

(様式第13号)

学位論文要旨

氏名：若生 忠幸

題目: Genetic studies of disease resistance and bolting time based on genomic analysis
in Japanese bunching onion (*Allium fistulosum* L.)
(ネギのゲノム解析に基づく病害抵抗性および抽苔性の遺伝学的研究)

ネギ (*Allium fistulosum* L.) は日本人の食によく親しまれ、健康増進に役立ち、わが国における生産額も多い不可欠な野菜である。しかし、品種育成を行う上で有益な病害抵抗性や晩抽性に関する遺伝学的知見の蓄積はなされておらず、これらの形質に着目した育種素材や選抜手法に関する研究開発に支障をきたしている。本研究では、ネギの重要病害であるさび病に抵抗性をもつ品種育成を進展させるため、高度抵抗性を有する遺伝資源の同定とそれらの抵抗性の遺伝様式の解明に取り組んだ。また、晩抽性は春～初夏の生産における収量と品質の安定化に関する農業形質であり、ネギ抽苔メカニズムの分子遺伝学的解明の端緒として同形質に関与する遺伝領域の解明を試みた。一方で、ネギ属の遺伝学的研究において倍加半数体 (DH) 系統と分子マーカーを併用することは、育種計画に有益な知見を与える。そこで、ネギ属野菜の育種における効率的な選抜法開発に資するため、*Allium cepa* L. の DH 集団を用いて分子マーカーおよび連鎖地図の構築を行った。

(1) *Allium cepa* のさび病抵抗性系統の検索と異種染色体添加による抵抗性のネギへの導入
ネギ ($2n = 16$, ゲノム構成FF) から分離したさび病菌 *Puccinia allii* をネギ、タマネギ (*A. cepa* Common onion group) およびシャロット (*A. cepa* Aggregatum group, AA) に接種したところ、タマネギとシャロットは強い抵抗性を示し、ネギのさび病抵抗性育種に有用な遺伝資源であることが示唆された。抵抗性に関与する *A. cepa* の染色体を明らかにするために、シャロットの8本の染色体を1本ずつ添加した8種類のネギ単一異種染色体添加系統 ($2n = 2x+1 = 17$, FF+1A-FF+8A, 以下添加系統) にさび病菌を接種した。環境制御装置を用いた幼苗期の接種試験では、FF+1Aが強度抵抗性を示し、シャロットの第1染色体に抵抗性に関与する遺伝子が存在する可能性が示唆された。一方で、单一染色体添加系統、複数染色体添加系統および低三倍体の成植物を用いた接種試験では、シャロットに匹敵する強い抵抗性は発揮されなかつたが、FF+1A+5Aにおいて比較的強い抵抗性が再現良く認められた。

(2) ネギのさび病抵抗性のQTL解析

さび病抵抗性系統 ‘Sa03’ と罹病性系統 ‘T03’ との交雑 $F_{2:3}$ 集団におけるさび病発病程度を調査し、同集団を用いて作成されたネギ連鎖地図を用いて量的遺伝子座の特定（QTL解析）を行った。ビニールハウスを用いた2回の接種検定において、さび病抵抗性に関するQTLが第1, 3, 8染色体にそれぞれ対応する連鎖群Chr.1a, Chr.3a, Chr.8aに検出された。検定により異なるQTLが検出されたものの、それぞれのQTLに近傍のマーカーの遺伝子型によりそれらの抵抗性に及ぼす効果が立証された。これらのQTLにより説明される分散は比較的小さいことから、‘Sa03’には抵抗性に関与する他の遺伝子座も存在すると考えられた。

(3) ネギの抽苔性に関するQTL解析

抽苔期の異なるネギ系統間交雑による $F_{2:3}$ 集団について抽苔期を調査し、QTL解析を行った。台湾から導入した不時抽苔性を有する系統 ‘Ki’ と晩抽性系統 ‘C’ との交雫によるKiC集団について、露地圃場で越冬栽培後の抽苔期を調査したところ、2個のQTLが第1および第2染色体にそれぞれ対応する連鎖群Chr.1aおよびChr.2aに再現性よく検出された。春化を抑制させるために、同集団を最低気温10°C以上の加温温室内で栽培したところ、連鎖群Chr.1a上のQTLは検出されなかった。一方で、早期抽苔性系統の ‘Sa03’ と晩抽性系統 ‘T03’ の交雫による SaT03集団について露地越冬栽培で調査した結果、連鎖群Chr.2a上に単一の主要QTLが認められた。両集団の連鎖群Chr.2a上のQTLは同じマーカー座上に位置することから、両者は密接に関連していると考えられた。これらのQTLに連鎖したSSRマーカーは、両集団において抽苔性に関して有意な効果を示した。

(4) 倍加半数体技術を用いた *Allium cepa* 連鎖地図の構築

病害抵抗性の程度や抽苔期が異なるシャロットとタマネギのDH系統を交雫した F_1 植物から雌性発生分離集団を育成し、これらを用いて *A. cepa* の連鎖地図を作成した。10,604個の未受粉小花を培養して再生した100個体の植物体〔うち半数体 ($2n = 8$) 46個体、正二倍体 ($2n = 16$) 40個体、高次倍数体14個体〕を用い、12連鎖群、108マーカーからなる全長799 cMの連鎖地図が構築された。さらに添加系統を用いて12連鎖群を8本の染色体に振り分けた。鱗茎部の着色性に関する形態マーカーは、第7染色体連鎖地図のDFR遺伝子と密接に連鎖していた。また、第2染色体連鎖地図上に座乗する細胞質雄性不稔性 (CMS) の稔性回復を支配する *Ms* 遺伝子座の近傍に5個の分子マーカーを集中マッピングした。

本研究の結果、ネギのさび病抵抗性および晩抽性に関して有効な育種素材を明らかにするとともに、これらの形質に連鎖するDNAマーカーが開発されたことから、生産者や消費者のニーズに応じた品種育成において効率的な選抜に利用することが可能になる。また、ネギと共にDNAマーカーをもつ *A. cepa* 連鎖地図が作成されたことにより、今後、両種の比較ゲノム研究を進展させ、ネギ属野菜における有用形質の遺伝系解明に向けた取り組みをより一層加速させる基盤を構築することができた。