

令和 5 年 6 月 26 日現在

機関番号：82104

研究種目：国際共同研究加速基金（国際共同研究強化(B)）

研究期間：2018～2022

課題番号：18KK0167

研究課題名（和文）生物的硝化抑制(BNI)能強化コムギ品種作成に向けた高精度選抜マーカー開発

研究課題名（英文）Development of Highly Accurate Molecular Markers for Biological Nitrification Inhibition (BNI)-enabled Wheat

研究代表者

Subbarao Guntur (Guntur, Venkata Subbarao)

国立研究開発法人国際農林水産業研究センター・生産環境・畜産領域・主任研究員

研究者番号：00442723

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 12,100,000円

研究成果の概要（和文）：CIMMYTが保持する15万点のデュラムコムギ遺伝資源を代表するミニコアコレクション、328系統を作成し、Genotyping by Random Amplicon Sequencing-Direct (Gras-Di)法による遺伝子型分析を実施し、35万程度のマーカーを選抜し、コムギの各染色体に2-3万程度のマーカーを持つ高密度マップを作成した。ミニコアコレクションのうち、デュラムコムギ野生種249系統について、疎水性及び親水性BNI能の評価を実施した。パンコムギ遺伝資源での結果と同じく、親水性画分にBNI能が集中する一方、その変異はソルガムやトウモロコシに比べ小さく、弱いことが判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本プロジェクトの過程において、野生近縁種コムギLeymus recemosusのN染色体短腕(Lr#N-SA)に存在するBNI能を属間交配により導入したBNI強化コムギの作出に成功し、本プロジェクトにおいて評価した全ての遺伝資源に比べ、高いBNI能を持ち、圃場においてもその機能を発揮することが判明した。土壌の硝化をコムギ自身が抑制することで、窒素施肥を削減しても収量が維持でき、コムギ生産による環境負荷を低減させる全く新しいアプローチによる地球温暖化緩和策を確立することが出来た。Lr#N-SA導入は、G7農業大臣会合、G20農業大臣会合でも日本発の技術として紹介された。

研究成果の概要（英文）：A mini-core collection of 328 lines representing 150,000 durum wheat genetic resources held by CIMMYT was established and genotyped using the Genotyping by Random Amplicon Sequencing-Direct (Gras-Di) method. The results were used to generate a high-density map of wheat chromosomes with approximately 20,000 to 30,000 markers on each chromosome. Within the mini-core collection, 249 wild durum wheat lines were evaluated for hydrophobic and hydrophilic BNI capacity. Similar to the results in the bread wheat genetic resource, BNI was found to be concentrated in the hydrophilic fraction, while the variation was smaller and weaker than in sorghum and maize.

研究分野：植物栄養

キーワード：生物的硝化抑制 コムギ Gras-Di

1. 研究開始当初の背景

肥料等の資材の投入をめぐって、作物の収量と地球環境への負荷がパラレルな関係にあるというのが現代農業の大きな問題であり、農業の環境負荷における特に重要な問題は、地球温暖化である。農耕地からは温室効果ガスである二酸化炭素 (CO₂)、メタン (CH₄)、一酸化二窒素 (N₂O、亜酸化窒素ともいう) などが排出されており、これらの削減が喫緊の課題である。温室効果ガスのうち N₂O の地球温暖化係数は、CO₂ を 1 として 298 であるため、わずかな排出増でも地球温暖化に及ぼす影響は大きい。窒素肥料を源として発生する N₂O は、年間 2-3 Tg と推定され、人類の排出総量の約 3~4 割を占めている (IPCC 2007)。世界の人口増に対応した食糧増産のために窒素施肥量は年々増加しており、それに伴い施肥窒素に起因する N₂O の排出も増え続けている。(図 1) このような農業生産と環境との間で相反する問題を解決する新しい技術として国際的に注目されているのが、生物的硝化抑制 (Biological Nitrification Inhibition, BNI) である。BNI は、作物自身が特有の物質を分泌して土壤中の微生物による硝化を抑制する機能である。作物が BNI を利用することができれば、硝化抑制により、N₂O の排出削減に加えて、施肥窒素の吸収効率が向上することで窒素施肥量を減らすことができ、硝酸による地下水や河川などへの負荷低減につながる (図 2)。

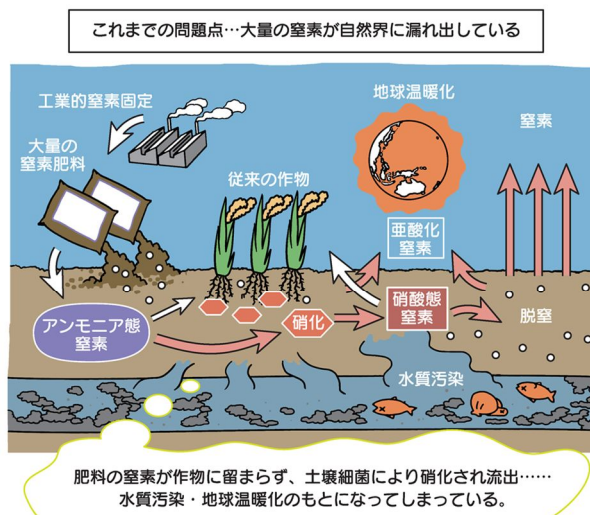


図 1 現代農業における窒素循環 Science Manga Studio (2021)

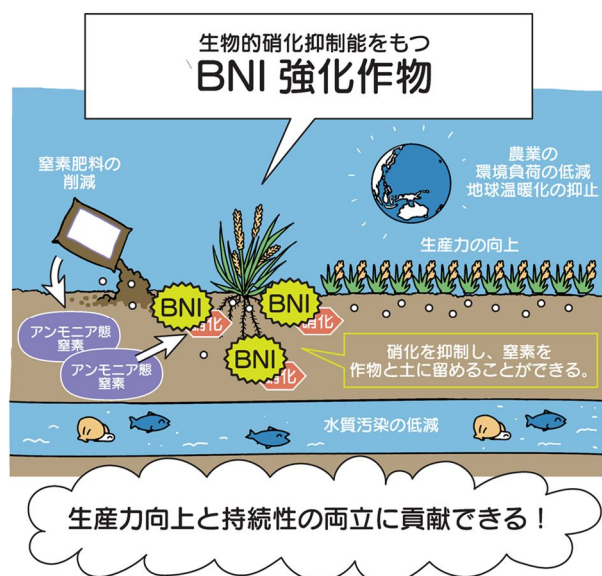


図 2 BNI 強化作物による改善 Science Manga Studio (2021)

遺伝資源の中に BNI 形質が保持されている可能性が最近示された。現在、コムギ栽培では収量増を求めて大量の窒素肥料が施用されており、その量は全世界の施肥量の約 18% にのぼる (IFA 2013)。そこで BNI 形質を導入・強化したコムギ品種を世界中で栽培するようになれば、施肥窒素量を大幅に削減できるとともに N₂O などの環境負荷を低減できる。そのインパクトは非常に大きく、農業生産と環境負荷のジレンマを脱却し、“農業による地球環境保全”を目指すパラダイムシフトの実現の大きな一歩となるとともに、国連の定めた持続的な開発目標 (SDGs) の達成に貢献することが期待される。

2. 研究の目的

コムギにおける高 BNI 品種の育成には、まずコムギ遺伝資源の BNI 能の早急な評価が望まれる。そこで、本研究では、世界最多のコムギ遺伝資源を保有する CIMMYT が保存している 15 万点のコムギ

て、施肥窒素の吸収効率が向上することで窒素施肥量を減らすことができ、硝酸による地下水や河川などへの負荷低減につながる (図 2)。

BNI は、国際農林水産業研究センター (JIRCAS) が中心となって熱帯牧草ブラキアリアやソルガムを対象としてこれまで進められてきた。JIRCAS は、作物が生成する硝化抑制物質 (BNI 物質) の同定や BNI 関連形質の表現型検定法 (生物発光法) の確立を行って、現在、社会実装に向けた取り組みを進めている。一方、コムギやトウモロコシのような栽培面積が広く作物生産量が多い主要作物における BNI 研究はほとんど行われていない。

JIRCAS との共同研究により、国際トウモロコシ・コムギ改良センター (CIMMYT) の莫大なコムギ

ムギ遺伝資源の中から特に高い BNI 能が期待出来る野生コムギを対象に、JIRCAS で開発した BNI 表現型検定技術を用いて評価を行う。また、同時にこれらの遺伝子型を最新の方法 (Genotyping by Random Amplicon Sequencing-Direct、GRAS-Di) で解析する。GRAS-Di は、既存の遺伝子型検定技術に比べて、簡便かつ低コストであり、コムギのように変異に富みかつ倍数性の高い、遺伝子型解析が困難な作物でも解析が可能とされる。コムギ遺伝資源での BNI 能の評価と GRAS-Di の組合せにより、コムギの BNI 能に関連する遺伝子マーカーを得る。開発されたマーカーは、その後の高 BNI 能コムギ品種育成の過程で、BNI 形質の選抜の有用なツールとなる。高 BNI 能を有するコムギ品種を育成し、CIMMYT のネットワークを活用して普及することで、世界のコムギ生産における施肥窒素利用効率の改善、収量増に加えて、N₂O 発生量の低減および硝酸態窒素の流出低減などの環境負荷低減に貢献する。

また、JIRCAS は、CIMMYT に加え、他の国際農業研究機関 (CG センター) とともに BNI に関する共同研究を進めており、本課題で確立された BNI 能検定技術を世界の主要作物に適用する。

3. 研究の方法

本研究では CIMMYT との共同研究により、主として以下の項目について実施する。

CIMMYT の保有するデュラムコムギ品種を代表するミニコアコレクションの構築

CIMMYT のジーンバンクに保有されている約 15 万点のコムギ遺伝資源を網羅的に反映するミニコアコレクションを作成する。これまでに CIMMYT が蓄積した遺伝子型および表現型情報から統計的にグルーピングを行い、およそ 300 点のコムギを選抜する。

ミニコアコレクションの育成と各系統からの DNA の抽出

構築したミニコアコレクションを、DNA の抽出および種子増殖を目的として CIMMYT の圃場で栽培する。栽培した各コムギから DNA を抽出するとともに、種子および DNA 試料を日本に送り、DNA 試料は GRAS-Di 法による分析に供する。また 種子については、国内で一定期間栽培後、以後の BNI 活性の評価に供する。

コムギの幼苗根圏分泌物を対象とした生物的蛍光反応による BNI 活性の測定

ミニコアコレクションのコムギを水耕栽培し、幼苗根圏分泌物を抽出する。本課題では、予備試験で高い活性の認められた疎水性根圏分泌物 (根表面の有機溶媒洗浄・濃縮物) を対象とし、生物的蛍光法により BNI 活性を評価する。また、BNI 活性の高い根圏分泌物の有機化学的特性を明らかにする。

新規遺伝子型検定法 GRAS-Di によるミニコアコレクションの遺伝子型検定

変異に富み、かつ倍数性の高い作物にも適用が可能な新規遺伝子型検定法 (GRAS-Di 法) を、構築されたミニコアコレクションのコムギ系統に適用し、当該コムギ 300 点の遺伝子型を明らかにする。

高 BNI 能コムギ品種栽培が土壤中の窒素動態および環境負荷量に及ぼす影響の定量

CIMMYT 内の試験圃場で高 BNI 能コムギ品種を栽培し、土壌試料を採取し、分析することで高 BNI 能コムギ栽培が土壌窒素動態に及ぼす影響を明らかにする。また、CIMMYT において、ポットにより高 BNI 能コムギ栽培試験を実施し、投入 N 量と系外流出 N 量を定量することで、環境負荷量の低減効果を検証する。

表現型検定と遺伝子型検定の組み合わせによるゲノムワイド関連解析 (GWAS) の実施と BNI 形質に関するマーカーの特定

コムギ・ミニコアコレクションを対象とした BNI 関連形質評価結果と GRAS-Di 法による遺伝子型データを活用し、ゲノムワイド関連解析を実施し、BNI 関連形質における遺伝子マーカーを特定する。

4. 研究成果

デュラム野生種コムギのコアコレクション作成のため CIMMYT 所蔵系統のデータベース検索を行ったところ、CIMMYT には 1531 系統が存在する事が分かり、またイスラエル由来系統が最多であることが判明した (890 系統; 全体の 57%)。分布中心が最も変異性があるため、イスラエル系統を中心に系統を選抜し、328 系統からなるコアコレクションを作成した。

(図 3)

これらの系統から DNA を抽出し Genotyping by Random Amplicon Sequencing-Direct (Gras-Di) 法による遺伝子型分析を実施した。各系統の平

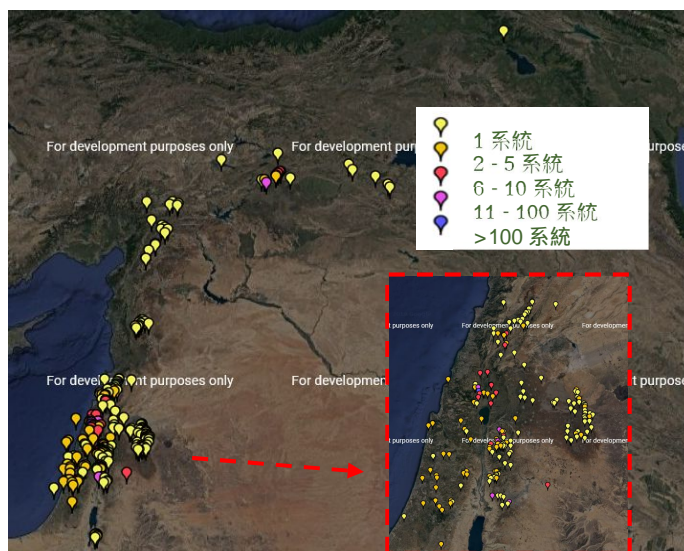


図 3 野生デュラムコムギの分布とコアコレクション作成

表2 CIMMYT デュラムコムギのコアコレクション疎水性 BNI 能
 疎水性 BNI 能は、他の作物に比べ低いが、その中の代表的な低 BNI 能系統と高 BNI 能系統を示す

Genetic contrasts for hydrophobic-BNI capacity in durum wheat mini-core germplasm								
Serial no.	Entry No.	Genetic Stock	BNI-activity per plant (ATU plant ⁻¹)		Root dwt (mg)		Specific BNI-activity (ATU g ⁻¹ rtwt)	
			Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE
Low-hydrophobic-BNI activity genetic stocks								
1	26	DURUM 2153	0.80	0.49	0.16	101	58.4	
2	5	CIGM91.347.5	0.78	0.18	0.123	127	25.9	
3	8	CIGM91.349.2	0.2	0.46	0.124	36	75.2	
4	15	CIGM91.347.11	0.77	0.42	0.125	119	59.8	
5	17	CIGM91.347.13	0.99	0.29	0.127	161	58	
6	60	DURUM 1128	0.98	0.32	0.03	544	144.2	
7	91	AAM-02.214	0.11	-	0.031	73	-	
8	104	TD-209.29	0.61	-	0.041	299	-	
9	121	TD-1977.6	0.38	-	0.024	319	-	
10	125	TD-2075.5	0	-	0.041	0	-	
High-hydrophobic-BNI activity genetic stocks								
1	11	CIGM91.349.5	3.67	0.49	0.103	737	177.7	
2	21	CIGM91.349.9	3.78	0.23	0.129	604	117.9	
3	58	DURUM 2808	3.44	0.09	0.12	587	71.5	
4	69	T.DICOCUM IG86101	3.89	0.36	0.133	586	16.5	
5	79	T.DICOCUM IG141479	3.96	0.04	0.129	617	41.3	
6	83	AAM-02.194	3.58	-	0.03	2387	-	
7	110	TD-1092.12	4.91	0.08	0.08	1267	3.4	
8	163	T.DICOCUM IG126374	3.63	0.03	0.09	835	137.6	
9	168	T.DICOCUM IG127690	3.79	0.26	0.027	3458	1602.3	
10	179	T.DICOCUM IG86142	4.14	0.01	0.116	720	66.4	

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 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Subbarao G. V., Searchinger Timothy D.	4. 巻 118
2. 論文標題 A “ more ammonium solution ” to mitigate nitrogen pollution and boost crop yields	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 1-5
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1073/pnas.2107576118	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0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

窒素汚染と食料増産への解決策「アンモニウムの活用」 https://www.jircas.go.jp/ja/release/2021/press202103
--

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	中村 智史 (Nakamura Satoshi) (00749921)	国立研究開発法人国際農林水産業研究センター・生産環境・畜産領域・主任研究員 (82104)	
研究分担者	安西 俊彦 (Anzai Toshihiko) (40829991)	国立研究開発法人国際農林水産業研究センター・熱帯・島嶼研究拠点・プロジェクトリーダー (82104)	

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
研究 分 担 者	吉橋 忠 (Yoshihashi Tadashi) (60450269)	国立研究開発法人国際農林水産業研究センター・生物資源・ 利用領域・プロジェクトリーダー (82104)	

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