

氏 名	崔 永 娥
学位の種類	博 士 (農 学)
学位記番号	農 博 第 1372 号
学位授与の日付	平成 15 年 9 月 24 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	Cytogenetic analysis of the phylogenetic relationship between persimmon (<i>Diospyros kaki</i> Thunb.) and several wild relatives (<i>Diospyros</i> spp.) (カキおよびその関連野生種の類縁性に関する細胞遺伝学的解析)
論文調査委員	(主 査) 教授 米 森 敬 三 教授 矢 澤 進 教授 遠 藤 隆

論 文 内 容 の 要 旨

カキ (*Diospyros kaki* Thunb.) は東アジア原産の果樹であり、わが国でも平安時代にはすでに栽培されていたと考えられている馴染み深い果樹であるが、その起原に関してはこれまでほとんど研究が行なわれてこなかった。カキは植物分類学的にはカキノキ科 (Ebenaceae) カキ属 (*Diospyros*) に属する 6 倍体種 ($2n=6x=90$) であるが、400 種以上存在すると報告されているカキ属植物の大部分は熱帯・亜熱帯に分布し、そのほとんどが 2 倍体 ($2n=2x=30$) あるいは 4 倍体 ($2n=4x=60$) の野生種である。このため、6 倍体のカキの種分化にはこれらの野生種が関わっていることが類推される。本論文は、カキの染色体解析によりカキとその関連野生種との類縁関係を明らかにするとともに、そのゲノム内反復配列の分析によりカキのゲノム構造を解析することで、カキの起原に関する知見を得ることを目的としたものであり、論文は以下の 3 章よりなっている。

第 1 章では、カキとその関連野生種との細胞融合個体を用い、multi-color genomic in situ hybridization (MCGISH) による親植物の染色体同定の有効性を確認した後、カキの染色体標本に対して数種関連野生種のゲノム DNA をプローブとして用いた GISH を行ない、カキに近いゲノム構造を持つ野生種を調査している。その結果、インド東部からインドシナ半島北部の亜熱帯地域にかけて分布する *D. glandulosa* ($2n=2x=30$) のゲノム DNA がカキの染色体にもっとも強くハイブリダイズし、中国の温帯地域に分布する *D. oleifera* ($2n=2x=30$) と *D. lotus* ($2n=2x=30$) のゲノム DNA が *D. glandulosa* のゲノム DNA について強くハイブリダイズすることを示した。さらに、これら 3 種のゲノム DNA をそれぞれ組み合わせ、それらをプローブとして用いた MCGISH を行なうことで、*D. glandulosa* のゲノム DNA が他の 2 種よりも強いシグナルを示し、*D. glandulosa* がカキのゲノム構成ともっとも類似していることを確かめている。

第 2 章では、カキ属植物のゲノム DNA を制限酵素 (*EcoRV*, *HincII*, *DraI*) で消化することにより 3 種類の反復配列を単離した後、これらの反復配列をプローブとした DNA プロット分析により、カキ属植物における反復配列の種間分布を調べている。その結果、*EcoRV* により単離した反復配列が検出された 5 種 (*D. kaki*, *D. glandulosa*, *D. oleifera*, *D. lotus*, *D. virginiana*) の中で、北米東部に分布し、食用にも供されている 6 倍体種 *D. virginiana* ($2n=6x=90$) を除く 4 種からは *HincII* により単離した反復配列も検出され、同じ温帯地域に分布する 6 倍体種であっても、カキ (*D. kaki*) とアメリカガキ (*D. virginiana*) のゲノム構造が異なることを明らかにした。さらに、*DraI* により単離した反復配列はインドシナ半島北部の亜熱帯地域に分布する *D. ehretioides* においてのみ検出された。この種は 2 倍体であるにもかかわらず、6 倍体であるカキの 2 倍のゲノムサイズを有しており、この種が他の種とは異なる特異なゲノム構造を持っていることが明らかとなった。また、*EcoRV* および *HincII* により単離した反復配列をプローブとした FISH (fluorescent in situ hybridization) を行なった結果、両配列ともカキ属植物の染色体において、DAPI により強く染色される動原体領域でシグナルが検出され、これら 2 つの反復配列が動原体付近で AT-rich な領域を構成していることを示した。

第 3 章では、45S および 5S rDNA をプローブとした FISH を行なうことで、カキおよびその関連野生種の rDNA サイト

数の地理的多様性を明らかにしている。すなわち、地理的にカキと近い分布を示す種は倍数性の増加に伴いrDNAサイト数も増加する傾向が見られたが、実験に用いた南アフリカに分布している種では、同じ2倍体であるアジアに分布している種よりrDNAサイト数が多く検出され、アジア起原のカキ属植物とは異なる種分化をした可能性を明らかにしている。

論文審査の結果の要旨

カキは東アジア原産の果樹であり、わが国でも古くから栽培されてきた馴染み深い果樹である。しかし、その起原に関してはこれまでほとんど研究が行なわれて来なかった。カキはカキノキ科 (Ebenaceae) カキ属 (*Diospyros*) に属する6倍体種であるが、400種以上存在すると報告されているカキ属植物の大部分は熱帯・亜熱帯に分布し、そのほとんどが2倍体あるいは4倍体の野生種である。このため、6倍体のカキの種分化にはこれらの野生種が関わっていることが類推される。本論文は、カキの染色体解析によりカキとその関連野生種との類縁関係を明らかにするとともに、ゲノム内反復配列の分析からカキのゲノム構造を解析し、その起原に関する知見を得ることを目的としたもので、得られた主要な成果は以下のとおりである。

1. カキの染色体へ数種の関連野生種から得たゲノムDNAをプローブとする genomic in situ hybridization (GISH) を行なうことで、インド東部からインドシナ半島北部の亜熱帯地域に分布する *D. glandulosa* ($2n=2x=30$) のゲノムDNAがカキの染色体にもっとも強くハイブリダイズすることを示し、*D. glandulosa* がカキのゲノム構造にもっとも類似していることを明らかにした。

2. カキ属植物のゲノムDNAを制限酵素 (*EcoRV*, *HincII*, *DraI*) で消化することにより3種類の反復配列を単離した後、これらの反復配列をプローブとしたDNAプロット分析を行ない、*EcoRV* により単離した反復配列が検出された5種 (*D. kaki*, *D. glandulosa*, *D. oleifera*, *D. lotus*, *D. virginiana*) の中で、北米東部に分布する6倍体種 *D. virginiana* ($2n=6x=90$) を除く4種からは *HincII* により単離した反復配列も検出され、同じ温帯地域に分布する6倍体種であっても、カキ (*D. kaki*) とアメリカガキ (*D. virginiana*) のゲノム構造が異なることを明らかにした。さらに、*DraI* により単離した反復配列はインドシナ半島北部に分布する *D. ehretioides* においてのみ検出され、この種が他の種とは異なる特異なゲノム構造を持っていることを示した。

3. 45Sおよび5S rDNAをプローブとした fluorescent in situ hybridization (FISH) を行なうことで、地理的にカキと近い分布を示す種では倍数性の増加に伴ってrDNAサイト数も増加する傾向が見られるが、南アフリカに分布している2倍体種では、アジア起原の同じ2倍体種に比べrDNAサイト数が多く検出され、アジア起原のカキ属植物とは異なる種分化をした可能性を示した。

以上のとおり、本論文はカキの染色体解析およびゲノム内反復配列の解析により、カキとその関連野生種との類縁関係を明らかにするとともに、カキの起原に関する新たな知見を提供しており、果樹園芸学、果樹育種学並びに果樹遺伝学の発展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15年6月19日、論文並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。