

レタスの抽台とジベレリン合成

(独)農業・食品産業技術総合研究機構
野菜茶業研究所 福田真知子

キク科の葉物野菜であるレタスは、主に生食用として世界中で栽培されている、重要な野菜のひとつである。通常収穫、消費されるのは栄養生長相の個体であるが、そのまま収穫されないと生殖生長相へ転換する。この生殖生長相への転換は高温により引き起こされるといわれており(Thompson.H.C and Knott.J.K. 1933), 茎頂は花芽分化し、茎が急激に伸長したのち、花を咲かせる。この花芽分化を伴って花茎が伸長することを「抽台」と呼ぶ。昨今の異常気象や、将来的な地球温暖化の進行による気温上昇により、レタス栽培における抽台株の発生や抽台に伴う変形球の発生が多発することが強く懸念されている。収量や品質低下を伴うこの抽台は、一部地域ですでに問題となっている。現在は品種、栽培地の選択により抽台を回避しているが、抽台がより遅い(晩抽性)品種の育成と抽台機構の解明が求められているところである。

植物ホルモンのひとつであるジベレリン(GA)は、その生理作用として休眠打破、伸長生長促進、花芽分化促進等が知られており、抽台への関与も報告されている。GAの生合成経路については、いくつかの植物で明らかにされている(Yamaguchi 2008)(図-1)。GAの生合成を触媒する酵素はその性質から、テルペンサイクラーゼ、チトクロムP450、2-オキシグルタル酸依存ジオキシゲナーゼの3つに分類される。

最後のグループには、生合成酵素としてGA-20位水酸化酵素(GA 20-oxidase)、GA-3位水酸化酵素(GA 3-oxidase)、不活化酵素としてGA-2位水酸化酵素(GA 2-oxidase)があり、それぞれはジーンファミリーを形成している。シロイヌナズナにおいて単離されている酵素遺伝子の過剰発現体の解析によると、テルペンサイクラーゼをコードしている遺伝子の過剰発現体では、代謝物は確認されるものの植物の表現型としての変化は見いだされなかったのに対し(Fleet et al. 2003), 2-オキシグルタル酸依存ジオキシ

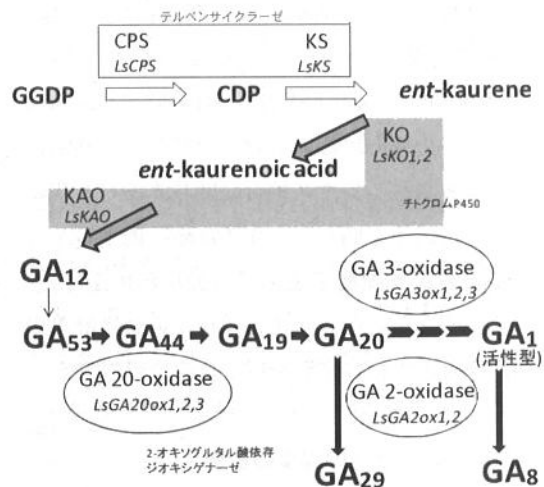


図-1 レタスにおけるGA代謝経路

図中酵素のうち、CPS、KSはテルペンサイクラーゼに属し、KO、KAOはチトクロムP450、GA 20-oxidase、GA 3-oxidase、GA 2-oxidaseは2-オキシグルタル酸依存ジオキシゲナーゼに属する。レタスにおいては、GA₁が活性型GAである。

ゲナーゼをコードする遺伝子の過剰発現体では、GA 過剰や GA 欠損の表現型が観察されたことから (Dijkstra et al. 2008; Huang et al. 1998)、内生 GA の調節には生合成経路の下流に位置する 2-オキソグルタル酸依存ジオキシゲナーゼが強く関与していることが示唆されている。レタスにおいては、これらの GA 関連酵素の遺伝子として、3 つの GA-20 位水酸化酵素遺伝子 (*LsGA20ox1*, *LsGA20ox2*, *LsGA20ox3*), 3 つの GA3 位水酸化酵素遺伝子 (*LsGA3ox1*, *LsGA3ox2*, *LsGA3ox3*), 2 つの GA2 位水酸化酵素遺伝子 (*LsGA2ox1*, *LsGA2ox2*) が単離されている (Nakaminami et al. 2003; Toyomasu et al. 1998)。GA 生合成の調節は、日長により抽台が誘起されるハウレンソウ (Zeevaart et al. 1993) やシロイヌナズナ (Xu et al. 1997) において、抽台時に重要な役割を担っていることが報告されており、レタスにおいても、抽台を理解する上で分子機構を明らかにすることが重要であると考えられる。レタスにおける活性型 GA である GA₁ の代謝については、種子の発芽ステージでよく調べられている (Toyomasu et al. 1992) が、抽台時の GA 調節についての報告はない。そこで私たちは高温により誘導されるレタス抽台に関与する GA 代謝のキー遺伝子を明らかにするため、内生 GA の定量と GA 代謝酵素遺伝子の発現解析を行い、さらに明らかになったキー遺伝子の該当酵素の作用阻害剤の投与試験を行ったので報告する。

1. レタス抽台への温度の影響

レタスの抽台に対する温度の影響を調査するため、昼/夜温 = 25/15°C、14 時間日長に設定した人工気象装置内で 3 週間育苗した苗をポットに鉢上げし、引き続き 25/15°C (低温区)、も

しくは 35/25°C (高温区) に移して栽培した。鉢上げ後茎長を調査したところ、高温区で生育させた個体は鉢上げ後 2~4 週間で急激に茎が伸長したが、低温区では茎は短いまま推移した (図-2)。既報のとおり (Thompson and Knott 1933)、高温によりレタスの抽台は促進された。

2. 温度条件によるレタス茎中の GA 代謝酵素遺伝子発現の変化

前述のとおり、GA 生合成に関与する酵素遺伝子はジーンファミリーを形成しており、2-オキソグルタル酸ジオキシゲナーゼにおいても各々についてホモログ (相同性の高い、複数の塩基配列) が存在する。このようなジーンファミリーに属する各遺伝子は、発達段階や組織に応じて発現調節を受けていることが知られている。レタスの茎において主に発現している GA 代謝酵素遺伝子を明らかにするため、定量 PCR により GA 生合成酵素遺伝子 (*LsGA20ox1,2,3*, *LsGA3ox1,2,3*) 及び GA 不活化酵素遺伝子 (*LsGA2ox1,2*) の発

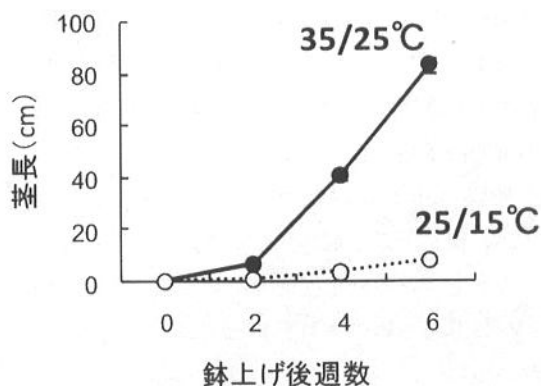


図-2 レタス抽台への温度の影響

レタスを昼/夜温 = 25/15°C、14 時間日長で育苗し、鉢上げ後引き続き 25/15°C (○)、もしくは 35/25°C (●) で生育させ、2 週間毎に茎長を調査した。エラーバーは標準偏差を示す。(n=5)

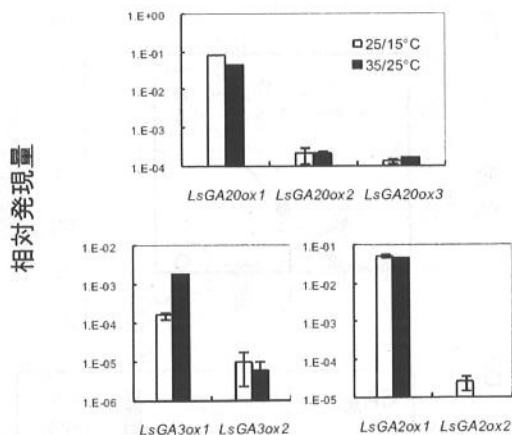


図-3 温度条件によるレタス茎中のGA代謝酵素遺伝子発現の変化

25/15°Cで育苗したレタスを、鉢上げして25/15°C (□) および35/25°C (■) で生育させた。鉢上げ2週間後の茎頂を除去した茎を収穫し、定量PCRによりGA代謝酵素遺伝子の発現解析を行った。LsGA3ox3は検出されなかった。エラーバーは標準偏差を示す。(n=3)

現解析を行った (図-3)。レタスの茎においては、高温区、低温区のどちらにおいてもGA20oxではLsGA20ox1の発現量が多く、GA3oxではLsGA3ox1の発現量が多くLsGA3ox3は検出限界以下であった。GA2oxではLsGA2ox1の発現量が多かった。

レタス茎中で主に発現している代謝酵素遺伝子の分子種が明らかになったので、次にこれら3つの遺伝子について詳細な解析を行った (図-4)。前述と同様に育苗した苗を鉢上げし、低温区および高温区で栽培した。サンプルとしたレタスの茎は、鉢上げ後毎週サンプリングし、2cm以上となった場合は先端2cm (茎上部) とそれ以下 (下部) に分けた。LsGA20ox1は茎上部において鉢上げ時に多く発現しているが、その後減少し、高温区と低温区での明確な差は見られなかった。下部においては2~4週目にかけて発現量が上昇した。LsGA3ox1は茎上部において鉢上げ後高温区で発現が顕著に増加し

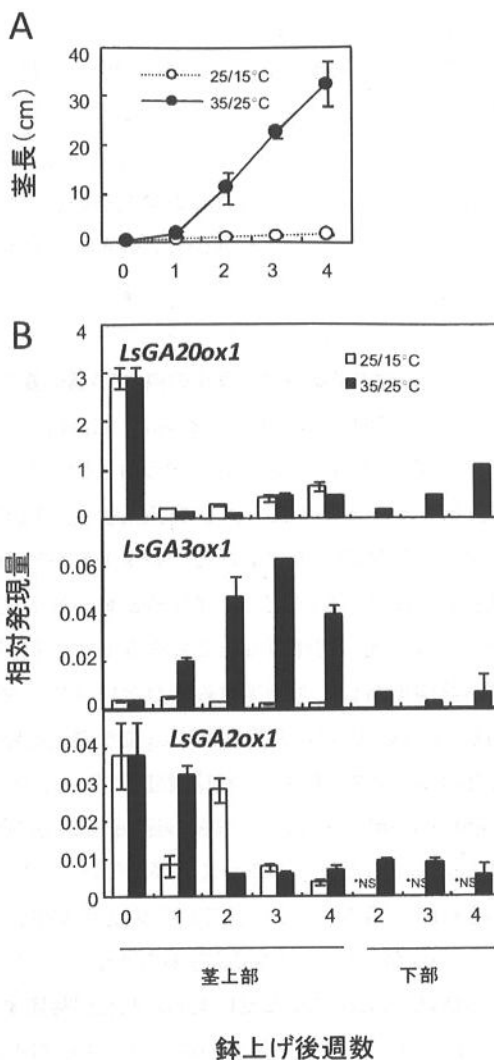


図-4 高温条件下でのGA代謝酵素遺伝子の発現量の変化

25/15°Cで育苗したレタスを鉢上げ後、25/15°Cおよび35/25°Cで生育させた。A. 茎長の変化を○ (25/15°C) および● (35/25°C) で示す。B. 発現量の変化を□ (25/15°C) および■ (35/25°C) で示す。鉢上げ後茎頂を除去した茎を毎週収穫し、上部2cm (茎上部) およびそれ以下 (下部) に分けて発現解析を行った。25/15°Cでは、鉢上げ後4週目までに茎が2cm以上伸長しないため、サンプルなし (*NS) とした。エラーバーは標準偏差を示す。(n=3)

たのに対し、低温区の発現量は低いままであった。*LsGA2ox1*は高温区と低温区で変動が見られたが、2区間での調節の違いは明確ではなかった。これらのことから、レタスが高温を受け抽台する際、GA合成酵素遺伝子のひとつである“*LsGA3ox1*”が茎伸長と連動して高発現することがわかった。

3. 温度条件によるレタス茎中の内生GA量の変化

約140種報告されているGA (<http://www.plant-hormones.info>)のうち活性のあるGAはごくわずかであり、植物種によって利用している活性型GAは異なる。レタスにおける活性型GAはGA₁であり、イネやシロイヌナズナで主に働く活性型GAであるGA₄は、レタスへ葉面散布しても効果はみられない(データ略)。GA₁の合成経路は早期13位水酸化経路と呼ばれ、レタスにおけるこの経路はPearceら(Pearce et al. 1987)や仁木ら(Niki et al. 2001)によって報告されている。この経路では、GA₅₃からGA₄₄、GA₁₉、GA₂₀までの反応をGA20oxが、GA₂₀からGA₁への反応をGA3oxが、GA₁を不活性型GA₈にする反応をGA2oxが触媒する。図-4と同サンプルでのGA₂₀、GA₁、GA₈の内生量の変動を図-5に示す。GA₁は高温区で有意に増加し、GA₈も鉢上げ後2週目にかけて増加した。この2つのGA内生量の増加がみられたのは茎の上部であったが、GA₂₀は茎上部での増加が見られないのに対し、下部において増加が見られた。これらのことから、高温により茎上部での*LsGA3ox1*の発現が誘導され、続いてGA₁量が増加することが抽台を引き起こしていると推察された。

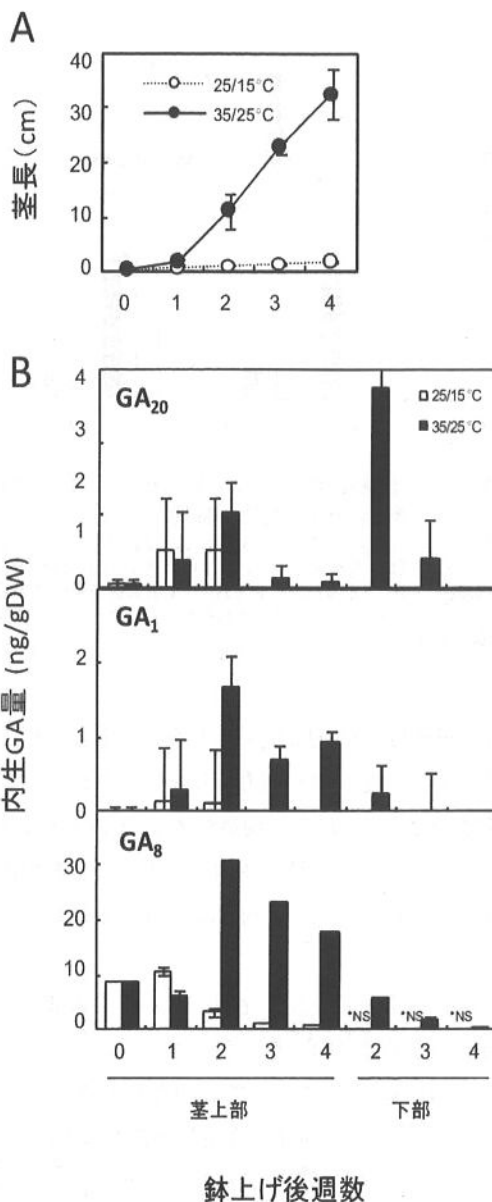


図-5 温度条件によるレタス茎中の内生GA量の変化

A. 茎長の変化を○ (25/15°C) および● (35/25°C) で示す。
B. 図4で使用したレタスサンプルから内生GA量を測定した。内生量の変化を□ (25/15°C) および■ (35/25°C) で示す。測定にはLC-MS/MSを用いた。エラーバーは標準偏差を示す。(n=2or3)

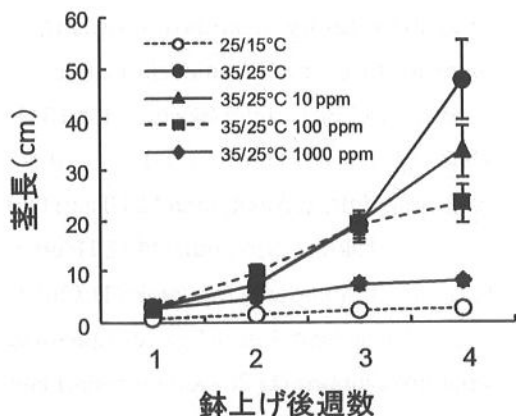


図-6 レタスの茎伸長に対するGA生合成阻害剤の効果

25/15°Cで育苗したレタスを鉢上げ後、25/15°C (○) および35/25°C (黒色のマーカー) で生育させた。35/25°Cで生育させているレタスに、鉢上げ後から10、100、1000ppmのプロヘキサジオンカルシウム塩溶液を、対照区には水を毎週葉面散布した。エラーバーは標準偏差を示す。(n=5~8)

4. レタスの茎伸長に対するGA生合成阻害剤の効果

レタスの抽台時に、高温によって調節を受けるGA生合成のステップはGA3oxであると考えられたので、本酵素を阻害する植調剤の効果を検討した(図-6)。剤としては、キャベツやイチゴ苗の徒長防止、ストックの開花促進やキクの花首伸長抑制において農業登録がなされているシクロヘキサジオン系化合物のプロヘキサジオンカルシウム塩を用いた。これまでの試験と同様に、25/15°Cで3週間育苗し、鉢上げ後25/15°C(低温区)、35/25°C(高温区)で栽培した。前述のとおり、高温区のレタスは低温区のレタスに比べて茎が伸長するが、高温区の植物体に10~1000ppm濃度の葉液を毎週葉面散布したところ、低温区の茎長には及ばないものの濃度依存的に茎の伸長が抑えられた。しかし、薬剤を処理した植物体は全体的にわい化し、葉色が濃く変化した。

Wittwer と Bukovac (Wittwer.S.H. and Bukovac.M.J. 1957)やWittwerら(Wittwer.S.H. et al. 1957)は、GA処理がレタスの抽台、開花を早めることをすでに報告しており、GAがレタス茎伸長に際して何らかの重要な役割を担っており、他の植物と同様に、環境要因に応答したGAの代謝調節が行われていると考えられる。本研究の中で私たちは、レタスの茎で *LsGA20ox1*, *LsGA3ox1*, *LsGA2ox1* が高発現しており、高温条件下で急激に伸長しているレタス茎においては *LsGA3ox1* の発現量が増加することを明らかにした。シロイヌナズナやホウレンソウにおいて、GA生合成誘導(長日)条件下で発現増加するのは *At20ox1/GA5* (シロイヌナズナ) や *So20ox1* (ホウレンソウ) といった *GA20ox* であり、結果として活性型GAが増加する(Wu et al. 1996; Xu et al. 1997)。一方、高温とGA代謝の関係はVidalら(Vidal et al. 2003)による報告があり、カンキツ台木の実生の生育が高温により促進される際には *CcGA20ox1* の発現量が増加するとしている。レタスの抽台誘導(高温)条件の場合は *GA20ox* ではなく *GA3ox* (*LsGA3ox1*) の発現量が増加しており、レタスの高温抽台には、*GA3ox* の高発現による内生GA量の増加が関与していることが今回の実験により示された。また、該当酵素の阻害剤は、いくつかの品目で徒長・伸長抑制剤として農業登録があるとおり、レタスにおいても茎伸長を抑える可能性が示唆された。しかしながら、阻害剤の効果は葉面散布によって全体に及び、これはGAが茎伸長だけでなく植物体のいたる器官で作用していることに因ると考えられる。農業的に利用可能な技術とするためには適正な処理濃度や処理時期を検討する必要があるが、将来の栽培技術開発のためには、

このような基礎的知見の集積が重要であると考えられる。

謝辞

紹介した研究遂行においては、山形大学農学部豊増知伸准教授に多大なるご指導をいただいた。また、松尾哲氏、菊地郁氏、三橋渉氏、本多一郎氏には日常の協力と有益な議論をしていただいた。ここに感謝の意を表す。研究の一部は(独)農研機構プロジェクト「気候温暖化(No.166)」により行った。

参考文献

- Dijkstra C, Adams E, Bhattacharya A, Page AF, Anthony P, Kourmpetli S, Power JB, Lowe KC, Thomas SG, Hedden P, Phillips AL, Davey MR (2008) Over-expression of a gibberellin 2-oxidase gene from *Phaseolus coccineus* L. enhances gibberellin inactivation and induces dwarfism in *Solanum* species. *Plant Cell Reports* 27: 463-470
- Fleet CM, Yamaguchi S, Hanada A, Kawaide H, David CJ, Kamiya Y, Sun TP (2003) Overexpression of AtCPS and AtKS in *Arabidopsis* confers increased ent-kaurene production but no increase in bioactive gibberellins. *Plant Physiol* 132: 830-839
- Huang S, Raman A, Ream J, Fujiwara H, Cerny R, Brown S (1998) Overexpression of 20-oxidase confers a gibberellin-overproduction phenotype in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 118: 773-781
- Nakaminami K, Sawada Y, Suzuki M, Kenmoku H, Kawaide H, Mitsuhashi W, Sassa T, Inoue Y, Kamiya Y, Toyomasu T (2003) Deactivation of gibberellin by 2-oxidation during germination of photoblastic lettuce seeds. *Biosci Biotechnol Biochem* 67: 1551-1558
- Niki T, Nishijima T, Nakayama M, Hisamatsu T, Oyama-Okubo N, Yamazaki H, Hedden P, Lange T, Mander L, Koshioka M (2001) Production of dwarf lettuce by overexpressing a pumpkin gibberellin 20-oxidase gene. *Plant Physiol* 126: 965-972
- Pearce D, Miller A, Roberts L, Pharis R (1987) Gibberellin-Mediated Synergism of Xylogenesis in Lettuce Pith Cultures. *Plant Physiol* 84: 1121-1125
- Thompson H.C, Knott J.K. (1933) The Effect of Temperature and Photoperiod on the Growth of Lettuce. *Proceedings of American society for Horticultural science* 30: 507-509
- Toyomasu T, Kawaide H, Mitsuhashi W, Inoue Y, Kamiya Y (1998) Phytochrome regulates gibberellin biosynthesis during germination of photoblastic lettuce seeds. *Plant Physiol* 118: 1517-1523
- Toyomasu T, Yamane H, Yamaguchi I, Murofushi N, Takahashi N, Inoue Y (1992) Control by light of hypocotyl elongation and levels of endogenous gibberellins in seedlings of *Lactuca sativa* L. *Plant and Cell Physiology* 33: 695-701
- Vidal A, Ben-Cheikh W, Talón M, García-Martínez J (2003) Regulation of gibberellin 20-oxidase gene expression and gibberellin content in citrus by temperature and citrus exocortis viroid. *Planta* 217: 442-448
- Wittwer S.H., Bukovac M.J. (1957) Gibberellin

Effects on Temperature and Photoperiodic Requirements for Flowering of some Plants. Science 126: 30-31

Wittwer.S.H., Bukovac.M.J., Sell.H.M., Weller.L.E. (1957) SOME EFFECTS OF GIBBERELLIN ON FLOWERING AND FRUIT SETTING. Plant Physiology 32: 39-41

Wu K, Li L, Gage D, Zeevaart J (1996) Molecular cloning and photoperiod-regulated expression of gibberellin 20-oxidase from the long-day plant spinach. Plant Physiol 110: 547-554

Xu Y, Gage D, Zeevaart J (1997) Gibberellins and stem growth in Arabidopsis thaliana. Effects of photoperiod on expression of the GA4 and GA5 loci. Plant Physiol 114: 1471-1476

Yamaguchi S (2008) Gibberellin metabolism and its regulation. Annu Rev Plant Biol 59: 225-251

Zeevaart J, Gage D, Talon M (1993) Gibberellin A1 is required for stem elongation in spinach. Proc Natl Acad Sci U S A 90: 7401-7405



農林水産省が認可している非選択性除草剤ブリグロックス®Lなら、
散布後、1日で効果が出る、3日間での効きが違う。
畦の崩れを防ぎ、散布15分後の降雨でも安定した効果。
土や水、環境にも安全な除草剤です。



農林水産省登録 第16202号

作物産地のブランドを守るためにも…
**「安全な登録農薬を
正しく使いましょう。」**

「今、周辺の住民、農作物への配慮が求められています。」

農林水産省・厚生労働省・環境省・都道府県が推進する
農薬危害防止運動実施中

●農薬は必ずカギをかけて保管しましょう。●ラベルをよく読んで正しく使いましょう。

農薬をご使用の際は、ご購入先、または当社ホームページなどで最新の登録内容をご確認ください。
ホームページ www.syngenta.co.jp ®はシンジェンタ社の登録商標



syngenta®

ブリグロックスL安全対策協議会：シンジェンタ ジャパン株式会社

大塚アグリテック株式会社