

令和元年6月6日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2014～2018

課題番号：26304021

研究課題名(和文) 赤道恒温性気候帯において温帯性木本植物が四季咲き化する環境因子の同定

研究課題名(英文) Identification of the environmental factors that induce perpetual flowering on temperate-zone woody plant at constant climate zone near the equator

研究代表者

細川 宗孝 (HOSOKAWA, Munetaka)

近畿大学・農学部・教授

研究者番号：40301246

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,100,000円

研究成果の概要(和文)：ベーサルシュートの開花率が最も高かった‘ロゼア’と、同調査でベーサルシュートが開花しなかった‘舞姫’について、ベーサルシュートの葉におけるHmFT、HmTFL1-1およびHmTFL1-2の発現を解析した。その結果、‘ロゼア’と‘舞姫’のベーサルシュートの葉で認められたHmFTとHmTFL1-2の発現様相の違いは、‘ロゼア’と‘舞姫’のベーサルシュートの開花性の違いに関係している可能性が高い。インドネシアでのアジサイの四季咲き性において指標にできる遺伝子を今回見つけることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アジサイのベーサルシュートの開花性から2つの開花に関わる遺伝子を特定することができた。これらの遺伝子発現を指標にすることで、四季咲き性のアジサイあるいは幼若性が短いアジサイをスクリーニングすることが可能となると考える。また、インドネシアなどの熱帯地域において花木類が休眠せずに四季咲き化するメカニズムについて理解が深まるものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：The expression of HmFT, HmTFL1-1 and HmTFL1-2 in the leaves of the basal shoots was analyzed for 'Rosea', which had the highest flowering ability (percentage) of the basal shoots, and 'Maihime', the basal shoots of which did not flower in the same investigation. As a result, the expression level of HmFT was higher in April, July, and August in 'Rosea' compared to 'Maihime'. In addition, significantly higher expression levels were observed in 'Rosea' from July to June, compared with April to June. On the other hand, the expression level of HmTFL1-2 was higher in June, July, and August in 'Maihime' compared to 'Rosea'. The difference between the expression patterns of HmFT and HmTFL1-2 observed in the leaves of 'Rosea' and 'Maihime' basal shoots is related to the difference in flowering abilities of 'Rosea' and 'Maihime' basal shoots. We have now found a gene that can be used as an indicator in the environmental factor for hydrangea perpetual flowering in Indonesia.

研究分野：蔬菜花卉園芸学

キーワード：アジサイ 四季咲き ベーサルシュート HmFT HmTFL1

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

明確な季節を持つ温帯地域が原産の植物は日長や温度の季節変化に応じて花成反応を起こす。例えば、アジサイのように春季から初夏に開花したのち、栄養成長に戻り、秋季から冬季における休眠と低温による休眠打破によって再び開花に至る、といった周年サイクルを持つ。申請者は日本ではこのようなサイクルの一季咲きであるアジサイがインドネシアスマトラ島アチェ州では四季咲き性となることを認めた。同地域においては、ほとんどの場所でアジサイなどの温帯性花木が開花しており、開花後に伸長した側枝も次々に開花していた。同地域で四季咲き性となっているアジサイを他の地域に移植して栽培したところ、花成反応が停止し栄養成長に戻り一季咲きとなった。これまでに考えられていた温帯性植物の花成の年周リズムはあくまでも温帯地域での栽培の結果として獲得した一時的なリズムにすぎないことを痛感した。アチェ州でアジサイの四季咲き化を促す環境は何であろうか？

アチェ州は赤道上に位置する熱帯地域であるが、四方を海で囲まれていることから一年を通じて12時間日長、日平均気温はほぼ25℃一定の恒温となる極めて特殊な地域である。同様の環境を持つ地域は、赤道付近のカリブ海諸国やインド洋上のセーシェル諸島などに点在し、申請者はこれらの地域の特徴についてすでに報告した(Koeda, Hosokawaら, 2012など)。アチェ州でアジサイの四季咲き性を誘導しているのは赤道恒温性気候の持つ何らかの環境因子であろう。

2. 研究の目的

もし、温帯性木本植物の四季咲き化を促す環境因子を同定することができれば、四季咲き化のみならず幼若期間の短縮など園芸生産に大きく貢献することができる。現在、モデル植物をはじめとした多くの植物で花成関連遺伝子が同定されている。これらの遺伝子の発現を定量的に評価することで、環境因子に反応し応答を把握することができる。本申請課題ではアジサイを温帯性木本植物のモデルとして用い、アチェ州で温帯性木本植物が四季咲き性となる環境因子を花成関連遺伝子の発現変動を指標にして同定することを目的とし、まずは四季咲き性とはどのような形質であるのかについて調査することとした。

実験1 アジサイ (*Hydrangea* spp.) のベーサルシュートは当年の春に伸長し始め、一部のシュートはその後頂芽に花芽を分化し、初夏から秋口にかけて開花に至る。前年に分化した花芽だけではなくベーサルシュートに分化する花芽を利用することで、開花期間の延長が可能となると思われる。しかし、夏の高温によってベーサルシュートの成長は一時的に緩慢となり、一部の品種ではロゼット化して成長を停止することがある。その後、ほとんどのベーサルシュートは成長を再開し、晩秋には落葉し成長は停止する。ベーサルシュートに着生する花序を安定的に利用するためには、夏季におけるベーサルシュートの成長量の一時的な低下やロゼット化の要因を解明する必要がある。そこで、ベーサルシュートの成長パターンと環境条件との関係を明らかにすることを目的に実験を行った。

実験2 本調査では、熱帯恒温地域で見られるアジサイの四季咲き性の類似現象として、日本で起こるアジサイの四季咲き化を解析することを目的とした。具体的には、アジサイの四季咲き化に関わるベーサルシュートの開花様相を明らかにし、花成関連遺伝子の発現との関係を明らかにしようとした。調査内容は以下の通りである。

- (1) ベーサルシュートの開花性の品種間比較およびベーサルシュートの開花性が高い品種とベーサルシュートが開花しない品種の選抜
- (2) アジサイの花成関連遺伝子のホモログの mRNA 全長配列の決定
- (3) ベーサルシュートの開花性が高い品種とベーサルシュートの開花性がない品種の間での花成関連遺伝子の発現比較

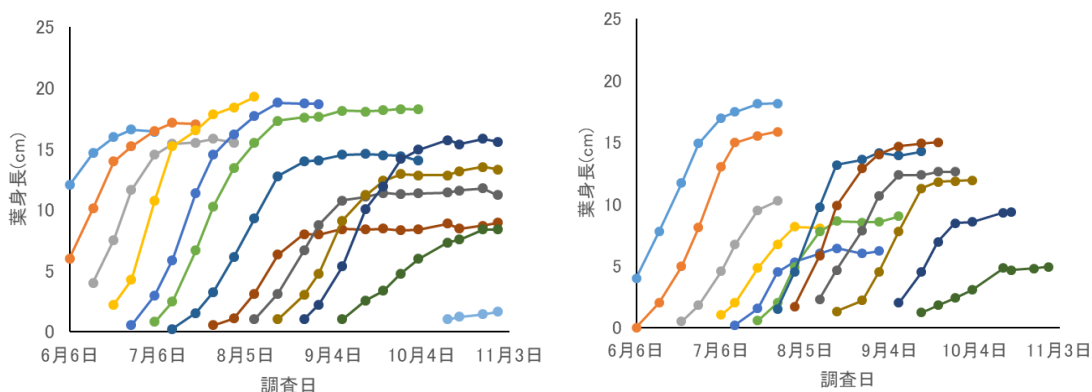
3. 研究の方法

実験1 ベーサルシュートの長期間の成長データを得るために、ベーサルシュートにおける花芽形成率が低く、ロゼット化率が低い品種‘マスジャ’を実験に供試した。10号プラスチックポットに定植し、ガラス室内およびミニ温室で管理した。ミニ温室はスポットクーラーを用いて冷房処理を行った。冷房処理期間は、2017年は7月1日から9月30日、2018年は6月1日から9月30日とした。ベーサルシュートの成長量の指標として各個葉の葉身長をおよそ一週間毎に測定した。

実験2 主な植物の管理および調査手法は以下の通りである。植物体は、大塚1号および2号をそれぞれ100Lあたり1.5kgおよび1.0kg溶解した養液原液を水道水に体積比で2%混合した養液を適宜給液する養液栽培で維持した。また、6月から8月にかけて60%遮光条件としたほか、冬季は0℃以上で管理することで植物体を保護した。花成関連遺伝子ホモログはRACE法によって単離した。また、花成関連遺伝子の発現はリアルタイム RT-PCR法によって解析した。

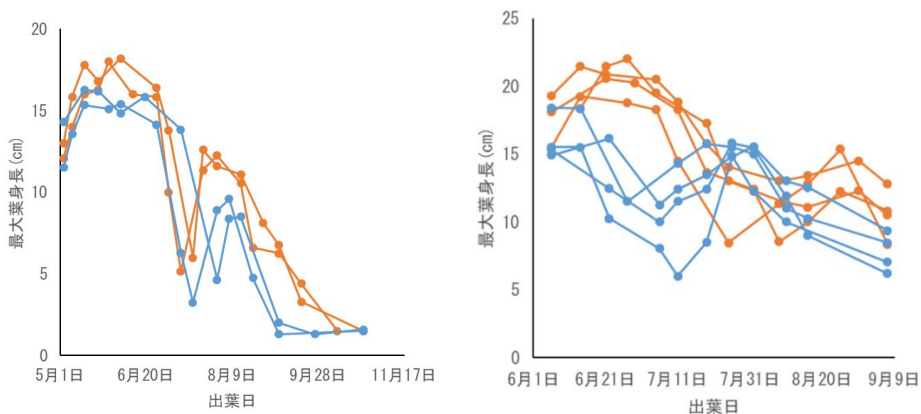
4. 研究成果

実験1 栽培年次および冷房処理の有無にかかわらずベーサルシュートに着く個葉の葉身長は着生節位や成長する季節によって変動した(第1図). 2018年の非冷房株を例にすると, 6月に着生した個葉の最大葉身長が最も大きく, 7月になると徐々に小さくなった. 8月になると成長を再開して大きくなり, 9月になると再び徐々に小さくなり始め, 10月以降はほぼ成長が停止した. このベーサルシュートの成長量の変動パターンは, 栽培年次および冷房処理の有無にかかわらず共通していたが, 成長量が低下する時期や成長量が再び増加する時期は栽培年次および冷房処理の有無によって差異があった.



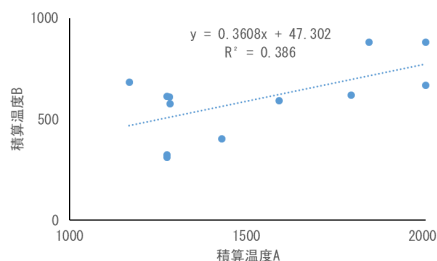
第1図 非冷房株(左)および冷房株(右)のベーサルシュートにおける各葉の葉身長の経時変化.

2017年の調査では, 冷房処理を開始した7月1日には既に非冷房株, 冷房株ともに成長量が低下し始めていたので, 成長量が低下し始める時期において非冷房株と冷房株の間に大きな差異はなかった(第2図). 成長量が回復する時期は冷房株で1~2週間遅れる傾向があった. 4月1日からベーサルシュートが成長し始めると仮定した場合, 冷房処理の有無に関係なく, 積算温度が1300~1600を超えると, 成長量が低下し始めると推察された. 一方, 2018年の調査では, 冷房株のベーサルシュートの成長量の変動パターンは非冷房株よりもおよそ4週間早まった. 冷房株では冷房処理開始月の6月に成長量が低下し始めた. 2018年5月および6月におけるミニ温室内の日平均照度はガラス温室内のおよそ88%であり, この照度の低下が成長量低下の引き金になったと推察された.



第2図 2017年(左)および2018年(右)における非冷房株(オレンジ色)と冷房株(水色)のベーサルシュートにおける各葉の最大葉身長の变化

4月1日から最大葉身長がピークを迎えるまでの積算温度と最大葉身長が減少し始め最も小さくなるまでの積算温度との関係を散布図にプロットしたところ, これらの間に正の相関関係があることを見いだした($p < 0.05$)(第3図). このことから, 萌芽後成長量が低下し始めるまでの積算温度が高いベーサルシュートほど, 成長を再開するためには高い積算温度が必要である可能性が示された.

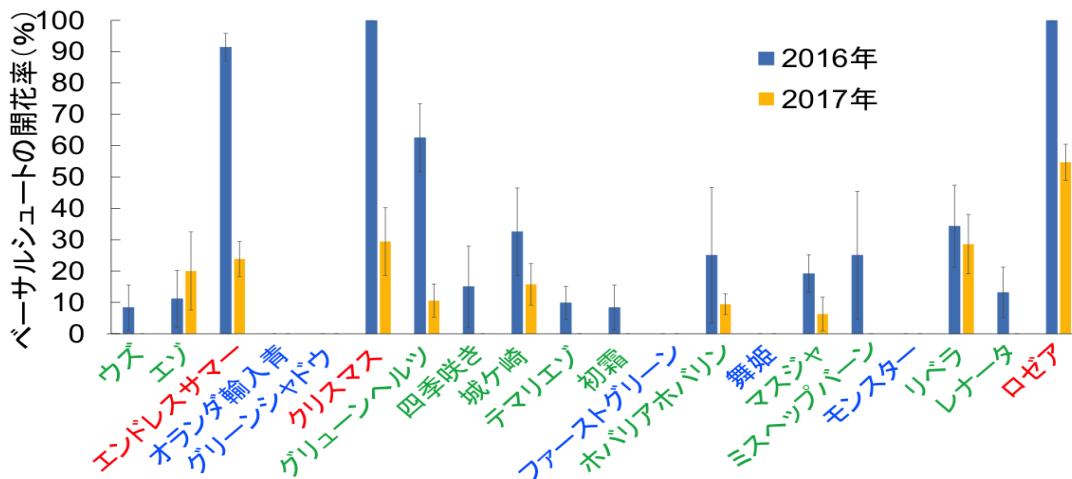


第3図 積算温度A: 4月1日から最大葉身長がピークを迎えるまでの積算温度; 積算温度B: 最大葉身長が減少し始め最低値になるまでの積算温度

以上の結果から、ベーサルシュートの高温感受性は照度の強弱の影響を受け、照度が低い条件では高温感受性が高くなり、成長量が低下しやすくなると考えられた。また、成長量が低下するまでの積算温度が高いベーサルシュートほど、成長を再開するためには高い積算温度が必要である可能性が示された。今後、この成長解析の結果に関連している遺伝子を探索する予定である。

実験 2-1 ベーサルシュートの開花性の品種間比較およびベーサルシュートの開花性が高い品種とベーサルシュートが開花しない品種の選抜

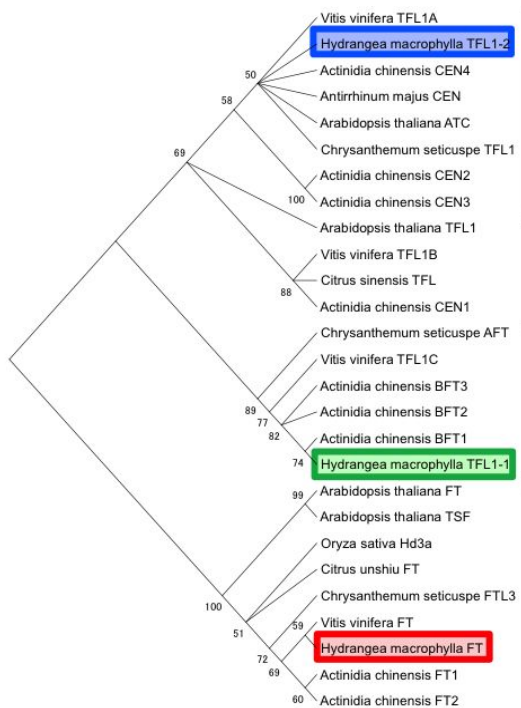
平成 28、29 年度に、20 品種のアジサイについてベーサルシュートの開花性を調査した。‘エゾ’を除いて、平成 29 年度では 28 年度と比較してベーサルシュートの開花率が低下したものの、平成 28 年度に開花率が高かった‘エンドレスサマー’、‘クリスマス’および‘ロゼア’は 29 年度にも他の品種と比較して高い開花率を示した(第 4 図)。また、‘オランダ輸入青’、‘グリーンシャドウ’、‘ファーストグリーン’、‘舞姫’および‘モンスター’では両年ともベーサルシュートの開花は認められず、これらの品種はベーサルシュートが開花しないと考えられた。



第 4 図 平成 28 (2016 年) および 29 年度 (2017 年) のアジサイ 20 品種におけるベーサルシュートの開花率。

赤文字は両年度とも他の品種と比較して高い開花率を示した品種、緑文字は両年度とも一部のベーサルシュートで開花を認めた品種、青文字はベーサルシュートの開花を認めなかった品種を示す。

実験 2-2 アジサイの花成関連遺伝子のホモログの mRNA 全長配列の決定



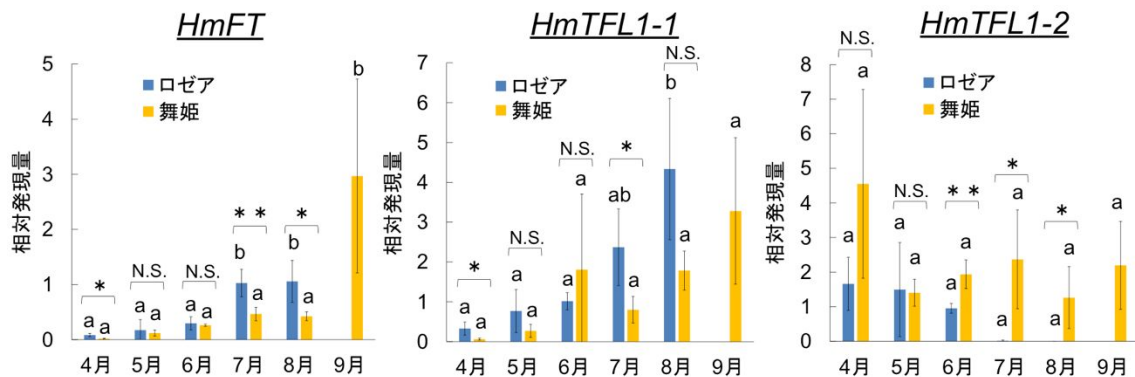
RACE 法により花成促進遺伝子である FT および花成抑制遺伝子 TFL1 のアジサイホモログの mRNA 全長配列を決定した。FT については 1 クローンを、TFL1 については 2 クローンを単離し、それぞれ HmFT、HmTFL1-1 および HmTFL1-2 と名付けた。HmFT から推定されたアミノ酸配列は FT クレード、HmTFL1-1 から推定されたアミノ酸配列は BFT クレード、HmTFL1-2 から推定されたアミノ酸配列は CEN クレードに属していたことから、HmFT が花成促進因子、HmTFL1-2 が花成抑制因子として働き、HmTFL1-1 は花成に関与しない可能性があると考えられた(第 5 図)。

第 5 図 FT および TFL1 のアジサイホモログの mRNA 全長配列から推定されたアミノ酸配列と他の植物種で報告されている各遺伝子の翻訳産物のアミノ酸配列との関係。

青枠：HmTFL1-2、緑枠：HmTFL1-1、赤枠：HmFT。

実験 2-3 ベーサルシュートの開花性が高い品種とベーサルシュートの開花性がない品種の間での花成関連遺伝子の発現比較

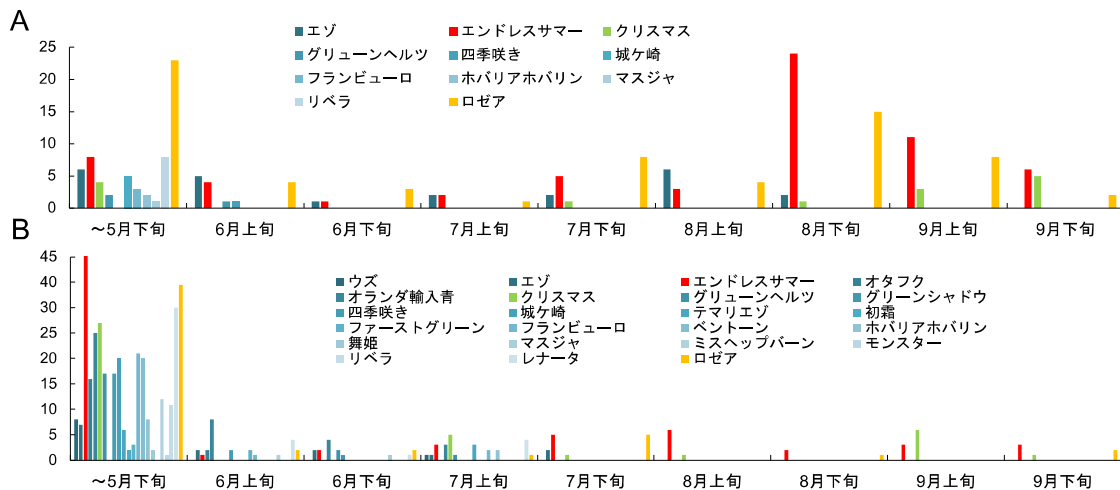
平成 28 および 29 年度の調査でベーサルシュートの開花率が最も高かった‘ロゼア’と、同調査でベーサルシュートが開花しなかった‘舞姫’について、ベーサルシュートの葉における HmFT, HmTFL1-1 および HmTFL1-2 の発現を解析した。その結果、HmFT の発現量は 4 月、7 月、8 月に‘ロゼア’で‘舞姫’と比較して高かった。また、‘ロゼア’では 7、8 月について、4 から 6 月と比較して有意に高い発現量が認められた。一方で、HmTFL1-2 の発現量は 6 月、7 月、8 月に‘舞姫’で‘ロゼア’と比較して高かった(第 6 図)。以上のような、‘ロゼア’と‘舞姫’のベーサルシュートの葉で認められた HmFT と HmTFL1-2 の発現様相の違いは、‘ロゼア’と‘舞姫’のベーサルシュートの開花性の違いに関係している可能性が高い。すなわち、‘ロゼア’では 7、8 月に HmFT の発現量が増大し、HmTFL1-2 の発現量が低く推移することで、ベーサルシュートで花成が誘導される。一方‘舞姫’では、7、8 月に HmFT の発現量が低く推移し、HmTFL1-2 の発現量が高く推移することで、ベーサルシュートで花成が抑制されている可能性がある。HmTFL1-1 の発現様相については、‘ロゼア’と‘舞姫’のベーサルシュートの開花性の違いへの関与を示唆する傾向は認められなかった。3. の調査では、ベーサルシュートの開花性が高い‘ロゼア’とベーサルシュートが開花しない‘舞姫’との間で、花成関連遺伝子群の発現にある程度の傾向は認められた。一方で、サンプル間のデータの誤差が大きく、有意差を認めるには至らないサンプルセットが多く存在した。ここまで報告した調査を行う過程で、ベーサルシュートには花芽分化時期が大きく異なるものが混在する可能性をみだした。混在している花芽分化時期が異なるシュート間では花成関連遺伝子の発現程度が異なり、遺伝子発現解析データの誤差の増大を招いている可能性が高い。そこで、四季咲き性に関わるベーサルシュートを厳密に特定することを目的として、さらにデータを蓄積した。



第 6 図 ‘ロゼア’と‘舞姫’のベーサルシュートの葉における HmFT, HmTFL1-1 および HmTFL1-2 の発現解析。

実験 2-4 ベーサルシュートの出蕾時期の違いと花芽分化時期との関係の推定

2017 年および 2018 年にベーサルシュートの頂芽での出蕾時期を調査した。2017 年にはベーサルシュートの開花性がそれぞれ異なる 11 品種を、2018 年には同じく 23 品種を供試した。その結果、1. の調査でベーサルシュートの開花性が高いと判断された‘エンドレスサマー’、‘ク



第 7 図 ベーサルシュートの頂芽での出蕾時期 A: 2017 年, B: 2018 年.

クリスマス'および'ロゼア'では9月下旬まで出蕾が継続した。その他の多くの品種では6月から7月までに蕾が終了した(第7図)。8月から9月にかけて出蕾した花芽は概ね6月以降に分化していると考えられる。一方で、7月までに蕾が出た花芽は出蕾前年の秋から冬に分化している可能性が高い。

四季咲きではなく、季咲開花する花芽は出蕾前年の秋から冬に分化する。7月までに蕾が出たベールシュートはこれら季咲開花する花芽と同じ時期に分化していると考えられ、四季咲き性の強さを反映した花芽分化ではないと考えられる。以上から、四季咲き性の強さを判定する基準としては、'エンドレスサマー'、'クリスマス'および'ロゼア'のように、8月以降の出蕾が安定して起こることが重要であると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計1件)

Selection of *Hydrangea* (*Hydrangea* spp.) Cultivars with High Potential for Unseasonable Flower Bud Production in Japan

The Horticulture Journal, 査読有, 87:doi: 10.2503/hortj.OKD-152 2018

Yoshikuni Kitamura, Tetsuya Hattori, Kaori Mogami, Takashi Fudano, Mariko Uehara

〔学会発表〕(計3件)

1. 札埜高志・上野真生・楊燕秋・北村嘉邦・細川宗孝. 2019. アジサイのベールシュートの成長に影響を及ぼす環境要因. 園芸学研究. 18(別冊1):430.
2. 川西陽子・札埜高志・細川宗孝・北村嘉邦. 2018. 当年開花性が異なるアジサイの品種間での花成関連遺伝子の経時的発現量の違い. 園芸学研究. 18(別冊1):440.
3. 札埜高志・北村嘉邦・片山千絵・細川宗孝. 2018. アジサイにおける葉のサイズおよびその成長速度にみられる季節変化. 園芸学研究. 17(別冊1):431.

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

<https://kindai-floriculture.jimdofree.com>

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名: 北村 嘉邦

ローマ字氏名: (KITAMURA, Yoshikuni)

所属研究機関名: 信州大学

部局名: 農学部

職名: 助教

研究者番号(8桁): 90578139

研究分担者氏名: 札埜 高志

ローマ字氏名: (FUDANO, Takashi)

所属研究機関名: 兵庫県立大学

部局名: 緑環境景観マネジメント研究科

職名: 講師

研究者番号(8桁): 40314249

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。