

植物に見られる多様な栄養繁殖戦略

別所-上原 奏子¹, 天野 瑠美²

¹ 東北大学大学院生命科学研究科

〒980-8578 仙台市青葉区荒巻字青葉 6-3

² 京都府立大学大学院 生命環境科学研究科

〒606-8522 京都市左京区下鴨半木町 1-5

Diverse strategies of vegetative reproduction in land plants

Kanako Bessho-Uehara¹ and Rumi Amano²

¹Graduate School of Life Sciences, Tohoku University, Aoba-ku, Sendai 980-8578 Japan.

²Graduate School of Life and Environmental Sciences, Kyoto Prefectural University,
Shimogamo-Hangi-cho, Sakyo-ku, Kyoto 606-8522, Japan.

DOI: 10.24480/bsj-review.14b1.00242

栄養繁殖とは、親の体の一部分が分かれて子を増やす無性生殖様式の一つである。葉・茎・根といった器官に由来し、遺伝的には親個体と同一のクローンが生み出される。地球上に存在する被子植物は約 30 万種あると言われているが、その中の約 7 割が栄養繁殖をする能力を持つという報告もある (de Kroon and van Groenendael 1997)。被子植物では栄養繁殖形質が繰り返し進化してきたことが示唆されており、多くの分類群は栄養繁殖を行う種と行わない種の両方を含む。栄養繁殖の例として、地下茎（茎由来）、匍匐枝（茎由来）、塊根（根由来）、無性芽（芽由来）といった器官があげられるが、これらの器官は遠縁の分類群においても見られ、収斂進化の一つの例といえる。栄養繁殖により生み出された次世代は親個体と繋がったままのもの（地下茎や匍匐枝など）から、親個体と離れるもの（無性芽など）までさまざまである。親個体と繋がっているものの中には、周囲の栄養条件や光環境に応じて個体間で情報の授受を行い、資源の分布が不均一な環境では好環境にいる個体が悪環境にいる個体に同化産物を転流する、あるいはストレスや攪乱による個体の損傷の修復を支援するために攪乱を受けていない個体から資源が供給されるといった特徴が見られる。この機構は「生理的統合」と呼ばれ、その地域に存在する集団全体の適応度を上げようとする栄養繁殖性植物の戦略と考えられている (Ashmun et al. 1982; Lau and Young 1988; Wang et al. 2008; Liu et al. 2016)。生理的統合は、生態学的にも分子生物学的にも興味深いメカニズムであり、両方面からの解析が望まれている。一方、親個体と離れる栄養繁殖性植物種では、遺伝的には同一でありながら、周囲の栄養や光を奪い合う状態に陥ってしまうため、自他認識のメカニズムがどのように機能しているのか、また異なる資源環境における個体間の応答の

違い、集団全体の適応度をどのように維持しているのかなどについて生理学的・生態学的な観点から研究が進められている (Dudley and Schmitt 1996; Roiloa et al. 2014; Chen et al. 2015; Goddard et al. 2020)。

栄養繁殖に関わる器官は農業上有益なものも多くあり、その成長発達に関わる分子機構を解明することは、農業への直接的な貢献にもつながる。また、親個体と遺伝的に同一であることから、一度病気に感染すると全ての個体が罹患してしまうというリスクもあるため、保全や農業の現場で有用個体をどのように管理・維持していくかという点についても関心が高い。しかし、栄養繁殖性植物の多くは、ゲノムが読まれていない、形質転換系が整っていないなど、分子生物学的実験を行うには難しい部分も多い。そのため、生理学や生態学的研究はありつつも、その発生や発達に関わる分子機構については未解明な部分が多い。モデル植物のシロイヌナズナやイネは種子繁殖性植物であり、栄養繁殖性植物についての遺伝子レベルの研究はジャガイモを中心に進められてはいるものの、世界的にもまだまだ数が少ない状況である。

本総説集は、日本植物学会第86回大会(2022年9月)で開催されたシンポジウム「栄養繁殖性植物研究への招待～メカニズムからその活用まで～」の内容をもとに総説として取りまとめたものである。このシンポジウムは、栄養繁殖性植物を扱う難しさ、栄養繁殖性植物の面白さを遺伝学、生理学、分子生物学、生態学的観点から解析する研究者を招き、その魅力について存分に語ってもらうことを目的に企画された。講演者には、イネ地下茎の研究を推進するオーガナイザーの別所-上原に加え、キャッサバ研究で最先端をいく内海好規博士、ゼニゴケの無性芽ができるしくみを解析されている酒井友希博士、ウキクサを用いて栄養成長と花成とのバランスを解き明かしつつある吉田明希子博士、様々な栄養繁殖性植物を包括的に比較解析されている荒木希和子博士といった気鋭の研究者をお呼びした。

昨今、栄養繁殖性植物を含む多くの植物種のゲノムが次々と解明されており、また、本総説集の中で示されているように形質転換系の開発も精力的に行われている。そのため、今後は栄養繁殖性植物においても分子メカニズムまで踏み込むような研究が可能となるだろう。本総説集を読むことで、栄養繁殖性植物の魅力に読者の皆さんが気づき、その研究仲間に入ってくれたなら望外の喜びである。

引用文献

Ashmun JW, Thomas RJ, Pitelka LF (1982) Translocation of photoassimilates between sister ramets in two rhizomatous forest herbs. *Ann Bot* 49:403–415.
doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a086264

Chen BJW, Vermeulen PJ, During HJ, Anten NPR (2015) Testing for disconnection and distance effects on physiological self-recognition within clonal fragments of *Potentilla reptans*. *Front Plant Sci* 6. doi.org/10.3389/fpls.2015.00215

- Dudley SA, Schmitt J (1996) Testing the adaptive plasticity hypothesis: density-dependent selection on manipulated stem length in *Impatiens capensis*. *Am Nat* 147:445–465. doi.org/10.1086/285860
- Goddard EL, Varga S, John EA, Soulsbury CD (2020) Evidence for Root Kin Recognition in the Clonal Plant Species *Glechoma hederacea*. *Front Ecol Evol* 8:578141. doi.org/10.3389/fevo.2020.578141
- de Kroon H, van Groenendael JM (1997) The ecology and evolution of clonal plants. Backhuys publ, Leiden
- Lau RR, Young DR (1988) Influence of physiological integration on survivorship and water relations in a clonal herb. *Ecology* 69:215–219. doi.org/10.2307/1943177
- Liu F, Liu J, Dong M (2016) Ecological consequences of clonal integration in plants. *Front Plant Sci* 7. doi.org/10.3389/fpls.2016.00770
- Roiloa SR, Rodriguez-Echeverria S, Freitas H (2014) Effect of physiological integration in self/non-self genotype recognition on the clonal invader *Carpobrotus edulis*. *J Plant Ecol* 7:413–418. doi.org/10.1093/jpe/rtt045
- Wang N, Yu FH, Li PX, He WM, Liu FH, Liu JM, Dong M (2008) Clonal integration affects growth, photosynthetic efficiency and biomass allocation, but not the competitive ability, of the alien invasive *Alternanthera philoxeroides* under severe stress. *Ann Bot* 101:671–678. doi.org/10.1093/aob/mcn005

地下茎による栄養繁殖を支えるメカニズム

別所-上原 奏子

東北大学・大学院生命科学研究科

〒980-8578 宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉 6-3

Regulating mechanism underlying the vegetative reproduction via rhizome

Kanako Bessho-Uehara¹

¹Graduate School of Life Sciences, Tohoku University, Aoba-ku, Sendai 980-8578 Japan.

Keywords: Rhizome, *Oryza longistaminata*, axillary bud, plant hormones, microRNA

DOI: 10.24480/bsj-review.14b2.00243

イントロ

被子植物は多様な繁殖方法を進化させてきたが、遺伝的均一性を保持しながら繁殖する栄養繁殖（無性生殖）と遺伝的多様性を広げる種子繁殖（有性生殖）に大別できる。とはいえ、多くの植物は栄養繁殖のみで全てのライフステージを乗り切るわけではなく、ある一定のライフステージを栄養繁殖によって過ごし、必要に応じて種子繁殖に切り替えるなど巧みな生活環をもつ。栄養繁殖に貢献する器官も多様で、根（塊根：サツマイモ）、茎（鱗茎：ニンニク、塊茎：ジャガイモ、球茎：サトイモ、匍匐茎：イチゴ、根茎：タケ）、葉（不定芽：カラコエ、鱗芽：オニユリ）など、植物種によって様々な器官を栄養繁殖に利用している。種子繁殖の研究は勢い盛んで、雌雄両者から出るシグナルの授受などについて多くの分子レベルでの研究がなされ、現在も日々新しい知見が生み出されている(Higashiyama et al. 2001; Okuda et al. 2009; Takeuchi and Higashiyama 2016; Susaki et al. 2022)。一方で、栄養繁殖の分子機構については、生物学的に興味深いにも関わらずその理解は乏しい。栄養繁殖器官の中には農作物として重要なものも多数あるため、栄養繁殖器官の発達に関わる遺伝子の同定や分子機構の解明を行うことで、農作物生産を効率的に進められる可能性がある。また一方で、タケなどに代表されるように栄養繁殖性の植物を除去することは容易ではなく、その分子機構を理解することで栄養繁殖を阻害する薬剤開発に貢献することも可能であることから、栄養繁殖器官の形成・発達機構の包括的理解を進める意義は大きい。栄養繁殖器官の1つである根茎については、これまでタケやイネを中心に、植物ホルモンや光・栄養条件変化に対する植物の応答という生理学的研究が進められている。また近年では、トランスクリプトーム解析を中心に多数のオミクス解析が進められ、その分子機構に迫ろうと試行錯誤がなされている。

本総説では地下茎，中でも野生イネ*Oryza longistaminata*の根茎を中心に，その形態的特徴，生理的実験から得られた内的・外的環境変化に対する地下茎形態の変化，さらに近年のオミクス解析により得られている分子レベルでの研究結果についてまとめる。また，遺伝学的研究についても概説し，地下茎研究を順遺伝学的に進めることの難しさについても触れる。最後に地下茎性作物をどのように人間生活に役立てるかという展望を示し，本総説の締めくくりとしたい。

1. 野生イネ*Oryza longistaminata*の地下茎形態と発達様式

土壌中にできる栄養繁殖器官で茎に由来するものは地下茎と呼ばれ，塊茎，鱗茎，球茎，根茎などさまざまなタイプが存在する。本稿ではその中でも根茎（比較的根を連想させる外観を持つが，茎頂メリステム（shoot apical meristem (SAM)を持つもの）を地下茎として記述する。

地下茎を持つ植物は数多く存在するが，イネの中にも地下茎を作る種がいる。イネ属（*Oryza*属）には，私たちの主食として利用されている2種の栽培イネ（*Oryza sativa*と*Oryza glaberrima*）と23種の野生イネが存在し，その多くは種子繁殖を行うが，*Oryza longistaminata*と*Oryza officinalis*は地下茎による栄養繁殖と種子繁殖の両方を行う。*O. longistaminata*はアフリカ原産の野生種で，太く長い地下茎を有する（図1）。*O. longistaminata*は栽培イネ*O. sativa*と同じAAゲノムグループに属し，*O. sativa*と交雑できるため遺伝解析が可能である。一方，CCゲノムグループに属する*O. officinalis*は*O. sativa*と交雑できないため，*O. longistaminata*が地下茎研究の材料として主に利用されてきた。

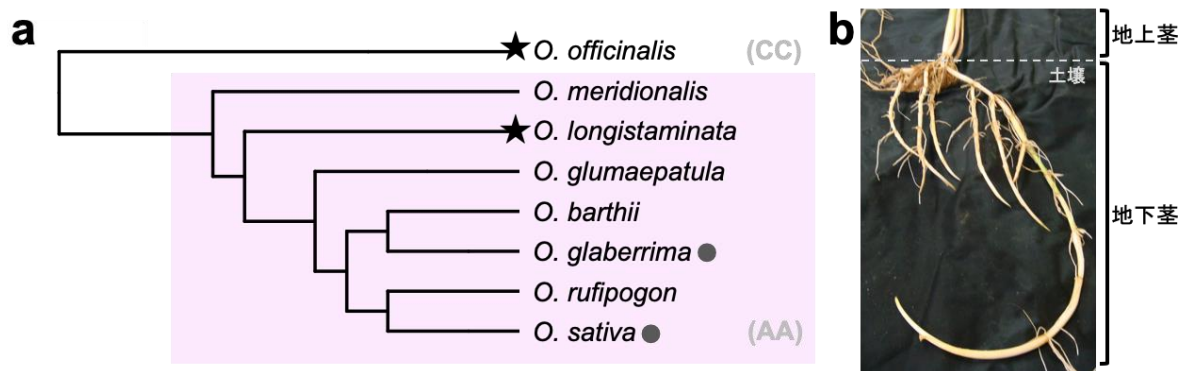


図1. *Oryza*属の系統関係およびその繁殖様式。(a) *Oryza*属の簡易系統樹。★マークは地下茎で主に栄養繁殖する種，それ以外は種子繁殖のみを行う種，●マークは栽培種2種を示す。ピンクの四角内はAAゲノムグループを，*O. officinalis*はCCゲノムグループに属することを示している。(b) *O. longistaminata*で観察される地下茎。

地下茎は地中を伸長するが，器官としては茎の特徴（SAMを持つ，葉を持つ，葉腋に着生する腋芽を持つ）を備えており，地上茎と同様，腋芽から発達する。*O. longistaminata*の地下茎となる腋芽は，地上茎の腋芽と形態的に大きく異なることが報告されている(Yoshida et al.

2016)。地上茎腋芽は扁平で主茎に沿って生育するが、地下茎腋芽は丸く玉ねぎのような形態をしており、鱗片葉に包まれている。また、地下茎腋芽はある程度発達した後、着生している葉鞘を貫通して伸長し、そのまま地中を節間伸長することで成長する(図2)。通常、イネ地上茎の節間伸長は栄養成長期には起こらず、生殖成長期いわゆる穂がつく時期に伸長する。*O. longistaminata*の地下茎は栄養成長期においても節間伸長することが1つの特徴と言える。ある程度節間伸長した地下茎は地上に向かって屈曲し、その後、地上へ出て地上茎になる(この段階を「地上茎化」と呼ぶ)。その後、地下茎に着生する土壤中の腋芽が地下茎として伸長することで、栄養繁殖が継続する。地下茎は「鱗片葉」と呼ばれる、葉鞘と非常に短い葉身からなる葉を持つ(Toriba et al. 2020)。鱗片葉は葉緑体を持たず、硬い葉鞘から構成されており、土壤中を伸長していくのに適した構造となっている。地下茎が地上に出ると、長い葉身をもった地上葉が抽出し、葉緑体を生産し始める(Toriba et al. 2020)。地下にいるうちは硬い鱗片葉に保護されることによって地盤を掘り進むことができ、地上に出たら光合成を行うため葉身を大きく広げていると考えられる。このように地下茎たる性質は腋芽時点から表出しており、地上へ出ていく段階になると、形態的にも生理的にも地上茎へ切り替わると予想される(図2)。

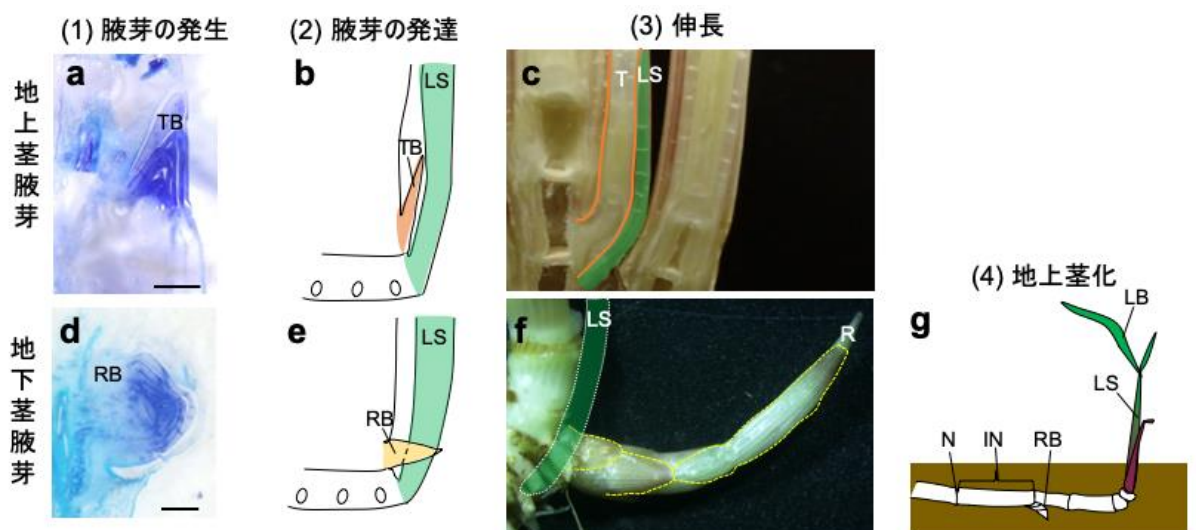


図2. *O. longistaminata*における地上茎および地下茎の発達段階。TB, tiller bud (分蘖芽=地上茎になる腋芽); RB, rhizome bud (地下茎になる腋芽); T, tiller (分蘖=地上茎); R, rhizome (地下茎); N, node (節); IN, internode (節間); LS, leaf sheath (葉鞘); LB, leaf blade (葉身)。地上茎腋芽(a)は、伸長する段階になると主に葉を伸長させ、親株の葉鞘を突き破ることは無い(b, c)。一方、地下茎腋芽(d)は、発達時に親株の葉鞘を突き破り(e)、その後節間伸長によって伸長する(f)。(f)において黄色破線で示しているのが鱗片葉で、葉身はほぼ退化している。その後、地下茎は地上に向かって屈曲し、地上に出た後は葉身を持つ葉を発達させる(g)。地下茎の各節にできる地下茎腋芽が(d-f)のように発達し、栄養繁殖が持続する。

2. 野生イネ*Oryza longistaminata*における遺伝学的研究

前述したように*O. longistaminata*はモデル植物である*O. sativa*との交雑が可能であることから、この2種の交雑後代を用いて地下茎形成に関わる遺伝子座乗領域の同定を試みた研究が複数報告されている。例えば、Huらは*O. longistaminata*と*O. sativa*を交雑したF₂集団を用いたQTL解析*により12本あるイネ染色体のうち、第3染色体と第4染色体上に*O. longistaminata*の地下茎形成に関わる原因遺伝子があると報告している(Hu et al. 2003)。また、同論文においてソルガム野生種の地下茎形成に関わる原因遺伝子座もイネ第3染色体とシンテニー関係にあるソルガム染色体上に座乗していることが示されている。これまでに我々のグループでも*O. longistaminata*と*O. sativa*を交雑したF₂やF₃を用いて地下茎形成に関わるQTL解析を行ったが、上記の第3、第4染色体上のQTLを含む5つ以上のQTLが検出され、またその寄与率は最も大きいものでも11.1%であった(unpublished data)。また、Liらが近年報告した*O. longistaminata*と*O. sativa*のF₂を用いたQTLでも12個のピークが検出されており、その寄与率は最大のもので10.5%であった(Li et al. 2022)。さらに、*O. sativa*と*O. longistaminata*のF₁に*O. sativa*を戻し交雑した1世代目であるBC₁F₁において地下茎を持つ個体の割合が162個体中1個体であったという観察結果もある(Tao et al. 2008)。これらの結果は、地下茎形成は効果の大きい少数の遺伝子座に制御されているのではなく、効果の小さい多数の遺伝子座によって制御されていることを示唆している。

また、これまでに、*O. sativa*遺伝背景に*O. longistaminata*の染色体断片が置換した、染色体部分置換系統群(CSSL, chromosome segment substitution lines)が作出されている(Ogami et al. 2019)。CSSLとは背景親の染色体の一部を供与親の染色体に置き換えたもので、供与親由来の染色体断片の一部が重複するよう連続的に並べられ、全系統群で供与親の染色体全体を網羅するように作出された系統群のことを指す。しかし、*O. sativa*と*O. longistaminata*のCSSLを育成し、地下茎表現型を調査したところ、*O. longistaminata*の各染色体の1部分を持つだけでは地下茎は形成されることが明らかとなった(unpublished data)。この結果は地下茎形成は単一遺伝子座ではなく、複数の遺伝子座によって制御されているという前述の仮説を支持している。また、CSSL同士を交雑することにより、複数の候補QTL領域を*O. longistaminata*型ホモで固定したQTLピラミディング系統を作出したが、4つの候補QTL領域を*O. longistaminata*型ホモで持つ系統においても地下茎形成は確認されなかったことから、地下茎に必要な領域は少なくとも4つ以上存在すると考えられる(unpublished data)。また一方でSacksらが示したように地下茎の形成は環境による影響を受けやすく(Sacks et al. 2006)、栽培環境の違いにより地下茎形成個体の出現頻度に差が生じたことで、研究結果が不安定で複雑なものになった可能性は否定できない。これまで、30年以上にわたって*O. longistaminata*の地下茎形成に関する遺伝学的研究は行われてきたが、未だに原因遺伝子の同定に至っていないことから、地下茎形成には非常に複雑な遺伝機構が存在すると考えられる。

さらに、地下茎形成に関わる遺伝的要因を明らかにする障壁として、稔実した種子を得るのが難しいという点も挙げられる。*O. longistaminata*は地下茎によって栄養繁殖する種であるため、多くの種子は不稔であり、また他個体と交雑する他殖性も高く、稀に得られる少数の種子も遺伝的に均一では無い。イネにおける遺伝子導入やゲノム編集には種子由来のカルス

を利用するが、*O. longistaminata*ではカルス形成や再分化の成功率は極めて低い。このような技術的ボトルネックにより、同定された候補領域に座乗するどの遺伝子が地下茎形成の原因であるのかについては未だ明らかとなっていない。しかし、この数年でイネ野生種の形質転換の成功例も多数報告されており(Sato et al. 2021; Yu et al. 2021; Zhang et al. 2022a), CRISPR/Cas9を用いたゲノム編集も一層勢いを強めている(Xiang et al. 2022; Abdullah et al. 2022)。複数系統の*O. longistaminata*のゲノム情報が明らかになったことも(Reuscher et al. 2018; Li et al. 2020; Kajiya-Kanegae et al. 2021), 地下茎形成の原因遺伝子領域をゲノム比較解析により明らかにする追い風となっている。このような技術や情報の蓄積から、地下茎形成の原因遺伝子が同定される未来はくると期待している。

*QTL解析：Quantitative trait lociの略で、量的形質に影響を与える染色体上の領域を絞り込む解析手法のこと。2系統の交雑後代（F₂以降）の表現型と遺伝子型をデータとして取得し、相互の関連を統計学的に検定する連鎖解析により表現型に寄与する遺伝子領域を絞り込む手法のこと。

3. 地下茎発達における生理学的研究（植物ホルモン、光、栄養）

植物の形態形成を制御する内的要因として植物ホルモンや代謝産物が、外的要因として光や栄養条件が知られている。これまでに報告されている地下茎発達に関わる内的・外的要因について図3にまとめた。

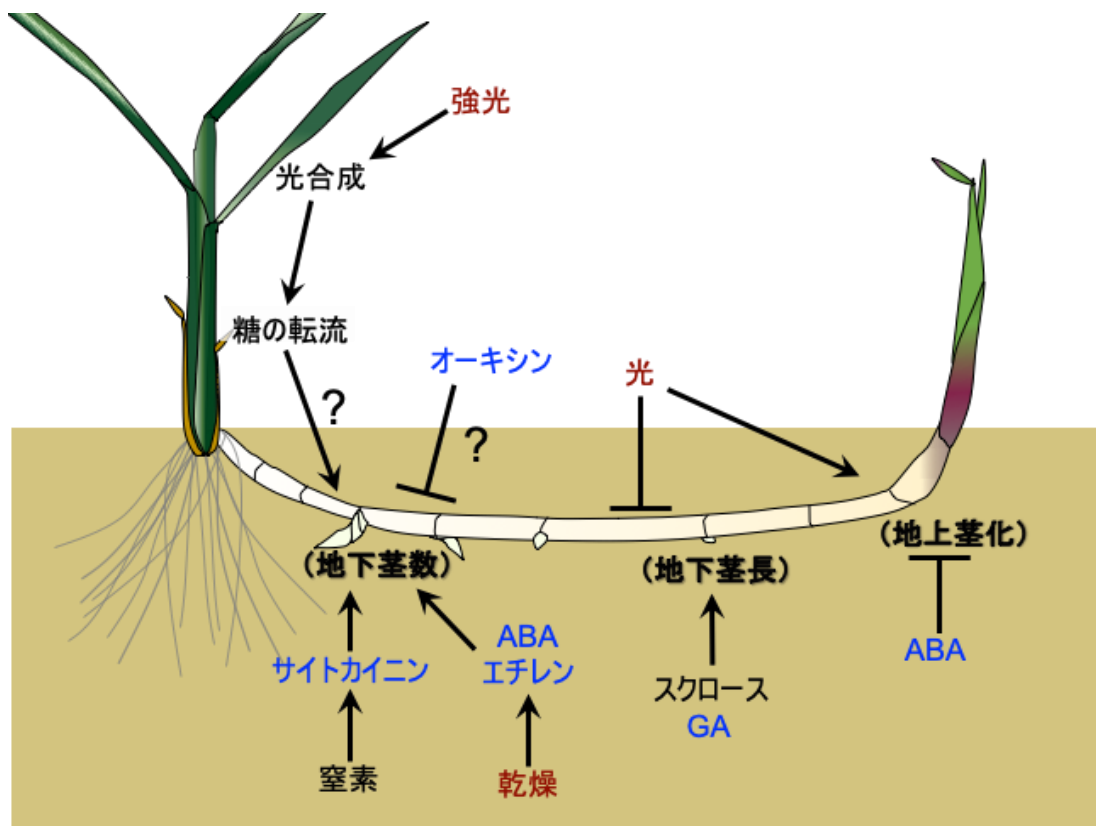


図3. 地下茎発達に関わる内的および外的要因。地下茎の各発達段階における促進および抑

制に関わる要因を図示した。また、仮説としてあるもののまだ実験的に証明されていない要因については(?)として図示した。植物ホルモンは青色、非生物ストレスは赤色で示した。図中のイラストは*O. longistaminata*を示しているが、地下茎発達に関わる要因は複数の地下茎性植物の研究から明らかになったものであり、*O. longistaminata*に限定するものではない。

さまざまな植物種の地下茎発達について、植物ホルモンとの関わりに着目して研究が行われてきた。シバムギ (*Elymus repens*) の地下茎における植物ホルモン内生量を測定した結果、地下茎の伸長段階ではジベレリン (GA) が多く蓄積していること、またサイトカイニン (CK) によって地下茎数は上昇するもののGAは逆に地下茎数を抑制することが報告されている(McDowell and Gang 2013)。芝生種として有名なトールフェスク (*Festuca arundinacea*) では、サイトカイニンの一種であるBAPが地下茎形成を促進し、GAが地下茎の伸長を促進することが報告されている(Ma et al. 2016)。同様の現象は*O. longistaminata*においても観察されており、CK処理によって地下茎数が増加し(Kawai et al. 2022)、GA処理により地下茎の節間伸長が促進される (unpublished data)。また*O. longistaminata*の地下茎形成において、オーキシンは成長抑制因子として働き、GAは促進因子として働くという報告もある(Hu et al. 2011)。*Kohleria eriantha* (イワタバコ科) では、土壌中の水分量が少ない場合には地上茎の発達は抑制され、地下茎の発達は促進される。しかし、逆に土壌中の水分量が多い場合にはそのパターンは逆になる(Almeida et al. 2005)。加えてエチレン阻害剤である硝酸銀の投与により地下茎数は減少し、アブシシン酸 (ABA) の投与により増加することから、乾燥によるABAやエチレンの誘導が*K. eriantha*の地下茎発達に寄与していると予想される(Almeida et al. 2005)。また、地下茎は土壌細菌等に常に囲まれているためか、ヨシ (*Phragmites australis*) の地下茎では病害応答に関わるサリチル酸が高蓄積している(Drzwiecka and Mleczek 2017)。

地下茎は土壌中で発達することから、通常は光が照射されない。しかし、地上で感知した日長のリズムが地下茎発達を制御する例も報告されている。例えば、ハス (*Nelumbo nucifera*) の地下茎であるレンコンにおいては短日条件下で地下茎の肥大が促進され、長日条件下では逆に伸長が促進される(Masuda et al. 2007)。また、地上部に照射する光の強さを弱めると地上茎の数が増え、逆に強めると地下茎の生育を促進する(McIntyre 1970)。では、地下茎に直接光を与えた場合はどうなるだろうか? ナガハグサ (*Poa pratensis*) の地下茎に直接光を3週間当てた場合、地下茎節間の長さは暗黒下のものに比べて有意に短くなり、葉身をもつ葉が増える(Nyahoza et al. 1974)。また、ギョウギシバ (*Cynodon dactylon*) の地下茎に赤色光を照射すると地下茎が地上茎へと変化する(Willemoës et al. 1987)ことから、特定波長の光が地下茎を地上茎化させる鍵になっているとも考えられる。

さらに、地下茎が地上茎へと転換する際に鍵となる因子として、光だけでなくスクロースも重要であることが示されている(Bessho-Uehara et al. 2019)。*O. longistaminata*親株から切除した地下茎にコントロールとして水を与えた処理区およびグルコースやマルトースを与えた処理区では、地下茎はすぐに地上に向かって屈曲するが、スクロースを投与した処理区では

水平方向に伸長を続ける。自然条件下の地下茎においてもスクロースおよびデンプンの濃度勾配は基部から先端にかけて減少することから、スクロースの減少がシグナルとなり、地下茎から地上茎へと変化して自ら光合成を開始するのかもしれない。

McIntyreは土壌の栄養条件や温度によってもその発達は変化すると述べている(McIntyre 1967)。土壌中に窒素化合物が十分にある場合には*O. longistaminata*の地下茎腋芽の発達が促進されて地下茎数が増加するが、これは窒素供給によりCK合成が促進されるためだとされている(Shibasaki et al. 2021)。また、空間的に不均一な窒素栄養条件に晒された場合には、窒素が不足する側のラメット（親株と地下茎で繋がってはいるものの、独立して光合成を行う植物体）からシグナル因子であるCEP1タンパク質が地下茎を介して移動し、窒素が豊富な側のラメットでより多くの窒素を吸収・同化することが、近年明らかとなった(Kawai et al. 2022)。このことは、栄養豊富な土壌にあるラメットの成長を優先させることで、群落として不均一な窒素栄養環境に巧みに応答しながら成長することを示唆している。

これらの生理学的解析により植物ホルモンや光、栄養といった複数の要因が複雑に作用し、地下茎発達に影響を与えるということが明らかとなってきた。

4. 地下茎発達に関するオミクス研究（ゲノム、トランスクリプトーム、プロテオーム、メタボローム）

シーケンシング技術や分析技術の隆盛により、非モデル植物においてもゲノム解読や網羅的遺伝子発現解析（トランスクリプトーム解析）、プロテオーム解析、メタボローム解析が行われるようになり、その数は日々増加している。例えば、*O. longistaminata*のトランスクリプトーム解析により、地下茎特異的にGA合成酵素の発現やオーキシン応答遺伝子群の発現が上昇することが報告されている(Hu et al. 2011)。また、ソルガムの野生種である*Sorghum halepense*の地下茎先端にはGA反応に関わるシス調節因子が多く発現し(Jang et al. 2006)、別のソルガム野生種である*S. propinquum*の地下茎節間部にはCK応答因子が高発現している(Zhang et al. 2014)。ヨシ（*P. australis*）の地下茎先端部では、ABAやエチレンの代謝および応答に関わる遺伝子が多数高発現している(He et al. 2012)。これらは上述した植物ホルモンの蓄積パターンとも一致する部分があり、特にGAやCKは地下茎発達において重要な役割を果たしていると考えられる。また、両ソルガム野生種の地下茎先端部では、転写または翻訳後調節遺伝子の発現が増加しており(Zhang et al. 2014)、*O. longistaminata*の地下茎先端では、AP2, bHLH, NAM, TCP, YABBYファミリーなどの転写因子が特異的に発現していること(Hu et al. 2011)から、多くの遺伝子群が網羅的に発現変動していることがうかがえる。

*O. longistaminata*のゲノムは2015年に解読され(Zhang et al. 2015)、2018年にはより高精度なゲノムが公開された(Reuscher et al. 2018)。*O. longistaminata*のゲノムサイズは約360 Mbであり、*O. sativa*のゲノムサイズ（約380 Mb）とほぼ変わらないが、ゲノムの約40%がリピート配列であることが明らかとなった。2018年以前のトランスクリプトーム解析は*O. sativa*のゲノム配列にマッピングされることが多かったが、地下茎を作る原因遺伝子領域は*O. longistaminata*のみが持つ遺伝子かもしれない。そう考えると今後は*O. longistaminata*のゲノム

をトランスクリプトーム解析時の参照配列とすることで、これまでに見つかっていない *O. longistaminata* 特異的な地下茎関連遺伝子の発現変動を捉えることができると期待される。

トクサ (*Equisetum hyemale*) の地下茎を用いたプロテオーム解析の結果、地下茎の先端領域と伸長領域では異なるタンパク質が検出され、先端領域ではRNA結合タンパク質、アシルキャリアタンパク質、KHドメインタンパク質が、伸長領域ではホスホマンノムターゼ、ガラクトマンナン-ガラクトシルトランスフェラーゼ、エンドグルカナーゼなど糖代謝関連酵素が高蓄積していることが明らかとなった(Balbuena et al. 2012)。また、*O. longistaminata* を含む6種の地下茎性植物を用いたプロテオーム解析の結果によると、全ての植物種の地下茎先端および伸長領域両方において60Sリボソームタンパク質、26Sプロテアーゼ制御タンパク質、プロリンの異性を触媒する酵素FKBP62などが高蓄積していることが報告されている(Salvato et al. 2015)。これらの結果とトランスクリプトームの結果を合わせて考えると、地下茎先端や伸長領域では転写翻訳が活発に起きていることがうかがえる。

また、メタボローム解析の結果によると、タケの地下茎組織にはフルクトース、スクロース、グルコース-1-リン酸などの糖類や、アスパラギン、グルタミン、メチオニンなどのアミノ酸が蓄積していることが明らかになった(He et al. 2014)。また、デンプン枝切り酵素、トレハロース6-リン酸合成酵素、 β -グルコシダーゼといった糖代謝酵素が成長したタケの地下茎に多く含まれていたことから(Wang et al. 2010)、タケ地下茎成長時にはこれらの糖が重要な働きをしていると考えられる。この結果は *O. longistaminata* 地下茎が地下で成長し続けるためにスクロースが重要であるという知見と共通するよう見受けられる(Bessho-Uehara et al. 2019)。

このようにマルチオミクス解析の結果を照合することで、地下茎発達を現場で支える下流遺伝子やホルモン、代謝産物のダイナミクスがわかりつつある。

5. 地下茎発達および多年生に関する分子機構

地上茎と地下茎における発達の分子メカニズムはどの程度共通しているのだろうか? 近年、地上茎、地下茎ともに葉形態の変化に *BOPI* という遺伝子が重要な働きをしていることが明らかとなった(Toriba et al. 2019; Toriba et al. 2020)。*BOPI* 遺伝子はイネ葉鞘において強く発現し、葉身を作る段階になるとその発現は消失する(Toriba et al. 2019)。すなわち、イネ地上茎での *BOPI* の発現は1葉齢(葉鞘からなり、葉身がほとんど発達しない葉)に限定されている。しかし、*O. longistaminata* の地下茎においてはその発現時期が延長され、地上茎へと転換するまでは *BOPI* が高発現したままであることが示された(Toriba et al. 2020)。このため、地下茎に着生する葉は葉鞘のみの固い鱗片葉であり続け、固い地盤中を伸長することができると考えられる。また、*BOPI* が地下茎において高発現しているのは *microRNA156*

(*miR156*) が常に高発現しているためということも同時に示されており、*miR156-BOPI* の遺伝子発現パターンの変化が新規形態の獲得に繋がったことが示唆された(図4a)。さらにToribaら(2020)は地下茎を持つ *O. longistaminata* と *O. sativa* のF₂を用いることによって形質転

換に成功し、*BOP1*と地下茎鱗片葉の形態変化との関係を実験的に証明している(Toriba et al. 2020)。野生イネである*O. longistaminata*を直接形質転換することは難しいものの、*O. sativa*との交雑後代を用いることでその障壁を突破した好例といえる。

ジャガイモの塊茎は*miR172*によって誘導されることが知られている(Martin et al. 2009)。また、*miR156*を過剰発現させたジャガイモでは*miR172*の発現量が減少し、形成される塊茎の数量が減少する(Bhogale et al. 2014)。多くの植物種において*miR172*は生殖成長期の、*miR156*は栄養成長期のマーカーとして機能することが示されており、この2つのmiRNAはアンチパラレルな発現パターンを示す(Wu et al. 2009)。また、一般的に*miR172*の発現が上昇することで花成スイッチの抑制が外れ、花芽形成が促進される(Zhu and Helliwell 2011)。ジャガイモの塊茎に話を戻すと、花成を促進する鍵因子である*Flowering locus T (FT)*のパラログ、*StSP6a*が塊茎を誘導することが示されている(Teo et al. 2016)。これらの結果を合わせて考えると、塊茎形成は*miR156*によって抑制され、*miR172*と*FT*パラログによって促進される(図4b)、すなわち栄養成長と生殖成長を制御する鍵因子群の拮抗作用により塊茎形成が調節されていると言い換えることができる。

また、イチゴの匍匐枝は地上にできる茎だが、地面と水平に伸長し栄養繁殖に貢献するという点で地下茎と共通する。二倍体イチゴ(*Fragaria vesca*)の匍匐枝形成においては*GA20ox4*というGA合成遺伝子の発現上昇が重要であり、匍匐枝の成長と反比例して花の成長は抑制される(Tenreira et al. 2017)。また、*Terminal Flower 1 (TFL1)*は*FT*と同じファミリーに属する遺伝子だが、その機能は逆に花成を抑制する。*TFL1*の変異体イチゴはWTに比べて花の数が増加し、逆に匍匐枝の数が減少するが、GAを処理することにより匍匐枝の数が増え逆に花が減るという結果もある(Guttridge and Thompson 1964)(図4c)。すなわち、生殖成長に寄与する花をつける茎と、栄養成長に寄与する匍匐枝になる茎はどちらも腋芽に由来し、その数は一個体の中でバランスを取るよう制御されていると言える。さらに、イチゴのGA生合成の調節には日長が関与しており、GA量の蓄積と腋芽の相転換が日長に依存して変化することが示されている(Tenreira et al. 2017)。

地下茎性植物ではないが、*Cardamine flexuosa*という多年生のアブラナ科植物では、地上部が花を咲かせている、すなわち生殖成長に移行している時期においても、地際に近い腋芽では*miR156*を強く発現させることで腋芽を栄養成長状態で維持し、花が枯れたあとはすぐに腋芽を発達させ、多年生草本として生活するということが知られている(Zhou et al. 2013)(図4d)。このようなmiRNAを介した栄養成長期の維持機構は、栄養繁殖性植物と多年生植物とで共通しているのかもしれない。

地下茎と地上茎は、生育環境が大気中と土壌中という違いから光、酸素濃度、病虫害など、大きく異なる生物学的および非生物的要因にさらされており、その発達制御機構は一部共通しつつも、内的な遺伝子動態は大きく異なると予想される。実際、コンロンソウ

(*Cardamine leucantha*) 地下茎の遺伝子発現は、地上部(茎頂部分・葉)と根の中間的なパターンであるということが示されている(Araki et al. 2020)。さらに、植物個体内で栄養成長と生殖成長のバランスをとる過程で、栄養生殖器官である地下茎や匍匐茎の発達・成長が制

御されるということも明らかとなってきた。これらの結果を合わせて考えると、地下茎の発達制御機構を議論する際には、地上茎との比較や長期的なタイムスパンでの観察が重要な鍵となるであろう。また、種を超えて地下茎発達（および多年生）に関わる共通因子としてmiRNAや花成関連因子が浮かび上がってきた（図4）。アスパラガス属においては側枝で葉の発生に関わる遺伝子群が転用されることにより仮葉枝と呼ばれる葉状の器官が発達すること(Nakayama et al. 2012)からも、遺伝子の転用が栄養繁殖器官の発達に寄与している可能性は十分にある。今後、種を超えた地下茎比較研究を行うことで、地下茎発達に関わる新規遺伝子や新規の遺伝子転用が見つかるかもしれない。

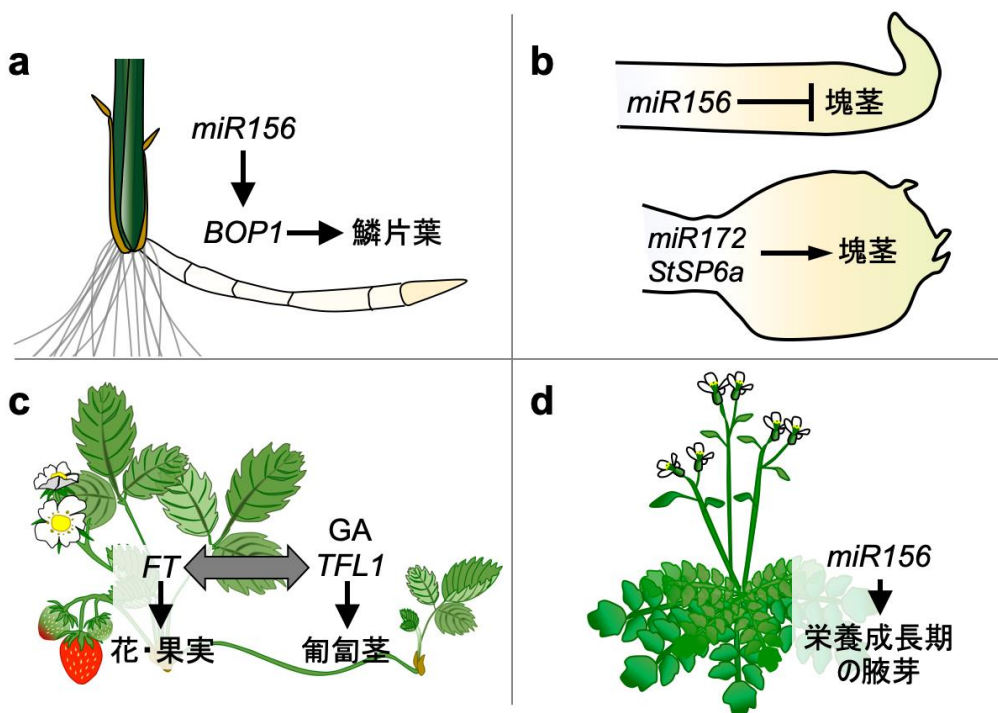


図4. 栄養繁殖器官の発達および多年生に関わるmiRNAや花成因子を介した栄養成長期の維持機構。

(a) *O. longistaminata* 地下茎の発達とmiRNAの関わり。(b) ジャガイモ塊茎発達に関わるmiRNAとFTパラログの*StSP6a*。(c) 2倍体イチゴ*Fragaria vesca* 匍匐枝発達に関わる因子。(d) 多年生植物*Cardamine flexuosa*におけるmiR156を介した栄養成長状態の腋芽の維持。

6. 地下茎で増えるイネの将来展望

イネといえば3大穀物の1つであるが、地下茎で増えるイネは農業に役立つのだろうか？

地下茎で増殖する植物はタケやシバに代表されるように、駆除の難しい雑草というイメージがあるかもしれない。なぜなら地下茎には沢山の腋芽があり、その殆どは休眠状態だが、地上部の刈り込みなどによって休眠が打破されれば、地下茎として伸長し増殖するからだ。また、タケの地下茎が人家の床下を掘り進み、家を破壊するなど、人間にとっては不利益を

もたらすような報道もある。しかし、これら地下茎は栄養繁殖という性質と多年生という性質を併せもつ。現在の農業においては、より少ない資源での作物生産や土壌の健全状態の維持が課題とされており、作物の多年生化はその解決策の1つとして重要視されてきた。昨年、*O. sativa*と*O. longistaminata*の交雑後代において、短い地下茎を持ち、多年生の形質を維持しつつも種子収量を維持した系統（多年生イネ）が報告された(Zhang et al. 2022b)。毎年田植えの必要がある一年生イネでは、田植えのたびに労力が必要であったのに対し、多年生イネは一度田植えをすれば、出穂・登熟した種子（を含む地上茎）を刈り取ることで地下茎腋芽から新たな地上茎が成長し、再度田植えをする必要がなく、4年間で8回連続の収穫が可能であった。また、面積あたりの収量は、一年生イネでは平均 6.7 Mg/ha、多年生イネでは平均 6.8 Mg/haであった。このことは多年生イネを植えることによって、農家の労働力を削減しつつ、収量は維持・向上できることを示している。一方この論文の中でZhangらは、多年生イネを選抜する過程で花粉稔性や結実率の高いものを選抜していくと、地下茎の数は減少し、地下茎の長さは短くなることを報告している(Zhang et al. 2022b)。項目5でも触れたように、一個体の中で栄養成長に寄与する器官と生殖成長に寄与する器官の間にはトレードオフが存在し、多年生イネではそのバランスがギリギリ保たれていると見なせる。そのため、種子を収穫する作物種においては、栄養成長に寄与する器官の発達には種子の収量減少につながるとして、地下茎を導入するような試みはこれまであまりなされてこなかった。しかし、Zhangらの研究により収量と地下茎性、ひいては多年生の維持が可能であることが示された。まだ一報のみの報告ではあるが、この論文を皮切りに多くの作物の地下茎化および多年生化による収量増産（もしくは維持）の報告が相次げば、地下茎を利用した新しい多年生作物による農業革新が起きるかもしれない。

地下茎形成は複雑な分子機構によって制御されていると考えられ、それを紐解くことは容易ではない。しかし、地下茎形成に関わる遺伝子を明らかにすることは植物の発生と進化に関する基礎知識を向上させるだけでなく、植物に多年生形質を付与し、生産性を高められる可能性がある。ゲノム解析やオミクス解析にあわせて、形質転換系の確立を行うことで、栄養繁殖形質に関わる形態形成、発達、生理、生態に関わる分子レベルでの研究が発展することが期待される。

謝辞

本稿に述べた研究の一部は平成25年度～平成30年度において科学技術振興機構、戦略的創造研究推進事業（CREST）「二酸化炭素資源化を目指した植物の物質生産力強化と生産物活用のための基盤技術の創出」における研究課題「作物の地下茎による栄養繁殖化に向けた基盤技術の開発（芦荻基行代表）」に支援していただき、達成することができた。CRESTメンバーとの議論を通じて、多くの着想や課題解決に至ったことから、ここに感謝の意を表す。また、遺伝学的解析においては山本英司博士、古田智敬博士、丹羽千紘修士の多大なるお力添えをいただいた。本稿の作成にあたっては芦荻基行博士、別所-上原学博士から多くのコメントをいただいた。この場を借りて、心より感謝申し上げる。

引用文献

- Abdullah M, Okemo P, Furtado A, Henry R (2022) Potential of Genome Editing to Capture Diversity From Australian Wild Rice Relatives. *Front Genome Ed* 4:875243. doi.org/10.3389/fgeed.2022.875243
- Almeida JAS de, Kascheres C, Pereira M de FDA (2005) Ethylene and abscisic acid in the control of development of the rhizome of *Kohleria eriantha* (Benth.) Hanst. (Gesneriaceae). *Braz J Plant Physiol* 17:391–399. doi.org/10.1590/S1677-04202005000400007
- Araki KS, Nagano AJ, Nakano RT, et al (2020) Characterization of rhizome transcriptome and identification of a rhizomatous ER body in the clonal plant *Cardamine leucantha*. *Sci Rep* 10:13291. doi.org/10.1038/s41598-020-69941-9
- Balbuena TS, He R, Salvato F, et al (2012) Large-Scale Proteome Comparative Analysis of Developing Rhizomes of the Ancient Vascular Plant *Equisetum Hyemale*. *Front Plant Sci* 3:. doi.org/10.3389/fpls.2012.00131
- Bessho-Uehara K, Nugroho JE, Kondo H, et al (2019) Correction to: Sucrose affects the developmental transition of rhizomes in *Oryza longistaminata*. *J Plant Res* 132:569–569. doi.org/10.1007/s10265-019-01112-y
- Bhogale S, Mahajan AS, Natarajan B, et al (2014) *MicroRNA156*: A Potential Graft-Transmissible MicroRNA That Modulates Plant Architecture and Tuberization in *Solanum tuberosum* ssp. *andigena*. *Plant Physiology* 164:1011–1027. doi.org/10.1104/pp.113.230714
- Drzewiecka K, Mleczek M (2017) Salicylic acid accumulation as a result of Cu, Zn, Cd and Pb interactions in common reed (*Phragmites australis*) growing in natural ecosystems. *Acta Physiol Plant* 39:182. doi.org/10.1007/s11738-017-2480-z
- Guttridge CG, Thompson PA (1964) The Effect of Gibberellins on Growth and Flowering of *Fragaria* and *Duchesnea*. *J Exp Bot* 15:631–646. doi.org/10.1093/jxb/15.3.631
- He R, Kim M-J, Nelson W, et al (2012) Next-generation sequencing-based transcriptomic and proteomic analysis of the common reed, *Phragmites australis* (Poaceae), reveals genes involved in invasiveness and rhizome specificity. *American Journal of Botany* 99:232–247. doi.org/10.3732/ajb.1100429
- He R, Salvato F, Park J-J, et al (2014) A systems-wide comparison of red rice (*Oryza longistaminata*) tissues identifies rhizome specific genes and proteins that are targets for cultivated rice improvement. *BMC Plant Biol* 14:46. doi.org/10.1186/1471-2229-14-46
- Higashiyama T, Yabe S, Sasaki N, et al (2001) Pollen Tube Attraction by the Synergid Cell. *Science* 293:1480–1483. doi.org/10.1126/science.1062429
- Hu F, Wang D, Zhao X, et al (2011) Identification of rhizome-specific genes by genome-wide differential expression Analysis in *Oryza longistaminata*. *BMC Plant Biol* 11:18. doi.org/10.1186/1471-2229-11-18

- Hu FY, Tao DY, Sacks E, et al (2003) Convergent evolution of perenniality in rice and sorghum. Proc Natl Acad Sci USA 100:4050–4054. doi.org/10.1073/pnas.0630531100
- Jang CS, Kamps TL, Skinner DN, et al (2006) Functional Classification, Genomic Organization, Putatively cis-Acting Regulatory Elements, and Relationship to Quantitative Trait Loci, of Sorghum Genes with Rhizome-Enriched Expression. Plant Physiol 142:1148–1159. doi.org/10.1104/pp.106.082891
- Kajiya-Kanegae H, Ohyanagi H, Ebata T, et al (2021) OryzaGenome2.1: Database of Diverse Genotypes in Wild Oryza Species. Rice 14:24. doi.org/10.1186/s12284-021-00468-x
- Kawai M, Tabata R, Ohashi M, et al (2022) Regulation of ammonium acquisition and use in *Oryza longistaminata* ramets under nitrogen source heterogeneity. Plant Physiology kiac025. doi.org/10.1093/plphys/kiac025
- Li W, Zhang Q, Zhu T, et al (2020) Draft genomes of two outcrossing wild rice, *Oryza rufipogon* and *O. longistaminata*, reveal genomic features associated with mating-system evolution. Plant Direct 4:. doi.org/10.1002/pld3.232
- Li W, Zhang S, Huang G, et al (2022) A Genetic Network Underlying Rhizome Development in *Oryza longistaminata*. Front Plant Sci 13:866165. doi.org/10.3389/fpls.2022.866165
- Ma X, Xu Q, Meyer WA, Huang B (2016) Hormone regulation of rhizome development in tall fescue (*Festuca arundinacea*) associated with proteomic changes controlling respiratory and amino acid metabolism. Ann Bot 118:481–494. doi.org/10.1093/aob/mcw120
- Martin A, Adam H, Díaz-Mendoza M, et al (2009) Graft-transmissible induction of potato tuberization by the microRNA *miR172*. Development 136:2873–2881. doi.org/10.1242/dev.031658
- Masuda J, Ozaki Y, Okubo H (2007) Rhizome transition to storage organ is under phytochrome control in lotus (*Nelumbo nucifera*). Planta 226:909–915. doi.org/10.1007/s00425-007-0536-9
- McDowell ET, Gang DR (2013) A Dynamic Model for Phytohormone Control of Rhizome Growth and Development. In: Gang DR (ed) Phytochemicals, Plant Growth, and the Environment. Springer New York, New York, NY, pp 143–165
- McIntyre GI (1967) ENVIRONMENTAL CONTROL OF BUD AND RHIZOME DEVELOPMENT IN THE SEEDLING OF *AGROPYRON REPENS* L. BEAUV. Can J Bot 45:1315–1326. doi.org/10.1139/b67-139
- McIntyre GI (1970) Studies on bud development in the rhizome of *Agropyron repens*. 1. The influence of temperature, light intensity, and bud position on the pattern of development. Can J Bot 48:1903–1909. doi.org/10.1139/b70-279
- Nakayama H, Yamaguchi T, Tsukaya H (2012) Acquisition and Diversification of Cladodes: Leaf-Like Organs in the Genus *Asparagus*. Plant Cell 24:929–940. doi.org/10.1105/tpc.111.092924
- Nyahoza F, Marshall C, Sagar GR (1974) Some aspects of the physiology of the rhizomes of *Poa pratensis* L. Weed Res 14:329–336. doi.org/10.1111/j.1365-3180.1974.tb01070.x

- Ogami T, Yasui H, Yoshimura A, Yamagata Y (2019) Identification of Anther Length QTL and Construction of Chromosome Segment Substitution Lines of *Oryza longistaminata*. *Plants* 8:388. doi.org/10.3390/plants8100388
- Okuda S, Tsutsui H, Shiina K, et al (2009) Defensin-like polypeptide LUREs are pollen tube attractants secreted from synergid cells. *Nature* 458:357–361. doi.org/10.1038/nature07882
- Reuscher S, Furuta T, Bessho-Uehara K, et al (2018) Assembling the genome of the African wild rice *Oryza longistaminata* by exploiting synteny in closely related *Oryza* species. *Commun Biol* 1:162. doi.org/10.1038/s42003-018-0171-y
- Sacks EJ, Dhanapala MP, Tao DY, et al (2006) Breeding for perennial growth and fertility in an *Oryza sativa*/*O. longistaminata* population. *Field Crops Research* 95:39–48. doi.org/10.1016/j.fcr.2005.01.021
- Salvato F, Balbuena TS, Nelson W, et al (2015) Comparative Proteomic Analysis of Developing Rhizomes of the Ancient Vascular Plant *Equisetum hyemale* and Different Monocot Species. *J Proteome Res* 14:1779–1791. doi.org/10.1021/pr501157w
- Sato Y, Tsuda K, Yamagata Y, et al (2021) Collection, preservation and distribution of *Oryza* genetic resources by the National Bioresource Project RICE (NBRP-RICE). *Breed Sci* 71:291–298. doi.org/10.1270/jsbbs.21005
- Shibasaki K, Takebayashi A, Makita N, et al (2021) Nitrogen Nutrition Promotes Rhizome Bud Outgrowth via Regulation of Cytokinin Biosynthesis Genes and an *Oryza longistaminata* Ortholog of FINE CULM 1. *Front Plant Sci* 12:670101. doi.org/10.3389/fpls.2021.670101
- Susaki D, Izumi R, Oi T, et al (2022) F-actin regulates the polarized secretion of pollen tube attractants in *Arabidopsis* synergid cells. *The Plant Cell* koac371. doi.org/10.1093/plcell/koac371
- Takeuchi H, Higashiyama T (2016) Tip-localized receptors control pollen tube growth and LURE sensing in *Arabidopsis*. *Nature* 531:245–248. doi.org/10.1038/nature17413
- Tao D, Hu F, Yang Y, et al (2008) A rhizomatous individual obtained from interspecific BC₁F₁ progenies between *Oryza sativa* and *O. longistaminata*. pp 151–152
- Tenreira T, Lange MJP, Lange T, et al (2017) A Specific Gibberellin 20-Oxidase Dictates the Flowering-Runnering Decision in Diploid Strawberry. *Plant Cell* 29:2168–2182. doi.org/10.1105/tpc.16.00949
- Teo C-J, Takahashi K, Shimizu K, et al (2016) Potato Tuber Induction is Regulated by Interactions Between Components of a Tubergen Complex. *Plant Cell Physiol* pcw197. doi.org/10.1093/pcp/pcw197
- Toriba T, Tokunaga H, Nagasawa K, et al (2020) Suppression of Leaf Blade Development by BLADE-ON-PETIOLE Orthologs Is a Common Strategy for Underground Rhizome Growth. *Current Biology* 30:509-516.e3. doi.org/10.1016/j.cub.2019.11.055

- Toriba T, Tokunaga H, Shiga T, et al (2019) BLADE-ON-PETIOLE genes temporally and developmentally regulate the sheath to blade ratio of rice leaves. *Nat Commun* 10:619. doi.org/10.1038/s41467-019-08479-5
- Wang K, Peng H, Lin E, et al (2010) Identification of genes related to the development of bamboo rhizome bud. *Journal of Experimental Botany* 61:551–561. doi.org/10.1093/jxb/erp334
- Willemoës JG, Beltrano J, Montaldi ER (1987) Stolon differentiation in *Cynodon dactylon* (L.) pers. mediated by phytochrome. *Environmental and Experimental Botany* 27:15–20. doi.org/10.1016/0098-8472(87)90051-7
- Wu G, Park MY, Conway SR, et al (2009) The Sequential Action of miR156 and miR172 Regulates Developmental Timing in *Arabidopsis*. *Cell* 138:750–759. doi.org/10.1016/j.cell.2009.06.031
- Xiang Z, Chen Y, Chen Y, et al (2022) Agrobacterium-Mediated High-Efficiency Genetic Transformation and Genome Editing of Chaling Common Wild Rice (*Oryza rufipogon* Griff.) Using Scutellum Tissue of Embryos in Mature Seeds. *Front Plant Sci* 13:849666. doi.org/10.3389/fpls.2022.849666
- Yoshida A, Terada Y, Toriba T, et al (2016) Analysis of Rhizome Development in *Oryza longistaminata*, a Wild Rice Species. *Plant Cell Physiol* 57:2213–2220. doi.org/10.1093/pcp/pcw138
- Yu H, Lin T, Meng X, et al (2021) A route to de novo domestication of wild allotetraploid rice. *Cell* 184:1156–1170.e14. doi.org/10.1016/j.cell.2021.01.013
- Zhang J, Zeng P, Yu H, et al (2022a) Protocol for genome editing in wild allotetraploid rice *Oryza alta*. *STAR Protocols* 3:101789. doi.org/10.1016/j.xpro.2022.101789
- Zhang S, Huang G, Zhang Y, et al (2022b) Sustained productivity and agronomic potential of perennial rice. *Nat Sustain* 6:28–38. doi.org/10.1038/s41893-022-00997-3
- Zhang T, Zhao X, Wang W, et al (2014) Deep transcriptome sequencing of rhizome and aerial-shoot in *Sorghum propinquum*. *Plant Mol Biol* 84:315–327. doi.org/10.1007/s11103-013-0135-z
- Zhang Y, Zhang S, Liu H, et al (2015) Genome and Comparative Transcriptomics of African Wild Rice *Oryza longistaminata* Provide Insights into Molecular Mechanism of Rhizomatousness and Self-Incompatibility. *Molecular Plant* 8:1683–1686. doi.org/10.1016/j.molp.2015.08.006
- Zhou C-M, Zhang T-Q, Wang X, et al (2013) Molecular Basis of Age-Dependent Vernalization in *Cardamine flexuosa*. *Science* 340:1097–1100. doi.org/10.1126/science.1234340
- Zhu Q-H, Helliwell CA (2011) Regulation of flowering time and floral patterning by miR172. *Journal of Experimental Botany* 62:487–495. doi.org/10.1093/jxb/erq295

熱帯作物キャッサバの塊根形成メカニズムの解明と分子育種研究

内海 好規¹, 関 原明^{1,2,3}

¹理化学研究所 環境資源科学研究センター
〒230-0045 神奈川県横浜市鶴見区末広町1丁目7番22号

²理化学研究所 開拓研究本部
〒351-0198 埼玉県和光市広沢2-1

³横浜市立大学 木原生物学研究所
〒244-0813 横浜市戸塚区舞岡町641-12

Mechanisms of Tuberos Root Development and Molecular Breeding in a Tropical Crop “Cassava”

Yoshinori Utsumi¹, Motoaki Seki^{1,2,3}

¹Center for Sustainable Resource Science, RIKEN, 1-7-22 Suehiro, Tsurumi, Yokohama, Kanagawa 230-0045, Japan

²Cluster for Pioneering Research, RIKEN
2-1 Hirosawa, Wako, Saitama, 351-0198, Japan

³Kihara Institute for Biological Research, Yokohama City University, 641-12 Maioka-cho, Totsuka-ku, Yokohama, Kanagawa 244-0813 Japan

Keywords: cassava, tuberous root, starch, transformation, molecular breeding

DOI: 10.24480/bsj-review.14b3.00244

1. はじめに

ジャガイモ、サツマイモ、ハス、イモ類、鱗茎類などの植物は有性生殖の他に茎、根から次世代の植物を無性的に形成して繁殖する栄養繁殖を行う。茎、根は栄養素の貯蔵器官となって栄養繁殖を支えている。貯蔵器官を形成できる植物は多様性に富み、独特な方法で貯蔵器官を形成する。ジャガイモ塊茎の場合、地下の茎から、ストロンという茎が地上部近くをはって伸びる。ジャガイモはこのストロンの先が太ったものである。キャッサバやサツマイモの場合、通常の根（細く白い根）が、塊根へと変化する。貯蔵器官では次世代の初期成長の栄養分として澱粉などを貯蔵し、人類は貯蔵器官を栄養源として消費している。一方、土壤中に貯蔵器官を形成するため、その形成機構に関して、十分に研究されていない。本稿では、栄養繁殖性の植物である熱帯作物キャッサバを使って、根の貯蔵器官である塊根の形成メカニズム、形質転換系や新規澱粉開発に関する研究について紹介する。

2. キャッサバについて

キャッサバ (*Manihot esculenta* Crantz) はキントラノオ目トウダイグサ科イモノキ属に分類される。その起源は古く、4,000年前から南米アンデス地域で栽培され、16世紀ごろアメリカ、19世紀にインド南部、20世紀に東南アジアにまで伝搬された。キャッサバの葉は飼

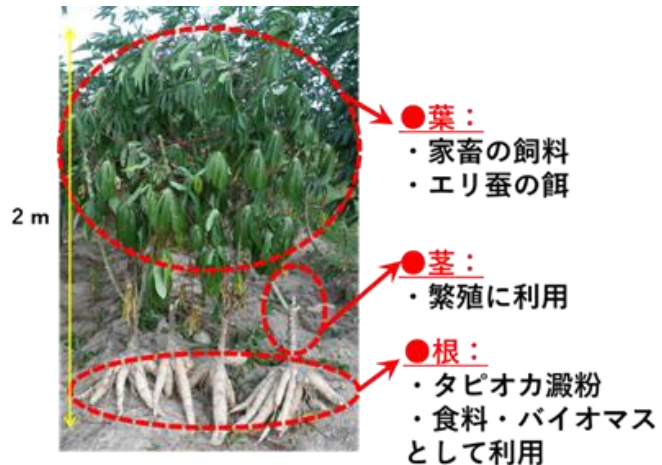
料として、茎は挿し木として栽培に利用される。根では塊根が形成され、塊根中には生重量当たり 20~30%の澱粉を蓄積する (図 1)。

キャッサバの栽培は比較的容易で、他の作物にとって育ちにくい土地でも一定の収穫を得られ、他作物との混作や輪作も行われ、熱帯作物として有利な特性を備えている。現在、キャッサバはアフリカおよびアジアの熱帯、亜熱帯地域で広く栽培されている。キャッサバは食料安全保障上重要な位置づけにあるばかりでなく、澱粉産業を中心に原材料として地域経済を大きく担っている。日本にもキャッサバ澱粉は多く輸入され、食料品や工業材料として利用されている。日本にとっても産業上不可欠な作物である。このようにキャッサバは気候変動下で熱帯地域の食糧安全保障やバイオマスエネルギー利用などの気候変動緩和策の観点から昨今特にその重要性が高まっている (内海ら 2022)。

キャッサバのゲノム情報は研究を推進するうえで骨幹となる部分であるが、現在、キャッサバの推定ゲノムサイズは 770.3Mbp (Hu et al. 2021) であり、コンティグにアラインされた塩基長は約 637.1Mbp である。タンパク質をコードする遺伝子数は 32,858 個あり、キャッサバ EST の 95.7% がキャッサバゲノム情報 version 8 にマッピングされている (<http://www.phytozome.net/>)。一方で、キャッサバは高いヘテロ接合性ゲノムを有しており、例えば、遺伝子配列 1 kb あたり 3.4–3.8 個の SNP のバリエーションをもつ (Wang et al. 2014)。生命科学研究・イノベーションの基盤となるキャッサバ遺伝資源について、コロンビアのカリに本部を置く Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) が南米やアジア由来のキャッサバ 6,492 系統 (2023 年 2 月) を管理している。またアフリカのナイジェリア、イバダンに本部を置く、International Institute of Tropical Agriculture (IITA) がアフリカ由来のキャッサバ 4,359 系統を管理している。キャッサバ遺伝資源は食料・農業植物遺伝資源条約標準素材移転契約 (sMTA) を介して、組織培養植物の形でやり取りすれば、比較的容易に入手できる。

3. キャッサバ形質転換系の開発

高いヘテロ接合性ゲノムを有するキャッサバにとって、有用遺伝子を直接形質転換する分子生物学的技術はキャッサバ品種開発の迅速化を図る上で最も重要な技術といえる。また近年のゲノム編集技術の出現により、この技術の重要性はさらに高まっている。キャッサバの形質転換技術で最も汎用性のある方法として、小粒状の胚形成カルス (Friable Embryogenic Callus ; FEC) を介する方法が知られている。キャッサバの脇芽または小葉をオーキシン存



- 生育：
・肥料なしでも育つ
・悪環境下(乾燥地、貧栄養土壌等)でも育成可能

図 1 キャッサバは食糧安全保障や貧困削減などの地球規模課題に貢献する重要な澱粉資源作物である。

在下で培養して、Somatic embryo (SE) を誘導し、さらに SE を培養して FEC を得る。FEC とアグロバクテリウムを、アセトシリンゴンを含む培地上で共存培養後、過剰のアグロバクテリウムを極力除去し、ハイグロマイシン存在下で培養する。選抜された FEC から植物体を再分化させ、形質転換株を得る (Taylor et al. 2004 ; Bull et al. 2009; Utsumi et al. 2017) 。形質転換に用いるキャッサバ系統として、FEC が誘導でき、再分化効率もよいアフリカ由来のキャッサバ品種を中心に形質転換法の開発が進んでいる (Zainuddin et al. 2012 ; Chetty et al. 2013 ; Alfred et al. 2014 ; Nyaboga et al. 2015) 。しかし、FEC 形成能および再分化能に品種間差異があり、特に東南アジアの優良キャッサバ品種を用いた形質転換技術は開発されていなかった。アジアの優良キャッサバ品種の場合、FEC 形成能が低いことが問題であった。窒素の総量や硝酸態窒素とアンモニア態窒素の比率はカルスの成長、シュートと根の器官形成、胚形成、シュートの増殖など、さまざまな生理的影響を与える (George and Klerk 2008) ことが知られており、我々は Murashige and Skoog 培地 (Murashige and Skoog 1962) に含まれる主要栄養素と微量栄養素を一つずつ減らしながら、FEC 誘導効率を検討した。その結果、培地中の主要栄養素である窒素 (硝酸態窒素とアンモニア態窒素) ・リン酸・カリウムの量を制限して、エネルギー生産を改善するためビタミン B1 を過剰に加えた培地上で FEC 誘導効率が最も高くなった (Utsumi et al. 2017) 。我々はこの培地を用いて、東南アジアで最も栽培されている優良キャッサバ品種 KU50 から FEC を効率よく誘導することができ、世界に先駆けて形質転換体の作成にも成功した (図 2) (Utsumi et al. 2022a) 。

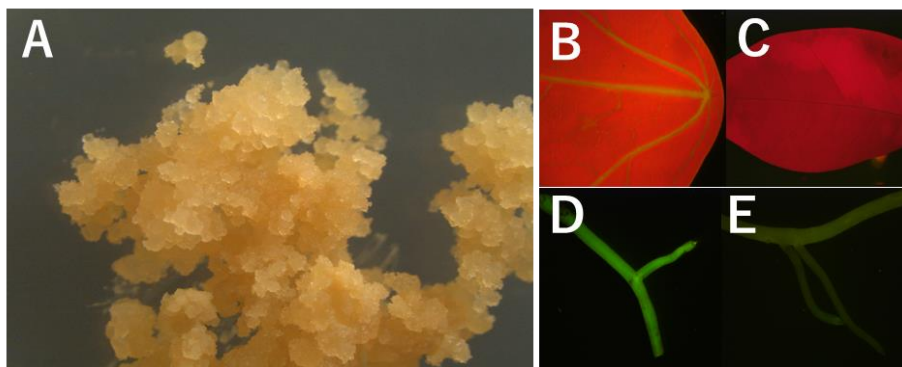


図 2 KU50 形質転換体の GFP 蛍光観察

- A 東南アジアのキャッサバ品種 KU50 から誘導した FEC
- B 形質転換植物の葉, GFP 蛍光がみられた
- C 非形質転換植物の葉, GFP 蛍光は観察されない
- D 形質転換植物の根, GFP 蛍光がみられた
- E 非形質転換植物の根, GFP 蛍光は観察されない

4. キャッサバ塊根形成

ジャガイモ塊茎やキャッサバ塊根を含め貯蔵器官形成の誘導のタイミングや貯蔵器官のサイズは収量に影響を与える重要な農業形質の一つであり、これまでジャガイモを中心に貯蔵器官形成に関する研究が進んできた。ジャガイモの場合、環境条件や植物の代謝状態の変化に伴い、地上部の信号を介して塊茎形成が誘導される。その後、細胞の再構築、拡大成長、

貯蔵物質の蓄積等が生じる (Zierer et al. 2021)。一方、キャッサバやサツマイモのような塊根形成に関する情報はジャガイモ塊茎形成と比較して少なく、貯蔵器官の誘導・発達のメカニズムを包括的に理解する必要がある。ジャガイモ塊茎形成に関するこれまでの報告と比較しながら、この項ではキャッサバ塊根形成の初期過程や塊根形成過程の分子機構についてこれまでの知見を整理して議論した。

塊根形成過程の分子機構を明らかにするため、タイの圃場で栽培されたキャッサバ塊根を塊根の直径をもとに区分けし、植物ホルモン、代謝物の変化を通常の根と比較した。植え付け後 8 週目や 12 週目のキャッサバから様々なサイズの塊根が得られる (図 3)。ここでは、塊根になる前の直径 1 mm 以下の

根、直径 1~5mm の塊根、直径 5mm 以上の塊根と大まかに 3 つの区分に分けた (図 3)。

植え付け後 4 週目に収穫した根には塊根がないため、通常の根とした (Utsumi et al. 2022b)。代謝物一斉分析の結果、植え付け後 8 週目や 12 週目から得られた全ての試料で澱粉が蓄積していた (図 4A)。また、澱粉代謝の基質となるグルコース-6-リン酸、ショ糖、ウリジルニリン酸グルコースが、通常の根と比較して増加しており、塊根の直径の大小にかかわらず、澱粉合成が活性化されていた (Utsumi et al. 2022b)。植物ホルモンの量を測定した結果、全ての試料で活性型サイトカイニン (CK) (トランスゼアチン型 [tZ] とイソペンテニルアデニン型 [iP]) の量が通常の根と比較して増加していた。直径 1mm より大きい塊根中のオーキシシン (IAA) 量が通常の根と比較して微増した。また、直径 1mm より大きい塊根中のアスパラギン酸結合型オーキシシン (IAAsp) の量が大幅に減少した。また、直径 1mm 以下の根ではアブシジン酸 (ABA) の量が通常の根と比較して増加していた (図 4B)。

植物ホルモン解析結果と塊根形成との関係性を明らかにするため、キャッサバ無菌栽培の実験系を用いて植物ホルモン処理を行った。キャッサバ無菌栽培の根に、人工サイトカイニンの 6-ベンジルアミノプリン (BAP) と人工オーキシシンのナフタレン酢酸 (NAA) で処理すると、根が肥大する (図 5A)。この性質を利用して、BAP と NAA 処理時に、サリチル酸 (SA), JA, ABA, IAAsp を添加して、根の肥大性を評価した。その結果、植物ホルモン解析結果と同様、BAP と NAA 処理により組織培養の根が肥大するのに対して、BAP と NAA 存在下で ABA, IAAsp, JA 処理により根の肥大が阻害された (図 5B)。これらの結果、キャッサバ塊根形成には、CK や IAA が主要な役割を果たし、IAAsp, ABA, JA の一定レベル以上の蓄積が塊根形成を抑制していると考えられた (Utsumi et al. 2022b) (図 5C)。

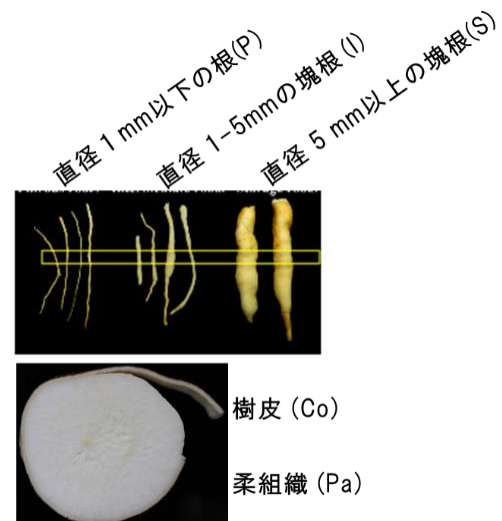


図 3 本研究に用いたキャッサバの根

直径 1 mm 以下の根 (P), 直径 1~5mm の塊根 (I), 直径 5mm 以上 (S)に分画した。また直径 1~5mm と直径 5mm 以上の塊根をさらに樹皮 (Co)と柔組織 (Pa)に分画した。

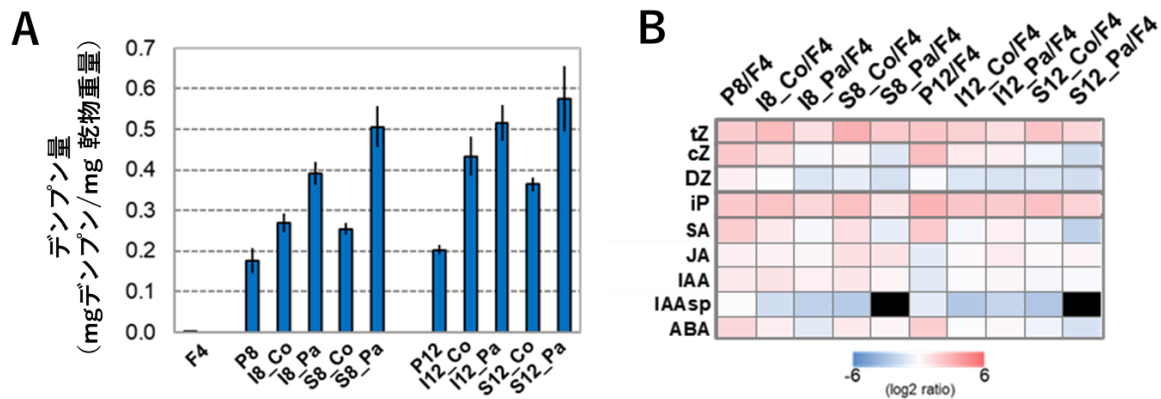


図4 塊根中のデンブレン含有量と植物ホルモンの分析

A 塊根試料中のデンブレン含有量を測定した結果、塊根試料のデンブレン含有量は塊根の直径に関わらず通常の根 (F4)と比較して増加していた。

B 塊根試料中の植物ホルモンを分析して、通常の根 (F4)と比較した。本図では、活性型サイトカイニン (tZ, cZ, DZ, iP), サリチル酸 (SA), ジヤスモン酸 (JA), オーキシシン (IAA), アスパラギン酸結合型オーキシシン (IAA_{sp}), アブシジン酸 (ABA)を示した。全ての塊根試料中で tZ と iP 型サイトカイニン量が増加した。一方、直径 1~5mm と直径 5mm 以上の塊根中の IAA_{sp} 量が減少した。直径 1mm 以下の根 (P) の ABA 量が増加した。

塊根形成過程の成り立ちについて要約すると、キャッサバの生育過程で最初は細く長い根であるが、未知のシグナルを受けて、CK や IAA の作用により、維管束形成層の活動で生じた細胞から二次的な形成層ができ、柔組織が肥大成長して、細胞増殖を繰り返してさらに肥大していく。これが塊根になると考えている。一方、肥大成長を始めた根のうち、いくつかは肥大成長を止めてしまう。すべての根が塊根へと変化しないように ABA, IAA_{sp}, JA のような作用により根の肥大成長にブレーキをかけていると思われる。

ジャガイモ塊茎形成過程での植物ホルモンの作用に関して、CK と IAA はキャッサバ塊根形成と同様、塊茎形成に主要な役割を果たす (Kolachevskaya et al. 2015; Kolachevskaya et al. 2017)。ツベロン酸をはじめとする多くの JA 類が塊茎形成誘導活性を持つことが報告されている (Koda et al. 1991, Pelacho and Mingo-Castel 1991)。他の報告では、JA は濃度に応じて、塊茎形成に対して促進または阻害の双方の効果をもつようである (Abdala et al. 2002)。ジベレリン (GA) は塊茎初期過程に主要な役割を果たすとされている (Bou-Torrent et al. 2011; Kloosterman et al. 2007)。ABA は、比較的低いシヨ糖濃度下で組織培養植物由来の塊茎の生産を増加させる (Xu et al. 1998)。ジャガイモの場合、ABA や JA は塊茎形成に対してポジティブな作用をもつが、キャッサバ塊根形成に対してネガティブな作用をもつ (Utsumi et al. 2022b)。

塊根を誘導する分子機構に関して、未知の因子が細長い根から塊根への変化を誘導すると考えられるが、キャッサバ塊根形成を誘導する未知の因子はまだ分かっていない。ジャガイモ塊茎形成の誘導因子について、Florigen (FT) 用ホモログの *SELF-PRUNING 6A* (*SP6A*)

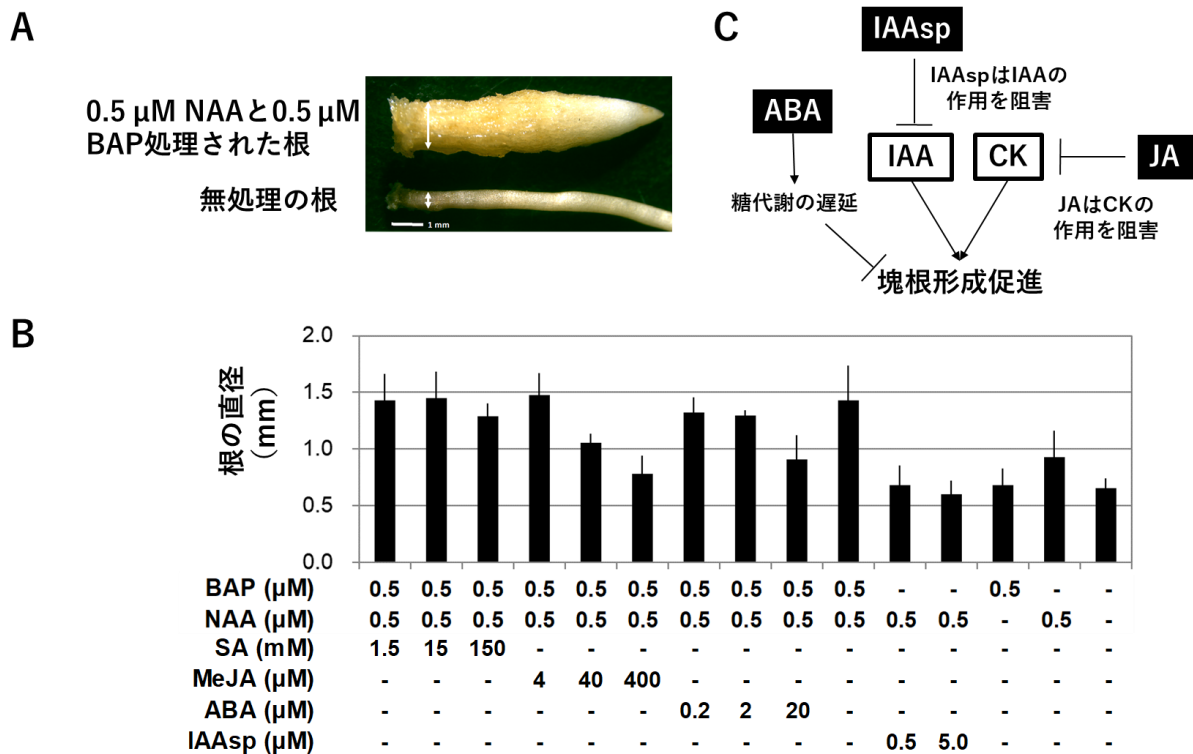


図5 無菌栽培の実験系による塊根形成実験

A 無菌栽培の実験系により植物ホルモンの影響を評価した。例えば、キャッサバ組織培養植物の根に6-ベンジルアミノプリン (BAP, 人工のサイトカイニン) とナフタレン酢酸 (NAA, 人工のオーキシシン) 処理すると根が肥大する。

B 無菌栽培の実験系を用いて、植物ホルモン処理による根の肥大への影響を解析した。BAP と NAA の存在下で、JA や ABA 処理により、根の肥大が阻害された。高濃度の SA 処理は根の肥大に影響を示さなかった。また、NAA と IAAAsp 処理により根の肥大性が NAA 単独の処理のものと比較して阻害された。

C 塊根形成時の植物ホルモンの相互作用モデル。IAA と CK が塊根形成を促進する。しかし、JA と IAAAsp は CK と IAA の作用を阻害する。一方、ABA 処理により糖代謝の遅延が生じて、結果として、塊根形成が阻害されると考えられた。

が知られている (Navarro et al. 2011)。ジャガイモ *Andigena* 品種のようなアンデス原産の野生のジャガイモ品種は短日条件下で塊茎を発達させる。短日条件のもと、SP6A 遺伝子の発現が葉で誘導され、SP6A タンパク質が地上部からストロン先端へ移動し、塊茎形成を誘導する (Navarro et al. 2011)。SP6A による塊茎誘導の分子メカニズムも調査され (Suárez-López et al. 2013, Navarro et al. 2015), 一つの例として、光受容体の phytochrome B (phyB) は長日シグナルに応答して、塊茎形成を抑制する (Jackson et al. 1998)。SP6A は 14-3-3 タンパク質や FD タンパク質 StFDL1 とタンパク質複合体を形成し、ジャガイモの塊茎形成を活性化させると考えられている (Teo et al. 2016)。一方、アンデス地域に起源をもつキャッサバの塊根形成も短日条件下で促進され、夜間中断により塊根形成が阻害される (Utsumi et al. 作成中)。キャッサバにも FT ホモログが存在するが、キャッサバ由来 FT 遺

伝子過剰発現キャッサバ系統の開花が促進され、塊根収量は減少することが分かった (Odipto et al. 2020)。キャッサバ塊根形成もジャガイモ塊茎形成のように日長依存的に制御されているのだが、その分子機構に関して、今後のさらなる研究が必要である。

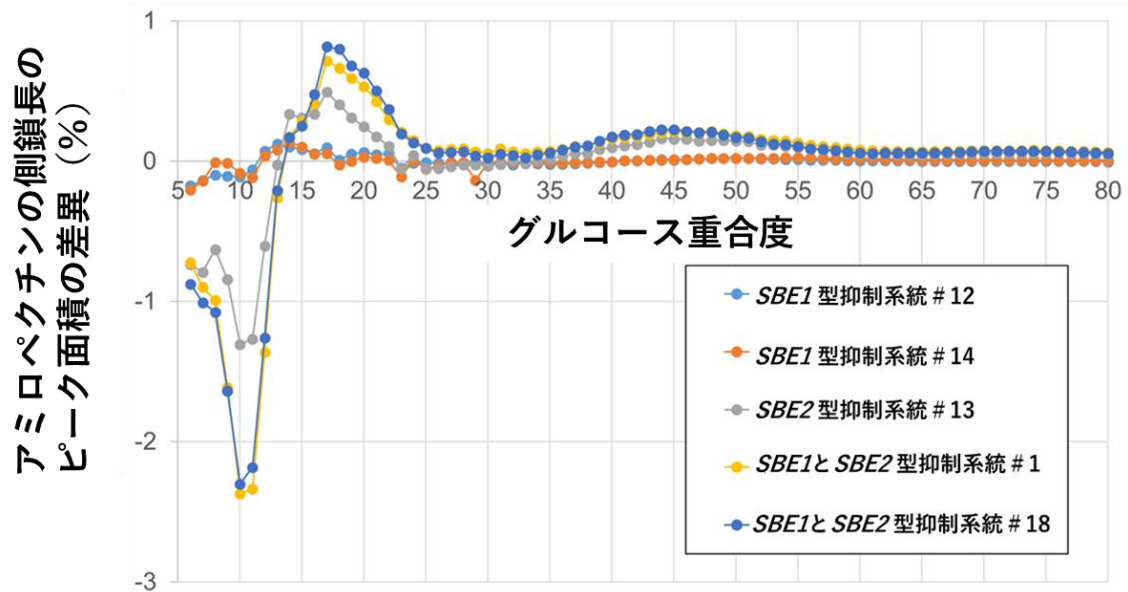


図6 野生株と抑制系統のアミロペクチンの側鎖長分布の差異

野生株のアミロペクチンの側鎖長分布を SBE 抑制系統と比較した。SBE2 遺伝子抑制系統や SBE1 と SBE2 遺伝子抑制系統のグルコース重合度 6-12 の短鎖の割合が野生株と比較して著しく減少した。

5. キャッサバ塊根中の澱粉生合成

塊根中の主要な産物は澱粉である。塊根生重量当たり、20~30%の澱粉が塊根中で合成される。キャッサバ澱粉の高いもちもち性は日本で好まれているが、澱粉の性質は植物起原により大きく異なっており、植物種ごとに解析を進める必要がある。産業上重要な位置にあるキャッサバ澱粉特性を改変し、ユニークな物性をもつ澱粉を作製することで、新素材として加工適性の幅が広がり、産業利用の幅も同時に広がることが期待される (中村 2006)。澱粉はアミロースとアミロペクチンという二種類のグルコースポリマーが密にパッキングされたものである。アミロースは澱粉粒結合型澱粉合成酵素 granule bound starch synthase (GBSS) により合成される。GBSS の機能を失うと、モチ性のキャッサバ澱粉になる (Seki et al. 2018)。一方、アミロペクチンは少なくとも澱粉枝づくり酵素 starch branching enzyme (SBE) ・澱粉合成酵素 starch synthase (SS) ・澱粉枝切り酵素 starch debranching enzyme (SDBE) から構築される。SBE はアミロペクチンの α -1,6-グルコシド結合の形成に関与し、SBE 遺伝子は 1 型と 2 型に分類される。遺伝子発現解析から、塊根中では SBE1 型、SBE2a 型、SBE2c 型の遺伝子が発現していることが分かった (Utsumi et al. 2022c)。上記に述べた遺伝子組換え技術により、これら SBE 遺伝子をそれぞれ個別に抑制したキャッサバ系統、および SBE 遺伝子全てを抑制したキャッサバ系統を作製し、その澱粉形質を評価した。すると、SBE1 型を抑制した系統の澱粉形質は野生株と変わらないが、SBE2 型を抑制した系統の

アミロース含有量は野生株よりも増加し、アミロペクチンの鎖長分布は大きく変化した (図 6)。塊根で発現する *SBE* 遺伝子すべてを抑制することにより、高アミロースキャッサバ澱粉となり、難消化性澱粉含有量が野生株の約 63 倍まで増加することが分かった (Utsumi et al. 2022c)。難消化性澱粉には、血糖応答性およびインスリン応答性の改善、腸機能の改善などといった生理作用が知られている。本研究成果は、生活の質や疾病リスクを低減する機能性食品の素材開発に向けたキャッサバ分子育種研究に貢献できると考えている。一方で、これら系統の塊根収量は野生株と比べて低く、塊根形成と澱粉生合成のトレードオフを知る上でも、重要な材料である。

6. 今後の展望

貯蔵組織形成の研究は、遺伝的な材料とハイスループットな系を併せ持つジャガイモのような植物を中心に精力的に行われてきた。我々はキャッサバ形質転換系の開発をはじめ、キャッサバ塊根誘導条件の解明と人工的な塊根形成系の確立、塊根形成時の植物ホルモン相互作用、さらには、キャッサバの塊根形成の日長依存性の解明等の知見を得てきた (Utsumi et al. 作成中)。また、キャッサバとジャガイモの貯蔵器官形成に共通する点と相違点を理解することも重要である。植物ホルモンの作用に関して、ABA や JA の作用がジャガイモ塊茎形成とキャッサバ塊根形成で異なることを明らかにした。近年の解析から、ジャガイモ花成と塊茎形成にはトレードオフの関係性を持つことが報告された (Plantenga et al. 2019)。キャッサバ *FT* 過剰発現による塊根形成への負の影響のこと (Odipio et al. 2020)、キャッサバの花成形成が塊根形成を阻害するような環境ストレス条件下で誘導することを考慮に入れると (Behnam et al. 2022; Tokunaga et al. 2022)、キャッサバ塊根形成と花成の関係性を明らかにする必要性も感じている。今後、塊根形成に基づくキャッサバ遺伝資源探索や遺伝資源のゲノムワイド関連解析による遺伝子探索、見つけた遺伝子の機能評価を迅速に行うためのハイスループットな形質転換系の開発や塊根となる根の可視化 (塊根になる根を特異的に採取するため) といった課題をクリアに出来れば、キャッサバにおける塊根の早熟性・肥大性に関わる遺伝子の同定につながると期待される。この研究成果を起点としてさらに研究が進展することで、効率的な塊根収量増産に向けた技術開発が可能になると考えられる。またキャッサバ澱粉開発から、社会還元型の研究へと変換できるゲームチェンジャーとなる分子育種技術の開発に見通しが立ってきたといえる。キャッサバ澱粉は日本国内でも他の澱粉と比較しても今後ますますその経済的利点や将来予想される気候変動の中で、重要性が高まると予想され、海外だけでなく国内のアカデミア機関や民間企業との研究分野横断型の産学官連携も重要である。研究活動を通して、持続可能な開発目標 (SDGs) の地球規模的課題への貢献を目指したい。

謝辞

本稿を執筆するにあたり Departamento de Genética Molecular de Plantas, Centro Nacional de Biotecnología の Salomé Prat 教授から貴重な助言を頂きました。この場を借りて感謝申し上げます。本稿の執筆の機会を与えて下さったオーガナイザーの皆様、及び日本植物学会、電子

出版物編集委員の皆様には深く感謝いたします。本稿で紹介した著者らの研究は JST e-ASIA 共同研究プログラム, 科学研究費助成事業, JST EIG CONCERT-Japan (JPMJSC16C4), JST/JICA SATREPS (JPMJSA1508), 理化学研究所 環境資源科学研究センターの助成を受けて行われました。

引用文献

- Abdala G, Castro G, Miersch O, Pearce D. (2002) Changes in jasmonate and gibberellin levels during development of potato plants (*Solanum tuberosum*). *Plant Growth Regul* 36: 121–126.
- Alfred OU, Ena M. (2014) Somatic embryogenesis in two Nigerian cassava cultivars (Sandpaper and TMS 60444). *J Evol Biol Res* 6: 9–12.
- 内海好規, 徳永浩樹, 石谷学, 関原明 (2022) *アグリバイオ* 6: 28–32.
- Behnam B, Higo A, Yamaguchi K, Tokunaga H, Utsumi Y, Selvaraj MG, Seki M, Ishitani M, Ceballos H, Lopez-Lavalle LAB et al. (2022) Correction to: Field-transcriptome analyses reveal developmental transitions during flowering in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Plant Mol Biol* 109 : 823-823.
- Bou-Torrent J, Martinez-Garcia JF, Garcia-Martinez JL, Prat S. (2011) Gibberellin A1 metabolism contributes to the control of photoperiod-mediated tuberization in potato. *PLoS ONE* 6: e24458
- Bull SE, Owiti JA, Niklaus M, Beeching JR, Gruissem W, Van-derschuren H. (2009) Agrobacterium-mediated transformation of friable embryogenic calli and regeneration of transgenic cassava. *Nat Protocl* 4: 1845–1854.
- Chetty CC, Rossin CB, Gruissem W, Vanderschuren H, Rey MEC. (2013) Empowering biotechnology in southern Africa: establishment of a robust transformation platform for the production of transgenic industry-preferred cassava. *N Biotechnol* 30: 136–143.
- George EF, de Klerk G-J. (2008) The components of plant tissue culture media I: macro- and micro-nutrients. In *Plant propagation by tissue culture 3rd edition*. Edited by: George EF, Hall MA, de Klerk G-J. Dordrecht, The Netherlands: Springer: 65–113.
- Hu W, Ji C, Shi H, Liang Z, Ding Z, Ye J, Ou W, Zhou G, Tie W, Yan Y et al. (2021) Allele-defined genome reveals biallelic differentiation during cassava evolution. *Mol Plant* 14:851–854.
- Jackson SD, James P, Prat S, Thomas B. (1998) Phytochrome B Affects the Levels of a Graft-Transmissible Signal Involved in Tuberization. *Plant Physiol* 117: 29–32.
- Kloosterman B, Navarro C, Bijsterbosch G, Lange T, Prat S, Visser RG, Bachem CW. (2007) StGA2ox1 is induced prior to stolon swelling and controls GA levels during potato tuber development. *Plant J* 52: 362–373.
- Koda Y, Kikuta Y, Tazaki H, Tsujino Y, Sakamura S, Yoshihara T. (1991) Potato tuber-inducing activities of jasmonic acid and related compounds. *Phytochem* 30: 1435–1438.
- Kolachevskaya OO, Alekseeva VV, Sergeeva LI, Rukavtsova EB, Getman IA, Vreugdenhil D, Buryanov YI, Romanov GA. (2015) Expression of auxin synthesis gene *tms1* under control of tuber-specific promoter enhances potato tuberization in vitro. *J Integr Plant Biol* 57: 734–744.

- Kolachevskaya OO, Sergeeva LI, Floková K, Getman IA, Lomin SN, Alekseeva VV, Rukavtsova EB, Buryanov YI, Romanov GA. (2017) Auxin synthesis gene *tms1* driven by tuber-specific promoter alters hormonal status of transgenic potato plants and their responses to exogenous phytohormones. *Plant Cell Rep* 36: 419–435.
- Murashige T, Skoog FK. (1962). A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15: 473–497.
- 中村保典 (2006) デンプンメタボリックエンジニアリング. *化学と生物* 44 : 155-162.
- Navarro C, Abelenda JA, Cruz-Oro E, Cuéllar CA, Tamaki S, Silva J, Shimamoto K, Prat S. (2011) Control of flowering and storage organ formation in potato by FLOWERING LOCUS T. *Nature* 478: 119–122.
- Navarro C, Cruz-Oro E, Prat S. (2015) Conserved function of FLOWERING LOCUS T (FT) homologues as signals for storage organ differentiation. *Curr. Opin. Plant Biol* 23: 45–53.
- Nyaboga EN, Njiru JM, Tripathi L. (2015) Factors influencing somatic embryogenesis, regeneration, and Agrobacterium-mediated transformation of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) cultivar TME14. *Front Plant Sci* 6: 411.
- Odipto J, Getu B, Chauhan RD, Alicai T, Bart R, Nusinow DA, Taylor NJ. (2020) Transgenic overexpression of endogenous FLOWERING LOCUS T-like gene MeFT1 produces early flowering in cassava. *PLoS ONE* 15: e0227199.
- Pelacho AM, Mingo-Castel AM. (1991) Jasmonic acid induces tuberization of potato stolons cultured in vitro. *Plant Physiol* 97: 1253–1255.
- Plantenga FDM, Bergonzi S, Abelenda JA, Bachem CWB, Visser RGF, Heuvelink E, Marcelis LFM. (2019) The tuberization signal StSP6A represses flower bud development in potato. *J Exp Bot* 70: 937–948.
- Seki M, Tokunaga H, Utsumi C, Okamoto Y, Moriya E, Vu TA, Sakamoto A, Takei Y, Sakurai T, Endo M, et al. (2018) Advancement of Asian Cassava Molecular Breeding towards SDGs. Proceedings of the 18th Science Council of Asia (SCA) Conference "Role of Science for Society: Strategies towards SDGs in Asia", Dec. 5-7, 2018, Tokyo, Japan, Theme 10, 6.
- Suárez-López P. (2013) A critical appraisal of phloem-mobile signals involved in tuber induction. *Front Plant Sci*. 4: 253.
- Taylor N, Chavarriaga P, Raemakers K, Siritunga D, Zhang P. (2004) Development and application of transgenic technologies in cassava. *Plant Mol Biol* 56: 671–688.
- Teo C-J, Takahashi K, Shimizu K, Shimamoto K, Taoka K-i. (2016) Potato Tuber Induction is Regulated by Interactions Between Components of a Tuberigen Complex. *Plant Cell Physiol* 58: 365–374.
- Tokunaga H, Quynh DTN, Anh NH, Nhan PT, Matsui A, Takahashi S, Tanaka M, Anh NM, Van Dong N, Ham LH et al. (2022) Field transcriptome analysis reveals a molecular mechanism for cassava-flowering in a mountainous environment in Southeast Asia. *Plant Mol Biol* 109: 233-248.

- Utsumi Y, Utsumi C, Tanaka M, Ha VT, Matsui A, Takahashi S, Seki M. (2017) Formation of friable embryogenic callus in cassava is enhanced under conditions of reduced nitrate, potassium and phosphate. *PLoS ONE* 12: e0180736.
- Utsumi Y, Utsumi C, Tanaka M, Okamoto Y, Takahashi S, Huong TT, Nguyen AV, Van Dong N, Tokunaga H, Taylor N et al. (2022a) *Agrobacterium*-mediated cassava transformation for the Asian elite variety KU50. *Plant Mol Biol* 109: 271–282.
- Utsumi Y, Tanaka M, Utsumi C, Takahashi S, Matsui A, Fukushima A, Kobayashi M, Sasaki R, Oikawa A, Kusano M et al. (2022b) Integrative omics approaches revealed a crosstalk among phytohormones during tuberous root development in cassava. *Plant Mol Biol* 109: 249–269.
- Utsumi Y, Utsumi C, Tanaka M, Takahashi S, Okamoto Y, Ono M, Nakamura Y, Seki M (2022c). Suppressed expression of starch branching enzyme 1 and 2 increases resistant starch and amylose content and modifies amylopectin structure in cassava. *Plant Mol Biol* 108: 413–427.
- Wang W, Feng B, Xiao J, Xia Z, Zhou X, Li P, Zhang W, Wang Y, Møller BL, Zhang P et al. (2014) Cassava genome from a wild ancestor to cultivated varieties. *Nat Commun* 5: 5110.
- Xu X, van Lammeren AAM, Vermeer E, Vreugdenhil D (1998) The role of gibberellin, abscisic acid, and sucrose in the regulation of potato tuber formation *in vitro*. *Plant Physiol* 117:575–584.
- Zainuddin IM, Schlegel K, Gruissem W, Vanderschuren H. (2012) Robust transformation procedure for the production of transgenic farmer-preferred cassava landraces. *Plant methods* 8: 24.
- Zierer W, Rüscher D, Sonnewald U, Sonnewald S. (2021) Tuber and Tuberous Root Development. *Annu Rev Plant Biol* 72: 551–580.

ゼニゴケの脅威の繁殖力を支える分子基盤

酒井 友希, 石崎 公庸

神戸大学大学院理学研究科
〒657-8501 兵庫県神戸市六甲台町 1-1

Molecular bases for the vegetative reproduction in a bryophyte *Marchantia polymorpha*

Yuuki Sakai and Kimitsune Ishizaki

Graduate School of Science, Kobe University
1-1 Rokkodai-cho, Kobe, Hyogo, 657-8501, Japan

Keywords: clonal plant, Bryophyte, *Marchantia polymorpha*, vegetative reproduction, regeneration,

DOI: 10.24480/bsj-review.14b4.00245

1. はじめに

コケ植物苔類ゼニゴケ (*Marchantia polymorpha*) の繁殖力は強く、庭園で繁茂して園芸家に嫌われるほどである。ゼニゴケがこのように旺盛に繁殖できるのは栄養繁殖性植物であるところが大きい。ゼニゴケの植物体は扁平な葉状体でその上に杯状体とよばれる器官を持つ。杯状体の中ではクローン個体である無性芽が大量につくられ、これが雨などによって周囲に散布されると遺伝的に同一の個体が大量に増殖する。さらに、ゼニゴケは再生能力も高く、特別な処理をしなくても葉状体の小さな断片から個体全体が再生される。こうした植物体断片からの再生も栄養繁殖の一形態である。近年、栄養繁殖器官である杯状体の形成を制御している因子が複数明らかにされた。興味深いことに、杯状体形成過程と葉状体の再生の過程とで共通した因子が機能していることも明らかになりつつある。本稿では、こうしたゼニゴケの栄養繁殖とそのメカニズムについて概説する。

2. ゼニゴケ *Marchantia polymorpha*

2-1. 実験生物としてのゼニゴケ

ゼニゴケは北半球を中心として世界中に広く分布し、日本でもごく一般的に植え込みや庭のすみで見つけることができる (図1)。また、中学校の理科の教科書に苔類の例として取り上げられるなど、身近な植物の一つである。ゼニゴケは古くより植物の研究対象として形態学的、解剖学的な観察がなされてきた。19世紀初頭には、非常に緻密なスケッチとともに生活環を通じた形態の変化や



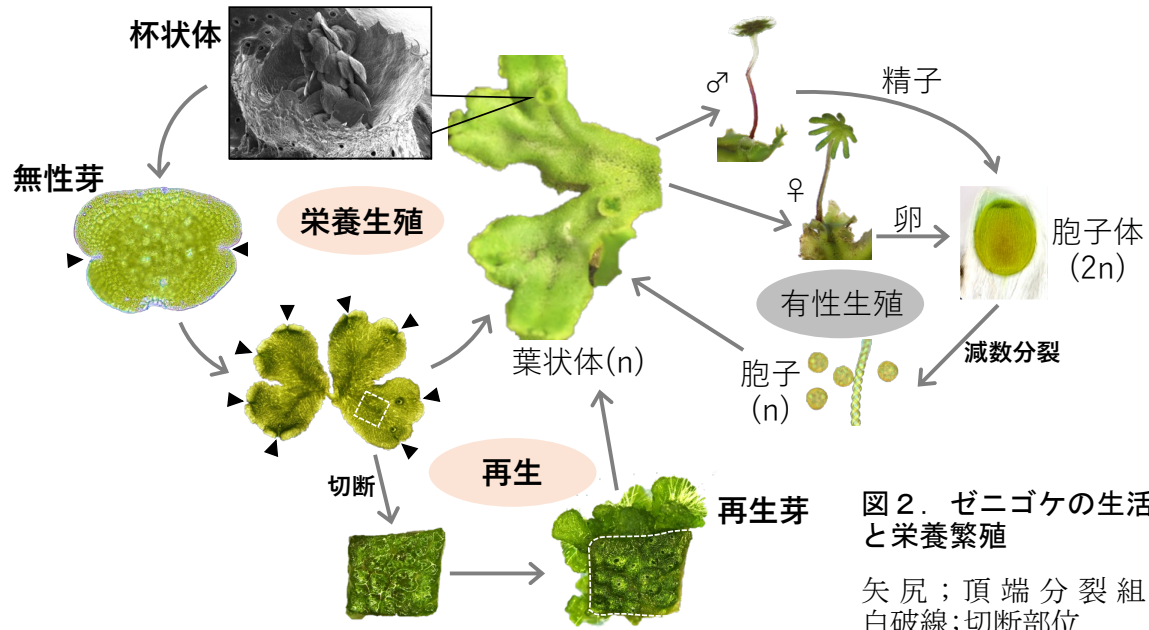
図1. 街中でみられるゼニゴケの群落
民家前の植え込みにできたメス株の群落。
著者撮影, 大阪府。

植物体を構成する各器官について記載されている (Kny 1890)。1986年にはタバコとともに葉緑体の全ゲノム配列が解読されたことでも有名である (Ohyama et al. 1986; Shinozaki et al. 1986)。近年、アグロバクテリウムを利用した形質転換法が確立され、相同組み替えによる遺伝子ターゲティング・CRISPR/Cas9法によるゲノム編集・マイクロRNAを用いた遺伝子発現抑制などのアプローチが可能となった (Ishizaki et al. 2008; 2013; Sugano et al. 2018; Flores-Sandoval et al. 2016)。形質転換体の選抜に必須の薬剤耐性マーカーを複数利用可能な種々のバイナリーベクターも整備されている (Ishizaki et al. 2015)。古典的な固定-樹脂包埋による切片作成法、免疫染色などの手法に加え、*in situ* ハイブリダイゼーションや組織透明化法も適用できることが報告され、様々なアプローチによる研究が可能である (Brown and Lemmon 2004; Higo et al. 2016; Sakamoto et al. 2022)。ゼニゴケの核は8本の常染色体と雄雌いずれかの性染色体(UまたはV染色体)を持ち、ゲノムサイズは約218Mbである (Bowman et al. 2017; Linde et al. 2020; Iwasaki et al. 2021)。2017年、日本産の標準系統雄株 (Takaragaike-1) の全配列情報が決定され、他の陸上植物系統にも共通した遺伝子が保存されていること、またゲノムレベルでの重複が起こっておらず遺伝子の冗長性が比較的低いことが明らかになった (Bowman et al. 2017)。標準系統雌株 (Takaragaike-2) やスウェーデン産、ブルガリア産のアクセッション株の配列も加えられ、最新のゲノム情報を以下のサイトから利用できる (<https://marchantia.info>) (Montgomery et al. 2020; Linde et al. 2020)。さらにトランスクリプトームデータベースも開設されてインフォマティクス環境も整ってきた (Kawamura et al. 2022)。

ゼニゴケは陸上植物進化の最も基部で分岐したコケ植物 (苔類) に属している。コケ植物は単系統群であり他の陸上植物系統全体の姉妹群にあたる。従って、コケ植物において被子植物と共通した分子メカニズムが明らかになれば、それは陸上植物の共通祖先において既に獲得されていた分子メカニズムであると考えることができる。こうした進化的観点からも、ゼニゴケはコケ植物苔類のモデル植物として国内外を問わず多くの研究に利用されている。

2-2. ゼニゴケの生活環

ゼニゴケは核相 n の配偶体世代優勢の生活環をもつ (図2)。雌雄異株で、条件が整うと雌雄それぞれの株で生殖器官が形成され有性生殖を行う。精子と卵が受精すると、孢子体 ($2n$) が形成され、孢子体の成熟に伴いその内部で減数分裂により数十万個の孢子が作られる。孢子は風に乗って散布され、発芽して葉状体へと成長する。しかし、野外の群落を見ると雄株だけ、雌株だけ、ということが多い (図1)。これはゼニゴケが栄養繁殖によりクローナルに増殖するからである。ゼニゴケの植物体は扁平な葉状体で、頂端に分裂組織を有し、二分岐を繰り返して成長する (図2)。葉状体の背側の表面は気室と呼ばれる同化器官に覆われているが、中肋にそって杯状体とよばれる栄養繁殖器官が形成される。杯状体はカップ状の形をしており、杯状体内側底部の表皮細胞から1細胞に由来してクローン個体である無性芽が形成される (図2)。無性芽は成熟すると杯状体の底部から切り離されて休眠し、動物に付着したり雨粒が当たったりすることによって杯状体外部に散布されると発芽する。無性芽は2ヶ所



に頂端分裂組織を持っており、発芽後に頂端分裂組織から供給される細胞は様々な組織へと分化し、器官形成が起こって、ゼニゴケ植物体の本体である葉状体へと成長する。

他の生物によって踏みつけられたり、乾燥や凍結で一部が枯死したりして、葉状体が切断されることがある。すると、特別な処理をしなくても、頂端分裂組織のない葉状体断片から再生芽が形成され、完全な植物体が再生される (図2)。このような断片からの再生システムもまた **Fragmentation** と呼ばれる栄養繁殖様式の一つである。

このようにゼニゴケは一世代の間に、個体が成長するだけでなく、栄養繁殖によって非常に効率よく自身のクローン個体を増やし、群落をつくるのである。近年の分子遺伝学的な解析から、ゼニゴケの栄養繁殖を支える分子基盤の一端が明らかになってきた。

3. 無性芽を介した栄養繁殖

3-1. 無性芽の発生と杯状体の形成

ゼニゴケの無性芽の発生は、杯状体内側底部の一部の表皮細胞が無性芽始原細胞として分化することで始まる (図3A; Hiwatashi et al. 2019; Kato et al. 2020)。無性芽始原細胞から2回の非対称分裂により頂端側と基部側の細胞が生じる。頂端側の細胞はさらに分裂を繰り返す、円盤状の無性芽を形成する。一方、基部側の細胞はそのまま分化して柄細胞となり、無性芽が成熟すると細胞死して杯状体底部から無性芽を切り離す。杯状体の底部細胞群は分裂活性と分化能を維持しており、無性芽という形で新たな頂端分裂組織を生み出す能力を持つ特徴的な幹細胞プールであるといえる。底部細胞のどの細胞が無性芽始原細胞になるのかについては不明であるが、杯状体が大きくなるに従って無性芽形成がおこる領域は杯状体底部の周縁部分に限られてくることから、杯状体底部細胞から無性芽始原細胞へのアイデンティティの転換を制御する何らかのメカニズムがあると考えられる。

では、このような特徴的な杯状体という器官はどのようにして形成されるのだろうか。葉状体の背側表面は気室と呼ばれる同化器官に覆われている (Shimamura 2016)。頂端細胞の近傍の背側表皮細胞が平層分裂して二層になることで気室形成が開始されると考えられている

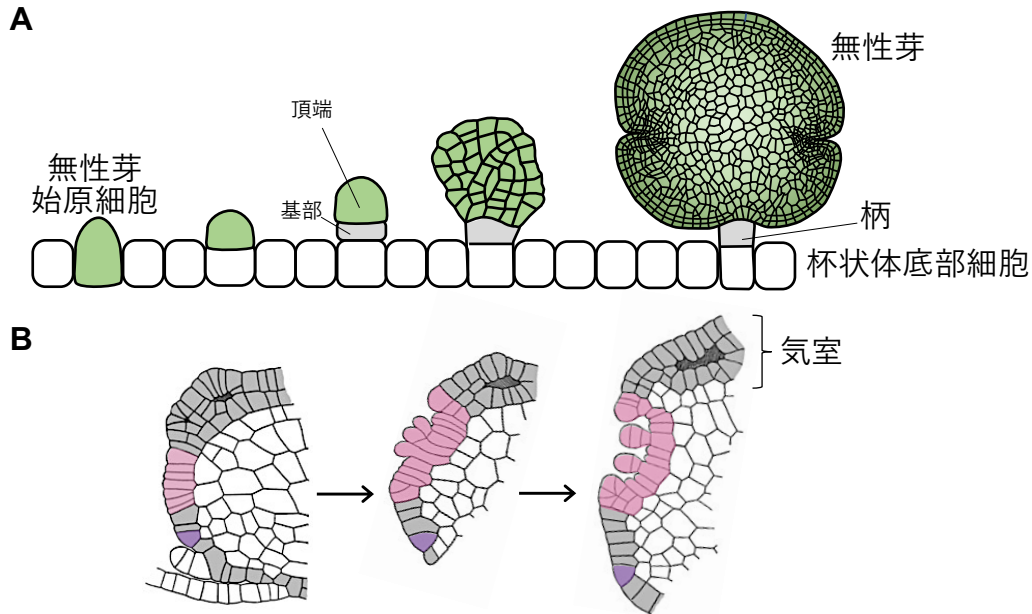


図3. 無性芽の発生と杯状体の形成

A. 杯状体底部における無性芽の発生。緑;無性芽の細胞系譜。B. 杯状体形成過程。Barnes and Land 1908 より改変。ピンク;杯状体底部細胞, 紫;頂端細胞, グレー;表皮細胞。

(Ishizaki 2015)。同じく頂端細胞の背側の表皮細胞(群)が杯状体底部としてのアイデンティティを持つと、気室形成につながる平層分裂が抑制され、垂層分裂が促進されて杯状体形成が始まると考えられている(図3B, Barnes and Land 1908; Suzuki et al. 2020)。その後、杯状体底部領域が拡大するとともに、周囲の背側組織が立ち上がって縁を形成し、カップ状の杯状体が形作られるとされる(Barnes and Land 1908)。杯状体の形成は中肋上でのみ起こる。また、葉状体の分岐から次の分岐までの間に形成される杯状体は一個以下であることが殆どで、杯状体は近接することなく適切な間隔を持って形成される。

3-2. 杯状体形成を司る因子とその機能

杯状体形成の分子メカニズムを明らかにするため網羅的なトランスクリプトーム解析が行われ、杯状体で高発現している遺伝子が明らかにされた(Yasui et al. 2019)。それらの遺伝子には10個の転写因子が含まれていたが、その中でもGEMMA-CUP ASSOCIATED MYB 1 (GCAM1)と名付けられたR2R3-MYB型転写因子が杯状体形成に必須であることが明らかになってきた。GCAM1は頂端分裂組織から中肋にかけて、また杯状体の底部細胞と発生中の無性芽で発現する(Yasui et al. 2019)。相同組み替え法によりT-DNAを挿入してGCAM1遺伝子を破壊すると、杯状体が全く形成されなくなる。一方、GCAM1遺伝子を異所的に過剰発現すると、葉状体の成長が著しく抑制され、未分化な細胞塊が形成された。これらの結果から、GCAM1は杯状体形成に必須の転写因子であり、杯状体底部の細胞を未分化な状態に保つ働きがあると考えられる(Yasui et al. 2019)。GCAM1は、被子植物における側芽形成制御因子であるシロイヌナズナのREGULATOR OF AXILLARY MERISTEMS (AtRAXs)やトマトのSIBlindと同じR2R3-MYB型転写因子サブファミリーに属する。GCAM1遺伝子を導入すると

シロイヌナズナの *RAXI-3* 三重変異体の表現型が相補されたことから、ゼニゴケの *GCAM1* とシロイヌナズナの *RAXs* の間で分子機能が保存されていると考えられる (Yasui et al. 2019)。

また、植物特異的な RWP-RK 転写因子 *MpRKD* は杯状体の縁で発現しており、*MpRKD* 機能欠損変異体では杯状体の縁の立ち上がりがみられない (Koi et al. 2016)。*MpRKD* 機能欠損変異体では無性芽の形成は正常に起こるので、*MpRKD* は杯状体形成過程の後半に見られる縁の形成に関与していると考えられる。*MpRKD* はシロイヌナズナにおいて胚形成のパターンニングに重要な *AtRKD* のオーソログであり、ゼニゴケにおいては卵細胞の分化制御に主に機能している。被子植物において有性生殖器官の発生を制御する転写因子が、コケ植物では有性生殖器官だけでなく栄養繁殖器官の形成をも制御している点は興味深い。

このように、20 世紀初頭の形態学的な観察から予測されていた杯状体形成過程のモデル (図 3B) は、分子遺伝学的にも裏打ちされつつある。まず、頂端細胞の背側の表皮細胞 (群) が *GCAM1* の働きにより未分化な状態に維持され、杯状体底部としてのアイデンティティを持つようになる。次に、杯状体形成の場が作られ、杯状体底部領域が維持され拡大すると考えられる。著者らはこの過程に関与する因子を見出しており、現在解析を進めている。最後に、*MpRKD* が機能して周囲の背側組織が立ち上がり杯状体の縁を形成することで、カップ状の杯状体が完成すると考えられる。最近では、これらの転写因子の上流因子の研究も展開され始めている。例えば、植物ホルモンであるサイトカイニンが *type-B* レスポンスレギュレーター (RR) を介して *GCAM1* の発現上昇を制御していることが示され、サイトカイニンが杯状体形成を調節していることが明らかになってきた (Aki et al. 2019; 2022)。このように、*GCAM1* などの転写因子の発現を制御する上流因子、また転写活性を調節するような相互作用因子、そして転写因子の下流で制御される分子ネットワークが明らかになることで、杯状体形成過程の全容が解明できると期待される。

3-3. 無性芽の発生を制御する因子

杯状体の底部において無性芽の発生を制御する因子としては、シロイヌナズナの *bHLH* 型転写因子 *ROOT HAIR DEFECTIVE SIX-LIKE1 (RSL1)* のオーソログ *MpRSL1* が知られている。*MpRSL1* の機能欠損変異体では、杯状体は正常に形成されるが、無性芽が形成されない (Proust et al. 2016)。さらに、無性芽と同様に表皮細胞に由来する粘液毛や仮根の形成も起こらない。シロイヌナズナにおいて *AtRSL1* は表皮細胞に由来する根毛の形成を制御しており、*AtRSL1* 機能欠損変異体の表現型はゼニゴケ *MpRSL1* の導入により相補されることから、ゼニゴケとシロイヌナズナは表皮細胞に由来する器官形成を制御する共通のメカニズムを有していると考えられる。*MpRSL1* の転写量が *MpFRH1 (FEW RHIZOIDS 1)* にコードされる miRNA によって負の制御を受けることでゼニゴケの仮根密度が調節されることから、無性芽形成密度についても同様の制御があるのではないかと予想されている (Honkanen et al. 2016)。

無性芽の発生は無性芽始原細胞が突出し非対称分裂することで始まるが (図 2A)、この最初の非対称分裂過程には、植物特異的な低分子量 G タンパク質である *ROP (Rho of plant)* の活性化因子である *MpROPGEF (KARAPPO)* が必須である。*MpROPGEF* の機能欠損変異体では、杯状体形成は正常だが無性芽が全く形成されない『からっぽ』の表現型を示す (Hiwatashi

et al. 2019)。ゼニゴケに1分子種のみ存在するROP (MpROP) は無性芽を含む様々な組織・器官形成過程に関与しているにも関わらず、MpROPGEF 機能欠損変異体では無性芽以外の器官は正常に形成される (Rong et al. 2022; Hiwatashi et al. 2019)。無性芽形成初期のROP シグナリングにおいてはMpROPGEF が特異的に機能していると考えられる。

また、植物ホルモンであるオーキシンも無性芽の発生過程を制御する。被子植物のオーキシン応答レポーターを用いてゼニゴケにおけるオーキシン応答を可視化した研究から、杯状体の底部で顕著なオーキシン応答がみられることがわかった (Ishizaki et al. 2012)。また、シロイヌナズナのオーキシン生合成酵素のゼニゴケオースログ MpTAA (TRYPTOPHAN AMINOTRANSFERASE OF ARABIDOPSIS) の発現が杯状体底部で顕著に高く、オーキシンの生合成阻害剤処理により無性芽の発生が阻害されることが示されている (Eklund et al. 2015; Flores-Sandoval et al. 2015; Kato et al. 2015)。さらに、オーキシン依存的な転写活性化因子である MpARF1 (AUXIN RESPONSE FACTOR1) と MpARF3 が無性芽の発生過程において秩序だった細胞分裂パターンに必須であることが明らかとなっている (Kato et al. 2017; Flores-Sandoval et al. 2018; Mutte et al. 2018)。このように、杯状体の底部でどのように無性芽が発生し形作られるのかについて鍵となる因子が少しずつ明らかになりつつある。しかし、無性芽始原細胞となるのか、あるいは粘液細胞となるのか、杯状体底部細胞の運命決定メカニズムはほとんどわかっていない。

4. 再生芽を介した栄養繁殖のメカニズム

ゼニゴケ葉状体において頂端分裂組織を含む頂端側を切断除去すると、基部側断片の切断部位近傍で細胞分裂がおこり細胞塊が形成される。基部側断片の腹側の表皮細胞において、切断から約 24 時間後には細胞周期が再開され、約 36 時間後には最初の細胞分裂が完了している (Nishihama et al. 2015)。また、細胞周期再開は光によりフィトクロムを介して促進される (Nishihama et al. 2015)。細胞塊において頂端細胞および周囲の分裂組織が再度確立されると(再生芽と呼ばれる)、頂端分裂組織から背側と腹側への秩序だった細胞供給と器官形成が再開され葉状体が再生する。葉状体の再生には特別なホルモン処理は必要ないが、切断片に植物ホルモンのオーキシンを添加すると再生芽形成が阻害されることから、頂端分裂組織を切除した葉状体からの再生過程にオーキシンが関与していると考えられてきた (LaRue and Narayanaswami 1957)。オーキシン生合成酵素である MpTAA と MpYUC2 (YUCCA2) の遺伝子発現パターンから、オーキシンは葉状体の頂端分裂組織で合成され基部側に向かって供給されていると考えられる (Eklund et al. 2015)。最近、切断によって頂端分裂組織が除去されるとオーキシンの供給が途絶え、基部側断片でオーキシンの濃度が低下することが実験的に示され、基部側断片でのオーキシン濃度の低下が再生の引き金となる可能性が示唆されている (Ishida et al. 2022)。さらに、オーキシン濃度の低下により発現が誘導される class VIIIb AP2/ERF 型転写因子 MpLAXR (LOW AUXIN RESPONSIVE) が発見された (Ishida et al. 2022)。MpLAXR 遺伝子の機能欠損変異体では、基部側断片での細胞周期の再開が抑制され、再生が抑制される。このことから、MpLAXR は再生促進因子であることがわかった。

また, class X ERF 型転写因子 MpERF15 も再生の促進に機能している (Liang et al. 2022) 。MpERF15 は多価不飽和脂肪酸から合成される生理活性物質群であるオキシリピンの一種 12-オキソ-フィトジエン酸 (OPDA) 合成を促進し, OPDA による正のフィードバックループにより自身の転写が促進されていることが明らかになった (Liang et al. 2022) 。植物の代表的なオキシリピンであるジャスモン酸は, 被子植物において傷害応答や病原体に対する防御反応を引き起こすシグナル物質として機能し, 成長や花芽形成制御にも関与していることが知られる。ゼニゴケにおいても傷害に反応してオキシピリン経路の活性化が引き起こされ, オキシピリンシグナリングが再生過程の制御に関与しているのではないだろうか。

興味深いことに著者らのグループでは, 杯状体形成過程と葉状体の再生過程の両方で機能する因子を見出しており, 杯状体形成と葉状体再生という異なる栄養繁殖過程で同じ分子メカニズムが機能している可能性が見えつつある。

5. まとめと展望

栄養繁殖はさまざまな植物系統でみられ, むかご・地下茎・塊根・無性芽など, そのしくみは植物種によって多様である。しかし, 共通しているのは, 植物体本体の頂端分裂組織とは別に, 場合によっては新たに, 分裂組織が形成される点である。陸上植物進化の最も基部で分岐したコケ植物の苔類に属するゼニゴケも栄養繁殖のしくみを持っている。本稿で紹介したように, 分子生物学的な研究基盤が整ったゼニゴケの利点を活かしてゼニゴケの栄養繁殖器官である杯状体形成の分子メカニズムの一端が解明されつつある。興味深いことに, 杯状体形成制御に関与する転写因子のシロイヌナズナにおけるオーソログは, いずれも, 頂端分裂組織から離れた場所での芽の形成を制御する因子であった。ゼニゴケは被子植物における栄養繁殖器官である根・茎・葉を持たないが, 先述のように「新たに別の分裂組織を作る」という点においては共通した機構をもっている。ゼニゴケにおいて栄養繁殖の分子メカニズムが解明されることは陸上植物に共通した, 栄養繁殖の仕組みの理解につながると期待される。またこうした知見は, 栄養繁殖生植物研究のみならず, 栄養繁殖生植物の農業・工業利用にも大きく貢献するものと考えている。

謝辞

本稿で扱った著者らの研究は 平成 29-33 年度 文部科学省化学研究費助成事業 新学術領域研究「植物の生命力を支える多能生幹細胞の基盤原理」のサポートを受けて行われたものです。また本稿をまとめるにあたり, 加藤大貴博士 (愛媛大), 安居佑季子博士(京都大) には多くの貴重なアドバイスをいただきました。

引用文献

Aki SS, Mikami T, Naramoto S, Nishihama R, Ishizaki K, Kojima M, Takebayashi Y, Sakakibara H, Kyojuka J, Kohchi T et al (2019) Cytokinin Signaling Is Essential for Organ Formation in *Marchantia polymorpha*. *Plant and Cell Physiology* 60:1842–1854. doi: 10.1093/pcp/pcz100

- Aki SS, Morimoto T, Ohnishi T, Oda A, Kato H, Ishizaki K, Nishihama R, Kohchi T, and Umeda M (2022) R2R3-MYB transcription factor GEMMA CUP-ASSOCIATED MYB1 mediates the cytokinin signal to achieve proper organ development in *Marchantia polymorpha*. *Sci Rep* 12:21123. doi: 10.1038/s41598-022-25684-3
- Barnes CR, Land WJG (1908) Bryological Papers. II. The Origin of the Cupule of *Marchantia*. *Botanical Gazette* 46:401–409. doi: 10.1086/329782
- Bowman JL, Kohchi T, Yamato KT, Jenkins J, Shu S, Ishizaki K, Yamaoka S, Nishihama R, Nakamura Y, Berger F et al. (2017) Insights into land plant evolution garnered from the *Marchantia polymorpha* genome. *Cell* 171: 287–304. doi: 10.1016/j.cell.2017.09.030
- Brown RC, Lemmon BE (2004) g-Tubulin, microtubule arrays, and quadripolarity during sporogenesis in the hepatic *Aneura pinguis* (Metzgeriales). *J Plant Res* 117:371–376. doi: 10.1007/s10265-004-0168-0
- Eklund DM, Ishizaki K, Flores-Sandoval E, Kikuchi S, Takebayashi Y, Tsukamoto S, Hirakawa Y, Nonomura M, Kato H, Kouno M et al (2015) Auxin Produced by the Indole-3-Pyruvic Acid Pathway Regulates Development and Gemmae Dormancy in the Liverwort *Marchantia polymorpha*. *Plant Cell* 27:1650–1669. doi: 10.1105/tpc.15.00065
- Flores-Sandoval E, Dierschke T, Fisher TJ, Bowman JL (2016) Efficient and Inducible Use of Artificial MicroRNAs in *Marchantia polymorpha*. *Plant Cell Physiol* 57:281–290. doi: 10.1093/pcp/pcv068
- Flores-Sandoval E, Eklund DM, Bowman JL (2015) A Simple Auxin Transcriptional Response System Regulates Multiple Morphogenetic Processes in the Liverwort *Marchantia polymorpha*. *PLoS Genet* 11:e1005207. doi: 10.1371/journal.pgen.1005207
- Flores-Sandoval E, Eklund DM, Hong S, Alvarez JP, Fisher TJ, Lampugnani ER, Golz JF, Vázquez-Lobo A, Dierschke T, Lin S et al (2018) Class C ARF s evolved before the origin of land plants and antagonize differentiation and developmental transitions in *Marchantia polymorpha*. *New Phytol* 218:1612–1630. doi: 10.1111/nph.15090
- Higo A, Niwa M, Yamato KT, Yamada L, Sawada H, Sakamoto T, Kurata T, Shirakawa M, Endo M, Shigenobu S et al (2016) Transcriptional Framework of Male Gametogenesis in the Liverwort *Marchantia polymorpha* L. *Plant Cell Physiol* 57:325–338. doi: 10.1093/pcp/pcw005
- Hiwatashi T, Goh H, Yasui Y, Koh LQ, Takami H, Kajikawa M, Kirita H, Kanazawa T, Minamino N, Togawa T et al (2019) The RopGEF KARAPPO Is Essential for the Initiation of Vegetative Reproduction in *Marchantia polymorpha*. *Current Biology* 29:3525–3531.e7. doi: 10.1016/j.cub.2019.08.071
- Honkanen S, Jones VAS, Morieri G, Champion C, Hetherington AJ, Kelly S, Proust H, Saint-Marcoux D, Prescott H, and Dolan L (2016) The Mechanism Forming the Cell Surface of Tip-Growing Rooting Cells Is Conserved among Land Plants. *Current Biology* 26:3238–3244. doi: 10.1016/j.cub.2016.09.062
- shida S, Suzuki H, Iwaki A, Kawamura S, Yamaoka S, Kojima M, Takebayashi Y, Yamaguchi K, Shigenobu S, Sakakibara H et al (2022) Diminished Auxin Signaling Triggers Cellular

- Reprogramming by Inducing a Regeneration Factor in the Liverwort *Marchantia polymorpha*. *Plant and Cell Physiology* 63:384–400. doi: 10.1093/pcp/pcac004
- Ishizaki K (2015) Development of schizogenous intercellular spaces in plants. *Front Plant Sci* 6:. doi: 10.3389/fpls.2015.00497
- Ishizaki K, Chiyoda S, Yamato KT, Kohchi T (2008) Agrobacterium-Mediated Transformation of the Haploid Liverwort *Marchantia polymorpha* L., an Emerging Model for Plant Biology. *Plant and Cell Physiology* 49:1084–1091. doi: 10.1093/pcp/pcn085
- Ishizaki K, Johzuka-Hisatomi Y, Ishida S, Iida S, and Kohchi T (2013) Homologous recombination-mediated gene targeting in the liverwort *Marchantia polymorpha* L. *Sci Rep* 3:1532. doi: 10.1038/srep01532
- Ishizaki K, Nishihama R, Ueda M, Inoue K, Ishida S, Nishimura Y, Shikanai T, and Kohchi T (2015) Development of Gateway Binary Vector Series with Four Different Selection Markers for the Liverwort *Marchantia polymorpha*. *PLoS ONE* 10:e0138876. doi: 10.1371/journal.pone.0138876
- Ishizaki K, Nonomura M, Kato H, Yamato KT, and Kohchi T (2012) Visualization of auxin-mediated transcriptional activation using a common auxin-responsive reporter system in the liverwort *Marchantia polymorpha*. *J Plant Res* 125:643–651. doi: 10.1007/s10265-012-0477-7
- Iwasaki M, Kajiwarra T, Yasui Y, Yoshitake Y, Miyazaki M, Kawamura S, Suetsugu N, Nishihama R, Yamaoka S, Wanke D et al (2021) Identification of the sex-determining factor in the liverwort *Marchantia polymorpha* reveals unique evolution of sex chromosomes in a haploid system. *Current Biology* 31:5522–5532.e7. doi: 10.1016/j.cub.2021.10.023
- Kato H, Ishizaki K, Kouno M, Shirakawa M, Bowman JL, Nishihama R, and Kohchi T (2015) Auxin-Mediated Transcriptional System with a Minimal Set of Components Is Critical for Morphogenesis through the Life Cycle in *Marchantia polymorpha*. *PLoS Genet* 11:e1005084. doi: 10.1371/journal.pgen.1005084
- Kato H, Kouno M, Takeda M, Suzuki H, Ishizaki K, Nishihama R, and Kohchi T (2017) The Roles of the Sole Activator-Type Auxin Response Factor in Pattern Formation of *Marchantia polymorpha*. *Plant and Cell Physiology* 58:1642–1651. doi: 10.1093/pcp/pcx095
- Kato H, Yasui Y, Ishizaki K (2020) Gemma cup and gemma development in *Marchantia polymorpha*. *New Phytol* 228:459–465. doi: 10.1111/nph.16655
- Kawamura S, Romani F, Yagura M, Mochizuki T, Sakamoto M, Yamaoka S, Nishihama R, Nakamura Y, Yamato KT, Bowman JL et al (2022) MarpolBase Expression: A Web-Based, Comprehensive Platform for Visualization and Analysis of Transcriptomes in the Liverwort *Marchantia polymorpha*. *Plant and Cell Physiology* 63:1745–1755. doi: 10.1093/pcp/pcac129
- Kny L (1890) *Bau und Entwicklung von Marchantia polymorpha* in Botanische wandtafeln miterläuterndem. Wiegandt, Hempel & Parey, Berlin.
- Koi S, Hisanaga T, Sato K, Shimamura M, Yamato KT, Ishizaki K, Kohchi T, and Nakajima K (2016) An Evolutionarily Conserved Plant RKD Factor Controls Germ Cell Differentiation. *Current Biology* 26:1775–1781. doi: 10.1016/j.cub.2016.05.013

- Larue CD and Narayanaswami S (1957) Auxin Inhibition in the Liverwort *Lunularia*. *New Phytol* 56:61–70. doi: 10.1111/j.1469-8137.1957.tb07449.x
- Liang Y, Heyman J, Xiang Y, Vandendriessche W, Canher B, Goeminne G, and De Veylder L (2022) The wound-activated ERF15 transcription factor drives *Marchantia polymorpha* regeneration by activating an oxylipin biosynthesis feedback loop. *Sci Adv* 8:eabo7737. doi: 10.1126/sciadv.abo7737
- Linde A-M, Sawangproh W, Cronberg N, Szövényi P, and Lagercrantz U (2020) Evolutionary History of the *Marchantia polymorpha* Complex. *Front Plant Sci* 11:829. doi: 10.3389/fpls.2020.00829
- Montgomery SA, Tanizawa Y, Galik B, Wang N, Ito T, Mochizuki T, Akimcheva S, Bowman JL, Cognat V, Maréchal-Drouard L et al (2020) Chromatin Organization in Early Land Plants Reveals an Ancestral Association between H3K27me3, Transposons, and Constitutive Heterochromatin. *Current Biology* 30:573-588.e7. doi: 10.1016/j.cub.2019.12.015
- Mutte SK, Kato H, Rothfels C, Melkonian M, Wong GK-S, and Weijers D (2018) Origin and evolution of the nuclear auxin response system. *eLife* 7:e33399. doi: 10.7554/eLife.33399
- Nishihama R, Ishizaki K, Hosaka M, Matsuda Y, Kubota A, and Kohchi T (2015) Phytochrome-mediated regulation of cell division and growth during regeneration and sporeling development in the liverwort *Marchantia polymorpha*. *J Plant Res* 128:407–421. doi: 10.1007/s10265-015-0724-9
- Ohyama K, Fukuzawa H, Kohchi T, Shirai H, Sano T, Sano S, Umesono K, Shiki Y, Takeuchi M, Chang Z et al (1986) Chloroplast gene organization deduced from complete sequence of liverwort *Marchantia polymorpha* chloroplast DNA. *Nature* 322:572–574. doi: 10.1038/322572a0
- Proust H, Honkanen S, Jones VAS, Morieri G, Prescott H, Kelly S, Ishizaki K, Kohchi T, and Dolan L (2016) RSL Class I Genes Controlled the Development of Epidermal Structures in the Common Ancestor of Land Plants. *Current Biology* 26:93–99. doi: 10.1016/j.cub.2015.11.042
- Rong D, Zhao S, Tang W, Luo N, He H, Wang Z, Ma H, Huang Y, Yao X, Pan X et al (2022) ROP signaling regulates spatial pattern of cell division and specification of meristem notch. *Proc Natl Acad Sci USA* 119:e2117803119. doi: 10.1073/pnas.2117803119
- Sakamoto Y, Ishimoto A, Sakai Y, Sato M, Nishihama R, Abe K, Sano Y, Furuichi T, Tsuji H, Kohchi T, and Matsunaga S (2022) Improved clearing method contributes to deep imaging of plant organs. *Commun Biol* 5:12. doi: 10.1038/s42003-021-02955-9
- Shimamura M (2016) *Marchantia polymorpha*: Taxonomy, Phylogeny and Morphology of a Model System. *Plant Cell Physiol* 57:230–256. doi: 10.1093/pcp/pcv192
- Shinozaki K, Ohme M, Tanaka M, Wakasugi T, Hayashida N, Matsubayashi T, Zaita N, Chunwongse J, Obokata J, Yamaguchi-Shinozaki K et al (1986) The complete nucleotide sequence of the tobacco chloroplast genome: its gene organization and expression. *The EMBO Journal* 5:2043–2049. doi: 10.1002/j.1460-2075.1986.tb04464.x
- Sugano SS, Nishihama R, Shirakawa M, Takagi J, Matsuda Y, Ishida S, Shimada T, Hara-Nishimura I, Osakabe K, and Kohchi T (2018) Efficient CRISPR/Cas9-based genome editing and its application to conditional genetic analysis in *Marchantia polymorpha*. *PLoS ONE* 13:e0205117. doi: 10.1371/journal.pone.0205117

Suzuki H, Harrison CJ, Shimamura M, Kohchi T, and Nishihama R (2020) Positional cues regulate dorsal organ formation in the liverwort *Marchantia polymorpha*. *J Plant Res* 133:311–321. doi: 10.1007/s10265-020-01180-5

Yasui Y, Tsukamoto S, Sugaya T, Nishihama R, Wang Q, Kato H, Yamato KT, Fukaki H, Mimura T, Kubo H et al (2019) GEMMA CUP-ASSOCIATED MYB1, an Ortholog of Axillary Meristem Regulators, Is Essential in Vegetative Reproduction in *Marchantia polymorpha*. *Current Biology* 29:3987-3995.e5. doi: 10.1016/j.cub.2019.10.004

ウキクサの繁殖メカニズムとその農学的応用

吉田 明希子

東京農工大学・大学院 農学研究院
〒183-8509 東京都府中市幸町 3-5-8

Reproductive mechanism of Duckweed and its agronomic applications

Akiko Yoshida

Institute of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology, Fuchu-shi, Tokyo
183-8509 Japan.

Keywords: Duckweed, vegetative reproduction, shoot apical meristem, florigen, plant-microbe interaction

DOI: 10.24480/bsj-review.14b5.00246

1. はじめに

農業生産を向上させるには収量増加や病虫害防除だけでなく、農地内や農地周囲の雑草を防除する栽培技術の向上も重要な課題となる。実際の農業現場においても雑草防除は常に大きな課題である。雑草を放置すると、作物が健全に育たず、収穫量の減少や品質低下をまねく。従って、作物生産性の向上・バイオマス増量を図る上で、農地の雑草防除という視点からの研究を行うことは非常に重要である。

水田雑草は、多年生雑草と1年生雑草に分けられる。水田雑草には、花・種子を介さずに栄養繁殖（塊茎・鱗茎・根茎など）で増殖する多年生雑草が数多く含まれる（中川 1965; 草薙 1978; 大川 2016）。栄養繁殖性の雑草は、花・種子のみにより生殖繁殖する雑草とは異なり、環境に適応した栄養繁殖器官の一部であるクローンによって増殖が可能である。そのため、成長期間が比較的短く、増殖速度が大きく、また防除してもわずかでも個体の栄養器官（根・葉・茎）の一部が残っていると、瞬く間に旺盛な増殖力で再生する。さらに、水田における多年生雑草の多くが、ネ栽培期間の灌水中は水中において主に栄養器官で繁殖し、イネ収穫後の土壌中では栄養器官の一部や生殖器官である花によって作られた種子が越冬する。これらの特性が、栄養繁殖性雑草の防除を困難にしている。しかしながら、栄養繁殖性雑草の繁殖機構の詳細は未解明なことが多く、形態的観点からの雑草防除の知見はいまだ少ない。このため、栄養繁殖性雑草をモデルとして解析するための研究リソースの整備は喫緊の課題となっている。栄養繁殖性を有する多年生雑草を防除するためには、まずは栄養繁殖性雑草の形態やその成長様式などの栄養繁殖制御メカニズムを明らかにする必要がある。それによって、防除

の標的ターゲットが明確になると期待される。

本稿では、水田雑草の中で栄養繁殖性を有する多年生雑草の一つとして日本の水田で古くから知られているウキクサに着目し、現在までに明らかになっているウキクサの栄養繁殖メカニズムと、ウキクサの農学的応用の可能性について紹介する。

2. アオウキクサ *Lemna aquinoctialis* の栄養繁殖形態

ウキクサは、古くから日本の水田や池などに生育する多年生雑草で、栄養繁殖によって次々と増殖する。日本人の生活にも古代から馴染みがあり、万葉集では「うきまなご」と表記され歌に詠まれている。平安時代の小野小町の和歌には、わびぬれば身をうき草の根をたえて誘ふ水あらばいなむとぞ思ふ（侘しくウキクサのような身なので、誘ってくださるのならついて行こうと思います）」がある（古今和歌集 938）。

ウキクサと呼ばれる Lemnaceae 科は、二つの Lemnoideae 亜科と Wolffioideae 亜科からなり、その中にはさらに五つの *Spirodela* 属、*Landoltia* 属、*Lemna* 属、*Wolffiella* 属、*Wolffia* 属に分類されて、現在のところ 36 種が知られている (Bog et al. 2019; Mateo-Elizalde et al. 2023)。ウキクサは単子葉植物に属し、大きさは約 1.5cm から 1mm 以下まで様々であり、被子植物の中で最も小さい植物体で、最も早く成長して、また種子を作らずに栄養繁殖器官で増殖することができる。ここでは、この中の *Lemna* 属に分類される日本固有種アオウキクサ *Lemna aquinoctialis* の形態やその成長様式などの栄養繁殖制御メカニズムについて記述する。

水田における多年生雑草の一つであるアオウキクサ *L. aquinoctialis* は、増殖すると瞬く間に水面を覆う。100 日間で 400 万倍にも増えたという報告もあり (佐藤 1979)、増殖すると水中の温度低下や、水中植物プランクトンの光合成抑制による酸素量減少などを引き起こしてイネ生産に大きな被害をもたらすことがある。アオウキクサは、水田雑草の中でも、増殖速度が著しく大きく、一度増殖してしまうと防除が困難になる。その一方で、アオウキクサは増殖速度が大きい上に、個体が小さく扱いやすいという利点があり

(Ziegler et al. 2015)、水質浄化などのバイオレメディエーションの研究材料として昨今注目されている (Morikawa et al. 2008; Laird and Barks 2018)。また、1950 年代から日本国内の研究機関において花芽分化に関する研究も盛んに行われてきた (Yukawa and Takimoto 1976)。

アオウキクサ *L. aquinoctialis* は、栄養繁殖と生殖繁殖の両方で増殖することができる (図

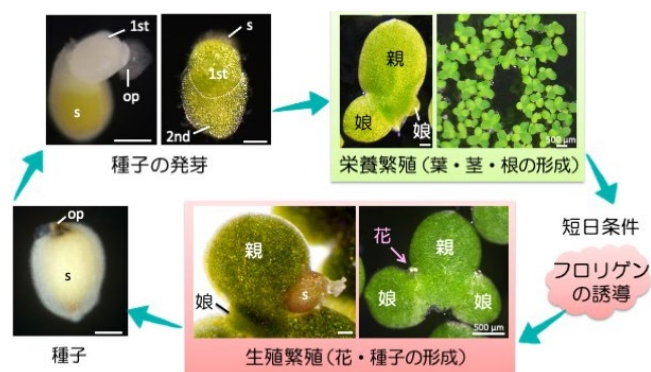


図 1. アオウキクサ *L. aquinoctialis* の栄養繁殖と生殖繁殖のライフサイクル。s, seed (種子); 1st (種子から 1 番目に出てくるフロンド); 2nd (種子から 2 番目に出てくるフロンド); op, operculum (果蓋); 親 (親フロンド); 娘 (娘フロンド); scale bars=200 μm。

1)。通常は、栄養繁殖により増殖するが、日長が短日条件に変わると花成を誘導し、生殖繁殖に切り替わる (Yukawa and Takimoto 1976)。栄養繁殖から生殖繁殖に切り替わると花を咲かせ、種子が実る。短日条件にして花成を誘導してから種子が得られるまで、およそ 20 日～25 日ほどである (Yoshida et al. 2021)。アオウキクサの栄養繁殖から生殖繁殖に切り替わる際の花芽分化の誘導には、窒素欠乏やサリチル酸、ニコチン酸などの活性物質が関係するとの報告がなされてきたが (田口 1986; 田中 1992; Fu et al. 2020), これらの化合物はいずれも日長に反応して生成する物質ではなく、日長に応答する花芽誘導物質フロリゲンに関しては長らく不明であった。しかし、後述するように、そのフロリゲンの実体について近年明らかになりつつある。

アオウキクサ *L. aequinoctialis* の栄養繁殖では、通常 48 時間～72 時間ごとにクローン固体が形成される。栄養繁殖により形成される植物個体は、葉・茎・根の器官であり、アオウキクサ *L. aequinoctialis* の一つの個体は、大

きく分けて葉と根からなる。葉の部分は、フロンド (葉状体) と呼ばれる (図 2)。一つの個体には、二つのポケット (budding pouch) があり、そこから娘フロンドと呼ばれる新しいクローン個体が形成される。一つのポケットから形成される娘フロンドは、おおよそ 6 個から 10 個くらいであり、二つのポケットで交互に形成されるという規則性がみられる。さらに、娘フロンドの大きさは、古いものほど大きく、新しいものは小さくなる傾向が見られる (Landolt 1986; Lemon and Posluszny 2000)。親フロンドの左右二つのポケットの中には、器官分化を行う分裂組織が存在することが示唆されており、娘フロンドは腋芽の分裂組織から形成されていると考えることができる (Yoshida et al. 2021, 図 3)。娘フロンドは成熟すると、親フロンドのポケットから分離して、クローン個体として独立する。1 枚のフロンドには、主に 3 本の維

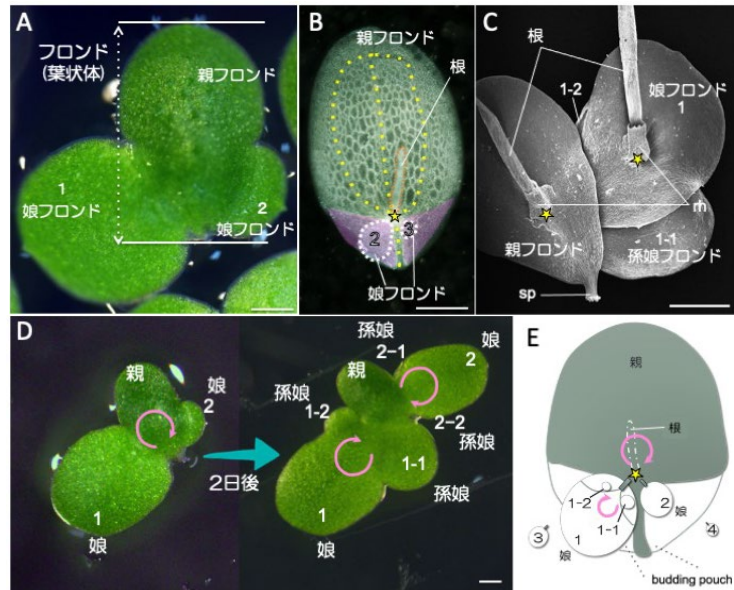


図 2. アオウキクサ *L. aequinoctialis* における栄養繁殖様式。rh, root sheath (根鞘); sp, stipe; ☆ (節); 親 (親フロンド); 娘 (娘フロンド); 1 (娘フロンド 1); 2 (娘フロンド 2); 1-1 (孫娘フロンド 1-1); 1-2 (孫娘フロンド 1-2); scale bars=500 mm。(A) 親フロンドは左右に 1 対のポケットがあり、その中に娘フロンドが形成される。(B) フロンドには 3 本の主要な維管束 (黄色の点線) が走っている。維管束が交差し、ポケットの周縁部と接する部分に節がある (☆)。ポケット (budding pouch) はピンクで示す。(C) stipe は、親フロンドと結合していた部分で、stipe が切断されることにより、娘フロンドは独立した個体となる。根は一つのフロンドにつき 1 本形成され、根の伸長は、成長ステージ・栄養条件により変化する。(B, C) はフロンドを abaxial 側から撮影。(D) フロンドの出てくる順番には規則性がある。(E) フロンドの出てくる順番の模式図。

管束が形成され、維管束が交差しているフロンドの背軸側からは1本の根が形成される(図2)。この部分は、節と呼ばれる。

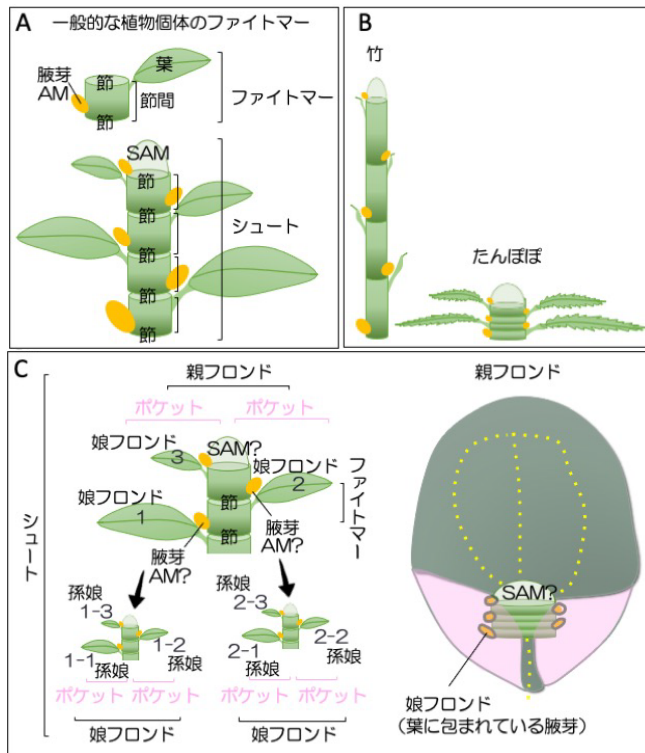


図3. 一般的な植物個体のファイトマーとウキクサのファイトマーの模式図。SAM, Shoot Apical Meristem (茎頂分裂組織); AM, Apical Meristem (腋芽分裂組織)。(A) 葉, 腋芽, 節間をまとめた基本単位のセットをファイトマーと呼ぶ。(B) 竹のファイトマーは節間が伸びており、タンポポのファイトマーは節間が非常に短くロゼット葉の形態となる。(C) ウキクサのファイトマーもフロンド(葉), 腋芽, 節間の基本単位からなり、節間がほぼないと考えられる。ウキクサの腋芽は、フロンドが形成される初期に表皮細胞が覆うことでポケットの中に腋芽全体が包まれ、外側からは直接見ることができない特殊な形態をとる。

一般的に、植物個体は、ファイトマー (Phytomer) と呼ばれる葉, 腋芽, 節間をまとめた基本単位のセットが複数連続して構成されることで、シュートが形成される (図3)。ウキクサの葉状体は、葉の相同体、葉ではなく茎の相同体、もしくは葉と茎との集合体からなるものと古くから様々に解釈されているが、フロンドの葉状体の形態解析により、フロンドも一つのファイトマーとして解釈することが可能である (Landolt 1986; Yoshida et al. 2021)。娘フロンドもまた一つのファイトマーであると解釈すると、水面に浮かぶ1個体 (1コロニー) のアオウキクサは一つのシュートとみなすことができる。ファイトマーの茎 (節間) の長さで植物個体シュートは様々な形となる。ファイトマーの茎 (節間) が伸びている植物の例として、竹などがあり、一方、ファイトマーの茎 (節間) がコンパクトにまとまっている植物の例としては、地べたにはりついてロゼット葉を形成するタンポポなどがある。シュートの形は茎 (節間) の長さが増えるだけでも様々な形をとる。アオウキクサ *L. aequinoctialis* のシュートは、ポケットという他の植物とは異なる形態があるが、基本的にはファイトマーの連続からなり、ファイトマーの茎 (節間) が全く伸びていないシュートとみなすことが可能である (図3)。一般的な植物個体シュートには、ファイトマーが複数積み重なった上で、その頂端部に茎頂分裂組織が存在する。この茎頂分裂組織から、葉・腋芽・茎 (節間) が新しく形成され、次のファイトマーが形づくられていく (図3)。

では、アオウキクサ *L. aequinoctialis* の茎頂分裂組織はどこにあるのだろうか? 著者らは、アオウキクサの分裂組織が、娘フロンドが形成される左右ポケット内にそれぞれ存在することを明らかにした (図4)。さらに、アオウキクサと同じ Lemnaceae 科 *Lemna* 属のコウキクサ

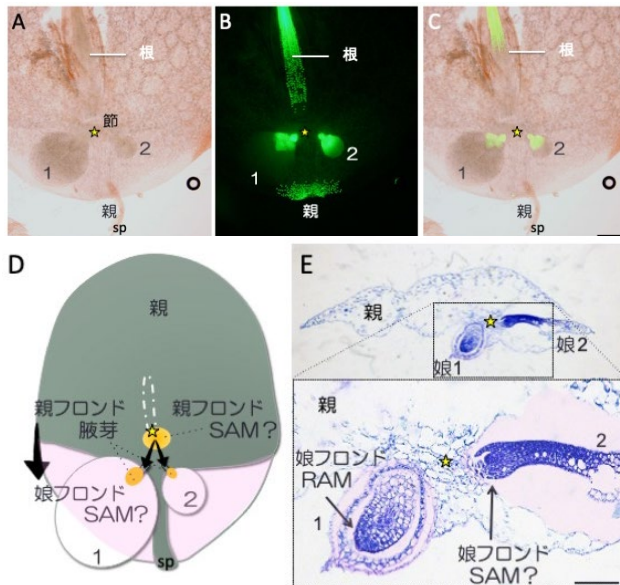


図 4. アオウキクサ *L. aequinoctialis* の分裂組織。sp, stipe ; ☆ (節) ; 親 (親フロント) ; 娘 (娘フロント) ; 1 (娘フロント 1) ; 2 (娘フロント 2) ; 1-1 (孫娘フロント 1-1) ; 1-2 (孫娘フロント 1-2) ; SAM, Shoot Apical Meristem (茎頂分裂組織) ; RAM, Root Apical Meristem (根端分裂組織) ; scale bars=100 μm。

(A, B, C) 細胞分裂細胞を EdU (蛍光標識) により染色した写真。(C) は (A, 可視光観察) と (B, 蛍光観察) の重ね合わせた写真。(B) 節を挟んで親フロント

ポケット内の左右に 2 ヶ所, 親フロントの根の先端付近に 1 ヶ所の細胞分裂が活発な領域がある。親フロントのポケット内にある若くて小さな娘フロントでは, フロント全体で細胞分裂が活発である。葉が若くて小さな親フロントでは sp 付近の細胞分裂も活発である。これは小さなフロントが大きくなるために細胞が活発に増殖しているためと考えられる。(D) フロントにおける分裂組織の模式図。娘フロントが形成される節周辺の細胞分裂が活発な 2 つの領域に (親フロントの茎頂? or 娘フロントの腋芽?) 分裂組織が存在する可能性が示唆された。(E) 親フロントの左右ポケットを横断した切片の写真。娘フロント 2 では, 親フロントの節 (☆) に近い部分に, ポケット (娘フロント 2) に包まれる直前の分裂組織 (娘フロント 2 の SAM?) が観察された。

Lemna minor の形態解析では, ポケット内の分裂組織から娘フロントが形成される過程が明らかになっており, この初期の過程で娘細胞の分裂組織は娘フロントのポケットに急速に包まれていくことが示されている (Lemon and Posluszny 2000)。しかしながら, この分裂組織が, 茎頂分裂組織なのか腋芽分裂組織なのかについてはまだ明らかでなく, 今後の解析が待たれる。いずれにせよ, アオウキクサをはじめとするウキクサが旺盛に栄養繁殖できるのは, この分裂組織が休眠することなく娘フロントとなるシュートを次々に生み出し, 親フロントから娘フロントをすぐさま分離し, それが新しい独立した個体となるからに他ならない。

3. アオウキクサ *L. aequinoctialis* の生殖繁殖形態

主に栄養繁殖によって増殖するウキクサであるが, 培養条件の日長を制御することで開花を誘導することができる。アオウキクサ *L. aequinoctialis* の開花は短日により誘導される。短日処理を受けた時点での親フロントのポケットからは即座に花器官が形成されることはなく, 短日処理してから 10 日後に開花する。花器官は, 必ず娘フロントのポケット内で形成されるが, 左右あるポケットのうち片側一つのみで形成され, もう一つのポケット内では花器官ではなく娘フロントが形成されている (図 5)。花器官と娘フロントが形成されるポケットの左右は入れ替わることがなく規則性がある。このようにアオウキクサ *L. aequinoctialis* のシュー

トでは、栄養繁殖と生殖繁殖が同時に行われており、生殖繁殖のみになることはない。アオウキクサ *L. aequinoctialis* の花器官は2枚の葉鞘・2本の雄蕊・1本の雌蕊からなる。雄蕊と雌蕊の成熟のタイミングは、Lemnaceae科の中でも異なっており、雄蕊の成熟が雌蕊の成熟を早めたり、逆のパターンもある (Fourounjian et al. 2021)。アオウキクサ *L. aequinoctialis* では、まず先に雄蕊がポケットの中から現れ、次に雌蕊が現れる。また2本の雄蕊のうち片方の成長が速く、成長の遅い方の雄蕊はしばしばポケットの中から現れない。このことから、アオウキクサ *L. aequinoctialis* は、雄蕊先熟であり、栄養繁殖で増殖して遺伝的多様性が低い植物個体全体の中で、生殖繁殖において他家受粉の機会を大きくし、遺伝的多様性を高くしているのかもしれない。

アオウキクサ *L. aequinoctialis* では花が咲いた後にポケット内で種子が作られ (図1)、その後そのポケット内では娘フロンドが形成されることはない (図5)。このことから、娘フロンドのポケット内で形成されるシュートの花序は、有限花序 (単頂花序) と考えることができる。

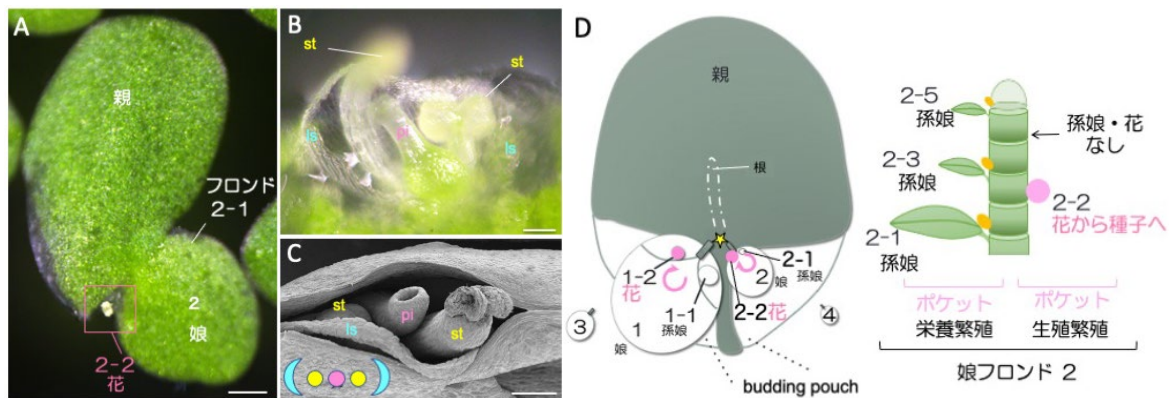


図5. アオウキクサ *L. aequinoctialis* における生殖繁殖様式。pi, pistil (雌蕊) ; st, stamen ; ls, leaf sheath (葉鞘) ; ☆ (節) ; 親 (親フロンド) ; 娘 (娘フロンド) ; 1 (娘フロンド1) ; 2 (娘フロンド2) ; 1-1 (孫娘フロンド1-1) ; 1-2 (孫娘フロンド1-2) ; 2-1 (孫娘フロンド2-1) ; 2-2 (孫娘フロンド2-2) ; scale bars=1 mm (A, B) ; scale bars=100 mm (C)。 (A) 親フロンドには花器官は形成されない。 (B, C) 一つの花器官の中には、2枚の葉・1本の雌蕊・2本の雄蕊からなる。 (D) 娘フロンドの左右ポケットから同時に花器官は形成されず、花器官が形成される順番の模式図を示す (D) 花器官が形成されたポケットからはその後フロンドは形成されない。一つの親フロンドは、左右それぞれのポケットで、栄養繁殖と生殖繁殖を同時に行う。

4. アオウキクサ *L. aequinoctialis* のフロリゲン同定

様々なモデル植物の研究から、光周性により栄養繁殖から生殖繁殖へと切り替わる花芽分化を決定づけるフロリゲンの分子基盤が明らかになってきた (Tsuji et al. 2013)。はじめに、光周性に応答して、開花シグナルであるフロリゲン、FLOWERING LOCUS T (FT) をコード

する遺伝子の発現が葉で誘導される (Kardailsky et al. 1999; Kobayashi et al. 1999; Abe et al. 2005; Wigge et al. 2005)。FTタンパク質は葉から茎頂分裂組織の細胞核に輸送され、FTは14-3-3タンパク質と塩基性ロイシンジッパー (bZIP) ドメインを有する転写因子FDからなるフロリゲン活性化複合体 (FAC) を形成する (Taoka et al. 2011; Collani et al. 2019)。FACは、MADS-box転写因子である*APETALA1* (*API*) /*FRUITFUL* (*FUL*) や*SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS1* (*SOCI*) などの下流遺伝子を活性化して、花器官形成のために、茎頂分裂組織を栄養繁殖から生殖繁殖へと移行させる。開花に必要なこの分子制御メカニズムは、トマト、ポプラ、トウモロコシなど多様な植物種で保存されている (Park et al. 2014; Tylewicz et al. 2015; Sun et al. 2020)。しかしながら、ウキクサにおいては、これらの開花に関する分子制御メカニズムは不明であった。

著者らは、短日により開花が誘導されたアオウキクサ*L. aequinoctialis*の植物個体全体を用いてRNA-seqによるトランスクリプトーム解析を行い、アオウキクサ*LaFTL1/LaFTL2*および*LaFD*遺伝子のオーソログを同定した (Yoshida et al. 2021)。さらに、オーソログ遺伝子産物の相互作用によるFACの形成と異種植物システムでのFACの機能の特徴を明らかにした。その結果、同定された*LaFTL1*は開花を促進し、*LaFTL2*は開花を抑制することが示唆された (図6)。

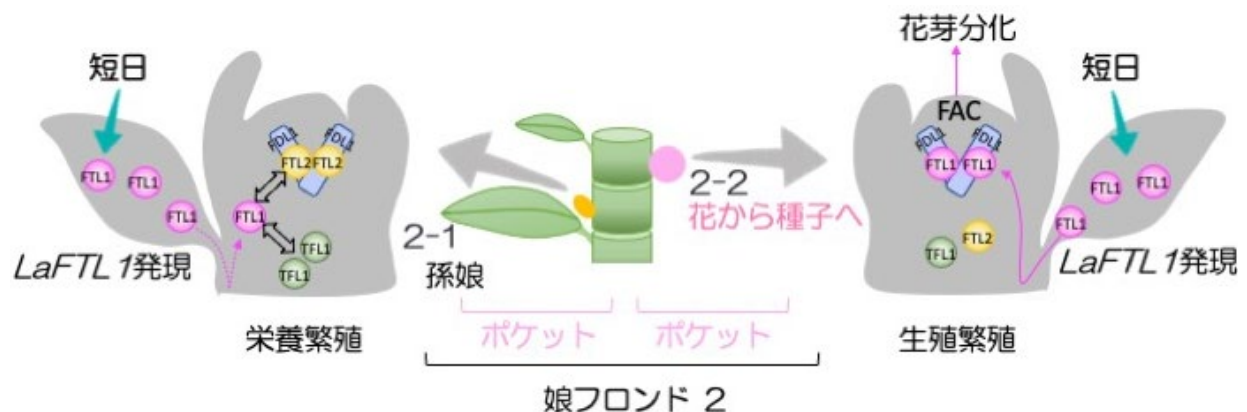


図6. ウキク分裂組織と繁殖様式。フロンド（葉）において、日長（短日）が感知され、花成ホルモン（フロリゲン*LaFTL1*）が作られる。*LaFTL1*は茎頂分裂組織に運ばれ、*LaFDL1*と結合して、*LaFTL1-LaFDL1*複合体 (FAC) を形成することで、花芽分化が開始される。これがウキクサの生殖繁殖である。一方、短日条件下のフロンドで*LaFTL1*が発現しているにもかかわらず、一部の茎頂分裂組織では、*LaFTL2*が*LaFDL1*と結合することで、花芽分化の誘導はされず、栄養繁殖のままである。また、このとき、FTと競合して花芽分化を抑制することが知られているTFL1のオーソログ*LaTFL1*の発現が高まることも明らかになっているが、*LaFTL2*及び*LaTFL1*の花芽分化抑制機構はまだ不明である。

ウキクサLemnaceae科のゲノム配列は、*Spirodela polyrhiza*がまず初めにドラフトゲノムが公開され、それ以降、*Spirodela intermedia*, *Lemna gibba*, *Lemna minor*, *Lemna minuta*, *Lemnajaponica*, *Wolffi australiana*のドラフトゲノムが次々に公開されている (Kim et al., 2010; Wang et al. 2011, 2014; Van Hoeck et al. 2015; Ernst, 2016; Michael et al. 2017, 2021)。これらウ

キクサのゲノム解読から、ゲノムサイズが類似した他の植物ゲノムと比較すると、ウキクサのゲノム内ではタンパク質をコードしている遺伝子数が少ないという興味深い知見が得られている (Acosta et al. 2021)。ウキクサゲノム内の遺伝子数が少ないことから、ウキクサは発生学的・形態学的に他の植物種よりも植物個体が単純であり、組織や細胞の種類も多くないので、機能化された遺伝子を重複する必要性が低い可能性が考えられる。重複した遺伝子数が少ないことは、RNAi, CRISPR, その他の逆遺伝学的アプローチを用いた解析評価が容易となることが予想され、ウキクサを用いた分子遺伝学的解析により、フロリゲンだけでなく、栄養繁殖と生殖繁殖のライフサイクルの分子メカニズムの詳細も明らかになることが期待される。

5. ウキクサの農学的応用の可能性

ウキクサは水質浄化などのバイオレメディエーション資材として昨今注目を集めている (Ziegler et al. 2016)。北海道大学のグループはウキクサの水質浄化機能に着目して、池の水で生育させたウキクサから単離したウキクサ共生微生物 *Acinetobacter calcoaceticus* P23 株が、ウキクサの成長促進機能をもつことを報告している (Yamaga et al. 2010; Suzuki et al. 2013)。また、池に浮いているウキクサに共生する微生物叢の網羅的な解析もアメリカで報告されている (Acosta et al. 2020)。さらに、ウキクサは次世代バイオ燃料の原料や、石油代替化製品原料としてのデンプン原料、あるいはダイズと同等のタンパク質含量から家畜飼料としての利用が欧米で注目を集めている (Lam et al. 2014; Appenroth et al. 2015)。2009年に米国エネルギー省がバイオフィューエル開発・環境浄化対策用植物としてウキクサを取り上げているほか、2015年には京都で第3回ウキクサ国際会議が開催され、我が国でもウキクサに関する応用技術開発機運が高まっている。ウキクサが持つ環境浄化機能やエネルギー資源としての潜在性に大きな注目が集まることで、ウキクサの工学的研究の進展とあわせて、ウキクサが本来の生育環境において果たす役割や機能を利用することにより、水田で繁殖するウキクサに共生する微生物を有効活用した農学的研究の進展も期待される。

慣行栽培水田において、多年生雑草のウキクサは駆除が非常に難しく、増殖が速く、田面水の温度低下の原因ともなることから、水稻の初期生育を抑制するとして農薬により駆除されることもある (佐藤 1979)。一方、有機栽培水田においては、栽培技術として様々な技術が併用されるが、古くからの農家の口伝伝統技術として、多年生雑草ウキクサの利用がある。ウキクサを水面に繁殖させ光遮断することで、除草効果、窒素固定効果、水質浄化効果などが得られるのみでなく、イネ有機栽培のキーとなるトロトロ層の醸成にも寄与することから、これらを通じてウキクサが、イネの生育促進、病害虫・雑草からの保護、環境浄化など多面的機能を有すると長年考えられてきた (農文協 2011)。近年、水田土壌中に存在する窒素固定菌をはじめとして様々な有用土壌共生微生物が単離同定され、土壌改良資材として市場に流通している (Liesack et al. 2000; Cassán and Diaz-Zorita 2016; Seerat et al. 2018; Win et al. 2018)。しかしながら、水中の窒素固定菌などの有用共生微生物の実用化はまだ例が少ない。ウキクサに共生する微生物叢は、イネ有機栽培にととどまらず、植物工場での養液栽培における有機肥料源や汚染排水の浄化問題などの解決につながる可能性も考えられる。今後、様々な作物の栽

培現場において、広い農業場面で、ウキクサに共生する有用微生物を用いた技術応用が期待される。

謝辞

本稿の執筆にあたっては、JSPS科研費（19J40259）および平成30年度横浜学術教育振興財団の研究助成をいただきました。さらに、平成30年度・東京農業大学生物資源ゲノム解析センターの生物資源ゲノム解析拠点事業における共同利用・共同研究の支援を受けて実施しました。また、京都大学の小山時隆先生・伊藤照悟先生、九州大学の村中智明博士より、アオウキクサ *L. aequinoctialis* の分譲と研究への助言をいただきました。この場を借りて御礼申し上げます。

引用文献

- Abe M, Kobayashi Y, Yamamoto S, Daimon Y, Yamaguchi A, Ikeda Y et al (2005) FD, a bZIP protein mediating signals from the floral pathway integrator FT at the shoot apex. *Science* 309, 1052–1056. doi: 10.1126/science.1115983
- Acosta K, Appenroth KJ, Borisjuk L, Edelman M, Heinig U, Jansen MAK, Oyama T, Pasaribu B, Schubert I, Sorrels S et al. (2021) Return of the Lemnaceae: duckweed as a model plant system in the genomics and postgenomics era. *Plant Cell*. 33(10):3207-3234. doi: 10.1093/plcell/koab189
- Acosta K, Xu J, Gilbert S, Denison E, Brinkman T, Lebeis S, Lam E (2020) Duckweed hosts a taxonomically similar bacterial assemblage as the terrestrial leaf microbiome. *PLoS One*. 15(2):e0228560. doi: 10.1371/journal.pone.0228560. eCollection 2020
- Appenroth KJ, Crawford DJ, Les DH (2015) After the genome sequencing of duckweed—how to proceed with research on the fastest growing angiosperm? *Plant Biol*. 17, 1–4. doi: 10.1111/plb.12248
- Bog M, Appenroth KJ, Sree KS (2019) Duckweed (Lemnaceae): its molecular taxonomy. *Frontiers in Sustainable Food*.
- Cassán F and Diaz-Zorita M (2016) *Azospirillum sp.* in current agriculture: From the laboratory to the field. *Soil Biology and Biochemistry*. 103. 117-130. doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.08.020
- Collani S, Neumann M, Yant L, Schmid M (2019) FT Modulates Genome-Wide DNA-Binding of the bZIP Transcription Factor FD. *Plant Physiol*. 180, 367–380. doi: 10.1104/pp.18.01505
- Ernst E (2016) Status of the *Lemna gibba* 7742a and *Lemna minor* 8627 genomes. *ISCDRA* 3, 9–10.

- Fourounjian P, Slovin J, Messing J (2021) Flowering and seed production across the Lemnaceae. *Int. J. Mol. Sci.* 22:2733. doi: 10.3390/ijms22052733
- Fourounjian P, Slovin J, Messing J (2021) Flowering and seed production across the Lemnaceae. *Int. J. Mol. Sci.* 22:2733. doi: 10.3390/ijms22052733
- Fu L, Tan D, Sun X, Ding Z, Zhang J (2020) Transcriptional analysis reveals potential genes and regulatory networks involved in salicylic acid-induced flowering in duckweed (*Lemna gibba*). *Plant Physiol Biochem.* 155:512-522. doi: 10.1016/j.plaphy.2020.08.001
- Kardailsky I, Shukla VK, Ahn JH, Dagenais N, Christensen SK, Nguyen JT, Chory J, Harrison MJ (1999) Activation tagging of the floral inducer FT. *Science* 286, 1962–1965. doi: 10.1126/science.286.5446.1962
- Kim SY, Zhu T, Sung, ZR (2010) Epigenetic regulation of gene programs by EMF1 and EMF2 in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 152, 516–528. doi: 10.1104/pp.109.143495
- Kobayashi Y, Kaya H, Goto K, Iwabuchi M, Araki T (1999) A pair of related genes with antagonistic roles in mediating flowering signals. *Science* 286, 1960–1962. doi: 10.1126/science.286.5446.1960
- 草薙得一 (1978) 水田の多年生雑草の生態とその防除. *雑草研究* 3: 485-497. doi: 10.1584/jpestics.3.Special_485
- Laird RA and Barks PM (2018) Skimming the surface: duckweed as a model system in ecology and evolution. *Am J Bot.* 105(12):1962-1966. doi: 10.1002/ajb2.1194
- Lam E, Appenroth KJ, Michael T, Mori K, Fakhoorian T (2014) Duckweed in bloom: the 2nd International Conference on Duckweed Research and Applications heralds the return of a plant model for plant biology. *Plant Mol Biol.* 84(6):737-42. doi: 10.1007/s11103-013-0162-9
- Landolt E (1986) Biosystematic investigation in the family of duckweeds (“Lemnaceae”). Vol. 2: the family of “Lemnaceae”: a monographic study. Volume 1, Veröffentlichungen des Geobotanischen Institutes ETH, Stiftung Rubel, Zürich
- Lemon GD, Posluszny U. (2000) Comparative shoot development and evolution in the Lemnaceae. *Int. J. Plant Sci.* 161, 733–748. doi: 10.1086/314298
- Liesack W, Schnell S, Revsbech NP (2000) Microbiology of flooded rice paddies. *FEMS Microbiology Reviews*, 24(5) 625–645, doi.org/10.1111/j.1574-6976.2000.tb00563
- Mateo-Elizalde C, Lynn J, Ernst E, Martienssen R (2023) Duckweeds. *Curr Biol.* 6;33(3):R89-R91. doi: 10.1016/j.cub.2022.12.036

- Michael TP, Bryant D, Gutierrez R, Borisjuk N, Chu P, Zhang H, Xia J, Zhou J, Peng H, Baidouri MEI et al. (2017) Comprehensive definition of genome features in *Spirodela polyrhiza* by high-depth physical mapping and short-read DNA sequencing strategies. *Plant J.* 89, 617–635. doi: 10.1111/tpj.13400
- Michael TP, Ernst E, Hartwick N, Chu P, Bryant D, Gilbert S, Ortlén S, Baggs EL, Sree K, Appenroth KJ et al. (2021) Genome and time-of-day transcriptome of *Wolffia australiana* link morphological minimization with gene loss and less growth control. *Genome Res.* 31, 225–238 doi: 10.1101/gr.266429.120
- 中川恭二郎 (1965) 多年生雑草の個生態. 雑草研究 4: 42-48. doi:10.3719/weed.1965.42
- 農文協 編 (2011) 農家が教えるイネの有機栽培. 1-193. 農山漁村文化協会. 東京.
- 大川茂範 (2016) 水田雑草の生存戦略 ; 種間比較から見えてくること. 雑草研究 61: 38-45. doi: 10.3719/weed.61.38
- Park SJ, Jiang K, Tal L, Yichie Y, Gar O, Zamir D et al. (2014) Optimization of crop productivity in tomato using induced mutations in the florigen pathway. *Nat. Genet.* 46, 1337–1342. doi: 10.1038/ng.3131
- 佐藤雅志 (1979) 水田における浮草の生活史. 農業技. 34(9). 395-399. s
- Seerat AY, Ookawa T, Kojima K, Ohtsu N, Maeda M, Djedidi S, Habibi S, Sekimoto H, Abe A Yokoyama, T (2018) Evaluation of the effects of spores and their heat- treated residues from different *Bacillus* strains on the initial growth of rice plants. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 65, 122–136.
- Sun H, Wang C, Chen X, Liu H, Huang Y, Li S, Dong Z, Zhao X, Tian F, Jin W (2020) *dfl1* promotes floral transition by directly activating *ZmMADS4* and *ZmMADS67* in the Maize Shoot Apex. *New Phytologist* 228, 1386–1400. doi: 10.1111/nph.16772
- Suzuki W, Sugawara M, Miwa K, Morikawa M (2014) Plant growth-promoting bacterium *Acinetobacter calcoaceticus* P23 increases the chlorophyll content of the monocot *Lemna minor* (duckweed) and the dicot *Lactuca sativa*. *J. Biosci. Bioeng.* 118(1), 41-44. doi.org/10.1016/j.jbiosc.2013.12.007
- 田口 寛 (1986) 植物の開花誘導物質としてのニコチン酸. ビタミン. 60 (9): 467. doi.org/10.20632/vso.60.9_467_1
- 田中修 (1986) アオウキクサの花芽分化誘導機構. 遺伝: 生物の科学 40 (8), p23-29.

- Taoka KI, Ohki I, Tsuji H, Furuita K, Hayashi K, Yanase T, Yamaguchi M, Nakashima C, Purwestri YA, Tamaki S et al. (2011) 14-3-3 proteins act as intracellular receptors for rice Hd3a Florigen. *Nature* 476:7360. doi: 10.1038/nature10272
- Tylewicz S, Tsuji H, Miskolczi P, Petterle A, Azeez A, Jonsson K, Shimamoto K, Bhalerao RP (2015) Dual role of tree florigen activation complex component FD in photoperiodic growth control and adaptive response pathways. *Proceed. Nat. Acad. Sci. U. S. A.* 112:142440112. doi: 10.1073/pnas.1423440112
- Van Hoeck A, Horemans N, Monsieurs P, Cao HX, Vandenhove H, Blust R (2015) The first draft genome of the aquatic model plant *Lemna minor* opens the route for future stress physiology research and biotechnological applications. *Biotechnol. Biofuels* 8:188. doi: 10.1186/s13068-015-0381-1
- Wang W, Randall AK, Todd P, Michael R (2011) Evolution of genome size in duckweeds (*Lemnaceae*). *J. Bot.* 570:319. doi: 10.1155/2011/570319
- Wang WG, Haberer H, Gundlach C, Gläßer T, Nussbaumer MC, Luo MC, Lomsadze A, Borodovsky M, Kerstetter RA, Shanklin J et al. (2014) The *Spirodela Polyrhiza* genome reveals insights into its neotenus reduction fast growth and aquatic lifestyle. *Nat. Commun.* 5:3311. doi: 10.1038/ncomms4311
- Wigge PA, Kim MC, Jaeger KE, Busch W, Schmid M, Lohmann, JU, Weigel D(2005) Integration of spatial and temporal information during floral induction in *Arabidopsis*. *Science* 309, 1056–1059. doi: 10.1126/science.1114358
- Win KT, Oo AZ, Ohkama-Ohtsu N, Yokoyama T (2018) *Bacillus Pumilus* strain TUAT-1 and nitrogen application in nursery phase promote growth of rice plants under field conditions. *Agronomy (Basel)*, 8, 216–227.
- 山賀文子, 鷺尾健司, 森川正章 (2008) 持続的環境浄化技術を拓くウキクサと根圏微生物の共生系. *化学と生物* 46(10). 682-688. doi.org/10.1271/kagakutoseibutsu.46.682
- Yamaga F, Washio K, Morikawa M (2010) Sustainable biodegradation of phenol by *Acinetobacter calcoaceticus* P23 isolated from the rhizosphere of duckweed *Lemna aoukikusa*. *Environ. Sci. Technol.* 2010, 44, 16, 6470–6474. doi.org/10.1021/es1007017
- Yukawa I and Takimoto A. (1976) Flowering response of *Lemna paucicostata* in Japan. *Bot. Mag.* 89, 241–250 doi: 10.1007/BF02488346
- Yoshida A, Taoka KI, Hosaka A, Tanaka K, Kobayashi H, Muranaka T, Toyooka K, Oyama T, Tsuji H (2021) Characterization of Frond and Flower Development and Identification of FT and FD

Genes From Duckweed *Lemna aequinoctialis* Nd. Front Plant Sci. 11;12:697206. doi:
10.3389/fpls.2021.697206. eCollection

Ziegler P, Adelman K, Zimmer S, Schmidt C, Appenroth KJ (2015). Relative in vitro growth rates of duckweeds (Lemnaceae)—the most rapidly growing higher plants. Plant Biol. 17, 33–41. doi:
10.1111/plb.12184

Ziegler P, Sree KS, Appenroth KJ (2016) Duckweed for water remediation and toxicity testing. Toxicol. Environ. Chem. 98, 1127–1154. doi: 10.1080/02772248.2015.1094701

野生植物にみる多様な栄養繁殖戦略

荒木 希和子^{1,2}

¹滋賀県立大学環境科学部
〒522-8533 滋賀県彦根市八坂町 2500

²立命館大学総合科学技術研究機構
〒525-8577 滋賀県草津市野路東 1-1-1

Diverse strategies of vegetative reproduction in wild plants

Kiwako S. Araki^{1,2}

¹School of Environmental Science, The University of Shiga Prefecture,
2500, Hassaka, Hikone, Shiga, 522-8533, Japan

²Research Organization of Science and Technology,
Ritsumeikan University,
1-1-1, Nojihigashi, Kusatsu, Shiga, 525-8577, Japan

Keywords: life-history, reproductive strategy, rhizomatous plants, vegetative reproduction

DOI: 10.24480/bsj-review.14b6.00247

1. はじめに

野外ではある植物が一面に分布していたり、パッチを形成している様子をしばし目にする(図1)。これらは少なからず旺盛な栄養繁殖によって広がり、数mから数十mときに数百mにわたって広がっている場合もある(例えば Suyama et al. 2000; Araki et al. 2007; de Witte and Stöcklin 2010)。栄養繁殖は、栄養器官から生理的・物理的に独立な株(ラメット ramet)を増殖する個体(ジェネット genet, genetic individual)の能力と捉えられる(これをクローン成長(clonal growth), クローン繁殖(clonal reproduction)と呼ぶこともあるが本稿では一貫して栄養繁殖と記す)。栄養繁殖器官は株間の資源の輸送や貯蔵器官として機能することから、栄養繁殖を行う植物は環境により柔軟に応答することができ、ゆえにその挙動が着目されてきた。種子植物には種子による有性繁殖に加えて、この栄養繁殖を行う種が数多く存在し、栄養繁殖がジェネットの維持ひいては集団の存続に重要な役割を果たしている種も少なくない。また、栄養繁殖には形態や機能に多様な様式があり、その頻度や集団への寄与もさまざまである。Fisher and van Kleunen (2002)は栄養繁殖を行う植物の生活史を、栄養繁殖と有性繁殖による更新、栄養繁殖器官による繁殖様式、ラメットの選択的配置による柔軟な応答性、そして栄養繁殖器官によるラメット間の統合の程度によって特徴づけられるとしている。

本稿では、野外に生育する植物の生活史特性に基づいて、集団の維持における栄養繁殖の寄与と栄養繁殖器官の成長に関わる環境要因についての調査研究を紹介する。



図 1. 栄養繁殖を行う野生植物の集団の様子。

集団内には栄養繁殖により広がった株が分布していることがうかがえる（ただし外見から正確には判断できない）。(a) コンロンソウ (*Cardamine leucantha*); (b) ミズタガラシ (*Cardamine lyrata*); (c) *Cardamine trifolia*; (d) パイケイソウ (*Veratrum album* subsp. *oxysepalum*)。

2. 栄養繁殖の多様性

2-1. 栄養繁殖器官の多様性

栄養繁殖は、茎や根、葉、そして花といった植物体のあらゆる器官でなされる (Klimeš et al. 1997; Bell 2008)。いずれも無性的に新たな株を形成するという点で共通しているが、形態や発達過程は様々である。腋芽に由来する零余子（むかご）や頂芽に由来する不定芽を形成する様式のほかに、茎に由来する鱗茎や塊茎、送出枝・匍匐枝、地下茎、根に由来する塊根や横走根などの栄養繁殖器官を発達させて新たな株を形成する栄養繁殖様式が知られている（図 2）。茎に由来する栄養繁殖器官を用いるものは、主要な栄養繁殖様式であるとともに多様であるが、清水（1995）は地下部器官である地下茎には厳密には根茎・地下匍匐枝・球茎・塊茎・鱗茎に分類されるものがあるとしている。

一方、これらの器官を形態と機能により便宜的に分類すると、茎や枝状の器官を水平方向に伸長させてその先端に株を形成する水平型のもので、イモや球根を発達させてそこから新たな株を形成する肥大型のものに分けられる。機能的には、水平型の方が主に株間の資源輸送の役割を担うのに対し、肥大型は資源貯蔵器官として機能する。資源輸送機能は、離れたところに株を配置しても株間の物理的・生理的つながりを維持して栄養やシグナルをやり取

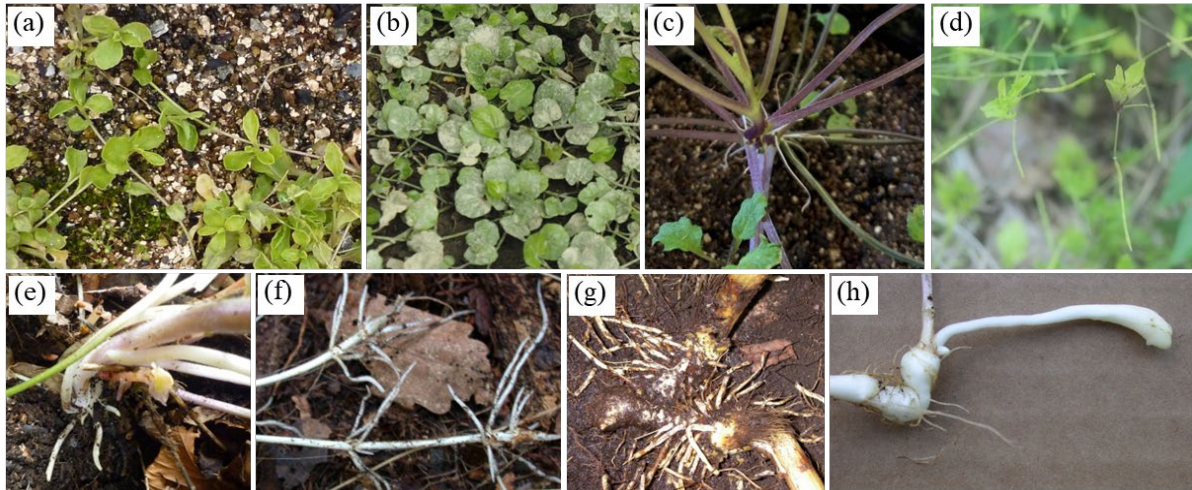


図 2. 多様な栄養繁殖器官と栄養繁殖様式の例。

(a) スズシロソウ (*Arabis flagellosa*) の地上匍匐枝; (b) ミズタガラシ (*Cardamine lyrata*) の地上匍匐枝; (c) *Cardamine flexuosa* の地上茎からの不定根; (d) ハクサンハタザオ (*Arabidopsis halleri*) の花からの不定芽; (e) コンロンソウ (*Cardamine leucantha*) の根茎; (f) スズラン (*Convallaria keiskei*) の根茎; (g) バイケイソウ (*Veratrum album* subsp. *oxysepalum*) の塊茎; (h) *Medeola virginiana* の塊茎。

りするような生理的統合 (physiological integration) を高めたり, 株間で食害や感染を危険分散 (risk spreading) させたり, 獲得しやすい資源を獲得して交換する分業 (division of labour) を行うことに機能し, 不均一性の高い環境や攪乱の多い環境において有効である (Jackson et al. 1985)。これに対して資源貯蔵機能は, 資源を貯えて不適な時期をやり過ごすことを可能にし, また貯蔵資源を使うことでサイズが大きく繁殖までの成長期間の短い株を形成できる。ゆえに, 貧栄養やストレスな環境での生育に適している。このような機能を組み合わせた栄養繁殖器官を持つことで, 環境に柔軟に応答する栄養繁殖植物の生活史戦略が進化してきたことから (Fisher and van Kleunen 2002; Franklin et al. 2021), 多様な栄養繁殖は植物の環境適応そして植物の多様化に寄与してきたと考えられる。

2-2. 栄養繁殖を行う植物の生活史戦略

個体の出生から死亡に至るまでの生活史過程において, 栄養繁殖を行うタイミングや頻度, 数は植物種によって異なり, その集団への寄与もさまざまである。上記で述べた特徴から栄養繁殖は, 有性繁殖が必ずしも高い確率で保証されない環境や, 高地や極地のように生育期間が短い場所で適応的な戦略であるとされるが, 比較的安定的な森林の林床の種にも多く見られる (河野 2004; Whigham 2004; Silvertown 2008)。ここでは, 異なる栄養繁殖戦略をもつスズラン (*Convallaria keiskei*) とオオウバユリ (*Cardiocrinum cordatum* var. *glehnii*) の例を紹介する。スズランは種子から発芽後, 一枚から二枚葉へ成長して開花し, 地下茎を伸ばして栄養繁殖を行う (Ohara et al. 2006a)。オオウバユリも実生から年々成長し, 葉の数を増やして開花に至り, 鱗茎を発達させて栄養繁殖する (Ohara et al. 2006b)。どちらも主に落葉広葉樹林の林床に生育し, ゆっくり成長するため開花までに 10 年ほどかかる。種子繁殖

では、スズランは株が繰り返し開花する多回繁殖で自家不和合性なのに対して、オオウバユリは開花後に必ず枯死する一回繁殖で自家和合性を示す。実際にその動態を追跡調査したところ、5年間で栄養繁殖を行ったスズランの株のうち、栄養繁殖のみ行ったものと栄養繁殖の翌年に開花したものが、開花後に栄養繁殖したものより明らかに多く、種子繁殖より先に栄養繁殖を行うことがわかった (図 3a)。オオウバユリでは開花の年もしくはその数年前に基部に鱗茎を形成して栄養繁殖を行うが、全ての個体が鱗茎を作ることはなく、十分な・余剰な資源がある、より大きい株ほど栄養繁殖を行っていた

(Nishizawa and Ohara 2018)。

繁殖戦略は集団構造にも反映される。サイズ構造を表すと、オオウバユリでは圧倒的に種子由来の実生が多い分布であるのに対し、スズランでは中間的なサイズが多い一山型の分布をしており (図 3b-c)、スズランでは栄養繁殖による次世代の加入が集団構造に大きく寄与していると考えられる。さらに集団の空間分布でも、スズランではしばしば数 m から数十 m にわたって単一のジェネットが広がることもある (Araki et al.

2007)。それに対してオオウバユリで調べた例では、開花した株のごく近くに同じジェネット (遺伝子型) の株があるが、それ以外の株はほぼ違う遺伝子型であった。

すなわち、それぞれの栄養繁殖戦略をまとめると、スズランは資源の少ない小さい段階から地下茎を伸ばして栄養繁殖を行う。その後も一定期間は地上茎によって株

間の繋がりを保ち、いずれかの株が再び地下茎を伸ばすこともある。一方で、オオウバユリは開花時かそれに近い成長段階で余剰の資源があるときのみ娘鱗茎を作る。また、スズランではジェネットや集団の維持に栄養繁殖の寄与が大きく、オオウバユリでは種子繁殖の寄与が大きく異なる戦略によって集団が維持されているといえる。

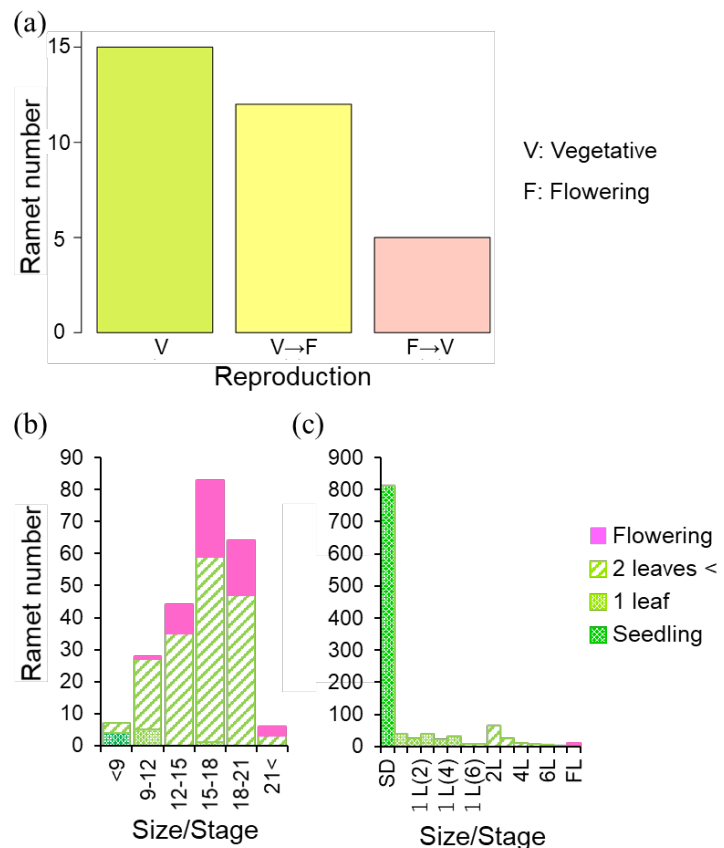


図 3. 栄養繁殖パターンと集団のサイズ構造.

(a) スズランの栄養繁殖を行った株 (ラメット) の繁殖順序ごとの頻度 (5年間の集計); (b) スズランのサイズ構造 (サイズは葉身の長さでステージ分け); (c) オオウバユリのサイズ構造 (サイズは葉数と大きさとでステージ分け)。スズランは Araki and Ohara (2008), オオウバユリは Araki et al. (2010) のデータをもとに作成。

3. 栄養繁殖器官の環境応答性

3-1. 栄養繁殖器官の伸長と株の配置

形態的特徴は機能的な特異性にも関わる。その一つに水平な伸長型の栄養繁殖器官である匍匐枝や地下茎では、栄養繁殖器官を伸長させる際に、周囲の環境をあたかもセンシングして資源を探索するように伸長し、器官を柔軟に発達させてより良い場所に新たな株を配置するような応答性を示す。この表現型可塑性は

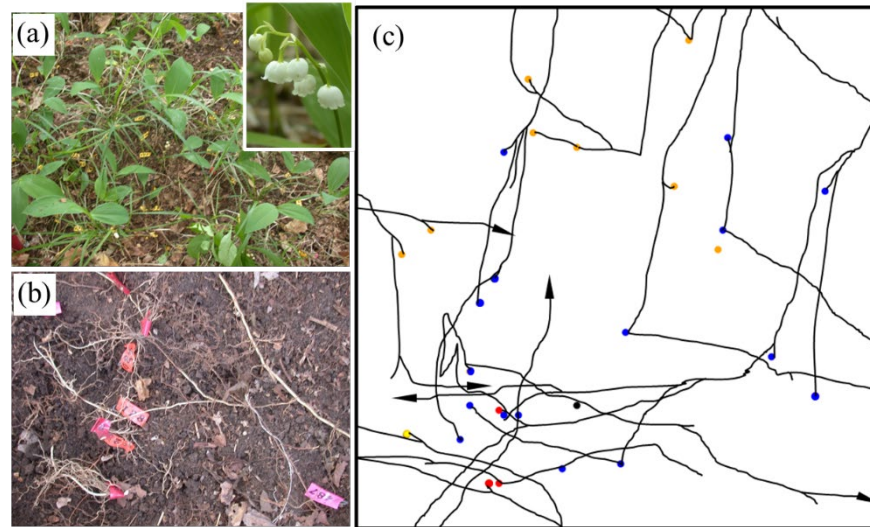


図4. スズラン (*Covallaria keiskei*) の集団を地上・地下から観察した様子。

(a) 地上部から見た場合; (b) 地下部の地下茎と根を掘り起こした場合; (c) 地下茎のつながりを記録した図 ($1 \times 1 \text{ m}^2$)。○：ラメットの位置、各色：ジェネット、▲：芽の位置。

採餌行動 (Foraging behavior) と呼ばれており (Bell 1984) , 水平に伸長する器官 (スパーサー) の長さを変化させて、近くもしくは遠くに株を配置することができるというものである。例えばウコギ科チドメグサ属の匍匐枝によって栄養繁殖を行う *Hydrocotyle bonariensis* を使った圃場実験において、競争種がパッチ状に占有しているプロットでは、競争種のパッチで株間の距離 (Internode) を伸ばして早く空きパッチ (良い環境) へ移る。一方で、周囲に妨げるものがないプロットでは、分枝数 (Branching) を増やして株密度を高めるという挙動を示し、周囲環境に対して応答を変化させることが確認された (Cain and Damman 1997) 。また、物理的環境が不均一な条件で、同属の在来種と侵略的外来種の株の配置パターンを調べた栽培実験では、外来種の方が資源の乏しい環境ではよりサイズの大きな株を少なく分布させており、行き着いた環境に応じて可塑的に形態を変化させて性能を高め、環境に適応して競争力を高めていることが示唆された (Chen et al. 2019) 。

しかしながら、野外では環境は様々な要因によって不均一である上に、地下茎を伸長させる種では地上からその挙動がわからず、その伸長パターンや環境応答に関する知見は限定的である (例えば Logofet 2016; Tomimatsu et al. 2020) 。スズランでは地上からは図 4a のように見えて、掘ってみると地下茎が出てくるが、全体を掘ってみてもとにかく入り組んでいて複雑である (図 4) 。広域で場所や年ごとの違いを調べた場合でも、栄養繁殖の頻度やパターンを把握することはできたとしても、株の配置に好適な場所や伸長方向のパターンを見出すことは困難であった。

3-2. 遺伝子発現からみた地下茎の環境応答性

地下茎は茎から発達した栄養繁殖器官である。よって地下茎は茎頂分裂組織に由来するものの、土壤中を水平方向に伸長しその先端に次世代の娘株を形成する。ゆえに地下茎による栄養繁殖は土壤環境にも影響を受けると考えられるが、地上から観察できないため、地下部の栄養繁殖器官の挙動や応答性は十分理解されていない。そこで地下茎をもつアブラナ科のコンロンソウ (*Cardamine leucantha*) を対象に地下茎の器官特異的な環境応答性から栄養繁殖戦略の解明を進めてきた。コンロンソウは多年草であるが、親株は翌年には枯死して栄養繁殖でつくられた娘株のみが地上に残るため、疑似一年草 (pseudo-annual) ともよばれる生活史をもつ (Araki et al. 2021)。したがって地下茎が伸長して新たな株を生産することは、その親株の存続とジェネットの生存に必須であり、複数の株が生産された場合のみ株の増殖 (繁殖) に寄与する。

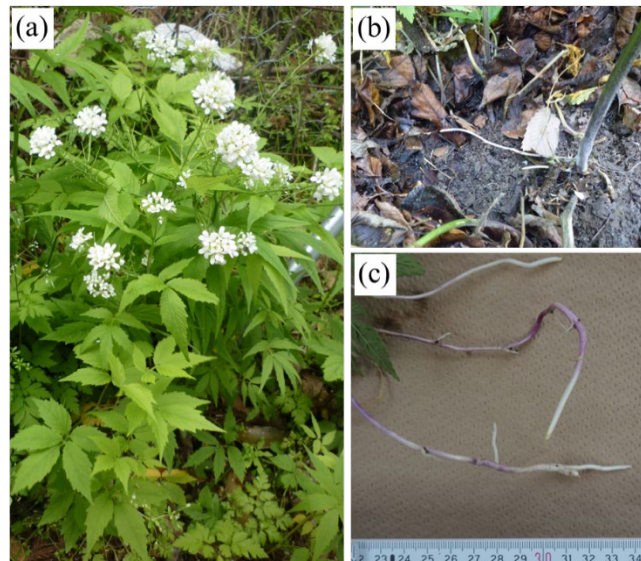


図 5. コンロンソウ (*Covallaria keiskei*) の株と地下茎の伸長の様子。

(a) 開花期の地上部; (b) 地下茎が伸長している株; (c) 伸長している地下茎の先端。

コンロンソウの地下茎は、3-4月に花茎が伸長すると同時に水平方向へ伸長しはじめる (図 5)。地下茎の遺伝子発現レベルでの特性を調べるため、開花期の地下茎・シュート (花)・根の先端および葉の RNA-seq を行い、トランスクリプトームを解析したところ、開花期の地下茎の遺伝子発現は地上部シュートと根の両方に似たパターンを示し、中でも生物防御や光受容など、環境応答に関連する遺伝子の発現パターンが根と共通であることがわかった (Araki et al. 2020)。特にアブラナ科植物で生物への防御応答に関わるとされる ER body がコンロンソウの地下茎にも存在することが確認された。ER body は忌避物質の生成に関与する β グルコシダーゼを含む小胞体由来の細胞小器官である (例えば Matsushima et al. 2002; Ogasawara et al. 2009; Yamada et al. 2020)。コンロンソウでは、シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) の根や胚軸にみられる ER body に関連する遺伝子 (*BGLU23/PYK10*, *NAI2* など) と相同な遺伝子の発現が根と地下茎で高くなっていた。さらに、シロイヌナズナの子葉で誘導的にみられる ER body に関連する遺伝子 (*BGLU18*) もコンロンソウ地下茎で高く、地上部と地下部の両方の特性を併せ持つ全体の発現パターンと矛盾しなかった。

さらに野外に生育する株では、地下茎の先端が伸長途中で枯死して伸長を停止するものが少なからず見られる。その原因は明らかになっていないが、枯死している地下茎がある株では、枯死している地下茎がない健全な株と比べて、地下茎の防御応答性が高い傾向が見られている。そして、地下茎の防御応答は個株のフェノロジーによっても変化し、これらは土壤

の生物性や物理性によって異なる傾向が見られている。さらに地下茎には根や土壌中とは異なる微生物叢が形成されており、器官特異的な相互作用が繁殖戦略にかかわっているかもしれない。疑似一年草では、少なくとも一本の地下茎を生存させて新たな株をつくるのがその親株の存続に必須であり、このような応答性はある地下茎が枯死した場合でも残りの地下茎を維持して、次世代の株の適応を高めることに寄与する可能性がある。

以上より、地下茎の環境応答には、地上と地下の環境が関わっており、季節変化や土壌環境に安定的な応答性を維持しつつ、土壌中の環境変化に柔軟に応答することが考えられる。野外で見られる複雑な地下茎の配置には、このような植物地下部の応答性と土壌生物を含めた土壌環境との関係が関わっていることが示唆される。植物の栄養繁殖が生物群集や生態系の土壌機能にも大きく関わるということが指摘されており (Ott et al. 2019; Franklin et al. 2021) , 今後着目すべき点の一つである。

今後の展望

栄養繁殖を行う植物は生態学において広く扱われており、特に環境に対して柔軟に応答する特異的な挙動が注目されてきた (例えば Abrahamson 1980; van Groenendael and de Kroon H 1990; de Kroon and van Groenendael 1997) 。そのメカニズムはあまり着目されてこなかったが、野外の栄養繁殖植物の分子生物学的な解析が進むことで、その機能や環境応答性に関して新たな知見が得られるかもしれない。コンロンソウの遺伝子発現解析では、一見してわからないような地下茎の地下部での応答性の一端が確認できた。

栄養繁殖は野外に生育する植物にとって集団の維持に重要な戦略であるが、時に旺盛な栄養繁殖より侵略的外来種として脅威となることもあれば、農作物としてその機能が活用されることもある。今後モデル植物や農作物種を対象に解明されてきた栄養繁殖メカニズムの知見や多角的なアプローチを用いることで、多様な栄養繁殖戦略の理解が深まることを期待したい。

謝辞

本稿で紹介した研究を行うにあたり、北海道大学の大原雅教授ならびに京都大学の工藤洋教授をはじめ、多くの方々のお世話になりました。またこれらの研究の一部は科研費

(19K06861, 19H03294) の助成を受けて行いました。この場を借りてお礼申し上げます。本稿の執筆にあたっては、企画オーガナイザーである別所-上原奏子博士と天野瑠美博士ならびに日本植物学会電子出版物編集委員会に心より感謝申し上げます。

引用文献

Abrahamson W (1980) Demography and vegetative reproduction. In: Solbrig, OT (ed), Demography and evolution in plant populations: Botanical monographs, Volume 15. Olympic Marketing Corp, pp. 89–106.

Araki KS, Nagano AJ, Nakano RT, Kitazume T, Yamaguchi K, Nishimura-Hara I, Shigenobu S, Kudoh H (2020) Characterization of rhizome transcriptome and identification of a rhizomatous ER body in the clonal plant *Cardamine leucantha*. Sci Rep 10:13291. doi: 10.1038/s41598-020-69941-9

- Araki K, Ohara M (2008) Reproductive demography of ramets and genets in a rhizomatous clonal plant *Convallaria keiskei*. *J Plant Res* 121: 147–154. doi: 10.1007/s10265-007-0141-9
- Araki K, Shimatani K, Nishizawa M, Yoshizane T, Ohara M (2010) Growth and survival patterns of *Cardiocrinum cordatum* var. *glanii* (Liliaceae) based on a 13-year monitoring study: Life history characteristics of a monocarpic perennial herb. *Botany* 88: 745–752. doi: 10.1139/B10-041
- Araki K, Shimatani K, Ohara M (2007) Floral distribution, clonal structure, and their effects on pollination success in a self-incompatible *Convallaria keiskei* population in northern Japan. *Plant Ecol* 189: 175–186. doi: 10.1007/s11258-006-9173-9
- Araki KS, Tsujimoto M, Iwasaki T, Kudoh H. (2021) Life-history monographs of Japanese plants 14: *Cardamine leucantha* (Tausch) O. E. Schulz (Brassicaceae). *Plant Species Biol* 36: 542–553. doi: 10.1111/1442-1984.12345
- Bell AD (1984) Dynamic morphology: a contribution to plant population ecology. In Dirzo R, Sarukhan J (eds), *Perspectives on plant population ecology*. Sinauer, Sunderland, pp. 48–65.
- Bell AD (2008) *Plant form: An illustrated guide to flowering plant morphology*. Timber Press.
- Cain ML, Damman H (1997) Clonal growth and ramet performance in the woodland herb, *Asarum canadense*. *J Ecol* 85: 883–897. doi: 10.2307/2960609
- Chen D, Ali A, Yong XH, Lin CG, Niu XH, Ai-Ming Cai AM, Dong BC, Zhou ZX, Wang YJ et al. (2019) A multi-species comparison of selective placement patterns of ramets in invasive alien and native clonal plants to light, soil nutrient and water heterogeneity. *Sci Total Environ* 657: 1568–1577. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.12.099
- de Kroon H, van Groenendael J (1997) *The ecology and evolution of clonal plants*. Backhuys Publishers.
- de Witte LC, Stöcklin J (2010) Longevity of clonal plants: why it matters and how to measure it. *Ann Bot* 106: 859–870. doi: 10.1093/aob/mcq191
- Fischer M, van Kleunen M (2002) On the evolution of clonal plant life histories. *Evol Ecol* 15: 565–582. doi: 10.1023/A:1016013721469
- Franklin S, Alpert P, Salguero-Gómez R, Janovský Z, Herben T, Klimešová J, Douhovnikoff V (2021) Next-gen plant clonal ecology. *Perspect Plant Ecol Evol Syst* 49: 125601. doi: 10.1016/j.ppees.2021.125601
- Jackson JBC, Buss LW, Cook RE (1985) *Population biology and evolution of clonal organisms*. Yale University Press, New Haven.
- 河野昭一 (監修) (2004) 植物生活史図鑑 I 春の植物 No. 1. 北海道大学図書刊行会, 札幌
- Klimeš L, Klimesova J, Hendriks R, van Groenendael J (1997) Clonal plant architecture: a comparative analysis. In: de Kroon H, van Groenendael J (ed), *The ecology and evolution of clonal plants*. Backhuys Publishers, pp. 1–30.
- Logofet DO (2016) Estimating the fitness of a local discrete-structured population: From uncertainty to an exact number. *Ecol Model* 329: 112–120. doi: 10.1016/j.ecolmodel.2016.02.015
- Matsushima R, Hayashi Y, Kondo M, Shimada T, Nishimura M, Hara-Nishimura I (2002) An endoplasmic reticulum-derived structure that is induced under stress conditions in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 130: 1807–1814. doi: 10.1104/pp.009464

- Nishizawa M, Ohara M (2018) The role of sexual and vegetative reproduction in the population maintenance of a monocarpic perennial herb, *Cardiocrinum cordatum* var. *glehnii*. *Plant Species Biol* 289–304. doi: 10.1111/1442-1984.12223
- Ogasawara K, Yamada K, Christeller JT, Kondo M, Hatsugai N, Hara-Nishimura I, Nishimura M (2009) Constitutive and inducible ER bodies of *Arabidopsis thaliana* accumulate distinct β -glucosidases. *Plant Cell Physiol* 50: 480–488. doi: 10.1093/pcp/pcp007
- Ohara M, Araki K, Yamada E, Kawano S (2006a) Life-history monographs of Japanese plants. 6: *Convallaria keiskei* Miq. (Convallariaceae). *Plant Species Biol* 21: 119–126. doi: 10.1111/j.1442-1984.2006.00157.x
- Ohara M, Narumi T, Yoshizane T, Okayasu T, Masuda J, Kawano S (2006b) Life-history monographs of Japanese plants. 7: *Cardiocrinum cordatum* (Thunb.) Makino (Liliaceae). *Plant Species Biol* 21: 201–207. doi: 10.1111/j.1442-1984.2006.00166.x
- Ott JP, Klimešová J, Hartnett DC (2019) The ecology and significance of below-ground bud banks in plants. *Ann Bot* 123: 1099–1118. doi: 10.1093/aob/mcz051
- 清水建美 (1995) 日本草本植物根系図説. 平凡社, 東京.
- Silvertown J (2008) The evolutionary maintenance of sexual reproduction: Evidence from the ecological distribution of asexual reproduction in clonal plants. *Int J Plant Sci* 169: 157–168. doi: 10.1086/523357
- Suyama Y, Obayashi K, Hayashi I (2000) Clonal structure in a dwarf bamboo (*Sasa senanensis*) population inferred from amplified fragment length polymorphism (AFLP) fingerprints. *Molecular Ecology* 9: 901–906. doi: 10.1046/j.1365-294x.2000.00943.x
- Tomimatsu H, Matsuo A, Kaneko Y, Kudo E, Taniguchi Y, Saitoh T, Suyama Y, Makita A (2020) Spatial genet dynamics of a dwarf bamboo: clonal expansion into shaded forest understory contributes to regeneration after an episodic die-off. *Plant Species Biol* 35: 185–196. doi: 10.1111/1442-1984.12272
- van Groenendael JM, de Kroon H (1990) Clonal growth in plants: regulation and function. SPB Academic Publishing.
- Whigham DF (2004) Ecology of woodland herbs in temperate deciduous forests. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 35: 583–621. doi: 10.1146/annurev.ecolsys.35.021103.105708
- Yamada K, Goto-Yamada S, Nakazaki A, Kunieda T, Kuwata K, Nagano AJ, Nishimura M, Hara-Nishimura I (2020) Endoplasmic reticulum-derived bodies enable a single-cell chemical defense in Brassicaceae plants. *Commun Biol* 3: 21. doi: 10.1038/s42003-019-0739-1