

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2006～2009

課題番号：18380155

研究課題名 (和文) 気候温暖化に耐性をもつ寒地型牧草品種の作出

研究課題名 (英文) Development of tolerant populations to climate warming in cool season grasses

研究代表者

杉山 修一 (SUGIYAMA SHUICHI)

弘前大学・農学生命科学部・教授

研究者番号：00154500

研究分野：農学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学/ 畜産学・草地学

キーワード：寒地型牧草, 温暖化ストレス, ペレニアルライグラス, ヒートショック蛋白質

### 1. 研究計画の概要

日本では1980年から現在まで7～9月の平均気温は毎年0.05℃の割合で上昇しており, このような急速な温暖化は, 寒地型牧草が優占している地域での草地荒廃を生じるものと予想される。本研究は, 寒地型牧草の温暖化に対するストレス反応も生理的メカニズムを解明し, 温暖化に強い牧草品種の育成につなげることを目標にしたものである。

生物は, 高温条件に対して熱ショックタンパク質を産生して高温下でのタンパク質の変成を抑制し, 熱耐性を獲得することが知られている。現在, 熱ショックタンパク質は, 高温ストレス耐性に関与することが知られている唯一のメカニズムである。本研究では, 寒地型牧草の高温耐性に熱ストレスタンパク質の発現がどのように関わっているか, 熱ショックタンパク質の発現変化により温暖化条件下でも衰退しない高温耐性をもつ寒地型牧草品種の育成が可能かどうかを明らかにすることを目的としている。具体的には, 以下の3つの課題を明らかにすることをめざしている。

- (1) C3型牧草種の高温耐性が低い原因を, 生長速度や光合成機能の温度反応の差異と熱ショックタンパク質の発現解析を通じて明らかにすること。
- (2) 遺伝子組換え技術が確立され, ゲノムの塩基配列情報も集積されているペレニアル

ライグラスを材料に, 高温耐性に関する熱ショックタンパク質を同定し, その遺伝子をクローニングすることにより, 遺伝子組換え手法で高温耐性をもつ形質転換植物を育成する可能性を検討する。

### 2. 研究の進捗状況

(1) 主要寒地型牧草 16 種を供試し, 高温ストレス耐性の評価法を確立するため, 40℃条件下で2週間育てた植物の葉のクロロフィル蛍光, イオンの漏出度, 脂質の酸化度 (MAD 法) を測定した。さらに, 高温下での生育に伴う, 過酸化水素の蓄積量, 活性酸素消去酵素のアスコルビン酸パーオキシダーゼ活性 (APX) と小分子熱ショックタンパク質 (smHSP) のウェスタンブロットによる発現解析を行い, 高温ストレス耐性に関与する生理的・分子的メカニズムを明らかにしようと試みた。

(2) 非ストレス環境における種間比較では, 非葉面積 (SLA) が大きい草種ほど損傷の原因となる過酸化水素量が高く, 脂質の酸化度も高い傾向を示した。比葉面積 (SLA) の大きな種は細胞膜の脂質酸化が起こりやすいために熱ストレスに弱いことが明らかにされた。しかし, APX, smHSP の発現だけでは脂質の酸化のされやすさを説明することはできなかった。これは, APX, smHSP 以外のス

トレス耐性遺伝子も大きく関係していることを示唆している。

(3) mRNA の発現のパターンの違いが植物によって異なったことから、ストレス耐性遺伝子の発現戦略自体が植物で異なることが示唆された。

### 3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している  
(理由)

寒地型牧草で発現する熱ショック蛋白質の mRNA の発現解析の手法を確立するとともに葉緑体に移行する小分子 HSP の抗体を作成し、ウエスタンブロッティングを確立した。これらの方法を用い 16 種の寒地型牧草における高温に対するストレス耐性と HSP の関係を解析できた。

### 4. 今後の研究の推進方策

本研究ではヒートショック蛋白質(HSP)の傷害分子修復機能に焦点を当て、ペレニアルライグラスの葉緑体で発現する HSP の改良により、高温耐性作出の可能性を検討した。研究1~2年目に mRNA 解析用のプライマーを設計し、高温での遺伝子発現解析やウエスタンブロッティングによる蛋白質の発現解析を通じて、HSP の発現の高い品種や種は高温耐性にある役割を果たしていることは確認できたが、HSP だけが必ずしも高温耐性をもたらしているわけではないことがわかった。3年目には、研究を高温により発生する活性酸素に対する抵抗性の視野から再構成し、活性酸素の生成量や活性酸素消去系酵素の発現解析などを、活性酸素の生成を抑える視点を含め、研究を行った。高温耐性には、複数の生理因子が複合的に働いていることが分かり、耐性系統作出の方向も、遺伝子組み換えから分子マーカーを利用した QTL の選抜の方向が有効と考えられた。そこで、さらに新しい視点を組み入れて、研究を再構成し新たに研究を申請した。

### 5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 9 件)

- ① Sugiyama S., Hossain M.Z. and Okubo A. The relationships between soil microbial diversity and plant community structure in semi-natural grasslands. *Grassland Science* 55:117-124 (2008) 査読有
- ② Sabreen S. and Sugiyama S. Trade-off between cadmium tolerance and relative growth rate in 10 grass species *Environmental and Experimental Botany* 63: 327-332 (2008) 査読有
- ③ Sabreen S. and Sugiyama S. Cadmium Phytoextraction capacity in eight C3 herbage grass species. *Grassland Science* 54: 27-32 (2008) 査読有
- ④ Sugiyama S. and Shimazaki T. Increased cell wall content and freezing resistance and snow mold resistance during cold acclimation of winter wheat under field conditions. *Plant Production Science* 10: 383-390 (2007) 査読有
- ⑤ Sugiyama S. Responses of shoot growth and survival to water stress gradient in diploid and tetraploid populations of *Lolium multiflorum* and *L. perenne*. *Grassland Science* 52: 155-160. (2006) 査読有

[学会発表] (計 5 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

[その他]