

令和 3 年 6 月 18 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K05614

研究課題名(和文)ダリア(キク科)における2つのタイプの露心花の発生に関する分子機構の解明

研究課題名(英文)Two types of blown center in dahlia flowers in molecular basis

研究代表者

三吉 一光(Miyoshi, Kazumitsu)

千葉大学・大学院園芸学研究科・教授

研究者番号：60312237

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：ダリア園芸品種はほぼ舌状花より構成される。しかし、秋からの短日条件では花序の中心部に管状花が発生する。このような花は露心花と呼ばれ観賞価値が低いため、電照によりその発生を抑制しているが、管状花の発生と抑制に関する分子基盤については不明であった。本研究では、電照処理の有無にかかわらず、一年中露心する、突然変異系統を見出して、花の形を司る遺伝子と日長などの環境に反応する遺伝子に着目して、解析を行った。その結果、前者では関連した遺伝子を特定し、さらに後者では関連した遺伝子群を候補として挙げた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

園芸産業において問題となっていた、低品質の露心花の発生の機構については、全く知られていなかった。突然変異系統を用いた本研究によって、露心花が潜在的に発生する可能性がある個体を、遺伝情報を精査することにより、将来は品種改良の際に排除するのを可能とする道が開けた。

研究成果の概要(英文)：Flowers of dahlia varieties are consisted only by ray florets. When natural day length is short in autumn and winter, disc florets occur in the center of flower and are called "blown center" with less market value. Induction of blown center would be suppressed by long day treatment with supplemental illumination. The control of blown center had never been understood in molecular level. We have found a mutation that shows blown center even under long day treatment. With comparison of normal and the mutation, in respect to genes controlling the morphogenesis of florets and ones responding environmental conditions especially daylength. We have found genes that would be involved in the morphogenesis of florets and also proposed ones that may respond to environmental conditions.

研究分野：花卉園芸学, 植物育種学

キーワード：ダリア 花き 舌状花 二型性 環境応答 日長 管状花 遺伝子

## 1. 研究開始当初の背景

近年切り花として生産が急増しているダリアの花は、多数の小花が集合した頭状花序である。小花には舌状花と管状花の2つの形態が存在するが、観賞価値があるのは前者に限定されている。営利的に生産されるダリアの切り花は、舌状花のみで構成されている。形態的に舌状花は左右相称形で、管状花は放射相称形である。ダリアは日長が短くなると本来は花序中央部に存在するはずの舌状花の割合が減少し、管状花が出現する露芯現象が発生する。これを従来の露芯花とする(第1図)。

さらに、近年では長日処理を行っても露芯花が発生する、突然変異系統が見いだされており、新品種を市場に公開して数年後までの期間に、正常型の株に混在する場合がある。これらの突然変異系統は、花序の形態以外の形質には変化がないため、実際に営利生産栽培をして開花するまで見分けが付かず、営利栽培上の問題となっている。このタイプの露芯花を新タイプの露芯花とする。

ダリアの従来型も新タイプの露芯花も発生の分子基盤についての研究は未着手の状況である。



正常花

露芯花

第1図 ダリア'彩雪'の正常花および露芯花

## 2. 研究の目的

本研究では、ダリアの露芯花の発生を、日長の変化によって、花序中央部の舌状花の形態が管状花の形態に可塑的に変化する現象と捉えた。さらに本研究は、従来型と突然変異系統である、新タイプの露芯花を用いることにより、これまでほとんど知見の無い、露芯花の発生の分子基盤について解明する。

## 3. 研究の方法

デコラティブ咲き品種'彩雪'の正常株と新型の露芯を示す個体とを実験に用いた。従来型の露芯は、日長が短くなる晩秋から冬期中の栽培で発生する。しかし、本来露芯しないはずの春夏期の14時間以上の日長条件下においても露芯する、いわば新型の露芯が観察された。本研究で対象としているの新型露芯は、種苗会社が保有する母株由来の挿し穂で観察され、母株から発生した側芽を採って増殖する際に突然に発生し、挿し穂に従来型と新型が混在してものを挿し芽によって単離した。年間を通して、加温設備のあるガラス室において鉢において栽培した。なお、冬季は最低夜温15度とし夏季は細霧を用いて、36度以上にならないように栽培管理を行った。また、電照により日長を15hにした環境においても栽培を行った。

露芯花では舌状花から管状花へ的小花の形態の変化が起こっているため、制御遺伝子として *CYCLOIDEA* に着目し、小花における発現量を調査した。さらに、従来型および新型の'彩雪'において長日および短日の蕾から RNA を抽出し、RNA-seq 解析により両型間で発現に差異のある日長感受性遺伝子を探索した。発現差のみられた遺伝子についてリアルタイム RT-PCR により、詳細な発現を調査した。

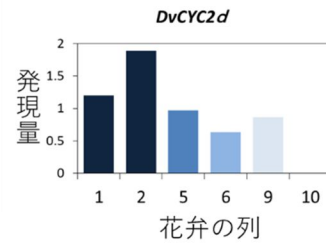
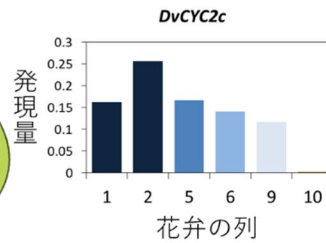
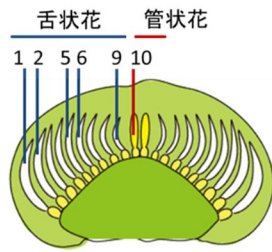
従来型と新型露芯との違いは日長感受性であると考えられたため、日長を感受する部位として考えられる葉の RNA-seq も行った。長日条件下における従来型および新型の'彩雪'の蕾の直下の第一葉と、それと対応する蕾(1cm)の半分から RNA を抽出した。サンプリング時間はおおよそ午前8時~9時に実施し、各区8サンプルずつを供試して比較した。

## 4. 研究成果

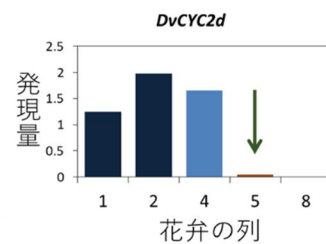
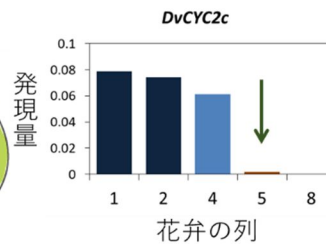
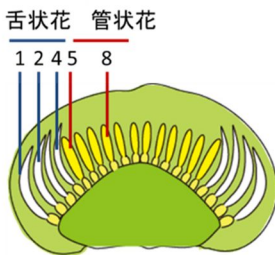
栽培実験により、正常株ならびに新型露芯株が挿し芽によって維持されること、さらには新型露芯株は、長日条件下も含めて通年で露芯花を発生させていることが明らかとなった。さらに露芯花の判定を確実にを行うために、一花あたりの舌状花と管状花の数の年間の変動を明らかにし、判断基準を明確にした。

従来タイプの露芯花を対象に、舌状花と管状花の形態形成に関連して、*CYC2c* と *CYC2d* の発現が大きく関与していることを見出した(第2図)。 *CYC2c* と *CYC2d* のさらに上流の日長感受性遺伝子に着目して遺伝子の探索に取り組んだ。RNAseqの結果、正常と新露芯の間に差の見られた4つの日長感受性遺伝子、すなわち *LHY*, *LHY1i3*, *LHC*, *LHC2* の発現について調査を行った。茎の最上部、すなわち蕾、萼、最上位葉を対象に、各部位・ステージにおける日長感受性遺伝子の調査を行った。その結果、正常株と新露芯株との間で、発現量と露芯に関する優位な相関は認められなかった(第3図、茎、萼および葉のデータは省略)。

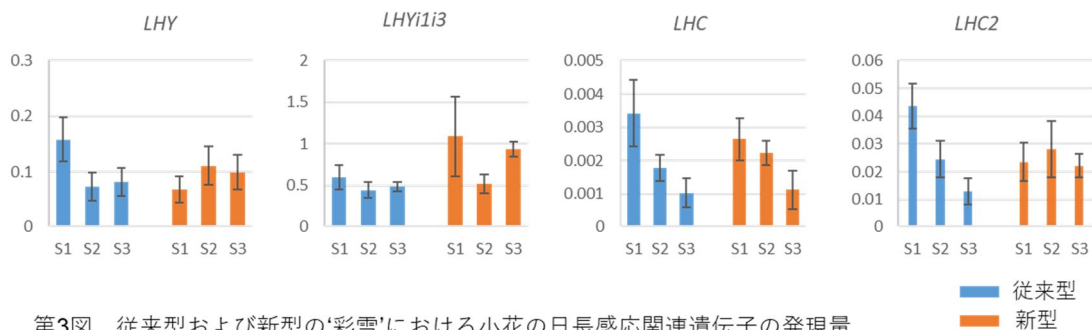
## 正常花



## 露芯花



第2図 '彩雪'正常花および露芯花における小花のDvCYC2cおよびDvCYC2dの発現  
DvActinの発現を内部標準としたときの相対発現量 n=3の平均値



第3図 従来型および新型の'彩雪'における小花の日長感応関連遺伝子の発現量  
DvActinの発現を内部標準としたときの相対発現量 n=3の平均値  
S1~S3は小花の発達ステージ (S1: 全長2mm程度, S2: 5mm程度, S3: 1cm程度)  
両型とも最外列から5列目の小花を使用 (従来型; 舌状花, 新型; 管状花)

従来型と新型露芯の長日期の葉および蕾で行った RNA-seq により、葉で両型間に有意な発現差のみられる遺伝子が 2 つ見つかった (*Structural maintenance of chromosomes flexible hinge domain-containing protein GM11-like* および *zinc-finger homeodomain protein gene*)。しかしながら、これらと日長感応との関係は不明である。また、蕾での発現量の比較において、新型'彩雪'(露芯花)において DvCYC2d の発現が従来型(正常花)よりも高い結果となり、DvCYC2c に発現量の差が認められなかった。この結果から以下のことが考えられる。

- ・新型の露芯花にも舌状花が含まれるため、舌状花での発現が高く検出されてしまい、管状花の発現傾向がかき消された。

- ・報告者が使用したリアルタイム RT-PCR 用プライマーの配列が、今回 RNA-seq で検出した配列部分と異なっており、どちらかの定量が正確ではない。

今後は、リアルタイム用のプライマーを組み直し、遺伝子の発現量の再定量を行うこと、また、新型露芯花において舌状花部分を含まずにサンプリングを行う方法を検討することが必要であると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	出口 亜由美  (Deguchi Ayumi)  (20780563)	千葉大学・大学院園芸学研究科・特任助教    (12501)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関