

ホウレンソウ雌性間性系統F6の環境変異

杉山信太郎・藤田 智・遠藤元庸* *岩手大学農学部

Environmental Variation of Sex Expression in Gynomonoecious Line F6 of Spinach

緒 言

ホウレンソウはdioecious雌雄異株植物であるが、性発現がやや緩慢で、中間的な間性個体を比較的多く分離するので、詳しくはsubdioecious亜雌雄異株に区分される (Heslop-Harrison, 1957). ホウレンソウの間性にはXX型で雌の草型をもつ雌性間性とXY型で栄養雄型の草型をもつ雄性間性とがあり、それぞれ別個の遺伝子に支配されている (杉山・須藤, 1964). 雌性間性の遺伝子はX染色体上にある X^m であろうと言われる (Janick and Stevenson, 1955およびIizuka and Janick, 1962). 雌性間性個体を自殖した後代に雌性間性系統F6が育成された。この系統は異なる温度や日長の条件により性発現に多様な変化を生じるので、環境と雌雄性との関係を明らかにする好適な材料である。また、ホウレンソウでは雌性間性が育種の有力な材料として利用されつつあり、雌性間性系統の性発現に関する研究はきわめて有意義と思われる。

著者による雌性間性系統における性発現の環境変異に関する過去の研究では、高温と長日の条件が雄化を促進し、低温と短日の条件が雌化を促進する事実が明らかにされた (杉山ら, 1995). また極端な高温 (恐らく30℃以上) が雌性を雄性化する性転換作用を有することも示唆された (杉山・須藤, 1964). また植物ホルモンの影響では, Chailakhyan and Khryanin (1979) および加藤 (1988) はジベレリンが著しく雄化を促進し、オーキシンとサイトカイニンが少し雌化を促進することを報告している。

本研究の結果の一部には恵泉女学園短期大学園芸生活学科の学生が行なった実験の成果も含まれているので、ここに謝意を表したい。

実験の材料および方法

1. 材料

本研究の材料は著者が過去に日本種ホウレンソウの間性個体の後代に育成した、間性が固定し環境に対して明瞭に反応する雌性間性系統Fに由来する。この系統を著者はしばらく手元から失っていたのであるが、1983年に岐阜女子大学教授香川彰博士から返していただくことが出来た。この材料は茎葉が大きく生長し、種子が丸種で大きかったが、発芽不良

の欠陥があったので、東洋系の品種豊葉を交配して次の過程で育成し、F6と命名したものである。

1984年2月交配 F (♀) × 豊葉2-15 (Ⅱ型♂),
1984年秋播 F₁個体育成

1985年春播 F₂集団栽培 3-4 (Ⅱ型丸種) を選抜,
1985年秋播 F₃系統 3-4-3 を選抜

1988年秋播 系統3-4-3-15-1-1-6 (F₇世代) を「系統F6」と命名。

系統F6の特性：雌性間性、やや晩性、やや繁茂性、円葉型、根部赤色淡、丸種、発芽勢やや劣る。

2. 方法

実験は①圃場栽培試験—播種期の影響、②ビニルハウス栽培試験—保温と日長の影響、③月別播種期試験、④植物育成装置 (コンバイロンまたはファイトトロン) による実験—温度と日長を調節、⑤ホルモン処理実験によって行なわれた。

コンバイロン (Convion, 米国製) は光源の白色蛍光灯に白熱灯を混じ、約1万ルクスの照射可能。培地はバーミキュライトとパーライトを1:1に混ぜ、ハイポネックス1000倍液を散布した。日長は原則として16時間とした。

ホルモン処理ではGA₃, NAAと、まれにBAの異なる濃度を5葉期とその10日後に施用した。

性発現の観察は開花期の7~10日後に見られる個体の雌花率 [雌花数 / (雌花 + 雄花数)] をつぎの性型によって示した。

性型	I	II	II'	III	IV	IV'	V
雌花率%	0	5	25	50	75	95	100

集団については雌花率の合計個体による平均値を平均雌花率 (average female flower percent-AF%) として表示した。

実験結果

1. 圃場栽培試験

1993年1月27日にF6系統を圃場に播種し、生育初期をビニールトンネルで保温したものは4月21日に開花し、7日後の4月28日に調査した集団326個体はIV'型2個体、V型324個体で、AFが99.97%であ

った。同じ集団の10日後の調査ではAF99.42%であったが、さらに10日後の5月18日には雄化が進んでAF65.71%になった。また同じ材料を4月6日に播種（春播）し、自然条件で5月22日に開花したものはAF50.88%で雌雄がほぼ半々になった。さらに6月1日に播種し、7月20日に開花したものはAF32%で雄花が多かった（表1）。

2. ビニルハウス栽培試験

1994年10月28日に圃場に播種、12月28日にビニルハウスに移し電灯で補光し16時間日長にした材料は、2月15日に開花して全部雌花をつけた。1～2月のビニルハウス内の温度は日中5～20℃、夜間5℃以下であった。同じく10月28日に播種し、2月28日からハウス内に移して、夜間は5℃以上に保温し、日中は30℃以下に調節した材料は4月2日に開花し、AF60.7%を示した。一方、2月8日に播種し、2月28日から後者と同じハウスに移したものは4月1日に開花し、AF64.2%を示した。すなわち、開花前約1か月の環境条件が同じなら、播種期に関係なくAF%もほぼ同じことが分かる（表2）。

3. 月別播種期試験

1993年度に播種期を4月、6月、7月、8月および10月に変えた実験を行なった（表3）。播種期が遅れ、自然日長で開花できなかったものは電灯補光により16時間日長を与えて開花させた。AF値と開花期前30日間の平均日長との関係および同じ期間の平均温度との関係をグラフで示すと（図2）、平均日長よりも平均気温との間に高い負の相関（ $r = -0.936^{**}$ ）が得られた。また、1994年度に3月、4月、5月、6月、及び9月に播種して同様に開花させた実験（表4）では、AF値と開花4週間前の1週間（開花期の28日前から21日前まで）の平均気温との間にきわめて高い負の相関（ $r = -0.969^{**}$ ）が得られた（図3）。これらの事実から開花前4週間、とくに約1か月前の1週間における気温が開花期の性発現に大きな影響を与えていることが推定される。

4. 植物育成装置による実験

コンバイロンによる1993年から1996年に至る実験では（表5）、16時間日長において昼夜30℃の処理により43日で開花し、AF0%すなわち雄花だけを

表1. 圃場栽培における性発現 (1993)

実験	播種期 月日	開花期 月日	開花日数 日	調査期 月日	性型頻度								AF%
					I	II	II'	III	IV	IV'	V	計	
1	1.27	4.21	84	4.28	0	0	0	0	0	2	324	326	99.97
〃	〃	〃	〃	5.08	0	0	0	0	2	29	307	338	99.42
〃	〃	〃	〃	5.18	0	0	3	126	154	10	11	304	65.71
2	4.06	5.22	46	6.01	0	0	0	55	2	0	0	57	50.88
3	6.01	7.20	49	7.30	0	1	9	5	0	0	0	15	32.00

表2. ビニルハウス栽培における性発現 (1994-95)

実験 月日	播種期 月日	栽培条件	開花期 月日	AF%
1	10.28	12.28より無加温16時間日長	2.15	100.0
2	〃	2.28より5℃以上に保温自然日長	4.02	60.7
3	2.08	2.28 〃 〃	4.01	64.2

表3. 播種期を異にする実験—1 (1993-94)

播種期 月日	日長	開花期 月日	開花前30日の環境		AF%
			平均日長 (時間)	平均気温℃	
4.13	自然	6.11	14.0	17.8	15.5
6.20	〃	8.13	14.3	20.3	5.0
7.26	9月20日から16時間	11.08	16.0	16.8	53.2
8.29	〃	11.02	16.0	16.8	57.7
10.18	11月1日から16時間	1.04	16.0	12.8	88.0

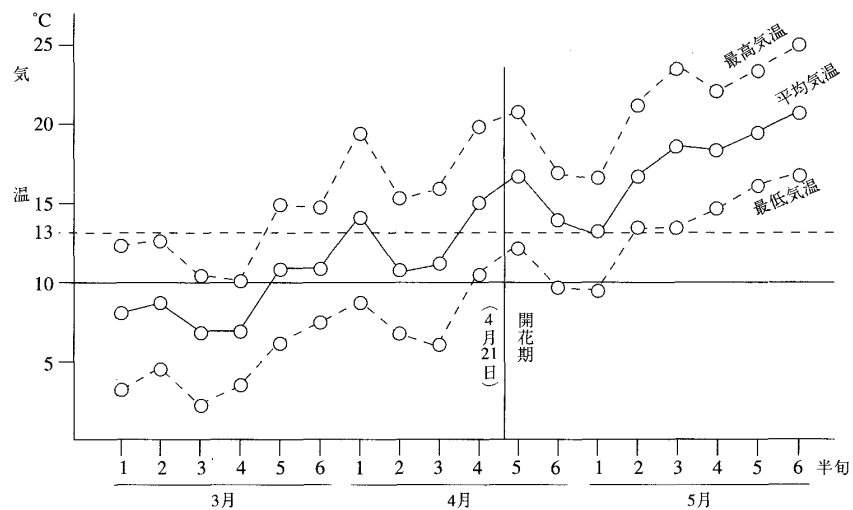


図1. 1993年3～5月の半旬別最低気温，最高気温，平均気温

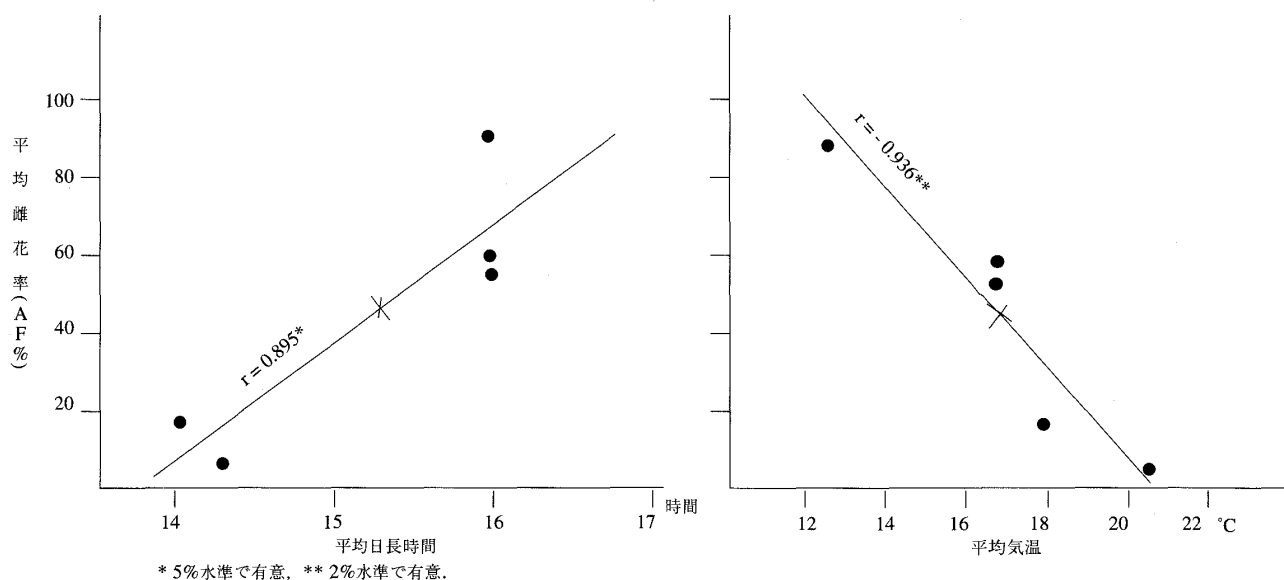


図2. 開花前1か月間の平均日長時間・平均気温と平均雌花率 (AF%) との関係 (1993～94)

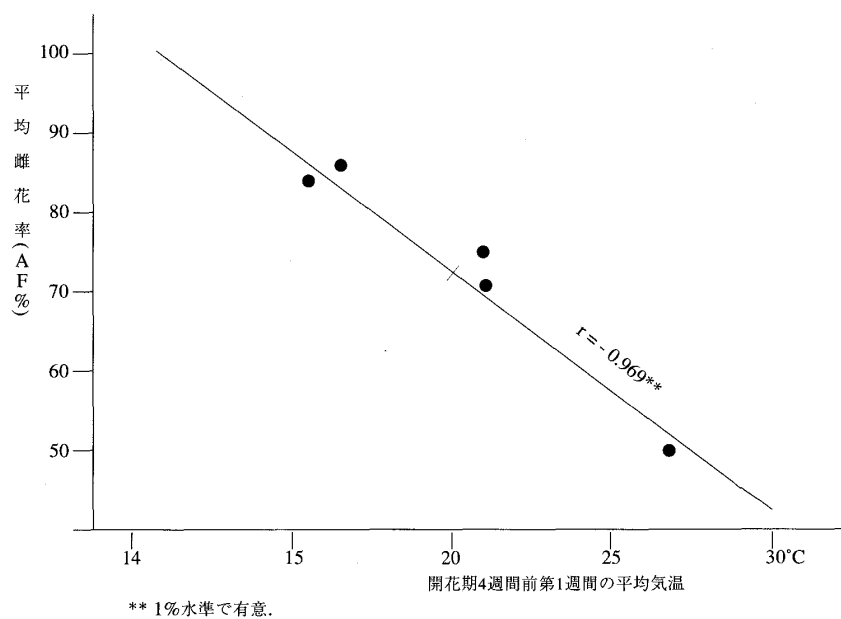


図3. 開花期4週間前1週間の平均気温と平均雌花率 (AF%) との関係 (1994)

表4. 播種期を異にする実験-2 (1994)

播種期 月日	日長 時間	開花期 月日	開花4週前1週間 平均気温℃	AF%
3.12	自然	5.09	15.3	83.2
4.17	〃	5.20	20.8	75.0
5.17	〃	6.24	26.6	50.0
6.17	〃	7.12	16.5	85.5
9.28	10月7日から16	11.26	20.9	70.6

着けた。明期30℃暗期10℃では遅れた61日目に開花し、AF5.9%で、前者と大差ない値を示した。昼夜25℃ではⅡ型を中心とするAF5%を示した。同じく22.5℃ではAF33.3%、同20℃では雌雄花半々に近いAF50.5%を示した。また明期20℃暗期10℃（実験6）ではAF50.0%で、前者（実験5）の昼夜20℃と明期の温度20℃が等しいと、AF値が近いことがわかる。実験6の材料2箱について実験終了後に主茎を6cmの高さで切除し、1箱を明期10℃暗期3時間だけ3℃に置いたもの(6')は、63日後に開花してAF100%を示した。この実験で茎の生長点を顕微鏡で観察したものは、雌花のほかに雄花の始源体である葯の痕跡が見られた（図4, A）。また他の1箱を夏期に高温のビニルハウスに置いたもの(6'')は

AF28.1%であった。また日長14時間で20℃、夜間3時間だけ低温（1～2時5℃、2～3時3℃、3～4時5℃）に置いたものはAF81.6%で、短日による雌化が見られた。昼夜10℃で16時間日長のものはAF100%で雌花だけを着けた。この実験で生長点を検鏡したものは、すべて雌花の始源体が見られた（図4, B）。10℃で夜間だけ3時間3～5℃に置いたものもAF100%を示した。

岩手大学におけるファイトトロンによる実験では、温度25℃日長16時間（予備期間13日間は14時間）の処理により、AF64.4%、15℃16時間日長によりAF86.8%で、低温による雌化が見られた。また温度15℃日長14時間ではAF93.3%で、短日による雌化が見られた（表6）。

表5. コンバイロン (Conviron) による実験

実験	播種期 年月日	温度 ℃	日長 時間	開花期 月日	開花日数 日	個体数	AF%
1	94.10.19	30	16	12.01	43	66	0
2	96.02.05	昼30,夜10	16	4.06	61	28	5.9
3	95.11.11	25	16	12.16	35	9	5.0
4	93.04.23	22.5	16	6.01	39	70	33.3
5	95.06.18	20	16	7.26	38	42	50.5
6	94.06.08	昼20,夜10	16	7.16	38	58	50.0
6'*	〃 7.28	10,夜3時間のみ3	16	9.29	63	27	100.0
6''*	〃 7.24	ハウス15～35	16	11.03**	—	32	28.1
7	94.03.14	20,夜3時間のみ3～5	14	5.20	67	29	81.6
8	95.03.20	10	16	5.22	63	71	100.0
9	94.09.01	10,夜3時間3のみ～5	16	11.02	63	67	100.0

*: 実験6の材料を7月24日主茎切除し、新梢を出させて開花状態を調査したもの。

** : 開花期でなく、調査日を記す。

表6. ファイトトロンによる実験（岩手大学、1995-96）

実験	播種期 月日	温度 ℃	日長 時間	開花期 月日	開花日数 日	個体数	AF%
1	11.07	25	14-16*	12.21	44	18	64.4
2	01.03	15	16	2.22	50	57	86.8
3	01.03	15	14	2.24	52	57	93.3

*: 初め13日間14時間、後31日間16時間日長に置いた。

図4. コンバイロンで育てた系統F6植物体の生長点の花房の顕微鏡写真(×200)

A: 昼20℃, 夜10℃16時間日長で育てた間性個体の茎を切除し, 昼10℃, 夜3時間3℃の条件で再生させ, 63日後に開花した茎は雌花率100%であったが, 生長点にはつねに葯の痕跡(矢印)が見られた(表5, 実験6').

B: 10℃16時間日長で最初から育てた個体には, つねに雌花だけが発生した(表5, 実験8).

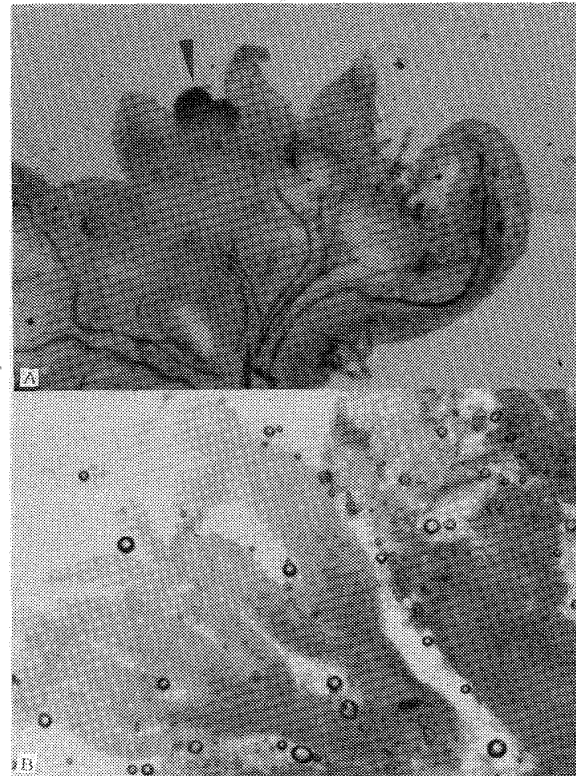


表7. バーナリゼーションの影響(1995)

実験	浸種期 月日	発芽期 月日	低温処理	播種期 月日	栽培条件	開花期 月日	開花日数 日	AF%
バーナリ区	3.15	3.23	3℃24日	4.16	戸外	5.20	34	12.6
対照区	3.15	3.23	なし	3.23	戸外	5.23	61	42.6

5. バーナリゼーションの影響

1995年3月15日にベンレート液に浸して置床し, 23日に発芽種子を3℃で冷蔵し, 24日後の4月16日に播種して戸外に置いたものは, 播種後34日目の5月20日に開花し, AF12.6%の強い雄化を示した. 他方, 3月23日に同じ材料を播種して同じ戸外に置いたものは61日後の5月23日に開花し, AF42.6%であった. バーナリゼーションは播種後の開花を促進し, 大きく雌花率を低下させたことがわかる. (表7)

6. ホルモン処理実験

1995年9月8日に播種したプラグ苗を70cmプランターに8本ずつ植え, 本葉5葉期の9月28日にGA₃1, 10, 100ppmとNAA1, 10, 100ppmを散布し, その10日後に第2回目の同様の散布をした. そして対照

区には蒸留水を散布した. 戸外に置いたこの材料は11月2日に開花し, 11月13日の調査で, 対照区, GA₃1, 10, 100ppmの順にAF26.3, 13.6, 10, 2.1%で, ジベレリンの濃度に平行して顕著な雄化が見られた. またNAA1, 10, 100ppmの順にAF32.1, 34.4, 42.9%で, オーキシンの濃度に平行した緩い雌化の傾向があるようである(表8, 図5). また1995年11月10日に播種し, 12月12日と同24日にGA₃10, 100, NAA10, 100, BA10, 100ppmを各2回散布したものは2月11日の調査で, 性発現についてBAの効果は不明であったが, 対照区のAF40.7%に対し, GA₃の効果は10ppmがAF20%, 100ppmが3.8%で顕著であり, NAAによってもわずかな雌化が見られた. 収穫物の草丈ではGA₃とNAAによる増加が見られたが, BA処理によって低下した(表9).

表8. ホルモン処理実験—1

処理区	個体性型								個体数	AF%
	1	2	3	4	5	6	7	8		
対照区	Ⅱ	Ⅱ'	Ⅱ	Ⅱ'	Ⅱ'	Ⅲ	Ⅲ	Ⅱ'	8	26.3
GA1ppm区	Ⅱ'	Ⅱ	Ⅱ	Ⅱ	Ⅱ'	病気	Ⅱ'	Ⅱ	7	13.6
GA10ppm区	枯死	Ⅱ	Ⅱ	Ⅰ	Ⅱ'	Ⅱ	Ⅱ'	Ⅱ	7	10.0
GA100ppm区	Ⅰ	Ⅱ	Ⅰ	枯死	Ⅱ	Ⅰ	Ⅱ	Ⅰ	7	2.1
NAA1ppm区	Ⅱ'	Ⅱ'	枯死	Ⅲ	Ⅱ'	Ⅲ	Ⅱ'	Ⅱ'	7	32.1
NAA10ppm区	Ⅲ	Ⅱ	Ⅲ	Ⅲ	Ⅱ	Ⅱ	Ⅱ'	Ⅱ'	8	34.4
NAA100ppm区	Ⅲ	Ⅲ	Ⅲ	枯死	Ⅲ	Ⅱ'	Ⅲ	Ⅱ'	7	42.9

1995年9月8日播種, 11月2日開花, 11月13日調査

表9. ホルモン処理実験—2

処理区	個体性型								個体数	AF%	草丈cm
	1	2	3	4	5	6	7	8			
対照区	Ⅱ	Ⅲ	枯死	Ⅳ	Ⅱ	Ⅲ	Ⅲ	Ⅲ	7	40.7	71.3
GA10ppm区	Ⅰ	Ⅱ	Ⅱ'	Ⅲ	Ⅰ	Ⅱ'	Ⅲ	Ⅱ	8	20.0	78.7
GA100ppm区	Ⅰ	Ⅰ	Ⅰ	Ⅱ'	Ⅰ	Ⅰ	Ⅰ	Ⅱ	8	3.8	76.0
NAA10ppm区	Ⅱ'	Ⅱ'	Ⅱ'	Ⅲ	Ⅳ	Ⅲ	Ⅲ	Ⅲ	8	43.8	77.6
NAA100ppm区	Ⅲ	Ⅲ	Ⅲ	Ⅲ	Ⅲ	Ⅲ	Ⅲ	Ⅲ	8	50.0	73.2
BA10ppm区	Ⅱ'	Ⅱ	Ⅱ	Ⅱ'	Ⅱ'	Ⅱ'	Ⅱ'	Ⅱ'	8	20.0	68.0
BA100ppm区	Ⅱ	Ⅳ	Ⅱ'	Ⅱ'	Ⅲ	Ⅱ'	Ⅲ	Ⅲ	8	38.1	64.5

1995年11月10日播種, 2月1日開花, 2月11日調査

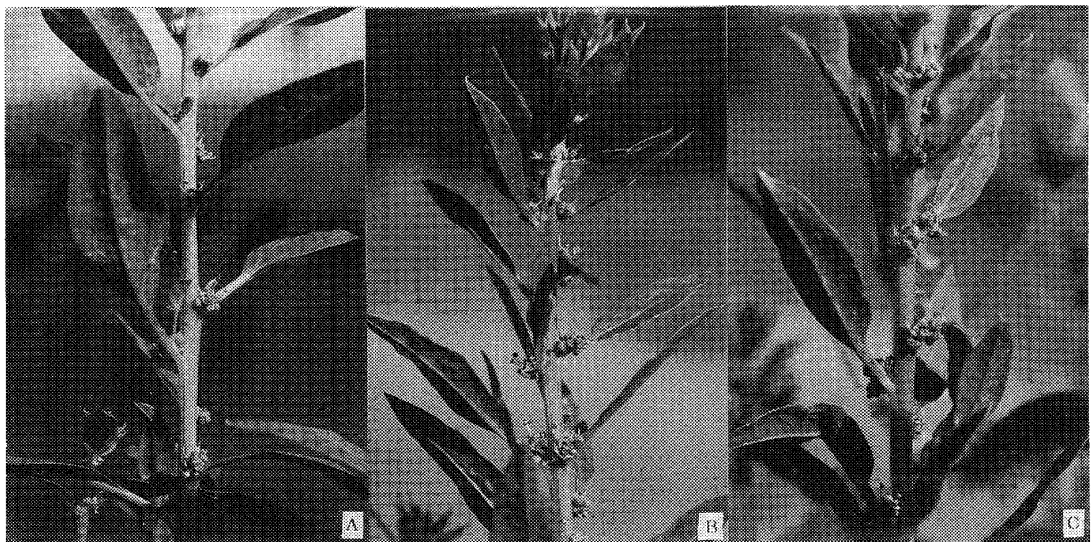


図5. ホルモン処理による性発現の変異. A: 無処理, Ⅱ'型; B: GA₃ 100ppm, Ⅱ型;
C: NAA 100ppm, Ⅲ型.

考 察

Heslop-Harrison (1957)は被子植物 (Angiosperms) で多くの例を上げて、高温・長日条件で雄化し、低温・短日条件で雌化する傾向を示したが、ホウレンソウにおいてThompson (1955)が結果の判断を誤ったため、一定の傾向を示しえなかった。またJanick and Stevenson (1955)も同様に被子植物一般の傾向を示し得なかった。これらの2報告において、ともにデータでは低温による雌化と高温による雄化の傾向を把握しているのに、高温・短日条件で性転換による大きな雄化に遭遇したため、結果が混乱したのである。ホウレンソウにおけるこの現象は極端な高温条件における性転換の概念を入れなければ解決できないであろう。本研究では温度条件を主体にして高温の30℃では絶対的な雄化、10℃以下の低温では絶対的な雌化の条件を確認し、中間的な15～20℃の温度条件で短日による雌化を認めることが出来た。この30℃での絶対的雄化、10℃以下での絶対的雌化の現象はイチゴにおける、10℃以下で日長に無関係の花芽分化と30℃以上での非分化の現象に類似している (増井, 1980)。またバーナリゼイションによる開花の促進も香川 (1956)の結果とほぼ一致し、その上で性発現の明かな雄化が見られた。これ等のことはいずれも植物ホルモンによる調節作用として理解すべきであろう。

コンバイロンによる実験6のシュート再生処理による全雌集団で、雌花とともに常に雄花の痕跡が見られ、他方、最初から10℃の低温で育てた実験8で雌花とその始源体しか見られなかったのは、生育初期に両性を作る条件を持つか持たないかの違いによることを示し、興味深い (図4)。この事実はSherry et al. (1993)がホウレンソウの花成は発生学的に雌雄異株的 (dioecious) であると言う説に対する一つの反証であろう。

本研究ではジベレリンによる顕著な雄化作用とオーキシンによる弱い雌化作用を確認することができた。ジベレリンとオーキシンの性発現に対する調節作用はChailakhyan and Khryanin (1979)のホウレンソウ品種での実験結果によく一致する。

植物育成装置を用いた実験で、日中温度が30℃、20℃、10℃ならば、夜温が違っていても恒温の場合とほぼ近い性発現を示した。この事実はチャイラヒャン(1955)がホウレンソウの開花に影響する長日作用の温度条件が昼の温度にのみ関係するとした事実符合している。このこともまたホウレンソウの性発現が開花作用と同じく植物ホルモンに支配されることを意味するものであろう。この事実は本来高

温に弱いホウレンソウを高温で雄化処理する場合に、夜間を低温にして高温障害を防ぐ手段として有効であろう。

以上により本研究の結果は、高温・長日条件で雄化、低温・短日条件で雌化という被子植物一般の生理学的法則を裏づけることが出来た。このことは性発現と植物ホルモンとの密接な関係によって支持されよう。

本研究により、雌性間性系統F6の性発現を環境条件、とくに温度により、次いで植物ホルモンにより自由に調節する方法が明らかにされたことは育種、あるいは栽培の技術として利用できる面が多いであろう。例えば一代雑種の雌親あるいは雄親としての利用や、自殖操作による人為突然変異の誘発への利用の可能性等が考えられる。

以上明らかにされた事実を応用して最初の雌性間性系統F6の圃場栽培による性発現を説明してみよう (表1, 図1)。これらによると、開花後のある時期に観察される性発現はその約1か月前の環境条件によって決定されることになる。圃場では4月21日に開花して後20日間は高い雌花率を保ち、5月18日にAF66%に低下したので、4月4半旬頃の気温を見ると、このころ暖かくなって平均気温が13℃を越えており、また最高気温が15℃を越えている。明期の気温の平均はこの両者の間にあるので、このころの温度の上昇が雄花を増加し、雌花率を低下させたのであろうと推定される。

摘 要

ホウレンソウの雌性間性系統F6を用いて性発現に対する圃場・ビニルハウスの栽培環境や植物育成装置による温度・日長の影響、さらにバーナリゼイションと植物ホルモンの影響を調べた。

圃場の冬播き栽培により早春に開花した集団は平均雌花率 (AF) が100%に近いが、5月中旬には60%台に低下した。播種期が違っていても性発現は開花前1か月の環境条件に支配され、とくに開花期1か月前1週間の環境に関係深いことが明らかにされた。植物育成装置コンバイロンによる実験では16時間日長の場合、温度30, 25, 22.5, 20 10℃で平均雌花率がそれぞれ0 (全雄), 5, 33, 50, 100% (全雌) となり、温度により大きく変動した。また昼夜で変温した場合、昼の温度がほぼ性発現に影響した。岩手大学のファイトトロンの実験では低温によると雌化とともに、15℃16時間日長で87%、同14時間で93%となり、短日による雌化が見られた。以上により高温長日条

件による雄化，低温短日条件による雌化の傾向が認められた。また発芽種子に対する3℃24日間のバーナリゼーションにより雄化の影響が見られた。植物体に対して植物ホルモンを散布した結果では，ジベレルリン (GA₃) による顕著な雄化，オーキシンによる緩かな雌化の影響が見られた。

引用文献

1. Chailakhyan, M. K. and V. N. Khryanin (1979): Hormonal regulation of sex expression in plants. *Pant Growth Substances* (ed. F. Skoog, Springer-Verlag), 331-344.
2. チャイラヒャン著中村英司訳 (1959): 植物開花生理 朝倉書店
3. Heslop-Harrisson, J. (1957): The experimental modification of sex expression in flowering plants. *Biological Rev.* 32, 38-90.
4. _____ (1972): Sexuality of Angiosperms. Steward, F.C. (ed.) *Plant Physiology* Vol. VIC, 133-288. Academic Press.
5. Iizuka, M. and J. Janick (1962): Cytogenetic analysis of sex determination in *Spinacia oleracea*. *Genetics* 47, 1225-1241.
6. Janick, J. and E. C. Stevenson (1955): Environmental influences on sex expression in monoecious lines of spinach. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 65, 416-422.
7. 香川彰 (1956): 晩抽型ホウレン草の開花促進に関する研究 (第1報). *園学雑* 25, 34-40.
8. 加藤徹 (1988): 野菜の生育調節. 博文館
9. 増井正夫 (1980): イチゴ. 松本正雄ら著, 蔬菜園芸, 文永堂, 160~169.
10. Sherry, R. A., K. J. Eckard and E. M. Lord (1993): Flower development in dioecious *Spinacia oleracea* (*Chenopodiaceae*). *Amer. Jour, Bot.* 80, 283-291.
11. 杉山信太郎・藤田智・遠藤元庸 (1995): ホウレンソウ雌性間性系統の性発現と育種的利用 I. 性発現の機構. *育種学雑誌* 45別2, 272.
12. 杉山信太郎・須藤千春 (1964): ホウレンソウにおける性発現の人為的支配に関する研究. *農業技術研究所報告* D11, 211-329.
13. Thompson, A. E. (1955): Methods of producing first-generation hybrid seed in spinach. *Cornell Univ. Memoir* 336, 1-48.