

氏 名	おう けい し 王 桂 芝
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	農 博 第 910 号
学位授与の日付	平 成 9 年 3 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 林 生 物 学 専 攻
学位論文題目	コムギ・エギロプス両属のプラズモン分析

論文調査委員	(主 査) 教 授 遠 藤 隆	教 授 大 西 近 江	教 授 池 橋 宏
--------	--------------------	-------------	-----------

論 文 内 容 の 要 旨

コムギ・エギロプス両属におけるプラズモンの遺伝的多様性を明らかにするために本研究は行われた。これまでの研究によって、コムギ・エギロプス両属においてはプラズモンの表現型に及ぼす効果、プラズモンの分子的差異及び系統関係などについて多くの知見が得られている。しかし、これらのオルガネラ DNA の変異がどのような形質レベルの変化をもたらしているかについては全く分かっていない。オルガネラ遺伝子の構造変化と形質発現との関係の解明はこれからの最重要研究課題である。論文は4章よりなるが、その主な内容は以下のとおりである。

本研究の第2章では、コムギ・エギロプス両属におけるプラズモンの遺伝的分化を解明するために、普通系コムギの5種12系統をコムギ・エギロプス両属の33種46系統に連続戻し交雑して育成した552系統の細胞質置換コムギと対照12系統を用いて、全系統を4回反復の試験区に栽培し、斑入り、出穂日、自殖種子稔性など22形質を調査した。分散分析により、核、プラズモン及びそれらの相互作用は、調査した全ての形質に対し有意な効果をもつことが確認された。表現形質に対する効果に基づいてプラズモンを分類するため、データを標準化し、系統間の相関係数を求め、UPGMA法を用いてプラズモンのクラスター分析を行った。その結果、相関係数0.80の水準で、47系統のプラズモンを16のグループに分けることができた。また、同じデータを用いた主成分分析により47プラズモンは15のグループに分けられた。

第3章では、両属のプラズモンの分子レベルでの多様性を明らかにするため、第2章に用いた32種46系統(*T. boeoticum*を除く)の葉緑体DNAの14.0kbとミトコンドリアDNAの13.7kbをPCR-SSCP法によって調べた。葉緑体DNAについては合計94のバンドが得られ、そのうち48バンドがSSCPを示し、多型の割合は51.1%であった。ミトコンドリアDNAについては、合計83のバンドが得られ、そのうち24バンドがSSCPを示し、多型の割合は28.9%であった。多型バンドの割合から、葉緑体ゲノムはミトコンドリアゲノムより高い変異性をもつことが判明した。SSCPにより検出されたこのような変異の分子的基礎を明らかにするため、変異が検出されたオルガネラDNA領域について、PCR-RFLP分析

を行った。その結果、SSCPを示したバンドの一部は実際にはRFLPであることが判明した。次に、検出した変異に基づいて計算された遺伝的距離を使って、UPGMA法によってコムギ・エギロプス両属における32種46系統のプラズモンの系統樹を作成した。葉緑体ゲノムとミトコンドリアゲノムのデータを合わせて得られた系統樹では、一粒コムギ *T. monococcum* (16) のA2型プラズモンが他のすべてのプラズモンから大きく離れており、また、他のすべてはコムギ・グループとエギロプス・グループとに明確に分かれた。注目すべき結果として、コムギ・グループには2倍種として *Ae. speltoides* のみが含まれた。このことは二粒系コムギと普通系コムギのB型プラズモン及びチモフェービ系コムギのG型プラズモンの提供親がともに *Ae. speltoides* であることを強く示唆する。

第4章では、表現形質に関与する分子マーカーを検索するため、検出されたオルガネラDNAの変異と表現形質との間の相関を分散分析法を用いて分析した。検出された72全てのSSCPと22形質のすべての組合せ(合計1584組合せ)について分散分析を行った。その結果、313の組合せについて有意な相関が認められ、48のSSCPが少なくとも1つの形質に対し有意な相関を示すことが明らかになった。全体的に捉えれば、葉緑体ゲノムは斑入り、生育力、小穂数、交雑種子稔性に対して、ミトコンドリアゲノムは双子の誘発に対し単独に関与し、一方、葉緑体とミトコンドリアゲノムの両方が出穂日、栄養成長に関わる諸形質、花粉稔性、自殖種子稔性に対して有意な効果をもつことが示された。しかしSSCPを示したバンドの有無の平均値の効果からみて、葉緑体ゲノム及びミトコンドリアゲノムのSSCPと形質の相関は分散分析から有意であるが、バンドの有無は形質に直接の関係はないと考えられる。しかし、いくつかのSSCPは形質やプラズモンとの明確な関係を示し、分子マーカーとして利用できることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究は、コムギ・エギロプス両属におけるプラズモンの遺伝的多様性を明らかにするために行われた。これまでの研究では、オルガネラDNAの変異がどのような形質レベルの変化をもたらしているかについては全く分かっていなかった。本研究における評価すべき点は次のとおりである。

1. 552系統の細胞質置換コムギと対照12系統を用いて、全系統を4回反復の試験区に栽培し、斑入り、出穂日、自殖種子稔性など22形質を調査した。分散分析により、核、プラズモン及びそれらの相互作用は、調査した全ての形質に対し有意な効果をもつことが確認された。表現形質に対する効果に基づいてプラズモンを分類すると、47系統のプラズモンを16のグループに分けることができた。また、同じデータを用いた主成分分析により47プラズモンは15のグループに分けられた。

2. 32種46系統(*T. boeoticum*を除く)の葉緑体DNAの14.0kbとミトコンドリアDNAの13.7kbをPCR-SSCP法によって調べた。多型バンドの割合から、葉緑体ゲノムはミトコンドリアゲノムより高い変異性をもつことが判明した。PCR-RFLP分析を行った結果、SSCPを示したバンドの一部は実際にはRFLPであることが判明した。

3. オルガネラDNAのSSCP分析によって両属のプラズモンはコムギグループとエギロプスグループに大別された。コムギグループには2倍種として *Ae. speltoides* のみが含まれた。このことは二粒系コ

ムギと普通系コムギの B 型プラズモン及びチモフェービ系コムギの G 型プラズモンの提供親がともに *Ae. speltoides*であることを強く示唆した。

4. オルガネラ DNA の変異について、葉緑体ゲノムは斑入り、生育力、小穂数、交雑種子稔性、出穂日、栄養成長、花粉稔性、自殖種子稔性に関与し、ミトコンドリアゲノムは双子誘発、出穂日、栄養成長、花粉稔性、自殖種子稔性に対し効果をもつことが示唆された。

以上のように、本論文は、コムギ・エギロプス両属のプラズモンは表現形質に対する影響に関して、16 のグループに分けられるような多様性を示すと同時に、分子レベルにおいても多くの変異が存在し、あるものは表現形質との相関を示すことを明らかにした。ここで得られた知見は将来における形質発現と分子レベルの変異との関係を解明のための基礎となるもので、植物遺伝学、植物育種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 9 年 1 月 23 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。