

## 学位論文審査の結果の要旨

氏 名	Vu Quynh Hoa
審 査 委 員	<p style="text-align: center;">主 査 執行 正義 ⑩</p> <p style="text-align: center;">副 査 山内 直樹 ⑩</p> <p style="text-align: center;">副 査 小林 伸雄 ⑩</p> <p style="text-align: center;">副 査 辻本 壽 ⑩</p> <p style="text-align: center;">副 査 伊藤 真一 ⑩</p>
題 目	<p style="text-align: center;">Exploitation of Indigenous <i>Allium</i> Germplasm in Southeast Asia and Its Application to Practical Cytogenetic Studies (東南アジアにおける在来ネギ属遺伝資源の探索とその実用細胞遺伝学研究への応用)</p>
審査結果の要旨 (2,000字以内)	
<p><i>Allium cepa</i> は2つのグループ, すなわち, タマネギが属する Common onion group とシャロットが含まれる <i>Aggregatum group</i> に大別される. 近年, <i>A. cepa</i> における育種目標は雄性不稔性, 健康機能性, 病害抵抗性などの有用な形質を導入した新品種開発に置かれている. そこで本研究では, <i>A. cepa</i> の新たな育種素材を探索するために, ベトナムやその他の国々から収集したシャロット遺伝資源および絶滅が危惧されている野生種 <i>Allium roylei</i> に注目した. 本研究は以下の3つの目的のもとに遂行された: 1) 化学内容成分とそれらの抗酸化能との関係に基づくシャロット遺伝資源内変異の特徴付け, 2) シャロット由来のいくつかの化学内容成分の抗真菌性評価およびネギーシャロット単一異種染色体添加系統シリーズを用いたネギ萎ちょう病抵抗性遺伝子が座乗するシャロット染色体の決定, 3) <i>Allium roylei</i> を細胞質および染色体提供種として用いた <i>A. cepa</i> の細胞質置換系統と単一異種染色体添加系統の作出.</p> <p>シャロット遺伝資源における化学成分含量の定量分析を行ったところ, ベトナム南部と他の低緯度の国々由来のシャロット系統でポリフェノール, サポニンおよびケルセチンの含量が高くなる傾向がみられた. その一方で, ベトナム北部の系統では, かなり高い <i>S-alk(en)yl-L-cystein sulfoxide</i> と糖の含量を有するものがみられた. TLC によるサポニンの定性分析では, 系統間における変異はみられなかったが, シャロットと <i>A. roylei</i> の間では多型が観察された. さらに, 主成分分析を行うと, 地理的分布によってシャロット系統の化学成分特性をはっきり区別することができた. 一方で, DPPH アッセイでは, すべての系統が高い抗酸化活性を示した. 最も高い抗酸化能は, 比較的高いポリフェノール, ケルセチンおよびサポニンの含量を有する系統でみられた. 有意な相関関係が抗酸化能 (<math>IC_{50}^{-1}</math>) との4種類の化合物間でそれぞれみられ, 最も高い相関関係は <math>IC_{50}^{-1}</math> とケルセチン含量の間でみられた. <i>Fusarium</i> 菌を接種した6つのシャロット系統は病害に対して十分に抵抗性を有し, そのレベルは鱗茎組織におけるサポニン含量に関連していた.</p>	

*Fusarium oxysporum* の分離株を用いてシャロット鱗茎由来各種分画の抗真菌効果を調査した結果、ヘキサンとブタノール分画のみで高い抗真菌活性がみられ、水分画では菌の抑制はみられなかった。*Allium fistulosum* (ネギ)から単離された *F. oxysporum* f. sp. *cepae* の接種試験をシャロットおよび8種類のネギ-シャロット単一異種染色体添加系統シリーズ (FF+1A-FF+8A) を用いて行った。その結果、接種後のシャロットは全く病徴を示さないことがわかった。また、接種3日後における根のポリフェノール含量と水耕培地に放出されたサポニン含量は無処理区より高くなり、接種後28日では無処理区とほぼ同等であった。*Fusarium oxysporum* の孢子懸濁液に浸したネギの種子由来幼苗の育成用培土に凍結乾燥したシャロットの根浸出液を滴下したところ、感染に対する防御反応がみられた。添加系統シリーズとネギを用いた接種試験を実施したところ、FF+2Aはネギ萎ちょう病に対する高い抵抗性を有していた。また、この添加系統のサポニン TLC プロファイル中にはシャロット特異的なスポットがみられ、2A染色体はネギ萎ちょう病抵抗性と抗真菌性のサポニン生産に関連する遺伝子をとともに有していた。

*Allium roylei* とシャロットの複二倍体にシャロットを交雑して得られた BC<sub>1</sub> を種子親とし、さらにタマネギを交雑して127個体の BC<sub>2</sub> 実生を得ることができた。実生の染色体調査の結果、44個体が  $2n=17$  であった。次に、核型分析と遺伝的マーカーの解析を通して8種類の添加染色体が確認され、シリーズ完成に至った。さらに、GISH法による分析を行ったところ、添加染色体は *A. cepa* 染色体から色分けされ、1個体の例外を除いて、添加系統シリーズはそれぞれ純粋な *A. cepa* の2倍性バックグラウンドに完全な *A. roylei* 染色体が一本添加されていることがわかった。

一方で、 $2n=16$  を示した正二倍体 BC<sub>2</sub> 個体のアイソザイム分析の結果、全68個体において *A. cepa* 型の対立遺伝子のみが観察され、これらの核ゲノム中には *A. roylei* 由来の核遺伝子が存在しないことが示唆された。得られた正二倍体から5個体を任意に抽出して葉緑体 DNA の SSR 解析を行ったところ、全ての個体が *A. roylei* と同じ位置に単一バンドを有しており、R型細胞質をもつことが示された。したがって、本研究で得られた正二倍体はR型細胞質をもつ *A. cepa* 細胞質置換系統であることがわかった。得られた正二倍体 BC<sub>2</sub>49 個体について花粉稔性を調査したところ、カーミン染色された成熟花粉の割合が1回目と2回目の調査で、ともに10%未満であった個体は、36個体であった。そのうち、32個体は発芽花粉が全くみられない雄性不稔性を示した。したがって、*A. cepa* への *A. roylei* 細胞質の導入により雄性不稔性が引き起こされることが判明した。

本研究で得られた植物材料と成果は、*A. cepa* 遺伝子プール内にある栽培種や野生種の生化学および遺伝学研究の更なる進展に役立つとともに、栽培品種の育種計画に新風を吹き込むものである。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。