

令和 5 年 5 月 22 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H06183

研究課題名（和文）「Oxidative Window」による麦類の種子休眠・発芽機構の再考

研究課題名（英文）Reconsideration of seed germination mechanism in wheat or barley through the oxidative window

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） 18,200,000円

研究成果の概要（和文）：一般的に、毒性の認識が強い活性酸素（ROS）は、麦類の種子発芽に置いて必要不可欠な物質であることを明らかにした。本研究では、その活性酸素応答遺伝子として、ABA代謝遺伝子および機能未知なResponsive genes of reactive oxygen species, RRGsを同定し、種子発芽・休眠における作用機構を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

植物にとって、種子発芽は一生の幕開けとなる神秘的な生命現象であると同時に、農作物にとって収量や品質に直結する極めて重要な農業形質でもある。本研究は、農学・植物学にとって重要な種子休眠・発芽機構に、これまで悪者とされていた活性酸素が重要な役割を担っていることを明らかにした世界的にも非常に貴重な研究成果である。

研究成果の概要（英文）：Reactive oxygen species which is one of the toxic molecules is important in seed germination of wheat and barley. In this study, we identified the ABA metabolism gene and RRGs (responsive genes of reactive oxygen species) as response genes to ROS and clarified the role of these genes in seed germination and dormancy.

研究分野：作物学

キーワード：種子発芽 活性酸素 植物ホルモン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

現在、我が国における小麦の生産量は75万トン程度であるが、食糧・農業・農村基本計画では、平成32年度までに小麦の生産数量を180万トンへ増産することを目標としており、国産小麦を今後大幅に増産していく必要がある。しかしながら、収穫期が多雨・多湿となる日本でのコムギ栽培では、しばしば穂発芽被害が問題となる。穂発芽耐性は種子休眠の強さと密接に関係していることから、古くから麦類の種子休眠に関する研究が進められている。最近、種子発芽における活性酸素の重要性が報告され始め、発芽メカニズムにおいて新しい概念が生まれた(Bailey et al. 2008)。Oxidative Window と呼ばれるその概念は、吸水後の種子内における酸化・還元状態により発芽が制御されるというものであり、本研究課題により、この活性酸素シグナルが明らかとなれば、従来の視点とは異なる、Oxidative Window を利用した新しい穂発芽耐性品種育成の方向を提案できるものと考えられる。

2. 研究の目的

申請者のグループは活性酸素をスカベンジする抗酸化物質により、コムギ、オオムギ、ダイズ種子の発芽が抑制されること(Ishibashi and Iwaya-Inoue. 2006, Ishibashi et al. 2010, 2013)、穂発芽耐性品種は登熟過程において種子内の抗酸化能力が高いこと(Ishibashi et al. 2008)、オオムギのアリユーロン細胞において活性酸素は α アミラーゼの誘導に関与することを報告した(Ishibashi et al. 2012, Aoki et al. 2014)。種子休眠・発芽機構における活性酸素シグナルが明らかとなれば、従来の植物ホルモンによらない、穂発芽制御が可能であると考えられる。しかしながら、この活性酸素の下流で働くシグナルなど、具体的なメカニズムは未だ不明のままである。本研究課題では、活性酸素の下流で働く因子を特定し、その機能解析により、麦類の種子発芽機構に置く Oxidative Window の重要性を明らかにする。

3. 研究の方法

本研究課題では、研究材料としてコムギ・オオムギを供試し、これまで集積されたコムギ・オオムギのデータベースを活用し、トランスクリプトームおよびプロテオーム解析により種子発芽機構に関わる活性酸素シグナルを特定する(課題1)。次に特定された候補遺伝子・タンパク質について、生化学・分子生物学的手法により機能解析を行う(課題2)。候補遺伝子について、休眠性の異なる多数の品種を用いて、発現レベルやDNA配列などの品種間差を調査する(課題3)。本研究課題は、課題1、2における基礎研究の結果を、課題3の応用研究へとつなげることで、活性酸素制御を利用した穂発芽耐性品種育成への道筋(DNAマーカー等)を示すことを目的とする。

4. 研究成果

オオムギを用いて過酸化水素およびアスコルビン酸ナトリウム処理後、種子胚からRNAを抽出し、網羅的な遺伝子発現解析を行なったところ多数の活性酸素応答遺伝子が確認された。その内の一つである、ABA代謝関連遺伝子は活性酸素により誘導され、ABA含量の調節し、さらにABAはHvABI5を誘導し、HvCAT2のプロモーター領域に直接結合し活性酸素量を調節する事が明らかとなった。これらの結果は、種子休眠と発芽機構において、活性酸素とABAのサイクルが重要な役割を果たしていることを示唆した。更に、先に報告した活性酸素によるGAの誘導と共に考察すると、種子休眠は活性酸素によってGAとABAのバランスを調節することで、種子休眠と発芽を調整する事が示唆された。(右図)

更に、過酸化水素により発現上昇し、アスコルビン酸ナトリウムで発現抑制された活性酸素応答遺伝子(Responsive gene of reactive oxygen species for germination; RRGs)について、休眠および非休眠種子を用いて、機能解析を行った。RRG1遺伝子は、休眠種子により発現量が低く、非休眠種子では発芽と共に発現量が上昇した。さらに、in situ hybridizationによりその発現部位が明らかとなり、胚盤上皮細胞やアリユーロン細胞において発現が高い事が確認された。さらに、RRG1と植物ホルモンの関係を調査したところ、発芽抑制に関わるアブシジン酸によって胚における発現が抑制される事が明らかとなった。しかしながら、発芽促進に関わるジベレリンには反応しなかった。一方、アリユーロン細胞では、RRG1はジベレリンにより発現が促進し、アブシジン酸により抑制された。以上の結果は、胚盤上皮細胞とアリユーロン細胞でRRG1の作用が異なる事を示した。また、登熟期間の遺伝子発現を休眠性の異なる品種で確認したところ、RRG1は休眠性の高い品種で低く、休眠性の低い品種で高い事が示された。

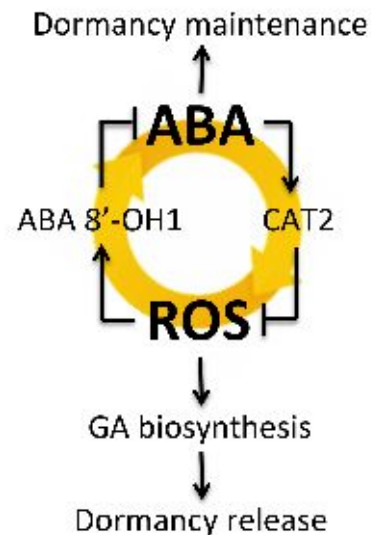


図 .ROS-ABA サイクルによる種子発芽・休眠制御

以上の結果は、RRG1 はアブシジン酸に発現を制御されるタンパク質であり、種子休眠に関与し、ムギ類栽培で問題になる穂発芽耐性へも寄与する事が示された。

また、ROS responsive genes for germination2 (RRG2)の機能解析を行った。RRG2の結合が予想されるジベレリン合成酵素のプロモーターには、3つの多型が存在しており、レポーターアッセイの結果、シス配列間の距離が転写活性に影響していることが明らかとなった。さらに、穂発芽性の異なる国内のオオムギ品種についてプロモーター領域の多型を調査した結果、穂発芽‘易・中’品種の多型と、穂発芽‘難’品種の多型に区別することが可能であり、世界のオオムギコアコレクションの多型をみると、野生種では、ある多型が約9割を占めていた。一方、栽培種では対照的に野生種で少なかった多型の割合が高かったが、中国・韓国・日本を含む東アジアでは野生種と同様の多型の割合が他の地域と比べて高かった。これらの結果は、オオムギの栽培化の過程において、GA合成酵素の発現が容易な多型をもつ系統が選抜されてきたこと、また湿潤な気候で降水量が高く、穂発芽が生じやすい東アジアにおいては、GA合成酵素の発現が難易な多型が選抜されてきたことを示唆するものであり、RRG2を介した発芽制御においてGA合成酵素のプロモーター配列の多型は発芽調節因子の一つとして、品種育成に関与していると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計2件)

1. Yushi Ishibashi, Nozomi Aoki, Shinsuke Kasa, Masatsugu Sakamoto, Kyohei Kai, Reisa Tomokiyo, Gaku Watabe, Takashi Yuasa, Mari Iwaya-Inoue. The Interrelationship between Abscisic Acid and Reactive Oxygen Species Plays a Key Role in Barley Seed Dormancy and Germination. *Frontiers in Plant Science*. 8, Article 275, 2017. 査読有り
2. 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.*, 216, 52-57, 2017. 査読有り

〔学会発表〕(計4件)

1. 岡村香菜子・森山泰智・児玉文香・古賀由希子・畑中孝太・久保志織・甲斐恭平・濱岡範光・井上眞理・石橋勇志. オオムギの種子発芽における活性酸素応答遺伝子 RRG2 の機能解析. 日本作物学会. 2019.3. 筑波大学
2. Kodama, F. Watabe, G. Moriyama, T. Okamura, K. Kubo, S. Hamaoka, N. Iwaya-Inoue, M. Ishibashi, Y. Relationship between reactive oxygen species responsive gene 1 (RRG1) and plant hormones in barley (*Hordeum vulgare* L.) seed germination. AFELiSA 2017 (The 14th International Joint Symposium among Japan and Korea) .
3. 渡部岳・森山泰智・久保志織・甲斐恭平・濱岡範光・井上眞理・石橋勇志. オオムギの種子休眠・発芽機構における青色光と活性酸素の関係. 日本作物学会. 2016.9. 龍谷大学
4. Gaku Watabe, Nozomi Aoki, Kyohei Kai, Reisa Tomokiyo, Norimitsu Hamaoka, Mari Iwaya-Inoue, Yushi Ishibashi. Abscisic Acid-Catalase2-Reactive Oxygen Species Cycle Is Involved in Dormancy and Germination of Barley Seeds. International symposium of Pre-harvest sprouting in cereals. 2016.9. Murdoch University

〔図書〕(計1件)

1. Yushi Ishibashi, Yakashi Yuasa, Mari Iwaya-Inoue. Survival Strategies in Extreme Cold and Desiccation: Adaptation Mechanisms and their Application. 2018. Springer

〔その他〕

ホームページ等

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

6. 研究組織

(2)研究協力者

研究協力者氏名：井上眞理

ローマ字氏名：Mari Iwaya-Inoue

研究協力者氏名：湯淺高志
ローマ字氏名：Takashi Yuasa

研究協力者氏名：松中仁
ローマ字氏名：Hitoshi Matsunaka

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。