

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 28 日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25292026

研究課題名(和文)トレニアの花の放射対称化・大輪化・八重化による観賞性の改良とその分子機構の解明

研究課題名(英文)Improvement of torenia (*Torenia fournieri*) flower through mutations causing doubled, large and apparent radially-symmetric flowers and molecular mechanisms responsible for those mutations.

研究代表者

西島 隆明(Nishijima, Takaaki)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・野菜花き研究部門・花き遺伝育種研究領域・主席研究員

研究者番号：60355708

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 9,900,000円

研究成果の概要(和文)：「動く遺伝子」トランスポゾンの転移が活性化したトレニアの系統「雀斑(そばかす)」は、自家受粉によって生じた子孫に高確率で変異体を生じる。その中から、花の観賞性を向上させる変異として園芸用花き共通するもの、つまり、花が、八重化、大輪化、放射相称に近い外観に変化した各種の変異体を得た。また、これらの変異体の原因遺伝子を特定し、変異の分子機構を明らかにした。さらに、これらの変異を交雑によって組合せ、八重、大輪、放射相称性を兼ね備えた花を咲かせる系統を育成した。

研究成果の概要(英文)：The “Flecked” mutant of torenia (*Torenia fournieri* Lind. ex Fourn.) , which has highly mobile transposon Ttf1, generates new mutants in the selfed progeny in high probability. We isolated various mutants including the ones bearing doubled flowers, large flowers and flowers partially with radially-symmetrical appearance; those traits are generally seen in highly-bred floricultural plants. Genes responsible for those mutations were identified and analyzed to elucidate the molecular mechanisms conferring the mutated traits. Those mutations were integrated by cross pollination to obtain the lines bearing doubled and large flowers with radially-symmetrical appearance.

研究分野：花き園芸学

キーワード：変異誘発 トランスポゾン 観賞性 花形 花色

1. 研究開始当初の背景

原種から園芸用花きが育種される過程では、花の形態が大きく変化し、人目を惹く華やかな外観に変化することが多い。このような変化として最も一般的に見られるのは八重化および大輪化であろう。一方、八重の花はほとんどが放射相称花であり、左右相称花は少ない。この原因は、八重の花特有の構造にあるかもしれない。つまり、八重の花では多数の花弁が重なり合っているため、放射相称に整然と配置されることで美しく感じられるのであろう。逆に、左右相称のような複雑な配置パターンでは、やや雑然とした印象になりがちかもしれない。なお、観賞性の観点から花の相称性を考えた場合、放射相称化には、実際に形態学的に放射相称花となる場合（真の放射相称化）と、左右相称花でありながら、花冠の形や着色パターンが放射相称に近い外観になる場合（外観上の放射相称化）の両者が含まれる点に注意する必要がある。

本研究課題で研究材料とするトレニアは、夏季の花壇用、鉢花用花きとして、わが国では明治時代から親しまれている（農業・生物系特定産業技術研究機構、2006）。トレニアは、耐暑性が強く開花期間が長く、また、日向から日陰まで幅広い光条件に適応する優れた栽培特性を持つ（Okazawa and Nishijima, 2017）。それに加えて、近年、花色が多様化した。花形に関しては小輪で一重、左右相称の品種しか存在せず、主要花きの地位を得るには至っていない。しかし、栽培特性が優秀であることを考えれば、花形の改良により主要な花きに成長する可能性は十分であると予想される。

2. 研究の目的

担当者らは、トレニアから、花弁が斑入りになる易変性変異体「雀斑」を得ている（第1図B）。この変異体では、DNA型トランス



A. 正常型 B. 「雀斑」

第1図. トランスポゾン *Tf1* の転移が活性化したトレニア変異体「雀斑」.

ポゾン *Tf1* が、アントシアニンの生合成を制御する転写因子遺伝子 *TfMYB1* へ挿入しており、*Tf1* の *TfMYB1* からの切り出しにより、全色の花弁への復帰突然変異が発生する（Nishijima et al., 2013）。さらに、「雀斑」の自殖後代には、*Tf1* の転移による新たな変異が

高い頻度で発生する。本研究課題では、このような変異のうち、花の観賞性に関するものとして、(1) 八重化、(2) 大輪化、(2) 真の放射相称化、(3) 外観上の放射相称化が生じた変異体を得る。さらに、それらの変異を交雑によって集積することにより、八重性、大輪性、外観上の放射相称性を兼ね備えた系統を育成する。

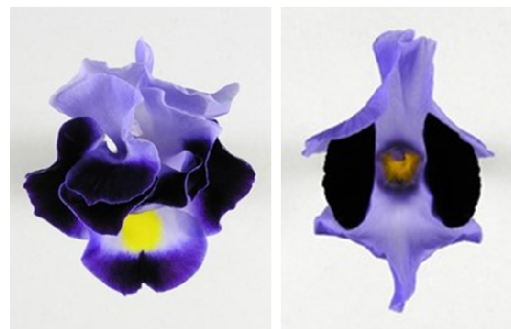
また、これらの変異は、トランスポゾンの挿入によるものであるため、その塩基配列に基づいて原因遺伝子を同定し、ひいては形質発現の分子機構を解明できると期待される。そこで、上記の変異体に関しては、原因遺伝子の同定と形質発現機構の解析を行う。

3. 研究の方法

「雀斑」自殖第1代、あるいは「雀斑」から得られた変異体の自殖第1代を多数栽培し、花の八重性、大輪性、放射相称性の観点から変異体をスクリーニングする。変異体に関しては、その原因遺伝子を同定する。同定は、体細胞復帰変異した花の自殖第1代 (S_1) 分離集団、あるいは他系統と交雑した雑種第2代 (F_2) 分離集団を用い、トランスポゾンディスプレイ法で、表現型と関連して分離する *Tf1* を特定することによって行う（Nishijima et al., 2017）。さらに、変異形質の発現における原因遺伝子の機能を、発現解析等によって明らかにする。さらに、八重変異、大輪変異、放射相称化変異を交雑によって集積することにより、花冠の形態および着色パターンが放射相称に近い外観を持つ八重咲きの大輪系統を育成する。

4. 研究成果

(1) 変異体の獲得 変異体のスクリーニングの結果、花の形質が変化した以下の変異体を得られた。つまり、①八重化変異体として、雄蕊が花弁に変換することにより花弁が4枚増えて八重化した変異体「八重咲」（第2図A）、および、花弁数が増加して八重化するとともに雄蕊数も増加した変異体「八重」。②真の放射相称化および大輪化の変異体として、背軸側（下側）花弁が向軸側（上側）花弁に変換して向背軸（上下）が相称になる



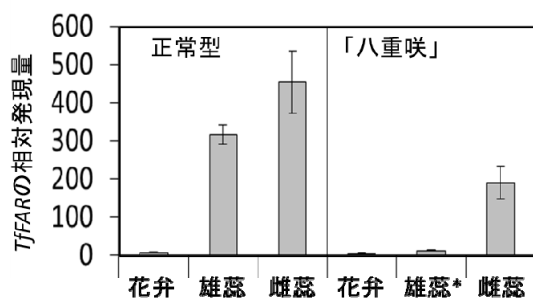
A. 「八重咲」 B. 「ペゴニア」

第2図. 「雀斑」自殖後代に現れた変異体「八重咲」および「ペゴニア」.

と同時に大輪化した変異体「ペゴニア」(第2図B)。この変異体の花は、左右相称であるとともに向背軸相称であり、花冠に対称軸を2本引くことができ、外観上、放射相称にやや近くなる。③外観上の放射相称化変異体として、向軸側花弁が着色する「向軸弁着色」、および、蜜標が消失する「無蜜標」。「ペゴニア」の向背軸側花弁が着色する「着色ペゴニア」。また、全ての花弁が白色となる「純白」。このうち、「向軸弁着色」は、側方および背軸側の花弁に加えて向軸側の花弁も着色することにより、全ての花弁が青紫色になって外観上の放射相称性が高まっていた。また、「無蜜標」では、背軸側花弁に形成される黄色の蜜標が消失することにより、より放射相称に近い外観となっていた。一方、「着色ペゴニア」では、「ペゴニア」においてほとんど着色しない向軸側および背軸側の花弁が着色することで、全ての花弁が青紫色になって放射相称に近い外観となっていた。また、「純白」では、全ての花弁が白色になることによって放射相称に近い外観となっていた。

(2) 変異の原因遺伝子の同定と形質発現機構の解明

「八重咲」変異体については、クラスCホメオティック遺伝子 *TfFAR* の第2イントロンに *TfI* が挿入し、発現を抑制していた(第3図、Nishijima et al., 2016)。そのため、クラス



第3図. 「八重咲」の各花器官におけるクラス

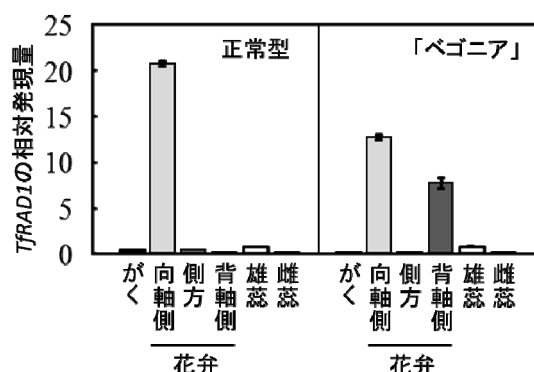
Cホメオティック遺伝子 *TfFAR* の発現.

*「八重咲」の雄蕊は花弁に変換.

C遺伝子の発現と拮抗関係にあるクラスA遺伝子の発現が雄蕊の形成領域にまで広がり、雄蕊が花弁化することが明らかとなった。なお、トレニアのクラスCホメオティック遺伝子は、*TfFAR* および *TfPLE* の2種類からなるが、花弁のアイデンティティの決定には *TfFAR* が主要な役割を果たすことが示唆された。なお、トレニアと同じシソ目に属するキンギョソウでは、花器官のアイデンティティ決定に *PLE* が主要な役割を果たしており (Davies et al., 1999)、これらの遺伝子の機能分担が異なることが示された。

「ペゴニア」の原因遺伝子は同定できなかったが、花の相称性の決定に関わる転写因子遺伝子 *TfCYC1*、*TfCYC2*、*TfCYC3*、*TfRAD1* の発現に、正常型とは異なった特徴が認めら

れた (Niki et al., 2016)。つまり、これらの各遺伝子とも、正常型では向軸側花弁で発現が高く、他の花弁における発現は非常に低いが、



第4図. 「ペゴニア」の各花器官における相称性関連遺伝子の発現 (*TfRAD1* のデータのみ表示).

「ペゴニア」では、向軸側花弁に加えて背軸側花弁でも高い発現が認められ(第4図)、これが、背軸側花弁が向軸側花弁に変換した原因であると示唆された。

「向軸弁着色」では、*TfRAD1* に *TfI* が挿入し、発現がほぼ完全に抑制されていた。正常型では、上記のように、*TfRAD1* は、向軸側花弁に局所的に発現することで向軸側花弁としてのアイデンティティ形成を促進している。その結果、向軸側花弁はほとんど着色しない。しかし、「向軸弁着色」では、発現がほぼ完全に抑制されることで、向軸側花弁としてのアイデンティティが失われ、他の花弁と同様、青紫色に着色したと考えられた(西島ら、2016)。

「無蜜標」では、*TfCYC2* に *TfI* が挿入していた。その結果、正常型ではほぼ向軸側花弁にのみ発現が認められる *TfCYC2* が、背軸側花弁にまで広がって発現していた。背軸側花弁がそのアイデンティティを獲得するには、*TfCYC2* の発現が抑制されることが必要である。しかし、「無蜜標」では、*TfCYC2* が背軸側花弁で発現したため、背軸側花弁としてのアイデンティティが失われ、背軸側花弁に形成される蜜標が消失したと考えられた(西島ら、2015)。なお、*RAD* の発現は *CYC* によって直接促進されることが知られており、「無蜜標」においても、*TfRAD1* の発現が *TfCYC2* 同様に、背軸側花弁にまで広がっていた。

「純白」では、アントシアニン生合成酵素遺伝子の *TfF3H* に *TfI* が挿入していた。その結果、アントシアニンが生合成されなくなり、全ての花弁が白色になっていた(西島ら、2015; 西島、2017)。

以上のように、形質としては着色パターンの変異に見える「向軸弁着色」および「無蜜標」であるが、「純白」以外の変異体の原因遺伝子は、花の相称性に関するものであった。つまり、観賞性の観点から「外観上の放射相

称性」の変異に見えるものが、実際には「真の放射相称性」に関する変異であり、相称性の決定に参与する遺伝子の変異に起因していた。

(3) 放射相称に近い外観を持つ八重大輪系統の育成

上記の各変異を交雑によって集積することにより、八重性、大輪性、放射相称に近い外観を兼ね備えた花を咲かせる系統を育成した。このうち、「放射相称に近い外観」とは、向背軸および左右が相称であるだけで完全な放射相称ではないが、全ての花卉が濃青紫色に着色するとともに、蜜標が消失することにより、外観上放射相称に見えることを指す。この系統の花形は、これまでのトレンニアにはなく、育種が進んだ花きに認められる花形に共通した特徴を持っているため、育種素材として有用であると考えられた。

<引用文献>

- ① 農業・生物系特定産業技術研究機構編著、2006、トレンニア、最新農業技術事典、農文協、pp. 1112.
- ② 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(1): 39-50.
- ③ Okazawa, T. and T. Nishijima. 2017. Effect of low light intensity on longevity of flowering in bedding plants targeted for indoor use. *JARQ.* 51: in press.
- ④ Davies, B., P. Motte, E. Keck, H. Saedler, H. Sommer and Z. Schwarz-Sommer. 1999. PLENA and FARINELLI: redundancy and regulatory interactions between two *Antirrhinum* MADS-box factors controlling flower development. *EMBO J.* 18: 4023-4034.

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計4件)

- ① 西島隆明. 2017. トレンニアに内在する変異原を利用した育種法ならびに形質解析法の開発. *JATAFF* ジャーナル、査読なし、5巻6号：印刷中.
- ② Nishijima, T. and K. Takagi. 2017. A versatile and highly reliable method to identify genes responsible for mutations caused by highly active transposable elements. *JARQ.*、査読有、51: 51-57. DOI:10.6090/jarq.51.51
- ③ 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.*、査読有、85(4): 351-359. <http://doi.org/10.2503/hortj.MI-129>

- ④ Nishijima, T., T. Niki and T. Niki. 2016. A novel "Petaloid" mutant of torenia (*Torenia fournieri* Lind. ex Fourn.) bears double flowers through insertion of the DNA transposon *Tf1* into a C-class floral homeotic gene. *Hort. J.*、査読有、85(3): 272-283. <http://doi.org/10.2503/hortj.MI-108>

[学会発表] (計7件)

- ① 西島隆明、トレンニアの変異体「純白」における *TfF3H* 遺伝子の構造変化、園芸学会、2017年3月20日、日本大学(神奈川県藤沢市).
- ② 西島隆明、仁木智哉、鈴木孝征、東山哲也、鳴海貴子、佐々木克友、四方雅仁、トレンニアの易変性系統「雀斑」の自殖後代に生じた向軸側花卉が着色する変異体、園芸学会、2016年3月26日、東京農業大学(神奈川県厚木市).
- ③ 西島隆明、仁木智哉、鈴木孝征、東山哲也、鳴海貴子、佐々木克友、四方雅仁、トレンニアの易変性系統「雀斑」の自殖後代に生じた蜜標のない変異体、園芸学会、2015年9月27日、徳島大学(徳島県徳島市).
- ④ 仁木智哉、佐々木克友、四方雅仁、鳴海貴子、西島隆明、トレンニアの放射相称花変異体における相称性関連遺伝子の発現、園芸学会、2015年3月28日、千葉大学(千葉県千葉市).
- ⑤ 西島隆明、中山真義、仁木智哉、トレンニアの易変性系統「雀斑」の自殖後代に生じた変異体「純白雀斑」、園芸学会、2015年3月28日、千葉大学(千葉県千葉市).
- ⑥ 西島隆明、仁木智哉、トレンニアの易変性系統「雀斑」における変異の原因遺伝子の同定法、園芸学会、2014年3月30日、筑波大学(茨城県つくば市).
- ⑦ 西島隆明、仁木智哉、トレンニア「雀斑」におけるDNA型トランスポゾン *Tf1* の転移特性と変異誘発様相、園芸学会、2013年9月20日、岩手大学(岩手県盛岡市).

[その他]

- ① 西島隆明、トランスポゾンの転移が活性化したトレンニアとその後代に生じた変異体、植物色素談話会講演、2015年6月20日、国立科学博物館つくば実験植物園.
- ② 西島隆明、トランスポゾンの転移を利用した花きの観賞性向上とその分子機構の解明、つくばテクノロジーショーケース2016、2016年2月4日、つくば国際会議場.

6. 研究組織

(1)研究代表者

西島 隆明 (NISHIJIMA Takaaki)
国立研究開発法人 農業・食品産業技術
総合研究機構・野菜花き研究部門・花き遺
伝育種研究領域・主席研究員
研究者番号：60355708

(2)研究分担者

仁木 智哉 (NIKI Tomoya)
国立研究開発法人 農業・食品産業技術
総合研究機構・本部・経営戦略室・上級研
究員
研究者番号：70355709