

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 13 日現在

機関番号：15201

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2013

課題番号：22780022

研究課題名(和文) 果樹における隔年結果現象のメカニズム解明 - 花成関連遺伝子解析からのアプローチ

研究課題名(英文) Study on the relationship between fruit development and flowering gene expression in fruit tree species

研究代表者

江角 智也 (ESUMI, TOMOYA)

島根大学・生物資源科学部・准教授

研究者番号：30548764

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：多くの植物で花成を誘導するフロリゲン遺伝子(FT)は、カキとブドウにおいては、果柄(穂軸)と果実で強く発現していた。一方、FTと拮抗する働きを示すTFL1遺伝子の発現は、結果枝に形成される芽において強く発現していた。ブドウでは、有核果を着果させた結果枝と無核果の結果枝とで、それら遺伝子の発現レベルに違いがみられた。また、隔年結果の原因シグナルとして考えられているジベレリンの合成やシグナル伝達に關与する遺伝子の発現についても、有核果の結果枝と無核果の結果枝とで、一部の器官において発現レベルの違いがみられた。果実着果、種子形成と花芽形成の關係における、花成関連遺伝子の關与について知見を得た。

研究成果の概要(英文)：A major flowering inductive gene, FT (FLOWERING LOCUS T) ortholog, was expressed abundantly in peduncles rather than buds or leaves in grapevine and persimmon tree. On the other hand, flowering repressive genes, TFL1 (TERMINAL FLOWER 1) homologs, were expressed mainly in buds on the fruit bearing shoot (current shoot). In grapevine, the expression level of FT and TFL1 were affected by existence of seeds in the neighboring berries. One of factors for biennial bearing phenomenon in fruit trees is known as a signaling from gibberellin. The expressions of genes, which are involved in the gibberellin signal transmission, altered by the existence of seeds in berries. The relationships among fruit development, seed development, and flower bud initiation could be discussed with the expression of flowering-related genes and with the gibberellin signaling.

研究分野：果樹園芸学

科研費の分科・細目：農学・園芸学・造園学

キーワード：花成関連遺伝子 ジベレリン 無核果処理 植物生理

1. 研究開始当初の背景

隔年結果とは、花芽形成に依存している着花(果)の量が年次によって大きく変動し、成り年と不成り年を交互に繰り返す現象である。カキやリンゴ、ウンシュウミカン等の栽培において顕著に表れる現象であり、毎年安定した果実生産を行うために解決すべき大きな課題である。これまでも、樹体内の植物ホルモン(ジベレリン)の影響や同化養分の競合等、様々な視点から隔年結果現象の生理的要因を解明する研究がなされているが、それらを統合した研究や説明はまだなされていない。そこで、花成関連遺伝子等の遺伝子発現解析による研究を行うことで、これまでの多様な知見の橋渡しをし、隔年結果現象の統合的な理解が可能になっていくのではないかと考えた。

近年、モデル植物等で花の形成に関わる遺伝子が数多く単離され、植物の花成誘導について分子生物学と植物生理学からの視点での理解が深まってきている。とりわけ花成誘導を担う「フロリゲン」として注目されている *FT* 遺伝子(以下 *FT*)は、果樹の幼若相短縮を目的とした研究をはじめとして、園芸作物においてもその応用研究が進んでいる。リンゴやカンキツにおいては、*FT*を高発現させることによって花成を劇的に促進できることが示されている。また、*FT*とアミノ酸配列が相同でありながら、花成誘導に対して抑制的に働く *TFL1* 遺伝子(以下 *TFL1*)も知られている。リンゴでは *TFL1* の相同遺伝子である *MdTFL* の発現を抑えることによって、花成を促進できることが示されている。

そこで、果樹の隔年結果現象における果実の成長と花芽形成との関係について、これら花成誘導に関わる遺伝子の発現を踏まえて考察、検討する。

2. 研究の目的

隔年結果現象の生理的要因のひとつとして考えられる果実発達および種子形成と花芽形成との関係について、遺伝子発現解析の手法により理解を深めることを目的に、カキとブドウを実験材料とし、無核または有核の果実をそれぞれ着果させた処理結果枝を作成して、花成関連遺伝子の発現を調査する。また、花形態形成や果実の発達に伴う遺伝子発現の変化についても幅広く調査し、隔年結果現象をひきおこす樹体生理のメカニズムについて、花成関連遺伝子を中心とした遺伝子発現の観点からの説明を目指す。

3. 研究の方法

カキ‘西条’(隔年結果しやすい)とブドウ‘デラウェア’および‘シャインマスカット’(隔年結果はみられない)を用い、開花期の人為的処理により無核または有核の果実をそれぞれ着果させた結果枝区を作成した。8月に結果枝を採取し、各器官における *FT* や *TFL1* 等の花成関連遺伝子の発現、さら

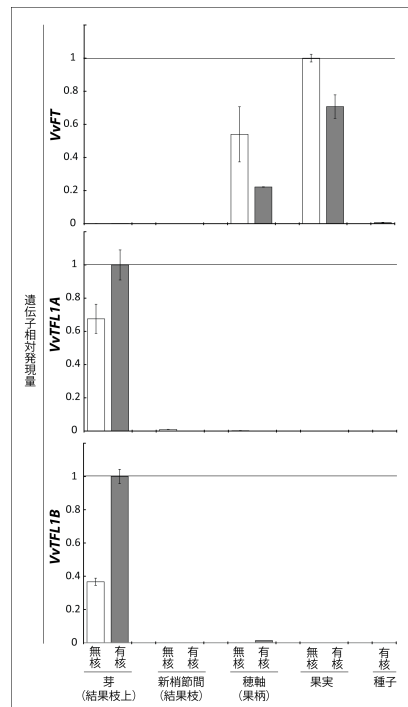
にジベレリン(GA)生合成やシグナル伝達に関わる遺伝子の発現について調査を行った。遺伝子の発現量は SYBR® Premix Ex Taq™ II(Takara Bio)を用いたリアルタイム RT-PCR 法によって相対比較定量した。

また、カキとブドウをはじめとした果樹類を含め園芸木本作物における花成関連遺伝子(*FT*, *TFL1*)の特徴について、参考文献やデータベースからのデータ抽出と整理、さらに DNA 解析を実施した。果実の発達について分子レベルでの生理変化を捉えることを目指し、果実成長における各種遺伝子の発現動態についても調査を行った。

遺伝子発現データを踏まえた果実着果・発達と花成の生理的關係メカニズムについて考察を行った。

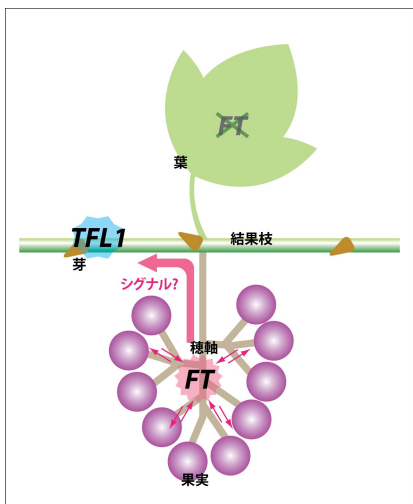
4. 研究成果

花成を誘導するとされているフロリゲン遺伝子(*FT*)の発現について、カキとブドウでは葉や芽よりも果柄(穂軸)と果実で強く発現していた。花成(花芽形成の開始)を誘導する働きがあるとされる *FT* が、光シグナルの受容器官である葉や花芽形成の舞台となる芽においてほとんど発現しておらず、その一方、果樹において花芽形成に対して抑制方向で影響する器官である果実や果実と直結している果柄(穂軸)で発現していることは、隔年結果の現象を説明するうえで、草本モデル植物の花成誘導に関する概念を単純に果樹に適用できないことを示している。



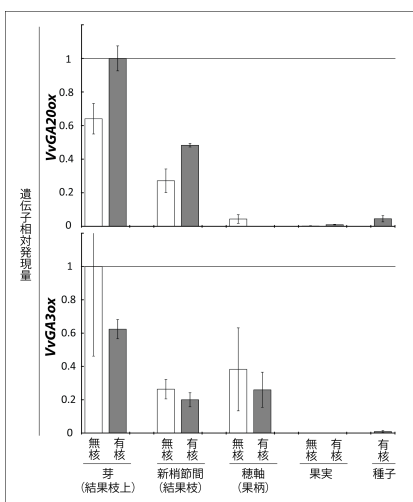
第1図 有核または無核の果実を着果したブドウ‘シャインマスカット’(8月)の各器官における *WvFT*、*WvTFL1A* および *WvTFL1B* の発現比較。各遺伝子につき最大値を1とした相対発現量を示す。各データは *EF1* (*elongation factor1-gamma*) 遺伝子と *Ubq* (*Ubiquitin*) 遺伝子の発現量で補正。バーはSE、n=4。

ブドウでは、有核果実や有核果を着果した果実や穂軸に比べ、無核果実や無核果を着果した穂軸において *FT* の発現レベルが若干高かった。一方、*FT* と拮抗する働きを示すとされる *TFL1* (アンチフロリゲン遺伝子) は、結果枝に形成される芽において強く発現していることが検出された。さらに、有核果を着果した結果枝の芽の方が、無核果を着果した結果枝の芽よりも、*TFL1* の発現レベルが高い傾向がみられた (第1図)。



第2図 果樹(ブドウ)における穂軸(果柄)からの芽および果実双方へのシグナルの可能性模式図。

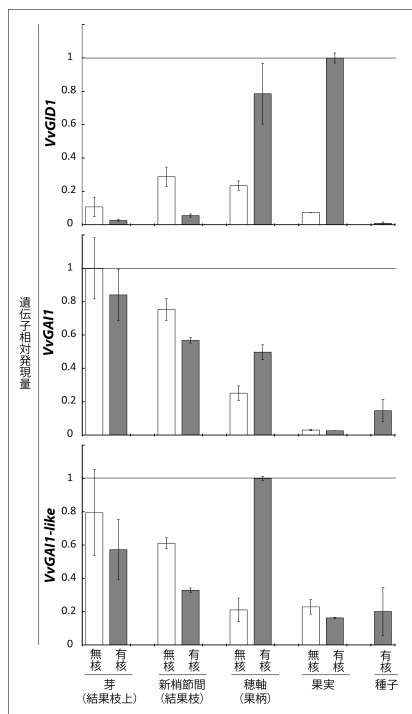
果樹における果実発達と結果枝における芽(翌年の花芽)の発達の関係性を考えるうえで、果実中の種子の有無に連動し、*FT* が強く発現している果柄(穂軸)から、果実および結果枝の芽それぞれに対して生理的シグナルが伝達されている可能性が考えられた(第2図)。



第3図 有核または無核の果実を着果したブドウ 'シャインマスカット' (8月) の各器官におけるジベレリン合成関連遺伝子の発現比較。各遺伝子につき最大値を1とした相対発現量を示す。各データは *EF1* 遺伝子と *Ubg* 遺伝子の発現量で補正。バーはSE、n=4。

そこで、隔年結果現象のシグナル伝達物質として以前から考えられているジベレリン

に着目し、その合成および受容やシグナル伝達に関わる遺伝子の発現について、ブドウを用いて分析した。その結果、ブドウの結果枝および結果枝における芽において、ジベレリンの合成に関わる *GA20ox* 遺伝子の発現レベルが、有核果の結果枝の方で無核果結果枝よりも高く、*TFL1* の発現パターンに類似していた(第3図)。



第4図 有核または無核の果実を着果したブドウ 'シャインマスカット' (8月) の各器官におけるジベレリン受容・シグナル伝達関連遺伝子の発現比較。各遺伝子につき最大値を1とした相対発現量を示す。各データは *EF1* 遺伝子と *Ubg* 遺伝子の発現量で補正。バーはSE、n=4。

また、ジベレリンの受容体である *GID1* 遺伝子の発現については、ブドウの結果枝および結果枝における芽において、無核果の結果枝の方で発現レベルが高く、穂軸および果実では、それとは逆に、有核果の結果枝でその発現レベルが高い結果となった(第4図)。ジベレリンのシグナル伝達においてジベレリンと *GID1* 受容体の複合体を認識する DELLA ドメインを持つタンパク質の遺伝子 (*GAI*) の発現レベルについて比較調査したところ、果柄(穂軸)における発現レベルについて、無核果と有核果の結果枝処理区間で差がみられた。無核果と有核果で穂軸を介した樹体(結果枝)へのシグナル伝達に違いが生じている可能性が推察された(第4図)。

果実中の種子の有無によって、果実および結果枝におけるジベレリン関連遺伝子および花成関連遺伝子の発現パターンに違いがみられていることから、果実着果・発達と花芽形成の樹体内生理の関係性について、遺伝子発現の側面からの新知見が得られてきている。

本研究では、果樹および木本性の園芸作物

における花成誘導関連遺伝子についてもゲノムデータ整理やDNA解析を進めた。カキおよびブドウ、さらにリンゴやモモ、オウトウ等主要な果樹種が含まれるバラ科の木本性植物における *FT* や *TFL1* 遺伝子等の配列情報をデータベースから抽出して整理し、一部は独自にクローニング(単離)も行っ て塩基配列の解読決定を行った。今後、果樹全般におけるこれら遺伝子の発現制御について研究する際の基礎情報となるだろう。

また、果実の発達について、ブドウの果粒成熟を中心に、植物ホルモンや代謝に関わる遺伝子の発現変動についても調査を進めた。果実の形成や発達が樹体生理に及ぼす影響を推察するうえで、果実内における生理的变化や果実からの植物本体に向けた内生シグナルの発生について分子レベルで捉えていくことも必要であろう。

花成関連遺伝子の発現や植物ホルモンによるシグナル伝達を介した果実の成長と花芽形成との関係について、今後のさらなる分子生理学的な詳細研究が期待される。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計1件)

Suehiro, Y., Mochida, K., Itamura, H., Esumi, T., Skin browning and expression of *PPO*, *STS*, and *CHS* genes in the grape berries of 'Shine Muscat', Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 査読有, Vol. 83, No. 2, 2014, pp. 122-132, DOI: 10.2503/jjshs1.CH-095

[学会発表](計7件)

末廣 優加、持田 圭介、板村 裕之、江角 智也、植物成長調節剤がブドウ'シャインマスカット'果粒の成熟生理およびポリフェノール生合成経路関連遺伝子の発現に及ぼす影響、園芸学会、2014年3月29日~30日、筑波大学

川口 浩、中務 明、江角 智也、板村 裕之、細胞膜の劣化がカキ果実のエチレン生成誘導に及ぼす影響、園芸学会、2014年3月30日、筑波大学

末廣 優加、江角 智也、持田 圭介、板村 裕之、ベレゾーン期に植物成長調整剤を処理したブドウ'シャインマスカット'果実の成熟と遺伝子発現、園芸学会、2013年9月20日、岩手大学

Esumi, T., Ohtani, H., Yoshibayashi, R., Kobayashi, N., Asao, T., Itamura, H. Analysis of a *TFL1* homologous gene and its relationship to the

inflorescence variation in Japanese flowering cherries、第6回国際バラ科ゲノム会議、2012年9月30日~10月4日、San Michele all'Adige(イタリア)

江角 智也、大谷 浩気、小林 伸雄、浅尾 俊樹、板村 裕之、サクラにおける花序形態の多様性と *TFL1* 相同遺伝子の解析、園芸学会、2012年3月28日、大阪府立大学

江角 智也、野原 祥子、村田 可奈子、中務 明、板村 裕之、カキ'西条'における *FT1/TFL1* 相同遺伝子の解析と形質転換体の作出、園芸学会、2011年9月25日、岡山大学

江角 智也、村田 可奈子、南 奈々瑛、中務 明、板村 裕之、カキ'西条'系統の植物体再分化における系統間差異、園芸学会、2010年9月20日、大分大学

6. 研究組織

(1) 研究代表者

江角 智也 (ESUMI, Tomoya)

島根大学・生物資源科学部・准教授

研究者番号：30548764