

氏名	かん ぎき しん や 神 崎 真 哉
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学位記番号	農 博 第 1105 号
学位授与の日付	平 成 12 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	農 学 研 究 科 農 学 専 攻
学位論文題目	Studies on molecular markers associated with the trait of natural astringency-loss in pollination-constant and non-astringent (PCNA) type persimmon (完全甘ガキ (PCNA タイプ) の自然脱渋性に関連する分子マーカーに関する研究)

論文調査委員 (主査) 教授 杉浦 明 教授 池橋 宏 教授 矢澤 進

### 論 文 内 容 の 要 旨

カキ果実において脱渋性は最も重要な形質の一つであり、カキ品種はその違いによって完全甘ガキ (PCNA)、不完全甘ガキ (PVNA)、完全渋ガキ (PCA)、不完全渋ガキ (PVA) の四つのタイプに分類される。これらのうち樹上で安定して脱渋し、収穫後の脱渋処理を要しない PCNA 品種の需要が高まっており、優良な果実形質を持った PCNA 品種の育成が育種上の大きな目標になっている。本論文ではカキ育種の効率化を目的として、実生の早い段階で PCNA タイプを選抜できる分子マーカーの検出・同定を行うとともに、甘渋性の遺伝に関して新たな知見を得ようとしたものである。得られた成果の主な内容は以下の通りである。

第1章では、まず BSA (bulked segregant analysis) 法を利用した AFLP 分析を行い、完全甘ガキ / 非完全甘ガキ (PCNA/non-PCNA) の形質を支配する遺伝子に連鎖した AFLP マーカーの探索を行っている。128 通りのプライマー組合せを用いてスクリーニングを行った結果、プライマー組合せ E-ACC/M-CTA によって増幅される約 400 bp のバンドがこれらの形質を支配する優性対立遺伝子の一つに連鎖している可能性が示唆された。さらに、この AFLP マーカー (E-ACC/M-CTA-400) をプローブとして RFLP 分析を行ったところ、PCNA 個体と non-PCNA 個体との間で多型が確認された。*Hind*III 消化による RFLP 分析において、すべての non-PCNA 個体で 6.5 kb および 8 kb のバンドのいずれかあるいは両方のバンドが検出されたが、PCNA 個体ではいずれのバンドも検出されなかった。Non-PCNA 個体における 6.5 kb のバンドの分離は AFLP マーカーの分離と一致しており、また E-ACC/M-CTA-400 が検出されなかった non-PCNA 個体では 8 kb のバンドが検出された。このことより、6.5 kb (および E-ACC/M-CTA-400) と 8 kb のバンドがそれぞれ別々の優性対立遺伝子に連鎖していることが示唆された。これらの結果よりカキ果実の甘渋性は二つの遺伝子に支配されていると考えられ、優性対立遺伝子に連鎖している二つの RFLP マーカーの有無により PCNA タイプの早期選抜が可能であることが示された。

第2章では、non-PCNA 品種と PCNA クローンの交雑実生における RFLP マーカーの分離を調査し、甘渋性の遺伝に関して新たな知見を得ている。先に得られたマーカーは 2 染色体的遺伝をするのではなく多染色体的な遺伝をすることが示唆され、マーカーの分離比から 4 染色体的遺伝をしていると考えられた。カキの多くは 6 倍体でありそのゲノム構成は不明であるが、本研究によりゲノム内に同質染色体を持つことが強く示唆された。

第3章においては既存のカキ品種について RFLP 分析を行い、これらのマーカーが既存品種において広く有効であるかどうかを調査するとともに、AFLP マーカーを用いた PCNA 品種群の遺伝的関係の調査を行っている。中国原産の PCNA 品種 '羅田甜柿' を含めた既存 33 品種 (PCNA 13 品種, non-PCNA 20 品種) について RFLP 分析を行い、マーカーの有無

を調査した。その結果、non-PCNA 20 品種ではすべて優性対立遺伝子に連鎖する RFLP マーカーが存在し、この RFLP マーカーは既存の品種群にも広く有効であることが示唆された。'羅田甜柿' 以外の PCNA 品種はすべて同じバンドパターンを示し、優性対立遺伝子に連鎖する RFLP マーカーを示す品種はなかった。'羅田甜柿' には PCNA 品種であるにも関わらず優性対立遺伝子に連鎖する RFLP マーカーが存在し、日本の PCNA 品種群とは異なるタイプであることが示唆された。また、AFLP マーカーによる調査から、日本の PCNA 品種群は比較的近縁な関係にあることが示され、特に岐阜原産の PCNA 品種群の近縁性が顕著であった。'羅田甜柿' は日本の PCNA 品種群とは遺伝的に遠い関係にあり、異なる進化過程を経て成立してきたものと考えられた。

以上の結果より、本研究において検出・同定された RFLP マーカーは PCNA 個体の早期選抜に有効であることが示され、また、PCNA/non-PCNA の形質が二つの異なる遺伝子座にある遺伝子によって支配され、それらは多染色体的に遺伝することが示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

完全甘ガキ (PCNA タイプ) の優良な品種を新たに育成してゆくには、従来のような PCNA タイプ同士の交雑を繰り返す育種法には限界がある。この問題を解決するためには PCNA タイプと非完全甘ガキ (non-PCNA タイプ) との交雑により、PCNA タイプの遺伝的変異を拡大させる必要がある。しかし、これまでの交雑試験の結果によれば、両者の交雑から PCNA タイプを得るためには少なくとも 2 世代交雑を行う必要があり、また第 2 世代における PCNA タイプの出現率が低いため、膨大な労力と時間を要するわりには効率が悪く、実際の育種現場ではこのような育種法を進めることができなかった。本論文は多数の交雑実生集団より PCNA タイプを早期選抜するための分子マーカーを検出・同定し、その有効性を検討するとともに、甘渋性の遺伝に関して新たな知見を得ようとしたものである。評価される主な成果は以下の通りである。

1. PCNA/non-PCNA の形質を決定する優性対立遺伝子の一つに連鎖した AFLP マーカーを検出し、さらにこのマーカーをプローブとして RFLP 分析を行うことにより得られる二つの RFLP マーカーの有無により PCNA タイプの識別が可能であることを示した。

2. 交雑後代における RFLP マーカーの分離を調査して、これらのマーカーが 2 染色体的遺伝をするのではなく、多染色体的遺伝をしていることを明らかにし、カキゲノム内に同質染色体が存在する可能性を提示した。

3. 中国原産の PCNA 品種 '羅田甜柿' を含めた 33 既存品種に関して RFLP マーカーによる PCNA タイプ識別の有効性を検討し、日本の品種群においては PCNA タイプの識別にこの手法が 100% 有効であることを確認した。一方、'羅田甜柿' は日本の PCNA 品種群とは異なるタイプの PCNA 形質を有することが示唆された。

4. AFLP マーカーを用いて 33 品種の遺伝的類縁関係を調査した結果、日本の PCNA 品種群が比較的近縁関係にあることが示され、PCNA 品種群の遺伝的変異が non-PCNA 品種群と比べて小さいことが浮き彫りになった。なお、'羅田甜柿' は日本の PCNA 品種とは異なる遺伝的背景を持つことが示され、独自に成立してきたことが推察された。

以上のように、本論文はカキの品種改良において最大の課題である PCNA タイプの早期選抜を可能にする分子マーカーの同定を行うとともに、甘渋性の遺伝や PCNA 品種群の成立過程などに対して新知見を加えたもので、果樹園芸学ならびに果樹育種の実践面に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士 (農学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成 12 年 2 月 18 日、論文ならびにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士 (農学) の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。