

令和 6 年 6 月 25 日現在

機関番号：15201

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K15520

研究課題名（和文）サクラの休眠機構の解明および接ぎ木による開花促進法の確立

研究課題名（英文）Dormancy mechanism and establishment of flowering promotion method in cherry blossom

研究代表者

田中 秀幸（Tanaka, Hideyuki）

島根大学・学術研究院農生命科学系・准教授

研究者番号：30738779

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000 円

研究成果の概要（和文）：サクラ数品種において休眠関連遺伝子であるDAM遺伝子群（DAM1-6）の発現を経時的に調査したところ、自発休眠の維持にはDAM4およびDAM6が関与している可能性が示唆された。また、切り枝を早期開花させるシアナミドや温湯処理により両DAM遺伝子発現が減少したことより、両DAMの発現を制御できれば開花を制御できると考えられる。早期開花および開花抑制技術を組み合わせることにより、サクラ切り枝の周年開花が可能となることが示された。しかし、当初の目的であったDAM発現量の低い十月桜を台木とした接ぎ木による開花促進法については、挿し木発根および接ぎ木活着が出来ずに達成できなかったため、今後の課題である。

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、サクラの開花が不安定になっており、サクラの安定開花技術の確立が求められている。また、サクラは切り枝としても需要が高く、周年開花技術の開発も求められているが、ほとんどの品種で未確立である。それぞれの開花技術の確立には、サクラの休眠機構の解明が必要となり、本研究では休眠に関連している遺伝子の特定およびその遺伝子の制御法について明らかにした。これにより、サクラの安定開花および周年開花技術の確立に大きく貢献できると思われる。また、本研究成果は、サクラの開花予想にも活用できると思われる。

研究成果の概要（英文）：We investigated the expression of DAM genes (DAM1-6), which are dormancy-related genes, in several cherry blossom cultivars. This results suggested that DAM4 and DAM6 might be involved in the maintenance of endodormancy in cerry blossom. Cyanamide and hot water treatments, which induce early flowering of cut branches of cherry blossom, reduced the expression of both DAM genes. These results suggested that flowering could be controlled if the expression of both DAMs could be regulated.

The combination of early flowering and flowering suppression techniques could be used to achieve year-round flowering of cut branches of cherry blossom. However, the initial goal of promoting flowering by grafting with rootstock of 'Jugatsu-zakura' (Cerasus x subhirtella 'Autumnalis') that low DAM expression could not be achieved because rooting of cuttings and the grafts success were not possible.

研究分野：施設園芸学

キーワード：サクラ自発休眠 開花促進 周年開花 自発休眠打破 DAM遺伝子

1. 研究開始当初の背景

サクラは日本で最も親しみのある花木の一つであり、花見は古くから人々に楽しまれてきた文化である。さらに、サクラは海外でも人気があり、春の花見シーズンには多くの外国人観光客がサクラの名所に訪れており、サクラは重要な観光資源となっている。しかし、近年の地球温暖化によりサクラの開花が不安定になっており、観光資源維持のためにサクラの安定開花技術の開発が求められている。また、サクラは切り枝としても人気があり、最近では正月用の花材としての需要も高まってきており、早期開花技術の開発が求められているが、年内出荷が可能なのは「啓翁桜」などの限られた品種のみで、ほとんどの品種で未確立である。様々なサクラ品種で早期開花が可能となれば、日本の花卉生産においてサクラが主要な輸出作目となることが期待される。

上記のように、サクラの開花制御については需要があるにも関わらず、その研究はほとんどされていなかった。サクラの花芽は夏から秋にかけて形成され、日長および温度の低下により休眠に入り成長が抑制される。この休眠は一定期間の低温に遭遇することで打破されるが、その打破に必要な低温要求量は品種により異なり、多くのサクラ品種で不明確である。近年の開花が不安定な原因は、地球温暖化によりこの低温要求量を満たせないためと推察される。また、サクラの休眠導入要因や時期、およびその機構についても明らかにされていない。サクラ観光地の維持、切り枝の市場拡大および生産者増加のためには、各品種の休眠機構および休眠打破に必要な低温要求量を明らかにすることが必須である。

2. 研究の目的

近年の地球温暖化によりサクラの開花が不安定になってきており、観光資源としての維持が困難になってきている。本研究の目的は、サクラの安定開花のための休眠機構の解明と、接ぎ木による開花制御法の確立である。モモにおいて、休眠に関連する遺伝子として *dormancy-associated MADS-box (DAM)* の関与が報告されており、その他果樹でも同様であるが、サクラについては *DAM* 遺伝子と休眠との関係性については明らかにされていない。そこで、サクラの休眠導入および打破において *DAM* 遺伝子の関与を明らかにするとともに、「十月桜」や「冬桜」のように休眠が存在しない品種を台木として接ぎ木することで、穂木品種の休眠を制御できるかを検討する。これら実験により得られた成果を応用し、サクラ切り枝の周年開花技術を開発して、サクラを用いた新しい産業を創出し、地域活性化の一因となることを期待するとともに、サクラ遺伝資源の保存・維持に貢献する。

3. 研究の方法

(1) 早期開花および開花抑制技術の開発

早期開花技術の開発

サクラ「啓翁桜」において開花促進効果のあるシアナミドおよび温湯（40℃、1時間）処理がサクラ各品種においても開花を促進するかを調査した。

各品種よりサクラ切り枝を採取し、4℃・暗黒条件にて低温処理を開始した。当研究室では、サクラ各品種において、休眠打破に必要な低温処理期間を明らかにしていたため、各品種に必要な低温時間を処理した後に、切り枝にシアナミド処理および温湯処理を行った。各処理後は、サクラ切り枝を 20℃/15℃、12時間日長の条件に置き、開花調査を行った。また、各処理区の切り枝から定期的に花芽を採取し、*DAM* 遺伝子の発現解析を行うことで、開花促進処理が休眠関連遺伝子に及ぼす影響を調査した。

開花抑制技術の開発

サクラ「関山」から切り枝を採取し、4℃・暗黒、-1℃・暗黒のそれぞれの条件で低温処理を行い、開花を抑制できるか調査した。

(2) 休眠関連遺伝子の発現解析

DAM 遺伝子発現の経時的変化

9月～翌2月にかけてサクラ各品種から花芽を採取し、液体窒素により凍結し、-80℃で遺伝子解析まで保存した。花芽から total-RNA を抽出し、逆転写をした後に Realtime-PCR にてサクラ *DAM* 遺伝子群 (*DAM1-6*) 発現解析を行った。*DAM1-6* については、モモ (*P. persica*)、アーモンド (*P. dulcis*)、シナミザクラ (*P. pseudocerasus*)、サクラ (*C. yedoensis* Somei-Yoshino) の *DAM* 遺伝子配列をデータベースから取得し、各 *DAM* 遺伝子で種を超えて特異的な PCR 断片が得られるようにプライマーを設計した (table)。

Table. Sequences of primer used in this study

primer	sequence
Cspp DAM1F	5'-GAAACACATCAGATTGAGC-3'
Cspp DAM1R	5'-TTAGCTGTTTGTGGCTTCTACA-3'
Cspp DAM2F	5'-GGATGGTGAAGACGATGAGGA-3'
Cspp DAM2R	5'-CCTCAAGTCTCTTGCTCAATCTG-3'
Cspp DAM3F	5'-GTGTGAATCTAAGTGGCAGTTG-3'
Cspp DAM3R	5'-CAAGTGCCATAATCTCACTCATTG-3'
Cspp DAM4F	5'-CTGGATCTGGATGAGTTGCTG-3'
Cspp DAM4R	5'-AGGTAGCAGATTCAGATGGCTC-3'
Cspp DAM5F	5'-CGTGTCATGGAACTAAGGAAGAG-3'
Cspp DAM5R	5'-GTTTGAGAGACAAAGTGACCTCATC-3'
Cspp DAM6F	5'-GATCAAGAAGATTGACTACCTGCCA-3'
Cspp DAM6R	5'-TCAACGTCTCCGGCTCCAC-3'

早期開花処理が DAM 遺伝子群の発現に及ぼす影響

どの DAM 遺伝子が休眠維持に関与しているか明らかにするため、開花促進効果のあるシアナミドおよび温湯処理が DAM 遺伝子群に及ぼす影響を調査した。

8 月中旬に、' 染井吉野 ' から切り枝を採取し、4 ・ 暗黒で 2 か月間低温処理を行った。なお、この低温期間は、' 染井吉野 ' の切り枝を休眠打破（早期開花）させるには不十分な期間である。低温処理終了後、切り枝にシアナミドおよび温湯処理を行い、20 / 15 ，12 時間日長の環境制御室にて開花調査を行った。促成処理をしなかった切り枝を対照区とした。処理後、定期的に花芽を採取し、上記の方法にて各 DAM 遺伝子の発現解析を行った。

4 . 研究成果

(1) 早期開花および開花抑制技術の開発

早期開花技術

低温処理を行ったサクラ切り枝にシアナミドおよび温湯処理を行うことで、開花が促進され 11 月に開花させることができた。また、各処理により開花率も向上することができ、切り枝の促成開花において、各処理は効果的であることが示された。

開花抑制技術

サクラ切り枝を 4 ・ 暗黒にて保存したところ、低温庫内で 4 月に開花した。しかし、-1 ・ 暗黒で保存したところ、7 月まで花芽の萌芽、開花は見られなかった。-1 で保存していた切り枝を 7 月に 10 / 10 ，12 時間日長の環境制御室に移動し、その 1 週後に 20 / 15 ，12 時間日長の環境制御室に移動したところ、切り枝は開花したことより、-1 ・ 暗黒条件下でサクラ切り枝の長期保存が可能であることが示された。

(2) 休眠関連遺伝子の発現解析

DAM 遺伝子発現の経時的変化

サクラ数品種において休眠関連遺伝子である DAM 遺伝子群 (DAM1-6) の発現を経時的に調査したところ、' 染井吉野 ' では DAM2,3,4,6 の発現量はそれぞれ、1 月、1 月、12 月、12 月まで増加し続け、その後減少した。' 関山 ' では、DAM2,3,4,5,6 の発現量はそれぞれ、10 月、10 月、12 月、12 月、10 月まで増加し続け、その後減少した (Fig.1)。多くの品種において同様の傾向が見られたが、年 2 回開花する ' 十月桜 ' では、DAM 遺伝子の発現量の増加が見られず、常に低い値を示した。以上より、DAM2 ~ 6 が休眠維持に関与していることが示唆されたが、どの DAM が休眠打破に関与しているのかは本実験では明確にできなかった。

早期開花処理が DAM 遺伝子群の発現に及ぼす影響

' 染井吉野 ' および ' 関山 ' の切り枝において、対照区では開花しなかったのに対し、各促成処理区では開花した。

また、各処理後の花芽における DAM 遺伝子群の発現解析を行ったところ、' 染井吉野 ' において、対照区では DAM1,2,4,5,6 で発現量が増加し、DAM3 は一定の発現量を示し、すべての DAM 遺伝子で発現量が減少するものはなかった。シアナミド区では、DAM1,2,3 で発現量が増加し、DAM4,5,6 で発現量が減少した。温湯区では、DAM1,2,3,4,5 で発現量が増加し、DAM4,6 で発現量が減少した。

以上の結果より、休眠打破に必要な低温に十分遭遇していない ' 染井吉野 ' の切り枝を開花させるには、休眠打破処理と

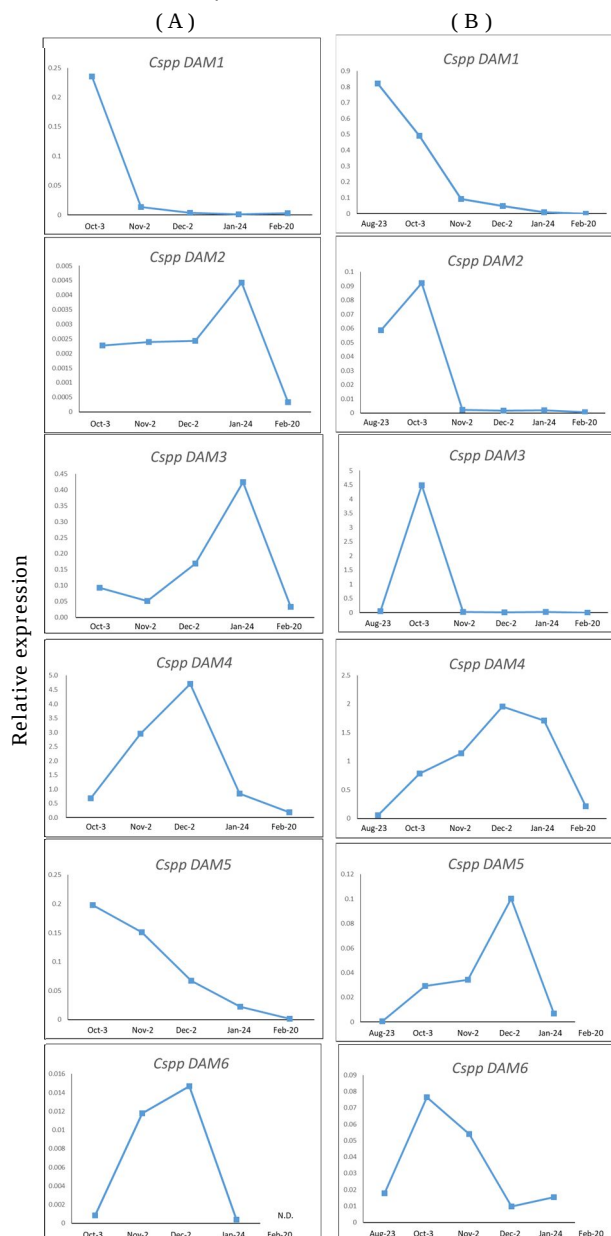


Figure1. Relative expression of DAM genes in flower buds. (A) 'Somei-Yoshino' (B) 'Kanzan'

して効果的なシアナミドおよび温湯処理が必要であることが分かった。休眠打破に必要な低温に十分遭遇していない切り枝を開花させたということは、これら休眠打破処理により、休眠を維持している DAM 遺伝子の発現を低下させたためと考えられる。DAM 遺伝子群の発現解析の結果より、シアナミド処理では DAM4,5,6 が、温湯処理では DAM4,6 の発現が低下した。本実験の結果と(2) - の結果より、サクラにおいて休眠を維持している DAM 遺伝子は DAM4 および DAM6 である可能性が示唆された。

以上より、DAM4 および DAM6 の発現を制御することで、任意に開花を制御すること可能性があるため、これら遺伝子の発現を変化させる処理について今後調査する。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1 . 発表者名 Hideyuki Tanaka,Mako Shimizu, Toshiki Asao
2 . 発表標題 The relationship between endodormancy and DAM gene expression in cherry blossom
3 . 学会等名 The 5th International Synposium on Woody Ornamentals of the Temperate Zone (WOTZ2024) (国際学会)
4 . 発表年 2024年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔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
---------	---------