

(続紙 1)

京都大学	博士（農学）	氏名	李 曦
論文題目	Studies on fruit abscission mechanisms during physiological fruit drop in citrus (カンキツの生理落果における果実離脱機構の解明)		
(論文内容の要旨)			
世界の主要な果樹であるカンキツでは、収量に影響を及ぼす重要な要因として生理落果があげられる。生理落果は炭水化物の競合などにより生じ、果実の離脱は果実への炭水化物の転流抑制に起因していると考えられている。しかし、生理落果する果実を樹上で正確に予測することが困難であり、このことが果実離脱機構の解明の大きな妨げとなっている。また、人為的な離脱誘導としては外生エチレン処理が用いられているが、生理落果における樹上果実の離脱と相同であるかは不明である。本研究では、先ず樹上果実の離脱と相同な離脱誘導の手法を開発し、この手法を用いて、離脱過程における種・品種間および有核果実と無核果実の離脱特性の差異や、果実離脱部位における離層組織の形成や離脱組織の細胞変化を明らかにした。さらに、内生エチレンが果実離脱に及ぼす影響を調査するとともに、マイクロアレイ解析により離脱過程における遺伝子発現動態を明らかにし、カンキツの生理落果における果実の離脱機構の概要を解明した。 第1章では、生理落果期における果実離脱誘導手法を開発し、種・品種間の離脱特性を明らかにするため、樹上果実の果梗部を環状剥皮する“樹上果実”と、果実を採取して果梗部を1%寒天培地に挿して培養する“採取果実”の離脱を調査した。その結果、両者の離脱はほぼ相同であることが認められ、採取果実の寒天挿しは果実離脱誘導の手法として有効であることが示された。また、ウンシュウミカン、‘清見’、ヒュウガナツ、ポンカンの培養温度が離脱に及ぼす影響を調査した結果、種・品種によりその影響は異なるものの、高温条件では離脱が促進される傾向が示された。 第2章では、自然受粉果実と花粉遮断果実の離脱特性の種・品種間差異を調査した。単為結果性は無核品種の育成において重要な形質であり、カンキツでは結実した無核果実は発育して成熟に至るため、単為結果性は無核果実の離脱特性に依存していると考えられる。そのため、花粉遮断による無核果実と自然受粉果実を離脱誘導して離脱特性を調査した結果、単為結果性はウンシュウミカン、‘平戸文旦’、ヒュウガナツで強く、ポンカン、イヨカン、ネーブルオレンジで弱いことが示唆された。また、無核果実の離脱パターンは自然受粉果実の離脱パターンから推定できることが示された。 第3章では、カンキツの二次生理落果において果実離脱部位は果実と果盤の接合部付近とされているが、離層組織の形成などの詳細は明らかではないことから、離脱誘導後の果実離脱部位の継時的な組織学的調査を行った。ポンカンとヒュウガナツでは果実と果盤の接合部で離脱し、ウンシュウミカンと‘清見’は果盤部で離脱することが示され、いずれも離層組織は形成されなかった。離脱組織の細胞の形態変化を調査した結果、ポンカンでは離脱誘導30時間後頃から細胞の形態変化が離脱組織内で同調的に認められて離脱は多かったが、ウンシュウミカンと‘清見’の細胞の形態変化は非同調的で離脱は少なかった。このことから、細胞の形態変化の特性は離脱部位の違いに関係していると考えられた。 第4章では、内生エチレンと果実離脱との関係を明らかにするため、離脱誘導後の			

果実の内生エチレン発生量と離脱との関係を調査した。その結果、離脱が多いポンカンのエチレン発生量は少なく、離脱が少ないウンシュウミカンのエチレン発生量は多かった。また、離脱誘導果実のエチレン作用阻害剤である1-MCPを処理すると、ウンシュウミカンでは離脱が抑制され、ポンカンでは離脱が抑制されない傾向がみられた。このことから、ポンカンでは内生エチレンが果実の離脱を積極的に制御していない可能性が考えられた。

第5章では、マイクロアレイ解析により果実離脱に関与する遺伝子を推定した。ポンカンとヒュウガナツ果実を25℃と30℃で離脱誘導すると、ポンカン30℃では36時間後から離脱が始まり、25℃では30℃より約12時間遅れて離脱が進行した。ヒュウガナツではいずれの温度でも離脱は極めて少なかった。これらの温度と種の違いによる離脱特性に基づいて、離脱誘導から12時間ごとの離脱組織のRNAによるマイクロアレイ解析を行い、遺伝子の発現変動によりポンカンの離脱に関与する可能性のある26遺伝子を選抜した。一方、果実離脱は誘導段階、決定段階、実行段階の過程で進行すると考えられることから、細胞壁分解に関連する遺伝子やエチレン合成などに関連する遺伝子の発現を調査した。その結果、ポンカンにおいて、細胞壁分解に関連する *β-galactosidase* などの発現は離脱誘導24時間後に増加しており、離脱誘導12～24時間後頃には実行段階であること、選抜した26遺伝子のうち、*ATNRT* など離脱誘導12時間後に発現が増加する11遺伝子は誘導段階や決定段階に関与していること、*MPKKK20* などの離脱誘導24時間後に発現が増加する15遺伝子は決定段階や実行段階に関与することが示唆された。また、ポンカンではエチレン合成の鍵遺伝子である *ACO* の特異的な発現が認められないことから、内生エチレンが果実の離脱を積極的に制御していないと考えられた。

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は1頁を38字×36行で作成し、合わせて、3,000字を標準とすること。

論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1,100 wordsで作成し
審査結果の要旨は日本語500～2,000字程度で作成すること。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

カンキツにおいて生理落果は栽培上重要な問題であり、果実の離脱機構の解明は結実安定の技術開発の基礎として重要であるが、その詳細は不明な点が多い。これまで、離脱誘導には外生エチレン処理が用いられているが、生理落果における樹上果実の離脱と相同であるかは不明である。本論文は、外生エチレン処理によらない離脱誘導手法を開発し、この手法を用いて果実の離脱過程における組織学的調査、内生エチレンの測定、マイクロアレイ解析などを行い、生理落果における果実の離脱機構の概要を解明したものであり、評価すべき点は以下の通りである。

1. 生理落果期における樹上果実と相同な離脱誘導手法を開発し、この手法を用いて離脱誘導後の温度条件が果実離脱に及ぼす影響に種間差異があることや、高温条件下で離脱が増加する傾向があることを示した。

2. 花粉遮断による無核果実と自然受粉果実の離脱を誘導し、無核果実の離脱パターンは自然受粉果実の離脱パターンから推定できること、これまで評価が困難であった種・品種の単為結果性は無核果実の離脱が少ないことから推定できる可能性のあることを示した。

3. 離脱誘導後の継時的な組織調査により、カンキツでは離層組織が形成されないこと、種・品種で離脱部位が異なることを初めて明らかにした。また、離脱組織の細胞の形態的变化を明らかにし、離脱部位の違いにより細胞変化のパターンが異なることを示した。

4. 離脱誘導後における果実の内生エチレンと離脱との関係、エチレン作用阻害剤が離脱に及ぼす影響およびエチレン合成に関連する遺伝子発現を調査した結果、ポンカンでは内生エチレンが果実の離脱を積極的に制御していないことを示した。

5. マイクロアレイ解析により、ポンカンの離脱に関与する26遺伝子を選抜するとともに細胞壁分解などに関連する遺伝子の調査結果から、離脱過程のタイムコースを提示し、その過程で発現する遺伝子を明らかにするなど、カンキツ果実における離脱誘導から離脱に至る機構の概要を示した。

以上のように、本論文はカンキツの生理落果における樹上果実と相同な離脱誘導手法により、果実の離脱過程における機構の概要を提示したものであり、植物生産管理学、果樹園芸学、植物形態学、植物生理学の発展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成29年2月9日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

また、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

注) 論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。

ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することと支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降（学位授与日から3ヶ月以内）