

植物の多彩な生殖戦略を支える制御機構 ～もう一度花成を考えてみる～

阿部 光知¹, 村中 智明²

¹東京大学 大学院総合文化研究科 広域科学専攻 生命環境科学系
〒153-8902 東京都目黒区駒場 3 丁目 8-1
²名古屋大学 生命農学研究科
〒464-0804 愛知県名古屋市千種区不老町

Molecular mechanisms underlying diverse reproductive strategies in plants – Reconsidering flowering again –

Mitsutomo Abe¹, Tomoaki Muranaka²

¹Department of Life Sciences, Graduate School of Arts and Sciences,
The University of Tokyo
3-8-1 Komaba, Meguro-ku, Tokyo, 153-8902, Japan
²Graduate School of Bioagricultural Sciences, Nagoya University
Furo-cho, Chikusa-ku, Aichi, 464-8601, Japan

DOI: 10.24480/bsj-review.14c1.00248

植物は、栄養成長期に資源を蓄積し、生殖成長期へと移行した後に有性生殖をおこなう。一連のプロセスは、繁殖効率に大きく影響を及ぼすことから、日長・温度などの外的環境要因、植物ホルモンなどの内生要因の情報統合によって決定される複雑な生理現象である。本総説集は、令和4年9月に京都府立大学・下鴨キャンパスで開催された日本植物学会 第86回大会において開催されたシンポジウム「植物の多彩な生殖戦略を支える制御機構～もう一度花成を考える～」の演者を中心に、光周性花成をはじめとする植物の生殖過程に関する最新知見をとりまとめたものである。

1920年に発見された光周性花成現象（日長の季節変化を植物が感知し花を咲かせる現象）は、現在では多くの生物で発見されている「光周性現象」の先駆けとなった歴史的発見である。現在では、シロイヌナズナやイネといったモデル植物を用いた分子遺伝学・分子生物学的な研究によって、光周性花成現象の理解は飛躍的な進歩を遂げている。一方で、こうした分子的理解の基盤は、1900年代前半に精力的になされた、膨大な数の生理学的研究の成果に基づいていることも疑いのない事実である。本稿では、そうした過去の歴史的背景にも触れながら、各執筆者が取り組む研究課題の現在地をとりまとめることとした。花成ホルモンであるフロリゲンの実体として同定されたシロイヌナズナの *FT* 遺伝子をはじめ、花成経路の遺伝子は植物に広く保存されている。一方で、花成制御は種間でも種内でも多様化している。花成の分子基盤が明らかとなった現在、花成研究分野は進化や生態に分子生物学的に切り込む先鞭になり得ると考えている。そこで、幅広い生物種と多様な視点を扱う研究者を集め、執筆をお願いした。

順に、シロイヌナズナにおける花成研究の経緯とフロリゲンの輸送（阿部）、野外におけるシロイヌ

ナズナの季節性花成 (久保田), アオウキクサの光周性花成 (村中), イチゴの光周性花成 (黒倉), そして植物の老化と寿命 (白川) について概説する。シロイヌナズナを用いた最近の研究動向に加えて, 普段目にするものの少ないアオウキクサやイチゴの知見に触れることは, 植物の多彩な繁殖戦略を知るきっかけとして大変意義深いのではないだろうか。ゲノム情報の解析技術の進歩がもたらす研究対象の多様化は, 間違いなく今後の研究トレンドの一つになっていく。上述のように, 植物の繁殖戦略は多彩であり, 今後も様々な研究材料を用いユニークな現象の理解に取り組むことによって, 数多の新発見がもたらされるに違いないと期待している。その一方で, モデル植物における現象理解の一層の深化は, 今後も不可欠である。フロリゲンの発見を機に一息ついた感のある光周性花成研究であるが, 依然として未解明の課題は取り残されており, 新奇な技術, 視点を導入することによって新たな展開が生まれようとしている。「モデル植物を用いた理解の深化」と「非モデル植物におけるメカニズムの多様性理解」が有機的につながることによって, 花成現象については植物の繁殖戦略の理解が一層深まることを大いに期待している。

最後に, シンポジウムの開催に尽力してくださった大会実行委員の方々, 執筆の機会を提供してくださった電子出版物編集委員の方々に, この場を借りて深く感謝する。

シロイヌナズナにおける光周性花成を誘導する長距離シグナル

阿部 光知

東京大学 大学院総合文化研究科 広域科学専攻 生命環境科学系
〒153-8902 東京都目黒区駒場 3 丁目 8-1

Long-distance signals that induce photoperiodic flowering in *Arabidopsis thaliana*

Mitsutomo Abe

Department of Life Sciences, Graduate School of Arts and Sciences,
The University of Tokyo
3-8-1 Komaba, Meguro-ku, Tokyo, 153-8902, Japan

Keywords: *Arabidopsis thaliana*, flowering, florigen, FLOWERING LOCUS T, FD

DOI: 10.24480/bsj-review.14c2.00249

1. はじめに

茎頂分裂組織のアイデンティティー転換に端を発し、栄養器官である「葉」の代わりに生殖器官である「花」をつくり始める一連の分化プロセスの変化を「花成 (floral transition)」と呼ぶ。花成のタイミングは繁殖の成否に極めて大きな影響を及ぼす。そのため、後述する様々な環境要因によって花成時期は厳密に制御されている。なかでも好適な日長によって花成が誘導される光周性花成現象は、花成ホルモン (フロリゲン) の存在も相まって、これまでに多くの植物研究者の興味を惹きつけてきた。本稿では、シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) におけるフロリゲン研究を概説するとともに、最近の進展を紹介する。

2. 遺伝学的アプローチを用いたシロイヌナズナ花成研究のはじまり

1920 年に Garner と Allard によって発見された光周性花成現象は、花成生理学者による精力的な検証の結果、1937 年に Chailakhyan によって提唱されたフロリゲン仮説へと結実した。その結果、フロリゲンは単なる花成誘導物質ではなく、①適当な光周期を受容した葉で産生される、②篩管を通過して茎頂へと輸送される、③茎頂分裂組織で花芽形成を引き起こす、④種を超えて共通である、⑤接木面を介して伝達可能である、の要件を全て満たす難物に位置付けられてきた。シロイヌナズナの FLOWERING LOCUS T (FT) がフロリゲンの分子実体であることが見出されるまで 70 年もの歳月を必要としたのには (Abe et al. 2005; Corbesier et al. 2007; Wigge et al. 2005), こうした背景が隠されている。

フロリゲンの分子実体の発見には、シロイヌナズナを用いた分子遺伝学的アプローチが大きな貢献を果たしてきた。なかでも、初めて花成遅延変異体を体系的に解析した Koornneef ら (1991) の報告 (11 遺伝子座に起因する 42 の花成遅延変異体の表現型解析) は、現代の花成研究における出発点と

もいうべき報告である。注目すべきは、日長や温度に対する各変異体の応答性をもとに、筆者らが 11 の変異体を 3 つのグループに分類し (表 1), 各遺伝子機能の関連性を予見した点にある。

植物は、花成時期の決定に際し、外部環境・体内環境からの情報を巧みに利用している。実際にシロイヌナズナの遺伝学的な解析によって、外的・内的環境情報の変化は複数の情報伝達経路 (光周期経路, 春化経路, ジベレリン経路, 自律的経路等) を経由し、各制御経路からの情報を統合する経路統合遺伝子の発現量へと還元されることが明らかになっている (Simpson and Dean 2002)。Koorneef らの予見の妥当性は、後に各変異体から原因遺伝子が同定され、各遺伝子間の分子的な機能連関が明らかにされたことによって改めて証明されることとなった。表 1 に挙げられた 11 の変異体 (遺伝子) は、シロイヌナズナの花成制御における情報伝達経路、経路の統合において、いずれもが重要な役割を担っている。

表 1 Koorneef et al. 1991 で報告されたシロイヌナズナ花成遅延変異体

	変異体	タンパク質機能	参考文献
グループ 1	<i>fca</i>	RNA 結合タンパク質	Macknight et al. 1997
	<i>fpa</i>	RNA 結合タンパク質	Schomburg et al. 2001
	<i>fve</i>	WD40 タンパク質	Ausin et al. 2004
	<i>fy</i>	RNA 修飾因子	Simpson et al. 2003
グループ 2	<i>fe</i>	Myb 型転写制御因子	Abe et al. 2015
	<i>ft</i>	ホスファチジルエタノールアミン結合タンパク質	Kardailsky et al. 1999; Kobayashi et al. 1999
	<i>fd</i>	bZIP 型転写制御因子	Abe et al. 2005; Wigge et al. 2005
	<i>fwa</i>	HD-ZIPIV 型転写制御因子	Soppe et al. 2000; Ikeda et al. 2007
グループ 3	<i>fg</i> ^a (<i>co</i>)	zinc-finger 型転写制御因子	Putterill et al. 1995
	<i>fb</i> ^a (<i>gi</i>)	核タンパク質	Fowler et al. 1999; Park et al. 1999
	<i>fha</i> ^b	青色光受容体	Guo et al. 1998
	(<i>cry2</i>)		

a; Rédei 1962 において報告された *constans* (*co*), *gigantea* (*gi*) の異なるアレル

b; Guo et al. 1998 において後に報告された *cryptochrome 2* (*cry2*) の異なるアレル

3. シロイヌナズナにおけるフロリゲン研究

本稿で取り上げる光周性花成においては、日長感知に関わるグループ 3 (*co*, *gi*, *cry2*) とフロリゲン機能と密接に関連するグループ 2 (*fe*, *ft*, *fd*, *fwa*) が重要である。中でも CONSTANS (CO), FT, FD は、フロリゲンを介した光周性花成誘導において中心的なはたらきをする鍵因子である。この 3 つの花成制御因子は、長日条件特異的な花成遅延表現型を示し、図 1 (左) のような上下関係にあることが、遺伝学的解析によって判明している (Abe et al. 2005; Samach et al. 2000; Wigge et al. 2005)。また、詳細な発現解析、機能領域の探索、タンパク質間相互作用を中心とした生化学的解析によって CO, FT, FD の時空間的な発現パターン、生化学的機能も明らかにされている (図 1 (左))。CO-FT-FD モジ

ュールは、シロイヌナズナ以外の植物種においても保存性が高く、CO-FT の関係性が変化することによって光周性花成の多様性が生じる。いわば、光周性花成の心臓部に位置付けられる基本骨格である。

日長の変化は、葉の篩部伴細胞における CO タンパク質の蓄積量が増加することによって感知される。zinc-finger 型転写制御因子である CO タンパク質の発現は、概日リズムに依存したリズムを刻み、光環境との相互作用の結果、花成誘導条件である長日条件下の明期に安定化する (Valverde et al. 2004)。その結果、CO タンパク質の制御標的である *FT* 遺伝子は、長日条件依存的に転写活性化されることになる (詳細は久保田の稿参照)。

一方、花芽形成の場である茎頂分裂組織においては、*FT* と bZIP 型転写制御因子をコードする *FD* によるタンパク質複合体が形成され、花芽形成のスイッチ遺伝子である *APETALA 1 (API)* をはじめとした下流遺伝子の転写が誘導される (Abe et al. 2005; Wigge et al. 2005)。*ft* 変異体は長日条件特異的な花成遅延表現型を示すだけでなく、*FT* 過剰発現体の早咲き表現型に対して強い抑圧効果を示す。生化学的な解析 (*FT-FD* 間のタンパク質間相互作用)に加えて、遺伝学的解析 (*FT* 過剰発現体への抑圧効果)からも *FD* が *FT* の機能的パートナーであることは支持されている (Abe et al. 2005; Wigge et al. 2005)。

FD 遺伝子は茎頂分裂組織において発現するのに対して、*FT* 遺伝子は前述のように葉の篩部伴細胞で転写・翻訳される (Abe et al. 2005; Takada and Goto 2003; Wigge et al. 2005; Yamaguchi et al. 2005)。一方、*API* 遺伝子の転写調節領域には *FT* タンパク質および *FD* タンパク質が直接結合していることから (Wigge et al. 2005)、*FT* タンパク質が葉から茎頂分裂組織へと長距離移動する必然性が生じる。その裏付けとして、葉の篩部組織で *FT* を発現させた場合に加えて、茎頂分裂組織において *FT* を発現させた場合にも、*ft* 変異体表現型が相補されることが報告されている (Abe et al. 2005)。この結果は、転写・翻訳される葉の篩部伴細胞だけでなく、茎頂分裂組織においても *FT* が機能していることを示唆しており、すなわち *FT* がフロリゲンの分子実体であり、*FD* は茎頂においてフロリゲンを受容し、花芽形成を開始する役目を担っていることを示している。

また、セイヨウアブラナ (*Brassica napus*) での実験ではあるものの、*FT* と相同なタンパク質が篩管液中に検出されることから、*FT* タンパク質が篩管を介して葉から茎頂への長距離輸送を達成していることが示されている (Giavalisco et al. 2006)。さらに、イネの *Heading date 3a* をはじめ、多くの植物から *FT* オーソログがクローニングされ、その花成促進効果も実証されている (Kojima et al. 2001)。したがって、シロイヌナズナを含む多くの植物種が、*FT* を介した極めて保存性の高い花成制御機構を有していることが推察され、*FT* はフロリゲンに求められる要件①から④を充たす存在として広く認知されることとなった。

フロリゲンに求められる要件の一つである「⑤接木面を介した伝達性」に関しても、*FT* タンパク質を用いた現代風の実験的検証がなされている。篩部伴細胞で *FT-GFP* を過剰発現させた植物の接木実験 (Corbesier et al. 2007)、あるいは野生型、*FT-T7* 過剰発現体を *ft* 変異体に接木した実験 (Notaguchi et al. 2008) によって、*FT* タンパク質が接木面を介して伝達されることが実証されている。

なお、シロイヌナズナには葉の篩部伴細胞で発現する *FT* パラログ *TWIN SISTER OF FT (TSF)* が存在する (Kardailsky et al. 1999; Kobayashi et al. 1999; Yamaguchi et al. 2005)。ホスファチジルエタノールアミン結合タンパク質をコードする *TSF* も *FT* 同様に花成経路統合遺伝子として機能するだけでなく、

光周期依存的長距離花成シグナルとしての機能を示すことから、「もう一つのプロリゲン」として光周性花成誘導において大きな貢献を果たしている。

図1に示した、葉の篩部伴細胞におけるCOを介したFTの発現誘導は、花成生理学における「花成誘導 (floral induction)」のプロセスに相当する。また、茎頂分裂組織におけるFT-FD複合体を介したAPIの転写誘導は「花成惹起 (floral evocation)」, 葉で作られたFTが篩管を介して茎頂へと運ばれる過程は「篩部輸送 (phloem transport)」の分子実態として理解可能である。したがって、シロイヌナズナを用いた花成研究によって抽出された光周性花成の基本骨格は、プロリゲン研究の現代における到達点とみなすことができる (図1)。

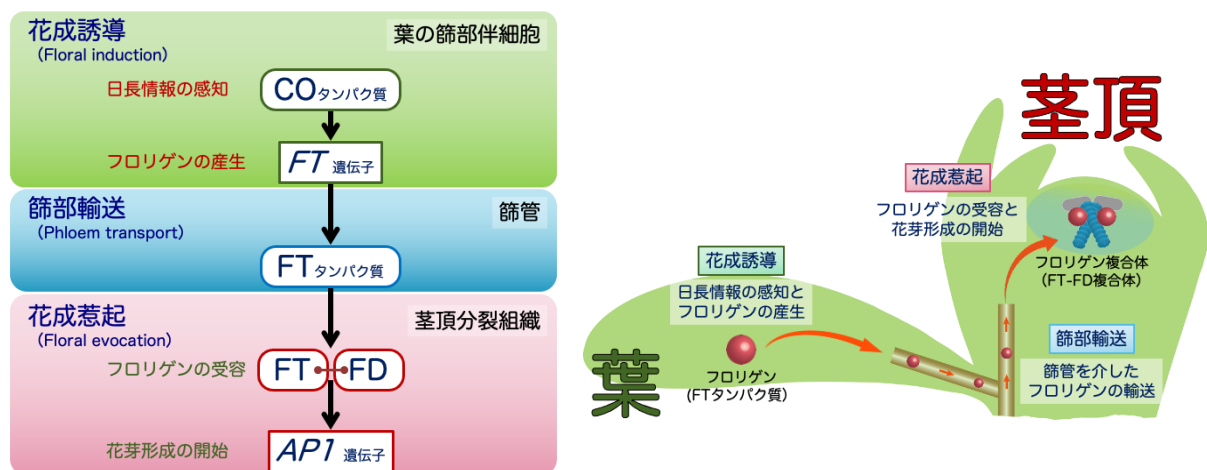


図1 シロイヌナズナにおける光周期依存的な花成制御の枠組み

(左) シロイヌナズナにおける光周期依存的な花成誘導の基本モジュール。プロリゲンを介した花成制御は、葉における「花成誘導」、茎頂における「花成惹起」両者をつなぐ篩管を介した「篩部輸送」の素過程から構成される。花成誘導では、COによるFTの誘導が、花成惹起ではFDによるFTの受容と花芽形成のスイッチであるAPI遺伝子の転写誘導がおこる。(右) 花成生理学によって提唱されたプロリゲン仮説のイメージ図。

4. FTタンパク質の長距離輸送

プロリゲンの葉から茎頂への長距離輸送は、①葉における篩部伴細胞から篩管への積み込み (loading), ②篩管内輸送 (phloem transport), ③茎頂分裂組織基部における篩管からの積み降ろし (unloading), ④茎頂内部への細胞間移行 (cell-cell movement), の各素過程を辿ると考えられている。現時点では、①「積み込み」に関わる輸送制御因子として、葉の篩部伴細胞で発現する FT-INTERACTING PROTEIN 1 が、②「篩管内輸送」に関わる制御因子として SODIUM POTASSIUM ROOT DEFECTIVE 1 が報告されている (Liu et al. 2012; Zhu et al. 2016)。加えて、表1のグループ2に属するFEは、篩部伴細胞で発現する Myb 型転写制御因子をコードし、これら輸送制御因子の転写制御を介してプロリゲン輸送制御と密接に関わっている (Abe et al. 2015; Shibuta et al. 2017)。しかしながら、未だ FT の輸送制御に関する基本的な情報は不足しており、葉での転写制御に関する理解に比べ、分子レベルでの理解はほぼ進展していない状況にある。

葉における FT の人為的な誘導実験から、FT は半日から 1 日後には茎頂周辺へと到達し、その後約 2 日かけて予定花芽原基領域まで細胞間を移動し、*API* の発現誘導をすることが報告されている (Abe et al. 2015; Endo et al. 2018)。また、日長シフト実験 (短日条件下で生育させたシロイヌナズナを数日間長日条件に暴露した後、再び短日条件下に戻す実験) の結果からは、3~4 日の長日条件で花成誘導が十分可能である (Abe et al. 2015; Corbesier et al. 2007)。一連の知見を総合すると、葉が展開し、FT の発現量が花成惹起に十分な量に到達するまでの日数を考慮しても、実験室環境下に置かれた野生型植物では、発芽後 10 日前後で花芽形成の初発イベントが開始されると推察される。

5. フロリゲン複合体の可視化による FT 輸送の評価

解剖学的な観察結果によれば、花芽形成の初発イベントは、茎頂分裂組織内部 (L3 層) における並層分裂だとされる (Vaughan 1955)。つまり、葉から篩管を介して運ばれて来た FT は、最終的に茎頂分裂組織 L3 層の細胞 (予定花芽原基細胞) に到達し、FT-FD 複合体を形成した上で *API* 遺伝子の発現を誘導すると期待される。しかしながら、既報における篩部特異的プロモーターで発現させた FT-GFP の観察結果は、輸送能の低下に起因して L3 層細胞まで到達することなく、茎頂基部にとどまっておき、FT 単独よりも弱い花成誘導能しか示さない (Corbesier et al. 2007; Liu et al. 2012)。輸送過程の分子的理解が進展しなかった理由の一つとして、こうした FT 輸送を評価する実験系の整備が困難であった点が挙げられる。

我々は、FT が FD と複合体を形成する点に注目し、*in vivo* タンパク質間相互作用を可視化可能な二分子蛍光補完法 (Bimolecular Fluorescence Complementation (BiFC) 法) を改良することによって、*in planta* で FT 輸送を評価する実験系 (iBiFC 法) の整備に取り組んだ (Abe et al. 2019)。iBiFC 法では、stEYFP の C 末端 17 アミノ酸を FT に付加し (S-FT)、残りの N 末端断片を FD に付加する (L-FD)。したがって、iBiFC 法では FT 輸送能が損なわれることなく FT 本来の輸送動態が評価可能になると期待される。実際に S-FT を篩部伴細胞で、L-FD を *FD* 発現領域で発現させる植物を作出したところ、S-FT 過剰発現による早咲き表現型と、茎頂分裂組織の細胞核内における YFP 蛍光が観察された (Abe et al. 2019; 図 2 (左))。このことは、S-FT タンパク質が篩部伴細胞から細胞間移行し、*FD* 発現領域において L-FD と共に核内で FT-FD 複合体を形成することを意味している。また、FT-FD 複合体形成領域の一部 (予定花芽原基細胞) で *API* の共発現も確認できたことから (Abe et al. 2019)、iBiFC 法によって内生の FT 輸送動態を評価可能であると期待している。

最近になり、低温環境下では葉の篩部伴細胞における FT タンパク質局在が変化し、篩管への FT の積み込みが抑制されることが報告された (Susila et al. 2021)。今後、FT 輸送の分子メカニズムや輸送経路の解明はもちろんのこと、外的・内的環境要因を介した輸送制御に関する知見が蓄積することによって、フロリゲン機能制御の新たな制御階層を見出すことにつながるものと期待している (図 2 (右))。また、古くからの通説では、茎頂におけるフロリゲンの細胞間輸送は、原形質連絡を介したシンプラスティックな経路によるものであるとされている。シロガラシ (*Sinapis alba*) の先行研究によれば、成長相転換時の茎頂では原形質連絡数が増加し、Central Symplasmic Field (CSF) 領域が拡大する。CSF 領域の拡大は、フロリゲンを含むシグナル分子によるシンプラスティックな情報伝達の活発化を引き起こし、相転換に伴うメリステム内部環境の劇的な変化を速やかに達成すると考えられている (Ormenese et al., 2002)。FT タンパク質がフロリゲンの分子実体だと判明した現在、フロリゲ

ン輸送に関する通説を現代的に検証し、最終的には、相転換に伴う茎頂でのイベントの分子的理解が加速化することを楽しみにしている。

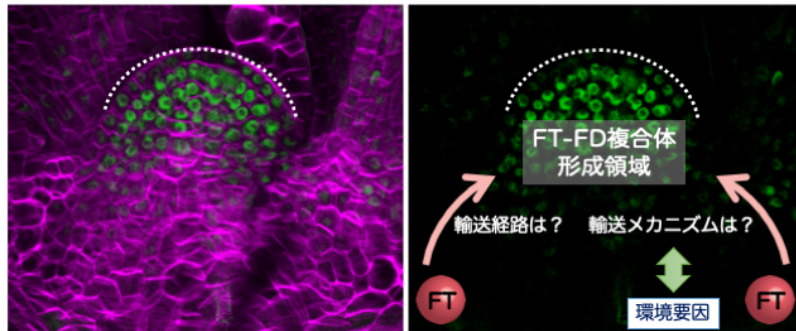


図2 フロリゲン複合体の可視化とフロリゲン輸送制御機構の理解に向けて

(左) iBiFC 法によって可視化された FT-FD 複合体。篩部伴細胞で発現させた FT は茎頂分裂組織内部へと輸送され、核内で FD と FT-FD 複合体を形成する。詳細は Abe et al. (2019) を参照。(右) FT 輸送機構の理解に向けての展望。茎頂分裂組織基部を細胞間移行する FT は、どのような輸送経路を介しているのか? 輸送メカニズムはどのようなものか? 環境の変化は輸送に影響を及ぼすのか? が今後の課題である。

6. おわりに～フロリゲン研究の今後～

2000 年代初頭までは、花成表現型は、現象の総体として栄養成長期に形成された葉の枚数（栄養成長期の長さ）を指標に議論されてきた。その後、FT をはじめとする鍵遺伝子の分子実体が明らかになるにつれ、花成表現型の評価は次第に遺伝子発現へと移り変わり、現在に至る。発現解析手法の変遷とともに精緻な解析が可能になったものの、最近 20 年の流れに大きな変化は見られない。フロリゲン研究の醍醐味は、「産生」と「受容」という時空間的に乖離したイベントが、シグナル分子の「輸送」によって結びつく、その総体としての面白さにある。一方で、フロリゲン機能の理解をより深めるためには、3 つの素過程を個別に評価する実験手法の確立が不可欠である。葉から茎頂へと運ばれる FT 輸送の理解は、まさにフロリゲン機能の本質である細胞非自律性を理解することである。今後、可視化手法を採用し、未知なる FT 輸送機構の評価、分子メカニズムの解明に取り組むことによって、フロリゲン研究に新たな息吹をもたらすことを期待している。

シロイヌナズナの花成研究に関する良質な総説 (Amasino 2010; Kinoshita and Richter 2020; Kobayashi and Weigel 2007; Song et al. 2015; Turck et al. 2008; 阿部 2018; 海老原と井澤 2009; 木下 2022 等) が、世に多数存在している。豊富な選択肢の中から、読者のレベルに応じた一編を是非一度手にすることをお勧めする。花成研究のみならず、広く発生・生理研究にも役立つ、興味深い知見が必ず得られるにちがいない。

謝辞

本稿で紹介した研究は、科研費 (19K06703, 22H02639) , 大隈基礎科学創生財団, 三菱財団のサポートを受けて実施されました。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, Ichinoki H, Notaguchi M, Goto K, Araki T (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
- Abe M, Kaya H, Watanabe-Taneda A, Shibuta M, Yamaguchi A, Sakamoto T, Kurata T, Ausín I, Araki T, Alonso-Blanco C (2015) FE, a phloem-specific Myb-related protein, promotes flowering through transcriptional activation of *FLOWERING LOCUS T* and *FLOWERING LOCUS T INTERACTING PROTEIN 1*. *Plant J.* 83: 1059–1068. doi: 10.1111/tpj.12951
- Abe M, Kosaka S, Shibuta M, Nagata K, Uemura T, Nakano A, Kaya H (2019) Transient activity of the florigen complex during the floral transition in *Arabidopsis thaliana*. *Development* 146: dev171504. doi: 10.1242/dev.171504
- Amasino R (2010) Seasonal and developmental timing of flowering. *Plant J.* 61: 1001–1013. doi: 10.1111/j.1365-313X.2010.04148.x
- Ausín I, Alonso-Blanco C, Jarillo JA, Ruiz-García L, Martínez-Zapater JM (2004) Regulation of flowering time by FVE, a retinoblastoma-associated protein. *Nat Genet.* 36: 162–166. doi: 10.1038/ng1295
- Corbesier L, Vincent C, Jang S, Fornara F, Fan Q, Searle I, Giakountis A, Farrona S, Gissot L, Turnbull C. et al. (2007) FT protein movement contributes to long-distance signaling in floral induction of *Arabidopsis*. *Science* 316: 1030–1033. doi: 10.1126/science.1141752
- Endo M, Yoshida M, Sasaki Y, Negishi K, Horikawa K, Daimon Y, Kurotani KI, Notaguchi M, Abe M, Araki T (2018) Re-evaluation of florigen transport kinetics with separation of functions by mutations that uncouple flowering initiation and long-distance transport. *Plant Cell Physiol.* 59: 1621–1629. doi: 10.1093/pcp/pcy063
- Fowler S, Lee K, Onouchi H, Samach A, Richardson K, Morris B, Coupland G, Putterill J (1999) GIGANTEA: a circadian clock-controlled gene that regulates photoperiodic flowering in *Arabidopsis* and encodes a protein with several possible membrane-spanning domains. *EMBO J.* 18: 4679–4688. doi: 10.1093/emboj/18.17.4679
- Garner WW, Allard HA (1920) Effect of the relative length of day and night and other factors of the environment on growth and reproduction in plants. *J Agric Res* 18: 553–606
- Giavalisco P, Kapitzka K, Kolasa A, Buhtz A, Kehr J (2006) Towards the proteome of *Brassica napus* phloem sap. *Proteomics* 6: 896–909. doi: org/10.1002/pmic.200500155
- Guo H, Yang H, Mockler TC, Lin C. (1998) Regulation of flowering time by *Arabidopsis* photoreceptors. *Science* 279:1360-1363. doi: 10.1126/science.279.5355.1360
- Ikeda Y, Kobayashi Y, Yamaguchi A, Abe M, Araki T. (2007) Molecular basis of late-flowering phenotype caused by dominant epi-alleles of the *FWA* locus in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol.* 48: 205–220. doi: 10.1093/pcp/pcl061
- Kardailsky I, Shukla VK, Ahn JH, Dagenais N, Christensen SK, Nguyen JT, Chory J, Harrison MJ, Weigel D (1999) Activation tagging of the floral inducer FT. *Science* 286: 1962–1965. doi: 10.1126/science.286.5446.1962
- Kinoshita A, Richter R (2020) Genetic and molecular basis of floral induction in *Arabidopsis thaliana*. *J Exp Bot.* 71: 2490–2504. doi: 10.1093/jxb/eraa057
- 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

- Kobayashi Y and Weigel D (2007) Move on up, it's time for change--mobile signals controlling photoperiod-dependent flowering. *Genes Dev.* 21: 2371–2384. doi: 10.1101/gad.1589007
- Kojima S, Takahashi Y, Kobayashi Y, Monna L, Sasaki T, Araki T, Yano M (2002) *Hd3a*, a rice ortholog of the *Arabidopsis FT* gene, promotes transition to flowering downstream of *Hdl* under short-day conditions. *Plant Cell Physiol.* 43: 1096–1105. doi: 10.1093/pcp/pcf156
- Koornneef M, Hanhart CJ, van der Veen JH (1991) A genetic and physiological analysis of late flowering mutants in *Arabidopsis thaliana*. *Mol. Gen. Genet.* 229: 57–66. doi: 10.1007/BF00264213
- Liu L, Liu C, Hou X, Xi W, Shen L, Tao Z, Wang Y, Yu H (2012) FTIP1 is an essential regulator required for florigen transport. *PLoS Biol.* 10: e1001313. doi: 10.1371/journal.pbio.1001313
- Macknight R, Bancroft I, Page T, Lister C, Schmidt R, Love K, Westphal L, Murphy G, Sherson S, Cobbett C et al. (1997) *FCA*, a gene controlling flowering time in *Arabidopsis*, encodes a protein containing RNA-binding domains. *Cell* 89: 737–745. doi: 10.1016/s0092-8674(00)80256-1
- Notaguchi M, Abe M, Kimura T, Daimon Y, Kobayashi T, Yamaguchi A, Tomita Y, Dohi K, Mori M, Araki, T (2008) Long-distance, graft-transmissible action of *Arabidopsis* FLOWERING LOCUS T protein to promote flowering. *Plant Cell Physiol.* 49: 1645–1658. doi: org/10.1093/pcp/pcn154
- Ormenese S, Havelange A, Bernier G, van der Schoot C (2002) The shoot apical meristem of *Sinapis alba* L. expands its central symplasmic field during the floral transition. *Planta* 215: 67–78. doi: 10.1007/s00425-002-0746-0
- Park DH, Somers DE, Kim YS, Choy YH, Lim HK, Soh MS, Kim HJ, Kay SA, Nam HG (1999) Control of circadian rhythms and photoperiodic flowering by the *Arabidopsis GIGANTEA* gene. *Science* 285: 1579–1582. doi: 10.1126/science.285.5433.1579
- Putterill J, Robson F, Lee K, Simon R, Coupland G (1995) The *CONSTANS* gene of *Arabidopsis* promotes flowering and encodes a protein showing similarities to zinc finger transcription factors. *Cell* 80: 847–857. doi: 10.1016/0092-8674(95)90288-0
- Rédei GP (1962) Supervital mutants of *Arabidopsis*. *Genetics* 47: 443–460. doi: 10.1093/genetics/47.4.443
- Samach A, Onouchi H, Gold SE, Ditta GS, Schwarz-Sommer Z, Yanofsky MF, Coupland G (2000) Distinct roles of *CONSTANS* target genes in reproductive development of *Arabidopsis*. *Science* 288: 1613–1616. doi: 10.1126/science.288.5471.1613
- Schomburg FM, Patton DA, Meinke DW, Amasino RM (2001) *FPA*, a gene involved in floral induction in *Arabidopsis*, encodes a protein containing RNA-recognition motifs. *Plant Cell* 13: 1427–1436. doi: 10.1105/tpc.13.6.1427
- Shibuta M and Abe M (2017) FE controls the transcription of downstream flowering regulators through two distinct mechanisms in leaf phloem companion cells. *Plant Cell Physiol.* 58: 2017–2025. doi: org/10.1093/pcp/pcx133
- Simpson GG, Dean C (2002) *Arabidopsis*, the Rosetta stone of flowering time? *Science* 296: 285–289. doi: 10.1126/science.296.5566.285
- Simpson GG, Dijkwel PP, Quesada V, Henderson I, Dean C (2003) *FY* is an RNA 3' end-processing factor that interacts with *FCA* to control the *Arabidopsis* floral transition. *Cell* 113: 777–787. doi: 10.1016/s0092-8674(03)00425-2

- Song YH, Shim JS, Kinmonth-Schultz HA, Imaizumi T (2015) Photoperiodic flowering: time measurement mechanisms in leaves. *Annu Rev Plant Biol.* 66: 441–464. doi: 10.1146/annurev-arplant-043014-115555
- Soppe WJ, Jacobsen SE, Alonso-Blanco C, Jackson JP, Kakutani T, Koornneef M, Peeters AJ (2000) The late flowering phenotype of *fwa* mutants is caused by gain-of-function epigenetic alleles of a homeodomain gene. *Mol Cell.* 6: 791–802. doi: 10.1016/s1097-2765(05)00090-0
- Susila H, Jurić S, Liu L, Gawarecka K, Chung KS, Jin S, Kim SJ, Nasim Z, Youn G, Suh MC et al. (2021) Florigen sequestration in cellular membranes modulates temperature-responsive flowering. *Science* 373: 1137–1142. doi: 10.1126/science.abh4054
- Takada S, Goto K (2003) TERMINAL FLOWER2, an Arabidopsis homolog of HETEROCHROMATIN PROTEIN1, counteracts the activation of *FLOWERING LOCUS T* by CONSTANS in the vascular tissues of leaves to regulate flowering time. *Plant Cell.* 15: 2856–2865. doi: 10.1105/tpc.016345
- Turck F, Fornara F, Coupland G (2008) Regulation and identity of florigen: FLOWERING LOCUS T moves center stage. *Annu Rev Plant Biol.* 59: 573–594. doi: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092755
- Valverde F, Mouradov A, Soppe W, Ravenscroft D, Samach A, Coupland G (2004) Photoreceptor regulation of CONSTANS protein in photoperiodic flowering. *Science* 303: 1003–1006. doi: 10.1126/science.1091761
- Vaughan JG. (1955) The morphology and growth of the vegetative and reproductive apices of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heyhn., *Capsella bursa-pastoris* (L.) Medic and *Anagallis arvensis* L. *J Linn Soc Lond Bot* 55: 279–300.
- 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
- Yamaguchi A, Kobayashi Y, Goto K, Abe M, Araki T (2005) TWIN SISTER OF FT (TSF) acts as a floral pathway integrator redundantly with FT. *Plant Cell Physiol.* 46: 1175–1189. doi: org/10.1093/pcp/pci151
- Zhu Y, Liu L, Shen L, Yu H (2016) NaKR1 regulates long-distance movement of FLOWERING LOCUS T in *Arabidopsis*. *Nat Plants* 2: 16075. doi: 10.1038/nplants.2016.75
- 阿部光知 (2018) 花成制御の分子メカニズム. 平野博之, 阿部光知 (共著) 花の分子生物学. 58–81. 裳華房, 東京
- 海老原史樹文, 井澤毅 (2009) 光周性の分子生物学. シュプリンガー・ジャパン, 東京
- 木下温子 (2022) イメージングで明らかになる茎頂メリステムにおける生理活性物質の時空間的パターン. *BSJ Review* 13B7: 99–112. doi: 10.24480/bsj-review.13b7.00230

野外環境における季節性花成応答の分子基盤

久保田 茜

奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科
〒630-0192 奈良県生駒市高山町 8916-5**Molecular mechanism of seasonal flowering in natural conditions**

Akane Kubota

Graduate School of Biological Sciences, Nara Institute of Science and Technology
Takayama 8916-5, Ikoma, Nara, 630-0192, Japan

Keywords: flowering, photoperiod, phytochrome, ambient temperature

DOI: 10.24480/bsj-review.14c3.00250

1. はじめに

植物のライフサイクルには、発芽・成長・開花といったダイナミックな形態変化が含まれる。これらの変化は場当たりの行的に行われるものではなく、環境変化に合わせて最適化されている。光や温度は、植物にとっての主要な環境シグナルであるだけでなく、季節変動の指標としての役割も果たす。季節による日長や気温変動の周期性は、奈良市の気象データからも見てとれる（図1）。こうした環境変動にうまく適応することが、固着生活を営む植物の生存戦略の要であることが容易に想像できるであろう。

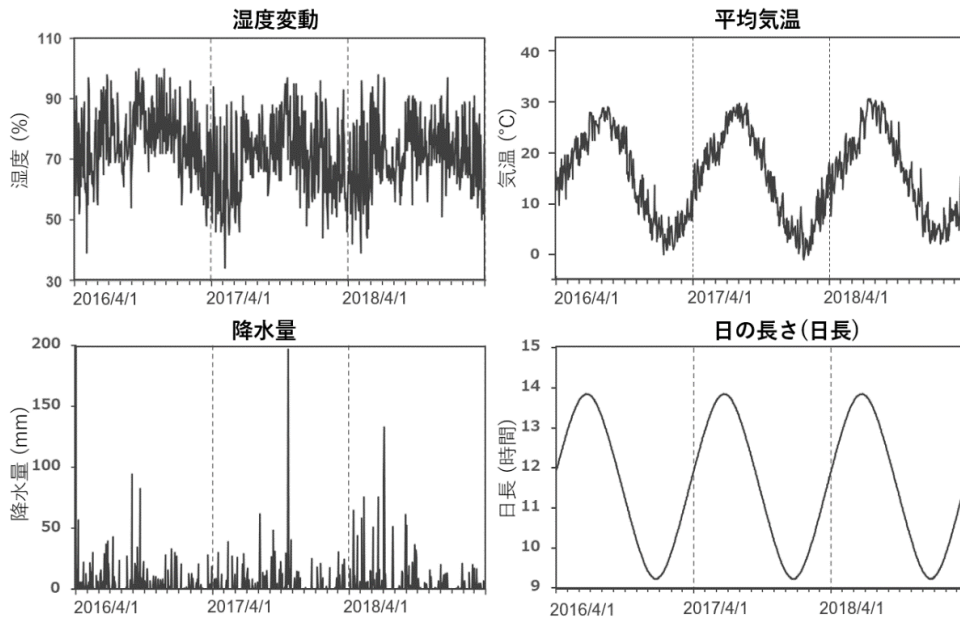


図1 奈良県奈良市の2016~2018年の気象データ

環境変動に対する植物の適応戦略に大きく貢献するのが概日時計である。ヒトと同様に、植物は概日時計を利用することで、自身の持つ時間情報と周囲の環境情報を統合し、夜明けや日没のタイミング、あるいは気温の変化を予測することができる。こうして最適化される生理応答の代表例に季節性花成応答が挙げられる。季節性花成応答は、農業への応用面からも重要視され、古くから研究が進められてきた。その結果、1920年代の光周性花成の発見をきっかけとして、花成ホルモン「フロリゲン」が葉から茎頂への輸送されるフロリゲン仮説の提唱、*FLOWERING LOCUS T (FT)* 遺伝子の発見、茎頂におけるFT複合体の解明とその下流因子の制御機構にいたるまで、様々な歴史的発見がなされてきた (Kobayashi and Weigel 2007)。なお、フロリゲン研究の歴史については数々の総説が発表されているので、詳しくはそちらを参照されたい (Golembeski and Imaizumi 2015; Turck et al. 2008; 詳細は阿部の稿参照)。シロイヌナズナを含むさまざまな生物種において、光や温度などの個々の環境シグナルがFT遺伝子の発現制御を介して開花時期を決定づける分子メカニズムが次々と報告され、シグナル経路の全容解明が進みつつある (Song et al. 2015)。こうして積み上げられた分子生物学・分子遺伝学的な知見は、花成応答を理解し農産業に実装していく上で非常に有用である一方、これらの知見が実際に野外で生育する植物の季節性開花応答をどの程度説明できているかについては未解明な点が多く残されている。実際に、実験室と野外環境では、花成に対する寄与度が大きく変化する花成因子なども報告されてはいるものの (Wilczek et al. 2009)、野外環境と実験室の乖離や、野外での遺伝子組み換え体の取り扱いなどが障壁となって、研究が進められてこなかった。しかし近年、次世代シーケンサーの普及により、野外環境における花成制御遺伝子の発現プロファイルやその制御機構が少しずつ明らかになりつつある (Nagano et al. 2019; Nagano et al. 2012; Nishio et al. 2020a; Nishio et al. 2020b)。その結果、野外で生育する植物は、周囲から得られるさまざまな環境情報を統合することで、生存戦略を最適化していることが明らかになってきた。本稿では、シロイヌナズナにおけるFT遺伝子の発現制御機構を中心に、野外における季節性花成の分子実体を明らかにする取り組みについて紹介したい。

2. 光によるFT遺伝子の制御機構

一般的に光周性花成の研究では、春先の日長を模した長日条件 (16時間明期 22°C 一定) および秋から冬の日長を模した短日条件 (8時間明期 22°C 一定) を用いた実験条件が設定されることが多い。シロイヌナズナは長日条件で花成が促進される条件的長日植物であり、長日条件ではFTの転写が夕方に対応する夜明け後16時間後 (Zeitgeber time (ZT) 16) にかけて1回誘導され、花成が観察される。この経路においてはB-box型Zinc Fingerタンパク質をコードするCONSTANS (CO) と呼ばれる転写因子が環境シグナルの統合点として機能する (図2)。長日条件においては、夕方の時間帯にLOVドメインをもつF-boxタンパク質であるFLAVIIN-BINDING KELCH F-BOX1 (FKF1) が時計遺伝子であるGIGANTEA (GI) とタンパク質複合体を形成し、Dof型転写因子であるCYCLING DOF FACTOR (CDF) 1とそのホモログを光依存的に分解する (Fornara et al. 2009; Imaizumi et al. 2005; Imaizumi et al. 2003; Sawa et al. 2007)。CDFはCOおよびFTの強力な転写抑制因子であるため、長日条件においては夕方

の時間帯に FKF1 が青色光を受容すると、CDF による *CO*, *FT* の転写抑制が解除される (Fornara et al. 2009; Goralogia et al. 2017; Song et al. 2012)。これに加え、*CO* タンパク質は、FKF1 や時計遺伝子である PSEUDO RESONANCE REGULATOR (PRR) 9, 7, 5 および TIMING OF CAB EXPRESSION 1 (TOC1) と直接相互作用することにより安定化される (Hayama et al. 2017; Song et al. 2012)。こうして *CO* タンパク質の蓄積量は長日条件の夕方において最大化し、自身の発現組織である維管束の篩部伴細胞において *FT* 遺伝子の発現を促進する (Samach et al. 2000; Suarez-Lopez et al. 2001)。暗黒条件にお

いて *CO* タンパク質は CONSTITUTIVE PHOTOMORPHOGENIC 1 (COP1) および SUPPRESSOR OF PHYA-105 (SPA) を中心とする E3 ユビキチンリガーゼによって速やかに分解されるため (Jang et al. 2008; Laubinger et al. 2006), *FT* の発現量は夜間に速やかに減少する。*CO-FT* を介した光周性花成制御機構は維管束植物において広く保存されており、シロイヌナズナをモデルとした知見がさまざまな農作物に適用されている (Song et al. 2015)。また、*CO-FT* の上流に位置する GI-FKF1 複合体を介したシグナル伝達機構は維管束をもたないコケ植物においても保存されていることから、光周性シグナルが植物の陸上化の過程においても重要な役割を担っていることが推察される (Kubota et al. 2014)。

では、野外環境における長日条件でも上記の花成制御機構は機能するのだろうか？この問いに答えるため、筆者が所属していたグループでは、北米の夏至の日長が 16 時間、日中平均気温 21 度と実験室の長日条件とほぼ同一であることに着目し、4 月後半から夏至にかけて野外でシロイヌナズナを生育し、*FT* をはじめとする花成制御遺伝子の発現変動を解析した。その結果、野外の長日条件では、*FT* 遺伝子は日没時だけでなく朝にも大きく誘導され、開花時期が実験室と比較して顕著に早期化することを見出した (図 3)。こうした傾向は、異なる年や地域においても一貫していた。一方で *ftk1* 変異体は、従来の長日条件において *FT* はほとんど発現せず顕著な遅咲きの表現を示すのに対し、野外の長日条件では朝の *FT* 発現レベルが野生型と同程度まで誘導され、ほぼ野生型並みの花成時期を示したことから、野外の長日条件においては朝の *FT* 発現が花成促進に重要な役割を果たすことが示唆された

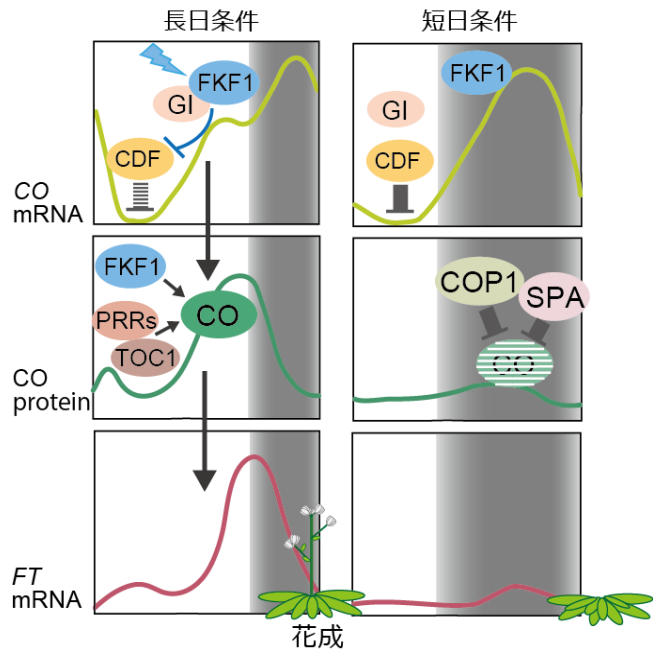


図 2 光周性花成の分子経路モデル

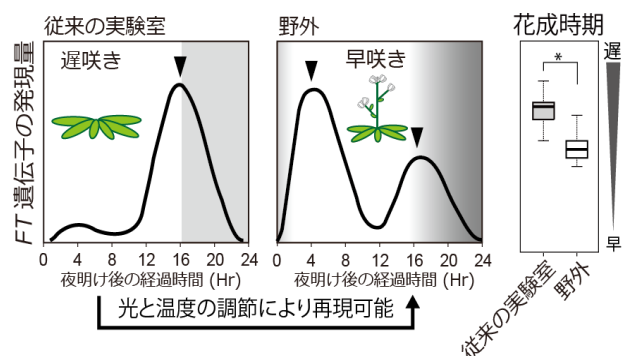


図 3 野外と実験室環境での花成応答の違い

(Imaizumi et al. 2003; Song et al. 2018)。

野外で観察された *FT* 発現や花成時期を指標に、実験室環境下において野外環境の再構成を試みた結果、光質と温度条件が両者の差を生み出す主要な要因であることが明らかとなった。具体的には、白色光源に遠赤色光 (FR) を補光し、赤色光対遠赤色光比 (R/FR) が 1 付近のより自然光に近い光質を用いること、温度設定を野外同様に 16°C から 22°C まで連続的に変化させることの 2 点が、*FT* の発現様式と花成時期を再現する十分条件であった。こうして再構成した条件では、CO タンパク質の蓄積量の増加が朝夕の 2 回起こることが明らかとなり、これが野外の *FT* 遺伝子の発現に重要であることが示された (Song et al. 2018)。普段我々が実験に用いる白色蛍光灯には FR はほとんど含まれていないため、FR シグナルの影響が無意識のうちに過小評価されてしまった結果、朝の *FT* 発現を見落としのまま光周性花成の研究が続けられていたことになる。蛍光灯のコストパフォーマンスが飛躍的に向上し始めた 1970 年代、イギリスの研究グループが蛍光灯を「白色光」として用いることに警鐘を鳴らしていたが (Holmes and Smith 1975)、筆者らが陥った野外と実験室の *FT* 遺伝子の発現様式の乖離も、正にこれに該当するケースであった。白色蛍光灯イコール自然光、と過信することによる弊害は、UV シグナルについても報告されている。太陽光に含まれる程度かつストレスにならない程度の近紫外線 (UV-B) を白色蛍光灯に補光すると、*FT* を含む花成制御因子の発現や花成時期が変化する。これには UV-B 受容体である *UV RESISTANT LOCUS 8 (UVR8)* やその下流のシグナル因子である *REPRESSOR OF UV-B PHOTOMORPHOGENESIS 2* が関与する (Arongaus et al. 2018; Dotto et al. 2018; Zioutopoulou et al. 2022)。UV シグナルと R/FR シグナルは、COP1 やその下流に位置する転写因子 *ELONGATED HYPOCOTYL 5 (HY5)*、*HYH* によって統合される (Liang et al. 2019)。実際に筆者らのトランスクリプトーム解析においても、従来の長日条件と野外の長日条件においては、R/FR シグナルの他に UV シグナルに関与する遺伝子群の発現も優位に変動していた。太陽光に含まれる UV-B の量は一般的に春先から夏にかけて増加することから、野外環境では UV-B と R/FR のバランスで花成時期が調節されることは想像に難くない。ただし、UV-B 補光による花成応答の変化は、UV-B の強度や日長条件、野生系統によってかなり異なるため、朝の *FT* 発現制御も含め、詳細な分子機構は今後の解析が待たれる。

野外環境下での朝 *FT* の誘導には、赤色光・遠赤色光受容体であるフィトクロム A (*phyA*) が重要であることが明らかになってきた (Lee et al. 2023; Song et al. 2018)。シロイヌナズナには赤色光・遠赤色光を受容する光受容体フィトクロム (*phy*) が 5 分子種存在しており、赤色光を吸収することで活性型 Pfr 型に、遠赤色光を吸収することで不活性型である Pr 型に可逆的に変換される (Casal 2013; Legris et al. 2019)。PHYA タンパク質は黄化芽生えに高度に蓄積しており、Pfr 型が光に対して不安定な性質を示すことなどから、*phyA* は FR の高照射応答 (High Irradiance Response; HIR) や、0.1 およびそれ以下の非常に低い R/FR 条件の応答を制御する FR センサーとしての位置づけがされてきた (Franklin 2008; Nagatani et al. 1993)。*phyA* 変異体は従来の長日条件では花成に明確な表現型を示さないが、連続 FR 条件や、短日条件の暗期に FR 単色光を照射した条件で遅咲きの表現型を示す (Johnson et al. 1994; Mockler et al. 2003)。一方で *phyB* 変異体は従来の長日条件および避陰応答 (植物が他の植物の陰に隠れた

際、R/FRの低下を感知することで日陰から逃れようとする応答)において明確な早咲きの表現型を示す (Galvao et al. 2019; Zhang et al. 2019)。避陰応答 (R/FR およそ 0.1~0.4) では、長日条件依存的に朝の FT 発現が顕著に上昇し花成が促進されるが、これらの応答にも主として phyB が関与する (Kim et al. 2008; Wollenberg et al. 2008)。こうした経緯から、花成制御における phyA の役割は限定的・補助的なものではないかと考えられてきたが、筆者らの発見をきっかけに、phyA の重要性が再認識されることとなった。自然光を模した R/FR=1 の条件では、phyA 変異体のほか、phyA の核移行に異常を示す *far-red elongated hypocotyl 1 (fhy1) fhy1-like (fhl)* 変異体 (Genoud et al. 2008) でも朝夕の FT の発現レベルが低下したことから、phyA を起点としたシグナル経路全体の重要性が予想された (Song et al. 2018)。また、白色光に対する FR 補光を 1 日の異なるタイミングで行って朝夕の FT に対する効果を網羅的に解析した結果、朝の FT 発現レベルは 1 日の FR 照射時間の総量に比例するのに対し、夕方の FT 発現レベルは夕方付近の FR 照射で決定づけられることが分かった (Lee et al. 2023)。これらの結果は、朝の FT 発現制御は phyA を介した HIR で説明可能であることを意味する。HIR を介したフィトクロムシグナリングは蘚苔類においてもそっくり保存されているため、その起源は陸上植物の進化上、phyA の獲得以前にさかのぼる (Inoue et al. 2019; Possart and Hiltbrunner 2013)。特にゼニゴケの生殖器托の形成が後述する phy-PIF シグナルで制御される点は非常に興味深く (Inoue et al. 2019)、こうした植物種でのフィトクロムシグナルの理解が進むことで、朝夕の FT 制御メカニズムそれぞれの進化過程の理解が一気に進むであろう。

フィトクロム相互作用因子である bHLH 転写因子 PHYTOCHROME INTERACTING FACTOR (PIF) は、光形態形成の要として機能する。phyA を介した朝の FT 発現制御に関しても、PIF7 の関与が明らかになりつつある (Lee et al. 2023)。PIF7 は phyB の下流で花成をはじめとする避陰応答や、高温応答の制御に関与する (Burko et al. 2022; Chung et al. 2020; Galvao et al. 2019; Willige et al. 2021; Zhang et al. 2019)。また PIF7 は、避陰応答の負の制御因子である bHLH 様転写因子 LONG HYPOCOTYL IN FAR-RED1 (HFR1) と CO とタンパク質複合体形成を介して花成制御を行うこと (Zhang et al. 2019)、光と温度の 2 大環境シグナルに対する形態形成の鍵となる因子であることなどからも (Burko et al. 2022)、野外環境下の花成制御において PIF7 が果たす役割はおそらく大きく、今後の解析が待たれる。

3. 温度による FT 遺伝子の発現制御機構

光 (FR および長日) が FT の発現を誘導する役割を担うのに対し、温度変動 (特に朝夕の低温) は主に夕方の FT の発現を抑制する役割を担う (Song et al. 2018)。低温による花成制御機構のなかでも、比較的マイルドな低温帯である 10°C 前後の温度環境 (ambient temperature) において主要な役割を果たすのが *SHORT VEGETATIVE PHASE (SVP)*、*FLOWERING LOCUS M (FLM)*、*FLOWERING LOCUS C (FLC)* を中心とする MADS 型転写因子である (Capovilla et al. 2015)。SVP/FLM/FLC および MAF は、ファミリー内で複合体を形成して FT の転写開始点近傍および第 1 イントロン内の CA_nG 配列に直接結合することで、FT の発現を抑制する (Lee et al. 2007; Li et al. 2008)。特に、*svp* 単一変異体は 16°C と 23°C の花成時期がほぼ同一になることから、SVP はこの温度帯における花成抑制の中心的な働きをすると考えられてい

る (Lee et al. 2007)。SVP はタンパク質分解制御により低温でより安定に存在する傾向を示すのに対し (Lee et al. 2013), *FLM* は、低温特異的に DNA 結合能を持つスプライスバリエントである *FLM-β* が増加し, *SVP* 依存・非依存的な経路で花成を抑制する (Capovilla et al. 2017; Posé et al. 2013)。転写制御に機能的である *FLM* のスプライスバリエントの存在量の変化が低温応答性に重要であることは、シロイヌナズナの異なる野生株系統を用いた解析からも裏付けられており、スプライシングの調節が温度応答全般において重要な意味付けを持つ可能性は高い (Lutz et al. 2017)。これに加え、おなじく *MADS* 転写因子ホモログである *MADS AFFECTING FLOWERING (MAF) 2-5* の発現量も低温下で誘導され, *SVP/FLM/FLC* 複合体と協調的に花成を抑制する (Airoldi et al. 2015; Gu et al. 2013)。こうして *SVP/FLM/FLC* 複合体の蓄積量は低温下で最大化し, *FT* 近傍に複数存在する *CArG* 配列に結合することで, *FT* 近傍のクロマチンループ構造を変化させているのではないかと考えられる (Gagliardi and Manavella 2020; Takagi et al. 2023)。SVP は茎頂における花芽形成因子としても機能するが、この経路では別の *MADS* 転写因子ホモログである *SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS1* などとともに, *TERMINAL FLOWER1* 遺伝子座のクロマチンループ構造を変化させ、転写制御を行うことが知られている (Liu et al. 2013)。温度が転写因子の挙動そのものに加え、その標的遺伝子のクロマチン構造を変化させる現象は、高温下での *PIF7* を介した遺伝子発現制御でも報告されていることから (Willige et al. 2021), 低温下での *FT* 発現制御機構においても同様の制御機構が存在する可能性はあるだろう。

SVP/FLM/FLC の他に低温下の花成制御で主要な役割を果たすのが、*CO* の相互作用因子で *E3* リガーゼをコードする *HIGH EXPRESSION OF OSMOTICALLY RESPONSIVE GENES1 (HOS1)* である (Jung et al. 2012; Lazaro et al. 2015)。HOS1 は 4°C 条件で夕方の *CO* タンパク質の蓄積量を負に制御することで、低温下の *FT* 発現及び花成を負に制御する (Jung et al. 2012)。この他にも HOS1 は、低温下でヒストン脱アセチル化酵素と相互作用することで *FLC* の転写を正に制御する他 (Jung et al. 2013; Lee et al. 2012), 時計遺伝子の核移行などの幅広い生理応答に関与するものの (MacGregor et al. 2013), HOS1 自身がどのように低温シグナルを感知するかは未解明である。

svp 変異体や *hos1* 変異体は、野外の再構成条件において *FT* 発現上昇および早咲きの表現型を示すことから、温度変動環境下においても花成抑制因子として機能することが予想される。ただし、温度経路における花成制御因子の解析のほとんどが恒常的な温度条件かつ $R/FR > 2$ の条件で行われているため、これらの因子が温度変動条件下でどのようにふるまい、朝夕それぞれの *FT* 発現制御においてどのような役割を担うかについては慎重に解析する必要がある。その準備として筆者らは最近、*FT* 遺伝子の発現様式を指標として、野外のような連続的な温度変動を最高・最低の2段階変動に単純化することに成功

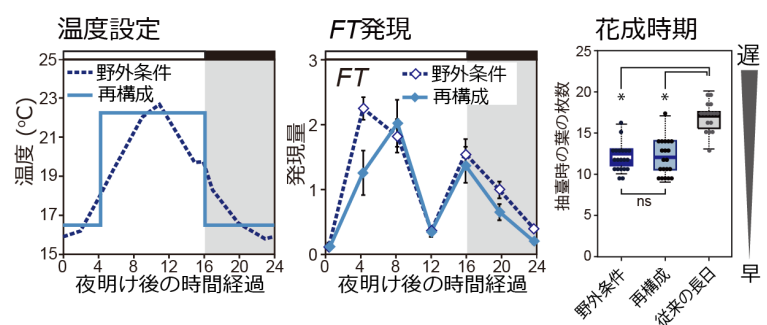


図4 野外の温度変動を単純化した際の花成応答の比較

した (図 4)。その過程において、温度シグナルが時間・あるいは温度帯特異的に *FT* 遺伝子の発現や花成時期を変化させることを見出しつつある。野外でシロイヌナズナの花成が観察される 4 月から 6 月にかけて、日長は約 2 時間程度しか変化しないのに対し、気温は 10°C 以上の範囲で上昇する。すでに 12 時間以上の日長が担保されており、光周性シグナルからの花成促進効果が飽和しかけている初春の野外環境において、温度シグナルは 1 日の *FT* の発現量を手っ取り早く調節するのに有用であると筆者は考えている。実際に野外における大規模トランスクリプトームの解析においても、日中変動あるいは年間変動する遺伝子の多くが温度に応答した遺伝子発現変動を示すことから (Nagano et al. 2019), 温度変動を考慮に入れつつ光周性花成制御メカニズムを考え直すことは、季節性花成応答のよりリアルな理解につながるのと同時に、温暖化に対するフェノロジー変化の理解に発展させることができると期待される。

4. おわりに

本稿では、野外環境における光と温度による *FT* 遺伝子の発現制御について紹介した。実験室環境下における野外環境の単純化・再構成は、野外で起こる生理応答の描写にとどまらず、作用機序や分子メカニズムを紐解くうえで強力な手段になる。フロリゲンの同定から 20 余年、この発見をただの一発屋で終わらせてしまうことのないよう、日々精進したい。

謝辞

本稿で取り上げた我々の研究は、科学研究費補助金 (研究課題番号: 19H04866, 19K16170, 23K05817), 奈良先端科学技術大学院大学支援財団, 住友財団, 三菱財団, 千里ライフサイエンス財団による助成の下行われた。

引用文献

- Airoldi CA, McKay M, Davies B (2015) *MAF2* Is regulated by temperature-dependent splicing and represses flowering at low temperatures in parallel with *FLM*. PLoS One 10: e0126516. doi: 10.1371/journal.pone.0126516
- Arongaus AB, Chen S, Pireyre M, Glöckner N, Galvão VC, Albert A, Winkler JB, Fankhauser C, Harter K, Ulm R (2018) *Arabidopsis* RUP2 represses UVR8-mediated flowering in noninductive photoperiods. Genes & development 32: 1332–1343. doi: 10.1101/gad.318592.118
- Burko Y, Willige BC, Seluzicki A, Novak O, Ljung K, Chory J (2022) PIF7 is a master regulator of thermomorphogenesis in shade. Nat Commun 13: 4942. doi: 10.1038/s41467-022-32585-6
- Capovilla G, Schmid M, Pose D (2015) Control of flowering by ambient temperature. J Exp Bot 66: 59–69. doi: 10.1093/jxb/eru416
- Capovilla G, Symeonidi E, Wu R, Schmid M (2017) Contribution of major FLM isoforms to temperature-dependent flowering in *Arabidopsis thaliana*. J Exp Bot 68: 5117–5127. doi: 10.1093/jxb/erx328
- Casal JJ (2013) Photoreceptor signaling networks in plant responses to shade. Annu Rev Plant Biol 64: 403–427. doi: 10.1146/annurev-arplant-050312-120221

- Chung BYW, Balcerowicz M, Di Antonio M, Jaeger KE, Geng F, Franaszek K, Marriott P, Brierley I, Firth AE, Wigge PA (2020) An RNA thermoswitch regulates daytime growth in *Arabidopsis*. *Nat Plants* 6: 522–532. doi: 10.1038/s41477-020-0633-3
- Dotto M, Gómez MS, Soto MS, Casati P (2018) UV-B radiation delays flowering time through changes in the PRC2 complex activity and miR156 levels in *Arabidopsis thaliana*. *Plant, cell & environment* 41: 1394–1406. doi: 10.1111/pce.13166
- Fornara F, Panigrahi KC, Gissot L, Sauerbrunn N, Ruhl M, Jarillo JA, Coupland G (2009) *Arabidopsis* DOF transcription factors act redundantly to reduce CONSTANS expression and are essential for a photoperiodic flowering response. *Dev Cell* 17: 75–86. doi: 10.1016/j.devcel.2009.06.015
- Franklin KA (2008) Shade avoidance. *New Phytol* 179:930–944. doi: 10.1111/j.1469-8137.2008.02507.x
- Gagliardi D, Manavella PA (2020) Short-range regulatory chromatin loops in plants. *New Phytol* 228: 466–471. doi: 10.1111/nph.16632
- Galvao VC, Fiorucci AS, Trevisan M, Franco-Zorilla JM, Goyal A, Schmid-Siegert E, Solano R, Fankhauser C (2019) PIF transcription factors link a neighbor threat cue to accelerated reproduction in *Arabidopsis*. *Nat Commun* 10: 4005. doi: 10.1038/s41467-019-11882-7
- Genoud T, Schweizer F, Tscheuschler A, Debrieux D, Casal JJ, Schäfer E, Hiltbrunner A, Fankhauser C (2008) FHY1 mediates nuclear import of the light-activated phytochrome A photoreceptor. *PLoS genetics* 4: e1000143. doi: 10.1371/journal.pgen.1000143
- Golembeski GS, Imaizumi T (2015) Photoperiodic regulation of florigen function in *Arabidopsis thaliana*. *Arabidopsis Book* 13: e0178. doi: 10.1199/tab.0178
- Goralogia GS, Liu TK, Zhao L, Panipinto PM, Groover ED, Bains YS, Imaizumi T (2017) CYCLING DOF FACTOR 1 represses transcription through the TOPLESS co-repressor to control photoperiodic flowering in *Arabidopsis*. *Plant J* 92: 244–262. doi: 10.1111/tpj.13649
- Gu X, Le C, Wang Y, Li Z, Jiang D, Wang Y, He Y (2013) *Arabidopsis* FLC clade members form flowering-repressor complexes coordinating responses to endogenous and environmental cues. *Nat Commun* 4: 1947. doi: 10.1038/ncomms2947
- Hayama R, Sarid-Krebs L, Richter R, Fernandez V, Jang S, Coupland G (2017) PSEUDO RESPONSE REGULATORS stabilize CONSTANS protein to promote flowering in response to day length. *EMBO J* 36: 904–918. doi: 10.15252/embj.201693907
- Holmes MG, Smith H (1975) The function of phytochrome in plants growing in the natural environment. *Nature* 254: 512–514.
- Imaizumi T, Schultz TF, Harmon FG, Ho LA, Kay SA (2005) FKF1 F-box protein mediates cyclic degradation of a repressor of CONSTANS in *Arabidopsis*. *Science* 309: 293–297. doi: 10.1126/science.1110586
- Imaizumi T, Tran HG, Swartz TE, Briggs WR, Kay SA (2003) FKF1 is essential for photoperiodic-specific light signalling in *Arabidopsis*. *Nature* 426: 302–306. doi: 10.1038/nature02090
- Inoue K, Nishihama R, Araki T, Kohchi T (2019) Reproductive induction is a Far-red High Irradiance Response that is mediated by phytochrome and PHYTOCHROME INTERACTING FACTOR in

- Marchantia polymorpha*. Plant Cell Physiol 60: 1136-1145. doi: 10.1093/pcp/pcz029
- Jang S, Marchal V, Panigrahi KC, Wenkel S, Soppe W, Deng XW, Valverde F, Coupland G (2008) *Arabidopsis* COP1 shapes the temporal pattern of CO accumulation conferring a photoperiodic flowering response. EMBO J 27: 1277–1288. doi: 10.1038/emboj.2008.68
- Johnson E, Bradley M, Harberd NP, Whitelam GC (1994) Photoresponses of light-grown *phyA* mutants of *Arabidopsis* (Phytochrome A is required for the perception of daylength extensions). Plant Physiol 105: 141–149. doi: 10.1104/pp.105.1.141
- Jung JH, Park JH, Lee S, To TK, Kim JM, Seki M, Park CM (2013) The cold signaling attenuator HIGH EXPRESSION OF OSMOTICALLY RESPONSIVE GENE1 activates *FLOWERING LOCUS C* transcription via chromatin remodeling under short-term cold stress in *Arabidopsis* Plant Cell 25: 4378-4390. doi: 10.1105/tpc.113.118364
- Jung JH, Seo PJ, Park CM (2012) The E3 ubiquitin ligase HOS1 regulates *Arabidopsis* flowering by mediating CONSTANS degradation under cold stress. J Biol Chem 287: 43277–43287. doi: 10.1074/jbc.M112.394338
- Kim SY, Yu X, Michaels SD (2008) Regulation of CONSTANS and FLOWERING LOCUS T expression in response to changing light quality. Plant Physiol 148: 269–279. doi: 10.1104/pp.108.122606
- Kobayashi Y, Weigel D (2007) Move on up, it's time for change--mobile signals controlling photoperiod-dependent flowering. Genes & development 21: 2371–2384. doi: 10.1101/gad.1589007
- Kubota A, Kita S, Ishizaki K, Nishihama R, Yamato KT, Kohchi T (2014) Co-option of a photoperiodic growth-phase transition system during land plant evolution. Nat Commun 5: 3668. doi: 10.1038/ncomms4668
- Laubinger S, Marchal V, Le Gourrierec J, Wenkel S, Adrian J, Jang S, Kulajta C, Braun H, Coupland G, Hoecker U (2006) *Arabidopsis* SPA proteins regulate photoperiodic flowering and interact with the floral inducer CONSTANS to regulate its stability. Development 133: 3213–3222. doi: 10.1242/dev.02481
- Lazaro A, Mouriz A, Pineiro M, Jarillo JA (2015) Red light-mediated degradation of CONSTANS by the E3 ubiquitin ligase HOS1 regulates photoperiodic flowering in *Arabidopsis*. Plant Cell 27: 2437–2454. doi: 10.1105/tpc.15.00529
- Lee JH, Kim JJ, Kim SH, Cho HJ, Kim J, Ahn JH (2012) The E3 ubiquitin ligase HOS1 regulates low ambient temperature-responsive flowering in *Arabidopsis thaliana*. Plant Cell Physiol 53: 1802–1814. doi: 10.1093/pcp/pcs123
- Lee JH, Ryu HS, Chung KS, Pose D, Kim S, Schmid M, Ahn JH (2013) Regulation of temperature-responsive flowering by MADS-Box transcription factor repressors. Science 342: 628–632. doi: 10.1126/science.1241097
- Lee JH, Yoo SJ, Park SH, Hwang I, Lee JS, Ahn JH (2007) Role of *SVP* in the control of flowering time by ambient temperature in *Arabidopsis*. Genes & development 21: 397–402. doi: 10.1101/gad.1518407
- Lee N, Ozaki Y, Hempton AK, Takagi H, Purusuwashi S, Song YH, Endo M, Kubota A, Imaizumi T

- (2023) The *FLOWERING LOCUS T* gene expression is controlled by high-irradiance response and external coincidence mechanism in long days in *Arabidopsis*. *New Phytol*, doi: 10.1111/nph.18932
- Legris M, Ince Y, Fankhauser C (2019) Molecular mechanisms underlying phytochrome-controlled morphogenesis in plants. *Nat Commun* 10: 5219. doi: 10.1038/s41467-019-13045-0
- Li D, Liu C, Shen L, Wu Y, Chen H, Robertson M, Helliwell CA, Ito T, Meyerowitz E, Yu H (2008) A repressor complex governs the integration of flowering signals in *Arabidopsis*. *Dev Cell* 15: 110–120. doi: 10.1016/j.devcel.2008.05.002
- Liang T, Yang Y, Liu H (2019) Signal transduction mediated by the plant UV-B photoreceptor UVR8. *New Phytol* 221: 1247–1252. doi: 10.1111/nph.15469
- Liu C, Teo ZW, Bi Y, Song S, Xi W, Yang X, Yin Z, Yu H (2013) A conserved genetic pathway determines inflorescence architecture in *Arabidopsis* and rice. *Dev Cell* 24: 612–622. doi: 10.1016/j.devcel.2013.02.013
- Lutz U, Nussbaumer T, Spannagl M, Diener J, Mayer KF, Schwechheimer C (2017) Natural haplotypes of FLM non-coding sequences fine-tune flowering time in ambient spring temperatures in *Arabidopsis*. *Elife* 6. doi: 10.7554/eLife.22114
- MacGregor DR, Gould P, Foreman J, Griffiths J, Bird S, Page R, Stewart K, Steel G, Young J, Paszkiewicz K, et al. (2013) *HIGH EXPRESSION OF OSMOTICALLY RESPONSIVE GENES1* Is required for circadian periodicity through the promotion of nucleo-cytoplasmic mRNA export in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 25: 4391–4404. doi: 10.1105/tpc.113.114959
- Mockler T, Yang H, Yu X, Parikh D, Cheng YC, Dolan S, Lin C (2003) Regulation of photoperiodic flowering by *Arabidopsis* photoreceptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100: 2140–2145. doi: 10.1073/pnas.0437826100
- Nagano AJ, Kawagoe T, Sugisaka J, Honjo MN, Iwayama K, Kudoh H (2019) Annual transcriptome dynamics in natural environments reveals plant seasonal adaptation. *Nat Plants* 5: 74–83. doi: 10.1038/s41477-018-0338-z
- Nagano AJ, Sato Y, Mihara M, Antonio BA, Motoyama R, Itoh H, Nagamura Y, Izawa T (2012) Deciphering and prediction of transcriptome dynamics under fluctuating field conditions. *Cell* 151: 1358–1369. doi: 10.1016/j.cell.2012.10.048
- Nagatani A, Reed JW, Chory J (1993) Isolation and initial characterization of *Arabidopsis* mutants that are deficient in phytochrome A. *Plant Physiol* 102: 269–277. doi: 10.1104/pp.102.1.269
- Nishio H, Buzas DM, Nagano AJ, Iwayama K, Ushio M, Kudoh H (2020a) Repressive chromatin modification underpins the long-term expression trend of a perennial flowering gene in nature. *Nat Commun* 11: 2065. doi: 10.1038/s41467-020-15896-4
- Nishio H, Nagano AJ, Ito T, Suzuki Y, Kudoh H (2020b) Seasonal plasticity and diel stability of H3K27me3 in natural fluctuating environments. *Nat Plants* 6: 1091–1097. doi: 10.1038/s41477-020-00757-1
- Posé D, Verhage L, Ott F, Yant L, Mathieu J, Angenent GC, Immink RGH, Schmid M (2013) Temperature-dependent regulation of flowering by antagonistic FLM variants. *Nature* 503: 414. doi:

10.1038/nature12633

- Possart A, Hiltbrunner A (2013) An evolutionarily conserved signaling mechanism mediates far-red light responses in land plants. *Plant Cell* 25: 102–114. doi: 10.1105/tpc.112.104331
- Samach A, Onouchi H, Gold SE, Ditta GS, Schwarz-Sommer Z, Yanofsky MF, Coupland G (2000) Distinct roles of CONSTANS target genes in reproductive development of *Arabidopsis*. *Science* 288: 1613–1616. doi: 10.1126/science.288.5471.1613
- Sawa M, Nusinow DA, Kay SA, Imaizumi T (2007) FKF1 and GIGANTEA complex formation is required for day-length measurement in *Arabidopsis*. *Science* 318: 261–265. doi: 10.1126/science.1146994
- Song YH, Kubota A, Kwon MS, Covington MF, Lee N, Taagen ER, Laboy Cintron D, Hwang DY, Akiyama R, Hodge SK, et al. (2018) Molecular basis of flowering under natural long-day conditions in *Arabidopsis*. *Nat Plants* 4: 824–835. doi: 10.1038/s41477-018-0253-3
- Song YH, Shim JS, Kinmonth-Schultz HA, Imaizumi T (2015) Photoperiodic flowering: Time measurement mechanisms in leaves. *Annu Rev Plant Biol* 66: 441–464. doi: 10.1146/annurev-arplant-043014-115555
- Song YH, Smith RW, To BJ, Millar AJ, Imaizumi T (2012) FKF1 conveys timing information for CONSTANS stabilization in photoperiodic flowering. *Science* 336: 1045–1049. doi: 10.1126/science.1219644
- Suarez-Lopez P, Wheatley K, Robson F, Onouchi H, Valverde F, Coupland G (2001) CONSTANS mediates between the circadian clock and the control of flowering in *Arabidopsis*. *Nature* 410: 1116. doi: 10.1038/35074138
- Takagi H, Hempton AK, Imaizumi T (2023) Photoperiodic flowering in *Arabidopsis*: Multilayered regulatory mechanisms of *CONSTANS* and the florigen *FLOWERING LOCUS T*. *Plant Commun* 4: 100552. doi: 10.1016/j.xplc.2023.100552
- Turck F, Fornara F, Coupland G (2008) Regulation and identity of florigen: *FLOWERING LOCUS T* moves center stage. *Annu Rev Plant Biol* 59: 573–594. doi: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092755
- Wilczek AM, Roe JL, Knapp MC, Cooper MD, Lopez-Gallego C, Martin LJ, Muir CD, Sim S, Walker A, Anderson J, et al. (2009) Effects of genetic perturbation on seasonal life history plasticity. *Science* 323: 930–934. doi: 10.1126/science.1165826
- Willige BC, Zander M, Yoo CY, Phan A, Garza RM, Wanamaker SA, He Y, Nery JR, Chen H, Chen M, et al. (2021) PHYTOCHROME-INTERACTING FACTORs trigger environmentally responsive chromatin dynamics in plants. *Nat Genet* 53: 955–961. doi: 10.1038/s41588-021-00882-3
- Wollenberg AC, Strasser B, Cerdán PD, Amasino RM (2008) Acceleration of flowering during shade avoidance in *Arabidopsis* alters the balance between *FLOWERING LOCUS C*-mediated repression and photoperiodic induction of flowering. *Plant Physiol* 148: 1681–1694. doi: 10.1104/pp.108.125468
- Zhang R, Yang C, Jiang Y, Li L (2019) A PIF7-CONSTANS-centered molecular regulatory network underlying the shade-accelerated flowering. *Molecular plant* 12: 1587–1597. doi: 10.1016/j.molp.2019.09.007

Zioutopoulou A, Patitaki E, O'Donnell L, Kaiserli E (2022) Low fluence ultraviolet-B promotes ultraviolet resistance & modulated flowering in *Arabidopsis*. *Front Plant Sci* 13. doi: 10.3389/fpls.2022.840720

アオウキクサの花成から考える 光周性の局所適応と概日時計周期の関係

村中 智明

名古屋大学 生命農学研究科
〒464-0804 愛知県名古屋市千種区不老町

Flowering of *Lemna aquinoctialis* and its insight into relationship between local adaptation of photoperiodism and circadian period

Tomoaki Muranaka

Graduate School of Bioagricultural Sciences, Nagoya University
Furo-cho, Chikusa-ku, Aichi, 464-8601, Japan

Keywords: Photoperiodism, Circadian clock, Lemna, Local adaptation, Flowering

DOI: 10.24480/bsj-review.14c4.00251

1. はじめに

1-1. 開花期は魔法形質？

種子植物は花をつけて、受粉し、種子を散布し、次世代に命をつなげる。開花期はいつでも良いわけではなく、生育環境によって避けるべき時期がある。たとえば、繁殖器官は活発に細胞分裂するため低温や霜によるダメージを受けやすく、低温期を避ける必要がある。また、他殖を行う場合は、集団内の個体と開花期を合わせる必要がある。さらに、送粉を昆虫など他の生物に依存する場合は、それらの生物の活動期に対しても開花期を合わせる必要がある。このように開花期は生育環境から様々な制約を受け、局所適応の結果、しばしば大きな種内変異を示す (Ågren et al 2017; Kooyers et al 2015)。開花期が異なる集団間では、生殖隔離が生じやすく、遺伝的交流が減少し、開花期以外の形質も遺伝的浮動などで多様化していくことが想像できる。このように、開花期は種分化とも密接にかかわる形質である。進化生態学では、適応と生殖隔離の両方にかかわる形質をその重要性から「魔法形質」と呼ぶが、開花期もそう呼ばれる資格を持つように思われる (Servedio et al. 2011)。

1-2. 花成時期多様化の分子機構

では、開花期はどのように多様化するのか。花成制御に関わる遺伝子に自然変異が入り多様化するのであろう。そして、花成制御のパスウェイは光周性、春化、ストレス、体サイズなど非常に多彩であり、著者も全体像を把握できていない (Bratzel and Turck 2015)。生物種ごとに花成時期を決定する主要パスウェイも異なり、多様化を引き起こす遺伝子も異なる可能性が高い。開花時期に関して、シロイヌナズナの自然系統間比較では、春化経路の遺伝子の変異が検出される一方で、ダイズの品種間比較では光周性関連（おもに光入力と概日時計）の遺伝子が検出される (Ågren et al 2017; Lin et al. 2021)。また、短日植物のダイズでは、長日で誘導され花成を抑制する B3 ドメイン型転写因子である *E1* 遺伝子の変異により開花期が

最大 20 日変化することが報告されているが、*E1* 遺伝子と相同な遺伝子はシロイヌナズナでもイネでも見つかっていない (Xia et al. 2012)。

パスウェイの多様性とは対称的に、花成のマスターレギュレーターである *FT* 遺伝子が種子植物で広く保存されている点は重要である。大抵の植物はゲノム上に *FT* ファミリーに属する遺伝子を多数持つので、どの遺伝子が開花に関わるかを決定することが、花成時期多様化の分子基盤に迫る第一歩であろう (Moraes et al. 2019)。

ここでは花成時期について議論したが、サクラを代表として、花成後のつぼみが冬季に休眠し、春先に開花する植物も多い。この場合は、花成とは異なる遺伝子群が開花期を制御しているはずだ。サクラ属では、*SVP* クレードに属する *MADS-box* 遺伝子である *DAM* 遺伝子群が花芽の休眠期に高発現を維持することが報告されているが、ウメの *DAM6* をリンゴやポプラで過剰発現させると成長および萌芽が抑制されるため、花芽休眠の分子機構は広く保存されている可能性もある (山根 2020)。今後の研究が注目される。

2. アオウキクサの花成

2-1. 光周性のモデルとしてのアオウキクサ属

上記のように花成時期の多様化を理解することは一筋縄ではいかないが、ここでは著者が行ったアオウキクサでの研究例を紹介する。アオウキクサは日本全国の水田に生育するサトイモ科ウキクサ亜科アオウキクサ属の植物である。何故そんなマニアックな植物で研究を、と感じる読者もいるかもしれないが、アオウキクサ属は光周性花成のモデルとして長い歴史を持つ。まずウキクサ植物は小型であり、クローン増殖で増えるので、系統の維持が簡単である。また次亜塩素酸水溶液で植物体を処理することで滅菌でき、無機培地で育てることで再現性の高い生理学実験が可能となる (図 1)。さらに、アオウキクサ属 (*Lemna*) には、長日植物のイボウキクサ (*L. gibba*) と短日植物のアオウキクサ (*L. aequinoctialis*) が存在し、両種とも日長のみで花成を誘導できる (Clerand and Briggs 1967; Hillman 1959)。日長処理後 1 週間程度で分化した花芽が確認できるため実験サイクルも短い。このような特性を活かして、光周性の生理学的な解析が進められた (Hillman 1976)。日本では、光周性花成の解析に取り組んだ太田行人先生から (太田 1987)、電解質の取り込みを指標に概日リズムの解析を

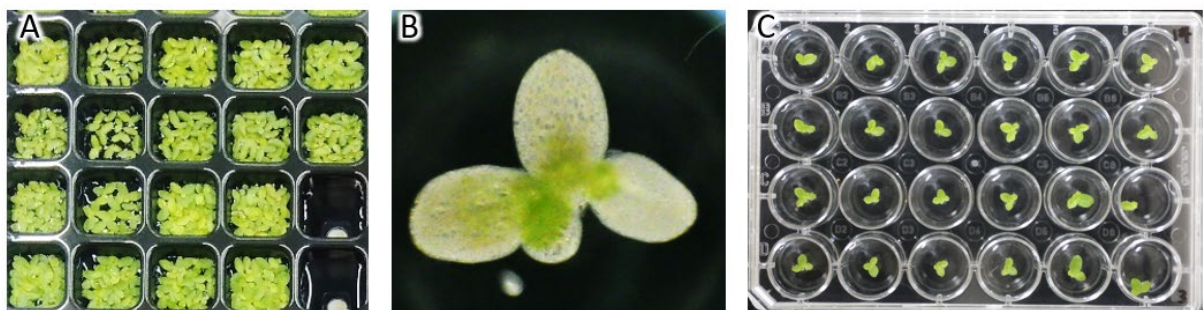


図 1. 著者の保有するアオウキクサ系統群

A: 2 cm 四方のスペースで 1 ~ 2 ヶ月間なら問題なく生育する。B: 次亜塩素酸水溶液 (5%ハイター) で数分間処理されたアオウキクサ。植物体内にある分裂組織は生き残っており、そこから新たな葉状体 (フロンド) が発生する。C: 日長処理用に 24-well プレートに移された滅菌済みのアオウキクサ系統。

進めた近藤孝男先生へ (Kondo and Tsudzuki 1978), さらに概日時計の分子生物学に取り組んだ小山時隆先生へと研究が発展してきた (Serikawa et al. 2008)。小山先生は著者の指導教員であり, 著者は上記の系譜に連なるともいえる (Muranaka and Oyama 2016)。一方で, アサガオでのフロリゲン研究で有名な瀧本敦先生もアオウキクサの研究をされていた。ウキクサ植物は液体培地で生育するため化合物の吸収もよく, フロリゲン候補物質の試験材料として利用されていたが, 日本全国からアオウキクサ系統を収集され生態・多様性の解析も進められていた (Beppu and Takimoto 1981a, b)。とくに, アオウキクサの限界日長を実験条件で厳密に決定し, 緯度ラインを報告したことは重要である (Beppu and Takimoto 1981c; Yukawa and Takimoto 1976)。一般に短日植物は冬の到来前に花をつけ種子で越冬するため, 高緯度ほど開花期が早くなり, 限界日長が長くなる。ただ, 実際に野外系統で限界日長を決定して緯度ラインを実証した例は限られており, 著者が調べた限りでは, 1960年代のオナモミやアサガオの仕事しか把握できていない (Imamura et al. 1966; Ray and Alexander 1966)。日本産アオウキクサに限界日長の緯度ラインがあるという報告を知り, 著者はアオウキクサを対象とした限界日長多様化の研究を開始した。

2-2. 日本産アオウキクサの生活史

日本のアオウキクサは水田環境に特化した一年草としての生活史を持つ (図2)。田植え期に水が張られると種子から発芽する。その後はクローン成長による分裂を繰り返し, 水田全体を覆うと思いきや, 大雨で水路に流出したり, 中干しによる乾燥で枯死したりしつつ, また分裂して増えていく。日長が短くなると開花し, 主に自家受粉により結実する。種子は実験室条件での観察では開花後3週間程度で成熟し, 水底に沈む。



図2. 水田環境でのアオウキクサ

ウキクサ植物が属するサトイモ科の植物では雌性先熟が普通であるが, アオウキクサでは雄しべが, 雌しべに先んじて伸長することで効率的に自家受粉を行うようである (Yoshida et al. 2021)。そして, もう1つの雄しべが雌しべの後に伸長する (図3A)。近縁のイボウキクサでは雌しべの後に2本の雄しべが伸長する。かつては雄花2つと雌花1つからなる花序と考えられていたが, サトイモ科基部の植物と同じく, 両性花とするのが妥当だと思われる。柱頭は盃状であり, 液滴 (droplet) が分泌される (図3B)。液滴はウキクサ植物全体にみられ, 受粉を補助するという記述が散見されるが, 著者は検証例を把握していない。ミジンコウキクサの一種 (*Wolffia lingulata*) では液滴にショ糖が含まれるとの報告がある (Eskuche and Romero 1982)。花粉も付着散布に適しているように見え, 水上徘徊性の昆虫に付着しているとの報告もあるが, 送粉の研究は進んでいない。

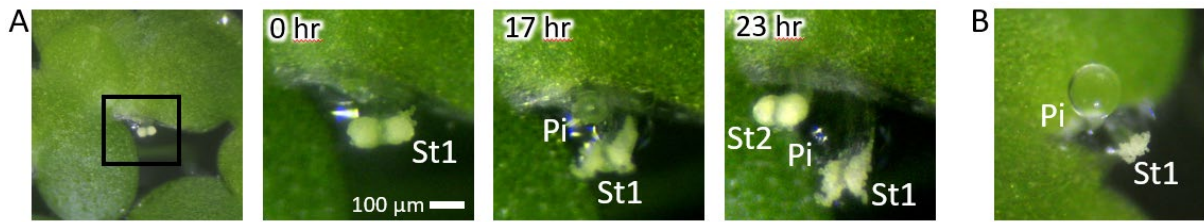


図3. 実験室での短日処理により誘導したアオウキクサの花

A: 開花の様子。B: 柱頭に液滴が分泌された状態。

2-3. アオウキクサの学名

ここでアオウキクサの学名について補足しておく。生理実験の基準系統として、ウキクサ研究の大家 Elias Landolt がカリフォルニアで採取した 6746 株が国際的に用いられてきた。この株の学名は *L. perpusilla* や *L. paucicostata* とされてきたが、現在では *L. aequinoctialis* が用いられ、*L. perpusilla* は北米中東部に分布するチビウキクサの学名となっている。学名の変遷は別府敏夫先生が詳しくまとめており、さらに、日本のアオウキクサを 2 種と 1 亜種に分割することも提案されている (別府ら 1985)。別府らは、九州以南に分布する常緑越冬型の系統群をナンゴクアオウキクサとし、これを *L. aequinoctialis* とした。そして、日本に広く分布する種子越冬型のアオウキクサを *L. aoukikusa* とし、北陸地方にのみ分布し沈水越冬を行う系統群を亜種 *L. aoukikusa* subsp. *hokurikuensis* とし、ホクリクアオウキクサの和名を与えている。しかしながら、この学名は国内の図鑑では採用されているものの、国際的には認められていない現状がある (Bog et al. 2020)。そのため、本稿ではホクリク、ナンゴクの区別なく *L. aequinoctialis* とした。一方で、国内に種子越冬型と常緑越冬型のアオウキクサが存在するのは事実であり、分子系統解析を含めた再検討が待たれる。

ウキクサ植物全体の資料として、2 冊のモノグラフが出版されている (Landolt 1986; Landolt and Kandeler 1987)。合わせて 1200 ページ以上の大著であるが、無料で公開されており、引用文献リストの DOI からアクセスできる。

3. アオウキクサの限界日長多様性とその分子機構

3-1. 限界日長の局所適応

アオウキクサの限界日長の緯度クラインの論文を見つけてから、著者は全国のアオウキクサの収集を開始した。収集した中から 72 系統の限界日長を決定したところ、11.6~14.2 時間の多様性を示した (図 4) (Muranaka et al. 2022)。北緯 44 度の北海道集団は限界日長が長い早咲きの傾向、北緯 32 度の鹿児島集団は限界日長が短い遅咲きの傾向がみられた。この限界日長シフトは緯度依存的に早まる冬の訪れへの適応と考えられる。北緯 35 度の兵庫集団の限界日長は北海道と鹿児島の間程度であったが、同じ 35 度帯の滋賀集団では北海道よりも限界日長が長い傾向がみられた。実は、兵庫と滋賀の採取地の水田では、栽培しているイネ品種が異なり、兵庫では山田錦、滋賀ではコシヒカリを栽培している。コシヒカリの収穫時期が 8 月末と早いことが、滋賀系統の長い限界日長 (早咲き) と関連する可能性がある。このように、アオウキクサの限界日長は、単純な緯度ラインに加え局所的な水田環境に応じ

て多様化しているようである。図 4C の 4 集団は、それぞれ半径 2 km 以内の水田から採取したものであるが、集団内の多様性が大きかった。これはアオウキクサが水鳥に付着して分散しやすく、地理的分化が弱いためかもしれない。イネ品種の改良や乾田化はこの 50 年ほどに進んだものであり、滋賀の早咲き形質は最近に獲得されたと考えられる。この急速な局所適応プロセスを理解するためには、早咲き系統が地域ごとに独立に進化したのか、高い分散力で置き換わったのかを、系統地理学的な解析により検証する必要がある。

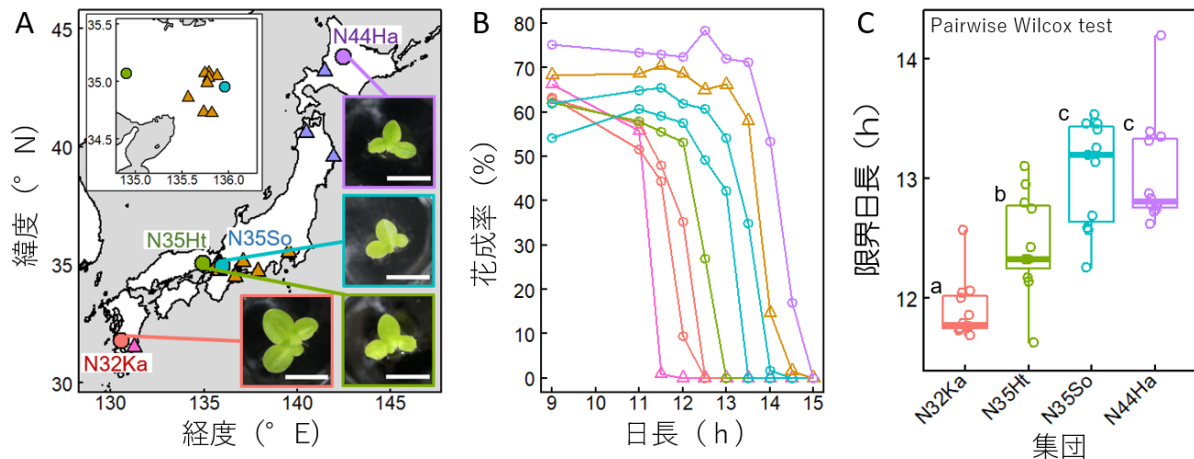


図 4. アオウキクサの限界日長多様性

A: アオウキクサの採取地点。●は 11~12 系統, ▲は 1~3 系統を採取した地点。B: 日長応答の多様性。15 時間日長から各日長に移して 1 週間後の花成率。C: 限界日長の箱ひげ図。限界日長は最大花成率の 50% となる日長とした。プロットの色はパネル間で統一されている。

3-2. 限界日長決定の分子機構

限界日長の多様化を理解するには、限界日長を決定する分子機構を明らかとする必要がある。そこで、RNA-seq による解析を行った。分子実験に際しては、京都大学の圃場で採取されたアオウキクサを純系化した Nd 株 (登録番号: RDSC5356) を用いた。異なる日長での日周トランスクリプトームを取得し、*de novo* アセンブルにより花成経路の遺伝子を同定し、発現パターンの解析を行った。その結果、夜の後半で発現誘導される *FT* ホモログ *LaFTh1* が同定された (図 5)。夜が長い = 日長が短いほど発現が誘導されるため、*LaFTh1* が日長応答に重要だと考えられた。

LaFTh1 はトウモロコシやミナトカモジグサにおいて、短日で誘導される *FT* ホモログと同じクレードに入った (Meng et al. 2011; Qin et al. 2019)。単子葉類における短日誘導型の *FT* が 1 つのクレードを形成したことは、光周性の進化を考える上で興味深い。一方で、同じく短日で誘導されるイネやアサガオの *FT* ホモログは長日植物であるシロイヌナズナの *FT* と同じクレードであった (Hayama et al. 2003; Hayama et al. 2007)。アオウキクサにもこのクレードに入る *LaFTh2* と *LaFTh3* が検出されている。*LaFTh1* と *LaFTh3* (*LaFTL1*) が花成誘導能を持つことはシロイヌナズナでの過剰発現により確認されている (Muranaka et al. 2022; Yoshida et al. 2021)。*LaFTh3* も短日で発現はしていたが、*LaFTh1* に比べて発現量は高くなかった。

さらに、限界日長が異なるアオウキクサ系統で *LaFTh1* の発現パターンを定量 PCR で確認したところ、限界日長が長い (限界暗期が短い) 系統で *LaFTh1* の誘導時刻が早かった。さら

に, *LaFth1* は長日条件で暗期を延長しただけですぐに誘導された。この点も 1 週間の日長処理で花芽が分化するアオウキクサの迅速な日長応答と整合する。これらの結果から *LaFth1* の発現タイミングの制御が限界日長決定に重要だと示唆された。

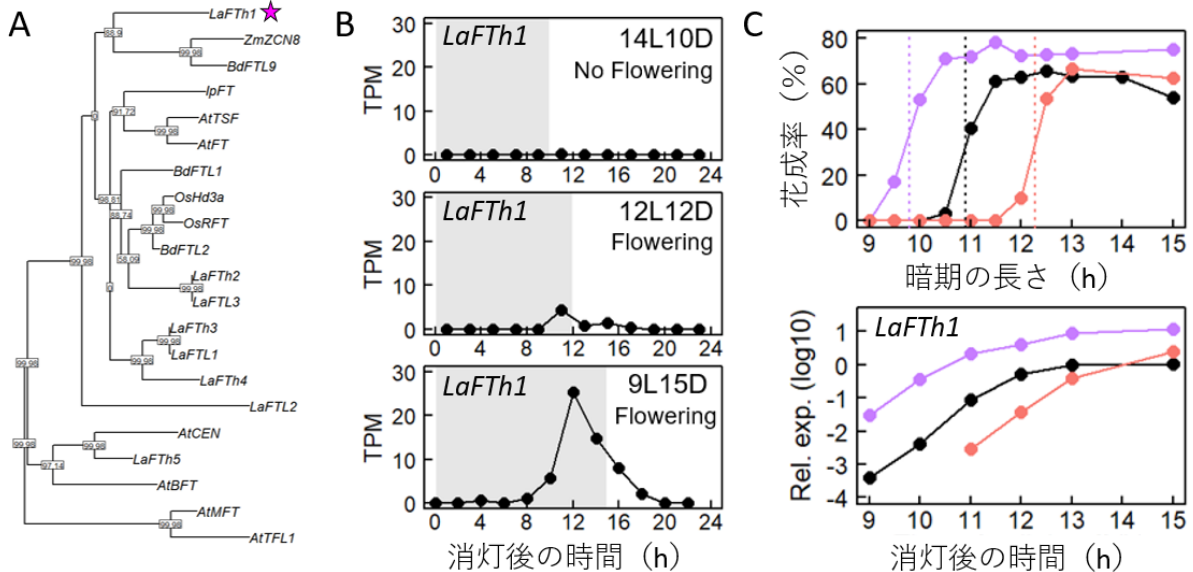


図5. 短日開花に関わる *LaFth1*

A: アミノ酸全長を用いた PhyML 系統樹。La: アオウキクサ, Zm: トウモロコシ, Bd: ミナトカモジグサ, Ip: アサガオ, At: シロイヌナズナで, Os: イネ。B: RNA-seq の結果。平均値を表示している。C: 3 系統の花成率 (上) と *LaFth1* の発現パターン。

3-3. 限界日長と概日リズム周期の関係

では何が *LaFth1* の発現タイミングを決めるのだろうか。光周性の日長測定 of 基盤は概日時計である。シロイヌナズナでは時計遺伝子 *TOC1* の変異体では概日リズムが短周期化するが, 早咲きになることも知られている。これは, 短周期化により光周性経路の *CONSTANS* の発現タイミングが早まることに起因する (Yanovsky and Kay 2002)。一般に, 概日時計の制御を受ける遺伝子は, 概日リズムが短周期になる変異で発現が早まり (位相が前進), 逆に長周期になる変異で発現が遅くなる (位相が後退) 傾向がある。アオウキクサでの限界日長の多様性, つまり *LaFth1* の発現タイミングの多様性と, 概日リズム周期の関係はどうだろうか。シロイヌナズナでは, 概日リズム周期は 20-28 時間程度の種内多様性を示す (Michael et al. 2013)。アオウキクサの概日リズム周期の多様性を調べるために, パーティクルボンバードメント法による発光レポーターの一過的導入を行った (Miwa et al. 2006; Muranaka et al. 2015)。朝方に発現する *CCA1* 遺伝子のシロイヌナズナのプロモーター領域にルシフェラーゼを繋いだ *AtCCA1::LUC+* を導入したところ, 15L9D の明暗条件において 72 系統すべてで発光の明瞭な日周変動が観察された (図6)。明暗条件で 2 日間測定した後に, 連続明条件で 4 日間測定したところ, 65 系統で明瞭な概日リズムが観察でき, 周期は 20~27 時間の多様性を示した。明暗条件での発光ピーク時刻と概日リズム周期は正の相関を示した。さらに, 限界日長と概日リズム周期は負の相関を示した。これは, 短周期の系統では *LaFth1* の発現タイミングが早まり, 短い暗期 (長い明期) でも開花すると考えると理解でき, 概日リズム周

期の多様性が、限界日長の多様性の一因であることを示唆する結果である (Muranaka et al. 2022)。一方でアオウキクサにおいて、概日時計が *LaFTh1* の発現を制御するパスウェイは不明であり、分子機構の解明を進める必要がある。

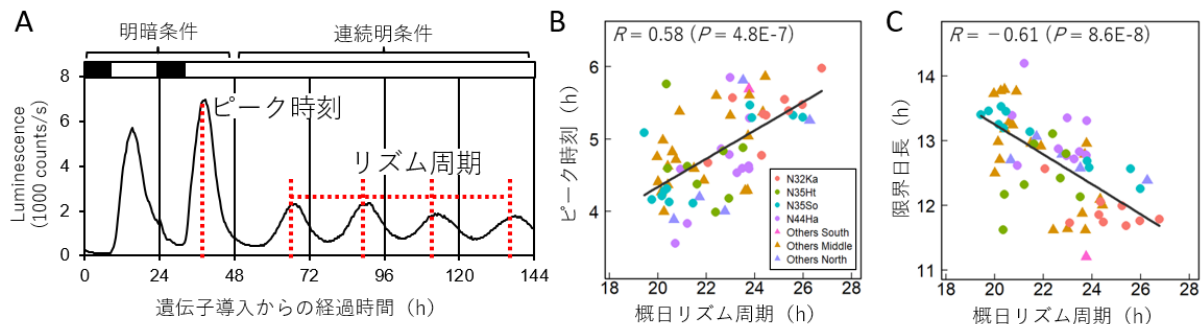


図6. 概日リズム周期と限界日長の関係

A: 発光リズムの例。遺伝子導入の翌日から発光する。B: ピーク時刻とリズム周期の相関。C: 限界日長とリズム周期の相関。

4. 概日リズム周期と局所適応の関係

1日の長さは24時間であるが、一般に概日時計の周期は20~28時間の多様性を示す。そのため、約1日という、概日の名がある。概日時計には外環境の周期に同調する能力があるため、昼夜環境では周期は24時間となる。そのため約24時間であれば問題ないという考えもある。一方で、シロイヌナズナの周期変異体では、概日時計の周期と外環境の周期が異なると生育が悪いという報告がある (Dodd et al. 2005)。短周期型では、夜間のデンプン消費が早まり、1日長い条件では夜明け前に飢餓状態になることが生育悪化の一因だと推定された (Graf et al. 2010)。このように生育を悪化させるリスクがあるのに、周期の多様性は自然界で維持されており、周期を24時間から逸脱させる淘汰圧が想定される。今回、アオウキクサで示された周期と限界日長の相関は、早咲きが有利な環境では、短周期系統が選択される可能性を示している。このような概日時計周期と局所適応の関係は、古くから想定されており実証研究も行われてきた。ショウジョウバエの一種 (*Drosophila subobscura*) ではスカンジナビアとカナリア諸島の個体で、羽化の時刻が異なり、概日リズム周期と羽化時刻が相関を示した (Lankinen 1993)。ドイツのクロウタドリ (*Turdus merula*) では、都市に生育する個体が森林に生育する個体よりも活動開始が早く、概日リズムが短周期であることが報告されている (Dominoni et al. 2013)。トマトの栽培品種は野生株より長周期であるが、これは高緯度の長日条件での生産性との関連が示唆されている (Müller et al. 2016)。アメリカの大豆品種では高緯度に適した品種では概日リズム周期が長い傾向が見られ、1年草のモンキーフラワーも同様に高緯度で長周期化する傾向が見られた (Greenham et al. 2017)。これらの例では高緯度ほど長周期化する傾向があり、アオウキクサとは逆である。これは局所適応の際にターゲットとなる遺伝子が異なり、その位相の前進、後退に対応して周期変化が逆転するためと考えている。さらに、ターゲット遺伝子が複数の可能性も高く、周期と局所適応の関係は生物種や適応プロセスに応じて非常に複雑だと思われる。多年草のモンキーフラワーでは、1年草と異なり周期と緯度に相関は見られないなど、例外も存在する (Greenham et al. 2017)。

個別の例について、概日リズム周期と局所適応をつなぐ分子機構を地道に明らかにしていく必要があるだろう。

植物の概日時計は 10 以上の時計遺伝子から構成される転写ネットワークで構成され、個々の時計遺伝子の変異は周期変化を引き起こす (Nagel and Kay 2012)。そのため概日時計の周期は polygenic 形質である。シロイヌナズナで野生型として広く用いられる Col は 24.40 時間、Ler は 23.16 時間周期で葉が就眠運動を示すが、Col と Ler の組換え自植系統では周期は 22～28 時間と大きな多様性を示す (Michael et al. 2003)。このような超越分離が生じるのは、24 時間周期を達成する対立遺伝子セットが複数存在し、掛け合わせでシャッフルされるためと考えられる。概日時計システムは、変異によって概日振動を維持する点では頑健だが、周期の変化という意味では柔軟である。この柔軟性が standing variation として存在し、概日時計の制御下にある遺伝子の発現タイミングの多様性を生み出し、時間依存的な形質の多様性を担保し、迅速な局所適応を支えているのではないかと感じる (図 7)。実証への道のりは長く険しく感じられるが、この観点は概日時計の進化生態学を考える上で、坂の上の雲となると信じて研究を進めている。

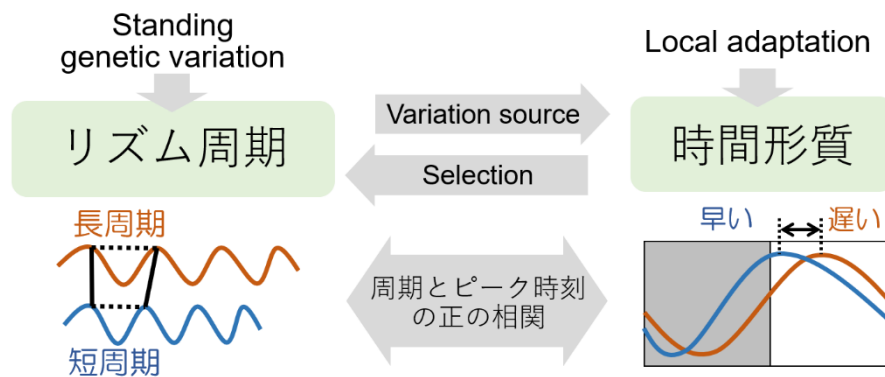


図 7. 概日リズム周期と局所適応

概日リズム周期の多様性は、時間形質の多様性を生み出す。時間形質への淘汰により 24 時間と異なる周期が選択される。このような双方向の関係により、概日リズム周期の多様性が維持され、時に迅速な局所適応を支えるのかもしれない。

謝辞

ここで紹介した研究は、京都大学の小山時隆准教授、伊藤照悟助教、工藤洋教授と共同で行ったものである。また実験に際し、京都大学の芝野郁美博士、本庄三恵准教授、鹿児島大学の榮村奈緒子助教にサポートいただいた。関係者の皆様に深く感謝いたします。また、シンポジウム「植物の多彩な生殖戦略を支える制御機構～もう一度花成を考えてみる～」を共同で企画し、執筆の機会をくださった東京大学の阿部光知教授に感謝いたします。

引用文献

Ågren, J, Oakley CG, Lundemo S, Schemske DW (2017) Adaptive divergence in flowering time among natural populations of *Arabidopsis thaliana*: Estimates of selection and QTL mapping. *Evolution* 71: 550–564. doi: 10.1111/evo.13126

- Beppu T & Takimoto A (1981a) Geographical distribution and cytological variation of *Lemna paucicostata* Hegelm. in Japan. Bot. Mag. Tokyo 94: 11–20. doi: 10.1007/BF02490199
- Beppu T & Takimoto A (1981b) Growth of various ecotypes of *Lemna paucicostata* in Japan under various temperature conditions, and their wintering forms. Bot. Mag. Tokyo 94: 107–114. doi: 10.1007/BF02488269
- Beppu T & Takimoto A (1981c) Further studies on the flowering of *Lemna paucicostata* in Japan Bot. Mag. Tokyo 94: 69–76. doi: 10.1007/BF02488265
- Bog M, Appenroth KJ, Sree, KS (2020) Key to the determination of taxa of *Lemnaceae*: an update. Nordic Journal of Botany, 38: e02658. doi: 10.1111/njb.02658
- Bratzel F, Turck F. (2015) Molecular memories in the regulation of seasonal flowering: from competence to cessation. Genome Biology 16: 192. doi: 10.1186/s13059-015-0770-6
- Cleland CF, Briggs WR. (1967) Flowering responses of the long-day plant *Lemna gibba* G3. Plant Physiol. 42: 1553–1561. doi: 10.1104/pp.42.11.1553.
- Dodd AN, Salathia N, Hall A, Kévei E, Tóth R, Nagy F, Hibberd JM, Millar AJ, Webb AA. (2005) Plant circadian clocks increase photosynthesis, growth, survival, and competitive advantage. Science. 309: 630-633. doi: 10.1126/science.1115581
- Dominoni DM, Helm B, Lehmann M, Dowse HB, Partecke J. (2013) Clocks for the city: circadian differences between forest and city songbirds Proc. R. Soc. B. 280: 20130593. doi: 10.1098/rspb.2013.0593
- Eskuche U and Romero FL, 1982: Contribución a la biología de *Wolffiella Ungulata* (*Lemnaceae*). Sociedad Argentina de Botánica 21, 259–268. <https://botanicaargentina.org.ar/wp-content/uploads/2018/09/259-268015.pdf>
- Graf A, Schlereth A, Stitt M, Smith AM. (2010) Circadian control of carbohydrate availability for growth in *Arabidopsis* plants at night. Proc Natl Acad Sci U S A. 107: 9458-63. doi: 10.1073/pnas.0914299107.
- Greenham K, Lou P, Puzey JR, Kumar G, Arnevik C, Farid H, Willis JH, McClung CR (2017) Geographic variation of plant circadian clock function in natural and agricultural settings. Journal of Biological Rhythms. 32: 26–34. doi: 10.1177/0748730416679307
- Hayama R, Yokoi S, Tamaki S, Yano M, Shimamoto K. (2003) Adaptation of photoperiodic control pathways produces short-day flowering in rice. Nature. 422: 719-22. doi: 10.1038/nature01549.
- Hayama R, Agashe B, Luley E, King R, Coupland G. (2007) A circadian rhythm set by dusk determines the expression of FT homologs and the short-day photoperiodic flowering response in *Pharbitis*. Plant Cell. 19:2988-3000. doi: 10.1105/tpc.107.052480.
- Hillman WS. (1976) Calibrating duckweeds: light, clocks, metabolism, flowering. Science 193: 453–458. doi: 10.1126/science.193.4252.453
- Hillman WS (1959). Experimental Control of Flowering in *Lemna*. I. General Methods. Photoperiodism in *L. Pepusilla* 6746. American Journal of Botany, 46: 466–473. doi: 10.2307/2439143
- Imamura S, Muramatsu M, Kitajo SI, Takimoto (1966) A varietal difference in photoperiodic *Pharbitis nil*. Bot. Mag. Tokyo 79: 714–721. doi: 10.15281/jplantres1887.79.714

- Kondo T, Tsudzuki T (1978) Rhythm in potassium uptake by a duckweed, *Lemna gibba* G3. *Plant Cell Physiol.* 19: 1465–1473. doi: 10.1093/oxfordjournals.pcp.a075731
- Kooyers, NJ, Greenlee AB, Colicchio JM, Oh M, Blackman, BK (2015) Replicate altitudinal clines reveal that evolutionary flexibility underlies adaptation to drought stress in annual *Mimulus guttatus*. *New Phytologist* 206: 152–165. doi: 10.1111/nph.13153
- Landolt E (1986) Biosystematic investigations in the family of duckweeds (*Lemnaceae*) (vol. 2) The family of *Lemnaceae* - a monographic study Volume 1. Veröffentlichungen des Geobotanischen Institutes der ETH, Stiftung Rubel, Zürich, 71. doi: 10.5169/seals-308748
- Landolt E, Kandeler R (1987) Biosystematic investigations in the family of duckweeds (*Lemnaceae*) (vol. 4) The family of *Lemnaceae* - a monographic study Volume 2. Veröffentlichungen des Geobotanischen Institutes der ETH, Stiftung Rubel, Zürich, 95. doi: 10.5169/seals-308870
- Lankinen P (1993) North–south differences in circadian eclosion rhythm in European populations of *Drosophila subobscura*. *Heredity* 71: 210–218. doi: 10.1038/hdy.1993.126
- Lin X, Liu B, Weller James L, Abe J, Kong F (2021) Molecular mechanisms for the photoperiodic regulation of flowering in soybean. *J. Integr. Plant Biol.* 63: 981–994. doi: 10.1111/jipb.13021
- Meng X, Muszynski MG, Danilevskaya ON (2011). The FT-like *ZCN8* gene functions as a floral activator and is involved in photoperiod sensitivity in maize. *Plant Cell* 23: 942–960. doi: 10.1105/tpc.110.081406.
- Michael TP, Salomé PA, Yu HJ, Spencer TR, Sharp EL, McPeck MA, Alonso JM, Ecker JR, McClung CR (2003) Enhanced fitness conferred by naturally occurring variation in the circadian clock. *Science* 302: 1049–1053 doi: 10.1126/science.1082971.
- Miwa K, Serikawa M, Suzuki S, Kondo T, Oyama T (2006) Conserved expression profiles of circadian clock-related genes in two *Lemna* species showing long-day and short-day photoperiodic flowering responses. *Plant Cell Physiol.* 47: 601–612. doi: 10.1093/pcp/pcj027
- Moraes TS, Dornelas MC, Martinelli AP (2019) FT/TFL1: Calibrating plant architecture. *Front. Plant Sci.* 10:97. doi: 10.3389/fpls.2019.00097
- Müller NA, Wijnen CL, Srinivasan A, Ryngajllo M, Ofner I, Lin T, Ranjan A, West D, Maloof JN, Sinha NR, et al. (2016) Domestication selected for deceleration of the circadian clock in cultivated tomato. *Nat Genet* 48: 89–93. doi: 10.1038/ng.3447
- Muranaka T, Okada M, Yomo J, Kubota S, Oyama T. (2015) Characterisation of circadian rhythms of various duckweeds. *Plant Biol (Stuttg)*. 17 Suppl 1: 66-74. doi: 10.1111/plb.12202.
- Muranaka T, Oyama T. (2016) Heterogeneity of cellular circadian clocks in intact plants and its correction under light-dark cycles. *Sci Adv.* 2: e1600500. doi: 10.1126/sciadv.1600500.
- Muranaka T, Ito S, Kudoh H, Oyama T. (2022) Circadian-period variation underlies the local adaptation of photoperiodism in the short-day plant *Lemna aequinoctialis*. *iScience.* 25: 104634. doi: 10.1016/j.isci.2022.104634.
- Nagel DH, Kay SA. (2012) Complexity in the wiring and regulation of plant circadian networks. *Curr Biol.* 22: 648-57. doi: 10.1016/j.cub.2012.07.025.

- Qin Z, Bai Y, Muhammad S, Wu X, Deng P, Wu J, An H, Wu L. (2019) Divergent roles of FT-like 9 in flowering transition under different day lengths in *Brachypodium distachyon*. Nat Commun. 10: 812 doi: 10.1038/s41467-019-08785-y.
- Ray PM. & Alexander WE. (1966) Photoperiodic adaptation to latitude in *Xanthium Strumarium*. Am. J. Bot. 53: 806–816. doi: 10.2307/2440183
- Serikawa M, Miwa K, Kondo T, Oyama T. (2008) Functional conservation of clock-related genes in flowering plants: overexpression and RNA interference analyses of the circadian rhythm in the monocotyledon *Lemna gibba*. Plant Physiol. 146: 1952–63. doi: 10.1104/pp.107.114611.
- Servedio MR, Doorn GSV, Kopp M, Frame AM, Nosil, P (2011) Magic traits in speciation: “magic” but not rare? Trends Ecol. Evol. 26, 389–397. doi: 10.1016/j.tree.2011.04.005
- Xia Z, Watanabe S, Yamada T, Tsubokura Y, Nakashima H, Zhai H, Anai T, Sato S, Yamazaki T, Lü S, et al. (2012). Positional cloning and characterization reveal the molecular basis for soybean maturity locus E1 that regulates photoperiodic flowering. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 109: E2155. doi: 10.1073/pnas.1117982109
- Yanovsky MJ and Kay SA (2002) Molecular basis of seasonal time measurement in Arabidopsis. Nature 419: 308–312. doi: 10.1038/nature00996.
- 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: 697206. doi: 10.3389/fpls.2021.697206.
- Yukawa I. & Takimoto A. (1976) Flowering response of *Lemna paucicostata* in japan. Bot. Mag. Tokyo 89: 241–250. doi: 10.1007/BF02488346
- 別府敏夫, 柳瀬大輔, 野淵正, 村田源 (1985) 日本産アオウキクサ類の再検討 植物分類, 地理 36: 45-58. doi: 10.18942/bunruichiri.KJ00001078530
- 太田行人 (1987) 植物発生生理学 岩波書店 東京都
- 山根久代 (2020) リンゴ花芽の休眠と花成進行に関連した *DORMANCY-ASSOCIATED MADS-box*, *FLC-like* 遺伝子の発現挙動 低温生物工学会誌 66: 17-25. doi: 10.20585/cryobolcryotechnol.66.1_17

Negative long-day plant であるイチゴ (*Fragaria* spp.) の花成について

黒倉 健

宇都宮大学 農学部
〒321-8505 栃木県宇都宮市峰町 350Flowering mechanisms of a “Negative long-day plant”
strawberry (*Fragaria* spp.)

Takeshi Kurokura

School of Agriculture, Utsunomiya University
350 Mine, Utsunomiya, Tochigi, 321-8505, JapanKeywords: circadian clock, flowering, photoperiodism, strawberry, *TFL1*

DOI: 10.24480/bsj-review.14c5.00252

1. はじめに

Garner and Allard (1920) による光周性に関する報告以来、様々な植物種において日長が花成に及ぼす影響とその機構が明らかにされてきた。ここで取り扱うイチゴ (*Fragaria* spp.) においても 1950 年代以降様々な環境条件と花成の関係性が解析されてきたが、いわゆるモデル植物のそれと異なり一般的な知識として定着するには至っていない。そこで本解説においてはモデル植物における日長依存的花成制御経路に関する解説は最小限に留め、これまでに明らかとなったイチゴにおける日長依存的花成反応とその分子メカニズムを紹介し、モデル植物と比較することでイチゴ特有な日長反応についての理解を深めることを目的としたい。

2. イチゴ (*Fragaria* spp.) とは？

いわゆる栽培種イチゴ (*Fragaria* × *ananassa* Duch. ex Rozier) を含む *Fragaria* 属はバラ科 (Rosaceae) に属するロゼットの多年生草本であり、ランナー (匍匐枝) による栄養繁殖と生殖成長 (花成) を同時に行うという特徴を持つ (図 1)。分枝パターンは仮軸分枝で花序は集散花序となる。*Fragaria* 属は主に北半球の温帯から亜寒帯に分布し、属内での倍数性に富む。中でも商業作物でもある *F.* × *ananassa* は染色体数が 56 の 8 倍体 ($2n = 8x = 56$) であり、18 世紀にフランス～オランダにかけての地域 (複数説あり) で北米原産の *F. virginiana* (バージニアイチゴ; $2n = 8x = 56$) と *F. chiloensis* (チリイチゴ; $2n = 8x = 56$) が交雑することにより誕生した交雑種である (Darrow, 1966)。複数の文献が *F.* × *ananassa* のゲノム構成に対する 2 倍体野生種 ($2n = 14$) の貢献を支持しており、中でもヨーロッパに分布する *F. vesca* (エゾヘビイチゴ) に類似したゲノムがみられるとされることから *F. vesca* は栽培種イチゴの祖先種であると推定されている (Edger et al. 2019; Hirakawa et al. 2014; Potter et al. 2000; Tennessen et al. 2014)。

前述のとおり *F. vesca* は栽培種イチゴの祖先種の一つと推定されているが、その生理的反応も *F.* × *ananassa* に類似している。それ以外にもゲノムサイズが比較的小さいこと、個体の

物理的サイズが小さく人工気象器内での栽培が可能であること、理想的条件における世代間隔が4か月程度と比較的短いこと、組織培養（遺伝子組み換え）系が確立されていることから *Fragaria* 属のモデルとしての利用が行われている（表1; Battey et al. 1998; Battey et al. 2000）。

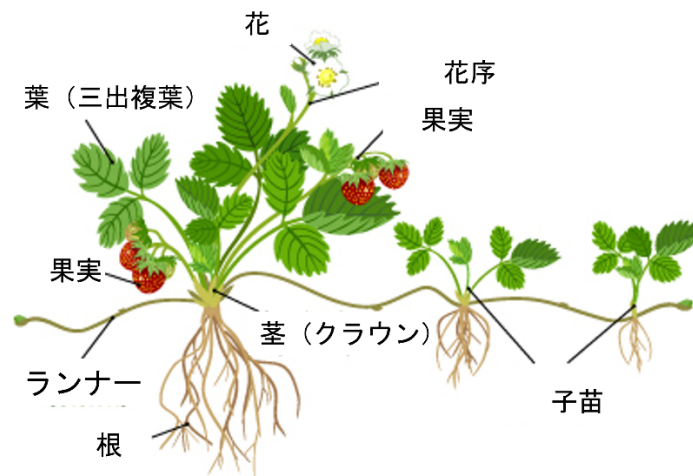


図1 イチゴの形態

表1 モデル植物と *F. vesca* の比較

	イチゴ (<i>F. vesca</i>)	シロイヌナズナ (<i>A. thaliana</i>)	イネ (<i>O. sativa</i>)
分類	バラ科	アブラナ科	イネ科
花成の光周性	短日	長日	短日
生活環	多年生	一年生	一年生
世代間隔 (最短)	4か月	2か月	2か月
推定ゲノムサイズ (1C)	約 240 Mb ^a	約 135 Mb ^b	約 420 Mb ^c
ゲノムデータベース	あり	あり	あり
遺伝子組み換え系	あり	あり	あり

^a Shulaev et al. 2011

^b The Arabidopsis Genome Initiative. 2000

^c Goff et al. 2002

3. イチゴの花成反応

通常の栽培種イチゴを屋外で栽培すると秋の低温・短日に反応して花芽を形成し、冬季の休眠を経て春から初夏に開花する。このことから一般にはイチゴは短日植物として分類されている (Battey et al. 1998)。より詳細には、人工気象器を用いた花成に対する温度と日長の影響の研究から、栽培種イチゴは 10°C 以下の低温条件下では日長に関係なく花成し、30°C 程度の高温暖条件下では花成せず、中間の温度帯では短日植物として花成反応を示すことが報告さ

れており、2倍体野生種である *F. vesca* においても同様の反応を示すことが分かっている (Heide et al. 2013; Ito and Saito, 1962)。商業作物である栽培種イチゴにおいては受光体勢の改善や葉面積の増加を通じた光合成効率の向上、ひいては果実収量の増大を目的とした人工光による補光あるいは日長延長が行われており、このため光質（波長）に対する花成反応の研究も行われてきた。Vince-Prue and Guttridge (1973) は8時間日長 (8:00-16:00) の条件に置いた植物体に対し蛍光灯にフィルムを張った赤色光 (R) と白熱灯による遠赤色光 (FR) をそれぞれ日没後から深夜 (16:00-00:30 ないし 01:00) あるいは日の出前 (23:00-08:00) に照射した場合の花成反応を報告している。具体的には日没後から深夜 (16:00-01:00) に R を照射された植物体には花成に影響がなく8時間日長条件下に置かれた対象区と同様の花成反応を示したのに対し、同じ時間に FR を照射した植物体では花成が遅延したこと、逆に日の出前 (23:00-08:00) に R を照射した植物体は花成しなかったのに対し FR を照射した植物体には花成への影響が見られず8時間日長条件下に置かれた植物体と同様の花成反応を示した事が記述されている (表2)。なお、R と FR を同時に照射した場合には花成反応はみられなかったとしている。彼女らはこの論文において、同様の反応は長日植物の、それも花成促進反応に見られるものであり、イチゴと同様の反応を示す短日植物は *Salvia occidentalis* 以外には知られていないと議論している。この論文の著者の一人である Guttridge は Guttridge (1959a,b) においてランナーで接続された栽培種イチゴのペアそれぞれを短日条件下、長日条件下に置いた実験では、単体であれば花成するはずの短日条件下に置かれた植物体の花成が抑制されたことから、長日条件下に置かれた植物からランナーを通じて花成抑制物質が移動し短日条件下に置かれた植物の花成を抑制したと推測している。これらの状況を踏まえ Guttridge (1985) はイチゴを短日植物 (short-day plant) ではなく、“negative long-day plant”として分類している。Vince-Prue and Guttridge (1973) の実験は光を照射している時間が比較的長いこと、Guttridge (1959a,b) の実験については Savini et al. (2008) が示すようにランナーで接続された植物ペアには方向性 (ヒエラルキー) が見られる場合があることを考慮に入れる必要性が考えられるなど、解釈には注意が必要ではあるが、これらの研究はイチゴの花成反応の特殊性を示す一端であると言える。

表2 Vince-Prue and Guttridge 1973 の実験

光照射		開花した個体の割合			
夕方 (24時まで)	明け方 (8時まで)	カラコエ	シソ	ダイズ	イチゴ
R	なし(暗黒)	0	0	0	100
なし(暗黒)	R	0	-	-	20
R+FR	なし(暗黒)	0	0	0	20
なし(暗黒)	R+FR	0	-	-	10
FR	なし(暗黒)	0	100	100	50
なし(暗黒)	FR	0	-	-	80
なし(暗黒)	なし(暗黒)	100	100	100	100

4. 短日性イチゴと長日性あるいは四季成り性イチゴ

短日植物であり、基本的には年間サイクルの中で花成時期が決まっているイチゴであるが、冬期の短日低温条件による休眠期間（*ただしイチゴ、特に *F. vesca* および *F. × ananassa* が真の意味で休眠するかは Kurokura et al (2013) にあるように議論が分かれる）以外花成を続ける系統・品種が存在する。これらは四季成り性イチゴと呼ばれ、本来は端境期である夏秋期の果実収穫を可能にするため、この性質を導入する試みが古くから行われている。*F. vesca* においても同様の系統が存在し、四季成り性が潜性の 1 遺伝子支配であること (Brown and Wareing, 1965)、およびその原因遺伝子がシロイヌナズナ *TERMINAL FLOWER 1* 相同遺伝子 (*FvTFL1*) であることが判明している (Iwata et al. 2012; Koskela et al. 2012)。*F. × ananassa* では、四季成り性を支配する遺伝子座 (*PFRU*) は *TFL1* 相同遺伝子が座上する第 6 連鎖群ではなく第 4 連鎖群に座上すること、この第 4 連鎖群上に座上する主動遺伝子以外にも 2 つの微動遺伝子が存在するという報告があること、*F. vesca* と異なり四季成り性が顕性遺伝することから、*F. × ananassa* の四季成り性が発揮される機構は *F. vesca* と異なっていることが示唆されている (Cockerton et al. 2023; Gaston et al. 2013)。なお、*PFRU* の分子実体は現在まで不明である。

定義上四季成り性イチゴは季節、特に日長に関係なく花成する系統とされているが、複数の研究がこの系統が長日植物であると議論している (Darrow and Waldo, 1934; Nishiyama and Kanahama, 2000; Sønsteby and Heide, 2007a,b)。特に Sønsteby and Heide (2007a) によれば通常の栽培ではランナー増殖された植物体を栽培に用いるため、その元となった母株の影響を無視することができず時には発根前の状態で花芽が形成されていることすらあり、過去の花成の判定は不正確であったためにこれらの系統が環境非依存的に花成すると判定された可能性が考えられるとしている。また、通常の系統と同様四季成り性の発揮にも温度依存性があることが示唆されている (Rivero et al. 2021)。

5. イチゴの花成経路

長日モデル植物であるシロイヌナズナにおいては主に 5 つの花成経路が提唱されている。このうち光周期依存的な花成経路においては時計遺伝子等によって作り出された *CONSTANS* (*CO*) 遺伝子の mRNA 発現の概日リズムと光依存的な *CO* タンパク質の安定性がフロリゲンの分子実体である *FLOWERING LOCUS T* (*FT*) の発現を制御しているという外的一致 (external coincidence) と、同じく時計遺伝子によって制御されている *FLAVIN-BINDING, KELCH REPEAT, F-BOX 1* (*FKF1*) 遺伝子と自身も時計遺伝子である *GIGANTEA* 遺伝子のタンパク質が光依存的に複合体形成することで *CO* の発現を制御する内的一致 (internal coincidence) によって花成が制御されているとするモデルが提唱されている (Sawa et al. 2008; Sawa and Kay, 2011; Suárez-López et al. 2001)。短日植物のモデルとして利用されてきたイネでは短日条件下で *CO* のホモログである *Hdl* が *FT* のホモログである *Hd3a* の発現を誘導することによって花成が起きる (Tsuji et al. 2011)。いずれにしてもこれらの植物においてはフロリゲンである *FT/Hd3a* の発現は花成条件下においてみられる。

2 倍体野生種イチゴ *F. vesca* のゲノムには *FT* 様配列が最低 3 つ存在し、このうち *FvFT1* の

発現は「長日特異的に」みられる (Kurokura et al. 2017)。FvTFL1 を欠損している *F. vesca* 四季成り性系統において FvFTI を過剰発現させると花成が促進されること、シロイヌナズナ *ft* 変異体で FvFTI を過剰発現させても同様に花成が促進されることから、FvFTI 自体は花成促進因子としての機能を保持しているものと考えられる (Mizushima et al., 学会発表済み)。シロイヌナズナ CO と同じく FvFT の発現を正に制御している FvCO の発現変動はシロイヌナズナと同じく概日リズムを持つが、暗期の中ごろに発現ピークが訪れ、ゆえに夕方 (dusk) がピークにかかるか否かで FT の発現が制御されるシロイヌナズナと異なり、FvCO は発現ピークが明け方 (dawn) 付近にあるため、dusk ではなく dawn において外的一致が FvFT の発現を制御している可能性が考えられる (*自然条件においては日の入りだけでなく日の出の時間も変化することによって日長が変化することに注意) (Kurokura et al. 2017)。ただし、これまでのところ FvCO についてはタンパク質レベルでの解析が行われていないことから、CO と同様に光/暗による FvCO の安定/分解が行われるのかは不明である。

花成促進因子として機能し得る FvFTI が長日条件下で発現するのにもかかわらずイチゴが長日で花成しない理由は何故なのか。それは花成抑制因子である FvTFL1 もまた長日条件特異的に発現しているからである (Koskela et al. 2012)。FvFTI を RNAi により発現低下させた形質転換体では FvSOC1 および FvTFL1 の発現量が低下すること、同様に FvSOC1 の発現を低下させた形質転換体では FvTFL1 の発現量が低下することから、FvCO>FvFTI>FvSOC1>FvTFL1 という花成制御経路が存在していることが示唆される (図 2; Hytönen and Kurokura, 2020; Kurokura et al. 2013; Mouhu et al. 2013; Rantanen et al. 2014)。FvTFL1 の機能が失われている四季成り性 *F. vesca* 系統では FvFTI が長日条件下で発現することにより花成が起きると考えられ、これにより四季成り性系統における長日性花成を説明できる。*F. × ananassa* においても形質転換により TFL1 の発現を低下させた個体では四季成り性を示すこと、FT の発現パターンは FvFT のそれと同じことから、栽培種イチゴにおいても同様の花成経路が存在し、長日条件下では TFL1 によって花成が抑制されていることが示唆される。

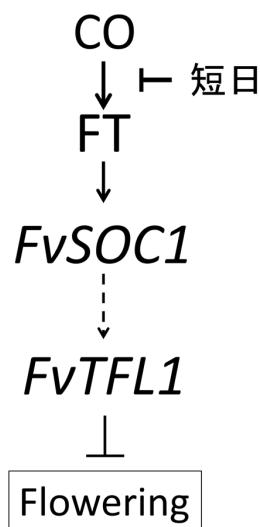


図 2 イチゴの日長依存花成制御モデル

前述のとおり花成「非」誘導条件であるはずの長日条件下で *FvFT1* が発現し、同時に *FvTFL1* による花成の抑制も長日条件下で起きるのであれば、何が花成を促進するのか。Gaston et al. (2021) は *FvFT1* ではなく、葉で日長「非」依存的に発現している *FvFT2* タンパク質が茎頂に移行し花成を促進するモデルを提唱している。このモデルでは短日により *FvTFL1* の発現量が低下し抑制が解除される一方で *FvFT2* の発現量は変化せず抑制/促進のバランスが崩れ、花成が起きる。なお Gaston et al. (2021) は遺伝子組み換え系統の作成において四季成り性系統を使用した実験のみを報告していること、Koskela et al. (2012) は *FvFT2* は主に花芽で発現するとしていることから、通常系統でも葉での *FvFT2* の発現量が *FvTFL1* による抑制を乗り越え花成を誘導するに十分であるかはさらなる検証が必要である。一方 Kurokura et al. (2013) は自然条件下では秋の低温によって *FvTFL1* の発現が低下するのに対し、その時点での日長では *FvFT1* の発現が残っているために花成が起きるとするモデルを提唱している。いずれのモデルも抑制/促進のバランスが花成に重要であるとする点で一致している。

6. Guttridge らの主張とその解釈

イチゴにおいては *FT* 相同遺伝子が長日条件下で発現すること、*FT1* は *TFL1* の発現を（間接的に）正に制御すること、*FT* タンパク質が長距離移行可能であること（あるいは *TFL1* タンパク質も短距離移動することが示されている）から、Guttridge (1959a, b) が想定した移動可能な花成抑制因子はこれらの移動性タンパク質がその分子の実体である可能性が考えられる。すなわち長日条件下で発現した *FT* タンパク質がランナーを通じて子苗に移動し、*TFL1* の発現を誘導する（あるいは *TFL1* タンパク質そのものが移動する）ことで短日条件下に置かれた植物（子苗）の花成を抑制していると解釈が可能である。では Vince-Prue and Guttridge (1973) (表 2) の実験についてはどのように解釈が可能であろうか。Rantanen et al. (2014) は日長延長実験によって、FR（と青色光）が *FvFT1* および *FvSOC1* の発現を正に制御するのに対し、同じタイミングで R を照射した場合は *FvFT1* (*FvSOC1*) の発現が抑制されることを示している。この実験では *FvTFL1* の機能が失われている四季成り性系統を使用していること、dusk のみの実験であることに留意する必要があるが、光質の違いにより *FvFT1* の発現が誘導/抑制され、それを通じて *FvTFL1* による花成の抑制/抑制解除が起きている可能性が示唆される。以上のように Guttridge (1985) によるイチゴは“negative long-day plant”であるという主張には分子的な意義づけが可能であると思われる。

7. おわりに

本解説では主に日長依存的な花成経路について説明した。自然条件下では短日は気温の低下を伴っていることから、実際の花成や花成遺伝子の発現は日長のみならず Ito and Saito (1962) や Rantanen et al. (2015) が示したように気温の影響も受ける。しかし、イチゴがどのようにして気温を感知し花成するのかは不明である。また *FvSOC1* は *FvTFL1* の上流に位置するが、この両者の間に何か別の因子が関与するのか、関与するとすればその因子の分子の実体は *PFRU* と同一であるかも明らかにされていない。今後の研究により、これらの点が明らかにされイチゴ（あるいはバラ科）の花成に対する理解が一層深まることを期待したい。

引用文献

- The Arabidopsis genome initiative. (2000) Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature* 408: 796–815. doi: 10.1038/35048692
- Batthey NH (2000) Aspects of seasonality. *J Exp Bot* 51: 1769–1780. doi: 10.1093/jexbot/51.352.1769
- Batthey NH, LeMiere P, Tehranifar A, Chekic C, Taylor S, Shrivies KJ, Hadley P, Greenland AJ, Darby J, Wilkinson MJ (1998) Genetic and environmental control of flowering in strawberry. In: Cockshull KE, Gray D, Seymour GB, Thomas B. (eds.) Genetic and environmental manipulation of horticultural crops. 111–131. CABI Publishing, Wallingford, UK.
- Brown T, Wareing PF (1965) The genetical control of the everbearing habit and three other characters in varieties of *Fragaria vesca*. *Euphytica* 14: 361–376. doi: 10.1007/BF00032819
- Cockerton HM, Nellist CF, Hytönen T, Litthauer S, Hopson K, Whitehouse A, Sobczyk, Harrison RJ (2023) Epistatic modifiers influence the expression of continual flowering in strawberry. *Plants People Planet* 5: 70–81. doi: 10.1002/ppp3.10300
- Darrow GM (1966) The strawberry. History, breeding and physiology. Holt, Rinehart & Winston, New York
- Darrow GM, Waldo GF (1934). Responses of strawberry varieties and species to duration of the daily light period. U.S. Dep Agri Tech Bull 453.
- Edger PP, Poorten TJ, VanBuren R, Hardigan MA, Colle M, McKain MR, Smith RD, Teresi SJ, Nelson ADL, Wai CM et al. (2019) Origin and evolution of the octoploid strawberry genome. *Nat Genet* 51: 541–547. doi: 10.1038/s41588-019-0356-4
- Garner WW, Allard HA (1920) Effect of the relative length of day and night and other factors of the environment on growth and reproduction in plants. *J Agric Res* 18: 553–606
- Gaston A, Perrotte J, Lerceteau-Köhler E, Rousseau-Gueutin M, Petit A, Hernould M, Rothan C, Denoyes B. (2013) *PFRU*, a single dominant locus regulates the balance between sexual and asexual plant reproduction in cultivated strawberry. *J Exp Bot* 64: 1837–1848. doi: 10.1093/jxb/ert047
- Gaston A, Potier A, Alonso M, Sabbadini S, Delmas F, Tenreira T, Cochetel N, Labadie M, Prévost P, Folta K et al. (2021). The *FveFT2* florigen/*FveTFL1* antiflorigen balance is critical for the control of seasonal flowering in strawberry while *FveFT3* modulates axillary meristem fate and yield. *New Phytol* 232: 372–387. doi: 10.1111/nph.17557
- Goff SA, Ricke D, Lan T-H, Presting G, Wang R, Dunn M, Glazebrook J, Sessions A, Oeller P, Varma H et al. (2002) A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. spp. japonica). *Science* 296: 92–100. doi: 10.1126/science.1068275
- Guttridge CG (1959a). Evidence for a flower inhibitor and vegetative growth promoter in the strawberry. *Ann Bot* 23: 351–360. doi: 10.1093/oxfordjournals.aob.a083661
- Guttridge CG (1959b) Further evidence for a growth promoting and flower inhibiting hormone in strawberry. *Ann Bot* 23: 612–621. doi: 10.1093/oxfordjournals.aob.a083679
- Guttridge CG (1985). *Fragaria x ananassa*. In: Haleby AH (ed) Handbook of flowering. 16–23. CRC press, Boca Raton
- Heide OM, Stavang JA, Sønsteby A (2013) Physiology and genetics of flowering in cultivated and wild

- strawberries— a review. *J Hortic Sci Biotechnol* 88: 1–18. doi: 10.1080/14620316.2013.11512930.
- Hirakawa H, Shirasawa K, Kosugi S, Tashiro K, Nakayama S, Yamada M, Kohara M, Watanabe A, Kishida Y, Fujishir T, et al. (2014) Dissection of the octoploid strawberry genome by deep sequencing of the genomes of *Fragaria* species. *DNA res.* 21: 169–181. doi: 10.1093/dnares/dst049
- Hytönen T, Kurokura T (2020) Control of flowering and runnering in strawberry. *Hort J* 89: 96–107. doi: 10.2503/hortj.UTD-R011
- Ito H, Saito T (1962) Studies on the flower formation in the strawberry plants. I. Effects of temperature and photoperiod on the flower formation. *Tohoku J Agric Res* 13: 191–203.
- Iwata H, Gaston A, Remay A, Thouroude T, Jeauffre J, Kawamura K, Oyant LHS, Araki T, Denoys B, Foucher F (2012) The *TFL1* homologue *KSN* is a regulator of continuous flowering in rose and strawberry. *Plant J* 69: 116–125. doi: 10.1111/j.1365-313X.2011.04776.x
- Koskela EA, Mouhu K, Albani MC, Kurokura T, Rantanen M, Sargent DJ, Battey NH, Coupland G, Elomaa P, Hytönen T (2012) Mutation in *TERMINAL FLOWER1* reverses the photoperiodic requirement for flowering in the wild strawberry *Fragaria vesca*. *Plant Physiol* 159: 1043–1054. doi: 10.1104/pp.112.196659
- Kurokura T, Mimida N, Battey NH, Hytönen T (2013) The regulation of seasonal flowering in the Rosaceae. *J Exp Bot* 64: 4131–4141. doi: 10.1093/jxb/ert233
- Kurokura T, Samad S, Mouhu K, Koskela E, Hytönen T (2017) *Fragaria vesca* *CONSTANS* controls photoperiodic flowering and vegetative development. *J Exp Bo.* 68: 4839–4850. doi: 10.1093/jxb/erx301
- Mouhu K, Kurokura T, Koskela E, Albert VA, Elomaa P, Hytönen T (2013) *Fragaria vesca* homolog of *SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS1* represses flowering and promotes vegetative growth. *Plant Cell* 25: 3296–3310. doi: 10.1105/tpc.113.115055
- Nishiyama M, Kanahama K (2000) Effect of temperature and photoperiod on the development of inflorescences in everbearing strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) plants. *Acta Hortic* 514: 261–267.
- Potter D, Luby JJ, Harrison RE (2000) Phylogenetic relationships among species of *Fragaria* (Rosaceae) inferred from non-coding nuclear and chloroplast DNA sequences. *Syst Bot* 25: 337–348. doi: 10.2307/2666646
- Rantanen M, Kurokura T, Jiang P, Mouhu K, Hytönen T (2015) Strawberry homolog of *TERMINAL FLOWER1* integrates photoperiod and temperature signals to inhibit flowering. *Plant J.* 82: 163–173. doi: 10.1111/tpj.12809
- Rantanen M, Kurokura T, Mouhu K, Pinho P, Tetri E, Halonen L, Palonen P, Elomaa P, Hytönen T (2014) Light quality regulates flowering in *FvFT1/FvTFL1* dependent manner in the woodland strawberry *Fragaria vesca*. *Front Plant Sci* 5: 271. doi: 10.3389/fpls.2014.00271
- Rivero R, Remberg SF, Heide OM, Sønsteby A (2021) Environmental regulation of dormancy, flowering and runnering in two genetically distant everbearing strawberry cultivars. *Sci Hortic*: 110515. doi: 10.1016/j.scienta.2021.110515
- Savini G, Giorgi V, Scarano E, Neri D (2008) Strawberry plant relationship through the stolon. *Physiol*

- Plant 134: 421–429. doi: 10.1111/j.1399-3054.2008.01145.x
- Sawa M, Kay SA (2011) GIGANTEA directly activates Flowering Locus T in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA* 108: 11698–11703. doi: 10.1073/pnas.1106771108
- Sawa M, Kay SA, Imaizumi T (2008) Photoperiodic flowering occurs under internal and external coincidence. *Plant Signal Behav* 3: 269–271. doi: 10.4161/psb.3.4.5219
- Shulaev V, Sargent DJ, Crowhurst RN, Mockler TC, Folkerts O, Delcher AL, Jaisawal P, Mockaitis K, Liston A, Mane SP et al. (2011) The genome of woodland strawberry (*Fragaria vesca*). *Nat Genet* 43: 109–116. doi: doi.org/10.1038/ng.740
- Sønsteby A, Heide OM (2007a) Quantitative long-day flowering response in the perpetual-flowering F1 strawberry cultivar Elan. *J Hort Sci Biotech* 82: 266–274. doi: 10.1080/14620316.2007.11512228
- Sønsteby A, Heide OM (2007b) Long-day control of flowering in everbearing strawberries. *J Hort Sci Biotech* 82: 875–884. doi: 10.1080/14620316.2007.11512321
- Suárez-López P, Wheatley K, Robson F, Onouchi H, Valverde F, Coupland G (2001) *CONSTANS* mediates between the circadian clock and the control of flowering in *Arabidopsis*. *Nature* 410: 1116–1120. doi: 10.1038/35074138
- Tennessen J, Govindarajulu R, Ashman T-L, Liston A (2014) Evolutionary origins and dynamics of octoploid strawberry subgenomes revealed by dense targeted capture linkage maps. *Genome Biol Evol* 6: 3295–3313. doi: 10.1093/gbe/evu261
- Tsuji H, Taoka K, Shimamoto K (2011) Regulation of flowering in rice: two florigen genes, a complex gene network, and natural variation. *Curr Opin Plant Biol* 14: 45–52. doi: 10.1016/j.pbi.2010.08.016
- Vince-Prue D, Guttridge CG (1973) Floral inhibition in strawberry: Spectral evidence for the regulation of flowering by long-day inhibition. *Planta* 110: 165–172. doi: 10.1007/BF00384839

頂端分裂組織における幹細胞の分裂活性の停止と細胞死

白川 一^{1,2}, 伊藤 寿朗¹

¹奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科
〒630-0192 奈良県生駒市高山町 8916-5

²科学技術振興機構・PREST
〒102-0076 東京都千代田区五番町 7

Arrest, and Death of Shoot Apical Stem Cells

Makoto Shirakawa^{1,2}, Toshiro Ito¹

¹Graduate School of Biological Sciences, Nara Institute of Science and Technology
Takayama 8916-5, Ikoma, Nara 630-0192, Japan

²JST・PREST, Goban-cho 7, Chiyoda-ku, Tokyo, 102-0076, Japan

Keywords: Shoot Apical Meristem, Stem Cells, Senescence, Cell death, ROS

DOI: 10.24480/bsj-review.14c6.00253

1. はじめに

頂端分裂組織の幹細胞は、顕花植物の地上部の組織を作るために必要である。植物の栄養成長から老化、および寿命を終えるまで幹細胞が適切な状態を維持するには、高度に制御された分子ネットワークが必要と考えられる。過去数十年の研究から、幹細胞の維持、および分化の遺伝的経路はほぼ明らかになってきた。しかし、幹細胞の老化と死における形態変化、および分子ネットワークの研究は報告がほとんどない。幹細胞の老化と死は、複数の内部および外部シグナルを統合する一連の複雑な経路の制御下にあると考えられている。同時に、幹細胞の老化と死は、植物の寿命と密接に繋がっており、作物の収量に大きな影響を与える重要な形質である。最近の研究から、幹細胞の分裂活性の停止が FRUITFULL (FUL) - APETALA2 (AP2) 経路と植物ホルモンのオーキシンおよびサイトカイニンによって制御されていることが示された。また、ごく最近、頂端分裂組織の幹細胞の老化と細胞死について形態学的な特徴が報告された。加えて、頂端分裂組織の幹細胞における活性酸素種 (ROS) のダイナミックな変化が幹細胞の死を引き起こすトリガーである可能性が示唆された。これらの研究から、幹細胞の死が発生のプログラムに制御された能動的な現象であり、受動的な現象ではないことが明らかとなった。本総説では、植物幹細胞の分裂の停止、老化、および死のプロセスについての最近の知見について紹介する。

2. 頂端分裂組織の維持、老化、および細胞死

顕花植物では、主に茎の先端にある頂端分裂組織と葉腋の分裂組織に、地上部の幹細胞ニッチが維持されている (Karami et al. 2020)。多能性幹細胞である頂端分裂組織の幹細胞から、葉、茎、葉腋の分裂組織、花芽の分裂組織が作られる (Han et al. 2020; Heidstra and Sabatini 2014)。幹細胞の維持とそのパターン形成は、高度に保存された制御因子とそのネットワークによっ

て厳密に制御されている。中でも、植物特異的なホメオドメイン型転写因子 WUSCHEL (WUS) と分泌性ペプチドである CLAVATA3 (CLV3) によって作られる負のフィードバック系は、幹細胞の維持に必須の働きをもっている (Brand et al. 2000; Schoof et al. 2000)。現在までに、幹細胞の形成、維持、分化の制御に関与する内因性、および外因性因子が数多くの研究によって明らかにされている。それらの詳細な分子機構については、Barton (2010), Fouracre and Poethig (2020), Han et al. (2020), および Shi and Vernoux (2022) らの文献に詳しく記載されているので、そちらを参照してほしい。

幹細胞と植物の個体としての寿命の関係は、発生生物学者にとって重要な課題の一つである。幹細胞の寿命と死が、植物の個体としての寿命に深く関わっていることは明らかであるものの、その形態学的な研究やそれを制御する遺伝的ネットワークの研究はこれまでほとんど行われていない。植物個体の寿命における頂端分裂組織の幹細胞の役割の研究を議論する上で、いくつかの言葉の定義が重要である。本総説では、頂端分裂組織の分裂の停止、頂端分裂組織の老化、頂端分裂組織の幹細胞の細胞死の3つの用語の意味を次のように定義する。

頂端分裂組織の分裂の停止: 頂端分裂組織の細胞が分裂を停止すること。ただし、この細胞にはまだ再度分裂を開始する活性がある状態のこと。分裂の再活性化には、発生シグナル、および環境シグナルが必要である。分裂の停止が起きる前に、マスター転写因子 WUS の発現が徐々に減少する。

頂端分裂組織の老化: 細胞と組織が死の準備をするプロセスのこと。最近の研究では、幹細胞の老化は幹細胞の分裂の停止以前に始まることが示唆されているが、詳細な分子機構は不明である。老化時の形態学的な特徴の一つとして、細胞の液胞の肥大化がある。老化の過程で、プログラム細胞死 (PCD) の実行因子であるヌクレアーゼ bifunctional nuclease 1 (BFN1) とその上流マスター転写因子 ORESARA1 (ORE1) の発現が、徐々に上昇する。

頂端分裂組織の幹細胞の細胞死: 幹細胞の PCD。BFN1 によって実行され、実験的には死んだ細胞をヨウ化プロピジウム (PI) 染色によって可視化できる。

これまでのシロイヌナズナの寿命研究では、抽臺後の週数 (Week After Bolting [WAB]; 主茎の長さが 1 cm に達したときからの週数) が、頂端分裂組織の発生段階を表す単位として用いられてきた (Balanzà et al. 2018; Merelo et al., 2022; Wang et al. 2020; Wang et al. 2022)。頂端分裂組織の発生段階は、増殖期 (1-3 WAB, 幹細胞の分裂活性が高い時期)、移行期 (4 WAB, 幹細胞の細胞内構造の変化が起きる時期)、老化時期 (5-6 WAB; 5 WAB での頂端分裂組織の分裂の停止および 6 WAB での幹細胞の細胞死) の3つに分けられる (Merelo et al. 2022; Wang et al. 2020)。これらの過程で重要な点は、幹細胞の分裂活性の停止と頂端分裂組織の老化の関係である。これまでの筆者らの研究から、幹細胞の分裂活性の停止は、老化時期の前半で起きることがわかった。幹細胞の分裂活性の停止は、生殖成長相の一部で、そのまま死ぬか、再度分裂を開始して花を作り、より多くの子孫を残すか、選択をできるようにするための生存戦略の一つであると考えられる。確かに、分裂を停止した頂端分裂組織の細胞内構造の観

察から、すべての幹細胞が分裂能力を失ったわけではないことが明らかになっている(Wang et al. 2020)。さらに、一部の頂端分裂組織の幹細胞は、分裂活性が停止している間に、果実を切除することで、再活性化し、分裂を再開することが知られている (Hensel et al. 1994; Merelo et al. 2022; Wuest et al. 2016; Ware et al. 2020)。分裂活性が停止した頂端分裂組織が再活性化シグナル (植物由来のシグナルまたは人工的なシグナル) を受け取らなかった場合は、老化依存的 PCD が誘導されて、結果的に幹細胞が死ぬことが明らかにされている (Wang et al. 2020)。

植物の寿命は、生殖期間の長さに大きな影響を与える。増殖期では、植物は決まった数の花、果実、種子を作る。したがって、植物の寿命は作物の生産量に直接影響すると考えられる。一部の植物は長寿命であるが、一年生植物では、多くの場合、開花、および結実後に老化が急速に起こる (Umeda et al. 2021)。しかし、開花や結実が植物の死のトリガーであるか、その分子実態がなんであるかは、不明な点が多い。

3. 老化にともなう頂端分裂組織の形態的な変化

一年生植物では、植物全体の老化は結実と強く結びついている (Bleecker and Patterson 1997; Noodén and Leopold 1988; Noodén et al. 1997; Thomas 2013)。老化は、植物の発生の最終段階であり、個体全体で連続的かつ協調的に制御されている。これは、成長が完了し、それに続く成長相の転換と考えられ、細胞、組織、および器官の死で完結する (Nakamura et al. 2000; Thomas 2013)。一年生植物であるシロイヌナズナでは、老化の開始はロゼット葉から始まる。そして、幹細胞から花や果実が作られる増殖期の後に、植物全体で協調的に進む老化がはじまる。老化の最初の現象として、幹細胞で何が起きているのか? という点が重要であり、茎頂の幹細胞の形態変化が詳細に観察された。

老化において、最初期に茎頂分裂組織におこるのが分裂活性の停止である。これにより、側方花芽分裂組織が作られなくなる。モデル植物シロイヌナズナの Ler アクセッションでは、頂端分裂組織の分裂活性の停止はおよそ 5 WAB でおこる (Shannon and Meeks-Wagner 1991; Merelo et al. 2022; Wang et al. 2020)。分裂活性を停止した頂端分裂組織の細胞は、まだ若い分裂組織と同じ細胞内構造の特徴を保持しており、頂端分裂組織の一部がまだ分裂活性を維持していることを示している (Hensel et al. 1994; Wang et al. 2020)。Hensel らは、シロイヌナズナ Ler アクセッションでは、すべての枝の花序で花の分化が協調的に停止し、発達中の果実により頂端分裂組織の分裂活性の停止がおきると報告している。彼らはこの現象を *global proliferative arrest* (GPA) と命名した。GPA について、Hensel らは、主茎の頂端分裂組織とそれ以外の茎の頂端分裂組織の全てが 2 日以内に成長を停止することから、すべての頂端分裂組織に対して働く全身性のシグナル因子が存在し、GPA を誘導していると提唱している (Hensel et al. 1994)。一方で、シロイヌナズナ Col-0 アクセッションを用いた研究では、頂端分裂組織の分裂活性の停止の指標である開花の終わりが、同期的に起きるのではなく、最初の花と最後の花で約 5 日の時間差があることがわかった (Ware et al. 2020)。同期的な分裂活性の停止が存在しないことは、分裂活性の停止が植物個体全体で誘導されるものではなく、局所的に分裂活性の停止を誘導する分子メカニズムがあることを示している (Ware et al. 2020)。Hensel らは、GPA は Col-0 アクセッションと WS アクセッションでも存在することを報告しているが、GPA については定義が曖昧な点も指摘されており、植物個体レベルでの

同調的な分裂活性の停止にはアクセッション間でいくつかの違いがあると考えられる。そのため、GPA という用語は、増殖停止 (proliferative arrest [PA]) として捉えた方が理解しやすいケースがあると考えられる (Hensel et al. 1994; Ware et al. 2020)。最近のシロイヌナズナ Ler アクセッションの観察から、4 WAB で植物全体の開花が終わり、それ以上果実が増加しないことが報告されている (Wang et al. 2020)。

4. 移行期, および老化時期における 頂端分裂組織と幹細胞の特徴

頂端分裂組織の幹細胞は、花序の発達に伴って老化、および細胞死を起こす。移行期および老化時期では、頂端分裂組織のサイズがダイナミックに変化する。走査型電子顕微鏡解析により、頂端分裂組織の面積が増殖期から、移行期、老化時期に伴って徐々に減少することが明らかになった (Wang et al. 2020)。さらに、Merelo らは、頂端分裂組織の細胞のサイズと数が増殖期 (2~3WAB) から停止期 (5WAB) まで減少し、果実除去による分裂活性の再び活性化後に頂端分裂組織のサイズが大幅に増加することを報告した (Merelo et al. 2022)。これらの結果から、老化時期においては、頂端分裂組織が安定した構造と幹細胞集団を維持できないこと、および頂端分裂組織のサイズの減少は細胞の分裂活性の減少を反映していることを示している。一方で、分裂を停止した幹細胞の一部は再活性化の能力を維持している (Wang et al. 2020; Merelo et al. 2022)。

さらに、最近の研究では老化時期の幹細胞の細胞内微細構造が明らかにされた。透過型電子顕微鏡による観察で、表皮第1層 (L1) と L2 の幹細胞が頂端分裂組織の老化の過程で、液胞化することが明らかになった (Wang et al. 2020)。液胞化した細胞の数は老化段階で徐々に増加する (Wang et al. 2020)。細胞分裂には、一定量のサイトゾルが必要であることが報告されており (Kaiser and Schueuring 2020; Seguí-Simarro and Staehelin 2006)、液胞化により幹細胞が分裂能力を失う可能性があることを示唆している。この仮説は、形態学的な観察だけでなく、細胞分裂のマーカ―遺伝子である CYCB1;2 の発現プロファイルによっても裏付けられている (Donnelly et al. 1999; Merelo et al. 2022)。増殖時期には多数の CYCB1;2-GFP 発現細胞が頂端分裂組織で観察されたが、老化時期には CYCB1;2-GFP シグナルがほぼ検出できなくなる (Merelo et al. 2022)。幹細胞の液胞化は、幹細胞が分裂能力を失って老化時期に入ったことを示す細胞構造の特徴の一つであり、幹細胞の老化は頂端分裂組織の分裂活性の停止とほぼ同時に起こる可能性を示している。

では、分裂を停止した幹細胞では何が起きているのであろうか? 最終的に幹細胞が死滅するのか明らかにするために、我々は生細胞の蛍光プローブ (FDA) と死細胞の蛍光プローブ PI を用いて、1-6WAB の頂端分裂組織を観察した。その結果、一部の幹細胞は 5 WAB で PI によって染色され、ほぼすべての幹細胞は 6 WAB で PI によって染色された (Wang et al. 2020)。つまり、幹細胞といえども、最終的には死に至るということが明らかになった。

5. 頂端分裂組織の幹細胞の老化と死を誘導する因子

頂端分裂組織の幹細胞の分裂活性の停止から細胞死に至る複雑な過程は、どのように制御されているのであろう? 遺伝学的解析、細胞生物学的解析、およびトランスクリプトーム等のアプローチによって複数の因子が報告されている。

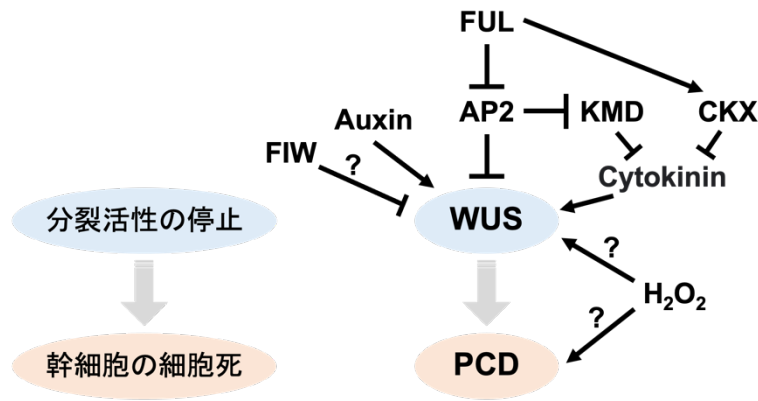


図 1. 頂端分裂組織の分裂の停止と細胞死を制御する分子ネットワーク

シロイヌナズナ T-DNA 挿入変異体の解析により, *fireworks* (*fiw*) 変異体が単離された。*fiw* 変異体では, 花序の成長が野生型よりも 7 日以上早く停止する (Nakamura et al. 2000)。これは, FIW が頂端分裂組織の分裂停止を抑制している可能性を示唆している (図 1)。今後 FIW 遺伝子の単離と同定が期待される。一方で, MADS ボックス遺伝子 FUL は, 頂端分裂組織の分裂停止を促進する (図 1)。*ful* 変異体では, 分裂活性の停止が遅れることで, 果実の生産期間が延長され, 結果的により多くの果実と花が生産される。FUL は, 頂端分裂組織において *WUS* の発現を促進する AP2 の発現を直接抑制することにより, *WUS* の発現を間接的に抑制し, 分裂活性を抑え, 花序における PA を促進する (Balanzà et al. 2018)。

上記の因子群に加えて, 頂端分裂組織の PA は果実からの未知のシグナルによって誘導されると考えられていた (Hensel et al. 1994; Wuest et al. 2016)。Hensel らは, ホルモン非感受性の変異体の観察から, オーキシン, アブシジン酸, ジベレリン, およびエチレンなどの植物ホルモンが頂端分裂組織の PA に関与しないと報告している (Hensel et al. 1994)。一方で, Ware らは, 植物ホルモンの一つであるオーキシンが PA の誘導において重要な役割を果たしていると報告している (図 1)。Ware らは, オーキシンレベルが不稔の果実よりも結実した果実で高く, 個々の結実した果実は不稔の果実の 7.5 倍多くのオーキシンを花茎に供給することを発見した (Ware et al. 2020)。更なる解析から, 結実した果実の高いオーキシンレベルにより, 頂端分裂組織から花茎へのオーキシンの輸送が阻害され, それにより PA が誘導されるという仮説を提唱している (Ware et al. 2020)。オーキシンに加えて, サイトカイニンも PA の制御因子であることがわかってきている。頂端分裂組織のサイトカイニンレベルは, PA の間に徐々に低下すること, PA は外から添加したサイトカイニンによりキャンセルされ, 頂端分裂組織の分裂が誘導される。つまり, サイトカイニンは頂端分裂組織の分裂の停止の負の制御因子である。さらに, 頂端分裂組織において FUL は, サイトカイニンシグナル伝達の負の制御因子である KISS ME DEADLY 2 (KMD2) を間接的に活性化し, 同時に, サイトカイニン不活性化酵素であるサイトカイニンオキシダーゼ (CKX) を直接活性化して, サイトカイニンレベルの低下をもたらす。サイトカイニンレベルの低下は, *WUS* および *CYCB1;2* のレベルを低下させる (図 1) (Martínez-Fernández et al. 2020; Merelo et al. 2022)。サイトカイニンは PA の誘導と幹細胞の消失の二つを制御していると考えられる (Karami and Rahimi, 2022; Martínez-Fernández et al. 2020; Merelo et al. 2022)。

頂端分裂組織の分裂活性の停止、老化および細胞死の制御因子を発見するために、トランスクリプトーム解析によるアプローチも行われている。Wang らは、分裂活性の高い頂端分裂組織 (2WAB) と分裂を停止した頂端分裂組織 (4WAB) の比較トランスクリプトーム解析を行った。その結果、ROS 関連の GO ターム (遺伝子コードするタンパク質の細胞内局在や生理学的機能に着目して、遺伝子に付けられるアノテーション) が見出され、実際に、ROS の一つである H_2O_2 が老化時期の頂端分裂組織に特異的に蓄積することを発見し、ROS が頂端分裂組織の PA と細胞死に関与することを見出した (Wang et al. 2020)。

幹細胞の PCD の分子メカニズムについても少ないながらもいくつかの知見がある。一部の幹細胞が死に始める 5WAB での PCD マーカー遺伝子 ORE1 および BFN1 の時空間的発現パターンが解析され、これら 2 つの遺伝子が 5WAB の頂端分裂組織で高いレベルで発現していることが明らかとなっている (Wang et al. 2020; Wang et al. 2022)。ORE1 およびその直接の標的である BFN1 が幹細胞死を制御している可能性がある。細胞死に先立って、頂端分裂組織において蓄積する ROS の種類が変化することも明らかとなっている。具体的には、頂端分裂組織の老化に伴い、 O_2^- が減少し、 H_2O_2 が増加する (Wang et al. 2022)。この ROS の種類の転換が PCD マーカーの発現時期と非常によく一致することから、ROS の種類の転換が PCD 実行因子の発現を誘導している可能性がある。頂端分裂組織への H_2O_2 添加は WUS の発現を制し、一方で ORE1 の発現を促進した (図 1; Wang et al. 2022)。ROS の生合成や代謝に関わる酵素の変異体における、植物の寿命の長さや WUS, ORE1 の発現解析が今後必要になると考えられる。

6. おわりに

最近の研究により、頂端分裂組織の幹細胞の分裂活性の停止、幹細胞の老化、および幹細胞死における形態学的な知見および分子ネットワークが徐々に明らかになってきた。しかし、植物の頂端分裂組織の寿命についての研究はまだ始まったばかりで、上記の知見も異なる解像度で得られた断片的な知見である。例えば、アクセッション間で見られた GPA の観察結果の違いが、研究室間の実験条件の違いに起因するのか、寿命制御の多様性なのか不明である。今後、異なる解像度の知見が蓄積していくことで、保存された経路、ホルモン間クロストーク、細胞死の引き金などが見つかることが期待される。さらに、幹細胞の寿命と葉や茎といった異なる組織の老化がどのように協調的に制御されているのかといった点も重要な課題である。それらの課題を解くためにも、寿命研究の全体を包括的に捉える複数の仮説の提唱が必要である。そのためには、組織レベル・器官レベルに加えて、細胞レベルで時空間的な遺伝子発現パターンのダイナミクスを観察するための高解像度顕微鏡観察やシングルセルトランスクリプトーム解析といった新しい技術を導入していく必要があると考えられる。植物の寿命は作物や果実の収量に直結することから、将来的には、植物の寿命を人為的に制御する技術の開発や、果実や作物の収量を予測する情報技術の開発につながることを期待される。

引用文献

- Balanzà V, Martínez-Fernández I, Sato S, Yanofsky MF, Kaufmann K, Angenent GC, Bemer M, Ferrándiz C (2018) Genetic control of meristem arrest and life span in *Arabidopsis* by a FRUITFULL–APETALA2 pathway. *Nat. Commun.* 9: 565. doi: 10.1038/s41467-018-03067-5
- Barton M (2010) Twenty years on: the inner workings of the shoot apical meristem, a developmental dynamo. *Dev. Biol.* 341:95–113. doi: 10.1016/j.ydbio.2009.11.029
- Bleecker AB, Patterson SE (1997) Last exit: senescence, abscission, and meristem arrest in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 9: 1169–79. doi: 10.1105/tpc.9.7.1169
- Brand U, Fletcher JC, Hobe M, Meyerowitz EM, Simon R (2000) Dependence of stem cell fate in *Arabidopsis* on a feedback loop regulated by CLV3 activity. *Science* 289: 617–619. doi: 10.1126/science.289.5479.617
- Donnelly PM, Bonetta D, Tsukaya H, Dengler RE, Dengler NG (1999) Cell cycling and cell enlargement in developing leaves of *Arabidopsis*. *Dev. Biol.* 215: 407–419. doi: 10.1006/dbio.1999.9443
- Fouracre JP, Poethig RS (2020) Lonely at the top? Regulation of shoot apical meristem activity by intrinsic and extrinsic factors. *Curr. Opin. Plant Biol.* 58: 17–24. doi: 10.1016/j.pbi.2020.08.008
- Han H, Liu X, Zhou Y (2020) Transcriptional circuits in control of shoot stem cell homeostasis. *Curr. Opin. Plant Biol.* 53: 50–56. doi: 10.1016/j.pbi.2019.10.004
- Heidstra R, Sabatini S (2014) Plant and animal stem cells: similar yet different. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 15: 301. doi: 10.1038/nrm3790
- Hensell LL, Nelson MA, Richmond, TA, Bleecker AB (1994) The fate of inflorescence meristems is controlled by developing fruits in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 106: 863–876. doi: 10.1104/pp.106.3.863
- Kaiser S, Scheuring D (2020) To Lead or to Follow: Contribution of the Plant Vacuole to Cell Growth. *Front. Plant Sci.* 11:553. doi: 10.3389/fpls.2020.00553
- Karami O, Rahimi A, Khan M, Bemer M, Hazarika RR, Mak P, Compier M, van Noort V, Offringa, R (2020) A suppressor of axillary meristem maturation promotes longevity in flowering plants. *Nat. Plants* 6: 368–376. doi: 10.1038/s41477-020-0637-z
- Karami O, Rahimi A (2022) The end of flowering: interactions between cytokinin and regulatory genes. *Trends Plant Sci.* S1360-1385(22)00151-0. doi: 10.1016/j.tplants.2022.05.011.
- Martínez-Fernández I, Menezes de Moura S, Alves-Ferreira M, Ferrándiz C, Balanzà V (2020) Identification of Players Controlling Meristem Arrest Downstream of the FRUITFULL-APETALA2 Pathway. *Plant physiol.* 184: 945–959. doi: 10.1104/pp.20.00800

- Merelo P, González-Cuadra I, Ferrándiz C (2022) A cellular analysis of meristem activity at the end of flowering points to cytokinin as a major regulator of proliferative arrest in *Arabidopsis*. *Curr. Biol.* 32: 749–762.e3. doi: 10.1016/j.cub.2021.11.069
- Nakamura M, Mochizuki N, Nagatani A (2000) Isolation and characterization of an *Arabidopsis* mutant, *fireworks* (*fiw*), which exhibits premature cessation of inflorescence growth and early leaf senescence. *Plant Cell Physiol.* 41: 94–103. doi: 10.1093/pcp/41.1.94
- Noodén LD, Leopold AC (1988) *Senescence and Aging in Plants*. Academic Press, London.
- Noodén LD, Guamet JJ, John I (1997) Senescence mechanisms. *Physiol. Plant* 101: 746–753.
- Schoof H, Lenhard M, Haecker A, Mayer KF, Jurgens G, Laux T (2000) The stem cell population of *Arabidopsis* shoot meristems is maintained by a regulatory loop between the *CLAVATA* and *WUSCHEL* genes. *Cell* 100: 635–644. doi: 10.1016/s0092-8674(00)80700-x
- Seguí-Simarro JM, Staehelin LA (2006) Cell cycle-dependent changes in Golgi stacks, vacuoles, clathrin-coated vesicles and multivesicular bodies in meristematic cells of *Arabidopsis thaliana*: a quantitative and spatial analysis. *Planta* 223: 223–236. doi: 10.1007/s00425-005-0082-2
- Shannon S, Meeks-Wagner DR (1991) A mutation in the *Arabidopsis TFL1* gene affects inflorescence meristem development. *Plant Cell* 3: 877–892. doi: 10.1105/tpc.3.9.877
- Shi B, Vernoux T (2022) Hormonal control of cell identity and growth in the shoot apical meristem. *Curr. Opin. Plant Biol.* 65: 102111. doi: 10.1016/j.pbi.2021.102111
- Thomas H (2013) Senescence, ageing and death of the whole plant. *New Phytol.* 197: 696–711. doi: 10.1111/nph.12047
- Umeda M, Ikeuchi M, Ishikawa M, Ito T, Nishihama R, Kyojuka J, Torii KU, Satake A, Goshima G, Sakakibara H (2021) Plant stem cell research is uncovering the secrets of longevity and persistent growth. *Plant J.* 106: 326–335. doi: 10.1111/tpj.15184
- Wang Y, Kumaishi K, Suzuki T, Ichihashi Y, Yamaguchi N, Shirakawa M, Ito T (2020) Morphological and Physiological Framework Underlying Plant Longevity in *Arabidopsis thaliana*. *Front. Plant Sci.* 11: 600726. doi: 10.3389/fpls.2020.600726
- Wang Y, Shirakawa M, Ito T (2022) Dynamic Changes in Reactive Oxygen Species in the Shoot Apex Contribute to Stem Cell Death in *Arabidopsis thaliana*. *Int. J. Mol. Sci.* 23: 3864. doi: 10.3390/ijms23073864
- Ware A, Walker CH, Šimura J, González-Suárez P, Ljung K, Bishopp A, Wilson ZA, Bennett T (2020) Auxin export from proximal fruits drives arrest in temporally competent inflorescences. *Nat. Plants* 6: 699–707. doi: 10.1038/s41477-020-0661-z

Wuest SE, Philipp MA, Guthörl D, Schmid B, Grossniklaus U (2016) Seed production affects maternal growth and senescence in Arabidopsis. *Plant Physiol.* 171: 392–404. doi: 10.1104/pp.15.01995