

令和元年6月19日現在

機関番号：82105

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K18716

研究課題名(和文) 冬期の休眠がスギの成長に与える影響とその分子メカニズムの解明

研究課題名(英文) The effects of winter dormancy on growth and the molecular mechanism in Japanese cedar

研究代表者

能勢 美峰 (Nose, Mine)

国立研究開発法人森林研究・整備機構・森林総合研究所 林木育種センター・主任研究員 等

研究者番号：20582753

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、スギの冬期の休眠における分子メカニズムへの理解を進めるため、成長の停止した10月から3月におけるスギの冬芽の遺伝子発現を網羅的に解析した。マイクロアレイを用いた解析の結果、休眠期においても発現遺伝子は刻々と変化していた。また、自発休眠期と他発休眠期で発現量の異なる遺伝子や、他発休眠において開葉までにかかる日数と相関のある遺伝子を明らかにした。これらの発現データから、スギは休眠中であっても、厳しい冬の環境を耐えるために刻々と変化して環境に適応していると推定された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

林業主要樹種であるスギにおいてフェノロジー(生物季節)を理解することは、近年の気候変動への対策を考える上で重要な基盤情報となる。特に、冬期の環境条件は成長に大きな影響を与えることが報告され、休眠期の重要性が指摘されている。本研究では、10月から3月におけるスギの詳しい休眠ステージやその時期に特異的な発現遺伝子を明らかにした。今後これらの知見は、冬期のスギの生命現象を研究する上で重要な基盤情報となる。

研究成果の概要(英文)：To understand the underlying mechanism of winter dormancy in Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*), we performed transcriptome analysis of bud samples collected from trees grown in the field from October to March. The microarray data revealed that transcriptome changes during dormancy. It also revealed the genes associated with endodormancy and ecodormancy and the genes associated with the number of days required for bud break during ecodormancy. These data indicated that although tree growth was suppressed in dormant period, the transcriptome changes constantly to survive the harsh winter environment.

研究分野：林木育種

キーワード：休眠 冬期 マイクロアレイ スギ 遺伝子発現

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

### 1. 研究開始当初の背景

近年の気候変動に伴い、気温が変化することによって、植物のフェノロジー（生物季節）への影響が予測されている。スギの場合、特に冬期の気温と成長に高い相関があることが報告されており、冬期の生命現象への影響が懸念される。しかし、冬期の成長を伴わない休眠中のスギについての研究はこれまでほとんど行われておらず、その生命現象については不明なままであった。

### 2. 研究の目的

植物の冬期の休眠は、その表現型の変化からいくつかの休眠ステージに分けられる。成長に適した環境でも成長しない「自発休眠」、成長に適した環境になると成長が開始する「他発休眠」などがある。秋になり、自発休眠に入ると、一定期間低温にさらされることによって（低温要求量を満たす）他発休眠へと移行するのが一般的である。本研究では、スギの冬期の休眠についての理解を深めるため、切り枝を用いた休眠ステージの評価を行うことで自発休眠から他発休眠への移行時期を推定するとともに、それぞれのステージに関与する遺伝子を網羅的な遺伝子発現解析によって明らかにした。これらのデータを用いて、各休眠ステージにおけるスギの生命現象について考察した。

### 3. 研究の方法

#### (1) 切り枝を用いた休眠ステージの評価

##### i) スギの休眠ステージの評価

2017年10月～2018年3月と2018年10月～2019年3月の2年にわたり、屋外に植栽したスギから定期的に枝を採取した。切り枝は水差しし、生育に適した人工環境下（長日、25℃）において開葉までにかかる日数から休眠ステージを評価した。人工環境下において約8週間の試験期間で開葉しなかったものを「自発休眠」、開葉したものを「他発休眠」とした。また、開葉に要した日数から「休眠の深さ」を評価した。

##### ii) 休眠の種内変異

全国（東北から九州まで）から選抜された18クローンが一箇所に植栽された試験林（茨城県日立市）から、2019年1月に枝を採取した。前述と同様、開葉までにかかる日数から休眠ステージを評価し、スギの休眠ステージの種内変異について調査した。

#### (2) 休眠期における網羅的な遺伝子発現

##### i) マイクロアレイによる網羅的な遺伝子発現解析

2017年10月～2018年3月に約1ヶ月間隔で合計6回、3クローンから採取したスギの冬芽からRNAを抽出した。約2万遺伝子の発現量を知ることができるスギのマイクロアレイを用いて解析した。切り枝による休眠ステージの評価、及び、マイクロアレイによって得られた発現遺伝子データから、自発休眠及び他発休眠に特異的な遺伝子を明らかにした。それらの遺伝子の遺伝子機能（Gene Ontology 解析）から、それぞれの時期における休眠の状態を推定した。また、休眠の深さと発現量に相関のある遺伝子についても解析した。

##### ii) リアルタイムPCRによる休眠ステージ特異的な遺伝子の発現解析

マイクロアレイ解析の結果、明らかになった休眠ステージに特異的な発現を示す遺伝子について、プライマーを設計し、リアルタイムPCRを用いて発現解析を行った。

### 4. 研究成果

#### (1) スギの休眠ステージの移行時期と休眠ステージの種内変異

クローンによって異なるが、自発休眠から他発休眠への移行は12月下旬～1月上旬に観察された。このことから、この時期にスギの低温要求量が満たされたと推定される。また、開葉に要した日数は1～3月にかけて徐々に短くなったことから、休眠の深さが4月の開葉に向けて浅くなっていったと推定される。

全国から選抜された18クローンの2019年1月における休眠ステージを評価したところ、採取した枝はすべてのクローンで開葉し、他発休眠期にあることが推定された。しかし、開葉にかかる日数にはクローンによって約3週間の違いが見られたことから、休眠の深さには顕著な種内変異があると推定された。

#### (2) 休眠期の遺伝子発現プロファイル

マイクロアレイを用いた解析の結果、休眠期間に当たる10月～3月にかけて発現遺伝子は刻々と変化していることが明らかになった。自発休眠期と他発休眠期に発現している遺伝子を比較したところ、自発休眠期には成長関連遺伝子が、他発休眠期にはストレス、デンプン、光応答関連の遺伝子が多く発現していることが明らかになった。これらのデータから、スギは自発休眠期には厳しい冬に備えて冬芽の形成を続けており、他発休眠期には冬の低温による厳しい環境に耐えるための遺伝子を発現していると推定された。また、休眠の深さが浅くなるにつれて耐凍性に関わると推定される糖関連遺伝子やストレス関連遺

伝子の発現量は減少した。

### (3) 総合考察

以上の結果から、冬期にはスギの成長は停止しているものの、休眠中であっても環境の変化に適応するために、刻々と発現遺伝子を変化させていることが明らかになった。自発休眠期及び他発休眠期には異なる遺伝子が発現されていたことから、各休眠ステージが異なる役割を果たしながら、厳しい冬期の環境に適応していると推定された。

今回明らかになった各休眠ステージにおいて特異的な発現を示す遺伝子は、休眠ステージを短時間で簡便に評価するための遺伝子発現マーカーとして利用できる。今後、これらの遺伝子発現マーカーを用いて、クローンや植栽地の環境の違いによる休眠パターン違いを評価することで、休眠パターンと環境や成長との関連性を明らかにすることができると思われる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計0件）

なし

〔学会発表〕（計1件）

- ① Mine Nose, Transcript profiling during winter dormancy in Japanese cedar (*Cryptomeria japonica* D. Don). 6<sup>th</sup> Plant Dormancy Symposium. Kyoto, 2018. 10.

〔図書〕（計0件）

なし

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年：

国内外の別：

○取得状況（計0件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

研究分担者氏名：なし

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：なし

ローマ字氏名：

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。