



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Studies on the molecular mechanism involved in the second growth of potatoes using microtubers [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	張, 霞
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第16035号
Issue Date	2024-06-28
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/92757
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	ZHANG_XIA_review.pdf, 審査の要旨



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 張 霞

審査担当者	主 査	特任教授	藤 野 介 延
	副 査	特任教授	鈴 木 卓
	副 査	教 授	志 村 華 子

学 位 論 文 題 名

Studies on the molecular mechanism involved in the second growth of
potatoes using microtubers
(マイクロチューバーを用いたジャガイモの二次生長に関わる分子機構の研究)

ジャガイモは北海道を代表する農作物であり、世界的に重要な作物である。ジャガイモの栽培中に気温が上昇すると塊茎の休眠状態が一時的に解除され、「二次成長」と呼ばれる萌芽が起こることがある。芽が再び休眠し塊茎形成が再開すると「二次肥大」が起こり、こぶ状の奇形塊茎が形成される。このような二次成長が生じると塊茎デンプン含有量が減少し、見た目が悪くなるため商品価値が低下する。最近では地球温暖化により、圃場での二次成長や二次肥大、さらに保管中の塊茎の萌芽が増加する傾向がある。本研究では、塊茎の二次成長の分子機構を解明するために、組織培養を用いた *in vitro* での小塊茎、マイクロチューバー（MT）を使い、二次肥大と二次成長を再現することを試みた。さらにその系を用いて、網羅的な遺伝子発現解析を行い、塊茎の萌芽におけるメカニズムを研究した。

供試材料にはジャガイモ（*Solanum tuberosum* L.）を用い、塊茎の二次成長、二次肥大を引き起こす組織培養系の確立を行った。塊茎の二次成長の系は無菌化した植物体の節を含む茎切片から MT を形成し、茎を付けた状態でジベレリン（GA）を含む培地で培養することにより確立した。また茎のついた MT に GA を短期間処理後、塊茎形成の培地で培養することにより塊茎の二次肥大を誘導した。

確立した二次成長の系を用い、塊茎の萌芽と二次成長の違いについて調べた。二次成長の系として茎がついた MT（stMT）および茎側の塊茎を除去し半分にした MT（hMT）を GA 単独、CK（サイトカイニン）単独、GA と CK を合わせた（GACK）培地でそれぞれ培養し二次成長・萌芽の誘導を行った。植物ホルモンを処理しない、あるいは CK 単独の場合、塊茎の萌芽ならびに二次成長は生じなかった。また GACK 処理した場合、塊茎の萌芽と二次成長が生じた。しかしながら GA 単独では塊茎の萌芽は起こらなかったが、二次成長は起こった。このことは GA が茎組織に作用し何らかの物質とともに塊茎の休眠を打破し二次成長を誘導したと考えられた。そしてこれには CK が関与していることが示唆された。

そこで二次成長の分子機構を調べるために、GA、CK、GACK を含む培地で3日間処理した stMT と hMT の頂端組織、ならびに stMT の茎組織から RNA を抽出し RNA-Seq を行った。得られたデータを2倍体のジャガイモゲノム配列に HISAT2 を使用し

てマッピングし、R パッケージを使用して、発現変動遺伝子 (DEG) 解析を行った。

各試験区をコントロールと比較し合計 6515 の DEG が検出された。KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) を用いたパスウェイ解析において抽出された 16 の経路の中で「植物ホルモン生合成およびシグナル伝達」が最も低い p 値を示し、重み付け遺伝子共発現ネットワーク解析 (WGCNA) の結果は GA 単独処理した stMT (二次成長が生じる) の茎組織において「植物ホルモンシグナル伝達経路」の CK に関連する遺伝子が正に制御されていることを示した。茎がついていることで MT が GA 単独で萌芽することに茎の内生の CK がかかわっていることが示唆された。

塊茎の萌芽にかかわる遺伝子機構を調べるために、頂端組織の DEG を比較したところ 1064 の DEG を共有した。それらを KEGG におけるパスウェイ解析した結果、15 の DEG が「植物ホルモン生合成およびシグナル伝達」経路に関連し、CK 応答遺伝子も上方制御されていた。遺伝子オントロジー (GO) のエンリッチメント解析により、「CK 活性化シグナル伝達経路」および「CK 生合成プロセス」に関連する 4 つの DEG が下方制御されていた。しかし、「ゼアチン生合成」の経路に関連する遺伝子は上方制御されていた。

GA 処理した二次成長過程中的の stMT の頂端組織の網羅的発現解析を行った。36 時間および 72 時間を 0 時間と比較した DEG について、それぞれ KEGG を用いたパスウェイ解析を行ったところ、8 経路が上方制御され、5 経路が下方制御されていた ($p < 0.05$)。72 時間では「ゼアチン生合成」経路に関する DEG は検出されなかったが、36 時間では 12 の DEG が検出された。処理時間が異なっても茎組織において CK シグナル伝達とホメオスタシスが時間的に変化していることが判明した。

ジャガイモ塊茎の萌芽には GA と CK が必要であるが、節を介し茎とつながっている塊茎においては GA 単独で萌芽が誘導できることが判明した。さらに茎組織において GA による CK に関連する遺伝子の制御も示された。

本研究は、温暖化など気候変動で問題になってきているジャガイモの二次成長や貯蔵中の萌芽の生理的機構を解明するうえで一つの重要な手段となりうる二次成長のモデル系の確立を行い、その系を用いて遺伝子の網羅的発現解析を行った。本研究でもたらされた知見は更なる詳細なジャガイモ二次成長、塊茎萌芽の機構解明に貢献し、さらにジャガイモの分子育種に役立つものである。

よって、審査員一同は、張霞が博士 (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。