

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 温井 祥太郎  
 学位 博士 ( 農学 )  
 学位記番号 新大院博 (農) 第 136 号  
 学位授与の日付 平成 26 年 3 月 24 日  
 学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当  
 博士論文名 笑気ガス処理による染色体倍加技術の開発とユリ種間雑種の育成

論文審査委員 主査 教授・岡崎 桂一  
 副査 教授・西村 実  
 副査 准教授・中野 優  
 副査 准教授・佐野 義孝

博士論文の要旨

ユリ (*Lilium* spp.) は重要な花卉園芸作物のひとつであり、現在までに種間交雑により多くの品種が作成されている。種間雑種はその多くが不稔性となり後代の獲得ができないという問題があるが、種間雑種の染色体倍加(複 2 倍体化)によって稔性回復する方法が取られている。染色体倍加法として笑気ガス処理が開発されたが、笑気ガス処理によって不稔性種間雑種の染色体を倍加し、雄性(花粉)および雌性配偶子(種子)稔性を回復できるか処理方法等の詳細が明らかになっていない。また、シンテッポウユリ(*L. × formolongi*)とタカサゴユリを除いたユリは実生から開花までに数年を要するため、長い育種年限を必要とする問題点がある。本研究では、前記したユリ種間交雑育種に関わる問題を解決するため、1) 笑気ガス処理による不稔性種間雑種の稔性回復および雌性配偶子の染色体倍加の確立、2) 種間交雑によりシンテッポウユリの早期開花性をアジアティックハイブリッド (AH) へ移入するための新たな種間雑種の作出、を行った。

1) 笑気ガス処理による不稔性種間雑種の稔性回復および雌性配偶子の染色体倍加：組織学的観察では、‘Yelloween’の花蕾長 5mm 以下の蕾内の葯組織で盛んに分裂している始原生殖細胞が観察された。この時期に、二倍体不稔性種間雑種である‘Yelloween’および‘乙女の姿’の植物体を 48 時間、6atm の条件で笑気ガス処理することで高い割合で花粉稔性の回復が認められた。両品種の稔性回復花粉をシンテッポウユリに交雑したところ雑種後代が得られた。‘乙女の姿’とシンテッポウユリの雑種後代は交雑後 2 年で開花に至り、その形質は両親の中間形であった。また、GISH 法による観察からは、雑種の染色体構成はシンテッポウユリ染色体 24 本、オトメユリ染色体 12 本であり、染色体組み換えは見られなかった。本研究の結果、笑気ガス処理により胞原生殖細胞を倍加し種間雑種の稔性を回復することが可能であることがわかった。

笑気ガス処理による雄性配偶子の染色体倍加はこれまでに報告があるが、雌性配偶子ではまだない。そこで本研究では、‘Yelloween’ および AH の植物体を笑気ガス処理し雌性配偶子の倍加を試みた。組織学的観察の結果、花蕾長 7mm 以下の子房内の胚珠原基組織で盛んに分裂している始原生殖細胞が観察された。この時期の AH の二倍体個体を笑気ガス処

理し種子親に用い四倍体品種の花粉を交雑したところ、高い割合で四倍体の種子が得られた。次に、この結果をもとに不稔性種間雑種の雌性配偶子の稔性回復を試みるため、不稔性の‘Yelloween’の植物体を笑気ガス処理し、*L. regale*を交雑した結果、稔性回復した雌性配偶子と*L. regale*の雄性配偶子の接合による三倍体の雑種後代が得られた。また、同様な結果が、二倍体シンテッポウユリに笑気ガス処理を行い、二倍体AH品種を交雑した場合にも得られた。以上のことから、笑気ガス処理は雄性配偶子だけでなく雌性配偶子の染色体倍加にも適用可能であり、またその倍加のメカニズムは始原生殖細胞の体細胞分裂が阻害され、4倍性の胚のうが生じたことによるものであることが分かった。

2) シンテッポウユリとAHの種間交雑による新たな種間雑種の作出：種間交雑によりシンテッポウユリの早期開花性をAHへ移入するための新たな種間雑種の作出し、反復親の戻し交雑を行った。各種の交雑の結果、BC1世代で15系統の三倍体種間雑種を得られた。得られた三倍体のうち、戻し交雑において二倍体F1を種子親に用いたものは染色体の組み換えが認められたが、複二倍体を用いたものは組み換えが見られなかった。BC1のうち4系統が2013年に開花した。開花に至ったBC1にAHを戻し交雑したところ3交雑組み合わせから合計75個体のBC2が得られた。得られた個体のいくつかはAHの遺伝的背景をもちシンテッポウユリの数本の染色体をもつ異数体であり、その染色体構成と表現型を見ることで添加された染色体にどのような遺伝が座乗しているか遺伝解析が可能である。今後、これらを用い、シンテッポウユリの早期開花性遺伝子が座乗する染色体の遺伝解析を行うほか、早期開花性のAHの選抜を行う予定である。

#### 審査結果の要旨

本研究では、染色体倍加剤として笑気ガスを用い、種間雑種の染色体倍加をはかり、雑種の花粉稔性を回復させる技術を確立した。笑気ガス処理による雄性配偶子の染色体倍加はこれまでに報告があり、雌性配偶子の事例がなかったが、本研究では笑気ガス処理による雌性配偶子の倍加を試み、高い割合で雌性配偶子の染色体倍加が可能であることを明らかにした。さらに、一般的なユリは実生から開花までに数年を要するため、長い育種年限を必要とする問題点があるので、実生から早期に開花するシンテッポウユリを母本として多数の種間交雑を行い、BC2戻し交雑後代を多数育成した。これらの雑種はシンテッポウユリの染色体添加系統であり、これらを用い早期開花性遺伝子の座乗染色体を同定する材料になると思われた。

本研究で得られた結果は、ユリにおいて新しい育種技術を提供するものであった。本論文の結果の一部は、*Breeding Science* (2011)61:327-337に掲載されているほか、国内外の学会で発表されている。

以上のことから、本論文は博士（農学）の博士論文として十分な内容を持つものと判定した。