

## 論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

氏 名 KHOEM Koembuoy

論 文 題 目

Cultivated strawberry genes relating to transition between vegetative to reproductive phase

(栽培イチゴの栄養・生殖成長転換に関連する遺伝子群)

論文審査担当者

主 査 名古屋大学教授 松本 省吾

委 員 名古屋大学教授 中園 幹生

委 員 名古屋大学准教授 白武 勝裕

委 員 名古屋大学講師 太田垣 駿吾

## 論文審査の結果の要旨

## 別紙 1-2

日本の栽培イチゴの多くは一期成りの短日低温作物である。慣行(露地)栽培では、短日低温条件となる秋に花芽分化し、冬季休眠後の翌年3月から5月にかけて果実収穫期となる。しかしながら、イチゴ需要の高まるのはクリスマス時期を含む晩秋から冬季であることから、果実収穫期を早めるための超促成栽培が行われている。具体的には、夏場に暗幕と冷房機器、もしくは大型冷蔵庫を用い、1ヶ月程度に渡り連日夕方5時から翌朝9時まで低温暗黒下に置く短日低温処理、もしくは2週間程度の間3日毎に野外と大型冷蔵庫にポット苗を出し入れする間欠冷蔵処理を行う。これらの処理により花芽を人為的に誘導し、果実収穫期を高需要期である晩秋から冬季に合わせることが可能となる。この際、花芽分化誘導処理時の短日低温・低窒素条件下のポット苗は、処理後に長日高温・高窒素条件下のハウスもしくは圃場に定植されるため、処理終了時における花芽分化状況の確認が極めて重要となっている。すなわち、花芽分化前に定植すれば花芽分化が抑制され早期の果実収穫ができなくなり、花芽分化後もポット苗での育苗が続いていた場合は、花芽発達が阻害され果実品質の低下をもたらす。従来、花芽分化はクラウン茎頂部の検鏡による茎頂部位の形状の僅かな変化を基に確認していたが、本法は煩雑でありかつ熟練を要するとともに、苗の損失にも繋がることから新たな方法が求められていた。このような背景の中で、本研究では、栽培イチゴの花芽分化機構の解明に取り組むとともに、栄養成長から生殖成長に切り替わる花芽分化特異的に発現変動する遺伝子を指標とした超促成栽培技術の確立を目指した。

シロイヌナズナやイネでは、FLOWERING LOCUS T (FT) が花芽分化誘導因子であり、葉から茎頂へ FT タンパク質が輸送され、FD と複合体を形成して花芽形成因子 APETALA 1 (AP1) を活性化して花芽分化をもたらすことが知られている。

本研究では、栽培イチゴ‘とちおとめ’を用い、栽培イチゴゲノム上に存在する3種類の FT 遺伝子の中で、FaFT3 が花芽分化誘導時特異的に発現上昇すること、シロイヌナズナへ遺伝子導入した過剰発現体が早期開花性を示すことから、栽培イチゴの花芽分化誘導因子であることを明らかにした。特に、レーザーマイクロダイセクション法を用いた茎頂組織の RNA-seq 解析から、FaFT3 は花芽分化時にクラウン茎頂内で花芽分化するごく限られた領域内で特異的に発現していることが判明した。また、FaFT3 は花芽分化誘導時の葉組織において発現していないことから、栽培イチゴでは温度感受性部位であるクラウンで発現し、機能していると考えられた。一方、FaFT1、FaFT2 は花芽分化に関与しておらず、特に FaFT1 については、生殖成長期ではなく栄養成長期に高発現しており、シロイヌナズナへ遺伝子導入した過剰発現体が花茎にもロゼット様の葉を形成する独特の表現型を示したことから、ランナー形成などの栄養成長に関わることが示唆された。この FaFT1 は、野生イチゴの花芽分化促進因子として機能している FvFT1 と 1 アミノ酸のみ異なっており、このアミノ酸置換部位

## 論文審査の結果の要旨

## 別紙 1 - 2

が *FaFT1* と *FvFT1* との機能分化に重要であると考え、タンパク質モデリングにより置換部位の高次構造上の特徴を明らかにした。

FT と同じ PEBP ファミリーに属する TERMINAL FLOWERING LOCUS 1 (TFL1) は FT と拮抗的に働く花芽分化抑制因子であり、茎頂で発現し FD と複合体を形成して花芽分化を抑制する。栽培イチゴ ‘とちおとめ’ では *FaTFL2* の発現低下が花芽分化に関わることが示されていたが、本研究では、新たにクラウン茎頂の限られた領域では *FaTFL1-1* が発現低下していることを見出した。また、35S::*TFL1-1* を導入したシロイヌナズナ *TFL1* 変異体が表現型を回復したことから、*FaTFL1-1* が栽培イチゴにおける主要な花芽分化抑制因子であることを確認した。

栽培イチゴ ‘紅ほっぺ’、‘章姫’ 苗に間欠冷蔵処理を施し、花芽分化誘導因子である *FaFT3* と花芽分化抑制因子である *FaTFL1-1* のクラウン茎頂での発現レベルおよび茎頂部の形状を指標として、苗毎の花芽分化状態を特定した。次に、花芽分化前 (ステージ 0)、直後 (ステージ A)、後 (ステージ B) に該当する株それぞれにおける新たに展開した葉で発現する遺伝子群を RNA-seq により網羅的に解析した。‘紅ほっぺ’ と ‘章姫’ に共通して花芽分化前から直後にかけて発現上昇していた 481 遺伝子から、花芽分化後のステージ B に発現低下する遺伝子を除くなどの絞り込みを行い、最終的にステージ 0 からステージ A にかけて発現変動の最も高い 4 遺伝子について花芽分化時を特定できる候補遺伝子 (バイオマーカー 1,2,3,4) とした。RNA-seq 解析からは、いずれも花芽分化後のステージにおいて花芽分化前より高発現しており、特にバイオマーカー 2 はすべてのサンプルで安定的に高発現していた。また、次年度に間欠冷蔵処理を施した栽培イチゴについてこれらバイオマーカーの発現解析を行なったところ、1 から 4 のいずれも、間欠冷蔵処理苗特異的に高発現しておりバイオマーカーの有用性が示された。

以上のように、本研究では *FaFT3* が栽培イチゴにおける共通の花芽分化誘導遺伝子であり、シロイヌナズナなどのモデル植物と異なり、葉ではなくクラウン組織で合成され機能することが示唆された。また、花芽分化に関与せず栄養成長期に機能していると考えられた *FaFT1* は、野生イチゴの花芽分化誘導遺伝子 *FvFT1* と 1 アミノ酸のみ異なっており、アミノ酸置換部位では水素結合数に違いが見られた。さらに、*FaTFL1-1* が花芽分化抑制遺伝子であることを確認した。これらの花芽分化関連遺伝子群のクラウン部位での発現レベルを指標として、葉組織で花芽分化時に高発現する遺伝子群、すなわち花芽分化指標となるバイオマーカーを見出した。本研究は、栽培イチゴの花芽分化誘導機構の一端を明らかにするとともに、得られた知見を基に、超促成栽培技術への応用に繋がるバイオマーカーの同定を行なっている。審査委員会は、本論文が博士 (農学) の学位論文として十分な価値があると認め、論文審査に合格と判定した。