

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 20 日現在

機関番号：82111

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2016

課題番号：24780037

研究課題名(和文)トルコギキョウ温度環境応答解析に基づいた花弁形成機構の解明

研究課題名(英文)Elucidation of mechanisms underlying the effects of temperature condition on petal morphology in Eustoma.

研究代表者

川勝 恭子 (Kawakatsu, Kyoko)

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・主任研究員

研究者番号：60581733

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：トルコギキョウ一花あたりの花弁数および花弁サイズに影響をあたえる栽培環境について調査し、その制御機構を明らかにすることを目的とした。生殖成長期初期において花弁形成直前の地上部気温が花弁数を決定すること、この現象がトルコギキョウ全般に共通であることを確認した。また温度に加えベンジルアデニン(BA)も花弁数を増加させ、その効果は温度と相乗的だった。花弁サイズの制御については、生殖成長期の全体を通じた温度が影響すること、サイズの品種間差に關与する遺伝因子は気温による花弁サイズ変動に寄与していることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：We investigated the cultivating conditions that affect the number of petals in double flowers and the petal size in Eustoma. High temperature just prior to the petal initiation stage in the reproductive phase reduces the number of petals. This phenomenon applies to large varieties in Eustoma grandiflorum. Benzyladenine application as well as low temperature condition resulted in the increased number of petals. These effects were synergistic. The petal size was influenced by the temperature condition during the reproductive phase. The analysis suggested that the genetic factor causing varietal differences of petal size contributes to the change of petal size due to temperature change.

研究分野：園芸学

キーワード：花弁

1. 研究開始当初の背景

八重化現象はバラをはじめ様々な花き品種目で起こり育種選抜されてきた。トルコギキョウにおいては、雄蕊が花弁化する八重化とは異なり花器官のうち花弁のみが増加する様式であった。すなわち ABC モデルで説明されるものとは異なる遺伝的制御機構が存在することが示唆された。

トルコギキョウの八重品種の流通量は年々増加する一方で、環境条件によっては八重の重ねが少なく不安定要素が高い形質として知られていた。一方でこのことは人為的制御が可能であることも示唆しており、花弁の多い高品質なトルコギキョウを生産するための知見が求められていた。

研究代表者の所属する研究室では、生殖成長期が高温期となる作型の温室栽培においてトルコギキョウの花弁層数が低温期の作型のそれと比べて減少する現象を見いだしていた。

2. 研究の目的

本研究では、トルコギキョウ花弁数を人為的に制御する手法の開発にむけて、花弁の重ねを制御する遺伝的制御機構の解明を目的とした。花弁数制御に加えて花弁サイズもまた花型に影響する重要形質であるため、トルコギキョウの花弁の大きさを制御する機構の解明に向けて解析を行うこととした。更に植物成長調節剤の関与についても検証し、栽培環境と遺伝的制御の関係性の解明を試みた。本研究で得られる知見は、より豪華なトルコギキョウを効率的に生産するための手法開発に繋がる可能性がある。

3. 研究の方法

(1) トルコギキョウの花弁の重ねを制御する機構の解明

花弁の層数が決定される花蕾ステージの同定

栄養成長期は自然光型ハウスで育てたのちに、 $200 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ PPFD、12 時間日長の人工気象室に搬入し、高温区: $37^\circ\text{C} / 27^\circ\text{C}$ 、低温区: $28^\circ\text{C} / 18^\circ\text{C}$ の 2 室を使用した。1 週間ごとに温度を変更し、計 12 の試験区を設けた。

詳細な時期決定にむけては、品種 KO を常法により育苗し、栄養成長期は一様に栽培後、生殖成長転換期に昼温 / 夜温が $37 / 27^\circ\text{C}$ の高温区と $20^\circ\text{C} / 20^\circ\text{C}$ の低温区の人工気象室 2 室で栽培した。誘導後 5 日目に一部の植物について頂端部を切除し、エタノール固

定後パラフィン切片を作成した。

花弁の層数に影響する部位の同定

栄養成長期は自然光型ハウスで一様に育てたのちに、 $200 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ PPFD、12 時間日長の人工気象室に搬入し、水耕栽培を行った。区 1 (明期 33 暗期 25 室温設定)、区 2 (明期 33 暗期 25 の室温設定と根冷 25 設定 24h)、区 3 (明期 20 暗期 20 の室温設定根冷なし) の 3 区を設定した。

花弁の層数に関する品種間差異の同定

品種クラリスピンク、パレオピンクフラッシュ、オーブカクテル、ロジーナグリーン、アンバーダブルパープル、フルフルバイオレッドを栄養成長期間は温室内で底面吸水栽培したのち、植物体を明期 / 暗期温度 $20^\circ\text{C} / 20^\circ\text{C}$ の人工気象室に搬入し 19 日間栽培した。その後再び温室内底面吸水栽培を自然光温室で行い、開花時に花弁数を調査した。

トルコギキョウ花弁層数に対するベンジルアデニンの影響

KO 苗をポットに定植後、温室内で底面吸水栽培し、花蕾形成初期にベンジルアデニン (BA) $250 \mu\text{M}$ を点滴処理した。試験は自然光型ハウスで異なる季節に 3 回、ならびに人工光型温度制御施設で 1 回行った。また一重品種についても BA 処理による花弁数変動を調査した。

トルコギキョウ花弁層数に影響する遺伝因子の解明

Eustoma grandiflorum と *Eustoma exaltatum* について、雑種第一代および雑種第二代を作成し形質分離について調査した。

(2) トルコギキョウの花弁サイズを制御する機構の解明

花弁サイズが決定される花蕾ステージの同定

栄養成長期は自然光型ハウスで育てたのちに、 $400 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ PPFD、12 時間日長の人工気象室に搬入し、高温区: $37^\circ\text{C} / 27^\circ\text{C}$ 、低温区: $28^\circ\text{C} / 18^\circ\text{C}$ の 2 室を使用した。1 週間ごとに温度を変更し、計 12 の試験区を設けた。

花弁サイズに関する品種間差異の同定

花弁数が温度の影響を受けるというこれまでの結果が、トルコギキョウの栽培種全般に共通して見られる現象を説明しうるかど

うかを検証するために、複数の栽培種について花弁形成期に低温（20 / 20）へ19日間暴露させた。トルコギキョウ6品種（クラリスピンク、ロジーナグリーン、アンバーダブル、パレオピンクフラッシュ、オープンカクテル、パープルピコティ）について、その花弁サイズと、温度による花弁サイズ変動について調査した。

トルコギキョウ花弁サイズに影響する遺伝因子の探索

花弁面積が大きく異なる *Eustoma grandiflorum* と *Eustoma exaltatum* について、その自殖第一代および自殖第二代の表現型を観察し、遺伝座乗領域同定に向けた解析を行った。

4. 研究成果

(1) 花弁の層数が決定される花蕾ステージの同定

高温区と低温区に植物体を暴露し、1週間ごとに変温管理を行った（図1）。開花まで一貫して高温の区 a における花弁数は平均 9.7 枚、一貫して低温の区 b のそれは 18.3 枚だった。一過的な昇温で区 b に対して有意差を示したのは生殖成長期初期の1週間が高温の区 c だった。また一過的な降温で区 a に対して効果的だったのは生殖成長期初期の1週間が低温の h 区だった。したがって、生殖成長期初期の1週間の温度の低温が花弁数を増加させるのに必要であることがわかった。

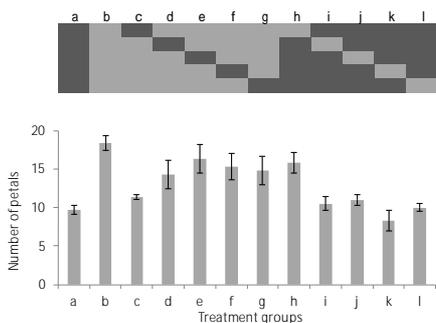


図1. 変温管理が花弁数に与える影響。

上段：1週間ごとの温度推移（濃淡が高低を現す）

下段：各区の花弁枚数

上記で述べた生殖成長期初期の1週間が、具体的にどのステージに相当するのかを明らかにするために、再度誘導実験を行った。本実験では、1段目の花弁数は高温区と低温区で有意差がなく（図2上段左）、2段目の花

弁数は15枚以上の開きがあった（図2上段右）。温度処理5日目の花蕾の発生ステージをパラフィン切片により精査したところ、1段目の花は高低温区とも2層目の花弁もしくは3層目の花弁を分化していた。（図2下段左）。一方2段目の花は、1層目の花弁もしくは萼形成期以前の生育ステージだった（図2下段右）。このことから、本実験における低温誘導は1段目の花蕾の花弁数が決定する時期には間に合わず、2段目の花蕾のそれについては適時だったことが示唆された。したがって、花弁数決定に重要な生育期間は花弁形成初期および直前であることが明らかとなった。

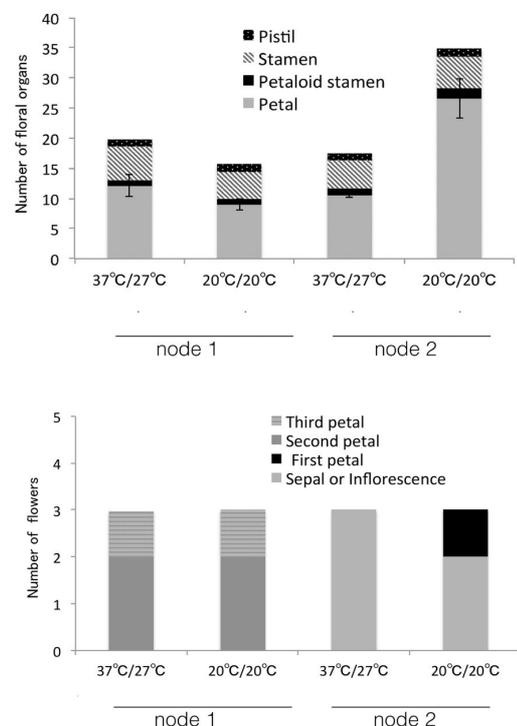


図2. 温度が花弁数に影響をあたえる時期の特定。

（上段） 誘導実験による花弁数の変動

（下段） 誘導後5日目の花蕾ステージ

花弁の層数に影響する部位の同定

区1(明期 33 暗期 25 室温設定)、区2(明期 33 暗期 25 の室温設定と根冷 24H 25 設定 24H)について花弁数を比較したところ、両者に違いは認められなかった（図3）。区1

の明期の水温は室温近辺だったため区1と区2の水温の違いが花弁数に与える影響を評価できた。すなわち植物が温度を感じているのは根ではなく地上部であり、真夏の温室で根圏温度を下げても花弁数を増やす効果はないと考えられた。なお、区3(明期20 暗期20 の室温設定、根冷なし)は、区1(明期33 暗期25 室温設定)に比べて花弁が10枚以上多かったため、誘導実験のタイミングに問題はなく結果は有効であることが示された。

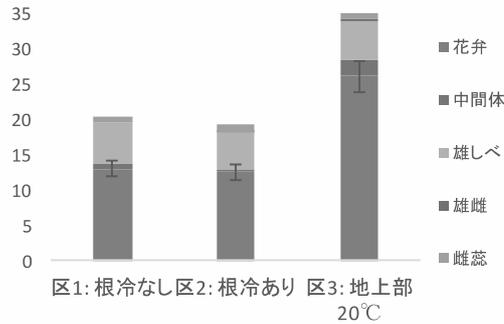


図3. 根圏温度が花弁数に与える影響

花弁の層数に関する品種間差異の同定

低温(20 / 20)へ19日間誘導した結果、6品種全ての品種で花弁数は増加傾向にあり、3系統については有意差も認められた(図4)。したがってトルコギキョウ全般に対して、低温処理は花弁数を増やす効果をもつと考えられた。

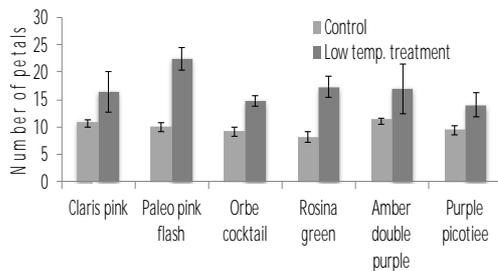


図4. 低温による花弁増加効果の品種適応性

トルコギキョウ花弁層数に対するベンジルアデニンの影響

異なる季節における4回の実験のいずれでも、BA 処理区では対照区に比べて花弁が増加し、その増加程度は対照区の1.5倍程度だった

(図5)。すなわち日平均気温が低いほどBAで増加する花弁枚数は多くなる傾向があり、温度効果とBA効果は相乗的だった。一方、試験1(花弁形成期7月)において、一重品種にもBAを処理したところ、花弁は増えなかった。したがって、BAや温度による花弁の増減には八重化させる遺伝因子の存在が必須であることが示された。

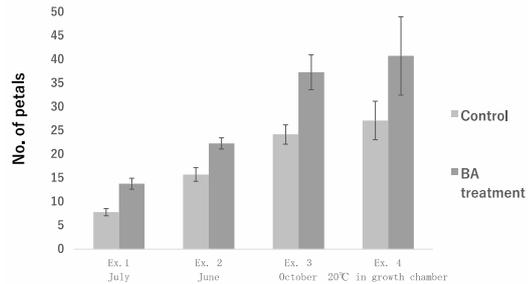


図5. ベンジルアデニンが花弁数に与える影響。

トルコギキョウ花弁層数に影響する遺伝因子の解明

E. grandifloram 八重固定系統‘サイケ’を *E. exalatum* ‘大川1号’と交配し、自殖第一代および自殖第二代の花弁枚数を評価したところ、自殖第一代の7個体中6個体は花弁を6枚以上持つ半八重の花で1個体は一重だった。自殖第一代の半八重個体を自殖させ得られた第二代90個体について花弁数を調査したところ、一重(花弁5枚)は38個体、6枚以上10枚以下は36個体、11枚以上の八重は16個体という表現型分離を示した。本研究において使用した一重八重系統間では自殖第二代の一重割合が25%から逸脱し40%以上となったため、独立した少なくとも2座に座乗する因子が八重化形質を決めていること、両因子間にはエピスタシスが存在する可能性が示唆された。

(3) トルコギキョウの花弁サイズを制御する機構の解明

花弁サイズが決定される花蕾ステージの同定

花弁枚数とは異なり、花弁サイズについては時期特異性が低く、生殖成長全般の気温が花弁サイズに影響した(図6)。

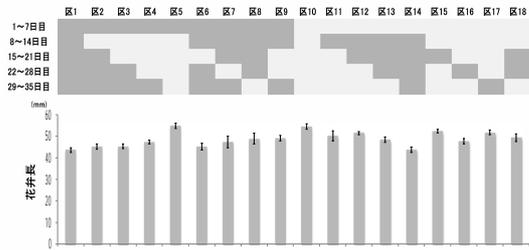


図 6. 生育温度と花弁長の関係
 (上段) 変温管理の温度条件。濃淡が気温の高低をあらわす。(下段) 花弁長

花弁サイズに関する品種間差異の同定

複数品種について、温度による花弁長変動について調査した結果、反応の程度は品種によって異なった(図 7)。

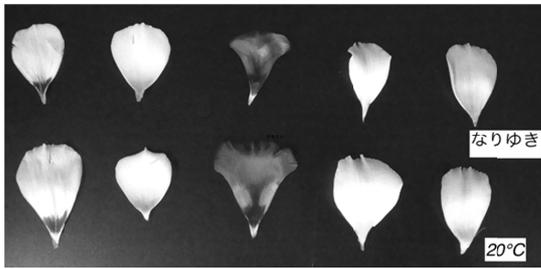


図 7. 19 日間の 20 低温処理が花弁サイズにあたる影響。

トルコギキョウ花弁サイズに影響する遺伝因子の探索

花弁面積が大きく異なる *Eustoma grandiflorum* と *Eustoma exaltatum* (図 8 左) 異なる温度で育て花弁成長を比較したところ、花弁の大きな系統は小さい系統に比べて変異の幅が大きく、高昼夜温度で花弁の長さも幅の両方が縮小した。

またこれらの自殖第二代 142 個体について花弁数を調査したところ、花弁サイズは両親間の範囲に分布した(図 8 右)。これら全個体について DNA を取得し、ゲノム情報収集を行い、両親間で多型を示す塩基配列をスクリーニングした。

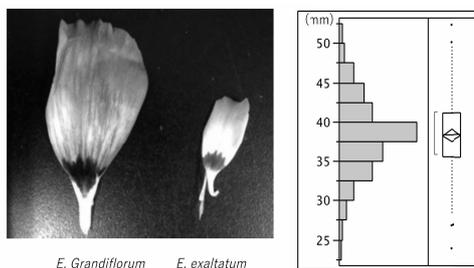


図 8. 花弁サイズに隔たりのある 2 系統と雑種第 2 代の花弁長ヒストグラム

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 5 件)

川勝 恭子, 道園 美弦, 牛尾 亜由子, 福田 直子トルコギキョウ花弁数に対する植物ホルモンの影響と遺伝的制御. 園芸学会 2017.3.20 日本大学(神奈川県・藤沢市)

Kyoko Kawakatsu, Ayuko Ushio, Mitsuru Dozono, Naoko Fukuta. Genetic and environmental analysis of petal number control in *Eustoma*. 日本植物生理学会 2017.3.17 鹿児島大学(鹿児島県・鹿児島市)

川勝 恭子, 嶋津 光鑑, 道園 美弦, 牛尾 亜由子, 福田 直子. トルコギキョウ花弁数増加を目指した施設内の温度制御. 園芸学会 2016.9.10 名城大学(愛知県・名古屋市)

川勝 恭子, 原田 太郎, 渡邊(牛尾) 亜由子, 福田 直子. トルコギキョウ花弁層数に対する昼夜温の影響. 園芸学会 2016.3.27 東京農業大学(東京都・厚木市)

川勝 恭子, 渡邊(牛尾) 亜由子, 福田 直子トルコギキョウ花弁層数に対する温度の影響. 園芸学会 2015.9.26 徳島大学(徳島県・徳島市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

川勝 恭子 (KAWAKATSU, Kyoko)
 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・野菜花き部門 花き遺伝育種研究領域・主任研究員
 研究者番号: 60581733