

平成22年 5月28日現在

研究種目：若手研究（スタートアップ）

研究期間：2008～2009

課題番号：20880024

研究課題名（和文） タバコの種間交雑で認められる雑種致死の遺伝学的研究

研究課題名（英文） Genetical study on hybrid lethality in interspecific crosses of tobacco

研究代表者

手塚 孝弘 (TEZUKA TAKAHIRO)

大阪府立大学・生命環境科学研究科・助教

研究者番号：20508808

研究成果の概要（和文）：雑種致死は、雑種胚あるいは雑種個体が成熟に至らず生育の途中で遺伝的に致死する現象であり、遠縁交雑による育種を行う際に大きな障害となる。本研究では、タバコの栽培種と野生種との種間交雑でみられる雑種致死の遺伝解析を行った。三系交雑を行うことで、野生種が1つの雑種致死原因遺伝子を持つことが明らかとなった。さらに、多数の野生種について栽培種との交雑で雑種致死が生じるかどうかを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：Hybrid lethality, observed in hybrid embryos and seedlings, is obstacle to introducing desirable genes into cultivars through wide crosses. In this study, genetic analysis on hybrid lethality observed in interspecific crosses between cultivated species and wild species of tobacco was conducted. We revealed that wild species has a single gene causing hybrid lethality by three-way crosses. We also revealed whether hybrid lethality is observed in crosses of many wild species with the cultivated species.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,340,000	402,000	1,742,000
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,540,000	762,000	3,302,000

研究分野：植物育種学

科研費の分科・細目：農学・育種学

キーワード：雑種致死、生殖的隔離機構、種間交雑、遠縁交雑、遺伝解析、タバコ

1. 研究開始当初の背景

(1) 雑種致死は、生殖的隔離機構の一種であり、雑種胚あるいは雑種個体が成熟に至らず生育の途中で遺伝的に致死する現象である。この現象は、遠縁交雑による育種を行う際に大きな障害となる。しかし、その発現機構については不明な点が多く、新たな雑種致死克

服法を開発するためにも発現機構を明らかにする必要がある。

(2) *Nicotiana* 属の種間交雑で認められる雑種致死に関しては、これまで遺伝学的な研究を行うことが難しかったこともあり、雑種致死の原因となる遺伝子が同定されておらず、

その遺伝子数も明らかになっていない。

(3) これまでの研究で、*Nicotiana tabacum* (タバコ栽培種) と野生種との交雑で認められる雑種致死が、*N. tabacum* の Q 染色体に座乗する遺伝子と野生種の核ゲノムに存在する遺伝子の相互作用によるものであることを明らかにしている。しかし、いずれも遺伝子数はわかっていない。

2. 研究の目的

N. tabacum を野生種と交雑すると、雑種実生に致死性が現れる。*N. tabacum* の Q 染色体上の遺伝子と相互作用することで雑種致死を引き起こす遺伝子が野生種側に存在すると考えられるが、そのような遺伝子は未だ同定されていない。本研究では、野生種が持つ雑種致死原因遺伝子の遺伝解析を行うことを目的とする。

3. 研究の方法

(1) *N. tabacum* と交雑しても雑種致死の現れない野生種 2 種を、雑種致死の現れる野生種と種間交雑し、F1 雑種を得る。通常の交配で雑種実生を得ることができない場合は、試験管内受粉および胚珠培養などの技術を適用する。

(2) 得られた野生種間の F1 雑種が真の雑種であるかどうかを調査するために、雑種性の検定を行った。雑種性の検定方法として、目視による形態的特徴の観察、染色体数の観察、random amplified polymorphic DNA (RAPD) 分析を行った。

(3) 得られた F1 雑種を *N. tabacum* と交雑し、種子を得る。得られた種子を無菌的に播種し、雑種致死が現れるかどうかを判定する。生存個体と致死個体の分離比が 1:1 であった場合は、野生種が雑種致死を引き起こす単一の遺伝子を持っていることになる。

(4) F1 雑種を自殖することで F2 集団を育成し、DNA マーカーを利用して雑種致死原因遺伝子のマッピングを行う。

4. 研究成果

(1) *N. tabacum* と交雑しても雑種致死の現れない 2 種の野生種と、雑種致死の現れる複数の野生種とを種間交雑した。その結果、いくつかの交雑組合せにおいて受粉後の子房肥大が見られず、種子を得ることができなかつた。また、種子を得ることができても、発芽しない交雑組合せも

認められた。したがって、交雑に用いた野生種はいずれも同じ節に分類されているが、生殖的隔離機構が発達していることが明らかとなった。このように野生種間の F1 雑種を得ることが難しい状況であったが、数組合せにおいて F1 雑種を得ることができた。

(2) 野生種間の F1 雑種が真の雑種であることを確認するために、雑種性の検定を行った。雑種性を形態的特徴、染色体観察、RAPD 分析により確認したところ、確かに雑種であることを確認した。

(3) 数組合せの F1 雑種を子房親として *N. tabacum* と交雑した。その結果、*N. debneyi* x *N. fragrans* の F1 雑種と *N. tabacum* との交雑種子を得ることができた。*N. debneyi* は *N. tabacum* と交雑することで雑種致死を示す種であり、*N. fragrans* は雑種致死を示さない種である。

(4) (*N. debneyi* x *N. fragrans*) x *N. tabacum* の種子を播種し、雑種実生における致死性の発現を調べた。その結果、雑種致死の現れない生存個体と雑種致死の現れる致死個体が、それぞれ 79 個体と 84 個体出現した。この分離比は、*N. debneyi* が 1 つの雑種致死原因遺伝子を持つと仮定した場合の分離比 1:1 に適合した。したがって、*N. debneyi* が 1 つの雑種致死原因遺伝子を持つことが明らかとなった。これは、*Nicotiana* 属の雑種致死について原因遺伝子数を明らかにした初の例である。そこで、*N. debneyi* x *N. fragrans* の F1 雑種を使って原因遺伝子のマッピングを行うことを目指し、F2 種子や BC1 種子を獲得するために交配を行っている。

(5) *N. debneyi* x *N. fragrans* の F1 雑種は両親の種が異なるため、今後マッピングを進めていく過程で不都合が生じる可能性が予想された。そこで、雑種致死原因遺伝子のマッピングに使用することのできる新たな材料を探索することを目的として、多数の野生種を用いて *N. tabacum* との交雑を行った。その結果、大多数の野生種は *N. tabacum* と交雑することで致死性を示したが、特定の野生種系統は致死性を示さずに生存した。さらに、この系統が属する種内には、*N. tabacum* との交雑において致死性を示す系統と示さない系統が存在することを見出した。これらの系統は同一の種に属するため、F1 雑種を作出すれば稔性があ

る可能性が高く、雑種致死原因遺伝子のマッピング材料として適していると考えられた。今後は、上記の *N. debneyi* x *N. fragrans* の F1 雑種に加え、新たに見出した同一種の系統も用いて雑種致死原因遺伝子のマッピングを進める予定である。

(6) 多数の野生種を使用して雑種致死の研究を進めた結果、野生種 *N. occidentalis* と *N. tabacum* を交雑すると、これまでに *Nicotiana* 属で観察されていた雑種致死とは異なる表現型を示すことを見出した。この交雑組合せで認められる雑種致死について遺伝解析を行った。

① *N. occidentalis* x *N. tabacum* の雑種実生を異なる温度条件下で育成した。その結果、24℃および28℃では雑種致死が現れ、34℃では雑種致死が抑制されることを明らかにした。また、34℃で抑制されていた雑種致死は、雑種実生を28℃へ移すことで発現した。

② これまでの研究で、いくつかの野生種と *N. tabacum* との交雑に現れる雑種致死の原因遺伝子は、*N. tabacum* の S ゲノムに属する Q 染色体に座乗することを明らかにしている。そこで、*N. occidentalis* x *N. tabacum* の雑種実生に現れる雑種致死も同様であるかどうかを調査した。*N. tabacum* の Q 染色体を1本欠損したモノソミック系統を用いて、*N. occidentalis* と交雑し、Q 染色体をもつ雑種実生およびQ 染色体をもたない雑種実生を作出した。当初の予想に反し、これらの雑種実生はどちらも雑種致死を発現した。

③ そこで、雑種致死に関与する *N. tabacum* のゲノムを明らかにすることを計画した。*N. tabacum* の祖先種である *N. sylvestris* と *N. tomentosiformis* を用いて *N. occidentalis* と交雑した。その結果、*N. occidentalis* x *N. sylvestris* および *N. occidentalis* x *N. tomentosiformis* の雑種実生を得ることができたが、雑種致死はどちらの雑種実生にも発現した (図1)。

④ 以上の実験から、*N. tabacum* が持つ2つのゲノムの両方に雑種致死の原因となる因子が存在することが示唆され、これまでに報告してきた *N. tabacum* の片方のゲノムのみが関与している雑種致死とは異なることが明らかになった。したがって、*Nicotiana* 属の種間交雑で認められる雑種致死の原因は、すべての交雑組合せで同じということではなく、交雑組合せによって異なると考えられた。このように、本研究では、当初の研究目的以上の成果を上げることもできた。

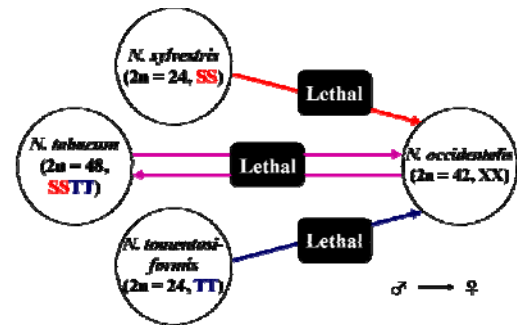


図1. *N. tabacum* およびその祖先種と *N. occidentalis* との交雑における雑種致死の発現

(7) 本研究では、研究環境が整っていなかったこと、野生種間の雑種の作出に時間がかかったことなどから、当初計画していた雑種致死原因遺伝子のマッピングを行うことはできなかった。しかし、その他の実験については計画通りに進展し、特に、遺伝解析により *N. debneyi* が1つの雑種致死原因遺伝子を持つことを示せたことは大きな進歩である。また、当初の計画にはなかった成果も上げることができた。今後研究を継続することで、雑種致死原因遺伝子のマッピングを行い、該当遺伝子を単離することも十分に見込めると考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計1件)

① Takahiro Tezuka, Tsutomu Kuboyama, Toshiaki Matsuda, Wataru Marubashi (2010) Seven of eight species in *Nicotiana* section *Suaveolentes* have common factors leading to hybrid lethality in crosses with *Nicotiana tabacum*. *Annals of Botany* (in press). 査読有

[学会発表] (計2件)

① 飯塚貴大、小田雅行、手塚孝弘、*Nicotiana tabacum* と *Suaveolentes* 節に属する21種、50系統の野生種との交雑における雑種致死の発現、日本育種学会第117回講演会、2010年3月26・27日、京都大学

② 手塚孝弘、小田雅行、丸橋亘、*Nicotiana tabacum* と *N. occidentalis* の種間雑種で認められる雑種致死に関与するゲノムの推定、日本育種学会第115回講演会、2009年3月27・28日、つくば国際会議場

6. 研究組織

(1) 研究代表者

手塚 孝弘 (TEZUKA TAKAHIRO)

大阪府立大学・生命環境科学研究科・助教

研究者番号：20508808

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：