

氏 名	SITI HAJAR NOOR BINTI SHAARANI
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	農 学
学位授与番号	博乙第4430号
学位授与の日付	平成26年 9月30日
学位授与の要件	博士の学位論文提出者 (学位規則第5条第2項該当)
学位論文の題目	Functional characterization of flower morphogenesis- and senescence-related genes using virus-induced gene silencing technique in <i>Petunia hybrida</i> (ペチュニアにおける花器官形成および老化関連遺伝子の Virus-Induced Gene Silencing 法を用いた機能解析)
論文審査委員	准教授 中野 龍平      教授 久保 康隆      教授 後藤丹十郎

### 学位論文内容の要旨

Petunia belongs to the Solanaceae, which is a plant family of great economic importance as ornamental plants. It is also proved to be an excellent model plant for the study of flower development and senescence. Flower morphology, such as large petals and double flower formation, and flower longevity are important factors that influence quality of floricultural crops and studies on genes that regulate flower morphogenesis and senescence is required. Recently, techniques using virus induced gene silencing (VIGS) have been developed as efficient reverse genetics tools to test gene function. However, VIGS is induced in a chimeric manner and it is sometimes difficult to identify flowers on which silencing is induced. To overcome the disadvantage of VIGS, system that uses silencing of chalcone synthase (*CHS*) gene, one of genes regulating anthocyanin biosynthesis, as a reporter to visualize silencing induced-flower was established. Using this VIGS system, functional characterization of flower morphogenesis and senescence related genes were conducted. It is revealed that two C-class MADS-box genes, *pMADS3* and *FBP6*, function redundantly to determine stamen formation and silencing both genes at once produces decorated double flower. Moreover, cultivar-dependent conversion of carpels into new flowers was noted in *pMADS3/FBP6*-VIGS flowers, which created an ornamental appearance with a high commercial value. It is also demonstrated that genes encoding ethylene signaling components, Ethylene Insensitive 2 (EIN2) and EIN3 like (EIL), are involved in petal senescence and silencing these genes prolongs flower longevity. In parallel with the functional analysis through VIGS, identification and expression analysis of flower development-related genes were performed. Petunia orthologues of pollen formation controlling genes *Tapetum Determinant 1 (Ph-TPD1)* and *Excess Male Sporocytes 1 (Ph-EMS1)* were successfully identified. These genes were expressed specifically in stamen of youngest bud, suggesting the involvement of these genes in pollen formation. The findings obtained in this study would be valuable for breeding new cultivars and developing technology to improve quality of petunia and other floricultural crops.

## 論文審査結果の要旨

ペチュニアは経済的に重要な花き類であり、また、花の研究のモデルとして扱われている。花き作物の品質を決定する要因として花の形態と花持ちがあり、モデルであるペチュニアでは花の形態や花持ちに関連すると予想されている多くの候補遺伝子が単離されている。しかしながら、その機能解析は、あまり進んでいない。近年、virus-induced gene silencing (VIGS)法とよばれる比較的容易な遺伝子サイレンシング技術が開発されており、遺伝子の機能解析に有用であると期待されている。しかしながら、VIGS法では、サイレンシングがキメラ状に起こるために、サイレンシングが誘導された箇所を同定できず、機能解析が困難となることがある。

そこで、本論文では、アントシアニンの合成に関わる*Ph-CHS*のサイレンシングをマーカーとしたペチュニアのVIGS法を確立するとともに、花の形態形成に関わるMADS-Box遺伝子 (*pMADS3*および*FBP6*)と花持ちに関わるエチレン情報伝達関連遺伝子 (*Ph-EIN2*および*Ph-EILs*)の機能解析を試みている。

その結果、*Ph-CHS*のサイレンシングをマーカーとしたペチュニアのVIGS法では、品種により有効性が異なること、低温条件下で、特に、サイレンシングにより白色の花が形成されやすく、サイレンシング箇所が認識しやすいことなどが明らかとなった。さらに、MADS-Box遺伝子 (*pMADS3*および*FBP6*)の機能解析では、*pMADS3*および*FBP6*を単独でサイレンシングさせても、外観に大きな変化はないが、両者を同時にサイレンシングさせると雄ずいが開花し八重花が形成されることを発見している。また、品種によっては、両者を同時にサイレンシングさせた場合に、雌ずいの代わりに新たな花が形成され、より顕著な八重になることも明らかにしている。エチレン情報伝達関連遺伝子 (*Ph-EIN2*および*Ph-EILs*)の機能解析では*Ph-EIN2*遺伝子のサイレンシングによりエチレンを感受しなくなり、花弁の老化が抑制され、花持ちが2倍以上になることを明らかにしている。

これらの知見はペチュニアさらには花き類の形態形成や花弁の老化に関する研究の新展開を導くものであり、花き類の品質向上の基礎となるものと高く評価できる。

したがって、本論文は博士（農学）学位に十分に値すると評価した。