

令和 3 年 6 月 16 日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K05583

研究課題名(和文)環境ストレスによる染色体組み換え制御の解明とその育種的利用

研究課題名(英文)Elucidation of environmental impact on chromosomal recombination and its application to breeding

研究代表者

石川 吾郎 (Ishikawa, Goro)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・次世代作物開発研究センター・上級研究員

研究者番号：30355234

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：これまでにコムギ品種「きたほなみ」がもつ優れた製粉性の要因として、2つの量的形質遺伝子座(QTL)を見出した。しかし、これらQTLは動原体付近に座落し、組換え頻度が低いため、候補遺伝子の絞り込みが困難であった。そこで、オオムギで報告のある高温ストレスによる組換え頻度向上効果をコムギで検証するとともに、遺伝子同定のための材料育成を目的とした。その結果、高温ストレスによる組換え頻度の向上効果は交配組合せや染色体領域に依存することを明らかにするとともに、遺伝的に極めて近いが製粉性は異なる系統群の作出に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

コムギは主に小麦粉として利用されることから、粉の挽き易さを表す「製粉性」は実質的な収量を決める重要な形質である。北海道の主要品種「きたほなみ」は軟質コムギの中では世界的にみても高い製粉性を有しており、この原因遺伝子が明らかになれば国内育種だけでなく、小麦粉生産効率の飛躍的な向上に繋がり、世界の食糧供給に貢献できる。本研究で得られた知見および材料は、原因遺伝子の同定や機能解明に繋がる重要な一歩となると期待される。

研究成果の概要(英文)：We have found two quantitative trait loci (QTL) as factors for the high flour yield of the wheat variety 'Kitahonami'. Since these QTLs are close to the centromere and the recombination frequency is low, it is difficult to narrow down the QTL regions and to find candidate genes. Therefore, in this study, we aimed to verify the increasing effect of high temperature stress on the recombination frequency reported in barley with wheat populations. As a result, it was revealed that the increasing effect on the recombination frequency by high temperature stress depends on the cross combination and the chromosomal region. Along with the experiment, we succeeded in developing lines that were genetically close each other but had different milling properties.

研究分野：ムギ類におけるゲノム情報を利用した効率的な育種選抜手法の開発

キーワード：コムギ 製粉性 組換え頻度 温度ストレス

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

(1) コムギは主に小麦粉として消費されることから、製粉工程で最終的に得られる良質な小麦粉の量(製粉性)は実質的な収量と加工コストを決める重要な要因である。製粉性は品種間差異が認められることから、本形質に関わる遺伝子の存在が示唆されている。これら遺伝子を同定し、機能解明することは育種の効率化に繋がり、結果的に世界の食糧増産に貢献するものと考えられる。

(2) 製粉性には、主に「種子の割れ易さ」、「皮離れの良さ」および「ふるい抜けの良さ」が関与する。これらのうち、「種子の割れ易さ」と「ふるい抜けの良さ」は主に2つの遺伝子(*Pina-D1* および *Pinb-D1*) に支配される粒質(硬質と軟質)が大きな効果を持つことが分かっている(Campbell et al. 2001)。一方で、同じ粒質内での製粉性の違いの要因については解明が進んでいないのが現状である。

(3) 北海道の主要品種「きたほなみ」は、軟質コムギの中で極めて高い製粉性を示す。報告者らは、軟質コムギを用いた遺伝解析によって、本品種に由来する高製粉性の量的形質遺伝子座(QTL)を3Bおよび7A染色体上に安定して見出した(Ishikawa et al. 2014; Ishikawa et al. 2020)。これらQTLの作用機作や効果の程度が明らかになれば、製粉性に関わる粒質以外の要因を解明する大きな一歩となる。しかしながら、これら2つのQTLは組換え頻度が極めて低い動原体付近に座乗しており、候補領域の絞り込み、遺伝子同定および機能解析の大きな障害となっている。

### 2. 研究の目的

(1) コムギ品種「きたほなみ」由来の2つの高製粉性QTLについて、QTL領域内の組換え個体の選抜、QTL近傍へのマーカー開発と高密度連鎖地図の作成、組換え個体に由来する系統の製粉性評価によって、QTL領域を狭めるための材料育成を目的とする。

(2) オオムギでは、栽培時の高温ストレスにより雄性配偶子の減数分裂時に異常が起こること、動原体付近の組換え頻度が増加することが報告されている(Phillips et al. 2015)。そこで、対象としている2つのQTL領域内の組換え個体を取得する際、高温ストレス処理を行うことで、この現象がコムギにも当てはまり、動原体付近に座乗する遺伝子の同定や育種における有用な技術になりうるかどうかどうかを検証する。

### 3. 研究の方法

(1) 「しゅんよう」と「きたほなみ」の交雑 $F_1$ に由来する倍加半数体系統のうち、対象とするQTLが高製粉性の「きたほなみ」型を有し、他のQTLは「しゅんよう」型である系統を3Bおよび7Aについてそれぞれ2系統選抜し、これらの系統に「しゅんよう」を戻し交雑し、QTL領域を挟む2つのDNAマーカーがヘテロ接合体の個体を選抜しながら自殖した4つの集団を供試した(表1)

表1. 本研究に用いた材料

集団	対象QTL	母本	父本	世代	選抜マーカー
3B-1	3B	しゅんよう	H21DH-03-122	BC <sub>1</sub> F <sub>6;7</sub>	wmc777, wmc625
3B-2	3B	しゅんよう	H21DH-03-176	BC <sub>1</sub> F <sub>6;7</sub>	wmc777, wmc625
7A-1	7A	しゅんよう	H21DH-03-084	BC <sub>1</sub> F <sub>6;7</sub>	wmc9, wmc607
7A-2	7A	しゅんよう	H21DH-03-139	BC <sub>1</sub> F <sub>6;7</sub>	wmc9, wmc607

父本は「しゅんよう」と「きたほなみ」との交雑 $F_1$ に由来する倍加半数体系統

(2) 対象QTL領域についてヘテロ接合体の個体を選抜し、これらを冬季に網室で春化させた後、2019年は網室(対照区)、20および30、2020年は23(対照区)および30で成熟期まで栽培した。各処理区由来の種子を100~200粒供試し、表1に示したマーカー間での組換えの有無を調査した。得られた組換え個体の自殖後代から両マーカーがホモ型となった個体に由来する系統(組換え型固定系統)を選抜し、アンブリコンシーケンス法により対象QTL近傍の詳細な遺伝子型を調査した。

(3) 得られた組換え型固定系統は、系統当り15個体の試験区(畝長1.5m)で圃場試験を行い、出穂期、開花期および成熟期を調査した後、全個体を収穫して脱穀した。生産物は2.2mmのふるいに掛けて未熟粒を除いた後、容積重、千粒重およびタンパク質含量などの粒形質を測定した。製粉試験は、種子量50g(2019年)または100g(2020年)を供試して、試験用小型製粉機(ブラベンダー社)で2反復行い、供試量に対する得られた粉の量(製粉歩留)で製粉性を評価した。

4. 研究成果

(1) 2ヶ年とも30℃処理区の種子は他の試験区に比べて全ての集団で一粒重が50%程度まで減少しており、高温ストレスによる効果が認められた。組換え頻度調査の結果、2019年調査では7A-2の30℃区でやや高い傾向がみられ、2020年調査では3B-1と7A-2の30℃区で有意に組換え頻度が向上していた(表2)。これらのことから、高温ストレスによる組換え頻度向上効果は交配組合せや染色体領域に依存すると考えられた。

表2. 製粉性QTL領域の組換え頻度に及ぼす気温の効果 (左: 2019年、右: 2020年)

集団	処理	個体数	非組換え体	組換え体	組換え体頻度 [%]	$\chi^2$ 確率	集団	処理	個体数	非組換え体	組換え体	組換え体頻度 [%]	$\chi^2$ 確率
3B-1	Cont.	127	122	5	3.9		3B-1	23°C	192	189	3	1.6	
	20°C	126	122	4	3.2	0.660		30°C	192	184	8	4.2	0.004
	30°C	N.A.						3B-2	23°C	192	187	5	2.6
30°C	125	120	5	4.0		30°C	192		188	4	2.1	0.650	
3B-2	Cont.	125	120	5	4.0		7A-1*	23°C	170	116	54	31.8	
	20°C	122	110	12	9.8	0.001		30°C	161	111	50	31.1	0.847
	30°C	112	108	4	3.6	0.817	7A-2*	23°C	177	119	58	32.8	
7A-1	Cont.	128	96	32	25.0			30°C	162	92	70	43.2	0.005
7A-1	20°C	124	100	24	19.4	0.147	7A-2	Cont.	128	112	16	12.5	
	30°C	99	75	24	24.2	0.862		20°C	128	112	16	12.5	1.000
	7A-2	Cont.	128	112	16	12.5							
7A-2	20°C	128	112	16	12.5	1.000	7A-2	20°C	128	112	16	12.5	1.000
	30°C	104	88	18	17.3	0.138		30°C	104	88	18	17.3	0.138

Cont.: 網室での自然条件下で得られた種子を対照区とした。

\* 2020年の7A-1および7A-2の調査ではwmc9とwmc607の代わりにsnp334とsnp593を用いた。

2019年は対照区、2020年は23°C区に対する組換え頻度の差についてカイ二乗検定を行った。

(2) 選抜した組換え型固定系統を用いて対象 QTL 領域の詳細な遺伝子型を調査した。その結果、3B では wmc777 と wmc625 の間の 8 個のマーカーにより新たに 4 箇所、7A では wmc9 と wmc607 の間の 20 個のマーカーにより新たに 7 箇所の組換え点が見つかった(図1A)。これら組換え型固定系統の製粉性を予備的に評価したところ、3B では系統数が少なく製粉歩留と関連する領域は判然としなかったが、7A では遺伝子型間で製粉歩留に差異がみられた(図1B)。

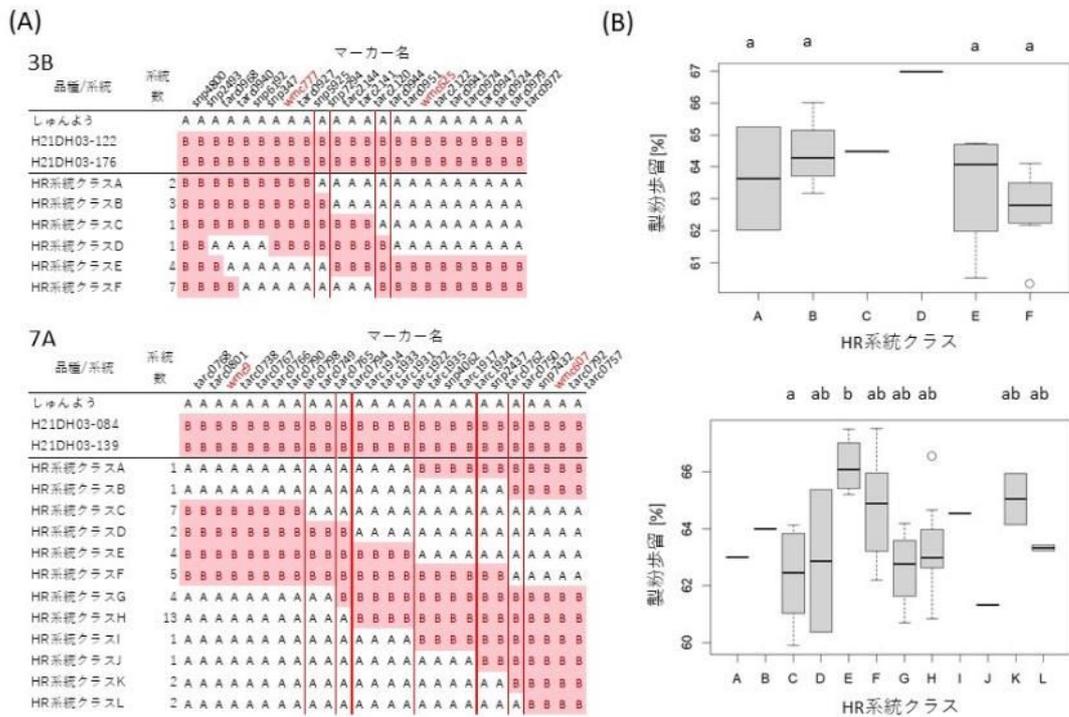


図1. 組換え型固定系統 (HR系統) の遺伝子型によるクラス分け (A) と製粉歩留の分布 (B)

マーカー名の赤字は組換え体の選抜に用いたマーカーを示す。赤縦線は本研究で新たに見つかった組換え点を表す。箱ひげ図の上部の異なるアルファベットはTukeyのHSD検定で有意差があることを示す。この際、1系統のクラスは除外した。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

(3) 本研究で得られた組換え型固定系統のゲノムワイド遺伝子型解析および2年間にわたる製粉性評価によって、遺伝的に近いものの、製粉性は有意に異なる系統(準同質遺伝子系統)を4つの供試集団全てで作出することに成功した。製粉性のような評価に時間と労力の掛かる形質でこのような材料を作出して遺伝解析を行っている例は報告されていないことから、本材料はコムギの製粉性に関わる粒質以外の最初の遺伝子同定に向けた有効な材料になると考えられる。

<引用文献>

- Campbell et al. (2001) Quantitative trait loci associated with milling and baking quality in a soft x hard wheat cross. *Crop Sci.* 41:1275-1285.
- Ishikawa et al. (2014) Association mapping and validation of QTLs for flour yield in the soft winter wheat variety Kitahonami. *PLoS ONE* 9(10): e111337.
- Ishikawa et al. (2020) Multifamily QTL analysis and comprehensive design of genotypes for high-quality soft wheat. *PLoS ONE* 15(3): e0230326.
- Phillips et al. (2015) The effect of temperature on the male and female recombination landscape of barley. *New Phytologist* 208: 421-429.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Ishikawa Goro, Hayashi Takeshi, Nakamura Kazuhiro, Tanaka Tsuyoshi, Kobayashi Fuminori, Saito Mika, Ito Hiroyuki, Ikenaga Sachiko, Taniguchi Yoshinori, Nakamura Toshiki	4. 巻 15
2. 論文標題 Multifamily QTL analysis and comprehensive design of genotypes for high-quality soft wheat	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0230326
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0230326	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 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 石川吾郎、小林史典、藤田雅也、伊藤裕之、池永幸子、中村俊樹
2. 発表標題 コムギの3Bおよび7A染色体に座乗する製粉性QTL領域における組換え型固定系統群の作出
3. 学会等名 日本育種学会第138回講演会
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
研究分担者	藤田 雅也 (Fujita Masaya)  (30414634)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・次世代作物開発研究センター・ユニット長  (82111)	
研究分担者	小林 史典 (Kobayashi Fuminori)  (80584086)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・次世代作物開発研究センター・上級研究員  (82111)	

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
---------	---------