

トルコギキョウにおける花卉湾曲の定量評価と
その開花にともなう形成機構

東京大学大学院 農学生命科学研究科 生産環境生物学専攻
園芸学研究室
新居 加恵子
平成 22 年度 (2010 年度)

目次

序論	1
第1章 フーリエ変換と主成分分析によるトルコギキョウの湾曲形態の定量化	
1-1 緒言	8
1-2 材料と方法	10
1-3 結果	16
1-4 考察	22
第2章 開花過程における花弁成長の領域的不均一性	
2-1 緒言	25
2-2 材料と方法	27
2-3 結果	31
2-4 考察	34
第3章 異なる花型間の花弁表皮細胞の肥大パターンの比較	
3-1 緒言	36
3-2 材料と方法	37
3-3 結果	37
3-4 考察	43
終章 総合考察	45
引用文献	49
謝辞	63

序論

トルコギキョウについて

トルコギキョウ (*Eustoma*または*lisianthus*) は、リンドウ科ユーストマ属の植物であり、北アメリカ中南部、メキシコ、カリブ海沿岸部の草原あるいは砂地に自生する。ユーストマ属には、*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn. (旧学名 *E. russellianum*)、*E. exaltatum* (L.) Griseb.、*E. Barkleyi* Standl. Ex Shinn. の3種があり、それらのうち *E. grandiflorum* は、もっとも花が大きく (花径2.5–5cm)、栽培種の原種となっている。英名としてかつては *lisianthus* が用いられたが、現在は学名の *Eustoma* がそのまま用いられることが多い。また、別名に *prairie gentian* という名があり、これは草原のリンドウという意味である。ほかに、*Texas bluebell* という呼び名もある。トルコギキョウという和名の由来は諸説あるが、国名のトルコや、キキョウとは関係がない。一年生の草本で、草丈が15–60 cm、やや青みがかった緑色の葉をもち、まっすぐ伸びた茎の先端にロート型の花をつける (大川, 2003; Harbaugh, 2006)。

主要な切り花であるバラやカーネーション、キクが19世紀中頃には商業生産されていたのに対して、トルコギキョウが園芸切り花として用いられるようになったのは、比較的最近のことである。しかし、トルコギキョウの切り花市場におけるインパクトは非常に大きく、日本ではバラ、ユリ、カーネーション、チューリップと並ぶ主要な切り花であり、欧米においても主要切り花として位置づけられている。ほとんど無名であった切り花が、20～30年の間に主要切り花となった例は、他にはみられない。

トルコギキョウの自生地は北アメリカであるが、園芸品種としての品種改良や栽培技術の開発は、ほとんど日本で進められた。昭和初期に長野県の育種家がアメリカより種子を導入し、いくつかの品種が育成された。アメリカでは、Park Seed Companyの1887年のカタログにトルコギキョウが掲載されていたが、サカタ種苗が1980年代にF1種子の販売を始めるまでは、ほぼ無名に近い花であった。1980年頃より、園芸作物としての重要度が世界的に急速に増し、現在世界で流通しているトルコギキョウの70%は日本の品種である。

園芸花卉にみられる様々な花の形

花卉類において、花の形は、花の色と並び、花卉の観賞性を決める重要な形質であり、古くから様々な形が育種目標のひとつとされてきた。花は、がく片、花弁、雄しべ、雌しべにより構成される。ひとつの花は、複数の花弁をもち、複数の花弁の集まりのこと花冠とよぶ。花弁の枚数は、植物種によりほぼ決まっており、多くの場合4、5、または6枚である。奇形の一つとして花弁数が多数になることがあり、これらは八重咲きと呼び、それに対して基本枚数のものを一重咲きとよぶ。八重咲き品種は、花が豪華にみえるため、観賞価値が高い。また花冠の形態にも、様々な種類がある。各花弁が基部から離生している離弁花、花弁基部あるいは花弁全体が互いに融合している合弁花、花弁の配置が放射相称の花冠、左右相称の花冠などがある。

花弁5枚からなる左右相称花では、上位2枚、中位2枚、下位1枚、あるいは上位1枚、中位2枚、下位2枚の3種類の形の異なる花弁が左右相称に配置され、それぞれの花弁の形の違いにより多様な花冠のかたちの違いができる。一方、放射相称花で

は、各花弁の形に差はなく、花冠の基部が筒状で、上位部が杯状に開いた形のものが多い。杯状に開いた花冠開出部分の形態は多様であり、筒状部と比べて小さいものと大きいもの、杯状に平開するものとロート状に開くもの、切り込みの深いものと浅いもの、開出部分先端がフリル状に波打つものなどがある。花冠の形は、それを構成する花弁の枚数、花軸を中心とした配置、各花弁の平面的な形態、各花弁の立体的な湾曲等、複数の要因が合わさって形成される。

トルコギキョウの花冠は、5枚の花弁の基部のみが融合した放射相称の合弁花である。蕾が花弁長2-3 cmの大きさに達すると、花弁成長と花弁の展開が急速に進み、開花は1、2日で完了する。原種のトルコギキョウの花は、ロート状あるいは杯状であり、花の大きさは直径5cm程度である。栽培品種は、花冠の形により、ベル型、ロート型、コップ型、平碗型に分類することができる（塚田, 1984）。

花の形の形成の分子メカニズム

シロイヌナズナやキンギョソウでは、ある花器官が他のタイプの花器官へと変化したホメオティック変異体が多数確認されており、花器官のアイデンティティを決定するホメオティック遺伝子の解析が進んでいる（Jofuku et al., 1994; Krizek and Fletcher, 2005; Vandenbussche et al., 2004）。その結果、花の構造を決定する遺伝モデルとしてABCモデルが提唱され、様々な植物においても基本的には成り立つことが分かった。このモデルによると、花器官のタイプを決定する遺伝子はABCの3つのクラスに分けられ、それらの遺伝子の発現の有無とその組み合わせによってどの花器官が形成されるかが決まる。通常Aクラス遺伝子はホール1と2で、Bクラス遺伝子はホール2と3で、Cクラス遺伝子はホール3と4で、それぞれ発現

する。Aクラス機能とCクラス機能は相互に拮抗的であり、Aクラス変異体ではCクラス機能の活性が見られる領域が拡大し、Cクラス変異体ではAクラス機能の活性が見られる領域が拡大する (Krizek et al., 2005)。

シュートと異なり、花は各花器官を決まった数だけ形成する芯止まり型の成長をする。Cクラス遺伝子には、雌蕊、雄蕊を分化させる機能以外に、この芯止まりの制御に関わることが示唆されている (Mizukami and Ma, 1997)。そのため、シロイヌナズナのCクラス遺伝子変異体 AGAMOUS (AG) では、雄ずいが花弁に、雌ずいががくに変化し、「がく - 花弁 - 花弁」という構造を無限に繰り返す、芯止まり性の失われた花が生じる。この八重咲きの花を連想させる表現型から、八重咲きの形成にはCクラス遺伝子が関与するのではないかと考えられている (Sablowski, 2007)。実際、アサガオの八重咲き変異体‘ボタン’では、Cクラス遺伝子の第2イントロンに転移因子が挿入されたことで八重咲きになったことが示唆されている (Nitasaka et al., 2003)。しかし、スイセンやプリムラなど、園芸的に重要な品種では、まだ八重咲きに関わる遺伝子は見つかっていない (Scutt et al., 1999)。

また、左右相称性が失われ、放射相称となるキンギョソウの突然変異体 *CYCLOIDEA* (*CYC*) および *DICHOTOMA* (*DICH*) が知られている (Kalisz et al., 2006; Luo et al., 1996, 1999)。左右相称の花は、上下非対称であり、上側と下側の区別を行うメカニズムは、葉の背腹を決定するメカニズムと同様であると考えられている。

花冠開出部分の形態の形成は、花弁の肥大成長の制御と関係している。花の形やサイズは、一般的に細胞数と細胞の大きさによって決定される。開花を伴う花弁成長では、花弁を構成する細胞の分裂は比較的早い段階でほぼ停止し、その後は主に

細胞肥大が起きる (Hill and Lord, 1989; Kenis et al., 1985; Koning 1984; Smyth et al., 1990)。花冠の開出部分は開花に伴って形成されるため、開出部分の形の形成には、細胞肥大が重要な役割を果たしていると考えられる。細胞の肥大は、細胞内への水の流入による体積増加によって起きるが、そのためには細胞内への糖質、無機イオンなどの浸透物質の蓄積による細胞内外における水ポテンシャル勾配の形成と細胞壁の不可逆的な伸展がともなう。切り花への糖質処理は花卉の展開を促進することから、糖質は浸透物質としての役割と細胞壁の伸展に必要な構造炭水化物の供給元として重要であると考えられる (Ichimura et al., 2003, 2005)。

開花期には、花卉細胞中にグルコースとフルクトースが著しく蓄積するとともに (Ichimura et al., 2003; Yamada et al., 2009b)、転流糖であるスクロースをグルコースとフルクトースに加水分解して糖のアンローディング制御に関わるとされる酸性インベルターゼ活性が強く検出される (Yamada et al., 2009b)。植物の細胞壁は、骨格となるセルロースとその間を埋めるペクチンやヘミセルロースを主成分とするマトリックス多糖から構成されている。細胞が肥大成長するための細胞壁の伸展性の上昇や構造変化の制御には、様々なタンパク質が関与している。代表的なタンパク質としては、エンド型キシログルカン転移酵素/加水分解酵素 (XTH)、エクспанシンがある (Cosgrove, 2005)。エクспанシンは、セルロースとキシログルカンとの水素結合を切断することで細胞壁に緩みを引き起こす (Cosgrove, 2000)。エクспанシンは、植物器官の成長や器官の離脱、果実の軟化など、様々な植物においてその遺伝子が単離され機能が報告されている (Asha et al., 2007; Brummell et al., 1999; Cho and Cosgrove, 2000; Rose et al., 1997; Sane et al., 2007)。オシロイバナでは、花の成長・老化とエクспанシンの発現との間の関連

が報告されている。ペチュニアとバラの花弁では、花弁表皮細胞の肥大に、エクスペンシンが関与することが示唆されている（Gookin et al., 2003; Zenoni et al., 2004）。

花の形の定量化

花の形は遺伝的要因と環境要因とによって連続的な変化を示す量的な形質である（Bradshaw et al., 1998; Galliot et al., 2006; Hall et al., 2006）。植物の形を定量的に評価する方法として、これまでに様々な手法が提案されてきたが、特に、フーリエ変換を用いた手法は有効である。フーリエ変換による解析においては、対象物の輪郭あるいは平面上の曲線を周期関数に変換し、これをフーリエ級数展開することで得られた係数を用いて形を表す。各種の周期関数化の方法が提案され、様々な形態解析に用いられている（Granlund, 1972; Kuhl and Giardina, 1982; Rohlf and Archie, 1984; Zheng et al. 2005, 2008; Zahn and Roskies, 1972; 上坂, 1984; 河村ら, 2005）。

ダイズの葉では、楕円フーリエ記述子と主成分分析とを用いて、葉の輪郭の評価が試みられ、葉の形が、縦横比、重心の位置、および輪郭の丸みによって定量的に表された（Furuta et al., 1995; Yamanaka., et al 2001）。また、カンキツの葉では、楕円フーリエ記述子とダイアレル分析を組合せにより、葉の形の遺伝的形質の解析が行われ（Iwata et al., 2002）、遺伝子型と環境要因の相互作用が葉の形に与える影響が調査された（Iwata et al., 2006）。Yoshiokaら（2004）らは、サクラソウ花弁の平面形態の解析を行い、対称変異と非対称変異を別々に抽出し、対称変異が遺伝的要因によるもの、非対称変異が環境要因によるものであることを報告している。

本研究の目的

花の形態的特徴を客観的に測定することは、市場価値の高い要素を定量的に評価・記録することにつながるだけでなく、花の多様な形が形成されるメカニズムを解明するための、基礎データを得るためにも有用である。本研究では、トルコギキョウ花卉の立体的な形態形成プロセスを明らかにするため、まずフーリエ解析と統計的手法とを用いて花卉の湾曲および平面形態の定量的評価を行った。さらに、特徴的な花型をもつ品種の花卉において、開花過程における花卉の成長と表皮細胞の成長パターンを測定し、形成される花の形との関係について調査した。

第1章 フーリエ変換と主成分分析によるトルコギキョウの 湾曲形態の定量化

1-1 緒言

花卉の市場価値を決める要素として重要なのは、色、香り、そして形である。トルコギキョウの花は、豊富な色合いに加え、花径の大小、一重咲き、八重咲き、湾曲により形成される花冠の立体的なかたち、花卉先端部の波打ち程度などから、様々な形態を示す。トルコギキョウの花冠は、真横から観察すると、品種により様々な湾曲が見られる。塚田ら（1984）は、一重咲きのトルコギキョウの花冠のかたちを、ベル型、ロート型、コップ型、平碗型の4種類に分類した。花卉の湾曲により形成される花のかたちは、一般的に比較的遺伝子効果の小さい複数の遺伝子座と環境要因によって支配される量的形質であると考えられている（Bradshaw et al., 1998; Galliot et al., 2006; Hall et al., 2006）。花冠の湾曲は変異が大きく、その多くは中間的な形質を示している。

花冠にみられる湾曲形態は、花冠を真横から写真撮影し、そのシルエットを解析することによって定量化が可能である。先に行った研究では、219品種のトルコギキョウについて、横から見た花冠のシルエットを解析した。その結果、花冠は「花冠の開き」と「花冠の輪郭カーブ」の2種類のパラメーターによって特徴付けることができた。更に典型的な花型を示す8品種について花卉の平面形態を解析したところ、花冠の湾曲と花卉の平面形態との間に関係性が見出された（Kawabata et al., 2009）。

しかし、この研究で用いた解析法では、花弁のもつ湾曲を正確にトレースできないという問題が残った。一重咲きトルコギキョウの花冠は、5枚の花弁から成り、それぞれの花弁が重なり合って構成されている。よって、花弁の輪郭、特に花弁先端の輪郭は、他の花弁によってマスクされることとなり、花冠を横から観察しても、各花弁がもつ湾曲を見ることはできない。湾曲を正確にみるためには、1枚の花弁を元のかたちを保ったまま単離し、花弁中央部を通る維管束（中央脈）が形成する湾曲を、真横から観察する必要がある。この輪郭は、花弁の基部から先端部に至る開曲線として取り出すことができる。

植物器官の形態解析で有効な手法のひとつに、フーリエ変換と主成分分析（FT-PCA）を用いた方法がある。これらを組み合わせることで、独立した形態特徴を抽出することができる。この手法は、様々な植物器官の形態の解析に適用されている。例えば、カンキツの葉（Iwata et al., 2002）、ダイズの小葉（Furuta et al., 1995）、ソバの実（Ohsawa et al., 1998）、サクラソウやバンジー、トルコギキョウの花弁（Kawabata et al., 2009; Yoshioka et al., 2004, 2006a, 2006b）、ダイコン根形（Iwata et al., 1998）の解析に適用されている。ところが、これらは閉曲線の解析には適用可能であるが、開曲線の評価には適さない。

本研究では、花弁の湾曲により形成される花冠のかたちを定量評価するために、花弁の中央脈の湾曲を開曲線として抽出し、これを往復することによって閉曲線化、周期関数化し、フーリエ変換に基づく方法により、花冠の形態を定量的に表す方法を提案する。

1-2 材料と方法

1-2-1 材料

供試材料は、一重咲きトルコギキョウ 52 品種と 70 系統の育種系統を用いた (Table 1)。これらのうち 41 品種は広島県立総合技術研究所農業技術センター、77 品種は長野県野菜花き試験場で栽培されたものである。'Maite Lady'、'Mellow Yellow'、'Pinocchio'、'Piccolo White'の 4 品種は東京大学農学部内の圃場で栽培した。この 4 品種は、ゴールドンピートバン (サカタ) に播種し、人工気象室内で育苗した。約 2 ヶ月後、本葉が 2 枚出たところで、ソイルミックス (サカタのタネ) とクレハ園芸培土 (呉羽化学) を 1:1 で混合した培地を入れたプラスチックポットに定植した。定植後は、自然光の温室またはビニールハウスで栽培した。各品種および各系統から、ランダムに 3~5 花の満開の花を採取した。

Table 1. Cultivars of *Eustoma* used in this study.

70 other breeding lines were also used for analysis.

No.	Cultivars	No.	Cultivars
1	04-164	28	Orihime Mini
2	Aloha Blue Line	29	Peach Impact
3	Annie Blue	30	Piccolo Pink Flash
4	Annie Light pink	31	Piccolo White
5	Annie Pink	32	Pink Silhouette
6	Aries Blue Heaven	33	Pinocchio
7	Aries Pink	34	Rainy Orange
8	Aries Rose	35	Shihomi
9	Aries Silver	36	Shinano Fantasy
10	Asuka no Fubuki	37	Shinano Fantasy Pink
11	Asuka no Soyokaze	38	Sirena White
12	Broad Blue	39	Summer Kiss
13	Broad Rose	40	Sun Pink 141
14	Cool Peach	41	Sun Surf 26
15	Excel Navy Ring	42	Spica Marine18
16	Funny Pink	43	Torino Blue
17	Furin	44	Tsukushi no Hagoromo
18	Hokutosei	45	Tsukushi no Shinsetsu
19	Juno	46	Tsukushi no Soyokaze
20	Kaguya Hime	47	Tsukushi no Yuki
21	Kanna	48	Vega Coral 74
22	Kanna Blue	49	Vega Marine 28
23	Maite Lady	50	Vega Surf 29
24	Mellow Yellow	51	Vega Serenade 194
25	MEX4106	52	Vulcan Champagne
26	Moco White	53-	Breeding Lines
27	Noble Jade	122	

1-2-2 画像処理による花卉湾曲の定量的評価

花卉の中央脈に沿った花卉の湾曲を記録するために、各花冠について、花卉4枚を慎重に取り除くか、あるいは外側へと折り曲げて、花卉1枚を、もとの湾曲した形が崩れないように花軸に残した。残った1枚の花弁を、真横からデジタルカメラで撮影した (Fig. 1A)。得られた画像から Photoshop (Adobe Systems Inc., San Jose, USA) を使って花卉湾曲の輪郭を抽出した (Fig. 1B)。画像は花軸がパソコンの画面に対して垂直となるように回転させて2値画像に変換した。得られた画像から、輪郭トレース法によって花卉の背軸側に沿った基部から先端部までのカーブを開曲線として抽出した (Fig. 1B)。抽出した開曲線のトレースは、連続した画素を花卉の基部から先端を往復することで、閉曲線として得た。得られた閉曲線の形態は、データを圧縮するため Freeman (1974) のチェーンコードに変換してテキストファイルとして保存した。チェーンコードとは0から7までの数値を用いて曲線を表現する方法で、それぞれの数字は隣接する画素の方向を示す。

チェーンコード化した花卉輪郭から、もとの曲線の座標を復元し、花卉の基部側端点が原点となるように複素平面に投影し、実数部を x 座標、虚数部を y 座標とした。この曲線を全長が1となるように標準化し、さらに256等分した各分割点の座標をサンプリングした。 x と y の座標情報をそれぞれ波形と見なし、閉曲線を構成する256個複素数で表される分割点の座標について離散フーリエ変換 (DFT) を行い、フーリエ係数を算出した。DFTによって各座標から512個のフーリエ係数が得られ、これら係数の逆フーリエ変換によって、対象物の輪郭を再構築することができる。この時、全ての係数は必要ではなく、限られた少数の係数で、もとの形態を正確に表すことができる。第20項までの係数で、元の形態を精度よく近似できた

ため、第 20 項までの係数以外の係数は 0 とした (20 の調和数)。全ての計算は、
R プログラムにより行った。

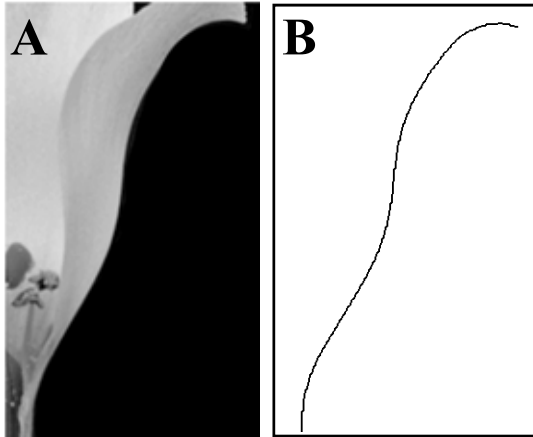


Fig. 1. Side view image of an isolated single petal (A) and the outer contour of the petal extracted from image A (B).

1-2-3 R パッケージ”SHAPE”による花卉の形態解析

花卉の二次元形態を解析するため、各花冠から 5 枚の花弁を採取し、スキャナー (CanoScan LiDE50, Canon Sales Co., Inc., Tokyo, Japan) を使って、平らにした花卉画像を得た。画像は、楕円フーリエ変換を用いた形態解析プログラム”SHAPE” (Iwata and Ukai, 2002; 岩田, 2005) の R バージョンによって解析した。楕円フーリエ変換での係数は、対象物のサイズ、向き、輪郭をたどる時の始点 (回転) に関して不変となるように数学的に標準化する。この標準化により 3 係数が一定となり、これらは無視できる。花卉形態は、始めの 20 個の調和数で近似し、1 枚の花弁から標準化された 80 のフーリエ係数を得た (3 係数は標準化により定数)。更に、係数に含まれる情報を要約するために、得られた係数を用いて主成分分析を行い、数学的に独立な形態特徴を抽出した。各主成分が意味する形態特徴を視覚化するため、それぞれ主成分得点が標準偏差 ± 1.5 倍の値をとり、他の主成分得点は全て 0 となる場合のフーリエ係数を算出し、輪郭の再構築を行った。

1-2-4 花卉湾曲と平面形態に基づく品種および育種系統の非階層的クラスタリング

花卉湾曲と花卉形態に基づいて、トルコギキョウの品種と育種系統をクラスタリングするため、自己組織化マップ (Self-Organizing Map, SOM; Kohonen, 1995) を行った。花卉形態に関する情報量の損失を回避するため、SOM では、湾曲または平面形態における全てのフーリエ係数を用いて行った。

1-3 結果

1-3-1 花弁湾曲と花弁輪郭形態の定量評価

今回の花弁湾曲の輪郭の定量化では、改変した FT-PCA を適用した。花弁の湾曲形態を表す一連のフーリエ係数を用いて主成分分析を行った (Table 2)。主成分分析の結果、第 1、第 2、第 3 主成分の寄与率は、それぞれ 82.5%、10.4%、4.2%であり、第 3 主成分までで全変動の 97%以上を説明していた。特に全体の変動を良く説明している第 1 主成分から第 3 主成分について、フーリエ係数を算出して花弁の湾曲形態を再構築した (Fig. 2)。第 1 主成分は、花弁と花軸で形成される花弁の開く角度、第 2 主成分は花弁中基部の膨らみ具合を評価していた。第 3 主成分は、花弁中基部の内側へのカーブに関連する他の主成分であった。第 3 主成分の全変動に対する寄与率は、第 2 主成分と比較して小さいものであった。

花弁の平面形態の解析はプログラム”SHAPE”を用いた。花弁の形態変異のうち、第 1 主成分 87.8%、第 2 主成分で 7.7%が説明された (Table 2)、これらの主成分値を用いて輪郭を再構築したところ、第 1 主成分は花弁の横幅比 (花弁の幅が広いか狭いか)、第 2 主成分は花弁の重心位置 (逆三角形か楕円形か) を示していた (Table 2, Fig.2)。

Table 2. Contribution of principal components (PC).

Component	Petal curvature		Petal shape	
	Proportion (%)	Cumulative (%)	Proportion (%)	Cumulative (%)
PC1	82.5	82.5	87.8	87.8
PC2	10.4	92.9	7.7	95.5
PC3	4.2	97.1	2.0	97.5
PC4	1.8	98.9	0.9	98.3

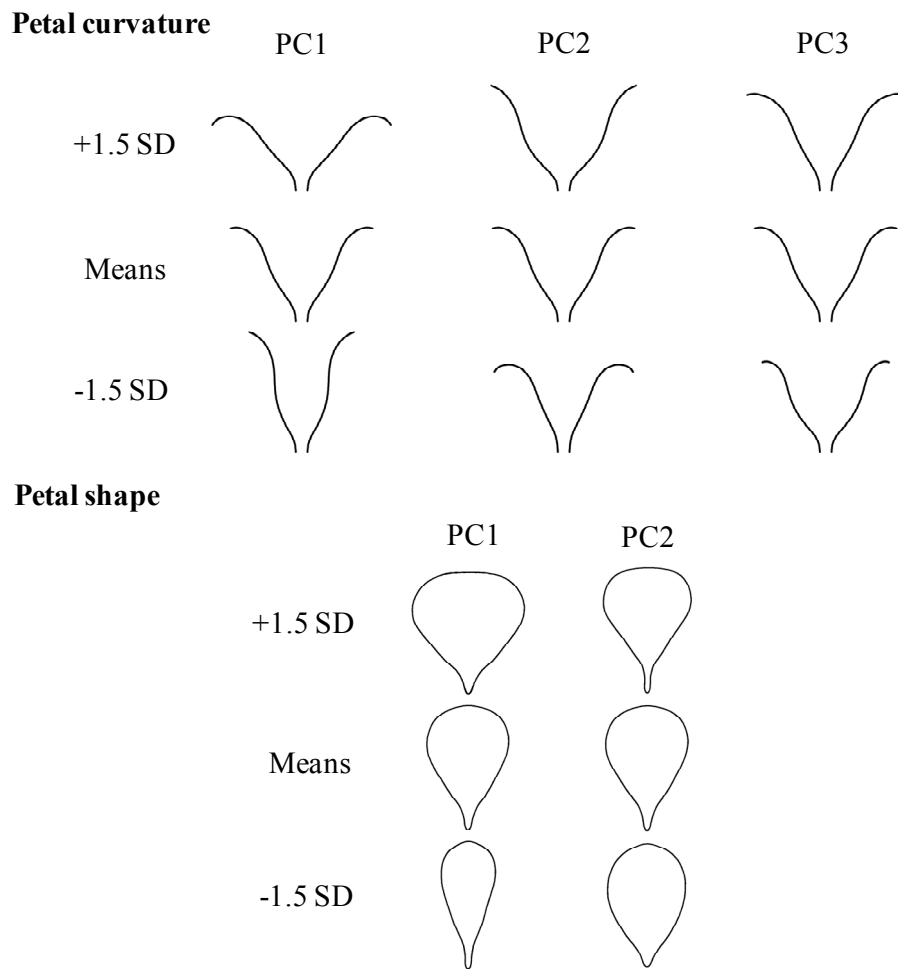


Fig. 2. Effects of main principal components on petal shape (upper panel) and petal curvature (lower panel) of *Eustoma*. Each petal shape was reconstructed based on the coefficients calculated using the principal component scores as the mean +1.5 standard deviation (SD), mean (Mean), and the mean -1.5 SD, and setting the scores on the remaining components to zero. Each curved petal shape was reconstructed from coefficients calculated by letting the score for the corresponding principal component be equal to its mean and to its mean +1.5 SD, Mean, and mean -1.5 SD with the other score set as the mean.

1-3-2 花弁湾曲と花弁輪郭形態との関係

花弁の湾曲と花弁の輪郭形態との関連を調べるため、全ての品種および育種系統について、SOMによるクラスタリング解析を行った。各クラスター内でのフーリエ係数の平均値を用いて、各クラスターが示す花弁の平均形態を視覚化した (Fig. 3)。SOMマップの四隅における4つのグループは、1) ボウル型：花の開きが大きく、花弁がカーブするタイプ、2) トールカップ型：花の開きが小さく、花弁がカーブするタイプ、3) トランペット型：花弁の開きが大きく、花弁に大きな反りを持つタイプ、4) ロート型：花弁の開きが小さく、花弁のカーブが小さいタイプの4つの特徴的な形態が示された。更にSOMの解析から、花弁の湾曲形態と平面形態の間に関連があることが明らかとなった。花弁が内側に向けて大きくカーブするボウル型とトールカップ型では、両者とも横幅の広い花弁を持つ。ロート型やトランペット型では、前者は花弁湾曲の程度が低く、後者は湾曲度合いが高く、大きな反りを示し、異なる形態を示すが、花弁形態は両者とも細長く、同じ形態を示していた。このような関係から、花弁湾曲の第2主成分と花弁輪郭形態の第1主成分との間で高い相関があることが明らかとなった (Table 3)。しかし、ロート型とトランペット型、またはボウル型とトールカップ型の間には、明確な花弁形態の違いは見られなかった。

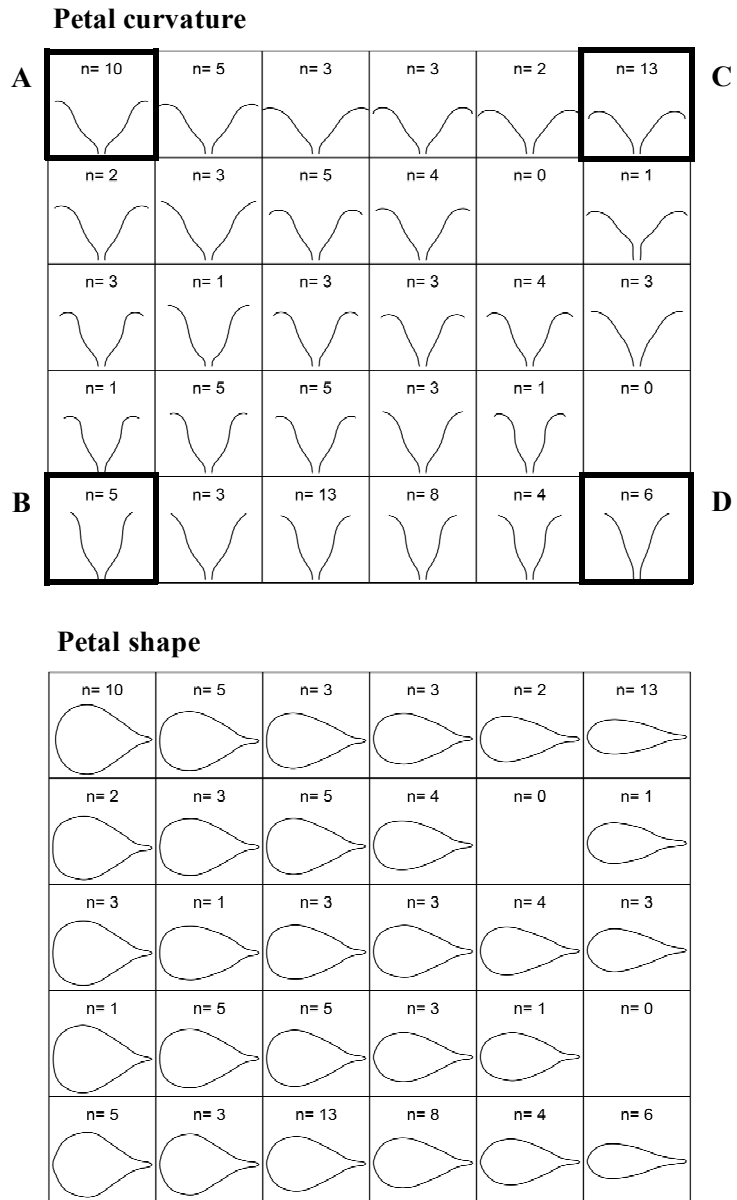


Fig. 3. Clustering of cultivars by SOMs using all coefficients of DFTs of petal curvature and petal shapes. The maps represent variation in the petal curvature (upper) and petal shape (lower). The illustration in each grid shows the mean shape of each group. Four groups of characteristic shapes (A: bowl-shaped; B: tall -cup-shaped; C: trumpet-shaped; D: funnel-shaped) are indicated by solid lines. n; number of cultivars grouped into each grid.

Table 3. Correlations between the PC scores describing petal curvature and petal shapes (n=122).

Shape	Curvature		
	PC1	PC2	PC3
PC1	-0.057 (<i>P</i> = 0.536)	0.630 (<i>P</i> < 0.001)	-0.109 (<i>P</i> = 0.234)
PC2	-0.102 (<i>P</i> = 0.262)	0.161 (<i>P</i> = 0.077)	0.144 (<i>P</i> = 0.113)

1-4 考察

本研究では、フーリエ変換と主成分分析を用いてトルコギキョウの花の形態的特徴について定量的な評価を試みた。二次元平面上の任意の閉曲線は、輪郭をトレースすることにより周期関数として表現することが可能で、全長を周期とする波形としてとらえることができる。得られた周期関数はフーリエ級数を用いて表現できる。閉曲線を周期関数化する方法には、曲線上の点の座標情報を用いた G 型フーリエ記述子、楕円フーリエ記述子 (Granlund, 1972; Kuhl and Giardina, 1982)、曲線上の点と点との角度のみを用いた Z 型フーリエ記述子 (Zahn and Roskies, 1972) がある。しかしながら、これらの手法は、曲線の始点終点が連続している必要があるため、基本的には閉曲線の解析を対象としている。Zheng ら (2005, 2008) は、ハナハス花卉やイネ草型の屈曲のような、開曲線でフーリエ変換を適用可能にするため、P 型フーリエ記述子を提案した。しかしながら、P 型フーリエ変換を用いた方法では、始点と終点の間が不連続になることから、両端の収束が悪く、曲線の両端の形態が十分に再生されない欠点がある。

本研究では、花卉のカーブを往復トレースすることで連続した周期関数を得た。この閉曲線を用いることで、楕円フーリエ変換が適用可能となり、Kuhl と Giardina (1982) によって報告された方法により行った。計算によって得られた花卉湾曲を表すフーリエ係数について、主成分分析を行い、花卉湾曲の形態特徴を表す主成分を得た。花卉湾曲の変異は、主に 2 つの主成分によって特徴付けられた。第 1 は「花の開く角度」、第 2 は「花卉中基部の膨らみ」であり、これはコップやボウル型の花冠の特徴となっていた (Table 2, Fig. 2)。

また、‘SHAPE’を用いて花卉の二次元形態を評価した結果、花卉形態は主に「花卉の縦横比」と「花卉の重心の位置」の2つの主成分によって特徴づけられた。今回の結果は、前報告の結果と一致していた (Kawabata et al., 2009; Yoshioka et al., 2006b)。

非階層クラスタリング法である SOM を用いて、全品種および育種系統のクラスター分析を行い、花卉湾曲と輪郭形態との相関を調査した。SOM は高次元データを低次元空間に写像し、類似したデータが近接するように配置されることから、多変量からなるデータを視覚化することができる。SOM によるクラスター分析から、花卉湾曲と輪郭形態の間に密接な関係が見出された。

ボウル型やトールカップ型のような、花冠下部に膨らみを持つ花型は、横幅の広い花卉を持つ傾向があった。一方で、ロート型やトランペット型のような、直線的に伸びた花型や反り返った花型では、比較的細長い花卉形態を持っていた。

Coenらは植物器官の形態形成において細胞成長がどのように影響するかについて調査した (Coen et al., 2004; Nath et al., 2003; Rolland-Lagan et al., 2003) 。Nath らは (2003) 円盤の成長パターンを例に、数学的観点からカーブが生まれる仕組みを説明している。円盤が同じ速度で均一に拡大した場合、円盤は成長を通じて平面形態を維持しているが、中央部の成長が周縁領域よりも早い場合、円盤の中央は膨らみを持ち、コップ状の形態となる。

トルコギキョウの三次元構造においても、同様のプロセスによって形成されると考えられる。すなわち、花卉の中基部が花卉の先端部よりも早く成長した場合、花卉は中間部において横幅の広い形態となり、ボウルのような湾曲したかたちがつくられると考えられる。一方、花卉全体が比較的まっすぐ伸びるロート型の花冠と、

花弁先端部に反りを持つランペット型の花冠との間での花弁の形に、明確な差異は認められなかった。いくつかの品種では、花弁の先端が波打つ花弁や花弁中央部がドーム状となる花弁があり、これらの花弁では、平面形態の測定で、完全に平面化することが出来ず、スキャナーによって得られた画像は、正確な二次元の形態を示しているとは言えない。3次元の花弁形態が形成されるメカニズムを理解するためには、花弁内の異なる領域における部位別の成長を評価する必要があると考えられる。

本研究により、3つの方法によって花弁湾曲の定量的に評価することができた。1つ目は花弁を真横の角度で背軸側に沿った花弁中央脈ラインをトレースしたこと、2つ目はフーリエ変換を改変して曲線を表現したこと、3つ目は主成分分析によってフーリエ係数に含まれる情報を要約したことである。トルコギキョウ花弁の湾曲形態は、少数の主成分スコアを用いることで精度よく再構築できる。主成分スコアを使うと、花弁の二次元形態と花弁の湾曲との間に相関があることが見出された。花弁湾曲を定量的に表現する手法は、様々な花のかたちの形成メカニズムを解明する上で役立てられると考えられ、また花冠を定量値として記録することができ、人手による評価に比べて高い効率性と客観性を持たせることができる。更には、特徴的な花冠のQTL解析、DNAマーカーの開発、育種などの応用にも利用できると考えられる。本手法はトルコギキョウだけでなく、他の観賞植物の形態解析においても有効な手法であると考えられる。

第2章 開花過程における花卉成長の領域的不均一性

2-1 緒言

前章の結果から、花卉の湾曲は花卉の平面形態と関連があり、花卉中間基部に膨らみを持つ花卉は、横幅の広い傾向があった。一方、直線的に花卉が伸びるロート型の花冠や花卉先端に反りをもつトランペット型の花冠では、開花期の花弁の平面的形態は、両者とも細長く、差異は認められなかった。前章において、スキャナーを用いて測定した花卉の平面形態は、膨らみや反りを持った花卉の立体的な構造を表してはならず、スキャナーで測定した花卉の投射画像だけでは、花卉の立体的なカタチが形成されるプロセスを十分に説明することはできないと考えられた。

チューリップの花被が外側に屈曲している開花過程では、花被の中肋部分の内側と外側とで成長速度が異なるために、花被が開いていく。この中肋部分の外側と内側とでは、温度に対する反応が異なり、高温では中肋の内側の方が外側よりも成長速度が高く、低温では逆に外側の方が内側より成長速度が高い。そのため温度が上がる日中には花が開き、温度が下がる夜間には花が閉じる日周運動をする (Wood, 1953)。このような観察より、花卉の屈曲が花卉の内側と外側との成長速度の差によって説明されることが多い (Kerner von Marilaun, 1891; Kaihara and Takimoto, 1981; Tanaka et al., 1987)。しかし、トルコギキョウのように厚みの薄い花卉を持つ花においては、花卉の内側と外側との成長速度の差によって屈曲を説明することはできない。例えば、花卉の厚みを0.1mmとしたとき、花卉の内側と外側とで長さに1%の差があるとき、花卉は半径1cmの弧を描く屈曲をする計算と

なる。このような微少な長さの差は、花卉組織の弾性的な伸長により容易に生じるため、安定した湾曲を維持することはできない。実際、湾曲をもったトルコギキョウの花弁の中央脈に切れ目を入れると、花弁の湾曲は失われ平面となる。薄い花弁からなる花冠の湾曲は、花弁の領域的に不均一な伸長によって生じる力学的な構造によって維持されていると考えたと説明できる。

Coenらは、開花における花弁の形態変化や花弁の成長は、局所的な領域の成長により説明できるとし、微小な領域の成長をgrowth rate、anisotropy、direction の3種のパラメーターにより表現した (Coen et al., 2004; Rolland-Lagan et al., 2003)。growth rateは、ある領域のサイズが増大する割合、anisotropyは任意の方向への成長とこれと垂直な方向への成長の割合、directionは成長の主要な方向（細胞の向きに相当）を表わしている。これらのパラメーターは花弁の成長過程で時間的・空間的に変化し、かつ複雑に組み合わさって形態の変化をもたらす。Nath ら (2003)によると、器官の湾曲は成長の方向性により、2つのタイプがあることを示した。円盤が均一に成長すれば円盤のままであるが、中央部が急速に成長した場合、コップ状の形態となる。反対に、周縁部が急速に成長した場合、鞍状の波打った形となる。部位によって不均一な成長をすれば、カーブを生じて立体的な構造を生じる。彼らの説から、同様のプロセスが立体的なトルコギキョウ花弁の形成に関係しているのではないかと予想された。そこで本章では、特徴的な花型をもつ品種について、開花期における最終的な花弁形態を測定するのではなく、花弁の成長過程に着目して、花弁内の領域的な成長を調査した。

2-2 材料と方法

2-2-1 材料

供試材料は、東京大学農学部圃場で栽培した一重咲きトルコギキョウ 5 品種 ‘Maite Lady’ (ロート型)、‘Mellow Yellow’ (トランペット型)、‘Pinocchio’ (ボウル型)、‘Cute Blue Picotee’ (トールカップ型)、‘Piccolo White’ (トールカップ型) を用いた (Fig. 4)。花の開花過程を 4 つのステージに分類した。ステージ 1: 蕾が固く閉じている、ステージ 2: 蕾が緩み始める、ステージ 3: 開花、ステージ 4: 満開 (開葯、開花約 5 日後) とした (Fig. 5)。各品種および各系統について、各ステージの満開の花をランダムに採取し、1 つの花冠から花弁 1 枚を実験に使った。

2-2-2 花弁の領域的成長の測定

各品種のステージ 1 の蕾 (インタクトな状態) の花弁 1 枚を丁寧に開き、1 センチ角のドット状のスタンプを花弁の裏側に押印した。押印後、丁寧に蕾を閉じ、元の状態に戻した。ステージ 4 の満開になった時点で、押印した花弁を採取し、400 倍に拡大した花弁の画像を得た。花弁を 9 つの部位に分け (Fig. 6)、4.2 センチを 85 の目盛で分割した自作の定規を使って、ドットの 2 点間の距離を測定した。各部位につき 2 ヶ所測定した。スタンプ面のドット間の距離を基準とし、各花弁部位の成長率を算出した。

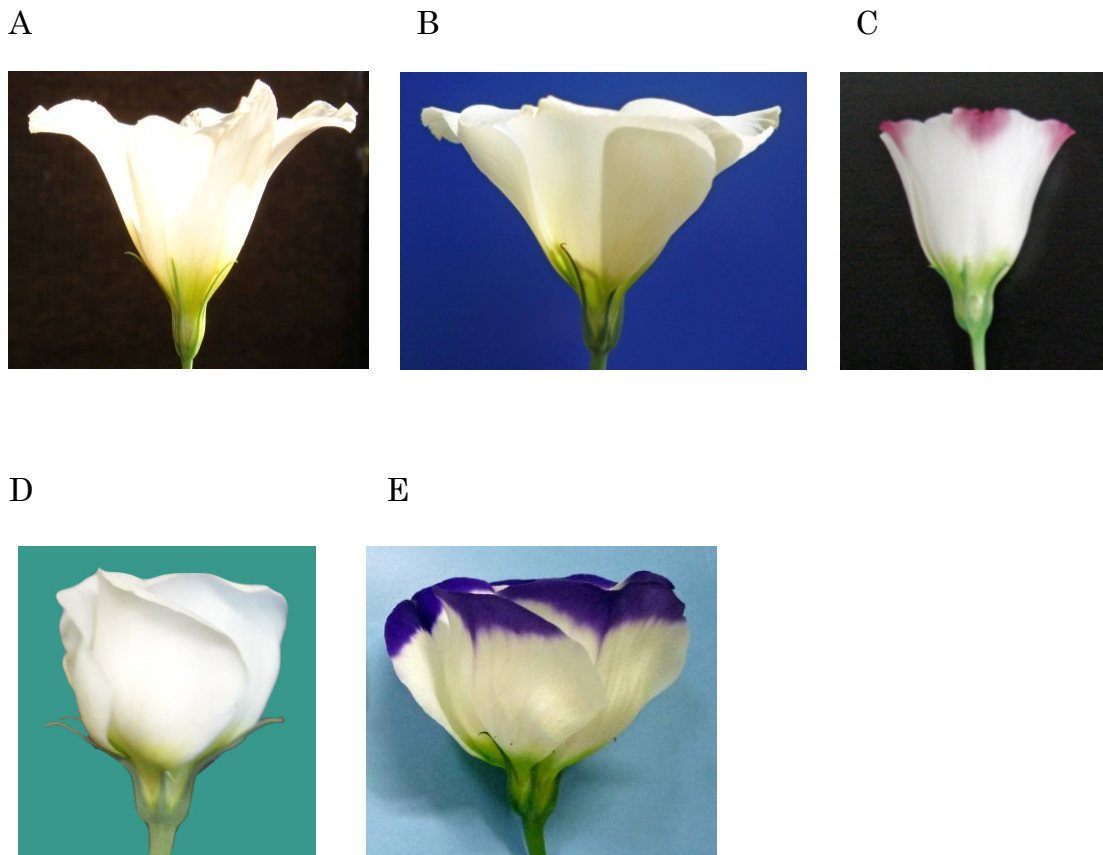
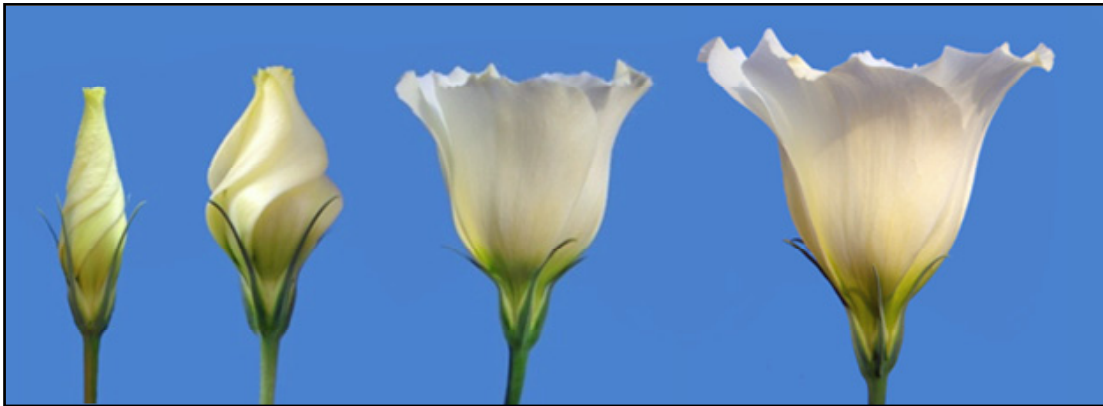


Fig. 4. Photographs of corollas from cultivars of *Eustoma*.

(A) 'Mellow Yellow', (B) 'Pinocchio', (C) 'Maite Lady', (D) 'Piccolo White', (E) 'Cute Blue Picotee'.



1

2

3

4

Flower stage

Fig. 5. Flower stages of *Eustoma* 'Mellow Yellow'. Stage 1: flower bud (closing tightly); stage 2: starting opening; stage 3: anthesis; stage 4: full bloom (about five days after anthesis).

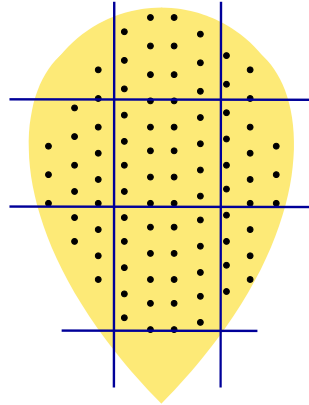


Fig. 6. Measurement of regional petal growth using stamp.

Petal was divided into nine parts. Distal part of left, distal part of center, distal part of right, middle part of left, middle part of center, middle part of right, basal part of left, basal part of center, and basal part of right of the petal at stage 7.

2-3 結果

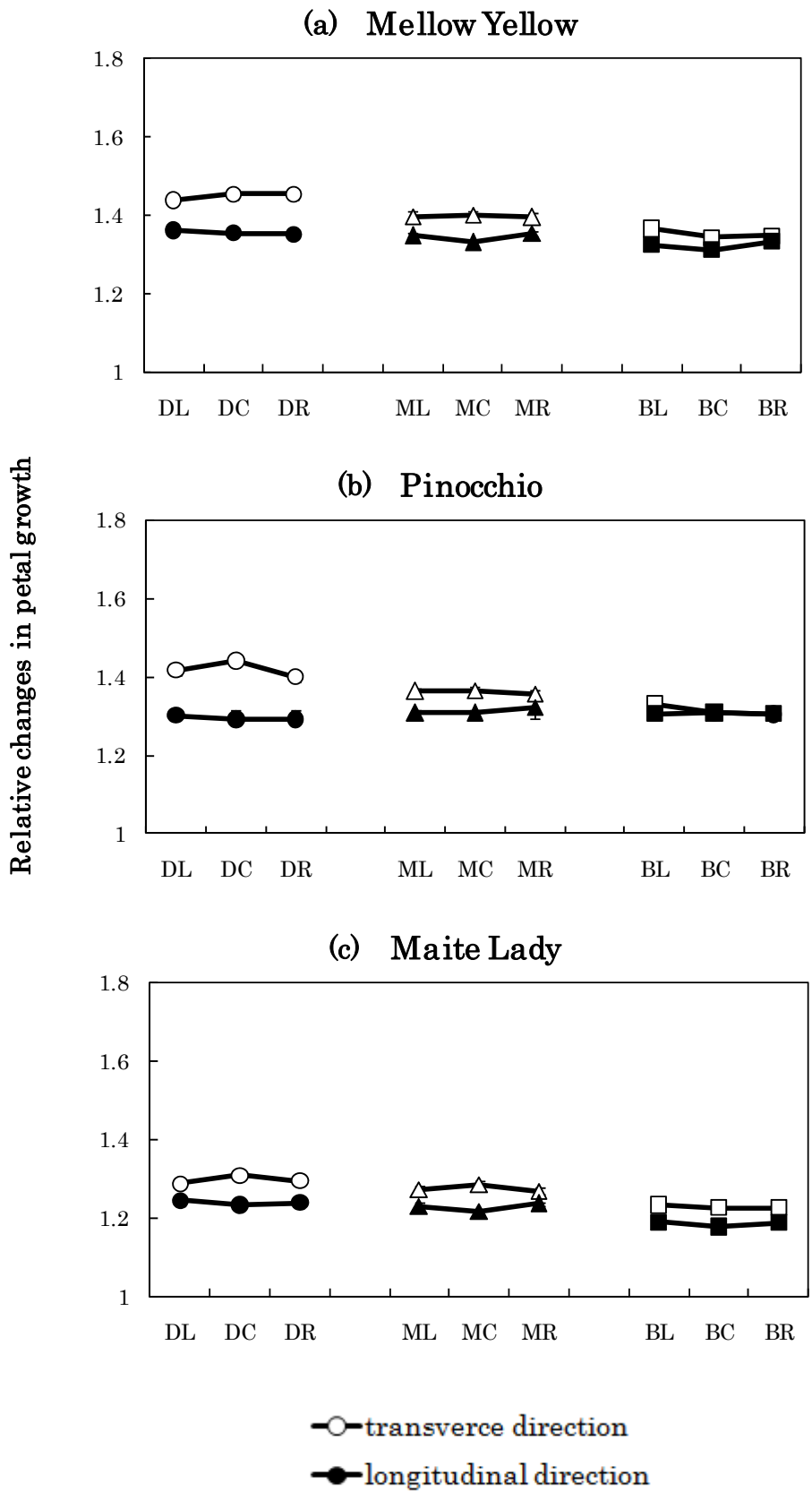
花弁先端部に反りをもつ花型の‘Mellow Yellow’や‘Pinocchio’では、花弁先端部の横方向への成長が、縦方向の成長よりも大きく、蕾から満開までに約 1.4 倍伸長していた (Fig. 7a, b)。また中間部や基部に比べてよく伸長していた。各部位ごとの花弁左側、中央、右側の間では成長差はみられなかった。

花冠が直線的に伸びるロート型品種 ‘Maite Lady’では、横方向と縦方向との成長差はほとんどなく、また花弁の先端、中間、基部間においても目立った差は見られなかった。花弁の全ての領域は、縦横両方向に均一に成長していた (Fig. 7c)。

花弁中基部に膨らみをもつトールカップ型品種の‘Piccolo White’では、全ての部位において横方向への成長率が、縦方向に比べて顕著に高かった (Fig. 7d)。蕾から満開に至るまでに約 1.6 倍拡大していた。横幅の成長では、特に花弁中間部と基部が大きいことが‘Piccolo White’に特徴的で、‘Mellow Yellow’ や‘Pinocchio’、‘Maite Lady’には見られない特異的な成長パターンであった。

同じくトールカップ型に属する‘Cute Blue Picotee’では、花弁先端部や中間部の横方向への成長が縦に比べて大きかった (Fig. 7e)。「Piccolo White」のように、全部位での顕著な縦横の成長差はみられなかったものの、中間部において横への成長率が高かったことは、‘Mellow Yellow’ や‘Pinocchio’、‘Maite Lady’にはみられない結果であった。

これらの結果から、花弁形態の違いによって、それぞれ特徴的な異なる成長パターンを示すことが分かった。



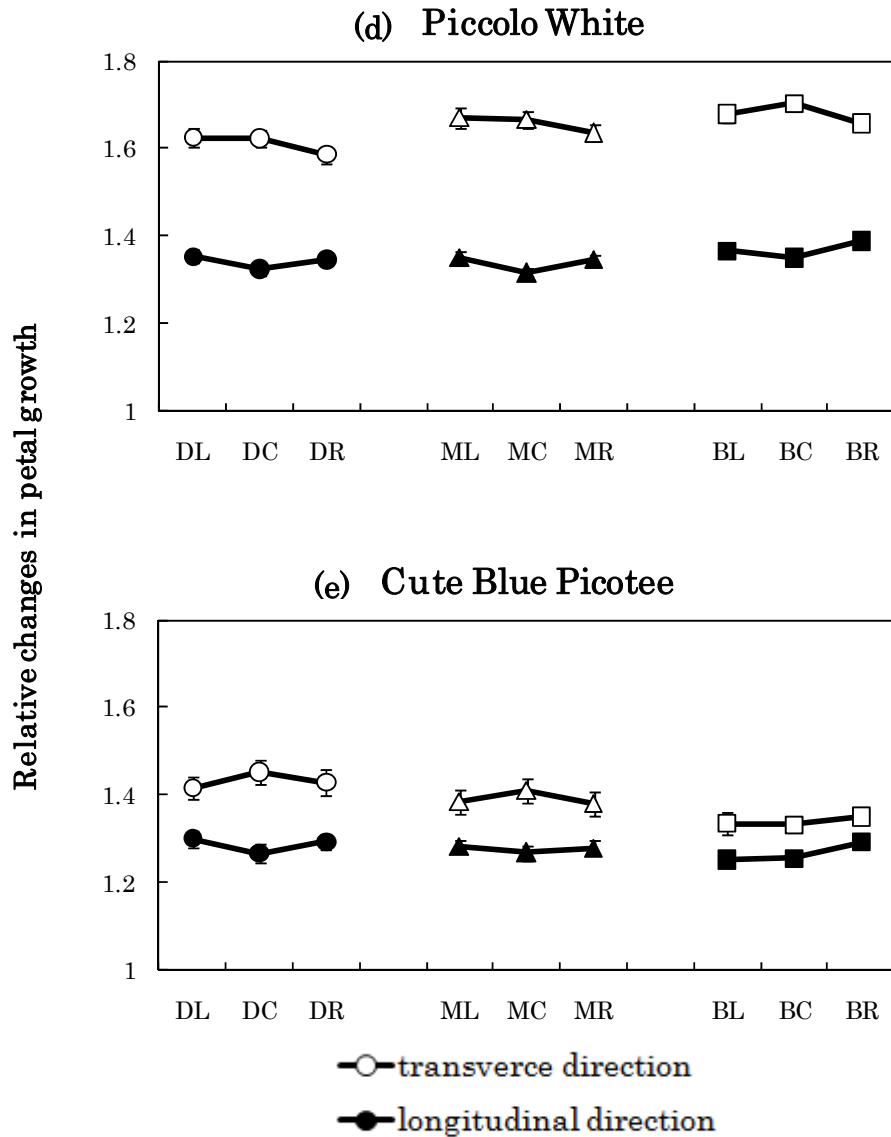


Fig. 7. Relative changes in petal growth at distal part of left (DL), distal part of center (DC), distal part of right (DR), middle part of left (ML), middle part of center (MC), middle part of right (MR), basal part of left (BL), basal part of center (BC), basal part of right (BR) in transverse direction or longitudinal direction of the petal. Values are relative length between two points on the petal at stage 7 as compared with length between two points of stamps (stage 4). Bar indicate standard errors (n=40 for Mellow Yellow; n=21 for Pinocchio; n=30 for Maite Lady; n=33 for Piccolo White; n=13 for Cute Blue Picotee).

2-4 考察

第1章にて、花卉の輪郭を定量化した結果、花卉先端部に反りを持つ品種‘Mellow Yellow’と、花冠が直線的に伸びる品種‘Maite Lady’では、両者ともほぼ同じ花卉形態を示し、細長い形をしていた。ところが今回、開花過程における花卉の領域的な成長を調べた結果、互いに異なる成長パターンが認められた。すなわち、‘Mellow Yellow’では、花卉先端部の横方向への成長が著しく、ロート型品種では、花卉全体が縦横両方向に均一に成長していた (Fig. 7c)。この結果から、直線的に伸びるロート型花卉では、花卉の各部位が開花過程を通じて均一に拡大することで、平面的な形態を維持していると考えられた。一方で、‘Mellow Yellow’、また‘Pinocchio’では不均一な成長がみられ、花卉先端部の横方向への成長が大きかった (Fig. 7a,b)。Coen ら (2004) は、ある長方形の平板において、成長速度が基部から先端にかけて指数関数的に増加する場合、成長の早い領域は、隣接する領域間で反発が生じ、成長にともない二次元的あるいは三次元的に回転が起こり、最終的には湾曲した形態が形成されると説明している (Coen et al, 2004)。同様の現象が‘Mellow Yellow’で起きている可能性が考えられた。花卉先端部は拡大するが、それに比べて花卉中間部や基部ではあまり成長が著しくないため、花卉先端部で歪みが生じ、平面から乖離してカーブが生じるというモデルが考えられた。以上より、花冠のカーブを生むのは、花卉部位間での成長差が原因である可能性が示唆された。トランペット型とロート型の花弁は、最終的には同じ花卉形態を形成するが、成長プロセスが異なっているため、互いに形態の異なる花弁を形成すると考えられた。

トールカップ型品種‘Piccolo White’の花弁は、横幅が広く、花卉中基部に膨らみ

を持つのが特徴である。'Piccolo White'では、花卉の横方向への成長が顕著に大きく、膨らみのある花卉下部に向かうほど僅かに大きくなっていた (Fig. 7d)。この結果では、花卉部位間での成長差はみられず、Nath ら (2003) による、円盤の中央部が周縁部よりも早く成長した場合、ドーム状の形態が生じるというモデルとは必ずしも一致するものではなかった。しかしながら、'Piccolo White'でみられた横幅の拡大は、膨らみのないロート型やトランペット型にはみられない特徴であり、ドーム状の花弁を形成す上で、何らかの要因になっている可能性は高い。また、今回用いた品種'Piccolo White'は、比較的小振りの花であるため、花卉部位間の微小な差を捉えきれなかった可能性も考えられる。

同じくトールカップ型を示す'Cute Blue Picotee'では、'Piccolo White'のような縦横の成長差はみられなかったものの、花卉中間部において横への成長率が高かった (Fig. 7e)。この横への成長は、花卉の膨らみに原因になっている可能性が考えられる。

このように、トルコギキョウ花卉が示す特徴的なカーブの形態は、開花過程における花卉の領域的な成長パターンの違いによって、生じている可能性が考えられた。

今回、蕾 (ステージ 1) と満開 (ステージ 4) の 2 つの生育ステージで比較した。花卉先端部に反りを持つものでは、先端部の横方向への成長が大きく、花卉下部に膨らみを持つものでは、花卉下部の横方向への成長が大きいという差が認められた。しかし、このような著しい成長が、蕾から満開までの過程で、全体を通して平均的に起きているのか、それとも一時的、一過的に特定のステージで起きているのかどうかは、今回の調査では分からない。

第3章 異なる花型間の花弁表皮細胞の肥大パターンの比較

3-1 緒言

前章では、花弁の立体的な形態の違いが、開花過程における花弁の領域的な成長の差によるものである可能性が示唆された。しかし、前章では、蕾と満開時の2つのステージを比較しただけなので、花弁成長の経時的な変化については不明である。また、花弁の二次元的形態をスキャナーにより平らな画像として取り出したため、各花弁の、どの部分がどの程度拡大したかは、平面的な花弁でない限り、評価することはできなかった。

花のかたちと大きさは、細胞数や細胞サイズに大きく依存する。モデル植物のアラビドプシスや園芸植物のペチュニア、ガーベラを対象とした研究から、花弁発生初期（蕾期）の成長は、主に細胞分裂によるもので、開花を伴う後期の花弁成長は細胞肥大によるものと考えられている（Anastasiou and Lenhard, 2007; Laitinen et al. 2007; Reale et al. 2002）。開花は、水の流入による花弁細胞の肥大により起こるとされる（Evans and Reid, 1988; Kenis et al., 1985; Koning, 1984; van Doorn and van Meeteren, 2003）。バラの剣弁花における開花では、花弁上部が大きく背軸側に反り返るのが特徴であるが、この過程で花弁先端部から中間部にかけて著しい細胞肥大が起きていることが確認されている（Yamada, 2009）。

本章では、前章での特徴的な花冠形態を持つトルコギキョウ品種について、蕾から満開に至るまでの花弁表皮細胞のサイズを測定した。これにより、花弁の領域的な成長差をみることができ、また開花過程における花弁成長の経時的な変化を知ることができる。

3-2 材料と方法

3-2-1 材料

供試材料は、東京大学農学部圃場で栽培した一重咲きトルコギキョウ 5 品種を用いた（第 2 章 Fig. 4）。花の生育ステージを 4 つのステージに分類した。ステージ 1：蕾が固く閉じている、ステージ 2：蕾が緩み始める、ステージ 3：開花、ステージ 4：満開（開葯、開花後約 5 日後）とした（第 2 章 Fig. 5）。

3-2-2 花弁表皮細胞サイズの測定

各品種について、ステージ 1 から 4 までの花弁の表皮細胞サイズを計測した。各品種の各ステージの花をランダムに 4~8 個採取し、1 つの花冠から花弁 1 枚を採取した。花弁の向軸側表面に透明のマニキュアを塗布し、乾燥後テープでマニキュアを剥がしてスライドグラスに貼付した。花弁表皮は、合弁部は除いて花弁先端部、花弁中間部、花弁基部の 3 つの部位に分けた。光学顕微鏡を使って、各部位において花脈に平行な方向と垂直な方向の直線 1mm 上に配置している細胞数をカウントした。1mm を細胞数の個数で除することで細胞の縦と横の長さを算出した。これらの積を花弁表皮細胞の面積とした。

3-3 結果

花弁表皮の細胞肥大は、各花型によって異なるパターンを示した（Fig. 8）。花

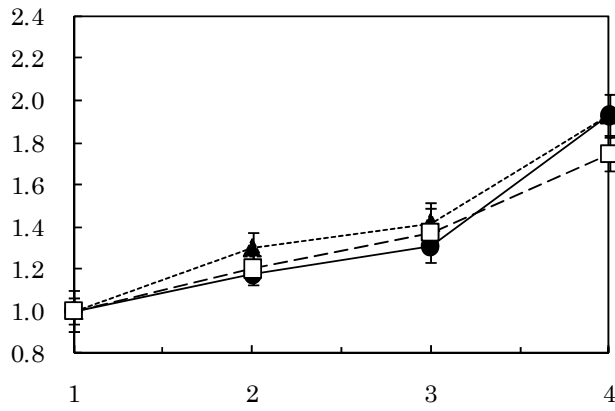
弁先端に反りを持つ花型‘Mellow Yellow’ や‘Pinocchio’では、細胞サイズはステージ 1 から 3 にかけて徐々に増加し、ステージ 3 から 4 にかけては急速に成長した。この著しい成長は、花弁基部よりも花弁上部で大きかった (Fig. 8a,b)。細胞の縦横比では、両品種ともにステージ 3 から 4 にかけて低下し、表皮細胞は縦長の形へと変化していた (Fig. 9a, b)。花弁中間部や基部では、目立った細胞形態の変化はなかった。

ロート型品種である‘Maite Lady’では、細胞サイズはステージ 1 から 3 にかけて直線的に増加していたが、ステージ 3 ではほぼ停止していた (Fig. 8c)。ロート型の細胞肥大は、‘Mellow Yellow’ や‘Pinocchio’の成長パターンとは異なっていたが、細胞の縦横比については、よく似たパターンを示した (Fig. 9c)。

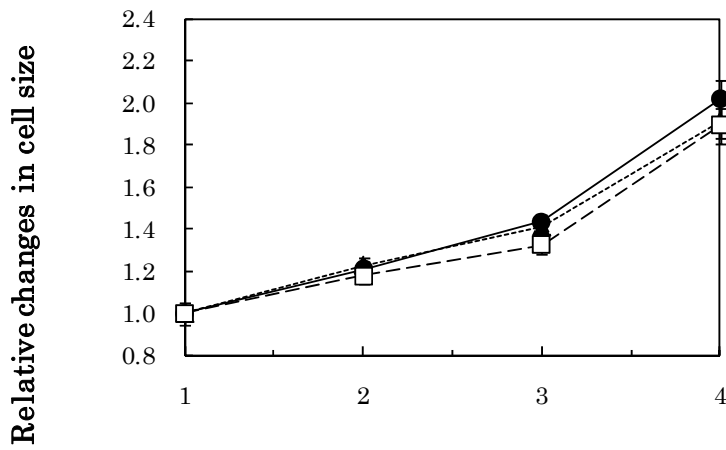
トールカップ型品種‘Piccolo White’の細胞サイズは、ステージ 1 から 3 の早い段階で、サイズ増大が見られ、ステージ 3 以降は肥大がほぼ停止していた (Fig. 8d)。細胞の縦横比では、花弁中間部と基部については、ステージ 1 から 3 にかけて上昇がみられ、その後は一定となっていた (Fig. 9d)。これらの縦横比は、他の品種の値と比べて比較的高く、横幅のある細胞形態であることが分かる。

一方、‘Piccolo White’とよく似た花型を示す‘Cute Blue Picotee’では、細胞サイズの成長パターンは、‘Piccolo White’とは異なっていた。細胞サイズはステージ 1 から 3 にかけて徐々に増加し、ステージ 3 から 4 にかけては急速に成長し、‘Mellow Yellow’や ‘Pinocchio’のものと類似していた (Fig. 8e)。しかしながら、細胞の縦横比の変化は、‘Piccolo White’と似ており、花弁中間部の比はステージ 1 から 3 にかけて上昇し、横幅のある細胞形態となっていた (Fig. 9d, e)。トールカップ型の表皮細胞は、他の品種に比べて横幅の広い形態を示していた。

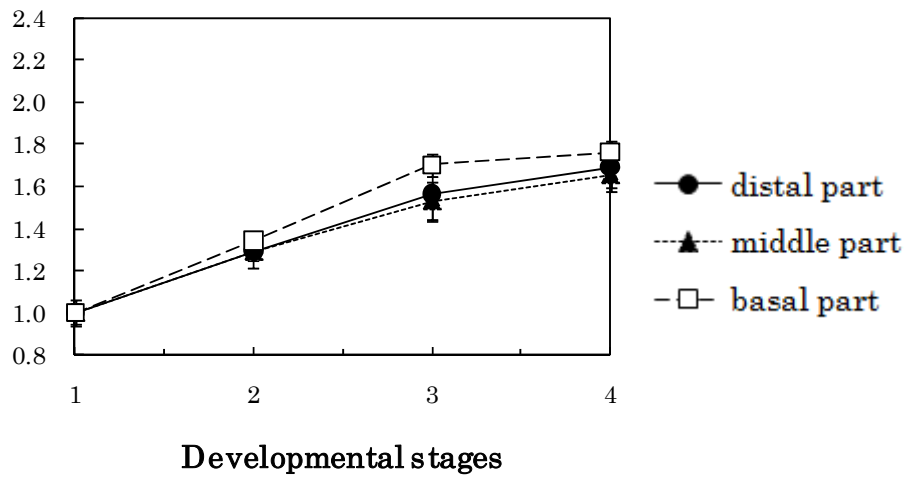
(a) Mellow Yellow



(b) Pinocchio



(c) Maite Lady



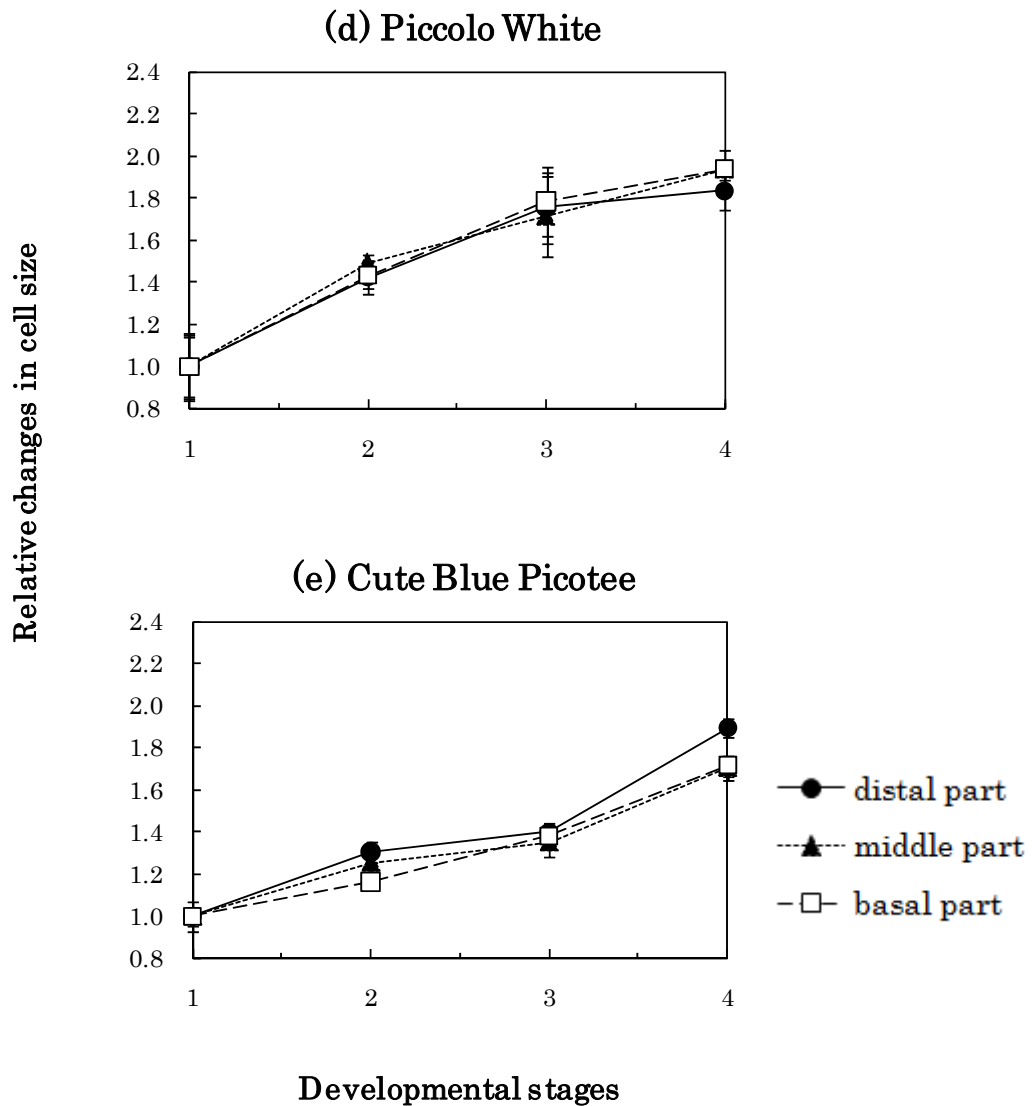
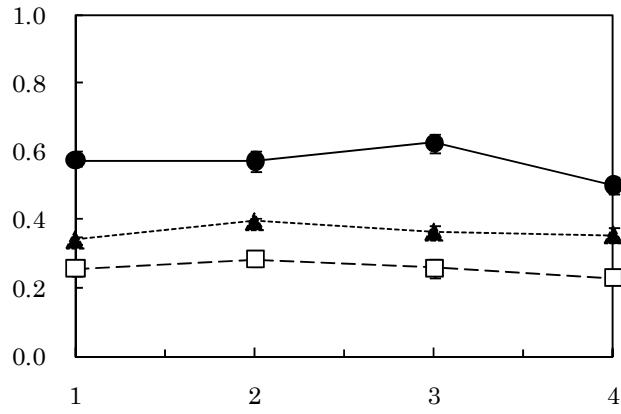
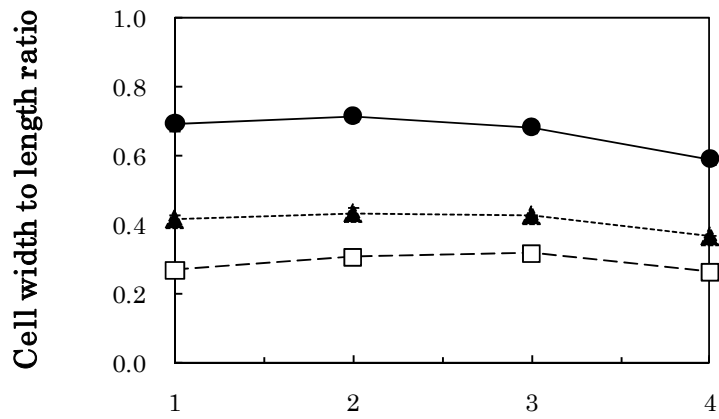


Fig. 8. Developmental changes in the size of epidermal cells at distal, middle, and basal part of the petals on adaxial side of petals. Values are relative sizes of the cells at each stage as compared with stage 4. Bar indicate standard errors (n=4~6 for Mellow Yellow; n=5~8 for Pinocchio; n=5 for Maite Lady; n=4 for Piccolo White; n=5~8 for Cute Blue Picotee).

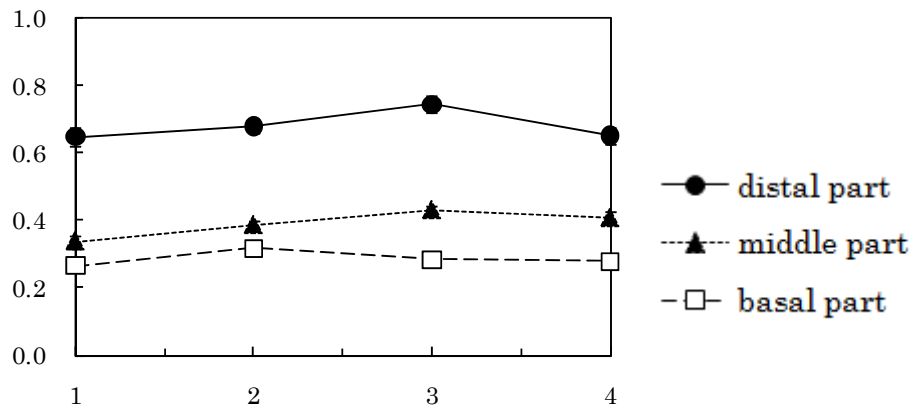
(a) Mellow Yellow



(b) Pinocchio



(c) Maite Lady



Developmental stages

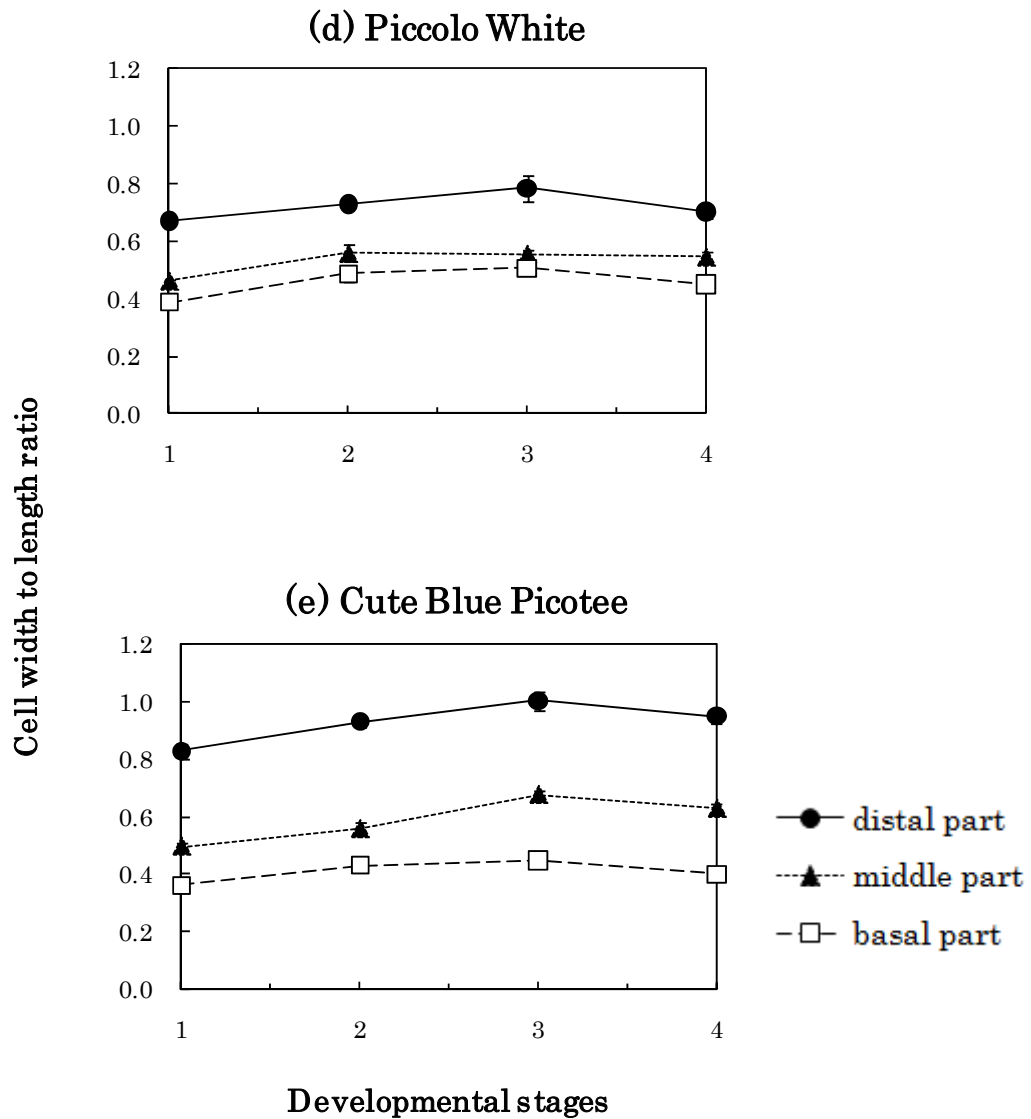


Fig. 9. Developmental changes in width to length ratio of epidermal cells at distal, middle, and basal part of the petals on adaxial side of petals. Bar indicate standard errors (n=4~6 for Mellow Yellow; n=5~8 for Pinocchio; n=5 for Maite Lady; n=4 for Piccolo White; n=5~8 for Cute Blue Picotee).

3-4 考察

花弁に反りを持つ品種‘Mellow Yellow’や‘Pinocchio’では、開花前後の花弁先端が外側へと反り返る時期に、花弁上部の急速な細胞肥大が見られた。この結果は、Yamada ら (2009) が報告した、バラの反り返りと細胞肥大の相関を示した結果と同じであった。また、前章の調査では、花弁先端部が横方向に顕著に拡大していたが、この拡大は開花前後における著しい細胞肥大に起因する可能性があった。本実験の結果から、花弁のカーブの形成には、局所的に起きる細胞肥大が大きく関与していることを示した。

一方、ロート型品種‘Maite Lady’では、細胞サイズは、開花過程を通じて直線的に増加しており、細胞の縦横比にも目立った特徴は見られなかった (Fig. 8c)。ロート型では、花弁全体において、細胞が縦横両方向に均一に成長し、これによって平面的な花弁形態が維持されると考えられた (Fig.9c)

トールカップ型である‘Piccolo White’の花弁は横幅が広く、花弁中基部に膨らみを持つ。Fig. 8d より、花弁全部位の表皮細胞は、開花の早い段階で著しく肥大していた。花弁に膨らみのない品種では、花弁基部の細胞は細長い形をしているのに対し、‘Piccolo White’では横幅に伸びた形態をしていた (Fig. 9c)。前章の結果より、‘Piccolo White’の花弁は全体的に横方向へ伸長が顕著であったが、これは開花前期における細胞の横幅のある形への変化と、著しい細胞肥大に由来している可能性が考えられた。

内側にカーブした花弁では、花弁の横方向への成長は、細胞の横方向への成長に由来すると考えられた。ところが、反り返りをもつ花弁では、花弁の成長を細胞の

方向で説明することはできなかった。‘Mellow Yellow’や‘Pinocchio’では、横幅の拡大が著しい花弁先端部において、細胞サイズは急速に増大するものの (Fig. 8a, b)、細胞の形は細長い形に変化していた (Fig. 9a, b)。つまり細胞が縦方向に伸長していることになる。このような矛盾が起きる背景には、花弁成長に伴う細胞の回転や細胞の配置の変化が考えられる。トルコギキョウの花弁の脈は基部から放射状に広がるように形成されており、細胞が縦に伸長すれば花弁全体としては横に広がると考えられる。また、脈の方向が、開花後期になると広がることから、トルコギキョウの花弁生育中に、細胞分裂が起きている可能性も否定できない。

以上のことから、特徴的な花弁の形成には、花弁の表皮細胞の成長パターンが影響していることが示唆された。

終章 総合考察

本研究は、トルコギキョウ花卉の定量的な評価と、特徴的な花型を示す花卉の開花に伴う花卉成長を調査したものである。

第1章では、フーリエ変換と主成分分析を用いてトルコギキョウ花卉の形態的特徴について定量的評価を試みた。トルコギキョウ花卉の湾曲、つまり花卉を真横から見たときの花卉の背軸側に沿った中央脈ラインの輪郭を評価した結果、花卉湾曲は、主に「花卉の開く角度」、「花卉中基部の膨らみ」の2つの主成分によって特徴付けられた (Table 2, Fig. 2)。また、花卉の平面形態を解析した結果、形態は主に「花卉の縦横比」と「花卉の重心の位置」の2つのパラメーターによって特徴づけられた。さらに、得られたフーリエ係数を用いて、品種のクラスタリングを行った結果、トルコギキョウの花冠は、1) ボウル型：花の開きが大きく、花卉がカーブするタイプ、2) トールカップ型：花の開きが小さく、花卉が向軸側にカーブするタイプ、3) トランペット型：花卉の開きが大きく、花卉先端に大きな反りを持つタイプ、4) ロート型：花卉の開きが小さく、花卉のカーブが小さいタイプの4つの特徴的な形態が示された (Fig. 3)。また、これらの花卉の湾曲構造と花卉の二次元の形との間に関連がみられた。ボウル型やトールカップ型のような、花冠下部に膨らみを持つ花型は、横幅の広い花卉を持つ傾向があり、ロート型やトランペット型のような、直線的に伸びた花型や花卉に反りを持つ花型では、比較的細長い花卉形態をしていた (Fig. 3)。

カーブが形成されるのは、局所的な領域の成長差によるとするモデル (Coen et al., 2004; Rolland-Lagan et al., 2003) が予想されたため、花卉内における領域的な成

長について、第2章で検討した。

花弁先端部に反りをもつ花型の‘Mellow Yellow’や‘Pinocchio’では、蕾から満開に至るまでの過程で、花弁先端部の横方向への成長が、縦方向の成長よりも大きく、先端部の成長率は全部位の中で最も高かった (Fig. 7a, b)。さらに表皮細胞の成長について調べると、開花して花弁が反り返る時期に、急速な細胞肥大が起きていた (Fig. 8a, b)。このことから、花弁先端部の横幅の拡大は、急速な細胞肥大によりもたらされると考えられた。ただし、細胞肥大は花脈に沿った方向に起きていた。これは、花脈が放射状に伸びていることで、細胞の縦方向の拡大が花弁の横幅の拡大に寄与していること、また細胞の成長方向が回転したことが考えられた。Coenらは、微小領域の成長を表す変形、拡大、回転の3種のパラメーターを定義しているが (Coen et al., 2004; Rolland-Lagan et al., 2003)、それらすべてが起きていると考えられる。

花冠が直線的に伸びるロート型の品種 ‘Maite Lady’では、花弁の横方向と縦方向との成長差はほとんどなく、細胞サイズは花弁の全部位ですべての生育ステージで同様に成長していた (Fig. 7c, Fig. 8c)。花脈が直線的に伸びる花弁では、全ての領域において、細胞が縦横両方向に均一に成長し、平面的な構造が維持されることが考えられた。

トールカップ型品種の ‘Piccolo White’や ‘Cute Blue Picotee’は花弁中基部に膨らみを持つのが特徴である。これらの花弁では、花弁下部での横方向への成長率が、縦方向に比べて高く (Fig. 7d)、このような横幅の拡大には、細胞の横方向への成長がともなっていた (Fig. 8d)。このような細胞成長パターンが、中基部における花弁の膨らみを生む原因であると考えられた。以上の結果から、特徴的な花弁形態

は、それぞれ花弁成長が細胞レベルで異なっていることに由来すると考えられた。

開花時における花弁成長に関する研究は、多くの園芸植物において多数報告されている (van Doorn and van Meeteren, 2003)。バラ花弁では、成長にともない細胞内に糖質が多量に蓄積することが知られている (Yamada et al., 2007)。ガーベラでは、花冠の成長と *GEG* (*Gerbera* homolog of *GAST1*) 遺伝子との関係が調べられ、*GEG* 遺伝子が花冠の細胞の縦方向の伸長に関わることが示唆された

(Kotilainen et al., 1999)。ペチュニアの花弁では、細胞壁に緩みを引き起こすタンパク質エクспанシンが花弁の急速な成長期に特異的に発現し、セルロースマイクロフィブリルのスライドに関わることで細胞の肥大を促進することが示され

(Zenoni et al., 2004)、バラにおいても、エクспанシン、またエンド型キシログルカン転移酵素/加水分解酵素 (XTH) が、開花における細胞壁の伸展性の上昇に関与することが報告されている (Yamada et al, 2009a)。その他、マイクロアレイ解析やサブトラクション法 (Diatchenko et al., 1996) を用いた開花過程で特異的に発現する遺伝子の解析が、バラ、カーネーション、ガーベラなどで報告があり、これらの植物の花弁では、開花期に特異的な遺伝子として、いくつかの細胞壁や細胞の形態に関与する遺伝子が得られている (Channeliere et al, 2002; Harada et al., 2010; Hunter et al., 2002; Litinen et al, 2007; van Doorn and van Meeteren, 2003)。トルコギキョウの花弁成長における細胞肥大についても、これらの遺伝子が関与している可能性が考えられ、これら遺伝子の発現パターンの花弁の立体的形態との関連については、さらに調べる必要がある。

植物の葉の形成については、様々な研究が行われている (Kim and Cho, 2006; Kim et al., 2002; MacConnell et al., 2001; Tsuge et al., 1996)。キンギョソウの

cincinata (*cin*) 突然変異体は、葉の周縁が上向きにカールし、表面が波打った凹凸のある異常な葉を形成する。キンギョソウの葉では、細胞分裂が先端から停止していくが、*CIN*遺伝子は、その細胞分裂停止の前線付近、もしくはその基部側で発現しており、*CIN*遺伝子が葉の細胞における細胞分裂を停止させ、葉の平面的な形を維持していることが提案された (Nath et al., 2003)。*CIN*遺伝子は、キンギョソウの花弁細胞においても発現がみられ、その発現は細胞分裂期特異的マーカー遺伝子の発現とよく似ており、*CIN*遺伝子が花弁細胞の分裂を調節して花弁の形を制御していると考えられた (Crawford, 2004)。

葉の形状と物質輸送経路である葉脈について、葉脈構造の多くは平行脈と網状脈に大別することができる。イネなどの単子葉類がもつ平行脈では、主脈と側脈が平行に形成されることから、葉身は縦方向に長い形態となり、双子葉類がもつ網状脈では、主脈に対して側脈が一次側脈、二次側脈と分岐するため、横幅の広い葉が形成されると考えられる。このように葉の形状は、葉脈パターンに大きく影響を受け、また細胞分裂パターンとも密接に関係していることが、生理学や分子生物学の結果を踏まえた数理モデルによる解析などから報告されている (Dengler and Kang, 2001; Fujita and Mochizuki, 2006; Runions et al., 2005; Sachs, 2003)。花弁は進化の過程で、葉が変形して生じたものである。葉の形態形成のメカニズムを知ることとは、葉の変形器官である花弁の形態形成の理解する上でも、有力な手掛かりになると考えられる。

引用文献

Anastasiou, E., Lenhard, M., 2007. Growing up to one's standard. *Curr. Opin. Plant Biol.* 10: 63-69.

Asha, Sane, V. A., Sane, A. P. and Nath, P. 2007. Multiple forms of banana α -expansin genes express during fruit ripening and development. *Postharvest. Biol. Technol.* 45: 184-192.

Bradshaw, H. D., K. G. Otto, B. E. Frewen, J. K. McKay and D. W. Schemske. 1998. Quantitative trait loci affecting differences in floral morphology between two species of monkeyflower (*Mimulus*). *Genetics* 149: 367-382.

Brioudes, F., Joly, C., Szecsi, J. , Varaud, E., Leroux, J., Bellvert, F., Bertrand, C. and Bendahmane, M. 2009. Jasmonate controls late development stages of petal growth in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.* 60: 1070-1080.

Brummell, D. A., Harpster, M. H., Civello, P. M., Palys, J. M., Bennett, A. B. and Dunsmuir, P. 1999. Modification of expansin protein abundance in tomato fruit alters softening and cell wall polymer metabolism during ripening. *Plant Cell.* 11: 2203-2216.

Channeliere, S., Riviere, S., Scalliet, G., Szecsi, J., Jullien, F., Dolle, C., Vergne, P., Dumas, C., Bendahmane, M., Huguene, P. and Cock, J. M. 2002. Analysis of gene expression in rose petals using expressed sequence tags. *FEBS. Lett.* 515:35-38.

Cho, H. T. and Cosgrove, D. J. 2000. Altered expression of expansin modulates leaf growth and pedicel abscission in *Arabidopsis thaliana*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 97: 9783-9788.

Coen, E., A. G. Rolland-Lagan, M. Matthews, J. A. Bangham and P. Prusinkiewicz. 2004. The genetics of geometry. *Proc. Natl. Aca. Sci.* 101: 4728-4735.

Cosgrove, D.J. 2000. Loosening of plant cell walls by expansins. *Nature* 407: 321-326

Cosgrove, D.J. 2005. Growth of the plant cell wall. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 6: 850-861.

Crawford, B.C.W., Nath, U., Carpenter, R. and Coen, E. 2004. *CINCINATTA* controls both cell differentiation and growth in petal lobes and leaves of *Antirrhinum*. *Plant Physiol.* 135: 244-253.

Dengler, N. and Kang, J. 2001. Vascular patterning and leaf shape. *Curr Opin*

Plant Biol 4: 50–56.

Diatchenko, L., Lau, Y. F. C., Campbell, A. P., Chenchik, A., Moqadam, F., Huang, B., Lukyanov, S., Luyyanov, K., Gurskaya, N., Sverdlov, E. D. and Siebert, P. 1996. Suppression subtractive hybridization: A method for generating differentially regulated or tissue-specific cDNA probes and libraries. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 93: 6025-6030.

Evans, R. Y. and Reid, M. S. 1988. Changes in carbohydrates and osmotic potential during rhythmic expansion of rose petal. J. Am. Soc. Hort. Sci. 113: 884-888.

Freeman, H. 1974. Computer processing of line drawing images. Comp. Surv. 6: 57-97.

Fujita, H. and Mochizuki, A. 2006. The origin of the diversity of leaf venation pattern, Dev. Dynam. 235: 2710–2721.

Furuta, N., S. Ninomiya, S. Takahashi, H. Ohmori and Y. Ukai. 1995. Quantitative evaluation of soybean (*Glycine max.* L. Merr.) leaflet shape by principal component scores based on elliptic Fourier descriptor. Breed. Sci. 45: 315-320.

Galliot, C., M. E. Hoballah, C. Kuhlemeier and J. Stuurman. 2006. Genetics of

flower size and nectar volume in *Petunia* pollination syndromes. *Planta* 225: 203-212.

Gookin, T. E., Hunter, D. A. and Reid, M. S. 2003. Temporal analysis of alpha and beta-expansin expression during floral opening and senescence. *Plant Science* 164: 769-781.

Gorton, H. L. and Vogelmann, T. C. 1996. Effect of epidermal cell shape and pigmentation on optical properties of *Antirrhinum* petals at visible and ultraviolet wavelengths. *Plant Physiology* 122: 879-888.

Granlund, G. H. 1972. Fourier processing for handwritten character recognition. *IEEE Trans. Comput.* 21: 195-201.

Hall, M. C., C. J. Basten and J. H. Willis. 2006. Pleiotropic quantitative trait loci contribute to population divergence in traits associated with life history variation in *Mimulus guttatus*. *Genetics* 172: 1829-1844.

Harada, T., Torii, Y., Morita, S., Masumura, T. and Satoh, S. 2010. Differential expression of genes identified by suppression subtractive hybridization in petals of opening carnation flowers. *J. Exp. Bot.* 61: 2345-2354.

Harbaugh, B. K. 2006. Lisianthus. *Eustoma grandiflorum*. p. 645-663. In: N. O. Anderson (ed.). Flower Breeding and Genetics. Springer, Amsterdam.

Hill, J.P. and Lord, E.M. 1989. Floral development in *Arabidopsis thaliana*: a comparison of the wild type and the homeotic pistillata mutant. Can. J. Bot. 67: 2922-2936.

Hunter, D. A., Steele, B. C. and Reid, M. S. 2002. Identification of genes associated with perianth senescence in daffodil (*Narcissus pseudonarcissus* L. 'Dutch Master'). Plant Science 163:13-21.

Ichimura, K., Kawabata, Y., Kishimoto, M., Goto, R. and Yamada, K. 2003. Shortage of soluble carbohydrates is largely responsible for short vase life of cut Sonia rose flowers. J. Jpn. Soc. Hortic. Sci. 72: 292-298.

Ichimura, K., M. Kishimoto, R. Norikoshi, Y. Kawabata and K. Yamada. 2005. Soluble carbohydrates and variation in vaselife of cut rose cultivars 'Delilah' and 'Sonia' flowers. J. Hort. Sci. Bio. 80: 280-286.

Iwata, H. and Y. Ukai. 2002. SHAPE: a computer program package for quantitative evaluation of biological shapes based on elliptic Fourier descriptors. J. Hered. 93: 384-385.

Iwata, H., H. Nesumi, S. Ninomiya, Y. Takano and Y. Ukai. 2002. The evaluation of genotype environment interactions of citrus leaf morphology using image analysis and elliptic Fourier descriptors. *Breed. Sci.* 52: 243-251.

Iwata, H., S. Niikura, S. Matsuura, Y. Takano and Y. Ukai. 1998. Evaluation of variation of root shape of Japanese radish (*Raphanus sativus* L.) based on image analysis using elliptic Fourier descriptors. *Euphytica* 102:143-149.

Jofuku, K.D., Den Boer, B.G.W., Van Montagu and Okamurw, J.K. 1994. Control of *Arabidopsis* flower and seed development by the homeotic gene *APETALA2*. *Plant Cell*. 6: 1211-1225.

Kawabata, S., M. Yokoo and K. Nii. 2009. Quantitative analysis of corolla shapes and petal contours in single-flower cultivars of lisianthus. *Sci. Hortic.* 121: 206-212.

Kenis, J. D., Silvents, S. T., Trippi, V. S. 1985. Nitrogen metabolite and senescence-associated change during growth of carnation flowers (*Dianthus caryophyllus*). *Physiol. Plant.* 65: 455-459.

Kohonen, T. 1995. *Self-Organizing Maps*. Springer, Berlin.

Koning, R. E. 1984. The role of plant hormones in the growth of the corolla of

Gaillardia grandiflora (Asteraceae) ray flowers. Amer. J. Bot. 71: 1-8.

Kotilainen, M., Helariutta, Y., Mehto, M., Pollanen, E., Albert, V.A., Elomaa, P. and Teeri, T.H., 1999. *GEG* participates in the regulation of cell and organ shape during corolla and carpel development in *Gerbera hybrida*. Plant Cell 11: 1093-1104.

Kaihara, S. and Takimoto, A. 1981. Effects of light and temperature on flower-opening in *Pharbitis nil*. Plant. Cell. Phys. 22: 215-221.

Kalisz, S., Ree, R. H. and Satgent, R. D. 2006. Linking floral symmetry genes to breeding system evolution. Trens. Plant. Sci. 11: 568-573

Kerner von Marilaun A. 1891. *Pflanzenleben*, Band 2. Leipzig: Verlag des Bibliographisches Institut.

Kim, G. T. and Cho, K. H. 2006. Recent advances in the genetic regulation of the shape of simple leaves. Physiol. Plant. 126: 494-502

Kim, G. T., Shodo, K., Tsuge, T., Cho, K. H., Uchiyama, H., Yokoyama, R., Nishitani, K. and Tsukaya, H. 2002. The *ANGUSTIFOLIA* gene of *Arabidopsis*, a plant *CtBP* gene, regulates leaf-cell expansion, the arrangement of cortical microtubules in leaf

cells and expression of a gene involved in cell-wall formation. *Embo. Journal*. 21: 1267-1279.

Krizek, B. A. and Fletcher, J.C. 2005. Molecular mechanisms of flower development: an armchair guide. *Nat Rev Genet* 6: 688-698.

Kuhl, F. P. and C. R. Giardina. 1982. Elliptic Fourier features of a closed contour. *Comput. Graph. Image. Proc.* 18: 236-258.

Laitinen, R. A. E., Pollanen, E., Teeri, T. H., Elomaa, P. and Kotilainen, M. 2007. Transcriptional analysis of petal organogenesis in *Gerbera hybrida*. *Planta* 226:347-360.

Luo, D., Carpenter, R., Copsey, L., Vincent, C., Clark, J. and Coen, E. 1999. Control of organ asymmetry in flowers of *Antirrhinum*. *Cell* 99: 367-376.

Luo, D., Carpenter, R., Vincent, C., Copsey, L. and Coen, E. 1996. Origin of floral asymmetry in *Antirrhinum*. *Nature* 383: 794-799.

McConnell, J. R., Emery, J., Eshed, Y., Bao, N., Bowman, J. and Barton, M.K. 2001. Role of *PHABULOSA* and *PHAVOLUTA* in determining radial patterning in shoot. *Nature*. 411: 709-713.

Meyerowitz, E.M., 1997. Genetic control of cell division patterns in developing plants. *Cell* 88: 299-308.

Mizukami, Y. and Ma, H. 1997. Determination of *Arabidopsis* floral meristem identity by *AGAMOUS*. *Plant Cell*. 9: 393-408.

Nath, U., B.C.W. Crawford, R. Carpenter and Coen, E. 2003. Genetic control of surface curvature. *Science* 299: 1404-1407.

Nitasaka, E., Iwasaki, M. and Coberly, C. 2003. Molecular analysis of a double flower mutant in the common morning glory. *Genes & Genetic Systems* 78: 470.

Noda, K., Glover, B. J., Linstead, P. and Martin, C. 1994. Flower colour intensity depends on specialized cell shape controlled by Myb-related transcription factor. *Nature* 369: 661-664.

Ohsawa, R., T. Tsutsumi, H. Uehara, H. Namai and S. Ninomiya. 1998. Quantitative evaluation of common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) kernel shape by elliptic Fourier descriptor. *Euphytica* 101: 175-183.

Reale, L., Porceddu, A., Lanfaloni, L., Moretti, C., Zenoni, S., Pezzotti, M., Romano, B. and Ferranti, F. 2002. Patterns of cell division and expansion in developing

petals of *Petunia hybrida*. Sexual Plant Reprod. 15: 123-132.

Rohlf, F.J. and Archie, J.W. 1984. A comparison of Fourier methods for the description of wing shape in mosquitoes (Diptera: Culicidae). Systematic Zoology 3: 302-317.

Rolland-Lagan, A. G., J. A. Bangham and E. Coen. 2003. Growth dynamics underlying petal shape and asymmetry. Nature 422: 161-163.

Rose, J. K. C., Lee, H. H. and Bennett, A.B. 1997. Expression of a divergent expansin gene is fruit-specific and ripening-regulated. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 94: 5955-5960.

Runions, A., Fuhrer, M., Lane, B., Federl, P., Rolland-Lagan, A. G., Prusinkiewicz, P. 2005. Modeling and visualization of leaf venation patterns. ACM Trans. Graphics 24: 702–711.

Sablowski, R. 2007. Flowering and determinacy in *Arabidopsis*. J. Exp. Bot. 58: 899-907.

Sachs, T. 2003. Collective specification of cellular development. Bioessays 25: 897-903.

Scutt, C.P., Oliveira, M., Gilmartin, P. M. and Negrutiu, I. 1999 Morphological and molecular analysis of a double-flowered mutant of the dioecious plant white campion showing both meristic and homeotic effects. *Dev. Genet.* 25: 267–279.

Sane, A. P., Tripathi, S. K. and Nath, P. 2007. Petal abscission in rose (*Rosa bourboniana* var Gruss an Teplitz) is associated with the enhanced expression of an alpha expansin gene, *RbEXPA1*. *Plant Science* 172: 481-487.

Smyth, D.R., Bowman, J.L. and Meyerowitz, E.M. 1990. Early flower development in *Arabidopsis*. *Plant Cell.* 2: 755-767.

Tanaka, O., Wada, H., Yokoyama, T. and Murakami, H. 1987. Environmental factors controlling capitulum opening and closing of dandelion, *Taraxacum albidum*. *Plant. Cell. Phys.* 28: 727-730.

Tsuge T, Tsukaya H, Uchimiya H. 1996. Two independent and polarized processes of cell elongation regulate leaf blade expansion in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Development.* 122: 1589-1600.

van Doorn, W. G., and van Meeteren, U. 2003. Flower opening and closure: A review. *Journal of Experimental Botany* 54: 1801-1812.

Vandenbussche, M., Zethof, J., Royaert, S., Weterings, K., and Gerats, T. 2004. The duplicated b-class heterodimer model: Whorl-specific effects and complex genetic interactions in *Petunia hybrida* flower development. *Plant Cell*. 16: 741-754.

Wood, W.M.L., 1953. Thermonasty in tulip and crocus flowers. *J. Exp. Bot.* 4, 65-77.

Yamada K, Takahashi R, Fujitani C, Mishima K, Yoshida M, Joyce DC, Yamaki S. 2009a. Cell wall extensibility and effect of cell-wall-loosening proteins during rose flower opening. *J. Jpn. Soc. Hortic. Sci.* 78: 242-251.

Yamada, K., Ito, M., Oyama, T., Nakada, M., Maesaka, M. and Yamaki, S. 2007. Analysis of sucrose metabolism during petal growth of cut roses. *Postharvest Biology and Technology* 43: 174--177.

Yamada, K., Norikoshi, R., Suzuki, K., Imanisi, H. and Ichimura, K. 2009b. Determination of subcellular concentrations of soluble carbohydrates in rose petals during opening by nonaqueous fractionation method combined with infiltration-centrifugation method. *Planta* 6: 1115-1127.

Yoshioka, Y., H. Iwata, N. Hase, S. Matsuura, R. Ohsawa and S. Ninomiya. 2006a. Genetic combining ability of petal shape in garden pansy (*Viola* × *Wittrockiana* Gams) based on image analysis. *Euphytica* 151: 311–319.

Yoshioka, Y., H. Iwata, R Ohsawa and S. Ninomiya. 2004. Analysis of petal shape variation of *Primula sieboldii* by elliptic Fourier descriptors and principal component analysis. *Ann. Bot.* 94: 657-664.

Yoshioka, Y., R. Ohsawa, H. Iwata, S. Ninomiya and N. Fukuta. 2006b. Quantitative evaluation of petal shape and picotee color pattern in lisianthus by image analysis. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 131: 261-266.

Zahn, C. T. and R. Z. Roskies. 1972. Fourier descriptors for plane closed curves. *IEEE Trans. Comput.* 21: 269-281.

Zenoni, S., Reale, L., Tornielli, G.B., Lanfaloni, L., Porceddu, A., Ferrarini, A., Moretti, C., Zamboni, A., Speghini, A., Ferranti, F. and Pezzottia, M. 2004. Down-regulation of the *Petunia hybrid* α -expansin gene *PhEXPI* reduces the amount of crystalline cellulose in cell walls and leads to phenotypic changes in petal limbs. *Plant Cell.* 16: 295-308.

Zheng, Z., H. Iwata, S. Ninomiya and Y. Tamura. 2005. Quantitative evaluation of partial shape characteristics of petal in sacred lotus based on P-type Fourier descriptors. *Breed. Res.* 7: 133-142 (In Japanese).

Zheng, Z., H. Iwata, Y. Hirata and Y. Tamura. 2008. Quantitative evaluation of the

degree of sprout leaf bending of rice cultivars using P-type Fourier descriptors and principal component analysis. *Euphytica* 163: 259-266.

岩田洋佳. 2005. コンピュータ画像処理による2次元形態計測. *日作紀*. 74:371-373.

大川清. 2003. トルコギキョウ 栽培管理と開花調節. 誠文堂新光社.

上坂良則. 1984. 開曲線にも適用できる新しいフーリ. エ記述子. *電子情報通信学会論文誌*. J67-A: 166-173.

河村 洋子・横田 康成. 2005. 開曲線に適した新たなフーリエ記述子「I型フーリエ記述子」. *電子情報通信学会論文誌*. J88-D: 2021-2028.

塚田晃久. 1984. トルコギキョウ: テキサス生まれのリンドウ娘. *フローリスト*1(7): 24-25.

謝辞

本研究の機会を与えて下さり、御指導を賜りました東京大学大学院農学生命科学研究科 河鱒実之准教授に深く感謝の意を表します。また、本研究の遂行にあたり御助言、御鞭撻を賜りました東京大学大学院農学生命科学研究科 杉山信男前教授に心より感謝申し上げます。並びに、材料のトルコギキョウをご提供頂きました、長野県野菜花き試験場の宮坂昌実氏、広島県立総合技術研究所農業技術センターの勝谷範敏氏、福島啓吾氏に心より感謝申し上げます。本研究を進めるにあたり様々な御協力を頂きました園芸学研究室の皆様にも、心より御礼申し上げます。最後に、私の研究生生活を様々な面で支えてくれた友人、知人、そして私の家族に心より感謝致します。

平成 22 年 12 月 20 日