

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K06759

研究課題名（和文）バイオマーカーを利用した耐乾性コムギ育種法の確立および代謝物QTL解析

研究課題名（英文）Establishment of biomarker-based drought-tolerant wheat breeding methods and metabolite QTL analysis

研究代表者

妻鹿 良亮（Mega, Ryosuke）

山口大学・大学院創成科学研究科 ・准教授

研究者番号：80738526

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、メタボローム解析によっていくつかのアミノ酸とその前駆体および植物ホルモンが乾燥ストレスと密接に関連するバイオマーカー候補として見出された。また、レインアウトシェルターを利用した乾燥ストレスの栽培試験によって、収量性形質の一つである千穀粒重と光合成関連形質である水利用効率（二酸化炭素同化速度/蒸散速度）が強い相関を示すこと、および千穀粒重に関連するQTLが見出されており、節水と種子の大きさが密接に関連し、節水しつつも収量が確保できる優秀な系統が本集団に存在することが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

自然交配系統から節水型耐乾性コムギを選抜するという本研究の目的の一つは達成できた。また、バイオマーカーとして可能性が高い代謝物に関する知見も得られており、バイオマーカー育種確立への一歩が踏み出せたと考えられる。近年は日本においても局地的な少雨によって貯水池の水位が低下し、農業用水の確保が難しい地域に関する報告が上がっている。また、夏場の猛暑によって水が過剰に蒸発し、乾燥ストレスを農作物が受ける事態が発生している。節水形質はこれらの危機を乗り越える切り札として貢献できることが期待される。

研究成果の概要（英文）：In this study, metabolomic analysis identified several amino acids and their precursors and phytohormones as candidate biomarkers closely related to drought stress. In addition, drought stress cultivation trials using rainout shelters revealed a strong correlation between one of the yield traits, thousand-grain weight, and a photosynthesis-related trait, water use efficiency (CO₂ assimilation rate/transpiration rate), and QTL associated with thousand-grain weight, indicating that water conservation and seed size are closely related. The results suggest that water saving is closely related to seed size and that there are superior lines in this population that can save water and still ensure yield.

研究分野：遺伝育種科学

キーワード：節水型耐乾性 バイオマーカー 代謝物 QTL コムギ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

アブシシン酸(ABA)受容体遺伝子の過剰発現によって気孔を閉鎖気味に保つことによって蒸散を抑え、水の消費量を低下させることで、種子収量を維持できる「節水型耐乾性」形質をコムギが獲得できることを先行研究において見出した(以下、TaPYLox)。しかし、遺伝子組換え作物の社会的許容の観点からも遺伝子の過剰発現では栽培系統としての確立は現在の時世的に難しい。そのため本研究では、43種類のDゲノムドナーを親に持つ多重合成コムギ派生(MSD)集団という多様な遺伝的背景を持つ自然交配系統から節水型耐乾性系統の探索を行う。節水型耐乾性コムギは非節水型と比較して、(1)植物体の葉表面温度が高い。(2)炭素安定同位体比の値が大きい。(3)1000粒種子重の低下が小さい。等の特徴が見られる。しかし、いずれの表現型のデータを取得するためには、植物を登熟まで育てる必要があるため、申請者はより簡便な選抜方法を確立することを目的に形質バイオマーカーを探索する。

2. 研究の目的

本研究では上記のTaPYLoxをモデルとして、天水が少なく、灌漑のみで水のコントロールが可能なスーダンの圃場を利用してMSD集団から節水型耐乾性コムギを選抜する。選抜したコムギ系統を親系統としてQTL解析を行うためのマッピング集団を作出し、節水型耐乾性に関連する新奇遺伝子座の同定を試みる。乾燥ストレス耐性には適合溶質と呼ばれる一次代謝物が複数関与することが知られている。「節水型耐乾性」と代謝物の関係性の証明を目的として、メタボローム解析を行った。

3. 研究の方法

1.自然交配系統であるMSD集団からの節水性系統の選抜

灌漑によって湿潤区と乾燥区に分けたスーダンでの圃場試験において、節水性を評価するため、TaPYLoxに特徴的な炭素同位体比の値に注目してMSD集団からの選抜を行った。

2.選抜された系統間での組換え近交系(RIL)集団の作製

炭素同位体比によって節水型あるいは非節水型と評価された親系統を交配し、自殖を繰り返した後、RIL集団として立ち上げた。

3.メタボローム解析

山口大学の共通機器であるGCMSにおいて、メタボローム解析用のメソッドを立ち上げ、TaPYLoxと標準系統で代謝物の分析を行い、種子成熟期の乾燥ストレス応答の違いをメタボロームによって比較した。

4.RILのシーケンス解析

GRAS-Di技術による次世代シーケンス解析を外注し、神戸大学の松岡由浩教授の協力のもと連鎖地図の作成を行った。また、岡山大学の西村和紗助教が開発したMIG-seqによるシーケンスデー

タの取得を行い、Rによる連鎖地図の作成およびQTL解析パイプラインを構築した。

5. 光合成関連形質および農業的形質に関する表現型データを取得

鳥取大学乾燥地研究センターのレインアウトシェルターにて本研究で作出した RIL 集団の栽培試験を石井孝佳准教授の協力のもと行った。コムギの開花期に合わせて光合成関連形質（CO₂ ガス交換速度、蒸散速度、クロロフィル蛍光）データの取得を MIC-100（マサイインタナショナル）および Li-600（Li-Cor）を用いて行った。さらに、収穫したコムギの農業的形質（植物体重、穂重、種子重など）の計測を行った。

6. 表現型データとシーケンスデータを用いた QTL 解析

上記 4 で構築したパイプラインに 5 で取得した表現型データを通すことによって QTL 解析を行った。

4. 研究成果

1. 節水型 MSD 系統の選抜

MSD 集団を灌漑圃場で栽培し、そこで採取した葉のサンプルを炭素同位体比分析に供試し、その結果に基づいて組換え自殖近交系（RIL）集団を作出する際の親系統の選抜を行った。その後、節水型と非節水型の系統を両親として交配を行い、RIL 集団を作出した。RIL 集団は F7 世代まで世代促進を行い、222 系統を確保した。

2. TaPYLox のメタボローム解析

乾燥ストレス耐性に関わる代謝物をバイオマーカー候補として選抜するため、節水型耐乾性のモデル系統であるアブシシン酸（ABA）受容体過剰発現コムギと非組換え系統を進行性の乾燥ストレス下で栽培し、メタボロームの比較解析を行った。農林 61 号を実験系統として用いた先行研究で見出されたいくつかのアミノ酸とその前駆体については、再現性が見られたことから、これらを乾燥ストレス耐性と密接に関連するバイオマーカー候補とした。

3. RIL 集団の栽培試験および QTL 解析

鳥取大学乾燥地研究センターのレインアウトシェルターにて RIL 集団を用いた栽培試験を湿潤区と乾燥区に分けて 2 シーズン（2022-23、2023-24）実施した。その結果、湿潤区と乾燥区で光合成関連形質の表現型値は異なる正規分布を示したことから、乾燥区における乾燥ストレス処理が十分であることを確認した。収穫した植物体の植物体長、植物体の総重量、地上部重量、穂および種子数、重量の計測を実施し、こちらに関しても乾燥ストレス処理が十分であることを確認した上で、2022-23 シーズンに取得した形質データと当該集団の DNA シーケンスデータより構築した解析パイプラインを使用して QTL 解析を実施した。特に、収量性と深く関連する千穀粒重に関連する QTL が見出され、さらに収量性形質の一つである千穀粒重と光合成関連形質である水利用効率（二酸化炭素同化速度/蒸散速度）が強い相関を示した。これらの結果から、節水形質と種子の大きさが密接に関連し、節水しつつも収量が維持できる優秀な系統が本集団に存在することが示唆された。自然交配系統から節水型耐乾性コムギを選抜するという本研究の目的の一つは達成できており、バイオマーカー候補が見出せている。このことから、今後は 2 シーズ

ン目のデータで再現性を確認し、バイオマーカー候補の代謝物と節水形質との関係を明らかにする。節水性系統を自然交配系統から作出できたことで、乾燥地農業の推進に役立つことが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Mega Ryosuke, Kim June-Sik, Tanaka Hiroyuki, Ishii Takayoshi, Abe Fumitaka, Okamoto Masanori	4. 巻 13
2. 論文標題 Metabolic and transcriptomic profiling during wheat seed development under progressive drought conditions	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 15001
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21203/rs.3.rs-2418535/v1	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 -
1. 著者名 妻鹿良亮	4. 巻 6
2. 論文標題 コムギの節水化に向けた分子的理解と応用	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 アグリバイオ	6. 最初と最後の頁 62-65
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 妻鹿良亮	4. 巻 6
2. 論文標題 コムギの代謝物解析とバイオマーカー育種への展開	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 アグリバイオ	6. 最初と最後の頁 70-73
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Itam M, Mega R, Gorafi Y, Yamasaki Y, Tahir I, Akashi K, Tsujimoto H	4. 巻 135
2. 論文標題 Genomic analysis of heat and combined heat-drought resilience in bread wheat under field conditions.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Theoretical and Applied Genetics	6. 最初と最後の頁 337-350
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00122-021-03969-x	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 Itam M, Mega R, Tadano S, Abdelrahman M, Matsunaga S, Yamasaki Y, Akashi K, Tsujimoto H.	4. 巻 10
2. 論文標題 Metabolic and physiological responses to progressive drought stress in bread wheat.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific reports	6. 最初と最後の頁 17189
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-74303-6	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 -

1. 著者名 Itam M, Abdelrahman M, Yamasaki Y, Mega R, Gorafi Y, Akashi K, Tsujimoto H	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
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 -

1. 著者名 妻鹿良亮, 岡本昌憲	4. 巻 55
2. 論文標題 アブシシン酸受容体の利用による節水性と耐乾性を兼ね備えたコムギの開発	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Regulation of Plant Growth & Development	6. 最初と最後の頁 126-130
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計13件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Mega R, Tanaka H, Kim JS, Ishii T, Abe F, Okamoto M.
2. 発表標題 Analysis of molecular effects in developing seeds by drought stress.
3. 学会等名 2nd International Wheat Congress (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 妻鹿良亮, 金俊植, 石井孝佳, 田中裕之, 安部史高, 岡本昌憲
2. 発表標題 成熟途上種子における乾燥ストレスが及ぼす分子的影響の解析.
3. 学会等名 日本育種学会第142回講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 妻鹿良亮, 山崎裕司, 辻本壽
2. 発表標題 自然突然変異コムギ系統群からの節水型耐乾性系統の選抜
3. 学会等名 日本育種学会第141回講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 妻鹿良亮, 石井孝佳, 田中裕之, 安部史高, 岡本昌憲
2. 発表標題 成熟途上種子における乾燥ストレスが及ぼす分子的影響の解析
3. 学会等名 第13回中国地域育種談話会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Merga R
2. 発表標題 METABOLOMIC AND TRANSCRIPTOMIC APPROACH TO DETERMINE PLANT HEAT TOLERANT MECHANISM
3. 学会等名 Priority University 2023 (招待講演)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 妻鹿良亮、金俊植、石井孝佳、田中裕之、安倍史高、岡本昌憲
2. 発表標題 コムギ種子成熟過程における乾燥ストレスが及ぼす分子的影響
3. 学会等名 第18回コムギ類研究会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 平田駿一郎、横山聡太郎、辻本壽、妻鹿良亮
2. 発表標題 コムギTILLING集団からの節水型耐乾性系統の選抜および生理学的解析
3. 学会等名 日本育種学会第144回講演会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 平田駿一郎、横山聡太郎、辻本壽、妻鹿良亮
2. 発表標題 コムギTILLING集団からの節水型耐乾性系統の選抜および生理学的解析
3. 学会等名 第15回中国地域育種談話会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 パンコムギの節水型耐乾性に寄与するQTLの探索
2. 発表標題 日名弘貴、松岡由浩、石井孝佳、妻鹿良亮
3. 学会等名 第15回中国地域育種談話会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 松永 幸子、山崎 裕司、金 俊植、辻本 壽、妻鹿 良亮
2. 発表標題 高温ストレスによるサイトカイニン、オーキシン量の変化に伴うコムギ幼苗の形態変化
3. 学会等名 植物化学調節学会第58回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 妻鹿良亮、金俊植、石井孝佳、田中裕之、安倍史高、岡本昌憲
2. 発表標題 成熟途上コムギ種子における乾燥ストレスが及ぼす分子的影響の包括的解析
3. 学会等名 第17回ムギ類研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 横山聡太郎、平田駿一郎、吉田莉保子、辻本壽、妻鹿良亮
2. 発表標題 コムギTILLING集団におけるABA感受性の評価
3. 学会等名 第14回中国地域育種談話会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 妻鹿良亮、山崎裕司、辻本壽
2. 発表標題 自然突然変異コムギ系統群からの節水型耐乾性系統の選抜
3. 学会等名 日本育種学会第141回講演会
4. 発表年 2022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	石井 孝佳 (Ishii Takayoshi)		
研究協力者	西村 和紗 (Nishimura Kazusa)		
研究協力者	松岡 由浩 (Matsuoka Yoshihiro)		

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