

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 1 日現在

機関番号：24403

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25870627

研究課題名(和文) タバコの致死性種間交雑における原因遺伝子および正常雑種高頻度出現現象の解明

研究課題名(英文) Research on causal genes of hybrid lethality, and on a phenomenon where viable hybrids are frequently observed in lethal interspecific crosses in *Nicotiana*

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(系)・講師

研究者番号：20508808

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：正常な植物同士の交配では、時として雑種植物が正常に生育せず、枯死してしまうことがある。このような現象は雑種致死と呼ばれ、遠縁交雑を利用した植物育種の大きな障害となっている。本研究では、タバコ属植物を用いて雑種致死の解析を行い、雑種致死原因遺伝子をマッピングした。また、*N. occidentalis* 6系統と *N. tabacum* との雑種における致死性を比較調査し、親とした系統によって異なる機構・表現型の致死性が生じることなどを明らかにした。さらに、特定の種間交雑では、致死性雑種だけではなく、正常な雑種が高頻度で出現する現象を見出し、そのメカニズムを明らかにするためにいくつかの実験を行った。

研究成果の概要(英文)：Inviability of hybrids, often referred to as hybrid lethality, is frequently observed in crosses between normal parental plants. Hybrid lethality can be an obstacle to the introduction of desirable genes into cultivated species by wide hybridization. In the present study, using F2 population, we mapped a causal gene of hybrid lethality, HLA1, in *Nicotiana*. We also revealed that lethal phenotypes and the mechanisms were different among crosses between six accessions of *N. occidentalis* and *N. tabacum*. Furthermore, we also analyzed a phenomenon where viable hybrids are frequently observed in lethal crosses.

研究分野：植物育種学、生物多様性・分類(種分化)

キーワード：雑種致死 生殖隔離 遠縁交雑育種 連鎖解析 不完全浸透 タバコ属植物

1. 研究開始当初の背景

正常な植物同士の交配では、時として雑種植物が正常に生育せず、枯死してしまうことがある。このような現象は雑種致死と呼ばれ、生殖的隔離機構の一種とされる。雑種致死は、種間交雑などの遠縁交雑を行った際にしばしば認められ、遠縁交雑を利用した植物育種の大きな障害となっている。

我々は、植物における雑種致死のメカニズムを解明することを目的として、タバコ属植物をモデルとして種々の研究を行ってきた。その研究過程で以下のようなことを明らかにしてきた。

(1) 雑種致死原因遺伝子 *HLA1*

タバコ栽培種 *Nicotiana tabacum* と *Nicotiana* 属 *Suaveolentes* 節に属するタバコ野生種 19 種との交雑では雑種実生に致死性が生じるが、*N. tabacum* と *Suaveolentes* 節に属するタバコ野生種 2 種 (*N. benthamiana*, *N. fragrans*) との交雑では雑種実生に致死性が生じないことを発見した。そこで、*N. debneyi* × *N. tabacum* の交雑に認められる雑種致死の遺伝解析を行った。すなわち、*N. debneyi* × *N. fragrans* の F₁ 雑種を作出し、これを *N. tabacum* と交雑して後代における致死性の分離を観察することで、*N. debneyi* がもつ雑種致死原因遺伝子の遺伝解析を行った。その結果、*N. debneyi* が優性の単一遺伝子をもつことを明らかにした。本遺伝子は *HLA1* と命名し、*N. debneyi* がもつ対立遺伝子を *Hla1-1*、*N. fragrans* がもつ対立遺伝子を *hla1-2* とした。*N. tabacum* との交雑で雑種致死を示す *Suaveolentes* 節の野生種は、*Hla1-1* を共有していると推察した。

しかし、これまでの研究では、*HLA1* が染色体上のどこに位置しているのか、どのような遺伝子をコードしているのかは明らかにされていなかった。

(2) *N. occidentalis* × *N. tabacum* の雑種における致死性

Suaveolentes 節に属する野生種 *N. occidentalis* (日本たばこ産業株式会社より分譲していただいた系統。以下、系統名は JT とする。) と *N. tabacum* の雑種実生に生じる致死性について、*N. tabacum* 側の原因を探索した。*N. tabacum* は S ゲノムと T ゲノムをもつ異質 4 倍体であり、S ゲノム祖先種が *N. sylvestris*、T ゲノム祖先種が *N. tomentosiformis* である。そこで、*N. tabacum* 側の原因ゲノムを明らかにするために、これらの 2 祖先種を *N. occidentalis* と交雑する実験を行った。その結果、*N. occidentalis* × *N. tabacum* の雑種における致死性には *N. tabacum* の S と T、両方のゲノムが関与していることが明らかとなった。このことは、我々が明らかにしてきた、*Suaveolentes* 節に属する種と *N. tabacum* と

の雑種に生じる致死性では、一般に *N. tabacum* 側の原因が S ゲノムのみにあることとは異なる興味深い知見であった。

一方、*N. occidentalis* には他の系統が存在する。これらの系統を *N. tabacum* と交雑すると、1 系統を用いた場合を除き、通常の交配で雑種を得ることができ、それらの雑種には致死性が生じることをすでに明らかにしている。しかし、その致死性が JT 系統を用いた交雑と同じメカニズムによるものかは明らかにされていなかった。

(3) *N. amplexicaulis* × *N. tabacum* の交雑における正常雑種高頻度出現現象

我々は、*Suaveolentes* 節に属する野生種 *N. amplexicaulis* と *N. tabacum* の交雑では、致死性を示す雑種だけではなく、致死性を示さない正常な雑種が高頻度で出現することを発見した。この現象は雑種致死の克服技術の開発に応用できる可能性があるが、なぜ正常な雑種が高頻度で出現するのかは全く不明であった。正常雑種高頻度出現現象の原因として、以下のようないくつかの可能性を考察することができた。

これまでの研究では、*N. amplexicaulis* × *N. tabacum* (ダイソミック) の交雑組合せで正常雑種が高頻度で出現することを明らかにしている。逆交雑は、*N. tabacum* の Q 染色体を 1 本欠損したモノソミック系統を母本として行い、13 個体の雑種を得た。このうち、Q 染色体を欠損した 7 個体は全て生存し、Q 染色体をもつ 8 個体は全て致死性を示した。このことから、Q 染色体に雑種致死原因遺伝子が座乗することが明らかになった。また、Q 染色体をもつ 8 個体が全て致死性を示したことは逆交雑の結果と異なっており、*N. amplexicaulis* の細胞質に正常雑種が出現する要因があることが示唆されたが、観察した個体数が少なかったため、さらに詳細な調査が必要な状態であった。

また、*N. tabacum* を用いたこれまでの交雑経験から、我々が使用している *N. tabacum* 品種は十分に遺伝的に固定されていると考えられる。したがって、*N. amplexicaulis* の雑種致死遺伝子がヘテロ接合である可能性が考えられた。さらに、*N. amplexicaulis* × *N. tabacum* の交雑では高頻度に変異が生じる可能性や、*N. amplexicaulis* が雑種致死を抑制する因子を核ゲノムに持つ可能性も考えられた。

2. 研究の目的

本研究では、以下の点を明らかにすることを目的とした。

(1) 雑種致死原因遺伝子 *HLA1* のマッピング

HLA1 を単離・同定するために、分離集団を育成してマッピングを行い、*HLA1* の染色体座乗位置を明らかにする。また、分離集団

育成用の交雑組合せを検討する。

(2) *N. occidentalis* 5 系統と *N. tabacum* の雑種における致死性の解析

我々は *N. occidentalis* の系統として、JT 以外に 5 系統を所有している。これらの系統と *N. tabacum* との交雑における致死性について、JT 系統を用いた交雑と比較する。

(3) *N. amplexicaulis* × *N. tabacum* の交雑における正常雑種高頻度出現現象の解析

正常雑種高頻度出現現象のメカニズムを明らかにするために、いくつかの可能性を検証する。

3. 研究の方法

(1) 雑種致死原因遺伝子 *HLA1* のマッピング

分離集団の検討

N. debneyi × *N. fragrans* の F₂ 集団に加えて、*N. benthamiana* と *N. excelsior* の正逆 F₁ 雑種、および *N. occidentalis* の系統間正逆 F₁ 雑種を分離集団の育成に利用できるかを検討した。これらの種間、系統間で交雑を行い、交雑親和性（結実率、種子発芽率、雑種の稔性）および雑種における染色体対合を調査した。

マッピング

マッピングには *N. debneyi* × *N. fragrans* の F₂ 集団 125 個体を用いた。F₂ 各個体の *HLA1* 遺伝子型を決定するために、125 個体を *N. tabacum* と交雑し、後代における致死性の分離を調査した。DNA マーカーとして、RAPD、SSR、AFLP を用いた。また、*N. debneyi* のべと病抵抗性に連鎖する 2 つの SCAR マーカー（SUBC180.251、Mil275）も用いた。さらに、*N. benthamiana* で公開されているドラフトシーケンス情報を利用して、病害抵抗性遺伝子をコードすると推測される塩基配列を取得し、それらを基に DNA マーカーを開発した。

(2) *N. occidentalis* 5 系統と *N. tabacum* の雑種における致死性の解析

N. occidentalis の系統解析

N. occidentalis の JT 系統を含めた全 6 系統（JT、PI 271991、PI 555541、PI 555687、PI 555689、PI 555690）について、形態的特徴の観察、フローサイトメトリー法による倍数性の調査、押しつぶし法による染色体数の調査を行った。また、rDNA の ITS 領域の塩基配列を決定し、データベース上の *Suaveolentes* 節の他の種の ITS 配列（Chase et al. 2003）も用いて系統樹を作成した。

胚珠培養による *N. occidentalis* PI 271991 × *N. tabacum* の交雑

これまでの研究で、PI 271991 × *N. tabacum* の組合せでは、通常の交配で種子を

得ることができるが、それらは全く発芽しなかった。そのため、この交雑組合せで雑種致死が生じるかは不明であった。そこで、本研究では、雑種を作出するために逆交雑を試みた。また、胚珠培養を行うことで、PI 271991 × *N. tabacum* の雑種作出を試みた。

N. occidentalis 5 系統と *N. tabacum* 祖先種との交雑

N. occidentalis の JT 系統を除く 5 系統と *N. tabacum* との雑種に生じる致死性について、*N. tabacum* 側の原因ゲノムを明らかにするために、*N. occidentalis* 5 系統を *N. tabacum* の 2 祖先種（*N. sylvestris*、*N. tomentosiformis*）と交雑した。雑種が得られた場合は、致死性の発現を調査した。致死性が生じなかった雑種については、形態観察、染色体観察、RAPD 分析により、真の雑種であるかを調査した。

N. occidentalis × *N. sylvestris* の交雑で生じる致死性の遺伝解析

以前の研究で、*N. occidentalis* JT 系統は、*N. sylvestris* との交雑で雑種致死を生じることを明らかにしていた。本研究で、PI 555541 と PI 555690 は、*N. sylvestris* との交雑で雑種致死を示さないことが明らかになった。そこで、JT 系統を PI 555541 および PI 555690 と正逆で交雑し、雑種を作出した。その雑種を *N. sylvestris* と交雑することで、後代における致死性の分離を観察する遺伝解析を行った。

(3) *N. amplexicaulis* × *N. tabacum* の交雑における正常雑種高頻度出現現象の解析

N. amplexicaulis の細胞質が関与している可能性の検証

N. tabacum × *N. amplexicaulis* の交雑方向では、通常の交配では受精しないため、試験管内受粉と胚珠培養を行った。それにより *N. tabacum* 細胞質をもつ雑種を作出し、致死性の有無を調査した。

N. amplexicaulis の雑種致死遺伝子がヘテロ接合である可能性の検証

N. tabacum を用いたこれまでの交雑経験から、我々が使用している *N. tabacum* 品種は十分に遺伝的に固定されていると考えられる。そのため、もしも雑種致死遺伝子がヘテロ接合であるとする、その可能性は *N. amplexicaulis* にあると考えられる。

確実に遺伝的に固定された *N. amplexicaulis* を交雑実験に使用するため、*N. amplexicaulis*（最初の世代を S₀ 世代とした）の自殖を重ね、S₅ 世代を作出し、*N. tabacum* と交雑した。また、薬培養により半数体を作成し、その後倍加することで固定することも検討した。

N. amplexicaulis × *N. tabacum* の交雑

で高頻度に変異が生じる可能性の検証
N. amplexicaulis (S_5) × *N. tabacum* の雑種に変異が生じているかどうかを調査するために、雑種を致死性の抑制される 34 で育成し、DNA を抽出し、AFLP 分析を行った。34 で栽培していた雑種は 28 に移し、致死性の発現を調査した。

N. amplexicaulis が雑種致死を抑制する因子を持つ可能性の検証

N. gossei ($2n = 36$) と *N. tabacum* との正逆交雑で得られた雑種は、全個体が致死性を示す (Tezuka et al. 2010)。そこで、*N. amplexicaulis* ($2n = 36$) と *N. gossei* との雑種を作成し、それを *N. tabacum* と交雑することで正常雑種高頻度出現現象の遺伝解析を試みた。

4. 研究成果

(1) 雑種致死原因遺伝子 *HLA1* のマッピング

分離集団の検討

N. benthamiana 3 系統 ($2n = 38$) と *N. excelsior* 3 系統 ($2n = 38$) を用いて、考えられる全種間交雑組合せ (18 組合せ) で交雑を行った。いずれの交雑組み合わせでも、結実率は 0 ~ 50% と低かったが、*N. benthamiana* を母本とした 7 組合せ、*N. excelsior* を母本とした 7 組合せで種子が得られた。種子の発芽率も交雑組合せによって大きく異なり、*N. benthamiana* を母本とした組合せでは発芽率が低く (0 ~ 33.3%)、2 組合せのみで雑種が得られた。一方、*N. excelsior* を母本とした組合せでは発芽率が高い傾向にあり (17.6 ~ 95.7%)、7 組合せ全てで雑種が得られた。得られた雑種実生における葉と花の形態的特徴を観察すると、いずれの個体も両親の中間型であり、確かに雑種であると考えられた。9 組合せで得られた雑種の稔性を調査するために、両親への戻し交雑を行ったが、種子を得ることは全くできなかった。また、酢酸カーミン染色により花粉稔性を調査したが、稔性は全く認められず、雑種は雌雄ともに不稔であることが明らかとなった。さらに染色体対合を調査したところ、平均して一価染色体が 3.15 個、二価染色体が 13.42 個、三価染色体が 2.62 個、四価染色体が 0.06 個観察された。

N. debneyi × *N. fragrans* では、すでに F_2 集団を得ていたが、念のため F_1 雑種の花粉稔性と染色体対合を調査した。花粉を酢酸カーミンで染色した結果、38% が染色された。また、平均して一価染色体が 0.6 個、二価染色体が 23.16 個、三価染色体が 0.36 個観察された。

N. occidentalis の系統間雑種が分離集団の育成に有用であるかどうかも検討したが、その詳細については (3) で述べる。

以上をまとめると、*N. debneyi* × *N. fragrans* の交雑および *N. occidentalis* の系

統間交雑に由来する F_2 集団が雑種致死原因遺伝子のマッピングに有用であると考えられた。

マッピング

本研究では、*HLA1* をマッピングするために、*N. debneyi* × *N. fragrans* の F_2 集団 125 個体を用いた。 F_2 個体のうち、81 個体の *HLA1* 遺伝子型を決定することができたが、残りの 44 個体は *N. tabacum* との交雑種子を得ることができなかった。81 個体は、*Hla1-1 Hla1-1* : *Hla1-1 hla1-2* : *hla1-2 hla1-2* が 21 : 45 : 15 に分離し、² 検定により、期待される 1 : 2 : 1 の分離比に適合することを確認した。

マッピングに使用する DNA マーカーを開発・選抜するために、両親間で多型が認められるかを調査した。RAPD 分析では、使用した 80 種類のランダムプライマーのうち、23 種類で多型が検出され、合計 78 本の多型バンドが検出された。AFLP 分析では、256 のプライマー組合せを供試し、242 の組合せで多型が検出された。合計 2327 本の多型バンドが検出された。SSR 分析では、66 のプライマー組合せを供試し、41 のローカスで多型が検出された。

また、これまでに他の植物で単離された雑種致死遺伝子のいくつか病害抵抗性遺伝子をコードしていたことに注目し、病害抵抗性に関連するマーカーの使用を検討した。*N. debneyi* では、べと病抵抗性に連鎖する 2 つの SCAR マーカー (SUBC180.251、Mil275) が開発されている。本研究で使用する両親間で多型が認められるかを調査した結果、Mil275 では多型が認められた。SUBC180.251 では多型が検出されなかったが、多型を検出できる CAPS マーカーに変換することができた。さらに、*N. benthamiana* で公開されているドラフトシーケンス情報を利用して、病害抵抗性遺伝子をコードすると推測される 4 つの遺伝子を同定し、それぞれの多型を検出する 1 つの STS マーカー、2 つの CAPS マーカー、1 つの dCAPS マーカーを開発した。

以上の多型を示した DNA マーカーの中から一部 (優性マーカー 200 個、共優性マーカー 8 個) を用いて、*HLA1* のマッピングを行った。その結果、*HLA1* は SSR マーカー PT30138a と CAPS マーカー C-NbRGH1 の間に位置し、それぞれと 13.3 cM、16.0 cM で連鎖することを明らかにした。今後はマッピングに使用する DNA マーカーの数をさらに増やし、多数の F_2 植物を用いることで、*HLA1* の候補領域を絞り込む予定である。

(2) *N. occidentalis* 5 系統と *N. tabacum* の雑種における致死性の解析

N. occidentalis の系統解析

N. occidentalis 6 系統の花の色と形態を観察したところ、花色はいずれの系統も同様で

あったが、花冠の大きさと花筒の長さは系統によって大きく異なっていた。JT 系統は 42 本の染色体をもつ異質四倍体であることが知られている(タバコ属植物図鑑、日本たばこ産業株式会社 1990)。フローサイトメトリー法により倍数性を調査した結果、4 系統は JT 系統と同じ倍数性であることが示唆されたが、PI 271991 はそれらの 2 倍の倍数性であることが示唆された。染色体観察の結果、PI 555687 は 32 本、PI 555689 は 40 本、PI 555541 と PI 555690 は 42 本、PI 271991 は 62 本の染色体をもつことを明らかにした。

ITS 領域の解析により系統樹を作成した。JT 系統、PI 555541、PI 555690 は同じクレードに含まれ、ここには既知の *N. occidentalis* 系統 (AJ492417; Chase *et al.* 2003) も含まれていた。これらの系統と PI 271991 や PI 555687、PI 555689 は類縁関係が遠く離れていることが明らかとなった。

胚珠培養による *N. occidentalis* PI 271991 × *N. tabacum* の交雑

N. tabacum × PI 271991 の交雑を行ったが、雑種を得ることはできなかった。次に、PI 271991 × *N. tabacum* の交雑後、1680 個の胚珠を取り出して培養したところ、わずか 1 個体ではあるが雑種を得ることができた。この雑種は致死性を示し、枯死した。これにより、*N. occidentalis* 全 6 系統と *N. tabacum* との交雑では、いずれの組合せでも雑種致死が生じることが明らかとなったが、致死性の表現型は交雑組合せによって異なることが示された。JT、PI 555541、PI 555690 の 3 系統と *N. tabacum* との交雑では、同じ表現型の致死性が現れ、他の 3 系統 (PI 271991、PI 555687、PI 555689) を用いた場合の致死性とは異なる表現型であった。このことは、上記の系統解析の結果とも一致しており、興味深い結果であった。

N. occidentalis 5 系統と *N. tabacum* 祖先種との交雑

N. occidentalis 5 系統を *N. tabacum* の 2 祖先種 (*N. sylvestris*、*N. tomentosiformis*) と交雑した。JT 系統に近縁な PI 555541 と PI 555690 は、2 祖先種との交雑で雑種を得ることができ、*N. sylvestris* との雑種は致死性を示さず、*N. tomentosiformis* との雑種は致死性を示した。したがって、PI 555541 や PI 555690 と *N. tabacum* との交雑に生じる致死性には、*N. tabacum* の T ゲノムのみが関与していることが明らかとなった。

PI 555689 を用いた場合には、*N. tomentosiformis* との交雑で雑種を得ることができ、雑種には致死性が現れた。一方、*N. sylvestris* との交雑でも後代を得ることができたが、外見が母本とした PI 555689 と酷似しており、雑種性検定の結果からも母本と同一であると考えられた。おそらく単為生殖によるものと推測された。したがって、PI

555689 と *N. tabacum* との交雑に生じる致死性には、少なくとも *N. tabacum* の T ゲノムが関与していることが明らかとなった。

PI 555687 を用いた場合には、*N. tomentosiformis* との交雑で雑種を得ることができ、雑種には致死性が認められなかった。*N. sylvestris* との交雑では雑種を得ることができなかったが、PI 555687 と *N. tabacum* との交雑に生じる致死性には、T ゲノムは関与しないことが示唆された。

PI 271991 を用いた場合には、2 祖先種との交雑で雑種を得ることができなかった。

N. occidentalis × *N. sylvestris* の交雑で生じる致死性の遺伝解析

N. sylvestris と交雑すると、*N. occidentalis* JT 系統は雑種致死を示したが、PI 555541 と PI 555690 は雑種致死を示さなかった。このことを利用することで、JT 系統がもつ雑種致死原因遺伝子 (*N. tabacum* および *N. sylvestris* との交雑で致死性を引き起こす遺伝子) の遺伝解析を行うことができると考えられた。そこで、JT 系統を PI 555541 および PI 555690 と正逆で交雑したところ、全ての組合せで雑種を得ることができた。これらのうち、3 組合せの雑種を *N. sylvestris* と交雑し、後代における致死性の分離を調査した。1 組合せでは、² 検定により、JT 系統が単一の致死遺伝子をもつと仮定した場合の期待値 (致死 : 生存 = 1 : 1) に適合したが、他の 2 系統では有意であった。何らかの理由により分離比が歪んだ可能性が考えられ、今後再調査する予定である。

(3) *N. amplexicaulis* × *N. tabacum* の交雑における正常雑種高頻度出現現象の解析

N. amplexicaulis の細胞質が関与している可能性の検証

試験管内受粉と胚珠培養により、*N. tabacum* × *N. amplexicaulis* の雑種を作成した。これらの雑種には致死性を示す雑種だけではなく、致死性を示さない雑種も認められた。したがって、*N. amplexicaulis* の細胞質が正常雑種高頻度出現現象に関わっているわけではないことが明らかとなった。

N. amplexicaulis の雑種致死遺伝子がヘテロ接合である可能性の検証

N. amplexicaulis を遺伝的に固定するため、条件を検討しながら薬培養を行ったが、半数体を作成することはできなかった。一方、自殖を繰り返すことで *N. amplexicaulis* を S₅ 世代まで進めることができたため、これを *N. tabacum* と交雑した。その結果、致死性を示す雑種と示さない雑種が出現した。したがって、交雑に用いた *N. amplexicaulis* がヘテロ接合であったために、正常雑種が高頻度に出現したわけではないことが示された。

N. amplexicaulis × *N. tabacum* の交雑

で高頻度に変異が生じる可能性の検証

N. amplexicaulis (S₅) × *N. tabacum* の雑種に変異が生じているかどうかを調査するために、91 個体の雑種を作出した。22 個体が生存し、69 個体が致死性を示した。このうちの 90 個体から DNA を抽出し、AFLP 分析を行った。これまでに使用したプライマー組合せは 1 つのみであるが、35 本のバンドを検出し、雑種間に多型は認められなかった。今後は、使用するプライマー数を増やし、より多くのローカスを調査する必要がある。また、エピジェネティックな現象が関与している可能性も考えられるため、メチル化感受性の制限酵素を用いた AFLP も行う予定である。

N. amplexicaulis が雑種致死を抑制する因子を持つ可能性の検証

N. amplexicaulis × *N. gossei* の交雑を行った結果、雑種を作出することができた。これらは、形態的特徴と染色体数の観察、RAPD 分析により、確かに雑種であることを確認した。これらの雑種 27 個体を *N. tabacum* と交雑し、それぞれの交雑組合せにおいて 91 ~ 158 個体の後代を育成し、致死性の発現を調査した。その結果、13 組合せにおいて、生存個体が全く認められなかった。残りの 14 組合せでは、生存個体が出現したが、その個体数は各組合せで 1 ~ 4 個体であり、*N. amplexicaulis* × *N. tabacum* の交雑よりも少ない傾向にあった。なお、*N. gossei* × *N. tabacum* の交雑では 581 個体の雑種を調査し、全ての個体に致死性が現れることを確認した。以上のことから、*N. amplexicaulis* がもつ雑種致死抑制因子が後代に遺伝すること、(*N. amplexicaulis* × *N. gossei*) × *N. tabacum* の三系交雑後代では *N. amplexicaulis* 由来の雑種致死抑制因子または染色体をもつ場合に生存できるチャンスが生じることが示唆された。また、*N. amplexicaulis* が 1 つの雑種致死抑制因子をもつと仮定すると、(*N. amplexicaulis* × *N. gossei*) × *N. tabacum* の三系交雑で得られる生存雑種の割合は、*N. amplexicaulis* × *N. tabacum* の交雑のおよそ半分になると予想されたが、実際にはそれを大きく下回っており(浸透度が低くなり)、雑種致死抑制因子は複数存在することが示唆された。

5. 主な発表論文等

[学会発表](計 7 件)

何海・飯塚貴大・前川真穂・森川利信・築瀬雅則・横井修司・小田雅行・手塚孝弘, タバコ野生種 *Nicotiana suaveolens* の倍数性が栽培種 *N. tabacum* との交雑に認められる生殖隔離に及ぼす影響. 日本育種学会第 129 回講演会, 横浜市立大学(神奈川県横浜市), 2016 年 3 月 21・22 日
中村理恵・山田哲也・丸橋巨・小田雅行・

手塚孝弘, タバコ種間雑種 (*Nicotiana suaveolens* × *N. tabacum*) に生じる雑種致死に及ぼすフェニルアラニンアンモニアリアーゼ (PAL) 阻害剤の影響. 日本育種学会第 129 回講演会, 横浜市立大学(神奈川県横浜市), 2016 年 3 月 21・22 日

大矢祐一郎・前川真穂・飯塚貴大・森川利信・築瀬雅則・横井修司・小田雅行・手塚孝弘, *Nicotiana tabacum* と *N. occidentalis* 5 系統との種間雑種で認められる雑種致死に關与するゲノムの推定. 日本育種学会第 129 回講演会, 横浜市立大学(神奈川県横浜市), 2016 年 3 月 21・22 日

板倉広樹・中村理恵・森川利信・築瀬雅則・横井修司・手塚孝弘, タバコ種間交雑 (*Nicotiana amplexicaulis* × *N. tabacum*) に認められた生存雑種高頻度出現現象. 日本育種学会第 128 回講演会, 新潟大学(新潟県新潟市), 2015 年 9 月 11・12 日

喜多村直人・森川利信・築瀬雅則・尾形善之・小田雅行・手塚孝弘, *Nicotiana debneyi* がもつ雑種致死原因遺伝子 *HLA1* の連鎖解析. 日本育種学会第 127 回講演会, 玉川大学(東京都町田市), 2015 年 3 月 21・22 日

Takahiro Tezuka, Genetics of F₁ hybrid lethality in tobacco. Japanese Solanaceae Genomics Initiative (JSOL) 10th International Symposium on Solanaceae Genomics, Osaka Prefecture University, Sakai, Osaka, Japan, November 29-30, 2013

喜多村直人・森川利信・築瀬雅則・小田雅行・手塚孝弘, *Nicotiana benthamiana* と *N. excelsior* の種間雑種で認められる不稔性の評価. 日本育種学会第 124 回講演会, 鹿児島大学(鹿児島県鹿児島市), 2013 年 10 月 12・13 日

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・講師
研究者番号: 20508808