

令和 4 年 6 月 1 日現在

機関番号：24302

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2021

課題番号：17K07659

研究課題名(和文)トランスポゾン誘発変異の集積によるトレニアの花の完全八重化とその分子機構の解明

研究課題名(英文) Breeding of double-flowered torenia using integration of transposon-induced mutations and its underlying molecular mechanism.

研究代表者

西島 隆明(Nishijima, Takaaki)

京都府立大学・生命環境科学研究科・教授

研究者番号：60355708

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：夏の花壇用花卉であるトレニアは、耐暑性が強く、日陰から日向まで幅広い光環境に適応する優れた栽培特性を持つ。しかし、一重で小輪の花の品種しか存在しないため、観賞性のバリエーションに乏しい。本研究では、トランスポゾンの転移によって引き起こされた4種類の突然変異を組み合わせることにより、トレニアの花を完全八重化することに成功した。また、完全八重化をもたらす花芽の形態形成過程の特徴とその分子機構の一部を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年の地球温暖化により、夏の花壇用花卉には強い耐暑性が求められている。強い耐暑性を持つトレニアが、本研究で育成された完全八重系統を育種素材として用いることによって高い観賞性を備えれば、夏花壇の設計に、より多様な選択肢を提供できるようになる。また、異なった4種類のトランスポゾン誘発変異を組み合わせることによって著しく花弁数が増加し、花弁の配列が放射状になる現象の形態的特徴ならびに分子機構を一部明らかにした。この知見は、花卉育種技術の発展に資するものである。

研究成果の概要(英文)：Torenia is a summer bedding plant that has excellent cultivation characteristics such as tolerance to high temperature and adaptability to a wide range of light conditions from shade to sun. However, since there are only single- and small-flowered cultivars, the variation of ornamentalness is relatively poor. In this study, the integration of four different types of mutations caused by transposon successfully induced double flowers with a large number of radially-arranged petals. In addition, the underlying morphological features and molecular mechanisms of the double flower were partially elucidated.

研究分野：野菜花卉園芸学

キーワード：花卉育種 花器官形態形成

## 1. 研究開始当初の背景

八重の花は、華やかな外観を持つため好まれ、多くの園芸用花きには八重の品種が存在する。中には、シャクヤクやポタンの万重に見られるように花弁数が非常に多くなり、豪華な外観を呈するものがある。園芸用花卉の八重化をもたらす形態変化としては、(1) 雄蕊の花弁化および花の無限成長化、ならびに(2) 花芽分裂組織の拡大による花器官数の増加、が認められる(Nishijima, 2012)。

本研究課題で研究対象とするトレニアは、夏季の花壇用花卉として、わが国では明治時代から栽培されている。強健で耐暑性が強く、幅広い光条件に適応し、草姿がコンパクトにまとまる優れた栽培特性を持つが、小輪で一重(花弁数5枚、うち向軸側の2枚は合着)の品種しかないため、花壇苗としての生産量は多くない。著者らは、トレニアから、*En/Spm* スーパーファミリーに属するトランスポゾン *Tf1* の転移が活性化した変異体「雀斑(そばかす)」を得た(第1図)。この変異体の自殖後代には、*Tf1* の転移による新たな変異が高頻度で発生する。このような変異体として、花弁数がやや増加する「半八重」、ならびに、心皮数が著しく増えるとともに花弁数がやや増加する「多心皮」が得られている(第2図)。さらに、「半八重」と「多心皮」を交雑して変異を集積することにより、花弁数が著しく増加する現象が見いだされた。



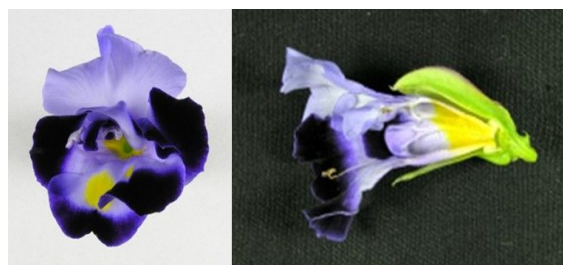
正常型

雀斑

第1図. トランスポゾン *Tf1* の転移が活性化した「雀斑」.

## 2. 研究の目的

「半八重」と「多心皮」の変異の集積によって得られる、花弁数が著しく多い系統「完全八重」は、左右相称性が残っていて外観がやや乱雑である、また、背軸側の花弁数がやや疎になる欠点を持つ。これらの欠点を解消して、カーネーションの花のような放射状の外観の花を着ける系統を育成する。また、変異の集積によって花弁数が著しく増加する現象について、花器官形成の過程を形態的に明らかにするとともに、この現象に関連する遺伝子および形質発現機構を明らかにする。



半八重

多心皮

第2図. 「半八重」および「多心皮」. 「多心皮」では、花弁数の増加の状態を示すために心皮を除去した.

## 3. 研究の方法

上記のような「完全八重」の欠点を解消するため、左右総称性が弱まった別の変異を交雑によって集積することにより、放射状の完全八重の花を咲かせる「放射状完全八重」を育成する。また、変異の集積によって花弁数が著しく増加する現象について、花器官形成過程の形態的特徴を顕微鏡観察によって明らかにする。さらに、花弁数の増加に関連する遺伝子および形質発現機構を、遺伝学的方法、ならびに形態変化から関与が予想される遺伝子の解析によって明らかにする。

## 4. 研究成果

(1) 背軸側花弁が向軸側花弁に変換する「ベゴニア」変異(Niki et al., 2016)と、市販品種にも存在する向軸側花弁が着色する変異を交雑によって集積することにより(第3図)、全ての花弁がほぼ同程度に着色し、放射状の外観となる系統を育成した。この系統と「完全八重」を交雑して変異を集積することにより、「放射状完全八重」を育成した。向軸側花弁が着色する市販品種では、花の向背軸方向の相称性を制御する *TfCYC2* のエクソンに、*Ty1/copia* グループのレトロトランスポゾンが挿入していた(Kondo et al., 2020)。これにより、*TfCYC2* の機能が低下し、花の左右相称性が弱まって向軸側花弁が着色することが示された。(2) 花の花弁数は、正常型では5枚であるのに対して、「半八重」および「多心皮」では正常型に比較して、花弁数の個体間差が大きかったものの、「半八重」では最大で10枚、「多心皮」では最大で14枚まで増加する個体がみられた。心皮数は、正常型および「半八重」では2枚であった。これに対して、「多心皮」では、個体間差が大きかったが、最大で14枚まで増加する個体が認められた。「半八重」と「多心皮」のF2世代では、花弁数が5~50枚、心皮数が2~38枚と幅広く分布し、花弁数、心皮数ともに著しく多い個



第3図. 花弁の着色パターンの変異体. 左: 「ベゴニア」、右: 「向軸弁着色」.

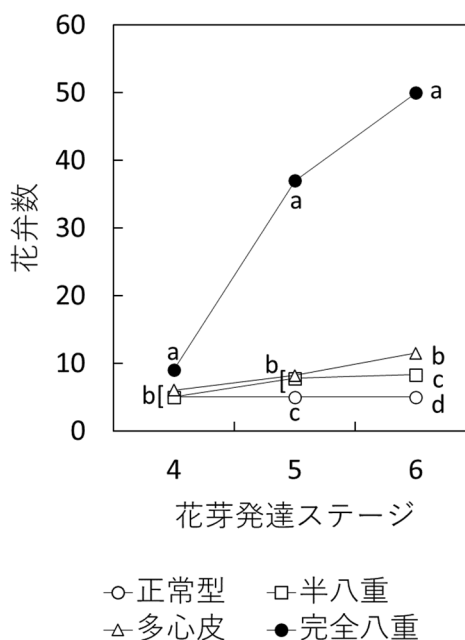
体が「半八重」と「多心皮」の二重変異体、つまり、完全八重型であると考えられた。F2世代の個体のうち、正常型と半八重型を示す個体は花弁数および心皮数から明瞭に区別することができた。しかし、多心皮型と完全八重型は分離が不明瞭で、区別がやや難しかった。この原因としては、「半八重」および「多心皮」の正常型および変異型の対立遺伝子の様々な組み合わせの個体がF2世代において混在したことにより、花弁数と心皮数のばらつきが大きくなったことが考えられる。「半八重」および「多心皮」は、単独では劣性1因子として遺伝するが、共存した場合には何らかの相互作用が存在すると考えられた。



第4図。「放射状完全八重」.

正常型の花芽では、花弁、雄蕊、雌蕊の分化期(ステージ4)に花器官数は既に決定しており、それ以後のステージで増加することはなかった。しかし、「半八重」では花弁の分化が、「多心皮」では花弁および心皮の分化が花芽発達の後期(ステージ6)まで続いた。さらに、「完全八重」では、この傾向がさらに著しくなった(第4図)。

(3)「半八重」および「多心皮」変異の原因遺伝子を、トランスポゾンディスプレイ法により同定しようとしたが、おそらく *Tf1* が原因遺伝子から切り出されていたため、同定できなかった。さらに、次世代シーケンサーを用いた染色体マッピング法により原因遺伝子の同定を試みたが、同定することはできなかった。上記のように、「半八重」および「多心皮」では、花弁および心皮の分化が花芽発達の後期まで続くことから、これらの変異体では分裂組織の不活性化が阻害されていると予想し、若い花芽において、分裂組織の形成と維持に関連する遺伝子の発現を解析した。その結果、正常型に比較して「半八重」および「多心皮」では、サイトカイニンの生合成とシグナル伝達に関する遺伝子の発現に差が認められた。つまり、サイトカイニン処理によって著しく発現が高まるタイプAレスポンスレギュレーター遺伝子 *TfRR1* およびサイトカイニン酸化酵素遺伝子 *TfCKX5* の発現が(Niki et al., 2013)、正常型に比較して、「半八重」および「多心皮」で高まっていた。そこで、サイトカイニン生合成酵素遺伝子であるイソペンテニル転移酵素遺伝子(*IPT*)およびサイトカイニン活性化酵素遺伝子(*LOG*)の発現を調べた。その結果、トレニアにおける *IPT* および *LOG* のホモログのうち、それぞれひとつの発現が、正常型と比較して「半八重」および「多心皮」で高まっていた。これらの遺伝子のゲノムDNAの塩基配列には、正常型と「半八重」および「多心皮」の間で差は認められなかった。したがって、これらの遺伝子とは別の変異が、サイトカイニンの生合成系の調節を通じて花弁数の増加に関わることが推察された。



第4図.花芽発達過程における花弁数の増加.異なる文字間は Tukey-Kramer 法により 5%水準で有意差あり。

#### <引用文献>

- Nishijima, T. 2012. Large flower size: Molecular basis and role of cytokinin. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 81: 129-139.
- Nishijima, T., Y. Morita, K. Sasaki, M. Nakayama, H. Yamaguchi, N. Ohtsubo, T. Niki and T. Niki, 2013. A torenia (*Torenia fournieri* Lind. ex Fourn.) novel mutant 'Flecked' produces variegated flowers by insertion of a DNA transposon into a *R2R3-MYB* gene. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 82: 39-50.
- Niki, T., K. Sasaki, M. Shikata, T. Kawasaki-Narumi, N. Ohtsubo and T. Nishijima. 2016. Conversion of abaxial petal into adaxial one in a torenia (*Torenia fournieri* Lind. ex Fourn.) mutant appeared in selfed progeny of a mutable line "Flecked". Hort. J. 85: 351-359.
- Kondo, M., N. Tanikawa and T. Nishijima. 2020. Mutation of *CYCLOIDEA* expands variation of dorsal-ventral flower asymmetry expressed as a pigmentation pattern in *Torenia fournieri* cultivars. Hort. J. 89: 481-487.
- Niki, T., T. Mahesumu, T. Niki and T. Nishijima. 2013. Localized high expression of type-A response regulator and cytokinin oxidase/dehydrogenase genes in relation to forchlorfenuron-induced changes in flower morphology in *Torenia fournieri* Lind. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 82: 69-77.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kondo Mariko, Tanikawa Natsu, Nishijima Takaaki	4. 巻 89
2. 論文標題 Mutation of CYCLOIDEA Expands Variation of Dorsal/ventral Flower Asymmetry Expressed as a Pigmentation Pattern in <i>Torenia fournieri</i> Cultivars	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Horticulture Journal	6. 最初と最後の頁 481 ~ 487
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2503/hortj.UTD-174	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 西島隆明	4. 巻 5
2. 論文標題 トレニアに内在する変異原を利用した育種法と形質解析法の開発	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 JATAFFジャーナル	6. 最初と最後の頁 11-15
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 西島 隆明、近藤万里子
2. 発表標題 トレニア品種における向軸側花卉の着色機構
3. 学会等名 園芸学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 西島 隆明
2. 発表標題 トレニアの易変性系統「雀斑」の自殖後代に生じた蜜標のない変異体（その2）
3. 学会等名 園芸学会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 鑑賞性に優れた八重咲きトレニア植物及びその作出方法	発明者 西島隆明	権利者 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究
産業財産権の種類、番号 特許、特願2022-037742	出願年 2022年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------