

氏名	とらん てい みん ほん TRAN THI MINH HANG
学位の種類	博士 (農学)
学位記番号	甲第363号
学位授与年月日	平成17年 3月15日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Development of <i>Allium</i> alien-chromosome addition lines and its application to genetics and breeding in shallot ( <i>A. cepa</i> L. <i>Aggregatum</i> group) (ネギ属異種染色体添加系統の作出とそのシャロット遺伝・育種学的研究への応用)
学位論文審査委員	(主査) 執行正義 (副査) 山内直樹 高橋 肇 細木高志 辻本 壽

### 学位論文の内容の要旨

The shallot (*Allium cepa* L. *Aggregatum* group, genome AA,  $2n=2x=16$ ) is closely related to the common onion (*A. cepa* L. Common onion group), but it has more adaptability to tropical and sub-tropical zones than the common onion. This vegetable crop is, therefore, a potentially important genetic resource as well as an indispensable food crop worldwide. Detailed gene analyses of the shallot are necessary for its efficacious utilization in the breeding of *Allium* crops including the shallot itself. Alien chromosome addition lines seem to be beneficial for the study of genome organization in donor species as well as for the practical breeding of recipient species. In this study, to enhance the genetics and breeding of the shallot, reciprocal chromosome addition lines were furnished or produced between the shallot and *A. fistulosum*.

One complete set of *A. fistulosum* - shallot monosomic addition lines ( $2n=2x+1=17$ , FF+1A-FF+8A), established by Shigyo et al. (1996), was used to identify shallot chromosomes affecting the production of sugars. This complete set, grown over two years, from Jan. 2002 to Dec. 2003, in an experimental field at Yamaguchi University, was investigated with regard to the variation of sugar content throughout the year. On the whole, shallot chromosomes 2A and 8A altered the sugar contents in the leaf-bunching onion (*A. fistulosum*). Except for FF+2A, every monosomic addition accumulated non-reducing sugars in winter leaf blades. FF+8A caused an increase in the amounts of non-reducing sugars

in winter. FF+2A produced very little non-reducing sugar throughout the two-year study. These results indicated that genes related to the non-reducing sugar metabolism are located on the 2A and 8A chromosomes. The results of regression analyses using 2002 data on *A. fistulosum* and the monosomic addition set revealed a correlation ( $r=0.63\pm 0.07$ ; mean  $\pm$  SE,  $n=9$ ) between reducing sugar and monosaccharide (Glc+Fru) contents but no correlation between non-reducing sugar and sucrose contents. These results imply the existence of other polysaccharides (e.g., scorodose) as non-reducing sugars in the leaf blade.

First and second backcrosses of amphidiploid hybrids ( $2n=4x=32$ , AAFF) between the shallot and *A. fistulosum* were conducted to produce shallot – *A. fistulosum* chromosome addition lines. When the shallot was used as a pollinator, the amphidiploids and allotriploids set germinable BC<sub>1</sub> and BC<sub>2</sub> seeds, respectively. The 237 BC<sub>1</sub> plants mainly consisted of 170 allotriploids ( $2n=3x=24$ , AAF) and 42 hypo-allotriploids possessing 23 chromosomes, i.e., single-alien deletions ( $2n=3x-1=23$ , AAF-nF). The single-alien deletions in the BC<sub>1</sub> progeny showed dwarfing characteristics and were discriminated from the allotriploids ( $2n=24$ ) and hyper-allotriploids ( $2n=25$ ) by means of flow cytometric analysis. The chromosome numbers of 46 BC<sub>2</sub> seedlings varied from 16 to 24. Eight monosomic additions ( $2n=2x+1=17$ , AA+nF) and 20 single-alien deletions were found in these BC<sub>2</sub> seedlings. Consequently, six kinds of *A. cepa* – *A. fistulosum* alien chromosome additions possessing different chromosome numbers ( $2n=17, 18, 20, 21, 22, 23$ ) were recognized in the BC<sub>1</sub> and BC<sub>2</sub> populations. The eight monosomic additions and 62 single-alien deletions were analyzed by chromosome-specific genetic markers (1F, *Lap-1<sup>F</sup>*; 2F, *Got-1<sup>F</sup>*; 4F, ACABE16F; 5F, ACAEJ67F; 6F, *Got-2<sup>F</sup>*; 7F, 5S-Rdna-5; 8F, *Gdh-1<sup>F</sup>*) in order to recognize their existence in the chromosome complements. This analysis revealed an extra chromosome and a deleted chromosome in some of the monosomic additions and single-alien deletions, respectively. Eight monosomic additions consisted of three AA+6F and five AA+8F lines. Fifty-six of the 62 single-alien deletions could be identified as five different single-alien deletions (AAF-1F, AAF-4F, AAF-6F, AAF-7F, AAF-8F) out of the eight possible types. The present study is a first step toward the development of a useful tool, such as a complete set of eight different single-alien deletions, for the rapid chromosomal assignment of genes and genetic markers in *A. fistulosum*.

Such genetic information and plant materials are valuable for advancing the study of the shallot genome organization and raising new shallot varieties harboring desirable genes of *A. fistulosum*, respectively.

## 論文審査の結果の要旨

熱帯および亜熱帯地域でよく知られるシャロット (*Allium cepa* L. Aggregatum group,  $2n=2x=16$ ,

ゲノム構成は AA) は同低緯度地方における重要な栄養繁殖性野菜であり、また、他のネギ属野菜の重要な遺伝子資源でもある。ネギ属野菜の育種において、シャロットの遺伝質を効果的に利用するためには、その詳細な遺伝子分析が必要である。異種染色体添加系統は、染色体供与親のゲノム研究を行う上で、また、外来遺伝質を染色体受容親へ導入する上でそれぞれ重要な植物材料である。本論文では、シャロットの遺伝情報の蓄積および染色体工学的改良を目指し、同植物とネギ (*A. fistulosum* L.,  $2n=2x=16$ , FF) の相互間における異種染色体添加系統を利用して幾つかの遺伝解析を行った。

#### 1 シャロット由来単一異種染色体添加が葉ネギの炭水化物生産に及ぼす影響について

本研究では、葉ネギの品質に深く関係する炭水化物である糖の含量の周年変化をシャロット由来単一異種染色体をもつネギ系統シリーズ ( $2n=2x+1=17$ , FF+1A-FF+8A) において調査した。添加系統シリーズの周年変化を比較すると、FF+2A と FF+8A に特徴的な差異がみられた。ネギおよび FF+2A 以外の添加系統では、冬期において葉身に非還元糖を蓄積する傾向がみられた。FF+2A では、非還元糖は年間を通じてほとんど生産されていなかった。このことから、2A 染色体上にネギ葉身中の非還元糖の生産抑制もしくは分解促進に関与する遺伝子(群)が存在することが示唆された。また、FF+8A では厳寒期に非還元糖含量の急激な増加がみられることから、抽だい前のこの時期に非還元糖の生産を促進するシャロット由来遺伝子(群)が発現していることが示唆された。これらの結果より、ネギ葉身中の非還元糖代謝に関与する遺伝子(群)が 2A および 8A 染色体に座乗していることが明らかになった。さらに、添加系統シリーズの 2002 年データを用いた単回帰分析の結果、還元糖含量と単糖(グルコース+フルクトース)含量の間に強い正の相関がみられ、また、非還元糖含量とスクロース含量の間では相関がないことがわかった。このことは、非還元糖として検出されている化合物にはスクロース以外のものも含まれていることを示唆していた。

#### 2 ネギ由来添加染色体をもつシャロット系統の作出とそれらの染色体構成

シャロットとネギの複二倍体 ( $2n=4x=32$ , AAFF) への二度の戻し交雑よりネギ由来異種染色体を添加したシャロット系統の作出を試みた。シャロットを花粉親として戻し交雑を行ったところ、複二倍体および異質三倍体 ( $2n=3x=32$ , AAF) より、それぞれ発芽能力のある BC<sub>1</sub> および BC<sub>2</sub> 種子が得られた。BC<sub>1</sub> 237 個体のうち、170 個体は異質三倍体で、42 個体は低異質三倍体 ( $2n=3x-1=23$ , AAF-nF)、すなわち、単一異種染色体欠失系統であった。BC<sub>1</sub> 世代の欠失系統は、矮性を示し、フローサイトリー分析によって異質三倍体 ( $2n=24$ ) および高異質三倍体 ( $2n=25$ ) から区別された。また、得られた 46 個体の BC<sub>2</sub> 実生の染色体数 ( $2n$ ) は 16 から 24 の間で連続した分布を示した。その BC<sub>2</sub> 集団の中から 8 個体の単一異種染色体添加系統(単一添加系統,  $2n=2x+1=17$ , AA+nF) と 20 個体の欠失系統が見出された。全作出個体の細胞遺伝学的調査の結果、染色体数が異なる 6 種類のシャロット-ネギ異種染色体添加系統 ( $2n=17, 18, 20, 21, 22, 23$ ) が得られていることがわかった。それらのうち、単一添加系統 8 個体および欠失系統 62 個体については、染色体構成に関する詳細な分析をネギ染色体特異的遺伝マーカーで行った。この分析により、単一添加系統および欠失系統の添加および欠失染色体がそれぞれ同定された。8 個体の単一添加系統に関しては、3 個体がネギ第 6 染色体を添加したシャロット系統 (AA+6F) であり、また、5 個体が AA+8F であっ

た。さらに、62 個体の欠失系統中 56 個体の欠失染色体が同定され、作出可能な八種類のうち五種類 (AAF-1F, AAF-4F, AAF-6F, AAF-7F, AAF-8F) が得られていることがわかった。この一連の植物材料は世界的にみても高い新規性を有し、希少価値をもっている。本研究は、ネギの遺伝子および遺伝的マーカーを迅速に各染色体への振り分ける有効なツールである他に類をみない‘欠失系統シリーズ’の完成へ向けた布石となった。

以上のように、得られた遺伝情報や植物材料は、シャロットのゲノム研究の進展、並びに、ネギ由来優良遺伝子をもつ新シャロット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。