

パンコムギの諸形質に及ぼす近縁野生種由来細胞質の多様性

○中村千春¹, 竹中祥太郎¹, 山本涼平¹, 池田達哉²

¹龍谷大学農学部, ²農研機構西日本農業研究センター

緒言

近縁野生種のもつ細胞質を網羅して育成されたコムギ核細胞質雑種コレクションは、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貴重な遺伝資源として有望である。本研究では、環境ストレス耐性、収量形質と全粒粉中の栄養価を対象形質に選び、細胞質ゲノム46系統と共通核親ゲノムを組み合わせた雑種を実験材料として比較調査したので、結果を報告する。

核細胞質雑種

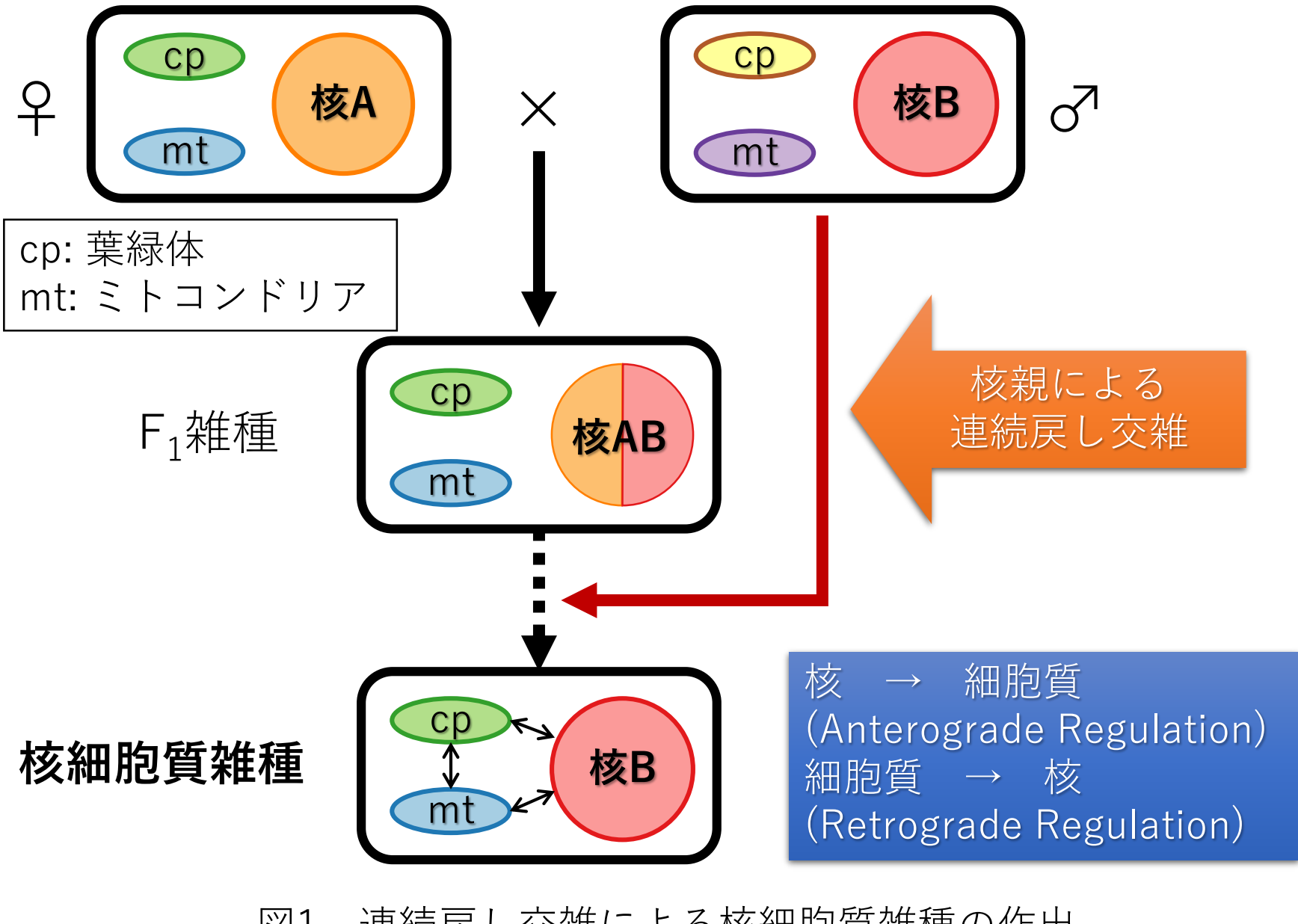


図1 連続戻し交雑による核細胞質雑種の作出

植物材料

表1 本研究で用いた46系統の核細胞質雑種および核親系統。Tsunewaki, K. (2009) から一部改変

コード	細胞質型	細胞質親	コード	細胞質型	細胞質親	コード	細胞質型	細胞質親
C01 ^{mf}	A	<i>T. boeoticum</i> <i>aegilopoides</i>	C27*	C	<i>Ae. caudata</i>	C15	G	<i>Ae. speltoides ligustica</i>
C16	A ²	<i>T. monococcum</i> <i>flavescens</i>	C28	D'	<i>Ae. cylindrica</i>	C09	G'	<i>Ae. speltoides aucheri</i> ^f
C21	B	<i>T. dicoccoides</i> <i>spontaneoignum</i>	C03	U	<i>Ae. umbellulata</i>	C17	S	<i>Ae. speltoides aucheri</i> ^f
C22	B	<i>T. dicoccum</i> <i>"Vernal"</i>	C26	U	<i>Ae. triuncialis</i>	C12	S ^b	<i>Ae. bicornis</i>
C23	G	<i>T. araraticum</i> ^f	C38	C'	<i>Ae. triuncialis</i>	C10	S'	<i>Ae. sharonensis</i>
C24	G	<i>T. araraticum</i> ^f	C33	S'	<i>Ae. kotshyi</i>	C20	S'	<i>Ae. longissima</i>
C25	G	<i>T. timophevii</i>	C39	S'	<i>Ae. kotshyi</i>	C18	S'	<i>Ae. searsii</i>
C51*	G	<i>T. zhukovskiy</i>	C34	S'	<i>Ae. variabilis</i> ²	C04	D	<i>Ae. squarrosa</i> ² <i>typica</i>
C11	B	<i>T. aestivum</i> <i>"Panjamo"</i>	C29	U	<i>Ae. biuncialis</i>	C19	D	<i>Ae. squarrosa</i> ² <i>anathera</i>
C58	B	<i>T. aestivum</i> <i>tibetanum</i>	C37	U	<i>Ae. biuncialis macrochaeta</i>	C36	D	<i>Ae. ventricosa</i>
C13	T	<i>Ae. mutica</i> ²	C30	U'	<i>Ae. columnaris</i>	C35	D ²	<i>Ae. crassa</i>
C14*	T ²	<i>Ae. mutica</i> ² (ms)	C31	M ^b	<i>Ae. ovata</i>	C55	D ²	<i>Ae. crassa</i>
C05*	M	<i>Ae. comosa</i> <i>thessalica</i>	C32	U	<i>Ae. triaristata</i> ^m	C53	D ²	<i>Ae. juvenalis</i>
C06	M ^b	<i>Ae. heldreichii</i>	C54	U	<i>Ae. triaristata</i> ^m	C56	D ²	<i>Ae. vavilovii</i>
C07	N	<i>Ae. uniariata</i>	C57	U	<i>Ae. triaristata</i> ^m <i>recta</i>	コード	細胞質型	核親
C02*	C	<i>Ae. caudata polythera</i>	C08	S	<i>Ae. speltoides ligustica</i>	CS	B	<i>T. aestivum</i> <i>"Chinese Spring"</i>

Synonym: ¹ *T. monococcum* ssp. *aegilopoides*, ² *T. monococcum* ssp. *monococcum*, ³ *T. turgidum* ssp. *dicoccoides*, ⁴ *T. turgidum* ssp. *dicoccum*, ⁵ *T. timophevii* ssp. *timophevii*, ⁶ *Amblyopyrum muticum*, ⁷ *Ae. comosa* var. *comosa*, ⁸ *Ae. comosa* var. *heldreichii*, ⁹ *Ae. peregrina*, ¹⁰ *Ae. geniculata*, ¹¹ *Ae. neglecta*, ¹² *Ae. speltoides* ssp. *speltoides*, ¹³ *Ae. tauschii*, 01^{mf}: male-fertile modified 01

調査①：収量形質

栽培条件：コムギの栽培は2015年秋～2016年春にかけて、龍谷大学農学部のガラス温室(加温なし)で鉢植えで行った。

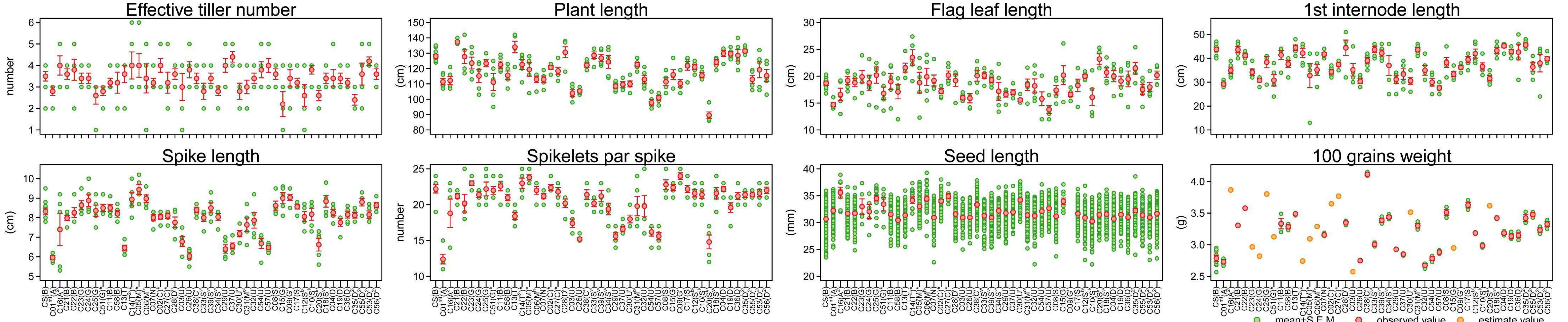


図2 46系統の核細胞質雑種および核親系統における収量形質の変異。
種子長と100粒重を除く形質は少なくとも3個体以上で測定を行った。種子長の測定は、ランダムに選んだ100粒以上の種子を対象にSmart grain (Tanabata *et al.*, 2012)を用いて行った。100粒重の測定はランダムに選んだ100粒で行い少なくとも3反復の測定を行った。100粒未満しか収穫できなかった系統では全ての種子を調べ、100粒重では推定値をプロットした。

調査②：冠水ストレス耐性

冠水ストレス応答試験：試験管内で発芽させた種子を脱イオン水中に完全に沈めることにより、冠水ストレスとした(図3)。吸水期間も含め、5日間の冠水条件下の後、冠水ストレスを解除し(種子が半分ほど浸かるまで水を減らす, 図3)、10日目の子葉長、根長、全新鮮重を計測した。試験は15°C/10°C, 12hL/12hDの条件下で少なくとも15個体以上の反復で行った。

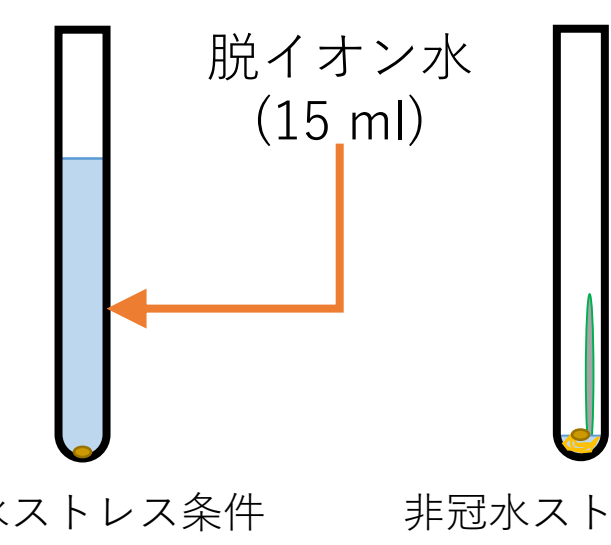


図3 試験管を用いた冠水ストレス試験法

調査②-1 核細胞質雑種における冠水ストレス条件下での初期成育の多様性

核細胞質雑種39系統を対象に、冠水条件下における発芽と初期生育の多様性の評価を行った。

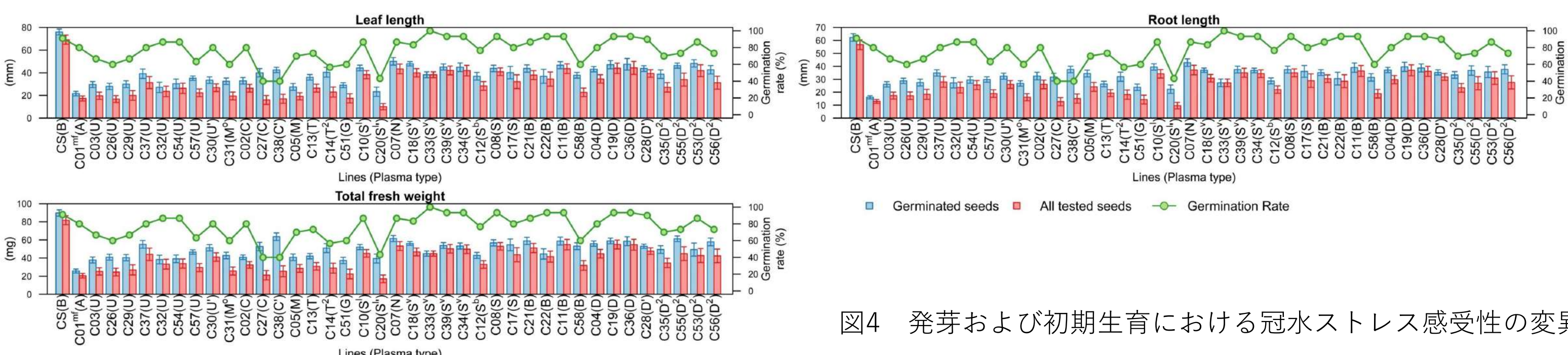


図4 発芽および初期生育における冠水ストレス感受性の変異

NC雑種39系統の発芽および初期成育時における冠水ストレス感受性は、核親であるCSよりも高かった。

表2 非ストレス条件栽培でのCSの子葉長を基準としたSteel検定の結果

comparison	t.value	p.value
CS(B) vs C01mf(A)	5.131913	4.11E-06 ***
vs C02(C)	4.936126	9.99E-06 ***
vs C03(U)	4.245779	2.95E-04 ***
vs C04(D)	4.968488	9.21E-06 ***
vs C05(M)	4.903964	1.17E-05 ***
vs C07(N)	2.743662	6.70E-02 .
vs C08(S)	4.342614	1.86E-04 ***
vs C10(S)	4.448387	1.11E-04 ***
vs C12(S ^b)	4.843556	1.95E-05 ***
vs C13(T)	4.81903	2.10E-05 ***
vs C14(T ²)	4.801009	1.94E-05 ***
vs C18(S ^v)	3.978223	1.07E-03 **
vs C31(M ^b)	4.999174	7.87E-06 ***
vs C32(U)	4.90898	1.15E-05 ***
vs C35(D ²)	5.252153	2.55E-06 ***

冠水ストレス効果の推定式

LL^N : 非ストレス条件下での子葉長
 LL^S : ストレス条件下での子葉長
 S : 冠水ストレス効果
 C : 細胞質効果
 i : 系統
 $LL^N_i = C_i + \epsilon$
 $LL^S_i = C_i + S + C_i \times S + \epsilon$
 $LL^S_i - LL^N_i = S + C_i \times S + \epsilon$

核細胞質雑種15系統の細胞質は、非冠水ストレス条件下であっても、初期成長に有意に負の影響をおよぼしていた。

調査②-2 初期成長および冠水ストレス応答に細胞質が与える効果の検定

代表的な16系統を非冠水ストレス条件下と冠水ストレス条件下でそれぞれ栽培し、子葉長の比較を行った。

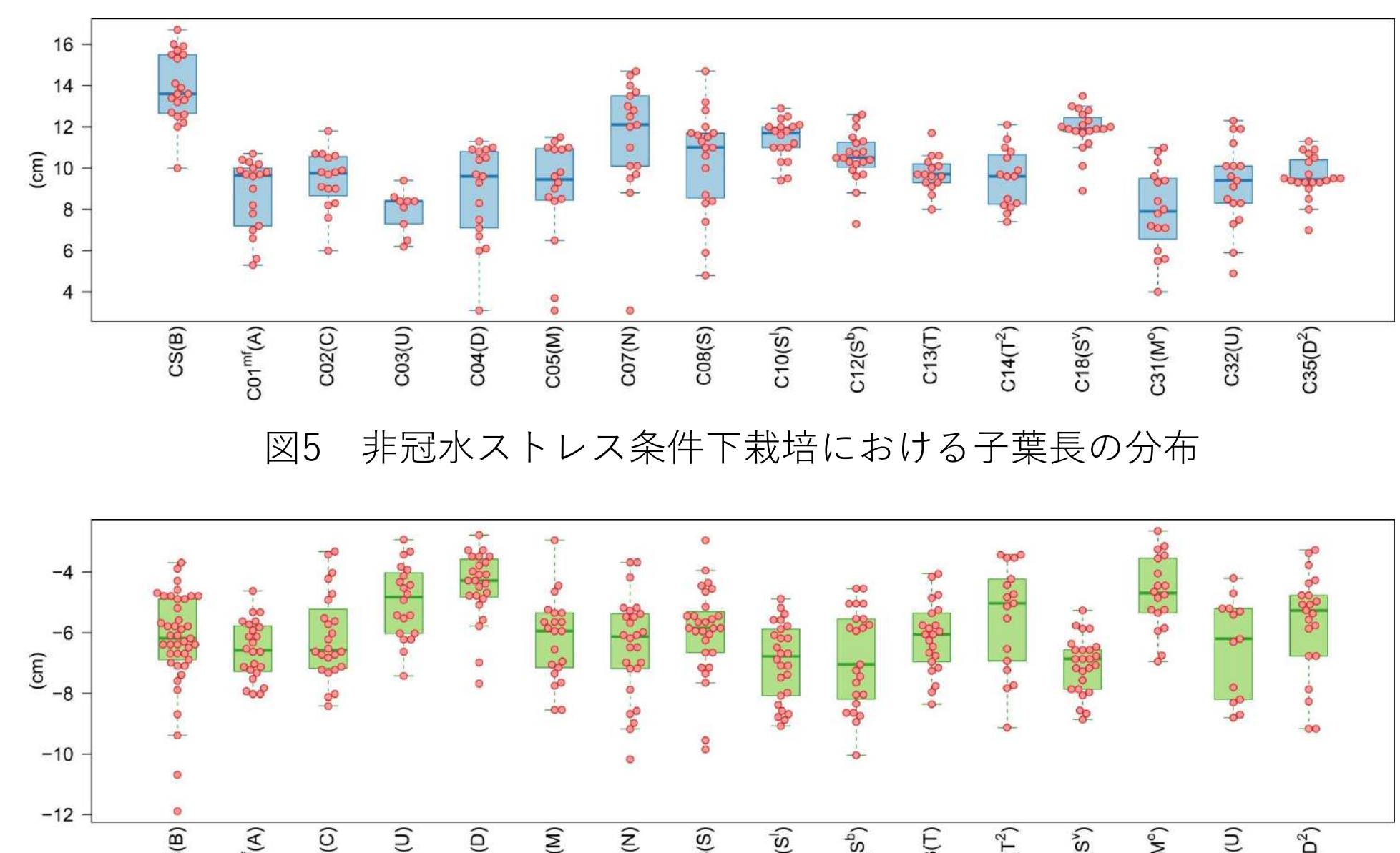


図5 非冠水ストレス条件下栽培における子葉長の分布

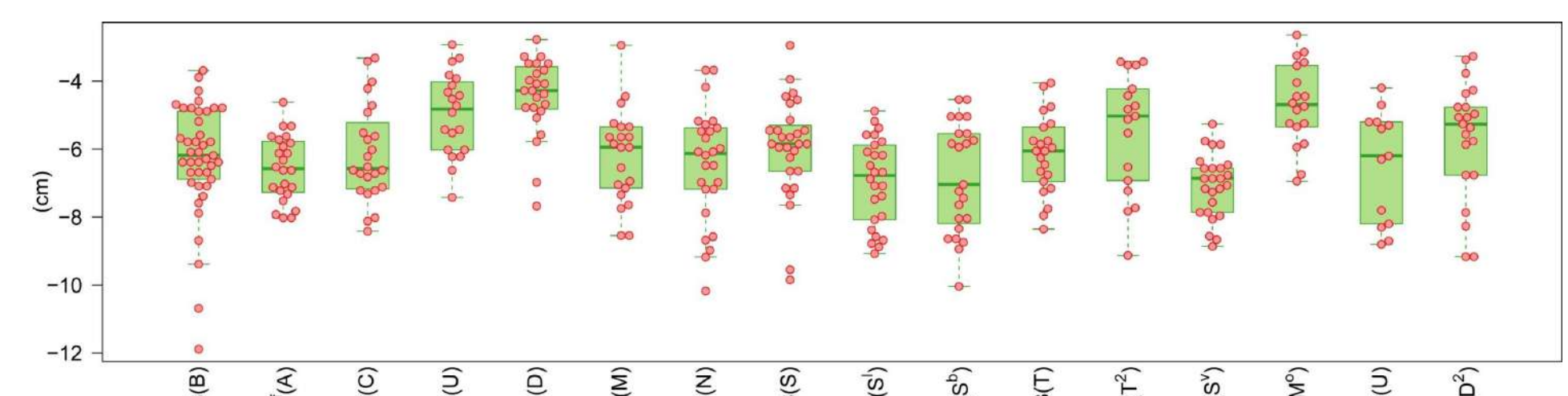


図6 冠水ストレスによる初期生育阻害量の分布

表3 冠水ストレス条件下でのCSの初期成育阻害量を基準としたSteel検定の結果

comparison	t.value	p.value
CS(B) vs C01mf(A)	1.414263	0.852
vs C02(C)	0.326358	1.000
vs C03(U)	3.135547	0.023 *
vs C04(D)	4.732444	0.000 ***
vs C05(M)	0.126487	1.000
vs C07(N)	0.424753	1.000
vs C08(S)	0.953533	0.993
vs C10(S)	1.98212	0.420
vs C12(S ^b)	1.322845	0.901
vs C13(T)	0.04327	1.000
vs C14(T ²)	1.598013	0.723
vs C18(S ^v)	2.955693	0.040 *
vs C31(M ^b)	3.475192	0.007 **
vs C32(U)	0.354282	1.000
vs C35(D ²)	1.569866	0.745

冠水ストレスに対する細胞質効果を検出!

調査③：種子貯蔵タンパク質

39系統の核細胞質雑種を対象に、全粒粉中の種子貯蔵タンパク質をSDS-PAGE電気泳動法により調査した。

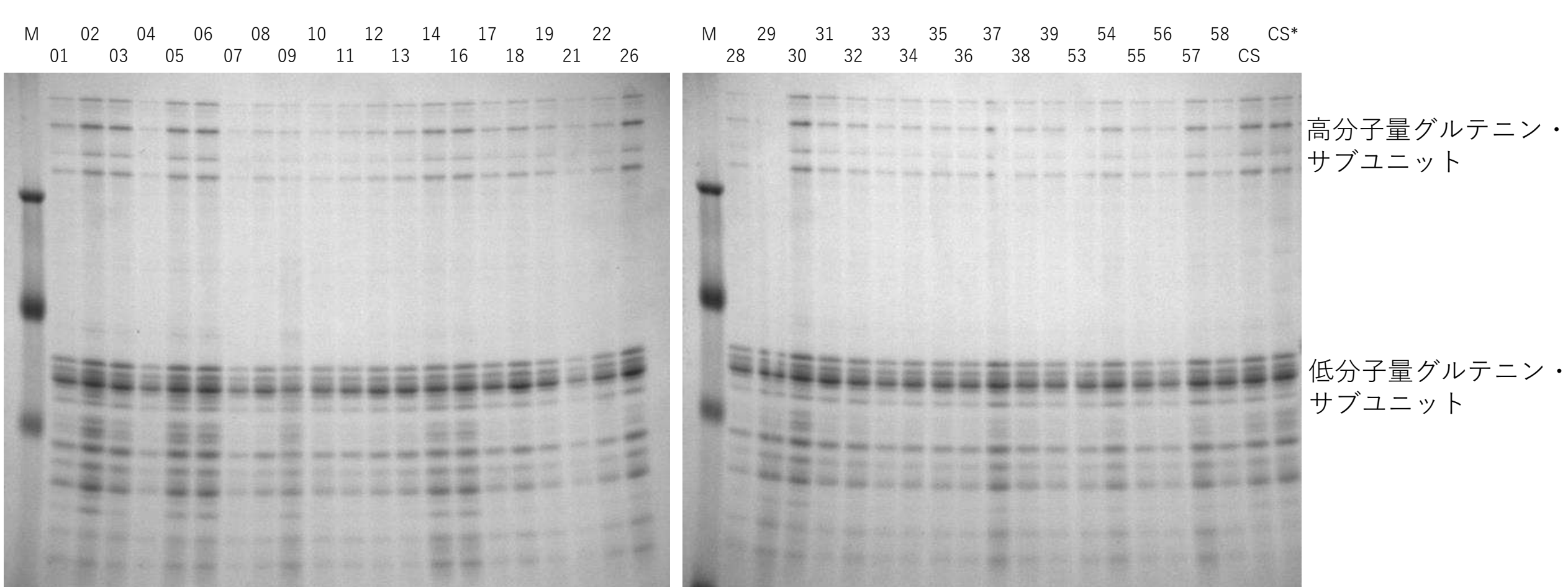


図7 核細胞質雑種のグルテニン画分のSDS-PAGE電気泳動
CS: Chinese Spring(核親系統), CS*: CSのふすま画分

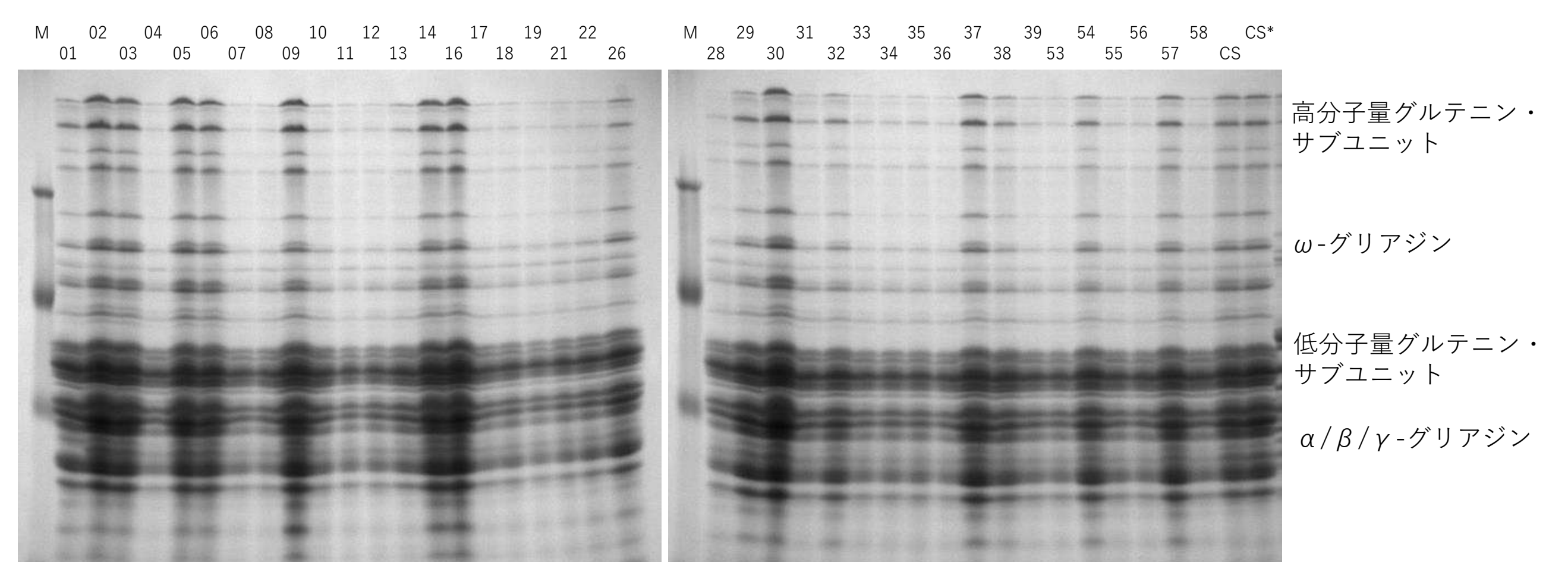


図8 核細胞質雑種のグリアジン画分のSDS-PAGE電気泳動
CS: Chinese Spring(核親系統), CS*: CSのふすま画分

今後の展開

本研究から、パンコムギ核細胞質雑種が様々な形質で多様性を示すことが明らかになった。現在、この多様性の原因と考えられる核細胞質相互作用を明らかにしていくため、RNA-seq法による網羅的な遺伝子発現解析を行っている。