

# DEVELOPMENT OF DNA MARKERS AND THEIR APPLICATION TO GENETICS AND BREEDING IN ASPARAGUS

竹内, 陽子

<https://hdl.handle.net/2324/1932014>

---

出版情報：九州大学, 2017, 博士（農学）, 論文博士  
バージョン：  
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）

氏 名 : 竹 内 陽 子

論文題名 : DEVELOPMENT OF DNA MARKERS AND THEIR APPLICATION  
TO GENETICS AND BREEDING IN ASPARAGUS  
(アスパラガスにおける DNA マーカーの開発とその遺伝・育種学的利用)

区 分 : 乙

## 論 文 内 容 の 要 旨

本研究は、わが国の主要野菜品目であるアスパラガス(*Asparagus officinalis* L.)の DNA マーカーを開発するとともに、それらマーカーの遺伝・育種学的研究への適用性について明らかにしたものである。

まず、共優性で多型性の高い SSR(simple sequence repeats)について調査し、雑種性や半数性の検定に利用できる 6 つの SSR 領域を見出した。雄性決定遺伝子 M に連鎖するマーカー Asp1-T7sp と 6 つの SSR 遺伝子座との独立性の検定を行ったところ、AG3/AG7, AG3/TC1, AG10/TC1 の 3 組の遺伝子座間では一部の交配組合せで、AG3/Asp1-T7sp の 1 組の遺伝子座間ではすべての交配組合せで分離のひずみが認められ、遺伝子座間の連鎖関係が示された。これらの SSR は二倍体だけでなく三倍体・四倍体品種のジェノタイプングにも利用でき、単交配品種の純度検定にも適用できることも明らかにした。さらにこれらの SSR マーカーはアスパラガスとその近縁種ハマタマボウキ(*Asparagus kiusianus* Makino)との種間交雑実生の雑種性検定にも適用できた。アスパラガス 2 系統(GS#2 および 07M-5)間の SNP(single nucleotide polymorphism)について調査した結果、1,203 領域の SNP が見出され、そのうち両系統ともヘテロ型であったのが 486 領域、GS#2, 07M-5 のみでヘテロ型であったのがそれぞれ 254, 463 領域であった。アスパラガスとその近縁種ハマタマボウキの間には葉緑体 DNA 配列の多型が認められ、dCAPS 法を適用することにより簡便に両種の葉緑体 DNA を判別できた。

次に、これらの DNA マーカーの遺伝・育種学的研究への適用性について調査した。3 組合せの二倍体間交雑を行い後代の SSR 遺伝子型を調査したところ、2 組合せではすべての個体が二倍性の SSR 遺伝子型であったが、1 組合せの交雑で得られた 124 個体のうち 1 個体が三倍性の SSR 遺伝子型を示し、フローサイトメトリーにより三倍体であることを確認した。親子間の SSR 遺伝子型を調査した結果、この三倍体は非還元性の卵と還元性の花粉の融合によって生じたことが明らかになった。アスパラガスでは、まれに 1 種子中に複数の胚を含む多胚種子が見られ、その中には半数体や三倍体が含まれる場合があるが、10 組 20 個体の多胚種子実生とそれらの親個体の SSR 遺伝子型を調べた結果、多胚種子の出現パターンは 1 種類ではなく、10 種類の起源が想定された。アスパラガスの花器形態突然変異として、本来雄蕊ができる位置に雌蕊を形成し、外花被と内花被とが矮小化する突然変異が見出されている。これらの形質の遺伝性を調査した結果、雄蕊突然変異と花被突然

変異とは独立して遺伝しており、このうち外花被と内花被とが矮小化する変異は1遺伝子支配で、RAD-seq解析の結果、第9染色体の1,999,880位付近にあることが分かった。アスパラガスには茎枯病抵抗性系統がないため、近縁種を利用した茎枯病抵抗性アスパラガスの育成を試みた。アスパラガスとその近縁種ハマタマボウキの茎枯病抵抗性を比較したところ、ハマタマボウキはアスパラガスに比べて強い抵抗性を示し、両者の種間雑種個体の中にも強い抵抗性を示す個体が認められた。種間雑種個体において葉緑体DNAはすべて母性遺伝しており、正逆交雑のいずれにおいても抵抗性を示す個体が見られたことから、抵抗性形質に係わる主要な遺伝子は葉緑体DNAには座乗しておらず、核DNA支配であると考えられ、戻し交雑による茎枯病抵抗性アスパラガス育成の可能性が示された。

以上のように、アスパラガスにおいて開発したSSR、SNP、dCAPSマーカーにより、偶発的三倍体個体の検出とその起源解析、多胚種子の起源解析を行うことができ、種間交雑における雑種性の検定にも適用できた。また、RAD-seqによるSNP解析により花器形態突然変異に関連するマーカーを迅速に検出でき、葉緑体DNAの種間の多型も見出すことができたことから、今回開発したDNAマーカーは、いずれもアスパラガスの遺伝・育種学的研究に適用できることが実証された。