

氏 名	江 角 智 也
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学位記番号	農 博 第 1659 号
学位授与の日付	平 成 19 年 11 月 26 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	農 学 研 究 科 農 学 専 攻
学位論文題目	Studies on floral differentiation and flowering-related gene expression in Japanese pear ( <i>Pyrus pyrifolia</i> Nakai) and quince ( <i>Cydonia oblonga</i> Mill.) (ニホンナシおよびマルメロの花芽分化と花芽形成関連遺伝子の発現に関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 米 森 敬 三 教 授 矢 澤 進 教 授 谷 坂 隆 俊

### 論 文 内 容 の 要 旨

わが国のニホンナシ栽培において、摘花・摘果は多大な労力を要する作業の一つである。ニホンナシは総状花序を形成するが、その花序形態を人為的に制御し、単生花を形成するように出来れば、その栽培労力は大幅に軽減できるものと期待される。ニホンナシはバラ科ナシ亜科に属するが、この亜科にはニホンナシと同様に総状花序を形成するリンゴ、単生花を形成するマルメロやカリン、円錐花序を形成するビワなど、多様な花序形態を示す果樹種が存在する。本論文は、ナシ亜科の中で花序形態が異なるニホンナシとマルメロに特に着目し、シロイヌナズナで花芽分化誘導および花序形態形成に重要な役割をもつ *TERMINAL FLOWER1* (*TFL1*) および *LEAFY* (*LFY*) 遺伝子と相同性を示す遺伝子(相同遺伝子)を単離するとともに、それらの発現パターンをニホンナシとマルメロの間で比較し、これら果樹種の花序形成を制御する機構を明らかにしようとしたものであり、以下の4章からなっている。

第1章では、様々な花序形態を示すバラ科ナシ亜科の果樹6種(ニホンナシ、セイヨウナシ、リンゴ、マルメロ、カリン、ビワ)から、*TFL1*および*LFY*の相同遺伝子をそれぞれ2種類ずつ単離している。ただ、*TFL1*相同遺伝子の配列は高度に保存され、また、その機能に重要なアミノ酸配列は全ての種で完全に保存されており、これらの配列と花序形態の差異との関連は明らかではなかった。一方、*LFY*相同遺伝子は配列中に種特異的な変異がいくつか存在したものの、この変異と花序形態との間の関連も明確ではなかった。

第2章では、ニホンナシおよびマルメロの花芽分化と花序発達過程を経時的に観察している。ニホンナシでは、6月下旬にまず茎頂部が肥大して形成された包葉の腋部に側花の原基が形成された後、花序分裂組織の先端が頂花の原基に、外側の葉原基の分裂組織が側花の原基にそれぞれ分化することによって、最終的におよそ8個の花序が形成されることを認めた。一方、マルメロでは10月下旬の花芽分化期までに茎頂部におよそ8枚の葉原基が形成されるが、腋部に腋芽は観察されず、茎頂部に1個の花原基が形成されるだけであることを示し、ニホンナシとマルメロの花序形態の違いは、葉状の器官(包葉・葉原基)の腋部分裂組織が花原基に発達するか否かによって生じることを明らかにした。

第3章では、前章で明らかにした花芽分化および花序発達過程と *TFL1* および *LFY* 相同遺伝子の発現との関係を調査した。まず、ニホンナシとマルメロの花芽分化開始前から経時的に採取した芽および花芽における *TFL1* および *LFY* 相同遺伝子の発現量をリアルタイム RT-PCR、その発現部位を *in situ* hybridization 法によって調べ、ニホンナシ、マルメロともに花芽分化前に多量に発現していた *TFL1* 相同遺伝子が、花芽分化開始直前にその発現量を著しく減少させること、またその発現部位はニホンナシでは花芽分化前の茎頂下部、マルメロでは花芽分化前の茎頂上部と葉原基であることを示した。一方、両種で花芽分化前から発現していた *LFY* 相同遺伝子は花芽分化時に発現量が増加し、またその発現部位はニホンナシ、マルメロともに花芽分化後は主に花原基の内部であることを示した。次に、各果樹種に2種類ずつ存在する相同遺伝子

(*TFL1-1*, *TFL1-2*, *LFY-1*, *LFY-2*) について、芽から抽出した微小な組織片における発現を RT-PCR によって調査し、花芽分化前にニホンナシでは *TFL1-1*, *TFL1-2* とも発現が検出されたが、マルメロでは *TFL1-1* の発現だけが検出されること、これらの発現レベルは花芽分化直前に低下するものの、ニホンナシの花序組織では花芽分化開始後も *TFL1-1* が引き続き発現していることを明らかにした。なお、*LFY* 相同遺伝子の発現はニホンナシ、マルメロとも、花芽のほぼ全ての組織で検出され、*LFY-1* と *LFY-2* 間、あるいは、ニホンナシとマルメロ間で特徴的な発現パターンの違いは見られなかった。これらの結果から、*TFL1* 相同遺伝子は栄養生長する茎頂で発現し、その発現量低下が花芽分化の誘導に関与すること、さらに、ニホンナシとマルメロに2種類ずつある *TFL1* 相同遺伝子は、その役割をそれぞれ分化させており、ニホンナシでは花序の発達にも関与している可能性のあることを示した。

第4章では、*TFL1* 相同遺伝子の役割を確認することを目的として、セイヨウナシの *TFL1* 相同遺伝子を構成的に発現するタバコ形質転換体を作成した。その結果、形質転換体では栄養生長が助長され、花成時期が著しく遅延することを示し、ナシ亜科果樹の *TFL1* 相同遺伝子が栄養生長の維持に働くことを明らかにした。

### 論文審査の結果の要旨

わが国のニホンナシ栽培において、摘花・摘果は多大な労力を要する作業である。ニホンナシは総状花序を形成するが、これを人為的に制御し、単生花を形成するように出来れば、その栽培労力は大幅に軽減される可能性がある。本論文は同じナシ亜科に属するが、花序形態が異なるニホンナシとマルメロに着目し、これまでにモデル植物で報告されている花芽形成関連遺伝子の *TERMINAL FLOWER1* (*TFL1*) および *LEAFY* (*LFY*) の相同遺伝子をこれらの果樹種から単離し、それらの発現パターンを解析することによって、果樹の花序形成過程を制御している機構を明確にしようとしたもので、得られた主要な成果は以下のとおりである。

1. 様々な花序形態を示すバラ科ナシ亜科の果樹6種（ニホンナシ、セイヨウナシ、リンゴ、マルメロ、カリン、ビワ）から *TFL1* および *LFY* 相同遺伝子を単離したところ、*TFL1* 相同遺伝子の配列は高度に保存され、また、その機能に重要なアミノ酸配列は完全に保存されていることを認め、*TFL1* 相同遺伝子と花序形態の差異との関連は明確でないことを示した。一方、*LFY* 相同遺伝子は配列中に種特異的な変異がいくつか存在したものの、その変異と花序形態との関連も明らかでないことを示した。
2. ニホンナシおよびマルメロの花芽分化と花序発達過程を走査型電子顕微鏡によって経時的に観察し、ニホンナシでは6月下旬、マルメロでは10月下旬に花芽分化が開始することを示した。また、ニホンナシとマルメロでは、葉状の器官（苞葉・葉原基）の腋部分裂組織が花原基に発達するか否かによって花序形態の違いが生じることを明らかにした。
3. 花芽分化および花序発達過程と *TFL1* および *LFY* 相同遺伝子の発現パターンとの関係を調査し、*TFL1* 相同遺伝子は栄養生長する茎頂で発現し、その発現量の低下が花芽分化の誘導に関与することを明らかにした。また、ニホンナシとマルメロで2種類ずつある *TFL1* 相同遺伝子は、その役割に分化が見られ、ニホンナシでは花序の発達にも関与している可能性を示した。なお、*LFY* 相同遺伝子の発現パターンはニホンナシとマルメロでは差異がないことも示した。
4. セイヨウナシの *TFL1* 相同遺伝子が構成的に発現するタバコ形質転換体を作成し、形質転換体は栄養生長が助長され、花成時期が著しく遅延することを確認し、ナシ亜科果樹の *TFL1* 相同遺伝子が栄養生長の維持に働くことを明らかにした。

以上のように、本論文はナシ亜科に属するニホンナシとマルメロを主たる実験材料として、果樹における花芽分化および花序形成過程の制御機構を、花芽形成関連遺伝子の発現解析によって解明し、それら遺伝子の発現調節によって花序形態を制御できる可能性を示したものであり、果樹園芸学並びに果樹育種学の発展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成19年9月26日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。