

令和 4 年 6 月 17 日現在

機関番号：18001

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06036

研究課題名(和文)四季咲き性キンモウツツジの花芽非休眠性の後代への遺伝とSVP遺伝子との関係

研究課題名(英文) Relationship between inheritance of non-dormancy traits of flower buds and SVP gene in the cross of (Rhododendron oldhamii x R.kiusianum) x R. kiusianum.

研究代表者

嬉野 健次 (Ureshino, Kenji)

琉球大学・農学部・教授

研究者番号：10333759

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：キンモウツツジの花芽非休眠性の遺伝とSVP遺伝子との関係を明らかにするために、キンモウツツジとミヤマキリシマとのF1に別系統のミヤマキリシマを交配したBC1について調査した。F1ではいずれの個体も第一開花日が早く、キンモウツツジの非休眠性は優性であることが示唆された。BC1では第一開花日に幅広い変異がみられ、非休眠性と休眠性の個体とに分離していた。また、第一開花日の早い個体ほど開花期間が長くなる傾向がみられた。PCR-RFLPでBC1におけるSVP遺伝子の遺伝を調査したところ、キンモウツツジ由来のSVPをもつBC1個体群の第一開花日が早く、SVP遺伝子の遺伝と花芽の休眠性との関係が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ツツジの花芽における休眠性の要因を遺伝子レベルで明らかにし、休眠性の交配後代への遺伝と関連する遺伝子を明らかにすることで、育種を効率的に行う際に必要な、低休眠性系統を選抜できるマーカーの開発が可能になり、沖縄など冬季の低温量が少ない亜熱帯地域に適応したツツジ品種の効率的な作出が可能になる。

研究成果の概要(英文)：To clarify the relationship between the non-dormancy of flower bud in *Rhododendron oldhamii* and the SVP gene, flowering habit and the inheritance of SVP gene were investigated using BC1 seedlings from (*R. oldhamii* × *R. kiusianum* #1) × *R. kiusianum* #2). In the F1 seedlings, the first flowering date was early in all the individuals, suggesting that the non-dormancy habit from *R. oldhamii* is dominant. In the BC1 seedlings, the first flowering day varied widely, suggesting that they were separated into non-dormant and dormant types. When the inheritance of the SVP gene in BC1 was investigated using the PCR-RFLP method, the first flowering date of the BC1 population with the SVP derived from *R. oldhamii* was early. From these results, the relationship between the inheritance of the SVP gene and the dormancy of flower buds was suggested.

研究分野：花卉園芸学

キーワード：ツツジ 花芽非休眠性 SVP

## 1. 研究開始当初の背景

ツツジは、日本を代表する花木の一つで、街路樹や庭園樹に加え鉢物としても利用されている。園芸品種群として、クルメツツジ、キリシマツツジ、ヒラドツツジ、リュウキュウツツジなどが成立しており、花色、花型などについて多様な品種が存在するが、これらは、主に、日本に自生するツツジ亜属に属する常緑性ツツジ種間の自然および人工交雑(種間交雑)による。日本に自生する常緑性ツツジ種は、一般に、初夏から秋にかけて花芽を形成し、花芽はその後休眠に入る。休眠打破には一定の低温遭遇期間が必要なため、開花は翌春になる。

花木類における花芽休眠のメカニズムの解明は、農業上重要な研究である。特に、ツツジ類においては、秋咲タイプ品種の作出など育種面において重要な意味を持つばかりでなく、促成開花技術への応用、生育適応地域の拡大などにも貢献すると考えられる。特に、沖縄などの亜熱帯地域では、自発休眠に対する低温要求性が強い品種群は栽培が難しく、しばしば奇形花などの正常に開花しない現象がみられる。このことは、地球温暖化が進む現代において、今後、現在主要品種として利用されているツツジの生育に適した地域が、日本において減少することを示唆している。

一方、沖縄と同じ亜熱帯地域の台湾には、ツツジ亜属のキンモウツツジが自生しており、本種には花芽休眠性の一季咲系統と非休眠性の四季咲系統が存在する。四季咲系統は、完成した花芽が低温に遭遇しなくても直ちに開花するため、低温要求性の低い品種を開発するための育種親として優れていると考えられる。これまでの研究で、四季咲性キンモウツツジと日本に自生する常緑性ツツジ間の種間交配を行い、この非休眠性が優性に遺伝することを明らかにしている。しかしながら、ツツジ類における花芽休眠に関する分子生物学的な知見は少なく、なぜ、種により自発休眠における低温要求性の程度が異なるのかは、不明である。

花芽の自発休眠性に関する研究について、いくつかの植物で報告があり、自発休眠には低温に応答する SVP 系の遺伝子 (DAM 遺伝子を含む) もしくは日長に応答する CO 遺伝子が引き金となり、その後、花芽内の生長を維持するために必要な FT, CEN 遺伝子の発現量の低下につながることを報告されている。また、休眠打破には一定期間の低温遭遇による SVP 系遺伝子の発現量の低下にとともに FT, CEN 遺伝子の発現量が増加すること、さらにそれに付随して内生ジベレリンの増加に關与するといわれる SOC1 遺伝子の発現量が増加することが必要であることが報告されている。すなわち、低温遭遇による自発休眠の導入および打破には、SVP 系の遺伝子の発現が大きく関与していることが示唆される。

これまでの研究で、非休眠性の四季咲性キンモウツツジと休眠性の一季咲性キンモウツツジの完成直後の花芽を用いて、前出遺伝子群のクローニングを行い、1 種類の SVP 遺伝子、FT および CEN 遺伝子を単離している。単離した SVP 遺伝子翻訳領域の配列の相同性は、キンモウツツジの非休眠性および休眠性系統間で非常に高く、また、キウイフルーツの休眠維持に關与すると考えられている AcSVP2 と相同性が高かった。また、RT-qPCR 法で花芽での遺伝子の発現解析を行い、休眠性の一季咲性キンモウツツジでは、花芽完成時に低温遭遇させた場合、SVP 遺伝子の発現量の増加および FT, CEN 遺伝子の発現量の低下がみられたのに対し、非休眠性のキンモウツツジでは低温遭遇にもかかわらず SVP 遺伝子の発現量の増加がみられずおよび FT, CEN 遺伝子の発現量の低下がみられないことから、ツツジにおいても花芽の休眠に単離した SVP 遺伝子が關与している可能性が高いと考えている。しかしながら、四季咲性キンモウツツジの非休眠性が SVP 遺伝子そのものの変異によるのかは明らかになっていない。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、ツツジの花芽における休眠性の要因を遺伝子レベルで明らかにし、休眠性の交配後代への遺伝と關連する遺伝子を明らかにすることである。

## 3. 研究の方法

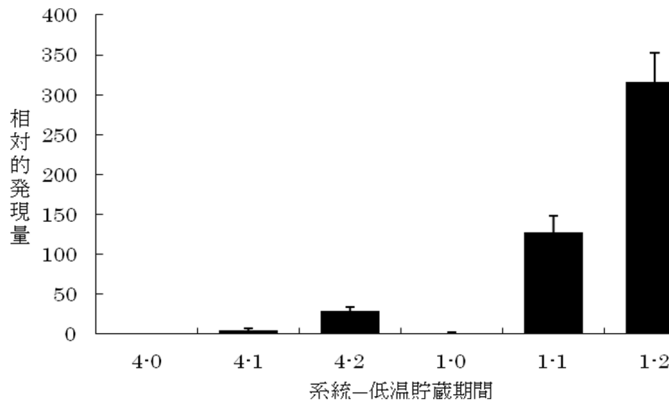
植物材料として、四季咲性キンモウツツジ (*Rhododendron oldhamii*) 1 系統、ミヤマキリシマ (*R. kiusianum*) 2 系統、四季咲性キンモウツツジとミヤマキリシマの種間交雑で得られた F1 個体、この F1 個体 1 系統に別系統のミヤマキリシマを交配した BC1 個体を用いた。まず、四季咲性キンモウツツジの花芽の非休眠性が、SVP 遺伝子の遺伝による発現量の減少によるものかを明らかにするために、Real time PCR 法を用いて、一季咲性キンモウツツジを比較対象にして花芽休眠過程における SVP 遺伝子発現量を比較した。一季咲性(休眠性系統)および四季咲性(非休眠性系統)性のキンモウツツジ各 1 系統を用い、ガラス温室で栽培後、秋に花芽が枝の先端に確認された時点(花芽完成期)で両系統とも株を 4 のグロースチャンパー(暗黒条件)に移し、0、4 および 8 週間低温貯蔵を行った。各処理区より全 RNA を抽出したのち逆転写反応を行ったのち、SYBR Green 検出系によるリアルタイム PCR を行い、発現量を調査した。次に、F1 世代および BC1 世代における花芽非休眠性の遺伝性を明らかにするために、開花調査を毎日行なった。さらに、SVP 遺伝子の遺伝と非休眠性の関係を明らかにするために、PCR-RFLP 法を用いて、SVP 遺伝子の遺伝を調査した。

#### 4. 研究成果

##### (1) Real time PCR 法による SVP 遺伝子発現量の比較

###### 低温貯蔵による SVP 遺伝子の発現量の変化 (第 1 図)

一季咲系統では低温貯蔵に伴い発現量は大幅に増加し 4 か月貯蔵では 無貯蔵区に比べ約 300 倍に増加した。四季咲系統では、低温貯蔵に伴い発現量の増加がみられたものの、その増加量は一季咲系統に比べ低かった。

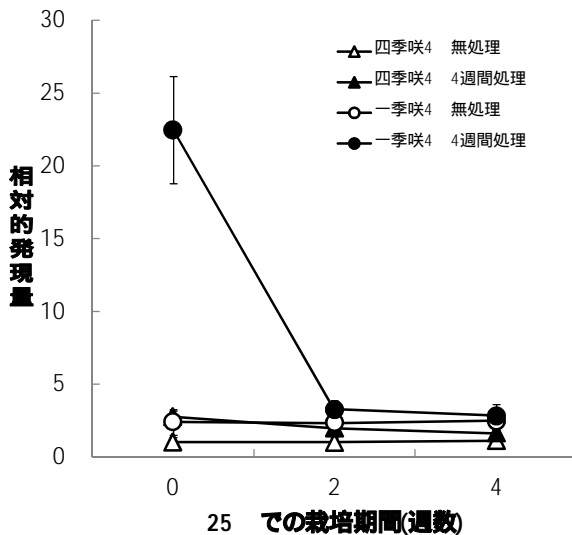


第 1 図 一季咲および四季咲性キンモウツツジにおける SVP 遺伝子の低温貯蔵に伴う発現量の変化。

4-0, 1, 2; 四季咲性 4 0, 4, 8 週間貯蔵区,  
1-0, 1, 2; 一季咲性 4 0, 4, 8 週間貯蔵区を表す。  
バーは標準偏差を表す。

###### 低温貯蔵後の SVP 遺伝子発現量の変化 (第 2 図)

0 および 4 週間低温貯蔵を行った花芽のついた枝を切りだし、25 16 時間日長で水挿しによる栽培を、0, 2 および 4 週間行った。一季咲系統では、4 4 週間貯蔵後、SVP 発現量の増加がみられたが、その後、25 で栽培することにより、発現量が低下した。一季咲キンモウでも、4 で低温貯蔵すれば、花芽が生育を再開する (休眠打破) されることから、この発現量の低下が、休眠打破につながったと考えられる。



第 2 図 一季咲および四季咲性キンモウツツジにおける SVP 遺伝子の発現量の変化。  
バーは標準偏差を表す。

##### (2) F1 世代および BC1 世代の開花習性 (第 1 表, 第 3 図)

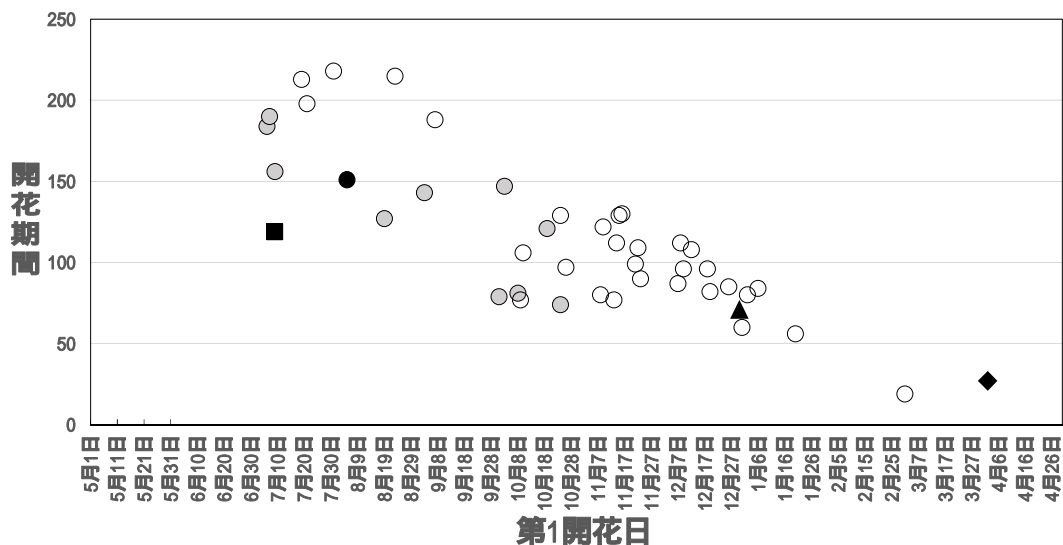
四季咲性キンモウツツジ (OLD) の第一開花日は 7/9, ミヤマキリシマ#1 (KIU1) は 12/30 であり、これらの F1 実生では 7/6 ~ 10/14 といずれも年内に開花した。F1 実生 1 個体 (第一開花日 8/5) にミヤマキリシマ#2 (KIU2) (同翌年 4/2) を交配した BC1 実生では、第一開花日が 7/19 ~ 翌年の 3/2 までと幅広く分布した。交配親の開花期間は、キンモウツツジで 119 日、ミヤマキリシマ 1 および 2 でそれぞれ 71 日と 27 日と非休眠性のキンモウツツジで長かった。F1 実生では、開花期間が 74 ~ 190 日となり、第一開花日が高いほど開花期間が長い傾向がみられた。

BC1 実生では，開花期間が 19～213 日と幅広く分布し，F<sub>1</sub> 実生 と同様第一開花日が早いものほど開花期間が長くなる傾向がみられた．特に，第一開花日が 12/15 以降の BC<sub>1</sub> 実生では，開花期間が 100 日以下となった．

以上の結果より，交配親，F<sub>1</sub>，BC<sub>1</sub> 実生とも第一開花日の早い個体ほど開花期間が長くなる傾向がられた．これは，第一開花日が早い個体は非休眠性を示し，沖縄の冬季温暖な環境下では枝の伸長，花芽形成および開花を連続的に示すことによると思われる．一方，第一開花日が遅い個体は，休眠打破が必要なため，開花期間が短くなると思われる．

第 1 表 交配親および後代の開花習性

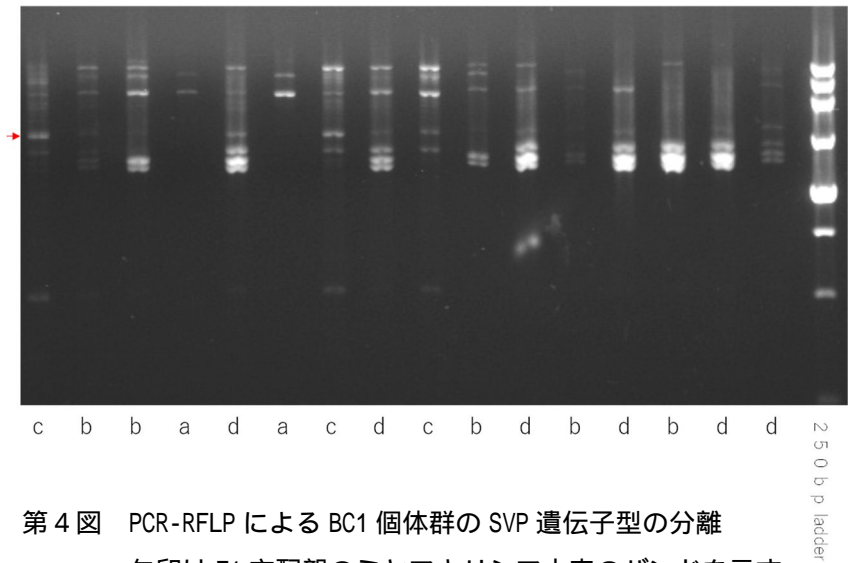
	供試個体数	第一開花日	平均開花日	開花期間
キンモウツツジ (OLD)	1	7/9	9/2	119
ミヤマキリシマ#1 (KIU1)	1	12/30	2/27	71
ミヤマキリシマ#2 (KIU2)	1	4/2	4/17	27
F1 (OLD×KIU1)	11	7/6～10/24	9/27～12/6	74～190
BC1 (KIU2×(OLD×KIU1))	30	7/19～3/2	11/18～3/14	19～213



第 3 図 第一開花日と開花期間との関係．■; OLD, ▲; KIU1, ◆; KIU2;  
●; F1(交配親), ●; F1 実生群, ○; BC1 実生群．

### (3) PCR-RFLP 法による BC<sub>1</sub> 個体の SVP 遺伝子型の分離

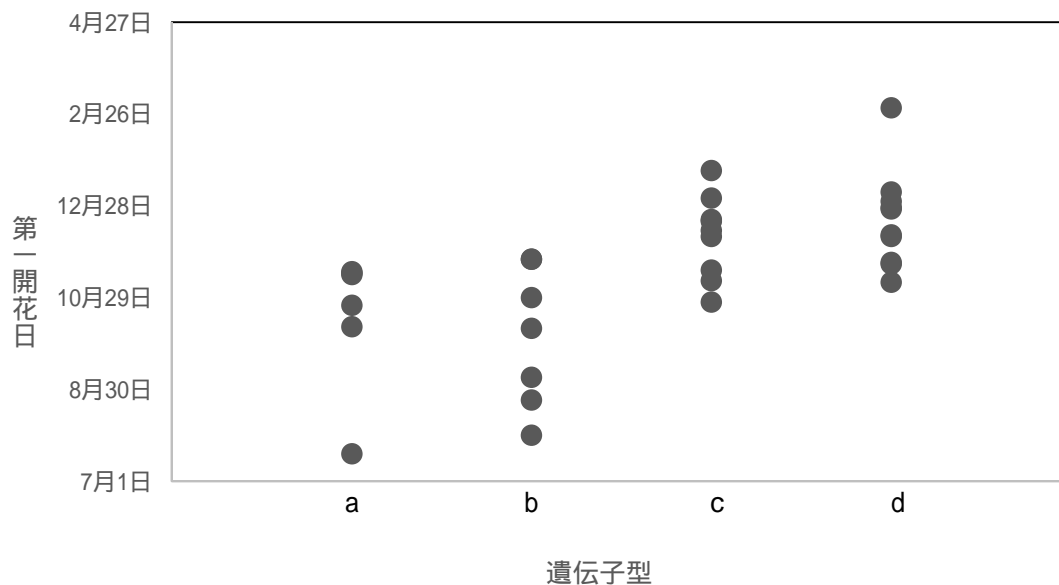
SVP 後半領域を増幅できるようにプライマーをデザインし，PCR を行った．PCR 産物を精製後，BaI をもちいて制限酵素処理を行ったところ，交配親間で多型が検出された．BC<sub>1</sub> 世代では，4 つの遺伝子型 (a, b, c, d) に分離し，うち 2 つ (c, d) は F<sub>1</sub> の交配親のミヤマキリシマ由来のバンドを有していたことから，ミヤマキリシマ 2 系統 (F<sub>1</sub> の交配親と BC<sub>1</sub> の交配親) 由来の SVP をもつ個体群，残り 2 つ (a, b) は四季咲き性キンモウツツジとミヤマキリシマ 1 系統 (BC<sub>1</sub> の交配親) の SVP を持つ個体群であると思われる (第 4 図)．



第4図 PCR-RFLPによるBC1 個体群のSVP 遺伝子型の分離

矢印はF1 交配親のミヤマキリシマ由来のバンドを示す。

BC1 個体群におけるSVP の遺伝子型と第1 開花日との関係を調査したところ、四季咲き性キンモウツツジ由来のSVP を持つ個体群（遺伝子型 a, b）では第一開花日が7月19日～11月23日の範囲となり、ミヤマキリシマ由来のSVP のみを持つ個体群（遺伝子型 c, d）では第一開花日が10月26日～3月2日の範囲となつた（第5図）。すなわち、キンモウツツジ由来のSVP をもつBC1 個体群が花芽完成後直ちに開花する非休眠性個体であると考えられ、SVP 遺伝子の遺伝と花芽の休眠性との関係が示唆された。



第5図 BC1 個体におけるSVP 遺伝子型と第一開花日との関係

(4) まとめ

沖縄のような亜熱帯地域で非休眠性のものを栽培する場合、花芽形成と開花が連続的に起こり、開花期間が長くなることが考えられる。本研究においてもBC1 個体の開花性は、第一開花日の早い個体ほど開花期間が長くなる傾向がみられた。これは、第一開花日が早い個体は非休眠性を示し、沖縄の冬季温暖な環境下では枝の伸長、花芽形成および開花を連続的に示すことによると思われた。一方、第一開花日が遅い個体は、休眠打破が必要なため、開花期間が短くなると思われた。SVP 遺伝子の遺伝性との関係を明らかにするために、PCR-RFLP 分析を行なった。その結果、第一開花日が早い個体の多くはキンモウツツジ由来のSVP を持っており、遅い個体の多くは持っていなかった。このことから、非休眠性とSVP 遺伝子との関連性が考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 嬉野健次・Md. Mizanur Rahim Khan
2. 発表標題 キンモウツツジとミヤマキリシマとの交配における花芽非休眠性の遺伝
3. 学会等名 園芸学会秋季大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 嬉野健次・Md. Mizanur Rahim Khan
2. 発表標題 花芽非休眠性キンモウツツジと休眠性ミヤマキリシマとの交配におけるBC1実生の開花習性
3. 学会等名 園芸学会秋季大会
4. 発表年 2021年

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------