

学 位 論 文 題 名

イネの 1 次ジーンプール内における 交雑親和性の遺伝分化

学位論文内容の要旨

交雑不親和性は、育種において古くから重要な課題とされてきたが、現在なお十分な遺伝学的情報が少ない。本研究では、交雑不親和性がイネの 1 次ジーンプール内に隠れた変異として存在することを明らかにし、その遺伝的制御機構およびジーンプール内における関与遺伝子の分布を調査した。

第 1 章では、生殖的隔離機構として働く交雑不親和性について、これまでに報告された事例の遺伝学的根拠について概観した。その上で、イネで見られた交雑不親和現象を比較した。ジャポニカ系統 T65wx に近縁野生種 *O. rufipogon* (W593) の第 6 染色体を戻し交雑によって導入すると、顕著な交雑不親和現象が見出された。準同質遺伝子系統 (W593A) を雌性親に用いると、反復親との間で一方向的な結実率の低下が認められた。この現象は特定の交配組合せにのみ観察され、T65wx を雌性親として W593A の花粉を交配すると高い結実率 (73.5%) を示すにもかかわらず、W593A (雌性親) が T65wx 花粉で受粉されると結実率の低下 (12.1%) を示した。この現象は優性遺伝子 *Cif* (*Cross-incompatibility in the female*) によって支配されており、F1 雑種種子の退化を引き起こす。この交雑不親和現象は戻し交雑の世代が進むにつれて顕著になってきたため、後期世代では T65wx を雌親にして戻し交雑を行なった。したがって、細胞質はどちらの系統も T65wx 由来であることから、細胞質と核遺伝子間の相互作用による一方向的交雑不親和生起の可能性は除外できた。

第 2 章では、交雑不親和現象の起源と 1 次ジーンプール内におけるその分布を調査した。W593 と T65wx 間の戻し交雑過程において、交雑不親和性はより後代で顕著になった。このことは野生イネ系統に抑制遺伝子 (群) が含まれることを示唆した。W593 と T65wx の F1 個体を T65wx 花粉で受粉すると、高い交雑成功率が得られた (71.4%)。この結果は W593 が *Cif* に対する優性の抑制遺伝子 (群) を保持することを意味する。F2 世代を用いた遺伝解析は、抑制遺伝子の数が少数であることを示唆した。本実験の結果は、交雑障壁の変異が関与遺伝子の組合せによって生じられたことを示した。このような抑制遺伝子は、近縁分類群内に隠れた変異として交雑障壁に関与する遺伝子を維持し、組換えによる遺伝子の再組合せは、交雑親和性の変化を引き起こして生殖的隔離障壁を生じる可能性を潜在的に有しているものと考えられる。

W593A に対する交雑親和反応に関して、*O. sativa* 系統内において分化が認められるかどうかを調査するため、W593A と *O. sativa* に属する 3 品種分類群 14 系統を用いて正逆交雑を行った。その結果、ジャポニカ型およびジャワニカ型を合わせた 9 系統全てが W593A 花粉で受粉した場合

高い結実率 (41.3 – 83.3%) を示す一方、その逆交雑は低い結実率 (2.4 - 26.1%) であった。さらに、逆交雑では高い頻度で退化種子が出現し、交雑不親和が *Cif* 遺伝子の作用によって引き起こされたことを示唆した。正逆交雑における結実率の明らかな相違は、供試した 8 系統が T65wx と同様の様式で W593A と反応したことを示唆した。一方、インディカ型 5 系統は、交配方向の相違に関わらず高い結実率 (38.5 – 73.3%) を示した。

第 3 章では、F1 雑種種子の発育過程を細胞学的に観察した。不親和組合せにおいて、雄性親 (T65wx) の花粉管は受粉後直ちに雌性親 (W593A) の花柱に侵入し、受粉後 4 時間目頃には珠孔付近に達していた。2 個の精核は、卵細胞および 2 個の中央細胞とそれぞれ融合していたことから、重複受精は正常に行われたと考えられた。不親和組合せにおける胚発育は、受粉後 2 日目までは親和組合せと形態的には区別なく進行した。しかし、受粉後 4 日目には不親和組合せの胚は親和組合せの胚と比較してサイズの増加を呈し始め、受粉後 8 日目には巨大胚が形成された。一方、 $3n$ 胚乳では、不親和組合せにおいて受粉後 2 日目には発育異常が検出された。以上の結果は、不親和組合せにおける種子退化が、胚乳組織の初期発育不全に引き続く胚発育異常の結果として生じたことを示唆した。

第 4 章では、雌と雄の交雑不親和反応を支配する遺伝的制御機構について、野生イネ系統および栽培イネ系統 (インディカ型) の第 6 染色体短腕を導入した、準同質組換え自殖系統を用いて調査した。解析の結果、雌性側不親和反応は *Cif* により、一方、雄性側不親和反応は *cim* (*cross-incompatibility in the male*) により規定されることが示された。*Cif* を保持する雌性親が *cim* を保持する雄性親によって交配されると、F1 雑種種子において胚乳組織の初期発育不全が観察された。さらに、インディカ型系統の第 6 染色体セントロメア近傍には、雌性親の反応を不親和から親和へと変化させる優性抑制遺伝子 (*Suppressor-Cif*) が存在すると推測された。また、検出された遺伝子はいずれも芽胞体的発現を示したことから、この不親和現象は F1 雑種種子自身の遺伝子型によってではなく、両親個体の遺伝子型によって支配されていることが判った。この結果は parent-of-origin effects の関与を強く示唆するものであった。

第 5 章では、W593 由来の導入染色体断片を組換えによりさらに細分化して、関与する染色体領域を調査した。検定交配の結果は、雌性側および雄性側ともに導入断片上の 1 領域に交雑不親和反応の原因を帰することができないことを明らかにした。この結果は第 6 染色体上に遺伝子間相互作用が存在して、交雑不親和性に関する遺伝子ブロックを形成していることを示唆した。このことは、ジーンプール内における交雑親和性の変異が極めて複雑な相互作用系によって制御されていることを意味し、適応度の低下を伴わずに生殖的隔離障壁に関与する遺伝子の変異・固定を可能にするものと考えられる。

第 6 章では、交雑不親和遺伝子の解析を展開するための実験系統の作出を行った。W593 由来の第 6 染色体が導入された実験系統は、その断片上に感光性遺伝子を保持しているおり、自然日長下における栽培では極めて晩生であった。そのため短日装置下での栽培を必要とし、多数個体を扱うことを不可能にしていた。この形質を改良するため、早生系統 A58 (*O. sativa Japonica*) を利用して実験系統の早生化を計画した。遺伝解析の結果は、A58 遺伝背景には第 6 染色体に座乗する感光性遺伝子の作用を消去する抑制遺伝子 (群) が存在することを明らかにした。以上の結果、早生化した実験系統を育成することができた。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 佐 野 芳 雄

副 査 教 授 喜多村 啓 介

副 査 教 授 三 上 哲 夫

副 査 助 教 授 貴 島 祐 治

学 位 論 文 題 名

イネの1次ジーンプール内における 交雑親和性の遺伝分化

本論文は、図23、表35を含む123ページからなる和文で、別に3編の参考論文が添えられている。

作物の育種は、交雑により有用遺伝子のより良い組み合わせ個体を選抜することである。したがって、交雑不親和現象は、有用遺伝子の利用が可能かどうかを決定する重要な課題とされてきた。交雑不親和現象の解析には、多大の労力が必要なため、その遺伝機構についてはほとんど分かっていない。本研究では、イネとその近縁種を供試して、ジーンプール内における関与遺伝子の分布と遺伝機構を調査した。本研究では、交雑育種に利用可能な1次ジーンプール内にも隠れた変異として交雑不親和現象が存在することを明らかにした。得られた結果は以下のように要約される。

第1章では、生殖的隔離機構として働く交雑不親和性について、これまでに報告された事例の遺伝学的根拠について概観し、イネで見られる交雑不親和現象と比較した。近縁野生種 *O. rufipogon* (W593) の第6染色体を戻し交雑によってジャポニカ系統に導入すると、反復親との間で一方向的な交雑不親和現象が見出された。この現象は優性遺伝子 *Cif* (*Cross-incompatibility in the female*) によって支配されており、F1 雑種種子の退化を引き起こす。また、細胞質と核遺伝子間の相互作用によって一方向的交雑不親和性が起きる可能性は否定された。

第2章では、交雑不親和現象の起源と1次ジーンプール内におけるその分布を調査した。W593 との戻し交雑過程において、交雑不親和性はより後代で顕著になった。このことは野生イネ系統に抑制遺伝子(群)が含まれることを示唆した。このような抑制遺伝子は、近縁種内に隠れた変異として交雑障壁に関与する遺伝子を維持する。また、組換えによる遺伝子

の再組合せは、交雑親和性の変化を引き起こして生殖的隔離障壁を生じる可能性を潜在的に有しているものと考えられる。*O. sativa* 系統内における分布を調査したところ、ジャポニカ型およびジャバニカ型を合わせた 9 系統全てが不親和性を示した。一方、インディカ型 5 系統は、親和性を示した。

第 3 章では、F1 雑種種子の発育過程を細胞学的に観察した。不親和組合せにおいて、雄性親の花粉管は受粉後直ちに雌性親の花柱に侵入し、受粉後 4 時間目には珠孔付近に達していた。2 個の精核は、卵細胞および 2 個の中央細胞とそれぞれ融合していたことから、重複受精は正常に行われたと考えられた。不親和組合せにおける種子退化は、胚乳組織の初期発育不全に引き続く胚発育異常の結果として生じることを示唆した。

第 4 章では、野生イネ系統および栽培イネ系統（インディカ型）の第 6 染色体短腕を導入した準同質組換え自殖系統を用いて、雌と雄の交雑不親和反応を支配する遺伝的制御機構について調査した。解析の結果、雌性側不親和反応は *Cif* により、一方、雄性側不親和反応は *cim* (*cross-incompatibility in the male*) により規定されることが示された。さらに、インディカ型系統の第 6 染色体セントロメア近傍には、優性抑制遺伝子 (*Suppressor-Cif*) が存在すると推測された。検出された遺伝子はいずれも芽胞体的発現を示したことから、両親個体の遺伝子型によって支配されていることが判った。この結果は *parent-of-origin effects* の関与を強く示唆した。

第 5 章では、W593 由来の導入染色体断片を組換えによりさらに細分化して、関与する染色体領域を調査した。検定交配の結果は、第 6 染色体上に、遺伝子間相互作用を示して、交雑不親和性を支配する遺伝子ブロックを形成していることを示唆した。このことは、ジーンプール内における交雑親和性の変異が極めて複雑な相互作用系によって制御されていることを意味し、適応度の低下を伴わずに生殖的隔離障壁に関与する遺伝子の変異・固定を可能にする機構の 1 つと考えられる。

第 6 章では、交雑不親和遺伝子の解析を展開するためのより簡便な実験系統の作出を行った。早生系統 A58 (*O. sativa* ジャポニカ型) を利用して実験系統の早生化を計画した。遺伝解析の結果、A58 遺伝背景には第 6 染色体に座乗する感光性遺伝子の作用を消去する抑制遺伝子 (群) が存在することを明らかにし、その抑制遺伝子を利用して早生化した実験系統を育成することができた。

以上のように、本研究で示した交雑不親和現象の遺伝解析は、複雑な現象の理解へ大きく前進する成果であり、遺伝資源を利用した交雑育種法の促進に大きく貢献すると判断できる。

よって審査員一同は、松原一樹が博士 (農学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。