様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９　（共通）

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

令和　６ 年　 ７ 月 １７ 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、一越年草では種子春化が、越年草では二次休眠が、それぞれ二者択一的に誘導される。キク科一越年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（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年草と越年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年草は越年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、植物進化学的にも興味深い。

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　越年草　一越年草　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誘導される（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)　緑体春化の低温応答統合遺伝子が *FLC* であることは確定している。しかし、種子春化の遺伝子については不明である。また、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。
※本研究では未発芽段階での種子春化のことを種子春化と定義し、催芽段階での種子春化と区別する。

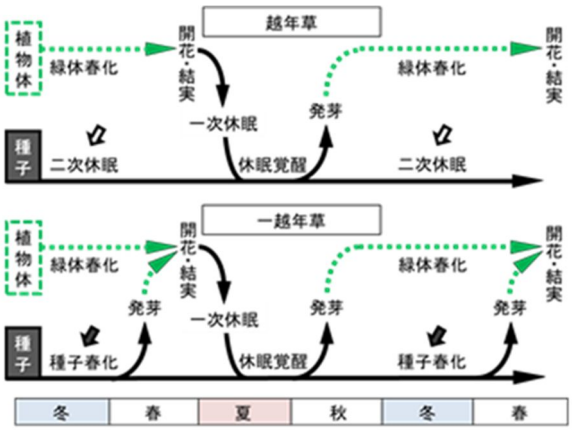

図1　冬生一年草の生活史における二次休眠と発芽および春化※と開花のパターン
越年草では，土壌中の種子が冬の低温に遭遇すると二次休眠（白矢印）が誘導される．そのため，発芽は休眠が覚醒した後の秋となる．秋に発芽した植物体は，冬の低温によって緑体春化が誘導されることで，翌年に開花結実する．一方，一越年草の場合，秋の発芽は越年草と同様に起こるが，種子が冬に二次休眠に入らないので春にも発芽する．春に発芽した植物体は，既に冬期間中に種子春化（黒矢印）が誘導されていることで，速やかに開花結実に至る．この短い生活史を併せもつことで、一越年草は攪乱をかい潜って種子生産できる。
※春化：植物の開花（花成）が低温遭遇によって誘導される現象．低温を感知す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．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することを第一目的とする。

(2)　つぎに、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明らかにする。

(3)　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、実験に適する冬生雑草とシロイヌナズナ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 *PSV1*（*Pre-germination Seed Vernalization 1*）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）*PSV1* 高発現変異型系統（At*PSV1*^{OE}#13, 34, 90）を得ている。
※本研究では、種子の低温遭遇処理をアブシシン酸溶液中で行う工夫によって、未発芽段階の種子春化であることを担保している。

(2)　緑体春化の分子機構解明が進められているシロイヌナズナ早期開花性系統（accession Ws や Col など）は一越年草型の冬生一年草であるので、種子春化の形質を保有すると考えられる。そこで、シロイヌナズナ *PSV1* 高発現変異型系統（At*PSV1*^{OE}#13, 34, 90）の花成早晩性表現型解析によって、*PSV1* が種子春化の責任遺伝子であるかどうかを確定する。

(3)　つぎに、越年草であるミドリハコベ（*Stellaria neglecta*）と同属近縁種で一越年草であるコハコベ（*S. media*）の *DOG1* 様遺伝子（それぞれ、*SnDOG1* と *SmDOG1*）について、野外での二次休眠誘導期における種子中の発現変動を解析する。

(4)　また、ヒメムカシヨモギ *PSV1* と塩基配列類似性の高いシロイヌナズナ遺伝子を検索し、その遺伝子の種子中での種子春化誘導、解除、再誘導時の発現変動パターンが *PSV1* と同様であることをマイクロアレイおよび発現解析によって確かめる。そのうえで、当該遺伝子が高発現となったシロイヌナズナ FOX ライン（RIKEN 作成）種子における低温遭遇による二次休眠誘導について調べる。

※FOX ラインは、理研 PSC の植物ゲノムプロジェクトによって開発され、文部科学省ナショナルバイオリソースプロジェクトを介して理研 BRC から提供された。

４．研究成果

(1)　シロイヌナズナ（Ws）をゲノム背景とする At*PSV1*^{OE}#13, 34, 90 は、野生型系統（Ws）に比べて抽苔開花時のロゼット葉数が有意に少なかった（図２）。抽苔開花時ロゼット葉数は、生長相が栄養成長から生殖成長へ転換するとき、つまり花成開始時の植物体齢を評価する指標とすることができる。したがって、*PSV1* が高い確度で種子春化の責任遺伝子であると考えられる。

(2)　シロイヌナズナ（Col-0）種子のマイクロアレイ解析では、種子中での *PSV1* 類似遺伝子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* 発現パターンとよく一致する。このマイクロアレイ結果とアミノ酸配列から推定されたモチーフ構造の類似性に鑑みると、当該シロイヌナズナ遺伝子は *PSV1* ホモログ遺伝子だと考えられる。

(3)　越年草（冬期に種子二次休眠が誘導されて翌年春期に発芽しない）のミドリハコベ埋土種子では、11 月から 12 月にかけて二次休眠が深まるとともに *DOG1* 様遺伝子（*SnDOG1*）の発現が増大した。一方、一越年草（冬期の種子二次休眠誘導が起こらず翌年春期に発芽する）のコハコベ埋土種子では、この時期に深い二次休眠状態とはならず、*DOG1* 様遺伝子（*SmDOG1*）発現が増大しなかった。この結果から、冬生一年草種子の二次休眠誘導には、*DOG1* の発現制御が係わっていると考えられる。

(4)　ヒメムカシヨモギ *PSV1* のシロイヌナズナでのホモログ遺伝子が高発現になった FOX ライン 2 系統を RIKEN から入手した。野生型のシロイヌナズナ（Col-0）種子は、1 ヵ月間の低温遭遇によって深い二次休眠状態となった（図３）。一方、FOX ライン 2 系統の種子は、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* ホモログ遺伝子の高発現下では生じないことを示唆している。

(5)　以上の研究成果(1)～(4)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ェーマを考えることができる（図４）。一越年草では、種子発芽阻害にはたらく *DOG1* が冬季の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、春期に種子発芽が起こり、発芽

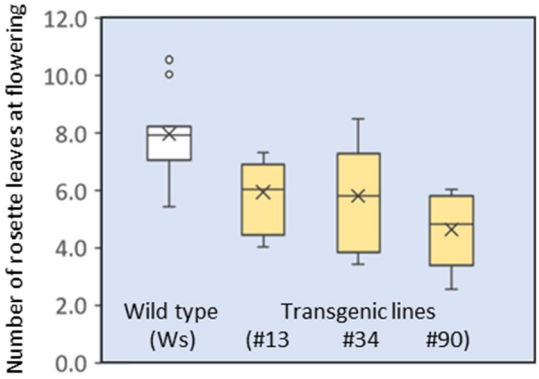

図2　*CMV35S::EcPSV1*コンストラクトを導入したシロイヌナズナ系統（At*PSV1*^{OE}#13, #34, #90）とシロイヌナズナ野生型系統（Ws）の開花時ロゼット葉数の比較
遺伝子導入型3系統の開花時ロゼット葉数は野生型系統に比べて有意に少ない：3反復（4繰返し／反復）の表現型実験のDunnett法（危険率1.0%）による統計解析結果。

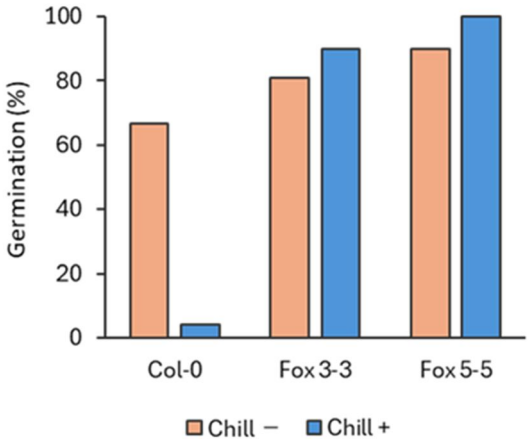

図3　*PSV1*ホモログ遺伝子の高発現シロイヌナズナ系統（Fox lines）とシロイヌナズナ野生型系統（Col-0）種子における低温による二次休眠誘導の有無

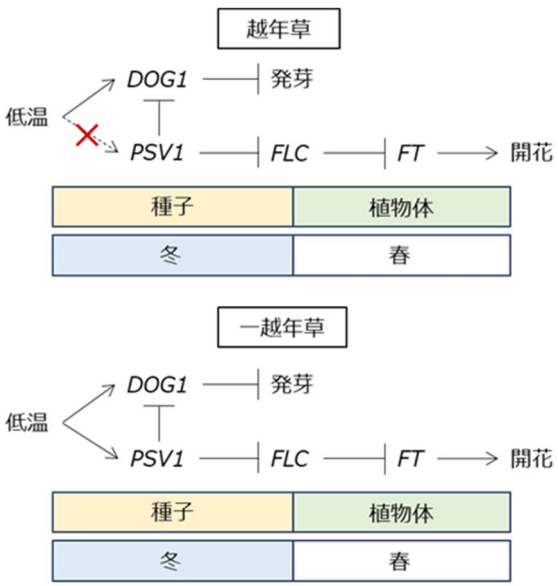

図4　冬生一年草の生活史制御モデル（仮説）：越年草と一越年草の埋土種子における冬季の低温遭遇による二次休眠または種子春化誘導のスイッチング機構。

後の植物体が速やかに開花する。一方、越年草の場合、冬期に種子が低温遭遇しても *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、低温に応答する *PSV1* の発現制御機構そのものが、*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。

(6) **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。**

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