

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 9 日現在

機関番号：15101

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23380006

研究課題名(和文) 節肥性を示す異種染色体添加コムギおよび合成コムギの遺伝育種学的研究

研究課題名(英文) Genetical and Breeding Studies on alien chromosome addition and synthetic wheat lines showing fertilizer saving

研究代表者

辻本 壽 (TSUJIMOTO, Hisashi)

鳥取大学・乾燥地研究センター・教授

研究者番号：50183075

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,600,000円、(間接経費) 4,380,000円

研究成果の概要(和文)：少ない肥料で生育できミネラルを多く含む形質をコムギに付与することは、肥料資源と地球環境保護、コムギを通じた人類へのミネラル供与に重要である。本研究では、異種染色体添加系統および一次合成コムギ系統のリンと亜鉛含量をICP分析装置によって測定した。添加系統を用いた実験では、種子含量が茎葉の含量と相関し、幼苗検定で選抜できることを明らかとした。一次合成コムギを用いた研究では、11元素を調査した。その結果、リン、亜鉛および鉄含量は相関があること、改良品種の含量は低いこと、含量と種子重とは弱く逆相関していることを見いだした。この結果より、野生植物の遺伝資源がコムギ育種に有用であることが分かった。

研究成果の概要(英文)：Fertilizer saving and high mineral contents are the important traits to keep natural fertilizer resource and global environment and also to provide nutrients to human being through wheat. In this study we quantified phosphorus and zinc in alien chromosome addition wheat lines and primary synthetic wheat lines by ICP analyzer. The study using the addition line revealed correlation between the contents in kernels and in shoot, suggesting possibility of selection in young seedlings. In the study using the primary synthetic wheat, we analyzed 11 elements and found that there is high correlation among P, Zn and Fe contents, that improved cultivars used as checks contain low minerals, and that there is low correlation between the mineral contents and the kernel weight. These studies elucidated usefulness of wild germplasm for wheat improvement.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学・育種学

キーワード：コムギ 染色体添加 リン酸肥料 亜鉛 節肥性

## 1. 研究開始当初の背景

現在、約 70 億人の人口は 50 年後には 100 億人に迫ると予想されている。経済発展のため肉食が増えることを考慮すると、この間に穀物生産を倍増しなければならず、これは、人類に課せられた最大の問題といえる。

ところで、過去、50 年を振り返ると、人口は 30 億(1960 年)から 70 億人(2010 年)となった。この間に穀物生産は 9 億トンから 24 億トンに伸び、1 人あたりの穀物割当は、人口増を捉える事ができた。この、2.7 倍もの生産増を可能にしたのは、いわゆる「緑の革命」によるものである。つまり、灌漑、化学肥料の投入、機械化と、それを受け止める事のできる改良品種の開発によるものである。

しかし、穀物増は最近になって鈍化し始めており、人口増を捉えられず、「世界食糧同時危機」が発生し、世界の政情が不安定になっている。緑の革命は世界に普及し渡り、今後さらに穀物を増産するには、これまでにない形質を含む品種開発など、新しい技術を取り入れる必要がある。その時に、考慮する必要があるのは、農業が与える環境負荷と農業資源の枯渇の問題である。例えば土壌に施用された窒素肥料は、分解され大気中に温室効果ガスを放出し、地下水を汚染する。また、リン肥料の原料であるリン鉱石は、2050 年までに枯渇すると予測され、価格が急騰している。また、気候変動に耐え得る品種や、微量栄養素等の成分の吸収力の高い品種の開発が必要である。

研究実施者はこれまでに、野生植物の染色体やゲノムをもつ多くの系統の性質を調査し、その中に、リン肥料の利用効率の良い系統のあることを見いだした。また、亜鉛、鉄含量の高い系統も探索していた。本研究はそれらの系統を更に解析した。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、リン酸肥料を効率よく吸収できる系統、および、染色体添加系統と合成コムギの亜鉛吸収量を調査し、その遺伝的解析を行うことである。

## 3. 研究の方法

### (1) 植物材料

マカロニコムギ品種「Langdon」と自然分布域の各所より収集した、野生種タルホコムギのとの交雑による複二倍体系統(一次合成コムギ)47 系統、合成コムギの 1 系統(ABD-4)とパンコムギ品種「Chinese Spring (CS)」間で育成した組換え近交系統 115 系統、6 種(*Ae. caudata*, *Ae. geniculata*, *Ae. longissima*, *Ae. peregrina*, *Ae. searsii*, *Ae. umbellulata*)の各染色体を含む 47 添加パンコムギ系統。予備調査で、リン酸吸収能力が高いことが分かっていた、オオハマニンクウの J 染色体ダイソミック添加系統。および、対照として、異種染色体添加系統の受容親 CS、および実用コムギ品種「小麦農林 61 号

(N61)」、「Cham 6 (C6)」および「Safedak Ishkashim (SI)」を実験に供試した。

### (2) 実験方法

#### ミネラル含量の測定

全粒を希塩酸で短時間洗い乾燥させた。5 ~ 10 粒の種子を 200 の硝酸で溶解させた。溶解中、 $H_2O_2$  を 2,3 度加えた。元素は ICP-AES で測定し、1kg 乾物重あたりの重量(mg)で表した。3 回反復実験を行った。一方で、それら系統の 5~10 粒の種子重を測定した。データを分散分析したあと、形質間の相関を調べた。

#### 染色体切断系統の作成

高いリン酸吸収能力があることが示唆されたオオハマニンクウの J 染色体添加パンコムギ系統の開花期に 15Gy の X 線を照射し、CS に交配した。得られた種子を発芽させ、根端分裂組織を用いて、染色体構成を調査した。オオハマニンクウ染色体の識別は、ゲノム in situ ハイブリダイゼーション法によって行った。

#### 組換え近交系統の連鎖地図作成

パンコムギ品種 CS と一次合成コムギ「ABD-4」の組換え近交系を育成した。この 115 個体と、それぞれの親の DNA を、DART 社に送り、多型を解析した。このデータに基づき、連鎖地図を作成した。この DART アレーには既知の染色体腕 SSR マーカーも含まれており、染色体腕を同定した。

## 4. 研究成果

### (1) ミネラル含量の測定

#### 異種染色体添加系統

受容親である CS の鉄および亜鉛含量は、それぞれ 26.9mg/kg、20.5mg/kg であったが、添加系統は、鉄が 17.6-71.9mg/kg、亜鉛が 13.1-71.3mg/kg であった。カリウム、マンガ、銅の含量も添加系統により、含量が大きく異なっていた。

カリウムと種子重には弱い逆相関があったが、突出して含量の高いものがあつた。したがって、鉄や亜鉛の含量は、種子が小さくなることによる濃縮効果のみでは説明できないことが明らかとなった(図 1)。

8 系統が鉄と亜鉛を 50%以上増加させ、育種への可能性を示したので、産出年の異なる材料を用いて再現を調査した。分散分析の結果、環境(産出年)の違いがミネラル含量の違いに影響を及ぼすことが分かったが、選抜した系統は、両年とも高い値を示し、この系統に添加されている異種染色体が、これらのミネラル含量の増加に起因していることが分かった。これらの系統は、*Ae. umbellulata* の 2U または 6U 染色体を含む系統、*Ae. longissima* の 1S<sup>1</sup> または 2S<sup>1</sup> 染色体を含む系統、*Ae. searsii* の 1S<sup>s</sup> または 2S<sup>s</sup> 染色体を含む系統、*Ae. peregrina* の 4S<sup>v</sup> 染色体を含む系統、*Ae. caudata* の B 染色体を含む系統、*Ae. geniculata* の 5M<sup>o</sup> 染色体を含む系統であり、

図 1 47 異種染色体添加系統の種子に含まれる、K、Mn、Fe、Cu、Zn と種子の大きさの相関

	K	Mn	Fe	Cu	Zn
Mn	NS				
Fe	NS	**			
Cu	NS	NS	NS		
Zn	NS	NS	**	**	
SS	*	NS	NS	NS	NS

註) NS: 有意な相関無し、\*: 5%水準で有意、\*\* : 1%水準で有意、SS: 種子重。

育種素材として重要であることが分かった。また、鉄、亜鉛および銅の含量は系統により強い相関が見られ(図1)、これらの元素は同じ機構で吸収され、種子に転移されることが示唆された。

ところで、この研究では純系(ダイソミック添加系統)用いたが、この種子による評価は、実際の育種選抜に用いる場合、測定後の個体(種子)が再現できないので、分離世代では不適切である。そこで、茎葉と種子におけるミネラル含量の相関を調査した。その結果、播種後2.5か月の植物の茎葉におけるミネラル含量が、種子のミネラル含量と有意に相関しており、この時期の植物を用いれば、選抜できることが明らかとなった。

#### 一次合成コムギ

異種染色体添加系統に高ミネラル含量の系統を見いだしたので、パンコムギと同じゲノム構成をもち、育種に利用しやすい一次合成コムギ47系統のミネラル含量を調査した。その結果、多くの一次合成コムギが、対照として用いた実用品種CS、N6、C6、SIよりも、種子重が大きいこと(図1)、一次合成コムギのミネラル含量は多様であるが、ほとんどが

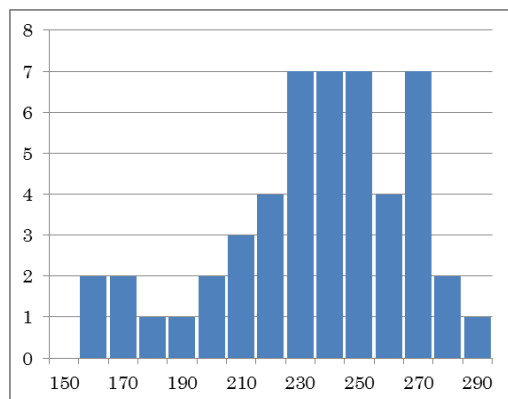


図1 合成コムギ及び実用品種の種子重の分布(種子5粒の重さ mg) 実用品種CS、N61、C6、SIの種子重はそれぞれ、183、210、214、250である。

実用品種よりも、格段に多くのFe、Zn、Pを含むことが分かった(図2,3,4)。ただし、ミネラル含量と種子重には有意な負の相関があることが分かり、この要因を取り除き、遺伝的にリンおよび亜鉛を多く含む系統を選抜した。

#### (2) 染色体切断系統の作成

ミネラルの蓄積に關与する異種染色体部位の同定と、異種染色体の微小部分をコムギ染色体に取り込むことを目的として、X線照射花粉をパンコムギに交配し染色体欠失系統を育成した。しかしながら、欠失染色体をヘミ接合で含むため、これら系統のミネラル含量を調査する前に、染色体をホモ接合にする必要がある。一方、これまでの研究でオオハマニンニクのJ染色体添加系統は、高いリン酸の吸収量を示すことが明らかになっていたので、J染色体を一對添加した系統の花粉にX線を15Gy照射し、多数のF1雑種を得た。しかし、染色体調査で、J染色体の存在が見あらず、系統維持の過程でJ染色体が失われていることが分かった。この系統がど

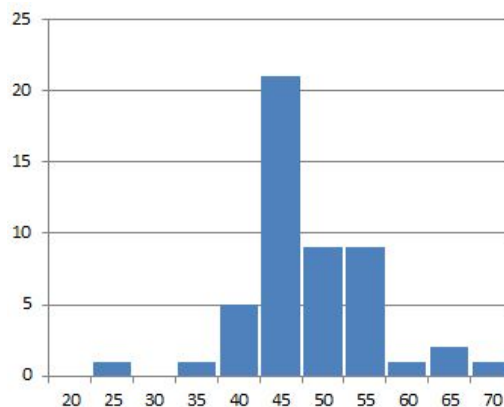


図2 合成コムギ及び実用品種の鉄含量の分布(mg/kg)

実用品種CS、N61、C6、SIの種子重はそれぞれ、32.5、32.8、24.4、35.3である。

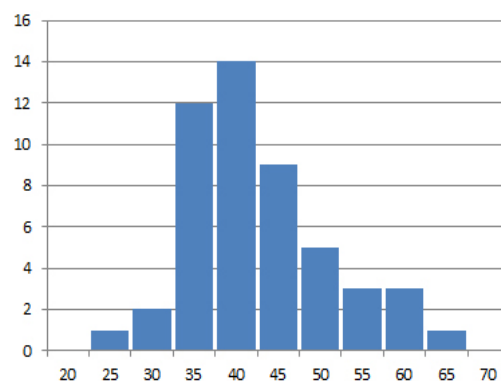


図3 合成コムギ及び実用品種の亜鉛含量の分布(mg/kg)

実用品種CS、N61、C6、SIの種子重はそれぞれ、26.9、32.5、24.0、29.9である。

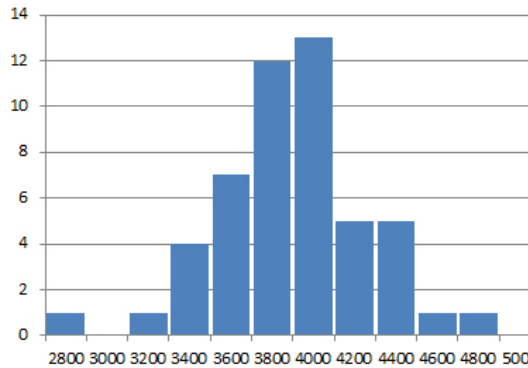


図4 合成コムギ及び実用品種のリン含量の分布(mg/kg)  
実用品種 CS、N61、C6、SI の種子重はそれぞれ、3124、3398、2934、3587 である。

のような理由でJ染色体を失ったかは全く不明であるが、人為的なミスではない。本研究の過程で、世代を遡った系統から、純正な系統を得ることができた。

### (3) 組換え近交系統の連鎖地図作成

一次合成コムギ系統と CS の間で作った組換え近交系統、115 系統を両親種と共に DArT および SNP マーカーで分析し、連鎖地図を作った(図5)。

さらに、47 系統の一次合成コムギに、それぞれ N61 および SI を交配し、さらに、これらの品種で戻し交配した BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> 個体を作成し、それを自家受精させた BC<sub>1</sub>F<sub>2</sub> 集団を作成した。

以上、本研究で、野生植物にはリン、亜鉛、鉄効率が優れた遺伝子があり、これらをコムギ育種に利用できることが明らかとなった。

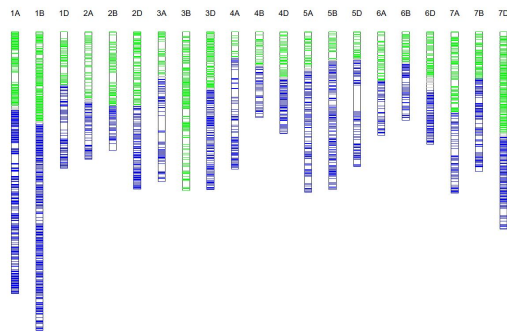


図5 DArT および SSR マーカーで作成した高密度連鎖地図。緑は短腕を、青は著右腕を示す。

## 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1件)

Wang S-W, Yin L, Tanaka H, Tanaka K, Tsujimoto H (2011) Wheat-Aegilops chromosome addition lines showing high iron and zinc contents in grains. *Breeding Science* 61:189-185.doi:10.1270/jsbbs.61.189 査読有り。

### [学会発表](計5件)

辻本 壽: 遺伝資源としてのイネ科野生植物種とその育種利用。染色体学会公開シンポジウム。富山、2013/11/8-15

Tsujimoto H, Sohail Q, Matsuoka Y: Broadening the genetic diversity of common and durum wheat for screening abiotic stress tolerance. 12<sup>th</sup> International Wheat Genetic Symposium, Yokohama, Japan 2013/9/8-14

Tsujimoto H: Novel traits of *Leymus* species that may contribute on wheat improvement. 7<sup>th</sup> International Triticeae Symposium. Chengdu, China, 2013/7/9-13

Tsujimoto H: Multiple synthetic derivative population for wheat breeding in arid lands. International Conference on Agriculture Water Efficient Use in Arid Regions. Yangling, China 2011/8/18-20

Tsujimoto H: Enhancement of wheat germplasm by introduction of alien chromosomes. Japanese-German JSPS and DFG-funded workshop, Frontiers of Plant Chromosome Research, Centromere and Artificial Chromosomes, Gatersleben, Germany 2011/10/31-11/3

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

辻本 壽 (TSUJIMOTO Hisashi)

鳥取大学・乾燥地研究センター・教授

研究者番号: 5 1 0 8 3 0 7 5