



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	アジアとアフリカに起源する栽培イネ種間雑種の育種障壁克服と倍数体発生の遺伝学的機序〔論文内容及び審査の要旨〕
Author(s)	國吉, 大地
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第14377号
Issue Date	2021-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/81329
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Kuniyoshi_Daichi_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学 位 論 文 内 容 の 要 旨

博士の専攻分野の名称： 博 士（農学）

氏名 國 吉 大 地

学 位 論 文 題 名

アジアとアフリカに起源する栽培イネ種間雑種の 育種障壁克服と倍数体発生の遺伝学的機序

本論文では、アジアイネ(*Oryza sativa* L.)とアフリカイネ(*O. glaberrima* Steud.)種間の F₁ 雑種が示す雑種不稔性の克服を目指し、薬培養法による不稔性小胞子の救済と得られた薬培養由来植物体の解析、F₁ 雑種における減数分裂異常と非還元性小胞子形成の関連性の解析を行った。*sativa-glaberrima* 種間 F₁ 雑種は正常な栄養成長性を示すが、配偶体の致死性を示すため自殖種子は得られない。配偶体致死は特に雄性配偶体の小胞子で顕著であり、開花までにほぼすべての小胞子が不稔性を示す。小胞子は減数分裂後、1 核初期から 3 核期への発達途中に崩壊することが今までに分かっていた。

第二章では、日本晴(*O. sativa*)と WK21(*O. glaberrima*)間の F₁ 雑種における不稔性小胞子を救済するために薬培養を試みた。減数分裂直後の 1 核期における小胞子がまだ顕著な不稔性を呈していない点に着目し、1 核期の小胞子を含む薬を薬培養に供試することで、本来的には致死の運命にある小胞子を薬培養によって救済し、WK21/日本晴 F₁ 雑種から 19 個体の再分化植物体を得ることができた。得られたカルス及び再分化植物体は、薬培養で期待される倍加半数体とは異なったゲノム構造を保持していた。すなわち小胞子由来のカルス及び倍加半数体植物のゲノムはすべての遺伝子座をホモ接合型で持ち合わせる原則に対し、一部の個体はホモ接合型とヘテロ接合型の遺伝子座を同一個体内に保持していた。それらの個体の倍数性は主に 2 倍体か 4 倍体であり、4 倍体個体からは稔性を持つ種子が得られた。これらの結果は、*O. sativa* と *O. glaberrima* 種間の 2 倍体 F₁ 雑種が完全に不稔性であるが、4 倍体 F₁ 雑種は稔性を回復する可能性を示唆した。そこでコルヒチン処理により 4 倍体純系を作成し、2 倍体と 4 倍体それぞれについて同じ 3 組み合わせの *sativa-glaberrima* F₁ 雑種を用意して種子稔性を確認した。2 倍体 F₁ 雑種は日本晴と WK21 種間の F₁ 雑種同様に完全不稔(0.0%)であったが、4 倍体 F₁ 雑種は自殖稔性を示した(3.4-13.4%)。

第三章では、第二章の薬培養で得られたホモ接合型とヘテロ接合型のゲノム領域を併せ持っている再分化植物体(12 個体)を対象に、ゲノム全体の接合型と倍数性の関連性についての調査を行った。セントロメア領域の接合型の解析結果から、これら 12 個体は減数分裂が部分的に異常になった際に形成される非還元性小胞子に由来することが判明した。12 個体のうち 8 個体は、第一分裂が異常となった非還元性小胞子(First division restitution, FDR)に由来し、4 個体は第二分裂が異常となった非還元性小胞子(Second division restitution, SDR)に由来していた。これらの非還元性小胞子はいずれも 2 倍性であり、薬培養個体に多く見られた 4 倍体がこれらの小胞子の自然倍加によることが示唆された。*sativa-glaberrima* F₁ 雑種の減数分裂を観察した結果、FDR 型小胞子の原因となった減数分裂異常として、花粉母細胞における一価染色体の形成が確認された。SDR 型小胞子形成を誘導する可能性のある異常としては、第二分裂期における紡錘体形成異常が示唆された。一連の解析によって、種間雑種の減数分裂時の異常が、通常とは異なる小胞子の形成を誘導することを明らかにした。

第四章では、薬培養で得られた小胞子由来のカルスを用いて、これまで調べることができなかった雄性配偶体のゲノム構成をジェノタイピングにより解析した。その結果を、雌性配偶体のゲノム構成を反映した BC₁F₁ 集団のジェノタイピング結果と比較した。雄性配偶体では雌性配偶体

より平均的に高い相同組換え頻度が観察された。*sativa-glaberrima* 種間 F₁ 雑種に由来する小孢子カルスは、*sativa* アレルと *glaberrima* アレルを 1:1 の比で保持していることが期待される。しかし雄性配偶体のゲノムは、両種間の雑種不稔原因遺伝子座(HS 座)の近傍において強い分離の歪みを示していた。従って薬培養を介した両種間の自由な遺伝子交換のためには、小孢子の救済と同時に HS 座による遺伝的歪みの解消が必要となることが示唆された。

本研究では *sativa-glaberrima* F₁ 雑種の薬培養を介してカルス及び再分化植物体を作成した。F₁ 雑種に由来する植物体の中には稔性を有するものも 5 個体含まれていた。特筆することは、多くの再分化植物体が倍数体であった点である。その原因として減数分裂異常に着目し、F₁ 雑種から非還元性の小孢子が生じることを突き止めた。稔性を持つ個体のうち 4 個体は 2 倍性の小孢子に由来し、非還元性小孢子が倍数体植物の発生に寄与した可能性を示した。稔性を持つ再分化植物体はすべて 4 倍体であったことから、4 倍体 F₁ 雑種は雑種不稔性を回避して稔性を回復したことが明らかである。その背景として HS 座の効果の減衰が考えられた。以上の結果より、4 倍体雑種を用いることで *O. sativa* と *O. glaberrima* 種間の自由な遺伝子交換が行える可能性が示唆された。両種のゲノムを受け継いだ種間雑種系統として今までに、アフリカの天水陸地に栽培適性を示す NERICA 系統が作出されている。両種間の効率的な遺伝子交換を促す技術は、両種の遺伝資源を高効率に活用した品種の育成に貢献できると考えられる。