

氏名(本籍)	かとうあきお 加藤章夫(神奈川県)		
学位の種類	博士(農学)		
学位記番号	博乙第1605号		
学位授与年月日	平成12年3月24日		
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当		
審査研究科	農学研究科		
学位論文題目	トウモロコシにおける単相大孢子偽受精生移植の人為誘起による半数体育種法の実用化に関する基礎研究		
主査	筑波大学教授	農学博士	生井兵治
副査	筑波大学教授	農学博士	横尾政雄
副査	筑波大学助教授	農学博士	大澤良
副査	筑波大学教授	農学博士	臼井健二

### 論文の内容の要旨

本論文は、トウモロコシの雑種強勢を利用する一代雑種品種育種における育種年限の短縮を目的として、単相大孢子偽受精生殖現象を利用した半数体育種法の実用化のための基礎研究を取り纏めたものである。

一代雑種品種育種では、遺伝的背景の異なる2系統を7世代以上繰返し自殖して純系を作出する必要があるため、自殖系統作出年限の短縮法の開発が待たれている。そのひとつに半数体育種法があるが、トウモロコシではまだ実用化していない。しかし、次のことから、半数体種子を結実する単相大孢子偽受精生殖(極核だけが受精して胚乳を形成し、卵が未受精のまま単為発生する)の利用は、研究の展開に期待が持てる。

トウモロコシの単相大孢子偽受精生殖については、これまでに以下のことが分かっている。半数体を誘導する能力のある花粉を生産する特別な系統がいくつか存在し、これらの系統の花粉を交配すると雌穂上に種子親起元の半数体種子がわずか0.5~3%と低頻度で結実する。しかし、単相大孢子偽受精生殖法は、半数体誘導のための操作が簡単であること、半数体が種子で得られること、どの系統に対しても半数体を誘導できること、花粉の形質を改良できれば半数体誘導能力の向上が期待できるなど育種への利用上の利点がある。

トウモロコシの花粉は、三核性(1栄養核+2精細胞)である。精細胞の1つが極核と、もう1つが卵と受精するため、通常は重複受精を行い胚乳と胚を持つ種子に発達する。ところが、二核性花粉(1栄養核+1精細胞)を生産する突然変異系統が得られれば、重複受精(double fertilization)に対して単受精(single fertilization)と呼ばれるべき現象が生じ得る。そこで、二核性花粉を誘導できれば、単受精現象が高頻度に起こり、半数体を能率よく誘導できることが予想され、トウモロコシの半数体育種の実用化が期待できる。

そこで、本研究では、二核性花粉生産突然変異系統を用いたトウモロコシの半数体育種法を実用化するための基礎研究を行なった。具体的な研究成果の概要は、以下のとおりである。

まず、トウモロコシ根端染色体観察法の開発(第1章)とトウモロコシの花粉核観察法の開発(第2章)を行った。従来用いられているトウモロコシの根端染色体観察法では、染色体同士が重なってしまうため計数可能な染色体像を得ることが困難であるため、1日あたり検定できる個体数は10個体程度であった。そこで、1枚のプレパレートに200-300個の計数可能な像がある良好なプレパレートが得られる「笑気ガス-空気乾燥法」を開発し、1日あたり50個体の芽生えの染色体数の決定を可能にした。「笑気ガス-空気乾燥法」は、トウモロコシの半数

体種子のスクリーニングおよび、染色体倍加処理効果の判定に利用できるばかりでなく、トウモロコシ以外の単子葉類のイネ科作物をはじめ双子葉類の広葉作物にも有効である。

また、トウモロコシの花粉内には大量の澱粉が集積しているため、染色すると全体が濃染されてしまい花粉核の観察は著しく困難であった。そこで、花粉核を鮮明に観察できるプレパラートが安定して得られる「ヘマトキシリン染色花粉-DMSO透明化法」を開発し、1日あたり50サンプルの検定が可能となり、二核性花粉生産突然変異系統を得るためのスクリーニング実験が極めて容易となった。

ついで、薬剤処理によって二核性花粉を誘導し、その花粉に受精能力があること、および薬剤処理によって誘導される二核性花粉が単受精を行なうことを証明する研究を行なった。二核性花粉生産突然変異系統を得るためには、EMSなど変異源を処理した個体の大規模な突然変異体のスクリーニングを実施する必要があり莫大なコストと時間がかかるので、より簡便な基礎研究として「トリフルラリン処理によるトウモロコシの二核性花粉誘導法の開発」(第3章)と「二重受粉法による単受精現象の確認」(第4章)を行った。

その結果、「トリフルラリン処理によるトウモロコシの二核性花粉誘導法の開発」については、開花8-10日前の雄穂にトリフルラリン溶液をスプレーすることにより、受精能力のある二核性花粉を誘導することに成功した。トリフルラリンはコルヒチンと同様な紡錘糸形成阻害剤であるため、トリフルラリン処理によって得られる二核性花粉は1つの栄養核(n)と1つの倍加精細胞(2n)を含んでいる。

単相大孢子偽受精生殖においては、極核は受精するが卵細胞が受精せずに胚発生するために半数体が得られる。トリフルラリンで誘導される二核性花粉には精細胞が1つしかないため、極核のみ、あるいは卵のみ受精した胚嚢が生じる。卵のみ受精し極核が受精していない胚嚢は、胚乳が形成されないためこのままでは成熟種子にはなり得ない。そこで、まずトリフルラリン処理した花粉を極少量トウモロコシの絹糸に授粉する。1-4日後に同じ絹糸にマーカー遺伝子が組み込まれている花粉を追加授粉し、未受精の極核を受精させることにより、卵細胞側の単受精現象を白色胚盤紫粒として多数検出することに成功した。

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、トウモロコシにおける一代雑種品種の採種母本と父本となる純系を育成する際の育種年限を短縮するための基礎的研究である。すなわち、受粉花粉の極核だけが受精して胚乳を形成するが、卵細胞は受精しないままに胚発生を行い半数体種子が得られる単相大孢子偽受精生殖を、人為的に高頻度で誘発することを目的として単受精現象を追及した研究であり、新規性が認められる。具体的には、一連の実験により、単受精ひいては単相大孢子偽受精生殖を誘導させる可能性を有する二核性花粉を薬剤処理によって高頻度に誘発する方法を開発するとともに、これらの二核性花粉には受精能力があり高頻度に単受精を行なうことを明らかにした。また、本研究で開発した花粉核観察法と笑気ガス-空気乾燥法による幼植物根端細胞の染色体観察法は、二核性花粉生産突然変異系統のスクリーニングおよび結実種子の染色体数の早期確認に極めて効果的である。今後、本研究の成果が、トウモロコシの一代雑種品種の採種母本と父本となる純系を短年月で作出するための半数体育種の実用化研究に大きく寄与することが期待され、研究成果は高く評価できる。

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。