

## 審査の結果の要旨

氏名 岡村 正愛

作物ではこれまでに 3,000 以上の突然変異品種が育成されているが、ほとんどがガンマ線照射や化学変異原によるものである。1980 年代に発見されたソマクローナル変異, 1990 年代に生物研究の進んだイオンビーム照射突然変異, および細胞組織培養とイオンビーム育種の併用効果について総合的に研究した事例は少ない。本研究は多様な突然変異育種技術の特長と欠点を明らかにし, それぞれの技術活用の指針を示すこと, および突然変異において変異の方向性を制御することを目的に実施された。

### 1. 細胞・組織培養系の開発によるソマクローナル変異利用育種

申請者はキク科植物の葉プロトプラスト培養においてアンモニウムイオンが阻害的な効果を持つことを発見し, 通常の培地で 1%程度であった細胞分裂頻度を, 培地からアンモニウムイオンを除去することで 50%以上に向上させた。またバレイショの葉を酵素処理前に植物成長調節物質を含む培地で培養し活性を高めた後にプロトプラストを単離すると分裂頻度が倍加することを発見し, プロトプラストからの効率的な植物体再分化系を開発した。この手法はキク, ペチュニアにも有効であった。この手法を用いたプロトクローン変異による世界初のバレイショ実用化品種「ジャガキッズ」を育成し, 皮色の変化など変異形質が 20 年以上に渡り安定していることを確認した。

次にキクの培養変異を調査した。桃花色キクの葉由来ソマクローナルでは実用的な花色変異個体が得られた。また花色自然突然変異が得られない濃紫桃キクでは, 管状花を材料としたソマクローナル変異により新規覆輪花色が得られた。これら新品種を育成することにより, ソマクローナル育種の有効性を実証した。またペチュニアのプロトプラスト再生系に X 線照射を併用することで, 交雑育種や放射線照射単独では得られなかった匍匐性赤色ペチュニアを初めて育成した。

### 2. イオンビーム育種系の開発によるカーネーション花色変異の創製

イオンビームは, X 線やガンマ線などの低 LET 放射線と比較し局所的に高エネルギーを付与する。一方で組織透過性は低く, 原子力機構 TIARA の炭素イオンビームの場合, 組織透過性は 2 mm しかない。申請者はカーネーションの葉表層から 0.5 mm の深さの組織細胞から植物体を再生する培養系を確立することでイオンビーム照射組織からの効率的な突然変異体獲得技術を開発し, 炭素イオンビームはガンマ線に比べ 4 倍生物効果が高く, 幅広い花色変異を生み出せることを実証した。この手法を利用して, 耐病性など親の優れた特性を維持したまま多数の花色変異体を得ることで, 品種シリーズとして実用化した。これはイオンビーム

育種を先導する研究となった。またイオンビーム、ガンマ線急照射・緩照射による花色変異を調査し、出現頻度に大きな差は無いが変異スペクトルはイオンビーム照射、ガンマ線緩照射、ガンマ線急照射の順に広いことを示した。

イオンビームで誘発されたカーネーションの花色変異体を用いて、液胞内アントシアニン凝集 (AVI) による特殊花色が非アシル化アントシアニンを含む AVI の存在と相関する単一劣性因子によって支配されることを遺伝様式から明らかにし、交配育種により輝き青色系花色カーネーションを作出した。この系統にイオンビームを照射し赤、赤紫、クリムゾン系のメタリック花色系統を作出した。全ての輝き系統はアントシアニンリル基転移酵素の転写産物を持たず、強く凝集した AVI と透明の液胞を持つ向軸側の表皮細胞を有していた。この結果から 1) AVI を生成する因子はアントシアニンリル基転移酵素の不活化によること、2) 向軸側表皮細胞の AVI がメタリック調花色を発色することを示した。

### 3. 花色突然変異の頻度および変異の方向性の制御

放射線を照射される細胞の生理状態が、変異の頻度と幅に影響するか花色を指標として検討された。申請者は、紫花色のキク品種を用いて花と葉からイオンビーム照射変異体を作成しソマクローンとあわせ花色を調査した。その結果、1) 花色のソマクローナル変異出現頻度は葉よりも花で有意に高いこと、2) イオンビーム照射により組織特異的な変異出現率がより高まること、3) イオンビーム照射区でのみ濃赤、茶の花色突然変異体が出現し変異の幅が広いことを明らかにした。

ペチュニア実生を 3% ショ糖で処理すると茎頂に色素が劇的に蓄積される。この茎頂にイオンビームを照射し M<sub>2</sub> 系統を得た。葉緑素変異の出現頻度はショ糖処理区と無処理区とで同等であったが、ショ糖処理区での花色変異出現頻度は無処理区に比較して有意に高く、変異の幅も広がった。これは放射線を照射する細胞の状態を意図的に変化させイオンビームを照射することで花色変異の頻度が向上し変異スペクトルが広がることを示した最初の研究となった。

以上、本研究はさまざまな突然変異育種法について、変異の出現頻度を高め変異幅を拡大するための技術的指針を提示するとともに、多くの実用品種を作出した。さらに、花色変異発生のメカニズムの一端を、分子細胞生理学的に明らかにした。これらの研究成果は、学術上応用上寄与するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士(農学)の学位論文として価値あるものと認めた。