

(別紙様式第7号)

学位論文審査の結果の要旨

氏名	増崎 真一
審査委員	<p>主査 執行 正義 (印)</p> <p>副査 山内 直樹 (印)</p> <p>副査 細木 高志 (印)</p> <p>副査 伊藤 真一 (印)</p> <p>副査 田邊 賢二 (印)</p>
題目	<p>Applied Cytogenetic Studies of <i>Allium</i> Alien-Chromosome Addition Lines toward Elucidation of Genetic Systems in Bulb Formation of Shallot (<i>Allium cepa</i> L. <i>Aggregatum</i> group)</p> <p>(シャロットのりん茎形成に関する遺伝系の解明に向けたネギ属異種染色体添加系統の応用細胞遺伝学的研究)</p>
<p>審査結果の要旨 (2,000字以内)</p> <p>中高緯度地域によく適応したタマネギや東南アジアなどの低緯度地域で栽培されるシャロットはともにネギ属の最重要種である <i>Allium cepa</i> L. に属している. 本種の栽培・生産は世界的に行われており, 食用野菜の中ではトマトに次ぐ2番目の生産量を有している. また, 人の体質改善効果で知られるように, 本種のりん茎部には様々な機能性化学内容成分が存在している. りん茎の着色性や肥大性はりん茎形成に直接関係する重要な農業形質であり, それらの形質発現には機能性成分として知られるフラボノイド類とフルクトオリゴ糖の生合成が深く関わっている. この様に, りん茎形成は本種や近縁種の成分育種を考える上でも重要な形質である.</p> <p>異種染色体添加系統は, 染色体供与親の遺伝子や DNA マーカーの座乗染色体の決定だけでなく, 供与親から受容親への形質導入にも利用することができる. これまでに, ネギ属植物ではシャロット由来単一異種染色体を添加したネギ系統シリーズが育成され, 比較的単純な遺伝様式を示すアイソザイム遺伝子や DNA マーカーについて座乗染色体が決定されてきた. しかし, この添加系統シリーズでは複雑な遺伝様式を示す形質発現に関わる遺伝子の座乗染色体を決定することは困難であった. 本研究では, より複雑な遺伝系を示す形質の分析に適した‘シャロット由来の複数染色体を同時に添加したネギ系統’を育成して, りん茎形成に関する複雑な遺伝系の全容解明に向けて以下の項目を検討した. また, ネギの内容成分の改変を目指して, 添加系統を利用した新たな品種改良法を提案した. 研究の成果は以下のように要約される.</p>	

1) *Allium cepa* 染色体特異的 DNA マーカーの開発

添加された複数のシャロット染色体を完全に同定するためには再現性のある DNA マーカーが必須である。そこで、Fischer・Bachmann(2000)によるタマネギのマイクロサテライト(SSR)を増幅するためのプライマーセット(AMS)を用いて21のSSRマーカーを八種類の*A. cepa*染色体にそれぞれ割り当て、一種類に少なくとも二つの染色体特異的 DNA マーカーが得られた。

2) 染色体 5A をもつ複数添加系統の作出

染色体 5A を有する複数添加系統を選抜するために、ネギとシャロットの複二倍体への二回目の戻し交雑より得られた113個体の戻し交雑第二代について、染色体 5A 特異的 PGI アイソザイムマーカーの分析を行った。その結果、30個体のBC₂が染色体 5A をもつと推定され、それらの染色体数(2n)は18から23まで分離していた。残りの添加染色体を同定するために、1)で開発した3つのSSRマーカーを含む7種類の染色体マーカーの分析と核型分析を行い、19個体の染色体構成を完全に同定した。

3) 複数添加系統の葉鞘基部(りん茎部)の生化学的および形態特性

複数添加系統を用いたフラボノイド類の分析では、ケンフェロールを多く含むグループ I とケルセチンを多く含むグループ II に分けられた。二つのグループ間で染色体構成を比較すると、グループ II の複数添加系統だけが染色体 7A を有していた。また、グループ II はケルセチンアグリコン(小グループ a)とケルセチン配糖体(小グループ b)をそれぞれより多く含む系統群に分けられ、小グループ b の個体のみが 3A もしくは 4A を有していた。アントシアニン類の分析では、シアニジン配糖体の含量が高い個体だけが 4A をもっていた。これらの結果は、ケルセチン合成に関与するフラボノイド 3'-水酸化酵素(F3'H)遺伝子が染色体 7A に、ケルセチンのグリコシル化に関わる何らかの遺伝子が 3A または 4A に、アントシアニジンのグリコシル化に関与するフラボノイド 3 位糖転移酵素遺伝子が 4A に座乗することを示唆した。また、りん茎の形態調査の結果、染色体 2A をもたない4個体は他より優れた肥大能を有するがほとんど分けつをしないことがわかった。このことから、りん茎形成と分けつ性に関与する遺伝子が染色体 2A に存在することが示唆された。

4) りん茎形成関連遺伝子の座乗染色体の決定

複数添加系統のフラボノイド組成に関する表現型の分析により、中間代謝物の生成に作用する全ての遺伝子について座乗染色体を決定することは困難である。そこで、データベースに登録済の配列情報を利用して、りん茎形成に関与する遺伝子についてPCR増幅用プライマーの設計を行ない、添加系統シリーズを用いたSCAR分析により座乗染色体の決定を試みた。その結果、染色体 2A にはカルコン合成酵素(CHS)-Aが、3Aにはカルコンイソメラーゼおよびフラバノン 3'-水酸化酵素が、4AにはCHS-B、フラボノール合成酵素およびアントシアニン合成酵素が、5Aにはスクローストランスポーターが、7AにはF3'Hおよびジヒドロフラバノール 4-レダクターゼがそれぞれ座乗していた。フラボノイド合成系酵素遺伝子については、着色性に影響を与える全ての構造遺伝子の座乗染色体が明らかにされた。

5) 染色体 5A を一対もつ四倍体ネギの育成

不完全ではあるがりん茎が着色・肥大する染色体5Aを添加した系統はネギの成分育種に活用できる。しかし、この系統は後代で染色体数の分離が起こるため、種子増殖ができない。そこで、添加染色体が高い割合で後代に伝達され、種子増殖が可能な‘染色体倍加系統’の作出を試みた。44個のFF+5Aの茎頂部の培養から得られた再生体12個体について各起源層(第1層~第3層)の倍数性調査を行なった結果、3個体で染色体倍加が確認され、ネギ属植物では初めて重複異種染色体添加四倍体系統が作出された。

以上のように、得られた遺伝情報や植物材料は、*Allium cepa* L. のゲノム研究の進展、並びに、シャロット由来優良遺伝子をもつ新たなネギ品種の開発に貢献するものであった。審査委員会は、本論文の内容を評価し、学位論文として十分価値を有するものと判断した。