

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 5 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25660020

研究課題名(和文) 収穫後の花卉にみられる花の不完全開花現象における体内時計の関与

研究課題名(英文) Postharvest flower shape distortion as affected by circadian clocks in ornamentals

研究代表者

河鱒 実之 (Kawabata, Saneyuki)

東京大学・農学生命科学研究科・教授

研究者番号：10234113

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)：トルコギキョウ、トマトいずれの開花においても、明期開始直後、および暗期開始直後の急速な花の開閉と、概日リズムにより開始時間が決まる開閉とがあることが明らかとなった。明暗期開始直後の急速な反応には、青色光が特に重要であると考えられ、また、概日時計の同調には、赤色光と青色光の両方が重要な役割を果たすと考えられた。トマトを用いた実験から、PHYAとCRY1は明期開始直後の急速な開花に、PHYBは開閉運動リズムの同調に関与していると考えられた。

研究成果の概要(英文)：Flowers of *E. grandiflorum* and tomato exhibited rapid flower opening/closure immediately after the onset of light /dark period, as well as circadian clock regulated diurnal flower opening and closure. The immediate flower opening after the onset of light period appeared to be regulated mainly by blue light, while the synchronization of circadian clock to the light rhythms appeared to be achieved by either blue or red signals. The experiment using photoreceptor mutants in tomato suggested the involvement of phytochrome A and cryptochrome 1 in the immediate response after the onset of light period, and phytochrome B in the synchronization of flower opening and closure to the light cycles.

研究分野：園芸学

キーワード：概日リズム 開花 ポストハーベスト 開閉運動 クリプトクロム フィトクロム トルコギキョウ
トマト

1. 研究開始当初の背景

花のかたちは、日持ち性、色、新鮮さなどとともに消費者が花卉を購入する際、最も重要視する要素である。各品種がもつ固有の特性としての花のかたちの評価は、通常栽培温室内で行われ、それに基づいて選抜育種が行われ、また品評会が行われる。しかし、温室内で日中に花が示す形態は、小売店など流通段階や、販売後の利用段階での形態と一致するとは限らない。例えば、生花店でみられるトルコギキョウの花は、温室内での花と比べ、張りが少なく若干閉じていて、鮮度が劣っているようにみえることがしばしばある。その原因として、顕花植物が示す花の開閉運動による影響が考えられる。

顕花植物において、受粉の成否は、花がいつ開きいつ閉じるかに大きく依存する。野生種の多くでは、日中活動が活発になる昆虫や鳥類が受粉を媒介するため、日中に開花し、受粉がほとんど期待できない夜間には花が閉じる。このような開閉運動は、植物により、昼夜間の温度差、あるいは明暗リズムによりコントロールされていると考えられている。このような開花スケジュールは、栽培種の花弁でも同様にみられるはずである。夜間に完全に閉じる花もあれば、トルコギキョウの園芸品種のように完全には閉じない種類もある。

このような開閉リズムは、花の受粉のためには必要ではあるが、観賞用である園芸植物としては必要な形質とはいえない。むしろ、園芸花卉が、人が利用するために生産されるものであるにも関わらず、開花する時間帯が人の生活リズムではなく、昆虫の活動リズムの制約を受けてしまっているといえる。

2. 研究の目的

花が夜間を含む一日の任意の時間に開花できるような性質は、花卉の品質として重要である。この研究は、開花時間を延長するための生理学的な基礎を得ることを目的とし、花の開閉リズムを制御する環境要因および生理的要因を明らかにしようとした。

3. 研究の方法

(1) トルコギキョウにおける花の開閉運動

トルコギキョウ‘あずまの紫’を、20で2ヶ月間育苗したのち、ポットに定植した。定植後は温室で栽培し、開花数日前より昼温/夜温 25/20 の人工気象室へ移した。開花第1日目までこの環境で栽培したのち、開花第1日目に続く暗期の開始8時間後から、様々な光条件の処理を行った。明期/暗期温度は25/20とした。実験1では、24時間周期とし、明期/暗期長を24/0hr, 20/4hr, 16/8hr, 12/12hr, 8/16hr, 4/20hr, 0/24hrとした。実験2では、暗期長を固定して明期長を変えた、12/8hr, 8/8hr, 4/8hrの処理を行った。花の側面からデジタルカメラのインターバル撮影機能を使用して、3日間以上連続して

撮影した。花弁の先端の位置の相対的位置を計算し、その位置の上下変動により開閉運動をグラフ化した。

(2) トマトの光受容体突然変異体における花の開閉リズム

トマトは、モデル植物として多くの研究があり光受容体を含む多数の突然変異体がある。また、トマトの花もトルコギキョウと同様に午前中に開花し午後に関閉する周期運動をすることが知られている。そこで、トマトの光受容体突然変異体における開閉リズムを調べ、花の開閉リズムにおける光受容体の関与を明らかにしようとした。トマト‘Money Maker’および、そのフィトクロムA欠損突然変異体、フィトクロムB-1欠損突然変異体、フィトクロムB-2欠損突然変異体、クリプトクロム1欠損突然変異体、およびそれらの多重突然変異を用い、トルコギキョウと同様の実験を行った。

4. 研究成果

(1) トルコギキョウにおける花の開閉運動

トルコギキョウの花の開閉運動を経時的に記録するため、デジタルカメラのインターバル撮影により、一定時間間隔で、開花開始後の前日より数日間にわたり、花を側方から撮影した。撮影した画像は、コンピュータスクリーン上に表示し、ある計測時における花弁先端の花基部からの高さ(H_t)をピクセル数とし計測した。計測期間中における H_t の最大値 H_{max} を求め、花弁先端の相対的位置:

$$Y_t = H_t / H_{max}$$

として計算した(図1)。花の開閉運動はこの Y_t の日変動により定量評価した。少なくとも3花以上の開閉運動を計測し、それぞれの Y_t の平均を計算しグラフ化した。

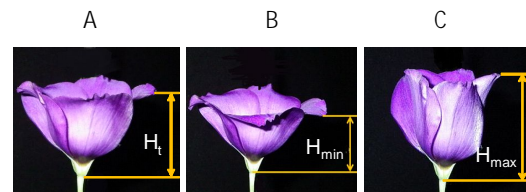


図1 トルコギキョウの花の開閉運動を花弁先端の相対的位置の変化として記録した。

はじめに、16時間明期8時間暗期のサイクル(16L8D)においたところ、明期に開き暗期に閉じる日周期の開閉運動を示した。開閉過程を詳細に見るため、1分間隔で計測したところ、開花第1日目は明期開始後ゆっくりと花弁が開き1時間半後に急速に開くが、2日目以降は、明期はじめから15分以内に急速に開花を始めることが明らかとなった(図2)。開花初日におけるゆっくりとした開花は、強く閉じた蕾が緩んで花が開くことによるもので、2日目以降に急速な開花が起こるのはすでに花弁が緩んでいるために明期開始直後に開花が始まるものと考えられた。そこで、以降の実験においては、開花第1日目のデー

夕は用いず、第2日以降の開閉運動を調査した。

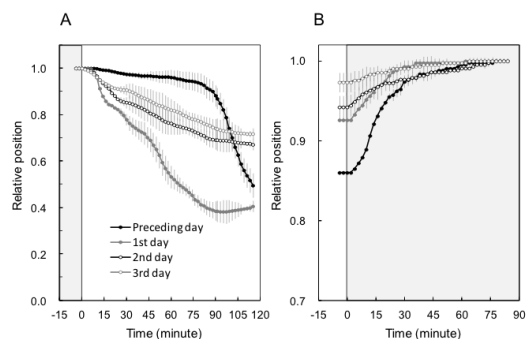


図2 明期開始直後(A)および暗期開始直後(B)におけるトルコギキョウの花の開閉運動

24時間周期で暗期の長さを4時間から20時間までの様々な長さとして開閉リズムを観察したところ、いずれの明暗リズムでも、花の開閉は明暗リズムと同調し、暗期が長いときには開閉運動は2段階からなった。第一段階は明期および暗期の開始とともに始まる花の開閉で、第二段階は明期の終わりから12時間後および明期の開始から2-3時間後に始まるゆっくりとした開閉である。第一段階は光による直接的な効果と考えられ、第二段階は概日時計による制御と考えられた。

連続暗期条件(図3A)、連続青色光条件、および連続赤色光条件ではそれぞれ 25.5 ± 0.6 , 25.6 ± 0.6 , および 24.3 ± 0.4 時間周期の概日開閉リズムを続けた。一方、連続白色光条件(図3B)および青色光と赤色光の連続共照射条件では、1回だけ開閉を示し、その後は開閉リズムを示さなかった(図4)。連続明期での概日リズムの消失は、概日時計の光による同調によると考えられ、赤色光、青色光いずれも同調に参与することを示した。

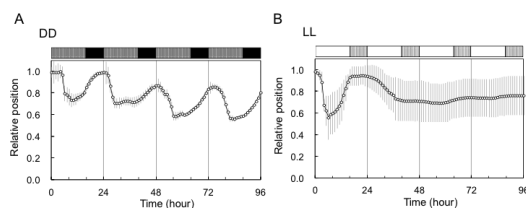


図3 連続暗期(A)および連続明期(B)におけるトルコギキョウの花の開閉運動

花の開閉リズムの光周期への同調は、24時間および20時間周期の青色光および赤色光の明暗周期においても認められた。しかし、この同調は16時間周期でははっきりとしなくなり、12時間周期では24時間周期の開閉運動を示した。光による直接的な開花効果は、光強度に依存した。青色光の光強度を25, 40, $100 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2}$ として比較したところ、最も強い光強度において明期開始後急速に開花した。しかし、光強度による効果は赤色光には認めら

れなかった。

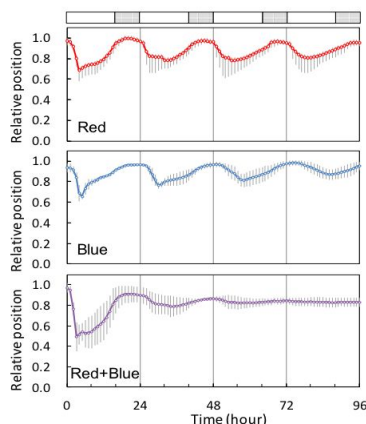


図4 連続赤色光、連続青色光、および連続赤色光+青色光におけるトルコギキョウの花の開閉運動

以上のように、トルコギキョウの花は明暗リズムと同調する開閉運動を示し、この開閉運動が光照射直後に反応する光による直接的な効果と考えられる反応と、体内時計により制御されている反応との組み合わせであると考えられた。

(2) トマトの光受容体突然変異体における花の開閉リズム

トルコギキョウの花における開閉リズムが赤色光と青色光によって同調されていることから、その制御には、赤および青を感じる光受容体が関与していると予想される。しかし、トルコギキョウにはそのような光受容体突然変異体は得られておらず、光受容体の関与について調べることは難しい。一方、トマトでは様々な光受容体突然変異体を得られており、トマトの花も日周期の開閉運動をすることが知られている。そこで、次の実験では、トマトの光受容体突然変異体を用い、様々な光周期に対する応答を調べることで、開閉運動の制御における光受容体の役割を明らかにしようとした。

トマトの花の開閉運動を、トルコギキョウと同様の方法で定量的に記録した。トマトを明期16時間暗期8時間におくと、明期開始後花は急速に開き、2-3時間後に満開となった。さらに、明期開始9-10時間後に閉じ始め、2,3時間で完全に閉じた。したがって、トマトの花も、トルコギキョウと同様に光周期に同調する開閉リズムを持ち、その運動が明期開始直後の反応と体内時計によると思われる反応とからなることが明らかとなった。

明期16時間暗期8時間とした場合には、*phyA* 突然変異体と *cry1* 突然変異体においては、明期開始直後の急速な開花はみられず、明期開始後しばらくしてからゆるやかに開花した。*phyAcr1*, *phyAphyB1-1*, *phyAphyB1-1 phyB2-1*, および

phyAphyB1-1cry1 突然変異体も同様に明期開始後ゆるやかに開花した。これらは全て PHYA あるいは CRY1 を欠損した変異体であり、PHYA-CRY1 シグナル伝達系が、明期開始直後の急速な花の開花を制御していると考えられた。さらに、連続明期においては、野生型と *phyA*, *cry1*, *phyAcry1* 変異体では、明期開始後 1 周期のみ開閉したのち開閉リズムは消失した。一方、*phyB1-1*, *phyB2-1* 変異を含む突然変異体では約 24 時間の開閉運動を繰り返した。したがって、PHYB は、光による概日リズムの同調を調節することが推測された。連続暗期では、*phyA*, *cry1*, *phyB1-1*, *phyB2-1* いずれの変異でも概日開閉リズムが見られた。

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 1 件)

Bai J, Kawabata S. 2015. Regulation of diurnal rhythms of flower opening and closure by light cycles, wavelength, and intensity in *Eustoma grandiflorum*. *The Horticulture Journal* 84: 148-155.

[学会発表](計 2 件)

白 建芳・河鱸実之. 2013. 概日リズムおよび直接的な光刺激により制御されるトルコギキョウの花の開閉運動. 園芸学会平成 25 年度秋季大会, 岩手大学, 平成 25 年 9 月 21-22 日.

Bai J, Kawabata S. 2015. Control of the diurnal oscillation of flower opening and closure by phytochromes and cryptochromes in *Solanum lycopersicum*. 園芸学会平成 27 年度春季大会, 千葉大学, 平成 27 年 3 月 28-29 日.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

河鱸 実之 (KAWABATA, Saneyuki)
東京大学・農学生命科学研究科・教授
研究者番号: 1 0 2 3 4 1 1 3

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし