for the abbreviation.

Table 7. Effect of 3B deficiency on the paired-arm frequency in isochromosome and ordinary homologous chromosomes

Genotype*	No. of anthers observed	No. of PMCs observed	Paired-arm frequency; Mean(S.D.)/PMC	
			Isochromosome	Ordinary homologous chromosomes
Disomics(CS)	8	820	-	0.96(0.03)
N3B	4	447	-	0.71(0.07)
MilAL	8	936	0.91(0.01)	0.94(0.04)
MilAL-N3B	7	687	0.09(0.01)	0.73(0.08)

* See text for the abbreviation.

染色体においては、CS、MilAL 共に3Bの欠失によって対合腕数が減少し、データは省略したが、3B欠失下での一価染色体の割合その他对合像の構成比は第3章(第3表)に示したものとほぼ同じであった。一方、同腕染色体においても、通常染色体の場合と同様に3B欠失によって対合腕数の減少が認められた。この結果は高温処理の結果と著しく異なる。また、同腕染色体における3B欠失による対合量の減少程度は、通常染色体における減少程度よりもはるかに大きかった。

第4節 考察

本実験の結果より、同腕染色体の腕間対合は、高温処理で影響されない(第5表)が、3B欠失によって大きく乱される(第7表)ことが明らかとなった。本実験で対象とした同腕染色体は1A長腕のみであるが、この腕上には対合に関与する遺伝子の存在は知られていない。また実験結果が示すように、MilAL とCSとの間に通常染色体の対合量および高温または3B欠失に対する反応の違いは見られなかった。従って、1A以外の同腕染色体系統を用いても本実験と同様の結果が得られるものと期待される。

この結果、および緒言で述べた、後接合過程に関与しない要因は同腕染色体の腕間対合には全く影響しないという推論から、高温は後接合過程には影響せず前接合過程を乱す要因であり、これに対して、3B欠失は高温とは異なり、後接合過程を乱す要因であると推論される。またこのことから、3B上の対合遺伝子は接合、交叉、分離等、

後接合過程中の染色体行動に関与し、これらを制御していると考えられる。

Driscoll and Darvey(1970)は、同腕染色体の腕間対合(5DL)に対するコルヒチン処理の効果を検討し、本実験の高温処理の場合と同様腕間対合に影響が生じなかったことから、コルヒチンは後接合過程には何等関与しないことを考察した。これは、高温とコルヒチンは作用時期こそ異なる(第2章)が、第1章の考察で述べたように対合過程に対する作用の様式では類似することを強く示唆している。

一方、Feldman(1966)は、過剰5BLの個体では同腕染色体(5BL)の腕間対合量が通常染色体の対合量と同様減少することを報告している。従って、5B長腕上のPh1は、前接合過程のみならず(第1章)後接合過程にも関与している可能性がある。

同腕染色体の腕間対合に関しては、低温下では対合を生じない5D欠失個体についても検討されている。Bayliss and Riley(1972a)は5D欠失個体に15°Cの低温処理を行い、低温は、通常染色体、同腕染色体(5BL)いずれについても対合量を減少させることを認めた。第2章で述べたように、染色体対合に関する低温感受性ステージは高温感受性ステージと同一の位置にある。しかし、低温と高温は対合過程に対する作用様式に関しては互いに異なると考えられる。

3B欠失による対合量の減少程度は、第7表でみられるように、同腕染色体の方が通常染色体よりもはるかに大きかった。この結果は、15および20°C定温下で同腕染色体が通常染色体よりもやや低い対合量を示したこと(第5表)から推論して、同腕染色体上に対合する部分が少ないことによると考えられる。

第5節 摘要

同腕染色体の2本の腕は、互いに動原体の部分で付着しているため、常に接近した状態にある。従って、染色体対合を阻害する要因があったとしても、それが後接合過程に作用するものでない限り、その要因は同腕染色体の腕間対合には何等影響を及ぼさないはずである。

この推論に基づき、品種Chinese Spring(CS)とCSに由来するisosomic系統およびnullisomic系統を供試して同腕染色体の腕間対合に及ぼす高温および3B欠失の影響を調べ、両要因の対合に対する作用様式、特に後接合過程に対する作用を検討した。

実験の結果、腕間対合の量は、高温処理では影響されないが、3B欠失によって著しく減少することが判った。このことから、後接合過程に対して、高温は全く影響力を持たないが、3B欠失は強く作用すること、即ち3B上の対合遺伝子は後接合過程の制御に大きく関与していることが推測された。

第5章 紡錘体に対する作用

第1節 緒言

第4章では、同腕染色体の腕間対合の頻度を指標として、高温および3B欠失の染色体対合に対する効果を検討した。その結果、高温は同腕染色体の腕間対合を抑制しないこと、従って染色体対合の後接合過程に対しては作用しないことが明らかになった。このことから高温は、前接合過程に対してのみ作用を及ぼすこと、即ち第II編序説の作業仮説(ii)は妥当なものであることが結論される。一方、3B欠失は通常染色体と同様同腕染色体においても対合抑制効果を示すこと、従って後接合過程に作用を及ぼすことが明らかとなったが、前接合過程に対して影響を持つか否かは第4章の結果のみでは明確な結論を得ることはできない。

本章では、前章で明らかにし得なかった3B欠失の前接合過程に対する作用、換言すれば染色体の近接配置に対する作用の有無を解析する。またあわせて、同過程に対する高温の作用を確認する。

ところで、前接合過程における染色体の配置を直接観察することは、普通系コムギの場合極めて困難である。そのため、従来過剰5BL やコルヒチンが上記の染色体配置に及ぼす作用を解析する際には、この過程の染色体配置の状態を表すものとして次の3つの指標が用いられている。1番目の指標は、体細胞分裂中期像での特定染色体間（相同染色体間、同祖染色体間等）の距離であり(Feldman *et al.* 1966; Feldman 1968; Avivi *et al.* 1969; Darvey and Driscoll 1972; Dvorak and Knott 1973; Feldman and Avivi 1973; Mello-Sampayo 1973; Singh *et al.* 1976; Avivi *et al.* 1982a; Avivi *et al.* 1982b)、2番目のものは体細胞分裂中期細胞における染色体の拡散程度であり(Avivi *et al.* 1970a; Avivi *et al.* 1970b; Ceoloni *et al.* 1984; Gaulandi *et al.* 1984)、3番目のものは花粉の発芽孔の数と形態である(Dover 1972; Avivi and Feldman 1973a)。このうち第1の指標を用いる方法では、後述するように体細胞分裂中期で観察される染色体の配置が前成熟分裂期における配置と同様であることを前提としており(Feldman *et al.* 1966)、また第2、第3の指標を用いる方法では、染色体配置は紡錘体様物質によって制御されること、および各々の指標形質は前接合過程における紡錘体の性状、従って同過程における染色体配置の状態を間接的に示すことを仮定している(Avivi *et al.* 1970a; Dover 1972)。本章では、このうち第2番目の体細胞分裂中期細胞における染色体拡散程度、即ち紡錘体の性状を指標に用い、この指標に対する3B(3BL)欠失の効果、および高温の効果を検討する。

なお、本章の実験では、3B欠失の紡錘体に対する効果はコルヒチンが存在する場合についても観察した。これは、過剰5BL に関する同種の実験において、過剰5BL が紡錘体そのものではなく紡錘体のコルヒチン親和性に影響を及ぼすという結果が得られていること(Avivi *et al.* 1970a)に基づいている。

第2節 材料および方法

3B欠失の効果を検討する実験では、対合遺伝子の座乗する 3BLを欠くditelosomic 3BS、3BLを持つが欠失腕のあるditelosomic 3BL とditelosomic 1AS、および3BL を持ちかつ欠失腕のないChinese Spring(CS)、以上4系統を材料として用いた。供試した端部動原体系統は、全てChinese Springに由来するものである。

供試系統の種子をシャーレ内の湿ったろ紙上に置床し、発芽後各粒から根端を1本ずつ採取して常法によりその個体が目的とする染色体構成を持つか否かを確認した。置床96時間後に種子を各系統とも二分し、一群は蒸留水に、他の一群は 3×10^{-4} M のコルヒチン溶液に5時間浸漬した。その後、残った根端をただちにファーマー氏液で固定、酢酸カーミンで染色し、スライドガラス上で組織を解離してカバーグラスをかけ軽く押しつぶした。このプレパラートを用いて体細胞分裂中期像を観察し、細胞内で染色体がどの程度拡散しているかによって紡錘体の性状を推定した。染色体の拡散程度は、観察された中期像をAvivi *et al.* (1970a) の示した基準に従って3つの細胞型(正常型 unaffected cell、部分拡散型 partially affected cell、および完全拡散型 totally affected cell)に分類し、各細胞型に属する細胞数の全細胞数に対する比率によって表した。なお、根端固定までの実験操作は全て20°C下で行った。

一方、高温の効果を検討する実験では、CSを材料として用いた。CSの種子をシャーレ内の湿ったろ紙上に置床して20°C下で24時間経過させた後3群に分け、それぞれ10、20、30°C定温下に配置した。各定温区とも24、48 および72 時間後に健全な根端を採取し、ただちにファーマー氏液で固定した。3定温区各々における分裂回数は24時間区では1~2回、48時間区では3~5回、72時間区では4~7回程度と推定される(Bennett *et al.* 1972)。根端固定後のプレパラート作成法および観察方法は3B欠失の場合と同様である。

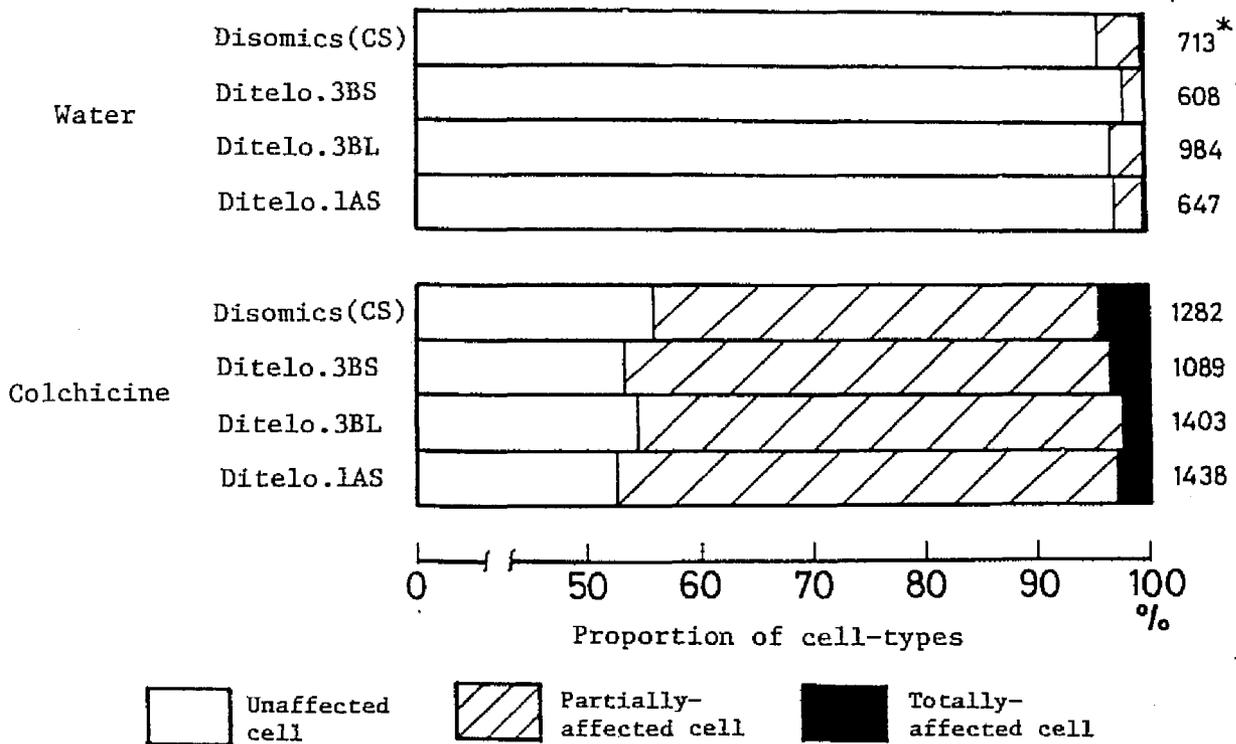


Fig. 8. Responses of mitotic spindle to 3B-chromosome arm deficiency and colchicine treatment, as measured by proportion of cell types.

* No. of cells observed.

第3節 結果

(1) 3B欠失の効果

第8図は 3B(3BL)欠失の影響を蒸留水処理区とコルヒチン処理区について示したものである。

この図から明らかなように、蒸留水処理区では供試4系統のいずれにおいてもほとんど正常型細胞のみが観察され、各細胞型比率の系統間差異は認められなかった。一方コルヒチン処理区では、供試4系統とも蒸留水処理区に比べて部分拡散型細胞、完全拡散型細胞が大きく増加したが、各細胞型の比率は蒸留水処理の場合と同様系統間で異ならなかった。

この結果から、対合遺伝子の座乗する 3BLの欠失は、体細胞分裂中期における紡錘体の性状には何ら影響を及ぼさないことが明らかとなった。

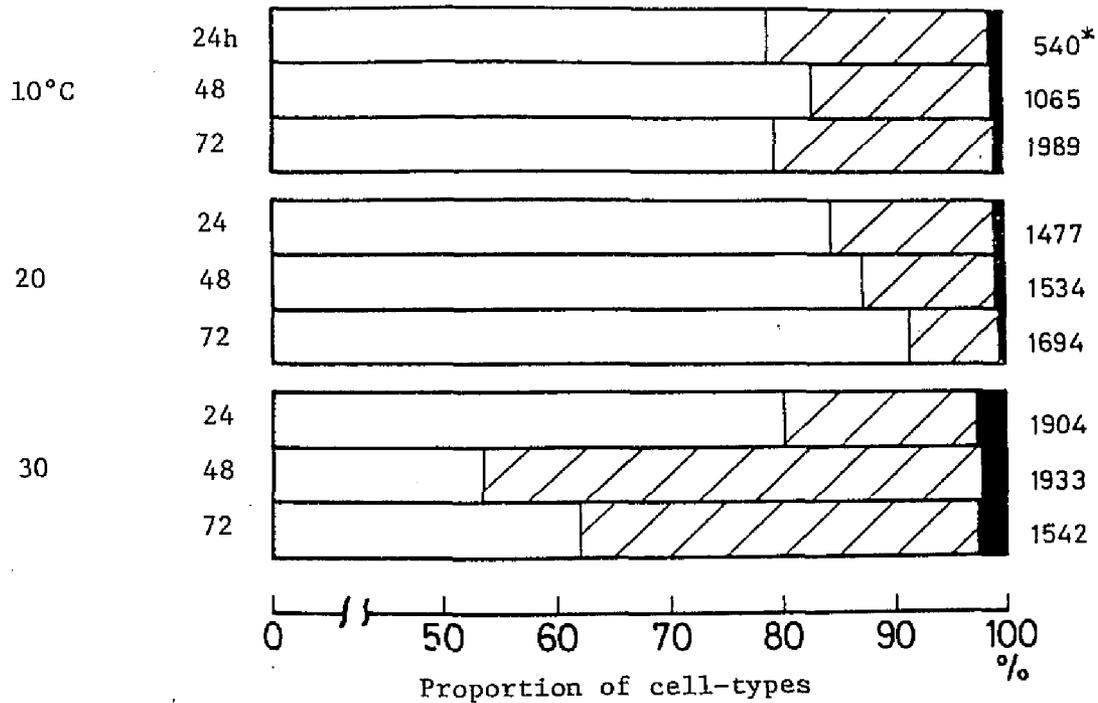


Fig. 9. Response of mitotic spindle to temperature treatment, as measured by proportion of cell types.

* No. of cells observed.

Symbols in this figure are the same as in Fig. 8.

(2) 高温処理の効果

第9図は温度処理の結果を示したものである。

まず、20°C定温区では、どの置床時間においても正常型細胞が観察細胞中の大部分を占めており、完全拡散型はごく一部であった。この傾向は10°C定温区でも認められた。

これに対して30°C定温区の結果をみると、24時間処理においては10°C、20°C区と同様ほとんどが正常型細胞であったが、48および72時間処理においては、正常型細胞の比率が減少し、それに代って部分拡散型細胞の比率が第8図に示したコルヒチン処理と同程度まで大きく増大した。このことより、48時間以上の高温処理を行うと紡錘体の機能に障害が生じ、その結果染色体の部分的な拡散が生じると考えられた。

第4節 考察

本章の目的は、3B欠失や高温が染色体対合の前接合過程における染色体の近接配置

に対して影響を及ぼすか否かを解析することにある。

Feldman *et al.* (1966)は、成熟第一分裂接合糸期より前のどの時期においても核内の染色体配置は同様であるという仮定を立て、普通系コムギの根端細胞分裂中期像における特定染色体(端部動原体染色体)間の距離を測定して、染色体近接配置の有無を検討した。その結果、測定の対象とした染色体が非相同である場合の染色体間距離は染色体がランダムに分布した場合に期待される距離と一致するが、染色体が相同である場合はランダム分布からの期待値よりも有意に短いことが明らかとなり、これに基づいて普通系コムギの相同染色体は体細胞分裂中期において近接配置を示すと結論された。このような染色体間距離を指標とした近接配置の存在に関する報告は、普通系コムギ(本章第1節参照)以外にも、Kitani(1963)以来多くの動植物種で見受けられる(Avivi and Feldman 1980 参照)。

上述のFeldman *et al.* (1966)はさらに、同一染色体の異なる腕が1本ずつ欠失した double monotelosomic 系統を用いてそれら腕間の距離を測定することにより、腕間距離は染色体腕が非相同であるにもかかわらず相同染色体と同様、染色体がランダムに分布した場合の期待値よりも短いという結果を得、これに基づいて染色体近接配置には動原体が重要な役割を果たしていると推察した。従来、多数の動植物種で、主として体細胞分裂中間期核の観察結果に基づき、染色体はその動原体を核膜に付着させていることが報告されている(Comings and Okada 1970; Avivi and Feldman 1980)。さらにGaulden and Carlson(1951)は、コルヒチンでバッタの神経細胞を処理すると動原体と核膜の付着が乱されることを報告している。Feldman(1968)は、以上の事項を総合し、染色体はその動原体を核膜上の定位置に紡錘体様物質によって付着させることにより近接配置(Feldman *et al.* 1966)を保持していると考えた。一方、Avivi *et al.* (1969)は普通系コムギの根端にコルヒチン処理を行い、分裂中期の相同染色体間距離は非相同染色体間距離と同様ランダム分布での期待値にまで拡大すること、即ち近接配置が乱れることを観察した。また、Hotta and Shepard(1973)は、ユリにおけるコルヒチンの染色体対合阻害(Shepard *et al.* 1974)の作用は核膜と結合しているDNA結合蛋白に対する作用であると結論している。これらAvivi *et al.* (1969)およびHotta and Shepard (1973)の実験結果は、Feldman(1968)が染色体近接配置の保持には紡錘体様物質が深く関与していると考えたことを裏付けている。

本章では、上記Feldman(1968)の考察に基づき、体細胞分裂中期における紡錘体の性状を染色体近接配置の指標として、この指標に対する3B欠失と高温の効果を観察した。このうち、3B(3BL)欠失に関する実験の結果、3B欠失は紡錘体およびそのコルヒチン親和性に対しては何ら影響を与えないことが明らかになった。従って、Feldman(1968)の考察に準じれば3B上の対合遺伝子は染色体対合の前接合過程における近接配

置には影響せず、専ら後接合過程に対して作用すること、即ち第II編序説における作業仮説(iii)は妥当であると推察される。

一方、本実験のうち高温効果に関する結果は、高温(48時間以上)は紡錘体に対して部分的な阻害効果を有することを明らかにしている。高温が紡錘体に及ぼす阻害効果は、*Chaetopterus*卵母細胞に高温(30 ~ 35°C)処理を行うとその複屈折性が消失するという結果(Inoue 1952)からも示唆される。

第1章第4節で述べたように過剰5BLは前接合過程における染色体の近接配置に作用すると推測されているが、この作用は、5BL上の同祖染色体対合抑制遺伝子 $Ph1$ の突然変異体 $ph1b$ が、紡錘体のコルヒチン親和性(Avivi *et al.* 1970a; Ceoloni *et al.* 1984)、各種ヌクレオチド親和性(Avivi *et al.* 1970b)、vinblastin親和性(Avivi and Feldman 1973b)、IPCおよびgriseofulvin親和性(Gualandi *et al.* 1984)にも変化をもたらすことから、紡錘体様物質への作用を介して発現されると考えられる。上記Feldman(1968)の考察のように染色体の近接配置が紡錘体様物質に従って保持されているとすれば、高温、過剰5BL、およびコルヒチンの3者はいずれもこの紡錘体様物質に作用することによって近接配置を乱すと考えられる。

前接合過程のうち前成熟分裂期には高温(第2章)、コルヒチン(Dover and Riley 1973)それぞれに対する感受性ステージが存在しており、この時期における近接配置はこの時期に続く接合糸期での接合に対して特に重要な影響を与えると考えられるが、前成熟分裂期において染色体がどのように配置されているかを直接観察した報告は、技術的な困難さから少数しか存在しない。このうち、Bennett *et al.*(1974b)およびBennett *et al.*(1979b)は、普通系コムギ、ライムギ、および6xライコムギを用いて断片的ではあるが前成熟分裂期核内の電子顕微鏡観察を行っている。この観察によると、前成熟分裂期の直前の体細胞分裂終期から前成熟分裂期のG₁期にかけて染色体はその動原体を核膜上のある限られた部分に、また端部を動原体の占める部分とは対蹠的な位置にそれぞれ付着させている。前成熟分裂期のG₁期を過ぎると、染色体端部はそのまま核膜と付着し続けるが、動原体は次第に核膜から離脱しはじめる。しかし動原体同士は互いに付着しているように見える。そして核膜と動原体または端部、あるいは動原体同士の付着部分には、繊維状物質(fibrillar material)が偏在しており、この物質が上記核膜と染色体、染色体同士の付着に関与しているように観察される。またBennett and Smith(1979)によると、この繊維状物質は、少なくとも対合に関するコルヒチン感受性ステージにおいてはコルヒチン処理によってその形成を抑制される。

Bennett *et al.*(1979b)は以上の観察結果から、前成熟分裂期における染色体の配置は核膜と染色体の一部(動原体または端部)との付着によって決定され、この付着

には紡錘体様物質と上記繊維状物質の双方が相補的に関与していると推察した。本章で明らかとなった、体細胞分裂中期の紡錘体に対する高温の阻害効果が、前成熟分裂期における染色体の近接配置に対してはどのように発現されるのか、この点についてはなお不明な点が多いが、Bennett *et al.* (1979b) が示した前成熟分裂期における染色体と核膜との付着関係を高温が乱し、その最終結果として染色体対合に変化が生じるという推察は高い可能性を有すると考えられる。

第5節 摘要

品種Chinese SpringとChinese Springに由来するditelosomic 3BS、ditelosomic 3BL、およびditelosomic 1ASを供試して、根端細胞分裂中期における紡錘体の性状に対する3B欠失および高温処理の効果を観察し、染色体はその動原体を核膜上の特定の位置に紡錘体様物質によって付着させることにより染色体配置を制御しているというFeldman(1968)の考察に基づき、3B上の対合遺伝子および高温が、染色体対合の前接合過程における染色体の近接配置に影響を及ぼすか否かを検討した。

実験の結果、体細胞分裂中期の紡錘体の性状は、3B(3BL)欠失には全く影響されないが、48時間以上の高温処理(30 °C)によって部分的な阻害を受けることが明らかになった。このことから、前接合過程の染色体近接配置に対して3B上の対合遺伝子は何ら影響を及ぼさないが、高温は紡錘体様物質に対する作用を介して近接配置を乱すと推測された。

総括

普通系コムギ中の同祖染色体(共通の祖先染色体に由来し互いに類似した遺伝的機能を有する染色体)は通常成熟分裂においては対合しないが、これは5B染色体上の遺伝子 $Ph1$ を中心とする遺伝的制御機構によって対合が抑制されているためである。従ってこの $Ph1$ の作用を人為的に操作すれば、通常は対合しないコムギの染色体と近縁種の染色体を対合させ、組換えを起こさせて近縁種の染色体から有用遺伝子をコムギの染色体に導入することが可能である。普通系コムギの育種に際してこのような対合操作を効率的に行うためには、同祖染色体のみならず相同染色体についてもその対合の過程および対合制御機構を詳細に解明しておかなければならない。また、そのためには、種々の要因による対合の変動現象を解析することがまず必要である。

本研究はこのような観点に立ち、普通系コムギの育種において染色体対合を効率よく操作するための基礎的知見を得ることを目的として、高温および3B染色体欠失が相同染色体対合および同祖染色体対合に及ぼす影響を解析し、コムギにおける染色体対合の過程を究明しようとしたものである。

研究結果の概要を本論文の構成に従ってとりまとめると以下のものである。

第I編 染色体対合に対する高温および3B染色体欠失の効果

本編では、普通系コムギの染色体対合に変動をもたらす環境要因として高温を、遺伝的要因として3B染色体欠失をとり上げ、各々が対合に及ぼす影響を観察、検討した。

第1章 高温の効果

普通系コムギ品種Chinese Springおよびコムギ×ライムギ(品種Petkus)の F_1 で5Bを欠くもの、3Dを欠くもの、ならびに両者とも有するものを供試し、普通系コムギの相同染色体対合および同祖染色体対合に対して、高温(30℃)処理がどのような効果をもたらすかを検討した。

高温処理の結果、Chinese Springでは相同染色体対合の減少と低頻度ながら同祖染色体対合の出現が認められた。5Bまたは3Dを欠くコムギ×ライムギ F_1 では同祖染色体

対合が抑制されたが、5B、3Dを有し、通常同祖染色体対合が抑制されているコムギ×ライムギF₁では、逆に同祖染色体対合が促進された。

これらの結果から、対合する染色体同士は、接合糸期よりも前の核内で互いに接近するように配置されていること、高温および5B長腕(Ph1)は、共にこのような染色体配置を乱し、そのことによって結果的に対合に影響を及ぼすことが推論された。

第2章 高温効果の細胞分裂ステージ依存性

第1章と同様、Chinese Springおよびコムギ×ライムギF₁で5Bを欠くものと有するものを用いて各種の温度処理を行い、対合に及ぼす高温の影響が被処理細胞の分裂ステージによって異なるか否かを検討した。

その結果、相同染色体対合、同祖染色体対合いずれについても、高温の影響は、高温が被処理細胞の特定のステージ(高温感受性ステージ)に与えられた場合にのみ確認された。このステージは、相同染色体対合、同祖染色体対合いずれについてもコルヒチン感受性ステージより遅く、前成熟分裂期のほぼ中間にあたる比較的短い範囲に位置していた。高温は、この時期に機能する対合制御機構に対して作用すると考えられる。

また、コムギ×ライムギF₁が5Bを持つ場合であっても、適当な温度処理を施した場合にはかなり高い頻度で同祖染色体対合が得られることが判った。この現象は、コムギの育種において近縁種中の遺伝質を導入する際、有用であると思われる。

第3章 3B染色体欠失の効果

Chinese Springおよび3B短腕、3B長腕を各々1本または2本欠く系統、計9系統を供試してそれらの染色体対合量を観察し、3B上に存在する対合遺伝子の作用を検討した。

その結果、3B長腕が1対欠失した場合は3B全体の欠失と同程度に対合量が減少すること、3B長腕が1本欠失してもある程度に対合量の減少が見られること、および3B短腕が1対欠失しても対合量は減少するがその程度は長腕の欠失に比べて無視しうる程低いことが明らかになった。これらの結果から、相同染色体対合に関与する3B上の対合遺伝子は長腕側に存在すると推定された。なお、高温処理の場合に認められたような、相同染色体対合量の減少に伴って同祖染色体対合が出現する現象は3B欠失の場

合には全く観察されなかった。

以上第I編における観察結果をFeldman(1966)の仮説に基づいて考察し、対合する染色体同士は、接合糸期よりも前、特に前成熟分裂期における核内で互いに接近するように配置されていること(近接配置)、高温は、高温感受性ステージに機能する近接配置制御機構を乱し、結果的に対合に影響を及ぼすこと、一方、3B(3BL)欠失は、高温とは異なり接合糸期より前の染色体近接配置には作用せず、接合糸期以降の対合過程を阻害することが推論された。

第II編 高温および3B染色体欠失の対合に及ぼす作用様式

本編では、普通系コムギの染色体対合に対する高温と3B欠失の作用様式を解明するため、第I編での推論に基づいて下記のような作業仮説を設け、この仮説の妥当性を種々の実験によって検討した。

(i) 普通系コムギの染色体対合過程は、接合糸期を境にそれより前の段階(前接合過程)と、それ以降の段階(後接合過程)とに大別することができる。前接合過程では対合する染色体が互いに近接配置をとり、後接合過程では近接配置された染色体間で接合、交叉、分離等が行われる。

(ii) 高温は、上記2段階中、前接合過程における染色体近接配置の制御機構を乱すことによって対合に影響を及ぼす。

(iii) 3BL上の対合遺伝子は、後接合過程の制御機構に関与しており、そのため3BLが欠失すると後接合過程における染色体行動に異常が生じ、対合が阻害される。

第4章 同腕染色体の腕間対合に対する作用

同腕染色体の2本の腕は、互いに動原体の部分で付着しているため、常に接近した状態にある。従って、染色体対合を阻害する要因があったとしても、それが後接合過程に作用するものでない限り、その要因は同腕染色体の腕間対合には何等影響を及ぼさないはずである。

この推論に基づき、品種Chinese SpringとChinese Springに由来するisosomic系統およびnullisomic系統を用いて同腕染色体の腕間対合に及ぼす高温および3B欠失の影響を調べ、両要因の対合に対する作用様式、特に後接合過程に対する作用を検討し

た。

実験の結果、腕間対合の量は、高温処理では影響されないが、3B欠失によって著しく減少することが判った。このことから、後接合過程に対して、高温は全く影響力を持たないが、3B欠失は強く作用すること、即ち3B上の対合遺伝子は後接合過程の制御に深く関与していることが推察された。

第5章 紡錘体に対する作用

品種Chinese SpringとChinese Springに由来するditelosomic 3BS、ditelosomic 3BL、およびditelosomic 1AS を供試して、根端分裂細胞中期における紡錘体の性状に対する3B欠失および高温処理の効果を観察し、染色体はその動原体を核膜上の特定の位置に紡錘体様物質によって付着させることにより染色体配置を制御しているというFeldman(1968)の考察に基づき、3B上の対合遺伝子および高温が、染色体対合の前接合過程における染色体の近接配置に影響を及ぼすか否かを検討した。

実験の結果、紡錘体の性状は3B(3BL)欠失には全く影響されないが、48時間以上の高温処理(30℃)によって部分的な障害を受けることが明らかになった。このことから、前接合過程の染色体近接配置に対して3B上の対合遺伝子は何ら影響を及ぼさないが、高温は紡錘体様物質に対する障害作用を介して近接配置を乱すと推察された。

以上第II編における実験結果は、いずれもこの編の冒頭に設定した高温および3B欠失の作用様式に関する作業仮説は妥当であることを示している。

即ち、高温は同腕染色体の腕間対合を全く阻害せず、従って後接合過程に対しては影響を及ぼさないことが明らかになった(第4章)。このことから高温は対合過程の残る1段階である前接合過程における染色体近接配置に対して作用すると推察された。また染色体の近接配置は動原体が紡錘体様物質により核膜上の特定の位置に付着することによって制御されると考えられる(Feldman 1968)が、高温はこの紡錘体の性状を阻害する効果を示した(第5章)。従って、この点からも高温は染色体の近接配置を乱すことが示唆された。

一方、3B染色体の欠失は、通常染色体の場合と同様、同腕染色体の腕間対合量を減少させ、このことから、3B上の対合遺伝子は後接合過程の制御に深く関与していることが明らかになった(第4章)。また、3B欠失は高温とは異なり、紡錘体の性状には何ら影響を及ぼさず、従って染色体近接配置には作用しないことが推論された(第5章)。

このように、本研究の結果は、普通系コムギの染色体対合の過程には、染色体の接合、交叉、分離等が生じる接合糸期以降の後接合過程と、接合糸期より前にあって、後接合過程で対合する染色体同士が近接配置をとるような前接合過程が存在することを強く示唆している。

また本論文第2章で示したように、高温とコルヒチンは共に染色体近接配置に影響を及ぼすが、高温が作用する時期(高温感受性ステージ)とコルヒチンが作用する時期(コルヒチン感受性ステージ)は異なっており、さらに、前接合過程中には上記高温感受性ステージとは別の第2の温度感受性ステージが存在すると推測される。従って前接合過程は性質の異なる複数の段階から成り立っており、その各々にそれぞれ別個の対合制御機構が存在すると考えられる。前接合過程の核内における染色体の配置および種々の要因によるその変動については、さらに詳細な解析が必要である。

本研究はまた、3B(3BL)上に後接合過程の制御に関与する対合遺伝子が存在することを明らかにした。しかし、この遺伝子が後接合過程の中のどの部分に関与するのかについてはまだ全く不明である。この点を解明するためには、3B欠失の後接合過程に対する効果をさらに検討するとともに、この対合遺伝子に関する突然変異体を獲得し、遺伝子レベルで解析を行うことが必要であろう。

本研究の結果を育種的观点より概観した場合、5Bを有するコムギ×ライムギF₁に対する高温処理によって高い同祖染色体対合量が得られたという結果(第2章)は注目に値する。この結果は、有用遺伝子が座乗する近縁種染色体を添加した系統または近縁種とコムギのF₁に対して適当な高温処理を行い、その後コムギを連続戻し交配することによって目的とする有用遺伝子を持つコムギを選抜育成できる可能性を示すものである。温度処理は、従来行われている転座の誘発やAe. speltoidesとの交配等の方法に比べ対合操作を比較的容易に実施できるという点で育種上有用であると考えられる。

Studies on the Variation of Chromosome Pairing in Common Wheat

Tsuneo KATO

Summary

Homoeologous chromosomes in common wheat (*Triticum aestivum* L.) normally do not associate with each other at meiosis in spite of their genetic similarity and pairing potentiality. The suppression of the pairing between homoeologues is controlled by the genetic system due mainly to Ph1 allele on 5B chromosome. Therefore, an adequate manipulation of this allele may promote the homoeologous pairing between the chromosomes of wheat and its related species, and successfully make it possible to incorporate some useful alien genes into wheat genotype through meiotic recombination.

However, no efficient method for the pairing manipulation will be established until the pairing process and its regulating mechanism are elucidated for both homologous and homoeologous chromosomes. And, for elucidating the process and the mechanism, it is indispensable to investigate the variations of chromosome pairing caused by environmental and genetic factors.

From the above point of view, the variations of chromosome pairing caused by an environmental and a genetic factors, high temperature and a gene on 3B chromosome, were analysed in the present studies. The efforts of these studies were concentrated in elucidating the pairing process of chromosomes in common wheat and creating a strategy for the utilization of pairing variation as a tool of wheat breeding. In Part I of this thesis, the effects of the two factors on chromosome pairing were studied, and in Part II their modes of action on the process of pairing were discussed.

Part I. Effects of high temperature and 3B chromosome deficiency on chromosome pairing.

In this Part, the influences of high temperature and 3B deficiency were investigated for the chromosome pairing in pollen mother cells(PMCs). The effect of high temperature on chromosome pairing was examined also for its relation with the stage on cell cycle of PMCs.

Chapter 1. Effect of high temperature.

Effects of high temperature(30 °C) treatment on homologous and homoeologous pairings were examined with the PMCs of a common wheat variety and wheat-rye F₁ hybrids with and without 5B chromosomes.

The results obtained showed that in wheat-rye F₁ hybrids the high temperature reduced the degree of homoeologous chromosome pairing in the F₁ without 5B, whereas enhanced in the F₁ with 5B, which normally showed rare homoeologous pairing due to 5B. In wheat, on the other hand, the high temperature suppressed homologous pairing but induced homoeologous pairing at a low frequency.

Chapter 2. Stage dependence of high-temperature effect.

With the same materials as used in Chapter 1, the effect of high temperature on chromosome pairing was examined for its dependence on the premeiotic or meiotic stage of the PMCs treated with various temperature conditions.

As the results, high temperature affected the pairing in both homologous and homoeologous chromosomes only when the treatment was carried out at a particular stage(high-temperature-sensitive stage). In both cases of homologous and homoeologous pairings, the position of this stage was confined within a short range almost in the middle of premeiosis and was not overlapped with the colchicine-sensitive stage.

After some temperature treatments, a high level of homoeologous pairing

was induced in wheat-rye F_1 with 5B. This result has an important meaning for wheat breeding, because it suggests that even in case of a wide cross involving 5B, useful alien genes can successfully be incorporated into wheat through the induced homoeologous pairing.

Chapter 3. Effect of 3B chromosome deficiency.

The role of the individual arm of 3B chromosome, the deficiency of which results in the suppression of homologous pairing, was examined using nine genotypes which covered all possible combinations with the deficiency of short- and/or long-arm of 3B.

The results indicated that the pairing suppression due to 3B deficiency was mostly attributed to the deficiency of its long arm. Therefore, the position of the pairing gene on 3B could be allocated to the long arm.

Neither of homoeologous pairing nor other abnormal chromosomal behaviors were observed in this experiment.

According to Feldman's hypothesis for the action of 5B chromosome on pairing (Feldman 1966), chromosomes which associate at zygotene stage are supposed to be sited closely to each other in nucleus prior to zygotene stage. The present results on high-temperature effects strongly suggested that there existed the chromosome arrangement in pre-zygotene stage as the above hypothesis indicated. It is considered that high temperature disturbs the regulating mechanism for chromosome arrangement at high-temperature-sensitive stage and eventually affects the chromosome pairing at first metaphase. Similar pairing variation was observed in the PMCs with extra dosage of 5BL and in those treated with colchicine. As to the effect of 3B(3BL), the present results did not exhibit the evidence that 3B(3BL) deficiency disordered the chromosome arrangement as high temperature.

Part II. Modes of action of high temperature and 3B chromosome deficiency.

In the first place of this part, a working hypothesis for the modes of action of high temperature and 3B chromosome deficiency was set up to explain the results obtained in Part I. This hypothesis was examined in Chapters 4 and 5, which had different stand points each other.

The hypothesis was as follows: (i) The pairing process of common wheat is composed of two sub-processes, i.e., pre-synaptic process(chromosome behaviors before zygotene) and post-synaptic process(chromosome behaviors on and after zygotene). In the former process, chromosomes which associate at zygotene stage are sited closely to each other, and in the latter process, synapsis, recombination and other events are performed between the chromosomes in close proximity. (ii) High temperature disturbs the mechanism regulating pre-synaptic process. (iii) The pairing gene on 3B-long-arm regulates post-synaptic process, so that the deficiency of this chromosome causes the irregular chromosome behaviors in this sub-process.

Chapter 4. Action on the inter-arm pairing of an isochromosome.

In an isochromosome, its two arms are jointed at their centromeres and never change their relative position. Hence, the inter-arm pairing of an isochromosome should be affected only by the condition in post-synaptic process of chromosome pairing but not by that in pre-synaptic process. Based on this presumption, high temperature and 3B deficiency were examined for their effects on the inter-arm pairing of an isochromosome(1A-long-arm).

The results clearly showed that a level of inter-arm pairing was markedly reduced by 3B deficiency but not affected by high temperature. These results strongly suggested that the pairing gene on 3B(3BL) was responsible for the regulation of post-synaptic process, while high temperature was not.

Chapter 5. Action on mitotic spindle.

Feldman(1968) presumed that in pre-synaptic process, spindle-like material was concerned in the ordered arrangement of chromosomes by attaching centromeres to the definite sites on nuclear envelope. Feldman(1968) also pointed out that the factor which disorders the chromosome arrangement would have some effects on the connection between centromere and nuclear envelope, that is, on the spindle-like material. Based on this presumption, high temperature and 3B deficiency were examined for their actions on the mitotic spindle in root-tip cells in order to elucidate their effects on the chromosome arrangement in pre-synaptic process. In this chapter, the condition of mitotic spindle was estimated from the degree of chromosome scattering on metaphase plate.

The results showed that the function of the mitotic spindle was apparently disturbed by high temperature treatment(more than 48 hour exposure) but was not affected by 3B deficiency. Thus, high temperature seemed to be concerned in the chromosome arrangement in pre-synaptic process through the action on the spindle-like material, while the pairing gene on 3B(3BL) did not.

Consequently, the experimental results obtained in these two chapters proved the validity of the working hypothesis presented at the beginning of Part II.

The present studies manifested that in common wheat, an ordered arrangement of chromosomes occurs in pre-synaptic process and plays an important role in chromosome pairing, and that the process of the above arrangement of chromosomes is regulated by multiple mechanisms which responded each to different factors, e.g., high temperature and colchicine. To clarify the details of the pre-synaptic process, however, further examinations will be needed.

The present studies demonstrated also that the pairing gene on 3B-long-arm regulates the post-synaptic process of chromosome pairing and is not re-

sponsible for the pre-synaptic process.

From the viewpoint of wheat breeding, it must be noted that even when 5B was present some temperature treatments could induce the level of homoeologous pairing sufficient enough to incorporate useful alien genes into wheat genotype. In wide-cross breeding program, the pairing manipulation may more successfully be practiced by temperature treatment than by other conventional methods.

引用文献

1. ATTIA, T. 1977. Chromosome pairing and chiasma formation at low temperature in 5D-nullisomic F₁-plants from crossings of "Chinese Spring" with three diploid Aegilops genotypes. Z. Pflanzenzuchtg. 79:89-95.
2. ATTIA, T., T. LELLEY and B. RÖBBELEN 1977. Genotypic interaction for chiasma formation at low temperature in the hybrid between Triticum aestivum 'Chinese Spring' and Aegilops speltoides deficient for chromosome 5D. Can. J. Genet. Cytol. 19:471-475.
3. AVIVI, L. and M. FELDMAN 1973a. Mechanism of non-random chromosome placement in common wheat. Proc. 4th Int. Wheat Genet. Symp.: 627-633.
4. AVIVI, L. and M. FELDMAN 1973b. The mechanism of somatic association in common wheat T. aestivum IV. Further evidence for modification of spindle tubulin through the somatic association genes as measured by vinblastine binding. Genetics 73:379-385.
5. AVIVI, L. and M. FELDMAN 1980. Arrangement of chromosomes in interphase nucleus of plants. Human Genetics 55:281-295.
6. AVIVI, L., M. FELDMAN and M. BROWN 1982a. An ordered arrangement of chromosomes in the somatic nucleus of common wheat. Triticum aestivum L. I. Spatial relationships between chromosomes of the same genome. Chromosoma 86:1-16.
7. AVIVI, L., M. FELDMAN and M. BROWN 1982b. An ordered arrangement of chromosomes in the somatic nucleus of common wheat. Triticum aestivum L. II. Spatial relationships between chromosomes of different genomes. Chromosoma 86:17-26.
8. AVIVI, L., M. FELDMAN and W. BUSHUK 1969. The mechanism of somatic association in common wheat Triticum aestivum I. Suppression of somatic association by colchicine. Genetics 62:745-752.
9. AVIVI, L., M. FELDMAN and W. BUSHUK 1970a. The mechanism of somatic association in common wheat Triticum aestivum II. Differential affinity for colchicine of spindle microtubules of plants having

- different doses of the somatic association suppressor. *Genetics* 65:585-592.
10. AVIVI, L., M. FELDMAN and W. BUSHUK 1970b. The mechanism of somatic association in common wheat Triticum aestivum III. Differential affinity for nucleotides of spindle microtubules of plants having different doses of the somatic association suppressor. *Genetics* 66:449-461.
 11. BAYLISS, M.W. and R. RILEY 1972a. An analysis of temperature-dependent asynapsis in Triticum aestivum. *Genet. Res.* 20:193-200.
 12. BAYLISS, M.W. and R. RILEY 1972b. Evidence of premeiotic control of chromosome pairing in Triticum aestivum. *Genet. Res.* 20:201-212
 13. BENNETT, M.D. and J.B. SMITH 1979. The effect of colchicine on fibrillar material in wheat meiocytes. *J. Cell Sci.* 38:33-47.
 14. BENNETT, M.D., V. CHAPMAN and R. RILEY 1971. The duration of meiosis in pollen mother cells of wheat, rye and Triticale. *Proc. R. Soc. Lond. B* 178:259-275.
 15. BENNETT, M.D., G.A. DOVER and R. RILEY 1974a. Meiotic duration in wheat genotypes with or without homoeologous chromosome pairing. *Proc. R. Soc. Lond. B* 187:191-207.
 16. BENNETT, M.D., H. STERN and M. WOODWARD 1974b. Chromatin attachment to nuclear membrane of wheat pollen mother cells. *Nature* 252:395-396.
 17. BENNETT, M.D., J.B. SMITH and R. KEMBLE 1972. The effect of temperature on meiosis and pollen development in wheat and rye. *Can. J. Genet. Cytol.* 14:615-624.
 18. BENNETT, M.D., L.A. TOLEDO and H. STERN 1979a. The effect of colchicine on meiosis in Lilium speciosum cv. "Roemede". *Chromosoma* 72:175-189.
 19. BENNETT, M.D., J.B. SMITH, S. SIMPSON and B. WELLS 1979b. Intranuclear fibrillar material in cereal pollen mother cells. *Chromosoma* 71:289-332.
 20. BENNETT, M.D., M.K. RAO, J.B. SMITH and M.W. BAYLISS 1973. Cell developments in the anther, the ovule and the young seed of Triticum aestivum L. var. Chinese Spring. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*

21. BUSS, M. and S.A.HENDERSON 1971. Induced bivalent interlocking and the course of meiotic chromosome synapsis. *Nature New Biol.* 234:243-246.
22. CALLAN, H.G. and S.M.PEARCE 1979. An experimental analysis of bivalent interlocking in spermatocytes of the newt Triturus vulgaris. *J. Cell Sci.* 37:125-141.
23. CEOLONI, C., L.AVIVI and M.FELDMAN 1984. Spindle sensitivity to colchicine of Ph1 mutant in common wheat. *Can. J. Genet. Cytol.* 26:111-118.
24. CHAPMAN, V. and T.E.MILLER 1981. The location of a gene affecting meiotic chromosome pairing at low temperature in Triticum aestivum. *Z. Pflanzenzuchtg* 86:50-55.
25. COMINGS, D.E. and T.A.OKADA 1970. Association of chromatin fibers with the annuli of the nuclear membrane. *Exp. Cell Res.* 62:293-302.
26. DARVEY, N.L. and C.J.DRISCOLL 1972. Evidence against somatic association in hexaploid wheat. *Chromosoma* 36:140-149.
27. DOVER, G.A. 1972. The organization and polarity of pollen mother cells of Triticum aestivum. *J. Cell Sci.* 11:699-711.
28. DOVER, G.A. 1973. The genetics and interactions of 'A' and 'B' chromosomes controlling meiotic chromosome pairing in the Triticinae. *Proc. 4th Int. Wheat Genet. Symp.:*653-666.
29. DOVER, G.A. and R.RILEY 1973. The effect of spindle inhibitors applied before meiosis on meiotic chromosome pairing. *J. Cell Sci.* 12:143-161.
30. DRISCOLL, C.J. 1968. Alien transfer by irradiation and meiotic control. *Proc. 3rd Int. Wheat Genet. Symp.:*196-203.
31. DRISCOLL, C.J. 1972. Genetic suppression of homoeologous pairing in hexaploid wheat. *Can. J. Genet. Cytol.* 14:39-42.
32. DRISCOLL, C.J. and N.L.DARVEY 1970. Chromosome pairing: Effect of colchicine on an isochromosome. *Science* 169: 290-291.
33. DRISCOLL, C.J., N.L.DARVEY and H.N.BARBER 1967. Effect of colchicine on meiosis of hexaploid wheat. *Nature* 216:687-688.
34. DVORAK, J. 1977. Transfer of leaf rust resistance from Aegilops

- speltoides to Triticum aestivum. Can. J. Genet. Cytol. 19:133-141.
35. DVORAK, J. and D.R.KNOTT 1973. A study of somatic association of wheat chromosomes. Can. J. Genet. Cytol. 15:411-416.
 36. DVORAK, J. and D.R.KNOTT 1977. Homoeologous chromatin exchange in a radiation-induced gene transfer. Can. J. Genet. Cytol. 19:125-131.
 37. ELLIOTT, F.C. 1957. X-ray induced translocation of Agropyron stem rust resistance to common wheat. J. Heredity 48:77-81.
 38. FABERGE, A.C. 1942. Homologous chromosome pairing: The physical problem. J. Genet. 43:121-145.
 39. FELDMAN, M. 1966. The effect of chromosomes 5B, 5D, and 5A on chromosomal pairing in Triticum aestivum. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 55:1447-1453.
 40. FELDMAN, M. 1968. Regulation of somatic association and meiotic pairing in common wheat. Proc. 3rd Int. Wheat Genet. Symp.:169-178.
 41. FELDMAN, M. and L.AVIVI 1973. The pattern of chromosomal arrangement in nuclei of common wheat and its genetic control. Proc. 4th Int. Wheat Genet. Symp.:675-684.
 42. FELDMAN, M., T.MELLO-SAMPAYO and E.R.SEARS 1966. Somatic association in Triticum aestivum. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 56:1192-1199.
 43. FU, T.K. and E.R.SEARS 1973. The relationship between chiasmata and crossing over in Triticum aestivum. Genetics 75:231-246.
 44. GAULDEN, M.E. and J.G.CARLSON 1951. Cytological effects of colchicine on the grasshopper neuroblast in vitro with special reference to the origin of the spindle. Exp. Cell Res. 2:416-433.
 45. GRELL, R.F. 1973. Recombination and DNA replication in the Drosophila melanogaster oocyte. Genetics 73:87-108.
 46. GUALANDI, G., C.CEOLONTI, L.AVIVI and M.FELDMAN 1984. Spindle sensitivity to IPC and griseofulvin of common wheat plants carrying different doses of the Ph1 gene. Can. J. Genet. Cytol. 26:119-127.
 47. HAYTER, A.M. and R.RILEY 1967. Duplicate genetic activities affecting meiotic chromosome pairing at low temperatures in Triticum. Nature 216:1028-1029.

48. HENDERSON, S.A. 1966. Time of chiasma formation in relation to the time of deoxyribonucleic acid synthesis. *Nature* 211:1043-1047.
49. Hotta, Y. and J. SHEPARD 1973. Biochemical aspects of colchicine action on meiotic cells. *Molec. Gen. Genet.* 122:243-260.
50. INOUE, S. 1952. Effect of temperature on the birefringence of the mitotic spindle. *Biol. Bull.* 103:316.
51. KEMPANNA, C. and R. RILEY 1962. Relationships between the genetic effects of deficiencies for chromosomes III and V on meiotic pairing in Triticum aestivum. *Nature* 195:1270-1273.
52. KITANI, Y. 1963. Orientation, arrangement and association of somatic chromosomes. *Jpn. J. Genet.* 38:244-256.
53. KNOTT, D.R. 1971. The transfer of genes for disease resistance from alien species to wheat by induced translocations. In "Mutation breeding for disease resistance" Int. Atom. Energy Agency, Vienna :67-77.
54. KUSHNIR, U. and G.M. HALLORAN 1984. Transfer of high kernel weight and high protein from wild tetraploid wheat (Triticum turgidum dicoccoidae) to bread wheat (Triticum aestivum) using homologous and homoeologous recombination. *Euphytica* 33:249-255.
55. LAWRENCE, C.W. 1961. The effect of radiation on chiasma formation in Tradescantia. *Rad. Bot.* 1:91-96.
56. LI, H.W., W.K. PAO and C.H. LI 1945. Desynapsis in the common wheat. *Amer. J. Bot.* 32:92-101.
57. MAGUIRE, M.P. 1968. Evidence of the stage of heat induced cross-over effect in maize. *Genetics* 60:353-362.
58. MCINTOSH, R.A. 1973. A catalogue of gene symbols for wheat. *Proc. 4th Int. Wheat Genet. Symp.*:893-937.
59. MELLO-SAMPAYO, T. 1971. Genetic regulation of meiotic chromosome pairing by chromosome 3D of T. aestivum. *Nature New Biol.* 230: 23-24.
60. MELLO-SAMPAYO, T. 1973. Somatic association of telocentric chromosomes carrying homologous centromeres in common wheat. *Theor. Appl. Genet.* 43:174-181.
61. MOCHIZUKI, A. 1963. An effect of accessory chromosomes on chromosome

- pairing. (Abstract in Japanese) Jpn. J. Genet. 38:194.
62. 百足幸一郎、神尾正義、細田 清 1975. 染色体工学的的手法による耐さびコムギの育種。 育種学最近の進歩 15:65-74.
 63. 村松幹夫 1980. 細胞分裂の遺伝的支配。 植物遺伝学 I 「細胞分裂と細胞遺伝」:111-168 山下孝介編 裳華房.
 64. OHTA, S. and M. TANAKA 1982. The effects of B-chromosomes of Aegilops mutica Boiss. on meiotic chromosome pairing. Rep. Plant Germ-plasm Inst., Kyoto Univ. 5.:36-52.
 65. OKAMOTO, M. 1957. Asynaptic effect of chromosome V. Wheat Inf. Serv. 5:6.
 66. PEACOCK, W. J. 1970. Replication, recombination and chiasmata in Goniaea australasiae (Orthoptera: Acrididae). Genetics 65:593-617.
 67. PLOUGH, H. H. 1917. The effect of temperature on crossing-over in Drosophila. J. Exp. Zool. 24:147-209.
 68. RAJU, N. B. and B. C. LU 1973. Genetic recombination in Coprinus. III. Influence of gamma-irradiation and temperature treatments on meiotic recombination. Mut. Res. 17:37-48.
 69. RILEY, R. 1966a. The genetic regulation of meiotic behaviour in wheat and its relatives. Proc. 2nd Int. Wheat Genet. Symp.:395-408.
 70. RILEY, R. 1966b. Genotype-environmental interaction affecting chiasma frequency in Triticum aestivum. Chromosomes Today 1:57-65.
 71. RILEY, R. 1974. Cytogenetics of chromosome pairing in wheat. Genetics 78:193-203.
 72. RILEY, R. and V. CHAPMAN 1958. Genetic control of the cytologically diploid behaviour of hexaploid wheat. Nature 182:713-715.
 73. RILEY, R. and C. N. LAW 1965. Genetic variation in chromosome pairing. Adv. Genet. 13:57-114.
 74. RILEY, R., V. CHAPMAN and R. JOHNSON 1968. The incorporation of alien disease resistance in wheat by genetic interference with regulation of meiotic chromosome synapsis. Genet. Res. 12:199-219.
 75. SANDO, J. and M. TANAKA 1982. The differential effects of B-chromosomes of Aegilops speltoides Tausch on homologous and homoeologous meiotic chromosome pairing. Rep. Plant Germ-plasm Inst., Kyoto Univ. 5:19-35.

76. SEARS, E.R. 1952. Homoeologous chromosomes in Triticum aestivum. Genetics 37:824.
77. SEARS, E.R. 1954. The aneuploids of common wheat. Mo. Agric. Exp. Stn. Res. Bull. 572, 58pp.
78. SEARS, E.R. 1956. The transfer of leaf-rust resistance from Aegilops umbellulata to wheat. Brookhaven Symposia in Biology 9:1-22.
79. SEARS, E.R. 1966. Nullisomic-tetrasomic combinations in hexaploid wheat. In "Chromosome Manipulations and Plant Genetics" (ed. R. RILEY and K.R. LEWIS):29-45, Oliver and Boyd, Edinburgh and London.
80. SEARS, E.R. 1972. Agropyron-wheat transfer through induced homoeologous pairing. Can. J. Genet. Cytol. 14:736
81. SEARS, E.R. 1976. Genetic control of chromosome pairing in wheat. Ann. Rev. Genet. 10:31-51.
82. SEARS, E.R. and M. OKAMOTO 1956. Genetic and structural relationships of non-homologous chromosomes in wheat. Proc. Int. Genet. Symp. (Cytologia suppl. vol.):332-335.
83. SEARS, E.R. and M. OKAMOTO 1958. Intergenomic chromosome relationships in hexaploid wheat. Proc. 10th Int. Congr. Genet. 2:258-259.
84. SHEPARD, J., E.R. BOOTHROYD and H. STERN 1974. The effect of colchicine on synapsis and chiasma formation in microsporocytes of Lilium. Chromosoma 44:423-437.
85. SINGH, R.J., G. RÖBBELEN and M. OKAMOTO 1976. Somatic association at interphase studied by Giemsa banding technique. Chromosoma 56: 265-273.
86. THOMAS, J.B. and P. J. KALTSIKES 1977. The effect of colchicine on chromosome pairing. Can. J. Genet. Cytol. 19:231-249.
87. VARDI, A. and G.A. DOVER 1972. The effects of B chromosomes on meiotic and premeiotic spindles and chromosome pairing in Triticum/Aegilops hybrids. Chromosoma 38:367-385.
88. VIEGAS, W.S. 1979. Genes in diploid Triticinae compensating for the low temperature regulating gene Ltp in chromosome 5D of Triticum aestivum. Theor. Appl. Genet. 55:205-208.
89. WANG, R.C., G.H. LIANG and E.G. HEYNE 1979. Effectiveness of ph gene in inducing homoeologous chromosome pairing in Agrotriticum. Theor.

Appl. Genet. 51:139-142.

90. WIENHUES, A. 1963. Transfer of rust resistance of Agropyron to wheat by addition, substitution and translocation. Proc 2nd Int. Wheat Genet. Symp.:328-341.
91. WILSON, J.Y. 1959. Chiasma frequency in relation to temperature. Genetica 29:290-303.
92. YACOBI, Y.Z., T.MELLO-SAMPAYO and M.FELDMAN 1982. Genetic induction of bivalent interlocking in common wheat. Chromosoma 87:165-175.