HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	レタスの抽苔と花成に関する生理学的研究［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	福田, 真知子
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	乙第7018号
Issue Date	2017-03-23
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/65634
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Machiko_Fukuda_abstract.pdf, 論文内容の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

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　福 田　真 知 子

学 位 論 文 題 名

レタスの抽苔と花成に関する生理学的研究

レタスにおける栄養成長相から生殖成長相への相転換(花成)は，花芽分化と花茎伸長（抽苔）をともない，それには，温度が重要な環境要因として関わっていると考えられている．作物としてのレタスは主に栄養成長中のレタス植物体を利用し，抽苔した植物体は市場価値を失うことから，抽苔しにくい冷涼な気候での栽培が望ましい．しかしながら近年，異常気象による栽培中の高温による抽苔が発生し，すでにそのことによる収量や品質の低下が顕在化し，今後，将来的な地球温暖化による気温上昇によりさらに発生が多発する危険性があることから，レタス栽培現場においては抽苔回避という課題が常在すると予測されている．

本研究は，レタスの安定生産につながる栽培管理技術や効率的な晩抽性品種開発に貢献するための，レタス抽苔の生理機構の解明を目的とした．まず，多くの植物で抽苔との関連が示唆されている植物ホルモン，ジベレリンのレタス抽苔における動態解析を行った．また，レタスにおいては，花成制御の分子メカニズムについての報告が殆どないことから，レタスの花成に関する遺伝子群を同定し，抽苔と花成にともなう遺伝子の発現および遺伝子機能の解析を行った．

１）レタス高温抽苔におけるジベレリン動態の解析

多くの植物で花芽分化，抽苔への関与が示唆されているジベレリンについて，ジベレリン代謝酵素遺伝子の発現解析，内生ジベレリンの同定，精密定量を行った．ジベレリン代謝経路下流の酵素遺伝子は遺伝子族を形成していることから，各酵素遺伝子を特異的に検出するプライマーセットを設計して quantitative real time（qRT）-PCR により発現解析を行った．この結果，レタス茎においては各パラログのうち *LsGA20ox1*，*LsGA3ox1*，*LsGA2ox1* が主要に発現しており，特に高温抽苔においては茎の上部で *LsGA3ox1* の発現量が特異的に増加することが示された．また，供試品種において GA_{19}，GA_{20}，GA_1 の内生量を測定し，茎の上部では GA_1 が，下部では GA_{20} の内生量が増加することが明らかになった．

ジベレリン代謝経路遺伝子および内生量の変動から，高温条件下で誘導されるレタス抽苔においては，生合成酵素遺伝子である *LsGA3ox1* が主導的に作用した結果，内生 GA_1 量が増加し茎伸長が起こることが示唆された．一方，高温によるレタス抽苔において *LsGA3ox1* がキー遺伝子となっていることが明らかになったため，GA3ox の作用阻害剤を高温抽苔条件下にあるレタスに処理したところ，連続処理およびスポット処理で茎伸長が抑制された．さらに，高温抽苔条件下におけるジベレリン代謝酵素遺伝子発現量および内生量を抽苔特性の異なる品種間で比較し，晩抽性品種では調節に働く遺伝子の発現量および内生量の増加が早抽性品種に比べて少ないことが明らかとなった．これらの結果から，高温抽苔時にジベレリン代謝を律速する代謝酵素遺伝子の分子種を明らかとなり，抽苔と内生ジベレリンの生合成制御には関連があることが示唆された．

２）レタス花成経路統合遺伝子 *LsFT* の単離と高温抽苔における動態解析

抽苔は花芽分化をともなうことから，本研究では花成に着目し，花成経路統合遺伝子 *FLOWERING LOCUS T*（*FT*)のレタス相同性遺伝子の単離と解析を試みた．縮重プライマーの利用と Rapid

amplification of cDNA ends (RACE) 法により 528 bp のレタス *FT* 相同性遺伝子を同定し，*LsFT* と命名した．*FT* の相同性遺伝子は植物種により複数の分子種が存在するが，単離過程において検出された塩基配列や，サザンハイブリダイゼーションの結果から，レタスの *LsFT* はシングルコピーであると推論された．*LsFT* の機能を調べるため，過剰発現させたシロイヌナズナの形質を調べたところ，形質転換によって野生型と比較して有意に花成が早まることがわかった．これらのことから，*LsFT* は *FT* と同様の作用があると推定された．レタスにおける発現解析により，*LsFT* は最大葉で発現量が多く，加えて，発現が日内変動する遺伝子であることが示された．また *LsFT* 発現量は成長相に応じて変動し，花成の進行と一致して増加した．これらの結果から，*LsFT* はレタス花成の誘導作用を持つと結論した．

３）レタス花成関連遺伝子の単離とレタス抽苔における動態解析

花芽分化と抽苔は複雑な生理過程を含むことから，レタス花成解明の一環として，２）で述べた *LsFT* のほかに，花成に関連すると推定される一連の遺伝子を同定し，*LsFT* とあわせて品種間差および栽培環境の違いによる遺伝子発現の変動を解析した．まず，解析を行う花成関連遺伝子として，花芽形成決定遺伝子のレタス相同性遺伝子 *LsLFYL*，*LsAP1L* ならびに自律的花成経路上のレタス相同性遺伝子 *LsFVEL*，*LsFLDL*，*LsLDL* の関与を想定し，遺伝子の単離，解析を試みた．その結果，*LsFLDL* を除くすべての遺伝子の塩基配列全長の決定に成功した．

それら遺伝子の発現解析の結果，圃場栽培において抽苔が観察されたレタス茎頂では，レタス花芽形成決定遺伝子 *LsLFYL*，*LsAP1L* の発現量が花芽形成時期に急激に上昇することが示された．*LsFT* の発現量は，抽苔が観察された品種の葉において花芽形成決定遺伝子の発現増加に先立って増加した．自律的経路上のレタス相同性遺伝子 *LsFVEL*，*LsFLDL*，*LsLDL* は，*LsFT* と同様の発現動態や，花芽形成決定遺伝子の発現増加と同調した発現動態を示した．これらの結果から，圃場栽培においては，*LsFT* の発現量の増加に続いて花芽形成決定遺伝子 *LsLFYL*，*LsAP1L* の発現量が増加し，その後，花芽として識別される形態的変化が起きることが判明した．さらに，レタスの花成において，それと関連する自律的経路が働いていることが証明された．

一方，人工気象環境下で栽培した結球性品種，系統を用いた花成関連遺伝子の発現動態解析においては，晩抽性育成系統では花成時期に *LsFT* の明確な発現ピークがみられなかった．しかし，早抽性結球性レタス品種では，花成進行と *LsFT* の発現動態は一致していたことから，*LsFT* が複数の品種，栽培条件下で花成誘導に関与しており，*LsFT* の発現量の低さが強度晩抽性形質に関与していることが示唆された．人工気象環境下での花成進行の自律的経路遺伝子群の発現パターンは，圃場実験ほど明確な変動を示さなかった．これらの結果から，花成のシグナル受容系と制御経路が複数存在することを考えあわせ，様々な環境要因を感知し，多様な体内シグナル伝達経路を利用することにより生育を変化させ，環境に適応する植物の柔軟な仕組みが，レタスの花成と抽苔にも働いていることが示唆された．

本研究によって，レタスの高温抽苔時におけるジベレリン動態の分子的メカニズムと，抽苔と花成に関わる遺伝子の働きの一端が明らかとなった．学術的には，レタスにおいて初めて花成経路統合遺伝子を単離，同定し，自律的経路上の遺伝子群の関与を推定した．一方，本研究は，人工気境条件下で行われる栽培技術の開発に応用，発展させることが可能である．本研究で得られた知見が発展し，将来のレタス安定生産技術開発に寄与することを期待したい．