

種子高温発芽阻害機構

冬季一年草種子のアブシジン酸を介した温度応答による発芽タイミング制御

郷内 武*1・木村直敬・佐藤 茂・吉岡俊人(東北大学大学院農学研究科)

はじめに

本誌の読者で週末の家庭園芸にいそしんでおられる方は多いだろう。園芸書を読むと、「秋まき草花を種子から育てるときは播種の時期を逃さないように」との注意書きを目にする。そのわけは、秋まき園芸草本が、野生であったころの冬季一年草の発芽習性を残しているので、播種に適する期間が春まき草本に比べて短いことによる。

温帯の一年生草本は、生活環によって夏季一年草と冬季一年草とに分けられる。夏季一年草は、春から初夏に発芽して夏期間に成長し、秋に開花結実する。一方、本論文でとりあげる冬季一年草は、秋に種子発芽して越冬し、翌春から初夏に開花、種子生産する生活環を示す。発芽が早すぎた冬季一年草個体は、高温や乾燥などの環境ストレスや夏季一年草との競争にさらされる。また、発芽が遅すぎた個体は、冬までに十分な栄養成長ができないので、冬季の低温に対する耐性や春先の成長力に劣ってしまう。これらはいずれも個体群の適応度を大きく下げる要因なので、冬季一年草の発芽時期は秋季の限られた期間に限定されることになる。そのため、冬季一年草は、季節の移り変わりにともなう環境の変化を敏感に感知して最適な時期に発芽するためのしくみを獲得してきた。以下に、環境因子として温度、内部因子としてアブシジ

ン酸(ABA) *2に着目してわれわれが行っている種子の環境応答機構研究のこれまでの成果に基づき、冬季一年草の種子発芽タイミング制御機構について述べてみたい。

発芽タイミングを知るしくみ

Vegis (1964) は種子の休眠が覚醒するにつれて発芽可能な温度範囲が拡大することを提唱した。1980年代になると、BaskinらやKarssenらによって、雑草埋土種子の休眠/非休眠サイクルの季節的ダイナミズムが発芽温度範囲と土壤温度との関連においてモデル化された(Probert, 1992による総説を参照)。

ここでは、仙台市におけるミドリハコベ(*Stellaria neglecta* L.)を対象にした研究例(Yoshiokaら, 2003)から種子休眠の季節的ダイナミズムをみることにしよう(図-1)。ミドリハコベは、樹園地や路傍などの雑草となっている冬季一年草である。5月、採取直後の種子は一次休眠状態にあったが、季節が進むにつれ休眠が覚醒して発芽の上限温度が高くなった。土壤温度の上昇が頭打ちになった8月中旬には、発芽可能温度範囲と土壤温度がオーバーラップするようになり、野外での発芽が一斉に起った。11月になると、二次休眠が誘導されるのともない発芽可能温度範囲は急速に縮小し、発芽下限温度が土壤温度の上限を上回った。この結果

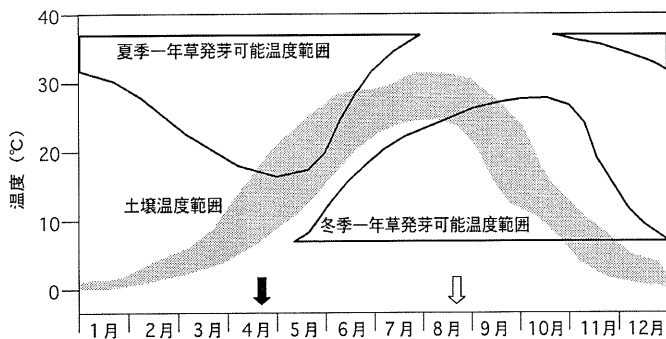


図-1 仙台市における土壌温度と夏季一年草（イヌビエ）および冬季一年草（ミドリハコベ）埋土種子の発芽可能温度範囲の季節変化。採種後すぐに表層下1cmに埋土した種子を1月毎に掘り上げ、8, 13, 18, 23, 28, 33, 38℃の暗黒下で発芽試験を行った。各発芽試験の温度-発芽率曲線から5%以上の種子が発芽する温度を求めてプロット（実線）し、発芽可能温度範囲とした。ドットで示されたエリアは1時間毎に測定された土壌温度（表層下1cm）の分布範囲。矢印はイヌビエ（黒塗り）、ミドリハコベ（白抜き）の出芽開始時期。

は、ミドリハコベなどの冬季一年草が、発芽可能温度範囲で表される種子休眠の状態を調節することで、土壌温度という安定的に繰り返される季節変化のシグナルにตอบสนองして、発芽時期を察知することを示している。図-1で特に注目していただきたいのは、5月中旬から8月初旬まで、発芽上限温度が土壌温度範囲の下限値よりも常に5～10℃低く推移したことである。つまり、ミドリハコベ埋土種子は、夏の間、土壌温度が発芽に適する温度よりも高いことをセンシングすることで、秋発芽のタイミングを決定しているのである。

ABAを介して温度を知るしくみ

種子の高温センシング機構がレタス (*Lactuca sativa* L. cv. Grand Rapids) を用いて調べられた (Gonaiら, 2004)。地中海沿岸から西アジアを起源地とする冬季一年草 *Lactuca serriola* L. から栽培化されたレタスは、播種時の温度が高いと種子の高温発芽阻害*3を起こし、しばしば栽培上の問題となる。28℃での高温発芽阻害は、レタス種子を置床した培地にABA生合成

阻害剤のフルリドン*4を添加しておくで回避された (図-2)。Yoshiooka ら (1998) は、発芽が阻害される高温に置床されたレタス種子のABA内生量が、水を培地にした場合に高いレベルに保たれ、フルリドンが添加されると低下することから、発芽阻害温度では代謝に見合う速度でABAが生合成されることを示した。この結果から、最適発芽温度から5～10℃高い28℃という温度をセンシングしたレタス種子は、ABA生合成を促進して高いABA

内生量を維持し、発芽を抑制すると考えられる。

ところが、さらに高温の33℃では、フルリドン単独での発芽促進効果は消失した (図-2)。レタス種子のABAに対する感受性は、置床温度が18℃から28℃、28℃から33℃になると、それぞれ10倍増加した (図-3)。これは、33℃においては発芽阻害を起こすABA内生量の閾値が28℃に比べて低いことを意味する。つまり、レタス種子が33℃という高温をセンシングすると

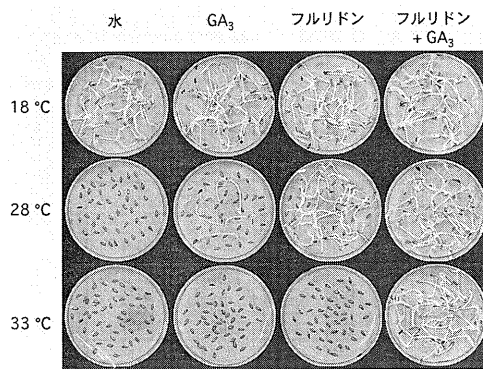


図-2 レタス種子発芽温度反応に対するABA生合成阻害剤フルリドンとGAの影響
レタス種子 (Grand Rapids) を水、30 μ Mフルリドン、2mM GA₃、および30 μ Mフルリドン+2mM GA₃ 溶液に置床し、18, 28, 33℃の暗黒下で120時間インキュベートした。

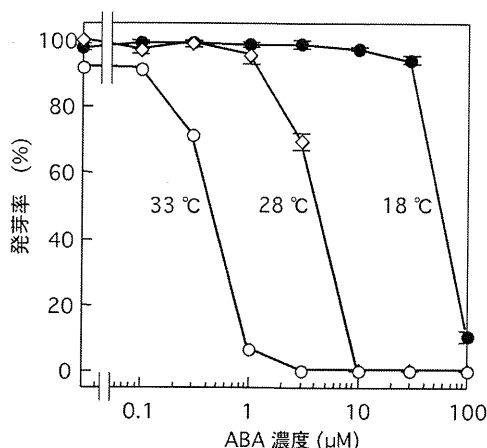


図-3 温度上昇にともなうレタス種子ABA感受性の増加

レタス種子 (Grand Rapids) を様々な濃度のABA溶液に置床し、18、28、33℃の暗黒下で120時間インキュベートした。28℃では30 μMフルリドン、33℃では30 μMフルリドンと2mM GA₃が混合されている。

ABA感受性を高めて、発芽阻害のABA内生量閾値を低下させるのである。このような種子では、フルリドンでABA合成を抑制するだけでは、ABA内生量を発芽可能なレベルまで減少させることができなかったと考えられる。

GAによるABAレベルの調節

図-2において、33℃に置床されたレタス種子を発芽誘導するためには、フルリドンとジベレリン (GA) を同時に培地に添加する必要がある。この時、GAはどのような働きをしたのだろうか。ABAの主要代謝物であるファゼイン酸、

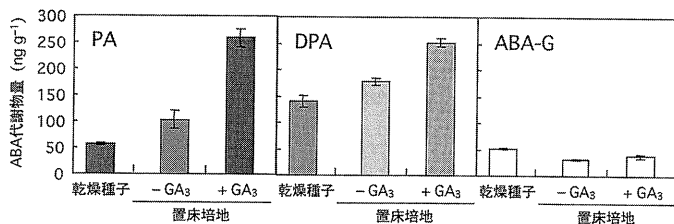


図-4 GAによるレタス種子ABA代謝の促進

レタス種子 (Grand Rapids) を水および2mM GA₃溶液に置床し、18℃の暗黒下で18時間インキュベートした後、種子と培地に含まれる主要なABA代謝物をGC/MSにより定量した。ABAグルコシルエステルにはABAグルコシドが混在する可能性がある。ABA-GE, ABAグルコシルエステル; DPA, ジヒドロファゼイン酸; PA, ファゼイン酸

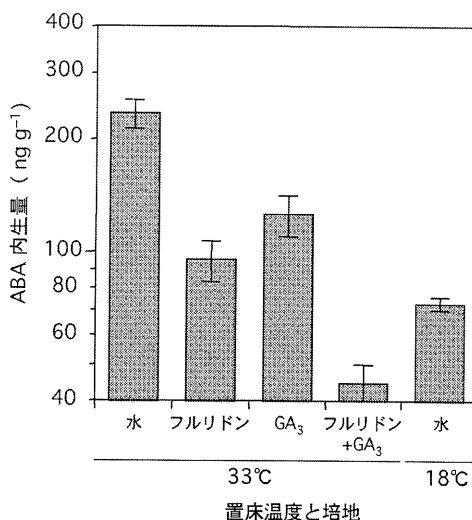


図-5 高温下に置床されたレタス種子のABA内生量に対するABA合成阻害剤フルリドンとGAの影響
レタス種子 (Grand Rapids) を水、30 μMフルリドン、2mM GA₃、および30 μMフルリドン+2mM GA₃ 溶液に置床し、18℃あるいは33℃の暗黒下でインキュベートした後、種子に含まれるABAをGC/MSにより定量した。

ジヒドロファゼイン酸およびABAグルコシルエステルを定量した結果、外生GAがABAの酸化的代謝を促進することが明らかになった (図-4)。33℃に置床した種子のABA内生量をみると、フルリドンあるいはGAを単独に添加しても発芽適温である18℃置床時のレベルまで低下しなかったが、両化合物を同時に与えると18℃の場合よりもさらに低い値となった (図-5)。したがって、フルリドンによるABA合成抑制とGAによるABA代謝促進が相加的に働いてABA内生量が十

分に低くなった結果、ABA作用濃度の閾値が低い33℃という高温でも発芽が起きたものと考えられる。

Gonaiら (2004) によれば、発芽前のレタス種子のGA₁内生量は、18℃置床の場合と33℃の場合とで差がない。したがって、GA内生量の調節系が種子の温度センシングに関与する可能性は小さいかも

知れない。

冬季一年草埋土種子の高温発芽阻害モデル

ミドリハコベは、盛夏期の種子発芽を避けて秋期に発芽を起こすしくみを持っていた。高温発芽阻害である。21種の冬季一年草中、19種が種子の高温発芽阻害を示し、そのうち17種ではフルリドンによる高温発芽阻害の回避効果が認められた (Yoshiokaら, 1998)。このことから、ABAの関与する高温発芽阻害は、冬季一年草に共通する発芽の季節性の制御機構と思われる。

まとめとして、レタス種子を用いた研究結果から得られた高温発芽阻害機構のモデルを示す (図-6)。置床温度が発芽に高すぎることをセンシングした種子は、ABA合成を促進し、ABA内生量を高く保って発芽を抑制する。このマイルドな発芽阻害は、ABA合成を抑制するかABA代謝を促進することで回避される。さらに高温であることを種子がセンシングすると、ABA合成の促進に加えて、ABAに対する感受性を高める。このシビアな高温発芽阻害を受けている

種子のABA内生量を発芽可能な閾値まで減少させるには、ABA合成を抑制すると同時にABA代謝を促進する必要がある。GAは、ABAの代謝促進にはたらくので、マイルドな高温発芽阻害種子の発芽をある程度誘導し、また、フルリドンとの共存でシビアな高温発芽阻害を解除する。

機会的な発芽の誘導

Toyomasuら (1993, 1998) によれば、レタス種子への赤色光照射は、GA-3 β -水酸化酵素遺伝子の発現を誘導して活性型GAの生合成を促進する。冬季一年草種の埋土種子集団を構成する個々の種子は、夏の間、様々な程度の高温発芽阻害状態にある考えられる。種子集団のうち、きわめてマイルドな高温発芽阻害を受けている種子が耕耘や裸地化などによって露光した場合、順次、GA生合成の誘導、GA内生量の増加、ABA代謝の促進、ABA内生量の減少の各イベントが進行し、機会的な発芽が誘起されられると思われる。また、そのような攪乱によって地表近くに分布したマイルドな高温発芽阻害種子は、より大きな

土壌温度の日較差に遭遇するので、発芽可能温度範囲内の土壌温度に置かれて高温発芽阻害が解除されることがあるかも知れない。

コハコベ (*Stellaria media* L.)

は、春から秋まで機会的に発芽する冬季一年草であり、ミドリハコベが侵入できない畑地においても重要な雑草となっている (Miuraら, 1995a, 図-7A)。

Miuraら (1995b) によれば、コハコベ埋土種子の8月中旬における発芽上限温度はミドリハ

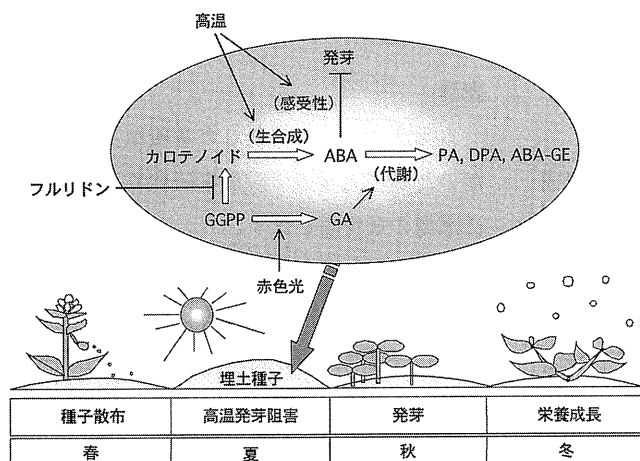


図-6 レタス種子をモデルにした冬季一年草埋土種子の高温発芽阻害機構
黒矢印は促進、Tバーは阻害を示す。詳細は本文を参照。ABA, アブシジン酸; ABA-GE; ABAグルコシルエステル; DPA, ジヒドロファゼイン酸; GA, ジベレリン; GGPP, ゲラニルゲラニルピロリン酸; PA, ファゼイン酸

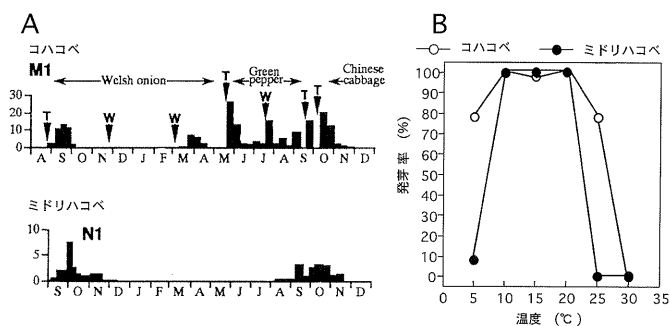


図-7 コハコベとミドリハコベの発芽習性（著者の許可を得て，Miuraら1995a, bから抜粋）
 (A) 野外における発芽パターン：コハコベは畑地，ミドリハコベは沢沿いに調査区を設置した。
 (B) 種子の発芽可能温度範囲：6月に野外に埋土した種子を8月中旬に掘り上げ，光条件で発芽試験した。

コベのそれに比べて5℃高い（図-7B）。ミドリハコベが，発芽の季節性を発現するために，夏季の種子発芽上限温度を土壤温度よりも5～10℃低く設定していたことを考えると，この時期のコハコベ種子の発芽上限温度は，土壤温度の下限值に近接していると推察される。コハコベは，高温発芽阻害の程度をミドリハコベよりもマイルドに調整し，露光や温度日較差などの偶発的な発芽刺激へ応答できる状態に埋土種子を置くことで，発芽の機会性を確保しているのだろう。

脚注

*1 現在，茨城県農業総合センター生物工学研究所

*2 アブシジン酸（ABA）：種子発芽の調節や環境ストレスへの耐性に働く植物ホルモン。植物体内ではカロテノイドを前駆物質にして合成され，ファゼイン酸，ジヒドロファゼイン酸，ABAグルコシルエステルなどに代謝不活化される。ゼアキサンチンエポキシダーゼ，9-cis-エポキシカロテノイドジオキシゲナーゼ，アブシジンアルデヒドオキシダーゼなどABA生合成系の酵

素遺伝子は様々な植物から同定されている。ごく最近，ABA代謝系の鍵酵素ABA8'-水酸化酵素の遺伝子が単離された。ABAのレセプターは明らかになっていない。

*3 高温発芽阻害(thermo-inhibition)：発芽適温を超える温度に播種された種子が，著しい発芽率低下や発芽遅延を起こす現象。

高温発芽阻害を受けた種子は適温に戻されると発芽を回復する。

高温に置床された種子が二次休

眠状態となった場合は，高温休眠(thermodormancy)と呼び，高温発芽阻害と区別する。蔬菜や花卉では，しばしば栽培上の問題となる。

*4 フルリドン(fluridone, 1-methyl-3-phenyl-5-(3-tri-fluoromethyl-(phenyl))-4-(1H)-pyridinone)：カロテノイド合成系の酵素フィトエンデサチュラーゼ活性を阻害する白化型除草剤。植物体内ではABAはカロチノイドを経由して合成されるので，ABA合成阻害剤としても用いられる。

謝辞

本論文の作成に当たり有意義なご助言をいただいた京都大学大学院農学研究科三浦勸一博士に感謝の意を表します。

引用文献

Gonai, T., Kawahara, S., Tougou, T., Satoh, S., Hashiba, T., Hirai, N., Kawaide, H., Kamiya, Y. and Yoshioka, T. 2004. Absciscic acid in the thermo-inhibition of lettuce seed germination and enhancement of its catabolism by gibberellin. Journal of

- Experimental Botany 55, 111-118.
- Miura, R., Kobayashi, H. and Kusanagi, T. 199
5a. Effects of emergence time on survival
and plant size in natural populations of
Stellaria media and *S. neglecta*. Weed
Research, Japan 40, 179-186.
- Miura, R., Kobayashi, H. and Kusanagi, T.
1995b). A comparative study of seed dormancy
and germination behavior between *Stellaria media*, an
agrestal weed, and *S. neglecta*, a ruderal. Weed
Research, Japan 40, 271-278.
- Probert, R.J. 1992. The role of temperature
in germination ecophysiology. In M. Fenner
ed., Seeds. The ecology of regeneration
in plant communities, pp. 285-325, CAB
International, Wallingford.
- Toyomasu, T., Tsuji, H., Yamane, H.,
Nakayama, M., Yamaguchi, I., Murofushi,
N., Takahashi, N. and Inoue, Y. 1993.
Light effects on endogenous levels of
gibberellins in photoblastic lettuce
seeds. Journal of Plant Growth Regulation
12, 85-90.
- Toyomasu, T., Kawaide, H., Mitsuhashi, W.,
Inoue, Y. and Kamiya, Y. 1998. Phytochrome
regulates gibberellin biosynthesis during
germination of photoblastic lettuce
seeds. Plant Physiology 118, 1517-1523.
- Vegis, A. 1964. Dormancy in higher plants.
Annual Review of Plant Physiology 15, 185-
224.
- Yoshioka, T., Endo, T. and Satoh, S. 1998.
Restoration of seed germination at supra-
optimal temperatures by fluridone, an
inhibitor of abscisic acid biosynthesis.
Plant and Cell Physiology, 39, 307-312
- Yoshioka, T., Gonai, T., Kawahara, S.,
Satoh, S. and Hashiba, T. 2003. The regula-
tion of the thermoinhibition of seed
germination in winter annual plants by
abscisic acid. In G. Nicolas, K.J. Brad-
ford, D. Come and H.W. Pritchard eds. The
Biology of Seeds: Recent Research
Advances, pp. 217-223, CAB International.

日本雑草学会ブックレット

雑草の逆襲

除草剤のもとで生き抜く雑草の話

伊藤 一幸／著

定価 1,000円+税

B6判 104ページ

全国農村教育協会

〒110-0016 東京都台東区台東1-26-6
TEL.03-3833-1821 FAX.03-3833-1665