

氏名	やま ぎし ま すみ 山 岸 真 澄
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学位記番号	論 農 博 第 2139 号
学位授与の日付	平 成 9 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	Genetic evaluation of cell and tissue culture-derived rice plants (細胞・組織培養由来イネの遺伝学的解析)
論文調査委員	(主 査) 教 授 遠 藤 隆 教 授 大 西 近 江 教 授 池 橋 宏

### 論 文 内 容 の 要 旨

イネは重要な食用作物であり、また単子葉植物における分子遺伝学のモデル植物として重要である。イネの育種や遺伝学の発展にとって細胞・組織培養は必要不可欠な技術である。本論文は、プロトプラスト培養および懸濁培養由来イネと葯培養由来イネの特徴を遺伝学的に解析したものであり、その主な内容は以下の通りである。

#### 1. 細胞・組織培養由来のイネに発生する培養変異の分析

細胞・組織培養由来のイネには高い頻度で突然変異体が出現する。本論文では、1) 培養変異の出現頻度、2) 培養の各段階での変異の起こりやすさ、及び3) 変異した形質の後代への遺伝性について検討した。

プロトプラストを経て再分化したイネと、経ないで再分化したイネを同時に得て、体細胞突然変異の頻度を比較した。再分化個体に現れる高次倍数体の発生頻度は、プロトプラストを経て再分化したイネで高かった。自殖第1代で認められた形態的・生理的な形質の変異の頻度を調査したところ、これらの変異の発生率にはプロトプラストを経由した系統としなかった系統との間で有意な差は認められなかった。このことにより、プロトプラストの単離とその培養期間中には染色体の倍数化は起こりやすいが、その他の変異は起こりにくいことが明らかになった。また、プロトプラスト由来のイネに発生する体細胞突然変異の頻度は懸濁培養由来のイネのそれよりも高いことが分かった。

次に、プロトプラストの単離以前に起こった変異と単離後に起こった変異とを区別するために、5個のプロトプラストより62の再分化個体を得て、変異の発生様式を調査した。それぞれ同じプロトプラストに由来する5つの系統群のうち3つの系統群(6割)では、同じプロトプラストに由来する系統すべてに同じ変異が認められ、これらの変異の発生時期はプロトプラストの単離前、すなわち、初代カルスの誘導または懸濁培養の時期であると推定された。一方、同じプロトプラストに由来する複数の系統のうち1系統のみに現れた変異はプロトプラストの単離後、すなわち再分化培地上で起こった変異であると考えられた。後者の発生頻度は1割以下であった。このことより、自殖第1代で分離して現れる変異は、初代カルスの

誘導または懸濁培養の時期に起こりやすいことを示した。

次に、原品種と25の突然変異系統の交雑に由来するF<sub>2</sub>集団を用いて変異形質の遺伝分析を行った。調査した変異形質のすべてがメンデルの法則または同義遺伝子で説明できる遺伝様式を示した。一方、225個体のF<sub>2</sub>を用いて変異の発生を調査したところ、3.5%の系統がF<sub>1</sub>では認められなかった変異を新たに分離した。

## 2. RFLP マーカーを用いた薬培養由来のイネの解析

イネの薬培養由来集団を用いてRFLP マーカーの分離の歪みの有無を調査した。日本晴 (japonica) × 密陽23号 (indica) のF<sub>1</sub>を異なる2種類の方法で薬培養して、薬培養由来集団を2集団 (一段階培養法由来集団と従来法由来集団) 得た。イネの全染色体をカバーする50個のRFLP マーカーを用いて各集団におけるRFLP マーカーの分離比を調査した。薬培養由来集団において期待比の1:1から有意に異なる分離比を示した染色体領域が11箇所あった。このうち3箇所は従来法由来集団と一段階培養法由来集団のいずれかでのみ分離比が歪んでいた。このようにイネの薬培養由来集団では両親の遺伝子が均等に伝わらない染色体領域が存在し、かつその領域の一部は薬培養の方法によって異なることが分かった。

次に、両親の遺伝子が均等に伝わらない原因を調査した。薬培養由来系統を再び薬培養してこれらの系統の薬培養能力を調査し、歪むマーカーとの相関を求めたところ、第1染色体の歪む領域には薬からのカルスの誘導に関わる因子が、第10染色体の歪む領域には再分化の過程でアルビノ植物に対する緑色植物の比を高める因子が、それぞれ存在することが分かった。いずれの領域でも日本晴の対立遺伝子が正の効果を示した。このように、薬培養でのカルス誘導・緑色植物再生の能力を支配する染色体領域がイネにおいて特定された。

## 論文審査の結果の要旨

イネの細胞・組織培養はイネの育種や遺伝学的研究に必要な不可欠な技術である。培養由来イネを育種や遺伝学的研究に利用するにあたり、あらかじめこれらのイネの特徴を解析することが必要である。本論文は、プロトプラスト培養および懸濁培養由来イネと薬培養由来イネの特徴を遺伝学的に解析したものであり、評価すべき点は以下の通りである。

1. イネのプロトプラスト培養及び懸濁培養に由来する再分化個体を多数得て、これらの自殖後代に発生する培養変異を調査した。その結果、培養変異の頻度は高く、変異は特定の培養期間に起こりやすいことが明らかになった。培養のどの段階で変異が発生しやすいかについて検討した例はこれまでない。今回の結果は、培養由来イネに発生する変異を減らすためには、懸濁培養やプロトプラストの培養は極力避ける方がよいことを示している。

2. 高頻度で出現する培養変異の遺伝的特性についてはなお不明の点が多かったが、本研究は培養由来の突然変異形質は、基本的に安定に子孫に遺伝することを示した。このことは、培養変異を突然変異育種に利用するには都合がよい。

3. 薬培養由来集団をRFLP マーカーを用いて解析し、11の染色体領域で分離比に歪みが生じていることを示した。また、このうち3つの領域は薬培養の方法によって歪み方が異なることを示した。本研究

の結果は、イネの薬培養由来集団に発生する分離の歪みの程度は、 $F_2$  集団や組換え型自殖系統集団とほぼ同じであることを示した。このことから、薬培養由来集団は他の集団と同じようにマッピング等の目的に使用できることが明らかになった。

4. 第1染色体の分離の歪みを起こす領域には薬からのカサの誘導に関わる因子が、第10染色体の同様の領域には再分化の過程でアルビノ植物に対する緑色植物の比を高める因子が、それぞれ存在することを明らかにした。この結果は、薬培養での再分化の能力を支配する遺伝子の存在をより具体的な形で証明すると共に、薬培養での再分化能を支配する遺伝子の機能を具体的に分析するための手がかりを提供した。

以上のように、本論文は、各種の培養方法に由来するイネの特徴について、遺伝学的手法を用いて明らかにしたものであり、イネの育種ならびに遺伝学の分野に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成9年2月20日、論文ならびにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。