

令和 2 年 5 月 26 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07652

研究課題名(和文) マンゴー品種間における花成制御機構の違いとその要因解析

研究課題名(英文) Differences in the regulatory mechanism of floral induction between mango cultivars.

研究代表者

神崎 真哉 (Kanzaki, Shinya)

近畿大学・農学部・准教授

研究者番号：20330243

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、マンゴーの花成制御機構の品種間差異を解析し、低温以外の花成誘導要因を明らかにすることにより、マンゴーの新規作型や生産安定化に有効な知見を得ることを目的として実施した。その結果、低温遭遇による花成誘導には 'Irwin' と同様に他の品種でも MiFT 遺伝子の発現が関与しているものの、夏季開花には MiFT は関与していないことが明らかとなった。さらに花成に低温が必須であると考えられていた 'Irwin' でも夏季開花することが見出された。今後、遺伝子の網羅的解析を進め夏季開花の仕組みを明らかにしていく予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

マンゴーの花成に関して、低温に遭遇せず、また、MiFT 遺伝子の発現が増加しなくても花成誘導が進むことが熱帯性品種だけではなく 'Irwin' でも確認されたことは興味深い。これまでにマンゴーの花成制御の仮説として広く受け入れられている VP/FP 仮説を検証するための足がかりになるであろう。一方、夏季開花の仕組みが解明されれば、マンゴーの新規作型や生産安定化技術の開発に繋がることから、実用的価値も高いと考えている。

研究成果の概要(英文)：This study was conducted to analyze the differences in the control mechanism of flower induction between mango cultivars and to elucidate the factors that induce flowering other than low temperature, and to obtain useful knowledge for new cultivation method and stable production of mangoes. The results showed that MiFT gene expression was involved in the induction of flowering induced by low temperature in other cultivars as well as in 'Irwin', but MiFT was not involved in summer flowering. In addition, 'Irwin' was found to flower in summer, which is thought to be required low temperature for floral induction. We plan to investigate the mechanism of summer flowering through comprehensive transcriptome analysis.

研究分野：果樹園芸学

キーワード：花成誘導 FLOWERING LOCUS T

様式 C - 19 , F - 19 - 1 , Z - 19 ( 共通 )

## 1. 研究開始当初の背景

(1) マンゴーの開花制御や開花数の安定化は生産量や生産額に直結する重要事項であるため古くから各国で研究が進められており、一部の地域では成長調節物質を利用した周年栽培も実現している。マンゴーの花成制御機構に関しては、Davenport(2007)の提唱した仮説が広く知られている。それによると、マンゴーの芽の運命は芽が活動し始める時の花成促進因子(Florigenic Promoter: FP)と栄養成長促進因子(Vegetative Promoter: VP)のバランスによって決まるとされる。FPは10-15程度の低温に遭遇することで増加するとされており、国産マンゴーの主要品種である‘Irwin’でも花成誘導には低温遭遇が必須とされている。一方、熱帯性の品種では低温に遭遇しなくても花成が誘導されることが知られており、日本でも夏季開花が観察されている。熱帯性品種の花成誘導は、葉の老化や乾燥ストレスなどによってVPが減少することによりFPとの相対量が変化することが要因になっていると考えられているが、こうした仮説の検証はまだなされていない。

(2) これまでに我々は、シロイヌナズナの花成誘導因子である *FLOWERING LOCUS T(FT)* のオーストラリアにあたる *MiFT* をマンゴーから単離し、その発現が‘Irwin’の花成誘導に必要であることを明らかにしており、*MiFT* がマンゴーのFPであることを示している(Nakagawa et al., 2012)。しかし、品種間における花成制御機構の差異、すなわち低温遭遇が必須の品種と必須でない品種の違いに *MiFT* がどのように関わっているかは不明であった。

## 2. 研究の目的

(1) 本研究の目的は、まず、‘Irwin’以外の品種における *MiFT* の発現様式と花成との関係を明らかにすることである。これまでマンゴーの花成に関連する *MiFT* の発現解析は‘Irwin’のみを用いて進められてきた。本研究では、‘Irwin’と比べてより強い隔年結果性を示す‘愛紅’を用いて *MiFT* の発現様式や花成特性の品種間差異を解析する。

(2) また、本研究では、熱帯性品種の夏季開花の制御要因を明らかにすることを目的としている。夏季開花時の *MiFT* 発現と花成との関係を調査することにより、低温以外の花成誘導因子が明らかになれば新規作型の開発やマンゴーの生産安定に有効であると考えられる。本研究においては、‘Irwin’と熱帯性品種の‘Nam Doc Mai’を異なる温度設定下で栽培し、*MiFT* 発現の季節変動や花成反応の品種間差異を解析した。

(3) *MiFT* の発現が低温や樹体の栄養状態に左右されることは明らかになっているが、*MiFT* の発現を制御する因子やVPに関わる因子に関してはほとんど解析されていない。本研究では、*MiFT* 遺伝子の発現変動に関与する遺伝子についての情報を得るためにRNA-seqによる遺伝子発現変動解析を試みた。また、花成と関与する可能性のある植物ホルモンの解析も併せて実施する。

## 3. 研究の方法

### (1) 隔年結果性の異なる品種間における花成特性の違い

近畿大学附属農場(和歌山県有田郡湯浅町)内のハウスに定植された6年生の‘愛紅’および鉢植えの4年生‘Irwin’それぞれ15樹を実験に供試した。両品種とも6月下旬に結実していない枝(不結実枝)のせん定を行うとともに、葉果比が60, 40および20になるように各処理区5樹ずつ調整した。結実枝については果実収穫後(‘Irwin’では8月下旬, ‘愛紅’では9月下旬)に剪定した。その後、各樹における秋冬季の *MiFT* 発現量を測定するとともに、翌年の花穂発生率およびせん定後の新梢伸長回

数を調査した。実験 2016-19 年にかけて実施した。MiFT 遺伝子の発現解析は TB Green Premix Ex Taq (Takara Bio Inc.)を用いたインターカレーター法によるリアルタイム PCR 法により行い、発現量は *Elongation factor* 遺伝子 (*MiEF* 遺伝子)に対する相対発現量として求めた

### (2) 熱帯性品種の夏季開花を制御する要因の解析

石川県立大学のガラス温室でポット栽培されている‘Irwin’ および‘Nam Doc Mai’を実験に供試した。実験は 2017 年度と 2018 年度に行い、10 月以降の気温を 20 以上(2018 年度は 23 以上)に設定した高温区と 10 ~20 に設定した低温区を設け、‘Irwin’は高温区に 5 樹、低温区に 4 樹、‘Nam Doc Mai’は高温区および低温区に各 2 樹を供試した。低温区では 2 月後半から最低気温を徐々に上げて 3 月中旬以降は 23 以上で保った。両年度とも 4 月に花芽形成率を調査した。2018 年度の実験では 6 月および 7 月の花芽形成率についても調査した。また、温度処理開始から 1ヶ月毎に葉を採取し、total RNA を抽出した後、上記と同様にリアルタイム PCR 法により *MiFT* の発現量を解析した。

### (3) RNA-seq 解析および植物ホルモンの分析

上記の石川県立大学にて行った実験の低温区と高温区の各個体から 9 月および 12 月に採取した RNA サンプルについて RNA-seq 解析を行い、処理区間および時期によって発現量が変動する遺伝子の解析を行った。また、この実験で用いた個体については 2017 年 10 月、2018 年 1 月および 3 月に採取した葉から植物ホルモンを抽出し、LC-MS/MS により GA3, IAA, ABA およびサイトカイニン含量の測定を行った。

## 4. 研究成果

(1) ‘愛紅’は‘Irwin’と比べて花穂発生率が低いこと、特に前年度の結実枝における花穂発生率が低くなることが明らかとなった(図 1)。さらに‘愛紅’の花穂発生は枝の伸長回数と関連があることが示された。一方、*MiFT* 発現量について、‘愛紅’でも低温遭遇後に *MiFT* 発現量の増加が確認されたが、‘Irwin’と比べるとその発現量は低かった。葉果比の違いが *MiFT* 発現量や花穂発生に及ぼす影響は確認できなかったが、‘愛紅’では‘Irwin’と比べて *MiFT* 発現量が低いことが花穂発生率の低さに関連していると考えられた。

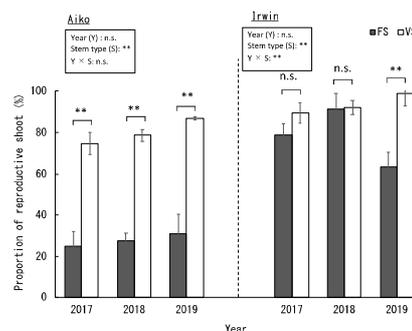


図 1 前年枝のタイプによる花穂形成率の違い。左：愛紅，右：Irwin

(2) ‘Irwin’の低温区では春に 100%の花穂発生率を示したが、高温区では 2017 年度と 2018 年度でそれぞれ 28%、9%と低くなった。*MiFT* の発現量は低温遭遇後に増加しているのが確認

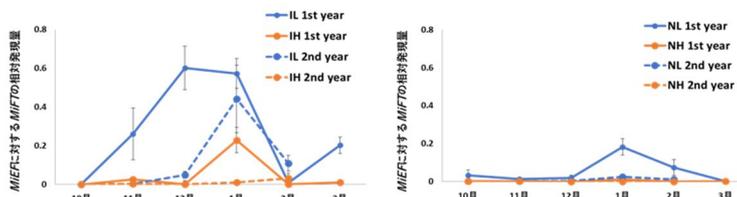


図 2 低温区および高温区における *MiFT* 発現量の変化。左：Irwin，右：Nam Doc Mai

されたが、高温区でも 1 年目には *MiFT* 発現量の増加がみられたことから、‘Irwin’において *MiFT* の発現誘導に有効な気温、すなわち、花成誘導に有効な気温の閾値は 20 前後にあると考えられた(図 2)。一方、‘Nam Doc Mai’では、低温区の花穂発生率は 2017 年度と 2018 年度でそれぞれ 80%、29%となった。*MiFT* 発現量も 1 年目は低温遭遇後に増加がみられたのに対し、2 年目には低く推移しており、発現量と花穂発生率は関連があることが示された(図 2)。「Nam Doc Mai」高温区では春には

花穂発生は確認されなかったが、4月から7月にかけて花成が少しずつ継続して進行することが示された(図2)。また、'Irwin'においても高温区の樹では4月以降にも花成が継続することが確認され、長期間高温で栽培すると'Nam Doc Mai'に似た'花成反応が現れることが示された。また、この時、*MiFT* 発現量の変化は見られなかったことから、マンゴーにおいて *MiFT* の増加を伴わない花成誘導がみられることが示された。'Nam Doc Mai'だけでなく'Irwin'でもこのような現象が確認されたのは想定外であったが、夏季開花の仕組みを解明するきっかけになる可能性があると考えている。

このように、マンゴーの花成は低温遭遇により *MiFT* 発現量が増加した場合には短期間に集中して花成が誘導されるが、十分な低温に遭遇しない場合や低温遭遇しても樹体要因によって *MiFT* 発現量が増加しない場合には、花成が不揃いになり長期間継続すると考えられた。

(3) RNA-seq 解析により遺伝子発現変動解析を行った結果、発現挙動が *MiFT* と類似する遺伝子群として約 1200 個の遺伝子が確認された。これらの多くは光合成関連の遺伝子群であったが転写因子を含むいくつかの興味深い遺伝子を見出すことができた。現在、*MiFT* 発現に影響を与える気温以外の因子に対して、これらの遺伝子がどのように応答するかを検証している。植物ホルモンに関してはサイトカイニン含量が低温遭遇により'Irwin'で増加することが確認されたが、その他の植物ホルモンについて品種間、処理区間で顕著な差異は見られなかった。サイトカイニン含量と *MiFT* 発現あるいは花穂発生との関係については今後調査する予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 異賢太郎、小枝壮太、志水恒介、神崎真哉
2. 発表標題 マンゴーの花成誘導因子MiFTの発現量および発現時期が花芽形成に及ぼす影響
3. 学会等名 園芸学会平成30年度秋季大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 異賢太郎、志水恒介、宇都宮直樹、神崎真哉
2. 発表標題 収穫時期の異なるマンゴー品種間における花成および結実特性の違い
3. 学会等名 日本熱帯農業学会第122回講演会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	高居 恵愛  (Takai Mei)  (70589770)	石川県立大学・生物資源環境学部・准教授    (23303)	