

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 13 日現在

機関番号：16201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25450045

研究課題名(和文) 24時間日長で花芽分化するイチゴ系統の収量特性の解明とそれに関与する遺伝子の同定

研究課題名(英文) Elucidation of yield characteristics of strawberry strain that flower initiation occurs under 24 hour day length, and identification of its flowering gene

研究代表者

柳 智博 (YANAGI, TOMOHIRO)

香川大学・農学部・教授

研究者番号：70221645

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)：研究代表者の育成イチゴ系統T-18-2は、25日間の24時間日長処理で、ほぼ100%の個体が花芽分化する。その後、好適な条件下で栽培すると約30日で開花し、その約30日後に果実が収穫できる。本研究の目的は、夏季の25日間の24時間日長処理が終了してから60日で収穫できるのかを明らかにし、また2) 24時間日長条件で花芽分化を誘導する遺伝子の有無を判別するDNAマーカーを作製すること、だった。実験の結果、T-18-2では24時間日長処理が終了してから60日で収穫できることが明らかになった。また、24時間日長処理で花芽分化を誘導する遺伝子と連鎖性の高いDNAマーカーの存在が明らかになった。

研究成果の概要(英文)：A new strawberry strain named T-18-2, which was bred by the principal investigator, can be induced flower initiation, when grown under 24 hr daylength (DL) conditions with 15 to 25 temperature condition for 25 days. Further, the open flowers and the harvest of the fruits in the T-18-2 can be done for 30 and 60 days after finishing the 24 hr DL treatment, respectively. The purposes of the present study using the T-18-2 were, 1) to clarify the possibility for producing first fruit in approximately 60 days from the end of a 24-hour day length treatment in summer, and 2) to identify DNA marker(s) which have high linkage with the gene(s) that induce flower initiation under 24 hr day-length conditions. From the results of the experiment, it made clear that T-18-2 produced first fruit in approximately 60 days from the end of a 24-hour day length treatment. In addition, a DNA marker which had high linkage to the gene that induce flower initiation under 24 hr DL conditions.

研究分野：園芸学

キーワード：イチゴ 24時間日長条件 花芽分化 収穫 果実品質 光周性 DNAマーカー 連鎖

1. 研究開始当初の背景

研究代表者の柳は、以前に科学研究費補助金の交付を受け、夏期のイチゴ生産量を増大させることのできる従来とは全く異なった機能を持つイチゴ品種の育成について研究を行った。その時の研究では、自然日長条件下では盛んにランナーを発生するため苗の増殖効率が高く、一方約 25 日間 24 時間連続照明条件下で栽培すると茎の先端に花芽分化し、その後処理個体を生育に好適な条件下で栽培すると約 30 日後に開花し、さらに約 30 日後に果実が収穫できるものだった。これは、従来の四季成りイチゴ品種が持つ増殖効率の悪さと花芽分化過多による生育不良といった欠点を根本的に解決するものだった。

その後の研究により、T-18-2 という優良系統を選抜した。本系統は、24 時間日長条件下で 25 日間栽培するとほぼ 100%の個体が茎の先端に花芽分化し、その後生育に好適な条件下で栽培すると約 30 日後に開花し、さらに約 30 日後に果実が収穫できた。また、夏季の自然日長条件下では花芽分化が起こらず、盛んにランナーを発生する。花粉の稔性は、栽培品種程度にあり、ミツバチの授粉で果実を得ることができると考えられる。

しかし、24 時間日長処理により花芽分化する本系統の特性を利用して現実のイチゴ生産で多収穫を達成するためには、より詳しく本系統の特性を明らかにする必要がある。

また、分子生物学的な手法、すなわち DNA マーカーを利用した連鎖解析により、24 時間日長条件下で花芽分化を誘導する遺伝子を同定することが可能であると考えられた。仮に、本遺伝子の同定に成功すれば、本特性の DNA マーカーによる選抜や通常の品種への遺伝子導入が可能になり、育種の効率化が図れるものと考えられた。

2. 研究の目的

イチゴの新系統 T-18-2 は、24 時間日長条件下（連続照明）で約 25 日間栽培するとほぼ 100%の個体が茎の先端に花芽分化する。その後、処理個体を生育に好適な条件下で栽培すると約 30 日後に開花し、さらに約 30 日後に果実が収穫できる。本研究の目的は、1) T-18-2 を利用した営利生産の可能性を明らかにすること、2) 24 時間日長条件下で花芽分化を誘導する遺伝子を同定し、その遺伝子の有無を判別するマーカーを作製すること、の 2 点である。

3. 研究の方法

(1) 安定して花芽分化する日長、温度、処理日数の解明

T-18-2 が、①24 時間日長と 12 時間以下の短日条件下で花芽分化することを再確認するため、また②自然および人工気象室内での最適な花芽誘導処理法を確立するため、実験を行った。

1) 人工気象室内での実験（実験 1）

植物育成用蛍光灯 $100 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ で日長が 8 時間、16 時間、24 時間の 3 段階、温度が 20°C 、 25°C 、 30°C 一定の 3 段階、処理日数が 20 日、25 日、30 日の 3 段階で各 10 個体を用いて、各処理が花芽分化に及ぼす影響について検討した。

2) 露地栽培条件下での実験（実験 2）

自然光と白熱電球による夜間補光による 24 時間日長条件下で、平均気温が約 20°C 、約 25°C 、約 30°C の 3 段階、処理日数 25 日、各 10 個体を用いて、各処理が T-18-2 の花芽分化に及ぼす影響について検討した。

(2) 香川県の自然条件下における花芽分化期の解明と露地と促成栽培における生育と収量について

1) 花芽分化期の解明（実験 3）

鉢に植えた T-18-2 を 8 月 15 日、9 月 1 日、9 月 15 日、10 月 1 日、10 月 15 日、11 月 1 日に実体顕微鏡下で花芽の有無を確認した。なお、追肥区と非追肥区を設けた。

2) 露地栽培における生育と収量（実験 4）

香川大学農学部露地圃場に T-18-2 の 20 個体を定植し、1 か月に 1 度、草丈や葉数、花房数、ランナー数を調査する。また、収穫期には、収穫果実重、糖度、酸度、果実色、果実硬度について調査した。

3) 香川県の促成栽培における生育と収量について（実験 5）

促成栽培での T-18-2 の生育と収量の特性を調査した。なお、10 月上旬に香川大学農学部にある温室内の高設ベンチに 100 個体を定植し、2 週間に 1 度、草丈や葉数、花房数、ランナー数を調査します。また、収穫期には、収穫果実重、糖度、酸度、果実色、果実硬度について調査した。なお、1 花房の着果数を 7 個、14 個、放任にして栽培した。

(3) 6 月、7 月、8 月の各々に 24 時間日長処理した個体の人工気象室内での栽培による生育と収量について（実験 6）

8 月～10 月の収穫を目標に、花芽誘導処理時期と収穫期の関係を検討した。6 月、7 月、8 月の各月の 1 日から 25 日間、T-18-2 の 10 個体を 20°C 一定の人工気象室内で 24 時間日長処理を行い、その後は 25°C 一定にした自然光型人工気象室内で栽培した。

(4) 24 時間日長条件下で花芽誘導する遺伝子の同定とマーカー開発（実験 6）

24 時間日長条件下で花芽分化する遺伝子の有無を判別できる DNA マーカーの開発を検討した。分離集団は柳が育成し、連鎖解析や遺伝子の特定はかずさ DNA 研の磯部が行った。

具体的には、T-18-2 の自殖後代を 100 系統、またイチゴ品種「アスカルビー」と T-18-2 を交雑して得た 100 系統、合計計 200 個体を育成した。

自殖後代の 100 系統でターゲット遺伝子の同定を行い、F₁ 集団 100 系統では遺伝的背景が異なる集団でのターゲット遺伝子の発現の確認と、開発する選抜マーカーの有効性の検証を行った。なお、磯部らがこれまで開発した連鎖地図 (28 連鎖群に 1856 座が座乗) からゲノム全体をカバーする約 250 の SSR マーカー (10cM に 1 マーカー) を用いて T-18-2 の自殖後代 100 系統のジェノタイピングを行った。ターゲット遺伝子近傍の SSR を用いて実用的な選抜マーカーの開発を検討した。発した SSR マーカーを用いて ‘アスカルビー’ と T-18-2 を交雑して得た F₁ の 100 系統の多型解析を行い、マーカーの有用性を検討した。

4. 研究成果

(1) 安定して花芽分化する日長, 温度, 処理日数の解明

1) 人工気象室内での実験 (実験 1)

8 時間日長条件では, 処理温度が 20°C で処理期間が 25 日以上で花芽分化が安定した (図 1) . 16 時間日長条件では, 花芽分化が起こらなかった. 24 時間日長条件では処理温度が 20°C と 25°C 処理期間が 25 日以上で花芽分化が安定した.

表1 24時間日長処理がイチゴ系統T-18-2の花芽分化に及ぼす影響 (数字は10株中花芽分化した株数)

処理温度	処理日数	8時間	16時間	24時間
20°C	20日	5	0	8
	25日	10	0	10
	30日	10	0	10
25°C	20日	6	0	8
	25日	10	0	10
	30日	10	0	10
30°C	20日	0	0	5
	25日	0	0	8
	30日	0	0	9

2) 露地栽培条件での実験 (実験 2)

処理日数 20 日では, 平均気温が約 30°C になると花芽分化個体数が減少した. 処理日数 25 日では, 平均気温が約 20°C と約 25°C で花芽分化率が 100% であった. 処理日数 30 日では, 平均気温が約 30°C で花芽分化率が 100% にならなかった.

(2) 香川県の自然条件下における花芽分化期の解明と露地栽培における生育と収量について

1) 花芽分化期の解明 (実験 3)

自然の短日条件下での追肥区の花芽分化時期は 10 月初旬だったが, 追肥なし区では花芽分化が追肥あり区より遅かった (表 2).

表2 香川県の露地栽培条件下における花芽分化時期

処理	調査日					
	8月20日	9月3日	9月17日	10月1日	10月15日	10月29日
	花芽分化率 (%)					
追肥あり	0	0	0	80	100	100
追肥なし	0	0	0	0	100	100

2) 露地栽培における生育と収量 (実験 4)

香川県の自然条件下で露地栽培した T-18-2 は, 春から秋まで旺盛な生育を示し, 草丈が 30 cm 以上で推移した. 開花結実は, 4 月中旬から 5 月にかけての期間であり, 一季成り性であることが判明した. また, ランナーは, 他の一季成り品種と同様に, 4 月から 9 月までの期間に発生した. 平均果実重は, 13.5 g とやや小さかった. その他の果実品質は, 促成栽培のものと同様であった. なお, 乱形果が多く発生した.

3) 香川県の促成栽培における生育と収量について (実験 5)

収穫調査は 1 月 4 日から開始し, 7 果処理で 88 個, 14 果処理で 130 個, 放任で 174 個の果実について行った. 平均の 1 果実重は, 7 果処理で 17.1 g, 14 果処理で 13.4 g, 放任で 8.4 g と有意差があった (図 1) . 果実糖度と酸度は, 各々摘果処理間で有意差がなく, 11.5° から 12° と 0.45 から 0.49% であった. また, 果皮硬度と果肉硬度も摘果処理間で有意差がなく, 前者が 88 kgf で, 後者が 46kgf であった. さらに, 果実色にも摘果処理間で有意差がなく, L a b の各々の平均値は, 41.9, 48.5, 26.8 であった. 最近の促成栽培用品種の果実品質と比較すると, 促成栽培した T-18-2 の果実は, 摘果すればやや大きくなるものの小ぶりで, 柔らかいものの, 糖度が高く酸度の低い特徴が認められた. なお, 乱形果が多く発生した.

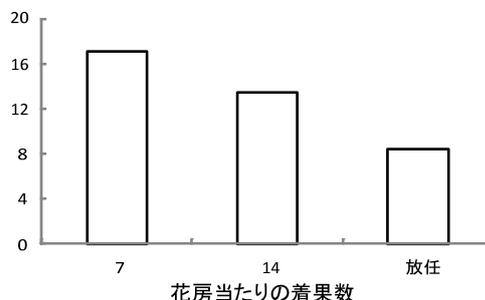


図1 促成栽培したT-18-2の平均1果実重(g)

(3) 6 月, 7 月, 8 月各々に 24 時間日長処理した個体の人工気象室での栽培による生育と収量について (実験 5)

いずれの処理時期においても, 花芽誘導処理で花芽分化が起こり, 処理後約 30 日で開花することが明らかになった. また, 25° C の人工気象室内でも T-18-2 は, 旺盛な生育を示し, 草丈が 30cm 以上で, 推移し, 開花後約 30 日で果実が成熟した (表 3) . しかし, 開花時に筆で人工授粉を行ったが, 授粉が十分にできなかったためか, 乱形果が多数発生した. なお, 平均 1 果実重が約 13 g で促成栽培用品種に比べてやや小別であった. また, 平均果実糖度が約 11 と高かった. しかし, 酸度も約 0.8% と高いことから, やや酸味の強いことが明らかになった. 乱形果が多く発生した点については, 今後検討する余地があると思われる.

表3 6月, 7月, 8月各々に24時間日長処理した株の人工気象室での栽培による生育と収量について

	調査日	葉数 (枚)	葉柄長 (cm)	葉身長 (cm)	葉幅長 (cm)
6月処理	6月26日*	5.9**	17.2	7.5	6.3
	7月10日	7.3	17.5	7.7	6.5
	7月24日	7.7	17.4	7.9	6.8
7月処理	7月24日*	5.5	17.9	7.6	6.5
	8月7日	6.2	17.2	9.8	8.2
	8月21日	7.4	19.1	11.7	10.9
8月処理	9月4日*	6.0	20.8	9.0	7.3
	9月18日	7.3	22.8	12.1	9.8

(4) 24時間日長条件下で花芽誘導する遺伝子の同定とマーカー開発 (実験6)

T-18-2 とイチゴ品種アスカルビーの交雑96個体のDNA分析を行った。さらに、それら96個体の24時間および16時間日長条件下における花芽分化の誘導について実施した。その結果、96個体の中で18個体が24時間日長条件下でのみ花芽分化することが判明した。

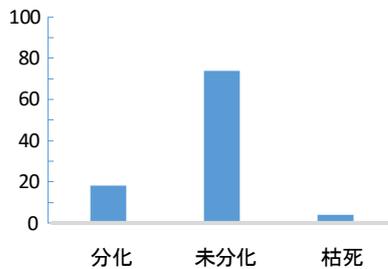


図2 T-18-2とイチゴ品種アスカルビーの交雑96個体における24時間日長条件下で花芽分化した個体の数

統合連鎖地図から選抜した656のSSRマーカーのうち425マーカーが集団内で多型を検出した。これらのマーカーで連鎖地図を作成したところ、「T-18-2」では500座からなる40連鎖群が、「アスカルビー」では390座からなる39連鎖群が作出できた。作出した連鎖地図を用いてSIM法によりQTL解析を行い、「T-18-2」と「アスカルビー」でそれぞれ2カ所の有意なQTLを検出した。QTL近傍のQTLが検出された領域は*F. vesca*の染色体2番、5番および6番上に相同領域があることが明らかとなった。特に、染色体5aのマーカーFATS0015近辺でQTL解析のLOD値はそれほど高くないものの良い候補マーカー

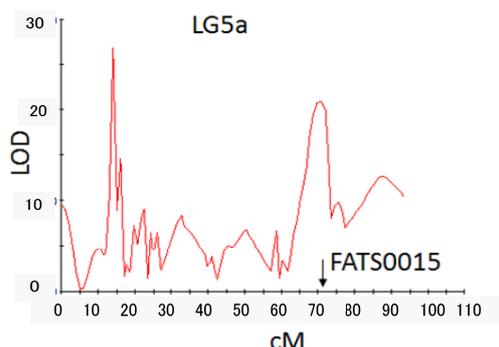


図3 24時間日長処理後の花芽分化に関するQTL解析におけるLG5aのLOD値の推移。QTL解析はSimple interval mapping法により行った。

ーが1個みつかった(図3)。

一方、T-18-2の自殖96系統と‘アスカルビー’×T-18-2の交雑96系統の24時間日長処理の花芽誘導状況を調査し、DNA分析を行った。その結果、花芽分化した系統の多くはSSRマーカーのFATS0015で196bpと199bpにバンドを有していた。特に196bpをホモに持つ系統は、100%花芽分化した系統であった。このため、196bpをホモに持つ系統を交配親に用いると24時間日長条件下で花芽誘導できる系統を高効率で選抜できると考えられた。

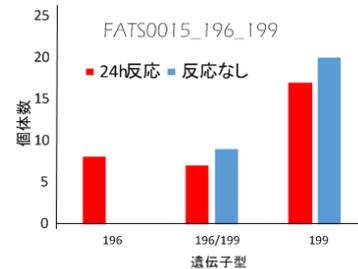


図4 FATS0015マーカーの遺伝子型別個体数。マーカーの増幅産物長・196ホモ型の個体は全て24時間日長で開花が誘導された。

3年間の研究で、T-18-2は6月の24時間日長処理で100%花芽分化し、8月末から収穫できることが明らかになった。しかし、他の品種に比べて乱形果の発生が多いことから、今後、栽培品種と交雑を行い果実品質の向上させる必要があると考えられた。また、FATS0015の遺伝子解析により、効率的に24時間日長条件下で花芽分化する系統が選抜できることが明らかになった。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計1件)

- ① Effects of light quality and quantity on flower initiation of *Fragaria chiloensis* L. CHI-24-1 grown under 24 h day-length. *Scientia Horticulturae* 202: 150-155 (2016)
doi:10.1016/j.scienta.2016.02.035
著者: Yanagi, T. N. Okuda, and K. Okamoto.
査読あり

[図書] (計1件)

- ① Strawberry (Plants in the genus *Fragaria*), Polyploidy and hybridization for Crop Improvement, CRC Press, 2016.
著者: Yanagi, T and Noguchi, Y.

[学会発表] (計2件)

- ① 長日性イチゴの育成系統T-18-2の促成栽培条件下における生育と果実品質, 園芸学会中四国支部平成26年支部会講演会要旨集第53巻33, 2014年7月徳島県名西郡石井町, 徳島県立農林水産総合技術支援センター.
著者: 柳 智博・大西のり子・奥田延幸.
- ② イチゴ系統T-18-2が持つ24時間日長条件下で花芽分化する遺伝子のQTL解析,

園芸学会平成 26 年度秋季大会講演会要旨集
第 13 卷別冊 2 号 395, 2014 年 9 月, 佐賀県
佐賀市佐賀大学.

著者：磯部祥子・平川英樹・大西のり
子・柳 智博

6. 研究組織

(1) 研究代表者

柳 智博 (YANAGI, Tomohiro)

香川大学・農学部・教授

研究者番号：7 0 2 2 1 6 4 5

(2) 研究分担者

磯部 祥子 (ISOBE, Sachiko)

公益財団法人かずさDNA研究所・植物ゲ
ノム研究部・室長

研究者番号：2 0 3 4 3 9 7

