

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 9 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23580045

研究課題名(和文)ユリの「早咲き性」進化と密接に関係する球根休眠性喪失の遺伝機構

研究課題名(英文) Genetic mechanisms of loss of bulb dormancy in close relation to 'early flowering' ability in *Lilium*

研究代表者

比良松 道一 (Michikazu, Hiramatsu)

九州大学・持続可能な社会のための決断科学センター・准教授

研究者番号：30264104

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円、(間接経費) 1,260,000円

研究成果の概要(和文)：植物の不良環境への適応を促す休眠性の遺伝的制御機構はあまり知られていない。本研究では、球根休眠性に対照的な分化を遂げた祖先種テッポウユリと派生種タカサゴユリ、および、その雑種集団を用いて、球根休眠性喪失の遺伝機構に関する次の点を明らかにした。1) テッポウユリ南部系統は、タカサゴユリと同様に非休眠型であり、テッポウユリ北部系統は休眠型である、2) 球根休眠は一定期間の高温(25℃)への遭遇によって導入され、一定期間の低温への遭遇で打破される、3) テッポウユリにおける球根休眠の喪失はABAの合成や分解に関する遺伝子突然変異が原因である、4) 休眠型は非休眠型に対して優性形質である。

研究成果の概要(英文)：It is little known that genetic mechanism of dormancy, by which plants are allowed to adapt to the inferior environments such as cool and dry climate conditions. Using bulbous plants of progenitor and derivative species pair, *Lilium longiflorum* and *L. formosanum*, and their hybrid populations, this study revealed the genetic mechanism of bulb dormancy in these *Lilium* species as for the following points: 1) Southern ecotype of *L. longiflorum* is a non-dormant type similar to *L. formosanum*, while the northern ecotype is a dormant type, 2) bulb dormancy is induced by exposure to the high temperature at least more than 4 weeks, 3) loss of bulb dormancy is caused by gene mutation relating to ABA biosynthetic pathway, 4) dormant type is a dominant character for the non-dormant type.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：園芸・造園

キーワード：球根休眠性 早咲き性 遺伝的制御 テッポウユリ タカサゴユリ

1. 研究開始当初の背景

(1) 植物の休眠性の遺伝機構に関する研究動向

休眠性の遺伝機構は、休眠性に対照的な分化を遂げた近縁系統間の雑種集団において休眠形質を分離させることによって実験的に解明できる。しかし、この方法論による研究は非常に少ない。それは、植物全体をとおして、休眠性の近縁系統間変異について詳しく調査した事例が稀少であり、休眠性が大きく分化した近縁系統群の存在がほとんど知られていないからである。この方法論に基づく関連研究として、これまでのところ、わずかにシロイヌナズナ(Alonso-Blanco et al., 2003, *Genetics* 164: 711-729)、イネ(Takeuchi et al., 2003, *Theor. Appl. Genet.* 107: 1174-1180; Xing-You et al., 2006, *Genetics* 172: 1199-1211)、オオムギ(Hori et al., 2007, *Theor. Appl. Genet.* 115: 869-876)の「種子休眠性」に関する研究があるに過ぎない。

球根休眠性の分化に関する研究は、あるとしても、経済的に栽培される品種群での変異を言及するに留まっており、系統関係が明確で、なおかつ交雑が可能な近縁系統群において球根休眠性の顕著な分化やその遺伝性を明らかにした研究はない。

(2) 研究対象となる植物材料の系統遺伝学的プロファイル

研究材料として互いに近縁なユリ属 2 種、テッポウユリとタカサゴユリの地域系統群を用いた。九州南部から台湾へと弧状に連なる島嶼群の海岸線に分布するテッポウユリと台湾本島の内陸に分布するタカサゴユリは、分布域が隣接することや花器形態の類似性から近縁種として考えられてきた。2 種の自生集団間の遺伝的距離は地理的距離と正の相関があり(地理的距離が離れるほど遺伝的関係が遠くなり)、2 種が遺伝的に連続した関係を持つことが、申請者の研究によって明らかにされている(Hiramatsu et al., 2001, *Amer. J. Bot.* 88: 1230-1239)。テッポウユリ種内の遺伝的多様度と遺伝的分化は非常に大きく、逆に、タカサゴユリのそれらは小さいという事実から、タカサゴユリは、列島弧南部に分布するテッポウユリ集団からの派生種と推定されている。

(3) 「早咲き性」の進化的シナリオと球根休眠性との関係

タカサゴユリは、種子発芽から 9~10 ヶ月度で開花に至る。この「早咲き性」は、世界に 100 種ほどあるユリの中でも本種だけが有する能力であると考えられてきた。そうであるならば、「早咲き性」はタカサゴユリがテッポウユリから分化する過程で進化したというシナリオが考えられる。

実際に、自生集団由来の種子を 11 月に播種し、同一条件で育てると、タカサゴユリ集団では、出葉を停止することなく成長し続け、7~8 月に 85~100%の個体が開花する。

開花したタカサゴユリの個体は、10°C 以上の気温を保てば、その後も成長が停止せずに、二次茎、三次茎と次々と出芽、抽だいし、開花する(Hiramatsu et al., 2002, *Acta Hort.* 570: 331-338.)。

一方、テッポウユリの「早咲き性」頻度は集団間で大きく異なる。タカサゴユリの分布域に近い南端のテッポウユリ集団では 7~8 月に 31%の個体が開花するが、その頻度は、列島弧を北上するに連れて低下し、北端のテッポウユリ集団では全く開花が見られない(Hiramatsu et al., 2002, *Acta Hort.* 570: 331-338.)。開花しないテッポウユリ個体の出葉は 7~9 月に停止するが、それは明確な休眠を示すテッポウユリ園芸品種の生育パターンと酷似する(猿渡ら, 2006, 園芸学会 雑誌 75(別 1):178)。

こうした事実から、まず、祖先種テッポウユリにおいて球根休眠性の大きな地理的分化が生じ、その後、球根休眠性が欠失した(あるいは弱勢化した)南方集団のテッポウユリから、「早咲き性」を安定して発現できるタカサゴユリが誕生したという進化的シナリオが考えられた。

2. 研究の目的

このテッポウユリとタカサゴユリの祖先種・派生種ペアのように球根休眠性が顕著に分化していると思われる近縁分類群は、今のところ他に例がない。こうした研究材料の独自性を活かし、本研究では、1)テッポウユリ・タカサゴユリ近縁系統群の球根休眠性の遺伝的分化の詳細を明らかにしつつ、2)その球根休眠性の遺伝的分化が、どのような遺伝子の変異によって生じ、どのように「早咲き性」(生活史戦略)の進化を促したかを解き明かす。

3. 研究の方法

(1) テッポウユリとタカサゴユリの生育に対する温度の影響と休眠性の遺伝的分化

屋久島(LYA)、喜界島(LKI)、石垣島(LSI)、鼻頭角(LPI)のテッポウユリ自生集団、および、福(FFU)のタカサゴユリ帰化集団の実生を 15°C、16 時間日長下で 5 ヶ月間育成した。各集団 20 株の実生を、混合培土(赤玉土:市販培土=4:1)を充填した直径 16cm のプラスチックポットに移植し、2010 年 5 月より 2 年間にわたって、同量の化成肥料と腐葉土を 3 ヶ月おきに施用しながら出葉数と外気温の変化を調査した。

(2) テッポウユリとタカサゴユリにおける球根休眠の導入条件と打破条件

(1) で用いた材料のうち、LSI 集団を除くテッポウユリ 4 集団とタカサゴユリ 1 集団の実生各 5 株を、まず 25°C の自然日長下で 2~8 週間、その後 15°C の自然日長下に移して栽培し、出葉数の変化を 18 週間調査した。2010 年 5 月より 2 年間にわたって、同量の化成肥料と腐葉土を 3 ヶ月おきに施用しながら出葉数と外気温の変化を調査した。

(3) テッポウユリとタカサゴユリの球根

における ABA 合成に関わる代謝関連遺伝子の発現

(1) と同様の条件で育てた喜界島 (LKI)、鼻頭角 (LPI) のテッポウユリ自生集団および福岡 (FFU) のタカサゴユリ自生集団の 1 年生実生 5 個体の本葉を 6、8、10、12 月に採集し -80°C で保存した。RNeasy Mini kit (Qiagen, Japan) を用いて凍結した本葉より抽出した RNA500ng を Prime Script RT master Mix (TaKaRa, Japan) を用いて逆転写して cDNA を作成し、さらに、ABA 合成経路の鍵酵素である 9-シスエポキシカロチノイドオキシゲナーゼ (NCED)、ABA 異化に関わる ABA8'-ハイドロオキシラーゼ遺伝子に特異的なプライマーを用いてリアルタイム PCR を行い、それらの遺伝子の相対発現量を評価した。

(4) テッポウユリとタカサゴユリにおける球根休眠の遺伝性

(1) で用いた集団に台湾島来のタカサゴユリ自生集団 (FWU) を加えた、テッポウユリ 4 集団、タカサゴユリ 2 集団の間で集団間交配をおこない、得られた種子から (1) と同様の条件で少なくとも 10 株の実生を育成し、出葉数の変化を経時的に測定した。

4. 研究成果

(1) テッポウユリとタカサゴユリの生育に対する温度の影響と休眠性の遺伝的分化

タカサゴユリ低地系統 (FFU) とテッポウユリ南部系統 (LPI) の実生は、温度が 40°C を超えても本用展開が止まらず生育を続け、は種 9~11 ヶ月でそれぞれ 90%、20% の実生が開花したのに対し、テッポウユリ北部系統 (LYA、LKI) の実生は、30°C で生育が停止した (Fig. 1)。この結果より、テッポウユリの球根休眠性は遺伝的分化が著しく、テッポウユリ南部系統はタカサゴユリと同様に非休眠型であり、テッポウユリ北部系統は、高温が休眠導入の引き金になっている休眠型であることが示唆された。

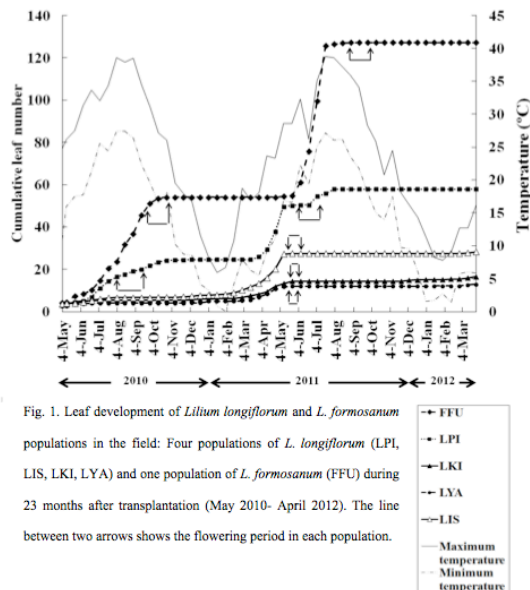


Fig. 1. Leaf development of *Lilium longiflorum* and *L. formosanum* populations in the field: Four populations of *L. longiflorum* (LPI, LIS, LKI, LYA) and one population of *L. formosanum* (FFU) during 23 months after transplantation (May 2010 - April 2012). The line between two arrows shows the flowering period in each population.

(2) テッポウユリとタカサゴユリにおける

球根休眠の導入条件と打破条件

休眠型テッポウユリ (LYA、LKI) の実生は 4 週間以上の高温に遭遇すると生育を停止し、一方、6 週間以上の低温に遭遇すると生育を再開した (Fig. 2)。その結果より、球根休眠は一定期間の高温への遭遇によって導入され、一定期間の低温への遭遇で打破されることが明らかとなった。

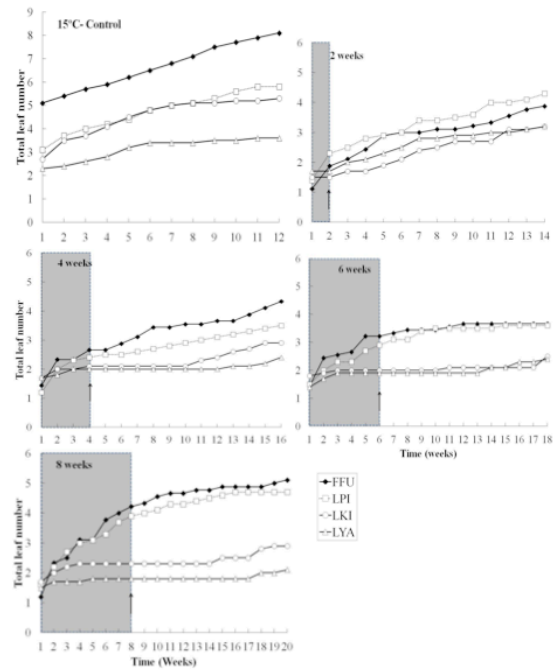


Fig. 2. Total leaf number in the seedling of three *L. longiflorum* and one *L. formosanum* populations after 2, 4, 6 and 8 weeks exposure in high temperature. The dotted boxes represented the weeks at 25°C. The arrows show shifting time to 15°C.

(3) テッポウユリとタカサゴユリの球根における ABA 合成に関わる代謝関連遺伝子の発現

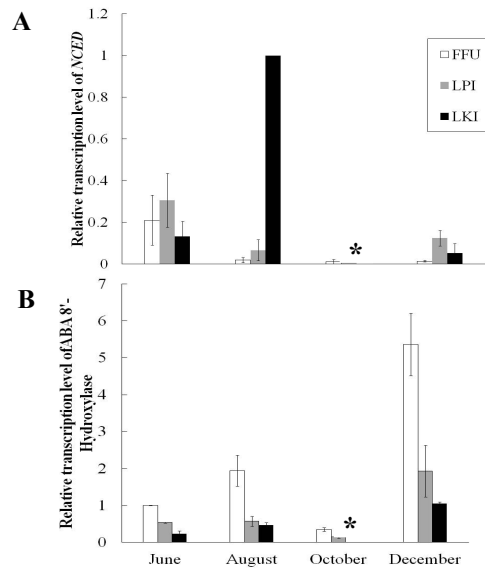


Fig. 3. Relative expression of A) 9-*cis*-epoxycarotenoid dioxygenase (NCED) and B) ABA 8'-hydroxylase in the leaves of one year old seedlings of *L. formosanum* FFU populations (non dormant type), *L. longiflorum* LPI populations (Southern populations - non dormant type) and *L. longiflorum* LKI populations (Northern population - deep dormant type) during six months after transplantation in the field. Expression of both genes is indicated as a mean \pm SE. * Not investigated.

非休眠型テッポウユリの葉では、8月にABA合成経の鍵酵素であるNCED遺伝子の発現が、非休眠型の10倍以上と有意に大きくなり、また、12月から翌年の8月にかけて、ABA異化に関わるABA8'-ハイドロオキシラーゼの発現が非休眠型よりも有意に低かった(Fig. 3)。このことから、テッポウユリにおける球根休眠性の喪失はABA合成や分解に関する遺伝的変異が原因であると考えられた。

(4) テッポウユリとタカサユリにおける球根休眠の遺伝性

非休眠型タカサゴユリと非休眠型テッポウユリのF1実生は高温期にも成長を続けたのに対し、これらの非休眠型と休眠型テッポウユリのF1実生は、高温期に生育を停止した(Fig. 4)。このことは、休眠型が非休眠型に対して優性形質であることを示唆している。F2実生における表現型の分離については追跡中である。

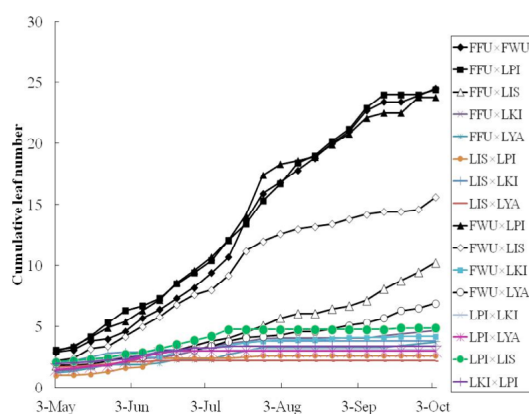


Fig. 4. Growth pattern of interspecific F₁ hybrids between *Lilium formosanum* (FFU, FWU) and *L. longiflorum* or intraspecific hybrids between dormant (LIS, LKI, LYA) and non-dormant (LPI) types of *L. longiflorum* populations.

Abbreviations of accession names are the same as those in Table II-1.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計4件)

(1) Mojtahedi, N., J. Masuda, M. Hiramatsu, Q. T. L. H. Nguyen and H. Okubo. Role of Temperature in Dormancy Induction and Release in One-year-old Seedlings of *Lilium longiflorum* Populations. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science* 82(1): 62-68. 2013.

(2) Mojtahedi, N., M. Hiramatsu, Y. Mizunoe and H. Okubo. Inheritance of Bulb Dormancy and Early Flowering Ability in F₁ Progenies of Intra- and Interspecific Crosses of *Lilium formosanum* and *L. longiflorum*. *Journal of the Faculty of Agriculture, Kyushu University* 58(1): 23-25. 2013.

(3) Sakazono, S., M. Hiramatsu, M. Watanabe and H. Okubo. Development and Characterization of Microsatellite

Markers for *Lilium longiflorum* (Liliaceae). *Applications in Plant Sciences* 1(9): 1300014. 2013.

(4) Mojtahedi, N., J. Masuda, M. Hiramatsu, T. L. H. Nguyen, Y. Mizunoe and H. Okubo. Variation of Dormancy and Early Flowering Ability in *Lilium longiflorum* and *L. formosanum* Populations in the Ryukyu Archipelago and Taiwan. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science* 82(3): 234-241. 2013.

〔学会発表〕(計6件)

(1) Narges Mojtahedi・増田順一郎・比良松道一・尾崎行生・大久保敬. Expression of ABA-related genes and its relation to bulb dormancy in *Lilium longiflorum* and *L. formosanum*. 平成25年度園芸学会春季大会. 2013.03.

(2) Mojtahedi N.・比良松道一・大久保敬. 球根休眠の程度が異なるタカサゴユリとテッポウユリのF₁の成長様式. 平成24年度園芸学会秋季大会. 2012.09.

(3) Mojtahedi N.・増田順一郎・比良松道一・大久保敬. テッポウユリの一年生実生における球根休眠に対する生育温度と日長の影響. 平成24年度園芸学会秋季大会. 2012.09.

(4) Mojtahedi N., Masuda J., Hiramatsu, M. and H. Okubo. Role of High Temperature on Dormancy Induction and Release in One Year Old Seedlings of *Lilium longiflorum* Populations of the Ryukyu Archipelago. Xth International Symposium on Flower Bulbs and Herbaceous Perennials. 2012.03.

(5) Mojtahedi N., Masuda J., Hiramatsu, M. and H. Okubo. Latitudinal Variation of Bulb dormancy and Early Flowering Ability in *Lilium longiflorum* and *Lilium formosanum* Populations of the Ryukyu Archipelago and Taiwan. Xth International Symposium on Flower Bulbs and Herbaceous Perennials. 2012.03.

(6) Narges Mojtahedi・比良松道一・増田順一郎・大久保敬. Variation of summer bulb dormancy in *Lilium longiflorum* and *Lilium formosanum* populations along latitude in the Ryukyu archipelago. 平成22年度園芸学会秋季大会. 2011.09.24.

〔図書〕(計1件)

(1) M. Hiramatsu, S. Sakazono, J. Masuda and H. Okubo. Evolution of Early Flowering Ability in *Lilium formosanum* from Its Progenitor *L. longiflorum*. In "Floriculture and Ornamental Biotechnology vol.5 Special Issue; Bulbous Ornamentals" (eds. J. Van Tuyl, P. Arens), pp.21-27. Global Science Books, UK. 2012.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

比良松 道一 (HIRAMATSU MICHIKAZU)
九州大学・持続可能な社会のための決断科学
センター・准教授
研究者番号：30264104