

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年6月7日現在

機関番号：15201

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22580032

研究課題名（和文） ツツジ園芸品種における花器変異形質の評価・解析と新品種の作出に関する研究

研究課題名（英文） Evaluation and characterization of flower form mutations and their application for breeding in evergreen azalea cultivars.

研究代表者

小林 伸雄（KOBAYASHI NOBUO）

島根大学・生物資源科学部・教授

研究者番号：00362426

研究成果の概要（和文）：本研究では、常緑性ツツジの花器形質変異に注目して、花器形質の評価や遺伝性を調査すると同時に機構解明のための遺伝子解析を行った。花器変異形態は、二重咲き；がくの花弁化、見染性；花弁のがく化、八重咲き；雌ずいや雄ずいの花弁化および采咲き；花弁のしべ化や狭細化などに分類された。これらの花器形質変異の大半はホメオティック変異によるものと考えられ、MADS 遺伝子の単離・解析を行ったところ、遺伝子発現量や DNA 構造の変化から、二重咲き；PI 遺伝子、見染性；AP3 遺伝子、八重咲き・采咲き；AG 遺伝子 の関与が示唆された。

研究成果の概要（英文）：In this study, we investigated the morphology, inheritance and responsible gene analysis of the valuable flower form mutations in evergreen azalea cultivars. These flower form mutations include, hose in hose form; petaloid sepal, long lasting flower form; sepaloid petal, double form; petaloid stamen and/or pistil, spider form; staminoid or narrowed petal etc. and these mutational trait could find in varieties of each wild species. These mutations would be caused by homeotic gene mutations. Each mutational forms would be explained by changes of expression patterns and DNA structure of correspond MADS genes, hose in hose form; PI (B class), long lasting flower form; AP3 (B class), double form and spider form; AG (C class).

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2012年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学・園芸学・造園学

キーワード：ツツジ・花器形態・MADS 遺伝子・品種改良・花木育種

1. 研究開始当初の背景

本邦には多くのツツジ野生種が自生し、江戸時代より数多くの園芸品種が作出されて

きた。その中には園芸的価値の高い花器形質変異が存在するが、近代のツツジ育種にはいまだ活用されていない。代表者らはこれらの

品種を用いた交配を行い、実生系統の育成を開始しており、また同時に花器形質変異に関わる遺伝子の単離・発現に関する研究を進めてきた。

2. 研究の目的

常緑性ツツジの花器形質変異に注目し、園芸品種や交配系統を材料として、I. 形質の評価や遺伝性を調査し、さらに II. 機構解明のために遺伝子解析を行う。そして最終的に新品種の開発を目指すことを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 材料収集と交配系統の育成ならびに花器変異形質の評価

特異な花器変異形質（見染性・采咲き・二重咲き・八重咲き等）を有する希少なツツジ品種を原種ごとに整理・収集する。花器形質の遺伝分析や新品種開発の交配計画に基づいて品種間・種間等を用いた交配を行い、交配実生の育成を行う。また、花器変異形質の形態学的評価・観察を行う。

(2) 花器形質の遺伝性調査

開花した交配実生系統について各種花器形質（花型・花色・雌雄ずいとその機能・開花期間等）を観察し、交配親との比較を行うと同時にそれらの形質の遺伝性を調査する。

(3) 花器形質を制御する遺伝子の単離・解析

ヤマツツジ・モチツツジ野生種を用いて、MADS 遺伝子の単離を行う。すでに単離済みの遺伝子をあわせて、野生種と花器変異品種との遺伝子発現の比較を行う。花器形質に関与すると考えられる遺伝子については DNA 構造解析を進め、花器形質変異の原因遺伝子とその変異機構を解析する。

4. 研究成果

(1) 花器変異形質の評価

花器変異形態は、二重咲き;がくの花弁化、見染性;花弁のがく化、八重咲き;雌ずいや雄ずいの花弁化、采咲き;花弁のしべ化や狭細化などに分類され、各野生種にこれらの花器変異品種が観察された (Kobayashi ら、2010) (第1図)。



第1図. ツツジ園芸品種の各種花器変異形質
また、育成した交配実生系統の中には花器変異を有し観賞価値の高い新品種候補となる個体も複数見出されているため、増殖や詳細な特性評価を進めている。

(2) 花器変異形質の遺伝性調査

花器形質の遺伝分析ならびに新品種開発のための交配計画に基づく交配実生系統の育成 (F1 および F2 等) を行ない、開花した交配実生の花器形質の観察・調査した。特異な花器変異形質のうち、花弁や葉が狭細化した采咲き形質ならびに開花後の花冠が脱落せず持続性を示す見染性形質を持つツツジ品種を用いた交配系統においては、両親に采咲きまたは見染性品種を用いた F1 はすべて采咲きまたは見染性形質を示し、また、通常花と采咲きまたは見染性品種の F1 ではすべて通常花の形質を示すことから、采咲きならびに見染性の花器形質は雄性の遺伝子に支配されている可能性が示された (田崎ら、2012; 小林ら、2011; 千ら、2013)。

(3) 花器形質を制御する遺伝子の解析

1) PI 遺伝子; がくが花弁化する二重咲き形質に関して、B クラスの機能をもつ MADS 遺伝子 PI を単離し、花器形態との関連を調査した。一重咲きと二重咲き品種を用いて、花器官別に PI の発現量を調査したところ、完全な二重咲きでは花弁化したホール 1 で PI の強いシグナルが検出できた (Kobayashi ら、2010; 古賀ら、2012)。

2) AP3 遺伝子 花冠が緑化し持続する形質 (見染性) に関して、B クラスの機能をもつ AP3 を単離し、花器形態との関連を調査した。野生種とその見染性品種を比較すると、AP3 の発現が減少しており、AP3 の DNA 構造も変異していることが確認できた (小林ら、2011; 千ら、2013)。

3) AG 遺伝子 花弁のしべ化 (采咲き) ならびに雌雄ずいの花弁化 (八重咲き) の形質に関して、C クラスの機能を持つ AG を単離し、花器形態との関連を調査した。ホール 2 に AG が発現すると花弁からしべに変化し、逆にホール 3 および 4 に AG の発現が減少すると雌雄ずいの花弁化が起こることが確認できた (Tasaki ら、2010, 2012; 田崎ら、2011)。

4) 開花関連遺伝子 ツツジ '大紫' から FT, LFY, SOC, TFL1 および CEN 遺伝子を単離し、花芽形成との関連を調査した。上記の遺伝子のうち、TFL1 遺伝子の減少と FT および LFY 遺伝子の増加が花芽形成期と一致していることを確認した (Cheon ら、2010, 2012; 千ら、2011; 論文 Cheon ら、2011, 2012)。

5) その他の遺伝子 葉および花が狭細化する采咲き形質に関して、形態変異関連遺伝子の解析を行った。単離した 2 種の遺伝子のう

ち、一方のみが狭細化形質と対応した発現の有無を示した。また DNA 構造の変異も検出されたため、形態変異の原因と思われた (田崎ら、2012)。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 5 件)

- ① Kobayashi N., Matsunaga M., Nakatsuka A., Mizuta D., Shigyo, M. and Akabane, M., Chimeric inheritance of organelle DNA in variegated leaf seedlings from inter-subgeneric crossing of azalea. *Euphytica*, 査読有, 191:121-128, 2013
- ② Tasaki, K., Nakatsuka, A., Cheon, K.-S., Koga, M. and Kobayashi N., Morphological and expression analyses of MADS genes in Japanese traditional narrow- and/or staminoid-petaled cultivars of *Rhododendron kaempferi* Planch. *Scientia Horticulturae*, 査読有, 134:191-199, 2012
- ③ Cheon, K.-S., Nakatsuka, A., Tasaki, K. and Kobayashi N., Seasonal changes in the expression pattern of flowering-related genes in evergreen azalea 'Oomurasaki' (*Rhododendron* × *pulchrum*). *Scientia Horticulturae*, 査読有, 134: 176-184, 2012
- ④ Tasaki, K., Nakatsuka, A. and Kobayashi N., Morphological analysis of narrow-petaled cultivars of *Rhododendron macrosepalum* Maxim. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 査読有, 81:72-79, 2012
- ⑤ Cheon, K.-S., Nakatsuka, A. and Kobayashi N., Isolation and expression pattern of genes related to flower initiation in the evergreen azalea, *Rhododendron* × *pulchrum* 'Oomurasaki'. *Scientia Horticulturae*, 査読有, 130:906-912, 2011

[学会発表] (計 14 件)

- ① 小林伸雄・倉重祐二・久末真理奈・渡邊弘行・中務明. 日本各地に分布する江戸キリシマ系ツツジの SSR マーカーによる品種比較, 園芸学会平成 25 年度春季大会, 2013 年 3 月 23, 24 日, 東京農工大学小金井キャンパス (東京)
- ② 千慶晟・中務明・小林伸雄. ツツジ属植物の遺伝資源の活用に関する研究 (第

36 報) 見染性 (花冠持続) 形質に関する MADS-box 遺伝子の解析, 園芸学会平成 25 年度春季大会, 2013 年 3 月 23, 24 日, 東京農工大学小金井キャンパス (東京)

- ③ Cheon, K. S., Nakatsuka, A., Tasaki, K. and Kobayashi, N., Relationship between the development of flower bud and the expression of flowering-related genes during flower bud formation in evergreen azalea 'Oomurasaki' (*Rhododendron* × *pulchrum*). 24th International EUCARPIA Symposium Section Ornamentals. Abstract P.88. 2-5 Sept. 2012, Warsaw, Poland
- ④ 松本 粹・田崎啓介・中務明・小林伸雄. ツツジ野生種における再分化系の培養条件の検討, 園芸学会平成 24 年度中四国支部大会, 2012 年 7 月 21 日, 岡山大学津島キャンパス (岡山)
- ⑤ Kobayashi, N. Evaluation and application of evergreen azalea resources of Japan. 2nd International Symposium on Woody Ornamentals of the Temperate Zone. Abstract P.56. 1-4 July 2012, Ghent, Belgium,
- ⑥ 田崎啓介・中務明・小林伸雄. ツツジ属植物の遺伝資源の活用に関する研究 (第 34 報) 常緑性ツツジの側生器官狭細化変異における遺伝性と *WOX1*・*WOX3* のオーソログ遺伝子の解析, 園芸学会平成 24 年度春季大会, 2012 年 3 月 28, 29 日, 大阪府立大学中百舌鳥キャンパス (大阪)
- ⑦ 古賀美紗都・中務明・小林伸雄. ツツジ属植物の遺伝資源の活用に関する研究 (第 35 報) 江戸キリシマ系ツツジにおける花器変異に関わる B および C クラス MADS-box 遺伝子の解析, 園芸学会平成 24 年度春季大会, 2012 年 3 月 28, 29 日, 大阪府立大学中百舌鳥キャンパス (大阪)
- ⑧ 小林伸雄・佐野加代子・石原美香・田崎啓介・千慶晟・水田大輝・中務明. ツツジ属植物の遺伝資源の活用に関する研究 (第 30 報) ツツジにおける見染性 (花冠持続) 形質の遺伝性について, 園芸学会平成 23 年度秋季大会, 2011 年 9 月 24, 25 日, 岡山大学津島キャンパス (岡山)
- ⑨ 千慶晟・中務明・小林伸雄. ツツジ属植物の遺伝資源の活用に関する研究 (第 31 報) '大紫' (*Rhododendron* × *pulchrum*) における花芽分化と開花関連遺伝子の関係, 園芸学会平成 23 年度秋季大会, 2011 年 9 月 24, 25 日, 岡山大学津島キャンパス (岡山)
- ⑩ 田崎啓介・中務明・小林伸雄. ツツジ属植物の遺伝資源の活用に関する研究 (第

32 報) 離弁花冠を有するヤマツツジ系園芸品種の形態およびホメオティック遺伝子の解析, 園芸学会平成 23 年度秋季大会, 2011 年 9 月 24, 25 日, 岡山大学津島キャンパス (岡山)

- ⑪ Tasaki, K., Nakatsuka, A. and Kobayashi, N. Morphological and genetic analysis of azalea with Saizaki form; staminoid petals and/or polypetalous flower. 28th International Horticultural Congress. Abstract P.454. 22-27 August 2010, Lisbon, Portugal
- ⑫ Kobayashi, N., Cheon, K. S., Tasaki, K. and Nakatsuka, A., Flower form mutation in evergreen azalea cultivars of Japan. 28th International Horticultural Congress. Abstract P.458. 22-27 August 2010, Lisbon, Portugal
- ⑬ Nakatsuka, A., Mizuta, D. and Kobayashi, N., Flower color and flavonoid synthesis gene in evergreen azalea. 28th International Horticultural Congress. Abstract P.573. 22-27 August 2010, Lisbon, Portugal
- ⑭ Cheon, K. S., Nakatsuka, A. and Kobayashi, N., Phenological and molecular approach for flowering in evergreen azalea. 28th International Horticultural Congress. Abstract P.573. 22-27 August 2010, Lisbon, Portugal

[図書] (計 1 件)

- ① 倉重祐二・小林伸雄・秋山伸一. 「津よし絵本」解説, 発行: 島根大学生物資源科学部, (財) 新潟県都市緑化センター新潟県立植物園, 2013 年 3 月 20 日, ISBN 978-4-905400-06-6 C3645, pp.114

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小林 伸雄 (KOBAYASHI NOBUO)
島根大学・生物資源科学部・教授
研究者番号: 00362426

(2) 研究分担者

中務 明 (NAKATSUKA AKIRA)
島根大学・生物資源科学部・准教授
研究者番号: 40304258

(3) 連携研究者

()

研究者番号: