

(様式第3号)

## 学 位 論 文 要 旨

氏名: 竹村圭弘

題目: ニホンナシの芽の自発休眠機構並びに低温要求性の遺伝様式に関する研究  
( The study on the mechanism of bud endodormancy and  
hereditary pattern of chilling requirements in Japanese pear )

近年、ニホンナシ栽培は、海外でも盛んになっているが、低緯度地域での芽の自発休眠打破に必要な低温要求量の不足が問題のひとつとして挙げられるようになってきた。本研究では、自発休眠機構の解明と少低温要求性ニホンナシ品種の育成の可能性について検討した。

### 1. ナシの芽の自発休眠打破に要する低温要求量

ニホンナシ品種およびナシ属野生種の萌芽率を調査し、自発休眠打破に必要な低温要求量を明らかにした。‘豊水’と‘新高’の自発休眠は、低温積算量の蓄積の早さに伴い、鳥取、佐賀、熊本の順で打破した。熊本における両品種の打破期である2月中旬の低温積算量は1566であった。この結果から、熊本においてはCU. 1500以下の低温要求量を有する品種を選択する必要があると示唆された。調査を行ったニホンナシ品種の中では、‘あきづき’、‘夏そよか’、‘涼月’および‘新甘泉’の低温要求量が最も少なかった。一方、最も多かったのは‘秀玉’であり、ニホンナシ品種の低温要求量には、800-1800のレンジが確認された。調査を行ったナシ属野生種のうち *P. calleryana* (No.12) は低温要求量が最も少なく、低温積算量が蓄積しにくい地域における少低温要求性台木として期待された。

### 2. ニホンナシの芽の自発休眠導入の気象要因とその機構

ハウス栽培、気温および日長がニホンナシ‘ゴールド二十世紀’の芽の自発休眠の導入に及ぼす影響を調査した。ポット樹を用いて長日処理および温度処理の影響を調査したところ、自発休眠導入期の加温は導入を阻止したが、16時間日長は導入を阻害しなかった。そこで、自発休眠導入に有効な温度の調査を行ったところ、5°C は自発休眠の導入に有効であったが、15°C は自発休眠の導入を阻害した。11月中旬の露地区における葉芽のABA含量は、低温による自発休眠の導入に伴い上昇したが、加温区では低い値を示した。このように、ニホンナシ‘ゴールド二十世紀’の葉の自発休眠は、主として秋季の低温によって誘導されるものと考えられた。

### 3. ニホンナシの芽の自発休眠導入および打破に関与する遺伝子の解析

ニホンナシの自発休眠機構の解明を目的として、DD法により自発休眠の導

入期、最深期および打破期でバンド強度の異なる 124 個の cDNA クローンを単離した。BLASTX による相同性検索の結果、12 個の遺伝子が機能性遺伝子として確認され、ステージ間で有意な発現量の差がみられた 8 クローンについてリアルタイム PCR 法で発現解析を行った。ニホンナシの自発休眠導入期から最深期にかけて発現量が低下した No. 19 と No. 40 の 2 つの遺伝子は、同時期のタイワンナシの芽において発現量が増加した。この 2 つの遺伝子は、それぞれ Auxin-responsive family protein と E3 ubiquitin ligase をコードする遺伝子と高い相同性を示すことが確認された。No. 15 は Tonoplast intrinsic protein (TIP) 1, No. 205 は Thaumatin-like protein をコードする遺伝子と高い相同性を示し、これらの遺伝子は最深期から打破期にかけて発現量が低下した。また No. 15 はシアナミド処理 24 時間後に発現量が増加した後、72 時間後には低下し、No. 205 はシアナミド処理後、徐々に発現量が低下した。これらの遺伝子は、自発休眠の導入および打破の調節に関与していると考えられた。

#### 4. ニホンナシの芽の自発休眠打破に関するタンパク質の解析

ニホンナシの自発休眠打破機構の解明を目的として、自発休眠最深期と打破期の芽で発現しているタンパク質を比較し、質量分析法によりタンパク質の同定を行った。二次元電気泳動後のゲルを銀染色法で染色した結果、それぞれのゲルで約 300 個のスポットが確認され、4 区を比較したところ、pI 約 4.9・M.W. 約 32kDa, pI 約 5.0・M.W. 約 30kDa, pI 約 5.2・M.W. 約 30kDa の 3 つのスポットは、4 区間で形状および濃さに違いがみられた。また、12 月 24 日の対照区では確認されなかった pI 約 5.4・M.W. 約 24kDa のスポットが 12 月 24 日のシアナミド処理区および 2 月 16 日の両処理区で確認された。

一次元 SDS-PAGE 後のゲルを用いた質量分析の結果、78 個のタンパク質が 12 月 24 日の両処理区間で共通して同定された。その中の 38 個は酵素として確認され、酸化還元酵素の割合が 41%と最も多かった。また、12 月 24 日と 2 月 16 日の両日で共通して同定されたタンパク質は 34 個であった。一方、L-ascorbate peroxidase 1 は 4 処理区中の 12 月 24 日の対照区のみで同定された。

#### 5. ニホンナシ系統 TH3 と少低温要求性タイワンナシ横山の F<sub>1</sub> における自発休眠特性

‘おさ二十世紀’の自殖後代で S<sub>4</sub><sup>sm</sup> 遺伝子をホモで持つニホンナシ系統 TH3、台湾在来ナシ横山、およびそれらの交雑によって得られた F<sub>1</sub> 系統群の萌芽率を 3 年間にわたり調査した。F<sub>1</sub> 個体は S 遺伝子の判定と SSR マーカーによる親子鑑定の結果から、全個体がこの両親に由来する後代であると同定された。全調査日において横山の萌芽率は 60%以上であり、11 月下旬～1 月上旬までの間に自発休眠に導入しなかった。一方、TH3 の萌芽率は常に横山に比べて低く、その値は 12 月上旬から 1 月上旬にかけて徐々に上昇した。いずれの調査日ともに、F<sub>1</sub> 個体が示す萌芽率は横山と TH3 の萌芽率の間に広く分布した。全 9 回の調査日のうち 8 回の調査日において、F<sub>1</sub> 個体の萌芽率の平均値は横山より TH3 の萌芽率に近い値を示した。そこで TH3 が自発休眠の深度に関する優性遺伝子をホモで持つと仮定し  $\chi^2$  検定を行ったが、この仮定は棄却された。これらの結果から、低温要求量を定める遺伝要因には QTL が存在すると考えられた。