

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 3 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25450049

研究課題名(和文)マンゴーの花成誘導を制御する分子機構の解明

研究課題名(英文)Molecular mechanism of controlling floral initiation in mango.

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) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、マンゴーの花成制御因子とされるMiFTの発現様式を解析し、環境要因や樹体要因がMiFTの発現と花芽形成に及ぼす影響を調査するとともに、MiFT以外の花成関連遺伝子を単離して解析することを目的として行った。その結果、MiFTの発現増加には15℃以下の低温に約130時間遭遇すれば十分であることが示された。また、葉齢によってMiFTの発現量が異なることも明らかとなった。一方、MiFT以外の花成関連遺伝子として、低温遭遇前後で発現量が変動する候補遺伝子をいくつか得ることができ、現在解析を進めている。

研究成果の概要(英文)：This study was conducted to analyze the expression pattern of MiFT, which is a main factor for floral induction in Mango, to investigate the effect of endogenous and exogenous factors on floral induction and expression of MiFT, and to analyze the floral related genes other than MiFT. It was revealed that experiencing cool temperature below 15℃ for 130 hours was enough to increase the expression of MiFT in mango. It was also revealed that expression of MiFT in young leaves was lower than old leaves. In addition, some genes that showed down- or up-regulation by the floral-inductive cool temperature in mango leaves were obtained. These genes are under investigation.

研究分野：果樹園芸学

キーワード：花成誘導 FT遺伝子

1. 研究開始当初の背景

日本のマンゴー生産は 1990 年代以降急速に拡大しており、2010 年には生産量が 3000 トンを超えるようになった。近年その増加率には陰りが見えるものの、国産マンゴーの高級果物としての認知度は高くなっている。一般に、国産マンゴーはハウス栽培されており、ハウス内の気温を制御することによって、収穫期の異なるいくつかの作型が利用されている。作型の設定には花成誘導時期の調整とその安定化が重要である。マンゴーの花芽形成は一定期間低温に遭遇することで誘導されるため、秋～冬期の低温によって花成誘導する作型が一般的であるが、一部の生産者は開花期を早めるために 9 月中旬から夜間冷房を行っており、花芽形成に低温が必須であることは、収穫時期の拡大を図る上での障壁になっている。

これまでに、マンゴーにおいてシロイヌナズナの *FLOWERING LOCUS T (FT)* のオソログである *MiFT* 遺伝子が単離されており、*MiFT* がマンゴーの花成を制御するキー遺伝子であると考えられている (Nakagawa et al. 2012)。本研究では、*MiFT* 遺伝子およびその他の花成関連遺伝子の発現様式を解析することによりマンゴーの花成誘導に関する基礎的な研究を行い、マンゴーの開花調節に有用な知見を得ることを目的として実施した。

2. 研究の目的

(1) マンゴーの葉における *MiFT* の発現様式と花成の関係を解析し、花成、環境要因および樹体要因と *MiFT* との関連を明らかにする。

(2) *MiFT* 以外の花成関連遺伝子の単離と解析を行い、マンゴーの花成制御機構を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) *MiFT* 発現様式の解析

鉢植えのマンゴー 'Irwin' を実験に供試した。春期および秋期に鉢を温室外に移動することで低温遭遇させるとともに、低温遭遇時間と *MiFT* 発現量および花芽形成率の関係を調査した。また、樹の状態や葉の着生部位による *MiFT* 発現量の差異を調査した。さらに、樹体の内的要因や環境要因が *MiFT* 発現に及ぼす影響を調査した。

(2) 花成制御関連遺伝子の単離と解析

マンゴー 'Irwin' を用いて RNA-seq により頂芽および葉で発現している全 RNA の配列を解読し、既知の花成制御遺伝子と相同性の高い配列を blast 検索により単離した。また、低温遭遇前と後の葉における RNA-seq データを比較し、低温遭遇前後で発現量が変動する遺伝子から *MiFT* の発現との関連が予想される遺伝子を単離した。

4. 研究成果

(1) *MiFT* の発現様式の解析

MiFT の発現量の増加に必要な低温遭遇時間の検討

平成 26 年度秋期の実験において、温室外で栽培した個体が 15 以下の低温に遭遇した時間の積算量は 10 月 28 日の時点で 164 時間、11 月 14 日には 405 時間に達していた。*MiFT* の発現量は 10 月 28 日時点で増加していたが、その後 11 月 14 日にかけてさらに増加した。低温積算時間 164 時間と 405 時間の時に温室内に移動した個体の花芽形成率に差異は見られなかったが、温室内の気温が 15 以下まで低下していた事が判明したため、花芽形成率のデータは採用しないことにした。

平成 27 年度春期の実験において、4 月 18 日から温室外での栽培を開始したところ、5 月 16 日で低温積算時間が 176 時間、5 月 23 日には 215 時間に達していた。*MiFT* の発現量は 4 月 18 日から 5 月 16 日にかけて大きく増加しており、5 月 16 日から 5 月 23 日にかけてさらに約 4 倍増加していた (図 1)。その後も温室外で栽培を続けたところ、6 月までに低温積算時間は 250 時間に達し、花芽と混合芽 (有葉花序) の形成率を合わせると花芽形成率は 90% となった。

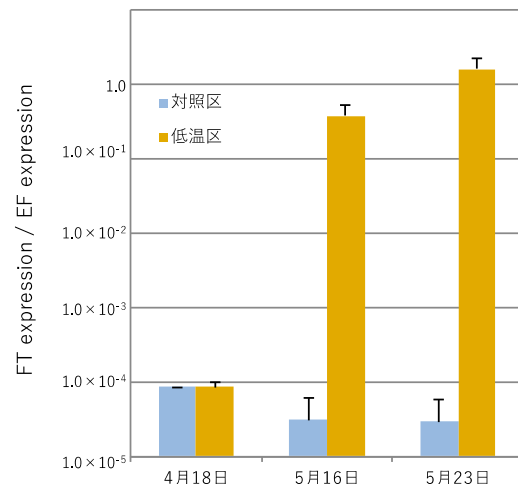


図1 低温遭遇に伴うFT発現量の変化

平成 27 年度秋期の実験では、低温積算時間が約 130 時間になった 10 月 23 日と約 220 時間になった 10 月 31 日に温室内に移動し、その後は 15 以上で管理した。10 月 23 日と 31 日に *MiFT* 発現量は増加しており、低温積算時間が 130 時間程度でも *MiFT* の発現が増加する事が明らかとなった。一方、温室に移動してから 1 週間後には *MiFT* の発現は低くなっており、高温下に置くことで *MiFT* の発現が急激に減少する事が明らかとなった (図 2)。また、温室に移動後の花芽形成率は 10 月 23 日に移動した個体で 32%、10 月 31 日に移動した個体で 43% と低くなった (図 3)。これは、葉芽の割合が増えたためではなく、不萌芽の芽が約半数と多かったことが原因である。萌芽した芽における花芽と混合芽の

割合は10月23日に移動した個体で70%、10月31日に移動した個体で75%であった。秋期の実験で花芽形成率が低くなった原因は温室に移動後 *MiFT* の発現が急激に低下したことによるものと推測される。

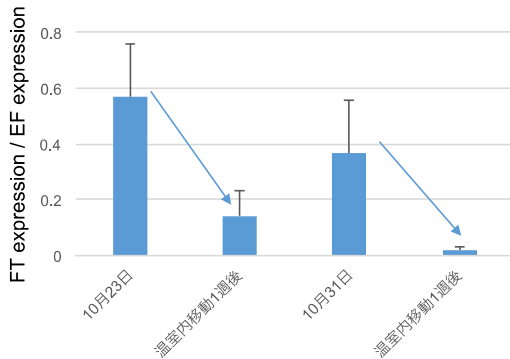


図2 温室に移動後のFT発現量の変化

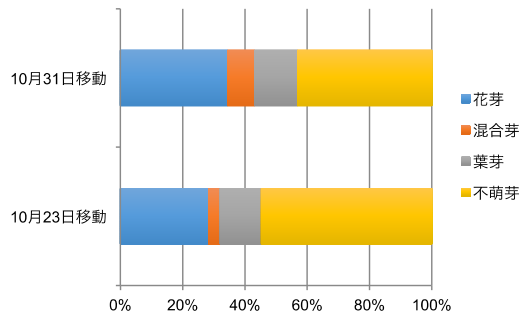


図3 低温遭遇後温室に移動した個体の花芽形成率

以上の結果から *MiFT* の発現量の増加には15 以下の低温遭遇積算時間が約130時間で十分な事が示されたが、*MiFT* の発現量の増加に必要な最少時間については今後検討が必要である。また、*MiFT* 発現の増加はマンゴーの花芽形成にとって必要条件ではあるが十分条件ではないことが示唆され、芽の萌芽を制御する要因も併せて検討する必要があると考えられた。

外的・内的要因が *MiFT* の発現に及ぼす影響

まず、樹の状態が *MiFT* の発現に及ぼす影響を調査した。着果している個体および新梢成長中の個体を花成誘導条件である低温に遭遇させたところ、低温遭遇前と比較して *MiFT* の発現は増加したものの、その増加量は成長休止中の個体と比べると1/10以下にとどまった(データ略)。花芽形成率も着果個体と成長中の個体で低くなったが、これは不萌芽率が高くなったためであり、低温遭遇後に萌芽した芽ではどちらの個体もほとんどが花芽になった。これまでにジベレリン(GA)処理により *MiFT* の発現が抑制され花芽形成が完全に阻害されることが報告されている。本研究においても、果実中の種子や新梢でGAが生産され *MiFT* の発現が抑制され花芽ができなくなると予想していたが、そのような結

果にはならなかった。

次に、葉齢が *MiFT* 発現に及ぼす影響を調査するため、先端第1節の葉と第2節の葉で *MiFT* 発現量を比較したところ、先端第1節の葉(若い葉)では第2節の葉より発現量が低くなる事が明らかとなった。また、第1節の葉を除去した個体と、第1節の葉のみを残した個体では、どちらも花芽形成率は葉を除去しなかった対照区より低くなったが、第1節の葉を除去した個体では混合芽も含めた花芽形成率が55%であったのに対し、第1節の葉のみを残した個体では12%と極めて低くなった。よって、若い葉では *MiFT* の発現量が葉齢の進んだ葉より低く、花芽形成の誘導には葉齢の進んだ葉が必要であることが示された。栽培現場では若い葉が花芽形成を阻害すると考えられており、花芽誘導のために若い葉を摘除することがある。本研究では、若い葉の存在による花芽形成の阻害は確認されなかったが、若い葉が花芽形成の誘導にはあまり効果が無いことが示された。また、本研究では、葉齢を厳密には計測せず節単位で摘除処理を行ったが、栽培現場で利用するには葉齢と *MiFT* 発現の関係をより詳細に調べる必要があると思われる。

マンゴーには花芽形成に低温を必要としない品種もあり、そのような品種では乾燥が花芽形成を誘導するとされている。また、エチレンがマンゴーの花芽形成を誘導するとの報告もある。本研究では、マンゴー 'Irwin' を用いて、乾燥処理およびエスレル処理が *MiFT* の発現と花芽形成に及ぼす影響を調査したが、いずれの処理も *MiFT* の発現には影響せず、また花芽形成の誘導も認められなかった。従って、マンゴー 'Irwin' においては、これらの処理は花芽形成に有効ではなく、花芽形成には低温が必要であることが示された。

(2) 花成制御関連遺伝子の単離と解析

これまでにインドの研究グループがマンゴー 'Alphonso' から TFL-like 遺伝子を単離しているが、この遺伝子と花成の関連は明確になっていない。本実験では、マンゴー 'Irwin' から TFL 遺伝子を単離するとともに *MiFT* 発現や花成との関連性を明らかにすることを試みた。しかし、残念ながら目的の遺伝子を単離することはできなかった。RNA-seq 解析によりマンゴーの頂芽で発現している転写産物の塩基配列を決定し、blast 検索により既知の TFL 配列と同源性の高い配列を単離したところ、2種類の配列を得ることができた。これら転写産物の推定アミノ酸配列を求め、既知の配列情報とともに系統樹を作成したところ、2種類のうち1つは FT-like タンパク質を、もう1つは CEN タンパク質をコードしていることが示唆された。解析に用いた頂芽は9月下旬に採取したものであり、TFL 遺伝子が発現していると予測していたが、この時期の頂芽では TFL 遺伝子が

発現していないものと考えられる。今後、
 ‘Alphonso’ の TFL 遺伝子の配列情報を基に
 ‘Irwin’ から TFL 遺伝子の単離を試みる予
 定である。

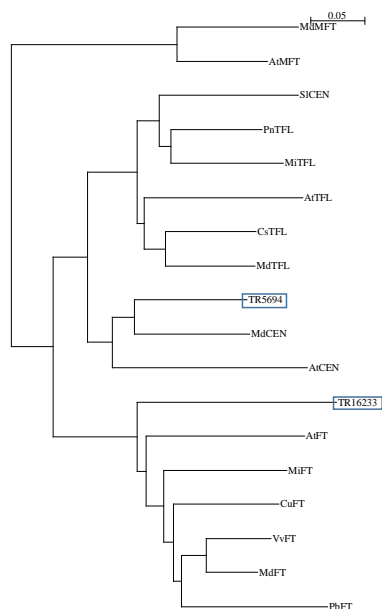


図4 単離した遺伝子と既知のFT/TFL family遺伝子との系統樹

一方、RNA-seq 解析のデータからマンゴー
 ‘Irwin’ の葉において低温遭遇前と後で発
 現量に変動のある遺伝子を選抜したところ、
 低温遭遇によって発現量が増加した遺伝子
 が 319 種類、減少した遺伝子が 263 種類確認
 できた。これらの遺伝子配列にアノテーショ
 ンを付けたところ、花成との関連が予測され
 る配列がいくつか見出されている。今後、こ
 れらの遺伝子に関して、発現解析を進め花成
 との関係を明らかにしていく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

6. 研究組織

(1) 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