

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年6月13日現在

機関番号：82111

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K18646

研究課題名(和文) 出芽時期を決める分子基盤：休眠サイクル調節遺伝子の決定

研究課題名(英文) Seedling emergence timing: Molecular aspects of seed dormancy cycling

研究代表者

今泉 智通 (IMAZUMI, Toshiyuki)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・中央農業研究センター・主任研究員

研究者番号：10509235

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：野外における休眠サイクル調節に關与する遺伝子特定を目的として、埋土種子のトランスクリプトームと休眠サイクルの季節変動の關係を解析した。本研究では、一次休眠と二次休眠の遺伝子発現状態の差異が明らかとなり、休眠調節機構が両者で異なる可能性が示唆された。また、本研究の中で、シロイヌナズナにおける種子休眠・発芽の制御が明らかにされている遺伝子と高い相同性を示す種子休眠調節の候補遺伝子を特定し、休眠サイクルに対応した遺伝子発現の季節変動が確認された。加えて、機能未知の遺伝子の休眠サイクルへの關与も示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の学術的意義は、深い種子休眠性を持つ水田雑草コナギを用いて、2年間にわたる埋土種子の遺伝子発現変動の解析により、野外における休眠サイクルの調節機構を明らかにしたことである。これまでの研究はモデル植物を用いた実験室内での研究が中心であり、本研究により自然条件における休眠調節の知見が得られた。また、本研究で用いたコナギは水田の強害雑草であり、管理の効率化のため種子休眠の予測や制御が求められている。種子休眠の予測や制御は雑草管理の方針を決定するために不可欠な情報であるため、本研究の成果は、コナギや他の雑草の管理技術を開発する基盤情報に活用できるという社会的意義を持つ。

研究成果の概要(英文)：In this study, I investigated transcriptome profiles during dormancy cycling in a summer annual weed, *Monochoria vaginalis*. Transcriptome analysis were used for a global transcript analysis of *M. vaginalis* seeds retrieved from a rice paddy environment. This study revealed that primary dormant seeds had a different transcriptome profile compared with secondary dormant seeds. Additionally, secondary dormant seeds of one-year old seeds had a different type of transcriptome profile compared to secondary dormant seeds in two-year old seeds. Finally, there were different types of transcriptome profiles during shallow dormant states. These results indicate that different dormant states are likely to be regulated by different mechanisms.

研究分野：雑草学

キーワード：種子休眠 休眠サイクル 発芽 フェノロジー

1. 研究開始当初の背景

雑草が持つ種子休眠性は生育に適した時期に出芽するための重要な特性であり、埋土種子は季節変化を感受して休眠性の深さ(以下、休眠状態)を変化させる。夏雑草の場合、散布直後の種子は冬の出芽を避けるために深い休眠状態を持ち(一次休眠)、春に出芽するために季節変化に応答して休眠状態を浅くする。春に出芽しなかった種子は、再び深い休眠状態を持つ(二次休眠)という休眠サイクルを示す。また、休眠サイクルの個体差により一斉に出芽せず長期にわたり出芽するため、防除から逃れて生育する個体が必ず生じ、複数回にわたる防除が必要となる。休眠サイクルを制御し個体差をなくすことが可能になれば防除効率は格段に向上するため、休眠サイクルのメカニズム解明は雑草防除の最重要課題である。

休眠調節の分子メカニズムに関して、これまで明らかにされた遺伝子の多くは実験室環境で特定されたものであり、野外の休眠サイクルの調節には大きな役割を持たないことが明らかにされている。また、野外の休眠サイクルを対象にした先行研究は一次休眠から休眠覚醒に至る短期的な動態を調査したのみであり、長期的な動態は明らかになっていない。そのため、「一次休眠と二次休眠の調節メカニズムは異なるか?」といった、休眠サイクル調節の基本的な疑問ですら未解明のままである。

2. 研究の目的

本研究では、コナギ種子の休眠サイクルに関与する遺伝子を決定するため、1)候補遺伝子の全長鎖塩基配列の決定と相同性検索による機能推定、2)候補遺伝子の発現量の季節変動の解明により、休眠サイクルに関与する遺伝子を明らかにする。本研究では2年間にわたる埋土種子の遺伝子発現変動の解明を目的とするため、これまでのモデル植物を用いた実験室内での研究では明らかにされなかった、野外における休眠サイクルの調節機構が示されると期待される。

3. 研究の方法

本研究では、戸外に埋設し、2ヶ月ごとに2年間回収したコナギ種子を用いて、埋土種子トランスクリプトームの季節変動を解析する。埋土種子から抽出したRNAを対象に、次世代シーケンサーを用いて取得した塩基配列により候補遺伝子の全長鎖塩基配列を決定し、相同性検索による候補遺伝子の機能推定により候補遺伝子の優先順位を機能の面から決定する。次に、候補遺伝子の遺伝子発現解析によりその季節変動を明らかにし、休眠サイクルに関与する遺伝子を明らかにする。

4. 研究成果

野外における休眠サイクル調節の候補遺伝子の塩基配列を決定するため、次世代シーケンサーを用いてコナギ埋土種子における転写産物の配列情報を取得した。得られた配列情報をもとに転写産物のコンティグ配列を構築し、種子休眠調節への関与が明らかになっている遺伝子と相同性の高いコンティグを決定し、2000bp前後と長いコンティグ配列データベースを構築した。次に野外における休眠サイクル調節に関与する遺伝子特定を目的として、次世代シーケンサーを用いた発現解析により、埋土種子トランスクリプトームの季節変動を明らかにした。シロイヌナズナにおける種子休眠・発芽の制御が明らかにされている遺伝子と高い相同性を示すコンティグ配列のうち、アブシジン酸の感受性低下に関与する *Cyt c* 遺伝子が休眠状態が浅くなる際に発現量が

増加し、休眠状態が深くなる際に発現量が低下することが示された。加えて、*SAHHI*や*LEA14*、*HSP18*などシロイヌナズナで種子休眠・発芽の制御が明らかになっている遺伝子がコナギの休眠サイクル調節に関与する可能性が示唆された。すなわち、シロイヌナズナの発芽遺伝子で発現量が増加する*SAHHI*やサイトカイニン応答遺伝子が浅い休眠状態のコナギ種子において発現量が増加することが確認された。また、アブシジン酸の感受性上昇に関与する*LEA14*および*HSP18*遺伝子については、浅い休眠状態のコナギ種子においてその発現量が減少し、深い休眠状態のコナギ種子において発現量が増加することが確認された。また、遺伝子発現の季節変動と休眠サイクルに強い相関が認められた遺伝子の中にはシロイヌナズナにおいても機能が特定されていない遺伝子もあり、休眠サイクル調節に関与する新規遺伝子の存在が示唆された。休眠サイクルへの関与が示唆されてい遺伝子の中には、一次休眠の覚醒にのみ関与するもの、二次休眠にのみ関与するもの、両方に関与するものがあり、一次休眠と二次休眠でその調節メカニズムが異なることが認められた。

本研究課題により、雑草のフェノロジー(本課題においては種子休眠サイクル)に応じた材料を野外から収集し、次世代シーケンサー等を用いて解析することで、シロイヌナズナなどモデル植物で明らかにされている遺伝子や機能未知の関与が、非モデル植物においても速やかに特定可能であることが示された。今後はこれらの遺伝子の種子成熟ステージ毎の発現量や環境応答などを明らかにすることで、野外における種子休眠サイクルの調節メカニズムの解明が進展すると考えられる。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計1件)

- ① [Imaizumi T.](#), Auge G., Donohue K.、Photoperiod throughout the maternal life cycle, not photoperiod during seed imbibition, influences germination in *Arabidopsis thaliana*, *American Journal of Botany*, 査読有、104巻、2017、516-525
DOI: 10.3732/ajb.1600389

[学会発表] (計3件)

- ① [Imaizumi T.](#)、Characterization of the transcriptome during seed dormancy cycling in *Monochoria vaginalis*. 18th European Weed Research Society Symposium、2018.
- ② [Imaizumi T.](#)、Characterization of the transcriptome during seed dormancy cycling in *Monochoria vaginalis* using Microarrays and RNA - seq、12th Triennial Conference The International Society of Seed Science Congerence、2017.
- ③ [Imazumi T.](#)、Transcriptome analysis during seed dormancy cycling in *Monochoria vaginalis*、7th International Weed Science Congress、2016.

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

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：

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。