

## キクの光周性花成制御機構の解明と計画生産技術への応用

樋口洋平<sup>1</sup>, 中野善公<sup>2</sup>, 久松完<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 東京大学大学院 農学生命科学研究科 〒113-8657 東京都文京区弥生 1-1-1

<sup>2</sup> 農業・食品産業技術総合研究機構 野菜花き研究部門

〒305-0852 茨城県つくば市藤本 2-1

Yohei Higuchi<sup>1</sup>, Yoshihiro Nakano<sup>2</sup>, Tamotsu Hisamatsu<sup>2</sup>

### **Mechanisms of photoperiodic flowering of chrysanthemum and its application to stable commercial production**

Key words: anti-florigen, chrysanthemum, florigen, night-break, photoperiod

<sup>1</sup> Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo, 1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo, 113-8657, Japan

<sup>2</sup> Institute of Vegetable and Floriculture Sciences, NARO, 2-1 Fujimoto, Tsukuba, Ibaraki 305-0852, Japan

DOI: 10.24480/bsj-review.10c7.00167

#### 1. はじめに

1920年にガーナーとアラードによって発表された光周性の概念は、今日の農業生産現場における効率的な作物栽培技術や育種技術の発展、とりわけ観賞用花きの計画的生産に大きく貢献してきた。例えば、光環境（光周期）を人為的に制御することにより、本来は秋に咲くキクを1年中栽培し開花させることが可能となっている。キクは鋭敏に光周期に応答することから古典的な花成生理学研究のモデル植物として用いられ、かつ光周性の知見が商業生産現場において最も効果的に応用されている好事例として知られているが、分子遺伝学的な解析基盤の不足等により、開花制御の分子機構についてはほとんど明らかになっていなかった。本稿では、キク属モデル植物としてNBRPで整備されつつある二倍体野生ギクのキクタニギクにおいて最近明らかになった光周性花成制御の分子機構について紹介する。

#### 2. キクの産業上の重要性

キク（栽培ギク：*Chrysanthemum morifolium*）はバラ、カーネーションとならび世界3大花きに数えられ、日本における切り花出荷量の約4割を占める重要品目である（2018年農林水産統計）。供花や仏事用、および葬儀需要が最も多く年間を通して需要があることに加え、盆や年末年始、春・秋の彼岸といった特定の短い期間に大量の需要が集中することから、高精度な開花調節が求められている。日本における自然環境下では、キクは日の長い（長日条件）春から夏にかけて栄養成長し、日が短くなる秋に花芽分化・開花する短日植物である。短日条件の真夜中に人工的に光を照射（暗期中断または光中断）することにより花芽分化を長期間抑制することが可能であり、この性質を利用した「電照菊」栽培が広く普及し、キクの計画生産（安定供給）を支えている。

Y. Higuchi, Y. Nakano & T. Hisamatsu -1

### 3. 光周性花成

1920年にアメリカ農務省のガーナーとアラードは、遅咲きのタバコ変異体 (Maryland Mammoth) や晩生の大豆品種を使った実験から、これらの植物が光の強さや温度、栄養条件でなく光周期 (昼または夜の長さ) に反応して開花することを発見した (Garner and Allard 1920)。その後の研究から、植物は光周期に対する応答性から大きく分けて、長日植物 (長日条件下で開花が促進される)、短日植物 (短日条件下で開花が促進)、中性植物 (開花が光周期に依存しない) に分類されることが明らかになった (Thomas and Vince-Prue 1997)。1936年にはロシアのチャイラヒヤンが局所的な光周期処理実験 (植物体の一部、例えば葉や茎頂部のみを遮光性の布で覆うなどした) や接ぎ木実験の結果から、適切な光周期条件下の葉で合成され、茎頂部へと長距離移動する花成誘導物質 (フロリゲン) の存在を予言した (Chailakhyan 1936)。同じ頃、ドイツのビュニングは、植物は内在性の概日時計により日長を計測しているとする画期的な説を提唱した (Bünning 1936)。1990年代に入り、シロイヌナズナの花成時期に関する変異体を用いた分子遺伝学的解析から、光周性花成制御に重要な役割を果たす光受容体や概日時計構成因子、シグナル伝達因子をコードする遺伝子が次々と単離された。国内外の研究グループによる一連の解析から、遅咲き変異体の原因遺伝子として同定された *FLOWERING LOCUS T (FT)* は花成促進的 (長日) 条件下の葉の師部組織で発現が誘導され、茎頂部において bZIP 型の転写制御因子である FD と複合体を形成し、花芽分裂組織決定遺伝子 *APETALA1/FRUITFULL (API/FUL)* の発現を活性化することが明らかになった (Kardailsky et al. 1999, Kobayashi et al. 1999, Abe et al. 2005, Wigge et al. 2005)。2007年には、シロイヌナズナとイネにおいて、FT および Heading date 3a (Hd3a : イネの FT オルソログ) の GFP 融合タンパク質が葉の師部組織から茎頂まで長距離移動することが示され、FT/Hd3a タンパク質がフロリゲンの分子実体であることが示された (Corbesier et al. 2007, Tamaki et al. 2007)。

フロリゲン説の提唱と同時期から、ヒヨス、イチゴ、ドクムギ、キク、タバコ、アサガオなど様々な植物において、花成に不適切な日長条件下の葉で合成される花成抑制物質の存在を示唆する結果が次々と示された (Lang and Melchers 1943, Guttridge 1959, Evans 1960, Weise and Seeley 1964, Tanaka 1967, Lang et al. 1977, Ogawa and King 1990)。例えば、キクでは茎先端部の日長条件にかかわらず、すべての葉を短日条件におくと花芽分化するが、上位葉を暗期中断すると花芽分化が抑制される。また、タバコでは、短日条件でも花芽分化する中性系統に長日性の系統を接ぎ木して短日条件下で栽培すると、中性系統の花芽分化が抑制された (Lang et al. 1977)。これらの結果から、花成非誘導条件の葉で長距離移動性の花成抑制物質 (アンチフロリゲン) がつくられると想定された。しかし、アンチフロリゲンの分子実体はフロリゲンと同様、長い間謎のままだった。シロイヌナズナにおける研究から、FT と同じフォスファチジルエタノールアミン結合タンパク質 (phosphatidylethanolamine binding-like protein, PEBP) ファミリーに属する TERMINAL FLOWER 1 (TFL1) が茎頂部において FT と拮抗的に作用し、花序分裂組織の維持および花成抑制的に機能することが明らかになった (Bradley et al. 1997, Abe et al. 2005)。TFL1 は FT と拮抗的に作用するものの、茎頂分裂組織において局所的に機能することから、当初想定されたアンチフロリゲンの条件を満たしてはいなかった。後述するように、2013年にキクタニギクにおいて光周期に応答して葉で誘導される長距離移動性の

TFL1 様因子が同定され、アンチフロリゲンの存在が分子レベルで初めて明らかになった (Higuchi et al. 2013)。

#### 4. キクの光周性花成制御機構～フロリゲンとアンチフロリゲン～

キク（栽培ギク）は光周性の基礎知見が産業的に応用されている一方で、高次倍数性（六倍体）や自家不和合性などの問題から、開花制御の分子機構についてはほとんど明らかになっていなかった。なぜキクの花成は短日条件で誘導され、反対に真夜中の電照により効果的に抑制できるのだろうか？近年、二倍体野生種のキクタニギク (*Chrysanthemum seticuspe*) において網羅的な発現遺伝子情報の収集や形質転換系の確立、およびナショナルバイオリソースとして自家和合性自殖系統の整備と全ゲノム解読が進められ (Hirakawa et al. 2019), 分子遺伝学的な解析基盤が急速に整いつつある (本総説集の中野ら 2019 BSJ-Review 10C6 を参照)。このキクタニギクをモデル系として用い、キクの花成応答の分子機構を理解する上でまず初めに着目したのが、当時フロリゲンの分子実体として明らかになって間もない *FT* 遺伝子である。キクタニギクにおいて *FT* 相同遺伝子を探索したところ、3 種類の遺伝子 (*CsFTL1*, 2, 3) が単離された。このうち、*CsFTL3* の発現は暗期中断条件下と比較して短日条件下の葉で高く誘導されたことに加え、*CsFTL3* を過剰発現させたキクは通常開花しない長日条件下でも開花したことから、*CsFTL3* がキクの花成抑制因子として機能すると考えられた (Oda et al. 2012)。一方で、*CsFTL1* および 2 は花成抑制的な暗期中断条件の葉でより多く発現し、機能解析の結果から弱い花成促進活性が確認されたことから、フロリゲン遺伝子の挙動のみではキクの質的な短日応答性を説明するには不十分であった。キクタニギクのカスタムマイクロアレイを用い、短日条件と暗期中断条件の葉における遺伝子発現を網羅的に探索したところ、暗期中断条件の葉で特異的に発現する *FT/TFL1* 様遺伝子が単離され、*Anti-florigenic FT/TFL1 family protein (CsAFT)* と命名された。*CsAFT* の発現は長日条件や暗期中断条件の葉で高く、短日条件に移すと速やかに抑制された。*CsAFT* を過剰発現するキクは短日条件下でも不開花となり、一方で RNAi による発現抑制体は電照下で早期に発蕾したことから、*CsAFT* が強い花成抑制活性を持つと考えられた。加えて、*CsAFT* タンパク質が葉から茎頂部へと接ぎ木面を横断して長距離移動すること、フロリゲン複合体 (*CsFTL3-CsFDL1*) の形成を阻害することにより花成抑制的に機能することが実験的に示されたことから、キクにはフロリゲンによる花成促進機構に加えて、花成抑制的な条件下ではアンチフロリゲンによる積極的な花成抑制機構が存在することが明らかになった (Higuchi et al. 2013)。加えて、キクの *TFL1* 相同遺伝子 (*CsTFL1*) は茎頂部において恒常的に発現しており、*AFT* と同様に *FTL3* と拮抗的に作用することで花成抑制的に機能することが示されている (Higuchi and Hisamatsu 2015)。これらの結果から、キクの質的な開花応答は、適切な日長下で誘導されるフロリゲン (*FTL3*) に加え、不適切な日長下で誘導される長距離移動性のアンチフロリゲン (*AFT*)、および、茎頂部における恒常的・局所的な抑制因子 (*TFL1*) による二重の花成抑制システムにより制御されていると考えられる (図 1, Higuchi 2018)。

最近明らかになったキクタニギク的全ゲノム配列に対し *FT/TFL1* が属する PEBP ファミリー遺伝子を網羅的に探索したところ、新たに二種類の *TFL1* 様遺伝子が見つかった。シロイヌ

ナズナにおいて報告のある花成促進および抑制活性に必須なアミノ酸残基を比較した結果、これら2つの遺伝子はともに花成抑制活性を持つと予測された。興味深いことに、これらのうち *CsTFL1* と高い相同性を示した *CsCEN-like* 遺伝子の発現は、ロゼット形成時（冬季の休眠・越冬状態）の茎頂部で高く誘導され、休眠打破に必要な低温遭遇後に抑制されていた (Hirakawa et al. 2019)。このことから、新たに単離された *CsCEN-like* は多年生宿根草としてのキクの生活環において、冬季の休眠状態における花成抑制因子として機能する可能性が考えられている。

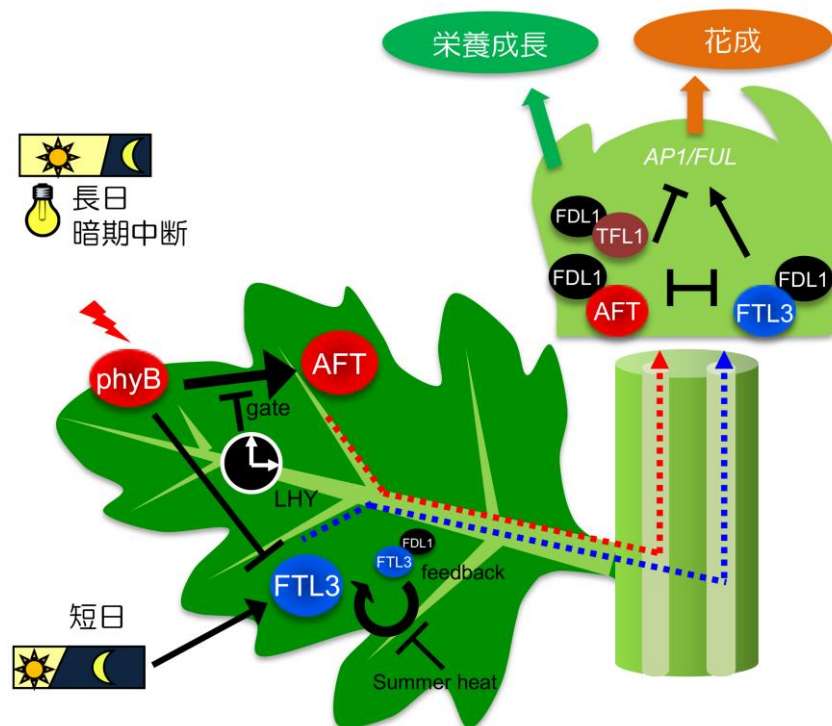


図1. キクタニギクにおける光周性花成制御機構のモデル

短日条件下の葉で *FTL3* の発現が誘導され、茎頂部へと長距離移動して花芽分裂組織決定遺伝子 (*AP1/FUL*) の発現を誘導する。長日条件や暗期中断(電照)条件下の葉では *AFT* の発現が誘導され、茎頂部へと移動した後に *FTL3* と拮抗的に作用することで花成抑制的に機能する。光周期依存的なこれら因子の発現誘導には赤・遠赤色光受容体のフィトクロム (*phyB*) と概日時計が関与する。繰り返しの短日条件下における *FTL3* の発現誘導には自身によるフィードバック制御が存在し、高温により抑制される。茎頂部では *TFL1* が局所的・恒常的な花成抑制因子として機能している。

## 5. 電照を感知する光センサーと暗期の認識機構

多くの短日植物と同様にキクの暗期中断電照には赤色光が最も効果的であり、この効果は直後の遠赤色光によって部分的に抑制されることから、赤・遠赤色光受容体であるフィトクロムの関与が示唆されてきた (Thomas and Vince-Prue 1997, Higuchi et al. 2012, Sumitomo et al. 2012)。キクタニギクにおいてフィトクロムの一種をコードする *CsPHYB* 遺伝子の発現を RNAi 法により抑制したところ、赤色光による暗期中断に低感受となり、極早期に開花した。この結果から、*CsPHYB* がキクの暗期中断を感知する主要な光受容体として機能し、電照下では

フロリゲン (*FTL3*) の発現を抑制し、一方でアンチフロリゲン (*AFT*) の発現を誘導することで花成抑制的に機能していることが明らかになった (図 1, Higuchi et al. 2013)。

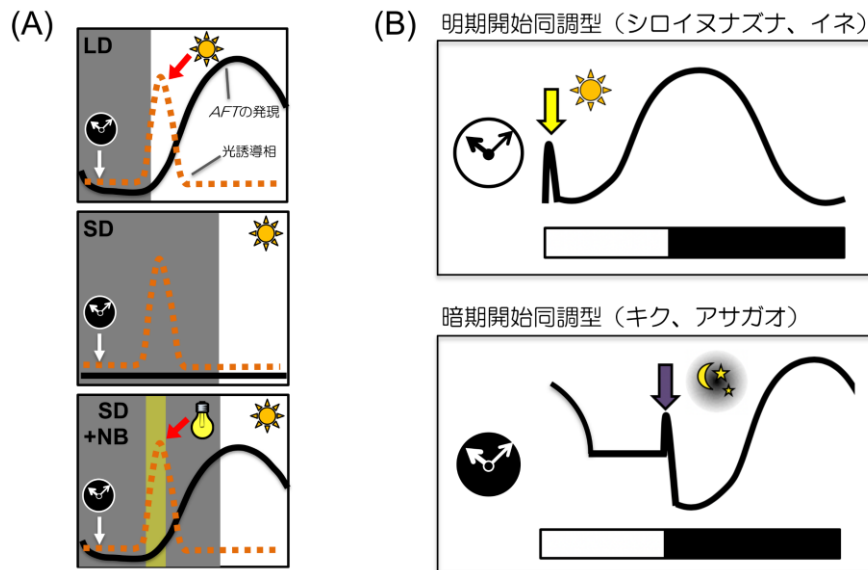


図 2. 光に敏感な時間帯と暗期の認識メカニズム

(A) 長日 (LD), 短日 (SD), 電照 (NB) 下における AFT の発現誘導モデル。明期の長さに関わらず、日没から一定時間後に AFT の光誘導相が出現する。長日下では光誘導相と夜明けの光が相互作用し、AFT の発現が誘導される。短日下では光誘導相の出現時刻には光が当たらず AFT は誘導されない。暗期中断電照下では光誘導相と夜中の人為的な光照射が相互作用し、AFT が誘導される。

(B) 花成制御に関与する概日リズムの同調機構の違い。フロリゲンもしくはアンチフロリゲンの合成に直接的に関与する概日リズムは、シロイヌナズナやイネでは明期開始時に強くリセットされるのに対し、キクやアサガオでは暗期開始時に強くリセットされる。白いバーは明期、黒いバーは暗期をそれぞれ表している。

キクのプロリゲンをコードする *FTL3* の発現は短日条件で誘導され、反対に *AFT* の発現は長日的条件下でより多く誘導される。光周期依存的なこれら遺伝子の発現調節は明期の長さや暗期の長さ、どちらに強く依存しているのだろうか？花成誘導に十分な長さの暗期 (14 時間) とさまざまな長さの明期を組み合わせ、非 24 時間周期の光周期でキクを栽培した結果、明期の長さに関わらず花芽分化が観察された。また、同様の条件下で *CsFTL3* と *CsAFT* の発現解析を行った結果、明期ではなく暗期の長さに依存して発現量の変化が観察された。以上の結果から、キクは絶対的な暗期の長さを計測していることが明らかになった。これに加え、*CsAFT* の発現誘導が 1 日のうちのどの時間帯の赤色光照射によって最も強く誘導されるかを解析した結果、明期の長さに関わらず、暗期開始から一定 (8~10) 時間後に最も効果的な時間帯 (光誘導相) が出現した (Higuchi et al. 2013)。この結果は、キクの花成制御に重要な光誘導相は、暗期開始を起点とした概日時計機構によって制御されていることを示している (図

2)。シロイヌナズナやイネで明らかになった日長認識モデル（外的符合モデル）では、明期開始を起点とした概日リズム遺伝子発現と、夕方の光との相互作用の有無が重要であることが示されている（Yanovsky and Kay 2002, Izawa et al. 2002）。キクで明らかになった暗期開始を起点とする概日リズムの存在は、同じ絶対的短日植物であるアサガオにおいても報告されている（Hayama et al. 2007）。これらの結果から、植物ごとに概日時計の同調機構は異なっており、キクやアサガオに特徴的なメカニズムが存在すると考えられるが、詳細は明らかになっていない（図 2）。キクにおける概日時計関連遺伝子の機能解析としては唯一、*LATE ELONGATED HYPOCOTYL (LHY)* の相同遺伝子 (*CsLHY*) が報告されている。形質転換体を用いた機能解析の結果から、*CsLHY* は *CsFTL3* および *CsAFT* の発現制御に関与することが示唆された（Oda et al. 2017）。最近、キクタニギク的全ゲノム配列が解読され、予測された遺伝子モデルから光周性花成関連の遺伝子を探索した結果、シロイヌナズナにおける概日時計関連遺伝子のほとんどがキクタニギクでも高度に保存されており、光入力から概日時計の同調（リセット）に関わる遺伝子も複数見つかった（Hirakawa et al. 2019）。今後、これら概日時計関連遺伝子の機能解析を通じ、キクの暗期長認識機構が明らかになることが期待される。

キクタニギクで明らかになった日没を起点とした *AFT* の光誘導相の発見は、キクの生産現場における電照栽培技術の省エネルギー化・効率化に直結する可能性を秘めている。慣行の電照栽培では、季節を問わず午前 0 時を中心として 4~5 時間程度の電照方法が広く普及している。栽培ギクにおいて電照時間帯と花芽分化抑制効果の関係を詳細に解析した結果、最も抑制効果の高い時間帯は *AFT* の光誘導相と同様、日没から一定時間後に現れることが明らかになった（白山・郡山 2013）。この結果は、二倍体野生ギクで得られた知見が栽培ギクにも適用可能であることを示しており、将来的には季節ごとに変動する日没からの経過時間を考慮することにより、電照技術の最適化が進むことが期待される。

## 6. 開花までの短日繰り返し要求：*FTL3* のフィードバック制御メカニズム

キクでは、フロリゲンをコードする *FTL3* 遺伝子の発現量が短日条件下で徐々に上昇するというユニークな現象が存在する。シロイヌナズナやアサガオ等のモデル植物では一回から数回の適日長遭遇により急激な *FT* 誘導が起こり、その後の日長にかかわらず開花する（Hayama et al., 2007; King et al., 2008）。一方、キクは数日の短日遭遇で不可逆的に花序を分化するが、その後の花芽発達・開花には連続した短日条件を必要とする（Adams et al., 1996）。4. で述べたように花芽分化の質的短日応答は葉における *AFT* の急激な抑制に依るところが大きい一方、*FTL3* 発現は繰り返しの短日条件下で日々上昇していき、頭状花の発達および開花に必要なレベルに達すると考えられる（Nakano et al., 2013）。*FT/TFL1* は *PEBP* と呼ばれるタンパク質ファミリーに属する。いくつかの植物では日長誘導された *PEBP* による *PEBP* の発現制御が知られており、*bZIP* 型転写制御因子の関与が示されている例もある（図 3）。キクにおいて、*FTL3* と *bZIP (FDL1)* に着目して *FTL3* 発現との関連を調べたところ、連続した短日の間、葉において *FTL3* は *FTL3-FDL1* 複合体による正のフィードバック制御を受け、*FTL3* 自身の発現レベルが上昇することが明らかになった（Nakano et al., 2019）。これまでの知見と併せると、*PEBP* による *PEBP* 制御は 4 つのパターンに大別される（図 3）。①適日長下の葉で生合

成された PEBP が頂部に移行し PEBP 発現を誘導する (ジャガイモ, エンドウ)。②適日長ではない条件下の葉で誘導された PEBP がフロリゲン機能を持つ PEBP の発現を抑制する (ビート)。③適日長下の葉で誘導された PEBP が転写抑制型 bZIP とともに PEBP 発現を抑制する (イネ)。そして④適日長下の葉で誘導された PEBP が bZIP とともに PEBP 発現を誘導する (キク) である。キクのしくみでは, *AFT* による花芽分化抑制とその解除による花芽分化期の決定, および花芽分化後の日長条件による *FTL3* の発現量調節と最終的な開花期の決定が起こっていると考えられる。

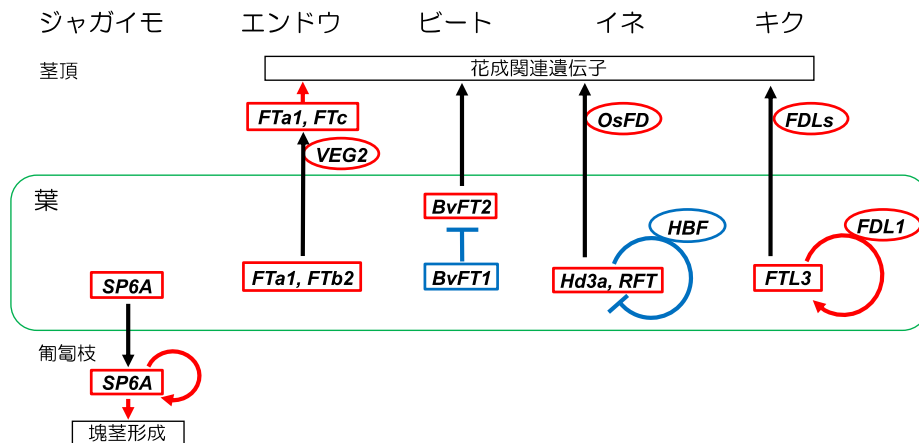


図 3. PEBP による PEBP の制御を介した花成および貯蔵器官形成のモデル

ジャガイモ (Navarro et al. 2011), エンドウマメ (Sussmilch et al. 2015), ビート (Pin et al. 2010), イネ (Brambilla et al. 2017), キク (Nakano et al. 2019) で報告されている PEBP による PEBP 制御。□: フロリゲン活性を有する PEBP。□: フロリゲン活性を有さない PEBP。○: 転写促進能を有する bZIP。○: 転写抑制能を有する bZIP。→: 発現誘導。T-bar: 発現抑制。→: タンパク質輸送後の発現誘導。

## 7. 高温開花遅延: 光周性花成に対する生育気温の影響

ここまでに述べたようにキクの花成は光周期によって厳密に制御され, 人為的日長調節による周年開花が可能である。キクが我が国の花き類の最大品目となったのも周年生産体制の確立に依るところが大きい。しかし, 欧米の「電照-シェード」技術を我が国に導入する過程において, 夏季に短日処理を行っても開花に至らないことが問題となった。実はキクの開花は高温によって抑制される性質 (高温開花遅延) があつたためである。この問題を解決するため, 柴田 (1997) の研究と品種選抜に代表されるように, 高温でも開花可能な形質 (高温開花性) の品種群が選抜されてきている。キクタニギクや開花の高温感受性が異なる栽培ギク品種を活用することで高温開花遅延について明らかになったことを紹介する。キクの高温開花遅延では花序決定よりもその後の花器官の分化・発達が高温の影響を大きく受ける (Nakano et al., 2013)。このとき, 茎頂部における Floral pathway integrator に属する遺伝子や花器官形成に関わる ABC クラス遺伝子の発現パターンが遅延することから, 葉からのフロリゲ

ンシグナルが弱くなっていると考えられた。そこで、*FTL3* の短日誘導と温度の関係に着目したところ、高温によってその発現が抑制されることが開花遅延要因の一つであることが明らかになった (Nakano et al., 2013)。なお、高温による *AFT* の発現上昇はみられなかったため、積極的な花成抑制が働いている可能性は低いと考えられた。高温による *FTL3* 発現抑制機構としては、6.で述べたフィードバック制御の阻害である可能性が高いと考えられる。*FTL3* の高温による発現抑制はフィードバック制御のかかる繰り返し短日中に見られ、長日から短日へ転換した直後の発現誘導は高温でも阻害されないからである (Nakano et al., 2013)。また、高温感受性は暗期後半に高くなるというリズムを有しており、フィードバック制御のうちでも暗期長計測とリンクした発現誘導過程が阻害されているのかもしれない (Nakano et al., 2015)。キクタニギクの系統には日長応答性だけでなく、高温開花性にもバリエーションがあるため、キクタニギクの系統とともに最近明らかになったキクタニギクゲノム配列 (Hirakawa et al., 2019) を活用することが機構解明の一助となると考えられる。

## 8. おわりに

2000 年台後半から始まった次世代型シーケンサーの急速な普及により、これまで解析が困難であったさまざまな植物においてゲノム情報や遺伝子発現情報の整備が急速に進んでいる。キクタニギクで最近明らかになった光周性花成制御機構の一端もまた、この技術革新によるところが大きい。また、近年開発された CRISPR/Cas9 等のゲノム編集技術により目的とする遺伝子を直接的に改変することが可能となっている。栽培ギクにおいても既に CRISPR/Cas9 による遺伝子破壊が可能であるとの報告があり (Kishi-Kaboshi et al. 2017)、今後さらなる効率化が期待される。今後は、二倍体のキクタニギクをモデルとしてキクの産業上の重要形質に関する分子機構を次々と明らかにしていくことに加え、得られた知見を六倍体である栽培ギクの効率的育種に応用・実用化していくことで、これまでにない画期的な新品種の育成や栽培技術の開発が実現していくと期待される。

## 謝辞

本研究の一部は、科学研究補助金・基盤研究 B (16H04877) の助成によって行われた。

## 引用文献

- Abe, M., Y. Kobayashi, Y., Yamamoto, S., Daimon, Y., Yamaguchi, A., Ikeda, Y., Ichinoki, H., Notaguchi, M., Goto, K., & Araki, T. 2005. FD, a bZIP protein mediating signals from the floral pathway integrator FT at the shoot apex. *Science* 309: 1052-1056.
- Adams, S.R., Pearson, S., & Hadley, P. 1998. An appraisal of the use of reciprocal transfer experiments: assessing the stages of photoperiod sensitivity in chrysanthemum cv. Snowdon (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.). *J. Exp. Bot.* 49:1405-1411.
- Bradley, D., Ratcliffe, O., Vincent, C., Carpenter, R., & Coen, E. 1997. Inflorescence commitment and architecture in *Arabidopsis*. *Science* 275:80-83.
- Brambilla, V., Martignago, D., Goretti, D., Cerise, M., Somssich, M., de Rosa, M., Galbiati, F., Shrestha,



- R., Lazzaro, F., Simon, R., & Fornara, F. 2017. Antagonistic transcription factor complexes modulate the floral transition in Rice. *Plant Cell* 29:2801-2816.
- Bünning, E. 1936. Die endogene tagesrhythmik als grundlage der photoperiodischen reaktion. *Ber. Dtsch. Bot. Ges.* 54: 590-607.
- Chailakhyan, M. 1936. New facts in support of the hormonal theory of plant development. *Dokl. Akad. Nauk. SSSR* 13:79-83.
- Corbesier, L., Vincent, C., Jang, S., Fornara, F., Fan, O., Searle, I., Giakountis, A., Farrona, S., Gissot, L., Turnbull, C., & Coupland, G. 2007. FT protein movement contributes to long-distance signaling in floral induction of *Arabidopsis*. *Science* 316: 1030-1033.
- Evans, L. 1960. Inflorescence initiation in *Lolium temulentum* L. II. Evidence for inhibitory and promotive photoperiodic processes involving transmissible products. *Aust. J. Biol. Sci.* 13: 429-440.
- Garner, W., & Allard, H. 1920. Effects of the relative length of day and night and other factors of the environment on growth and reproduction in plants. *J. Agric. Res.* 18: 553-606.
- Guttridge, C. 1959. Further evidence for a growth-promoting and flower-inhibiting hormone in strawberry. *Ann. Bot.* 23: 612-621.
- 白山竜次・郡山啓作 2013. キクの電照栽培における暗期中断電照時間帯が花芽分化抑制に及ぼす影響. *園学研* 12: 427-432.
- Hayama, R., Aagashe, B., Luley, E., King, R., & Coupland, G. 2007. A circadian rhythm set by dusk determines the expression of *FT* homologs and the short-day photoperiodic flowering response in *Pharbitis*. *Plant Cell* 19: 2988-3000.
- Higuchi, Y., Sumitomo, K., Oda, A., Shimizu, H., & Hisamatsu, T. 2012. Day light quality affects the night-break response in the short-day plant chrysanthemum, suggesting differential phytochrome-mediated regulation of flowering. *J. Plant Physiol.* 169: 1789-1796.
- Higuchi, Y., Narumi, T., Oda, A., Nakano, Y., Sumitomo, K., Fukai, S., & Hisamatsu, T. 2013. The gated induction system of a systemic floral inhibitor, antiflorigen, determines obligate short-day flowering in chrysanthemums. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 110: 17137-17142.
- Higuchi, Y., & Hisamatsu, T. 2015. CsTFL1, a constitutive local repressor of flowering, modulates floral initiation by antagonising florigen complex activity in chrysanthemum. *Plant Sci.* 237: 1-7.
- Higuchi, Y. 2018. Florigen and anti-florigen: Flowering regulation in horticultural crops. *Breed. Sci.* 68:109-118.
- Hirakawa, H., Sumitomo, K., Hisamatsu, T., Nagano, S., Shirasawa, K., Higuchi, Y., Kusaba, M., Koshioka, M., Nakano, Y., Yagi, M., Yamaguchi, H., Taniguchi, K., Nakano, M., & Isobe, S. 2019. *De novo* whole-genome assembly in *Chrysanthemum seticospe*, a model species of Chrysanthemums, and its application to genetic and gene discovery analysis. *DNA Res.* 26: 195-203.
- Izawa, T., Oikawa, T., Sugiyama, N., Tanisaka, T., Yano, M., & Shimamoto, K. 2002. Phytochrome mediates the external light signal to repress *FT* orthologs in photoperiodic flowering of rice. *Genes Dev.* 16: 2006-2020.
- Kardailsky, I., Shukl, V.K., Ahn, J.H., Dagenais, N., Christensen, S.K., Nguyen, J.T., Chory, J., Harrison,

- M.J., & Weigel, D. 1999. Activation tagging of the floral inducer *FT*. *Science* 286:1962-1965.
- King, R.W., Hisamatsu, T., Goldschmidt, E.E., & Blundell, C. 2008. The nature of floral signals in *Arabidopsis*. I. Photosynthesis and a far-red photoresponse independently regulate flowering by increasing expression of *FLOWERING LOCUS T (FT)*. *J. Exp. Bot.* 59:3811-3820.
- Kishi-Kaboshi, M., Aida, R., & Sasaki, K. 2017. Generation of gene-edited *Chrysanthemum morifolium* using multicopy transgenes as targets and markers. *Plant Cell Physiol.* 58: 216-226.
- Kobayashi, Y., Kaya, H., Goto, K., Iwabuchi, M., & Araki, T. 1999. A pair of related genes with antagonistic roles in mediating flowering signals. *Science* 286:1960-1962.
- Lang, A., & Melchers, G. 1943. Die photoperiodische reaktion von *Hyoscyamus niger* (in German). *Planta* 33:653-702.
- Lang, A., Chailakhyan, M.K., & Frolova, I. 1977. Promotion and inhibition of flower formation in a day neutral plant in grafts with a short-day plant and a long-day plant. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 74:2412-2416.
- Nakano, Y., Higuchi, Y., Sumitomo, K., & Hisamatsu, T. 2013. Flowering retardation by high temperature in chrysanthemums: involvement of *FLOWERING LOCUS T*-like 3 gene expression. *J. Exp. Bot.* 64: 909-920.
- Nakano, Y., Higuchi, Y., Sumitomo, K., Oda, A., & Hisamatsu, T. 2015. Delay of flowering by high temperature in chrysanthemums: heat-sensitive time-of-day and heat effects on *CsFTL3* and *CsAFT* gene expression. *J. Hort. Sci. Biotech.* 90: 143-149.
- Nakano, Y., Takase, T., Takahashi, S., Sumitomo, K., Higuchi, Y., & Hisamatsu, T. 2019. *Chrysanthemum* requires short-day repeats for anthesis: Gradual *CsFTL3* induction through a feedback loop under short-day conditions. *Plant Sci.* 283:247-255.
- 中野道治, 増田優, 谷口研至, 草場信 2019. NBRP 広義キク属:キク属モデル系統の開発と植物多様性研究への展開. 植物科学の最前線 (BSJ-Review) 10C6: 148-157.
- Navarro, C., Abelenda, J.A., Cruz-Oro, E., Cuellar, C.A., Tamaki, S., Silva, J., Shimamoto, K., & Prat, S. 2011. Control of flowering and storage organ formation in potato by *FLOWERING LOCUS T*. *Nature* 478:119-122.
- Oda, A., Narumi, T., Li, T., Kando, T., Higuchi, Y., Sumitomo, K., Fukai, S., & Hisamatsu, T. 2012. *CsFTL3*, a chrysanthemum *FLOWERING LOCUS T*-like gene, is a key regulator of photoperiodic flowering in chrysanthemums. *J. Exp. Bot.* 63: 1461-1477.
- Oda, A., Higuchi, Y., & Hisamatsu, T. 2017. Photoperiod-insensitive floral transition in chrysanthemum induced by constitutive expression of chimeric repressor *CsLHY-SRDX*. *Plant Sci.* 259: 86-93.
- Ogawa, Y., & King, R. 1990. The inhibition of flowering by non-induced cotyledons of *Pharbitis nil*. *Plant Cell Physiol.* 31: 129-135.
- Pin, P.A., Benlloch, R., Bonnet, D., Wremerth-Weich, E., Kraft, T., Gielen, J.J., & Nilsson, O. 2010. An antagonistic pair of *FT* homologs mediates the control of flowering time in sugar beet. *Science* 330:1397-1400.
- 柴田道夫 1997. 夏秋ギク型スプレーギクの温度・日長反応と育種に関する研究. 野菜茶試験

報. 12:1-71.

- Sussmilch, F.C., Berbel, A., Hecht, V., Vander Schoor, J.K., Ferrándiz, C., Madueño, F., & Weller, J.L. 2015. Pea *VEGETATIVE2* is an *FD* homolog that is essential for flowering and compound inflorescence development, *Plant Cell* 27:1046-1060.
- Sumitomo, K., Higuchi, Y., Aoki, K., Miyamae, H., Oda, A., Ishiwata, M., Yamada, M., Nakayama, M., & Hisamatsu, T. 2012. Spectral sensitivity of flowering and *FT*-like gene expression in response to a night break treatment in the chrysanthemum cultivar 'Reagan'. *J. Hort. Sci. Biotech.* 87: 461-469.
- Tamaki, S., Matsuo, S., Wong, H.L., Yokoi, S., & Shimamoto, K. 2007. Hd3a protein is a mobile flowering signal in rice. *Science* 316: 1033-1036.
- Tanaka, T. 1967. Studies on the regulation of Chrysanthemum flowering with special reference to plant regulators I. The inhibiting action of non-induced leaves on floral stimulus. *J. Japan Soc. Hort. Sci.* 36: 77-85.
- Thomas, B., & Vince-Prue, D. 1997. *Photoperiodism in Plants*, Ed 2. Academic Press, London
- Weise, A.H., & Seeley, J.G. 1964. Translocation of floral stimulus in Chrysanthemum. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 85: 574-583.
- Wigge, P.A., Kim, M.C., Jaeger, K.E., Busch, W., Schmid, M., Lohmann, J.U. & Weigel, D. 2005. Integration of spatial and temporal information during floral induction in *Arabidopsis*. *Science* 309: 1056-1059.
- Yanovsky, M., & Kay, S.A. 2002. Molecular basis of seasonal time measurement in *Arabidopsis*. *Nature* 419: 308-312.