

常緑性ツツジにおける花器形態の形質評価と関連遺伝子の解析

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。その中には開花後に花冠が緑化し持続する“見染性”や花冠裂片が基部まで深く裂け、ときに蕊状に変化する“采咲き”と呼ばれる特殊で有用な花器形態変異が存在する。しかしながらこれらの花器形質評価や遺伝解析はほとんど行われていない。また花器官形成については、3つのMADS-box遺伝子(A・B・Cクラス)の組み合わせによって決定されるABCモデルがシロイヌナズナで提唱されており、がくはAクラスの遺伝子のみ、花弁はAとBクラスの遺伝子によって生じることが知られている。我々はこれまで本邦のツツジ園芸品種に蓄積している二重咲き(がくの花冠化)や八重咲き(雄ずい・雌ずいの花冠化)および見染性品種をはじめとする花器形態変異の機構解明と育種利用を目的に、花器形態形成に関わる遺伝子の単離と発現解析を進めてきた(石原ら, 2007; 小林ら, 2006; 小林・中務, 2005; 中務・小林, 2009)。本研究では見染性や采咲き形質をもつ園芸品種を研究材料として、MADS-box遺伝子発現解析と詳細な形態調査を行ない、野生種と比較した。

材料と方法

1. 見染性品種の解析

正常花のヤマツツジ, モチツツジ野生種とサツキ‘大盃’, 見染性品種のヤマツツジ‘日光見染’, モチツツジ‘胡蝶揃’, サツキ‘長寿宝’およびハンノウツツジ‘天城紅長寿’の2種5品種を実験に供試した。

[形質調査] 花冠の大きさの計測・SUMP法による花冠表面の気孔密度調査および花冠基部の離層形成観察を行った。開花期間は野生種と見染性品種の間で観察・比較した。ヤマツツジ‘日光見染’は開花後の花色変移を測色計で調査した。

[発現解析] 開花した花をwhorl毎にサンプリングを行い, RNA抽出・DNase処理およびcDNA合成を行った。各MADS-box遺伝子に特異的なプライマーを用い, RT-PCRによる発現解析を行った。

2. 采咲き品種の解析

[形質調査] モチツツジ野生種およびその采咲き品種‘花車’, ‘銀の麿’, ‘青海波’の1種3品種を供試した。

形態調査: 調査項目は花弁長, 花弁幅, 萼片長, 萼片幅, 葉長, 葉幅, 花糸長, 花柱長, および花糸数とした。花器官は開花期に, 葉長, 葉幅は新梢に展開した夏葉が成熟した時期に測定した。葉脈観察: 実体顕微鏡を用いて葉の背軸面の葉脈をSUMP法により観察した。表皮細胞観察: 光学顕微鏡を用いて花弁, 萼片, 葉の中肋を除く向軸面, 背軸面の側部領域における表皮細胞を観察した。これらの観察はSUMP法に従った。表皮細胞の大きさは単位面積当たりの細胞数から概算した。花粉観察: 1%酢酸オルセインによる花粉染色後, 顕微鏡下で花粉染色率を調査した。

[遺伝子単離] 通常花‘千重大紫’の頂端分裂組織からRNA抽出を行った。cDNA合成後に転写因子WUSCHELの保存領域から作成した縮重プライマーを用いてRT-PCRを行った。PCR産物はTAクローニング後に配列決定した。

結果と考察

1. 見染性品種の解析

[形質調査] 見染性品種では, 正常花と比べて全般的に花冠が小さかった。また, 正常花ではモチツツジを除いて花冠には気孔が認められなかったが, すべての見染性品種は花冠の背軸面に気孔を持っていた。開花期間は, 見染性品種ではいずれも株当たり100日以上持続し, 花冠基部に離層は観察されなかったが, 正常花では開花後離層が発達し, 20日程度で終了した。ヤマツツジ‘日光見染’は花冠を開花後221日まで維持し, その花色はピンクから緑へ変化した。以上の結果より, 長い開花期間や花色の変異を有する見染性形質を評価できた。現在, 交配実生からの個体が開花しており形質の遺伝性調査を進めている(Kobayashi et al., 2010)。

[発現解析] 正常花の野生種および園芸品種では, シロイヌナズナのABCモデルから予想される領域でそれぞれの遺伝子が発現していたが, 個々の発現パターンは正常花のツツジ間では一致しなかった。サツキ‘長寿宝’ハンノウツツジ‘天城紅長寿’はBクラス遺伝子*RoAP3*が全てのwhorlで発現しておらず, ヤマツツジおよびモチツツジ見染性品種を含め, 花冠緑化にはこの発現消失が関係していると考えられた。以上の結果から, 常緑性ツツジにおいて花器形態変異には共通の遺伝子が関係していることが示唆される(中務ら, 2010)。

2. 采咲き品種の解析

[形質調査] ツツジは通常、合弁花冠であるのに対し、すべての采咲き品種は離弁花冠を形成していた。器官の大きさは、采咲き品種の花弁幅と葉幅が野生種に比べ縮小していたが、花弁長、葉長に大きな差はみられなかった。‘花車’と‘青海波’では、花弁、葉、および萼片の狭細化がみられた。‘青海波’ではブロッチを持つ花弁と対称的な位置にある1片の萼片長が短小化し、また、雌ずいが5つに裂けたものや、短小化したものもみられた。葉の背軸面の葉脈は、采咲き品種の側脈形成が野生種よりも少ない傾向がみられ、‘青海波’では側脈の形成がなく、細脈のみ観察された。一方、表皮細胞の大きさは、采咲き品種と野生種の間大きな差異はみられなかった。花粉染色率は、野生種と今回実験に用いた全品種において100%を示した。以上の結果から、采咲き品種の花弁と葉の狭細化の要因は細胞の縮小ではなく、これら器官の縁方向への細胞数の減少によるものと推察された。また、萼片幅においても‘花車’と‘青海波’で細くなっていたことから、狭細化する形質は花弁、葉、萼片などの側生器官で同調して現れるものと考えられる。

正常な雌雄ずいを有する‘青海波’を用いた交配ではF₁実生が得られており、今後は、これらを用いて采咲き形質の遺伝性調査を行なう予定である(田崎ら, 2010)。

[遺伝子単離] 采咲き形質の原因遺伝子の候補として、WOX (WUSCHEL related homeobox) 遺伝子の部分配列を単離した。約500bpの塩基配列はシロイヌナズナやペチュニアと比較して、約70%の相同性を示した。現在、

全鎖長の単離および発現解析を進めている。

引用文献

1. 石原美香・田崎啓介・中務 明・小林伸雄. (2007) 園芸品種における采咲き形質の育種利用を目的にした評価. 園学研. 6別2:575.
2. 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.
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. 中務 明・小林伸雄. (2009) ツツジにおける花器形態関連DNAマーカーの開発. 島根大学生物資源科学部研究報告14:58.
5. Kobayashi, N., Ishihara, M., Ohtani, M., Nakatsuka, A., Cheon, K.S, Mizuta, D. and Tasaki, K. (2010) Evaluation and application of the long-lasting flower trait (Misome-sho) of azalea cultivars. Acta Hort. 855, 165-168.
6. 中務 明・古賀美紗都・大谷雅宜・千 慶晟・小林伸雄. (2010) 常緑性ツツジの花器変異に関連するMADS-box遺伝子の発現解析. 育種学研究12別1:296.
7. 田崎啓介・千 慶晟・中務 明・小林伸雄. (2010) モチツツジ系采咲き品種の形態観察と形質の遺伝性. 園学研. 9別1:405.