

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 3月31日現在

機関番号：14501

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2012

課題番号：23658010

研究課題名（和文） 雑種弱勢の弱いアレルを利用した病害抵抗性育種の試み

研究課題名（英文） Toward breeding for disease resistance using weak alleles inducing hybrid weakness

研究代表者

宅見 薫雄 (TAKUMI SHIGEO)

神戸大学・大学院農学研究科・准教授

研究者番号：50249166

研究成果の概要（和文）：4倍性コムギとタルホコムギを交雑して得られる合成パンコムギは、通常パンコムギに祖先野生種であるタルホコムギの有用遺伝子を導入する際の育種母本として用いられている。しかし時に両親の持つ核ゲノム間の相互作用により雑種の生育不良が起こる。本研究は、この雑種弱勢の弱い症状を示す合成パンコムギ系統において病害抵抗性の上昇が認められるのかどうかを検証することを目的としている。本研究結果から、クロロシスの程度の弱い合成パンコムギ系統では、農業形質への影響最小限に抑えつつ病害抵抗性をある程度上昇させることが期待でき、栽培地によってはハイブリッドクロロシスを用いて病害抵抗性と生育阻害の間のトレードオフを成立させながらコムギの病害抵抗性育種を行える可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：Synthetic hexaploid wheat (AABBDD genome) is produced through crossing tetraploid wheat (AABB genome) with a D-genome progenitor *Aegilops tauschii*, and available for common wheat breeding to introduce agronomically useful genes from *Ae. tauschii*. However, abnormal growth phenotypes are sometimes observed in the interspecific hybrids induced by epistatic interaction between the AB and D genomes. The objective of the present study is confirmation of increased disease resistance in synthetic hexaploids showing weak phenotype of hybrid weakness. The results revealed that the enhanced disease resistance was significantly observed in the synthetic wheat lines with weak hybrid chlorosis, although no significant difference was found between the weak hybrid chlorosis-exhibiting plants and wild-type plants in the F₂ population between the normal and hybrid chlorosis lines of synthetic wheat. These observations suggested that trade-off could be established between increase in disease resistance and inhibition of plant growth vigor, and that weak allele for the hybrid chlorosis is available for wheat breeding to produce enhanced disease-resistance varieties.

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|-------|-----------|---------|-----------|
| 交付決定額 | 3,000,000 | 900,000 | 3,900,000 |

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学・育種学

キーワード：抵抗性・耐性

1. 研究開始当初の背景
穀物生産において病害虫による収穫量の減少は改善すべき大きな課題である。そのため

に、パンコムギ育種において、近縁の野生種の持つ多様性を遺伝資源として有効利用することで、生物的・非生物的ストレスに対す

る耐性を獲得した新たな系統の育成を推進していく必要がある。

申請者がこれまでに作出してきた4倍性コムギとタルホコムギの交雑雑種に由来する合成パンコムギ系統群の中には様々なタイプの雑種致死・雑種弱勢を示す系統がある。これらの雑種致死・雑種弱勢を示す系統の中には、農業形質にほとんど影響を与えない程度の症状を示すものがある。そのような系統においても病害抵抗性遺伝子群の発現が増加しているため、パンコムギの病害抵抗性育種に使える可能性がある。

これまでの病害抵抗性育種に用いられてきた遺伝子は、病原菌からのエフェクターを植物細胞のレセプターで感受し、その後誘導抵抗性を発現するタイプのものであった。抵抗性を高レベルで維持し続けることは植物にとって高いコストを伴うからだと考えられている。しかし病害抵抗性のレベルと植物の生長のトレードオフの関係を遺伝的に操作できれば、従来とは異なった抵抗性育種の方法を示唆することとなる。植物の持つ内的な抵抗性のレベルを上昇させるわけなので、人間の健康管理における漢方的処方と似た概念と言える。

2. 研究の目的

4倍性コムギとタルホコムギを交雑して得られる合成パンコムギは、通常パンコムギに祖先野生種であるタルホコムギの有用遺伝子を導入する際の育種母本として用いられている。しかし両親の持つ核ゲノム間の相互作用により雑種強勢・雑種弱勢・雑種致死などの現象が起こることが知られている。雑種弱勢・雑種致死を示す個体では病害抵抗性遺伝子群の発現量が上昇することが知られており、ハイブリッドネクロシスやクロロシスを示す合成パンコムギ個体でも確認されている。本研究では、相互作用の効果の小さな雑種弱勢を利用して、病害抵抗性の付与を期待できないか検証することが目的である。

そこで、以下の4つの事項について個別の目的を設定した。

- (1) 実際にどの程度病害抵抗性が増しているのかについて知見を得ること。
- (2) F₂分離集団を用いて農業形質に与える雑種弱勢の影響を評価すること。
- (3) この雑種弱勢遺伝子に密に連鎖した分子マーカーを開発すること。
- (4) 弱勢個体の遺伝子発現プロファイリングを通して原因遺伝子アレルの遺伝的特性を明らかにすること。

3. 研究の方法

(1) ハイブリッドクロロシスを示す合成パンコムギ系統と野生型の表現型を示す合成パンコムギ系統とのF₂分離集団を神戸大学の

圃場にて栽培し、各F₂個体の農業形質に与える雑種弱勢の影響を評価した。

(2) この分離集団を用いて、ハイブリッドクロロシスを引き起こすタルホコムギ由来のDゲノムに座乗する原因遺伝子を染色体上に位置づけ、コムギのゲノム情報を用いて緊密に連鎖した分子マーカーを開発した。

(3) コムギ38Kオリゴアレイを利用して、幼苗期の葉について転写産物のマイクロアレイ解析を行い、ハイブリッドクロロシスを示した個体と野生型の表現型を示した合成パンコムギの遺伝子発現プロファイリングの比較を行った。クロロシス系統としては、症状の弱い系統と強い系統の両方を用いて野生型系統と比較した。発現量の違いの見出されたいくつかの遺伝子については、量的RT-PCR法により再現性を確認した。この解析を通して、ハイブリッドクロロシスの原因遺伝子アレルの遺伝的特性を明らかにした。

(4) コムギいもち病菌を、ハイブリッドクロロシスを示す合成パンコムギと野生型の表現型を示した合成パンコムギの幼苗の葉に接種して、病徴及び葉上での胞子形成、細胞への菌糸の侵入、葉の細胞の過敏感細胞死を観察することで、抵抗性の評価を行った。

4. 研究成果

(1) 4倍性コムギ品種Langdonとタルホコムギを交雑して得られた合成パンコムギシリーズ中に、ハイブリッドクロロシスを誘導するタルホコムギは4系統存在する。これらの4系統は2系統を除いて採集地が異なっているため同一の遺伝子によるのかが不明であった。またクロロシスの表現型も症状の強い系統と弱い系統があった。よって、クロロシスの表現型が異なる3種の雑種について相互に交配を行った後代(F₂世代)を用いて野生型の表現型がどのように分離するかを指標として、タルホコムギ側の原因遺伝子の同座性検定を行った。その結果、少なくともDゲノム上の原因遺伝子については同座であり、しかもtype3ハイブリッドネクロシスの原因遺伝子とも同座あるいは密接に連鎖していることが明らかとなった。すなわち、ハイブリッドクロロシスの症状が弱い系統と強い系統が存在するが、これらは互いに対立遺伝子の関係にあると言えた。

(2) クロロシスの症状の弱い合成パンコムギ系統と強い合成パンコムギ系統、及びクロロシスの症状を示さない正常合成パンコムギ系統を用いて、病原菌に対する応答性を比較調査した。その結果、抵抗性反応の出方や病原菌の胞子の回収のされ方でクロロシスを示す合成パンコムギ系統の方がより高い抵抗性を示した。実際一部の病害抵抗性遺伝子(WRKY転写因子やPR遺伝子など)の発現量がクロロシスを示す合成パンコムギ系統

の方で高かった。

(3) 合成パンコムギを作出する際に4倍性コムギ親にはLangdonを共通して用いているので、DNAレベルの変異はDゲノムにのみ存在する。育成済みのF₂集団を用いて、ハイブリッドクロロシスの強い症状を引き起こす遺伝子座と弱い症状を引き起こす遺伝子座について別個にマッピングを行ったところ、いずれのアリルも7D染色体短腕上に位置づけられた。このDゲノム上のハイブリッドクロロシスの原因遺伝子を*Hch1*と名付け、パンコムギ7D短腕のサーベイシークエンスデータを利用することによって2つのSSRマーカーによって4.4cM内に位置づけることができた。

(4) また、F₂集団の圃場調査により、クロロシス個体と正常生育個体との間に農業形質(出穂/開花日、稈長、一穂粒数、千粒重、種子稔性など)について調査を行った。その結果、弱いクロロシスを示す合成パンコムギ系統と野生型の表現型を示す合成パンコムギ系統のF₂集団を用いた測定では第3節間長と登熟日についてのみハイブリッドクロロシスは有意に負の影響を与えており、その他の形質では有意な差を見出すことができなかった。クロロシス症状の強い合成パンコムギ系統を用いた集団では、クロロシス症状が強い分離個体では、多くの形質についてクロロシス症状を示さない個体との間に有意差が検出され、クロロシスによる光合成の障害が農業形質に負の効果を与えていた。

(5) ハイブリッドクロロシスの症状が弱い合成パンコムギ系統と症状の強い系統の葉のRNAを用いて、マイクロアレイ解析により、これまでの正常系統や弱いクロロシス系統との遺伝子発現プロファイルの比較解析を行い、さらにtype3ハイブリッドネクロシスとの比較を通して、ハイブリッドクロロシスに特徴的な遺伝子発現変動を明らかにすることを試みた。その結果、このハイブリッドクロロシスは病害抵抗性遺伝子の上昇だけでなく、老化に関与する遺伝子群の発現上昇が認められ、通常よりも老化が早く進むことによってクロロシスの症状を示すことが示唆された。

本研究を通して、弱いクロロシスを示す合成パンコムギ系統は農業形質への影響最小限に抑えつつ病害抵抗性をある程度上昇させることが期待でき、栽培地によってはハイブリッドクロロシスを用いて病害抵抗性と生育障害の間のトレードオフを成立させながらコムギの病害抵抗性育種を行える可能性を示唆した。すなわち、ハイブリッドクロロシスを導入することで病害の発生地においてむしろ有利な品種育成を期待できるのではないかと考えられた。

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)

① Hatano H, Mizuno N, Matsuda R, Shitsulawa N, Park P, Takumi S. Dysfunction of mitotic cell division at shoot apices triggered severe growth abortion in interspecific hybrids between tetraploid wheat and *Aegilops tauschii*. *New Phytologist* 194: 1143-1154, 2012

② Takumi S, Koyama K, Fujiwara K, Kobayashi F. Identification of a large deletion in the first intron of a *Vrn-D1* locus associated with loss of vernalization requirement in wild wheat progenitor *Aegilops tauschii* Coss. *Genes and Genetic Systems* 86: 183-195, 2011

③ Mizuno N, Shitsukawa N, Hosogi N, Park P, Takumi S. Autoimmune response and repression of mitotic cell division occur in inter-specific crosses between tetraploid wheat and *Aegilops tauschii* Coss. that show low temperature-induced hybrid necrosis. *The Plant Journal* 68: 114-128, 2011

[学会発表] (計4件)

① 宅見薫雄. コムギ・エギロプス属のDobzhansky-Müller遺伝子. 第7回ムギ類研究会, 2012年11月29日(農林水産技術会議事務局筑波事務所)

② 宅見薫雄. 倍数性進化の再現系を利用したコムギ祖先野生種の多様性評価. ナショナルバイオリソースプロジェクト(NBRP)公開成果報告会, 2012年1月20日(東京コンファレンスセンター品川)

③ 中野裕樹, 土佐幸雄, 宅見薫雄. クロロシスを示す合成パンコムギのコムギいもち病菌に対する高い病害抵抗性. 日本育種学会第120回講演会, 2011年9月23日(福井県立大学)

④ 宅見薫雄, 松岡由浩, 那須田周平. 倍数性進化の再現系を利用したコムギ多様性解析: リソースに保全された変異の顕在化. 日本遺伝学会第83回大会, 2011年9月22日(京都大学)

[その他]

ホームページ等

神戸大学農学部インターゲノミクス研究会
(<http://www.research.kobe-u.ac.jp/ans-intergenomics/index.html>)

6. 研究組織

(1)研究代表者

宅見 薫雄 (TAKUMI SHIGEO)
神戸大学・大学院農学研究科・准教授
研究者番号：50249166

(2)連携研究者

土佐 幸雄 (TOSA YUKIO)
神戸大学・大学院農学研究科・教授
研究者番号：20172158

佐藤 和広 (SATO KAZUHIRO)
岡山大学・資源植物科学研究所・教授
研究者番号：60215770