

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 14 日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K14639

研究課題名(和文)作物子実に刻まれた栽培環境履歴：登熟種子におけるエピゲノム解析

研究課題名(英文) Cultivation memory in crop seed: analysis of epigenome in maturated seeds

研究代表者

石橋 勇志 (Ishibashi, Yushi)

九州大学・農学研究院・准教授

研究者番号：50611571

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：登熟期の環境が次世代の表現型に影響する可能性を調査した。登熟期の高温ストレスは玄米品質を低下させ、種子休眠を誘導した。その玄米質の低下には、活性酸素によるアミラーゼの誘導が関与し、種子休眠の誘導では、新規転写因子による調節が示唆された。以上の結果より、優良な種子生産には登熟期の環境を考慮する必要があることが示された。

研究成果の概要(英文)：Heat stress during seed maturation induced grain chalkiness and seed dormancy. The grain chalkiness was caused by induction of α -amylase through reactive oxygen species. The seed dormancy related to new transcriptional factor. These results indicated that the environmental during seed maturation is important for seed production.

研究分野：作物学

キーワード：子実登熟

1. 研究開始当初の背景

申請者はこれまで、種子休眠・発芽制御に関する研究を行ってきたが (Ishibashi *et al.*, 2012, 2013), この研究を遂行する中で、ある疑問が浮かんでいた。研究で使用する種子は、毎年更新する必要があるが、同じ場所、同じ品種、同じ施肥条件で栽培されているにも関わらず、毎年得られる種子の休眠性が異なっていた。つまり、種子形成時 (登熟) の環境条件により種子 (子孫) の運命が決定 (プログラミング) されていることになる。近年の劇的な環境変動は、間違いなく作物子実の登熟に大きな影響を与え、その影響が次世代の子孫に受け継がれているに違いない。ほ乳類では、幼児期の生活環境が成人しても影響することが知られ、DNA のメチル化やヒストン修飾などエピジェネティクス変化によるメタボリックプログラミングが関連することが報告されている。植物においても、モデル植物のシロヌナズナを中心にエピジェネティクス変化について報告されているが、作物子実の登熟過程における環境ストレスが子実内のエピジェネティクス変化に及ぼす影響については報告されておらず、まして収穫後の表現型と合わせた考察などは皆無である。

2. 研究の目的

供試材料としてイネを用いて、登熟過程の環境ストレスとして近年その影響が著しい高温ストレス処理を行なう。始めに、登熟過程の高温ストレスが次世代の表現型に与える影響を調査する。調査対象としては、種子休眠性、初期生育、ストレス耐性とする。次に登熟過程の高温ストレスが子実のエピジェネティクス変化に及ぼす影響を調査する。

3. 研究の方法

本研究では、環境ストレスとして高温条件を設定し、開花後、高温条件下で成熟期まで栽培する。湿度、二酸化炭素濃度一定の自然光型人工気象室において、25℃を対照区として設け、30℃ (高温区) を設ける。栽培は、1/5000a ワグネルポットに主茎一本立ちとし、ポットあたり 10 穂用意する。収穫後、-30℃にて子実を保存することにより、休眠性 (種子の生理状態) を維持する。

4. 研究成果

収穫後の発芽試験の結果、イネの登熟過程において、高温ストレスは種子休眠を強くすることが明らかとなった (図 1)。種子休眠が強くなる事で、次世代の出芽程度のばらつきが大きくなる事も確認した。特に、一次枝梗の上位、下位、および二次枝梗において発芽率は変わらず、高温登熟による種子休眠の誘導は著粒位置に関係ないことから、転流等の同化産物の供給は無関係であることが明らかとなった。アミラーゼ遺伝子の発現解析の結果、*OsAmy1A* の発現は

対照区、処理区において差は見られなかったが、*OsAmy1C*, *OsAmy3B*, *OsAmy3E* の発現は減少した。さらに、アミラーゼ遺伝子上流で働く転写因子として *OsGAmby* の発現を調査したところ、処理区間に有意な差は確認されなかった。この発現減少は、*OsGAmby* 以外の転写因子によって制御されている可能性が示唆され、アミラーゼのプロモーター配列を調査したところ別の転写因子による制御が考えられた。現在、*OsGAmby* の下流で働く新規因子の発現解析を DNA のメチル化を含め検討中であり、今後、新規な発芽制御機構の解明へとつながると考えられる。

また、その休眠誘導には植物ホルモンが関与することが明らかとなり、特に種子休眠を誘導するアブシジン酸の代謝に関与する *OsABA8'OH1*, *OsABA8'OH2*, *OsABA8'OH3* の発現が顕著に影響している事が明らかとなった (図 3)。また、高温ストレスにより、玄米品質も著しく低下した。この結果は先行研究と同様であり (Funaba, *et al.*, 2006, Tanaka *et al.*, 2009, Hakata *et al.*, 2012), 興味深い事に、品質に関与する遺

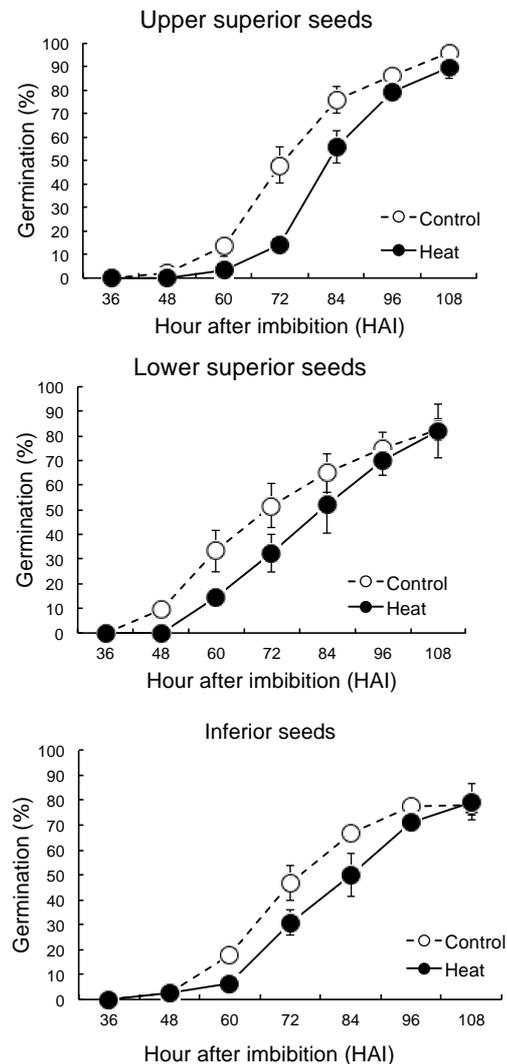


図 1. イネの登熟期の高温が種子休眠に与える影響

伝子としてアブシジン酸の代謝に関与す遺伝子の存在が明らかとなり、登熟から発芽まで同様のメカニズムが関与する可能性が考えられた。現在、次世代の植物における高温ストレス耐性について更に詳細に評価している。

現在、解析中ではあるが、葉の葉色程度 (SPAD) の解析から、次世代において登熟過程の高温ストレスに対して耐性を獲得する可能性が示されており、登熟中に高温を経験させる事で次世代の種子に高温耐性を付加できる可能性が明らかとなった (図3)。今回、バイサルファイトシーケンスにより DNA のメチル化による直接的な制御を詳細に明らかにすることはできなかったが、SPAD の推移等、登熟期間の環境履歴が次の世代へ影響を及ぼすことが明らか

となり、更に詳細な研究が遂行できれば、遺伝子組換えに頼らない、環境ストレス耐性付与された種子生産の可能性が示された。

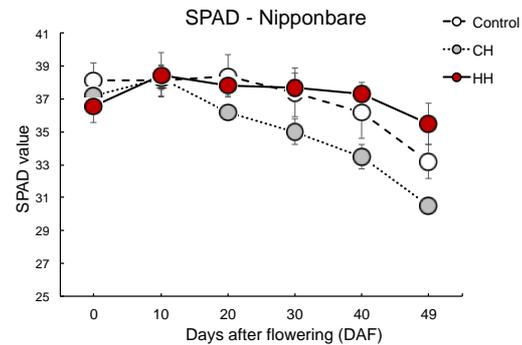


図3. 登熟期の高温処理が次世代の高温耐性に及ぼす影響

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計2件)

Chetphilin Suriyasak, Keisuke Harano, Koichiro Tanamachi, Kazuhiro Matsuo, Aina Tamada, Mari Iwaya-Inoue, Yushi Ishibashi, Reactive oxygen species induced by heat stress during grain filling of rice (*Oryza sativa* L.) are involved in occurrence of grain chalkiness, *J. Plant Physiol.* In Press. 査読有り

Tanamachi, K., Miyazaki, M., Matsuo, K., Suriyasak, C., Tamada, A., Matsuyama, K., Iwaya-Inoue, M., Ishibashi, Y., 2016. Differential responses to high temperature during maturation in heat-stress-tolerant cultivars of *Japonica* rice. *Plant Prod. Sci.* 19, 300–308. 査読有り

〔学会発表〕(計2件)

Suriyasak Chetphilin, 棚町弘一郎, 松尾一宏, 玉田愛奈, 井上眞理, 石橋勇志, Occurrence of grain chalkiness in rice caused by enhancement of reactive

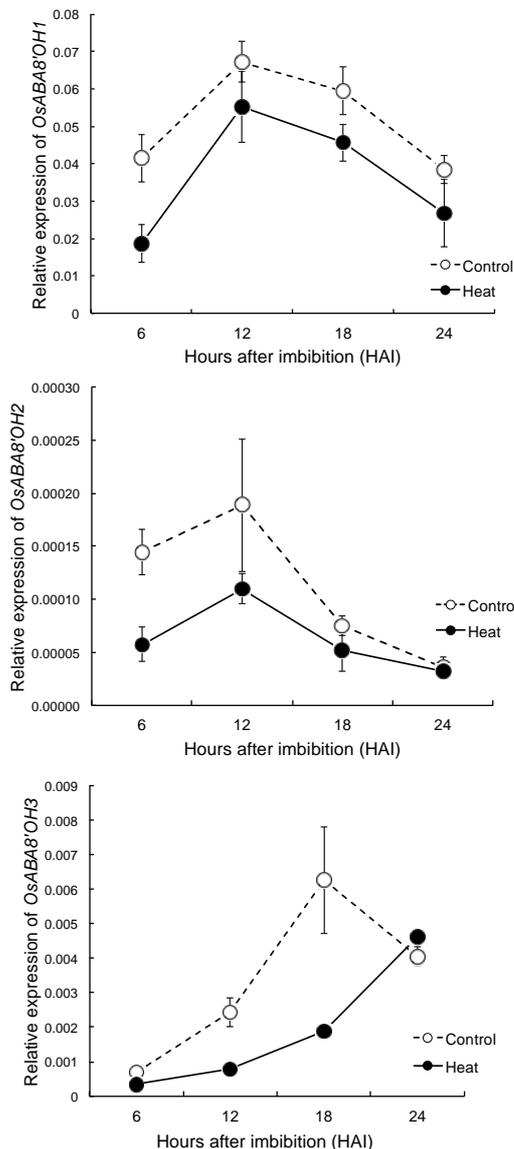


図2. 登熟期の高温処理が吸水後のアブシジン酸代謝関連遺伝子の発現に及ぼす影響

oxygen species under high temperature stress, 日本作物学会, 2016.03.28.

棚町弘一郎, 小林拓矢, 松尾一宏, Suriyasak Chetphilin, 玉田愛奈, 井上眞理, 石橋勇志, 登熟期の高温がイネ子実のアリューロン細胞と Amy3E の発現に及ぼす影響, 日本作物学会, 2016.03.28.

〔その他〕

ホームページ等

<http://bbs1.agr.kyushu-u.ac.jp/prweb2/b02/>

6 . 研究組織

(1)研究代表者

石橋 勇志 (ISHIBASHI, Yushi)

九州大学大学院農学研究院・准教授

研究者番号 : 50611571