

ツツジにおける花器形態関連 DNA マーカーの開発

中務 明・小林伸雄

目 的

我が国に自生するツツジ科ツツジ属植物のうち特にツツジ亜属の野生種からは江戸時代より数多くの園芸品種が作出されてきた。その中には二重咲き（がく片の花弁化）や八重咲き（雄ずい・雌ずいの花弁化）あるいは開花後に花冠が緑化する特性（見染性）のような特殊で有用な花器形態変異が存在するが、これらの花器形質に関する遺伝情報はほとんど得られていない。我々はこれまで花器形態形成に関わる MADS 遺伝子の解析を進め、B クラスの *RoPI*, *RoAP3* と C クラスの *RpAG* を単離し、これらの形質と発現パターンについて研究を進めている。本研究では野生種と園芸品種を研究材料として八重咲きや見染性形質発現と関連する遺伝子同定ならびに DNA マーカーの作成を目的とする。

材料と方法

1. 八重咲き品種の解析

一重咲きのキシツツジ、リュウキュウツツジ‘白琉球’、サツキ‘大盃’、それらの八重咲き品種であるキシツツジ‘藤万葉’、リュウキュウツツジ‘白万葉’、サツキ‘紅万重’の1種5品種を供試した。DNA 分析にはキシツツジ野生種13個体も供試した。発現解析は着色前の蕾と開花直後の花器官（がく片・花弁・雄ずい・雌ずい）から Hot Borate 法により全 RNA を抽出し、cDNA を合成して *RpAG* 特異的プライマーを用いて花器官別に RT-PCR を行った。DNA 分析はツツジの新葉から改良 CTAB 法により DNA を抽出し、*RpAG* 特異的プライマーを用いて PCR を行った。PCR 増幅産物は電気泳動を行い、バンドの有無や大きさの違いを検出した。

2. 見染性品種の解析

一重咲きのモチツツジ、ヤマツツジ、それらの見染性品種であるモチツツジ‘胡蝶揃’、ヤマツツジ‘日光見染’の2種2品種を供試した。発現解析と DNA 分析の方法は *RoAP3* のプライマーを用いて上記と同様に行った。

結果と考察

1. 八重咲き品種の解析

蕾と開花後の花器官における *RpAG* の発現解析の結果、1種2品種の一重咲きツツジでは雄ずい・雌ずいで発現が認められたが、八重咲き3品種では発現が検出できなかつ

た。DNA 分析の結果、*RpAG* はリュウキュウツツジ‘白琉球’、サツキ‘大盃’では1400と1600bpのバンドが増幅したが、八重咲き品種のリュウキュウツツジ‘白万葉’、サツキ‘紅万重’はいずれか一方しか増幅しなかった。しかしキシツツジ野生種の一重咲き個体間でバンド増幅に差異があったため、*RpAG* の増幅領域と八重咲き形質に一定の傾向は認められなかった。八重咲き形質と関連する増幅領域を検討する必要があることが示唆された。

2. 見染性品種の解析

蕾と開花後の花器官における *RoAP3* の発現解析の結果、ヤマツツジではすべての花器官で発現したが、ヤマツツジ‘日光見染’では全く発現が認められなかった。モチツツジとモチツツジ‘胡蝶揃’では発現パターンに違いは認められなかった。DNA 分析の結果、*RoAP3* はモチツツジ、ヤマツツジおよびモチツツジ‘胡蝶揃’では130bpのバンドが増幅した。ヤマツツジ‘日光見染’では増幅が認められなかった。以上の結果より、ヤマツツジ‘日光見染’は今回増幅した *RoAP3* の DNA 領域においてヤマツツジと DNA 構造に違いがある可能性が考えられる。今後、この増幅領域を利用した見染性品種を識別できる DNA マーカーの開発を進めていきたい。

参考文献

1. 小林伸雄・石原美香・中務 明・赤羽 勝. 2006. 園芸品種における見染性（花冠持続）形質の評価と育種利用. 園学雑. 75 別 1: 180.
2. Kobayashi, N., Ishihara, M., Ohtani, M., Cheon, K.S., Mizuta, D., Tasaki, K. and Nakatsuka A. Evaluation and application of flower long-lasting trait (misome-sho) of azalea cultivars. 23rd EUCARPIA SYMPOSIUM Leiden, Netherlands, Sep. 2009
3. 小林伸雄・中務 明. 2005. ツツジ園芸品種における花器形態変異の解析. 島根大学生物資源科学部研究報告 10: 64-65.
4. 大谷雅宜・中務 明・小林伸雄. 2007. ツツジ品種における B クラス MADS-box 遺伝子の発現による花器官構造の変異. 園学研. 6 別 1: 458.