

平成 23 年 2 月 25 日現在

研究種目：基盤研究（C）  
 研究期間：2007～2009  
 課題番号：19580023  
 研究課題名（和文）青色光ならびに赤色光に対するペチュニアとトマトの開花及び茎伸長応答機構の解明  
 研究課題名（英文） Analysis on the response of petunia and tomato' s flowering and main stem elongation under blue and red light conditions.  
 研究代表者  
 福田 直也 （FUKUDA NAOYA）  
 筑波大学・大学院生命環境科学研究科・准教授  
 研究者番号：80251021

## 研究成果の概要（和文）：

ペチュニアの場合、青色光下では花成ならびに主茎伸長が強く誘導される一方、赤色光下ではいずれも抑制されることが判明した。主茎伸長については、ジベレリン合成系について赤色光下で抑制作用が働くことが示された。一方、花成が抑制される赤色光下でも外生サイトカイニンを与えた場合にペチュニアの開花を誘導することに成功した。また、ペチュニアの*FT*遺伝子クローニングを実施し、その候補遺伝子である*PhFT*の全長解読に成功した。この遺伝子について、発現解析を行ったところ、光質と花成誘導に関する関連は確認できなかったが、その機能を解明するためにアラビドプシスの野生型および*FT*欠損変異体への導入を試み成功し、花成誘導に関する遺伝子であることを確認した。トマトについては、青色ならびに赤色LED下において栽培試験を行い、花成誘導への光質の影響を再評価した。その結果、ペチュニアとは逆に、青色光下において花成が抑制される一方、赤色光下において花成が促進されることが判明した。

## 研究成果の概要（英文）：

We evaluated the effects of light quality of blue and red light on growth and development of petunia. The plant shape became longer and flowering was promoted under blue light compared to red light. Under red light condition, GA synthesis was inhibited and it could lead the short main stem. Under red light that delayed floral induction, cytokinin could induce the flowering. In addition, we found out the *FT* like gene, '*PhFT*' from petunia plant. This gene dose not seems to be related to light quality response on floral induction, but we could confirm that this gene could induce the floral bud formation by using the transgenic Arabidopsis. We also investigated the effects of light quality on growth and floral induction in tomato, and showed that tomato' s floral induction was promoted by red light condition.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
平成 19 年度	1,800,000	540,000	2,340,000
平成 20 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
平成 21 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学・園芸学

キーワード：ペチュニア、花成、光質、花成関連遺伝子、ジベレリン、サイトカイニン、主茎伸長、*FT*遺伝子

## 1. 研究開始当初の背景

光環境と植物の生育に関しては、アラビドプシスをモデル植物として、花成を中心とした基本的な制御モデルが提唱されている。また、日長と形態形成反応に関する研究では、アラビドプシスだけでなくイネでも進んでおり、その中で、光質と日長の相互作用などといった光形態形成制御機構が明らかになりつつある。しかしながら、光の刺激による開花誘導などの形態形成反応制御機構は、概日性リズムに関する機構も関与した大変複雑な系であることがこれらの研究の過程において次第に判明しつつある。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、ペチュニアを主材料として、赤色光と青色光に対する作物の生理反応機構の解明を行う手がかりを得ることとし、以下の三項目について検討するものとした。

1) ペチュニアとトマトにおける赤色光ならびに青色光の光質に対する花成および伸長反応の調査 2) ペチュニアおよびトマトの *FLOWERING LOCUS T (FT)* 様遺伝子のクローニング 3) 赤色光および青色光下における両作物の *FT* 様遺伝子ならびにジベレリン代謝関連遺伝子の発現解析

## 3. 研究の方法

本研究では、ペチュニアを中心として、花芽分化における信号伝達系の要である *FT* 様遺伝子と、ジベレリン (GA) 生合成系への影響を評価するために生合成関連遺伝子の発現と各種ジベレリン含有量の変化を各光質下で評価した。また、同じナス科でありながら、まったく正反対の生育・生理反応を示すトマトについて同様の調査を行い、その差異を比較した。

①モデル植物であるアラビドプシスとペチュニアならびにトマトにおける赤色光ならびに青色光の光質に対する花成および伸長反応の調査を行った。

②ペチュニアにおける *FT* 様遺伝子クローニングならびに *FT* 様遺伝子の各光質下における発現調査を以下の二項目について通りに行った。1) ペチュニアにおける *FT* 様遺伝子クローニング 2) 青色光ならびに赤色光下におけるペチュニア *FT* 様遺伝子の発現解析

③青色または赤色光下におけるペチュニアの GA 生合成関連遺伝子群発現と各種 GA 含有量を調査した。

## 4. 研究成果

### ①アラビドプシスならびにペチュニア、トマトにおける赤色光ならびに青色光の光質に対する花成および伸長反応

供試植物を、ペチュニアとアラビドプシス、トマトとした。環境制御室内で、白色蛍光灯を光源として本葉5枚程度まで育苗後、同室に設置したLEDパネル光源下で栽培した。環境制御室の気温は20℃とし、明期14時間、暗期10時間とした。LEDパネル光源として、赤色LED (MIL-R18, 三洋電機(株)) と青色LED (MIL-B18, 同) の各単色光源ならびに、対照区として赤色LEDと青色LEDの光源数比を1:1とした混合光源を設け、各光源下でペチュニアは55日間、アラビドプシスは28日間栽培した。照射強度は、植物体頂上付近で  $100\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (PPF) とした。処理開始後経時的に、草丈、葉数、葉身長、葉柄長、処理開始から抽だい迄の日数と開花迄の日数等を各光源下で記録した。

**アラビドプシスの生育と光質：**青色光下では、抽だい迄日数は12日、開花迄日数が17日と最も早く、また、茎長も処理終了時点で168mmと長くなった。青色・赤色光混合区の場合、抽だいまでの日数は17日と青色光の次に早く、処理終了時の茎長も93mmとなった。しかし、赤色光下では抽だいならびに開花迄日数は、青色・赤色光混合区と比べて遅くなった。ロゼット葉数は、青色光下の場合、青色・赤色光混合区と比べて28%少なく、反対に茎性葉数は青色光下で5.8枚と著しく増加し、花芽分化が促進されたことが示唆された。反対に赤色光下の場合ロゼット葉数が増加する傾向があり、花芽分化が抑制された可能性がある。アラビドプシスの葉柄長は、青色光下で青色・赤色光混合区よりも50%以上増加し、ペチュニアと同様にその伸長は大幅に促進された。しかしながら赤色光下では、ペチュニアとは異なり葉身長ならびに葉柄長とも青色・赤色光今後浮くと比べてその伸長が促進された。葉角は、ペチュニアと同様に処理開始後10時間程度で青色光下において著しく増大し、草姿は立性となった。

**ペチュニアの花成誘導と光質：**青色光下では、茎ならびに葉柄の著しい伸長が処理開始後5日目より観察されており、特に茎の場合、処理終了時まで継続して伸長を続け徒長的外観を示した。また、青色光下での葉柄は、処理開始後15日目で40mm程度の長さとなり、青色光・赤色光混合処理区の約2倍となった。葉角の変化は、処理開始後約10時間後に確認され、青色光下では草姿が立性となった。加えて青色光下では、処理開始後1ヶ月で開花し、他の光質と比較して著しく開花が促進

されることが判明した。一方、赤色光ならびに青色・赤色光混合区では、茎の伸長はほとんど観察されず、葉柄長も 18mm 程度と短くなった。また、これらの処理区では 55 日間の試験期間中に開花を観察することはできなかった。しかし、赤色光ならびに青色・赤色光混合区では側枝の生育は旺盛であった。

**トマトの生育と光質：**青色ならびに赤色 LED 下において栽培試験を行ったところ、いずれの光質においても異常な主茎伸長が認められ、従来の知見とは異なる結果となった。また、花成については、青色光下においては、白色光と比較して遅延する蛍光があった一方で、赤色光下においては、花成誘導が促進され、2 週間程度開花が早く観察されるという結果となった。

以上のように、青色光下の場合、アラビドプシスとペチュニアについては、赤色波長域を含む青色・赤色光混合処理と赤色光下単独よりも、著しく開花が促進されることが示された。アラビドプシスでは、花芽形成発達関連遺伝子に関して、クリプトクロムを光受容体とする発現機構制御モデルが提唱されている。ペチュニアにおいても、アラビドプシスと同様の制御機構が青色 LED 下において開花を著しく促進し、関連して茎の伸長も促進されている可能性がある。一方、トマトの場合、上記植物と反応が全くことなり、赤色光下での花成誘導促進効果が得られるという結果となり、植物種による光質応答反応性が異なることが明確となった。

## ②ペチュニアにおける *FT* 様遺伝子クローニングならびに *FT* 様遺伝子の各光質下における発現調査

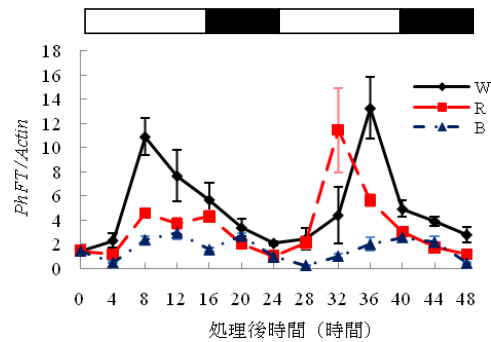
1) *PhFT* ならびに *FBP28* の発現解析：材料にはペチュニアの‘バカラブルー’を用い、気温 25°C に設定した栽培棚で栽培した。光源は、白色光区(W 区)には白色蛍光灯、赤色光区(R 区)には赤色 LED(ピーク波長 660nm)、青色光区(B 区)には青色 LED(ピーク波長 450nm)を用い、光強度は  $70\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 、光周期は明期 14 時間、暗期 10 時間とした。光処理は、本葉 5 枚段階で開始し、生育段階別ならびに日周変化解析を、リアルタイム PCR を用いて行った。

*PhFT* の発現はシロイヌナズナの *FT* とは逆で、赤色光下で促進され、青色光下で抑制されることがわかった(第 1 図)。一方、同時期の *FBP28* の発現は、赤色光下で抑制され、青色光下で促進されていた(第 2 図)。また、*PhFT* と *FBP28* は概日リズムを刻むことがわかった。

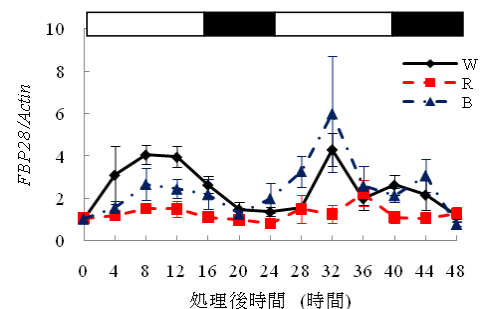
2) *PhFT* の機能解析：材料にはシロイヌナズナの‘Landsberg erecta’とペチュニアの

‘ミッシェル’を用いた。シロイヌナズナは Floral Dip 法を用い、ペチュニアは Leaf Disk 法を用いて *PhFT* 過剰発現体を作成した。シロイヌナズナの *PhFT* 過剰発現体は、長日条件(明期 16 時間、暗期 8 時間)と短日条件(明期 8 時間、暗期 16 時間)において開花調査を行い、ペチュニアの *PhFT* 過剰発現体は、W 区と R 区において開花調査を行った。

*PhFT* はシロイヌナズナにおいて花成誘導機能を持つことが明らかになった。*PhFT* はペチュニアにおいても恐らく花成誘導機能を持つことが考えられるが、再度確認が必要である。各色光下で栽培したペチュニアにおいては、*PhFT* に比べて、*FBP28* の発現の方が花成と強い相関を示したことから、ペチュニアにおける光質による花成時期の変化は、*FT* の発現量が強く関与しているシロイヌナズナとは異なり、*SOC1* 様遺伝子の発現量の方が強く関与している可能性が提示された。



第1図 白色 (W)、赤色 (R) ならびに青色 (B) 光下で栽培したペチュニアにおける *PhFT* の発現。図中上部のバーの白色は明期を、黒色は暗期を示す。



第2図 白色 (W)、赤色 (R) ならびに青色 (B) 光下で栽培したペチュニアにおける *FBP28* の発現。図中上部のバーの白色は明期を、黒色は暗期を示す。

## ③青色または赤色光下におけるペチュニアの GA 生合成関連遺伝子群発現と各種 GA 含有量の調査

1) 各種植物ホルモン処理がペチュニアの生育応答反応に及ぼす影響：供試材料にはペチュニア‘バカラブルー’を用いた。播種か

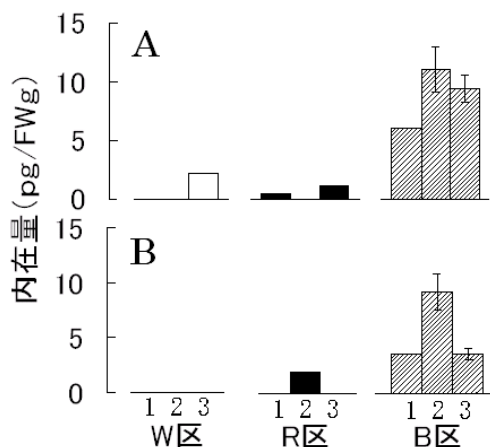
ら本葉 4~5 枚になるまで 25°C, 白色蛍光灯下, 光強度 70 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  (光合成有効光量子束, PPF), 明期 14 時間, 暗期 10 時間で栽培した. 光源は, 白色蛍光灯と青色 (ピーク波長 470nm) ならびに赤色 (660nm) LED を用いた. 1) GA ならびに CK 施与実験 GA には GA<sub>3</sub>, CK はベンジルアデニン (BA) を用いた. 各植物ホルモンの処理は, GA では, 2.9  $\times 10^{-5}$ M の溶液 3ml, BA は, 5.0  $\times 10^{-3}$ ~5.0  $\times 10^{-7}$ M の溶液 50  $\mu\text{l}$  を施与して行った.

ホルモン無処理区, 青色光下では主茎伸長が促進され, 白色蛍光灯および赤色光下では主茎伸長が抑制され, 実験開始から 8 週間目において, B 区の主茎長は 43cm 前後, 赤色光および白色蛍光灯下の主茎長は 3cm 前後となった. また, 白色蛍光灯下と比較して青色光下の花成が早期誘導されたのに対し, 赤色光下では, 花成が大幅に遅延した. 一方, GA 処理によって赤色光下では主茎が伸長したものの, 花成については, 蕾は形成されるが開花には至らなかった. BA を処理濃度 5.0  $\times 10^{-4}$ ~5.0  $\times 10^{-6}$ M で赤色光下の植物体に施与することで花成が回復した.

2) 光質処理を行ったペチュニアにおける, 植物ホルモンの定量実験: 光処理開始から 1~3 週間に植物体を採取し, GA, CK ならびに IAA 含有量を測定した. また, 青色ならびに赤色 LED 光下にて, 24 時間の遺伝子発現の推移および CK 施与による遺伝子発現の変化を, 定量 RT-PCR によって測定した. 測定した遺伝子は, GA 代謝関連遺伝子の GA20ox, GA3ox, GA2ox, 花成関連遺伝子の FBP20, ALF, FT 様遺伝子, CK 一次応答遺伝子である PhRR2 とした.

GA<sub>1</sub> および GA<sub>4</sub> は, 1~3 週間の実験期間を通し, 赤色光および白色蛍光灯下と比較して青色光下で高い濃度がとなった (第 3 図). CK では, トランスゼアチン (tZ) の濃度が変化し, 青色光下では 2 週間目のみ大幅に増加した.

実験 3 GA 代謝関連遺伝子で, GA20ox の発現



第3図 各種光質 (白色 (W), 赤色 (R), 青色 (B)) 下で栽培したペチュニアの活性型GA濃度 (A: GA1 B: GA4)

量が青色光下において促進された. CK処理により, FBP20 およびALFの発現量に変化はなかったが, FT様遺伝子は上昇する傾向があった. 一方, CK感受性に関して, PhRR2の発現量を評価したものの, 光質の影響は見られなかった.

#### ④まとめ

本研究の結果, ペチュニアなどの植物に関する光質応答反応として以下のことが判明した.

##### 1) 花成ならびに主茎伸長誘導効果

ペチュニアの場合, 青色光下では花成ならびに主茎伸長が強く誘導される一方, 赤色光下ではいずれも抑制されることが判明した. 主茎伸長については, ジベレリン合成系について赤色光下で抑制作用が働くことが示された.

##### 2) 花成に関わるサイトカイニンの効果

花成が抑制される赤色光下でも外生サイトカイニンを与えた場合にペチュニアの開花を誘導することに成功した.

##### 3) ペチュニア FT様遺伝子の機能

ペチュニアの FT 遺伝子クローニングを実施し, その候補遺伝子である PhFT の全長解読に成功し, この遺伝子が, 花成誘導に関係する遺伝子であることを確認した.

##### 4) 各種光質下でのトマトに関する光質応答反応

トマトについては, ペチュニアとは逆に, 青色光下において花成が抑制される一方, 赤色光下において花成が促進されることが判明した.

#### 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)

1) Naoya Fukuda, Yuki Ishii Olsen Jorunn E. and Hiroshi Ezura, Effects of light quality under red and blue light emitting diodes on growth and expression of FBP28 in petunia, Acta Horticulturae, (2011), in press

[学会発表] (計 3 件)

1) 福田直也, 制御環境下における植物の生理的反応とその応用, 平成 22 年電気学会全国大会, 平成 22 年 3 月 17 日, 明治大学

2) 福田直也・安島千穂・竹村康弘・平井正良・Jorunn E. Olsen・江面 浩, 赤色発光ダイオード下において栽培したペチュニアの形態形成反応に光強度ならびに植物ホルモンの影響, 園芸学会秋季大会, 平成 20 年 9 月 28 日, 三重大学

3) 福田直也・石井佑基・平井正良・江面 浩,  
赤色ならびに青色発光ダイオード下において栽培したペチュニアとシロイヌナズナの花成関連遺伝子発現に関する解析, 園芸学会春季大会, 平成 20 年 3 月 29 日, 東京農業大学

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 1 件)

名称: 植物の栽培法

発明者: 福田直也

権利者: 筑波大学

種類: 特許

番号: 特開 2008-142005

出願年月日: 2008 年 6 月 26 日

国内外の別: 国内

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

福田 直也 (FUKUDA NAOYA)

筑波大学・大学院生命環境科学研究科・

准教授

研究者番号: 80251021