

学 位 論 文 要 旨	
氏 名	モハマド ミザヌル ラヒム カーン
題 目	ナス属野生種の細胞質を用いたナスの雄性不稔系統の育成 (Development of male sterile lines of eggplant (<i>Solanum melongena</i> L.) utilizing the cytoplasm of wild <i>Solanum</i> species)
<p>本研究は、ナス属野生種の細胞質を用いてナス (<i>Solanum melongena</i>) の雄性不稔系統の育成を試みたものである。ナス属野生種の 3 種、<i>S. anguivi</i>、<i>S. kurzii</i> および <i>S. virginianum</i> を用いて戻し交雑によるナスの細胞質の置換を行い、稔性の解析等を行った。</p> <p>1) 戻し交雑によってナスの細胞質を <i>S. anguivi</i> のもので置換することに成功した。細胞質置換系統において、花粉を形成する個体と花粉を形成しない雄性不稔性を発現する個体が出現した。遺伝分析の結果から、この雄性不稔性が単一の優性の稔性回復遺伝子が稔性回復に関与する細胞質・核遺伝子型であることが明らかとなった。雄性不稔個体では、花粉母細胞が減数分裂前に崩壊していることが観察され、このことが花粉を形成しない原因であることが明らかになった。雄性不稔個体は、種子稔性が高かったことから、雄性不稔系統としての実用価値が高いと考えられた。</p> <p>2) 戻し交雑によってナスの細胞質を <i>S. kurzii</i> のもので置換することに成功した。この細胞質置換系統はすべて、花粉を生産するものの、開花しても開葯せず花粉を放出しないタイプの機能的雄性不稔性を発現した。また、雄性不稔性の発現に関して遺伝分離が認められなかったことから、この雄性不稔性は細胞質単独型であると考えられた。この雄性不稔系統も種子稔性が高かったことから、実用性が高いと考えられた。</p> <p>3) 戻し交雑によってナスの細胞質を <i>S. virginianum</i> のもので置換することを試みた結果、戻し交雑後代はすべて、ミトコンドリア DNA に関しては置換に成功したが、葉緑体 DNA はナスと <i>S. virginianum</i> の組換え型のものになった。この系統は、上記の <i>S. kurzii</i> の細胞質をもつ雄性不稔系統と同様の機能的雄性不稔性を発現した。また、雄性不稔性の発現に関して遺伝分離が認められなかったことから、この雄性不稔性は細胞質単独型であると考えられた。この雄性不稔系統も種子稔性が高かったことから、実用性が高いと考えられた。</p> <p>4) <i>Solanum virginianum</i> の細胞質をもつナスの雄性不稔系統の葯培養を行った。その結果、1 個体の小植物体を再生することに成功し、その個体において半数性 ($2n=12$) および二倍性 ($2n=24$) の細胞が観察された。このことから、再生個体が花粉由来であることが推定され、葯培養で本細胞質雄性不稔系統の純系を作出できることがわかった。</p> <p>本研究の結果、ナス属野生種の <i>S. anguivi</i>、<i>S. kurzii</i>、および <i>S. virginianum</i> の細胞質を用いて実用性の高いナスの 3 種類の雄性不稔系統を育成することに成功した。さらに、葯培養によって <i>S. virginianum</i> の細胞質をもつ雄性不稔系統の純系を作出することが可能であることも明らかにした。</p>	

学 位 論 文 要 旨

氏 名 Md. Mizanur Rahim Khan

題 目 Development of male sterile lines of eggplant (*Solanum melongena* L.)
utilizing the cytoplasm of wild *Solanum* species
(ナス属野生種の細胞質を用いたナスの雄性不稔系統の育成)

The purpose of this study is to develop male sterile lines of eggplant (*Solanum melongena*) utilizing the cytoplasm of wild *Solanum* species. The cytoplasm of *S. anguivi*, *S. kurzii* and *S. virginianum* were utilized to develop cytoplasm substitution lines of eggplant by continuous backcross method.

1) The cytoplasm of *S. anguivi* was successfully substituted for that of eggplant. Pollen non-formation type sterility induced in eggplant by the cytoplasm of *S. anguivi*. The anthers of the pollen non-formation type plants were completely devoid of pollen grains and no meiosis was detected. From the segregation of the pollen formation ability of the backcross progenies, it is assumed that a single dominant fertility restoring gene controls the pollen formation of the *S. melongena* with the cytoplasm of *S. anguivi*. High fruit set percentage, moderately high number of seeds per fruit and high seed germination rate found in the backcross progenies indicate high seed fertility of this male sterile line. The present results indicate that the cytoplasm of *S. anguivi* is useful for inducing male sterility in eggplant.

2) The cytoplasm of *S. kurzii* was successfully substituted for that of eggplant. Anther indehiscent type functional male sterility found in backcross progenies. This anther indehiscent character induced by disharmony between the cytoplasm of *S. kurzii* and the nucleus of *S. melongena*. Seed fertility was generally high in all the backcross progenies examined. The present results indicate that the cytoplasm of *S. kurzii* is useful for inducing male sterility in eggplant.

3) The cytoplasm of *S. virginianum* was utilized to substitute for that of eggplant by continuous backcross method. Backcross progenies carried recombinant cpDNA of the parents and maternal mtDNA. Anther indehiscent type of male sterility expressed in backcross progenies. This anther indehiscent character is indicated to be a functional male sterility induced by disharmony between the cytoplasmic genes of *S. virginianum* and the nuclear genes of *S. melongena*. Seed fertility was high in all the backcross progenies examined. The present results indicate that the cytoplasm of *S. virginianum* is useful for inducing male sterility in eggplant.

4) Anther culture was performed to produce pure lines of *S. virginianum* induced CMS line of eggplant. From a total of 360 cultured anthers a single plantlet was regenerated. The regenerated plant have both haploid and diploid cells in the root tips which indicate that the regenerated plant was originated from the microspore and chromosome doubling may go on spontaneously. This study revealed that anther culture is useful to develop pure lines of *S. virginianum* induced CMS line of eggplant.

This study demonstrated that it is possible to develop male sterile lines of eggplant with the cytoplasm of wild *Solanum* species, *S. anguivi*, *S. kurzii* and *S. virginianum* and that anther culture is useful to develop pure lines of *S. virginianum* induced CMS line of eggplant.

学位論文審査結果の要旨

学位申請者 氏 名	モハマド ミザヌル ラヒム カーン
審査委員	主 査 佐賀大学 准教授 一色 司郎
	副 査 佐賀大学 教授 松本 亮司
	副 査 鹿児島大学 教授 衛藤 威臣
	副 査 佐賀大学 教授 谷本 静史
	副 査 琉球大学 准教授 嬉野 健次
審査協力者	
題 目	Development of male sterile lines of eggplant (<i>Solanum melongena</i> L.) utilizing the cytoplasm of wild <i>Solanum</i> species (ナス属野生種の細胞質を用いたナスの雄性不稔系統の育成)
<p>ナスにおいて雄性不稔は、F₁採種の省力化、「種なし」の高品質果実生産への利用など、育種や生産の現場に大きく貢献する有用な性質である。本研究は、ナス属野生種の細胞質を用いてナス (<i>Solanum melongena</i>) の雄性不稔系統の育成を試みたものである。ナス属野生種の3種、<i>S. anguivi</i>、<i>S. kurzii</i> および <i>S. virginianum</i> を用いて戻し交雑によるナスの細胞質の置換を行い、稔性の解析等を行った結果、次のような知見を得た。</p> <p>1) 戻し交雑によってナスの細胞質を <i>S. anguivi</i> のもので置換することに成功した。細胞質置換系統において、花粉を形成する個体と花粉を形成しない雄性不稔性を発現する個体が出現した。遺伝分析の結果から、この雄性不稔性が単一の優性の稔性回復遺伝子が稔性回復に関与する細胞質・核遺伝子型であることが明らかとなった。雄性不稔個体では、花粉母細胞が減数分裂前に崩壊していることが観察され、このことが花粉を形成しない原因であることが明らかになった。雄性不稔個体は、種子稔性が高かったことから、雄性不稔系統としての実用価値が</p>	

高いと考えられた。

2) 戻し交雑によってナスの細胞質を *S. kurzii* のもので置換することに成功した。この細胞質置換系統はすべて花粉を生産するものの、開花しても開葯せず花粉を放出しないタイプの機能的雄性不稔性を発現した。また、雄性不稔性の発現に関して遺伝分離が認められなかったことから、この雄性不稔性は細胞質単独型であると考えられた。この雄性不稔系統も種子稔性が高かったことから、実用性が高いと考えられた。

3) 戻し交雑によってナスの細胞質を *S. virginianum* のもので置換することを試みた結果、戻し交雑後代はすべてミトコンドリア DNA に関しては置換に成功したが、葉緑体 DNA はナスと *S. virginianum* の組換え型のものになった。この系統は、上記の *S. kurzii* の細胞質をもつ雄性不稔系統と同様の機能的雄性不稔性を発現した。また、雄性不稔性の発現に関して遺伝分離が認められなかったことから、この雄性不稔性は細胞質単独型であると考えられた。この雄性不稔系統も種子稔性が高かったことから、実用性が高いと考えられた。

4) *Solanum virginianum* の細胞質をもつナスの雄性不稔系統の葯培養を行った。その結果、1 個体の小植物体を再生することに成功し、その個体において半数性 ($2n=12$) および二倍性 ($2n=24$) の細胞が観察された。このことから、再生個体が花粉由来であることが推定され、葯培養で本細胞質雄性不稔系統の純系を作出できることがわかった。

以上の結果、ナス属野生種の *S. anguivi*、*S. kurzii*、および *S. virginianum* の細胞質を用いて実用性の高いナスの3種類の雄性不稔系統を育成することに成功した。さらに、葯培養によって *S. virginianum* の細胞質をもつ雄性不稔系統の純系を作出することが可能であることも明らかにした。

以上のように、本論文はナス属野生種の細胞質を用いてナスの3種類の雄性不稔系統の育成に成功したものであり、 F_1 採種の省力化、「種なし」の高品質果実生産への利用など、育種や生産の現場に大きく貢献する意義ある成果として評価できる。したがって、本論文が博士（農学）の学位論文として十分な価値があるものと判定した。

最終試験結果の要旨	
学位申請者 氏名	モハマド ミザヌル ラヒム カーン
審査委員	主査 佐賀大学 准教授 一色 司郎
	副査 佐賀大学 教授 松本 亮司
	副査 鹿児島大学 教授 衛藤 威臣
	副査 佐賀大学 教授 谷本 静史
	副査 琉球大学 准教授 嬉野 健次
審査協力者	
実施年月日	平成21年 1月 8日
試験方法 (該当のものを○で囲むこと。) <input checked="" type="radio"/> 口答・筆答	
<p>主査及び副査は、平成21年1月8日の公開審査会において学位申請者に対して、学位申請論文の内容について説明を求め、関連事項について試問を行った。具体的には別紙のような質疑応答がなされ、いずれも満足できる回答を得ることができた。</p> <p>以上の結果から、審査委員会は申請者が博士(農学)の学位を受けるに必要な十分の学力ならびに識見を有すると認めた。</p>	

学位申請者
氏 名

モハマド ミザヌル ラヒム カーン

[質問 1] 開葯しないタイプの雄性不稔の発現の安定性はどのように確認したのか？

[回答 1] 4ヶ月以上にわたって発現の調査を行い、環境の変化による発現の安定性に変動がないことを確認した。

[質問 2] 種子稔性という語が出てくるが、その使い方について詳細に説明せよ。

[回答 2] 結果率、1果当たり種子数及び種子の発芽率の値を総合的に評価したものを種子稔性と表現した。種子の生産性のみを指してはいない。

[質問 3] 本論文でナス属野生種の3種、*S. anguivi*、*S. kurzii* および *S. virginianum* を用いて研究を行っているが、これらを選んだ理由を述べよ。

[回答 3] *Solanum macrocarpon* など他の野生種についても検討を行ったが、戻し交雑実生が得られなかった。結果的に上記3種を選抜することになった。

[質問 4] 逆交雑を行わなければ雄性不稔の原因が野生種細胞質にあるとは言い切れないのではないか？

[回答 4] 一部のものについては逆交雑を行い、雄性不稔の原因が細胞質にあることを確認している。また、逆交雑を行っていないものについても戻し交雑の世代が進んだ状態で雄性不稔が発現していることや他機関でこれまでになされた研究成果をあわせて評価すると細胞質が雄性不稔の原因となっているのは間違いないと思われる。

[質問 5] *Solanum anguivi* の細胞質置換系統を育成する際、 F_1 を育成する際にナス‘千両二号’を交配に用い、その後‘Uttara’を用いて戻し交雑を行っているが、‘千両二号’を使った理由は何か？

[回答 5] *Solanum anguivi* と‘Uttara’の交配で F_1 を育成しようと試みたがすべて失敗したので F_1 を育成する際のみ‘千両二号’を交配に用いた。

[質問 6] *Solanum anguivi* の細胞質をもつ細胞質置換系統における雄性不稔性についての遺伝分離には大きな歪みが認められる。稔性回復遺伝子についての仮説をたてているが、この仮説には無理があるのではないかと？

[回答6]ご指摘のとおり、歪み分離が認められるので仮説については検証または再構築の必要があると考えている。現在、自殖実生等を用いて稔性回復遺伝子についてのさらなる遺伝分析を行っている。

[質問7]雄性不稔系統の維持はどのように行うか？

[回答7]核親となったナス品種の花粉を受粉することで容易に種子を生産できる。

[質問8]「種なし」のナスの育成の話が出てきたが、多少は種子がある方が栄養的には良いのではないか？また、「種なし」のナス果実の成分分析を行ったか？

[回答8]純粋に栄養的な面で評価すれば種子がある方が良いかもしれないが、消費者の嗜好に重点を置けば「種なし」は非常に有用な形質と言える。本研究では、ナス果実の成分分析は行っていない。

[質問9]*Solanum virginianum*の細胞質置換系統の薬培養を行った結果、得られた植物体が半数性 ($2n=12$) および二倍性 ($2n=24$) の細胞を持っていたが、今後この個体をどう扱っていくのか？

[回答9]コルヒチン処理による染色体倍加を行い、稔性を回復させた後に自殖により純系の種子を得て F_1 を育種への利用を図ることを考えている。