

ジベレリンがミヤコグサの根粒形成に及ぼす影響の解析

小 原 弥 々 (指導教員 庄野邦彦)

【目的】 マメ科植物は、根粒菌と共生することで利用可能な窒素源を得て、やせた土地に分布を広げることができる。根粒形成は、マメ科植物にとって生態学的に重要な過程であり、この形成過程は、宿主植物から放出されたフラボノイド等の因子により、根粒菌の根粒形成に必要な遺伝子 (*nod gene*) の発現が誘導され、その遺伝子産物の *Nod* 因子が植物に感知されることにより進行する。根粒形成過程は、様々な環境要因によって、著しい影響を受けることが他のマメ科植物により知られているが、マメ科植物のモデル植物であるミヤコグサでは検討されていない。一方、ミヤコグサ (系統 *Taiki*) にジベレリンを投与することにより、根粒に似た構造 (根粒様構造) が形成される (Kawaguchi et al. 1996)。この構造は、外見上、根粒に似ているが、解剖学的には、側根の変形したものと考えられる。しかし、低濃度の窒素化合物で、構造の形成阻害が起きる根粒の性質も持っている。本研究では、実験室内での根粒形成実験に適している系統 (*Miyakojima*) を用い、根粒と根粒様構造の異同を解析し、ジベレリンが根粒形成に関与している可能性について検討することを目的とした。併せて、異なる環境に生育している *Gifu* と *Miyakojima* における、根粒と根粒様構造の反応性の相違についても検討した。

【材料と方法】 植物材料としては、ミヤコグサ *Lotus japonicus B-129 Gifu* と *MG-20 Miyakojima* を用いた。まず、種皮に傷をつけ、種子滅菌を行った後、窒素源フリーの寒天培地に播種し、暗所、23°C で培養した。根が約 2 cm になるまで成長した芽生えを実験材料に用いた。根粒は、適当な濃度に希釈した根粒菌を直接根に与えることにより誘導した。根粒様構造は、窒素源フリーの寒天培地に 10^{-5} M のジベレリン (GA_3) を添加したものに移植することにより誘導した。

【結果】

I. *Miyakojima* での根粒及び根粒様構造形成に及ぼす環境要因の影響

1. ジベレリンによる根粒様構造の形成: 10^{-5} M のジベレリン投与により、*Taiki* と同様の根粒様構造の形成が見られた。
2. 温度の影響: 根粒, 根粒様構造形成のどちらも、種々の温度に対し、同様の応答が見られた。
3. 光の影響: 根に直接光を照射すると、根粒, 根粒様構造共に、形成が阻害した。
4. 窒素化合物における影響: NH_4NO_3 , NH_4Cl , KNO_3 , $CO(NH_2)_2$ のどの窒素化合物も低濃度 (5 mM) で、根粒, 根粒様構造, 共に形成阻害した。上記の結果から、生理学的には、根粒と根粒様構造の形成過程の間で、共通の過程が存在している可能性が示唆された。また、根粒様構造がジベレリンに誘導されることと併せて考えると、根粒形成にもジベレリンが関与している可能性が示唆された。次に、遺伝子発現解析によって、ジベレリンと根粒形成との関わりを解析するため、初期根粒形成に関わる遺伝子 *ENOD40-1*, *-2* が根粒様構造で発現しているかを調べた。

II. *ENOD40* 遺伝子発現解析: 根粒と比較すると発現量は少ないが、根粒様構造においても、*ENOD40-1* の発現量が増加していた。*ENOD40-2* に関しては、コントロールよりも少ない結果であった。*ENOD40-1*, *-2* の異同については、ほとんど報告されていないが *ENOD40-1* は、根粒形成のごく初期で、*ENOD40-2* は、出来上がった根粒で強く発現する可能性が示唆されている。根粒特異的遺伝子の発現量が増加していたことを確認したため、次に、根粒において、ジベレリンの合成を阻害したときの影響について調べた。

III. ジベレリン生合成阻害剤: *AMO-1618*, *CCC*, ウニコナゾールどの阻害剤でも根粒形成を阻害した。この形成阻害がジベレリン作用により回復するかということと、根粒におけるジベレリン含量に関しては検討中である。

IV. *Gifu* と *Miyakojima* における反応性の相違: 最も標準的な系統である *Gifu* おいても、ジベレリンにより、根粒様構造は形成されるが、培養後期に入ると根粒様構造の先端から、側根様構造が生じる事が観察された。上記の I の 2, 3, II に関しては、*Miyakojima* の結果とほぼ同様の結果が得られた。しかし、I の 4 では、窒素化合物で根粒様構造の形成は阻害されず、III において、ジベレリン生合成阻害剤添加を行っても根粒形成阻害は起きなかった。この点に関して、形成された構造が真の根粒かどうか検討中である。