

論文提出による博士学位

| | |
|-----------|------------------------------------------------------------------------------|
| 氏名 | 諏訪部圭太 |
| 学位記番号 | 生博 乙第 32 号 |
| 学位記授与の日付け | 平成 16 年 9 月 15 日 |
| 学位論文題目 | アブラナ科植物における DNA マーカーの開発と根こぶ病抵抗性の遺伝学的解析 |
| 論文審査委員 | 主査 教授・神山 康夫 教授・高松 進 教授・平塚 伸 助教授・掛田 克行 京都府立大学大学院農学研究科 教授・平井 正志 |

要 旨

マイクロサテライトはゲノム中に多数散在する単純繰り返し配列 (SSR) であり、現在までに多くの動物・植物種から単離が試みられている。種々の SSR は、遺伝学的解析において信頼性の高い DNA マーカーとして期待されているが、その効率的単離法と PCR マーカーへの変換法については体系的な研究が少ないため、未だ開発途上の段階にある。本論文は、主要野菜であるハクサイ (*Brassica rapa*) を研究材料として、(1) SSR の単離と特性解明、(2) SSR マーカーの開発と解析、(3) SSR マーカーを用いた連鎖地図の構築、(4) 連鎖地図を基にした根こぶ病抵抗性の遺伝学的解析を行ったものである。

最初に、*B. rapa* ゲノムにおける SSR の特性について解析を行った。2 塩基および 3 塩基をコアとする SSR を単離解析した結果、GA モチーフの SSR が最も多く存在し、ついで CAA モチーフが多く存在した。これら 2 つのモチーフは、単離した全 SSR クローンの約半数を占めており、*B. rapa* ゲノムにおいてはこれら 2 つが優占モチーフであることが示された。また、単離したクローン数と *B. rapa* のゲノムサイズから、*B. rapa* ゲノムには少なくとも 120Kb に 1 つの頻度で SSR が存在すると推定された。

次に、単離したクローンの塩基配列を基に SSR マーカーを開発し、DNA マーカーとしての有効性について解析を行った。大部分の SSR マーカーは、ターゲットとする遺伝子座のみを特異的に認識し、DNA マーカーの指標である多型度 (PIC) は、3 塩基平均 0.404、2 塩基平均 0.677 となった。これは、2 塩基 SSR の方が

DNA マーカーとしてより優れていることを示しており、*B. rapa* においては GA モチーフを用いて SSR マーカーを開発することが適していると考えられた。また開発した SSR マーカーは、代表的なアブラナ属植物に対して 90% 以上のものが適用可能であり、アブラナ科植物に対しては 70% 程度、同科のモデル植物シロイヌナズナには約 40% が適用可能であった。これは、開発した SSR マーカーの近縁種への汎用性の高さを示しており、SSR マーカーはアブラナ科の遺伝学的解析において強力なツールになると考えられる。開発した SSR マーカーを含む 3 種の DNA マーカー (SSR, RFLP, RAPD) を用いて、*B. rapa* の連鎖地図の構築を行った。94 個体の F2 集団の解析から、10 連鎖群 ($n=10$)、全長 1005.5cM、平均マーカー間距離 3.7cM からなる連鎖地図が構築された。この地図には、113 個の SSR マーカーがマッピングされ、その平均間隔は 8.7cM であった。また、シロイヌナズナとのシンテニー解析の結果、シロイヌナズナの 5 本の染色体は、*B. rapa* ゲノム内に短く断片化されて散在し、*B. rapa* 連鎖地図のうち 282.5cM の領域が両種間のシンテニー領域であると推定された。SSR マーカーを用いた連鎖地図は、アブラナ属においては本地図が世界初であり、アブラナ科においてもシロイヌナズナに次ぐものである。SSR マーカーは信頼性が高く、近縁種への汎用性も高いことから、本地図は高精度な連鎖地図であると考えられる。

アブラナ科の根こぶ病は、土壌伝染性の病害で防除が困難な重要病害の 1 つである。*B. rapa* における根こぶ病抵抗性は、1 遺伝子座支配の形質であると考えられてき

たが、最近の遺伝学的解析では複数の遺伝子座の関与が示唆されていた。そこで、構築した連鎖地図を用いて、根こぶ病抵抗性に関する量的遺伝子座（QTL）解析を行った。強弱2タイプの病原菌を用いて解析した結果、それぞれ3カ所と2カ所のQTLが検出され、*B. rapa*における根こぶ病抵抗性は複数の遺伝子座によって支配される形質であることを明らかにした。また、共通して関与するQTLと病原力の強い菌にのみ特異的なQTLが存在することから、*B. rapa*における根こぶ病抵抗性は、基本となる抵抗性メカニズムと抵抗性を強めるための補足因子によって構成されていると推測された。さらに検出された3カ所のQTLのうち、寄与率の大きい2カ所

のQTL領域は、シロイヌナズナでは第4染色体の同一領域に存在することが明らかになった。これは、根こぶ病抵抗性に関与する複数の遺伝子が、アブラナ科植物の進化の過程で別々の染色体に転座したことを示唆している。これらの結果は、アブラナ科の根こぶ病抵抗性機構に関する新たな知見であり、抵抗性の分子メカニズムを解明するための有力な手がかりを提供した。

本研究により、SSRマーカーの有効性を実証すると共に、精度の高い遺伝地図の構築ならびに根こぶ病抵抗性のQTL解析などで顕著な研究成果を得ることができた。これらの成果は、アブラナ科植物における遺伝学の発展に今後大いに貢献すると思われる。

論文提出による博士学位

| | |
|-----------|---------------------------------------------------------|
| 氏名 | 道津 光生 |
| 学位記番号 | 生博 乙第33号 |
| 学位記授与の日付け | 平成16年9月15日 |
| 学位論文題目 | 海岸構造物による岩礁域生物の生息場の造成 —北海道南西部沿岸における海藻と藻食動物の共存をめざして— |
| 論文審査委員 | 主査 教授・柏木 正章 教授・古丸 明 助教授・吉岡 基 東京大学名誉教授 平野禮次郎 |

要 旨

漁港・港湾・護岸等の海岸構造物には、各種の有用水産生物が集まり、漁業に利用されている事例がしばしば報告されている。水産庁では、これからの沿岸漁業の振興と環境保全への要請に対応して、自然環境と調和した構造物・工法の採用を総合的に行い、これらの技術の集積、普及を図ることを目的として、1994年より、自然調和型漁港づくり推進事業が創設され、様々な漁港修復・改修事業の実施区域において、藻場の形成を促進する機能や海水交換機能を有する防波堤等の整備が行われてきた。同様に、運輸省（現国土交通省）や資源エネルギー庁においても、同様に地域社会や環境と共生する港湾づくりのための事業が展開されるようになってきた。本研究は港湾等の海岸構造物を水産生物の生息場として、より有効に活用することにより、沿岸漁業環境の改善をめざすことを目的として実施されたものである。

最初に、漁業資源が豊かで良好な自然環境を有する海域に大規模に造成される大型汽力発電所の海岸構造物を生物の生息場として活用することを目的として、北海道積丹西岸に立地された発電所防波堤上におけるキタムラサキウニ等の有用水産生物の生息実態を把握するとともに、防波堤上に生息するウニの分布と波浪との関係を明らかにするための調査を実施した。その結果、防波堤上には、近傍の天然岩礁よりも高密度でウニが分布していたが、海藻は水面際のごく狭い範囲しか分布しておらず、ウニは慢性的な餌不足の状態にあった。それぞれの地点の水深帯毎のウニの分布密度は波浪環境の変化と対応した季節的な変化を示し、波浪が最も厳しい北防波堤外側では、上層における分布密度が低く、特に時化が続く秋～冬季には垂直面全体で極めて低くなっていた。海が穏やかな春から夏にかけては、垂直面における分布密度が高くなっていた。一方、年間を通して穏やかな防波堤内