

機関番号：17201

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20580033

研究課題名 (和文) ナスにおける細胞質雄性不稔の特性及びオルガネラの遺伝様式の解明

研究課題名 (英文) The elucidation of the characteristics of the cytoplasmic male sterility in eggplant and the inheritance pattern of the organelle

研究代表者

一色 司郎 (ISSHIKI SHIRO)

佐賀大学・農学部・教授

研究者番号：40253588

研究成果の概要 (和文) : ナス属野生種の細胞質をもつ6種類のタイプの異なるナスの細胞質雄性不稔系統 (CMS 系統) について、CMS のタイプ (花粉形成不全型および葯裂開不全型)、遺伝様式、稔性回復遺伝子の有無および数 (2 遺伝子存在する) 等の特性を明らかにした。さらに、戻し交雑後代の葉緑体 DNA の分析によって、葉緑体の両性遺伝現象および葉緑体 DNA の組換えの有無が後代の稔性に大きく影響すること等を明らかにした。

研究成果の概要 (英文) : Characteristics of six different cytoplasmic male sterile (CMS) lines of eggplant was clarified. Male sterility of three of them was pollen non-formation type and that of the other three was pollen non-release type. Inheritance pattern of the six CMS lines was clarified. Chloroplast DNA analysis revealed that recombination of chloroplast DNA affects the fertility.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2009年度	800,000	240,000	1,040,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：蔬菜園芸学

科研費の分科・細目：農学・園芸学・造園学

キーワード：ナス、細胞質雄性不稔、オルガネラ、稔性回復遺伝子、花粉形成不全型、葯裂開不全型

## 1. 研究開始当初の背景

(1) ナスにおいて、雄性不稔は、「種なし」の高品質実果生産への利用、F<sub>1</sub>採種の省力化など、生産や育種の現場に大きく貢献する有用な性質であるが、これまでに報告はあるものの、発現の不安定性などの理由でいずれも実用化に至ったものはない。雄性不稔を誘起する有力な方法として、異種の細胞質を栽培種に導入する細胞質置換がある。研究代表者はこれまで、戻し交雑核置換法によるナスの細胞質置換を行ってきた結果、*S. anguivi*、

*S. kurzii*、*S. violaceum*、*S. virginianum*、*S. aethiopicum*および*S. grandifolium*の各細胞質をもつ細胞質置換系統の育成に成功し、これらがすべて細胞質雄性不稔 (CMS : cytoplasmic male sterility) を示すことを明らかにした。

(2) 研究代表者は、戻し交雑核置換法によるナスの細胞質置換を試みていた際の連続戻し交雑の各世代の実生について、細胞質 DNA の分析を行った結果、一部の实生において、

両親の組換え型の葉緑体 DNA をもつものを見出した。このことは、交雑によって葉緑体が両性遺伝する現象の存在を示唆している。他の多くの植物と同様に、通常、ナス属植物もオルガネラは母性遺伝するので、この現象の発見は学術的にきわめて興味深いものである。

## 2. 研究の目的

(1) ナス属野生種、すなわち、*S. anguivi*、*S. kurzii*、*S. violaceum*、*S. virginianum*、*S. aethiopicum* および *S. grandifolium* の細胞質を利用して育成したナスの6種類の CMS 系統についてその特性を解明することである。

(2) 戻し交雑核置換法によるナスの細胞質置換の過程で発見した葉緑体の両性遺伝現象についてその様相を解明するとともに、その周辺の現象を明らかにすることである。

## 3. 研究の方法

### < 供試材料 >

*S. anguivi*、*S. kurzii*、*S. violaceum*、*S. virginianum*、*S. aethiopicum* および *S. grandifolium* の細胞質をもつ CMS 系統。

母系統 (CMS 系統の核ゲノム提供親であるナス母系統の品種 *S. melongena* ‘Uttara’ 及び細胞質提供親であるナス属野生種6種)。

後代 (各 CMS 系統に母系統を花粉親として戻し交雑して作出した後代または自殖後代。各年度とも後代を作出して供試)。

(1) CMS の遺伝様式、発現の程度・様相及び安定性の解析

各 CMS の特性解明のための、遺伝様式、発現の程度・様相及び安定性の解析については、セットで解析を行う。各 CMS 系統について下記の調査を行い、CMS の特性の解析を行った。

### ① 雄性不稔性

花粉稔性 (花粉のアセトカーミン染色性、ヨード溶液染色性、人工培地上での発芽率)

減数分裂 (花粉母細胞の減数分裂の各ステージの様相)

花器様相 (雄ずい、雌ずい等の様相)

### ② 種子稔性

ナスを花粉親として交配した場合の結果率、種子数および種子発芽率

## (2) CMS 系統の DNA 分析

オルガネラの両性遺伝現象の把握、ならびに、各 CMS 系統の識別のための細胞質 DNA マーカーの開発のために、各 CMS 系統、その細胞質提供親であるナス属野生種、各 CMS 系統の後代及び核ゲノム提供親であるナス母系統品種 ‘Uttara’ について葉緑体の分析を行った。

## 葉緑体 DNA の分析

PCR-RFLP 分析 (ユニバーサルプライマー使用)

## 4. 研究成果

主な研究成果について以下に示す。

(1) ナスを核親およびナス属野生種 *S. virginianum*、*S. kurzii*、*S. violaceum*、*S. anguivi*、*S. aethiopicum* および *S. grandifolium* を細胞質親として、連続戻し交雑で作出した CMS について詳細に調査した結果、CMS (*Svir*)、CMS (*Skur*) および CMS (*Svio*) は葯裂開不全型の機能的雄性不稔を示すこと、ならびに、CMS (*Sang*)、CMS (*Saet*) および CMS (*Sgra*) は花粉形成不全型の細胞質・核遺伝子雄性不稔を示すことを明らかにした。これらの3種類の葯裂開不全型の雄性不稔系統および3種類の稔性回復遺伝子をもった雄性可稔系統について稔性を詳しく調査した結果 (表 1-1, 表 1-2, 図 1-1, 図 1-2)、3種類の葯裂開不全型の機能的雄性不稔系統および3種類の稔性回復遺伝子をもった花粉形成不全型の雄性不稔系統の雄性可稔系統は稔性がナスよりも低いものの、自殖により種子ができるため、これらの系統の自殖による種子繁殖や葯培養による純系化が可能である。これらの系統の花粉稔性がナスよりも低かった直接の原因は、空虚花粉が多かったこと、花粉のデンプン蓄積量がナスより劣っていたことなどが考えられる。これらの原因として異種由来の細胞質と核との不調和ならびに異種由来の細胞質を持つこと自体のストレスが考えられる。

表 1-1. 花粉のアセトカーミンによる染色率

供試材料	開花	開花	開花
	2 日前 (%)	当日 (%)	2 日後 (%)
<i>S. melongena</i>	96.7	97.3	67.4
MS ナス ( <i>Svir</i> )	72.7	66.2	56.3
MS ナス ( <i>Skur</i> )	70.4	63.7	58.2
MS ナス ( <i>Svio</i> )	66.9	62.1	65.3
MF ナス ( <i>Sang</i> )	53.3	52.7	43.9
MF ナス ( <i>Saet</i> )	52.2	48.2	46.7
MF ナス ( <i>Sgra</i> )	52.4	47.6	44.2

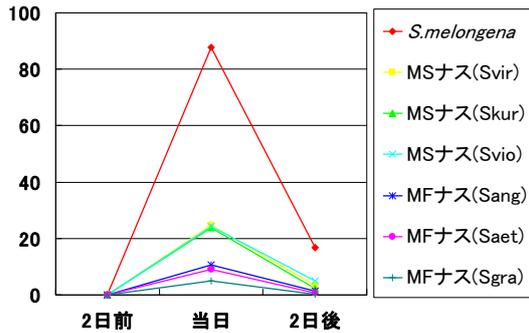


図 1-1. 花粉の人工培地上での発芽率 (%)

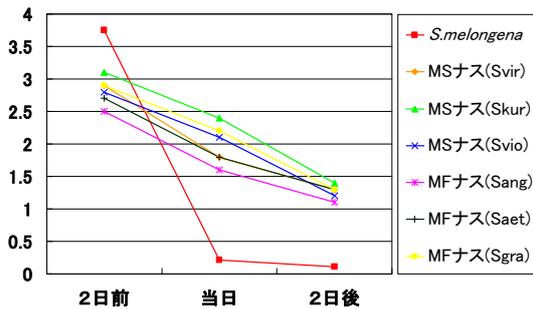


図 1-2. 花粉のルゴール液(ヨウ素溶液)による染色程度(指数 0 : 0% 1 : <25% 2 : 25-50% 3 : 50-75% 4 : >75%)

表 1-2. 自殖による結果率および種子数

試供材料	結果率 (%)	種子数/果
<i>S. melongena</i>	100	532.0
MS ナス(Svir)	52.6	355.7
MS ナス(Skur)	90.9	342.8
MS ナス(Svio)	75.0	518.4
MF ナス(Sang)	30.0	33.3
MF ナス(Saet)	42.8	105.2
MF ナス(Sgra)	40.9	94.3

(2) *S. grandifolium* の細胞質をもつ CMS 系統について稔性回復遺伝子 (*Rf*) について詳細な遺伝分析を行い、*Rf* が 2 遺伝子支配なのかどうかを探った。‘耐病 VF’ (*S. grandifolium* に×ナス未開示系統) にナス ‘DMP’ を花粉親として交雑を行い、BC<sub>1</sub> を育成し、これにナス ‘Uttara’ を花粉親として連続戻し交雑を行い、BC<sub>6</sub> までの戻し交雑実生 (BC 実生) を作出した。さらに、BC<sub>3</sub> の ms と雄性可稔 (mf) 系統間の交雑実生ならびに mf の BC<sub>3</sub> および BC<sub>4</sub> の自殖実生を作出した。これらを供試材料として、mf と ms の遺伝分離について調査した。

mf : ms の分離について、mf の BC 実生では 1:1 (1 遺伝子モデルの分離比) に加え

て 3:1 (2 遺伝子モデル (互いに独立) の分離比) に、BC<sub>3</sub> の ms×mf では 3:1 (1 遺伝子モデルの分離比) におよび mf の BC 実生の自殖実生では 3:1 (1 遺伝子モデルの分離比) に加えて 15:1 (2 遺伝子モデル (互いに独立) の分離比) にそれぞれ適合する分離が認められた。したがって、*S. grandifolium* の CMS 系統についてもその稔性回復遺伝子 *Rf* が、優性遺伝子でかつ互いに独立の 2 遺伝子が存在する (同義遺伝子) ことおよび *Rf* の 2 遺伝子座のうち一方に *Rf* が一つでもあれば mf になることが推定された。さらに、自殖実生で ms 個体が確認されたことから、これらの *Rf* の作用が胞子体的であることが示唆された。

(3) *S. virginianum* の細胞質を用いたナス細胞質置換系統で、葉緑体 DNA の組換え型のもの (A 系統) および *S. virginianum* 型のもの (B 系統) について、稔性を比較した結果 (表 3-1, 表 3-2, 表 3-3)、B 系統は、花粉稔性および種子稔性が A 系統のより極端に低いこと、また、B 系統では開葯するが、A 系統では開葯しないことがわかり、これらの性質の違いが、両者の葉緑体 DNA の違いに起因することが推定された。

表 3-1. アセトカーミンによる染色率

供試材料	花粉染色率 (%)	花粉発芽率 (%)
<i>S. virginianum</i>	97.4	94.5
<i>S. melongena</i>	97.2	86.0
F1	6.5	0
A 系統の BC1	66.7	21.7
B 系統の BC1 No. 1	29.1	0.4
B 系統の BC1 No. 2	6.8	0.04

表 3-2. 結果率および一果あたりの種子数

供試材料	交配花数	結果率 (%)	種子数/果
<i>S. melongena</i>	12	100	532
F1	106	26.4	1.8
A 系統の BC1	11	82.0	238
B 系統の BC1 個体 No. 1	31	71.0	4.5
B 系統の BC1 個体 No. 2	68	27.9	-

表 3-3. アセトカーミンによる染色率

形質	A系統	B系統
開葯の有無	なし	あり
花粉稔性	高い	低い
種子稔性	高い	低い
葉緑体 DNA 型	組換え型	<i>S. vir</i> 型
ミトコンドリア DNA 型	<i>S. vir</i> 型	<i>S. vir</i> 型

<まとめ>

以上の研究の成果によって、ナス属野生種、すなわち、*S. anguivi*、*S. kurzii*、*S. violaceum*、*S. virginianum*、*S. aethiopicum* および *S. grandifolium* の細胞質を利用して育成したナスの 6 種類の CMS 系統についてその特性を詳細に明らかにすることができた。

ナス近縁のナス属野生種は、それらがもつ病害抵抗性のみが着目され、抵抗性品種育成や台木育成の遺伝資源として利用される程度で、その細胞質を育種的に利用することを目的とした研究は、研究代表者によるもの以外はないに等しい。本研究によって、これまで着目されていなかった野生種細胞質に焦点を当て、その育種利用、すなわち、雄性不稔の開発およびその機構の解明を行えたことは意義深いと考える。

ナスにおける葉緑体の両性遺伝は研究代表者が世界で初めて見出したものであるもので、この研究はナス属植物においては他では全くなされていない独創的なものといえる。本研究で、葉緑体 DNA の違いによって稔性形質に影響を与えることを明らかにしたことは、自然界において交雑で葉緑体の両性遺伝によって稔性個体を出現させることを示しており、種分化の解明や交雑による細胞質改変という新規技術の開発、すなわち、栽培種と細胞質置換系統間、あるいは細胞質置換系統同士の交雑などによる新たな細胞質型を作出できる技術の開発に道を拓く世界的に見ても新規なインパクトの高い成果といえる。

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 4 件)

- ① Khan, M. M. R. and S. Isshiki, Development of the male sterile line of eggplant using the cytoplasm of *Solanum aethiopicum* Aculeatum Group, Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 査読有, Vol.79, 2010, 348-353
- ② Khan, M. M. R. and S. Isshiki, Development of a cytoplasmic male sterile line of eggplant (*Solanum melongena* L.) with the cytoplasm of *S. anguivi*, Plant Breeding, 査読有, Vol.130, 2010, 256-260
- ③ Khan, M. M. R. and S. Isshiki, Functional male-sterility expressed in eggplant (*Solanum melongena* L.) containing the cytoplasm of *S. kurzii* Brace & Prain, Journal of Horticultural Science & Biotechnology, 査読有, Vol.84, 2009, 92-96
- ④ Khan, M. M. R. and S. Isshiki, Development of a male sterile eggplant by utilizing the cytoplasm of *Solanum virginianum* and a biparental transmission of chloroplast DNA in backcrossing, Scientia Horticulturae, 査読有, Vol.117, 2008, 316-320

[学会発表] (計 2 件)

- ① カーン M. M. R.、一色司郎、*Solanum anguivi* の細胞質をもつナスの雄性不稔系統の稔性回復システムの特性、園芸学会、平成 22 年 3 月 22 日、日本大学生物資源科学部
- ② カーン M. M. R.、一色司郎、ヒラナスの細胞質を利用したナスの雄性不稔系統の育成、園芸学会、平成 21 年 9 月 26 日、秋田大学手形キャンパス

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況（計0件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等  
なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

一色 司郎 (ISSHIKI SHIRO)  
佐賀大学・農学部・教授  
研究者番号：40253588

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

なし