

ツツジ園芸品種における花器形態変異の解析

小林 伸雄, 中務 明

目 的

ツツジ園芸品種には野生種から選抜された花器形態変異が数多く集積しており, これらには品種名が与えられ, 栄養繁殖により江戸時代から現在まで維持されている。江戸時代より作出されてきたツツジ品種やその関連遺伝子を育種利用するために, 花器変異品種の収集と変異構造の解剖観察ならびに花器形態形成に関わる MADS-box 遺伝子の単離と器官特異的発現の解析を行った。

材料と方法

・植物材料

B および C クラス MADS-box 遺伝子の解析のために, 表 1 および表 2 に示すツツジ野生種および園芸品種を収集した。

・B および C クラス MADS-box 遺伝子の単離

正常花‘大紫’の花弁 (whorl 1) および雄ずい (whorl 3) から Hot Borate 法により全 RNA を抽出した。B クラス MADS-box 遺伝子単離には MADS-box 領域 (ENSSN) と PI motif (QPNQPN) を, また C クラス MADS-box 遺伝子単離には MADS-box 領域 (EYANN), (TQYYQ) と AG motif (LQVNG) をもとにそれぞれ縮重プライマーを作製した。RT-PCR もしくは nest-PCR を行い, TA クローニング後に塩基配列を決定した。アミノ酸に翻訳後, Clustal W によりアラインメントし, Treeview により系統樹を作成した。加えて whorl 1 変異花のクルメツツジ‘暮の雪’花弁から RNA を抽出し, B クラス MADS-box 遺伝子をク

ローニングした。

・B クラス MADS-box 遺伝子の発現解析

正常花‘大紫’と whorl 1 変異花クルメツツジ‘暮の雪’の 4 つの whorl (がく, 花弁, 雄ずい, 雌ずい) から Hot Borate 法により全 RNA を抽出した。ツツジ PI ホモログに特異的なプライマーを作製し, RT-PCR による発現解析を行った。

結果と考察

・植物材料の収集と変異構造の解剖観察

B クラス MADS-box 遺伝子の正常花としてサタツツジ, ヤマツツジ, クルメツツジ; ‘若楓’, ‘裾濃の糸’, ‘新常夏’, whorl 1 が花弁化した変異花としてヤマツツジ二重, クルメツツジ; ‘暮の雪’, ‘宮城野’, ‘今猩々’, ‘麒麟’, ‘水の山吹’, 木口ハイブリッド‘かほり’を収集した (表 1)。

C クラス MADS-box 遺伝子の正常花として‘大紫’, サタツツジ, モチツツジ, キシツツジ, チョウセンヤマツツジ, サツキ‘大盃’, whorl 3 と 4 が花弁化した変異花として‘千重大紫’, サタツツジ‘千重’, モチツツジ‘駿河万葉’, キシツツジ‘藤万葉’, チョウセンヤマツツジ‘淀川’, サツキ‘紅万重’を収集した。C クラス MADS-box 遺伝子の変異では whorl 3 と 4 に花弁が形成されるが, ‘千重大紫’, ‘駿河万葉’, ‘藤万葉’では一部不完全な花弁化が観察された (表 2)。

表 1 B クラス MADS-box 遺伝子解析に用いた植物材料とその花器構造

	品種	whorl				
		1	2	3	4	
正常花	ヤマツツジ	がく	花弁	雄ずい	雌ずい	
	サタツツジ	がく	花弁	雄ずい	雌ずい	
	クルメツツジ	‘若楓’	がく	花弁	雄ずい	雌ずい
		‘裾濃の糸’ ‘新常夏’	がく	花弁	雄ずい	雌ずい
変異花	ヤマツツジ	二重	花弁	花弁	雄ずい	雌ずい
	クルメツツジ	‘暮の雪’	花弁	花弁	雄ずい	雌ずい
		‘宮城野’	花弁	花弁	雄ずい	雌ずい
		‘今猩々’	花弁	花弁	雄ずい	雌ずい
		‘麒麟’	花弁	花弁	雄ずい	雌ずい
		‘水の山吹’	花弁	花弁	雄ずい	雌ずい
		木口ハイブリッド	‘かほり’	花弁	花弁	雄ずい

表2 Cクラス MADS-box 遺伝子解析に用いた植物材料とその花器構造

	品種	whorl			
		1	2	3	4
正常花	‘大紫’	がく	花弁	雄ずい	雌ずい
	サタツツジ	がく	花弁	雄ずい	雌ずい
	モチツツジ	がく	花弁	雄ずい	雌ずい
	キシツツジ	がく	花弁	雄ずい	雌ずい
	チョウセンヤマトツジ	がく	花弁	雄ずい	雌ずい
	サツキ	がく	花弁	雄ずい	雌ずい
変異花	‘千重大紫’	がく	花弁	花弁 ¹⁾	花弁
	‘千重’	がく	花弁	花弁	花弁
	‘駿河万葉’	がく	花弁	花弁	花弁 ²⁾
	‘藤万葉’	がく	花弁	花弁	花弁 ³⁾
	‘淀川’	がく	花弁	花弁	花弁
	‘紅万重’	がく	花弁	花弁	花弁

1) 稀に雄ずい、2) まれに雌ずい、3) 一部がく化

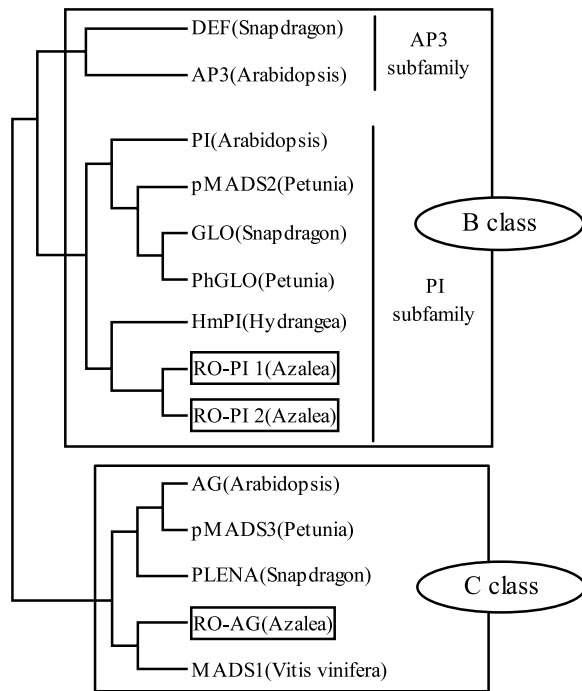


図 1. B および C クラス MADS-box 遺伝子の系統樹分析

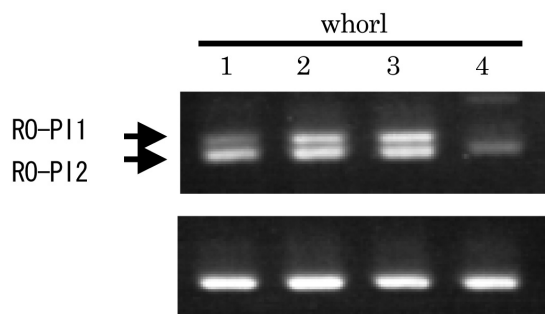


図 2. RT-PCR による RO-PI 1 と RO-PI 2 の発現解析。
(上段) 正常花 ‘大紫’
(下段) whorl 1 変異花 ‘暮の雪’

・ B および C クラス MADS-box 遺伝子の単離

‘大紫’の花弁から2種のPIホモログ(529bp, 541bp)と1種のAGホモログ(295bp)を単離した。これらの遺伝子はPIおよびAGサブファミリーに特異的な配列を持ち、系統樹分析によりPIおよびAGのクラスターに分類されたので(図1)、長いPIホモログをRO-PI1, 短いPIホモログをRO-PI2, RO-AGと命名した。クルメツツジ‘暮の雪’からはRO-PI1により近い配列が得られた(532bp)。しかしながら、BクラスMADS-box遺伝子にはさらにAP3サブファミリーが存在することが知られており、今後の詳細な発現解析のため新たに単離する必要がある。

・ RO-PI の発現解析

‘大紫’ではRO-PI1は主にwhorl2と3で強く発現し、whorl1でも検出できた(図2)。また、RO-PI2は全てのwhorlで発現していたが、whorl4では弱かった。whorl1変異花‘暮の雪’ではRO-PI1の特異的プライマーのみ増幅し、全てのwhorlで強く発現していた(図2)。単子葉植物のチューリップで提唱されている改変ABCモデルと同様にwhorl1でBクラスMADS-box遺伝子が強く発現していたことは、双子葉植物のツツジにおいてもこのモデルを支持する。

参考文献

1. 中務明, 柴史子, 小林伸雄, ツツジにおけるクラスB遺伝子の単離と解析. 育種学研究6別2(2004)95.
2. 平井雅代ら, チューリップ viridiflora 品種におけるBクラス遺伝子の構造および発現解析. 園学雑73別2(2004)272.