

令和元年6月17日現在

機関番号：23401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K07559

研究課題名(和文) 非休眠性個体を高頻度で含む野生コムギ集団の探索 栽培化過程で人は何を選んだか？

研究課題名(英文) Genetic diversity in the frequency of non-dormant individuals within and among wild diploid and tetraploid wheat populations, and the dormancy elimination during their domestication process

研究代表者

大田 正次(Ohta, Shoji)

福井県立大学・生物資源学部・教授

研究者番号：80176891

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、栽培化過程において野生一粒系および野生二粒系コムギから種子休眠性がどのように消失したかを明らかにすること、である。そのため、トルコ南部の栽培化起源地域の野生二倍性および野生四倍性コムギ集団における非休眠性個体の頻度と休眠性程度に相関した穎果の形態形質を調査した。その結果、野生コムギ集団には種子休眠性と小穂内の穎果サイズの違いの程度が異なる個体がさまざまな頻度で含まれ、非休眠性個体を多く含む集団があること、が明らかとなった。このことから、初期の栽培化過程では、種子休眠性の消失は穎果サイズの変化と同時に進行し、自然集団にすでに存在した非休眠性個体が頻度を増した可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

(1)種子休眠性の変化は炭化遺物の形態からは評価できず、これまで「栽培集団において収穫と播種を繰り返すことで容易に非休眠性個体を選択できる」と説明されてきた。今回初めて実験的に「非休眠性個体を多く含む自然集団がある」ことを証明でき、それに基づいて「自然集団に存在した非休眠性個体が穎果サイズの選択により栽培集団に広がった」という仮説を提唱、栽培化過程の今後の解明に新たな可能性を提示できた。
(2)野生コムギはコムギ育種のための重要な遺伝資源であるが、自然集団に眠る膨大な遺伝的多様性は未だ評価されていない。今回育成した模擬自然集団は今後集団遺伝構成解析の共通の材料として多くの研究者に利用される。

研究成果の概要(英文)：The purpose of the present study is to experimentally clarify how the seed dormancy was eliminated from wild einkorn and emmer wheat populations during the domestication process. For the purpose, the frequency of non-dormant individuals and the grain size dimorphism within spikelets were evaluated in wild diploid and wild tetraploid wheat populations in southern Turkey where einkorn and emmer wheat were thought to be domesticated. The results indicate that non-dormant individuals were contained in a various frequency in wild wheat populations, and, furthermore, in a high frequency in some populations. And the results suggest that, during the early domestication process, the elimination of seed dormancy was proceeded with the shift of grain size, and the frequency of non-dormant individuals which already existed in wild wheat populations got higher in some populations under early cultivation practices.

研究分野：植物遺伝資源学

キーワード：野生コムギ 種子休眠性 栽培化 一粒系コムギ 二粒系コムギ 自然集団の遺伝的多様性 トルコ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 最近 20 年間の分子生物学的手法と情報処理技術の発展により、多くの作物種で大量の系統を使って種内変異を解析できるようになった。その結果、野生一粒系コムギと野生二粒系コムギでは栽培型と同じ(あるいは極めて類似した)DNA 型をもつ系統があることが分かり、その地理的分布から栽培化起源地はトルコ南東部の狭い地域に限定された (Heun *et al.* 1997, Mori *et al.* 2003, Ozkan *et al.* 2005, Luo *et al.* 2007)。

(2) 西南アジアの終末期旧石器から新石器文化期の遺跡の発掘と調査が進み、遺跡から出土したコムギの炭化遺物を数量的に分析できるようになった。その結果、小穂脱落性と穎果サイズの数量的解析から、コムギの「栽培化」は栽培環境下で高い適応度をもつ個体が 2 千年以上の長い年月をかけて集団中に増加した「過程」であることが示された (Willcox 2004, Tanno and Willcox 2006, Fuller 2007)。

(3) 種子休眠性は生理的形質であり、豆類の一部を除いて炭化遺物の形態から栽培化に伴う変化を解析することはできない。コムギの栽培化の過程で種子休眠性に生じた変化を推測する唯一の方法は、現存の野生コムギ集団と栽培コムギの遺伝的変異を調べて比較することである。ジーンバンクに保存されている多数の系統を用いたこれまでの我々の研究で、野生一粒系コムギと野生二粒系コムギの中に栽培型と同様に非休眠性の系統があることが分かった。

(4) 遺伝的に種子休眠性をもつ野生一粒系コムギと野生二粒系コムギでは、1 つの小穂に 2 粒の穎果が着いたとき、第 1 小花の穎果は第 2 小花の穎果より小さくて休眠性であるが、第 2 小花の大きな穎果は非休眠性で播種後すばやく発芽し、小穂内に穎果が 1 粒だけ着いたときにはその穎果は小花に係らず大きくて非休眠性であることが、我々のこれまでの研究で明らかとなっている。

2. 研究の目的

(1) 栽培化起源地における野生一粒系コムギおよび野生二粒系コムギ集団中の非休眠性個体頻度を実験的に明らかにし、それに基づいて、栽培化に伴う「種子休眠性の消失」の具体的なイメージを提案する。

・従来の研究が用いてきた「系統」は 1 地点の集団サンプルから選んだ 1~数個体を自殖して育成されており、集団内の変異を評価する材料にはならない。本研究では、栽培化起源地で収集した集団サンプルを用いて個々の集団内の種子休眠性の変異を明らかにする。

・栽培化に伴う種子休眠性の変化は、「休眠性がなく早く発芽した個体しか収獲物に寄与しないため、収穫と播種を繰り返すことで容易に非休眠性個体が選択できる (Fuller 2007)」と、これまで説明されてきた。しかし、我々のこれまでの実験結果はこの説明に否定的であり、「自然集団に存在する非休眠性個体が、穎果サイズの選択によって栽培集団に広がった」という実験データに基づいた具体的な仮説を提案する。

(2) 自然集団から抽出した「単粒系統法による模擬自然集団 (Single Seed Descent Quasi-Natural Populations: 以下 SSD-QNPs)」を今後の集団解析の材料として整備する。

・分子生物学的手法と情報処理技術が飛躍的に発展し、近い将来、遺伝的多様性、栽培化、育種素材探索の研究には、集団内の遺伝的変異の解析と比較が必須になると考えられる。また、一粒系および二粒系コムギの栽培化起源地はトルコ・シリア国境に近く、絶滅に瀕しているとともに、そこでの新たなサンプリングは例え許可が得られても多大な危険が伴う。本研究で育成する SSD-QNPs は GPS により採集場所が特定されており、また、個体識別して自殖することにより集団の遺伝構成を変えることなく維持・増殖でき、今後多くの研究者が共有し個体単位でデータを蓄積・比較する材料となり得る。

3. 研究の方法

(1) 材料

一粒系コムギおよび二粒系コムギの栽培化起源地を含むトルコ南部のカラジャダー (Karacadağ)、カラダー (Karadag) およびガジアンテップ (Gaziantep) 地域の自然集団で個体あたり 1 穂ずつを採集し、トルコ・チュクロワ大学で冷蔵保存している野生二倍性コムギと野生四倍性コムギの集団サンプルを用いた。野生二倍性コムギには野生一粒系コムギとウラルツコムギが、また、野生四倍性コムギには野生二粒系コムギと野生チモフェービ系コムギが含まれる。それぞれ穂の形態では区別できないため、今回の研究では野生二倍性および野生四倍性コムギ集団として扱った。

(2) 方法

野生四倍性コムギ

11 集団の集団サンプルから 1 粒/穂を抽出し、2014 年 11 月~2015 年 5 月および 2016 年 11 月~2017 年 5 月にチュクロワ大学で比較栽培し自殖種子を得た。これらの個体の 2 粒着いた小穂の第 1 小花と第 2 小花の穎果それぞれ 25 粒の重さを計測したのち、ろ紙を敷いたシャーレに播

種、室温(2015年11月24日播種5日間:17.8~26.6 平均20.6、2017年10月26日播種6日間:23.3~27.1 平均25.0)で発芽させ発芽指数を求めた。なお、2015年は開花結実期の雨と高温により種子形成に不良な環境であったのに対して、2017年の天候は良好であった。

野生二倍性コムギ

11集団について1粒/穂を抽出し、2016年11月~2017年5月と2017年11月~2018年5月にチュクロワ大学で2度栽培、自殖した穂を収穫した。このうち9集団387個体の着粒を2018年9月に調査し、8集団209個体の2粒着いた小穂の第1小花と第2小花の穎果それぞれ25粒の重さを計測したのち、10月23日にろ紙を敷いたシャーレに播種、室温(21.9~27.6 平均24.3)で4日間発芽させ発芽指数を求めた。

4. 研究成果

(1) 野生四倍性コムギ

小穂の2粒率(2粒着粒した小穂数/着粒した小穂数):2015年と2017年に調査した450個体と408個体の平均値はそれぞれ0.61と0.74で両者の間には1%水準で有意差があった。両調査年に共通の408個体の小穂の2粒率には年度間で正の相関($R=0.397^{**}$)があった。

小穂内の穎果サイズの違い:両調査年とも、2粒着いた小穂の第1小花と第2小花の穎果重の平均値の間には1%水準で有意差があり、また、第1小花と第2小花の穎果重の間には正の相関(2015年: $R=0.879^{**}$ と2017年: $R=0.673^{**}$)があった。穎果重の比(第1小花/第2小花)の集団ごとの平均値は有意に異なり、両調査年ともKaradag地域の集団T007がもっとも大きかった。年度間では、両調査年に共通の10集団320個体の第1小花と第2小花の穎果重の平均値は2017年が有意に大きかったが、とくに第2小花の穎果重に年度間で大きな違いがあり、穎果重の比は2017年が有意に小さかった。

種子休眠性:両調査年とも第2小花の穎果は播種後すばやく発芽し、全個体の発芽指数の平均値は0.997と0.998であった。これに対し、第1小花の穎果の発芽指数は個体および集団間で異なり、集団ごとの平均値には2015年(8集団300個体)に0.54~0.94、2017年(11集団407個体)に0.15~0.60の変異があった。両調査年で共通の8集団273個体の発芽指数と集団ごとの発芽指数の平均値にはともに年度間で正の相関($R=0.450^{**}$ と $R=0.855^{**}$)があり、両年度ともKaradag地域の集団T007とT015の平均値が大きく、また発芽指数0.9以上の個体の頻度も高かった。

小穂内の穎果サイズの違いと種子休眠性の相関:調査した全個体の穎果重の比と発芽指数との間には両調査年とも正の相関(2015年: $R=0.449^{**}$ と2017年: $R=0.657^{**}$)があった。

野生二粒系コムギと野生チモフェービ系コムギの地理的分布:野生四倍性コムギに含まれる両種は穂の形態からは区別できない。チュクロワ大学の圃場で栽培した11集団408個体の葉面の毛の形質を2017年3月と2018年5月に調査した。2度の調査の結果は一致し、Karadag地域の3集団とKaradag地域の4集団は二粒系コムギのみの集団、Karadag地域の2集団とGaziantep地域の2集団は両種の混生集団だった。

考察:野生四倍性コムギ集団には種子休眠性と小穂内穎果サイズ二型性の程度が遺伝的に異なる個体がさまざまな頻度で含まれ、非休眠性の個体を多く含む集団があることが明らかとなった。また、小穂内の穎果サイズの違いと個体の種子休眠性の間には相関があることが明らかとなった。これらのことから、初期の栽培化過程において、種子休眠性の消失は穎果サイズの変化と同時に進行し、自然集団にすでにあった非休眠性個体が栽培環境下で頻度を増した可能性が考えられる。また、同じ遺伝構成をもつ自然集団が、不良環境で種子生産の少ない年には非休眠性の表現型をもつ種子の割合を増やし、良環境で種子生産の多い年には休眠種子の割合を増やしシードバンクを形成することで、環境変化に対応して集団を維持していることが示唆された。また、これまで困難であった野生二粒系と野生チモフェービ系コムギの同定に葉面の毛の形質が有効であることが明らかとなった。

(2) 野生二倍性コムギ

着粒小穂率(着粒した小穂数/全小穂):調査した全9集団387個体には0.02~1の変異があり平均値は0.74であった。Karadag地域が他の2地域より有意に小さく、とくに集団D008とD009は他のすべての集団より有意に小さかった。

小穂の2粒率(2粒着いた小穂数/着粒した小穂数):全9集団387個体には0~0.94の変異があり平均値は0.43であった。3地域間に有意差があり、Karadag地域が最小、Gaziantep地域が最大であった。KaradagとGaziantep地域内の集団間には有意差はなく、Karadag地域では集団D002が他の集団より有意に大きかった。また、Karadag地域の3集団(D007、D008、D009)は他のすべての集団より有意に小さかった。

小穂内の穎果重の違い：全 8 集団 209 個体の 2 粒着いた小穂の第 1 小花の穎果の重さの平均値(6.98 mg)は第 2 小花の穎果重(10.67 mg)より 1%水準で有意に小さかった。また、第 1 小花と第 2 小花の穎果重の間には正の相関 ($R=0.761^{**}$) があった。穎果重の比(第 1 小花/第 2 小花)の Karadag 地域の平均値は他の地域より有意に大きく、とくに集団 D009 は他の地域のすべての集団より有意に大きかった。

種子休眠性：第 2 小花の穎果は播種後すばやく発芽し全個体の発芽指数の平均値は 0.969 であった。これに対し、第 1 小花の穎果の発芽指数には個体間で 0~1 の変異があり平均値は 0.420 であった。集団ごとの平均値には 0.228 (Gaziantep 地域の集団 D011) ~ 0.594 (Karadag 地域の集団 D009) の変異があった。地域間では、Karacadag 地域と Gaziantep 地域の間には有意差はなく、Karadag 地域が他の地域より有意に高かった。

小穂内の穎果重の違いと種子休眠性の相関：調査した全個体の穎果重の比と第 1 小花の穎果の発芽指数との間には正の相関 ($R=0.510^{**}$) があり、穎果重の比が大きい個体ほど休眠性が低かった。

考察：野生二倍性コムギ集団には種子休眠性と小穂内穎果サイズ二型性の程度が遺伝的に異なる個体がさまざまな頻度で含まれ、非休眠性の個体を含む集団があることが明らかとなった。とくに Karadag 地域には第 1 小花に大きな穎果を着け休眠性の弱い個体を多く含む集団が見られた。しかし、今回調査した形質は遺伝的であるとともに個体の生育環境に大きく影響される形質であり、今後同じ実験集団を用いた反復実験が必要である。

(3) 単粒系統法による模擬自然集団 (SSD-QNPs) の整備

上記の実験に用いた野生二倍性コムギ 9 集団 387 個体、野生四倍性コムギ 11 集団 408 個体の自殖種子を模擬自然集団としてチュクロワ大学農学部にて冷蔵保存した。これらの材料は共同研究者の Hakan Ozkan 教授が管理している。

< 引用文献 >

Fuller, D. Q. (2007) Contrasting Patterns in Crop Domestication and Domestication Rates: Recent Archaeobotanical Insights from the Old World. *Annals of Botany* 100: 903-924.

Heun, M., R. Schafer-Pregl, D. Klawan, R. Castagna, B. Borghi and F. Salamini (1997) Site of einkorn wheat domestication identified by DNA fingerprinting. *Science* 278: 1312-1314.

Luo, M. -C., Z. -L. Yang, F. M. You, T. Kawahara, J. G. Waines and J. Dvorak (2007) The structure of wild and domesticated emmer wheat populations, gene flow between them, and the site of emmer domestication. *Theoretical and Applied Genetics* 114: 947-959.

Mori, N., T. Ishii, T. Ishido, S. Hirose, H. Watatani, T. Kawahara, M. Nesbitt, G. Belay, S. Takumi, Y. Ogiwara and C. Nakamura (2003) Origins of domesticated emmer and common wheat inferred from chloroplast DNA fingerprinting. *Proceedings of the 10th International Wheat Genetics Symposium* 1: 25-28.

Ozkan, H., A. Brandolini, C. Pozzi, S. Effgen, J. Wunder and F. Salamini (2005) A reconsideration of domestication geography of tetraploid wheats. *Theoretical and Applied Genetics* 110: 1052-1060.

Tanno, K. and G. Willcox (2006) How fast was wild wheat domesticated? *Science* 311: 886.

Willcox, G. (2004) Measuring grain size and identifying Near Eastern cereal domestication: evidence from the Euphrates valley. *Journal of Archaeological Science* 31: 145-150.

5 . 主な発表論文等

[学会発表](計 14 件)

大田正次、コムギ近縁野生種の遺伝的多様性：保存系統の解析から自然集団の解析へ、日本育種学会第 135 回講演会グループ研究集会「遺伝資源海外調査の現状と課題」(招待講演)、2019

大田正次、森直樹、Hakan Ozkan、トルコ南部の野生二倍性コムギ集団における非休眠性個体頻度の多様性、日本育種学会第 135 回講演会、2019

松井寧々、森直樹、大田正次、一粒系コムギにおける小穂あたりの着粒数と種子休眠性の遺伝的解析、第 13 回ムギ類研究会、2018

福山智章、森直樹、大田正次、エンマーコムギの F₃ 集団を用いた小穂内の穎果サイズと種子休眠性の遺伝的解析、第 13 回ムギ類研究会、2018

松下沙樹、大田正次、野生一粒系コムギにおける小穂内穎果サイズと種子休眠性の二型性：F₂ 集団における分離、第 13 回ムギ類研究会、2018

加藤葵、大田正次、野生二粒系コムギの種子休眠性：第 1 小花の穎果の発芽を抑制する遺伝

的要因が第2小花の穎果の発芽に与える効果、第13回ムギ類研究会、2018

大田正次、森直樹、Hakan Ozkan、トルコ南部の野生四倍性コムギ集団における野生二粒系コムギと野生チモフェービコムギの分布、第13回ムギ類研究会、2018

大田正次、森直樹、Hakan Ozkan、トルコ南部の野生四倍性コムギ集団における非休眠性個体頻度の多様性、日本育種学会第133回講演会、2018

手島咲弥、大田正次、野生二粒系コムギの穎果の形態と種子休眠性の二型性 穎果の発達過程と播種後の吸水率の比較、第12回ムギ類研究会、2017

久保瑞穂、大田正次、野生一粒系コムギの種子休眠性とそれに関連した形態形質、第12回ムギ類研究会、2017

大田正次、野生コムギ：種子休眠性の自然環境への適応と栽培化に伴う変化、第49回種生物学シンポジウム（招待講演）、2017

Cakir Esra, Alsaler Ahmad, Naoki Mori, Shoji Ohta, Hakan Ozkan, Genetic diversity between and within natural populations of wild emmer wheat (*Triticum turgidum* subsp. *dicoccoides*) in southern Turkey: Insight from nuclear-SSR and morphological variation, The 8th International Triticeae Symposium, 2017

Naoki Mori, Takako Shizuka, Hakan Ozkan, Shoji Ohta, Genetic diversity between and within two natural populations of wild emmer wheat (*Triticum turgidum* subsp. *dicoccoides*) in southern Turkey: insights from chloroplast DNA fingerprinting, The 8th International Triticeae Symposium, 2017

Shoji Ohta, Naoki Mori, Hakan Ozkan, A Japan-Turkey cooperative research project on genetic diversity in wild wheat and its genetic change during the domestication process, The 8th International Triticeae Symposium, 2017

6. 研究組織

(1)研究分担者

なし

(2)研究協力者

森 直樹 (MORI Naoki)

オズカン ハカン (OZKAN Hakan)

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、研究者個人に帰属されます。