



Title	ホウレンソウの花芽形成・抽だいに関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	安部, 英里香
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第11814号
Issue Date	2015-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/58622
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Erika_Abe_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称： 博士（農学）

氏名 安部 英里香

学位論文題名

ホウレンソウの花芽形成・抽だいに関する研究

ホウレンソウは日本では年間を通じて栽培されている、重要な園芸作物の一つである。ホウレンソウには東洋種と西洋種が存在しており、食味や形態の嗜好性から日本人は東洋種を好む傾向にある。しかしながら、春期・夏期の栽培において東洋種は抽だいがおきやすいことから、現在は両者の一代交雑品種が広く用いられている。抽だいはホウレンソウの食味を著しく害し商品価値がなくなることから大きな農業上の問題である。しかし、ホウレンソウの抽だい制御機構についてはほとんど分かっていないので、抽だいを制御する内生因子を明らかにすることができれば、その内生因子を利用した育種や栽培方法により、東洋種の抽だいを改善することが可能となる。本研究ではホウレンソウ幼植物体を用いた抽だい抑制活性検定法を開発し、抽だい抑制物質の探索を行った。さらに抽だいを含めた花芽形成について、遺伝子レベルでの制御機構を明らかにするために花芽形成に関わる遺伝子の単離を行った。

1. ホウレンソウの抽だい抑制物質の単離

植物の様々な生理現象と同じく、抽だいは促進要因と抑制要因のバランスにより制御されていると考え、ホウレンソウの抽だいが起きにくい「晩抽性品種」と、容易に抽だりする「易抽性品種」を用いホウレンソウの抽だい抑制物質の単離を行った。抽だい抑制活性検定法の開発には、抽だいが起きやすい易抽性品種を用い、*in vitro*で育成した幼植物体を用いた検定法を開発した。抽だい抑制物質の単離は、抽だい抑制活性が高いと推察される晩抽性品種を短日条件下で栽培し、抽だい前の植物体から行った。ホウレンソウ地上部のエタノール抽出物から得られた酢酸エチル可溶性分画に強い抽だい抑制活性が認められたため、各種クロマトグラフィー、HPLC を用いて酢酸エチル可溶性分画から抽だい抑制物質の単離・精製ならびに質量分析を行った。ホウレンソウ植物体に抽だい抑制物質が存在することを明らかにした。

2. 花芽形成関連遺伝子のホウレンソウホモログの単離

ホウレンソウの抽だいは低温よりも日長による影響が強いため、複数ある花芽形成制御経路のうち光周期経路による制御が強いと考えた。遺伝子レベルでの花芽形成の制御機構を調べるために、光周期経路の代表的な遺伝子である *CONSTANS (CO)* と、花芽形成経路統合遺伝子 *FLOWERING LOCUS T (FT)* の発現解析を行った。しかし、ホウレンソウの *CO* 及び *FT* 遺伝子の報告はまだなく、すでに報告のある同じヒユ（アカザ）科のテンサイ (*Beta vulgaris*)とシロザ (*Chenopodium rubrum*) の遺伝子配列を参考にプライマーを設計し、RT-PCR、シーケンスにより内部配列を取得した。この内部配列を基にホウレンソウ特異的なプライマーを設計し、RACE 法により全長配列の取得を行った。2つの *FT* (*SoFT1* と *SoFT2*) と *CO-like (SoCOL1)* 遺伝子を単離することができた。

単離されたホウレンソウホモログから推定されるアミノ酸配列を用いて、シロイヌ

ナズナ (*Arabidopsis thaliana*) やテンサイの *CO*、*COL* や *FT* との相同性比較、系統樹解析を行った。*SoCOL1* は *CO* タンパク質の特徴とされる *B-Box* や *CCT* ドメインを持っており、系統樹解析では *AtCO* や *BvCOL1* と同じ分岐群に属することが明らかとなった。*SoFT1* と *SoFT2* は 80 % のアミノ酸配列の相同性を示した。どちらも *AtFT* や *BvFT2*、*CrFT1* と高い相同性を示し、系統樹解析からも同分岐群に属していると示された。系統樹解析からも *SoFT2* は *FT* の花芽形成誘導機能に重要なアミノ酸残基をすべて保存していたが、*SoFT1* はそのうちの 140 番目のグルタミンがプロリンに置換していた。

3. 花芽形成関連遺伝子のハウレンソウホモログの遺伝子発現様式

ハウレンソウから単離した花芽形成関連遺伝子のホモログが日長に応答し、花芽形成と連動しているかを調べるために、リアルタイム PCR によって遺伝子発現様式を調べ、茎頂部の光学顕微鏡観察用試料を作製し花芽形成の有無を観察した。人工気象機を使って長日条件下 (16 時間日長)、短日条件下 (9 時間日長) でハウレンソウを育成し、24 時間、4 時間おきに採取を行った。長日条件では花芽が形成されたのに対し、短日条件では花芽は形成しなかった。*CO* 遺伝子や *FT* 遺伝子は、シロイヌナズナなど、多くの植物で概日リズムを持つことが知られている。*SoCOL1* は長日条件下でも短日条件下でも同様に、暗期が始まると発現量が増加し、暗期終了時に最大値となる日周変動を示した。異なる日長間における発現量の差はなかった。*SoFT1* と *SoFT2* は、長日条件下で、短日条件下と比べ明らかに発現量が高い結果となった。しかし、*SoFT1* は長日条件下で日周変動を示したが、*SoFT2* は日周変動を示さなかった。

FT 遺伝子は葉で発現し、翻訳後にタンパク質が茎頂に運ばれて花芽形成を誘導することが多くの植物で知られている。そこで、*SoFT1* と *SoFT2* の遺伝子発現部位を調べた。長日条件下で育成したハウレンソウを花芽形成の程度で生育段階を設定し、子葉、本葉、茎頂の 3 つの部位に分けて遺伝子発現を調べた。*SoFT2* は他の植物と同様に、子葉と本葉で発現し、茎頂では発現量が低かった。また、生育段階が進むにつれて本葉の発現量は増加した。一方で、*SoFT1* は全ての部位、生育段階で発現量が低かった。

SoFT1 と *SoFT2* の発現量が日長変化に応答して変化するかを調べるために、短日条件下で育成したハウレンソウを長日条件下へ移し、両遺伝子の発現解析を行った。*SoFT1* と *SoFT2* いずれも長日条件下移行後、2 日以内に遺伝子発現量が増加した。*SoFT1* 遺伝子発現量の増加が 2 倍だったことに対し、*SoFT2* は 20 倍量の増加がみられた。

タンパク質の相同性や遺伝子発現様式の解析結果から、*SoFT2* は花芽形成促進因子として機能し、*SoFT1* は光シグナル伝達に置いて何らかの役割を果たしていると考えられた。

本研究では、ハウレンソウの花芽形成・抽だいを制御する内生因子についての報告を行った。作物の花芽形成・抽だいを制御することは非常に重要な課題であるが、モデル植物で提唱される制御機構に当てはまらないこともあり、遺伝子や 2 次代謝産物を含めた制御機構は未だ不明な点が多い。ハウレンソウの花芽形成・抽だいに関する生理的な制御機構に着目した研究報告はほとんどなかったが、本研究の成果を利用して、年間を通して栽培がしやすく、食味が良好なハウレンソウの作出と、これまでに以上の安定供給がなされることを期待する。