

学 位 論 文 題 名

Basic studies on haploid breeding by means of
the intergeneric crosses between wheat
(*Triticum aestivum*) and maize (*Zea mays*)

（コムギとトウモロコシとの属間交雑を利用した

半数体育種法に関する基礎的研究）

学位論文内容の要旨

半数体の作出方法には、葯（花粉）培養、子房（胚珠）培養、遠縁交雑、半数体誘発遺伝子の利用、PEP処理等があり、すでにイネやタバコなどでは実際の育種に応用されている。

コムギではこれまで葯培養及びオオムギの野生種である *Hordeum bulbosum* を花粉親として用いる遠縁交雑法（*bulbosum*法）が半数体作出のために用いられて来た。しかしながら、葯培養ではコスト高と効率の悪いこと、*bulbosum*法では不和合性遺伝子を有するコムギ品種については適用できないと言った欠点が指摘されている。近年、トウモロコシを花粉親に用いる半数体誘発方法（トウモロコシ法）が開発され、育種の実際の適用が望まれるようになった。

本研究ではコムギ×トウモロコシの属間交雑を利用して半数体を作成するに際して、適用可能な遺伝子型の拡大を計り効率の向上を計った。また、この方法によりソマクローナル変異の発生や、 F_1 より倍加半数体（二倍体）を作る過程での標識遺伝子の分離の歪みについて検討した。さらに、本法を用いて実用的な二倍体の多収系統を育成した。

トウモロコシの花粉を授粉するのみでは穎果の発育が起らず、半数体の幼胚を得ることができない。従って、予め穂内で一部の穎花を自殖さ

せ、トウモロコシと交雑した穎花については小穂ごとに培養し、さらに、幼胚を培養するという方法をとらねばならなかった。本研究では、まず、この幼胚形成までの操作を簡略化するために、種々のホルモン処理を試み、2,4-D、NAA、IAA等のオーキシン類が穎果及び幼胚の発育に効果のあることがわかった。中でも100ppmの2,4-Dを授粉直後にコムギの第一節間に注入すると安定でかつ最も効率的に穎果並びに幼胚を発育できた。なお、授粉2日後の観察では2,4-D無処理の場合でも、処理したのと同様の頻度で幼胚が形成された。従って、2,4-D処理は幼胚発育については胚発育の初期以降に効果があるとみられる。コムギの開花当日に授粉を行った場合には幼胚形成率が最も高かったが、開花日の前後2日以内であれば著しい低下は見られなかった。胚培養を始める時期は23℃の場合では授粉後10-11日目における約0.5-1.0mmの幼胚で発芽率が最も高かった。発芽した幼植物を試験管内及びポットで約2ヶ月間育成後、コルヒチン処理により染色体を倍加させて、一穂の24穎花当りから約3.2個体の倍加半数体（二倍体）を得ることができた。

世界各地のコムギ47品種を用いてトウモロコシと交雑した後に幼胚形成率を調べた結果、0.9%-35.8%までの変異が見られ、平均は15.2%であった。葯培養や*bulbosum*法では品種間に大きな差が認められるから、供試品種のすべてから幼胚が形成される本法は上記の方法より優れていた。また、原産地を異にするコムギ品種間でも差異が見られなかった。花粉親に用いるトウモロコシの方は品種・系統あるいは原産地による差異がみられた。F₁ハイブリッドは大量の花粉が得られ、幼胚の形成率も自殖系統より優れていた。

フクホコムギより得られた倍加半数体について6種類の実用形質の平均値及び系統内分散を親品種と比較した結果、ソマクローナル変異の発

生が推定された。しかし、その頻度は蒴培養や *bulbosum* 法の場合とほぼ同じであり、実用上あまり問題とならないと評価された。

コムギ品種間の F_1 より作った倍加半数体について、8種類の標識遺伝子に関する分離比を調査したところ、ふ毛以外はすべて期待比によく適合した。

実用品種より 30-40% 程度多収となったコムギの F_1 個体を用いて本法により 320 の二倍体純系を作出して農業形質を評価した。子実収量、出穂日及び稈長は F_1 と同程度かまたはそれより優れている 4 系統を選抜できた。

以上の如く、トウモロコシ法によると (1) 授粉、2,4-D 処理、胚培養、染色体倍加という比較的簡便な手法により遺伝子型を問わず倍加半数体を得られる、(2) 得られた倍加半数体におけるソマクローナル変異は実用上はさして問題とならない、(3) F_1 から得られた倍加半数体において分離比からの歪みもあまり生じない、(4) 好ましい交雑組合せを有する F_1 から優れた同型接合の二倍体系統が得られた。

以上の研究成果によりコムギの半数体育種法に著しい改善が加えられ、適用可能な遺伝子型も拡大された。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 木 下 俊 郎

副 査 教 授 中 世 古 公 男

副 査 教 授 島 本 義 也

学 位 論 文 題 名

Basic studies on haploid breeding by means of the
intergeneric crosses between wheat (*Triticum aestivum*)
and maize (*Zea mays*)

(コムギとトウモロコシとの属間交雑を利用した
半数体育種法に関する基礎的研究)

半数体育種法はイネやタバコではすでに育種に利用されている。しかし、コムギではこれまで薬培養及びオオムギの野生種である *Hordeum bulbosum* を花粉親として用いる遠縁交雑 (*bulbosum* 法) により半数体を作成できたが、薬培養ではコスト高と効率の悪いこと、*bulbosum* 法では不和合性遺伝子を有するコムギ品種には適用できないというような難点があった。

本研究では近年新たに開発されたコムギ×トウモロコシの属間交雑を利用して半数体を誘発する方法 (トウモロコシ法) に改良を加えて、ホルモン処理により誘発効率を改善し、適用可能な遺伝子型の拡大を計るなど実用化への道を開いた。

本論文は英文で4章より成り、88頁で表28と図12を含む。主な内容は下記の如く要約される。

(1) 半数体作出の効率化

コムギ×トウモロコシの交雑では授粉するのみでは穎果の発育が見られず、

半数体の幼胚を得ることができない。従って、トウモロコシと交雑した穎花を小穂ごとに培養し、さらに、幼胚を胚培養するという方法をとらねばならない。本研究では、まず、この方法の簡略化と幼胚の作出効率の向上を図るため種々のホルモン処理を行って、2,4-D、NAA、IAA等のオーキシン類が穎果および幼胚の発育に効果があることを明らかにした。中でも100 ppmの2,4-Dを授粉直後にコムギの第一節間に注入すると最も効率よく穎果並びに幼胚を発育させることができた。なお、授粉後の幼胚に関する観察からは、2,4-D処理は幼胚発育についてその初期以降に効果があると考えられる。開花当日に授粉を行った場合に幼胚形成率が最も高かったが、開花当日前後の2日以内であれば著しい低下は見られなかった。胚培養を始める時期も幼胚の発芽率に大きな影響を与えており、23℃の場合では授粉10-11日目の、約0.5-1.0 mmの幼胚で発芽率が最も高かった。発芽した幼植物は試験管内およびポットで約2ヶ月間育成した後、コルヒチン処理により染色体を倍加して、一穂の24穎花当たりから約3.2個体の倍加半数体（二倍体）を得ることができた。

(2) 適用可能な遺伝子型の拡大

世界各地のコムギ47品種を用いて、トウモロコシと交雑した後の幼胚形成率を調査した結果、0.9% - 35.8%までの変異がみられ、平均15.2%であった。これまで葯培養や *bulbosum* 法では品種間に大きな差が認められたので、供試品種すべてから幼胚が形成されるトウモロコシ法が他の方法より優れていた。また、原産地を異にするコムギ品種間にも差異が見られなかった。花粉親に用いるトウモロコシについては品種・系統あるいは原産地による差異がみられ、ヘテロシスを示すF₁では大量の花粉が得られ、幼胚形成についても自殖系統より優れていた。

(3) 実用育種への適用

フクホコムギより得られた倍加半数体（二倍体）系統について6種の実用形質に関するソマクローナル変異の生起を調べたが、出現頻度は葯培養や *bulbosum*

法の場合とほぼ同程度で、実用上あまり問題とならなかった。

8種類の標識遺伝子について、品種間の F_1 より作った倍加半数体（二倍体）における分離比のゆがみを調べた結果、ふ毛の分離以外はすべて正常分離による期待比によく適合していた。

優良品種の育成のために両親より30－40％程度多収となった F_1 個体を用いて、トウモロコシ法でコムギの二倍体純系を作出して生産力検定試験を行った。系統間には広い幅の変異がみられたが、子実収量、出穂日および稈長が F_1 と同程度かまたはそれより優れる4系統を選抜できた。

以上の研究成果は従来のコムギ半数体育種法に著しい改善を加えたことにより育種学的に高く評価されており、属間交雑により半数体の作出が可能となったことで他の作物種への利用拡大が望まれている。

よって審査員一同は別に行った学力確認試験の結果と合わせて、本論文の提出者末永一博は博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格があるものと認定した。