

令和 5 年 6 月 15 日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K05976

研究課題名（和文）根の通気組織がトウモロコシの環境ストレス耐性向上に及ぼす効果の検証とその機構解明

研究課題名（英文）Verification of the effect of root aerenchyma on environmental stress tolerance and elucidation of its mechanism in genus Zea

研究代表者

間野 吉郎（Mano, Yoshiro）

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・畜産研究部門・グループ長

研究者番号：20355126

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：根の通気組織は、湛水により根系が酸素欠乏となった際に地上部から根端まで酸素を運ぶための通り道の役割を果たすことから、畑作物の耐湿性向上に重要な形質である。本研究において、耐湿性の高い近縁種テオシントが持つ通気組織形成能の詳細マッピングにより近傍のDNAマーカーを作出すると共に、皮層で発現する遺伝子の網羅的発現解析によっていくつかの候補遺伝子を得た。また、乾燥条件下における光合成関連形質の比較において、通気組織形成能と乾燥耐性との関連性を示した。さらに、イネで知られているオーキシンの制御による側根の形成と通気組織形成がテオシントにおいても同様に制御されていることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究において、畑作物の耐湿性向上に重要な形質である通気組織形成能に関する遺伝子の近傍のDNAマーカーと、皮層で発現する遺伝子の網羅的発現解析により候補遺伝子が得られた。これらの情報は、今後の通気組織形成機構の全容解明につながることから学術的価値は高いと言える。さらに、通気組織形成が耐湿性だけではなく乾燥耐性などの環境ストレス耐性の向上に寄与する可能性が示されたことから、通気組織形成遺伝子の導入によるマルチストレス耐性トウモロコシ品種の育成に向けた育種戦略を示すことが出来た。

研究成果の概要（英文）：Root aerenchyma is an important trait for improving flooding tolerance in upland crops, because it plays a role of a pathway for transporting oxygen from the shoot to the root tip when the root system becomes oxygen-deficient due to flooding. We performed detailed mapping of the capacity to form constitutive aerenchyma in teosinte, a wild relative of maize with highly flooding tolerance, and obtained several candidate genes by comprehensive expression analysis of genes expressed in the cortex. In addition, in the comparison of photosynthesis-related traits under dry conditions, we showed the relationship between aerenchyma formation and drought tolerance. Furthermore, as observed in rice, we found that aerenchyma formation and lateral root formation in the nodal roots of teosinte is also regulated by auxin.

研究分野：植物遺伝育種学

キーワード：通気組織 テオシント トウモロコシ 耐湿性 ストレス耐性

1. 研究開始当初の背景

水田転作で飼料用トウモロコシが増産できれば飼料自給率の向上に大きく貢献するため、トウモロコシにおける耐湿性(過剰な水に対する耐性)の品種開発の期待は大きい。しかし、トウモロコシは過湿条件下では根系の酸素濃度が著しく低下し生育が阻害されるため、根端への酸素供給能力が耐湿性向上の重要な要因となる。

ニカラグアの湿地に自生する近縁種テオシント(*Zea nicaraguensis*、以下テオシント)は耐湿性が高く、耐湿性向上に関係する複数の形質(通気組織形成能、酸素漏出バリア形成能、地表根形成能、還元土壌耐性など)を持つ非常に優れた遺伝資源である。これらのうち、根の皮層部分に空隙を形成することで低酸素となった際に根端までの酸素の通り道を作る「通気組織形成能」は耐湿性向上に重要であることは古くから知られている。しかし、これは属間や種間などの間接的な比較から得られた知見であり、世界的に見ても準同質遺伝子系統(NIL)や突然変異体など、遺伝背景を揃えて通気組織のみの効果を厳密に検証した報告は無かった。私たちはこれまでにトウモロコシ×テオシントの集団において通気組織形成能の量的形質遺伝子座(QTL)解析を行ったところ、主要な遺伝子が第1染色体にあることを明らかにした(Mano et al. 2007)。このことで、NILを用いた比較試験により通気組織形成の機構解明が可能となった。

さらに、通気組織は耐湿性向上に重要であると共に、耐湿性以外の環境ストレス耐性にも関係することが報告されている(Zhu et al. 2010)。しかし、NILなど遺伝背景を揃えて通気組織の効果を直接的に証明した事例は国内外を見ても皆無であり、その解明が望まれている。

2. 研究の目的

本研究では、進展が非常に困難であった通気組織について、QTLの詳細マッピングを行い純度の高いNILを作成するとともに、遺伝子単離に必要な極近傍のマーカーを得ることを目的とする。また、NILを用いたレーザーマイクロダイセクション法(Laser Microdissection, LM)による皮層特異的な網羅的遺伝子発現解析(LM-RNA-Seq)を行うことで、通気組織形成遺伝子の候補を絞り込むとともに、通気組織形成過程で皮層特異的に発現する遺伝子の同定を行い、その制御機構を明らかにする。さらに、本研究で得られる通気組織形成能に関するNILを用いて、耐湿性以外の環境ストレス耐性(乾燥耐性)を評価して、通気組織形成遺伝子の幅広い利用を検討する。

3. 研究の方法

(1) 通気組織形成遺伝子の極近傍のDNAマーカーの探索

トウモロコシ自殖系統Mi29(以下トウモロコシ)にテオシントの染色体断片を導入した部分置換系統CS12-420から得られたQTL領域のみを持つ系統(bar#468-8)と持たない対照系統(bar#468-7)を供試した。高さ30cmの1/10,000aポットに非湛水条件下で生育させ、6葉期に下位から2番目の節根の根端から10cmと15cmの部位の通気組織形成程度を観察した(スコア0;通気組織なし~スコア2;甚)。

通気組織形成遺伝子の極近傍のDNAマーカーを探索するため、候補領域においてトウモロコシとテオシントの間でilluminaのチップを使ったSNPタイピング解析を行い、詳細マッピングに利用できるマーカーを探索した。

(2) トウモロコシに通気組織形成遺伝子を交配によって導入した純度の高いNILの作出

トウモロコシの遺伝背景にテオシントのQTLのみを導入した高純度のNILを作成するために、候補領域で組換えを起こした系統を選抜するとともに、自殖により固定させたNILの候補となる系統を選抜した。さらに、それらの通気組織形成能を評価して候補となる領域の特定を進めた。

(3) 根の皮層で発現する遺伝子の網羅的発現解析

純度の高いNILを用いた発現解析を行う前段階として、トウモロコシ、トウモロコシに通気組織に関する4つのQTLを集積した系統AE91(Gong et al. 2019)およびテオシントを用いて、LM法で根の皮層のみを単離し、通気組織形成過程において皮層で発現する遺伝子の網羅的発現解析(RNA-Seq)を行った。

(4) 耐湿性以外の環境ストレス耐性

通気組織が乾燥耐性(乾燥区8%、対照区20%の土壌水分を維持)に及ぼす効果について検討するため、トウモロコシ、4つのQTLを集積した系統AE91、テオシントの間で光合成関連の形質である光合成速度、気孔電導度および蒸散速度を比較した。

また、テオシントにおける通気組織形成と低栄養条件下における養分吸収の関係を明らかに

するための前段階として、重力刺激下のテオシントの節根においてオーキシンの分布による通気組織形成と側根形成を調査した。

4. 研究成果

(1) 通気組織形成遺伝子の極近傍の DNA マーカーの探索

これまでの私たちの研究において、通気組織形成に係る QTL は *umc2396* と *umc1278* 間の領域にあると推定されている (図 1, Exp. 1)。本研究において、*bar#468-8* は *bar#468-7* よりも通気組織形成程度が有意に高く、QTL は *umc2396* と *IDP8950* の領域にあると考えられた (図 1, Exp. 2)。

次に、テオシントの通気組織形成遺伝子の詳細なマッピングに利用できるマーカーを探索するため、トウモロコシとテオシントの間での SNPs マーカーによる多型解析を行った。その結果、候補領域 (約 6 MB) に 149 個のマーカーが得られた。

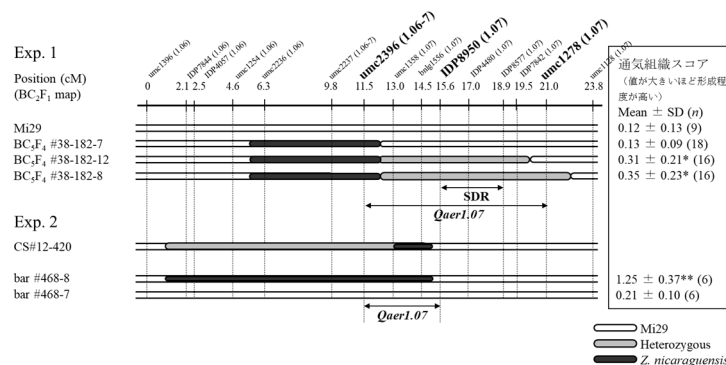


図 1. ファインマッピングによって絞り込まれた通気組織形成能に関する *Qaer1.07*。Exp. 1はBC₅F₄世代 (本研究開始前の成果)、Exp. 2はNILを用いた解析 (本研究)。SDR: 分離の歪が生じる領域 (*Z. nicaraguensis* 型ホモが分離しない)。

(2) トウモロコシに通気組織形成遺伝子を交配によって導入した純度の高いNILの作出

トウモロコシの遺伝背景にテオシントの QTL のみを導入した高純度の NIL を作成するために、候補領域で組換えを起こした系統を選抜するとともに、自殖により固定させた NIL の候補となる 15 系統を作出した。全ゲノムを対象とした SNP 解析によって候補領域以外は全てトウモロコシゲノムに置き換わっていることを確認した。

次に、NIL の候補となる系統の通気組織形成能を評価して、それらの中から純度の高い NIL の選抜を試みたが、これまで見られていた明瞭な系統間差異は得られなかった。これは、詳細マッピングの過程で *Qaer1.07* 以外に短腕側にもう 1 つの QTL (*Qaer1.06*) があり (データ省略) NIL 作成の際に組換えによってそれらが分かれ、各 QTL の効果が十分に大きくなかったためであると考えられる。

(3) 根の皮層で発現する遺伝子の網羅的発現解析

トウモロコシ、AE91、およびテオシントを用いて、レーザーマイクロダイセクション法で根の皮層のみを単離し、通気組織形成過程において皮層で発現する遺伝子の網羅的発現解析 (RNA-Seq) を行った。通気組織形成時に発現量が変化する遺伝子が複数検出され、それらの中には lipid binding に関する遺伝子が含まれていた。また、通気組織形成過程において皮層で発現する遺伝子の RNA-Seq の解析対象を第 1 染色体以外の第 5, 8 染色体の通気組織遺伝子を含む全ゲノムを対象に発現量の変異が大きい方から 100 遺伝子を抽出したところ、第 1 染色体の遺伝子が高い割合で含まれていた (図 2、赤の四角が付いている遺伝子)。

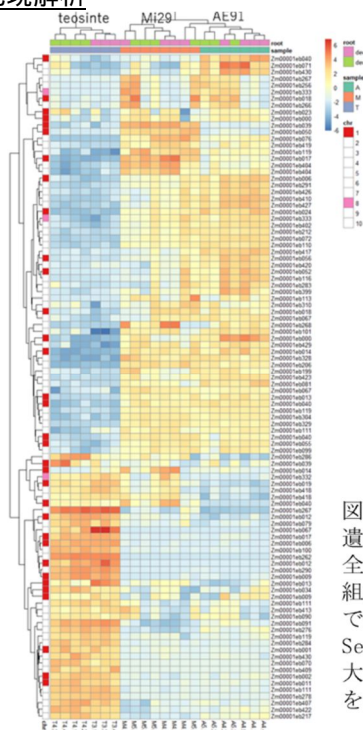


図 2. 根の皮層で発現する遺伝子の網羅的発現解析。全ゲノムを対象にした通気組織形成過程において皮層で発現する遺伝子の RNA-Seq 解析。発現量の変異が大きい順に 100 個の遺伝子を抽出した。

(4)耐湿性以外の環境ストレス耐性

通気組織が乾燥耐性に及ぼす効果について検討するため、トウモロコシ、AE91、テオシントの間で光合成関連の形質である光合成速度、気孔電導度および蒸散速度を比較した。光合成速度の対照区比はテオシントが最も高く、Mi29 が最も低く、通気組織遺伝子を導入したAE91はその中間であった(図3)。このことは、トウモロコシに通気組織を付与することで乾燥条件下の光合成能力が高まったことを示すものである。また、気孔電導度と蒸散速度も同様な傾向を示したことから、通気組織形成能と乾燥耐性との関連性が示唆された。

テオシントの節根におけるオーキシンの分布と通気組織形成あるいは側根形成に関しては、オーキシン関連の遺伝子の経時的な発現解析によって、イネで知られているオーキシンの制御による側根の形成と通気組織形成がテオシントにおいても同様に制御されていることが明らかとなった(Ning et al. 2023)。

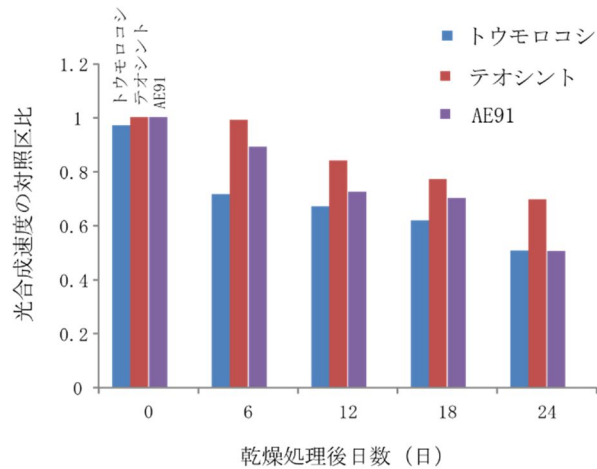


図3. 通気組織形成能が乾燥処理における光合成速度に及ぼす影響。通気組織形成能に関する4つのQTLを集積したAE91は遺伝子を持たないトウモロコシよりも光合成速度の対照区比が高い。

<引用文献>

- Gong, F.P., H. Takahashi, F. Omori, W. Wang, Y. Mano and M. Nakazono (2019) QTLs for constitutive aerenchyma from *Zea nicaraguensis* improve tolerance of maize to root-zone oxygen deficiency. *J. Exp. Bot.* 70: 6475-6487.
- Mano, Y., F. Omori, T. Takamizo, B. Kindiger, R.M. Bird, C.H. Loaisiga and H. Takahashi (2007). QTL mapping of root aerenchyma formation in seedlings of a maize x rare teosinte "*Zea nicaraguensis*" cross. *Plant Soil* 295: 103-113.
- Ning, J., T. Yamauchi, H. Takahashi, F. Omori, Y. Mano and M. Nakazono (2023) Asymmetric auxin distribution establishes a contrasting pattern of aerenchyma formation in the nodal roots of *Zea nicaraguensis* during gravistimulation. *Front. Plant Sci.* 14: 1133009.
- Zhu, J., K.M. Brown and J.P. Lynch (2010) Root cortical aerenchyma improves the drought tolerance of maize (*Zea mays* L.). *Plant Cell Environ.* 33: 740-749.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Mano Yoshiro, Nakazono Mikio	4. 巻 71
2. 論文標題 Genetic regulation of root traits for soil flooding tolerance in genus Zea	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Breeding Science	6. 最初と最後の頁 30 ~ 39
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1270/jsbbs.20117	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 Ning Jiayang, Yamauchi Takaki, Takahashi Hirokazu, Omori Fumie, Mano Yoshiro, Nakazono Mikio	4. 巻 14
2. 論文標題 Asymmetric auxin distribution establishes a contrasting pattern of aerenchyma formation in the nodal roots of Zea nicaraguensis during gravistimulation	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Science	6. 最初と最後の頁 1133009
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fpls.2023.1133009	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 -

〔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 間野吉郎、大森史恵、高橋秀和、中園幹生
2. 発表標題 Zea nicaraguensisが持つ恒常的通気組織形成能に関するQTLの詳細マッピング
3. 学会等名 日本育種学会 第139回講演会
4. 発表年 2021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	中園 幹生 (Nakazono Mikio) (70282697)	名古屋大学・生命農学研究科・教授 (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
---------	---------