

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

氏 名 中 嶋 竜 一

論 文 題 目

短日夜冷処理による栽培イチゴ花芽分化機構
の分子生物学的解析と促成栽培への応用

論文審査担当者

主査	名古屋大学教授	松本	省吾
委員	名古屋大学教授	中園	幹生
委員	中部大学准教授	山田	邦夫
委員	名古屋大学准教授	白武	勝裕
委員	名古屋大学助教	太田	垣駿吾

論文審査の結果の要旨

イチゴ栽培では、高収益化を目指して通常の露地栽培では果実収穫出来ない10月から11月に果実出荷する超促成栽培が行われている。これは花芽をつけない長日高温期である7月に暗幕と冷房を用いて人工的に短日と夜間低温環境を作り、花芽分化を8月上旬から中旬までに行わせる栽培法である。花芽分化後は果実発達のために高窒素環境である圃場に定植されるが、万一花芽分化前に定植すると、長日高温と高窒素環境により花芽分化が抑制され早期出荷の失敗に繋がる。一方、花芽分化後も短日低温・低窒素環境の育苗条件下に置くと、花芽発達が阻害されイチゴ品質の低下につながる。花芽分化のタイミングを的確にとらえることが重要であるが、現在の光学顕微鏡による花芽分化検定法は熟練を要する。遺伝子診断等による新たな検定法が求められていたが、栽培イチゴの花芽分化機構は未解明な点が多く、どの遺伝子が花芽分化と関連しているのか不明であった。

そこで本研究では、シロイヌナズナ等で花芽分化に関わるとされる *FT/TFL1* ファミリー遺伝子群の栽培イチゴにおける機能を解析し、イチゴの花芽分化機構の解明を目指すとともに栽培法への応用に取り組んだ。

栽培イチゴの cDNA から *FT* を 1 種類、*TFL1* を 3 種類クローニングし、それぞれ *FaFT1*、*FaTFL1-1*、*FaTFL2*、*FaTFL3* と名付けた。4 遺伝子の推定アミノ酸配列と他植物種の *FT/TFL1* ファミリーを用いて作成した系統樹から、*FaFT1* は花芽分化誘導機能を、*FaTFLs* は花芽分化抑制機能を持つと推測された。

FaFT1 の 4 時間毎の時間別発現解析を葉で行ったところ、花芽分化誘導する短日夜冷条件では *FaFT1* の発現が確認出来なかった。一方、花芽分化誘導しない長日高温条件では明期 8 時間目と、暗期直前となる明期 16 時間目に *FaFT1* の発現ピークが見られた。また、短日夜冷処理 0 日から 35 日目まで日別発現解析を行ったところ、花芽分化前後を含め *FaFT1* の発現は全く確認出来ず、対象区の長日高温条件下でのみ発現していた。*FaFT1* を野生型のシロイヌナズナに導入したところ、短日条件において 1 系統を除き花芽分化誘導機能が見られず、エアリアルロゼットの形成に伴う茎生葉の増加が観察された。芽の分化を変化させることと *FaFT1* がランナー発生する長日高温条件下で恒常的に発現していたことから、花芽分化と相関の見られない *FaFT1* は栽培イチゴのランナー形成に関わる因子であると考えられた。

FaTFLs について経時的に日別発現解析を行ったところ、*FaTFL1-1* と *FaTFL3* は花芽分化する短日夜冷区と花芽分化しない長日高温区の間で発現レベルに差が見られず、短日夜冷処理で花芽分化を確認した 35 日目の発現量と処理開始時の 0 日目の発現量に差が見られなかったことから、花芽分化と相関の見られない遺伝子と判断した。一方、*FaTFL2* は短日夜冷処理によって発現量が一度上昇した後低下し、0 日目と比較して最初に花芽分化が確認された 30 日目の発現量が半減していた。また、長日高温区と比較しても発現量が低下しており、短日夜冷特異的かつ花芽分化初期に発現量

の低下が見られることが示された。また、花器官形成遺伝子である *FaAP1* が短日夜冷処理 35 日目に上昇しており、*FaTFL2* の発現低下は花器官形成遺伝子の発現上昇に先立って起こることが示された。これらの結果から、*FaTFL2* が花芽分化を制御する因子の 1 つであることが示唆された。

FaTFL1-1 をシロイヌナズナ *TFL1* 変異体の *tfl1-2* に導入し相補実験を行ったところ、有限花序の *tfl1-2* と異なり無限花序となったことに加え、花器官の葉化ならびに開花速度の遅延が観察された。これらの結果から、*FaTFL1-1* は花芽分化抑制機能を持つことが示唆された。前述の発現解析では *FaTFL1-1* は長日高温区と短日夜冷処理区ともに恒常的に発現していたことから、短日夜冷処理で花芽分化することと矛盾が生じた。そこで *FaTFLs* が発現部位で機能分化していると考え、クラウン先端 5mm を花芽分化する茎頂を含む頂部、先端と根を取り除いた残りのクラウンを基部と定義し再度発現解析を行った。その結果、*FaTFL1-1* は短日夜冷処理によって頂部では発現量が低下するものの基部では発現量が上昇することを見出した。このことから、短日夜冷処理で恒常的に発現していた *FaTFL1-1* は、基部側の発現量上昇によって頂部側の発現量低下が隠された結果であると考えられた。一方、*FaTFL2* は頂部基部ともに短日夜冷処理によって発現量の低下が確認された。これらの結果から、イチゴの花芽分化制御に *FaTFL2* に加えて *FaTFL1-1* も関わっている可能性が示唆された。

本研究で得られた知見をもとに、*FaTFL2* の発現様式を花芽分化の指標とし、促成栽培への応用を目指した。花芽分化指標として *FaTFL2* が様々な温度、日長条件で使えるかを検証したところ、8 時間明期 16 時間暗期 25°C 一定条件で *FaTFL2* 発現量は低下し花芽分化することを見出した。そこで花芽分化の新条件として、短日夜冷 (15°C) 処理の時間を 16 時間から 8 時間に半減した短日夜冷半減区を新たに設定し、*FaTFL2* の発現量変化と花芽分化の時期が短日夜冷区と同等であることを確かめた。その結果、*FaTFL2* の発現は短日夜冷区と半減区でほぼ同等に低下し、花芽分化速度に差のないことから短日夜冷処理の時間を半減できる可能性が示唆された。

以上のように、本研究は多くの植物で花芽分化誘導に関わる *FT* の栽培イチゴにおけるホモログである *FaFT1* が花芽分化誘導に関わっておらず、ランナー形成に関わる可能性があることを示した。また、花芽分化時に茎頂を含むクラウン全体で発現が低下し、花芽分化の指標となることが期待される *FaTFL2* を見出した。さらに、得られた花芽分化機構の知見から、現行の短日夜冷による超促成栽培法に用いられる冷房コストを削減できる可能性を示した。本研究は、今後のイチゴ花芽分化研究ならびに超促成栽培法の発展に大きく貢献すると認められることから、審査委員会は、本論文が博士（農学）の学位論文として十分な価値があると認め、論文審査に合格と判定した。

