

植物の胚乳から三倍体と六倍体を同時に作る技術を開発

～倍数性育種の新手法を考案～

ポイント

- ・二倍体のマユハケオモトの胚乳が三倍性であることに着目。
- ・胚乳培養とコルヒチン処理を組み合わせることで三倍体と六倍体を同時に作出。
- ・交配を経ない効率的な倍数性育種法を提案。

概要

北海道大学大学院環境科学院博士後期課程2年の中野有紗氏，同北方生物圏フィールド科学センターの星野洋一郎教授，千葉大学環境健康フィールド科学センターの三位正洋名誉教授の研究グループは，植物の胚乳を培養することで，二倍体の植物から三倍体と六倍体を同時に作出する技術を開発しました。

植物の倍数性^{*1}レベルが上がると花や果実，葉のサイズが大きくなるなどの利点があります。倍数体を作成してその利点を品種改良に利用する方法は，倍数性育種として知られています。これまで，三倍体や六倍体を作成するためには，コルヒチン^{*2}による倍加と交配を行う必要があり，多くの時間と手間が必要でした。本研究では，胚乳が三倍性を示すことに着目し，ヒガンバナ科のマユハケオモト（ハエマンサス：*Haemanthus albiflos*）を材料に，胚乳培養とコルヒチン処理を組み合わせることで，交配を経ずに三倍体と六倍体を同時に作出する手法を開発しました。

未熟な種子を滅菌して，胚乳と胚を分離して摘出し，組織培養を行いました。胚乳はカルス^{*3}形成を経て，植物成長調節物質を添加しない培地に移すことで植物体が再生されることがわかりました。この再生した植物は，染色体観察とフローサイトメトリー^{*4}によるDNA量の測定によって三倍体であることを確認しました。次に，胚乳由来カルスにコルヒチンを処理することで六倍体を誘導しました。興味深いことに，胚乳由来カルスは胚形成能をもち，不定胚^{*5}経路で植物体になっていました。

植物の胚乳は，種子の中の大部分を占め，胚に養分を供給する役割を担っています。イネやトウモロコシでは，可食部分が胚乳です。多くの植物では，重複受精^{*6}により二倍体植物の胚乳は三倍性となります。しかし，胚乳は胚に養分を供給する役割を終えると退化してしまい，植物にはなりません。

近年，胚乳を組織培養することによって，二倍体の植物の胚乳から三倍体ができることがわかってきましたが，本研究では，マユハケオモトの胚乳が高い植物体再生能を保持することを明らかにするとともに，コルヒチン処理と組み合わせることで三倍体と六倍体を同時に作出する培養系を確立し，胚乳培養の応用可能性を示しています。

なお，本研究成果は，2020年11月27日（金）公開の *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 誌にオンライン掲載されました。



研究に用いたマユハケオモト



胚乳由来の六倍体植物（順化後）

【背景】

胚乳は、種子の中で胚に栄養を与えるための機能を持ち、養分を蓄えています。胚乳の倍数性は、重複受精の結果、多くの植物種で三倍性を示します。胚乳を培養し、組織培養によって胚乳由来の植物体を再生させることができれば、二倍性の植物体をもつ胚乳から三倍体を作出できると考えました。植物の倍数性レベルが上がると、花や果実、葉のサイズが大きくなるなど、形質改良に利用できることから、様々な倍数性レベルの植物を作る倍数性育種法が知られています。これまで、三倍体の育成には、二倍体をコルヒチン処理して四倍体を育成し、二倍体と四倍体の開花のタイミングを合わせて交配する手法が用いられていました（図 1）。六倍体の作出には、三倍体をコルヒチン処理で倍加するか、四倍体をさらにコルヒチン処理して八倍体を作出し、八倍体と四倍体を交配する必要があります。そのため、三倍体と六倍体の作出には長い時間と労力が必要でした。本研究では、胚乳が三倍性を示すことに着目し、ヒガンバナ科のマユハケオモト（ハエマンサス）を材料に用いて胚乳培養とコルヒチン処理を組み合わせて三倍体と六倍体を同時に作出する培養系の確立を試みました。

【研究手法】

植物材料としてマユハケオモトを用い、開花から 8 週間後の採取した種子を滅菌後、胚と胚乳を分離して培養しました。培養培地には、植物成長調節物質のピクロラムとベンジルアミノプリン (BAP) を添加しました。胚乳の培養によって得られたカルスの植物体再生条件の検討を行いました。さらに、胚乳由来カルスにコルヒチン処理を行い、倍加を試みました。

【研究成果】

培養した全ての胚乳においてカルス化が観察されました。カルスは、ピクロラムと BAP を添加した培地で増殖しました。植物成長調節物質を含まない培地またはナフタレン酢酸 (NAA) と BAP を添加した培地にカルスを移植することにより、不定胚を経由して植物体になることがわかりました。この植物は胚乳の倍数性を保持した三倍体でした。

また、カルスにコルヒチン処理を行うことで、六倍体を誘導することができました。倍数性の確認は、染色体観察とフローサイトメトリーによって行いました。

【今後への期待】

胚乳培養とコルヒチン処理を組み合わせることで、二倍体の植物から、交配を経ずに三倍体と六倍体を作出できることを示しました（図 2）。倍数性育種に利用できる新たな手法の一つと考えられます。胚乳培養によって取り除いた胚自身も植物体になることから、同一の DNA 配列を持つ二倍体、三倍体、六倍体を育成することができます。これらは、倍数性と遺伝子型の関係を解析する貴重な素材となり得ます。胚乳は胚をサポートする役割を担い退化する運命にありますが、組織培養によって胚発生と類似した植物再生（不定胚形成）の過程をもち得ることが示されました。この事象は、植物の分化能を検証する上でも興味深いものです。

今後、得られた倍数体の表現型の評価を進めるとともに、他の植物種への応用可能性の検証を行う予定です。

論文情報

論文名	Simultaneous production of triploid and hexaploid plants by endosperm culture with colchicine treatment in diploid <i>Haemanthus albiflos</i> (二倍体のハエマンサスにおける胚乳培養とコルヒチン処理による三倍体と六倍体の同時作出)
著者名	中野有紗 ¹ , 三位正洋 ² , 星野洋一郎 ^{1,3} (¹ 北海道大学大学院環境科学院, ² 千葉大学環境健康フィールド科学センター, ³ 北海道大学北方生物圏フィールド科学センター)
雑誌名	Plant Cell, Tissue and Organ Culture (植物組織培養の専門誌)
DOI	10.1007/s11240-020-01974-4
公表日	2020 年 11 月 27 日 (金) (オンライン公開)

お問い合わせ先

北海道大学北方生物圏フィールド科学センター 教授 星野洋一郎 (ほしのよういちろう)

T E L 011-706-2857 F A X 011-706-2857 メール hoshino@fsc.hokudai.ac.jp

U R L <http://www.fsc.hokudai.ac.jp/farm/>

配信元

北海道大学総務企画部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北8条西5丁目)

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール kouhou@jimuhokudai.ac.jp

千葉大学企画総務部渉外企画課 (〒263-8522 千葉市稲毛区弥生町1-33)

T E L 043-290-2018 F A X 043-284-2550 メール bag2018@office.chiba-u.jp

【参考図】

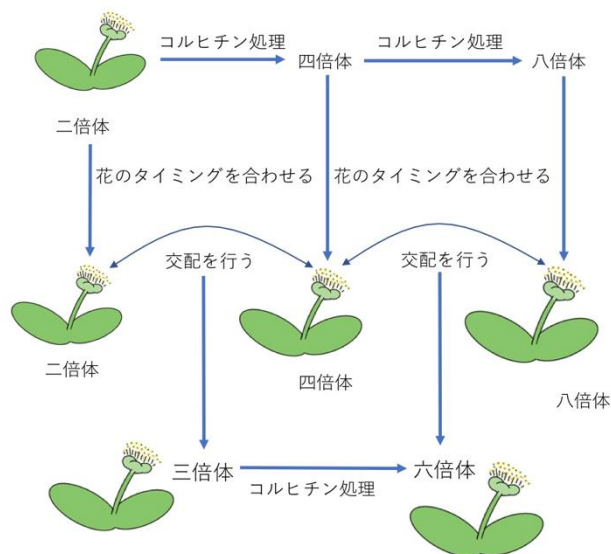


図 1.従来の三倍体と六倍体の作出方法

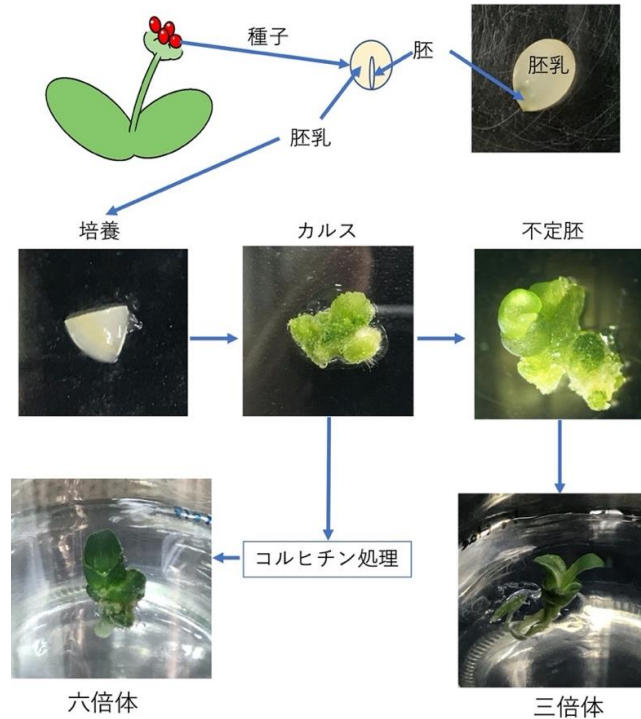


図 2. 胚乳培養による三倍体と六倍体の作出方法

【用語解説】

- *1 倍数性 … 生物が持つ染色体のセットのこと。二倍体が基本で、その配偶子が一倍体。
- *2 コルヒチン … 細胞分裂時に染色体の倍加を誘導する試薬。
- *3 カルス … 特定の組織ではない未分化の細胞の塊のこと。脱分化した状態の細胞群を指す。
- *4 フローサイトメトリー … 核を蛍光色素で標識し、蛍光強度の測定することで倍数性を判定することができる機器を用いた解析手法のこと。DNA量と倍数性がわかる。
- *5 不定胚 … 受精によってできる胚を接合胚と呼び、それ以外の体細胞に由来する胚を接合胚と区別して不定胚と呼ぶ。体細胞胚とも呼ばれる。
- *6 重複受精 … 被子植物において、花粉管が運んだ二つの精細胞が、卵細胞と中央細胞とそれぞれ融合（受精）すること。中央細胞は二つの極核を持つことから重複受精後に三倍性となり、細胞分裂を繰り返して胚乳になる。