

食と農の総合研究所研究プロジェクト 研究成果報告書

研究課題	パンコムギ胚乳貯蔵タンパク質組成に与える近縁野生種の細胞質効果
研究種別	個人
研究組織	(農学部・特任教授) 中村千春
研究期間	2年研究
キーワード	(1) 細胞質多様性 (2) 核細胞質雑種 (3) コムギ・エギロプス属 (4) 胚乳タンパク質 (5) 冠水ストレス感受性 (6) 収量形質

1. 研究計画(簡潔にまとめて記入してください。)

研究目的)

パンコムギでは、細胞質ゲノムを近縁野生種のそれで置換した核細胞質雑種系統が多数作出されており(右下図1)、異種細胞質ゲノムの多様性と核細胞質ゲノム間相互作用を解析するための優れた実験材料を提供している。

本プロジェクトの当初計画では、コムギ粉の品質を決定する重要な形質である胚乳貯蔵タンパク質の組成および含量に対するコムギ・エギロプス属近縁野生種の持つ細胞質ゲノムの効果を明らかにし、得られた知見をパンコムギ育種に活用することを目的として、以下の材料と解析方法を用いた研究を実施することとしていたが、研究の伸展に伴い、新たな目標を追加した。

材料及び解析方法)

パンコムギ核細胞質雑種46系統とその共通核ゲノム提供親品種CS(Chinese Spring)および国内外のパンコムギ7品種を供試して、胚乳の主要な貯蔵タンパク質画分であるグルテン(グリアジンとグルテニン)の含量と組成をゲル電気泳動法で解析する。

当初計画に追加した材料、解析形質と方法)

追加材料

核親ゲノムの効果および核細胞質ゲノム間相互作用の解析を目的に、生物検定によりCS以外の11品種から2品種を選び、それらを核親とする核細胞質雑種系統を温室で栽培し、2018年度には検定予定である。

追加解析形質:

温室栽培下での着粒数、粒重など収量に関連した10形質および植物培養室条件下での冠水ストレス感受性を新たな解析形質に加えた。

追加解析方法:

冠水ストレスがパンコムギの発芽種子と幼苗に与えるストレス効果を明らかにするため、転写産物の網羅的な解析手法(高速シーケンス解析:RNA-Seq解析)新たに採用した。

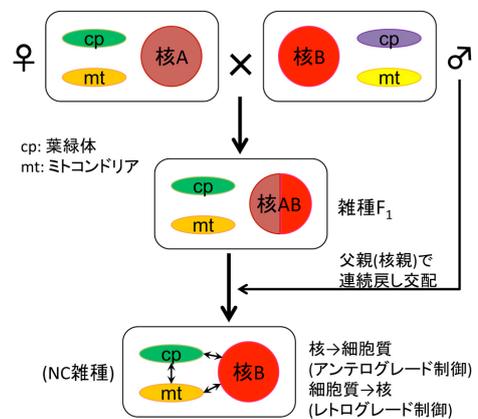


図1 核細胞質ゲノム応答の解析材料
核細胞質置換雑種(NC雑種)

2. 研究成果の概要(4 ページ程度)

胚乳タンパク質含量と組成に及ぼす異種細胞質の効果)

グルテン(グリアジンとグルテニンの総称)の組成と含量は小麦粉の品質を決定する最重要形質である。

母親由来の細胞質ゲノムがこの形質に与える影響に着目して、コムギ・エギロプス属の細胞質をもつパンコムギ核細胞質雑種46系統と核ゲノム提供親品種CSを供試して以下の実験を行った。

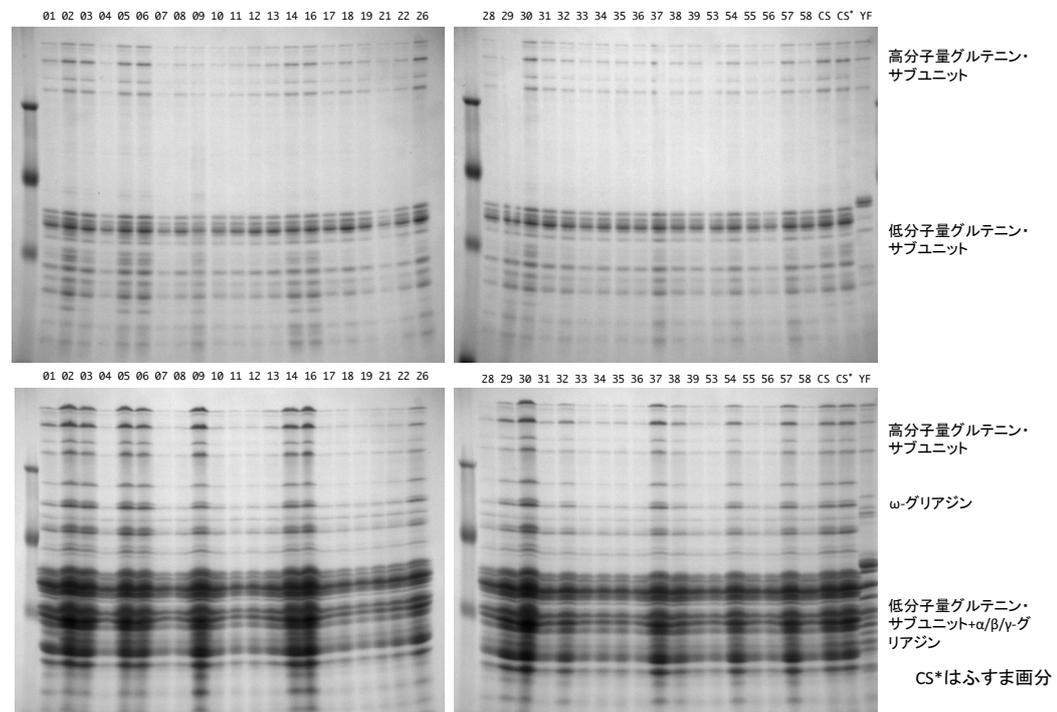
全粒粉およびふすまから、グルテニン・ポリマー画分とグリアジン・モノマー画分を分離し、それらをSDS-PAGE(ドデシル硫酸ナトリウム-ポリアクリルアミドゲル電気泳動)により解析した。

グルテンの組成には差異を見出せなかったが、種子単位重量あたりのグルテン含量に明瞭な系統間差異を見出した(下図参照)。供試した核細胞質雑種の核ゲノムは共通であることから、この結果は、グルテン含量にコムギの近縁野生種が持つ細胞質ゲノムが影響していること、および核ゲノムと細胞質ゲノムの相互作用が関与する可能性を示唆している。

尚、以上の解析は、国立研究開発法人・農研機構・西日本農業研究センター・麦類育種グループの上級研究員である池田達哉氏との共同研究として実施したもので、成果は以下の学会・演題で口頭発表した。

中村千春・竹中祥太郎・山本涼平・池田達哉：日本育種学会第132回大会要旨集 P083

細胞質置換系統のポリマー(グルテニン)画分(上段)とモノマー(グリアジン)画分(下段)のSDS-PAGE電気泳動 2016.12.02



収量形質に及ぼす異種細胞質の効果)

核細胞質雑種 46 系統と共通核親品種 CS を温室で栽培し、収量に関連する 10 形質（出穂日、有効分蘗数、草丈、止め葉長、第 1 節間長、穂長、穂当たり小穂数、穂当たり着粒数、粒重、粒長）について測定し、系統間差を見出した。こうした量的形質の解析は、複数年に渡って実施する必要があるが、以上の結果は、異種細胞質ゲノムの農業形質への効果を示唆する。

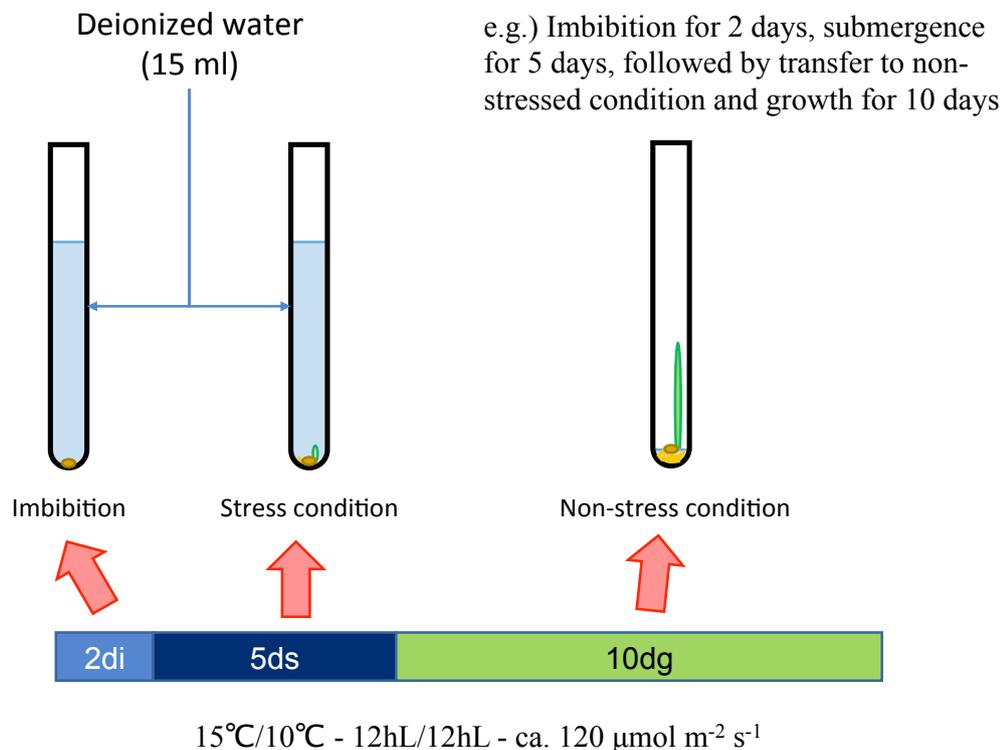
冠水ストレス感受性・耐性の検定)

地球温暖化に伴い、深刻な農業環境の劣化が起こっている。過剰な水分量に対する耐性がイネに比べて格段に低いコムギでは、冠水および湛水により、世界で年間 15% から 20% もの収量低下が生じているとの報告があり、特に、イネ・コムギの輪作が盛んなアジア地域では、被害が甚大である。日本においては、水田転換畑におけるコムギやダイズの栽培が耕作放棄された農地の再利用として重要である。このためには、冠水・湛水ストレス耐性の強化、中でも種子および幼苗期の苗立ちに必須な冠水ストレス耐性の付与がコムギの重要な育種目標の一つとなっている。

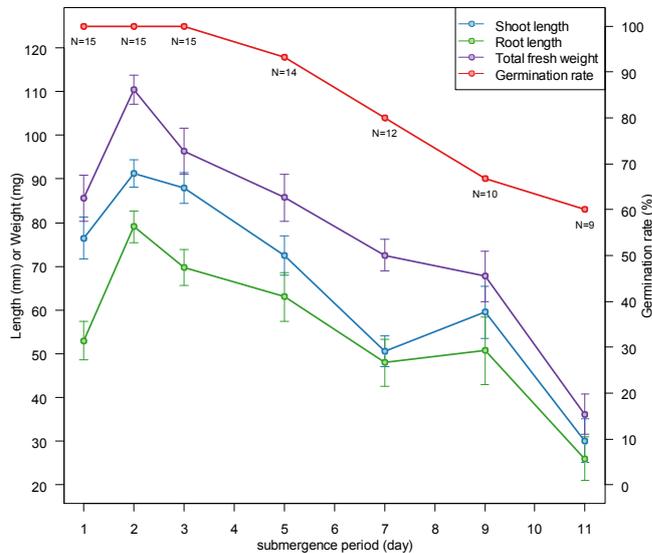
そこで、当初計画に加えて冠水ストレス応答に及ぼす細胞質ゲノムの効果に的を絞って解析を行った。冠水ストレスの効果は、イネで開発した試験管検定法を用いて植物培養室中で実施した（下図参照）。まず、核親品種 CS を用いて、吸水・発芽後 3 日から 10 日目の幼苗に 7 日間の冠水ストレスを与えた条件で調査したところ、その後の幼苗成長が完全に停止し、幼苗の冠水ストレス感受性は極度に高いことが判明した。

続いて、CS の種子を連続的に冠水ストレス下におき、ストレス解除後の種子発芽と幼苗成長を調査したところ、冠水ストレスによる抑制効果は適度であり、時間経過と共に増大すること、最適な種子吸水日数は 2 日間であることが明らかになった（次ページの図参照）。

Test Tube Bioassay for Submergence Stress



Time course of submergence effect on germination and initial seedling growth



Measurement was done 10-days after release of the different period of submergence stress using 15 seeds at each point.

1, 2, 3, 5, 7, 9 or 11ds 10dg

Submergence of seeds for 2 days is best for germination and subsequent growth of seedlings
→ Optimum imbibition period

以上の結果に基づき、核細胞質雑種 4 6 系統と共通核親 CS を試験管生物検定に供試し、以下の実験を行った。

吸水 2 日後の種子を非ストレス下で生育させた検定条件は、以下の 3 つであった。① 10 日間生育、② 13 日間生育、③ 3 日間ストレスを与え、10 日間生育。以上で得た幼苗成長（芽の長さ、新鮮重、根の長さ、新鮮重、植物体全体の新鮮重）を変数とし、これらの測定変数から得た 6 つの二次的変数（成長速度、成長率、阻害量、阻害率など）に基づき、冠水ストレス効果、細胞質置換の効果とそれらの交互作用を求めた。

以上の解析から、①冠水ストレスが幼苗生育に及ぼす効果に関して細胞質間に有意差が存在すること、②冠水ストレス効果と細胞質効果には有意な交互作用が認められること、さらに③核ゲノム提供親品種に有意に高い冠水ストレス耐性を付与する細胞質（*Ae. mutica* 由来の T² 型）および感受性を有意に高める細胞質（*Ae. umbellulata* などが保有する U 型）が存在することを確認した。

さらに、CS 以外の核親品種 11 系統の冠水ストレス耐性を評価し、より高い耐性レベルを示した 2 系統を選び、これらを核親とした核細胞質雑種系統を現在、ガラス室で栽培中である。2018 年 7 月に収穫予定の種子を用いた生物検定を 9 月以降に実施し、冠水ストレス耐性に及ぼす核細胞質間相互作用を検出する準備が整った。

以上の成果は学会で発表済みないし発表予定であり、2018 年 4 月早々には国際学術誌に投稿予定である。

中村千春、竹中祥太郎：日本遺伝学会第 88 回大会講演要旨集 3E-03

中村千春：International Conference on “Biosciences & Medical Engineering 2017”, University of Technology Malaysia, Johor Bahru, Malaysia、招待講演

中村千春、竹中祥太郎：日本育種学会第 129 回大会要旨集 P148

竹中祥太郎・古本強・中村千春：日本遺伝学会第 89 回大会講演要旨集 2D-08

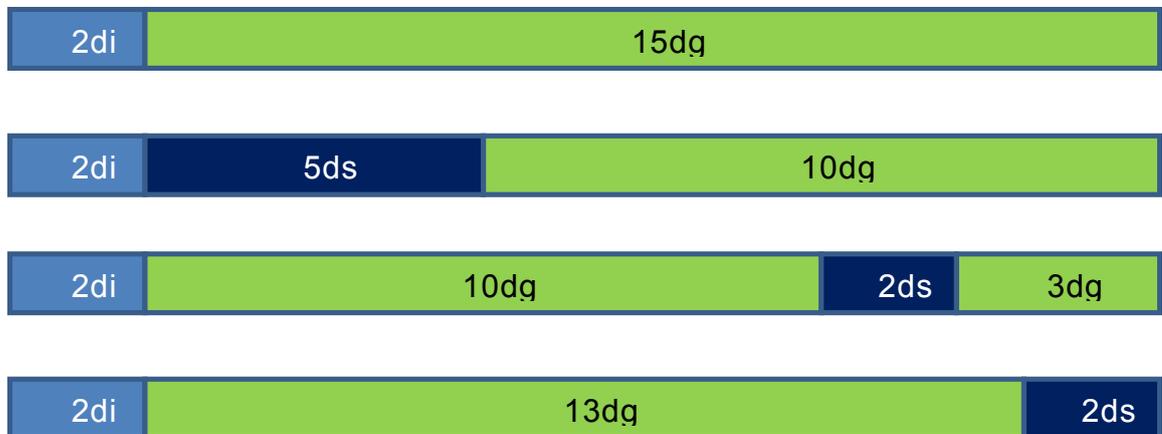
竹中祥太郎・山本涼平・中村千春：日本育種学会第 133 回大会 208（要旨集は未刊）

冠水ストレスに応答した転写産物プロファイルの解析

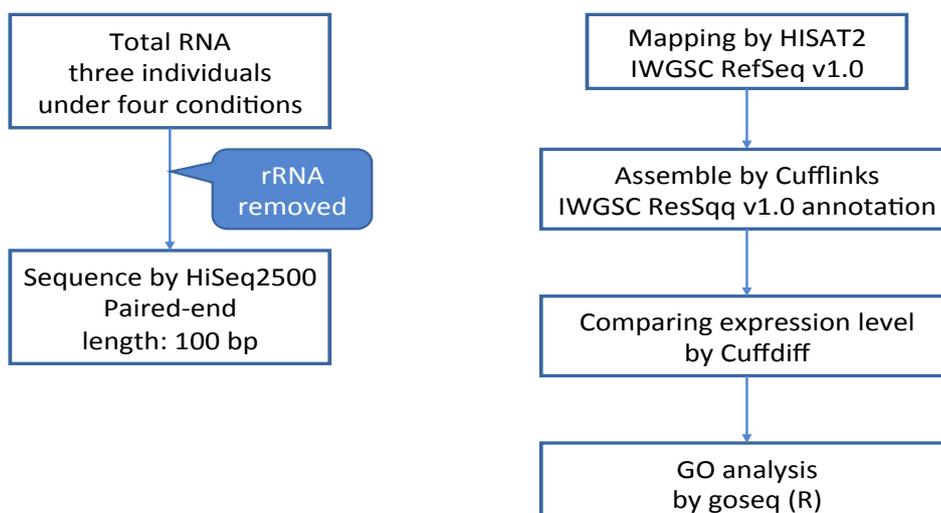
冠水ストレスがコムギ幼苗に与える効果をさらに検討する目的で、核親品種 GS を対象に、遺伝子発現に及ぼす影響を網羅的に解析した。

4つの冠水ストレス条件下（下図参照）で、幼苗における転写産物プロファイル（トランスクリプトーム）の変化を次世代シーケンサーによる高速シーケンス解析（RNA-Seq 解析）で調査し以下の結果を得た。①冠水ストレスに連動して異なる発現を示す転写産物の種類は、生育阻害が大きい条件ほど多い、②冠水ストレスにより発現量が変動した転写産物の種類は、ストレスを与えた生育ステージにより異なる、③冠水ストレスに応答して、酸化還元反応に関わる低酸素ストレス応答性と想定される転写産物が特に顕著な発現変動パターンを示した。なお、パンコムギの核ゲノムを構成する3種（A, B, Dゲノム）に由来するトランスクリプトームの変動もあきらかにした。

現在、結果を解析中であり、2018年夏までには国際学術誌に投稿予定である。



RNA sampling and sequence data processing



3. 収支報告

(非公開)

4. 研究発表等(研究代表者及び研究分担者)

< 学会発表 >

中村千春、竹中祥太郎：日本遺伝学会第 88 回大会講演要旨集 3E-03

中村千春：International Conference on “Crop Protection for Sustainable Agriculture”, Lahore, Pakistan, Nov. 23-25, 2015、招待講演

中村千春：International Conference on “Biosciences & Medical Engineering 2017”, University of Technology Malaysia, Johor Bahru, Malaysia、招待講演中村

千春、竹中祥太郎：日本育種学会第 129 回大会要旨集 P148

中村千春・竹中祥太郎・山本涼平・池田達哉：日本育種学会第 132 回大会要旨集 P083 竹

中祥太郎・古本強・中村千春：日本遺伝学会第 89 回大会講演要旨集 2D-08

竹中祥太郎・山本涼平・中村千春：日本育種学会第 133 回大会 208 (要旨集は未刊)

< 著書 >

Nakamura, C. and Takenaka, S. (2018) Prospects for Utilization of Cytoplasmic Diversity and Nucleus-Cytoplasm Interaction in Agriculture: A Case Study of Submergence Stress Responses in Wheat. In: *Research Trends in Crop Plants*, Universiti Teknologi Malaysia Press (in press)