

ホルクロルフエニユロン (CPPU) 処理による トレニアの花の形態変化

農業・食品産業技術総合研究機構 花き研究所 西島隆明

なぜ花形の研究か？

人が花を見て美しいと感動するとき、そして「これはバラの花だ」とか、「これはアサガオの花だな」と花の種類を判別するとき、何を基準にしているのだろうか？ この問いに関しては、色、香り、形、大きさなど、様々な答えが思い浮かぶ。これらの答えは、どれもが正解であろう。しかし、人間が花を見たときの印象、そして、どの種類の花かを判別するとき、最も重要な性質は、形と大きさではないかと思う。図-1を見てほしい。これは、カーネーションの野生種と現代の品種の花を比較したものだが、これを見て同じカーネーションだと即座に判断する人はほとんどいないと思う。それほどにわれわれは、右側の花がカーネーションであるというイメー

ジを強く持っている。さらに、左側の花も清楚な美しさを持つものの、大部分の人は、右側の花の方をよりインパクトのある魅力的な花と感じるのではないだろうか？

ところで、両者の最大の違いは何か？それは、形と大きさであることが一目瞭然である。こう考えると、形と大きさの重要性が実感できる。

カーネーションの花の場合、野生種では直径1～2cmの一重咲き、対して現代の品種はほとんどが装飾的な形である八重咲きで、直径8cmにも達する大輪の品種が数多く存在する。もし、カーネーションの花の形と大きさが野生種のままであったならば、他の要素がいかに魅力的になっても、ここまで生産量の多い重要な花きにはならなかったであろう。園芸花きにおけるこ

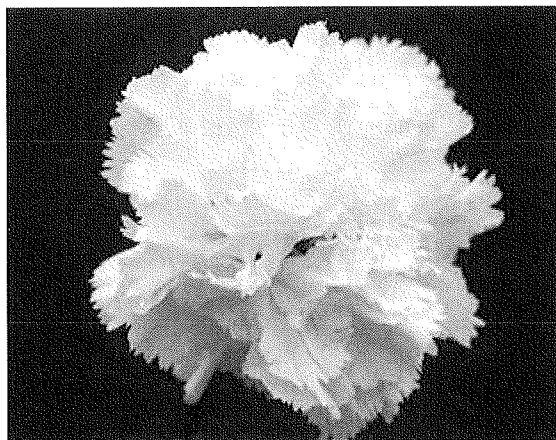
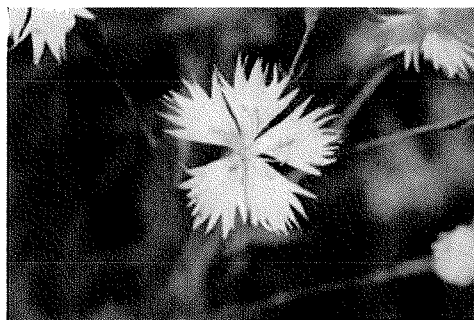


図-1 カーネーション (*Dianthus caryophyllus* L.)の野生種(左)と現代の品種(右)の花

のような花の形と大きさの変化は、キク、バラなど、他の主要な花きにも共通して見られる。このことを逆に考えれば、花形が装飾的に、しかも大輪になったものが主要な花きに発展したと言える。一方で、花の形や大きさに大した変異が生じないまま、主要な位置を占めるに至っていない品目も相当多く存在する。もし、花の形や大きさを改良する効果的で効率的な方法が見つければ、これらの品目の観賞性を高め、新たな主要品目を生み出すことに繋がるかもしれない。時間がかかる研究ではあるが、花の形や大きさを研究する園芸的な意味は、こういうところにあるのだと考えている。

花形研究の流れ

双子葉植物の花は、基本的に、がく、花弁、雄ずい、雌ずい（心皮）の4つの器官が、基部から頂部に向かって順番に花托上に発生することによって構成されている。このような器官の発生を制御する機構として、1991年に、いわゆるABCモデルがCoenらによって提唱された（図-2）。このモデルでは、花芽の基部から順番にそれぞれAクラス、Bクラス、Cクラスのホメオティック遺伝子が発現し、Aクラス遺伝子だけが発現している領域にはがく片が、Aクラス遺伝子とBクラス遺伝子が重複して発現している領域には花弁が、Bクラス遺伝子とCクラス

遺伝子が発現している領域には雄ずいが、Cクラス遺伝子だけが発現している領域には雌ずいが形成されるというものである。変化アサガオを用いた研究によれば、突然変異でCクラス遺伝子の機能が低下すると、Aクラス遺伝子の発現が本来のCクラス遺伝子の発現領域にまで広がることにより、雄ずいが花弁化し、八重の花になる（Nitasakaら2003）。

一方で、園芸植物の花の八重化には、雄ずいの花弁化とは異なった機構で生じているものも多い、その代表的なもののひとつは、花弁、雄ずいともに数が増えるものである。モデル植物のアラビドプシスでは、頂端分裂組織の大きさの制御に関するCLAVATA遺伝子の機能喪失によってこのような変異が起こることが知られている（Clark et al. 1993, 1995, Kayes and Clark 1998）。この他、八重化ではないが装飾的な花形を生じさせる要因として、スイセンの花のいわゆるラッパの部分やトケイソウの花の細い放射状の器官に見られるように、本来の花弁に重なるように生じる副花冠の発生があげられる。副花冠は、雄ずいの托葉や花托が発達したものであり、スイセンやトケイソウの花の形を特徴づける要素としてなくてはならないものだが、その発生機構は解明されていない。また、花きにおいて、副花冠を持つものはごく限られた種類のみであるため、もしも副花冠の発生を誘導する方法が明らかになれば、多くの花きで新たな花形が得られることになる。

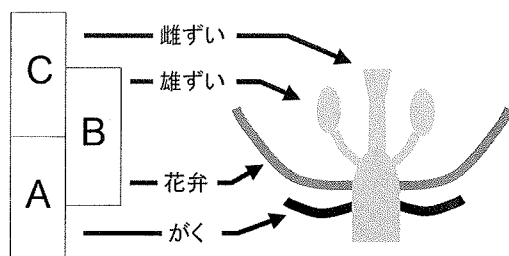


図-2 双子葉植物の花の基本構造とABCモデル

CPPU処理はトレニアの花形を変化させる

生理活性物質も花形に影響を及ぼすことが知られているが、研究は少ない。これまでの研究で主なものをまとめると、ピーマンで、ジベレリン処理によって花の各器官の中間的な組織が

発生した例 (Sawhney 1981), キンギョソウで, IAA を与えることによって左右相称花が放射相称花に変化した例 (Bergbush 1999), カーネーションで, BA またはカイネチンが花弁数を増加させた例 (Jeffcoat 1977, Garrod and Harris 1974)。トマトで, ジベレリンの投与により, 花弁数が増加した例 (Sawhney 1983) などが報告されている。一方, アラビドプシスでは, BA の投与によって, 花の各器官の中間的な組織が発生したほか, 器官数の増加, 小花からの新たな小花の発生などが報告されている (Venglat and Sawhney 1996)。

筆者らは, 以前, ペチュニアにサイトカイニン類を与えることにより, 花が著しく拡大することを発見した (Nishijima et al., 2006)。この現象がペチュニアに限らず, 他の植物にも当てはまる普遍的なものであるかどうかを調べるため, トレニアにホルクロルフェニユロン (CPPU) を与えたところ, 予想に反して, 花が

大きくならない代わりに花形が大きく変化し, 計 5 種類の花形を生ずる現象が見いだされた (図-3)。この変化を詳細に調べたところ, 5 種類の花形は, 花弁における鋸歯 (ギザギザ) ならびに欠刻 (基部の切れ込み) の発生, 副花冠の発生, 花弁等の器官数の増加という 4 つの基本的な形態変化の組み合わせによって誘導されていた。これらの花形変化のうち, 鋸歯および欠刻の発生と副花冠の発生は, これまで他の植物で報告されていないものであった。最初は, これらの変化は一種の「奇形」であると思っていたが, その花形が装飾的で美しいこと, また, よく調べてみると, 誘導される花形が CPPU を与えたときの花芽発達ステージに依存して決まっていたことから, これは単なる奇形ではなく, ある一定の規則に従って起こる現象であると考えられるようになった。以下, その変化について詳しく見て行きたい。

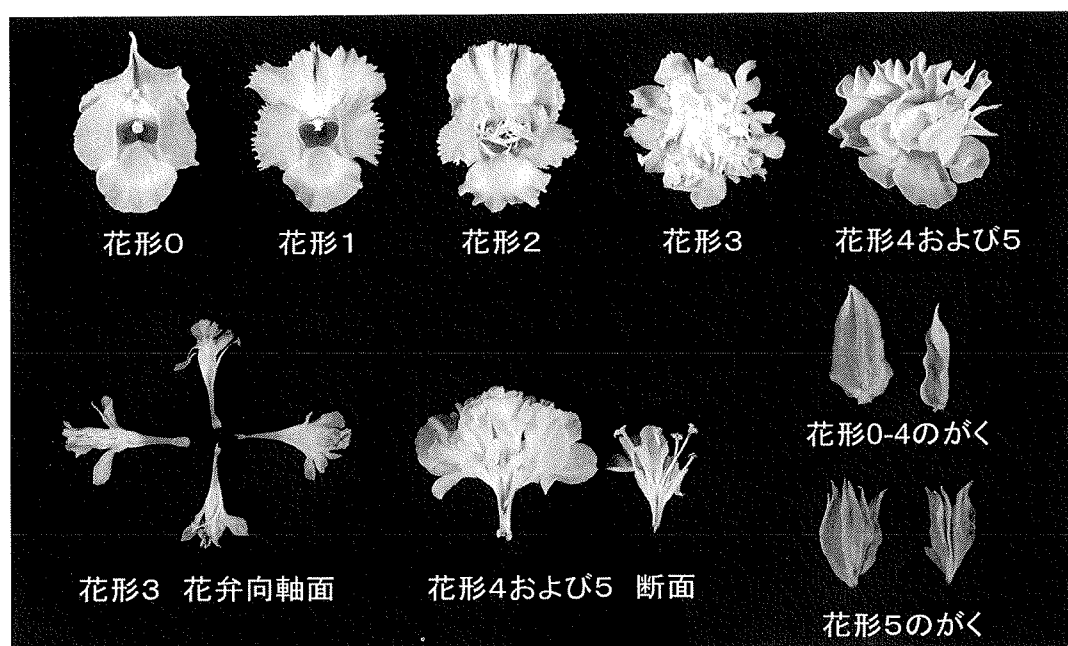


図-3 CPPU 処理によってトレニアに誘導される 5 つの花形
花形 4 と 5 はがく片の数だけが異なる。

CPPU 処理によって誘導される花形

CPPU によって誘導された 5 種類の花形は、次のように定義された (図-3)。つまり、花形 0 はトレニア本来の花形である。これに対して、花形 1 は、花弁周縁に鋸歯が発生した状態である。花形 2 は、花弁周縁に鋸歯が発生するとともに、花弁向軸面に細長い形の副花冠が発生した状態である。花形 3 は、花弁向軸面の副花冠の数が花形 2 に比較して多くなり、花弁に欠刻が生じる。花形 4 は、花弁、雄ずい、雌ずいの数が増加する。花形 5 は、花弁、雄ずいに加え、がく片の数も増加する。

次に、前述した 4 つの基本的な形態変化がどのように組み合わさってこれらの花形ができているかを調べてみた。その結果、花弁周縁の鋸歯は花形 1～2 で発生し、欠刻は花形 3 で発生した。一方、副花冠の発生は花形 2 および 3 で起こり、雄ずい、花弁、がく片などの花器官数の増加は、花形 4 および 5 で起こった。

花形変化に見られる規則性

前述の通り、CPPU 処理によって誘導される花形は、CPPU を与えた時点の花芽の発達ステージによって規則的に決定されていた。それについて詳しく述べる前に、まず、トレニアの花芽発達の過程について見ておきたい。

基本的に、トレニアの花芽発達は、花房の腋部に小花の原基が分化し、その原基にまずがく片が分化した後、花弁、雄ずい、雌ずいがほぼ同時に分化するという順番で進む。少し複雑な話になるが、この過程は 8 つのステージに分類できる (図-4)。まず、小花の原基が分化していない状態、つまり、栄養成長を続ける花序の頂端部をステージ 0 と定義した。ステージ 1 (小花原基分化期) は、花序の腋部に小花の原基が分化し、しかも、まだがく片を分化していない段階である。ステージ 2 (がく片分化期) は、小花原基の周縁にがく片原基が形成された段階である。ステージ 3 (がく片伸長期) は、がく片が

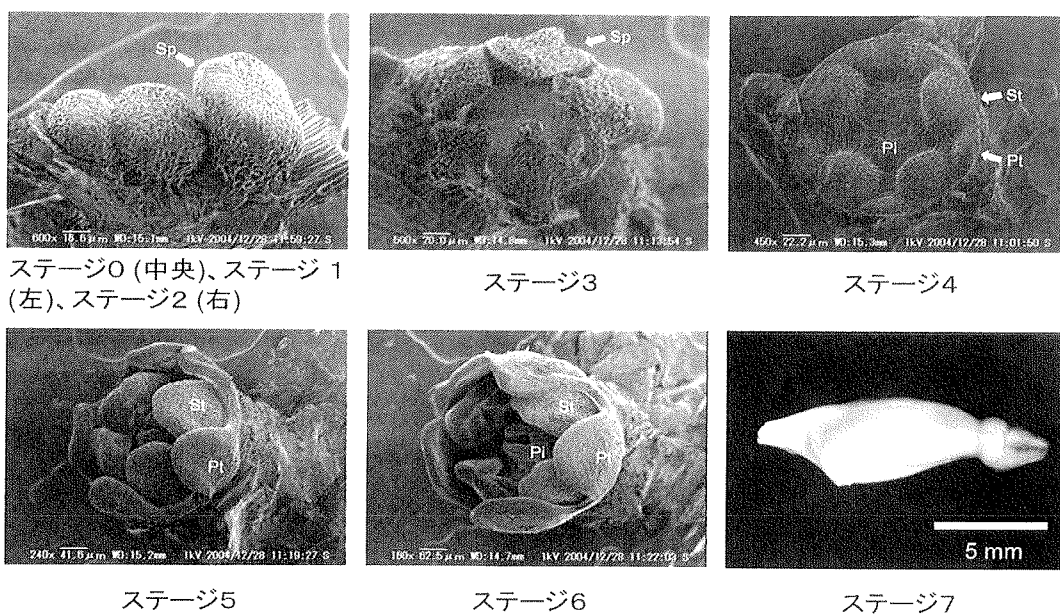


図-4 トレニアの花芽発達の過程
SP: がく片, Pt: 花弁, St: 雄ずい, Pi: 雌ずい

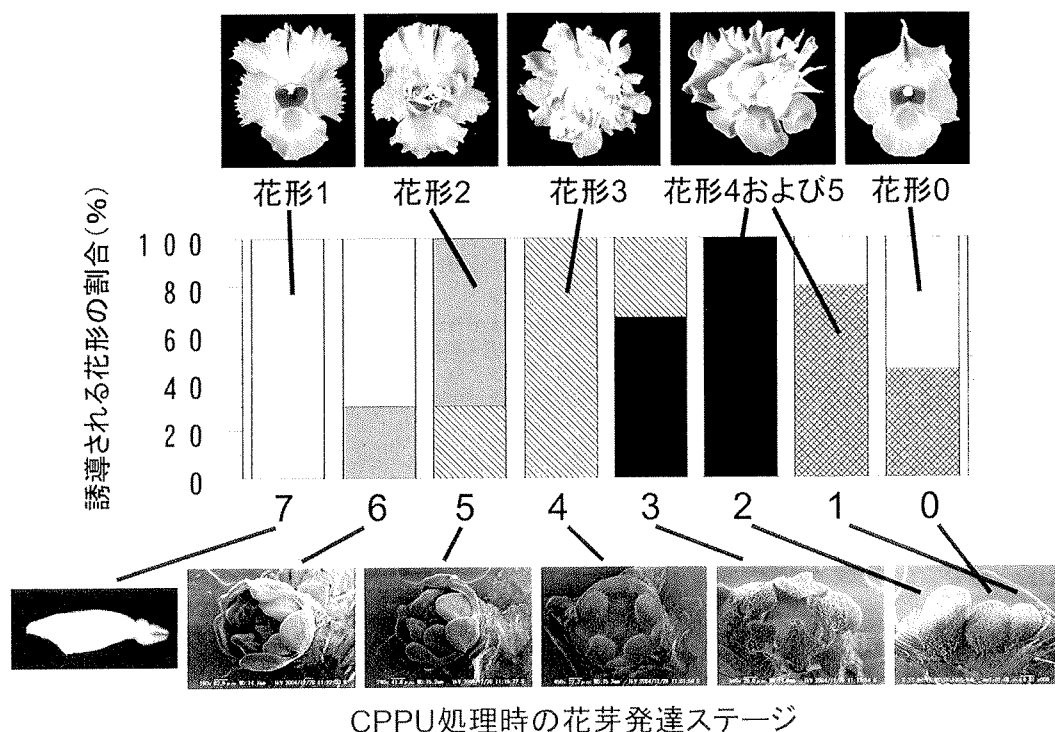


図-5 CPPU処理時の花芽発達ステージと誘導される花形との関係

発達するが、まだ、雌ずい、雄ずい、花弁の原基が形成されていない段階である。ステージ4（雌雄ずい・花弁原基分化期）は、雌雄ずいならびに花弁の原基が分化する段階である。ステージ5（花弁伸長期）は、花弁が伸長するが、まだ花弁の長さが雄ずいよりも短い段階である。ステージ6（花弁伸長前期）は、花弁が雄ずいより長く、縁辺が筒より長い段階である。ステージ7（花弁伸長後期）は、筒が縁辺より長くなり、まだ花弁に着色が見られない段階である。

CPPU処理によって誘導された花形と、処理時の花芽発達ステージとの関係を詳しく調べた結果、花形1はステージ6～7の花芽への処理で発生し、花形2は、ステージ5～6の花芽への処理で発生していた（図-5）。花形3は、ステージ3～5の花芽への処理で発生した。花形4は、ステージ2～3の花芽への処理で発生し、

花形5は、ステージ0～1の花芽への処理で発生した。

この結果をまとめると、花弁の発進が進んだ状態でCPPUを与えると花弁周縁の鋸歯が発生するのに対して、花弁原基が分化する前後から花弁発達のあまり進んでいない段階でCPPUを与えると、より若いステージほど大型の副花冠が発生するとともに、花弁の欠刻が発生する。一方、雄ずい、花弁、がく片が分化する前にCPPUを与えると、これらの数が増加する。

なお、図-3、図-5は、品種‘ドワーフ・ホワイト’にCPPU 3 $\mu\text{mol/L}$ を花房あたり8 μL 処理したときの結果であるが、その誘導は0.1 $\mu\text{mol/L}$ の低濃度でも起こった。またCPPUは、他の品種でも同様に花形変化を誘導した。ただし、他の品種では、副花冠が萎縮して発進が悪いかも認められた。

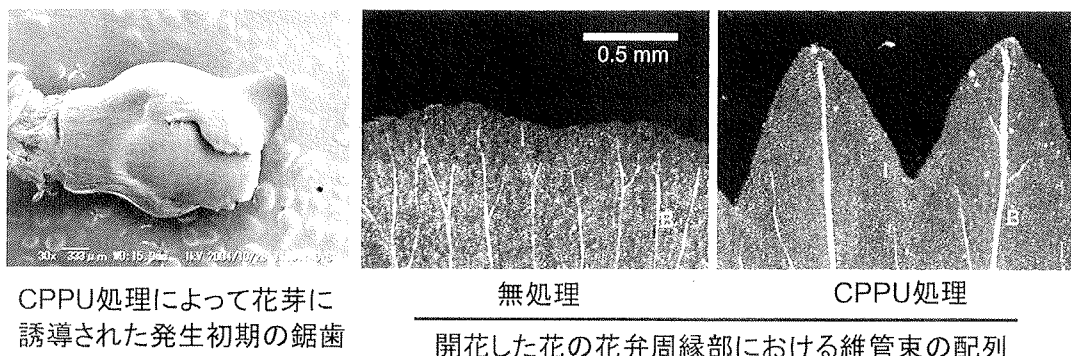


図-6 CPPU処理による花弁周縁部の鋸歯の誘導と維管束(B)の配列パターン

CPPUだけが花形変化を誘導する

興味深いのは、花形変化を誘導するのはCPPUだけで、同じサイトカイニン作用を持つBA, Zeatinは、1000 $\mu\text{mol/L}$ の高濃度でも花形変化を誘導しなかったことである。筆者らが以前、ペチュニアの花の拡大に対する効果を比較した場合、CPPUと同じ効果を得るためには、BAでは約30倍、Zeatinでは約100倍の濃度が必要であった。これに対して、トレニアの花形変化に関しては、CPPUでは0.1 $\mu\text{mol/L}$ の低濃度でも花形変化を誘導したのに対して、BAおよびZeatinでは、実にその10000倍の濃度である1000 $\mu\text{mol/L}$ でも花形変化を誘導しなかった。活性にこれだけの差があると、単にサイトカイニン作用の量的な強さの差ではなく、CPPUに特有の作用の質的な違いが花形変化に関係していることを予想させる。このような質的な作用の違いとして考えられるのは、CPPUのサイトカイニン酸化酵素阻害作用である(Bilyeuら 2001)。この作用により、CPPU処理された植物では、内生サイトカイニンが蓄積する。この内生サイトカイニンの蓄積は、外から与えたサイトカイニンとは異なり、サイトカイニン生合成活性の高い部位で選択的に起こることが予想される。このような部位選択的なサ

イトカイニンの蓄積が花形変化に必要であるのかもしれない。

花形変化の過程

5つの花形変化の構成要素である4つの基本的な形態変化、つまり、花弁における鋸歯(ギザギザ)ならびに欠刻(基部の切れ込み)の発生、副花冠の発生、花弁等の器官数の増加は、どのように誘導されるのか。その過程を追ってみた。

まず、花弁周縁の鋸歯は、CPPU処理から5日後には既に発生が認められた(図-6左)。CPPU処理した花の花弁では、周縁部の維管束の枝分かれが無処理に比較して明らかに少なくなり、分布がまばらになっていた(図-6中央、

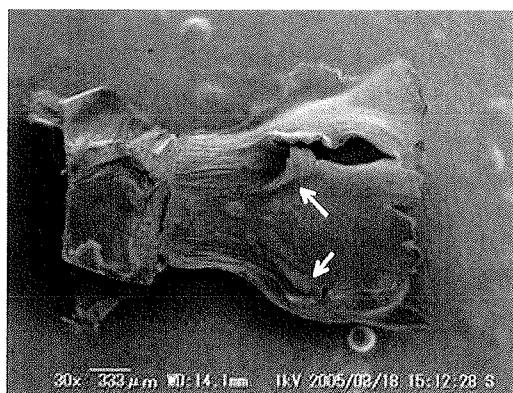


図-7 CPPU処理によって花弁に誘導された発生初期の花弁の欠刻(矢印)

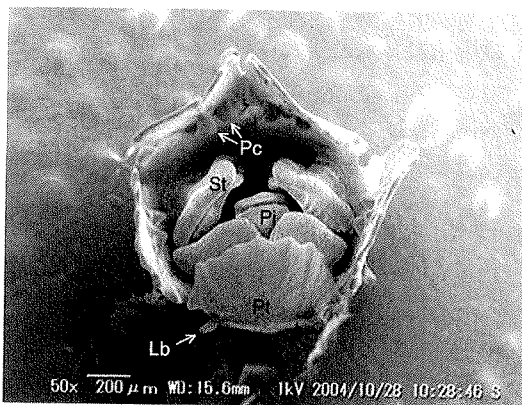
右)。また、維管束の存在する部分が鋸歯の凸部に一致していた。この結果から、鋸歯の形成は、CPPU 処理によって花卉周縁の維管束の枝分かれが阻害されて分布がまばらになることによって起こる現象であると考えられた。

一方、花卉の欠刻は、CPPU 処理から 7 日後には、花卉原基の側部にわずかに発生していた(図-7)。欠刻は、その形成位置から考えて、通常は発達しない花卉の托葉が発達したものと考えられた。

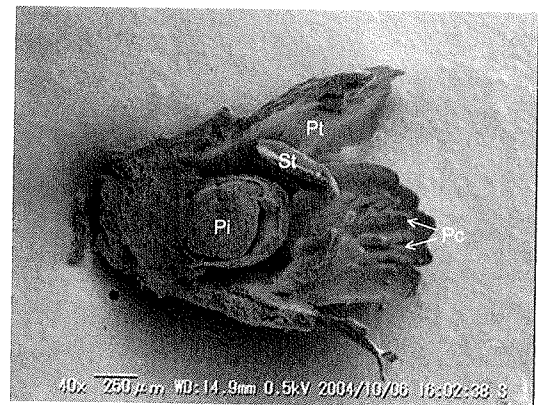
副花冠は、CPPU 処理から 5 日後には、花卉向軸面にその原基が発生していた(図-8)。原基の発生数が少ない場合には、花卉あたり 2 つ

の原基が選択的に発達した(図-8 左)。また、発生数が多い場合には、花卉を縦に 2 分割する中央線の両側の 2 つの領域に集中して発生していた(第 8 図右)。この発生位置は雄ずいの側部に一致するため、副花冠は、通常は発達しない雄ずいの托葉が発達したものであると考えられた。

花卉、雄ずいの数が増加する場合、CPPU 処理から 5 日後には、花芽の著しい肥大が認められた(図-9 左)。CPPU 処理した花芽がステージ 5 になると、本来花卉の形成される位置の原基が雄ずいになり、それより外側に、数多くの花卉の原基が発生していた(図-9 中央)。また、

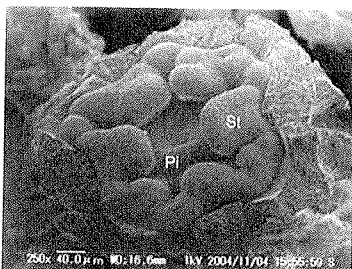


正面

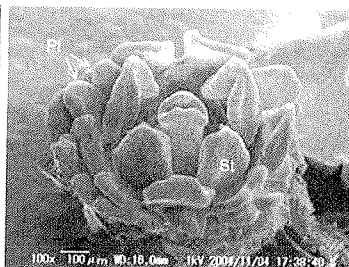


縦断面

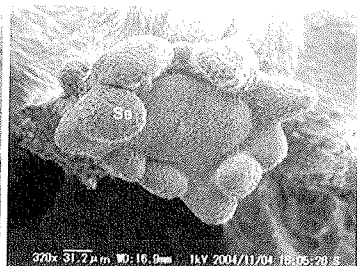
図-8 CPPU 処理によって花芽に誘導された発生初期の副花冠



CPPU 処理により肥大した花芽(ステージ4)



CPPU 処理による雄ずい数および花卉数の増加(ステージ5)



CPPU 処理によるがく片数の増加(ステージ3)

図-9 CPPU 処理による花器官数の増加

Se: がく片, Pt: 花卉, St: 雄ずい, Pi: 雌ずい

がく片数が増加する場合にも (図-9右), それに先だって花芽の肥大が認められた。花芽分裂組織が肥大すると発生する花器官の数が増えることが知られており (Clark et al. 1993, 1995, Kayes and Clark 1998), CPPU 処理による花器官数の増加も同じメカニズムによると考えられた。

今後の展開

CPPU 処理による花形変化は, 新しい現象であるため, 今後, 様々な研究の展開が考えられる。まず, 大きく分けて, 花形変化のメカニズムを追求する基礎研究と, 実用面への展開を考える応用研究の2つの方向性が考えられるであろう。

まず, 基礎研究への展開として最も興味深いのは, CPPU 処理を行った時点での花芽発達ステージに応じて発生する花形が規則的に変化する現象である。この仕組みが分かれば, 花卉周縁の鋸歯や副花冠を計画的に作り出す技術へと繋がるかもしれない。また, 花形変化が CPPU のみで誘導され, BA やゼアチンでは誘導されないことも興味深い。このことから, 前述したように, サイトカイニン酸化酵素の阻害作用が花形変化に必要であることが予想されるが, この予想が正しいかどうかは今後の研究課題である。

一方, 応用面への研究としては, CPPU を与えることによって花形を変化させる技術の開発が考えられる。現在のところ, トレニアでしか花形変化は確認されていないが, 他の花きでも同様の現象が起これば, 実用面に応用できるかもしれない。トレニアの実験では花房の先端部に点滴処理したが, スプレーによる茎葉処理でも同様の花形変化が誘導できる。ただし, この

場合, CPPU 処理時の花芽発達ステージによって誘導される花形が大きく変わるので, 注意が必要である。また, 現在は PA (パブリックアクセス) やコストの面で課題が多いものの, サイトカイニン関連遺伝子の遺伝子組換えによって花形を変化させることも可能であろう。ただし, ねらった花形を得るためには, CPPU による花形変化のメカニズムに関して, かなりの基礎研究を積み重ねる必要があると思われる。

今後, 人々に愛される魅力的な花きの開発に本研究が役立つことを願っている。

謝辞

本研究の遂行にあたってご協力いただいた和歌山県農林水産総合技術センターの島浩二氏, 農業・食品産業技術総合研究機構花き研究所の前田咲子氏, 本郷八重子氏, 黒部知子氏に感謝いたします。この記事および図表の一部は, *Scientia Horticulturae* (Elsevier社) に掲載された著者らの原著論文 (Nishijima and Shima, 2006) を和訳, 再構成したものである。

引用文献

- Bergbush, V.L. 1999. A note on the manipulation of flower symmetry in *Antirrhinum majus*. *Ann. Bot.* 83, 483-488.
- Bilyeu, K.D., Cole, J.L., Laskey, J.G., Riekhof, W.R., Esparza, T.J., Kramer, M.D., Morris, R.O., 2001. Molecular and biochemical characterization of a cytokinin oxidase from maize. *Plant Physiol.* 125, 378-386.
- Clark, S.E., Running, M.P., Meyerowitz, E.M., 1993. *CLAVATA1*, a regulator of meristem and flower development in *Arabidopsis*. *Development* 119, 397-418.

- Clark, S.E., Running, M.P., Meyerowitz E.M., 1995. *CLAVATA3* is a specific regulator of shoot and floral meristem development affecting the same process as *CLAVATA1*. Development 121, 2057-2067.
- Coen, E.S., E.M. Meyerowitz. 1991. The war of the whorls: Genetic interaction controlling flower development. Nature 353: 31-37.
- Garrod, J.F., Harris, G.P., 1974. Studies on the glasshouse carnation: Effects of temperature and growth substances on petal number. Ann. Bot. 38, 1025-1031.
- Jeffcoat, B., 1977. Influence of the cytokinin, 6-benzylamino-9-(tetrahydropyran-2-yl)-9H-purine, on the growth and development of some ornamental crops. J. Hort. Sci. 52, 143-153.
- Kayes, J.M. and Clark, S.E., 1998. *CLAVATA2*, a regulator of meristem and organ development in *Arabidopsis*. Development 125, 3843-3851.
- Nishijima, T., Miyaki, H. Sasaki, K., Okazawa, T. (2006) Cultivar ans anatomical analysis of corolla enlargement of petunia (*Petunia hybrida* Vilm.) by cytokinin application. Sci. Hort. 111: 49-55.
- Nishijima, T., Shima, K. (2006) Change in flower morphology of *Torenia fournieri* Lind. induced by forchlorfenuron application. Scientia Horticulturae, 109: 254-261.
- Nitasaka, E. (2003) Insertion of an En/Spm-related transposable element into a floral homeotic gene *DUPLICATED* causes a double flower phenotype in the Japanese morning glory. Plant Journal. 36: 522-531.
- Sawhney, V.K., 1981. Abnormalities in pepper (*Capsicum annuum*) flowers induced by gibberellic acid. Can. J. Bot. 59, 8-16.
- Sawhney, V.K., 1983. The role of temperature and its relationship with gibberellic acid in the development of floral organs of tomato (*Lycopersicon esculentum*). Can. J. Bot. 81, 1640-1647.
- Venglat, S.P., Sawhney, V.K., 1996. Benzylaminopurine induces phenocopies of floral meristem and organ identity mutants in wild-type *Arabidopsis* plants. Planta 198, 480-487.

新刊

シダ植物

村田威夫・谷城勝弘／著

A5判 136頁

定価：1,905円＋税

「シダ」という植物は、わかりにくく難しいと思われがちですが、「くらし」と「かたち」を通して植物としての特徴をよく理解することによって、身近なものになってきます。本書はシダの形態、生態からシダの調べ方、身近なシダ90種の図鑑部を含む最適の入門書です。

全国農村教育協会

〒110-0016 東京都台東区台東1-26-6
TEL03-3839-9160 FAX03-3839-9172ホームページ <http://www.zennokyo.co.jp>
Eメール: hon@zennokyo.co.jp