

学 位 論 文 題 名

コムギの穂発芽耐性および雪腐病抵抗性に関与する
遺伝子座 (QTL) のマッピングと育種的利用に関する研究

学位論文内容の要旨

雪腐病抵抗性と穂発芽耐性は北海道におけるコムギの主要な育種目標である。しかし、両形質の発現は環境の影響を受けやすく、その遺伝機構の複雑さゆえに抵抗性コムギの選抜には多くの年月を要する。本研究では、両形質について優れた素材の作出を進めるとともに両形質を支配する量的遺伝子座 (QTL) を探索し、これを基盤に DNA マーカーを活用した選抜方法の構築を試みた。

1. 半数体倍加系統 (DH 系統) の作出

薬培養法とトウモロコシ法により半数体を誘発し、6 箇年で計 17,666 の DH 系統を作出した。これらは有望な育種素材として選抜に供されているだけでなく以下に述べる連鎖地図の作製や QTL 解析の材料としても有用であった。

2. SSR 連鎖地図の構築

連鎖地図を構築するため、Simple Sequence Repeat (SSR) を含む配列をゲノムライブラリーやデータベースから単離もしくは探索し、計 250 座の SSR マーカーを開発した。これと既知の 213 座の SSR マーカー、1 座の形態マーカーを併せた 464 座から成る、全長 3,441cM の連鎖地図 (ゲノムの約 86% に相当) を作製することができた。

3. 雪腐病抵抗性 QTL のマッピング

連鎖地図の作製には北海道の秋播コムギ品種「きたもえ」とスイス在来系統の「Münstertaler」との交雑 F₁ に由来する DH 系統を用いた (KM 集団)。「Münstertaler」は雪腐病 (雪腐黒色小粒菌核病) に対して極めて高い抵抗性を示す有用遺伝資源であることを見出した。SSR 連鎖地図を用いて、高度な抵抗性に関与する複数の QTL (3A、2D、5D 染色体に座乗) を検出した。特に 5D 染色体上の QTL (*QSmr.hgb-5DL*) は、2 箇年の雪腐病検定を通して大きい寄与率を示した。また、DH 系統から選抜された高度な抵抗性系統は、すべて「Münstertaler」の *QSmr.hgb-5DL* 領域を保持しており、雪腐病抵抗性育種の鍵となる重要な QTL が見出されたといえる。

4. 穂発芽耐性に関連する要因の解析

従来、種皮色が白いコムギ白粒種は赤粒種に比べて穂発芽耐性が劣るとされてきたが、近年、穂発芽耐性 (種子休眠性) に優れる白粒種の遺伝資源が見出された。赤粒種と白粒種の品種・系

統ならびに赤粒種と白粒種との間の組換え自殖系統群 (RILs) を用いて種子休眠性を評価した。その結果、種子休眠性に及ぼす種皮色の効果は、環境条件によって変動することが明らかになった。特に成熟期前に降雨量の多い環境条件下では、明らかに赤粒 RILs の種子休眠性が高かった。従って、北海道のような栽培環境においては、穂発芽 (種子休眠性) に及ぼす種皮色の効果は歴然としており、赤粒種間の変異が重要と考えた。そこで、穂発芽耐性に優れる赤粒品種「きたもえ」にあらためて着目した。KM 集団を供試し、成熟前から完熟期にかけて経時的に発芽を調査した。その結果両親とは異なる発芽パターンを示す系統が分離し、穂発芽を未熟発芽性と種子休眠性の 2 種の異なる要因に分解して把握すべきことが明らかになった。特に雪腐病抵抗性遺伝資源の「Münstertaler」は 2 種の要因ともに高い発芽を示すことが明らかになり、これを交配に用いた後代の選抜に当たっては種子休眠性だけでなく成熟期前後の未熟発芽性にも注意を払う必要性が示された。また、成熟期以後の種子休眠性の改良が優先課題であると考えられた。

5. 穂発芽耐性 QTL のマッピング

KM 集団の種子休眠性を温室ならびに圃場 (3 箇年、4 試験区) において評価し、SSR 連鎖地図を用いて QTL を探索した。複数の環境で共通して検出された種子休眠性 QTL は、合計 4 箇所 (3D、4A、5A、5B 染色体) に見出され、特に 4A 染色体上の QTL (*Q_{Sd.hgb-4AL}*) は大きな寄与率 (最大 43.3%) を示した。また、他の交雑集団においても、*Q_{Sd.hgb-4AL}* は種子休眠性の変異に対して大きな効果を示した。

Q_{Sd.hgb-4AL} 近傍の DNA マーカー密度を高めるため、コムギ Expressed Sequenced Tag (EST) とイネとコムギとの間の相同性を利用して新たな PCR マーカーの作出を試みた。まずコムギ染色体欠失系統を用いたマッピングにより *Q_{Sd.hgb-4AL}* は 4AL0.59-0.66 (4A 染色体長腕の欠失領域を示す) に座乗することが判明した。また、*Q_{Sd.hgb-4AL}* に対応するイネゲノム領域は第 3 染色体の 2 領域 (R3L-1、R3L-2) に絞られた。4AL0.59-0.66 に座乗する EST ならびにイネ R3L-1、R3L-2 との相同性を示すコムギ EST を選定し、これをもとに 6 種の新たな PCR マーカーを *Q_{Sd.hgb-4AL}* 近傍に作出した。

これらの PCR マーカーを用いた選抜により戻し交雑を行った結果、穂発芽耐性が不十分な春播コムギ品種「春よ恋」に *Q_{Sd.hgb-4AL}* を導入した準同質遺伝子系統群 (NILs) を効率的に育成できた。得られた NILs の調査を通じて、*Q_{Sd.hgb-4AL}* が種子休眠性に大きく寄与することを明らかにした。このように、種子休眠性の向上した「春よ恋」の派生系統を育成することができた。また、*Q_{Sd.hgb-4AL}* は 2 種の PCR マーカーに挟まれる約 2.66cM 領域に限定され、一方の PCR マーカーの近傍 (0.18cM) にマッピングされた。

以上のように、多数の遺伝子に制御されていると考えられてきた雪腐病抵抗性や穂発芽耐性に関しても、SSR 連鎖地図を利用したゲノムワイドな QTL 解析により、効果の大きい QTL がそれぞれ 1 種ずつ同定された。特に穂発芽耐性の解析において、DNA マーカー選抜により効率的に NILs を作成し、その QTL の遺伝子効果を検証したことは、QTL の育種利用を実践する上で重要な意義をもつ。本研究で開発した素材ならびに DNA マーカーと QTL を利用した選抜方法は、コムギ穂発芽耐性および雪腐病抵抗性に優れる品種の早期開発に寄与すると期待される。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 三 上 哲 夫

副 査 教 授 喜 多 村 啓 介

副 査 教 授 岩 間 和 人

学 位 論 文 題 名

コムギの穂発芽耐性および雪腐病抵抗性に關与する 遺伝子座(QTL) のマッピングと育種的利用に關する研究

本論文は 141 頁からなる和文論文であり、図 48 と表 26 を含む。別に参考論文 7 編が添えられている。

雪腐病抵抗性と穂発芽耐性は、北海道におけるコムギの主要な育種目標である。しかし、両形質の発現は環境の影響を受けやすく、その遺伝機構も複雑なので抵抗性や耐性を発揮するコムギの選抜には長い年月を要する。本研究では、両形質について優れた育種素材の作出を進めるとともに、両形質を支配する量的遺伝子座 (QTL) を探索し、これを基盤として選抜用 DNA マーカーの開発を試みた。得られた成果は以下のように要約される。

1. SSR 連鎖地図の構築

秋播コムギ品種「きたもえ」とスイス在来系統の「Münstertaler」との交雑 F1 をもとに多数の固定系統 (KM 集団) を作り、本研究の基盤となる連鎖地図の作成に供した。

「Münstertaler」は穂発芽耐性が劣るが、雪腐病に対しては極めて高度の抵抗性を示す遺伝資源であることを見出した。一方、雪腐病に弱い「きたもえ」は優れた穂発芽耐性を示す。

250 座の Simple Sequence Repeat (SSR) マーカーを新たに開発し、これらと既知のマーカーを併せて 464 座をマッピングして、全長 3,441cM の連鎖地図 (ゲノムの 86% に相当) を構築した。

2. 雪腐病抵抗性 QTL のマッピング

SSR 連鎖地図を用いて、高度抵抗性に関与する複数の QTL を検出した。特に 5D 染色体長腕にマップされた QTL は寄与率が大きく、雪腐病抵抗性品種の育種に利用価値が高い。

3. 穂発芽耐性 QTL のマッピング

穂発芽は、未熟胚の発芽性と種子休眠性の 2 要因に分けて把握すべきことをまず明らかにした。

次いで KM 集団を用いて、種子休眠性の QTL を探索した。その結果、4 個の QTL を見出し、中でも 4A 染色体長腕上の QTL (*Q_{Sd.hgb-4AL}*) は休眠性の発現に大きな効果を示すことを明らかにした。

Q_{Sd.hgb-4AL} 付近に、6 種の PCR マーカーを新たに作出した。これらの PCR マーカーを利用することによって、穂発芽耐性に難点のある優良春播コムギ品種「春よ恋」に *Q_{Sd.hgb-4AL}* を導入した準同質遺伝子系統群 (NILs) を効率的に育成できた。得られた NILs の中には、「春よ恋」に比べて穂発芽耐性が著しく向上した系統も少なからず含まれている。

本研究では、雪腐病抵抗性と穂発芽耐性を支配する QTL をマッピングするとともに、QTL 近傍に設定した DNA マーカーを選抜に利用し、その有効性を確かめた。得られた成果は、コムギの育種に貢献するところが大きく、学術および応用の両面で高く評価できる。

よって審査員一同は、帛田 淳史が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。