

氏名（本籍）	Tito RODRIGUEZ TORRICO（ボリビア）		
学位の種類	博士（農学）		
学位記番号	博 甲 第 6965 号		
学位授与年月日	平成26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	Molecular Genetic Studies on Abiotic Stress Tolerance in Soybean (ダイズの環境ストレス耐性に関する分子遺伝学的研究)		
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)	田中 淳一
副査	筑波大学教授	博士(農学)	丸山 幸夫

論 文 の 要 旨

ダイズは、畑作農業の基幹作物であると同時に主要な転作作物であり、農業経営上重要な位置を占めている。ところが、ダイズは環境ストレス耐性が不十分で、水田転換畑の過湿条件下で収量が低下するのみならず、開花期の低温で収量と種子の品質が低下し、問題となっている。本研究では、ダイズの耐湿性と耐冷性の遺伝様式を明らかにし、効率的なストレス耐性の選抜法を開発する。

耐湿性に関しては、耐湿性が低い関東地方の基幹品種「タチナガハ」と耐湿性が比較的高い在来種「伊豫ダイズ」を供試した。両品種を交配して育成した組換え自殖系統を供試し、(1)湛水条件による収量の減少程度および(2)低酸素条件下での根の生育量に関するQTL解析を行った。収量のQTL解析では、組換え自殖系統をビニールハウスにてポット栽培し、本葉2葉期に半数のポットを水を入れた1000リットル容のプラスチックコンテナに移し、地上約5cmの湛水処理を3週間行った後にビニールハウスで栽培した。残りの半数のポットは、ビニールハウスで成熟期まで栽培した。収穫後に湛水条件による収量の減少程度（耐湿性指数）を系統ごとに算出し、QTL解析に供した。その結果、A2連鎖群に有意なQTL（flood1）が見いだされた。本QTLは、伊豫ダイズ型のアリルがタチナガハ型のアリルよりも高い耐湿性指数を示した。一方、低酸素条件下での根の生育量に関するQTL解析では、H連鎖群に有意なQTL（flood2）が見いだされた。本QTLも、伊豫ダイズ型のアリルがタチナガハ型のアリルよりも根の生育量が高い値を示した。さらに、flood2の領域がヘテロの個体を自殖して、準同質遺伝子系統を育成した。

ダイズの耐冷性遺伝子*T*と種子の外観品質を向上させる遺伝子*I*を組み合わせると、種皮全体が黒ずんだ「くすみ」を発生するため、遺伝子*T*と遺伝子*I*を組み合わせた育種はこれまで行われてこなかった。近年、遺伝子*T*と遺伝子*I*の組み合わせでも種皮がくすまない系統「0518BW-8」が見いだされた。本研究では、くすみに関する抵抗性系統「0518BW-8」と感受性系統「0734BW-1」との交雑後代を用いて、くすみ発生の分子遺伝機構の解明を行った。両系統の交雑後代を用いたQTL解析で見いだされたQTL（discol1）領域に座乗するカルコンシンターゼ偽遺伝子3（*pC HS3*遺伝子）を両系統からクローニングして塩基配列を比較した結果、感受性系統では2個の*pC*

*HS3*遺伝子の5'末端同士が78塩基のギャップを挟んでテール同士が接する逆位反復配列を形成していた。一方、抵抗性系統では上流側の*pCHS3*遺伝子が機能未知の遺伝子 (*GmJ1*遺伝子) の断片と置き換わっており、逆位反復配列を形成していなかった。前者では*pCHS3*遺伝子の転写産物が2本鎖RNAを形成し、後者では下流側の*pCHS3*遺伝子の転写産物 (アンチセンスRNA) がダイズの内在性のカルコンシンターゼ遺伝子との間で2本鎖RNAを形成し、カルコンシンターゼ遺伝子群のジーンサイレンシングを起こしていると考えられた。両系統の交雑後代を使って、*pCHS3*遺伝子の多型を識別するマーカー*GmRCHS*をマップしたところ、QTLのピーク的位置にマップされ、*pCHS3*遺伝子の逆位反復配列がQTLの原因遺伝子であると考えられた。当該マーカーは、原因遺伝子内部の塩基配列の多型に基づいて作成されたため、遺伝的組換えが発生しない強力な選抜マーカーとして使用できると考えられた。また、抵抗性系統の持っている当該遺伝子領域のアリルを用いることにより、耐冷性遺伝子*T*と種子の外観品質を向上させる遺伝子*I*を組合せて、耐冷性と外観品質がともにすぐれたダイズ品種を育成することが可能なことが明らかになった。また本研究では、ダイズの地域適応性と耐冷性を支配する早晩性遺伝子*E5*のマッピングも併せて行い、耐冷性育種の基礎資料とした。

審 査 の 要 旨

本論文は、ダイズの収量と品質を低下させる主要な環境ストレス要因である湿害および冷害に対する耐性の分子遺伝機構を明らかにしたものである。耐湿性に関しては、湛水ストレスによる収量の減少程度を支配するQTL (*flood1*) と低酸素条件下での根の発育を支配するQTL (*flood2*) を見いだした。一方、耐冷性遺伝子*T*と種子の外観品質を向上させる遺伝子*I*の組合せで生じる種皮のくすみの原因遺伝子をクローニングし、品質を向上させるための選抜マーカーを開発した。本研究により、耐冷性遺伝子と種子の外観品質を高める遺伝子を組み合わせることで品質の優れた耐冷性品種を育成することが可能となった。以上のように、本研究はダイズのストレス耐性育種にとって有用な情報となるだけでなく、種子の品質低下のメカニズムを遺伝子レベルで明らかにした貴重な成果であり、学位授与にふさわしいと判断された。

平成26年1月27日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士 (農学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。