

令和 4 年 11 月 8 日現在

機関番号：15101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02179

研究課題名(和文) 高温耐性コムギ系統のQTL解析と選抜マーカーの開発

研究課題名(英文) QTL analysis of high-temperature tolerant wheat lines and development of selection markers

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：50183075

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、近縁野生種タルホコムギの多様性を実用コムギ品種に導入した多様性系統群から選抜した高温耐性系統の遺伝様式を解明し、分子機構を解明することである。そのために、スーダンの高温圃場で選抜した高温耐性系統と通常系統の戻し交配組換え近交系統群(BILs)を開発し、遺伝および形質データから高温耐性に関する農業形質、種子形質および高温応答分子マーカーを同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

増加する世界人口に対して必要とされる食糧を生産することは、人類社会の発展と安定のための大きい課題である。コムギはイネとともに世界でもっとも重要な穀物であるが、高温に弱く、今後の地球温暖化の環境下で収量が減少すると予想される。本研究では近縁野生種の多様性を実用パンコムギ品種に導入した系統群から選抜された高温耐性系統の量的遺伝子座を解明し、マーカー選抜育種法によって確実に選抜できる方法を開発した。

研究成果の概要(英文)：The objective of this study was to elucidate the genetic behavior and the molecular mechanism of high temperature tolerance lines selected from a group of diversity lines introduced into practical wheat varieties from the diversity of a related wild species, *Aegilops tauschii*. For this purpose, backcrossing recombinant inbred lines (BILs) between high temperature tolerant lines selected in the high-temperature stressed field in Sudan and normal lines were developed and the agronomic traits related to high temperature tolerance and seed traits were analyzed. Also, molecular markers of high temperature response were identified.

研究分野：植物遺伝育種学

キーワード：パンコムギ 高温耐性 乾燥耐性 タルホコムギ 遺伝資源拡大 ストレス耐性 QTL解析 MSD系統

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

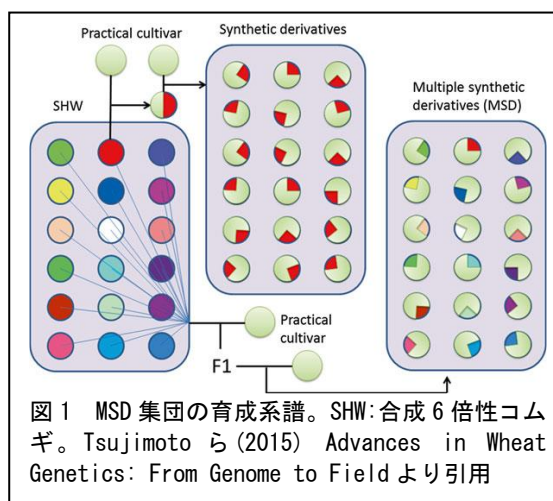
人口は2060年には90数億人になると予想され、2010年～2060年の間に、少なくとも1.6倍の穀物増産が必要であると試算されている。一方で気候変動が顕在化し、この状況下で食糧生産を持続的に行う事は人類が直面する大きい課題である。

必要量の穀物量に達成するためには、収量を毎年1.2%増加させなければならない。しかし、コムギは近年、年間収量増が鈍化し1%以下である。地球気温が1℃上昇するとコムギは7%減収になると予想されており、その一方で、生活様式の変化により人口が今後急増する地域では、従来の雑穀食からコムギ食への転換が進み、需要が増えている。

世界的に見れば、高温耐性はコムギにとって最も必要とされる形質である。また、高温と干ばつは同時に発生することが多く、高温・乾燥複合耐性は、より現場を反映した形質である。しかし、現在、育種に用いられているジープールには有効な高温耐性や高温・乾燥複合耐性の遺伝子がなく、異種植物の遺伝資源から新たな変異を見出すことが求められる。

2. 研究の目的

これまでに、研究代表者らは、パンコムギ (*Triticum aestivum*) 品種「農林61号」に、近縁の野生種、タルホコムギ (*Aegilops tauschii*) とマカロニココムギを交配して育成された、合成6倍性コムギを交配し、タルホコムギの多様性を「農林61号」の遺伝的背景に導入した多重合成コムギ派生 (MSD) 集団を開発した (図1)。本研究は、この集団に由来する系統を用い、高温や高温・乾燥複合ストレスに対する耐性形質を、遺伝学的に分析し、マーカー選抜育種により、確実に耐性選抜育種を可能にするために行う。また、研究で得られた成果を確実に育種に利用できるようにするため、これらの系統を、日本の圃場だけでなく、スーダン農業研究機構の協力を得て、高温ストレス条件下で栽培し、そこで得られた植物や穀粒を材料にして、そのストレス耐性を、遺伝学的、生理学および分子生物学的に分析し、コムギの高温および高温・乾燥複合耐性の科学的基盤を構築することを目的として行った。



3. 研究の方法

植物材料: 本研究で用いた系統は、MSD集団から任意に選抜して系統化した400系統 (MSD系統) を元系統とし、研究に応じて、その中から選抜した「農林61号」に形質の似た系統である。また、MSD系統を開発する過程で取り置いていた、合成6倍性コムギと「農林61号」の戻し交配植物に由来する組換え近交系統群 (backcrossed recombinant inbred lines, BILs) を世代促進法で開発し、これら系統も研究に用いた。対照として「農林61号」および複数のスーダンの実用品種「Imam」を用いた。

植物栽培: 植物材料をスーダン農業研究機構 (ARC) の高温ストレス実験圃場および鳥取大学乾燥地研究センター実験圃場で栽培した。また、ARCでは、通常の栽培以外に、高温ストレスを強くかけるために、播種時期を遅らせ、最も高温感受性の高い登熟機に高温を暴露する試験区を作った。さらに、灌漑の頻度を減少させ、高温と乾燥を同時に与える試験区も設定した。これらの圃場に、MSD系統を栽培し、基本的な農業形質および生理形質を調査した。一方、圃場栽培以外に、鳥取において、ビニールハウスやガラス室で人工的に高温乾燥条件にした試験区、および人工気象機で正確に温度と乾燥条件を設定した区を設けて、研究に応じて利用した。

調査方法: 植物の調査項目は圃場では、到穂日数、登熟日数、草丈、バイオマス、平米あたり穂数、穂あたり穀粒数、千粒重、収穫指数を調査し、実験に応じて、葉の温度、葉緑素量、土地被覆率、NDVIを調査した。また、穀粒の形質である、子実重、種子の直径、硬度を、西日本農業研究センターの協力を得て、SKCS測定器を用いて調査した。さらに、穀粒は半切し断面を走査型電子顕微鏡によって観察した。また、植物のメタボローム解析は、人工気象器で栽培した植物の様々な生育ステージのサンプルから、LC-MS/MSを用いて行い、含有元素量は、ICP-MS/MSで、炭素安定同位対比は、IR-MSを用いて行った。これらの分析機器は、鳥取大学乾燥地研究センターの物を用いた。

遺伝子分析とゲノムワイド関連解析：MSD 系統は、400 系統すべてについて、ゲノムワイドな DArT マーカーでジェノタイピングを行った。一方、BILs は、ゲノム全体に均一に分布する GRAS-Di マーカーでジェノタイピングを行った。これらジェノタイピングデータと形質評価（フェノタイピング）データをソフトウェア TASSEL ver. 5 に入力し、表現型に連鎖するマーカーを同定した。

4. 研究成果

(1) 圃場環境下でのパンコムギの高温耐性および高温乾燥複合耐性に関するゲノムワイド解析

タルホコムギの導入遺伝子を含むコムギの多様性パネル (MSD 系統) の農業形質をスーダンの高温乾燥複合ストレス下で評価し、複合ストレスへの耐性に関連する量的遺伝子 (QTL) を同定した。その結果、種子収量、穂あたり粒数、千粒重の QTL が、3D、5D、7A 染色体上に座乗し、また種子収量のみを支配する QTL が 3D 染色体上に同定された (図 2)。この QTL は、種子収量の安定性に関与し、変異の 20.3% の寄与を説明した。さらに、葉緑素量、植生指標、炭素安定同位対比など葉に関する形質は、2D、3D、5D 染色体上の 5 つの QTL によって制御されており、そのうちのいくつかは種子収量や関連形質に対して多面的発現を示した。ほとんどの QTL は D ゲノムに見られ、タルホコムギの多様性をコムギの育種に利用できる可能性が示された。さらに解析を進めると、高温や高温・乾燥複合耐性形質の QTL の原因遺伝子と思われる、遺伝子を見つけることができた。検証は必要であるものの、これらは、調査したストレスに対する耐性に寄与する原因遺伝子である可能性が高い。この領域の多型を判別する PCR マーカーを作成し BIL を用いて、有効性の調査を行っている (論文投稿中)。

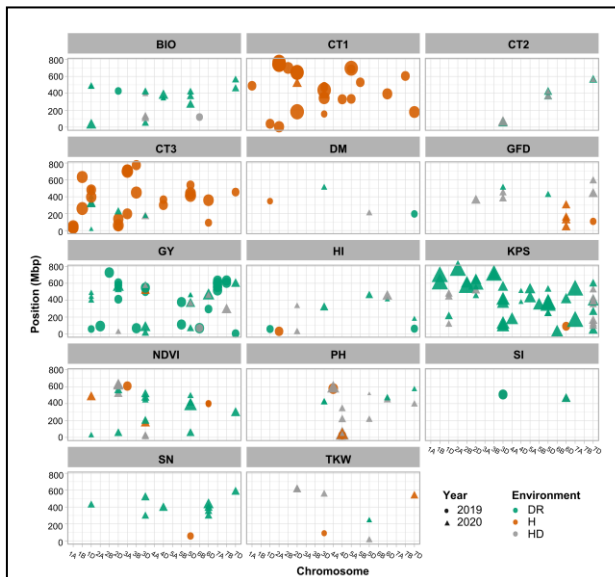


図 2 高温 (H) および高温乾燥複合 (HD) および乾燥 (D) ストレス条件下で検出される形質に連鎖するマーカーの分布。横軸：染色体、縦軸：染色体の物理的位置。BIO: バイオマス、CT1~CT3: 異なる生育時期の葉の温度、DM: 到穂日数、GFD: 登熟日数、GY: 穀粒収量、HI: 収穫指数、KPS: 穂あたり穀粒数、NDVI: 植生指標、PH: 草丈、SI 穀粒収量安定性、SN: 1 平米あたり穂数、TKW: 千粒重 (投稿中論文より掲載)

(2) 高温ストレスおよび高温・乾燥複合ストレス下に置けるタルホコムギのコムギ穀粒重量および穀粒形質関連系統の解析

本研究では、160 の MSD 系統からなるパネルを用いてゲノムワイド関連分析を行い、高温および高温・乾燥複合ストレスが穀粒重量および形状関連形質に及ぼす影響を調査した。その結果、ストレス条件下での収量増加に有効な穀粒重量および形状関連形質に作用する遺伝子座を見出すことができた。また、系統 MSD187 は、最適条件とストレス条件の両方で良好な成績を示す系統であることが明らかになった (図 3)。このマーカーは、タルホコムギに由来する RING 型 E3 ユビキチン-プロテインリガーゼをコードする候補遺伝子に関連するものであり、ストレス条件下での穀粒の大きさの増加、さらには収量の増加に寄与する。耐性系統である MSD187 はこのマーカーの対立遺伝子をもっていた。(Elhadhi ら International Journal of Molecular Sciences 22:1830, 2021a)

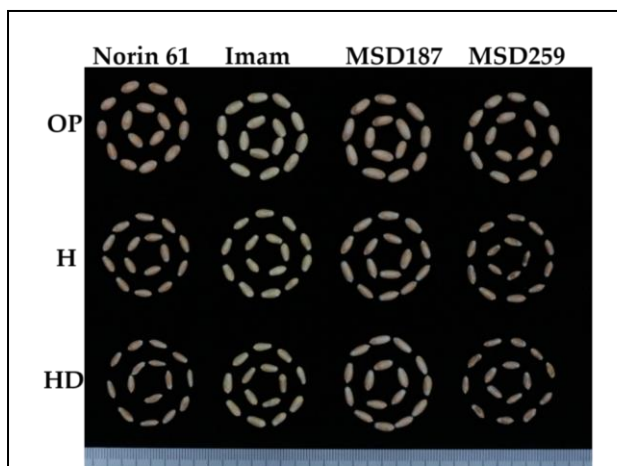
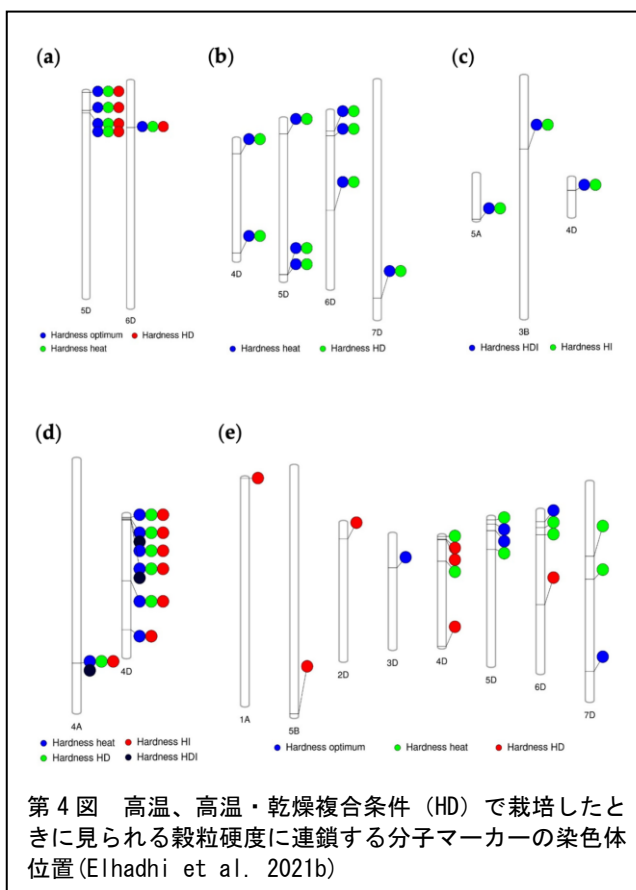


図 3 高温 (H) および高温乾燥複合 (HD) 条件下で栽培した農林 61 号、スーダンの実用コムギ品種「Imam」および、MSD 系統から選抜した高温耐性系統 MSD187 および感受性系統 MSD259 の穀粒の形状。OP: 日本の適正温度で得られた穀粒 (Elhadhi et al. 2021a)

(3) タルホコムギの多様性を持つコムギにおいて高温および高温・乾燥複合条件に応答し穀粒の硬度を変化させる新規遺伝子座の解析

この研究では、高温と高温乾燥複合ストレスが穀粒の硬度に与える影響を調査した。日本の最適条件、スーダンの高温および高温・乾燥複合条件で、硬度に関与する遺伝子座を特定し、硬度の安定化とストレス耐性との関連性を調べることを目的とした。その結果、穀粒重量の減少が少ないほど、穀粒硬度の変化が少なく安定していることが確認された。また、4D染色体にストレス下での穀粒硬度との有意な連鎖マーカーを見出し、さらにストレス下での硬度の変化に関連するいくつかの候補遺伝子を解析した。スーダンの高温乾燥複合ストレス条件で栽培した形質を DArT マーカーの多型と比較することにより、種子収量、穂あたり種子数、千粒重に連鎖する QTL を 2 つの染色体上に検出することができ、種子収量のみを支配する QTL を 1 つの染色体に同定した。この QTL は量的遺伝子としては寄与率が高く、耐性選抜マーカーとして利用できることが明らかとなった。さらに、葉の温度、植生指数、炭素安定同位対比など、葉に関する形質に関しては 5 つの QTL が見られた。これらの、位置に座乗し、候補遺伝子となると考えられる遺伝子を見いだすことができた。種子の硬度については、5D 染色体短腕末端に存在する既知のピューロインドリン遺伝子 *Pina* および *Pinb* 以外に、4D 染色体に、新たな遺伝子座を見だし、この候補遺伝子を推定した。(Elhadhi ら *Agronomy* 11:1061, 2021b)



第 4 図 高温、高温・乾燥複合条件 (HD) で栽培したときに見られる穀粒硬度に連鎖する分子マーカーの染色体位置 (Elhadhi et al. 2021b)

(4) 高温耐性に関わる育種選抜のためのバイオマーカーの同定

高温応答性のバイオマーカーに関する研究では、人工気象器を用い、「農林 61 号」に対し、植物生育の異なる時期に高温 (38°C) を与え、農業形質を測定するとともに、LC-MS/MS により、二次代謝物を調査した。その結果、高温を照射する時期特異的応答が見られ、幼苗期での高温暴露は登熟期間を延ばし、千粒重を増加させるなど、種子収量を高める作用のある事を見いだした。このことより、現在の慣行栽培より播種時期を早めることにより、高温ストレスから回避できる可能性のある事を見いだした (論文投稿中)。

以上の研究より、高温耐性および高温・乾燥複合耐性に関与するゲノム領域およびこれらの形質に関与する可能性のある遺伝子の候補を同定することができた。これら遺伝的基礎をさらに確固とするために、BIL をスーダンの高温圃場で栽培し、一年目の農業形質を調査した。二年目の農業形質のデータを待って、この領域の有効性を明らかにするとともに、この QTL を保有する系統に「農林 61 号」を戻し交配をし、マイ世代、マーカーで選抜することにより QTL の存在を確認し、準同質遺伝子系統の開発を行う事を目指している。この系統は、複雑であった高温耐性の分子機構を解明するだけでなく、育種素材としても重要となる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Itam Michael, Abdelrahman Mostafa, Yamasaki Yuji, Mega Ryosuke, Gorafi Yasir, Akashi Kinya, Tsujimoto Hisashi	4. 巻 10
2. 論文標題 Aegilops tauschii Introgressions Improve Physio-Biochemical Traits and Metabolite Plasticity in Bread Wheat under Drought Stress	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Agronomy	6. 最初と最後の頁 1588 ~ 1588
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/agronomy10101588	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 該当する

1. 著者名 Elhadi Gamila Mohamed Idris, Kamal Nasrein Mohamed, Gorafi Yasir Serag Alnor, Yamasaki Yuji, Ban Yusuke, Kato Keita, Tahir Izzat Sidahmed Ali, Ishii Takayoshi, Tanaka Hiroyuki, Tsujimoto Hisashi	4. 巻 11
2. 論文標題 Novel Loci for Kernel Hardness Appeared as a Response to Heat and Combined Heat-Drought Conditions in Wheat Harboring Aegilops tauschii Diversity	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Agronomy	6. 最初と最後の頁 1061 ~ 1061
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/agronomy11061061	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 該当する

1. 著者名 Elhadi Gamila Mohamed Idris, Kamal Nasrein Mohamed, Gorafi Yasir Serag Alnor, Yamasaki Yuji, Takata Kanenori, Tahir Izzat S. A., Itam Michel O., Tanaka Hiroyuki, Tsujimoto Hisashi	4. 巻 22
2. 論文標題 Exploitation of Tolerance of Wheat Kernel Weight and Shape-Related Traits from Aegilops tauschii under Heat and Combined Heat-Drought Stresses	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 1830 ~ 1830
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22041830	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 該当する

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 5件/うち国際学会 5件）

1. 発表者名 Tsujimoto, H.
2. 発表標題 Can we find abiotic stress tolerance in wheat related-wild species? - Experiences and lessons learned in pre-breeding of wheat with drought and heat stress tolerance.
3. 学会等名 The 1st International Expert Workshop on Pre-breeding Utilizing Crop Wild Relatives (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tahir, I.S.A., Meheesi, S. E. M, Mohammed, I. E. S, Gorafi, Y. S. A., Tsujimoto, H., Tadesse, W., Bassi, F. M. B., and Amiri, A.
2. 発表標題 Wheat improvement for heat prone agro-ecologies of Sudan and Sub-Saharan Africa: Breeding and Pre-breeding approaches for climate change resilient varieties.
3. 学会等名 The 1st International Expert Workshop on Pre-breeding Utilizing Crop Wild Relatives (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tsujimoto, H., Gorafi, Y. S. A., Tahir, I. S. A.
2. 発表標題 Extensive wheat germplasm enhancement to secure food under climate change
3. 学会等名 International Conference of Plant Chromosome Engineering and Functional Genomics for Breeding 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tsujimoto, H.
2. 発表標題 Innovative wheat breeding technology using novel genetic resources of related wild species
3. 学会等名 Multi-stakeholder Forum: Turning Agricultural and Environmental Challenges into Opportunities for Investment and Innovation in the Aral Sea Basin (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tsujimoto, H.
2. 発表標題 Mining wild genes/traits for wheat improvement in sustainable agriculture under climate change
3. 学会等名 Cereal Endophyte Workshop (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 M. Itam, Y. Gorafi, T. Izzat, H. Tsujimoto
2. 発表標題 Physio-agronomic and metabolite profiling reveal the role of Aegilops tauschii introgressions in wheat lines under drought stress
3. 学会等名 第15回ムギ類研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松永幸子、山崎裕司、妻鹿良亮、辻本壽
2. 発表標題 パンコムギの生育ステージ特異的高温ストレス応答：幼苗期のストレス応答は登熟期まで続く
3. 学会等名 日本育種学会第137回講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松永幸子、アリザメグミ、山崎裕司、明石欣也、辻本壽
2. 発表標題 生育時の高温処理がパンコムギの高温発芽能力と脂肪酸組成に及ぼす影響
3. 学会等名 第12回中国地域育種談話会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 塚田美彩子、辻本壽
2. 発表標題 パンコムギの高温発芽能力に及ぼす遺伝子および環境の影響
3. 学会等名 第12回中国地域育種学談話会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松永幸子、戸田悠介、妻鹿良亮、山崎裕司、辻本壽
2. 発表標題 多様な高温環境に適応するバンコムギ系統の選抜に向けたマルチオミクス解析
3. 学会等名 第139回日本育種学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Itam, M., Gorafi1, Y., Tahir, I., Tsujimoto, H.
2. 発表標題 QTL hotspots for combined heat and drought stress resilience in bread wheat grown in Sudanese field
3. 学会等名 第139回日本育種学会講演会
4. 発表年 2020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
研究協力者	妻鹿 良亮 (MEGA Ryosuke) (80738526)	山口大学・農学部・助教 (15501)	
研究協力者	山崎 裕司 (YAMASAKI Yuji) (00794281)	鳥取大学・乾燥地研究センター・特命助教 (15101)	
連携研究者	岡本 昌憲 (OKAMOTO Masanori) (50455333)	宇都宮大学・バイオサイエンス教育研究センター・准教授 (12201)	

6. 研究組織（つづき）

	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
連携研究者	ヤシル ゴラフィ (YASIR Gorafi) (40813324)	鳥取大学・乾燥地研究センター・特命准教授 (15101)	

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