

平成 21 年 6 月 11 日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2007～2008

課題番号：19580042

研究課題名 (和文) ネギの分げつ発生制御におけるジベレリンの役割解明

研究課題名 (英文) Role of gibberellin in regulation of tillering in Japanese bunching onion

研究代表者

山崎 博子 (YAMAZAKI HIROKO)

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・東北農業研究センター・

寒冷地野菜花き研究チーム・主任研究員

研究者番号：50370614

研究成果の概要：

ジベレリン (GA) および GA 生合成阻害剤 (UCZ) 処理がネギの分げつ発生に及ぼす影響を調査した結果、分げつの発生は GA 処理で促進、UCZ 処理で抑制され、UCZ による抑制効果はその後の GA 処理によって打ち消された。分げつ性の異なる複数のネギ品種について、内生 GA 濃度、GA 関連遺伝子の発現量および GA に対する感受性を調査した結果、分げつ性と内生 GA 濃度との間には正の相関はなかったが、GA 処理による分げつ促進作用は、分げつ性の強い品種ほど強く発現した。これらの結果から、GA に対する感受性の違いがネギ品種の分げつ性を決定する重要な要素となっている可能性が考えられた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2008 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：野菜園芸

科研費の分科・細目：農学、園芸学・造園学

キーワード：ジベレリン、分げつ、ネギ

1. 研究開始当初の背景

日本のネギは、根深ネギと葉ネギの2つの品種群に大別され、一般に、根深ネギの分げつ性は葉ネギに比べて弱い。太く長い葉鞘を利用する根深ネギでは、分げつは葉鞘の細分化や扁平化などの品質低下を招く現象であるが、葉ネギの軟らかい肉質、細い葉、高い収量性を確保するには、ある程度の分げつ性が求められる。このように、分げつ性はネギの品質や収量に関わる重要な要素となっている。私達は、これまでに根深ネギの育種にお

いて非分げつ性系統を効率的に選抜する方法を開発することを目的として、ネギの分げつ促進要因の探索を行ってきた。その中で、植物ホルモンであるジベレリン (GA) とサイトカイニンに分げつ促進作用があること、特に、GAにはサイトカイニンで多発する異常分げつではなく、正常な分げつを促進する作用があることを明らかにした。これらの試験結果から、これまで全く未解明であったネギの分げつ発生機構にGAが関与している可能性が示唆された。

2. 研究の目的

本研究では、ネギの分げつ発生制御におけるGAの役割を解明することを目的とした。植物生理学分野において、これまで、分枝とジベレリンとの関係が注目されたことはなく、上記の目的を達成することは、GAの生理作用および植物の分枝機構に関する新たな知見の提供につながる。この目的を達成するため、本研究では、以下のような、大別して3種類の試験を実施した。(1)ネギの分げつの発生制御におけるGAの関与をより確実に証明するため、GAとその生合成阻害剤を組み合わせた処理が分げつ発生に及ぼす影響を調査した。(2)ネギの分げつ発生には遺伝的要因が強く影響することから、遺伝的に分げつ性の異なる複数のネギ品種について内生GA濃度を分析し、分げつ性と内生GAとの関係を解明することを試みた。同時に、GAの生合成と不活性化に関わる遺伝子、GAのシグナル伝達抑制因子遺伝子およびGAレセプター遺伝子の発現についても解析した。(3)ネギの分げつ性がGAに対する感受性の違いに起因する可能性を検証するため、分げつ性の異なる複数の品種についてGA処理に対する感受性を調査した。

3. 研究の方法

(1) GA と GA 生合成阻害剤の組み合わせ処理が分げつ発生に及ぼす影響

分げつ性の極めて強いネギ系統「杭州」を供試し、GA 生合成阻害剤であるウニコナゾール (UCZ) 処理および GA₃ 処理を組み合わせた 4 処理区 (水+水、UCZ +水、水+GA₃、UCZ+GA₃) を設定した。UCZ 処理として、濃度 10mg/L の処理溶液を播種 2 週間 (第一葉の展開完了期) から 20 週間まで 2 週間間隔で計 10 回、土壌灌注で与えた。処理量は、3 回目処理までは 1mL/個体、4 および 5 回目処理では 2mL/個体、それ以降は 5mL/個体とした。GA₃ 処理として、播種 10 週後に濃度 40mg/L の処理溶液を底面給水で与えた (10mL/個体)。材料のネギ苗は 15℃以上のガラス室で播種 24 週間まで栽培し (播種 73 日後までは 128 穴セルトレイで、その後はプランタ (5 個体/プランタ) で栽培)。各処理区 20 個体を供試し、分げつの発生状況を調査した。

(2) 分げつ性と内生ジベレリンとの関係

①内生 GA の定量

(2007 年試験)

分げつ性の異なる 6 品種「杭州」、「浅黄系

九条」、「小春」、「湘南」、「羽緑一本太」、「雷帝下仁田」のネギ苗をセルトレイで 8 週間育苗後、露地圃場に定植した。定植 9 週後に苗を採取し、葉鞘下端から 5cm までの部分を GA 定量用試料とした。80%メタノールで抽出し、有機溶媒および簡易クロマトグラフィーによる精製後、LC-MS/MS (QTRAP3200, Applied Biosystems) によって 6 種類の GA (GA₁、GA₃、GA₄、GA₉、GA₂₀、GA₃₄) 濃度を定量した。定植後のネギ苗の分げつ発生についても調査した。

(2008 年試験)

分げつ性の強い「小春」および非分げつ性の「羽緑一本太」を前年と同様に栽培し、定植 15 週後に苗を採取した。前年の試験では葉鞘基部全体を定量部位としたが、本試験では茎盤部を含む葉長 5cm 以下の未展開葉を定量部位とした。前年と同様の方法で GA (GA₁、GA₃、GA₄、GA₉、GA₂₀、GA₃₄) 濃度を定量した。

②GA 関連遺伝子の発現解析 (2007、2008 年試験)

両年とも上記の試験①と同じ材料を供試し、GA の生合成に関わる GA 20-酸化酵素 (GA20ox1)、GA 3-酸化酵素遺伝子 (GA3ox1)、GA の不活性化に関わる GA 2-酸化酵素遺伝子 (GA2ox1, 2)、GA レセプター遺伝子 (GID1, 2) および GA のシグナル伝達抑制因子 (GAI ホモログ) 遺伝子 (GAIL, 2) の発現を調査した。

(3) 分げつ性と GA 感受性との関係

分げつ性の強い「杭州」、分げつ性が中程度の「湘南」、非分げつ性の「吉蔵」の 3 品種を供試した。128 穴セルトレイで育苗した苗に播種 6 週、9 週、または 12 週後に 40ppm の GA₃ 溶液を底面給水で施与し (1.5L/セルトレイ)、処理 5 日後に露地圃場に定植した。圃場での生育期間中および収穫時 (定植 14 週間) に分げつの発生状況を調査した。

4. 研究成果

(1) GA と GA 生合成阻害剤の組み合わせ処理が分げつ発生に及ぼす影響

最初の分げつ芽の分化葉位は、水+水区および水+GA₃ 区に比べて、UCZ+水区および UCZ+GA₃ 区で高く、UCZ 処理により分げつ芽の分化が遅延した (図 1)。UCZ+水区と UCZ+GA₃ 区を比べると、最初の分げつ芽の分化葉位は後者の方が低く、GA₃ 処理には UCZ 処理による分げつ芽の分化遅延を打ち

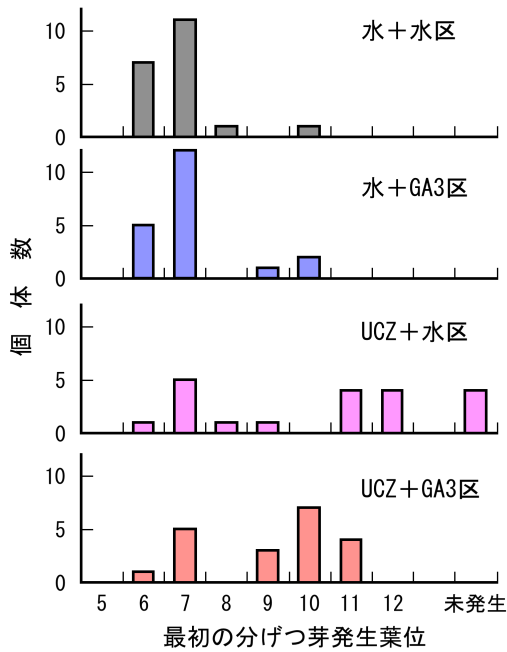


図1 GAおよびGA合成阻害剤処理が最初の分げつ芽の分化葉位に及ぼす影響

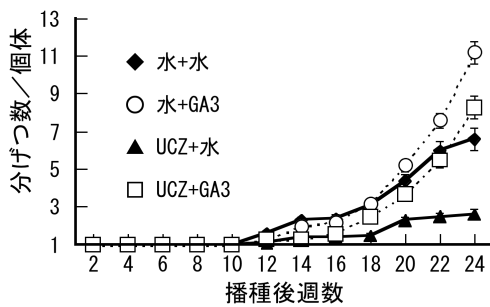


図2 GAおよびGA合成阻害剤処理したネギ苗の分げつ数の推移

消す作用が認められた。水+GA₃ 区の個体当たりの分げつ数は、播種 18 週までは水+水区と同等であったが、その後、急激に増加し、播種 24 週後には、水+水区 (6.6 本/個体) の 2 倍近い値 (11.2 本/個体) となった (図 2)。UCZ+水区の分げつ数は水+水区に比べて常に少なく推移したが、UCZ+GA₃ 区の分げつ数は GA 処理 8 週後 (播種 18 週後) 以降に急激に増加し、播種 24 週後には水+水区より多

くなった (8.3 本/個体、図 2)。今回の試験では、これまでの試験で確認していた GA 処理の分げつ促進効果および GA 生合成阻害剤処理の分げつ抑制効果の再確認に加えて、GA 生合成阻害剤処理によって抑制された分げつ発生がその後の GA 処理によって回復することが明らかとなり、ネギの分げつ発生制御における GA の関与をさらに裏付ける結果が得られた。

(2) 分げつ性と内生ジベレリンとの関係

① 内生 GA の定量

(2007 年試験)

最も分げつの盛んな「杭州」では、定植 2 週後から分げつの発生がみられ、採取時 (定植 9 週後) には全個体が分げつしていた (表 1)。「浅黄系九条」、「小春」、「湘南」では、それぞれ定植 7 週、8 週、9 週後から分げつの発生がみられ、採取時の分げつ個体率は、「浅黄系九条」96%、「小春」72%、「湘南」8%であった。「羽緑一本太」、「雷帝下仁田」では、採取時まで分げつの発生はみられなかった。採取時の個体当たりの平均分げつ数は、「杭州」7.2 本、「浅黄系九条」2.2 本、「小春」1.9 本、「湘南」1.1 本、「羽緑一本太」1.0 本、「雷帝下仁田」1.0 本であった。

葉鞘基部には早期 13 位水酸化と早期非水酸化の両タイプの GA が存在し、早期 13 位水酸化 GA (GA₁、GA₃、GA₂₀) に比べて、早期非水酸化 GA (GA₄、GA₉、GA₃₄) 濃度が圧倒的に高かった (表 2)。活性型といわれる 3β 水酸化 GA である GA₁、GA₃、GA₄ うち、最も高濃度に存在する GA₄ の濃度は、分げつ性の強い「杭州」や「浅黄系九条」でむしろ低く (表 2)、ネギ品種の分げつ性と内生 GA 濃度との間に正の相関は認められなかった。

(2008 年試験)

「小春」では、定植 9 週後から分げつが発生し、採取時 (定植 15 週後) には 3.0 本/個体に分げつしていた。「羽緑一本太」では、分げつの発生はみられなかった。

表1 採取時の分げつ発生状況

品種	分げつ個体率 (%)	分げつ数 (本/個体)
雷帝下仁田	0	1.0
羽緑一本太	0	1.0
湘南	8	1.1
小春	72	1.9
浅黄系九条	96	2.2
杭州	100	7.2

表2 分げつ性の異なるネギ品種の葉鞘基部に含まれるジベレリン濃度 (pg/g fw)

品種	早期13位水酸化GA			早期非水酸化GA		
	GA3	GA1	GA20	GA4	GA9	GA34
雷帝下仁田	7.7	34.9	25.9	884	559	2383
羽緑一本太	2.0	34.1	19.4	972	451	1979
湘南	3.1	32.4	36.2	1077	1223	1875
小春	7.6	29.4	25.9	723	589	1976
浅黄系九条	3.8	37.5	37.1	678	597	1879
杭州	9.5	16.3	11.3	230	175	1075

n=3-7

前年に行った葉鞘基部の定量結果と同様に、未展開葉においても早期13位水酸化と早期非水酸化の両タイプのGAが存在し、早期13位水酸化GA (GA₁、GA₃、GA₂₀) に比べて、早期非水酸化GA (GA₄、GA₉、GA₃₄) 濃度が圧倒的に高かった(表3)。GA₂₀濃度には品種による有意な差はなかったが、それ以外のすべてのGA濃度(GA₁、GA₃、GA₄、GA₉、GA₃₄)は、分げつ性の「小春」に比べて、非分げつ性の「羽緑一本太」で有意に高かった(表3)。

以上のように、2年間の定量試験では、ネギの分げつ性と内生GA濃度には正の相関はみられず、むしろ、分げつ性の高い品種でGA濃度が低い傾向が認められた。これらの結果から、内生GA濃度がネギ品種の分げつ性を決定する要素となっている可能性は低いと考えられた。

②GA関連遺伝子の発現解析

(2007年試験)

葉鞘基部におけるGA_{20ox1}とGA_{2ox1}の発現量は、非分げつ性の「雷帝下仁田」で高く、他品種と明らかな差がみられた。GA_{3ox1}の発現量は分げつ性が中程度の「湘南」および分げつ性の強い「杭州」で高かった。シグナル伝達に関わるGAI1およびGID1の発現量は品種間で差はみられなかったが、GAI2、GID2の発現量は分げつ性が中程度の「湘南」および分げつ性の強い「浅黄系九条」、「杭州」で高い傾向を示した。このように、GA関連遺伝子の発現量には品種による違いがみられたが、供試品種全体としてみると、分げつ性とGA関連遺伝子の発現量

との間に明確な関係は認められなかった。

(2008年試験)

GAの生合成および不活性化に関わるGA_{20ox1}、GA_{3ox1}、GA_{2ox1}の未展開葉における発現量は、分げつ性の強い「小春」に比べて、非分げつ性の「羽緑一本太」で高く、両品種の未展開葉中のGA定量結果と矛盾しない結果が得られた。GAI1、2およびGID1、2の発現量には品種間差はみられなかった。今後、さらに分げつの生理機構を解明するためには、より細かい生育ステージ別のGA生合成およびシグナル伝達に関する遺伝子の発現を調査する必要があるものと考えられた。

(3) 分げつ性とGA感受性との関係

強分げつ性の「杭州」では、播種6週、9週、12週後のいずれの処理でもGA処理は分げつの発生を促進した(表4)。しかし、分げつ性が中程度の「湘南」では、播種6週後処理ではGAの促進効果はみられず、9週後処理では促進傾向、12週後処理では有意な促進効果が認められた(表4)。非分げつ性の「吉蔵」では、9週および12週後処理において、わずかな促進傾向のみが認められた(表4)。これらの結果から、GAの分げつ促進作用は、分げつ性の強い品種ほど発現しやすく、また、処理時の生育ステージが進むほど発現しやすいことが示され、GAに対する感受性の違いがネギ品種の分げつ性を決定する重要な要素となっている可能性が考えられた。

表3 分げつ性の異なるネギ品種の未展開葉中のジベレリン濃度 (pg/g fw)

品種	早期13位水酸化GA			早期非水酸化GA		
	GA ₃	GA ₁	GA ₂₀	GA ₄	GA ₉	GA ₃₄
羽緑一本太	16.9	108	343	10168	11188	13026
小春	8.2	78	336	6084	8488	9753
t検定	*	*	ns	*	*	*

n=4

表4 GAの分げつ促進作用の発現に及ぼす品種および処理時の生育ステージの影響

品種	処理	収穫時分げつ数/株			収穫時分げつ株率(%)			不完全分げつ株率(%)		
		6週 ²	9週	12週	6週	9週	12週	6週	9週	12週
杭州	対照	11	16	17	100	100	100	— ³	—	—
	GA	14**	20**	21**	100	100	100	—	—	—
湘南	対照	1.1	1.3	1.2	7	26	15	0	0	0
	GA	1.0 ^{ns}	1.4 ^{ns}	1.5**	4	34	38	0	4	10
吉蔵	対照	1.0	1.0	1.0	0	1	0	0	0	0
	GA	1.0 ^{ns}	1.1 ^{ns}	1.0 ^{ns}	0	6	3	0	3	3

²GA処理時期。 ³未調査。 ns、** Z検定で有意差なし、1%レベルで有意差あり。

不完全分げつ=葉の分化数が1枚のみで終わる不完全な分げつ

5. 主な発表論文等

[学会発表] (計 1 件)

- ①山崎博子、矢野孝喜、長菅香織、稲本勝彦、山崎 篤、ジベレリンおよびジベレリン合成阻害剤処理によるネギの分げつ発生の制御、植物化学調節学会第43回大会、2008年10月29日、「つくばカピオ」

[図書] (計 1 件)

- ①山崎博子、誠文堂新光社、野菜の栽培技術シリーズ 高収益を確保するネギの生理生態と栽培事例 第1部Ⅲ-3 本圃での生育特性、2008、47-57

6. 研究組織

(1)研究代表者

山崎 博子 (YAMAZAKI HIROKO)

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・東北農業研究センター・寒冷地野菜花き研究チーム・主任研究員
研究者番号：50370614

(2)研究分担者

本多 一郎 (HONDA ICHIRO)

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・野菜茶業研究所・野菜ゲノム研究チーム・チーム長
研究者番号：00241852

板井 章浩 (ITAI AKIHIRO)

鳥取大学・農学部・准教授
研究者番号：10252876

(3)研究協力者

白岩 裕隆 (SHIRAIWA NOBUTAKA)

鳥取県農林総合研究所園芸試験場・研究員