

第7回研究助成

## フロリゲンを活用して地球温暖化に強い作物を創るための基礎研究

研究代表者:

辻 寛之 横浜市立大学・木原生物学研究所

共同研究者:

坂 智広 横浜市立大学・木原生物学研究所 教授

研究協力者:

佐藤 萌子	横浜市立大学・木原生物学研究所	博士課程1年
久下 修平	横浜市立大学・木原生物学研究所	修士課程2年
安川 新平	横浜市立大学・木原生物学研究所	学部4年(卒業生)
三橋 明奈	横浜市立大学・木原生物学研究所	学部4年(卒業生)
井藤 純	横浜市立大学・木原生物学研究所	特任助教
山口 佳穂	横浜市立大学・木原生物学研究所	技術補佐員
野村 有子	横浜市立大学・木原生物学研究所	技術補佐員
鈴木 美穂	横浜市立大学・木原生物学研究所	技術補佐員(卒業生)
才原 徳子	横浜市立大学・木原生物学研究所	技術補佐員(卒業生)
半田 裕一	京都府立大学・育種遺伝学研究室	教授



横浜市立大学・木原生物学の圃場と辻研究室メンバー  
井藤 純(左から2人目)、佐藤 萌子(左から3人目)野村 有子(左から7人目)  
安川 新平(左から10人目)、山口 佳穂(右から3人目)

## 1. 研究の背景と達成目標

本研究の狙いは、地球温暖化による温度環境の変化が作物成長に与える影響をフロリゲンの分子機能の観点から解析し、地球温暖化に強い作物を作るための基礎研究を展開することである。地球温暖化は花芽分化時期の攪乱を通して開花と結実を攪乱して収量の減少を導く。温度による作物の花芽分化応答を理解し制御可能にできれば、これに打ち勝つ植物の開発の扉が開かれるとともに、現在栽培されている作物の栽培可能時期、栽培可能地域の拡大にも貢献できると考えている。

植物の花芽分化は花成ホルモン・フロリゲンによって強力に制御されており、フロリゲンの量と機能によっていつ花芽分化が開始されるのかが決定されている。そこで本研究では、温度環境の変化がどのようにフロリゲンの分子機能に影響し、花芽分化のタイミングを変化させるのかを解析することを目標とした。

研究対象としては、世界的に重要な作物であるコムギとイネを取り扱う。イネでは積算温度がフロリゲンの機能に与える影響を検討する。温度は花芽分化のタイミングを制御する主要な環境要因であり、その作用の仕方は積算温度の概念で捉えられるが、積算温度が与える発生的な影響は理解されていない。これを理解するために、積算温度の人為制御が可能な温度シフト実験系を用いて、花芽分化への影響を検討した。コムギでは、温度変化がコムギの出穂に至る過程にどのような影響を与えるのかを精査し、フロリゲン遺伝子との関わりを分子レベルで明らかにすることを目標とした。

## 2. 主な研究成果と社会、学術へのインパクト

- ・コムギが出穂するための「春」を認識する環境要因が温度であることを明らかにした。コムギは冬の日長を維持したまま温度だけを春の暖温にすると節間伸長を開始し、出穂した。

- ・暖温による節間伸長を開始させる因子は、フロリゲン遺伝子 *FT1* であることを明らかにした。*FT1* の発現は、実験室内環境においても野外環境においても、冬の低温時には低く維持されているが暖温にシフトすると節間伸長の開始に先立って直ちに発現が誘導された。さらに *FT1* を強制発現させることで、低温を継続した場合でも節間伸長を開始できた。

- ・コムギでは花芽分化が節間伸長に先立って冬の低温期間中に生じるが、これが *FT3* による効果である可能性が示された。*FT3* は低温状態で高い発現を維持するが、暖温にシフトすると速やかに発現が抑制された。

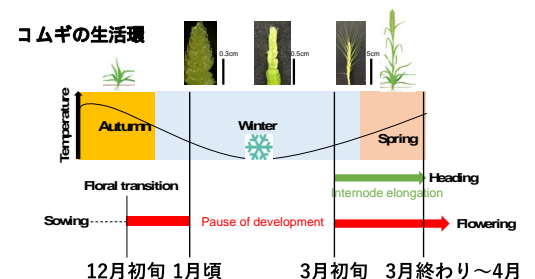
- ・コムギでは、ふたつの異なるフロリゲン遺伝子が冬と春に入れ替わるように発現し、出穂のための異なる機能を分担していることが分かった。

- ・イネでは、積算温度の増加に伴い、連続的に出穂が早まることが分かった。積算温度の増加に伴い茎頂メリステムのステージ進行が早まることも明らかにした。興味深いのは、出穂を促進するもう一つの環境要因である日長との違いである。イネの場合、短日条件も温度と同様に積算的に出穂を促進するが、短日の積算効果は「ある閾値を超えた時に発現促進が開始される、二値的な効果」を持つのに対して、温度の積算効果は連続的であったことである。

- ・温度変化がイネのフロリゲンの合成や分布に影響するかを検討したが、そのどちらにも顕著な変化はなかった。したがって温度はフロリゲン分子の機能自体に影響を与えている可能性が想定された。

## 3. 研究成果

コムギは一般的に日長が長くなるほど出穂が促進される。こ



の理由は、フロリゲン遺伝子の発現が長日条件で活性化されるからであると考えられてきた。しかしコムギを本来の生育場所である野外の圃場環境で栽培してみると、必ずしもこの考え方で説明できない現象が見られる。例えばフロリゲンの最初の働きである花芽分化は、秋に播種した後冬の間に起きている(図1)。

コムギのフロリゲンは一般的に春に近い環境であるほど、すなわち日長が長く暖かいほど発現が上昇すると考えられているが、こ

れと真逆の真冬に起きる花芽分化は何によるものであろうか。また、コムギは春になると節間伸長して茎を伸ばし、穂が抽出して出穂に至る。春になると日長が長くなり気温も暖かくなるが、節間伸長を誘導するのは日長であろうか、温度であろうか。また、節間伸長を促進する環境要因とフロリゲンの間にはどのような関係があるのか。本研究では、これらの質問に答えるための実験を行なった。

はじめにコムギの花芽分化と節間伸長がいつ生じるのかを、温度と日長を制御した環境で検討した。コムギを冬の低温を模した短日・低温(10時間日長、7°C)で栽培し、茎頂メリステムと節間伸長の変化を観察した結果、茎頂メリステムにおける花芽分化は播種後4週間目に生じるが、節間伸長は起きないことが分かった(図2)。このことから、花芽分化はいわゆる「春(長日、暖温)」を必要としないが、節間伸長には「春」が必要であることが示唆された。

次に、節間伸長を誘導するためには温度の上昇で十分であるかを検討するために、低温から暖温へのシフト実験を行なった。7°C、短日で8週間栽培したコムギを、7°Cに維持する、15°Cにシフトさせる、20°Cにシフトさせる3つの処理区に移して穂の成長と節間伸長を観察した結果、7°Cに維持した場合は変化がなかったのに対して、15°Cもしくは20°Cにシフトさせると7日後に穂の成長と節間伸長が促進されることが分かった(図2)。

温度シフトの際に特異的に活性化されるフロリゲン遺伝子を探索するにあたり、私たちはまずコムギの出穂を制御するとされている *FT1* 遺伝子と *FT3* 遺伝子に着目した。これらの遺伝子は、コムギやその類縁の植物を用いた遺伝学的な解析から出穂を制御することが分かっているが、植物成長のどのステージにどのように作用するのかは分かっていない。*FT1*と *FT3*の発現を温度シフトの過程で解析したところ、*FT1*と *FT3*が逆の発現パターンを示すことが分かった(図3)。*FT1*は最初の低温期間は発現が弱く、暖温にシフトした直後から発現が強くなる。一方、*FT3*は逆に最初の低温期間に高発現しており、暖温にシフトすると発現が低下する。これらの結果から、低温期間中に花芽分化を誘導するのが *FT3*であり、暖かくなってから節間伸長を促進するのが *FT1*であることが示唆された。

図1 コムギの成長

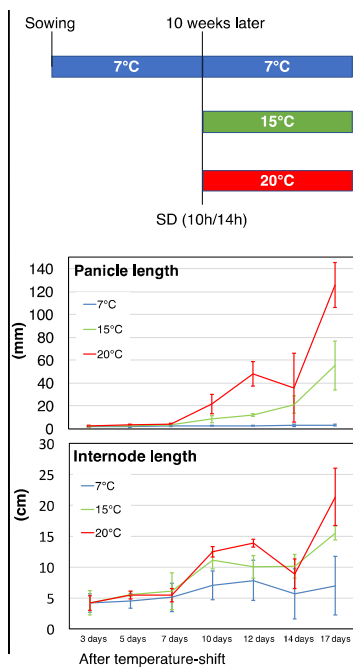


図2 日長シフトに対するコムギの応答

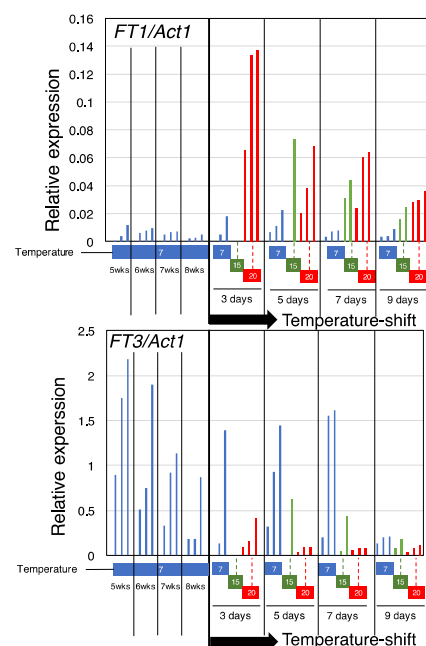


図3 日長シフトに対するコムギ *FT* 遺伝子の発現応答

FTIが節間伸長を誘導する因子であるかどうかを検討するために、FTIの過剰発現コムギを用いた実験を行なった。もしFTIの発現誘導が節間伸長の促進に十分であれば、短日・低温条件でもFTIを過剰発現させれば節間伸長が促進されるはずである。実験の結果、FTIを過剰発現させたコムギは短日・低温環境でも、あたかも暖温化にいるかのように穂の成長と節間伸長を示した(図4)。したがって、節間伸長の促進にはFTIの発現で十分であることが分かった。

最後に、コムギの本来の生育環境である野外環境でもFTIの発現と節間伸長の促進が関連するかどうかを検討した。コムギを野外圃場で栽培し、節間伸長が開始される前の2月に圃場栽培を維持する処理区と20℃の温室に移植する処理区において穂の成長と節間伸長の変化を解析した。その結果、野外栽培においても温室に移植した場合にのみ穂の成長と節間伸長の促進を観察できた(図5)。したがって、野外栽培したコムギにおいても温度の上昇はFTIを介した節間伸長を誘導することが示唆された。

これらの結果を総合すると、コムギの暖温への応答は次のように考えることができる。コムギは播種後すぐの冬の短日・低温期間に花芽分化を起こすが、これは低温で発現するFTI3が引き起こしている可能性が考えられる。その後春になると日が長くなり気温も上昇し、節間伸長が開始される。地球温暖化により温度が上昇すると、FTI遺伝子が発現誘導されて節間伸長が早期に誘導され、温度上昇に応答した出穂促進が生じるものと考えられる。

イネを用いて花芽分化と出穂の積算温度応答について検討した。積算温度とは日々の温度の積算のことであり、イネの出穂を始めとする様々な発生学的転換がその影響下にある。しかし植物が積算温度にどのように応答するのか詳細はわかっていない。本研究では、積算温度をコントロールできる実験系として温度シフト実験を行い、イネの出穂と花芽分化が積算温度にどのように応答するかを検討した。イネを25℃で栽培した場合と比較し、30℃で栽培すると出穂が早い(図6)。温度シフト実験として、25℃で栽培したイネを様々なタイミングで30℃にシフトさせて出穂のタイミングを調査した結果、30℃で栽培した期間が長いほど段階的に出穂が早まることが分かった(図7)。逆に、最初に30℃で栽培したイネを様々なタイミングで25℃にシフトさせて出穂のタイミングを調査した結果、やはり30℃で栽培した期間が長いほど段階的に出穂が早まることが分かった(図7)。

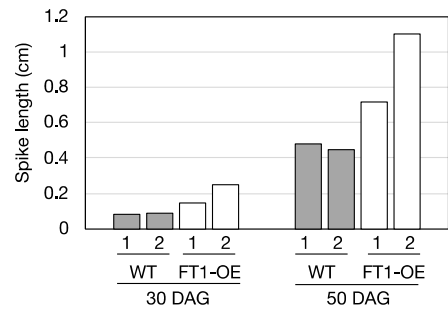
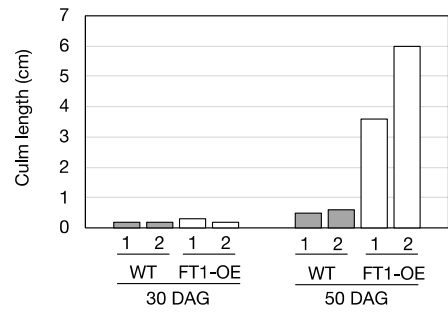


図4 7で栽培したFTI構成発現コムギの成長

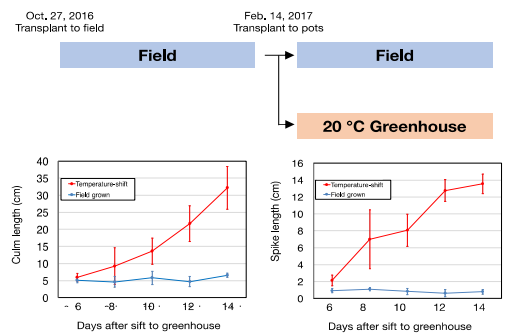


図5 圃場栽培コムギに対する温度シフトの影響

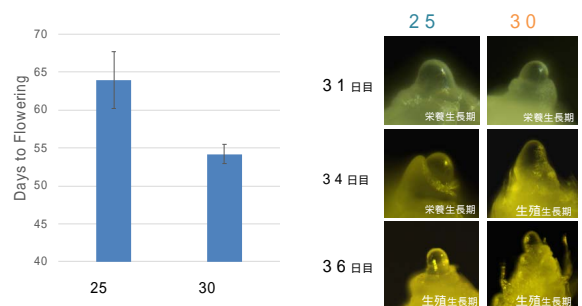


図6 イネの花芽分化と出穂に対する温度の影響

次に、この変化の発生的な基盤を調査するために、温度シフト条件下における茎頂メリステムにおける花芽分化と穂の発生の進行を検討した。始めに 30°C で栽培したイネを栽培途中で 25°C に移すと、25°C に移したタイミング以降の成長ステージ進行が遅くなることが分かった(図 8)。逆に、25°C で栽培したイネを 30°C にシフトすると、30°C に移したタイミング以降の成長ステージ進行が早くなることがわかった。

最後に、温度がフロリゲンの分布に影響を与えるかどうかをイメージングによって検討した。イネのフロリゲン Hd3a に GFP を連結した融合遺伝子を発現するイネを 15°C と 30°C で栽培し、茎頂メリステムのイメージングを行なったが、Hd3a-GFP の分布には差がなかった。したがって、フロリゲンの分布パターンは温度の影響を受けず、複合体形成やその活性などを通して花芽分化に影響を与えることが示唆された。

#### 4. 今後の展開

コムギにおいて、二つのフロリゲン遺伝子 *FT1* と *FT3* が、冬の低温と春の暖温に応答して発現を入れ替わるように変えながら、出穂に至る花芽分化と節間伸長の異なる過程を促進することを示した。この成果をさらに展開させる方向性としては、野外の栽培環境でも上記の制御が成立しているかどうかを、野外の時系列遺伝子発現解析により調査することが考えられる。

イネにおいて、積算温度が茎頂メリステムの成長ステージ進行の変化を通して出穂を制御することを示した。この過程では、フロリゲンの合成は減少するが茎頂メリステムにおける分布を制御するメカニズムは影響を受けないことが分かった。今後の学術的な展開として、温度が茎頂メリステムのステージ進行を変化させた時の遺伝子発現の応答を解明し、その制御過程を理解することを提案できる。

最後に、これらの知見を統合して将来の地球温暖化に対応できる作物のデザインを考察する。コムギにおいて問題になる事象の一つは、温度上昇に応答した出穂促進である。これを引き起こすメカニズムが暖温に *FT1* の発現誘導とこれに続く節間伸長促進である。地球温暖化によって出穂が攪乱されない理想的なコムギは、通常的气温ではこれまで通り出穂し、温度が上昇した場合でも出穂が大きくは促進されない(栄養成長期間と穂の成熟のための十分な時間を確保できる)ことが考えられる。*FT1* の発現パターンが通常 of 野外栽培では節間伸長後に上昇することを考慮すると、通常 of 野外栽培では *ft1* 変異は節間伸長の開始に影響しない可能性が考えられる。一方で、異常な暖温が訪れたとしても *ft1* 変異体は節間伸長の応答が鈍くなることが期待できる。この検証がこの先の展開となる。

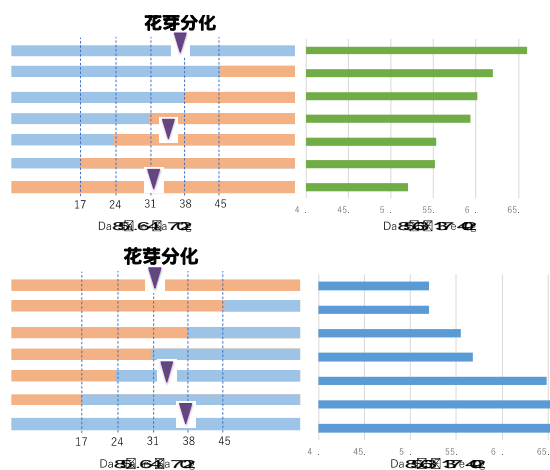


図 7 温度シフトに対するイネの出穂の応答

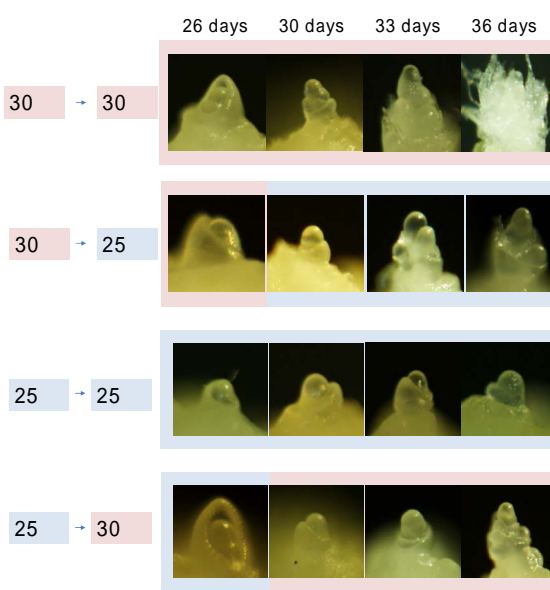


図 8 温度シフトに対するイネのメリステムの成長の変化

## 5. 発表実績

文部科学省検定教科書 高等学校 生物(フロリゲンの研究成果が掲載)2018年4月1日

Behnam, B., Bohorquez Chaux, A., Castaneda Mendez O.F., Tsuji, H., Ishitani, H., Lopez Lavalle L.A.B. (2019) An optimized isolation protocol yields high quality RNA from cassava tissues (*Manihot esculenta* Crantz). *FEBS Open Bio*. doi: 10.1002/2211 5463.12561

Kaneko-Suzuki, M., Ishikawa, R., Terakawa, C., Kojima, C., Fujiwara, M., Ohki, I., Tsuji, H., Shimamoto, K., Taoka, K. (2018) TFL1-like proteins in rice antagonize rice FT-like protein in inflorescence development by competition for complex formation with 14-3-3 and FD. *Plant Cell Physiol*. 59:458–468. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcy021>

Tsuji, H. (2017) Molecular function of florigen. *Breed. Sci.*, 67; 327-332.

Saijara, N., Tsuji, H. (2017) Imaging florigen distribution in vivo. *Plant Morphol.*, 29; 27-31.

辻 寛之「小麦:フロリゲンを活用して地球温暖化に強い作物を創る」一般社団法人和食文化国民会議・一般財団法人キャノン財団共催シンポジウム「和食と健康 持続可能な未来に向けた和食食材の新たな展開」2019年1月25日, 秋葉原 UDX ギャラリーネクスト

辻 寛之「オオムギ茎頂メリステムの発生フェノロジー」第13回ムギ類研究会 2018年11月27日, 横浜市立大学・木原生物学研究所

久下修平「オオムギ茎頂メリステムの全層透明化による3Dイメージング」第13回ムギ類研究会 2018年11月27日, 横浜市立大学・木原生物学研究所 \*優秀学生発表賞受賞

Jun Ito, Hiroyuki Tsuji “Plasticity of flowering time in response to environmental cues at the shoot apex in field-grown barley varieties.” 5<sup>th</sup> International Conference on Sexual Plant Reproduction. 2018.06.11 Nagaragawa Convention Center, Gifu.

安川 新平 辻 寛之「コムギにおける幼穂分化と節間伸長の分子フェノロジーの調査」日本育種学会第137回講演会 2017年10月8日 岩手大学