

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：34316

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K15820

研究課題名（和文）パンコムギの冠水耐性に働く核・細胞質ゲノム間相互作用の解析

研究課題名（英文）Analysis of submergence stress response in Nucleus-Cytoplasmic interaction of common wheat

研究代表者

竹中 祥太郎（Takenaka, Shotaro）

龍谷大学・農学部・講師

研究者番号：20757736

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：水田転作畑でのパンコムギ栽培では、排水性に難のある水田転作畑においても斉一で良好な幼苗生育を保證する、冠水耐性を備えたパンコムギ品種の育成が求められている。本研究では先行研究において、冠水ストレス応答性が異なることが報告されている核細胞質置換雑種系統（パンコムギの核と近縁種のエギロプス属の細胞質をもつ）を対象に、幼苗期で発現が異なる遺伝子群の網羅的な探索を行った。CSと核細胞質置換雑種系統では、冠水処理区において531の遺伝子の発現変動を検出することができた。これらの遺伝子群は対照区では変動が確認できなかったことから、冠水ストレスと核細胞質ゲノム間相互作用に関係していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

コムギ・エギロプス属から作出された核細胞質置換雑種系統は、核ゲノムと細胞質ゲノム間の相互作用を解析するための貴重な実験材料である。しかし、これまでに農業に有効利用されている知見は、細胞質雄性不稔と核の稔性回復遺伝子を利用した一代雑種のみであった。先行研究によって、細胞質が冠水ストレス応答性にかかわっていることが明らかになっていたが、その具体的な機構は未解明である。本研究では、核細胞質置換雑種系統において、冠水ストレス応答に具体的にどのような遺伝子群がかかわっているのかを明らかにすることができた。

研究成果の概要（英文）：The cultivation of common wheat in paddy shifting fields, difficulty with drainage, requires submergence and/or waterlogging tolerant varieties that guarantee uniform and good seedling growth. In this study, we conducted a comprehensive search for set of genes differentially expressed in seedlings of nucleus-cytoplasm substitution lines (having wheat nuclei and cytoplasm of a closely related species, Aegilops, hereafter abbreviated as NC lines), which have been reported to show different responses to submergence stress. We could detect 531 differentially expressed genes between variety Chinese Spring and the NC line. These genes set were not observed in the control plots. The results suggested that they are related to the nucleus-cytoplasm interaction with submergence stress.

研究分野：植物遺伝育種

キーワード：コムギ オルガネラ 冠水耐性

1. 研究開始当初の背景

地球規模の気候変動は、作物生産環境の変化を引き起こし世界の農業に深刻な被害をもたらしている。特に米麦の輪作が盛んな東アジア地域では、冠水ストレスが生産の律速要因の一つとして深刻さを増している。冠水下での斉一で旺盛な発芽と幼苗生育は、良好な苗立ちの確保に必須の形質として重要な育種目標となっている。冠水ストレスは作物生産の律速要因として深刻さを増しており、パンコムギでは世界の作付面積の 200Mha のうち最大 20%が、毎年甚大な冠水被害を受けていると報告されている(Settle and Waters, 2003, Plant & Soil 253: 1-34)。また、日本においても、水田転作畑でのパンコムギ栽培は、休耕農地の有効利用を図る上で検討すべき重要な課題の一つとなっており、排水性に難のある水田転作畑においても斉一で良好な幼苗生育を保證する、冠水耐性を備えたパンコムギ品種の育成が求められている。一方、西アジアの乾燥地が原産であるコムギは、半水生植物のイネと比べて、冠水耐性が弱いと考えられ、耐冠水性機構に関する研究が大きく立ち遅れている現状がある。このような点を踏まえ申請者らは、コムギ・エギロプス属から作出された細胞質核置雑種系統(以下、NC 雑種系統)を対象に冠水ストレス耐性の生物検定を行い、後述するように異なる冠水ストレス反応性を示す NC 雑種系統を見つけ出した。直播栽培を主とするアジアの稲作地域では、冠水耐性の付与が大きな育種目標であり、これまでにイネを対象とした研究から、*SUB1A*, *SK1*, *2*等の転写因子をコードする主導遺伝子座がエチレンやジベレリンといった植物ホルモンを介して冠水耐性に寄与することが明らかにされている。これらの遺伝子はいずれも核ゲノム上に存在する。一方、パンコムギを含むムギ類では、類似の研究がほとんど見られない。気候変動に伴う栽培環境の劣化が問題となっている現状を鑑みると、パンコムギでも冠水ストレス耐性をもたらず遺伝システムの解明が求められる。

2. 研究の目的

本研究の目的は 1) 冠水ストレス応答性が核親と異なる NC 雑種系統を対象とした、幼苗期における網羅的な遺伝子発現プロファイルの取得。また、冠水ストレスの有無により発現が異なる遺伝子の探索・同定。2) 様々なパンコムギ品種における、冠水ストレスに対する反応の多様性調査。

3. 研究の方法

(1)冠水応答性生物検定法

イネで開発された試験管を用いた方法(Manangkiet et al., 2005, Eupytica 163)で行ったが、非冠水ストレス条件下で水分量が一定になるように排水用にアスピレーターを導入し、確実に排水を行い、マイクロペットで常に一定量の水分を与えるように生物検定システムを改善した。本研究では冠水処理条件を以下のように設定した(Takenaka et al. 2018)。

冠水処理区：2 日間の吸水(種子は水没)、3 日間の冠水ストレス条件(種子は水没)、7 日間の比冠水ストレス条件で生育。

対照区：2 日間の吸水(種子は水没) 7 日間の比冠水ストレス条件で生育。

(2) 網羅的な遺伝子発現プロファイルの取得

冠水処理区および対照区で育苗した幼苗を各区 3 個体から total RNA を抽出し、RNA-seq 解析を行った。RNA-seq によって得られたシーケンス情報はパンコムギ実験標準品種 Chinese Spring (以下、CS)レファレンスゲノム配列情報(IWGSC RefSec v2.1)にマッピングを行った。シーケンス情報のマッピングには HISAT2(v2.2.1, Kim, D. et al., 2019, Nature biotechnology 37.8)、発現量の取得には StringTie(v2.2.1, Pertea M., et al., 2015, Nature biotechnology 33.3) 発現が変動している遺伝子の検出には TCC-GUI(Su, W. et al., 2019, BMC research notes 12.1)を用いた。

4. 研究成果

(1)発現遺伝子の変動

実験標準系統：冠水処理区 vs 対照区

CS では、34 の遺伝子において、冠水処理区と対照区で発現の変動を検出することができた(P Value < 0.05, Q Value < 0.01)。これらの遺伝子群は、CS において冠水ストレス応答性に強く関与していることが示唆される。

NC 雑種系統：冠水処理区 vs 対照区

冠水ストレス条件化で幼苗の生育が著しく低下する NC 雑種系統(以下 NCw 系統)では、30 の遺伝子において、冠水処理区と対照区で発現の変動を検出することができた(P Value < 0.05, Q Value < 0.01)。これらの遺伝子群は、NCw 系統において冠水ストレス応答性に強く関与していることが示唆される。

対照区：CS vs NCw

冠水処理を行わない対照区では、CS と NCw 系統では 1,595 の遺伝子において、発現の変動を検出することができた(P Value < 0.05, Q Value < 0.01)。対照区では冠水ストレスを与えていないため、これらの発現変動遺伝子群は核と細胞質の組合せが異なることによって発現が変動した遺伝子群であることが示唆される。

冠水処理区：CS vs NCw

冠水処理区では，CS と NCw 系統では 1,055 の遺伝子において，発現の変動を検出することができた(P Value < 0.05, Q Value < 0.01)。これらの遺伝子群は冠水ストレス条件化において，核と細胞質の組合せが異なることによって発現が変動した遺伝子群であることが示唆される。

共通して発現が変動していた遺伝子群

4 つの発現変動遺伝子群の比較で検出された 2,180 遺伝子で各比較において共通に変動しているものを抽出した(図 1)。冠水処理の有無にかかわらず，509 遺伝子で CS と NCw で発現が異なっていた。これらの遺伝子群は，核と細胞質ゲノム間の相互作用に参与していると考えられる。531 遺伝子が冠水処理区の CS と NCw の間でのみ発現が異なっていた。これらの遺伝子は CS での冠水処理区では発現が変動しない，NCw でのみ発現が異なる，冠水ストレス応答条件下における核と細胞質ゲノム間の相互作用に参与していると考えられる。

また，2 系統，2 処理区の間で遺伝子発現の違いを検出し(2,495 遺伝子)，ヒートマップで示した(図 2)。

その結果，冠水処理の有無よりも系統間の違いが顕著であることが明らかになった。

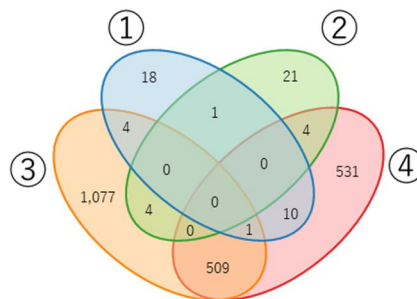


図1 各比較によって検出された発現変動遺伝子数
①実験標準系統：冠水処理区vs 対照区，②NCw：冠水処理区vs 対照区，③対照区：CS vs NCw，④冠水処理区：CS vs NCw

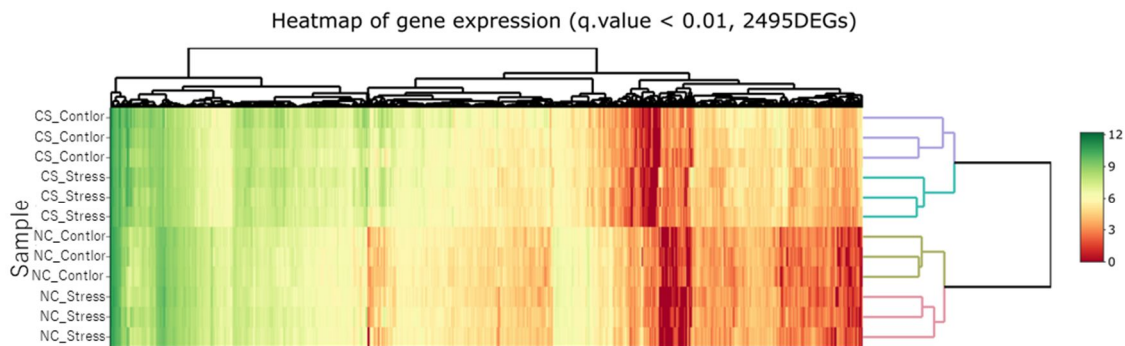


図2 2系統，2処理区における発現変動遺伝子

(2)パンコムギにおける冠水ストレス応答の多様性

NBRP・コムギ6倍体コムギコアコレクション系統を対象に，冠水応答性生物検定を行った。冠水ストレスの検定法は従来通り，水中で十分に吸水させた種子(2日間)を用いていたが，調査対象とした一部の系統では水中での吸水では発芽率が極端に低下した(~25%)。これらの系統は湿らせたろ紙の上で吸水させた場合は発芽率に問題がなかったこと(85%~)から，低発芽率は使用した種子ではなく吸水法，つまり幼苗期ではなく，発芽時の冠水に極端に弱い系統であることが明らかになった。また，これらの発芽時の冠水に弱い系統の中には，発芽できた個体に冠水ストレスを与えても生育阻害は確認できない系統が存在した。本研究で用いた生物検定法はCSを用いて最適化したものであったが対象系統を拡大した結果，冠水ストレスの与え方を再検討すべきであることが明らかとなった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
---------	---------