

胚乳のベッドで休眠する種子

はじめに

2020年1月の植物バイオの実験室で、収穫直後のシロイヌナズナ種子は適温で播種しても発芽しない**休眠**という状態にあることを書きました。自然界で、冬を経て春になってから発芽するためです。

農業や食品分野においても、休眠の制御は重要です。休眠が十分でないと収穫期の長雨でイネやトウモロコシが穂発芽したり、休眠状態がばらばらで発芽のスタートが揃わなかったり、オオムギから一斉に麦芽が得られなかったりします。今回は、シロイヌナズナの小さな種子の休眠の解明のため、一昔前の発生学を思い出されてくれるような外科的手法を用いた研究を紹介します。

休眠に関わる成分

これまでの研究から、**種子の発芽は、植物ホルモンであるアブシジン酸により抑制され**(**休眠が誘導**され)、**逆にジベレリンにより発芽が促進され**(**休眠が打破**される)ことがわかっています。

さらに、アブシジン酸が誘導するABIと総称されるタンパク質や、ジベレリンが関与するRGL2タンパク質が遺伝子発現を制御し発芽を抑制するという仮説が提案されています。

シロイヌナズナ種子のアブシジン酸含量

まず、シロイヌナズナ種子の**アブシジン酸**含量は、今回の報告では休眠種子で450pmol/g.f.w.、非休眠種子ではより低く250 pmol/g.f.w.でした(PNAS 107-44、pp19108-19113)。しかし、この含量より重要なことが、種子を水に浸すと起こります。

休眠、非休眠を問わず**種子を水に浸すとアブシジン酸が激減する**のです。一度激減した後、休眠種子では**アブシジン酸含量15pmol/g.f.w.を保ち**、非休眠種子ではさらに**減少**することが示されました。

休眠種子のアブシジン酸生合成の必要性

別途、休眠種子を水に浸す際にアブシジン酸生合成を阻害する試薬を与えると、休眠が打破され発芽するようになることが示されました。 **休眠種子が休眠を維持するためには、アブシジン酸生合成が行われることが重要**であると考えられます (Plant physiol.122,pp415-424,2000、他複数報告あり)。

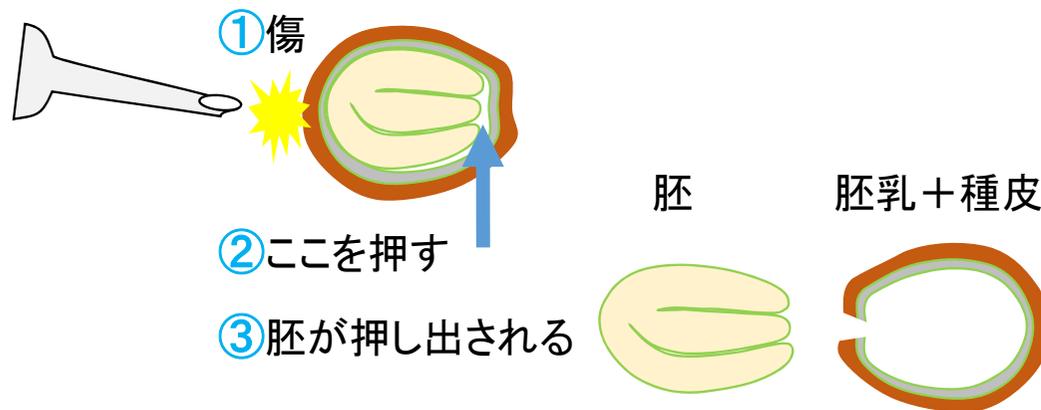
ABIタンパク質やRGL2タンパク質の遺伝子も、アブシジン酸の増減と同様であることも示されました。

種子組織を分ける外科的手法

シロイヌナズナ種子の組織は、死んだ組織である**種皮**とその内側の生きている組織である**胚乳**、そして**胚**からできています。

先の著者等は種子を胚とそれ以外の組織に分け、どちらに発芽を抑制する性質があるかを調べることにしました(手法詳細; J of Visualized Exp.81、pp1-6)。

その手法ですが、種子を4時間浸水させた後、植物用人工
固化培地上に置いたろ紙の上に置き、①細い注射針で種皮と
胚乳に傷を付け、②反対側をピンセットで押し、胚を出します。
③胚が出た残りは、胚乳+種皮になります。



手法の工夫

吸水した1mmの種子をつぶさずに押さえるところ、針で種皮＋胚乳の決まった位置に切れ目を入れるところ、取り出した胚を針でピンセットに乗せて移すところなど、あらゆる作業で丁寧さが要求されます。

このような材料を扱う手腕や作業の丁寧さ、そして材料を観察する注意力により実験の成否が左右されるところが、生き物相手の実験のおもしろいところだと思います。

休眠を調べるバイオアッセイ

その外科的手法で得た胚や胚乳+種皮は、**休眠を誘導する組織や成分を調べるバイオアッセイ**として活用されます。

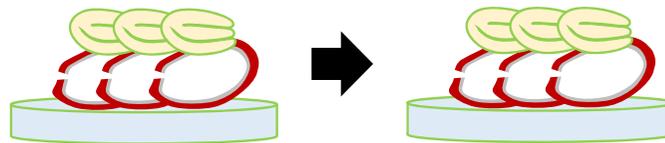
まず、①休眠種子の胚も、非休眠種子の胚も、人工固化培地に置床すると成長(すなわち発芽)しました。



②培地に**アブシジン酸**を加えると、どちらの胚も成長しません。

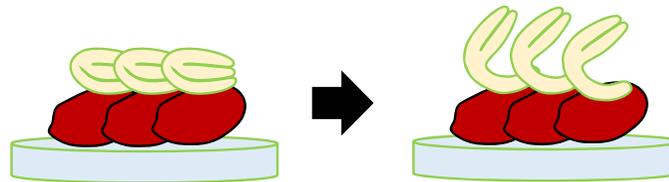


③**休眠**種子の胚乳＋種皮を培地上に平らに並べ、その上に胚を置いてみると胚は成長せず、非休眠種子の胚乳＋種皮の上では、胚は成長しました。



①、②、③から、**休眠種子の胚乳＋種皮にアブシジン酸のような胚の成長を抑える成分がある**と考えられます。

最後に④種子まるごと(傷のない種子)を培地上に並べその上に別途他種子から取り出した胚を並べると胚は成長するので、胚乳+種皮から分泌され発芽を抑制する成分は、傷のない種子の外には出ないことがわかります。



また、ABI、RGL2タンパク質を作らない変異体の種子の種皮+胚乳では、休眠種子の胚の成長も促しました。

再びアブシジン酸含量測定

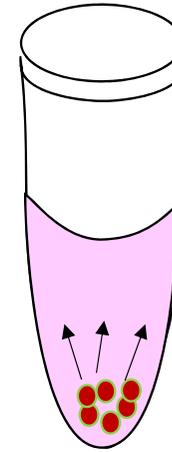
胚乳＋種皮から分泌される成分も、アブシジン酸と見当をつけ、調べられました。

種子500粒分から胚乳＋種皮を切り出し液体人工液体培地に懸濁し、24時間後培地のアブシジン酸を測定しました。

そして、非休眠種子の胚乳＋種子を懸濁した培地より

**休眠種子の場合の方が培地により
多くのアブシジン酸が分泌される**

ことがわかりました。



前述のバイオアッセイでは、胚乳＋種皮から分泌されたアブシジン酸が胚に作用し、胚の成長を抑制したという流れになります。

今後

今回紹介したシロイヌナズナ種子のバイオアッセイは、その後他のグループでも用いられ、研究が進んでいます。