

(様式第3号)

学 位 論 文 要 旨

氏名: 田崎 啓介

題目: 常緑性ツツジにおける采咲き・蕊咲き品種の形態および形態形成関連遺伝子に関する研究

(Studies on the morphology of narrow- and staminoid-petaled flower cultivars and its related genes in evergreen azalea)

日本にはツツジ亜属のヤマツツジ節の常緑性ツツジが自生し、これらをもとに江戸時代より数多くの園芸品種が作出され、複数の園芸品種群が発達した。また、ヤマツツジやモチツツジなどの常緑性ツツジでは、珍奇な花や葉を觀賞する日本独自の園芸文化によって、多様な形態変異を有した園芸品種が古くから保存されてきた。近年、そのような形態変異は育種素材として見直されているが、一方で形態形成に関連する遺伝子を解析するためのバイオリソースとしても有用と考えられる。そこで本研究では古くから保存されてきた園芸品種にみられる離弁花冠化変異形質の采咲き、および蕊咲き形質に着目して、形態解析、遺伝性調査、ならびに関連遺伝子の解析を行なった。

1. 常緑性ツツジにおける采咲きおよび蕊咲き形質の形態的特徴

モチツツジ、ヤマツツジおよびサツキの離弁花冠化変異品種を用いて花器官および葉の形態解析を行なった結果、以下のような2つの特徴的なグループに大別できた。

蕊化変異形質を有するグループは、雄ずい様花卉および未熟な葯のついた花卉、あるいは雄ずい様花糸の表皮細胞が変異した花卉に観察されたことから、モチツツジ‘銀の磨’、ヤマツツジ‘かがりび’および‘金蕊’、サツキ‘金采’が分類された。‘銀の磨’、‘かがりび’および‘金蕊’は、これらの変異は花器官のホメオティック変異と推察された。

多面的狭細化変異形質のグループは、葉および花卉が狭細化し、がく片の狭細化および消失、花柱の僅かな裂開あるいは完全な裂開が認められたモチツツジ‘青海波’、ヤマツツジ‘錦孔雀’が分類された。こられの変異は、相同器官の横軸方向への発達に変異と推察された。

一方、モチツツジ‘花車’およびサツキ‘オタクミツツジ’は、花卉に蕊化の痕跡はなく、‘花車’は正常な雌ずいを、‘オタクミツツジ’は正常ながく片を形成していたことから、上記以外のグループとした。

2. 交配能力と遺伝性の調査

様々な離弁花冠化変異品種を用いて交配試験を行い、全ての品種は、種子親あるいは花粉親として交配に利用できることを明らかにした。ヤマツツジ‘錦孔雀’はその花柱の奇形のために受精できず、種

子親としては利用できなかった。

クルメツツジ‘若楓’およびベルジアンアザレア‘アンブローシヤス’を種子親に用いた‘錦孔雀’の戻し交配系統 T10003 および T10006、および T07004A (キシツツジ野生種×‘錦孔雀’)と‘青海波’の正逆交配系統 T10002 および T10007 の実生は、普通葉:狭細化葉が1:1に分離した。(‘青海波’×‘錦孔雀’)の交配系統 T07011 は全ての実生が狭細化葉を有していた。この結果から、‘青海波’と‘錦孔雀’は共通する側出器官発達に関連する遺伝子の変異であることを示した。

3. MADS-box C クラス遺伝子の発現解析

ヤマツツジおよびモチツツジの蕊化花卉を有する品種における MADS-box の発現パターンを確認するために MADS-box C クラス遺伝子の単離を行った。得られた遺伝子、*RkAG1-1/-2* は AG モチーフを高く保存し、*PLE* リンケージに分類された。両種の野生種における *RkAG* の強い発現は whorl 3 および 4 に認められ、whorl 2 には認められなかった。一方、蕊化花卉を有するヤマツツジ‘金蕊’、‘かがりび’およびモチツツジ‘銀の磨’は whorl 2 に強い発現が認められた。この結果は、形態解析による蕊化変異の推察を支持すると共に、*RkAG* は C 機能を有することが示唆された。一方、モチツツジ‘花車’および‘青海波’、そしてヤマツツジ‘錦孔雀’では whorl 2 における *RkAG* の強い発現は認められなかったことから、これらの品種は MADS-box 遺伝子以外の因子が離弁花冠形成に関与していると考えられた。

4. *WOX1*、*WOX3* および *ASI* 遺伝子の解析

多面的狭細化変異形質の原因を明らかにするために、その候補とされる器官発達に関与する遺伝子のオーソログ、*RkWOX1* および *RkWOX3* をヤマツツジから単離し、解析を行なった。いずれもオーソログに共通した特徴的なモチーフを保存していた。これら遺伝子の茎頂分裂組織における発現解析では、野生種で *RkWOX3* 遺伝子の強い発現が認められたが、ヤマツツジ‘錦孔雀’および T10006S 系統には認められなかった。‘錦孔雀’の *RkWOX3* のゲノム DNA の配列解析では、イントロンを含む約 1000bp の領域が、本実験で用いたプライマーでは増幅されなかった。‘青海波’では *RkWOX3* の強い発現が認められたが、cDNA の塩基配列には 4 塩基の挿入がみられ、推定アミノ酸配列にはフレームシフトによるストップコドンが確認された。おそらくこの領域に何らかの変異が生じていると考えられる。この結果から、ツツジにおける多面的狭細化変異形質は *RkWOX3* の機能欠損によって引き起こされると考えられた。

日本において古くから保存されてきたツツジ園芸品種を用いた解析により、ツツジの形態形成とその関連遺伝子についての知見が得られた。本研究の結果は、そのような古い園芸品種の遺伝資源、およびバイオリソースとしての重要性を示唆するものである。