論文の内容の要旨

生産・環境生物学専攻
平成 21 年度博士課程入学
氏名　石綱史子
指導教員　堤伸浩

論文題目　ハス（*Nelumbo nucifera*）の分枝と花芽形成に関する研究

ハスは主にアジアで有用植物として栽培され、地下茎（レンコン）、葉、種子、花の各部位は、食用、薬用、観賞用と幅広く利用されてきた。日本におけるハスの園芸的価値は高く現在も利用されてはいるが、必ずしも盛んではない。その理由の一つに、利用者が望む時期に開花を誘導する技術が確立されていないことが挙げられる。ハスの栽培方法は、これまでに概ね確立されている。しかし、花芽分化や花芽形成に関する研究は限られており、不明な点が多い。本研究では、まずハスの頂芽中に形成された各器官の形態と形成順序の観察を行い、器官形成と分枝について明らかにした。次にハスの花芽分化が生長過程のどの段階で起こるかを明らかにした。

ハスの器官形成と分枝

これまでハスの器官形成と分枝についていくつかの相異なる解釈が述べられており、統一した理解が得られていなかった。先行研究間の第 1 の相違点は、分枝様式が仮軸か単軸かである。第 2 の相違点は、前出葉の枚数と側枝の葉序である。本研究では、走査型電子顕微鏡と光学顕微鏡を用いた形態観察と *SHOOT MERISTEMLESS* (*NnSTM*) 遺伝子発現を指標とした *in situ ハイブリダイゼーション*解析を行い頂芽と各器官の形成順

序、器官の形態、SAM の位置について明らかにした。これらの結果を先行研究の結果と比較し、先行研究間の相違点について以下のように結論を示した。

第 1 の相違点について、ハスは単軸生長と解釈した。主な理由は次の 4 点である。①種子中に形成されていた第 4 節までは、典型的な単軸生長である。②第 5 節以後、最初に花芽が形成されるまでの間は、花芽とは無関係な生長であり普通葉向軸側基部に形成される前出葉と見られる 2 枚の葉を生じるシュートを側枝とする単軸生長が続いていると考えられる。主軸の片側に 1 枚の鱗片葉、その反対側にもう 1 枚の鱗片葉と 1 枚の普通葉が同一側に形成される、すなわち主軸の両側に 1 枚ずつ規則的に葉が形成されないことは単軸生長におけるハス固有の葉序と考えられる。③ 花芽が形成されるようになってからの生長においても、このハス固有の葉序が継続されることから、単軸生長も継続していると考えられる。したがって花芽は側生であり、その発生位置から普通葉と軸の同一側に形成される鱗片葉の側芽とみなされる。④*NnSTM* の発現解析の結果、普通葉が花芽より先に分化し発達していることが示された。すなわち本論文で側芽であると解釈する花芽が主軸上の器官よりも遅れて発達することを示しており、単軸説と矛盾しない。

第 2 の相違点について、本研究で観察したすべてのサンプルで 2 枚の前出葉が向軸側に形成され、側枝の 1 枚の鱗片葉は、背軸側 に生じ、もう 1 枚の鱗片葉と側枝の普通葉は向軸側に形成されていることを確認した。この性質についてはすべての側枝で変化がない事を確認した。

花芽形成期の特定

ハスの花芽形成については、これまで、花弁や雄蕊などの花器官の発達を SEM 観察により示した報告があった。また南川 (1974) は、普通葉が形成される主軸のほとんどの節には、花芽（潜芽）が形成されているとしているが、実験データや観察記録等は示

されていない。花芽がすべての節に形成されるか、生育開始から休眠までの間のどの時点で花芽形成が開始するかという点は不明のままであった。本研究では、これらの疑問点を明らかにするために、栄養繁殖した植物体と種子から栽培した植物体を経時的に掘り出し各節における花芽形成の有無と花芽の形態を観察した。また、生長過程のどの時点から花芽形成が開始するかを明らかにするために、種子から栽培した植物体について経時的に形態観察を行った。さらに、花メリステムアイデンティティ遺伝子の一つである *APETALA1* (*NnAP1*) 遺伝子の頂芽における発現も調べた。

まず、栄養繁殖により得た植物体の各節、さらに頂芽とその内部の節に、花芽が形成されているか否かを確認するために、実体顕微鏡下で観察を行った。生育期間は、栄養繁殖に用いた種レンコンが植えつけられて生育を開始してから、休眠期に入るまでの 5 月から 10 月までであった。花芽の有無をすべての節について調べたところ、すべての普通葉の背軸側基部に、常に花芽の形成が認められた。また、休眠期に入る直前の生育期終盤に形成された頂芽内の節にも花芽が形成されていた。生育期間中に形成されたすべての節で花芽が形成されているにもかかわらず、開花した数は限られていた。開花しなかった花芽は発達途中で枯死しており、枯死に至った花芽の発達ステージはそれぞれ異なっていた。

次に種子から栽培した場合の植物を光学顕微鏡および SEM を用いて形態観察を行った。種子の成熟中に形成されていた第 4 節までに、花芽は形成されなかった。発芽後形成された第 5 節から第 10 節にも、花芽は特定されなかった。観察したすべてのサンプルで、第 11 節以降に花芽が普通葉背軸側基部に確認された。

また、生育過程のどの時点で栄養生長から生殖生長へ相転換するかを検討するため、頂芽内での *NnAP1* の発現を定量 RT-PCR により経時的に調べた。その結果、播種後 7 日から 14 日にかけて、種子から第 1 節と第 2 節の普通葉の伸長展開が開始するのと同時期に *NnAP1* の発現も上昇していた。この時期は形態観察の結果から、頂芽内で第 6

節から第 10 節が形成されている時期に相当すると考えられた。さらに、播種の時期を変えて同様の実験を行ったが、同じ結果が得られたことから、*NnAP1* の発現の変化は日長に依存していないことが示唆された。以上の結果から、発芽後、第 6 節から第 10 節が形成される過程で、生殖生長へ相転換し、それ以降は常に各節に 1 つの花芽が形成されていくことがわかった。

以上本研究では、ハスは単軸生長と解釈した。ハスは播種後生育が開始するとまもなく日長には関係なく相転換が起こり、花芽形成のプロセスが開始されることが示唆された。花芽は、十分に生長した植物体では形成されるすべての普通葉基部に形成されるが、その多くは発達途中で異なる発達ステージで枯死したことがわかった。