

氏名	いけ がみ あや こ 池 上 礼 子
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学位記番号	農 博 第 1528 号
学位授与の日付	平成 17 年 9 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	Natural astringency-loss of a Chinese persimmon 'Luo Tian Tian Shi': Inheritance of astringency-loss and expression profiles of proanthocyanidin biosynthetic genes (中国起源の完全甘ガキ '羅田甜柿' における自然脱渋性の研究: 脱渋性の遺伝とプロアントシアニジン生合成系遺伝子の発現様式)
論文調査委員	(主査) 教授 米 森 敬 三 教授 矢 澤 進 教授 内 海 成

### 論 文 内 容 の 要 旨

カキ (*Diospyros kaki* Thunb.) はその脱渋性の違いから完全甘ガキ (PCNA), 不完全甘ガキ (PVNA), 不完全渋ガキ (PVA), 完全渋ガキ (PCA) の 4 タイプの品種群に分類される。このうち, 樹上で安定して渋味を消失する PCNA 品種群の園芸的価値が高く, 優良な PCNA 品種の獲得は重要な育種目標となっている。しかしながら, PCNA 品種群は比較的最近, 突然変異によって日本で独自に発生したと考えられており, その遺伝的変異は小さく, また, その形質は劣性である。このため, これまでの育種計画では PCNA 同士の交雑が繰り返され, 現在, 交雑個体の近交弱勢が深刻な問題となっている。一方, 近年, Wang らによって中国にも甘ガキ '羅田甜柿' が存在することが報告され, 日本に導入後, この品種が PCNA であることが確認された。本論文は, この中国で発見された '羅田甜柿' の甘渋性の遺伝特性を明らかにするとともに, タンニン成分の化学的特性とプロアントシアニジン生合成に関与する遺伝子の発現様式を日本の PCNA 品種と比較することによって, 中国の PCNA '羅田甜柿' の特異性を明確にしたものであり, 以下の 4 章よりなっている。

第 1 章では, '羅田甜柿' が PCNA 品種であることをタンニン細胞の肥大パターンから確認した後, '羅田甜柿' と日本の PCNA '太秋' および '晩御所' との交雑個体の果実における甘渋性の分離をタンニン細胞の大きさを指標として調査している。その結果, 日本の PCNA 品種同士の交雑では PCNA 個体のみが得られるのに対し, '羅田甜柿' と '太秋' あるいは '晩御所' の交雑からは PCNA 個体と non-PCNA (PVNA, PVA, PCA) 個体が分離することを示した。さらに, '羅田甜柿' と日本の PCA '四溝' および '岩瀬戸' の交雑によっても後代に non-PCNA 個体とともに PCNA 個体が出現することを明らかにし, '羅田甜柿' の甘渋性遺伝の特異性を明らかにしている。

第 2 章では, '羅田甜柿' のタンニン成分の化学的特性を明らかにするため, タンニンの分子量分布とアセトアルデヒドとの反応性を調査している。すなわち, 日本の PCNA 品種のタンニン成分は低分子領域に分子量分布を示すが, '羅田甜柿' のタンニン成分は non-PCNA 品種と同様, 高分子領域に分布していることを明らかにしている。また, アセトアルデヒドとの反応性に関しても日本の PCNA 品種ではその反応性が低い, '羅田甜柿' では non-PCNA 品種と同様に高い反応性を示すことを示した。さらに, 日本の PCNA 品種の BC<sub>1</sub> および '羅田甜柿' の F<sub>1</sub> において分離した PCNA と non-PCNA の個体を用いて同様の調査を行い, 日本の PCNA 品種の BC<sub>1</sub> 個体ではタンニンの化学的特性が甘渋性と同様に分離するが, '羅田甜柿' と日本の PCNA 品種である '太秋' との交雑により生じた F<sub>1</sub> では PCNA 個体でも non-PCNA 個体に類似した化学的特性を示すことを明らかにしている。

第 3 章では, プロアントシアニジン生合成に関わるフラボノイド合成過程を遺伝子レベルで調査することを目的とし, 既知のフラボノイド生合成関連遺伝子 9 種を PCA '西条' 果実から単離した後, '羅田甜柿', 日本の PCNA 品種, PCA 品種に関して, 果実発育に伴うこれらの遺伝子発現を調査している。その結果, 日本の PCNA 品種では調査したフラボノイド生合成に関与するすべての遺伝子の発現が 6 月下旬から減少しているのに対し, '羅田甜柿' ではこれらの遺伝子発現が

PCA 品種と同様に9月下旬まで持続しており、'羅田甜柿'における変異が日本のPCNAとは異なる遺伝子に起因していることを明らかにしている。

第4章では、樹上脱渋処理したPVA '平核無'果実と無処理果実、および'羅田甜柿'と日本のPCNA '太秋'の交雑により得られたPCNA 個体とnon-PCNA 個体を用い、suppression subtractive hybridizationによりプロアントシアニジン生合成に関わる遺伝子群の単離を試み、いくつかの候補遺伝子の単離に成功している。さらに、これら候補遺伝子の発現を'羅田甜柿'、日本のPCNA 品種、PCA 品種を用いて経時的に調査し、これらの品種における果実の渋味消長パターンと比較解析することで、これらの候補遺伝子からカキ果実のタンニン生成に強く関係していると考えられる遺伝子を絞り込み、プロアントシアニジン生合成およびその液胞への輸送における役割を考察している。

#### 論文審査の結果の要旨

カキ (*Diospyros kaki* Thunb.) はその脱渋性の違いから完全甘ガキ (PCNA), 不完全甘ガキ (PVNA), 不完全渋ガキ (PVA), 完全渋ガキ (PCA) の4タイプの品種群に分類される。このうちPCNA 品種群の園芸的価値が高いが、PCNA 品種群は比較的最近、突然変異によって日本で独自に発生したと考えられており、その遺伝的変異は小さく、また、その形質は劣性である。一方、近年、中国にも甘ガキ '羅田甜柿' が存在することが報告され、日本に導入後、この品種がPCNA であることが確認された。本論文は、この中国で発見された '羅田甜柿' の甘渋性の遺伝特性を明らかにするとともに、タンニン成分の化学的特性とプロアントシアニジン生合成に関与する遺伝子の発現様式を日本のPCNA 品種と比較することによって、中国のPCNA '羅田甜柿' の特異性を明確にしたものである。得られた主要な成果は以下のとおりである。

1. 日本のPCNA 品種同士の交雑ではPCNA 個体のみが生じるのに対し、'羅田甜柿' と日本のPCNA '太秋' および '晩御所' との交雑により、PCNA 個体のみでなく、non-PCNA (PVNA, PVA, PCA) 個体が分離することを明らかにした。さらに、'羅田甜柿' と日本のPCA '四溝' および '岩瀬戸' の交雑によっても、non-PCNA 個体とともにPCNA 個体が出現することを明らかにし、'羅田甜柿' の甘渋性遺伝の特異性を示した。
2. '羅田甜柿' のタンニン成分は、non-PCNA 品種と同様に高分子領域に分子量分布を示すことをサイズ排除クロマトグラフィーで明らかにし、また、アセトアルデヒドとの反応性も日本のnon-PCNA 品種と同様に高いことを示し、'羅田甜柿' のタンニン成分の特性が日本のPCNA 品種の特性と大きく異なっていることを明らかにした。
3. フラボノイド生合成に関与する遺伝子群のカキ果実の発育に伴う発現様式を解析し、日本のPCNA 品種ではこれらの遺伝子群の発現が発育初期にすべて減少するのに対し、'羅田甜柿' ではこれらの遺伝子群の発現がPCA 品種同様、発育後期まで持続していることを示し、'羅田甜柿' の自然脱渋機作が日本のPCNA とは異なる遺伝子に起因していることを明らかにした。
4. suppression subtractive hybridization によりプロアントシアニジン生合成に関わる遺伝子群の単離を試み、いくつかの候補遺伝子の断片を単離した。さらに、これら候補遺伝子の発現様式を調査することで、これらの候補遺伝子が '羅田甜柿' の脱渋機作に関与する役割を推察した。

以上のとおり、本論文は中国で発見された完全甘ガキ '羅田甜柿' の甘渋性遺伝の特異性を示し、'羅田甜柿' が今後の完全甘ガキ品種の育種のための重要な遺伝資源であることを明らかにするとともに、プロアントシアニジン生合成に関与すると考えられる遺伝子についても新たな知見を提供しており、果樹園芸学、果樹育種学並びに果樹生理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17年8月16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。