

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

新潟大学大学院自然科学研究科

氏名 温井 祥太郎

ユリ (*Lilium* spp.) は最も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って多くの品種が作成され、園芸学的分類では 10 の交雑群に分けられる。その中でもアジアティックハイブリッド (AH)、オリエンタルハイブリッド (OH)、ロンギフローラムハイブリッド (LH) は商業的に特に重要な分類群である。近年、遠縁交雑により多くの品種が作成されているが、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。稔性回復法として、植物体のコルヒチン処理による染色体倍加による複二倍体化が行われているが、この方法はコルヒチンが組織中に残留しやすい、処理から開花までに数年を要するなど様々な問題点がある。コルヒチン処理法に変わる新たな紡錘糸重合阻害剤として笑気ガスが開発されたが、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、花粉および種子稔性を回復できるか未だ試みられていない。また、シンテッポウユリ (*L. × formolongi*) とその両親種である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、2) 笑気ガス処理による雌性配偶子の染色体倍加、3) 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

笑気ガス処理法を用いて不稔性種間雑種の稔性回復と後代の獲得を試みた。二倍体不稔性種間雑種である ‘Yelloween’ および ‘乙女の姿’ に 48 時間、6atm の条件で笑気ガス処理を行った。また、処理適期を特定するためパラフィン切片法により花蕾の横断切片を作成し胞原細胞の分裂の様子を観察した。その結果、花蕾長 5mm 以下で盛んに分裂している始原生殖細胞が観察され、またこの時期に処理することで高い割合で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。

(2) 笑気ガス処理による雌性配偶子の染色体倍加

笑気ガス処理による雄性配偶子の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。そこで本研究では笑気ガス処理による雌性配偶子の倍加を試みた。まず、二倍体 AH 品種を用い、最適処理花蕾長の推定を行った。組織学的観察の結果、花蕾長 7mm 以下で盛んに分裂している始原生殖細胞が観察され、また花蕾長 4~6mm に処理した個体を種子親

に用い四倍体品種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’を笑気ガス処理し、*L. regale* を交雑した。その結果、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、稔性のある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 品種を交雑したところ、三倍体の雑種後代が得られた。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たものであることが分かった。

(3) 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を行った。まず、三倍体雑種後代を複数の交雑により得た。一つ目は、シンテッポウユリと AH の F₁ を作出し、得られた F₁ に AH を戻し交雑する方法である。二つ目は、四倍体シンテッポウユリと四倍体 AH 品種の交雑により得られた複二倍体を二倍体シンテッポウユリに交雑する方法である。三つ目は、四倍体シンテッポウユリと二倍体 AH を交雑する方法である。各交雑の結果、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、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は見られなかった。BC1 のうち 4 系統が 2013 年に開花し、その形態は市販 LA 型のものが 2 系統、市販 LA 型に比ベトランペット型に近いものが 2 系統であった。花色はそれぞれクリーム色、薄いピンク、ピンク、濃いピンク色であった。開花に至った BC1 にアジアティックハイブリッド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。異数体は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の遺伝解析が可能であり、今後、本研究で得られた BC2 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。