

(第5号様式)

学位論文審査の結果の要旨

氏名	Theeraniti PUANGKRIT
審査委員	主査 深井 誠一 副査 高村武二郎 副査 鳴海 貴子 副査 森本 哲夫 副査 鈴木 保志

論文名

Mechanism of Temperature Dependent Petal Coloration in Chrysanthemum
(キクにおける温度依存的花弁着色機構)

審査結果の要旨

本研究は、近年アジア各地で生産が急速に増加しているスプレーギクにおける高温期の花色発色不良の問題に着目し、環境（温度）と色素生合成の関係を花序の発達段階別に明らかにすると共に、その基礎となるフラボノイド生合成関連遺伝子の発現を調査し、実際の栽培における対処方策を検討したものである。

材料にはピンク花スプレーギク品種ペリカンを用い、光中断下で栄養状態を維持した親株から挿し芽を取り、最低 12°Cのガラス温室で、季節に応じて短日処理を行い、花成を誘導した。花蕾が一定の発達段階に達したものを自然光型ファイトトロンに搬入して、温度処理または薬剤処理を行いながら、花色の評価並びに花弁のサンプリングを行った。

スプレーギク品種ペリカンを 20°Cおよび 30°C一定の温度条件で開花させた場合、開花時の花色は、30°C下では 20°C下に比べて L*値が高く a*値が低い白っぽい花となった。この両者の花弁のアントシアニン分析したところ、Cyanidin 3-6"-MG と Cyanidin 3-3", 6"-DMG の2種類の主要アントシアニンが検出され、温度によりアントシアニンの構成は変化しないが量的には 30°C下で大きく減少することが明らかとなった。

花序の発達段階を破蕾期、花弁伸長開始期、花弁直立期、花弁直立後1週間、花弁直立後2週間に分けて段階ごとに 20°Cまたは 30°C下において、花色発現を比較した。20°C下では、花弁直立期から1週間で花弁のアントシアニン蓄積が約2倍になりその後低下した。一方 30°C下では、花

弁直立期以降連続して花卉のアントシアニン含量は減少した。破蕾期から花卉伸長開始期まで 20℃に置き、その後花卉直立期まで 20℃もしくは 30℃下に置くと、20-30℃区で著しく花卉のアントシアニン量が低下した。一方、破蕾期から花卉伸長開始期まで 30℃下に置き、その後花卉直立期まで 20℃もしくは 30℃下に置くと、30-20℃区で十分な花卉のアントシアニン蓄積が見られた。また破蕾期から花卉伸長開始期および花卉直立期まで 20℃下に置き、その後 30℃下に置くと、花卉のアントシアニンの蓄積は大きく減少し、さらに破蕾期から花卉伸長開始期および花卉直立期まで 30℃に置きその後 20℃に置いても、花卉のアントシアニンの蓄積は僅かであった。以上の結果から、花卉が出現してから伸長する期間で最も花卉のアントシアニンの増加割合が大きくなり、かつ高温に敏感な期間であることが明らかとなった。

次に 20℃および 30℃下で発達した種々の発達段階の花序の花弁から全 RNA を抽出し、既知の遺伝子情報を下にアントシアニン生合成関連遺伝子を中心とした網羅的発現解析（マイクロアレイ解析）を行った。その結果、多くのアントシアニン生合成関連遺伝子が 30℃下で発現低下していた。次にペリカンよりアントシアニン生合成関連遺伝子を単離した。3つの *CmplCHS*, *CmplCHI*, *CmplF3'H* が、2つの *CmplF3H*, *CmplDFR*, *CmplANS* が単離された。それらは既知の遺伝子配列情報と僅かに異なり、それらは品種間差異であると考えられた。遺伝子特異的プライマーの設計が可能であった *CmplCHS1* と 2, *CmplCHI*, *CmplF3H1* と 2, *CmplF3'H*, *CmplDFR1* と 2, *CmplANS* について 25℃で発現解析したところ、*CmplCHS1* と 2, *CmplCHI* は破蕾前から発現し、他は破蕾後に発現開始した。これらを 20℃および 30℃下で発現比較したところ、30℃下ですべての遺伝子の発現が下方制御されていることが明らかとなった。以上のことから高温下での花色不良は、アントシアニン生合成関連遺伝子の転写レベルで起きていることが明らかとなった。

次に実際の栽培における対策法を明らかにするため、サイトカイニン散布処理を検討した。25℃下で破蕾期からベンジルアミノプリン(BA)50ppm 溶液を花序に散布すると、L*値は低下、a*値は増加し、アントシアニン蓄積量も増加し、明らかに花色が改善した。花序の発達段階ごとに BA50 又は 100ppm 溶液を散布すると、効果は濃度依存的でありかつ花卉伸長期に与えると最も効果的であった。また 20℃および 30℃下で BA50 又は 100ppm 溶液を散布すると 20℃下でもアントシアニン蓄積は増加したが、30℃下ではその効果は僅かであった。

以上の本研究の結果から、高温下におけるピンク花スプレーギクの花色発現不良は、主要な2つのアントシアニンが最も蓄積される花卉発達の初期から伸長する時期に高温に曝されることにより起き、それはアントシアニン生合成関連遺伝子が転写レベルで抑制されていることによるものであった。また、この花色発現不良は BA の散布によりある程度改善されることが明らかとなった。

本論文に関する公開審査会は、平成 30 年 2 月 3 日に愛媛大学農学部において開催され、申請者の論文発表とこれに関する質疑応答が行われた。引き続き開催された学位論文審査会において、学位論文の内容について審査した結果、審査員全員一致して本論文は博士（農学）の学位を授与するに値すると判定した。