

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 12 日現在

機関番号：82105

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2014

課題番号：23380091

研究課題名(和文)一回開花結実性ササ属の開花メカニズムと花成遺伝子発現様式の解明

研究課題名(英文)Gene expression of flowering loci for monocarpic genus Sasa

研究代表者

北村 系子(Kitamura, Keiko)

独立行政法人森林総合研究所・北海道支所・チーム長

研究者番号：00343814

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,300,000円

研究成果の概要(和文)：ササ属に近縁なタケの開花遺伝子を応用して、ササの開花遺伝子を探索し、その遺伝子発現量を調べた。その結果、開花遺伝子はササの穎花組織で多く発現していることが明らかになった。また、同じ遺伝子が開花中のササの葉組織でも発現していた。しかし、葉での発現量は花に比べて低かった。ササの開花遺伝子はチシマザサ節とチマキザサ節においてその配列が異なっていることが明らかになった。クマイザサおよびチシマザサについて開花遺伝子の季節変動を解析した結果、開花中と開花後に発現する遺伝子が種によって異なることが示唆され、開花遺伝子の発現段階がササの制御のタイミングに結びつく可能性が高いと考えられた。

研究成果の概要(英文)：Gene expression of flowering loci for dwarf bamboo species were investigated. Flowering loci (FT) were manifested in flower bud and related tissues and also leaf tissues. The gene expression of leaves were lower than the flower buds. The sequences of flowering locus were different between two major dwarf bamboo species in genus Sasa: Sasa kurilensis and Sasa cernua. The seasonal change in FT gene expression was different between these two species. The difference was detected in flowering time and also after flowering. From these results, we should take into account that the different treatment time in management of Sasa for silviculture.

研究分野：集団生物学

キーワード：ササ 開花遺伝子

1. 研究開始当初の背景

タケおよびササ類は東アジアに分布の中心をもっている。日本列島の森林生態系の中でササ属は旺盛な栄養繁殖系によって高密度群落を形成し、他の植物の定着に影響を与える主要因となっているが、その生態は未解明な部分が多い。ササ属は「一回結実性 (monocarpic)」とされ、その開花枯死現象はほとんど偶発的に起きるために、群落 (あるいは地域) 単位での情報に関する記載的報告にとどまっていた (蒔田ほか 1988, 1995, 柴田ほか 1999, 小林ほか 2001, 等)。研究代表者らはこのようなササ属の開花現象に関して分子マーカーを用いた研究を行い、開花単位の個性性 (H18-19 年度科研費: Kitamura & Kawahara 2007, 2009, Kitamura et al. 2009) 繁殖システム (H20-22 年度科研費: Kitamura & Kawahara 2011, Kitamura et al. 2011, Kitamura 2011) について明らかにしてきた。これら一連の研究では、開花と個体サイズが有意に関連していることを見出し (Kitamura & Kawahara 2007)、さらに開花地におけるセンサスから、隣接開花、前年および翌年開花、光環境による結実性など、開花の誘因となる現象の観察結果を蓄積してきた。

また、近年急速に発達した遺伝子発現研究の中で花芽形成遺伝子の存在が明らかになり (Kojima et al. 2002, Anderson et al. 2004)、ササ属でも同様の遺伝子群が花芽形成に伴って発現している可能性が指摘されている (Hisamoto et al. 2008)。観察を続けているササ開花集団では毎年ササの開花がみられることから、様々な開花ステージを対象に遺伝子発現量を追跡、比較することによって、ササの開花シグナルを捉えることが可能になる。

2. 研究の目的

研究グループでは、2003 年以降、空間的に部分開花を繰り返すササ群落について追跡調査を続けている。この集団では毎年小面積開花が見られ、開花前から開花を経て開花後までのさまざまな開花ステージを観察することができる。その中では、前年開花した集団に隣接する集団で翌年に開花が観察されたり、ごく小規模の開花が起きた翌年に全面開花が見られるといった、開花の前兆現象と考えられる観察結果も得られている。このような様々な開花ステージを持つササ開花群落を対象として、以下の項目について研究を行う。

- (1) 様々な開花ステージを持つ個体 (開花稈、非開花稈、再生稈、前年開花稈、翌年開花稈、隣接開花稈など) について継続的に試料を採取し、花芽形成遺伝子群の発現量を定量する。
- (2) 開花稈および花芽形成開始個体について、器官別に試料を採取し花成遺伝子群が植物体のどの部位 (根系、稈、葉、芽、花穂等) で発現しているかを明らかにする。
- (3) 開花稈および非開花稈を追跡調査し、花芽

および葉芽の形成伸長過程の詳細な季節変化を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) ササ開花固定プロットにおける追跡調査および試料採取

2003 年より調査を継続しているササ開花固定プロットについて追跡調査を引き続き行う。調査地内で、過去の開花記録をもとに開花の各ステージにある個体 (非開花、開花、前年開花、再生稈) を選定する。これらの個体の花芽形成伸長過程を継続して記録するとともに、分析用の試料として葉組織を採取する。

(2) ササ属の花成遺伝子群塩基配列の決定
開花サンプルから RNA を抽出し花芽形成遺伝子群 (花成遺伝子) の発現量を定量する。分析対象とする花成遺伝子はイネ科で広く用いられている核遺伝子の一種、花成促進遺伝子 FLOWERING LOCUS T (*FT*) (Anderson et al. 2004, Abe et al. 2005, Hisamoto & Kobayashi 2007) ターゲットとする。イネ科共通の花成促進遺伝子 FT ホモログよりササ属 FT の塩基配列を解読する。

(3) 花成遺伝子群の定量条件設定

ササ属に最適化されたプライマーを用いて花成遺伝子群の発現量を定量するために最適な条件設定を行う。

(4) 開花稈における組織別サンプルの採取

開花個体について、組織別に花成遺伝子の発現量に違いがあるかどうかを明らかにするために、各組織 (葉、花、茎、芽、根など) から RNA 分析用試料を採取する。

(5) RNA 抽出および花成遺伝子群の定量

花芽形成遺伝子群の発現量定量分析用の RNA を抽出し、花成遺伝子群の発現量を定量する。

(5) ササ属における開花ステージと花成遺伝子の発現量の評価

野外での開花現象の観察結果からササの開花ステージの季節変化について明らかにし、それぞれの開花ステージに対する花成遺伝子の発現量を比較する。また、花成遺伝子の発現部位についても、季節変動を把握する。

4. 研究成果

(1) タケの遺伝子配列は一部ササと共通であることから、タケの遺伝子がササで発現しているかどうかを調べた。その結果、タケの開花遺伝子はササの穎花組織で多く発現していることが明らかになった。また、同じ遺伝子が開花中のササの葉組織でも発現していた。

(2) 部位別の分析から開花遺伝子は花、葉、根系、芽の各組織で発現していることが明らかになった。発現量は部位によって異なる (図 1, 2)。

(3) クマイザサおよびチシマザサについて開花遺伝子の季節変動を解析した結果、開花中と開花後に発現する遺伝子が種によって異

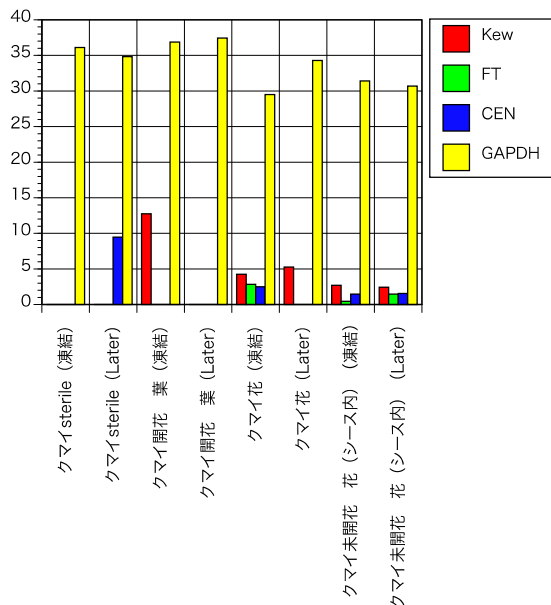


図 1 クマイザサ部位別遺伝子発現量

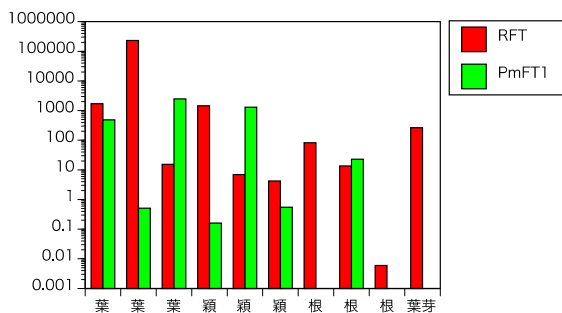


図 2 チシマザサ部位別遺伝子発現量

なることが示唆された。クマイザサでは開花遺伝子は開花中から開花後にかけて緩やかに減少しながら発現が見られる（図3）。これに対してチシマザサでは開花直後に発現量の急速な低下が見られる。また、非開花種では開花の季節には開花抑制遺伝子の発現量が少ないが、開花の季節が終了すると増大する。

(4)ササの開花遺伝子は複数コピーあることが推定できたことから、ササ固有の開花遺伝子の配列を読むことによって、より感度の高い分析ができる可能性も明らかになった。とくに、クマイザサの開花遺伝子の塩基配列を解読したところ、1塩基の欠失が複数箇所発見された。チシマザサの開花遺伝子では塩基の欠落は起きているものの、クマイザサほどサイトの数が多くない。この性質がチマキザサ節とチシマザサ節との大きな違いである。さらに、チシマザサ節よりもチマキザサ節の中に多型が含まれることはチマキザサ節の雑種性進化の可能性が示唆される。このことから、タケの遺伝子とクマイザサの遺伝子は構造的に異なっている可能性があり、クマイザサに関してはタケの遺伝子とは異なるプライマー設計を行うことによってより定量性の高い標識が得られる可能性が示唆された。

(5)野外での観察からササは強度の伐採後、路肩の草刈り後、風倒後に部分的に開花する

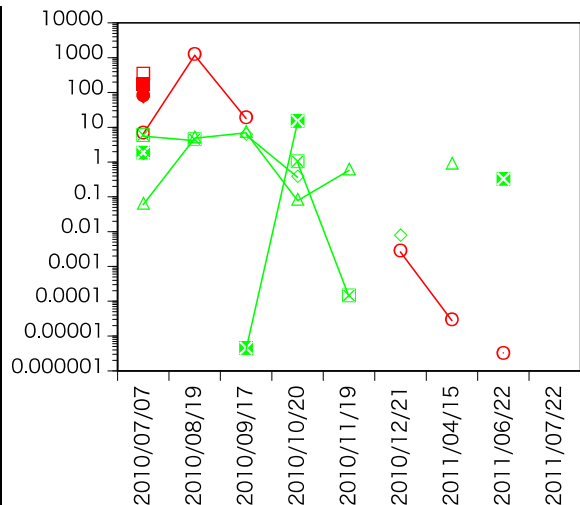


図 3 クマイザサ開花期の遺伝子発現量

ことが知られている。また、既往の研究からの開花には光環境の違いが反映されている可能性も指摘されており、ササの部分開花には環境因子が関連していることが推察される。クマイザサの胚を培養し、培地にストレスを与える物質（アザシチジン酸、トリコスタチン）を投与したものについて、開花遺伝子の発現量を比較したところ、ある一定量の濃度までは投与量が増えるほど開花遺伝子の発現量は増加することが示唆された（図4）。ことから、開花のメカニズムは種によって異なることが示唆された。

本研究で得られた結果は、まだササの開花制御に関して直接明らかになる段階には至っていないが、ササの開花は枯死に密接な関連を持つことから、開花遺伝子の発現段階がササの制御のタイミングに結びつく可能性が高いと考えられ、北方林施業の中では林業樹種の初期成長段階でのササとの競合を軽減させるための技術開発に寄与できるものである。本研究ではササの開花メカニズムを応用した、有効なササの管理方法を探ることを将来の目的としている。ササは北方系森林の林床をカバーし、森林における林業においても森林生態系保護の観点からも無視できな

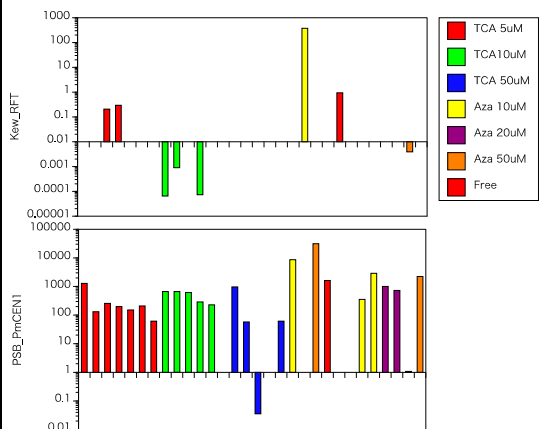


図 4 アザシチジンとトリコスタチン投与培養苗の遺伝子発現量

い存在である。しかしながら、その旺盛な栄養繁殖系と開花枯死に至るまで長期間を要することから、ササの制御に関してはほとんど手が付けられていない。本研究でササの枯死に結びつく開花現象を司る遺伝子の発現がわかるようになり、施業のタイミングに応用できる可能性が開かれた。

(平成24年度より研究協力者)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計5件)

小林幹夫, 北村系子. イヌトクガワザサ(イネ科: タケ亜科)の新産地とササ属アマギザサ節とチマキザサ節の分布域の再検討植物研究雑誌 88巻4号 251-257. (2013) 査読有
KITAMURA Keiko, OZAKI Kenichi, and SAYAMA Katsuhiko. (2012) First report of *Triphaenopsis jezoensis* (Insecta, Lepidoptera, Noctuidae) feeding on dwarf bamboo spikelets and caryopses. *Bamboo Journal* 28: 43-46 査読有

Keiko Kitamura, Takayuki Kawahara (2011) Estimation of outcrossing rates at small-scale flowering sites of the dwarf bamboo species, *Sasa cernua*. *Journal of Plant Research* 124(6): 683-688 査読有

Keiko Kitamura (2011) Pollen diameter of *Sasa cernua* MAKINO and *S. senanensis* (FRANCH. & SAVAT.) REHD. in small-scale flowering at Sapporo, central Hokkaido. *Bull. FFPRI.* 10(2) No.419: 131-134 査読有

Keiko Kitamura, Takayuki Kawahara (2011) Difference in germination response to cold stratification intervals between two dwarf bamboo species, *Sasa cernua* and *S. senanensis*. *Bull. FFPRI* 418:1-5. 査読有

〔学会発表〕(計1件)

北村系子. 開花の個体性と繁殖様式。第44回種生物学シンポジウム(2012.12.8)「奥琵琶湖マキノパークホテル&セミナーハウス(滋賀県・高島市)」

〔その他〕

北村系子. 摩訶不思議なササの話。(講演) 北海道森林ボランティア協会(NPO) 2013.03

6. 研究組織

(1) 研究代表者

北村 系子 (KITAMURA, Keiko)
森林総合研究所・北海道支所・チーム長
研究者番号: 00343914

(2) 研究分担者

河原 孝行 (KAWAHARA, Takayuki)
森林総合研究所・企画部・コーディネータ
—
研究者番号: 70353654