

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 古藤田 信博

第一章では、本研究の背景と目的を述べている。木本植物であるリンゴは、数年間続く幼若期間を経て開花・結実する。そのため、このような幼若相の存在は、果樹の早期多収や効率的な育種の推進を図る上で障害となっている。リンゴの通常の栽培管理体系では、実生の幼若相を4年以下に短縮することは困難である。本研究では、花成あるいは幼若性に関与するリンゴの遺伝子を単離し、シロイヌナズナおよびリンゴの形質転換体を用いて、それらの遺伝子の機能解明を行い、早期花成技術を開発することを目的としている。

第二章ではAFL (Apple *FLORICAULA/LEAFY*) およびMdAPI (*Malus x domestica API*) の単離と発現解析について述べている。リンゴ‘紅玉’からシロイヌナズナ*LEAFY (LFY)* に相同な遺伝子AFL (Apple *FL-ORICAULA/LEAFY*)、APIに相同な遺伝子MdAPI (*Malus x domestica API*)の部分断片を単離し、発現解析を試みた。茎頂における時期別ノーザンプロットでは、AFLの発現は8月から11月まで増加し、12月にやや減少することが明らかとなった。一方、MdAPIは、10月中旬から発現し、その後開花直前まで増加した。MdAPIは特異的に10月から発現することが判明した。器官別ノーザン解析により、AFLは、茎頂およびがく、葉に発現しており、MdAPIは、がく特異的に発現していることが明らかとなった。MdAPIの発現開始時期は、形態観察によるがく原基形成期（10月中旬）とほぼ一致する。

第三章ではリンゴ遺伝子MdAPIを発現する形質転換シロイヌナズナの解析をおこなっている。まずリンゴAPI相同遺伝子を単離した。次に35Sプロモーター下流にMdAPIを連結したコンストラクトをシロイヌナズナに導入し、形質転換個体を選抜した。カナマイシン耐性個体は15個体得られ、そのうち5個体が野生型と比較し早期開花性を示した。導入遺伝子に付随する早期開花性はその後代（T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>世代）においても伝達された。早期開花した個体はロゼット葉数が少なく、2～3枚程度で栄養生長が停止し、早期開花の著しい個体では有限花序となり花器官に形態異常が見られた。このようにMdAPIは、APIと同様に花成を促進させる機能などを持っていることが示唆された。

第四章ではMdTFLI (シロイヌナズナ*TFLI*相同遺伝子)の単離および解析を行っている。リンゴにおける時期別MdTFLI mRNAの発現量は、花芽分化期が最も高くその後やや減少した。

この発現パターンは、*AFL* (*AFLI*) が花芽分化後次第に上昇したのと対照的であった。次に、リンゴ *MdTF-L1* の機能を明らかにするため、*35S::MdTFLI* をシロイヌナズナに導入し形質転換体の作出を試みた。その結果、リンゴ *MdTFLI* 遺伝子を導入したシロイヌナズナは開花遅延を示し、本遺伝子が *TFLI* と同様に開花抑制機能を有していることを明らかとした。

第五章では *MdTFLI* アンチセンス遺伝子を発現する形質転換リンゴ「王林」の解析している。 *MdTFLI* のリンゴにおける機能を直接的に明らかにするためアンチセンス方向に組み込んだベクターを作成し、アンチセンスRNAを発現する形質転換リンゴを作成した。 *MdTFLI* 遺伝子を導入したリンゴは独立に3系統得られた。通常リンゴは種子をまいてから花が咲くまでに7～8年の年月を要する。 *MdTFLI* アンチセンス個体は、再分化シュートを順化後、最短8ヶ月で開花した。系統303及び705は接ぎ木により複数のクローンを増殖しているが、いずれも順化後8～13ヶ月で開花した。一方系統614は順化後25ヶ月で開花した。このことから *MdTFLI* はリンゴの幼若性維持に重要な働きをしていることが明らかとなった。早期開花した形質転換リンゴは、「さんさ」などの交雑和合性品種を受粉させることにより結実し、種子を形成した。また、早期開花系統は、種子親・花粉親のいずれにおいても果実および種子を形成した。このことは、早期開花系統を用いた世代促進が可能であることを示している。

第六章では本研究の意義について次のように述べている。花成に関わる遺伝子を制御して、リンゴなど果樹の幼若性を短縮する技術の開発は画期的であり、このような技術は他の木本作物にも応用可能であると考えられる。

以上要するに、本研究はリンゴにおいて花芽形成に強く関与する遺伝子 *MdAPI* および *MdTFLI* を単離し、 *MdAPI* は早期開花性の機能を有すること、リンゴへの *MdTFLI* アンチセンス遺伝子の導入は幼若期間を強く短縮することを示したもので、学術上応用上、寄与するところが少なくない。よって、審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。