HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	アスパラガスにおける単性花形成機構の解明と雄性種子生産技術の改良に関する研究［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	堀内，和奈
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第11821号
Issue Date	2015-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/58634
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Kazuna_Horiuchi_review.pdf，審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学　位　論　文　審　査　の　要　旨

博士の専攻分野の名称　　博　士（農学）　　氏名　　堀内　和奈

審査担当者　　主　査　　教　授　　増田　清
副　査　　教　授　　近藤　則夫
副　査　　准教授　　藤野　介延
副　査　　准教授　　鈴木　卓

学　位　論　文　題　名

アスパラガスにおける単性花形成機構の解明と雄性種子
生産技術の改良に関する研究

食用アスパラガス（*Asparagus officinalis*）は雌雄異株植物である。アスパラガスの花は，形成初期には両性花様の形態を示しており，花の成熟過程で雌花の雄蕊，雄花の雌蕊に発育不全が生じて単性花が形成される。花器官の発育不全による単性花の形成は，植物で広く見られる現象であり，キュウリやトウモロコシなどにおいて，植物ホルモンレベルおよびホルモン情報伝達の視点からの性発現メカニズムに関する研究が進んでいる。しかし，アスパラガスについては，20 年以上前に花芽のホルモンレベルに関連する研究結果が報告されて依頼，研究の進展が見られていない。一方，アスパラガスでは，雄性判別 DNA マーカーの研究が進んでいる。アスパラガスの経済栽培では，若茎の形状が斉一であり，収量性が高く，また落下種子による雑草化がないなどの理由から専ら雄性株が栽培されている。雄性株は，既に開発されている DNA マーカーを利用することによって選別することができるが，最近では，全て雄性個体に生育する交雑種子（全雄種子）の生産と利用が拡大している。そのため，アスパラガス全雄種子生産に利用する優れた系統の育成を目的として，雌雄性発現の仕組み解明と，全雄性種子生産法の改良が望まれている。

提出された論文は，このような研究背景のもとで，アスパラガス花芽形成における雌雄性発現の仕組み解明を試みたものであり，併せて，雄性判別 DNA マーカーの定量解析によって，全雄性種子生産に利用される雄性因子同形接合個体の選別が可能であることを立証したものである。

論文は図 29，表 13 を含む全 5 章，総ページ数 96 の和文論文であり，別に参考論文１編が添付されている。論文審査の内容は以下に要約される。

１　サイトカイニン代謝酵素遺伝子の単離・同定と発現解析：

論文では，まず，雄性花器官の形成に植物ホルモンが深く関わっている多くの事例を紹介し，アスパラガス花芽の雌雄性発現におけるサイトカイニン代謝酵素遺伝子の発現解析の意義を述べている。サイトカイニンの代謝は，アデニンヌクレオチドにイソペンテニール基を付加するイソペンテニール転移酵素（IPT），リボチド型サイトカイニンから糖リン酸を除去する加水分解酵素（LOG），および 側鎖を除去し，不活性化するサイトカイニンオキシダーゼ/デヒドロゲナーゼ（CKX）によって調節されている。研究では，内生サイトカイニンの合成と分解のどちらが優位に働いているのかを調べるため，まず，それら酵素の cDNA 遺伝子を単離・同定している。次に，採取したアスパラガスの花芽を，組織学的な判定に基づいて発達段階ごとに分け，さらに，顕微鏡下で花被，雄蕊，雌蕊器官に分割し，それぞれの組織のサイトカイニン代謝酵素遺伝子の発現を定量 PCR により解析した。その結果，雌花では退化開始時期の雄蕊で，著しく高いレベルの IPT の発現があることを明らかにした。さらに，遺伝子発現の組織局在性と内生サイトカイニンレベルを調べ，それらの結果に矛盾のないことを確認している。これらの結果から，過剰に産生されるサイトカイニンがアスパラガス雌花における雄蕊の発達停止の直接の要因であると推論している。

２　超雄性同定のための雄性判別 DNA マーカー定量法の確立：

アスパラガスの性は XY 型の様式で遺伝するので，雄性決定因子同型接合個体（超雄性個体）の花粉を授粉することにより，全雄性交雑種子を得ることができる。しかし，アスパラガスの性染色体に形態的区別はなく，同型接合（YY）と異型接合（XY）には植物形態に決定的な違いが無いため，超雄性を示す個体の選抜には，次世代個体の検定と，選抜のための長い育成期間が必要であった。論文は，既に開発されている雄性判別 DNA マーカーに着目し，複相ゲノムあたりの DNA マーカーの量を定量 PCR によって測定し，両者を識別する方法を述べている。さらに，その方法の信頼性を，アスパラガス自殖性維持系統の次世代個体を用いて検討し，雄性判別 DNA マーカーの定量によって同型接合（YY）と判定された個体が実際に超雄性を示すことを，雌性株との交配試験によって明らかにしている。これらの結果をふまえ，雄性判別マーカーの定量技術を導入することによって，超雄性個体の育成期間を大幅に短縮することが可能であると結論している。

以上のように，提出された論文は，植物ホルモンレベルの低下だけでなく，過剰産生もまた雌雄性発現の要因になりうることを明らかにするとともに，アスパラガス全雄種子生産を省力化することを目的とした新規ゲノム解析技術について論じている。その研究成果は学術的に高く評価される。よって審査員一同は，堀内和奈が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。