

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 4 日現在

機関番号：15101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04437

研究課題名(和文) 高温耐性育種のためのコムギ野生植物変異の開拓

研究課題名(英文) Gene mining of wheat-related wild species for heat tolerant breeding

研究代表者

辻本 壽 (Tsujiimoto, Hisashi)

鳥取大学・乾燥地研究センター・教授

研究者番号：50183075

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)：申請者は、実用コムギ品種の遺伝的背景に、近縁野生植物タルホコムギの種内変異を包含させた「多重合成コムギ(MSD)集団」を育成した。これを、スーダン農業研究機構の高温ストレス圃場で栽培し、現地の育種家とともに、生育のよい系統を選抜した。これらは、人工気象機内の高温条件でも旺盛な生育をすることを確認した。一方で、MSD集団から400個体を任意に選び、スーダン農業研究機構の3カ所の圃場にて栽培し、農業形質を測定した。また、これら系統を大量のマーカーによりジェノタイプングした。本研究で構築した高温耐性コムギ育種プラットフォームは、今後の高温耐性のマーカー選抜育種および高温耐性機構の解明に有用である。

研究成果の概要(英文)：The applicant produced "Multiple Synthetic Wheat (MSD) Population" which included intraspecific variation of wheat-related wild species, *Aegilops tauschii*, in a practical wheat genetic background. The MSD population was cultivated in the heat-stressed field in Agricultural Research Corporation (ARC) in Sudan, and together with the breeders, plants showing vigorous growth were selected. We confirmed that the heat tolerance of these genotypes even under controlled high temperature condition in chambers. Meanwhile, 400 individuals were randomly selected from the MSD population, cultivated in three sites of ARC, and the agronomical traits were measured. In addition, these lines were genotyped with a large numbers of markers. The high-temperature resistant wheat breeding platform constructed in this study is useful for selection and marker assist selection of high temperature tolerant cultivars and for elucidation of high temperature tolerance mechanism.

研究分野：植物遺伝育種学

キーワード：コムギ 高温障害 地球温暖化 スーダン 野生種 遺伝資源拡大 DArTマーカー GWAS

1. 研究開始当初の背景

(1) 気候変動の中で食料増産が必要:

現在 70 億の人口は、2060 年には 90 数億人になり、今後、少なくとも 1.6 倍の穀物増産が必要であると試算されている。一方、地球の温暖化などの気候変動が顕在化し、この状況下でいかに食料生産を行うかが大問題である。

ところで、過去 50 年間を見ると、人口は 2.3 倍に増加したが、穀物生産は 2.7 倍になり、人類は必要な食糧を確保することに成功した。この背景には、「緑の革命」、つまり農業技術の革新があり、育種分野では、水や肥料等の投入に対して反応性の良い半矮性品種の開発が貢献した。しかし、近年、穀物生産増の鈍化が顕著であり、既存の技術や材料（遺伝子）のみでは、2060 年に必要な穀物生産が不可能であると考えられている。「第二の緑の革命」を起こし、必要な穀物を生産するための新技術や新規遺伝子の探索が急務である。

(2) 申請者のこれまでの研究活動:

これまで申請者は、野生植物の染色体をコムギに導入し、コムギの変異を大幅に拡大させる研究を行ってきた。現在までに得られた系統の中には、リン酸吸収効率の高い系統、アルミニウム毒性に抵抗性を示す系統、土壌中の硝化細菌の増殖を抑え窒素肥料利用効率を高める系統、小麦粉中の栄養価や品質を高める系統があり、それらの中には、国際農業機関である CIMMYT (国際トウモロコシ・コムギ改良センター)、中国科学院、農林水産省のプロジェクトとして利用された系統も含まれる。最近では、野生植物染色体添加系統 (13 系統) をアフリカの高温暖条件下およびグロースチャンパーで栽培し、収量および生化学的な調査を行った。その結果、高温耐性と TTC 試験に高い相関があり、また、HSI (高温耐性指数) として、高温耐性を数値化できることを示した。

(3) 着想に至った経緯:

上述のように、野生植物は有用なコムギ育種の遺伝資源であるが、染色体保有系統を育成するには多大な労力がかかる。そこで、申請者は、コムギと共通ゲノムをもち変異の大きい「一次合成コムギ」43 系統にパンコムギ実用品種「小麦農林 61 号」を交配し、それらの F₁ 雑種に、さらに、「小麦農林 61 号」を戻し交配した種子を混合することによって、「多重合成コムギ派生 (MSD) 集団」を育成した (図 1)。ところで、合成コムギとは、マカロニコムギと野生種タルホコムギとの複二倍体

であり、この研究で使った 43 系統の一次合成コムギの親は、タルホコムギの自然分布域の様々な地点より採集したものである (図 2)。この MSD 集団を 2013 年、スーダン・農業研究機構の高温暖条件下で栽培したところ、枯死するものが多かったが、中に、葉が緑色を保ち、充実した種子をつけるものが出現した (図 3)。このような性質を示す個体を 10 選び、高温耐性系統とした。さらに、日本およびスーダンにおいて選抜せずバルクで維持した MSD 集団を作った。

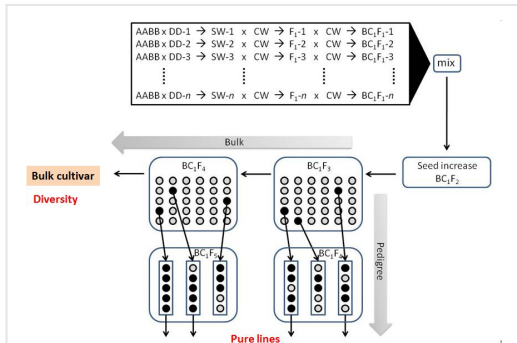


図 1 MSD 集団の育成系譜。野生植物の多様性を含む集団として維持し、目的に応じて選抜して系統とする。

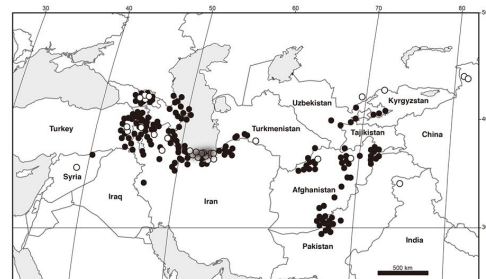


図 2 タルホコムギの分布域 (白丸: 本研究で使用する系統)



図 3 スーダンで栽培した MSD 集団。緑葉を保つものを選抜した

(4) 学術的特色・独創性、予想される結果と意義と波及効果:

高温耐性育種は、コムギの遺伝子プール内に効果の高い遺伝子がないため困難だとされてきた。しかし、タルホコムギの遺伝子を導入したコムギ集団の中に有望系統が見いだされた。その遺伝学的お

よび生理学的研究は、コムギの高温耐性に関する学術的特色・独創性が高く、得られる系統は育種素材として有用である。具体的には、以下の通りである。実験材料（野生種の種内変異を含むユニークな MSD 集団）

タルホコムギはパンコムギ近縁野生種であり、シリアから中国までに分布し（図 2）、乾燥や高温に強い。本研究で用いる植物材料は、申請者が開発した「多重合成コムギ(MSD)集団」である（図 1）。MSD 集団のように野生植物の種内変異の多くを丸ごと導入した集団は存在せず、独自の実験材料である。また、MSD 集団の各個体の 75%は「小麦農林 61 号」の遺伝子であるため、形質が互いに類似し、受容親との比較により選抜が確実にできる。

実験環境（スーダンの圃場で研究）

本研究は、スーダンの圃場と日本のグロースチャンパー内で行う。これにより、実際の圃場で使える選抜指標（評価法）の開発や選抜マーカーを選抜できる。鳥取大学と学术交流協定を結んでいる、スーダン国立農業研究機構の圃場を利用できる。

実験方法（Genotyping-by-Sequencing (GBS)法による効率的解析）

選抜系統や MSD 集団の遺伝的解析には、GBS 法を用いるが、本法はコムギにおいて確立されている手法であり、効率よく大量のマーカーを解析できる方法である。この解析には、オーストラリアの DArT 社の受託により行う。一方、高温条件下での植物の反応は、温度・湿度を正確に制御できるグロースチャンパー（砂漠シミュレータ）を用い、乾燥地研究センターにある、光合成測定装置等の専門機器を利用して解析する。

2. 研究の目的

本研究は、近縁野生植物の未利用遺伝資源を活用して、高温耐性に優れたコムギ系統を育種するための基礎と応用を結ぶ研究である。申請者は、実用コムギ品種の遺伝的背景に、近縁野生植物タルホコムギの種内変異を包含させた「多重合成コムギ(MSD)集団」を育成した。MSD 集団中の個体は遺伝的にきわめて多様であるが、互いに類似した形態を示し、受容親との比較により、形質を精密に選抜できる特長がある。この MSD 集団をスーダンで栽培し、高温条件下で成長が良く、緑葉を長く保つことのできる個体を選抜し系統化した。本研究は、日本で栽培した集団、スーダンの高温条件下で栽培した集団、そして選抜した高温耐性系統を次世代シーケンサーを活用した Genotyping-by-Sequencing (GBS)法で遺伝解析し、高温耐性に関与する染色体領域を解明する。

3. 研究の方法

ジェノタイピングとフェノタイピングを組み合わせるにより、高温耐性に関与する染色体領域を同定する。ジェノタイピングは GBS 法によって行い、高温耐性選抜系統のグラフィカルジェノタイプ、および MSD 集団の遺伝子頻度の遺伝的浮動から、関与染色体領域を解明する。一方、フェノタイピングは、スーダンの圃場および日本でのグロースチャンパーで行う。スーダンでは、一般的な農業形質と葉緑素の測定を、日本では高温条件下でおこる詳細な生理生態反応を調査する。既に、今回とは異なる材料を用いた実験で、現地圃場での高温耐性とグロースチャンパーでの幼苗期の TTC 解析の結果とが高い相関を示すことを見いだしているため、本研究においても、その有効性を調査する。

(1)実験材料

一次合成コムギ 43 系統

マカロニココムギ品種「Langdon」にタルホコムギ 43 系統を交配し、染色体倍加させた複二倍体。

多重合成コムギ派生集団（MSD 集団）

一次合成コムギ 43 系統と「小麦農林 61 号」を交配した F₁ 雑種を、「小麦農林 61 号」を戻し交配した BC₁F₁ 各系統の各系統 10 個体から得た種子を 10 粒ずつ混合して MSD 集団(BC₁F₂)とした（合計 4300 個体）。これを、スーダンと日本の圃場に個体植えし、有望個体を選抜すると共に、バルク種子を収穫し、MSD 集団(BC₁F₃)としたもの。

高温耐性選抜系統

スーダンで栽培した MSD 集団から、高温条件下でも緑葉を保ち成長した 10 個体を、申請者と農業研究機構 Izzat Tahir 博士が調査し、選抜して自殖させた系統。

MSD 系統

MSD 集団からランダムに 400 個体を選びこれを MSD 系統として、個別に系統保存している系統。

(2)実験方法

MSD 系統のジェノタイピング

一次合成コムギ 43 系統、戻し交配に使った「小麦農林 61 号」、MSD 集団からスーダンで高温耐性として選抜した系統およびランダムに選んだ 400 の MSD 系統から、CTAB 法により DNA を抽出し、Diversity Arrays Technology 社（オーストラリア）に送付し、GBS を基盤とした DArT マーカーによりジェノタイピングの受託解析を行った。

MSD 系統のフェノタイピング

一次合成コムギ 43 系統および「小麦農林 61 号」、高温耐性系統および MSD 系統を乾燥地研究センターおよびスーダン農業

研究機構の3カ所の試験地(ワドメダニ本部、フダイバ試験場、ドンゴラ試験場)にて栽培し、さらに、ワドメダニでは、通常播種に加え、播種期を遅らせ、登熟期に高温ストレスが強くなる実験区画を作り、形質調査した。形質は、出穂日、バイオマス、キャノピー温度、収量関連形質を調査した。

人工気象機による生理応答解析

スーダンワドメダニと類似した気温を乾燥地研究センターの砂漠シミュレータに作り、農業形質の他、光合成速度、気孔コンダクタンス等の生理応答形質を調査した。

4. 研究成果

本科研費による研究成果は、後述する3報の論文において、公開した。それらの内容は次の通りである。

(1)多重合成コムギ派生系統：高温ストレス耐性適応形質のための新しい遺伝資源(論文)

高温ストレスはコムギ生産に有害である。本研究は多重合成コムギ派生(MSD)集団から高温耐性植物を選抜し、その農業および生理学的特性を評価することを目的として行った。まず「小麦農林61号」(N61)を遺伝的背景に持つ集団から6種類の耐性植物を選抜し、6種類のMNH(N61のMSD集団から高温耐性として選抜した)系統を立てた。これらの系統をN61とともに圃場および砂漠シミュレータにおいて栽培した。圃場においては高温の暴露を確実にするため適期播種および遅延播種を行った。砂漠シミュレータにおいては、N61に加え高温耐性品種である「Gelenson」と「Bacanora」を対照として用いた。その結果、MNH2とMNH5が高温耐性を獲得していることを確認した。これらの系統はN61に比較して、高温ストレス下でより高い光合成と気孔コンダクタンスを示し、バイオマスおよび穀粒の収量の減少が見られなかった。また、N61が比較的高温ストレスに適応性をもつことにも気付いた。この結果はタルホコムギの多様性を含むMSD集団が、野生植物に由来する有用な形質を見出すための有望な資源であることを物語っていた。選抜した系統は高温耐性育種のための有用な系統となる。

(2)多重合成コムギ派生集団における高温耐性関連形質の遺伝的変異(論文)

登熟中の高温($\geq 30^{\circ}\text{C}$)は、コムギ(*Triticum aestivum* L.)の穀物収量に大幅な減少を及ぼす。私達は、高温ストレスに関連した形質の遺伝的変異を調べ、コムギの育種に利用できる新たな高温耐性遺伝資源を見出すため、400の多重合成コムギ派生(MSD)系統を研究した。実験はスーダンの4環境にお

いて、拡張完全乱塊法で行った。その結果、すべての環境における大部分の形質に大きい遺伝的変異が見られた。また、調査したすべての形質について、これらの親系統である「農林61号」やスーダンの環境に適応している2品種より、優れた成績を示す系統を見出すことができた。高温耐性指数の値から、高度な高温耐性を示す13系統、および中度な高温耐性と優れた収量ポテンシャルを併せもついくつかの系統を見出した。また、コムギの収量ポテンシャルを増加させるアレルを同定することもできた。これらの研究から、MSD集団の利用は、タルホコムギの遺伝的変異からコムギ育種に利用できる遺伝子を発掘するために効果的な方法であることが明らかとなった。

(3)コムギの多重合成コムギ派生系統の集団：コムギ改良のためのタルホコムギの遺伝的多様性を活用するための効果的なプラットフォーム(論文)

野生植物から遺伝子を導入することは、遺伝的多様性を増加させ、コムギ改良のために、新しいアレルを見いだすために最も適した方法である。二倍性祖先種タルホコムギ43系統の染色体断片を交配によってパンコムギ「農林61号」に導入した系統を開発し、これを、合成コムギ派生(MSD)集団と命名した。この集団のコムギ育種および遺伝学研究への有効性を明らかにするため、この集団から400個体をランダムに選び、「MSD系統」を育成した。これをDArTマーカーでジェノタイプングを行った。一方で、これらの系統を栽培し、穂色およびスーダンでの出穂日のフェノタイプングを行った。この研究によって、この集団が高い多様性を保持する一方で、組換えが抑制されていることが明らかになった。ゲノムワイド・アソシエーション解析によって1D染色体に穂色の遺伝子が、2A、2B、2D染色体の短腕と5A、5D染色体の長腕にQTLが座乗することを明らかにし、このことは、タルホコムギ系統に多様性があることを示すものであった。この系統は、乾燥や高温、塩害耐性の研究に重要である。

5. 主な発表論文等

(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3件)

Gorafi YSA, Kim J-S, Elbashir AAE, Tsujimoto H (2018) A population of wheat multiple synthetic derivatives: an effective platform to explore, harness and utilize genetic diversity of *Aegilops tauschii* for wheat improvement. Theoretical and Applied Genetic, DOI:

10.1007/s00122-018-3102-x (オンライン
早期公開、査読有り)

Elbashir AAE, Gorafi YSA, Tahir ISA,
Elhashimi AMA, Abdalla MGA, Tsujimoto H (2017) Genetic variation in
heat tolerance-related traits in a population
of wheat multiple synthetic derivatives,
Breeding Science 67:483-492. DOI:
10.1270/jsbbs.17048 (査読有り)

Elbashir AAE, Gorafi YSA, Tahir ISA,
Kim J-S, Tsujimoto H (2017) Wheat
multiple synthetic derivatives: a new
source for heat stress tolerance adaptive
traits. Breeding Science 67:248-256. DOI:
10.1270/jsbbs.16204 (査読有り)

〔学会発表〕(計 12 件)

Tsujimoto H (2018) Wild gene mining for
sustainable wheat production under
changing climate. 11th International
Symposium Exploring the Global
Sustainability. Kobe, Japan

Awad AEE, Gorafi YSA, Tahir ISA,
Elhashimi, AMA, Abdalla MGA, Tsujimoto
H (2017) Multiple synthetic derivatives
population: a new source to identify heat
stress tolerance traits in bread wheat. The
13th International Wheat Genetics
Symposium, Vienna, Austria

Mohamed M, Mustafa H, Idris A, Tahir I,
Tsujimoto H (2017) Genetic variation of
heat stress tolerance related traits in durum
wheat. 日本育種学会第 131 回講演会、名
古屋、日本

Elbashir A, Gorafi Y, Tahir I, Elhashimi A,
Abdalla M, Tsujimoto H (2017): Genetic
variation of heat tolerance related traits in
multiple synthetic derivative population. 日
本育種学会第 131 回講演会、名古屋、日
本

Elbashir AAE, Gorafi YSA, Tahir ISA,
Elhashimi AMA, Abdalla MGA, Tsujimoto
H (2016) MSD population: New source of
heat tolerance of wheat in high-temperature
environments. 第 11 回ムギ類研究会、倉
敷、日本

Tsujimoto H (2016) Mining of useful genes
of wild species for sustainable wheat
production. International Conference on
Genomics and Translational Research in
Crop Improvement. Meerut, India

Elbashir AAE, Gorafi YSA, Kim J-K, Tahir
ISA, Elhashimi A, Abdeldaim M, Tsujimoto
H (2016) Genome wide association study of
grain yield and related traits in MSD
population under heat stress environments.
日本育種学会第 130 回講演会、鳥取、日
本

辻本壽 (2016) 地球環境、食料生産、今
世界で起こっていること。日本育種学会
公開シンポジウム、鳥取

Tsujimoto H (2016) Exploitation of useful
genes in wheat-wild species for sustainable
agriculture in dry areas to achieve SDGs.
12th International Dryland Development
Conference. Alexandria, Egypt

Elbashir AAE, Gorafi YSA, Kim J-K, Tahir
ISA, Elhashimi A, Abdeldaim M, Tsujimoto
H (2016) Genome wide association study of
grain yield and related traits in bread wheat
of MSD population under heat stress
environments. 12th International Dryland
Development Conference. Alexandria,
Egypt

辻本壽(2016)異種遺伝資源によるコムギ
育種技術の開発と応用。日本育種学会受
賞講演。横浜、日本

Elbashir A, Gorafi Y, Kim J, Tsujimoto H
(2016): Genome wide association study of
heat tolerance in MSD population. 第 129 回
日本育種学会講演会、横浜、日本

〔図書〕(計 1 件)

辻本壽・明石欣也(2017)育種による乾燥
関連ストレス耐性作物の作出。アグリバ
イオ特集「乾燥地を救う農業技術」、北隆
館、7 ページ

6. 研究組織

(1) 研究代表者

辻本 壽 (TSUJIMOTO, Hisashi)
鳥取大学・乾燥地研究センター・教授
研究者番号：5 0 1 8 3 0 7 5

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

松岡 由浩 (MATSUOKA, Yoshihiro)
福井県立大学・生物資源学部・准教授
研究者番号：8 0 2 6 4 6 8 8

エリタエブ アミン (ELTAYEB H, Amin E)
鳥取大学・乾燥地研究センター・助教
研究者番号：0 0 6 2 4 5 8 7

岡本 昌憲 (OKAMOTO, Masanori)
宇都宮大学・バオサイエンス教育研究セン
ター・助教
研究者番号：5 0 4 5 5 3 3 3

(4) 研究協力者

タヘル イザット (TAHIR, Izzat)
ヤシル ゴラフィ (GORAFI Yasir)
エルバシル アワド (ELBASIR Awad)