

氏名	間瀬 誠子		
学位の種類	博士（農学）		
学位記番号	博 甲 第 7797 号		
学位授与年月日	平成 28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	Genetic Studies on a Pollen-Part Self-Compatible Mutant in Japanese Pear (ニホンナシの花粉側自家和合性突然変異体の遺伝学的研究)		
主査	筑波大学准教授（連係大学院）	理学博士	池谷 祐幸
副査	筑波大学教授（連係大学院）	博士（農学）	森口 卓哉
副査	筑波大学教授（連係大学院）	博士（農学）	山本 俊哉
副査	筑波大学教授	博士（理学）	菅谷 純子

論 文 の 要 旨

自家不和合性は、顕花植物が自殖を防ぎ他殖を促進するシステムであるが、農作物の安定生産のためには、自家受粉により結実可能な自家和合性形質を有する植物種または系統を栽培することが望ましい。バラ科ナシ亜連植物のリンゴとナシは、世界的に重要な果樹であるが自家不和合性のため、果実の生産には他品種による受粉を必要とする。ナシ亜連果樹の自家不和合性機構は、自家不和合性遺伝子座（S）上に座乗する単一の雌性因子S-RNaseと複数の雄性因子SFBBの遺伝子型（Sハプロタイプ）の種類（S1・S2等）により自他認識が制御されていると考えられているため、雌性または雄性因子の認識機能を喪失した変異体を用いて栽培品種に自家和合性形質を付与することが育種上の大きな課題となっている。しかし、現在育種素材として利用可能な変異体は、S-RNase遺伝子が欠失したニホンナシの花柱側自家和合性品種‘おさ二十世紀’のみであり、花粉側の機能が自家和合性に変異した花粉側自家和合性変異体は見つかっていない。花粉側自家和合性変異体は、自家不和合性花粉側の認識機構解明のための研究素材として有用であると考えられる。また、自己を含む全てのS遺伝子型の品種に対して和合性花粉を生産すると考えられるため、花粉側自家和合性品種の育成に用いることにより、人工授粉を必要としない果実生産体系の構築が可能となる。

本論文は、ニホンナシの花粉側自家和合性突然変異体を獲得し、その遺伝様式を明らかにすることで、ナシ亜連における花粉側自家和合性変異の発生要因を明らかにするとともに、獲得した変異体について、自家和合性ニホンナシ品種育成のための育種素材としての利用可能性を評価したものである。低線量のガンマ線を31年間照射したニホンナシ品種‘幸水’の蕾より花粉を採取し、非照射の‘幸水’の花柱に受粉して、実生1系統（系統名415-1）を獲得した。本系統のS-RNaseマーカー解析による遺伝子型がS4S5

であったため、同遺伝子型品種との相互交配試験を行い、415-1は花粉に自家和合性機能を獲得した花粉側自家和合性変異体であることを明らかにした。また、415-1後代におけるSハプロタイプ型の分離を調査することにより、415-1はSハプロタイプの重複を有することを示した。フローサイトメーター解析および後代のSSRマーカー遺伝子型の調査から、415-1はSハプロタイプを含む染色体の分節的重複を有する二倍体の花粉側自家和合性系統であり、正確なSハプロタイプ型はS4S5S5であることを明らかにした。また、花粉一粒のDNAを鋳型にしたPCRにより、415-1の花粉におけるSハプロタイプ型の分離を直接判定し、S4S5ハプロタイプ型花粉が約16%存在することを明らかにした。さらに、自家不和合性品種‘秀玉’ (S4S5) と415-1の後代集団におけるSハプロタイプ重複の有無および各Sハプロタイプのコピー数をTaqMan定量PCR解析によって判定した結果、その約90%がS4またはS5を2コピー持つS4S5S5またはS4S5S5型個体であることを明らかにし、これらは415-1の重複S5ハプロタイプを有するS4S5型花粉由来であることを推定した。また、同集団の自家受粉試験を行い、415-1より重複Sハプロタイプを受け継いだ個体の約85%が自家和合性であることを示した。

以上より、415-1の花粉側自家和合性は、重複Sハプロタイプを受け継いだSハプロタイプヘテロ (S4S5) 型花粉が、S4S5型花柱に対する受精能力を獲得したためであると考えられた。この現象は、重複S5ハプロタイプ中のSFBBが非自己S4-RNaseを認識したためと推察することが可能であり、二種類のSハプロタイプを持つ花粉が花粉側自家和合性を示す原因として近年ナス科およびナシ亜連の自家不和合性・交雑和合性機構において提唱されている、複数の雄性因子が協働して自己以外全てのS-RNaseを認識すると考える『協調的非自己認識仮説』によって矛盾なく説明することができる。さらに、花粉側自家和合性形質が重複Sハプロタイプと共に後代に遺伝したことから、415-1はニホンナシの自家和合性育種素材として有用であり、重複Sハプロタイプの検出によって花粉側自家和合性品種育成の効率化が可能であると結論した。

審 査 の 要 旨

本論文は、バラ科ナシ亜連では初となる二倍体の花粉側自家和合性変異体の作出と機構解析に関するものである。主要な内容は、1) γ線で突然変異を誘発した花粉による自家和合性個体 (415-1) の獲得と花粉側自家和合性の確認、2) 後代解析とフローサイトメトリーによる、415-1は三種類のSハプロタイプを持つが染色体が分節的重複した二倍体であることの発見、3) 花粉一粒のPCRによる、415-1はSハプロタイプを重複する花粉を生産することの直接的な証明、4) TaqMan定量PCR解析による、415-1の後代各個体におけるSハプロタイプ遺伝子型及びコピー数の判定、である。この成果は、世界的にも研究者の多いバラ科ナシ亜連の自家不和合性の分野でも画期的なものであり、今後の研究を大いに進展させるものである。また、花粉側自家和合性個体は全てのS遺伝子型に対して和合性となるため、人工授粉を不要化してニホンナシの栽培を省力化する画期的新品種の育成素材として、行政的にも高く評価されている。

平成28年1月14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断された。

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認める。