



農研機構畜産草地
研究所飼料作物
育種研究チーム
主任研究員
博士（農学）
間野吉郎

昭和 63 年 東京農工大学農学部農学科卒業
平成 5 年 岡山大学大学院農学研究科
修士課程修了
平成 8 年 岡山大学大学院自然科学研究科
博士課程修了 博士（農学）
平成 8 年 科学技術振興事業団
平成 11 年 現職

近縁種テオシントを利用したトウモロコシの耐湿性育種

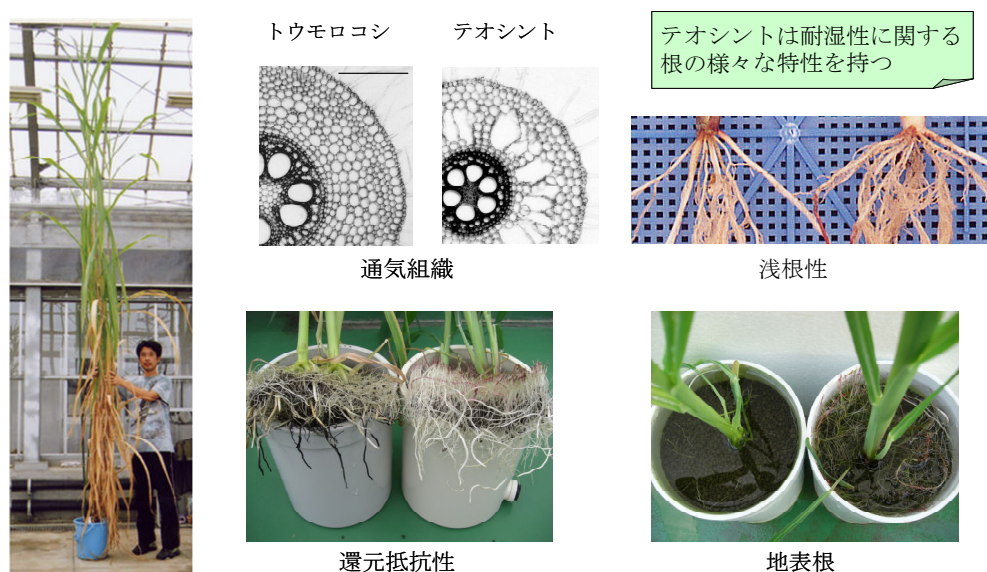
はじめに

我が国の食料自給率を向上するためには、輸入飼料への依存が高い飼料の自給率を高めることが重要となる。しかし、飼料自給率は平成 15 年度で 24 %、自給率向上の取り組みが進んでいる平成 19 年度においても依然として 25 %に過ぎず、その大幅な向上が求められている。飼料増産を図ろうとする状況の中で、水田転換畑へのトウモロコシの作付けを増やすことが望まれているが、その際に生じる湿害が大きな問題となり耐湿性の向上が急務となっている。

主要作物の耐湿性に関する研究例としては、温室などにおける品種・系統の比較試験がオオムギをはじめとして、コムギ、ダイズでみられる。特にオオムギにおいては約 5,000 系統という極めて多くの遺伝資源の耐湿性評価が行われ、栽培種の中から大治 9 や Byng などの高度耐湿性オオムギが得られている (Takeda and Fukuyama 1987、武田 1989、Stanca et al. 2003)。一方、トウモロコシにおいては、耐湿性研究は国内外において古くから行われてきたが、栽培種における耐湿性の遺伝変異が小さいことに加え、耐湿性は複数の要因が関与している難関形質であるため耐湿性の強い実用品種は得られていない。その打開策として、栽培種の遺伝変異を超える遺伝資源の活用が考えられる。

トウモロコシの近縁種であるテオシントは亜種を含めて 7 種あり、それらの自生地では年間降水量が 2,000 mm を超える場合がある。また、比較的最近発見されたニカラグアテオシント *Zea nicaraguensis* は河口付近に自生しており生育期間中は水位が地表面より上 50cm 程度になる場合がある (Bird 2000)。そのような環境においても *Z. nicaraguensis* は草丈が 5 m に達するなど非常に旺盛な生育を示すことから、*Z. nicaraguensis* をはじめとするテオシントはトウモロコシ耐湿性育種のための重要な遺伝資源であると考えられる。

そこで、本研究全体としてはテオシントを利用して耐湿性に関する以下に示す4つの要因それぞれについて遺伝解析を行い、それらの解析で得られる耐湿性に関与する複数の遺伝子（量的形質遺伝子座、QTL）をトウモロコシにDNA マーカーを用いた選抜によって集積した高度耐湿性系統を作出することを目的とする。解析を行う耐湿性関連形質は、1) 低酸素となった根端に酸素を供給するために根の皮層に通気組織と呼ばれる空洞を形成する“通気組織形成能”、2) 過剰な土壌水分によって還元状態になることで生じる二価鉄などの有害物質に対する抵抗性である“還元抵抗性”、3) 過剰な土壌水分によって根に供給される酸素量が制限された際に有利である地表面近くで根系を形成させる“浅根性”、4) 土壌表面よりも水位が高くなった場合に酸素が多い地表面の上まで根を形成する“地表根形成能”である（第1図）。これらの耐湿性に関する要因のうち、平成20年度財団法人サッポロ生物科学振興財団の研究助成（以下助成課題と略す）においては特に通気組織形成能と浅根性に着目して遺伝解析を行った。



第1図 テオシントとその耐湿性関連形質（いずれも左がトウモロコシ、右がテオシント）。

テオシントにおける根の通気組織形成を支配する QTL

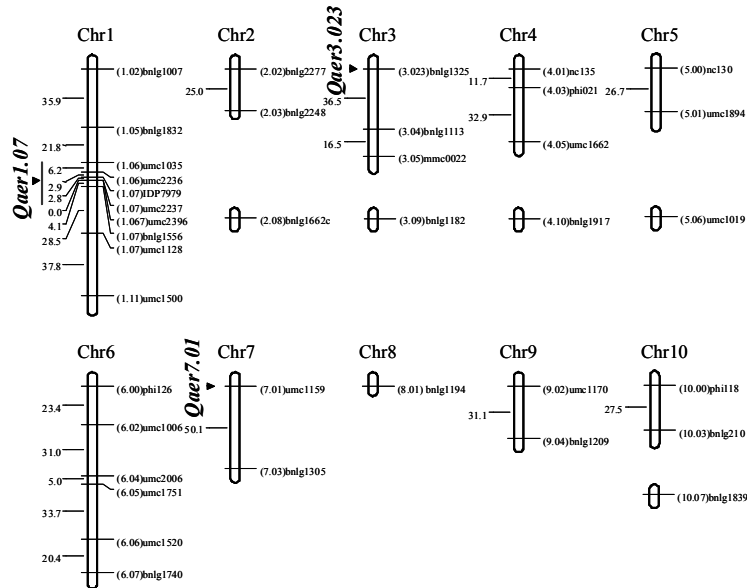
トウモロコシをはじめ、オオムギなどについても湛水条件になると根の皮層部分に通気組織が形成される。しかしその形成には、数日から10日以上を要するので過湿状態になっても直ちに適応することができず湿害を受けてしまう。テオシント *Z. nicaraguensis* はイネなどと同様に好気条件下でもはじめから通気組織を形成するため、この恒常的な通気組織形成能を持つことで過剰水分による低酸素状態に速やかに適応できると考えられている。これまでの著者らの遺伝解析において、恒常的な通気組織形成能に関連する主要な QTL が第1染色体に見出され (Mano and Omori 2008)、戻し交雑によって通気組織形成能の QTL

を優良トウモロコシ自殖系統へ導入することが進められている。

一方で、これまでに著者らは *Z. nicaraguensis* の種内でも通気組織が出来やすい個体と出来にくい個体が分離していることを観察している。そこで助成課題では、その遺伝的要因を明らかにすることを目的に、*Z. nicaraguensis* の自殖後代で生じた分離集団を用いて QTL 解析を行った。ここで得られる QTL の情報と *Z. nicaraguensis* の分離後代を用いることによって、通常の戻し交雑と比較して極めて短期間で通気組織形成能に関する準同質遺伝子系統が得られることが期待できる。

実験には予備実験によって通気組織形成能に関してヘテロであることを確認した *Z. nicaraguensis* (USDA、PI 615697) の 1 粒を自殖させた S₁ 世代 96 個体を供試した。植物体をプラスチックシートにより高さ 30 cm に調整した 1/10000a のポットに 1 個体ずつ 6 葉期まで通常栽培条件で生育させた。下位から 2 番目の節根（第 1 節根）が 30 cm 程度になった時点で 2 本の節根をサンプリングして、それらの根端から 10~15 cm の部位について通気組織を観察した。通気組織の大きさは 0（無）、0.5、1、1.5、2（大）の 5 段階で簡易評価した（大森 2008）。表現型のデータと S₁ 世代で DNA 多型を示す 38 の DNA マーカーにより作成した連鎖地図を用いて QTL Cartographer により QTL 解析を行い LOD スコア（QTL の有意水準を示す指標）が 2.5 以上を有意な QTL とした。

Z. nicaraguensis の S₁ 世代における通気組織形成能は 0.1 から 1.9（平均 1.1）の連続変異を示した。*Z. nicaraguensis* の S₁ 世代において DNA 多型を示した染色体部分において連鎖地図を作成することができた（第 2 図）。通気組織形成能に関連する QTL の位置と効果を推定したところ、第 1 染色体（Qaer1.07; LOD=4.7）、第 3 染色体（Qaer3.02-3.03; LOD=2.9）および第 7 染色体（Qaer7.01; LOD=2.9）に有意な QTL が見出された（第 2 図）。



第 2 図 *Z. nicaraguensis* の分離世代 (S₁) で見出された通気組織形成能に関連する QTL。

今回見つかった第1染色体のQaer1.07は、位置関係から以前著者らが解析したB64 x *Z. nicaraguensis*のF₂集団において報告されたQaer1.07 (Mano et al. 2007) と同一であると考えられる。自殖集団の中からQaer1.07のみをホモで持つ個体、および3つのQTLをいずれも持たない個体を選び採種を進めており、そこで得られる系統は準同質遺伝子系統として通気組織の機能解析への利用が期待できる。

トウモロコシ交雑集団を用いた圃場における根の角度を支配するQTL

コムギにおいて、遺伝的な浅根化によって圃場レベルの耐湿性を高めることができる可能性が示されている (小柳ら 2004)。これまでの著者らの *Zea* 属における研究で、浅根性と関係する根の角度には系統間差異が存在することが明らかとなっている。また、トウモロコシとテオシントの交雑F₂集団を用いたポット試験において、浅根性に関連する根の角度を支配するQTLが主に第7染色体に見出された。以上のように浅根性の遺伝性に関して基礎的知見が得られはじめてきているが、それらは主に温室での実験であるため助成課題においては圃場におけるデータ収集を行う。著者らはトウモロコシとテオシントを交雑して自殖によって遺伝的に固定したマッピング集団を現在養成中であるが、現時点ではまだ完成していない。そこで、本実験ではSenior et al. (1996) によって養成されているトウモロコシ同士の交雑集団を圃場で栽培し、浅根性に関連する根の角度のQTL解析を行うとともに、湛水条件下における地表根形成能との関係を検討した。

実験にはトウモロコシB73 (深根性) とMo17 (浅根性)、および組み換え型自殖系統 (Recombinant Inbred lines, RILs) 106系統を供試した。両親およびRILsを畜産草地研究所那須拠点の圃場において各系統5個体ずつ2反復で7葉期まで慣行栽培した。圃場において短期間で極めて多くの個体の形質評価を行うのは困難であることから、地下部を掘り上げて丁寧に水洗した後、-20°Cのフリーザーで一時的に保存した (大森 2008)。その後、下から2番目 (第1節根) と3番目の節から出る根 (第2節根) の水平面からの角度を5度刻みに調査した (個体当たり各3-4本程度)。表現型のデータと233のRFLPマーカーにより作成した1,830 cMの連鎖地図を用いてQTL解析を行った。解析にはQTLCartographerを用い、LODスコアが2.5以上を有意なQTLとした。

B73の根の角度は、第1節根が52度、第2節根が62度、またMo17は第1節根が33度、第2節根が41度と両親の間で明瞭な差異が認められた。RILs集団においては第1節根で23~65度 (平均38度)、第2節根で33~65度 (平均47度) と連続変異を示し、本形質は複数の遺伝子に支配されている量的形質の可能性が示唆された。根の角度に関連するQTLの位置と効果を推定したところ、第1節根において第3染色体 (bin 3.04) のマーカー“asg48a”近傍にQTLが見出され (LOD=2.6, a=-3.0, r²=0.11)、これはこれまでに報告のない新規のものである。なお、第2節根においては有意なQTLは見出されなかった。

著者らによって、根の角度を支配するQTLと湛水条件下における地表根形成能のQTLと

の関連性が示されている。そこで、本実験において見出された第3染色体の根の角度を支配する QTL について複数の交雑集団を用いた地表根形成能の QTL マッピングの結果と比較したところ、*Z. nicaraguensis* が持つ第3染色体の QTL (近傍のマーカー: bnlgl1113, bin 3.04) の位置と重なっていたため、それらは同一である可能性が示唆された。

今後の展望

本研究は、耐湿性トウモロコシの作出のために遺伝資源テオシントを利用するという他には類のないユニークなものである。本助成課題によって、通気組織形成能と浅根性に関する新たな知見を得ることができた。さらに、著者らはごく最近トウモロコシ x *Z. nicaraguensis* の戻し交雑後代の集団の中から還元が進んだ湛水条件下においてもほとんど葉身に害が出ない系統を見出した (第3図)。この系統は、開発が間近である通気組織形成に関する QTL をトウモロコシに導入した準同質遺伝子系統と同様に高度耐湿性を備えた品種を作出するにあたって重要な交雑親になることが期待できる。現在、耐湿性品種の実用化に向けてこれら複数の遺伝子を集積したトウモロコシ系統の作出を進めており、これは水田転換畑におけるトウモロコシ栽培を可能とし、国産飼料の安定した供給に寄与することが期待できる。



第3図 トウモロコシ x *Z. nicaraguensis* の戻し交雑後代から選抜された高度耐湿性系統 (左) とトウモロコシ (右)。

成果の公表

- 1) 間野吉郎・小柳敦史 (2009) イネ科作物の耐湿性研究の現状と今後の展開方向. 日本作物学会紀事 78 (4): 441-448.
- 2) 間野吉郎・大森史恵・高橋秀和 (2009) テオシント *Zea nicaraguensis* における根の通気組織形成能の変異と QTL 解析. 根の研究 18 (4): 171.

謝辞

本研究をご支援いただいた (財) サッポロ生物科学振興財団、そしてトウモロコシの耐湿性研究に貴重なご助言をいただいた岡山大学名誉教授武田和義先生に心より感謝の意を表します。