

普通系コムギ由来の赤かび病抵抗性 QTL を導入した デュラムコムギ系統の評価

加藤啓太・船附稚子¹・谷中美貴子・伴雄介・大楠秀樹²・田中智樹²・高田兼則

キーワード：デュラムコムギ, 赤かび病, デオキシニバレノール, 普通系コムギ, *Qfhs.ndsu-3BS*, *Qfhs.ifa-5A*

目 次

I 緒 言	29	3 2016・2017年の罹病穂率における2元配置分散分析	33
II 材料および方法	31	4 種子の整粒歩合の比較	35
1 供試材料	31	5 DON蓄積量の比較	35
2 DNAマーカー選抜	31	IV 考 察	35
3 赤かび病罹病圃場試験	31	V 摘 要	36
4 統計解析	32	引用文献	37
III 結 果	32	Summary	39
1 赤かび病罹病試験期間における気象条件	32		
2 赤かび病罹病穂率の比較	33		

I 緒 言

デュラムコムギ (*Triticum turgidum* ssp. *durum* (Desf.) Husn. 2n=4x=28 AABB) はパン用などの普通系コムギ (*T. aestivum* L. 2n=6x=42 AABBDD) とは異なる植物種で、主にパスタ製品の原料となる。日本におけるパスタ製品の消費量は1980年代以降増加し、近年ではおよそ年間27万トンが消費されている³⁴⁾。日本国内で消費されているパスタ製品のおよそ半量は国外からの輸入製品で主にイタリア、トルコ、アメリカから輸入されており、残り半量は国内で加工された製品である。国内加工されたパスタ製品の原材料はカナダから輸入したデュラムコムギを用いている²³⁾。そのため国内で消費されるパスタ製品は完全に海外に依存している。

日本国内でコムギを栽培した場合、しばしば開花期から登熟期に降雨に遭遇し、赤かび病菌の感染・

蔓延を引き起こす。赤かび病はコムギの主要病害であり、赤かび病菌に罹病することで種子が充実不良になり収量の減少、品質低下、さらに赤かび病菌由来のデオキシニバレノール (DON) をはじめとするトリコテセン系マイコトキシンの毒素を蓄積することが知られている²⁹⁾。日本におけるコムギのDON濃度の暫定基準は1.1ppmであり、赤かび粒混入率0.0%以下と決められている^{14, 21)}。一般的にデュラムコムギは普通系コムギよりも赤かび病に弱く、海外で育成されたデュラムコムギ品種の多くは赤かび病抵抗性を有していないため日本国内の栽培は難しい^{1, 12)}。また、デュラムコムギは普通系コムギと比較して開花期から成熟期が遅いため、梅雨の降雨による赤かび病の被害が拡大しやすい。農研機構西日本農業研究センター (以下当研究センター) ではアメリカ品種「Produra」とイタリア品種「Latino」を交配後、早生性で選抜することで日本初のデュラムコムギ品種「セトデュール」を育成した²⁴⁾。「セト

(平成29年6月29日受付, 平成29年11月7日受理)
農研機構西日本農業研究センター
水田作研究領域

1 現 農研機構西日本農業研究センター企画部
2 日本製粉株式会社フードリサーチセンター

デュール」は梅雨入り初期に収穫することが可能であるが赤かび病抵抗性を有さないため、栽培地域は登熟期間を通して比較的降雨の少ない瀬戸内地域に限定されている。

コムギ栽培圃場における自然感染による赤かび病の発生は気温、湿度、降水量および日照時間などの気象条件に影響される²²⁾。赤かび病の発生程度は均一でないため、品種や系統の赤かび病抵抗性は人為的な赤かび病罹病試験によって評価する必要がある。コムギにおける赤かび病抵抗性は侵入抵抗性(I型抵抗性)、進展抵抗性(II型抵抗性)および毒素分解能(III型抵抗性)に大別され¹⁷⁾、それらの評価は種々の方法で調査されており⁹⁾、スプレッターを利用した自然感染¹¹⁾や、感染適期の人為的な赤かび病菌の接種¹⁵⁾などが利用されている。また赤かび病菌の感染後の散水による加湿¹¹⁾、接種穂をビニール袋などで覆い高湿度状態を維持する方法¹⁶⁾などが考案され、赤かび病抵抗性品種・系統の選抜が行われてきた。赤かび病の圃場抵抗性はI型およびII型抵抗性の寄与が大きく³²⁾、多くの検定法はII型抵抗性、またはI型とII型抵抗性の両方を加味した抵抗性を評価している³³⁾。しかし、人為的に赤かび病の発生を促進した試料においても年次間の微細な気象条件の差で赤かび病罹病程度、赤かび粒率、DON蓄積量の間に関連が見られないこともある³³⁾。そのため、赤かび病抵抗性は罹病程度、赤かび粒率およびDON蓄積量から総合的に評価する必要がある。

赤かび病抵抗性量的遺伝子座(QTL)に関してはデュラムコムギおよび普通系コムギを用いた遺伝解析から、複数の抵抗性QTLが報告されている⁴⁾。4倍体コムギの赤かび病抵抗性QTLとして、野生エンマーコムギ(*T. dicoccoides* Israel-A)由来の3A染色体を置換したデュラムコムギ系統「LDN-DIC(3A)」の3A染色体短腕³⁵⁾、カナダのデュラムコムギ品種「Strongfield」の2B染色体短腕、*T. carthlicum*の品種「Blackbird」の6B染色体短腕³⁰⁾上のQTLが報告されている。しかし、これら品種・系統は日本に未導入であるため、日本におけるデュラムコムギ赤かび病抵抗性の育種に利用されていない。

一方、普通系コムギにおける赤かび病抵抗性品種は、アジアおよび南アメリカの春播きコムギ、東ヨー

ロッパの秋播きコムギで報告されている²⁸⁾。特に中国品種「蘇麦3号」は赤かび病抵抗性品種として知られており、いくつかの赤かび病抵抗性QTLが報告されている^{3, 5, 6)}。その中で最も強い赤かび病抵抗性QTLは3B染色体短腕に座乗し、赤かび病II型抵抗性を示す*Qfhs.ndsu-3BS*(3BS)と報告されている⁵⁾。近年、Rawatら(2016)²⁶⁾が「蘇麦3号」の3BSのマップベースクローニングから原因遺伝子としてpore-forming toxin-like(PFT)遺伝子を単離した。PFT遺伝子のイントロン上の一塩基多型(SNPs)によるミスプライミングが原因となり、赤かび病の抵抗性・罹病型が決定される。日本の普通系コムギ品種「延岡坊主小麦」「新中長」などもPFT遺伝子を含む3BSの赤かび病抵抗性のハプロタイプを有し、交配母本として利用されており、赤かび病抵抗性の「小麦中間母本農4号」は「延岡坊主小麦」と「蘇麦3号」の交配から育成された¹⁰⁾。

さらに「蘇麦3号」は5A染色体短腕に座乗する赤かび病抵抗性QTL*Qfhs.ifa-5A*(5A)も有しており、赤かび病I型抵抗性に関係することが報告された³⁾。また3BSと5Aを両方保有すると、それぞれ単独に保有するよりも強い赤かび病抵抗性を示す³⁾。

普通系コムギの赤かび病抵抗性QTLの中で、共通するAまたはBゲノムに座乗するQTLはデュラムコムギに直接利用できる。Pratら(2014)²⁵⁾は予備試験段階ではあるが、「蘇麦3号」由来の3BSをデュラムコムギに導入し、赤かび病抵抗性が向上したことを確認した。またGiancasproら(2016)⁸⁾は「蘇麦3号」の派生系統と赤かび病罹病性デュラムコムギ品種との交雑集団において赤かび病抵抗性の向上を報告した。これらの報告により、赤かび病抵抗性遺伝資源が少ないデュラムコムギにおける赤かび病抵抗性育種には、普通系コムギ由来の遺伝資源を用いることができる可能性が示された。一方で、Pratら(2014)²⁵⁾はデュラムコムギに「蘇麦3号」由来の5Aの導入を試みたが、種子稔性の低下により5Aホモ接合体は得られなかったと報告している。

本研究ではデュラムコムギにおける赤かび病抵抗性向上を目的とし、AおよびBゲノムに座乗する赤かび病抵抗性QTLを保有する普通系コムギとデュラムコムギとの種間交雑後、デュラムコムギによる連続戻し交配およびDNAマーカー選抜を利用して、

赤かび病抵抗性 QTL を導入したデュラムコムギ系統を開発した。さらにこれらの系統を用いてデュラムコムギにおける普通系コムギ由来の赤かび病抵抗性 QTL の効果を評価した。

II 材料および方法

1 供試材料

反復親として赤かび病罹病性デュラムコムギ品種「セトデュール」、赤かび病抵抗性供与親として普通系コムギ品種「小麦中間母本農 4 号」（以降 N4 と表す）および育成系統「11TA51」（以降 TA と表す）を用いた。育成系統「TA」は「新中長」を系譜に持つ「中国 147 号」と「ゼンコウジコムギ」の F₅ 世代に「中系 9430」を交配した F₅ 世代である。「N4」および「TA」は「蘇麦 3 号」型の赤かび病抵抗性 3BS を保有し、さらに「N4」は「蘇麦 3 号」型の赤かび病抵抗性 5A も保有する。赤かび病抵抗性を導入した「セトデュール」準同質遺伝子系統 (NILs) 作成のために、「セトデュール」と「N4」または「TA」の種間交雑を行い F₁ 世代を作出した。さらにその F₁ 世代を「セトデュール」に戻し交配を行い BC₃ および BC₅ 世代を作出した。各世代で DNA マーカー選抜により対象 QTL における抵抗性遺伝子保有の有無を確認した。BC₃F₁ および BC₅F₁ 世代において対象 QTL をヘテロ接合体で保有する個体から、自家受粉によって対象 QTL の抵抗性遺伝子型をホモ接合体で保有する個体を選抜した。本研究に供試した系統の名称は 3BS 遺伝子型(「セトデュール_S」)型、「N4」型または「TA」型) - 5A 遺伝子型とした。

2016 年の試験に用いた BC₃F₄ 世代の 3BS_{TA}-5A_S は BC₅F₃ 世代の異なる 3BS ヘテロ接合体からそれぞれ 3BS ホモ接合体を選抜し、-1・-2 を付した。

作出した系統の稈長、出穂期および開花期は「セトデュール」と同等であった。

2 DNA マーカー選抜

DNA は酢酸カリウム法によって抽出した⁷⁾。3BS の DNA マーカー選抜には Xgwm533 および Xgwm493、5A には Xgwm304 を用いた (第 1 表)。抽出した DNA を鋳型にして HotStarTaq polymerase (Qiagen, Hilden, ドイツ) を用い PCR Thermal Cycler Dice

(TaKaRa Bio, 滋賀, 日本) にて増幅した。PCR 条件は以下に示す。初期熱変性を 95°C で 15 分間行った後、サイクリングは、熱変性を 94°C, 1 分間、アニーリングを Xgwm533 および Xgwm493 の場合は 50°C, 1 分間, Xgwm304 の場合は 53°C, 1 分間, 伸長反応を 72°C, 1 分間で 35 サイクル行い, 最終伸長反応は 72°C で 10 分間行った。増幅した PCR 産物は 12% 非変性ポリアクリルアミドゲル電気泳動で展開し, Gel Red (Biotium, Fremont, CA, アメリカ) で染色した。

3 赤かび病罹病圃場試験

赤かび病罹病圃場試験は 2015~2017 年に行い, 収穫年を試験年とした。2015 年はデュラムコムギ「セトデュール」および BC₃F₄ 系統, 普通系コムギ「N4」, 「TA」および「ミナミノカオリ」, 2016 年はデュラムコムギ「セトデュール」および BC₅F₄ 世代の NILs, 普通系コムギ「N4」, 「TA」および「ミナミノカオリ」, 2017 年はデュラムコムギ「セトデュール」および BC₅F₄ 世代の「N4」由来の NILs および普通系コムギ「N4」を供試し, 当研究センター試験圃場においてスプリンクラーを設置したビニールハウス内で行った。すべての品種・系統は 1.5m 畦間, 72cm 試験区に 20 粒, 6cm 間隔二条点播とし 3 反復設定した。各試験区には 10a あたり基肥 N-P-K = 5.5-5.5-5.5 (kg) を施用した。また試験区全体を囲むようにスプレッターである裸性大麦品種「イチバンボシ」を栽植した。

供試材料への赤かび病の感染は, 赤かび病罹病大麦法を用いた¹⁵⁾。赤かび病菌 *Fusarium graminearum* Schwabe (H-3) 株に罹病させた「イチバンボシ」種子を感染源として用いた。H-3 株は液体 Bilai 培地²⁾

第 1 表 本研究に用いた DNA マーカーの配列

導入QTL名	プライマー名 ¹⁾	プライマー配列 (5'-3')
3BS	Xgwm533F	AAGGCGAATCAAACGGAATA
	Xgwm533R	GTTGCTTTAGGGGAAAAGCC
	Xgwm493F	TTCCCATAACTAAAACCGCG
5A	Xgwm493R	GGAACATCATTTCTGGACTTTG
	Xgwm304F	AGGAAACAGAAATATCGCGG
	Xgwm304R	AGGACTGTGGGAATGAATG

注 1) フォワードプライマー (F), リバースプライマー (R) とする。

を用い 25℃ にて前培養した。滅菌した 2L 容「イチバンボシ」の種子に 70mL H-3 株前培養液および 150mL 滅菌水を加え、25℃、2 週間、蛍光灯下で培養した。培養期間中は 2 日ごとに大麦粒を攪拌し、8 日目に 200mL 滅菌水を再度加え赤かび病菌の蔓延を促した。培養後赤かび病菌罹病大麦種子はクリーンベンチ内で 3 日間乾燥させ、使用まで -20℃ で保存した。赤かび罹病大麦を当研究センター試験圃場内に設置した赤かび病検定ビニールハウスに 1a あたり 4kg を散布し、各年 4 月 1 日からスプリンクラーで 1 日あたり 5 回各 5 分間散水し、供試材料への赤かび病菌の感染を促した。散水は最後に開花した試験区の開花後 28 日目まで行った。散水期間の気象データは当研究センター試験圃場の気象データ²⁰⁾を取得し、各年 4・5 月の平均気温、平均相対湿度、積算降水量および積算日照時間を用いた。さらに 1981~2010 年の 4・5 月の平均気温・平均湿度・積算降水量^{13, 20)}、および 1991~2010 積算日照時間を用いた²⁰⁾ (以降、これらの値は平年値と表す)。

供試材料の赤かび病抵抗性は赤かび病罹病穂率、整粒歩合および DON 蓄積量にて総合的に評価した。赤かび病罹病穂率については開花後 21・28 日目における各試験区の出穂した全穂数に対する赤かび病罹病穂率を算出し、赤かび病による被害程度を調査した。さらに成熟期以降に収穫し、脱穀・唐箕選を行った。なお、赤かび病被害粒を含めた未熟粒を極力回収できるように脱穀・唐箕選の条件を適宜調整した。デュラムコムギは粒径 2.4mm 以上、普通系コムギは 2.2mm 以上を整粒、これら以下を被害粒として整粒歩合 (全粒重における健全粒重の割合) を算出し、赤かび病による被害程度を調査した。種

子中 DON 蓄積量については日本製粉(株)フードリサーチセンターにおいて、厚生労働省 (2002)¹⁴⁾ の方法に従い定量を行った。DON 抽出物の精製には MycoSep#227 (Romer Labs, Getzersdorf, オーストリア) を用い、定量には逆相カラム Mightysil RP-18GP (4.6 × 250mm, 5μm, 関東化学, 東京, 日本) を装着した HPLC LC-20 (Shimadzu, 京都, 日本) を用いた。

4 統計解析

開花後 21・28 日目の赤かび病罹病穂率および整粒歩合は角変換後、分散分析を行い、Tukey の多重比較を行った。DON 蓄積量については、分散分析後 Tukey の多重比較を行った。すべての統計解析は R version 3.3.1²⁷⁾ を用い 5% 有意水準で検定を行った。

Ⅲ 結 果

1 赤かび病罹病試験期間における気象条件

月平均気温について平年値よりも高く推移しており、2016 年 4 月は特に高かった (第 2 表)。4 月の平均湿度について 2015・2016 年は平年値より高く推移し、2017 年は同程度であった。5 月の平均湿度は平年値より低かった。積算降水量について 2015 年は平年値と同程度であるが、2016・2017 年は少ない傾向にあった。積算日照時間について 2015・2016 年は平年値と同程度であるが、2017 年は顕著に長かった。2015~2017 年の中で 2015 年が多雨・低日照時間のためビニールハウス内が高湿度に保たれ、最も赤かび病が感染・蔓延しやすい条件であったと考えられる。

第 2 表 試験年の 4・5 月における気象条件

試験年	月平均気温 (°C)		月平均湿度 (%)		積算降水量 (mm)	積算日照時間 (時間)
	4月	5月	4月	5月		
2015	14.9	20.2	71	64	203.0	380.1
2016	15.5	20.2	71	66	189.5	384.5
2017	14.7	20.1	67	64	132.0	431.1
平年値 ¹⁾	13.5	18.2	66	69	208.1	386.8

西日本農業研究センター試験圃場における気象観測値を抜粋した²⁰⁾。

注 1) 月平均気温・積算降水量は 1981~2010 年、積算日照時間は 1991~2010 年の農研機構西日本農業研究センター試験圃場における気象データの平均値を用いた。月平均湿度は国土交通省気象庁アメダス 1981~2010 年における気象データの平均値を用いた¹³⁾。

供試材料の早晩性に関して、2017年の出穂期・開花期は2015・2016年よりも3日程度早かった。2017年は積算日照時間が長く、開花期に要する日数が短縮されたため生育への気象の影響が生じたと考えられる。

2 赤かび病罹病率の比較

2015年に用いたBC₃F₄系統は、「セトデュール」の遺伝的背景は理論値で93.75%であり、相違している形質の影響も考えられるため、対照として3BS_S-5A_Sも用いた。開花後21日目の罹病率について、「セトデュール」および系統間で3BS遺伝子型にかかわらず有意差はなかった(第3表)。開花後28日目について、「セトデュール」および赤かび病抵抗性QTL導入系統間で3BS遺伝子型にかかわらず有意差はなかったが、3BS_{TA}-5A_Sおよび3BS_{N4}-5A_Sは「セトデュール」および3BS_S-5A_Sよりも低くなる傾向を示した。3BS_S-5A_Sの28日目の罹病率は「ミナミノカオリ」と有意差は無かったが、「TA」や「N4」より有意に高かった。一方、3BS_{TA}-5A_Sお

よび3BS_{N4}-5A_Sは、「TA」や「N4」と有意な差は無かった。

BC₅F₄世代のNILsを用いた2016年の罹病率について、開花後21日目では「セトデュール」と3BS_{TA}-5A_S-1間には有意差はなかったが、3BS_{TA}-5A_S-1を除くNILsは「セトデュール」よりも有意に低かった。開花後28日目では、3BS_{TA}-5A_S-1、3BS_{TA}-5A_S-2および3BS_{N4}-5A_Sは有意差はないものの「セトデュール」より低い傾向があり、3BS_{N4}-5A_{N4}は「セトデュール」よりも有意に低かった。

同じくBC₅F₄世代のNILsを用いた2017年の罹病率では、開花後21・28日目の3BS_{N4}-5A_Sおよび3BS_{N4}-5A_{N4}は「セトデュール」よりも有意に低かった。しかし、デュラムコムギの系統はいずれも普通系コムギ「N4」より罹病率が有意に高かった。

3 2016・2017年の罹病率における2元配置分散分析

2016・2017年に供試したデュラムコムギ品種・系統を用いて、導入した赤かび病抵抗性QTLの遺伝

第3表 出穂後21・28日目における罹病率

試験年	品種・系統・NIL名	供試世代	導入QTLの由来 ¹⁾		罹病率 (%)	
			3BS	5A	開花後21日目	開花後28日目
2015	ミナミノカオリ		—	—	3.0 b	23.1 bc
	TA		TA	—	2.1 b	4.5 c
	N4		N4	N4	7.3 b	12.0 c
	セトデュール		S	S	49.4 a	68.8 a
	3BS _S -5A _S	BC ₃ F ₄	S	S	56.5 a	75.3 a
	3BS _{TA} -5A _S	BC ₃ F ₄	TA	S	38.9 a	59.6 ab
	3BS _{N4} -5A _S	BC ₃ F ₄	N4	S	34.2 a	55.2 ab
2016	ミナミノカオリ		—	—	3.9 c	26.1 c
	TA		TA	—	3.6 c	11.0 c
	N4		N4	N4	2.5 c	9.2 c
	セトデュール		S	S	78.9 a	92.4 a
	3BS _{TA} -5A _S -1 ²⁾	BC ₅ F ₄	TA	S	52.2 ab	70.7 ab
	3BS _{TA} -5A _S -2 ²⁾	BC ₅ F ₄	TA	S	32.4 b	75.5 ab
	3BS _{N4} -5A _S	BC ₅ F ₄	N4	S	51.0 b	70.4 ab
3BS _{N4} -5A _{N4}	BC ₅ F ₄	N4	N4	59.8 b	65.9 b	
2017	N4		N4	N4	7.2 c	12.5 c
	セトデュール		S	S	54.9 a	98.1 a
	3BS _{N4} -5A _S	BC ₅ F ₄	N4	S	43.7 b	83.7 b
	3BS _{N4} -5A _{N4}	BC ₅ F ₄	N4	N4	36.9 b	74.2 b

Tukeyの多重比較において異なるアルファベット間は5%水準で有意。

注1) セトデュール(S)は罹病型、TA・N4は「蘇麦3号」と同一の抵抗型を示す。—はS・TA・N4の遺伝子型と異なり罹病性を示す。

注2) BC₅F₃世代の異なる3BSヘテロ接合体からそれぞれ3BSホモ接合体を選抜し-1・-2を付した。

子型と年次間における罹病率への効果を明らかにするために2元配置分散分析を行った(第4表)。開花後21・28日目において、導入した赤かび病抵抗性QTLの遺伝子型および年次の効果はいずれも有意であった。導入した赤かび病抵抗性QTLの遺伝子型と年次の相互作用は有意ではなかった。

年次の効果が有意であるものの遺伝子型の効果も有意であるために、2016・2017年に供試したデュラムコムギ品種・系統を用いて、導入した赤かび病抵抗性QTLの罹病率への効果を明らかにするために2元配置分散分析を行った(第5表)。開花後21日目において3BSは有意であったが、5Aは有意で

第4表 罹病率における導入した赤かび病抵抗性QTLの遺伝子型と試験年の2元配置分散分析

要因	開花後21日目				開花後28日目			
	自由度	平均平方	F値	P値	自由度	平均平方	F値	P値
遺伝子型	2	0.1432	10.112	0.003	2	0.4706	26.285	<0.001
年次	1	0.1151	8.128	0.015	1	0.1278	7.137	0.020
遺伝子型 × 年次	2	0.0297	2.099	0.165	2	0.0067	0.377	0.694
残差	12	0.0142			12	0.0179		

2016・2017年に供試した「セットデュール」, 3BS_{N4}-5A_S および 3BS_{N4}-5A_{N4} の罹病率を用いた。

第5表 罹病率における導入した赤かび病抵抗性QTL間の2元配置分散分析

要因	開花後21日目				開花後28日目			
	自由度	平均平方	F値	P値	自由度	平均平方	F値	P値
3BS	1	0.2863	12.470	0.003	1	0.0000	0.000	0.995
5A	1	0.0000	0.002	0.967	1	0.0805	0.992	0.335
残差	15	0.0230			15	0.0811		

2016・2017年に供試した「セットデュール」, 3BS_{N4}-5A_S および 3BS_{N4}-5A_{N4} の罹病率を用いた。

3BS × 5A は残差に含まれる。

第6表 2015・2016年における整粒歩合とDON蓄積量

試験年	品種, 系統およびNIL名	供試世代	導入QTLの由来 ¹⁾		整粒歩合 (%)	DON蓄積量 (ppm)
			3BS	5A		
2015	ミナミノカオリ		—	—	98.5 a	0.47 c
	TA		TA	—	99.2 a	0.25 c
	N4		N4	N4	97.4 a	0.04 c
	セットデュール		S	S	85.2 b	9.57 a
	3BS _S -5A _S	BC ₃ F ₄	S	S	85.6 b	9.61 a
	3BS _{TA} -5A _S	BC ₃ F ₄	TA	S	93.1 ab	7.21 ab
	3BS _{N4} -5A _S	BC ₃ F ₄	N4	S	93.9 ab	3.93 bc
2016	ミナミノカオリ		—	—	92.7 b	0.47 b
	TA		TA	—	96.8 a	0.41 b
	N4		N4	N4	94.7 a	0.05 b
	セットデュール		S	S	90.4 b	3.44 a
	3BS _{TA} -5A _S -1 ²⁾	BC ₃ F ₄	TA	S	88.6 bc	3.20 a
	3BS _{TA} -5A _S -2 ²⁾	BC ₃ F ₄	TA	S	82.5 c	2.41 ab
	3BS _{N4} -5A _S	BC ₃ F ₄	N4	S	90.3 bc	2.11 ab
3BS _{N4} -5A _{N4}	BC ₃ F ₄	N4	N4	89.2 bc	3.02 ab	

Tukeyの多重比較において異なるアルファベット間には5%水準で有意。

注1) セットデュール(S)は罹病型, TA・N4は「蘇麦3号」と同一の抵抗型を示す。—はS・TA・N4の遺伝子型と異なり罹病型を示す。

注2) BC₃F₃世代の異なる3BSヘテロ接合体からそれぞれ3BSホモ接合体を選抜し-1・-2を付した。

なかった。開花後28日目において3BSおよび5Aは有意ではなかった。また3BSと5Aの相互作用は3BS_S-5A_{N4}を作出できなかったため、残差に含まれた。

4 種子の整粒歩合の比較

2015年の整粒歩合はデュラムコムギ間では有意差はなかった(第6表)。しかし「セトデュール」および3BS_S-5A_Sの整粒歩合は普通系コムギより有意に低かった。3BS_{TA}-5A_Sおよび3BS_{N4}-5A_Sは「セトデュール」と普通系コムギの中間的な値であった。2016年の整粒歩合はデュラムコムギ間では3BS_S-5A_S-2が有意に低かった。デュラムコムギの整粒歩合は「TA」および「N4」よりも有意に低かったが、「ミナミノカオリ」とは3BS_S-5A_S-2を除いて有意ではなかった。

5 DON蓄積量の比較

2015年の3BS_{N4}-5A_SのDON蓄積量は「セトデュール」や3BS_S-5A_Sと比較して有意にDON蓄積量が低かった(第6表)。一方、3BS_{TA}-5A_Sはセトデュールや3BS_S-5A_Sと有意差は無かったが、3BS_{N4}-5A_Sとの有意差もなく3BS_{TA}-5A_S遺伝子型はDONの蓄積が低くなる傾向が見られた。また3BS_{N4}-5A_Sを除いてデュラムコムギは普通系コムギと比較して有意にDON濃度が高かった。2016年はデュラムコムギ間において3BSおよび5A遺伝子型にかかわらず有意差はなかったが、3BS_{TA}-5A_S-2、3BS_{N4}-5A_Sおよび3BS_{N4}-5A_{N4}は普通系コムギとの間にも有意差は認められなかった。

IV 考 察

本研究では既知の普通系コムギ由来の赤かび病抵抗性QTLをデュラムコムギ「セトデュール」に導入し、その効果を3か年の赤かび病罹病率、2か年の整粒歩合およびDON蓄積量で評価した。デュラムコムギに「蘇麦3号」型の3BSを導入した系統では導入していない系統と比較して有意差がない場合もあるが、2015~2017年において罹病率の低下、2015年に整粒歩合の向上およびDON蓄積量の低下が観察された(第3表, 第6表)。Giancasproら(2016)⁸⁾

は赤かび病罹病性デュラムコムギと赤かび病抵抗性普通系コムギ「蘇麦3号」由来の系統との組換え自殖系統(RILs)のSNPsを用いたQTL解析において3B染色体に座乗するQTLを発見したが、本研究で3BSの選抜に用いたDNAマーカーと同一でないため、同一のQTLかどうかは明らかではない。このQTLは年次間差が大きく3回の試験のうち1回でしか赤かび病罹病率の低減に効果的ではなかった⁸⁾。Pratら(2014)²⁵⁾は予備試験段階ではあるが、「蘇麦3号」から3BSを戻し交雑によってデュラムコムギに導入し、この系統は圃場試験において赤かび病抵抗性が安定して向上したことを報告した。また普通系コムギにおいて、3BSを保有するRILsおよびPFT遺伝子の過剰発現体では赤かび病菌の感染が抑えられ、被害粒が減少することを報告した²⁶⁾。本研究ではこれらの報告と同様に、「蘇麦3号」型3BSを導入した系統において、年次間差があるものの、赤かび病罹病率が低下することを明らかにした。これは、「セトデュール」を遺伝的背景とした場合も普通系コムギ由来の3BSは赤かび病抵抗性、特に赤かび病罹病率の軽減に効果があることを示唆する。

Pratら(2014)²⁵⁾はデュラムコムギに「蘇麦3号」型の5Aの導入を試みているが、種子稔性の低下によって5Aホモ接合体を作出できなかった。本研究でもPratら(2014)²⁵⁾と同様の現象が見られ、「蘇麦3号」型の5Aを単独で持つ系統は得られなかった。しかし、3BSと5Aを同時に導入した系統において、5A周辺領域から不稔遺伝子が脱落した個体を作出できた。Buerstmayrら(2002)³⁾は普通系コムギにおいて5Aのホモ接合体を複数育成している。これよりデュラムコムギにおいて5Aのホモ接合体を育成しにくい現象はデュラムコムギ特異的であり、5A近傍にはデュラムコムギでのみ機能する未知の不稔遺伝子の存在が示唆される。また中国の普通系コムギ在来品種の「Wangshuibai」において5A近傍DNAマーカーであるXgwm304周辺領域では組み換え頻度が低いことが報告されており³¹⁾、「蘇麦3号」由来の5A周辺領域でも組み換え頻度が低いと仮定すると、不稔個体が多く得られたことが説明できる。

普通系コムギにおいて5Aは赤かび病I型抵抗性を示すことが知られている³⁾。また3BSと5Aを単

独に保有するよりも、両方保有する方がより強い赤かび病抵抗性を示すと報告されている³⁾。本研究では5Aを単独に保有するNILを作出できなかったが、3BSのみ保有するNILおよび3BSと5Aの両方を保有するNILの比較から(第3表, 第5表, 第6表), 5Aの導入による赤かび病抵抗性の向上への効果は認められなかった。この結果は普通系コムギにおける5Aの効果³⁾とデュラムコムギにおける効果は異なる可能性が示唆される。しかし、本研究での5A導入系統の整粒歩合およびDON蓄積に対する評価が1年であること、また5A導入系統に抵抗性遺伝子の領域が残存しているかは確認できていないため、さらに詳細な赤かび病抵抗性の評価が必要である。

本研究では整粒歩合について年次間で異なる結果となり、3BSの効果は明らかにできなかった(第6表)。2016年の「セトデュール」を除いた整粒歩合は2015年の整粒歩合よりも低下する傾向にあった(第6表)。コムギは登熟期の高温により登熟日数不足に伴う種子の充実不良が起きる¹⁹⁾。2016年は4月の平均気温が平年値よりも高いため(第2表), 登熟日数不足による種子の充実不良が生じた可能性が示唆される。

またDON蓄積量について年次間で異なる結果となり、3BSの効果は明らかにできなかった(第6表)。しかし、2015年では3BSを導入した系統においてDON蓄積量が減少したため、3BSはDON低蓄積に効果がある可能性がある。実際のコムギの栽培環境における赤かび病菌の感染・蔓延は開花期から登熟期における降雨によって引き起こされるため、本研究では人為的な降雨条件および高湿度条件を再現した。しかし、赤かび病菌への罹病は気象条件に影響を受けやすく³³⁾、特に日照時間が少ない曇天・降雨後の相対湿度80%以上で、赤かび病菌の感染・蔓延が促進される^{18, 22)}。本研究において、赤かび病罹病試験はビニールハウス内で行い、気象条件の影響を低減した状態で試験を行ったが、ビニールハウス外の気象条件がDON蓄積量に影響を及ぼした可能性がある。2015年は多雨・低日照時間のため赤かび病が感染・蔓延しやすい条件であったと考えられ(第2表), 3BS導入系統において罹病率の低下(第3表), 整粒歩合の向上およびDON蓄積量の低下(第

6表)が検出できた可能性がある。一方で2016年は降水量が少なかったために(第2表), スプリンクラーの散水だけでは高湿度条件を維持できず、赤かび病菌の蔓延が不十分であり、DON蓄積量が2015年と比較して、低水準で推移した可能性がある(第6表)。そのため今後の試験において散水時間・回数・散水の間隔などによる高湿度条件の再現、さらに寒冷紗等による曇天の再現など、より赤かび病が発生・蔓延しやすい条件を維持し、気象条件に左右されない再現性のある試験法について改良の余地がある。

本研究では普通系コムギとの種間交雑、デュラムコムギによる連続戻し交配を行うことで倍数性の異なる普通系コムギ由来の赤かび病抵抗性QTLをデュラムコムギの赤かび病抵抗性育種に活用できることを示すことができた。しかし、3BSを導入した系統において、3BS供与親と比較して2015~2017年の赤かび病罹病率および2015年のDON蓄積量は依然として高かった(第3表, 第6表)。普通系コムギで報告された赤かび病抵抗性QTLが、デュラムコムギにおいて普通系コムギと同程度の赤かび病抵抗性を発現するとは限らないことが示唆される。3BSを保有しない普通系コムギ「ミナミノカオリ」でさえ、3BSを保有するデュラムコムギより強い赤かび病抵抗性を示すことは(第3表, 第6表), 倍数性などの遺伝的背景の違いによると推察され、普通系コムギのDゲノムには赤かび病抵抗性を亢進する役割があるとも提唱されている²⁵⁾。

本研究ではデュラムコムギにおいて普通系コムギ由来の3BSおよび5Aだけでは赤かび病抵抗性向上への効果はあるものの不十分であった。デュラムコムギの遺伝的背景で赤かび病抵抗性を更に向上させるために、本研究で用いていない普通系コムギ由来および日本に未導入の4倍体コムギ遺伝資源の赤かび病抵抗性QTLを導入したデュラムコムギ系統を作出し、評価することで、デュラムコムギにおいてより効果的な赤かび病抵抗性QTLを選別する必要がある。

V 摘 要

デュラムコムギ (*Triticum turgidum* ssp. *durum*)

(Desf.) Husn. $2n=4x=28$ AABB) は赤かび病に極めて弱く、開花期から成熟期に降雨による赤かび病の被害が拡大しやすいため、赤かび病抵抗性の向上が急務である。赤かび病は *Fusarium graminearum* Schwabe が小花に感染し、拡大する病斑を示すとともにデオキシニレバノール (DON) を始めとする人体に有害な毒素を蓄積することが知られている。本研究は4倍体のデュラムコムギに赤かび病抵抗性を付与することを目的にしているが、赤かび病抵抗性が強いデュラムコムギの報告は少ない。そのため赤かび病抵抗性普通系コムギ (*T. aestivum* L. $2n=6x=42$ AABBDD) から A および B ゲノムに由来する赤かび病抵抗性 QTL *Qfhs.ndsu-3BS* (3BS) および *Qfhs.ifa-5A* (5A) を戻し交配によりデュラムコムギに導入し、その効果を評価した。赤かび病抵抗性の検定は、BC₃ 系統および BC₅ の準同質遺伝子系統 (NILs) を用い散水設備を設置したビニールハウス内で行い、出穂期に赤かび病菌を接種した大麦粒を散布し、散水により赤かび病を誘発した。赤かび病抵抗性は開花後 21・28 日目の罹病率、収穫した種子の整粒歩合、DON 蓄積量で評価した。3BS を導入した BC₃ 系統および NILs は罹病率が低下する傾向にあり、年次によっては整粒歩合の向上や DON 蓄積量の低下の傾向が見られ、赤かび病抵抗性が向上する傾向が明らかになった。3BS に加え 5A を導入した NIL は赤かび病抵抗性の更なる向上は認められなかったが、5A の抵抗性遺伝子領域が脱落した可能性があり、さらに詳細な赤かび病抵抗性の評価が必要である。

引用文献

- Atanasoff, D. 1920. *Fusarium*-blight (scab) of wheat and other cereals. J. Agric. Res. 20: 1-32.
- Bilal, B. J. 1955. The Fusaria. Acad. Sci. Ukr. USSR. Kiev. Russian. 320.
- Buerstmayr, H., B. Steiner, L. Hartl, M. Griesser, N. Angerer, D. Lengauer, T. Miedaner, B. Schneider, M. Lemmens 2002. Molecular mapping of QTLs for *Fusarium* head blight resistance in spring wheat. II. Resistance to fungal penetration and spread. Theor. Appl. Genetics. 107: 503-508.
- Buerstmayr, H., T. Ban, J. A. Anderson 2009. QTL mapping and marker-assisted selection for *Fusarium* head blight resistance in wheat. Plant Breeding. 128: 1-26.
- Cuthbert P. A., D. J. Somers, J. Thomas, S. Cloutier, A. Brule-Babel 2006. Fine mapping *Fhb1*, a major gene controlling *Fusarium* head blight resistance in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). Theor. Appl. Genetics 112: 1465-1472.
- Cuthbert P. A., D. J. Somers, A. Brule-Babel 2007. Mapping of *Fhb2* on chromosome 6BS: a gene controlling *Fusarium* head blight field resistance in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). Theor. Appl. Genetics 114: 429-437.
- Dellaporta, S. L., J. Wood, J. B. Hicks 1983. A plant DNA miniprep: version II. Plant Mol. Biol. Reporter 1: 19-21.
- Giancaspro, A., S. L. Giove, D. Zito, A. Blanco, A. Gadaleta 2016. Mapping QTLs for *Fusarium* Head Blight Resistance in an Interspecific Wheat Population. Front. Plant Sci. 7: 1381.
- 牛腸英夫・平井俊臣・柏尾俊光 1986. 簡易施設利用によるコムギ赤かび病抵抗性検定. 九州農業研究. 48: 47.
- 牛腸英夫・平井俊臣・柏尾俊光 1992. 赤かび病抵抗性「小麦中間母本農4号」の育成. 九州農試報告. 27: 317-331.
- 板倉登 1976. 人工降雨処理ならびに抵抗性極弱品種の配置による小麦赤かび病の発促進. 近畿中国農研. 52: 30-32.
- 甲斐由美・白土宏之・吉田泰二・松岡誠・松井重雄 1998. 瀬戸内地域で栽培したデュラム小麦の農業特性. 中国農研資. 30: 39-71.
- 国土交通省 気象庁 アメダス. <http://www.jma.go.jp/jp/amedas/>
- 厚生労働省 2002. 小麦のデオキシニレバノールに係る暫定的な基準値の設定について. <http://www.ffcr.or.jp/Zaidan/mhwinfo.nsf/ab440e922b7f68e2492565a700176026/0da129a07813d14349256df6000bc432?OpenDocument>.
- Kubo, K., N. Kawada, M. Fujita 2013. Evaluation of *Fusarium* Head blight resistance in wheat and the

- development of a new variety by integrating type I and II resistance. *JARQ*. 47: 9-19.
- 16) Mesterházy, Á. 1988. Expression of resistance of wheat to *Fusarium graminearum* and *F. culmorum* under various experimental conditions. *J. Phytopathol.* 123: 304-310.
 - 17) Mesterházy, Á. 1995. Types and components of resistance to *Fusarium* head blight of wheat. *Plant breeding*. 114: 377-386.
 - 18) 中川元興 1960. 小麦赤かび病に対する品種並びに環境要素に関する研究. 東海近畿農業試験場研究報告 (栽培第1部). 7: 1-31.
 - 19) 西尾善太・伊藤美環子・田引正・中司啓二・長澤幸一・山内宏昭・広田知良 2011. 高温による小麦の減収要因. 北海道農研研究資料. 69: 15-21.
 - 20) 農業・食品産業技術総合研究機構 西日本農業研究センター 西日本農業研究センター (福山) の気象データ. http://www.naro.affrc.go.jp/org/warc/meteo_fukuyama/index_meteo.html
 - 21) 農林水産省 2001. 農産物規格規定. http://www.maff.go.jp/j/kokuji_tuti/kokuji/pdf/k0001439.pdf
 - 22) 農林水産省 2008. 指針活用のための技術情報. http://www.maff.go.jp/j/syouan/seisaku/risk_analysis/priority/kabidoku/pdf/sisin_gizyutu.pdf
 - 23) 農林水産省 2016a. 麦の需給に関する見通し. http://www.maff.go.jp/j/press/seisaku_tokatu/boeki/pdf/160331-01.pdf.
 - 24) 農林水産省 2016b. 農林水産省告示第五百四十一号. <http://www.hinsyu.maff.go.jp/gazette/syutugan/contents/164syutugan.pdf>
 - 25) Prat, N., M. Buerstmayr, B. Steiner, O. Robert, H. Buerstmayr 2014. Current knowledge on resistance to *Fusarium* head blight in tetraploid wheat. *Mol. Breeding*. 34: 1689-1699.
 - 26) Rawat, N., M. O. Pumphrey, S. Liu, X. Zhang, V. K. Tiwari, K. Ando, H. N. Trick, W. W. Bockus, E. Akhunov, J. A. Anderson, B. S. Gill 2016. Wheat *Fhb1* encodes a chimeric lectin with agglutinin domains and a pore-forming toxin-like domain conferring resistance to *Fusarium* head blight. *Nat. Genetics*. 48: 1576-1580.
 - 27) R Core Team 2016. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>
 - 28) Snijders, C. H. A. 1990. Genetic variation for resistance to *Fusarium* head blight in bread wheat. *Euphytica*. 50: 171-179.
 - 29) Snijders, C. H. A. 2004. Breeding for resistance to *Fusarium* in wheat and maize. In J.D. Miller, H. L. Trenholm, *Mycotoxins in grain: compounds other than aflatoxin*. Reagan, StPaul, Minn. 37-58.
 - 30) Somers, D. J., G. Fedak, J. Clarke, W. G. Cao 2006. Mapping of FHB resistance QTLs in tetraploid wheat. *Genome*. 49: 1586-1593.
 - 31) Xue, S., F. Xu, M. Tang, Y. Zhou, G. Li, X. An, F. Lin, H. Xu, H. Jia, L. Zhang, Z. Kong, Z. Ma 2011. Precise mapping *Fhb5*, a major QTL conditioning resistance to *Fusarium* infection in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genetics*. 123: 1055-1063.
 - 32) Yan, W., H. B. Li, S. B. Cai, H. X. Ma, G. J. Rebetzke, C. J. Liu 2011. Effects of plant height on type I and type II resistance to *Fusarium* head blight in wheat. *Plant Pathol.* 60: 506-512.
 - 33) 柳沢朗 2006. 赤かび病耐病性およびデオキシニバレノール産生抑制型品種の育成状況. *Mycotoxin*. 56: 17-23.
 - 34) 横浜税関 2012. スパゲッティおよびマカロニの輸入. <http://www.customs.go.jp/yokohama/toukei/topics/data/1203spa&macaroni.pdf>
 - 35) Zhu, X., S. Zhong, S. Chao, Y. Q. Gu, S. F. Kianian, E. Elias, X. Cai 2016. Toward a better understanding of the genomic region harboring *Fusarium* head blight resistance QTL *Qfhs.ndsu-3AS* in durum wheat. *Theor. Appl. Genetics*. 129: 31-43.

Improving *Fusarium* head blight resistance by introducing the QTLs from bread wheat in durum wheat

Keita KATO, Wakako FUNATSUKI¹, Mikiko YANAKA, Yusuke BAN, Hideki OKUSU², Tomoki TANAKA² and Kanenori TAKATA

Key words: durum wheat, *Fusarium* head blight, deoxynivalenol, bread wheat, *Qfhs.ndsu-3BS*, *Qfhs.ifa-5A*

Summary

Since durum wheat (*Triticum turgidum* L. ssp. *durum* (Desf.) Husn. 2n=4x=28 AABB) is susceptible to *Fusarium* head blight (FHB), improvement of FHB resistance is important. FHB is caused by *Fusarium graminearum* Schwabe. The pathogen infects spikelets. Spreads to rachis and other spikelets, inhibits seed maturation, and accumulates mycotoxins such as deoxynivalenol (DON) in seeds. Strong FHB resistance in durum wheat is limited, but the resistance of bread wheat (*T. aestivum* L. 2n=6x=42 AABBDD) is well-known. The purpose of this study is to evaluate FHB resistance introduced from bread wheat into durum wheat. We developed the durum wheat lines with two resistant QTLs, *Qfhs.ndsu-3BS* (*3BS*) and *Qfhs.ifa-5A* (*5A*), from bread wheat by backcrossing. The BC₃ and BC₅ (near isogenic lines; NILs) lines were investigated for FHB resistance in 2015, 2016 and 2017. *Fusarium* inoculation test was performed in a greenhouse equipped with a water sprinkle and *fusarium* infected barley grains as a spreader scattered. FHB resistance was evaluated by the ratio of *fusarium* infected spikes to total spikes, the ratio of sound grain weight to total grain weight and DON content. The ratio of infected spikes of lines with *3BS* appeared to be less than that of recurrent parent, but the ratio of sound grain weight was not significantly different from that of the recurrent parent. The DON content of lines with *3BS* was significantly lower than that of the recurrent parent in 2015, the lines with *3BS* tended to improve it in 2016. Results were different from year to year. This difference might be due to differences in weather. Further improvement of FHB resistance was not observed in the NIL with both *3BS* and *5A* in a one-year test, that needs to be confirmed with more tests.

Division of Lowland Crop Research, Western Region Agricultural Research Center, NARO

1 Department of Planning, Western Region Agricultural Research Center, NARO

2 Food Research Center, NIPPON FLOUR MILLS CO., LTD.

