

イネ雄性不稔細胞質の分類 (II)

本村恵二・松園達也・石嶺行男・赤嶺 光

琉球大学農学部 903-01 沖縄県西原町

要約 イネにおける雄性不稔細胞質を分類するために、野生稻由来の12細胞質雄性不稔系統 RT2S, RT4S, RT7S, RT18S, RT41S, RT80S, RT81S, RT124S, RT132S, RT134S, RT142S および RT153S が被検定親として供試された。また、検定親として5稔性回復系統 RT61F, BTF, RT98F, RT100F および RT102F が用いられた。いずれも連続戻し交雑法により育成された台中65号の同質遺伝子系統であり、RT61F および BTF は同一の稔性回復遺伝子をもつが、他の稔性回復系統はそれぞれ異なる1対の遺伝子をもっている。これらの中で交雑を行い、 F_1 の花粉および種子稔性を調査して細胞質の分類を行った。ただし、花粉の稔・不稔の判定は一部を除いて困難であったため、分類には主として種子稔性が用いられた。種子稔性は不稔(10%以下)、低稔(10~50%)、高稔(50~90%)、正常稔(90%以上)の4段階に分けられた。

その結果次のように分類できた。①RT18S および RT153S はすべての稔性回復系統との F_1 で正常稔を示した。②RT4S はすべての交雑で完全不稔を示した。③RT2S, RT7S, RT41S, RT132S および RT134S は、RT61F および BTF との交雑で不稔、RT98F, RT100F および RT102F との交雑で高稔を示した。④RT80S および RT124S の2系統は RT61F および BTF との交雑で完全不稔、RT98F との交雑で高稔、RT100F との交雑で低稔、RT102F との交雑で完全不稔に近い稔性を示した。⑤RT81S および RT142S の2系統は RT61F および BTF との交雑でともに完全不稔を示し、RT98F との交雑で低稔、RT100F および RT102F との交雑で完全不稔に近い稔性を示した。以上は種子稔性による分類であったが、花粉稔性では RT18S および RT153S の F_1 は配偶体型の細胞質に特有の半稔性を示したのに対してその他の系統の F_1 は全て種子稔性に関係なく完全稔を示した。

キーワード イネ, 細胞質雄性不稔, 稔性回復遺伝子, 雄性不稔細胞質

Classification of Male Sterile Cytoplasm in Rice Keiji MOTOMURA, Tatsuya MATSUZONO, Yukio ISHIMINE and Hikaru AKAMINE *College of Agriculture, University of the Ryukyus, Senbaru, Nishihara, Okinawa, 903-01 Japan*

Abstract In order to classify male sterile cytoplasm in rice, twelve cytoplasmic male sterile lines (RT2S, RT4S, RT7S, RT18S, RT41S, RT80S, RT81S, RT124S, RT132S, RT134S, RT142S, and RT153S) were crossed with five restoring testers (RT61F, BTF, RT98F, RT100F and RT102F). These lines consisted of Taichung 65's isogenic lines developed through repeated back-crossing of Taichung 65 to wild rice, *Oryza ruffipogon* and *O. breviligulata* (only RT153S). The pollen and seed fertility of the F_1 progenies which were derived from crosses between cytoplasmic male sterile lines and restoring testers was evaluated. Based on the results obtained, the cytoplasm of the male sterile lines were classified.

The pollen of the F_1 s of RT18S and RT153S which was semi-fertile (50%) was characteristic of a gametophytic cytoplasm. On the other hand, the pollen fertility of all the lines except for these two lines was complete in the case of hybridization with all the testers, regardless of the seed fertility. Further classification is required for the utilization of seed fertility.

RT18S and RT153S showed a normal seed fertility (more than 90%) in the F_1 for all the testers. RT4S showed a complete sterility for the seeds of F_1 progenies in the crosses with all the testers. The F_1 s of RT2S, RT7S, RT41S, RT132S and RT134S displayed a seed sterility (less than 1%) in the crosses with RT61F and BTF, and a higher seed fertility (70~80%) in the crosses with RT98F, RT100F and RT102F. The RT80S and RT124S lines produced seed-sterile F_1 plants in the crosses with RT61F and BTF, a higher fertility in the crosses with RT98F, a lower fertility in the crosses with RT100F, and near-complete sterility in the crosses with RT102F. The RT81S and RT142S lines produced complete sterile seeds in the crosses with RT61F and BTF, but showed a lower seed fertility in the crosses with RT98F and near-complete seed sterility in the crosses with RT100F and RT102F.

The cytoplasm of the twelve cytoplasmic male sterile lines were classified into the following groups: ① RT18S and RT153S ② RT4S ③ RT2S, RT7S, RT41S, RT132S and RT134S ④ RT80S and RT124S ⑤ RT81S and RT142S.

Key words Cytoplasmic male sterility, Fertility restoring gene, Male sterile cytoplasm, Rice

緒言

雄性不稔細胞質の遺伝的分化を調べその多様性を明らかにすることは一代雑種品種育成の際の遺伝的脆弱性を防ぐためにも重要な事である。イネにおいてもトウモロコシ¹⁾、ナタネ^{5,6)}、コムギ⁹⁾等と同様、細胞質の遺伝的分化が認められており^{4,7,8)}、現在、著者らは野生稻やインディカ稻の雄性不稔細胞質や稔性回復遺伝子を日本型栽培稻台中65号に導入して同質遺伝子系統を作成し、それらの間に交雑を行ってその稔性反応により雄性不稔細胞質の分化を調べている。同質遺伝子系統を用いることによって雑種不稔を排除することができるので、F₁の稔性反応は純粋に母本由来の細胞質と父本由来の核内の稔性回復遺伝子の相互作用によるものと考えてよい。前報では10の野生稻由来の細胞質雄性不稔系統を2稔性回復系統で検定交雑することにより、これらの細胞質雄性不稔系統の細胞質を5つのグループに分けることができた⁴⁾。ここでは前報と同様な方法により12の野生稻由来の細胞質雄性不稔系統を5稔性回復系統で交雑し、そのF₁稔性反応により、細胞質雄性不稔系統の細胞質の分類を試みた。

材料および方法

被検定親として表1に示した細胞質雄性不稔系統12系統が用いられた(その内、RT2S, RT4S, RT18S, および RT41S の4系統は前報も用いられた)。これらの系統はいずれも *Oryza rufipogon* を1回母本として台中

65号で7回以上の連続戻し交雑を行って得られた台中65号の同質遺伝子系統である。ただし、RT153Sのみは *O. breviligulata* が1回母本として用いられた。いずれも稔性回復遺伝子をもっていない。一方、検定親として同じく表1に示した5系統が用いられた。これらの系統も上と同様な方法で育成された台中65号の同質遺伝子系統である。ただしこの場合は細胞質雄性不稔系統とは異なり、稔性回復遺伝子一対も同時に導入された。BTFはインド型栽培稻 Chinsurh Boro II を、その他の系統はそれぞれ起源の異なる野生稻 *O. rufipogon* が1回母本に用いられた。RT61F および RT98F は前報も検定親に用いられた系統であり、今回は新たに BTF, RT100F および RT102F の3系統が加えられた。RT61F および BTF 系統の稔性回復遺伝子は同一であると考えられている^{2,3)}。他の3系統の稔性回復遺伝子はまだ同定されていないが、予備実験よりそれぞれ異なる遺伝子であることが予想されている。

方法としては、まず被検定親を台中65号に交雑しそのF₁の花粉および種子稔性を調べ細胞質雄性不稔であることを確認した。次にこれら細胞質雄性不稔系統を母本として検定親である稔性回復系統5系統を交雑してF₁を作成し(10~20個体)、花粉および種子稔性によりF₁稔性反応を調べ、それによって細胞質雄性不稔系統の細胞質を分類した。ただし、検鏡下で花粉の稔・不稔が判定でき花粉稔性を知ることができたのはRT18SおよびRT153Sが母本となって交雑された場合のみであり、それ以外の交雑では全て見かけ上正常稔性を示し

Table 1 Developed lines, original lines, and their origin

Developed line	Original line (species)	Origin
Cytoplasmic male sterile line		
RT2S	K2 (<i>Oryza rufipogon</i>)	South America
RT4S	K4 (do)	South America
RT7S	K7 (do)	India
RT18S	K18 (do)	India
RT41S	K41 (do)	India
RT80S	K80 (do)	Malaysia
RT81S	K81 (do)	Malaysia
RT124S	K124 (do)	Thailand
RT132S	K132 (do)	India
RT134S	K134 (do)	India
RT142S	K142 (do)	Thailand
RT153S	K153 (<i>O. breviligulata</i>)	Africa
Rostorer line		
BTF	Chinsurah Boro II (<i>O. sativa</i>)	India
RT61F	K61 (<i>O. rufipogon</i>)	Thailand
RT98F	K98 (do)	India
RT100F	K100 (do)	India
RT102F	K102 (do)	India

た。したがって花粉の稔性反応による細胞質の分類は RT18S および RT153S が母本となった場合とそうでない場合のみを区別するにとどまった。そこでそれ以上の細かい分類は種子稔性により行った。その際 10% 未満を不稔, 10% 以上 50% 未満を低稔, 50% 以上 90% 未満を高稔, 90% 以上を正常稔としてそれぞれの階級に属するもの同士は同一稔性反応を示すものとした。ただし, 同じ階級内でお互いの稔性差についても注目した。

なお, 花粉稔性の調査は開花前日の穎花を 75% アルコール液で固定後, ヨード・ヨードカリ液で染色し検鏡して正常花粉歩合を算出した。また, 種子稔性は 1 株当たり主稈穂と発育のよい他の 2 穂の計 3 穂を取り, 全粒数に対する稔実粒数の歩合を算出した。

結 果

まず, 供試母本の花粉および種子稔性, および交雑種子稔性 (台中 65 号を父本として使用) を調べた (表 2)。RT18S および RT153S の花粉は全てが正常花粉に比べて小形で染まりも薄い不稔花粉であった。自殖種子稔性ももちろん完全不稔であった。ただし, 交雑種子稔性は 88% および 82% 以上を示しており, 胚のうは正常であった。他の全ての系統の花粉は大きさ, 染色度合いともに正常花粉と差がなく稔花粉として観察された。しかしながら種子稔性はどの系統においても完全不稔であった。しかし, 交雑種子稔性が最低でも 75% となっており高かったことからいずれの系統も胚のうは正常であると考えられ, したがって稔花粉として観察された花粉は實際上機能をもたない不稔花粉であった。以上により, 供試母本はすべて細胞質雄性不稔系統であることが確認

Table 2 Pollen, selfed-seed, and crossed-seed fertility of the cytoplasmic male sterile lines

Line	Pollen and seed fertility (%)		
	Pollen	Selfed-seed	Crossed-seed ²
RT2S	100	0.0	81.2
RT4S	100	0.0	83.4
RT7S	100	0.0	76.2
RT18S	0	0.0	88.0
RT41S	100	0.0	90.2
RT80S	100	0.0	75.1
RT81S	100	0.0	92.3
RT124S	100	0.0	96.2
RT132S	100	0.0	77.1
RT134S	100	0.0	86.5
RT142S	100	0.0	79.6
RT153S	0	0.0	82.0

² Taichung 65 was crossed as pollinator.

Table 3 F₁ pollen fertility (%) in the crosses between the cytoplasmic male sterile lines and the restoring testers

	RT61F	BTF	RT98F	RT100F	RT102F
RT18S	50.0	51.3	48.9	50.5	48.6
RT153S	50.0	49.5	51.3	49.8	51.9
RT4S	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
RT2S	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
RT7S	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
RT41S	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
RT132S	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
RT134S	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
RT80S	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
RT124S	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
RT81S	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
RT142S	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

された。

次に, 細胞質雄性不稔系統と稔性回復系統との交雑 F₁ の花粉稔性の調査結果を表 3 に示した。RT18S および RT153S の 2 系統はすべての稔性回復系統との交雑で 50% 程度の花粉半稔性 (正常花粉と不稔花粉がほぼ同数) を示した。これに対して残りの 10 の細胞質雄性不稔系統は種子稔性に関係無くすべての F₁ で正常花粉稔性を示した (不稔花粉も見かけ上正常花粉として観察される)。RT18S および RT153S が示した花粉半稔性は配偶体型の雄性不稔の遺伝を示す細胞質に特徴的に現れる形質であり, これによりこれら系統の細胞質は他系統の細胞質と区別することができた。しかしながら花粉稔性ではそれ以上細胞質の分類をすることができず以後は種子稔性で分類を進めた。

F₁ 種子稔性の結果を表 4 に示した。

RT18S および RT153S の種子稔性をみるとすべての

Table 4 F₁ seed fertility (%) in the crosses between the cytoplasmic male sterile lines and restoring testers

	RT61F	BTF	RT98F	RT100F	RT102F
RT18S	92.3	91.3	93.6	94.0	90.1
RT153S	90.1	94.6	94.5	94.0	91.1
RT4S	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
RT2S	0.2	0.1	76.1	72.6	75.4
RT7S	0.1	0.1	72.2	80.3	78.3
RT41S	0.2	0.5	75.5	69.0	67.0
RT132S	0.1	0.1	75.9	79.1	76.2
RT134S	0.2	0.1	83.5	71.7	71.2
RT80S	0.0	0.1	74.3	27.7	1.3
RT124S	0.5	0.1	67.8	21.7	4.7
RT81S	0.0	0.1	26.4	2.3	5.0
RT142S	0.0	0.1	17.3	3.1	1.8

Table 5 Classification of the male sterile cytoplasm

Cytoplasm group	Line	Remark
I	RT18S [*] , RT153S	Gametophytic cytoplasm
II	RT4S [*]	Fertility may be determined by the cytoplasm only
III	RT2S [*] , RT7S, RT41S [*] , RT132S, RT134S	Sporophytic cytoplasm (?)
IV	RT80S, RT124S	Low fertility for RT100F
V	RT81S, RT142S	Low fertility for RT98F

* Lines used also in the previous experiment.

稔性回復系統との間で 90% 以上であり正常稔であった。両系統の間には稔性反応に関してまったく差がなく、したがって、これら 2 系統の細胞質は同質のものとして他系統の細胞質と区別できた。RT18S は前回の実験で単独のグループとして分類されており、今回 RT153S を RT18S のグループに入れることができた。

RT4S はすべての組み合わせで不稔を示した。すべての組み合わせにおいて不稔となった系統は他になく、したがってこの系統の細胞質は他の系統の細胞質と異なっており、単独のグループとして分類された。同系統は前回の RT61F および RT98F を検定親として用いた交雑でも不稔を示し特異的な細胞質をもつものとして単独グループに分類されており、今回も一致した結果を示した。

RT2S は RT61F および BTF との交雑でほとんど 0% に近い稔性を示し、RT98F, RT100F および RT102F との交雑では 70~80% 程度の高稔を示した。これとまったく同様な稔性反応を示した系統には他に RT7S, RT41S, RT132S および RT134S の 4 系統があった。これらは RT100F や RT102F との交雑で低稔や不稔となった表 4 の RT80S 以下の系統とは異なっており、またお互いの間でも差が認められなかった。したがってこれらグループの細胞質は同一グループを形成していた。RT2S および RT41S の 2 系統は前回の報告でも同一細胞質をもつものとして分類された。今回、この RT2S および RT41S に新たに RT7S, RT132S および RT134S の 3 系統を加えることができた。

RT80S および RT124S は RT61F および BTF との交雑で不稔を示しており、ここまでは上の RT2S のグループと同じ稔性反応であった。しかし、RT100F との交雑で 20~30% 程度の低稔、RT102F との交雑で 5% 以下の不稔となり、上で述べた全てのグループとはもちろんのこと次に示す最後の 2 系統とも異なる稔性反応を示した。お互いの間でも稔性反応に差がなかった。したがってこれら系統を他と異なる細胞質をもつものとして分類できた。

RT81S および RT142S の 2 系統は RT61F および BTF との交雑で不稔、RT98F との交雑で 20% 程度の低稔となった。RT98F との交雑で低稔となったのはこれら 2 系統だけであり、明らかに他の系統と区別できた。また RT100F との交雑では不稔を示しており、ここでも他と稔性反応が異なっており区別することができた。なお、RT102F との交雑では不稔であった。これら 2 系統はどの組み合わせにおいてもお互いの間で稔性に差がなかった。したがって、RT81S および RT142S 系統は同質の細胞質をもつことを示している。

以上の分類を表 5 にまとめた。RT18S および RT153S は配偶体型細胞質をもっており、花粉半稔性を示した。これらは全ての検定親に対して回復を示し正常種子稔性となった。RT4S はどの検定親に対しても稔性回復を示さなかった。RT2S のグループは RT61F および BTF との交雑では稔性回復を示さなかったが RT98F, RT100F および RT102F との交雑では稔性回復を示した。RT100F および RT102F は予備実験より孢子体型の遺伝を示すことが予測されており、したがって RT2S のグループは孢子体型の細胞質をもつことが示唆された。RT80S のグループは RT100F で低稔、RT81S のグループは RT98F で低稔となり、それぞれ別のグループに分けられた。

考 察

さきに、著者の一人本村は 10 系統の細胞質雄性不稔系統を RT61F および RT98F の 2 系統を検定親として交雑実験を行い、これら細胞質雄性不稔系統の細胞質を 5 つのグループに分けることができた⁴⁾。本実験では前回用いた RT2S, RT4S, RT18S および RT41S の 4 細胞質雄性不稔系統の他に新たに 8 つの細胞質雄性不稔系統を加えて分類を試みた。分類の精度を上げるために検定親の数を前回の 2 系統に新たに 3 系統を加え計 5 系統で実験した。

RT18S は前回、配偶体型細胞質をもつものとして分類されたが、今回の実験で RT153S が RT18S と全く同

一の稔性パターンを示したことから、RT153SをRT18Sのグループに入れることができた。しかし、同じ配偶体型雄性不稔を示す細胞質でもいくつかのタイプが知られており^{7,8)}、同質細胞質であることを確認するためにはもっと多くの稔性回復遺伝子を用いて実験を進める必要がある。なお、既に示したようにRT18Sは*O. rufipogon*由来、RT153Sは*O. breviligulata*由来であり、種をまたがって同質の細胞質が存在したことは系統分化の面から興味深い。RT4Sはすべての稔性回復遺伝子で回復しなかった。RT98F、RT100FおよびRT102Fの稔性回復遺伝子は比較的多くの雄性不稔細胞質に対して効果的な稔性回復効果を示す(このようなものを広親和性稔性回復系統と呼ぶことにする)がこれらの稔性回復遺伝子でもRT4S細胞質に対しては稔性を回復し得なかった。RT98Fを交雑した前回の実験でも同じ結果が得られている。あるいはこれは細胞質のみで稔性が決定されているかもしれない。なお、この系統の原系統はアメリカ産であり、この特異性は地域的隔離によって分化が進んでいったためなのかも知れない。

RT2S、RT7S、RT41S、RT132SおよびRT134Sの5系統は次の理由から胞子体型細胞質をもつと思われる。一般に、胞子体型を示す雄性不稔細胞質における花粉稔性はたとえ機能をもたない花粉でも見かけ上正常に観察される。また、RT100FおよびRT102Fは予備実験から胞子体型の遺伝を示すことが予測されている。RT2S、RT7S、RT41S、RT132SおよびRT134Sの5系統はすべての組み合わせで花粉正常稔(見かけ上のものもある)を示し、また、RT100FおよびRT102F(胞子体型遺伝を示すことが予測されている)との交雑で種子稔性の回復を示していた。したがってこれら5系統の細胞質は胞子体型であると思われる。このことは遺伝分析を進めることによって明らかとなろう。

RT80SおよびRT124SはRT98Fの稔性回復遺伝子でのみ効果的に稔性を回復しており、胞子体型にも配偶体型にも属さない別のタイプの細胞質かも知れない。さ

らに実験を進め細胞質の特質を調べる必要がある。RT81SおよびRT142Sは広親和性をもつRT98Fとの交雑でも低稔を示し、特異的な細胞質をもっていた。これらの細胞質についても今後詳しい研究が期待される。

最初に述べたように、今回は分類の精度を上げるために検定親を増して実験を行った。その結果、たとえばRT98Fのみでは検出不可能なRT2SグループとRT80Sのグループの差をRT100Fを用いることによって検出できた。またRT61FとBTFは同一の遺伝子をもつことが確かめられているが⁹⁾、本実験でも多くの雄性不稔系統に対する稔性反応が互いに一致していたことから、そのことがさらに確認された。

引用文献

1. BECKETT, J. B. 1971 Classification of male sterile cytoplasm (*Zea mays* L.) Crop Sci. 11: 724-727.
2. 本村恵二・比嘉良久・村山盛一・石嶺行男 1992 *Oryza rufipogon* K61 系統を *O. sativa* 台中 65 号で核置換した系統における雄性不稔の遺伝. 熱帯農業 36: 8-13.
3. 本村恵二・東恩納智・石嶺行男・村山盛一 1992 イネ雄性不稔細胞質および稔性回復遺伝子の分類・同定 I. RT61 系統の雄性不稔細胞質および稔性回復遺伝子の同定. 熱帯農業 36: 221-226.
4. 本村恵二 1992 イネ雄性不稔細胞質の分類. 熱帯農業 36: 281-285.
5. 志賀敏夫・高柳謙治・堀井裕子 1973 ナタネ細胞質雄性不稔性の回復力の品種、系統間差異. 育種学雑誌 23 (別冊 2): 128-129.
6. 志賀敏夫 1976 ナタネの細胞質雄性不稔性利用によるヘテロシス育種に関する研究. 農業技術研究所報告 27: 1-101.
7. 新城長有・石嶺行男・本村恵二 1982 イネの細胞質雄性不稔系統と稔性回復系統との F₁ 稔性による雄性不稔細胞質と稔性回復遺伝子の同定. 育種学雑誌 32 (別冊 1): 126-127.
8. 新城長有・石嶺行男・本村恵二 1982 稔性回復イネ系統の相互交雑 F₁ 稔性による雄性不稔細胞質と稔性回復遺伝子の同定. 育種学雑誌 32 (別冊 1): 126-127.
9. TSUNEWAKI, K. and H. TSUJIMOTOO 1983 Genetic diversity of the cytoplasm in *Triticum* and *Aegilops*. Proceeding of the 6th International Wheat Genetics Symposium, November 28-December 3, 1983, Kyoto, Japan. Kyoto University, Kyoto, Japan. pp. 1139-1144.