

令和 4 年 6 月 10 日現在

機関番号：24403

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K05578

研究課題名(和文) イネの地上部・地下部を区別した環境受容の分子メカニズム解明と育種への利用

研究課題名(英文) Elucidation of Molecular Mechanisms of Environmental Acceptance in Rice Differentiating Above- and Belowground Parts and Its Application to Plant Breeding

研究代表者

横井 修司 (YOKOI, SHUJI)

大阪府立大学・生命環境科学研究科・教授

研究者番号：80346311

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：イネ品種を栄養生長期に様々な水温で栽培し、翌年得られた種子を水温一定で栽培すると前年低温で栽培した種子の方が高温条件で栽培した場合より葉の枚数が少なく、出穂が早まることが確認され、前世代の栽培環境の記憶を次世代に受け継ぐエピジェネティックな遺伝であると示唆される。野生イネでの相転移は栽培イネと同様に行われることが明らかになり、野生イネの持つ性質が維持されて栽培イネに残っていることが示唆された。イネは遺伝的に栄養生長期の相転移を制御していること、地下部で受容した温度のような環境シグナルよりも地上部で受容した日長などの環境シグナルが相転移を調節する力が強いことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、イネの相転移は地上部と地下部の環境要因を区別して受容され、特に地上部の環境を受容して記憶する可能性が高いことが示された。この研究は、相転移経路の基盤となるメカニズムは、通常状態でもストレス下でもイネの地上部(主に葉)と地下部(主に茎頂や根)を区別しながら巧に行われる反応である事が示された。この成果はオリジナルの品種の塩基配列を変化させることなくストレス耐性の付与を行えるもので有り、ブランド品種の栽培地域を拡大したり、時期を変化させて収量調整を可能にする技術につながる結果である。

研究成果の概要(英文)：When rice varieties were grown at various water temperatures during the vegetative stage and the seeds obtained the following year were grown at constant water temperature, the seeds grown at lower temperatures the previous year had fewer leaves and emerged earlier than those grown at higher temperatures, suggesting epigenetic inheritance, in which the memory of the previous generation's growing environment is passed on to the next generation. This suggests epigenetic inheritance of the memory of the previous generation's cultivation environment to the next generation. The results suggest that rice genetically regulates the phase transition during vegetative growth, and that environmental signals such as daylength at the surface are more potent in regulating the phase transition than environmental signals such as temperature at the subsurface.

研究分野：遺伝育種

キーワード：相転移 イネ 地上部・地下部 野生イネ 栄養生長期

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

イネの相転移は主に穂によって研究されてきたが、花成以外の相転移に及ぼす温度や環境条件の作用解明、作用するイネの器官、個体内での相転移因子の分子動態の解析は、殆ど行われていない。通常のイネ水田栽培では、地下部の根からの栄養分や水没している茎頂(生長点)の発育に気温や水温などの環境要因が作用し、節間が伸長して植物体の大部分が大気中に抽出すれば、地上部の気温の作用や地上部の環境受容が大きくなるはずであるが、これらを区別することなく解析されてきたことも上記研究が不十分である一因と考えられる。また、環境ストレスが相転移に及ぼす影響についても申請者以外の殆ど研究例が無い。近年、アサガオが貧栄養条件下になると開花が早まること(Wada KC *et al.* 2010)や西洋ナタネが降雨量の少ない乾燥した年に栽培すると降雨量の多い年に栽培した時よりも開花が早くなること(Franks *et al.* 2007)など、軽微な塩ストレスがイネの出穂(開花)を濃度依存的に早める効果があること(申請者ら、未発表)が報告されてきている。また最近の申請者と共同研究者らによる研究から、イネやダイズの相転移の形質マーカーとして、葉位、葉序、葉の縦横比、microRNAの発現増減、毛茸の増減などが報告されている(Tanaka *et al.* 2011, Yoshikawa *et al.* 2012, Ozawa *et al.* 2017)。上記のように植物の花成誘導以外の相転移の研究は、安定した一定の好条件下での形態学・生理学的な研究は主としてなされているが、その分子レベルでのメカニズム解明は世界的にも明らかにされておらず、未知な部分が多い。この植物の相転移に及ぼす温度や環境条件の受容、受容する器官、個体内での相転移因子の分子動態の解明と育種・作物栽培・食糧生産への応用が温暖化などの激動する環境への対応として急務である。

イネの栄養生長期の水温が次の世代の個体の出穂日に影響していることが申請者の予備実験によって明らかになっている。20℃、25℃、30℃に水温制御された水槽内で栽培したイネの種子を、屋外条件で栽培したところ、20℃条件で栽培した種子の方が30℃条件で栽培した場合より出穂が0~7日、早まることが確認された。イネの器官は地上部の葉と地下部の茎頂、根に分けられ、茎頂は最終的に穂に分化し、種子となる。このことから、イネの水温の記憶は茎頂で起こっていると考えている。そこで、地上部の気温と地下部の水温を区別してイネを栽培し、温度の感受と応答、「ストレスの記憶」と出穂日の関係に注目した実験を計画した。

2. 研究の目的

本研究は、イネの地上・地下部への温度や環境ストレスによる相転移への影響、受容する器官から非受容器官への分子シグナルの動態(移行や複合体形成など)を明らかにすることを目的とする。本研究は、日長時間・気温・水温、軽微な環境ストレスを地上部と地下部を区別して付与し、申請者が確立したイネの生育を正確に同調させる実験系(全ての個体が相転移が2日以内)を用いて詳細に観察する。また、既知の相転移因子を含む網羅的な遺伝子発現解析、器官別のタンパク質の同定、複合体解析を時間・空間・定量的にとらえて、イネの相転移に及ぼす環境要因の作用とそのメカニズムを解明する試みである。

近年、地球温暖化に伴う気候変動が拡大しており、環境ストレスに適応できて収量が豊富な作物が必要となっている。本研究では、「ストレスの記憶」という新しい育種法で様々な環境に適応できる作物を作出することを目標としている。「ストレスの記憶」の例で、イネに温度などのストレスを与えるとそのストレスを記憶し、「子」の開花が促進されることが分かっている。作物の開花日は直接収量に関係するため、重要な形質とされている。開花日を制御することで、適正な時期に果実や種子を生産することができ、収量の増加が見込まれる。「ストレスの記憶」は塩基配列の変化を伴わないエピジェネティックな変異が原因だと考えられ、既存品種の持つブランド力を生かした育種が可能となる。この新しい手法によってストレス耐性作物を作出し、栽培時期・地域の拡大を目指す。

3. 研究の方法

イネの栽培時の水温が次の世代のイネの出穂日に影響するという報告があり、この現象を再現しエピジェネティックなメカニズムを明らかにする。用いたイネの品種は晩生品種である「日本晴」と早生品種である「ゆきひかり」である。種子は2018年に大阪府立大学内の水田で採種したものをを用いた。まず2品種を1世代目として水温条件のみを変えて、高水温区と低水温区の2区画で栽培した。日本晴は2019年の5/17に播種、5/29に1/5000aワグネルポットに12個体ずつ移植した。ゆきひかりは2020年の7/17に播種、7/29に1/5000aワグネルポットに8個体ずつ移植したものと、2020年の9/4に播種、9/16に1/5000aワグネルポットに8個体ずつ移植したものの2種類栽培し、それぞれ「ゆきひかり」「ゆきひかり」とした。そして、ポットに移植した翌日から高水温区と低水温区の2区画で栽培し、個体ごとに区別して採種した。ゆきひかり、ゆきひかりの栽培条件をFig. 1に示した。

得られた主茎の種子から、2世代目として自然条件で栽培し、表現型を計測した。日本晴、ゆきひかりは2区画からそれぞれ4系統ずつ、ゆきひかりは2区画からそれぞれ8系統ずつを用いた。合計32系統を2021年の5/28に播種し、日本晴は6/16に、ゆきひかりは6/17に1/5000aワグネルポットに8個体ずつ移植した。

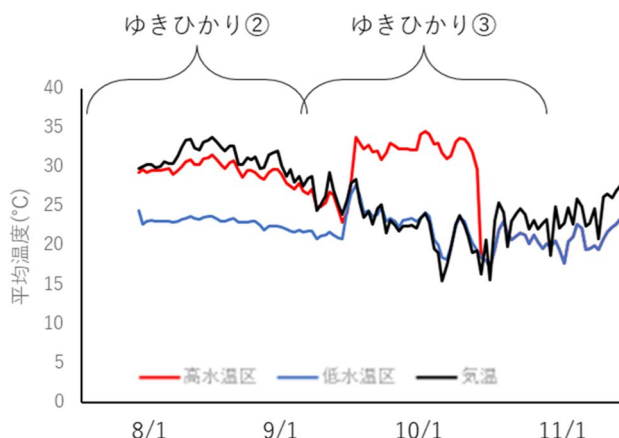


Fig. 1 ゆきひかり と の栽培環境
1時間ごとに水温と気温を記録し、1日の平均温度をグラフにした。

出穂日、葉齢、分けつ、出穂時の主茎の葉の枚数、幼穂分化について調査した。葉齢と分けつ数は定期的に計測した。幼穂分化については個体数の関係で日本晴とゆきひかりで調査した。調査日に各系統から数個体ずつ取り、茎頂の様子を観察した。

4. 研究成果

出穂までにかかった日数を Fig.2a に示した。日本晴は系統ごとに評価した場合と2区画で評価した場合の両方で差がないと判断した。ゆきひかりは親の世代を低水温区で栽培した系統のうち1系統は開花日が3日ほど有意に早まることがわかった。2区画で評価した場合は有意差はなかったものの、開花が早まる傾向があると判断した。そして、ゆきひかりでは系統ごとに評価した場合は有意差はなかったが、2区画で評価した場合は親の世代を低水温区で栽培した方が有意に出穂日が早まることが分かった。また、ゆきひかりとを比較するとゆきひかりの方が有意に出穂が早まり、夏に栽培した場合より、秋に栽培した方が、次の世代で出穂が早まることが示唆された。

日本晴とゆきひかりを比較してゆきひかりの方が生育時の水温を記憶して次の世代に引き継ぎやすいと考えた。ゆきひかりは早生品種で一生が短く、環境の温度に対して敏感な品種といえ、温度ストレスの記憶には温度の感受性が重要になると考えた。幼穂分化までにかかった日数は日本晴、ゆきひかりの両方で、前の世代が低水温区だと早まる傾向があると判断した (Table 1)。

生長スピードを評価するために葉齢の経過を Fig.2b に示した。日本晴は生長スピードに差がないと判断した。播種後77日の葉齢は前の世代が低水温区の方が有意に大きいのは、出穂時の葉の枚数に差があるからである。そして、ゆきひかりとともに播種後21日の時点で前の世代が高水温区か低水温区かで有意差があり、親の世代で低水温を経験すると初期生育が旺盛になることが分かった。また、ゆきひかりとを比較した場合、ゆきひかりの方が生長スピードが速まることが分かった。

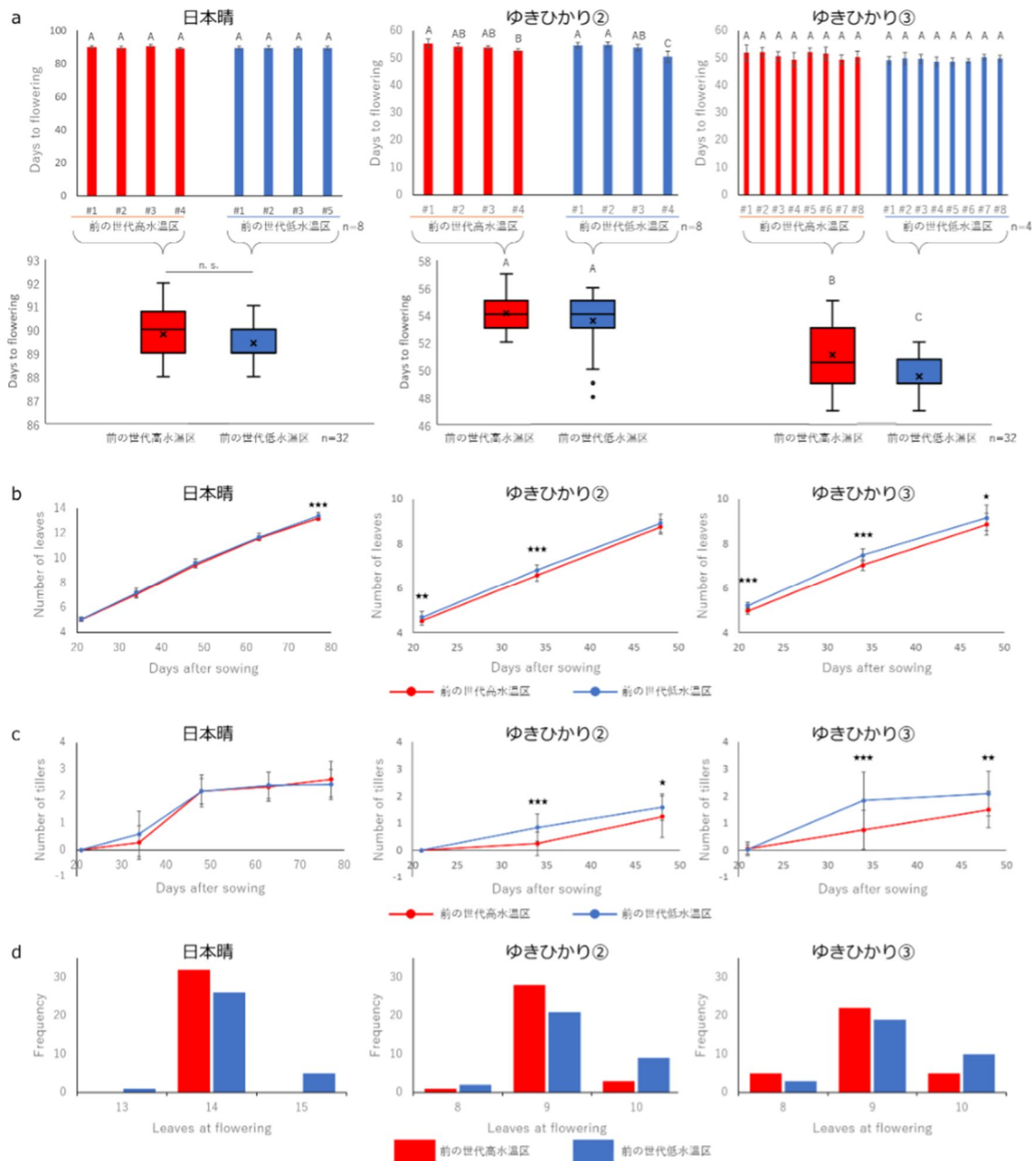


Fig. 2 2世代目では、前の世代での水温を記憶している可能性が高い。
 (a)出穂までにかかった日数。(b)葉齢の経過(n=32)。(c)分けつ数(n=32)。エラーバーは標準偏差を示す。グラフ中の異なる文字間には Tukey-Kramer 検定により 5%水準で有意差があることを示す。*、**、***はそれぞれ 5、1、0.1%水準で有意であることを示す。
 (d)出穂時の葉の枚数(n=32)。

分けつ数の経過を Fig.2c に示した。日本晴は分けつの増やし方に差がないと判断した。そして、ゆきひかり とともに前の世代が低水温区の方が有意に分けつ数が増加した。また、ゆきひかり と を比較して、ゆきひかり の方が分けつが増加していたことから、低温を経験した個体は次の世代で分けつを増加させると考えた。親の世代で低水温を経験した個体は生長スピードや分けつが促進し、生育が旺盛になったと言える。生育と病害抵抗性はトレードオフの関係にあるといわれており、病害抵抗性を低下させて生育を促進させている可能性が高いと考えた。

出穂時の葉の枚数を評価するために個体数をヒストグラムに示した (Fig. 2 d)。日本晴、ゆきひかり、ゆきひかり のすべてで、前の世代が低水温区の場合、葉の枚数にばらつきが生じ、葉の枚数が増える傾向があった。イネの茎頂では、普段は葉を分化させており、適正な時期になると葉の分化を止めて花芽を分化させ、花を咲かせて種子を残す。そのため、開花時の葉の枚数が増減する傾向があるという現象は、イネが花を咲かせるタイミングを前後にずらそうとしているものだと考えている。

日本晴は出穂までにかかった日数と生長スピードで差がなかったが、出穂時の葉の枚数では差があると判断した。さらに幼穂分化までにかかった日数は、前の世代が低水温区の方が早まると

判断した (Table 1)。これらのことから、日本晴は親の世代の水温に関わらず同じスピードで葉を展開させ、出穂したが、幼穂分化は前の世代が低水温区の方が早く、葉の枚数を増減させることで開花日をずらし、すべての個体で同じ日に出穂できるように調節したと可能性が高いと考えた。イネの祖先種は他家受粉も行っており、個体間で同時に出穂することで遺伝的に多様性が生まれ、生存に有利に働くといわれている。その名残が今回の日本晴で現れたと考える。

一方ゆきひかりでは出穂までにかかった日数にも差があり、親の世代で低水温を経験した個体は出穂が早まり、同時に出穂しなかった。ゆきひかりは環境の温度に対して敏感な品種といえ、今回処理した低水温ストレスがゆきひかりにとって致命的であり、そこで出穂を早めようとした可能性が高いと考えた。イネは種子を残すためには出穂前の穂ばらみ期、出穂後の登熟期にある程度の温度が必要であり、冬が来る前に登熟まで完了させておく必要がある。そこで、親の世代で致命的な低水温ストレスを受けたゆきひかりは、次の世代で出穂日を早め一生を短くすることで、短期間で種子を残すことができるようにしたと考えた。

ゆきひかり と を比較して、ゆきひかり の方が出穂までにかかった日数が早く、生長スピードが速まり、分けつ数が増加した。ゆきひかり の方が栽培時の平均気温が大幅に低く、その影響もあると考えている。平均気温のほか、気温、水温の変化の仕方や日長などのイネは感受していると考えている。

以上のことから、親の世代で低水温のストレスを経験したイネは生育を促進させ、開花日を前後に多様化させることで、環境に適応できる個体を増やして種子を残す確率を高めると考えた。

Table 1 幼穂分化までにかかった日数を評価した。分母は調べた個体数、分子は幼穂分化していると判断した個体数

	日本晴			ゆきひかり②								
	播種後日数			播種後日数								
	60	62	65	21	25	26	27	28	31	35		
前の世代高水温区	#1	0/2	0/3	3/3	#1	0/3	0/3	0/3	0/2	0/3	0/2	2/2
	#2	0/2	1/3	3/3	#2	0/3	0/2	0/3	0/3	0/2	1/2	2/2
	#3	0/2	1/3	3/3	#3	0/2	0/2	0/3	0/3	0/3	0/2	2/2
	#4	0/2	1/3	3/3	#4	0/3	1/3	0/3	1/3	1/3	1/1	2/2
前の世代低水温区	#1	0/2	1/3	3/3	#1	0/2	0/3	0/3	0/3	0/3	1/2	1/2
	#2	0/2	3/3	3/3	#2	0/3	0/3	0/2	0/3	0/3	0/2	1/1
	#3	1/2	3/3	3/3	#3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/2	1/2	2/2
	#4	0/2	1/3	3/3	#4	0/2	2/3	4/6	2/2	2/2	-	2/2

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kumpei Shiragaki, Shuji Yokoi and Takahiro Tezuka	4. 巻 70
2. 論文標題 A hypersensitive response-like reaction is involved in hybrid dwarfism in F1 plants of the cross <i>Capsicum annuum</i> × <i>Capsicum chinense</i> .	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Breeding Science	6. 最初と最後の頁 430-437
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1270/jsbbs.19137	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 He H, Yokoi S, Tezuka T	4. 巻 4
2. 論文標題 A high maternal genome excess causes severe seed abortion leading to ovary abscission in <i>Nicotiana interploidy-interspecific crosses</i> .	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Plant Direct	6. 最初と最後の頁 e8
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/pld3.257	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Hashimoto S, Tezuka T and Yokoi S	4. 巻 250
2. 論文標題 Morphological changes during juvenile-to-adult phase transition in sorghum.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Planta	6. 最初と最後の頁 1557-1566
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00425-019-03251-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Koumoto T, Aoki N, Hamasaki T, Shiga S, Yokoi S and *Shimono H	4. 巻 155
2. 論文標題 Transgenerational effect of maternal growth environment on flowering date in rice (<i>Oryza sativa</i> L.)	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Environmental and Experimental Botany	6. 最初と最後の頁 307-312
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.envexpbot.2018.07.010	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 船越 孝之・桧原 健一郎・小川 拓水・手塚 孝弘・太田 大策・横井 修司
2. 発表標題 オリザノール含量を規定する候補因子の探索
3. 学会等名 第137回日本育種学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山本 真璃・手塚 孝弘・横井 修司
2. 発表標題 イネコアコレクションを用いた栄養生長期の相転移因子の解析
3. 学会等名 第137回日本育種学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 船越 孝之・小川 拓水・手塚 孝弘・太田 大策・横井 修司
2. 発表標題 イネコアコレクションを用いた -オリザノール含量に相関のある因子の形態学的・分子遺伝学的解析
3. 学会等名 第136回日本育種学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山本 真璃・手塚 孝弘・横井 修司
2. 発表標題 イネコアコレクションを用いた栄養生長期の相転移因子の解析
3. 学会等名 第137回日本育種学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 船越 孝之・松原 健一郎・小川 拓水・手塚 孝弘・太田 大策・横井 修司
2. 発表標題 オリザノール含量を規定する候補因子の探索
3. 学会等名 第137回日本育種学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 橋本 舜平・手塚 孝弘・横井 修司
2. 発表標題 ソルガムにおけるjuvenile-to-adult相転換について
3. 学会等名 第135回日本育種学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 橋本 舜平・手塚 孝弘・横井 修司
2. 発表標題 ソルガムにおける夜低温誘導型開花にはSbPRR37が関与する
3. 学会等名 第60回日本植物生理学会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>大阪公立大学農学研究科遺伝育種学研究グループ https://www.omu.ac.jp/agri/breeding-genetics/</p>
--

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------