

令和 3 年 6 月 7 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02189

研究課題名(和文)ダイズ根皮層組織におけるプログラム細胞死の生体機能

研究課題名(英文)Function of the programmed cell death in root cortex of soybean

研究代表者

望月 俊宏(MOCHIZUKI, TOSHIHIRO)

九州大学・農学研究院・教授

研究者番号：60239572

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,900,000円

研究成果の概要(和文)：ダイズ耐湿性品種育成の指針を得るため、嫌気耐性品種‘伊豫大豆’と嫌気感受性品種‘タチナガハ’、およびNIL-9-4-5(遺伝的背景がタチナガハで、伊豫大豆由来の嫌気耐性遺伝子領域を持つ系統)を供試し、嫌気条件下における根の伸長と通気組織形成について調査した。その結果、伊豫大豆とNIL-9-4-5は嫌気条件下においても根の伸長はほとんど抑制されなかったのに対して、タチナガハは有意に抑制され、通気組織は伊豫大豆とNIL-9-4-5においてのみ形成が促進されたことから、この遺伝子領域は嫌気条件下における根の伸長と通気組織形成の両者を制御していることが強く示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ダイズ栽培における出芽期(幼苗期)の湿害は苗立ちの不良とその後の生育抑制を伴うため、ダイズ生産の大きな阻害要因となっており、耐湿性ダイズの作出が強く望まれているが、現在までに実現していない。本研究では、耐湿性ダイズ品種の備えるべき特徴を、嫌気条件下における根の伸長と通気組織形成の二つの観点から明らかにするとともに、その関係性ならびに遺伝的背景についても検討した。得られた結果は、ダイズのみならず他の畑作物における耐湿性研究にも、また、育種現場にも大きく貢献するものである。

研究成果の概要(英文)：Waterlogging imposes serious hypoxic stress on the roots of soybean. In this study, the aerenchyma formation and the relationship with root development under hypoxia were evaluated.

The obtained results showed that root length of Tachinagaha (hypoxia susceptible variety) were greatly decreased under hypoxia, while those of Iyodaizu (hypoxia tolerant variety), and NIL-9-4-5 which have hypoxia tolerant genes derived from Iyodaizu were not affected. Correspondingly, under hypoxia, NIL-9-4-5 exhibited similar aerenchyma formation to Iyodaizu, which was significantly higher compared to Tachinagaha. These results indicate that in response to waterlogging, these genes confer rapid root development through the concomitant formation of aerenchyma.

研究分野：作物学

キーワード：ダイズ 湿害 嫌気耐性 耐湿性 通気組織 プログラム細胞死

1. 研究開始当初の背景

ダイズ栽培の多くが水田転換畑で行われ、また、播種期が梅雨と重なる我が国においては、出芽期（幼苗期）の湿害は苗立ちの不良とその後の生育抑制を伴うため、ダイズ生産の大きな阻害要因となっている。国外においても、モンスーンアジアや河川流域の畑地における湿害は大きな問題となっており、地球環境変動下の現代においては、乾燥害とともにダイズの収量阻害要因として深刻さが増すと指摘されており、耐湿性品種の育成が望まれている。ダイズにおいて耐湿性品種の開発はこれまでに実現していないが、近年、嫌気感受性品種のタチナガハと耐性品種の伊豫大豆 (Suematsu *et al.*, 2017) との交配に由来する組換え近交系を用いた量的形質遺伝子座 (QTL) 解析により、幼苗期において湛水条件下での根の伸長量に關与する QTL (*Qrl-12* および *Qrld-12*) が第 12 染色体上に検出された (Nguyen *et al.*, 2017)。

2. 研究の目的

耐湿性品種育成に際しては、關与する形質として、1) 好氣的な地上部から嫌氣的な地下部に酸素を供給する“通気組織”の形成、および 2) 湛水下においても比較的酸素分圧の高い条件にある地表面近傍への不定根(胚軸根および分岐根)の発達、の重要性が指摘されているが、ダイズにおいてはそれぞれに関する研究は限定的であるとともに、両者の関係については全く分かっていない。そこで本研究では、ダイズ耐湿性品種育成の指針を得るため、嫌気条件下における根の伸長量を指標とした場合の嫌気耐性品種‘伊豫大豆’と、嫌気感受性品種‘タチナガハ’、およびタチナガハと伊豫大豆の交配後代より作出された準同質遺伝子系統 (NIL-9-4-5; 遺伝的背景をタチナガハとし、嫌気条件下における不定根の伸長量に關わる量的形質遺伝子座 (QTL) 領域を伊豫大豆型で持つ (Nguyen *et al.*, 2017)) を供試し、不定根の伸長と皮層における通気組織の形成の関係を明らかにするとともに責任遺伝子の同定を試みた。

3. 研究の方法

上記の材料を供試し、3 日間の調湿後パーミキュライトを培土として発芽させた種子を播種し、2 日後に種子根長が均一 (5cm 前後) な個体を水耕槽に移植した。エアポンプで大気をバブリングし、初生葉展開期から、嫌気区では窒素をバブリングして溶存酸素濃度を 1mgL^{-1} 以下に調節した 0.1% アガロースゲル溶液で置換し、対照区では水耕液への大気バブリングを継続した。処理開始時および処理終了時 (処理開始後 7 日目) に、ルートスキャナー (Win RHIZO, REGENT INSTRUMENTS 社製) を用いて根系を撮影し、根の伸長量を測定した。その後不定根を採取し、プントミクロームを用いて作製した横断切片を光学顕微鏡下で撮影し、Image J で解析を行い、通気組織形成率 [通気組織面積/根の横断面積 $\times 100(\%)$] を求めた。実験は 14 時間日長 23 に設定したグローブチャンバー (光強度約 $220\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) 内で行った。さらに同様の条件下で栽培、採取した不定根を用いて RNA-seq を行い、両親および NIL-9-4-5 において処理間に転写産物量に変化の見られる遺伝子を抽出し、伊豫大豆および NIL-9-4-5 に共通して変化の認められる遺伝子を検索した。

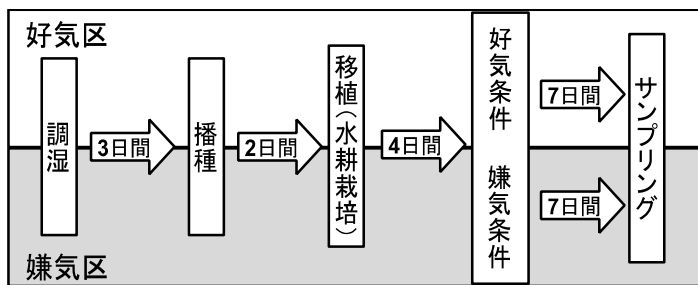


図1 実験のタイムテーブル

4. 研究成果

(1) 処理前に発根していた根 (既存の根) と処理期間中に新たに発根した根 (新規の根) を区別し、さらに発根部位により胚軸から発根した根 (胚軸根) と主根から分岐した根 (一次分岐根) に分けて根長を測定した。その結果、嫌気条件下における根の伸長について伊豫大豆と

タチナガハを比較すると、既存の分岐根および既存の胚軸根、新規の分岐根の総伸長量は、伊豫大豆がタチナガハより大きく、タチナガハでは既存の分岐根の伸長は完全に停止していた。新規の胚軸根では有意な差は認められなかったが、根 1 本あたりの伸長量はいずれの根においても伊豫大豆が大きいことから、タチナガハでは短い胚軸根が多数発根したことが明らかであった。また、NIL-9-4-5 は、伊豫大豆と同様の伸長特性を示した。

(2) 通気組織は、両品種において好気条件下ではほとんど形成が認められなかった。一方、両品種ともに嫌気条件下において処理開始以降に伸長した不定根には通気組織の形成が認められたが、その程度は伊豫大豆で大きく、新規の胚軸根の中間の部位では伊豫大豆においてのみ形成が認められた。また、NIL-9-4-5 における通気組織の形成は、伊豫大豆と同様の傾向を示した。

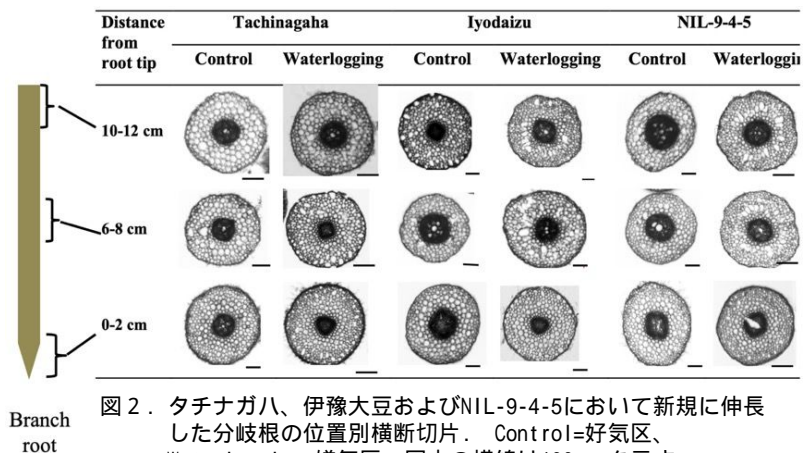


図 2. タチナガハ、伊豫大豆およびNIL-9-4-5において新規に伸長した分岐根の位置別横断切片。Control=好気区、Waterlogging=嫌気区。図中の横線は100 μmを示す。

以上(1)(2)の結果から、嫌気耐性品種は嫌気感受性品種に比べて新規の根、既存の根ともに伸長能が高く、通気組織形成との関連も示唆された。さらに、嫌気条件下における根の伸長抑制程度に関連する QTL を持つ準同質遺伝子系統 (NIL-9-4-5) は、通気組織形成においても嫌気耐性品種と同様の反応を示すことから、この QTL 領域は、嫌気条件下における根の伸長と通気組織形成をともに制御していることが強く示唆された。

(3) タチナガハ、伊豫大豆およびNIL-9-4-5の不定根を採取し、RNA-seqを行なったところ、好気条件に対して嫌気条件下で有意に発現量が変化した遺伝子はそれぞれ5483、1428、3695遺伝子であり、その中で計83個の遺伝子が嫌気耐性に関与すると考えられた。

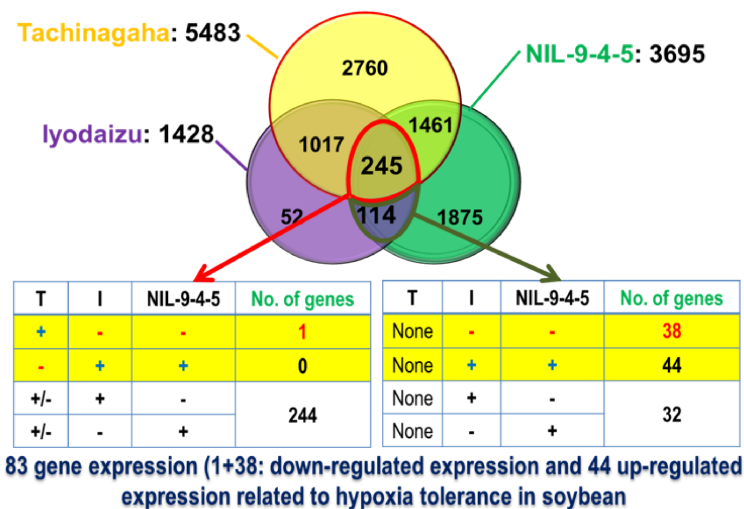


図 3. タチナガハ、伊豫大豆およびNIL-9-4-5において好気区に対して嫌気区で有意に発現量が異なった遺伝子数 (p -value < 0.001).

NGUYEN, V. L., R. TAKAHASHI, S. M. GITHIRI, T. O. RODRIGUEZ, N. TSUTSUMI, S. KAJIHARA, T. SAYAMA, M. ISHIMOTO, K. HARADA, K. SUEMATSU, T. ABIKO and T. MOCHIZUKI 2017. Mapping quantitative trait loci for root development under hypoxia conditions in soybean (*Glycine max* L. Merr.). Theoretical and Applied Genetics 130(4):743-755. SUEMATSU, K., T. ABIKO, V. L. NGUYEN and T. MOCHIZUKI 2017. Phenotypic variation in root development of 162 soybean accessions under hypoxia condition at the seedling stage. Plant Production Science 20(3):323-335.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 稲益峻 ・ 安彦友美 ・ 望月俊宏
2. 発表標題 嫌気条件がダイズ幼苗期の根系形成に及ぼす影響
3. 学会等名 日本作物学会
4. 発表年 2020年

〔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
研究分担者	安彦 友美 (ABIKO TOMOMI) (00743882)	九州大学・農学研究院・助教 (17102)	
研究分担者	高橋 宏和 (TAKAHASHI HIROKAZU) (50755212)	名古屋大学・生命農学研究科・助教 (13901)	

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