

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 1 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25870144

研究課題名(和文) 温帯性タケ類の一斉開花現象に関する花成制御遺伝子の網羅的探索

研究課題名(英文) Search for flowering genes responsible for the mass flowering habit in temperate bamboos

研究代表者

久本 洋子 (HISAMOTO, Yoko)

東京大学・農学生命科学研究科・助教

研究者番号：60586014

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：タケ類は数十年に一度、一斉開花・枯死するという特異な生活史を持つが、開花関連遺伝子はほとんど知られておらず、開花年を認識するメカニズムは不明である。そこで本研究はモデル植物で知られた花成制御遺伝子をタケ類から単離して発現解析を行った。また、67年開花周期を持つモウソウチクで日変動・季節変動する遺伝子を探索した。その結果、モウハイチクおよびトウオカメザサの各器官においてFTは葉で、SOC1は全組織で、TFL1/CENは茎頂分裂組織で発現するというモデル植物の既往報告と一致した発現パターンを示した。また、モウソウチクにおいてCOの発現が日変動し、Dofの発現が季節変動することを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：In general, bamboos have a very long vegetative phase and exhibit monocarpic mass flowering. Various mass flowering cases have been reported, but a molecular mechanism responsible for the mass flowering habit has not been revealed previously. In this study, gene expressions were analyzed by using a quantitative real-time RT-PCR method in various organs during the course of yearly changes in the life history of *Phyllostachys meyeri* and *Shibataea chinensis*. The expressions of FT, SOC1, and TFL1/CEN homologs were detected in leaves, all tissue, and shoot apical meristem, respectively. In addition, the expressions of CO and Dof showed daily fluctuation and seasonal fluctuation, respectively in *Phyllostachys pubescens*.

研究分野：森林分子生態学

キーワード：花成関連遺伝子 リアルタイムRT-PCR タケ類 一斉開花 モウソウチク

1. 研究開始当初の背景

(1) タケ類の一斉開花現象

一般にタケ類は数十年に一度、開花・枯死するという特異な生活史を持つとされる。開花周期について、モウソウチクでは2系統における繰返し播種実験から67年周期をもつことが知られている。

自生地以外の場所へ移植したモウソウチクの実生、ミクラザサの実生、インドより日本へ持ち込まれたタケ類の一種メロカンナ・パッキフェラの株が自生株と同時期に開花したことから、タケ類の一斉開花現象には日長や気温などの環境要因よりも内在的な遺伝因子が強く関与していると推察された。しかし、開花に関与する遺伝子を網羅的に調べた研究はこれまでほとんど知られておらず、また、タケ類がどのように開花年を認識して開花に至るのか、そのメカニズムは不明である。

(2) モデル植物の花成メカニズムの研究

モデル植物であるシロイヌナズナ、イネ、ポプラ等の研究が進み、花成メカニズムが明らかになりつつある。花成には日長、低温といった外的環境因子と、ジベレリンや自律的な因子がトリガーとなる内的因子の制御経路が存在し、カスケード的に多数の遺伝子によって調節されることが明らかになっている。

(3) タケ類の開花遺伝子に関する研究成果

これまでにモウハイチクとトウオカメザサという2種のタケ類において、生活史の各時期・器官における開花関連遺伝子 *FT* および *TFL1* 相同遺伝子の発現を解析し、モデル植物では見られない一斉開花・枯死という生活史を持つタケ類においても花成制御遺伝子がモデル植物と同様に関与することを示した(Hisamoto & Kobayashi 2013)。

2. 研究の目的

(1) モデル植物ですでに単離されている花成制御遺伝子の相同遺伝子をタケ類から単離して発現解析を行い、同様の機能を担っているかを推測する。

(2) 67年開花周期を持つモウソウチクにおいて、発現量が日変動・季節変動・年次変動する遺伝子を探索する。

3. 研究の方法

(1) 材料の採集

静岡県三島市にある富士竹類植物園に系統保存され、それぞれ2004年および2008年に一斉開花したモウハイチクおよびトウオカメザサを使用した。開花試料についてはこれまでの研究ですでにサンプリングし、-80℃冷凍庫に保管したものを使用した。

モウハイチクは2004年2月の開花直前の稈の葉、および開花終了から9年が経過し成

熟段階まで回復した群落の稈の葉を使用した。トウオカメザサは2008年2月に開花した稈の葉および開花後5年が経過した群落の葉を使用した。

モウハイチクとトウオカメザサについてすでにサンプリングを行っていたが、これらのサンプリング時に採集時刻を考慮していなかったため、材料として不適であることが分かった。そこで、東京大学千葉演習林で1934年から管理されている開花年限試験地のモウソウチクを使用して新たにサンプリングを実施した。

このモウソウチクは1930年に発芽し1997年に開花・枯死した67年周期が確認された株の実生(子供)である。2013年に出穂した稈のうち3本を選抜し、2013年8月より毎月一度、正午に葉をサンプリングした。さらに日変動を調べるため、2013年8月8日10時から9日10時までの24時間、2時間おきに葉を採集した。

試料は採集後ただちにRNA分解酵素を不活化する試薬 RNA Later (Ambion) で固定し、-80℃の超低温冷凍庫で保存し、RNAを抽出した。

(2) 遺伝子発現解析

イネの開花関連遺伝子やタケ類のESTデータベースといたすでに得られている塩基配列情報を手がかりとして、花成促進遺伝子 *FT*、*SOC1*、*FCA*、花成抑制遺伝子 *TFL1/CEN* の相同遺伝子のプライマーを設計し、定量的リアルタイム RT-PCR 実験を行った(図-1)。

Gao et al. (2014)によりモウソウチクの異なる開花ステージにおける網羅的遺伝子発現解析が実施されている。論文に記載されたプライマー配列を参照して、RT-PCR 実験を行った。

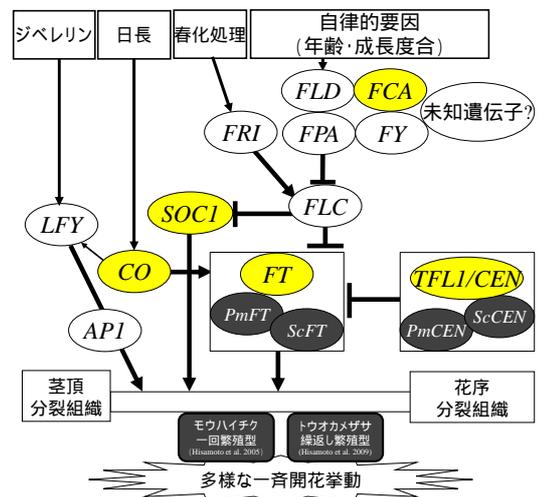


図-1 シロイヌナズナにおける花成制御経路 (Araki (2001)を基に改変)にタケ類の一斉開花の研究成果を組み入れた模式図。黄色は本研究で発現解析を行った遺伝子を示す。

4. 研究成果

(1) モデル植物で知られる花成制御遺伝子の相同遺伝子の発現解析

2004年および2008年にそれぞれ一斉開花を起こしたモウソウチクおよびトウオカメザサの各器官における *FT*、*SOC1*、*FCA*、*TFL1/CEN* 相同遺伝子 (*PmFT*、*PmSOC1*、*PmFCA*、*PmCEN* と呼ぶ) の発現量の年次変化を解析した結果、*FT* は葉で、*SOC1* は全組織で、*TFL1/CEN* は茎頂分裂組織で発現するというモデル植物の既往報告と一致した発現パターンを示した(図-2)。このことからタケ類の一斉開花過程にも花成制御遺伝子が関与することを示唆した。

また、*FT* は開花8年後の栄養繁殖期の葉でも発現していたことから、タケ類ではタケノコを誘導する可能性があることが示唆された。

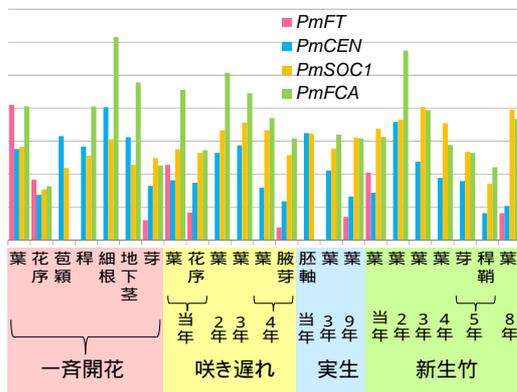


図-2 モウソウチクの生活史における各時期・器官での4遺伝子の発現解析。縦軸は相対的な発現量を示す。

(2) モウソウチクの日長・季節・年次変動遺伝子の解析

3本の稈から19ヶ月毎月採集したサンプルおよび特定の1日の2時間ごとに採集したサンプルを用い、RT-PCR解析を実施した。

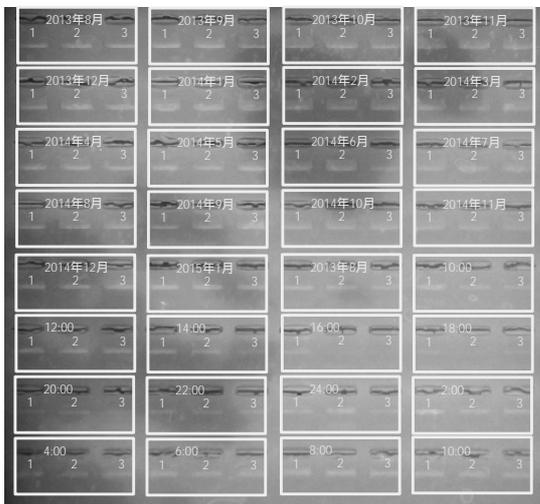


図-3 モウソウチク RNA における *CO* 遺伝子の RT-PCR の電気泳動結果

モデル植物の研究において日長変化によって開花に関与することが知られている *CO* 遺伝子の相同遺伝子の発現がモウソウチクでも日変動すること、また、水不足や他の環境ストレスによって発現し開花を誘導する *Dof* 相同遺伝子の発現が季節変動することが明らかになった(図-3)。

(3) 67年周期開花年限モウソウチク林のジェネット解析

遺伝解析の材料である67年周期開花年限モウソウチク林の健全な維持のため、試験地内の稈の分布と遺伝的組成を把握することで、クローン構造を考慮した管理指標を作成した。

全生存稈からDNAを抽出し、モウソウチクおよびササ類で開発されたマイクロサテライトマーカーを使用して各稈のジェネット識別を行った結果、少なくとも27個のジェネットが存在することが明らかになったため(図-4)、間伐時には稈数の少ないジェノタイプを絶やさないように同一ジェノタイプの稈が集中分布している箇所から抜き取りすることを推奨した。この指標に基づき、伐採稈を決定し、遺伝的多様性を失わないように配慮した間伐を行った。

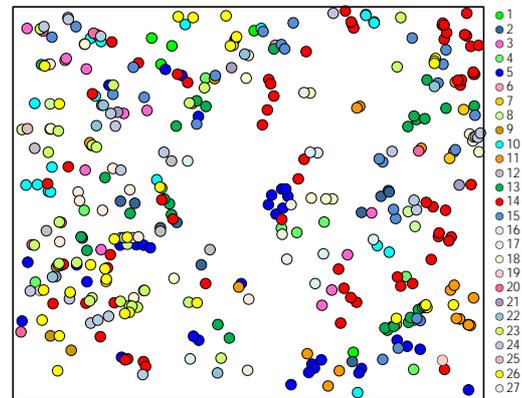


図-4 モウソウチク試験林内の稈の分布とジェネット解析の結果

<引用文献>

Hisamoto, Y. and Kobayashi, M. (2013) Flowering habit of two bamboos *Phyllostachys meyeri* and *Shibataea chinensis* analyzed with flowering gene expression. *Plant Species Biology*, 2, 109-117

Araki T (2001) Transition from vegetative to reproductive phase. *Curr. Opin. Plant Biol.* 4:63-68

Gao, J., Zhang, Y., Zhang, C., Qi, F., Li, X., et al. (2014) Characterization of the floral transcriptome of Moso Bamboo (*Phyllostachys edulis*) at different flowering developmental stages by transcriptome sequencing and RNA-Seq analysis. *PLoS ONE* 9(6): e98910

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計2件)

Saragih, S. A., Takemoto, S., Hisamoto, Y., Sato, H., Fujii, M. and Kamata, N. Quantitative real-time PCR (qPCR)-based tool for detection and quantification of *Cordyceps militaris* in soil. *Journal of Invertebrate Pathology*, 124, 70-74, 2014. 査読有

Hisamoto, Y. and Kobayashi, M. Flowering habit of two bamboos *Phyllostachys meyeri* and *Shibataea chinensis* analyzed with flowering gene expression. *Plant Species Biology*, 2, 109-117, 2013. 査読有

[学会発表](計3件)

久本洋子、東京大学千葉演習林の開花年限試験モウソウチク林の稈の分布とジェネット構造、第14回竹林景観ネットワーク研究集会、2014年7月12日、九州大学福岡演習林(福岡県・篠栗町)

久本洋子、梁瀬桐子、塚越剛史、東京大学千葉演習林の開花年限試験モウソウチク林における稈の空間分布構造、第125回日本森林学会、2014年3月29日、大宮ソニックシティ(埼玉県・さいたま市)

久本洋子、東京大学千葉演習林のモウソウチク開花年限試験林の現状と今後の管理について、第13回竹林景観ネットワーク研究集会、2013年12月1日、姫路市科学館(兵庫県・姫路市)

[図書](計2件)

久本洋子、竹の花は数十年に一度咲く、見てみよう やってみよう さわってみよう 体験型読み聞かせブック 理科好きな子に育つ ふしぎのお話 365(自然史学会連合監修)、誠文堂新光社、2015、244

久本洋子、花芽形成の遺伝的制御機構、環境Eco選書10 冬芽と環境 成長の多様な設計図 (八田洋章 編)、北隆館、2014、72-89

[その他]

ホームページ等

http://libcds1.lib.a.u-tokyo.ac.jp/info/lib/meta_pub/CsvSearch.cgi?DEF_XSL=detail&SUM_KIND=CsvSummary&SUM_NUMBER=20&META_KIND=NOFRAME&IS_DB=G0000002gyosekiDB&IS_KIND=CsvSummary&IS_SCH=CSV&IS_STYLE=default&IS_TYPE=csv&DB_ID=G0000002gyos

ekiDB&GRP_ID=G0000002&IS_START=1&IS_EXTSCH=&XPARA=&IS_DETAILTYPE=&IMAGE_XML_TYPE=&IMAGE_VIEW_DIRECTION=&SUM_TYPE=&IS_TAG_S1=CuI13&IS_KEY_S1=10000705&IS_NUMBER=20

6. 研究組織

(1)研究代表者

久本 洋子 (HISAMOTO, Yoko)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・助教

研究者番号：60586014