

令和 6 年 6 月 6 日現在

機関番号：17601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K05577

研究課題名(和文) 球根植物における球根形成および休眠導入の分子機構の全容解明

研究課題名(英文) Molecular mechanisms involving in bulb formation and dormancy induction in geophyte

研究代表者

増田 順一郎 (Masuda, Jun-ichiro Masuda)

宮崎大学・農学部・准教授

研究者番号：60452744

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、食用ハスの実生栽培における最適施肥量を調べるとともに、球根形成における植物ホルモンの発現量解析を行った。RT-PCRの結果から、根茎で9種のジベレリン生合成酵素遺伝子、8種のジベレリン代謝酵素遺伝子の発現が確認された。一方、アブシジン酸の生合成酵素遺伝子では16種、アブシジン酸代謝酵素遺伝子では7種の遺伝子の発現が確認された。また、トランスクリプトーム解析から、肥大根茎と伸長根茎との比較において、ジベレリンおよびアブシジン酸生合成酵素・代謝遺伝子群において、複数の遺伝子で発現量に違いが認められた。加えて、テッポウユリおよびタカサゴユリの球根休眠性に関する生態的特性についても調べた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで、球根形成現象あるいは球根休眠現象の分子機構を解明するための理想的な研究材料が見出せなかったことにより、球根形成および球根休眠現象の分子機構の解明は他の生命現象に比べ大きく後れをとっており、球根植物の共通した休眠の概念が確立されていない。理想的な研究材料を用いて、球根形成現象および球根休眠現象の分子機構の違いを明らかにすることで、球根植物に共通した新たな休眠の定義について提唱するだけでなく、球根形成、球根休眠を制御している遺伝子を標的とした革新的な品種技術開発の基礎を構築することができると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Optimal nitrogen application in growth of seedling was investigated in edible lotus, and molecular mechanisms related to plant hormone biosynthesis and metabolism were addressed. Expression of 9 genes in gibberellin biosynthetic enzyme and 8 genes in gibberellin metabolism enzyme was observed by RT-PCR in lotus rhizome. On the other hand, 16 biosynthetic enzyme genes and 7 metabolism enzyme genes in abscisic acid were expressed. The gene expression levels were compared between elongated and enlarged rhizome in transcriptome analysis, and differences in the expression levels of several genes were observed. In addition, ecological characteristics related to bulb dormancy between Easter lily and Formosan lily were examined.

研究分野：園芸学

キーワード：球根形成 球根休眠性 食用ハス ユリ RNAseq

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

園芸生産において、ユリ、チューリップ、タマネギ、レンコン等、莫大な数の球根植物が観賞用あるいは食用として利用されている。これまで、球根形成および球根休眠性に関する基礎的知見から球根肥大促進、球根収量の増加、球根の収穫期の調整、早期萌芽の抑制、早期開花等の革新的な技術体系が創出されてきた。それゆえ、園芸学分野において、球根形成および休眠導入に関する研究は非常に重要な研究課題の一つである。球根形成および休眠導入現象の分子機構を解明することができれば、分子機構を基にした分子育種への展開も期待できるが、これまで、球根形成の分子機構は植物ホルモン、デンプン・糖代謝、日長等の観点から一部の植物のみを利用して解明しているに過ぎず、分子機構の全容解明には至っていない。また、休眠導入の分子機構を明らかにしようとするアプローチは皆無であり、さらには、球根形成と休眠導入との分子機構の違いも明確化できていない。この主たる原因は、球根植物は数多くあっても、球根形成を制御できる植物が限られていることや、これまで見出された球根形成制御できる植物はいずれも球根形成とともに休眠が誘導され、球根形成/休眠導入に伴った生理的な変化が球根形成現象に起因するものなのか休眠現象に起因するものであるのか判断が難しいことによる。その結果、球根形成および休眠導入現象の分子機構の解明は他の生命現象に比べ大きく後れをとっており、さらには、球根植物の共通した休眠の概念が確立されていない。

2. 研究の目的

レンコンの実生を用いたコンパクトな実験系を利用して、短日(12時間以下の日長)条件で球根が形成され、その球根形成には休眠が伴わないことを明らかにしている。また、北部テッポウユリ自生集団の一年生実生を20以上の高温で栽培すると、球根肥大とは無関係に休眠のみが誘導されることもわかっている。そこで、本研究では、「球根形成のみが制御できるレンコン」、「休眠導入のみが制御できるユリ」を用いて、世界に先駆けて、球根形成現象に関与する分子機構並びに休眠導入現象に関与する分子機構の全容解明とその関係性を解明するとともに、レンコンとユリで明らかにされた球根形成および休眠導入の分子機構について、他の球根植物での進化的保存性を検証し、球根植物に共通した「休眠」の概念を確立すること、および、球根形成、休眠性を制御している遺伝子を標的にした革新的な分子育種技術開発の基礎を構築することを目的としている。

3. 研究の方法

【レンコンの実生栽培における最適施肥量の検討】

2021年8月26日に催芽処理を行い、25℃、全日長下の恒温室内で1週間生育させた。その後、水を張った赤玉土を充填させたバットに実生を定植した後、無加温温室内で栽培した。なお、肥料として、窒素成分が10a当たり、それぞれ、24kg、12kg、6kgになるように施用した3処理区を設けた。栽培後、地上部(葉数)と地下部(根茎)の生育調査を行った。

【ジベレリンおよびアブシジン酸生合成・代謝酵素遺伝子群の発現確認】

2022年5月2日にレンコンの種子に対し催芽処理を行った後、25℃、全日長下の恒温室内で9日間生育させた。その後水を張った赤玉土を充填させたバットに実生を定植した。その後、無加温温室内で自然日長(長日)条件(非球根形成条件)で3週間栽培した後、自然日長条件で2週間栽培した頂芽と短日条件(球根形成条件)で2週間栽培した頂芽を採取した。採取したサンプルからTotal RNAを抽出し、DNase処理を行った。その後、それぞれ500ngのTotal RNAを用い、逆転写反応によりcDNAの合成を行った。アブシジン酸およびジベレリン生合成・代謝酵素遺伝子にそれぞれ対応したプライマーを使用し、PCRを行った。PCR後、1.5%アガロースゲルで増幅産物を確認した。

【トランスクリプトーム解析】

2023年5月6日にレンコンの種子に対し催芽処理を行い、25℃、全日長下の恒温室内で9日間生育させた。その後、赤玉土を充填させたバットに水を張り、実生を定植した。定植後、無加温温室内において、自然日長(長日)条件で3週間栽培した後、自然日長条件、短日条件でそれぞれ2週間生育させた。その後、それぞれの処理区から頂芽を採取し、Total RNAを抽出した。抽出後、DNase処理を行い、Total RNAの品質を確認した。その後、次世代シーケンサーでデータを取得し、シーケンスリードの品質確認を行い、アダプター配列のトリミング、シーケンスリードのマッピング、リードカウントを調べた後、発現変動遺伝子の解析を行った。

【テッポウユリおよびタカサゴユリの球根休眠性における生態的特性】

2022年2月17日にセルポットに播種し、2022年5月13日(播種後12週)まで15℃の恒温室内において生育させた後、赤玉土と培養土を1:1に混ぜた土を充填した直径14cmの硬質ポリポットに定植し、無加温温室内で栽培した。基肥として、N:P:K=15:25:15(kg/10a)の基準

で各ポットに、苦土有機入り化成オール8 (N:P₂O₅:K₂O=8:8:8) を3g、くみあい粒状ようりん (N:P₂O₅:K₂O=0:20:0) を1gずつ施用した。また、2022年8月25日にN:K=5:5 (kg/10a) の基準で各ポットに苦土有機入り化成オール8 (N:P₂O₅:K₂O=8:8:8) を1g追肥した。定植後から2022年11月25日まで、1週間ごとの展開葉数を調査した。

4. 研究成果

【レンコンの実生栽培における最適施肥量の検討】

窒素成分24kg区では栽培期間中に生理障害(濃度障害)が認められたのに対し、窒素成分12kg区および6kg区では濃度障害は認められず順調に生育した。展開葉数は窒素成分12kg区で最も優れ、窒素成分24kg区、6kg区では同程度の展開葉数であった。また、節間数においても、同様に、窒素成分12kg区で最も優れ、窒素成分24kg区、12kg区では同程度の節間数であった。また、個体の中で最も長かった節間をその個体の代表値として調査したところ、節間長は窒素成分12kg区、窒素成分6kg区、窒素成分24kg区の順で長く、窒素成分12kg区で最も地下茎(根茎)の生育が優れることがわかった。また、個体の中で最も大きい最大直径を持つ節間を用いて処理区間の地下茎の肥大について比較したが、いずれの処理区においても有意な差が認められなかった。しかしながら、窒素成分12kgおよび6kg区に比べ、窒素成分24kg区で節間の最大直径が大きくなる傾向にあった。以上の結果から、レンコンの実生栽培において、適正な施肥量を決定することができた。

【ジベレリンおよびアブシジン酸合成・代謝酵素遺伝子群の発現確認】

GA20oxは4種以上、GA3oxは3種以上、GA2oxは5種以上の遺伝子の発現が確認された。一方、ZEPは1種以上、NCEDは1種以上、SDRは1種以上、AO遺伝子は1種以上、ABA8'-OHaseは5種以上の遺伝子が発現していた。

【トランスクリプトーム解析】

トランスクリプトーム解析の結果、23778遺伝子のうち、長日条件で栽培した頂芽(非肥大根茎の頂芽)では628遺伝子、短日条件で栽培した頂芽(肥大根茎の頂芽)では429遺伝子について特異的な発現が認められた。また、植物ホルモンに着目すると、GA20oxでは4種、GA3oxでは5種、GA2oxでは8種、ZEPでは3種、NCEDでは5種、SDRでは10種、AO遺伝子では3種、ABA8'-OHaseでは7種の遺伝子の発現が確認された。そのうち、ジベレリンでは処理区にかかわらず生合成酵素遺伝子の発現量に顕著な差はなく、代謝酵素遺伝子の発現量が長日条件に比べ短日条件で顕著に増加していた。一方、アブシジン酸では、2種の生合成酵素遺伝子と2種の代謝酵素遺伝子において、長日条件に比べ短日条件で顕著に増加していた。

【テッポウユリおよびタカサゴユリの球根休眠性における生態的特性】

展開葉数を調査した結果、テッポウユリでは早いもので定植6週間後から休眠に入る個体から定植14週間後から休眠に入る個体まで観察され、休眠導入時期にばらつきがあった。一方、タカサゴユリでは休眠に導入することなく、抽苔・開花まで順調に展開葉数を増加させた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計1件

1. 著者名 公益財団法人遺伝学普及会	4. 発行年 2023年
2. 出版社 エヌ・ティー・エス	5. 総ページ数 80
3. 書名 生物の科学 遺伝 2023年5月発行号 (Vol.77-No.3)	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------