

Mentha rotundifolia (L.) HUD. の人為 4 倍体ならびに 人為 3 倍体に関する研究

池田長守・清水純夫*・宇渡清六

Studies on the Induced Tetraploid and Triploid Clones of
Mentha rotundifolia (L.) HUD.

Nagamori IKEDA, Sumio SHIMIZU and Seiroku UDO.

Tetraploid clones of *Mentha rotundifolia* ($2n=48$) were produced by the colchicine treatment of a diploid clone of *M. rotundifolia* ($2n=24$) by the authors. Triploid clones ($2n=36$) were also raised by the crossings of the tetraploid clone and the diploid one. These tetraploid clones and the triploid ones showed gigantic aspects and their season of flowering delayed as in the case of other polyploid plants. But the extent of these changes were not notable. Rotundifolone which is the principal component of the essential oil of *M. rotundifolia* was also increased in the tetraploid clone and the triploid clones. Pollen fertility and percentage of seed set decreased but little in the tetraploid clone. In the triploid clones, however, they decreased much, although they did not become zero as in the case of the triploid Japanese mint.

Chromosome configurations at MI of PMC's of the tetraploid *rotundifolia* and the triploid *rotundifolia* are shown in table 5, 6 and figure 3. Polyalent chromosomes appeared in a very small number, especially in the triploid clones. The sum of the trivalent chromosomes and the univalent ones which appeared at MI in one PMC of the triploid clones were always 12. This means that the rest of the chromosomes which conjugated at MI and formed 12 paired chromosomes, that is, the residual twelve which is the haploid set of chromosomes in *rotundifolia* either remains univalent or forms a few trivalent chromosomes, uniting with the above mentioned paired ones. And they cannot conjugate with each other autosindesistically. There seem to be no homologous chromosomes in the residual 12 chromosomes which are the haploid set of chromosomes in *M. rotundifolia*. From the fact above mentioned, the authors presume that *M. rotundifolia* is a monogenomic diploid species.

緒 言

Mentha rotundifolia は、南欧に普通の雑草で、西部地中海沿岸地方が原産地と考えられる。その精油は、香料として利用されることはないが、特有のテルペンケトンを含有し、筆者の一人である清水 (1956, 1957)^{4,5)} は、これを発見、*rotundifolone* と命名し、また、その化学構造が *piperitenone-1,2-epoxide* であることを確定した。

本種の体細胞染色体数は 24 で、ハッカ属倍数性系列の中で、最少の染色体数を有する種の一つである。その半数染色体組 12 は、基本染色体数と考えられるが、津田 (1954)⁷⁾ は、PMC の diakinesis 期に 4 倍染色体を観察して、基本染色体数 6 の説をとり、議論のある所である。筆者

* 信州大学農学部教授

等は、本種の3倍体および4倍体を育成し得たので、その諸性質、特に、精油成分を原種と比較し、あわせて、本種の基本染色体数の問題について考察したいと思う。本稿中、細胞学的観察と一般形質の調査とは、池田、宇渡が担当し、精油の研究は、清水が行なつた。

I. 実験材料および方法

本実験に用いた *M. rotundifolia* は、ローマ大学から送られた栄養系〔181〕と、岡山県立農業試験場倉敷分場からゆずられた栄養系〔3〕とである。人為4倍体（以後、 $4x$ と記す）は〔3〕の染色体を倍化して得た栄養系〔C₁3—1〕、また、人為3倍体（以後、 $3x$ と記す）は、〔C₁3—1〕×〔181〕から得た〔F₁104〕である。体細胞染色体および花粉母細胞染色体の観察は、池田、宇渡（1954）³⁾と同様、また、精油の分析、rotundifolone の確認は、清水（1956）⁴⁾の方法を用いた。

II. 3倍体および4倍体の育成

昭和30年（1955）4月、〔3〕の自殖種子（〔3〕）は雄性不稔であるが、たまたま、雄蕊が完全に発達する穂を見付けて、自殖したを、0.025%および0.05%のコルヒチン水溶液に、3昼夜浸し、水洗後播種して得た、肥大胚軸をもつ実生苗の中から、2個体の $4x$ を得た。 $3x$ 育成のために、昭和33年7月、 $4x$ と $2x$ の交雑を行つた。 $4x$ ♀× $2x$ ♂でも、あるいは、 $2x$ ♀× $4x$ ♂でも結実したが、後者の種子発芽率は著しく悪く、得た只1個のF₁（ $3x$ ）も、発芽後間もなく枯死した。前者から得た26のF₁（ $3x$ ）個体中、20が開花まで生育し、その低い結実率によつて、交雑の成功を確認した。たゞし、一部の個体については、 $2n=36$ を数えた。

Table 1. Process of Breeding of $4x$ -*rotundifolia* by Colchichine Treatment.

Conc. of colchichine sol. treated	Duration treated by hour	Seedlings acquired		No. of $4x$ -clones raised
		with hypertrophied hypocotyl	with nonhypertro- phied hypocotyl	
0.025%	72	16	7	2
0.05	72	5	25	0

Note: About one hundred seeds were treated, each.

Table 2. Results of Crossings between *rotundifolia* and Induced Tetraploid *rotundifolia*.

Combination of crossing	No. of flowers crossed	No. of seeds acquired by crossing	No. of seeds germinated	% of seed set	% of seed germinated
〔181〕×〔C ₁ 3—1〕	117	13	1	2.8	7.7
〔C ₁ 3—1〕×〔181〕	105	68	26	16.2	38.2

Note: 〔181〕 and 〔C₁3—1〕 are $2x$ - and $4x$ -*rotundifolia* respectively.

III. 観察結果

$4x$ は、茎が太く、葉が厚く、濃緑色で、いわゆる巨大型を示し、明らかに、原種 $2x$ と形態的に区別できる。しかし、茎高は、必ずしも高くない。 $3x$ は、 $2x$ と区別し得るような巨大性をほとんど示さない。染色体数の増加に従つて、気孔周辺細胞の大きさが増し、分布密度が減少し、

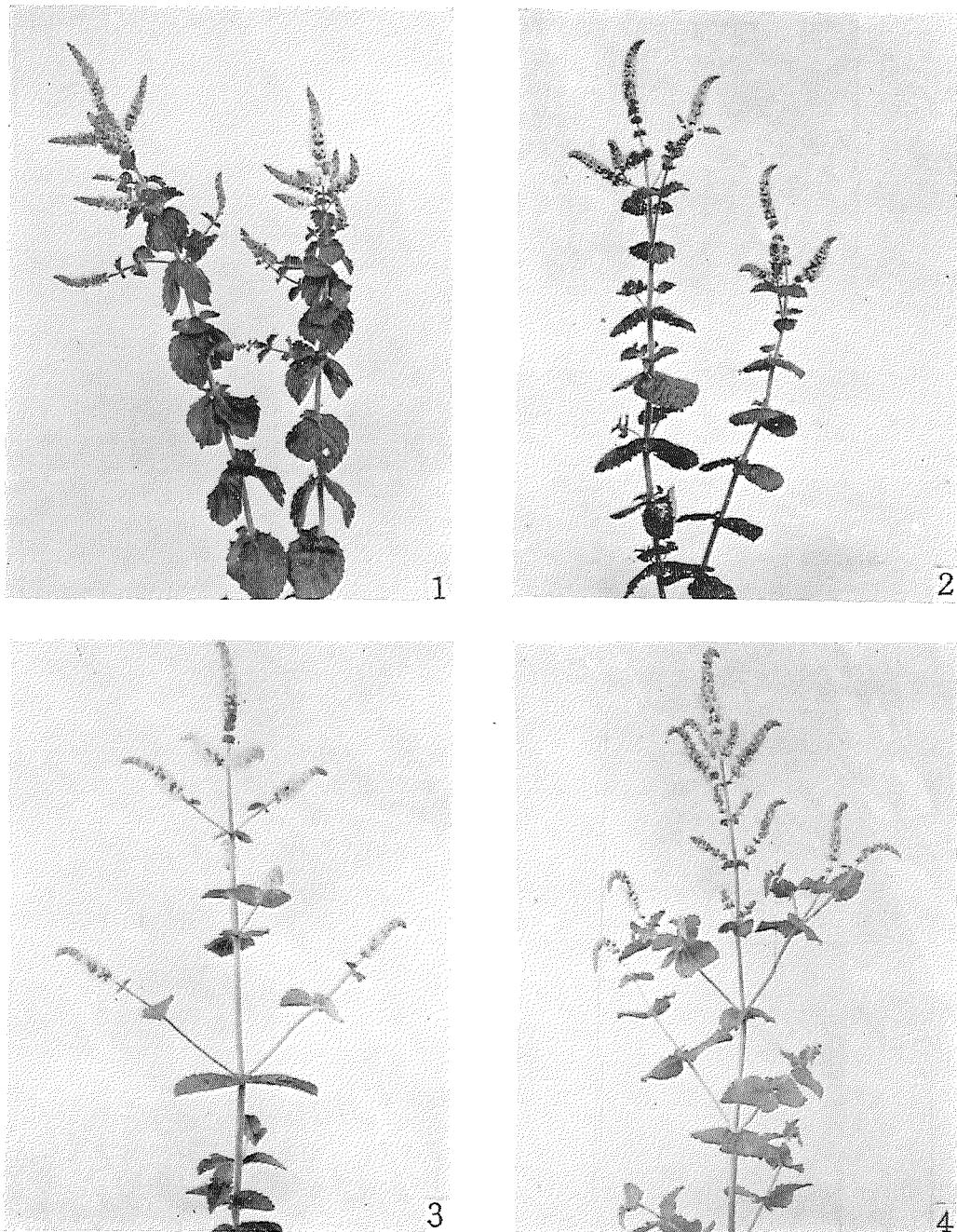
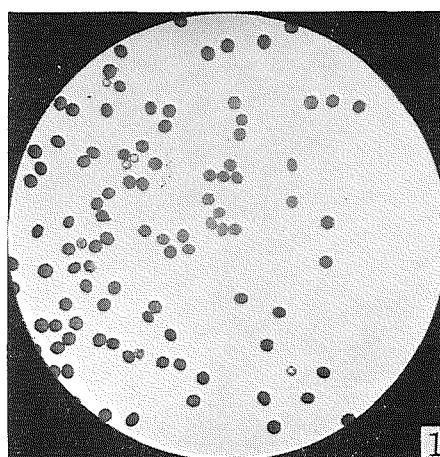
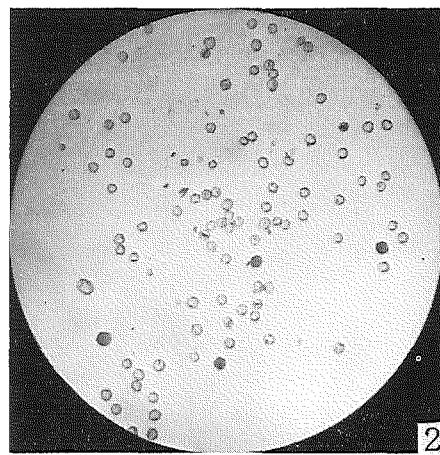
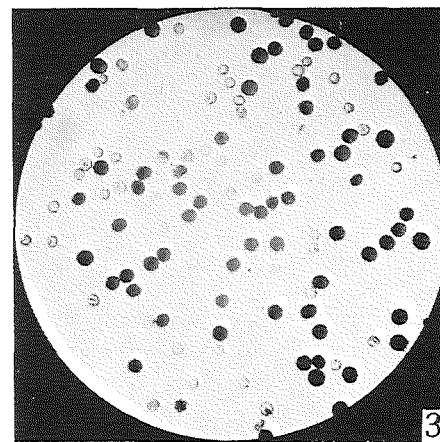


Fig. 1. *M. rotundifolia* (L.) HUP. $\times \frac{1}{4}$

- (1) Induced tetraploid [C₁3-1]
- (2) diploid [3]
- (3) Induced triploid [F₁104-4], F₁ from [C₁3-1] \times [181]
- (4) diploid [181]



(1) diploid [181]

(2) triploid [F_1 104-4](3) tetraploid [C_1 3-1]Fig. 2. Comparison of Pollen Fertility in, *M. rotundifolia*'s. $\times 60$

また、花粉の大きくなることは、他の倍数体の場合と同様である（第3表）。開花始は、 $2x$ は7月上、中旬、 $4x$ は、それより、3～4日乃至10日おくれる。

Table 3. Comparison of Organs.

Clone (polyploidy)	No. of stomata per visual field (15×40)	Length of guard cells of stomata (15×40)	Diameter of fertile pollens (15×40)
181 ($2x$)	16.1 ± 0.62	8.40 ± 0.16*	9.86 ± 0.09*
F ₁ 104-5 ($3x$)	10.9 ± 0.31	9.88 ± 0.14	10.20 ± 0.12
C ₁ 3-1 ($4x$)	9.4 ± 0.48	10.76 ± 0.14	11.75 ± 0.09

Note: * one unit = 2.9μ

[3] は雄性不稔で、雄蕊は不完全、薬の中に穂性花粉を生じない。[181] と、[3] の染色体を倍化した [C₁ 3-1] とでは、雄蕊発達し、雄性可稔である。放任受粉による結実率は、3栄養系とも大差ない。 $3x$ は、どの栄養系でも、完全雄蕊を生ずる。しかし、完全雄蕊の頻度は、栄養系によつて、いちじるしくちがう。完全薬中には、不穂花粉が満たされ、穂性花粉は 10% に達しない。結実率は、3栄養系について調べたが、2~5.6% で、結実率の低いことによつて、両親の $2x$ や $4x$ から、もつとも容易に区別できる（第4表）。

Table 4. Fertilities.

Clone (polyploidy)	% of completely developed anthers	% of abortive pollen determined by acetocarmine staining	% of seed set in open pollination
3 ($2x$)	atrophied	100.0	46.0
181 ($2x$)	96.3	13.2	51.5
C ₁ 3-1 ($4x$)	79.5	35.2	44.3
F ₁ 104-4 ($3x$)	12.5	92.6	2.0
F ₁ 104-5 ($3x$)	21.2	94.6	5.6
F ₁ 104-11 ($3x$)	89.0	95.3	4.3

[3], [181] および [3]×[181] の F₁ は、PMC の MI に 12II を示し、異常は認められなかつた。これによつて、[3], [181] は細胞学的に安定した系統であり、ゲノムも異質でないことが認定された。 $4x$ では、4 倍染色体は、diakinesis 期には、1 PMC に、5 個まで認められたが、モードは 2 個であつた。また、MI には、3 個まで認められたが、約半数の PMC で、24II を示し、4 倍の出現はなかつた（第5表）。 $3x$ では、PMC の MI に、3 倍染色体は、

Table 5. Chromosome Configurations in PMC's of Tetraploid *rotundifolia*.

Type of conj. Stage	24II	1IV+22II	2IV+20II	3IV+18II	4IV+16II	5IV+14II	Total
Late diakinesis	1	0	5	3	1	1	11
MI	20	13	3	1			37

1 PMC に 2 個まで認められたが、3 倍結合のない、12II+12I の像が、圧倒的に多かつた（第6表）。4 分胞子期には、 $2x$ の [3] と [181] とは、約 90% の正常な 4 分胞子の出現頻度を示したが、 $4x$ は可なり、また、 $3x$ はいちじるしく、不規則であつた（第7表）。

$2x$ の [3] [181], $4x$ の [C₁ 3-1] および $3x$ の [F₁ 104] の精油の物理化学的性質は、第

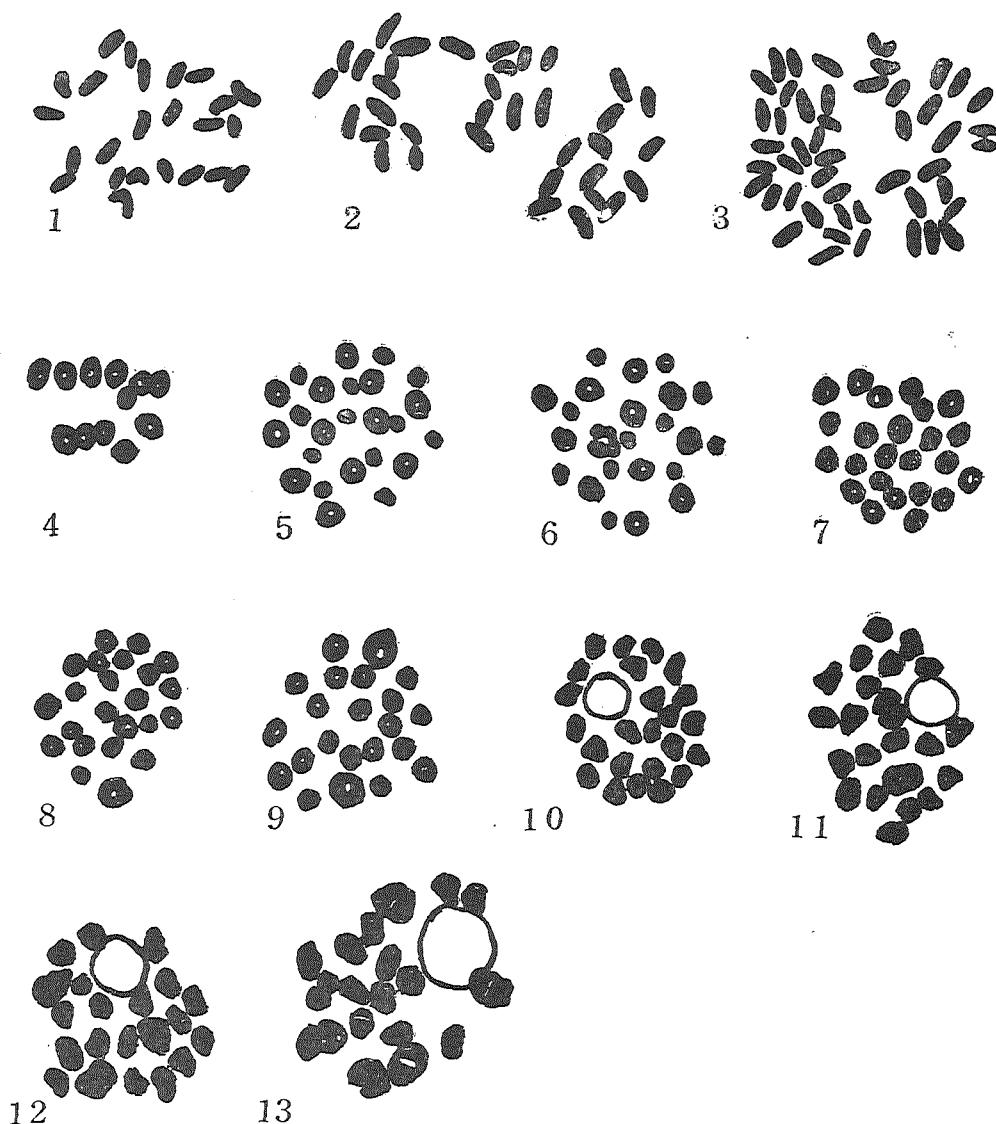


Fig. 3. Mitotic and Meiotic Nuclear Plates of Diploid, Triploid and Tetraploid of *M. rotundifolia*. $\times 2500$

Somatic Plates : (1) diploid $2n=24$, (2) triploid $2n=36$, (3) tetraploid $2n=48$
 MI of PMC's : (4) diploid 12_{II} , (5)(6) triploid $12_{II}+12_I$ and $1_{III}+11_{II}+11_I$, (7)(8)
 (9) tetraploid 24_{II} , $1_{IV}+22_{II}$ and $2_{IV}+20_{II}$
 Diakinesis of PMC's : (10)(11)(12)(13) tetraploid 24_{II} , $2_{IV}+20_{II}$, $3_{IV}+18_{II}$ and $5_{IV}+14_{II}$

8表に示す如くである。たゞし、 $3x$ では20栄養系の茎葉を、全部ひとまとめにして蒸溜した。従つて、その精油の諸数値は、 $3x$ 各栄養系の平均である。本表によると、 $2x$, $3x$, $4x$ とも、高い右旋性を示し、紫外部吸収スペクトルにおいて、 $260 m\mu$ の所に、強い吸収がある。精油の主成分が *rotundifolone* であることは、本表の諸数値によつて予想されるが、更に、*semicarbazone* (*d.p.* $180^\circ c$, $\lambda_{max} 273 m\mu$) に導びくことによつて確認した。

Table 6. Chromosome Configurations at MI of PMC's of Triploid *rotundifolia*.

Clone	Type of conj.	$12_{II}+12_I$	$1_{III}+11_{II}+11_I$	$2_{III}+10_{II}+10_I$
F ₁ 104-4		4	2	
F ₁ 104-5		24	6	1
Total		28	8	1

Table 7. Irregularity of Pollen Tetrad.

Clone	No. of spore	2	3	4	5	6	7	Total	No. of normal tetrad	% of normal tetrad
3			8	92				100	92	92.0
181			5	61	2			68	61	89.7
G ₁ 3-1			2	46	26	1		75	46	61.5
F ₁ 104-4			2	8	32	7	1	50	8	16.0
F ₁ 104-5		2	6	18*	39	12	1	78	16	20.5

* Included abnormal spores morphologically.

Table 8. Physicochemical Properties of Essential Oils.

Clone	Specific gravity d_4^{25}	Specific rotation $[\alpha]_D$	Refractive index n_D	λ_{\max}^* (m μ)	O. D. (100 γ /10cc)	% of essential oil from fresh herb
3	1.012	+130.89	1.4997	259.0	0.420	0.15
181	1.012	+157.50	1.5000	260.0	0.478	0.12
C ₁ 3-1	1.000	+137.23	1.5020	259.5	0.446	0.19
F ₁ 104	1.015	+144.00	1.5019	260.0	0.480	0.28

Note : * Maximum absorption in the ultra violet region.

** Optical density for the solution containing 100 γ of essential oil in 10cc of methanol at 260 m μ .

IV. 考 索

M. rotundifolia の倍数体は、通常の倍数体的特徴を供えている。すなわち、一つ一つの器官は巨大化し、開花期はおくれる。しかし、倍数性によるこれら諸形質の変化は、必ずしも顕著ではなく、倍数体の発育は、案外旺盛でない。*rotundifolone* は、本種に特有のテルペンケトンで、例外的の系統^⑤を除いて、その精油中に、主成分として含まれている。染色体数の倍化によつて化学成分が増加し、あるいは減少することは、しばしば報告せられ、筆者等(1956)^②も、さきに4倍体日本ハッカの精油において、menthol 含量の増加することを報告した。この意味で、本種精油中の *rotundifolone* の消長は、興味ある問題である。紫外外部吸収スペクトルにおいて、260 m μ の吸光度(optical density)と *rotundifolone* の濃度との間に LAMBERT-BEER の法則が成立するから、精油中に存在する副成分の影響を、各系統とも同一であると仮定すると、本実験で得た、各系統の 100 γ /10cc の吸光度から、その精油の *rotundifolone* 含量を近似的に、算出することができる。すなわち、われわれの得た最純品の *rotundifolone* の分子吸光係数、 $\epsilon = 10,000$ を基準とすると、100 γ /10cc の吸光度は、0.60 であるから、

$$(\text{各系統の精油 } 100\gamma/10\text{cc の吸光度}) \div 0.60 \times 100$$

なる式から、精油中の rotundifolone 含量を算出して、第9表に示す如き結果を得た。これによると、 $4x$ [C₁ 3—1]は $2x$ 親[3]より含量が高く、また、 $3x$ [F₁ 104]は、 $2x$ 親[181]および $4x$ 親[C₁ 3—1]のいずれよりも含量が高い。たゞし、 $3x$ が $4x$ 親より、含量が高いのは、 $2x$ 親[181]が高含量であるためである。これを要するに、*M. rotundifolia*は、系統によつて、精油中の rotundifolone 含量に相違があるが、染色体数を倍化すると、それぞれの系統において、rotundifolone 増加の傾向がある。

Table 9. Rotundifolone Content.

Clone (Polyploidy)	%*
3 (2x)	70.0
181 (2x)	79.7
C ₁ 3—1 (4x)	74.3
F ₁ 104 (3x)	80.0

Note : * Calculated as $\frac{\text{O. D. in table 8}}{0.60} \times 100$; here 0.60 is the value of optical density at 260m μ for the solution containing 100 γ of pure rotundifolone in 10cc. of methanol.

稔性は、 $4x$ では原種と殆んど変らない。特に、原種[3]の雄性不稔が、その4倍体で全く見られないことは、注目に値する。 $3x$ のPMCの減数分列の際に、12に近い1価染色体が現われ、染色体の分配は不規則と考えられるにかゝわらず、5～7%の稔性花粉（醋酸カーミンに染まる）を生じ、また、放任で2～6%の結実率を示すことは、日本ハッカの3倍体と異なる点で、雌性配偶子、雄性配偶子ともに、若干の稔性のあることは面白い。 $3x$ のPMCのMIに現われる3価染色体と1価染色体との和は、常に12であつた。これは、MIに対をなす12の染色体以外の染色体、すなわち、*M. rotundifolia*のハプロイド組である12個の余分染色体は、1価のまゝ残るか、あるいは、上記対合染色体に加わつて、1～2個の3価染色体を作るためであつて、それら同志の間で同質接合する能力がないことを示す。従つて、*M. rotundifolia*のハプロイド染色体組12の中には、相同染色体はない。この事実から、筆者等は、*M. rotundifolia*は、单一ゲノムから成る基本種と考える。

V. 摘 要

人為的に、*M. rotundifolia*の3倍体と4倍体とを作つた。これらは、巨大性を示し、晩化し、通常の倍数体の特性を示したが、その程度は、著るしくなかつた。本種精油の特有成分である rotundifolone も、若干の増加を見た。花粉稔性や結実率の減少は、4倍体では僅少であつた。3倍体では著しかつたが、日本ハッカの3倍体の場合のように、零となることはなかつた。PMCのMIに、現われる多価染色体の数は、日本ハッカの場合と同様、少なかつた。3倍体 *rotundifolia*のPMCのMIに、原種のハプロイド組12の染色体が、同質接合出来ないことを観察して、本種は、单一ゲノムから成る基本種であると結論した。

文 献

- 1) 池田長守、小西猛郎 (1954) : 薄荷の育種学的研究、第3報、日本薄荷の人為倍数体。岡山大学農学部学術報告、5; 1~9。
- 2) 池田長守、宇渡清六 (1956) : 薄荷の育種学的研究、第6報、4倍体日本薄荷の実用的価値に関する

研究。岡山県立農業試験場臨時報告, 54; 51~66.

3) 池田長守, 宇渡清六 (1959) : 薄荷の育種学的研究, 第10報, 日本薄荷の人為3倍体. 育種学雑誌, 9 (1); 21~27.

4) 清水純夫 (1956) : 新テルペニケトン Rotundifolone の研究. 信州大学紀要, 6; 1~39.

5) SHIMIZU, S. (1957) : Studies on the Essential Oil of *Mentha rotundifolia*. Part II. Structure of Rotundifolone, a New Terpenic Ketone. Bull. Agr. Chem. Soc. Japan, 21 (2); 107~114.

6) SHIMIZU, S. and IKEDA, N. (1958) : The Essential Oil of *Mentha rotundifolia* of European Origin (Studies on the Essential Oil of *Mentha rotundifolia*. Part IV). Bull. Agr. Chem. Soc. Japan, 22 (3); 201.

7) 津田周弥 (1954) : 薄荷属植物の細胞学的研究. 育種学雑誌, 3 (3·4); 7~14.