

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 10 月 31 日現在

機関番号：33114

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2021～2022

課題番号：21K19125

研究課題名(和文) 雑草特性の本質的要素である生活史可塑性を発現する遺伝的機構の解明

研究課題名(英文) Research on responsible genes of pre-germination seed vernalization and secondary seed dormancy for elucidating life history plasticity in facultative winter annual weeds.

研究代表者

吉岡 俊人 (Yoshioka, Toshihito)

新潟食料農業大学・食料産業学科・教授

研究者番号：10240243

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：種子が冬期の低温に遭遇すると、一越冬草では種子春化が、越冬草では二次休眠が、それぞれ二者択一的に誘導される。キク科一越冬草ヒメムカシヨモギの遺伝子PSV1を高発現で導入したシロイヌナズナ(Ws)は種子低温遭遇なしに早期開花性を示した。また、低温で種子二次休眠が誘導されるシロイヌナズナ(Col)では、PSV1ホモログ遺伝子が高発現となった変異型は二次休眠誘導が生じなかった。以上から、PSV1が種子春化遺伝子であり、その発現制御が一越冬草と越冬草の生活史分化に係わった可能性が高い。生活史可塑性が大きい一越冬草は越冬草に比べて雑草性が高い。したがって、PSV1は雑草の本質的要素に関与すると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

春化は緑体春化と催芽種子春化、および未発芽種子春化に分けられる。緑体春化と催芽種子春化の分子機構は、近年、解明が進んだが、未発芽種子春化については不明である。本研究からPSV1が高い確度で未発芽種子春化の責任遺伝子であることが明らかになった。これは新奇花成システムの発見につながる可能性がある。未発芽段階の種子で発芽後植物体の花成が制御できれば、農業技術としての応用範囲が広く、社会貢献が期待される。キク科植物であるヒメムカシヨモギの遺伝子PSV1が、分子系統樹では遠いクレードに属するアブラナ科植物のシロイヌナズナで花成に機能することは、植物進化的にも興味深い。

研究成果の概要(英文)：Arabidopsis thaliana (accession Ws) transgenic plants with high expression of PSV1 (Pre-germination Seed Vernalization 1) that is a candidate gene of the seed vernalization in *Erigeron canadensis*, a facultative winter annual of Compositae, showed early flowering traits without seed chilling. In addition, in *A. thaliana* (accession Col), wild type seeds were induced into secondary dormant states by chilling for 30 days, but seeds of mutants with over expression of PSV1 homolog were not induced the secondary dormancy although the seeds had been chilled. These results highly suggest that PSV1 is the responsible gene of seed vernalization and that regulation of PSV1 expression has been involved in the life history differentiation between facultative and obligate winter annuals. The primary characteristic of weeds is plasticity of their life histories. Facultative winter annual shows larger life history plasticity than obligate one. Thus, PSV1 should be the essential factor of weediness.

研究分野：雑草学、植物生理学、植物生態学

キーワード：種子春化 越冬草 一越冬草 生活史進化 花成遺伝子 種子二次休眠 雑草性 生活史可塑性

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、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

(1) 雑草という植物の本質的要素は種子発芽と開花結実のタイミングが柔軟であること、つまり生活史可塑性である。冬生一年草は越年草と一越草に分化している。一越年草は越年草に比べてより大きな生活史可塑性を獲得したことで、農耕地の雑草となり得ている。

(2) 冬生一年草の種子が冬期の低温に遭遇すると、越年草では二次休眠が、一越年草では種子春化がされる(図1)。この現象から、低温に応答した種子二次休眠と種子春化のスイッチング機構があり、それが越年草と一越年草の生活史分化の鍵要因であると推察される。

(3) 広範な植物種の種子休眠誘導にかかわる遺伝子として *DOG1* が知られている。また、緑体春化に係わる低温応答統合遺伝子が *FLC* であることは確定しているが、種子春化の遺伝子については不明である。

2. 研究の目的

(1) 上記の研究背景から、本研究では種子春化の責任遺伝子を確定し、冬生一年草の種子二次休眠誘導に *DOG1* が機能するかどうかを検討する。そして、低温による種子二次休眠と種子春化のスイッチングにおけるこれらの遺伝子の働きについて、シロイヌナズナの遺伝子組換え体を用いて調べる。

3. 研究の方法

(1) われわれは、キク科の一越年草ヒメムカシヨモギ (*Erigeron canadensis*) 種子の低温に応答した網羅的遺伝子発現解析および 5' RACE から、種子春化候補遺伝子 *PSVI* の単離に成功し、この遺伝子を導入したシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana* accession Wassilewskija) *PSVI* 高発現変異型株 (*At:PSVI^{OE#1~3}*) を得ている。シロイヌナズナは冬生一年草であるので、*At:PSVI^{OE#1~3}* の花成早晩性表現型を解析することで、*PSVI* が種子春化の責任遺伝子であるかどうかを確定する。本研究を通じて、種子春化を緑体春化と切り分けるために、種子をアブシシン酸溶液中で低温遭遇させることで未発芽状態を維持する実験系を用いる。なお、本文中では未発芽段階での種子春化のことを種子春化とする。

(2) ヒメムカシヨモギ *PSVI* に塩基配列類似性の高いシロイヌナズナ遺伝子は *GRP3* と *GRP3S* である。シロイヌナズナ (accession Col) 種子から mRNA を単離してマイクロアレイ解析を行い、種子低温遭遇における *FLC* と *GRP3/GRP3S* の遺伝子発現の関係を調べる。

(3) 同属の冬生一年生雑草であるミドリハコベ (*Stellaria neglecta* 越年草) とコハコベ (*S. media* 一越年草) の *DOG1* 様遺伝子 (それぞれ、*SnDOG1* と *SmDOG1*) について、二次休眠導入期における埋土種子中での発現変動を解析する。また、*GRP3* が高発現となったシロイヌナズナ FOX ライン株 (RIKEN 作成) 種子を用いて、低温遭遇による二次休眠誘導に対する *PSVI* のはたらきを推定する。

4. 研究成果

(1)-① シロイヌナズナ (Ws) をゲノム背景とする *AtPSVI^{OE#1~3}* は、種子に予め低温遭遇を与えていない表現型解析実験合計 8 回のうち 5 回において野生型株に比べて有意に早期開花となった。残りの 3 回でも、有意差は検出されなかったものの早期開花傾向を示した。この結果から、*PSVI* が非常に高い確度で種子春化の責任遺伝子であると考えられる。

(1)-② また、種子に 30 日間の低温遭遇を与えた場合、*AtPSVI^{OE#1~3}* の早期開花性はさらに高まった。これは、低温が *PSVI* 花成誘導機能を高める情報伝達系の存在を示唆している。

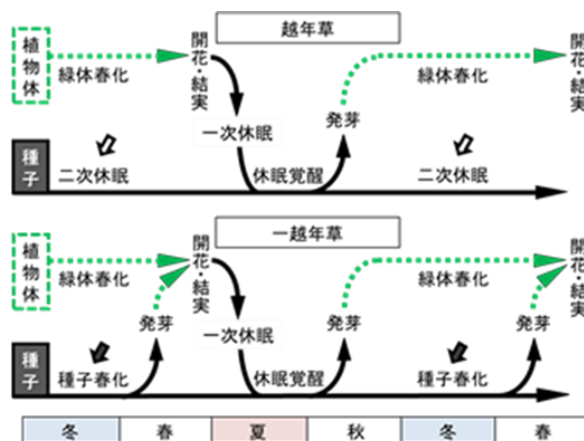


図1 冬生一年草の生活史における二次休眠と発芽および春化※と開花のパターン

越年草では、土壌中の種子が冬の低温に遭遇すると二次休眠(白矢印)が誘導される。そのため、発芽は休眠が覚醒した後の秋となる。秋に発芽した植物体は、冬の低温によって緑体春化が誘導されることで、翌年に開花結実する。一方、一越年草の場合、秋の発芽は越年草と同様に起こるが、種子が冬に二次休眠に入らないので春にも発芽する。春に発芽した植物体は、既に冬期間中に種子春化(黒矢印)が誘導されていることで、速やかに開花結実に至る。この短い生活史を併せもつことで、一越年草は攪乱をかき潜って種子生産できる。

※春化: 植物の開花(花成)が低温遭遇によって誘導される現象。低温を感じる器官が緑葉である緑体春化と種子である種子春化がある。近年、緑体春化の分子的解明は進展したが、種子春化については未知である。

(2)-① シロイヌナズナ (Col) 種子のマイクロアレイ解析では、種子中の *GRP3* と *GRP3S* の発現は低温遭遇によって増大し、種子春化が解除される条件 (低温後の高温遭遇) で低下した。この遺伝子発現パターンは、ヒメムカシヨモギ種子における *PSV1* 発現パターンと一致する。このことと *PSV1* との高塩基配列類似性に鑑みると *GRP3* および *GRP3S* はシロイヌナズナの *PSV1* ホモログ遺伝子だと考えられる。

(2)-② マイクロアレイ解析において、*FLC* 発現は低温遭遇種子で低下、低温後の高温遭遇で増大し、*GRP3* および *GRP3S* と逆の発現パターンとなった。これらの結果から、*PSV1* (あるいは *PSV1* 様遺伝子) は主に *FLC* (あるいは *FLC* 様遺伝子) の発現制御を通じて種子春化を誘導するものと考えられる。また、研究成果(1)において、種子の低温遭遇によって *At:PSV1^{OE#1~3}* の早期開花性が高まったことから、*FLC* を介さない *PSV1* の花成誘導系も存在する可能性が考えられる。

(3)-① 越年草のミドリハコベ埋土種子では、11月から12月にかけて *SnDOG1* の発現が増大し、二次休眠が深まった。一方、一越年草のコハコベ埋土種子では、この時期に *SmDOG1* 発現が増大せず、二次休眠状態に入らなかった。この結果から、冬生一年草種子の二次休眠誘導制御には、*DOG1* の発現調節が関わっていると考えられる。

(3)-② シロイヌナズナ (Col) の野生型株種子では、低温遭遇によって二次休眠が誘導された。一方、*GRPS* 高発現 FOX ライン株の種子は、低温に遭遇しても二次休眠状態とならなかった。これは、*DOG1* 発現によって惹起される種子二次休眠誘導が *PSV1* ホモログである *GRPS* の高発現下では生じないことを意味する可能性がある。

(4) 以上の研究成果(1)~(3)を総合すると、冬生一年草における越年草と一越年草の埋土種子からの発芽と開花について以下のシエマを考えることができる (図2)。春に種子発芽し、発芽後の植物体が速やかに開花する一越年草の種子の場合、発芽阻害にはたらく *DOG1* が低温で発現増大した *PSV1* によって抑制される。また、*PSV1* は花成ホルモンの *FT* を阻害する *FLC* の発現を抑制する。その結果、発芽後の植物体は早期に開花する。一方、越年草の種子では、低温遭遇しても *PSV1* が発現増大しないために、*DOG1* 抑制がかからず、種子発芽が起こらない。つまり、*PSV1* の発現制御機構が *DOG1* 情報伝達系と *PSV1* 情報伝達系のスイッチング機構であると考えられる。

(5) 本研究から、*PSV1* が高い確度で種子春化の責任遺伝子であることが明らかになった。キク科ヒメムカシヨモギの *PSV1* がアブラナ科シロイヌナズナで機能したことは、この遺伝子産物が広範な分類群で共通する花成制御因子であることを示している。したがって、*PSV1* の低温による発現制御機構は、様々な冬生雑草がそれらの本質的特性ともいえる生活史可塑性を発現するうえで重要であると考えられる。また、*PSV1* はこれまで知られている花成制御遺伝子とは塩基配列の相同性がなかった。これは、*PSV1* の情報伝達系の解明があらたな花成制御系の発見につながる可能性を示すものである。

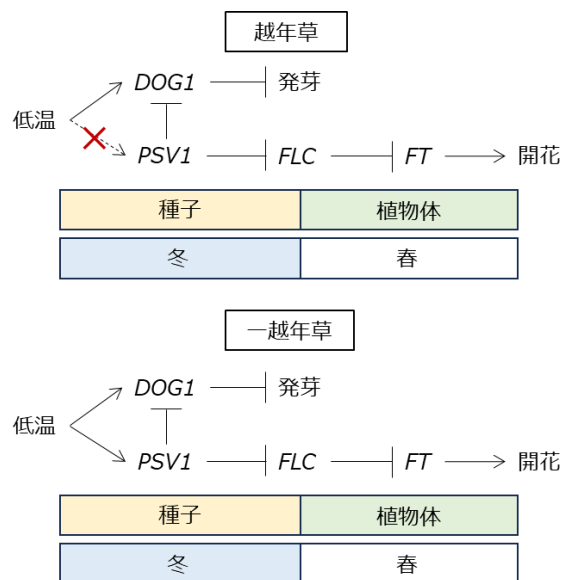


図2 冬生一年草 (越年草: 下図) の越冬埋土種子からの春発芽と開花のモデル

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 酒井翔平、日下部智香、吉岡俊人
2. 発表標題 冬生一年草の生活史を規定する種子春化候補遺伝子のシロイヌナズナ組換え体を用いた機能解析
3. 学会等名 第十回低温・氷温研究会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関