

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 4 月 17 日現在

機関番号：16201

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23580041

研究課題名(和文) 甘果オウトウの花器官形成遺伝子の単離とその多雌ずい形成への関与の解明

研究課題名(英文) Isolation of floral organ morphogenetic genes and elucidation of their involvement in double pistil formation in sweet cherry

研究代表者

別府 賢治 (Beppu, Kenji)

香川大学・農学部・教授

研究者番号：30281174

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、甘果オウトウの花器官形成遺伝子を単離するとともに、異なる温度や品種間でこれらの遺伝子の発現量と多雌ずい形成、胚珠発育との関係を調べた。クラスB遺伝子としてPaTM6、PaPI遺伝子を、クラスC遺伝子としてPaAGとPaSHP遺伝子を、クラスD遺伝子としてPaSTK遺伝子を単離し、花の各部位での発現を確認した。温度処理や品種間比較において、各遺伝子の発現量の全てに一貫した傾向は得られなかったものの、高温による多雌ずい形成にはPaAGの増加が関与している可能性が高いことが示された。一方、ジベレリンによる胚珠の退化にはPaSTKの減少の関与が示唆された。

研究成果の概要(英文)：In this study, we isolated the floral organ morphogenetic genes of sweet cherry, and investigated the relationship between their expression level and double pistil formation and ovule development under various temperature conditions and cultivars. The class B MADS box genes, PaTM6 and PaPI, the class C genes, PaAG and PaSHP, and the class D gene, PaSTK, were isolated, and their expression in each flower organ was analyzed. Though there was no clear trend through the whole experiments, it was suggested that the increased expression level of the PaAG gene might be responsible for double pistil formation due to high temperature. On the other hand, it was indicated that the low expression level of the PaSTK gene, might be involved in early ovule degeneration due to gibberellin.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：園芸学・造園学

キーワード：甘果オウトウ 多雌ずい形成 双子果 花器官形成遺伝子 高温

1. 研究開始当初の背景

近年、観光果樹資源としての価値や早期出荷の目的から、甘果オウトウの西南暖地での栽培が試みられているが、奇形果である双子果の多発や結実不良が栽培上大きな問題となっている。主産地においても、地球温暖化の影響により双子果の発生や結実不良が増加しており問題になりつつある。双子果は、花芽分化期に2本(まれに3本)の雌ずい原基が形成されることにより生じる(正常果は1本)。我々は、これまでの研究で、多雌ずい形成が花芽分化期の30以上の高温により発生することを明らかにし、このことへのエチレンの関与の可能性を示した。一方、結実不良は、開花期の高温や貯蔵養分の減少による胚珠の発育不良が主因であることを明らかにした。栽培技術による多雌ずい形成の抑制や結実の向上の方法として、遮光による樹体温の低下や促成栽培による感受期の前進が有効であることを明らかにした。

しかしながら、これらの方法は資材費や労力を要するため、育種の改善が望まれている。主要品種の多くは多雌ずい化を多発するが、一部にはほとんど多雌ずい形成しない品種もあり、この形質が後代に遺伝するのであれば、交雑育種による多雌ずい形成の少ない品種の育成が可能である。その際、分子マーカーを利用できれば早期選抜により育種効率は極めて高くなる。分子マーカー作出のためには、多雌ずい形成に関わる分子機構の解明が重要となる。

その手がかりとして、多雌ずい形成の生じる高温条件下では、多雌ずい形成と同時に雄ずいの雌ずい化も生じる。このような花器官の変化には花器官形成遺伝子が関与することが一般に知られており、このうち雄ずい形成にはクラスB、C両遺伝子が、雌ずい形成にはクラスC遺伝子が必要である。オウトウの属するバラ科果樹のリンゴではクラスB MADS box 遺伝子の変異により雄ずいが雌ずい化した品種が報告されており、オウトウの多雌ずい形成と雄ずいの雌ずい化にもクラスB、C MADS box 遺伝子の発現量の変化が関与している可能性が十分に考えられる。一方、クラスD MADS box 遺伝子は、胚珠の発育に関わっていると考えられており、オウトウの結実不良にもこの遺伝子の発現量の変化が関与しているかもしれない。しかしながら、オウトウではクラスB、C、D MADS box 遺伝子がまだ発見されていないことから、第一段階として、これらの遺伝子を単離することが必要である。そこで、我々は昨年からこのことに着手し、これらの部分配列の獲得に成功している。全長や上流の発現調節部位の解析、発現量の分析等が可能になれば、急速な研究の発展が期待される。

2. 研究の目的

本研究では、まず、甘果オウトウの花芽のRNAからクラスB、クラスC、クラスD

MADS box 様遺伝子を単離し、塩基配列とアミノ酸配列を明らかにする。得られた配列をもとにこれらに特異的なプライマーを設計し、開花時の花の各部位での発現解析により、これらがクラスB、C、D MADS box 遺伝子であることを確認する。

次に、多雌ずい形成や胚珠発育を温度処理や植物ホルモン処理により人為的に制御した植物体において、クラスB、C、D MADS box 遺伝子の遺伝子の発現量を比較するとともに、多雌ずい形成率や結実率の大きく異なる品種間でのこれらの遺伝子の発現量を比較することにより、クラスB、C、D MADS box 遺伝子の多雌ずい形成や胚珠発育への関与を明らかにする。

このことにより、多雌ずい形成や結実不良に関わる分子機構の解明の手がかりになるとともに、多雌ずい形成の生じない個体や結実性に優れる個体を選抜するための分子マーカーの作出につながることを期待される。これらのことは、地球温暖化が進行する中で国内外で求められる多雌ずい形成の抑制技術や結実改善技術の開発のための非常に重要な基礎的知見となるとともに、多雌ずい形成の生じない品種や結実性に優れる品種の交配育種において、早期選抜による時間と労力の大幅な短縮に寄与することが期待される。

3. 研究の方法

(1) クラスB MADS 遺伝子群の単離と発現解析

花芽分化期後半に甘果オウトウの花芽を採取し、全RNAを抽出し、cDNAを合成した。同じバラ科植物であるバラとリンゴのAP3、PI 遺伝子の塩基配列を比較し、AP3、PI 遺伝子それぞれに特異的な2種共通のプライマーを作成した。フォワードプライマーは、MADS box 内で作成した。これらのプライマーを用いてRT-PCRを行い、TA クローニング法により塩基配列を決定した。得られた塩基配列をもとに3'RACE、5'RACE用のプライマーを作成し、3'RACE法、5'RACE法により全長の塩基配列を決定した。

上記で得られた甘果オウトウのAP3様、PI様遺伝子の塩基配列をもとに、それぞれに特異的なRT-PCR用のプライマーを作成した。開花時に、甘果オウトウの花の各部位と幼葉を採取し、全RNAを抽出した。これを鋳型として、上述のプライマーによりRT-PCRを行った。

(2) クラスC MADS 遺伝子群の単離と発現解析

花芽分化期後半に甘果オウトウの花芽を採取し、全RNAを抽出し、cDNAを合成した。同じバラ科植物であるバラとリンゴのAG 遺伝子(euAG lineageとPLE lineageの2種類)の塩基配列を比較し、2種類のAG 遺伝子それぞれに特異的な2種共通のプライマーを作成した。フォワードプライマーは、MADS box 内で作成した。これらのプライマーを用いて

RT-PCR を行い、TA クローニング法により塩基配列を決定した。得られた塩基配列をもとに 3'RACE 5'RACE 用のプライマーを作成し、3'RACE 法、5'RACE 法により全長の塩基配列を決定した。

上記で得られた甘果オウトウの AG 様遺伝子(2種類)の塩基配列をもとに、それぞれに特異的な RT-PCR 用のプライマーを作成した。開花時に、甘果オウトウ '佐藤錦' の花の各部位と幼葉を採取し、全 RNA を抽出した。これを鋳型として、上述のプライマーにより RT-PCR を行った。

(3) クラス D MADS 遺伝子群の単離と発現解析

甘果オウトウ '佐藤錦' の子房を開花当日に採取し、直ちに液体窒素で凍結保存した。その後、全 RNA を抽出し、cDNA を合成した。他の Prunus 属果樹やリンゴの STK 遺伝子の塩基配列を比較し、STK 遺伝子を特異的に増幅するプライマー(STK-atg, STK-F, STK-R)を作成した。まず、STK-atg と STK-R, STK-F と M13-20 のプライマーを用いて RT-PCR を行い、それぞれ 1 本のフラグメントを得た。これらの PCR 産物の混合液をテンプレートとして、STK-atg と M13-20 のプライマーセットにより PCR を行った。得られた PCR 産物について、TA クローニング法により塩基配列を決定した。

上記で得られた甘果オウトウの PaSTK 遺伝子の塩基配列をもとに、この遺伝子に特異的な RT-PCR 用のプライマーを作成した。甘果オウトウ '佐藤錦' の花芽分化期後半の花芽、開花時の花の各部位(がく片、花弁、雄ずい、雌ずい、花柱と花頭、子房)と葉を採取し、各々全 RNA を抽出した。これらを鋳型として、上述のプライマーを用いて RT-PCR を行った。

(4) 花芽の発育段階とクラス B, C MADS-box 遺伝子の発現量の関係

甘果オウトウ '佐藤錦' の 6 月下旬、7 月上旬、7 月下旬の花芽を採取し、凍結保存した。花芽から全 RNA を抽出後、cDNA 合成し、クラス B (PaTM6, PaPI), クラス C (PaAG, PaSHP) 遺伝子に特異的なプライマーを用いたリアルタイム PCR により、発現量を比較した。

また、実態顕微鏡下で、花芽の形態的分化段階も調査した。

(5) 夏季の温度と花芽のクラス B, C MADS-box 遺伝子の発現量の関係

甘果オウトウの鉢植え樹をがく片や花弁の形態的分化が生じている 7 月下旬に、20, 30, 35 に温度設定した人工気象室に 3 個体ずつ搬入した。処理 5 日後と 14 日後に花芽を採取した。花芽採取後直ちに液体窒素で凍結保存し、RNA 抽出直前にりん片を除いた。全 RNA を抽出し、cDNA を合成した後、PaTM6, PaPI, PaAG, PaSHP のそれぞれに特異的なプライマーペアを用いて、各遺伝子の発現量を

SYBER Green によるリアルタイム定量 PCR で分析した。翌春の満開期に多雌ずい花の発生率を調査した。次年度には、25, 35 の人工気象室で同様の実験を行った。この時は、りん片を除いてから液体窒素で凍結保存した。

(6) 花芽のクラス B, C MADS-box 遺伝子の発現量の品種間比較

甘果オウトウ '高砂', '佐藤錦', 'ナポレオン' の花芽を 7 月下旬と 8 月上旬に採取し、直ちに液体窒素を用いて凍結し、-80 で保存した。RNA を抽出し、cDNA を合成して、リアルタイム PCR により発現量を比較した。

一部の花芽を採取後 FAA 固定し、実態顕微鏡で花芽分化の様子を観察した。また、11 月に短果枝上の花芽を採取し、FAA 固定液で固定後、実態顕微鏡下で多雌ずい花の割合を調査した。

(7) 夏季の温度と花芽のクラス D MADS-box 遺伝子の発現量の関係

甘果オウトウ '佐藤錦' の鉢植え樹をがく片や花弁の形態的分化が生じている 7 月下旬に、25, 35 に設定した人工気象室に搬入した。花芽は、処理 3 日後、10 日後に採取した。花芽採取後、りん片を除いてから液体窒素で凍結保存した。全 RNA を抽出し、cDNA を合成した後、D MADS-box 遺伝子 (PaSTK) に特異的なプライマーペアを用いて、この遺伝子の発現量を SYBER Green によるリアルタイム定量 PCR で分析した。

(8) 開花期前後の温度と子房のクラス D MADS-box 遺伝子の発現量の関係

甘果オウトウ '佐藤錦' と '紅秀峰' の鉢植え樹を萌芽期から花弁落花期まで、15, 25 に設定した人工気象室に搬入した。開花 1, 2 日後に花を採取し、直ちに子房のみを切り取って、液体窒素で凍結保存した。全 RNA を抽出し、cDNA を合成した後、クラス D MADS-box 遺伝子 (PaSTK) に特異的なプライマーペアを用いて、この遺伝子の発現量を SYBER Green によるリアルタイム定量 PCR で分析した。

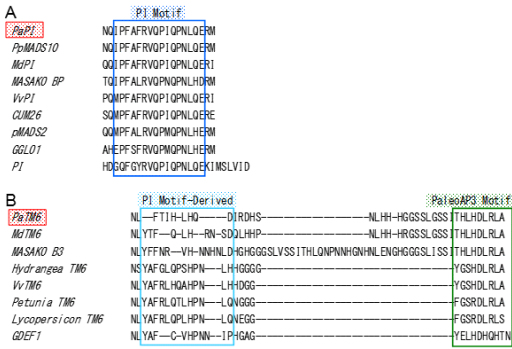
一方、胚珠の発育状態を観察するため、'佐藤錦' の花を開花 2 日後に花を採取し、直ちに子房を FAA で保存した。パラフィン切片を作成し、胚珠の発育状態を光学顕微鏡で観察した。

(9) 開花前のジベレリン処理が胚珠の発育とクラス D MADS-box 遺伝子の発現量に及ぼす影響

甘果オウトウ '佐藤錦' の花弁が見え始めた時に GA₃ 水溶液(100ppm)を散布した。バルーンステージ、開花当日、開花 2 日後の子房を採取し、全 RNA を抽出後、cDNA 合成した。クラス D 遺伝子に特異的なプライマーを用いたリアルタイム PCR により、発現量を比較した。また、胚珠の発育を調査した。

4. 研究成果

(1) クラス B MADS 遺伝子群の単離と発現解析

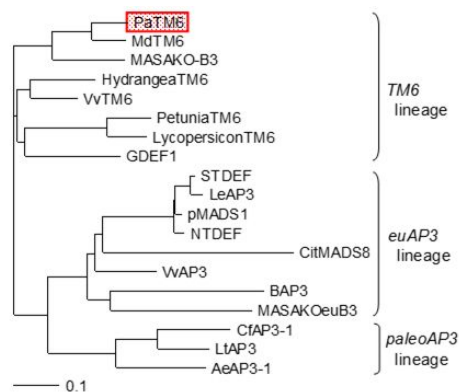


第1図 PaPI と PI ホモログ遺伝子(A)および PaTM6 と AP3 ホモログ (TM6 lineage) 遺伝子(B)の C 末端領域のアミノ酸配列

甘果オウトウ (PaPI), モモ (PpMADS10), リンゴ (MdPI, MdTM6), バラ (MASAKO BP, MASAKO B3), ブドウ (VvPI, VvTM6), キュウリ (CUM26), ペチュニア (pMADS2, Petunia TM6), ガーベラ (GGL01, GDEF1), シロイヌナズナ (PI), トマト (Lycopersicon TM6), アジサイ (Hydrangea TM6).

バラやリンゴの TM6 lineage に属する AP3 遺伝子と相同性の極めて高い甘果オウトウの PaTM6 遺伝子を単離した PaTM6 遺伝子は, MADS box と K box 近傍に, それぞれ AP3 サブファミリーに特異的なアミノ酸と「(H/Q)YExM」類似配列を有していた. PaTM6 遺伝子の推定アミノ酸配列の C 末端領域に paleo-AP3 motif 類似配列がみられた(第1,2図).

バラやリンゴの PI 遺伝子と相同性の極めて高い甘果オウトウの PaPI 遺伝子を単離した. PaPI 遺伝子は, MADS box と K box 近傍に, それぞれ PI サブファミリーに特異的なアミノ酸と「KHEXL」配列を有していた. PaPI 遺伝子の推定アミノ酸配列の C 末端領域に PI motif 類似配列がみられた(第1図).



第2図 PaTM6 と AP3 ホモログ遺伝子の推定アミノ酸配列の系統樹

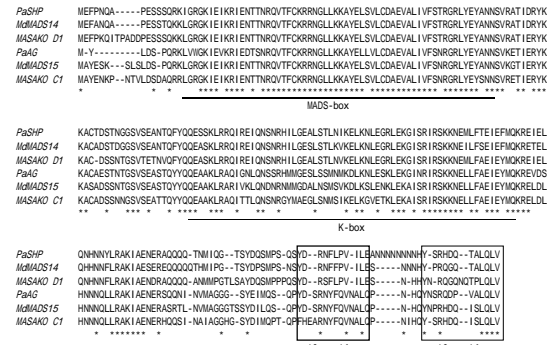
甘果オウトウ (PaTM6), リンゴ (MdTM6), バラ (MASAKO B3, MASAKO euB3), アジサイ (Hydrangea TM6), ブドウ (VvTM6, VvAP3), ペチュニア (Petunia TM6, pMADS1), トマト (Lycopersicon TM6, LeAP3), ガーベラ (GDEF1), ポテト (STDEF), タバコ (NTDEF), ウンシュウミカン (CitMADS8), アブラナ (BAP3), タロバナロウバイ (CfAP3-1), ポプラ (LtAP3), ウマノスズクサ (AeAP3-1).

PaTM6 遺伝子特異的プライマーによる RT-PCR では, 花弁と雄ずいでのみバンドが検出された(第6図). PaPI 遺伝子特異的プライマーによる RT-PCR でも, 花弁と雄ずいでのみバンドが検出された.

これらの結果から, PaTM6, PaPI 遺伝子は, それぞれ甘果オウトウの AP3, PI ホモログであることが示唆された.

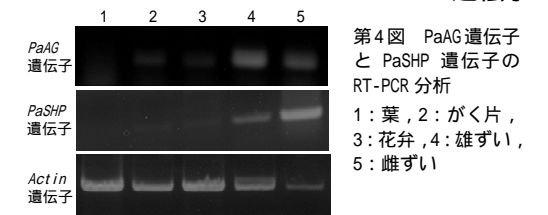
(2) クラス C MADS 遺伝子群の単離と発現解析

AG 遺伝子の euAG lineage に属する MASAKO C1 (バラ) と MdMADS15 (リンゴ) に相同性の



第3図 甘果オウトウ (PaSHP, PaAG), リンゴ (MdMADS15, MdMADS15; van der Linden ら, 2002), バラ (MASAKO D1, MASAKO C1; Kitahara・Matsumoto, 2000) の AG 様遺伝子の推定アミノ酸配列.

極めて高い甘果オウトウの PaAG 遺伝子を単離した(第1,3,4図). また, AG 遺伝子の PLE lineage に属する MASAKO D1 (バラ) と MdMADS14 (リンゴ) に相同性の極めて高い甘果オウトウの PaSHP 遺伝子も単離した(第3図). 両遺伝子ともに, MADS box に AG サブファミリーに特異的なアミノ酸を有していた. 両遺伝子ともに, 推定アミノ酸配列の C 末端領域に AG motif と AG motif がみられた. PaAG 遺伝子



特異的プライマーによる RT-PCR では, 雄ずいと雌ずいで濃いバンドが検出された. PaSHP 遺伝子特異的プライマーによる RT-PCR でも, 雄ずいと雌ずいでバンドが検出された(第4図).

これらの結果から, PaAG, PaSHP 遺伝子は, 甘果オウトウの AG ホモログであることが示唆された.

(3) クラス D MADS 遺伝子の単離と発現解析

Prunus 属果樹やリンゴの STK 遺伝子と相同性の極めて高い甘果オウトウの PaSTK 遺伝子を単離した. PaSTK 遺伝子は特に, MADS-box 領域, K-box 領域, C 末端領域で高度に保存されていた. PaSTK 遺伝子の推定アミノ酸配列の C 末端領域に, STK motif 配列が見られた(第5図).

PaSTK 遺伝子に特異的なプライマーによる RT-PCR では、花芽、雌ずい、花柱と花頭、子房でバンドが検出された。一方、葉、がく片、花弁、雄ずいではこれらのプライマーによる RT-PCR でバンドは検出されなかった。

これらの結果から、PaSTK 遺伝子は、甘果オウトウの STK ホモログであることが示唆された。

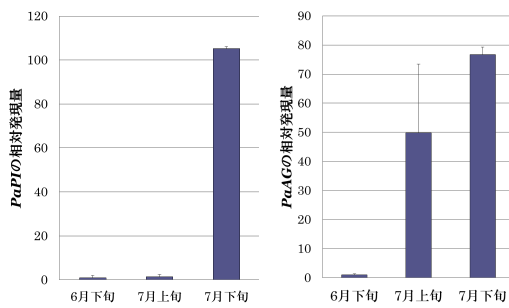
```

ATGCGGGAGCGAAGAGTTGAGTATCAGAGGATCGAGAACACCACAAACCGTCAAGTGACC 60
MGGGKRIEIKRRIENFTFRQVVT
TTC TCC AAACGCAAGAAATGACACTCTGAGAAAGGCTTATGAGCTATCCATCTCTGTGAT 120
EKRERNSLRLRSLYERSLRCD
CGTGAAGTTGCCCTATTGCTTCCAGTGGAGCGCCCTCTAGCAGTAC TCCAAC AAC 180
AEVALLIVFSSRGRRLYEVSNLN
AACAGCATANGAACACTATAGAGAGGTACAGAGAGGCTTGC TCAGATAGCTCAGGTTC A 240
NNTIERVKNACSDSDS
ACC TCC ATTAC TCA AAT TATGCTCAATATATCAACAGGAA TCGGCA AAGCTGAGGCA A 300
TSIEINAVQVYQGRBAKLRQ
CAGATTCAAAATGCTTCGAGHATTCACACAGGACACTTATATGGAGATTCCTTGAGTACTTTG 360
G L Q N L I O H S N R H M G D A L S I L R
AGTGTGAAGAGGCTTAAGGCGCTGGAGAA TAGGCTTGAACGAGGCTATTAAATAGATCAGG 420
S V K E L K S L E R H R G I N R I R
TCCAGAAAGCATGAAATGCTCTCTCCAGAAATGAGTAC TCCAGAAAAGGAGATCGAG 480
S K K H E M L L A E I E V L O K K E I E
CTGGAAAATGAAATGTTGTTCTTGGAC TTAGATATCAGAGTTGAGAGGCTTCAGCAA 540
E N E N V C L E R T K I S E V E R L O Q
GCAAAACATGGTTCAGCAGAGCTGAAATCCATCCAGGCAATTAGCTTCTCCAAATTTCTT 600
A N M V G P E L N A I O A L A S R N F F
AGCCAAAATATGATGGAGGCTGGAGCAACCTACCCACAGCAAGCAAGAGATTCTCCAT 660
S O N M M E G G A F R F R E R K E L I H
CTTGGTAAAGCTTTGGAGAGAGATTCAGCAATGCTAGC TCAACTTATTCAAAATAATG 720
E G *
ATGTCAC TCCCTACTGTTTITAGTATGCAAGTGTGCTCAGAGTTCTGGAGACTTCCAT 780
TTTGGAGAGGCTGGAGGAGCTTACTTACTTATGAGGATAGGCTTGC TGCCTTGGAGAGCTGA 840
AATGTTATTGGAAAGATGTTATGACTTGGTTCATCTCCAGATAAT TAC TATAGTAAAG 900
CTCTGTATGCTAGTAAAGAAAAGAAAAGAAAAGAAAAG 954
  
```

第5図 PaSTK遺伝子のcDNAの塩基配列と推定アミノ酸配列。太線と細線のアンダーラインはそれぞれ MADS-box と K-box 領域を示す。線で囲まれた領域はC末端領域を示す。*は終止コドンを示す。

(4)花芽の発育段階とクラス B, C MADS-box 遺伝子の発現量の関係

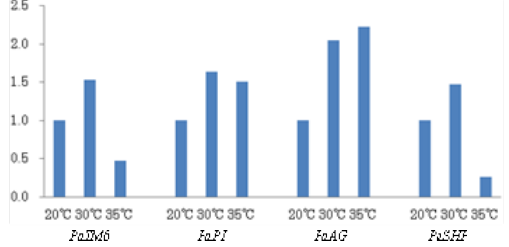
花芽分化初期の6月下旬には、いずれの遺伝子の発現量も少なく、がく片分化期の7月上旬には PaTM6 遺伝子と PaAG 遺伝子が急増し、花弁分化期の7月下旬には PaPI 遺伝子と PaSHP 遺伝子も急増していた(第6図)。



第6図 PaSTK遺伝子のcDNAの塩基配列と推定アミノ酸配列。太線と細線のアンダーラインはそれぞれ MADS-box と K-box 領域を示す。線で囲まれた領域はC末端領域を示す。*は終止コドンを示す。

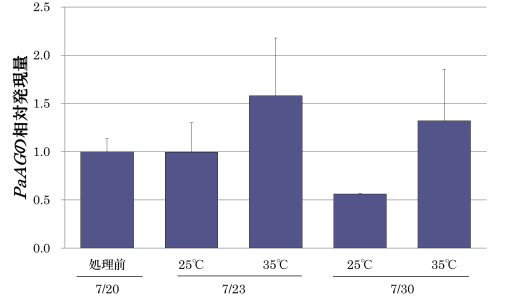
(5)夏季の温度と花芽のクラス B, C MADS-box 遺伝子の発現量の関係

処理5日後では、クラス B 遺伝子の PaTM6 は 30, 35 区でやや多く発現していたが、



第7図 夏季の温度が甘果オウトウ「佐藤錦」の花芽のクラス B, C MADS-box 遺伝子の発現に及ぼす影響(処理14日後)。

PaPI は 35 区で発現量が小さかった。クラス C 遺伝子の PaAG は 30 区で他区よりも発現量が大きかった。PaSHP は 35 区での発現量が小さかった。処理14日後では、クラス B 遺伝子の PaTM6 は 30 区で発現量が大きかったものの、35 区では小さかった。PaPI は、30, 35 区で発現量が大きかった。クラス C 遺伝子の PaAG は 30, 35 区で発現量が著しく大きかったが、PaSHP は 35 区で発現量が著しく小さかった(第7図)。翌春の満開期



第8図 夏季の温度処理が「佐藤錦」の花芽のクラス C (PaAG) 遺伝子の発現に及ぼす影響。7月20日の「佐藤錦」の発現量を1としたときの相対値。

における多雌ずい花発生率は、処理温度が高いほど大きかった。

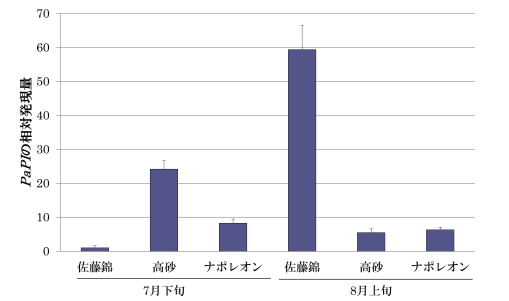
次年度は、いずれの調査日においてもクラス B 遺伝子の PaTM6 とクラス C 遺伝子の PaAG は 35 区で 25 区よりも発現量が大きかった(第8図)。一方、クラス B 遺伝子の PaPI とクラス C 遺伝子の PaSHP は 35 区で 25 区よりも発現量が小さかった。

高温による雌ずい数の増加や雄ずいの雌ずい化には、クラス C 遺伝子の発現量の増加やクラス B 遺伝子の発現量の減少が関わっていると予想されたが、本実験ではクラス B 遺伝子には一貫した傾向が見られず、クラス C 遺伝子では、高温により PaAG が増加し PaSHP が減少する傾向が認められた。

(6)花芽のクラス B, C MADS-box 遺伝子の発現量の品種間比較

花芽の分化段階について、7月下旬には全品種のほとんどの花芽が、がく片・花弁形成期であり、一部の花芽が雄ずい形成期に達していた。

花器官形成遺伝子の発現量と多雌ずい花発生頻度を比較したところ、クラス B, C 遺伝



第9図 異なる品種での花芽のクラス B (PaPI) 遺伝子の発現量の比較。7月下旬の「佐藤錦」の発現量を1としたときの相対値。

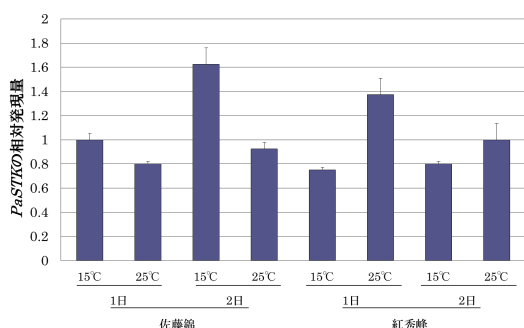
子ともに‘佐藤錦’で‘高砂’や‘ナポレオン’よりも発現量が大きかった(第9図)。多雌ずい花発生率は、‘ナポレオン’で‘佐藤錦’や‘高砂’よりも高く、多雌ずい花発生率と花器官形成遺伝子の発現量に品種間で一定の傾向は認められなかった。

(7) 夏季の温度と花芽のクラス D MADS-box 遺伝子の発現量の関係

処理3日目では35区のPaSTKの発現量は、25区の発現量の2倍以上であった。処理10日後ではその差が小さくなったものの、35区でPaSTKの発現量がやや大きかった。クラス D 遺伝子も多雌ずい形成に関わっている可能性が示唆された。

(8) 開花期前後の温度と子房のクラス D MADS-box 遺伝子の発現量の関係

‘佐藤錦’では開花2日後のPaSTKの発現量は15区で25区よりも大きかったものの、開花1日後では、温度処理間で大きな差は見られなかった。一方、‘紅秀峰’ではいずれの日も25区でやや高かった。高温下では品種間に大きな差は見られなかったが、低温下では‘佐藤錦’で‘紅秀峰’よりもPaSTKの発現量がやや大きかった(第10図)。



第10図 開花期前後の温度が‘佐藤錦’と‘紅秀峰’の子房のクラス D (PaSTK) 遺伝子の発現に及ぼす影響。

‘佐藤錦’では、開花2日後に、8核期に達した胚のうの割合は高温により低下した。一方、退化した胚珠の割合は、15区で28.6%、25区で66.7%と高温により著しく増加した。

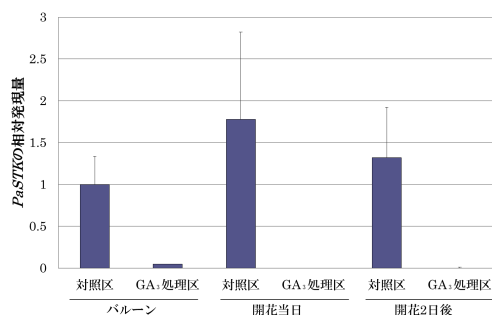
本実験では、胚珠の発育とPaSTKの発現量について一定の傾向は認められなかった。

(9) 開花前のジベレリン処理が胚珠の発育とクラス D 遺伝子の発現量に及ぼす影響

ジベレリン処理により、胚のうや珠心が退化した胚珠の割合が著しく増加した。一方、ジベレリン処理により、開花前後の子房のPaSTK 遺伝子の発現量が著しく減少した(第11図)。このことから、ジベレリンによる胚珠の早期退化には、クラス D 遺伝子の発現抑制が関わっている可能性が示唆された。

以上のように、本研究では、甘果オウトウの花器官形成遺伝子を単離するとともに、異なる温度や品種間でこれらの遺伝子の発現量と多雌ずい形成、胚珠発育との関係を調べ

た。全てに一貫した傾向は得られなかったものの、多雌ずい形成にはクラス C 遺伝子のPaAG が関与している可能性が示された。一方、GA による胚珠の退化にはクラス D 遺伝子のPaSTK の減少の関与が示唆された。



第11図 ジベレリン処理が‘佐藤錦’の子房のクラス D (PaSTK) 遺伝子の発現量に及ぼす影響。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Beppu, K., Sumida, H., and Kataoka, I. Sweet cherry MADS-box genes ‘PaAG’ and ‘PaSHP’ homologous to class C floral identity genes, *Acta Horticulturae* (in press).

〔学会発表〕(計 7 件)

別府賢治, 住田英実, 片岡郁雄: 甘果オウトウのクラス C MADS-box 遺伝子のクローニング, *園芸学研究* 10, 別冊(1), 323 (2011).

辻田孝志, 王新衛, 片岡郁雄, 別府賢治: 夏季の温度が甘果オウトウの花芽のクラス B, C MADS-box 遺伝子の発現に及ぼす影響, *園芸学研究* 10, 別冊(2), 396 (2011).

辻田孝志, 王新衛, 片岡郁雄, 別府賢治: 甘果オウトウのクラス D MADS-box 遺伝子のクローニング, *園芸学研究* 11, 別冊(1), 287 (2012).

辻田孝志, 王新衛, 片岡郁雄, 別府賢治: 花芽分化期および開花期の温度が甘果オウトウのクラス D MADS-box 遺伝子の発現に及ぼす影響, *園芸学研究* 11, 別冊(2), 360 (2012).

別府賢治, 村瀬拓也, 片岡郁雄: 暖地での促成栽培が甘果オウトウ‘佐藤錦’の結実と多雌ずい形成に及ぼす影響, *園芸学会中四国支部研究発表要旨*, 52, 7 (2013).

Beppu, K., Sumida, H., and Kataoka, I. Sweet cherry MADS-box genes ‘PaPI’ and ‘PaTM6’ homologous to class B floral identity genes, *Abstracts of 7th International Cherry Symposium*, 36 (2013).

Beppu, K., Sumida, H., and Kataoka, I. Sweet cherry MADS-box genes ‘PaAG’ and ‘PaSHP’ homologous to class C floral identity genes, *Abstracts of 7th International Cherry Symposium*, 37 (2013).

6. 研究組織

(1) 研究代表者

別府 賢治 (BEPPU, KENJI)

研究者番号: 30281174