

学位論文題名

Studies on Endogenous and Exogenous Factors
in the Induction of Tubers and Flower Buds

(塊茎と花芽誘導に関係する内生および外生要因の研究)

学位論文内容の要旨

植物が栄養成長期から生殖成長期に移行すると花芽形成や塊茎形成が誘導される。これらの形成誘導はともに、光周期と生育温度という生育環境要因によって支配されること、また、葉中で生成したシグナル伝達物質(花成ホルモン florigen や塊茎形成物質 tuber inducing substance)が遠く離れた場所(茎頂やストロンの次頂部)に転流し発現することなど、共通する点が多い。バレイシヨ(*Solanum tuberosum*)の塊茎形成物質であるツベロン酸グルコシド(TAG)やその関連物質であるジャスモン酸(JA)やツベロン酸(TA)、あるいは、アサガオ(*Pharbitis nil*)の florigen と考えられている9,10- α -ketol octadecadienoic acid(KODA)はともにリルン酸(LA)カスケードを経て合成される。LA カスケードにはリポキシゲナーゼ(LOX)、アレンオキシド合成酵素(AOS)、アレンオキシド環化酵素(AOC)などの酵素が関与する。LOXのうち、9-LOXはLAから9(S)-hydroperoxyoctadecatrienoic acid(9-HPOT)を合成したのち、AOSの作用を受けKODAを生成する。一方、13-LOXは13(S)-hydroperoxyoctadecatrienoic acid(13-HPOT)を生成したのち、AOSとAOCの作用を受け、JA類を合成する。本研究は環境要因のバレイシヨ塊茎形成とアサガオ花芽形成に及ぼす影響並びにLAカスケードに及ぼす効果を調べ、塊茎誘導と花芽誘導の分子機構を明らかにし、併せて、植物化学調節剤セオプロキシドの、異なる生育温度下での、塊茎形成及び花芽形成に及ぼす効果を明らかにすることを目的にする。

(1) バレイシヨ生育温度の塊茎形成とLAカスケード生成系に及ぼす効果。

あらかじめ長日条件(18時間明所、6時間暗所)25°Cで2週間生育させたバレイシヨを、短日条件(10時間明所、14時間暗所)で種々の温度条件(15、20、25及び30°C)下に移し、生育温度の塊茎形成に及ぼす効果を経時的に観察した。また、葉内のLOX活性、9-HPOT及び13-HPOT量、ジャスモン酸関連物質(JA、TA及びTAG)の定量分析を行った。LOX活性は基質LA酸から生成する共役ジエン量のUV測定により行った。ジャスモン酸類の定量は重水素標識した内部標準物質を用いてGC-SIM-MSにより行った。

生育15°Cではストロン形成並びに塊茎形成誘導は早期(生育一週間後)に起こるが、その後の塊茎肥大は遅い。20°Cと25°Cでは塊茎形成誘導はやや遅い(2週間後)ものの、肥大速度は速い。30°Cの高温ではストロン及び塊茎誘導は極端に遅い(4週間後)。これらの結果からストロン形成及び塊茎形成は生育温度条件に影響され、とくに塊茎形成は低温下で誘導さ

れることが明らかになった。短日条件下で1週間生育したバレイショ葉中の LOX 活性は 15°C で最も高く、生育温度が高くなると共に低下した。また、LOX 活性は全ての生育温度において1週間後が最も高く、生育時間の経過と共に減少した。9-HPOT 量は生育温度に影響され、生育温度が低いほど多い。一方 13-HPOT 量は生育温度に影響されないが、生育 1、2 週間目では高いレベルで存在し、生育 3、4 週間後にほぼ消失する。JA、TA、TAG 量は 15°C で最も高く、温度が高くなるに従って減少した。JA 量は 1 週間後急激に減少した。以上の結果から、バレイショ塊茎誘導に良好な低温条件(15°C)下では、13-LOX活性が高まり、その結果、塊茎誘導物質 TAG 量が増加し塊茎形成が誘導されることが示唆された。

(2) 光および温度の花芽形成とリノレン酸カスケード生成系に及ぼす効果。

アサガオと光との関係を調べるために明所で生育した2品種(Violet, Sunsmile)を暗所に移し LOX 活性を経時的に測定した。その値は 30 分で 1.5 倍に増加し、その後、減少した。一方、暗所から明所に移したアサガオでは 60 分までに LOX 活性の変化は認められなかった。このことはアサガオの短日性と LOX 活性間になんらかの関係がある可能性を示した。

次に、温度と花芽形成との関係を調べるため、アサガオ2品種(Violet, Sunsmile)を短日条件、種々の温度下で生育させ、生育温度の花芽形成に及ぼす効果を観察した。短日条件下で2週間生育後の葉中 LOX、AOS、AOC の酵素活性を UV 測定並びに Western blotting 法で分析した。また、9-HPOT 量と 13-HPOT 量及 JA 量を HPLC 及び GC-MS で定量分析した。

短日条件下で生育したアサガオは 20、25、30°C で開花したが、15°C 及び 35°C では開花せず、花芽形成も認められなかった。花芽形成と開花時期は2品種とも生育温度 30°C で最も早く、また花の数も多かった。生育温度が 25、20°C と低くなるにつれて花芽形成、開花時期とも遅くなった。葉中の LOX 活性は 30°C で最も高く、35°C で急激に減少し、30°C 以下では温度の低下とともに徐々に低下した。LOX タンパク量は生育温度が 30°C と 35°C で多く、30°C 以下では温度の低下とともに減少した。AOS 及び AOC 量は低温で多く、30°C 以上では少ない。バレイショとは逆に 9-HPOT 量は生育温度に影響されないが、13-HPOT 量は生育温度に依存し、温度が高くなるに従って増加し、30°C で極大値に達したのち、35°C で減少する。JA 量は 15°C で最も高く温度の上昇とともに減少した。以上の結果、花芽誘導は高温(30°C)が最適であり、この温度での LOX 活性が最大であるが、AOS 及び AOC 活性は低い。一方、低温では AOS および AOC 活性が高くその結果内生 JA 量が多い。JA は花芽形成に阻害的に働くことが知られており、低温下での花芽形成の抑制となんらかの関係があるものと思われる。

(3) 異なる生育温度下での塊茎形成および花芽形成に及ぼすセオブロキシンの効果。

セオブロキシンは塊茎形成誘導や花芽形成誘導を制御することが知られている。長日条件下 25°C で育てたバレイショとアサガオを短日条件に移し、異なる生育温度でのセオブロキシンの塊茎形成と花芽形成に及ぼす効果を調べた。

その結果、セオブロキシンは低温でのバレイショ塊茎形成誘導を促進するが、塊茎の肥大には貢献しない。塊茎形成に不適な高温(30°C)でも塊茎が誘導される。アサガオの花芽形成に関しては、花芽誘導までの期間を短縮し、また、35°C の高温でも花芽を誘導することができる。しかし、この温度では開花にいたらなかった。これらのことからセオブロキシンは塊茎形成及び花芽形成を誘導するが、その後の生育には関与しないことが明らかになった。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 鍋 田 憲 助
副 査 教 授 木 村 淳 夫
副 査 准教授 松 浦 英 幸
副 査 助 教 高 橋 公 咲

学 位 論 文 題 名

Studies on Endogenous and Exogenous Factors in the Induction of Tubers and Flower Buds

(塊茎と花芽誘導に関係する内生および外生要因の研究)

花芽形成や塊茎形成はともに、光周期と生育温度という生育環境要因によって支配され、また、葉中で生成したシグナル伝達物質が遠く離れた場所（茎頂やストロンの次頂部）に転流し分化を誘導することなど共通する点が多い。バレイショ (*Solanum tuberosum*) の塊茎形成物質であるツベロン酸 (TA) やその関連物質、ジャスモン酸 (JA) やツベロン酸グルコシド (TAG)、あるいは、アサガオ (*Pharbitis nil*) の花芽形成誘導物質 9,10- α -ketol octadecadienoic acid (KODA) はともにリノレン酸 (LA) カスケードを経て生合成される。それらの生成にはリポキシゲナーゼ (LOX)、アレンオキシド合成酵素 (AOS)、アレンオキシド環化酵素 (AOC) などの酵素が関与する。本研究は生育環境要因のバレイショ塊茎形成とアサガオ花芽形成に及ぼす影響並びに両植物葉中の LA カスケードに及ぼす効果を明らかにし、併せて、植物化学調節剤セオプロキシドの、異なる生育温度下での、塊茎形成及び花芽形成に及ぼす効果を明らかにすることを目的に行なわれたものである。

(1) バレイショ生育温度の塊茎形成と LA カスケード生成系に及ぼす効果。

あらかじめ長日条件 25°C で 2 週間生育させたバレイショを、短日条件で種々の温度条件下に移し、生育温度の塊茎形成に及ぼす効果を観察した。また、葉内の LOX 活性、KODA {9(*S*)-hydroperoxyoctadecatrienoic acid:9-HPOT} 及び JA 生合成中間体 {13(*S*)-hydroperoxyoctadecatrienoic acid:13-HPOT}、ジャスモン酸関連物質 (JA、TA 及び TAG) の定量分析を行った。

バレイショのストロン形成及び塊茎形成は生育温度条件に影響され、とくに塊茎形成は低温下 (15°C) で誘導されることが明らかになった。短日条件下で 1 週間生育したバレイショ葉中の LOX 活性は 15°C で最も高く、生育温度が高くなると共に低下した。JA、TA、TAG 量は 15°C で最も高く、温度が高くなるに従って減少した。以上の結果および 9-HPOT と 13-HPOT の量的変化から、バレイショ塊茎誘導に良好な低温条件下では、13-LOX 活性

が高まり、その結果、塊茎誘導物質 TAG 量が増加し、塊茎形成が誘導されることが示唆された。

(2) 光および温度の花芽形成とリノレン酸カスケード生成系に及ぼす効果。

アサガオと光との関係を調べるために明所で生育したアサガオを暗所に移し LOX 活性を測定した。LOX 活性は 30 分で 1.5 倍に増加し、その後、減少した。一方、暗所から明所に移したアサガオでは 60 分までに LOX 活性の変化は認められなかった。このことはアサガオの短日性と LOX 活性間になんらかの関係がある可能性を示した。

短日条件で生育したアサガオは 20、25、30°C で開花したが、15°C 及び 35°C では開花せず、花芽形成も認められなかった。花芽形成と開花時期はとも生育温度 30°C で最も早く、また花の数も多かった。生育温度が 25、20°C と低くなるにつれて花芽形成、開花時期とも遅くなった。花芽誘導が最適である生育温度 30°C で葉中 LOX 活性が最大であるが、一方、AOS 及び AOC 活性は低い。低温では AOS および AOC 活性が高く、内生 JA 量が多い。JA は花芽形成に阻害的に働くことが知られており、低温下での花芽形成の抑制と関係があるものと思われる。

(3) 異なる生育温度下での塊茎形成および花芽形成に及ぼすセオプロキシドの効果

セオプロキシドは塊茎形成誘導や花芽形成誘導を制御することが知られている。長日条件下 25°C で育てたバレイショとアサガオを短日条件に移し、異なる生育温度でのセオプロキシドの塊茎形成と花芽形成に及ぼす効果を調べた。その結果、セオプロキシドは低温でのバレイショ塊茎形成誘導を促進するが、塊茎の肥大には貢献しない。塊茎形成に不適な高温 (30°C) でも塊茎が誘導される。アサガオの花芽形成に関しては、花芽誘導までの期間を短縮し、また、35°C の高温でも花芽を誘導することができる。しかし、この温度では開花にいたらなかった。これらのことからセオプロキシドは塊茎形成及び花芽形成を誘導するが、その後の生育には関与しないことが明らかになった。

これらの成果は、環境要因 (光周期と生育温度) のバレイショ塊茎及びアサガオ花芽形成誘導に及ぼす効果を、分化誘導シグナル伝達物質の生合成の制御という視観点から証明し、併せて、セオプロキシドの高温でのバレイショ塊茎誘導効果は、熱帯地域でのバレイショ栽培の可能性を示すものである。よって審査員一同は、南京希が博士 (農学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。