

氏名(国籍)	ヨンサック カジョンパデウンキッティ (タイ)		
学位の種類	博士(農学)		
学位記番号	博甲第3094号		
学位授与年月日	平成15年3月25日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	農学研究科		
学位論文題目	<i>In vitro</i> cross breeding – buckwheat ( <i>Fagopyrum esculentum</i> Moench) as an example – (試験管内交雑育種–ソバを例に–)		
主査	筑波大学教授	理学博士	長谷川 宏 司
副査	筑波大学教授	農学博士	久 島 繁
副査	筑波大学教授	農学博士	臼 井 健 二
副査	筑波大学教授	農学博士	坂 井 直 樹

### 論 文 の 内 容 の 要 旨

試験管内での生活環の短縮，世代交代促進や交雑育種概念は，トウモロコシ種子からの幼雌穂の誘導や母系半数体育成といった研究で報告され，自家受粉性のラッカセイおよびエンドウマメの試験管内世代交代が実証されている。しかし，人工授粉させなければ第2世代が発生しない他家受粉性植物を用いて，試験管内での生活環の短縮，世代交代促進，人工授粉を伴う試験管内交雑，交雑後代の増殖による系統確立の可能性を実証した報告はない。

本研究では，試験管内世代交代促進による交雑育種法の確立を目指し，他家受粉性のソバを例に，試験管内での花芽の誘導，人工授粉，後代育成，確立世代の試験管内大量増殖による系統確立の可能性を検討し，同時に，継続的に試験管内で交雑育種が可能であることを示し，試験管内交雑育種法という新たな育種法の創設の実証を試みた。

これまで試験管内で，効率的な花芽の誘導条件を検討した例は少なく，ソバ発芽体由来外植体からの花芽の誘導率の向上を目指し，系統的に誘導条件を検討し，ほぼ100%の植物体に花芽を誘導させる条件を明らかにした。特に，重要な条件は，キネチン濃度，湿度，日長条件，窒素形態であった。誘導花芽の開花と人工授粉条件を検討し，開花後1時間程度の間受粉活性が高くなることを突き止め，ポット栽培植物および試験管内植物の子房と花粉を組み合わせ人工授粉を実施し，受精胚珠から第2世代の誘導を試みた。その際，ポット植物の子房とポット植物の花粉の組み合わせは90%の受粉率であったが，ポット植物の子房と試験管内花粉，試験管内子房と試験管内花粉の組み合わせの受粉率はゼロであった。また，試験管内子房とポット花粉の組み合わせは約2%の受粉率と低かった。試験管内子房と試験管内花粉の生理活性が低いことが示唆され，生理活性の向上が今後の課題となった。また，幼花芽をつけたシュートを試験管外に出し順化後人工授粉を行ったところ，受粉率は高く，培養条件が受精生理に影響を与えていることがわかった。

試験管内受粉胚珠を培養し，非効率ではあるが，種子成熟させることなく，すなわち，生活環を短縮させて，第2世代植物を誘導させることに成功した。さらに，試験管内で品種の確立を想定し，試験管内で生じた第2世代を大量増殖し，系統確立が可能であることも明らかにした。次に第2世代植物の大量増殖試験管苗からの花芽の誘導や人工授粉による第3世代の育成が可能であることを明らかにし，継続的に試験管内で生活環の短縮を伴う世代交代や交雑育種が可能であることを示した。

幼植物からの花芽の誘導および種子成熟を伴わない受精胚珠を用いて、次世代植物を育成し、生活環の短縮および試験管内人工受粉による、試験管内世代交代促進や交雑育種が可能であり、種間交雑、属間交雑による遺伝資源の拡大が大いに期待できることを指摘した。

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、他家受粉性のソバを例に、試験管内での花芽の誘導、人工受粉、後代育成、確立世代の大量増殖による系統確立の可能性、更に、継続的な試験管内での交雑育種の可能性について検討し、試験管内世代交代促進による試験管内交雑育種法という新たな育種法の創設の可能性を検証している。

種子発芽体から花芽を誘導する条件を系統的に検討し、生活環を短縮させながら効率的に誘導する条件や人工受粉条件を明らかにして、試験管内交雑を行っている。しかし、効率的な交雑後代の育成条件は今後の課題になっている。一方、効率的ではないが、試験管内人工受粉の結果生じた受精胚珠の培養により、種子成熟を待たずに生活環の短縮条件下で第2世代植物が得られることを明らかにしている。さらに、系統確立を想定して、第2世代植物の大量増殖を行い、大量増殖クローン植物から花芽を誘導し、人工受粉によって得られた受精胚珠から種子成熟を待たずに第3世代植物を育成し、継続的な試験管内での生活環の短縮や世代交代の促進を伴う試験管内交雑育種が可能であることを示している。

人工受粉胚珠からの植物体再生率の向上や、種間交雑あるいは属間交雑によって遠縁種からの遺伝子の導入による遺伝的変異の拡大が実際に可能かどうか実証することが、今後に残された課題と考えられる。

本研究の成果は、試験管内での植物の生活環の短縮と世代交代が可能であることを示し、ソバを含む他家受粉性作物の育種だけでなく、試験管内交雑育種法という新たな育種法の確立に向けた先駆的な実証例になると考えられ、育種学の発展に寄与するものと評価できる。また、植物の生活環を任意に制御し、一生を通じた生理現象の解明に適切な実験系を提供するとともに、新たな植物の変異の拡大方法として、環境修復、回復等、環境科学分野でも貢献するものと期待される。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。