

氏名(国籍)	ニサル アハマド カーン (パキスタン)		
学位の種類	博士(農学)		
学位記番号	博甲第5050号		
学位授与年月日	平成21年3月25日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	Studies on Cleistogamy Soybean (大豆の閉花受粉性に関する研究)		
主査	筑波大学教授(連係大学院)	博士(農学)	高橋良二
副査	筑波大学教授(連係大学院)	農学博士	乙部千雅子
副査	筑波大学准教授(連係大学院)	博士(農学)	梅本貴之
副査	筑波大学教授(連携大学院)	薬学博士	小松節子

論文の内容の要旨

大豆は、畑作地帯では輪作体型の一環として、水田地帯では主要な転作作物として営農上重要な位置を占めている。大豆は一般に、受精時に開放花を着ける閉花受粉性を示すが、高緯度地域の一部の在来種は閉鎖花で受精する閉花受粉性を示すことが知られている。閉花受粉性の在来種は耐冷性が高いため、以前より耐冷性の育種素材として用いられてきた。また、閉鎖花では花粉が外部に出ないため、組換え体の花粉飛散の防止に利用できる期待されている。しかしながら、大豆の閉花受粉性の品種間差異、遺伝様式、生理的メカニズムはこれまで明らかになっていなかった。そこで本研究では、大豆の閉花受精について、品種間差異の解析、花の形態的特性の解剖学的観察、DNA マーカーを使った遺伝分析、人工気象室を用いた生理実験、ゲノム情報とサブトラクション法による関与遺伝子の推定、プロテオーム解析による関与タンパク質の推定といった幅広い解析手法を用い、遺伝様式を明らかにするとともに生理的メカニズムに関する仮説を構築した。

品種間差異の検定では、つくば市および札幌市で国内外の32品種・系統を圃場栽培して、開花始から5日後までの閉花受性花の割合を計算した。その結果、閉花受精率は0～100%まで分布して幅広い多様性が認められるとともに、同一品種では栽培地間では同様の傾向を示した。閉鎖花の割合が高かったのは、北海道東北部在来種の極早生上春別、ロシア品種の Severnaya-4, Octyabr-70, Vega, 樺太在来種の樺太1号などであった。一方、東北地方の在来種は閉花受精花の割合が概して高かった。

形態的特性の解剖学的観察では、閉鎖花は開放花に比べて、花卉、雄蕊、柱頭の伸長が不十分であったが、その他に形態的な差はなかった。これらの閉花受粉性品種は、高緯度地方の在来種で早生であった。早生品種は晩生品種に比べて一般に低温時に開花するため、これらの閉花受粉性が温度条件によるものか、遺伝的要因によるものかを確かめる必要があった。そこで25℃の人工気象室で閉花受粉性の Severnaya-4 とトヨスズを栽培して閉鎖花の割合を調べたところ、圃場と同様の品種間差異が認められ、遺伝的要因が存在することが明らかになった。

閉花受粉性の遺伝様式を明らかにするため、195個のSSRマーカー、323個のAFLPマーカー、3個のA

イソザイムマーカー, 1個の形態マーカーの合計522個のDNAマーカーを用いて連鎖分析を実施した。その結果, 500個のマーカーが25の連鎖群上に分布し, 合計2180センチモルガンにわたる分子連鎖地図が作成された。閉花受粉性は質的形質で, しかも遺伝様式は明らかになっていなかった。従来は, 個々のマーカーとの対応関係より関連ゲノム領域の検出が行われてきたが, 農業生物資源研究所の林らは, カテゴリー形質のインターナルマッピング法を開発した。そこで, その方法を用いて閉花受粉性の量的形質遺伝子座(QTL)解析を実施した。その結果, 閉花受粉性を支配する4個のQTL(c11~c14)が見いだされた。そのうち大きな作用を持つのは, I連鎖群c13(LOD値:5.20)とL連鎖群のc14(LOD値:3.82)であった。開花期に関しては, 4個のQTL(fd5~fd8)が認められた。そのうち大きな作用を持つのはI連鎖群のfd7(LOD値:5.84)とL連鎖群のfd8(LOD値:6.22)であった。fd7とc13およびfd8とc14は連鎖群上の同じ領域にマップされた。他のマーカーとの位置関係より, fd7が早晩性遺伝子のE4, fd8が早晩性遺伝子のE3に対応することが明らかになった。そのため, 早晩性遺伝子のE3とE4が連鎖または多面発現の作用によって閉花受粉性を制御していることが明らかになった。

E3とE4はフィトクロームAをコードすることが明らかになっており, ゲノム情報とサブトラクション法による遺伝子解析の結果およびプロテオーム解析の結果を総合することにより, 閉花受粉性の生理的メカニズムに関する仮説を構築した。プロテオーム解析にあたっては, 閉花受粉性以外の遺伝的要因をできるだけ取り除いて閉花受粉性に特異的なタンパク質を同定するために, 閉花受粉性に関する準同質遺伝子系統を育成して解析を行った。

審査の結果の要旨

本論文は, 大豆の閉花受粉性に関して, 品種間差異の解析, 花の形態的特性の解剖学的観察, DNAマーカーを使った遺伝分析, 人工気象室を用いた生理実験, ゲノム情報とサブトラクション法による関与遺伝子の推定, プロテオーム解析による関与タンパク質の推定といった幅広い解析手法を用いて遺伝様式を解明し, 生理的メカニズムに関する仮説を提唱した。本研究のすぐれた点は, まず閉花受粉性のように遺伝様式が不明な質的形質を, 最新の統計的解析手法を使って量的形質遺伝子座として分子連鎖地図上にマップした点である。次に, 閉花受粉性以外の遺伝的要因をできるだけ取り除いて閉花受粉性に特異的なタンパク質を同定するために, 閉花受粉性に関する準同質遺伝子系統を育成してプロテオーム解析を行った点である。また, DNAマーカーを用いた遺伝分析によって閉花受粉性を支配する2個の作用の大きな量的形質遺伝子座を見だし, それらがフィトクロームA遺伝子の近傍に存在することを明らかにした。本研究の成果は, 大豆の閉花受粉性の農業利用に関して新たな展望を開くのみならず, 他作物の閉花受粉性や開花生理の研究においても重要な知見を提供するものである。

よって, 著者は博士(農学)の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。