



# Quantitative trait locus analysis for flowering time in hexaploid wheat

Nguyen, Tuan Anh

---

(Degree)

博士 (農学)

(Date of Degree)

2013-09-25

(Date of Publication)

2014-09-01

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第5924号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1005924>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



## 博士論文内容の要旨

氏名 Nguyen Tuan Anh専攻・講座 生命機能科学専攻・農環境生物学講座

論文題目 (外国語の場合は、その和訳を併記すること。)

Quantitative trait locus analysis for flowering time in  
hexaploid wheat(6倍性コムギの開花期を制御する量的形質遺伝子座の  
研究)指導教員 宅見 薫雄

Wheat is one of important crops contributing to human life as basic staple food. The successful worldwide growing of common wheat in a diverse range of environments, is because of, at least in part, marked efforts of breeding for appropriate flowering time (FLT). Wheat cultivars show varied heading time (HD) and FLT in order to adapt to each regional environment. Wheat HT/FLT is controlled by three major genetic components, vernalization requirement, photoperiodic sensitivity and narrow-sense earliness. The vernalization requirement and photoperiodic sensitivity are respectively regulated by major quantitative trait loci (QTLs) such as *Vrn-1* and *Ppd-1*. Nevertheless, the earliness *per se* genes are known to be located on various wheat chromosomes. However, increases in wheat yield and grain quality have not kept pace with consumer demand accompanied with extensive increase in human population. Both are strongly influenced by environmental conditions and pathogen attacks. Especially in Japan, rainy season is overlapped with wheat harvesting, resulting in pre-harvest sprouting, *Fusarium* damage, and reduction of grain quality. To restrict the impact of environmental conditions and pathogen attacks development of cultivars adaptive to a diverse range of environments is one of the major purposes of the wheat breeders.

Control of HT/FLT is an important target trait for wheat breeding. Understanding the genetic processes of the HT/FLT determination and identification of genetic loci associated with the HT/FLT variations in wheat landraces and wild relatives will offers potential for wheat improvement because they introduce new resources of genetic diversity. Wheat landraces and wheat relatives provide abundant genetic variations in many agricultural traits including FLT, and supply useful traits for modern wheat breeding. Previous studies found that many wheat landraces in Nepal, Bhutan and Tibet show wide variations in flowering related traits. Synthetic hexaploid wheat lines derived from crosses between tetraploid wheat and *Aegilops tauschii* are valuable resources for introgression of agriculturally important genes of the wild wheat into common wheat cultivars. Natural variation in FLT shows significant longitudinal and latitudinal clines in *Ae. tauschii*. The *Ppd-1* and *Vrn-1* genotypes of the A and B genomes in parental tetraploid wheat largely affect expression of flowering-related traits in the synthetic hexaploid wheat.

To identify causal loci for the early flowering phenotype in the Nepalese landraces, first, two F<sub>2</sub> populations that were obtained from F<sub>1</sub> plants crossed between Shiroganekomugi (SGK), a Japanese early flowering cultivar and the two Nepalese landraces, KU-4770 and KU-180, were used for QTL analysis of the flowering-related traits. The QTL analysis showed that the *Ppd-D1* allele from SGK and the *Ppd-B1* alleles from the two Nepalese varieties caused the early-flowering phenotype in the two F<sub>2</sub> populations. Real time PCR analysis estimating the

(氏名 : Nguyen Tuan Anh NO. 2)

*Ppd-B1* copy number revealed that the two Nepalese varieties included two intact *Ppd-B1* copies, putatively resulting in photoperiod insensitivity and an early flowering phenotype. The SGK *Ppd-D1* allele contained a 2-kb deletion in the 5'-upstream region, indicating a photoperiod insensitive *Ppd-D1a* allele. Thus, wheat landraces are genetic resources for discovery of alleles useful for improving wheat heading or flowering times.

Next, four F<sub>2</sub> mapping populations produced from the following cross-combinations between early and late flowering synthetic wheat lines were used for QTL analysis for the flowering-related traits. In total, 10 QTLs located on six D-genome chromosomes (all except 4D) were detected for the analyzed traits. The QTL on 1DL controlling heading time appeared to correspond to a flowering time QTL, previously considered to be an ortholog of *Eps-Am1* which is related to the narrow-sense earliness in einkorn wheat. The 5D, 6D and 7D QTLs seem to be a novel loci associated with wheat flowering and maturation including a QTL controlling the grain filling period on chromosome 3D, while the 2DS QTL appears to be an allelic variant of the photoperiod response locus *Ppd-D1*. These flowering-related QTLs would function under the hexaploid wheat background.

To confirm the usefulness of the QTLs indentified in the mapping population of synthetic wheat, finally, two F<sub>2</sub> mapping populations, respectively crossed between two Japanese wheat varieties Norin 61 and Kitanokaori with two synthetic wheat lines Ldn/PI476874 and Ldn/KU-2097, were used for QTL analysis of the flowering-related traits. In total, 12 QTLs for flowering related traits were detected. *Ppd-D1* on chromosome 2D from the two Japanese varieties was causal for early-flowering phenotype of HT, FLT and MAT and might affect to the expression of other QTLs controlling flowering. Further, two different QTL regions were found on chromosome 5A. The synthetic wheat line derived alleles on the 5A QTLs were associated with early flowering phenotype in the two F<sub>2</sub> populations. The 5AL QTL region for FLT in the Kitanokaori//Ldn/KU-2097 population appeared to be corresponding to the *Vrn-A1* locus, which is related to the vernalization requirement in tetraploid and hexploid wheat. Another 5AS QTL in the F<sub>2</sub> population crosses between Norin 61 and Ldn/PI476874 seemed to be a novel locus regulating MAT. Combined with the previous research using the synthetic wheat population, the identified QTLs in the present study are available for improving modern wheat cultivars.

In the future, production of the advanced backcrossed lines having only desirable alleles under the genetic background of hexaploid wheat cultivars will allow to characterize more precisely the QTL alleles and to elucidate the molecular nature of QTLs responsible for agronomically important traits.

氏名	Nguyen Tuan Anh		
論文 題目	Quantitative trait locus analysis for flowering time in hexaploid wheat (6倍性コムギの開花期を制御する量的形質遺伝子座の研究)		
審査委員	区分	職名	氏名
	主査	准教授	宅見 薫雄
	副査	教授	杉本 敏男
	副査	教授	土佐 幸雄
	副査		

## 要 旨

開花期の制御は高等植物の環境適応における重要な要素の1つであり、パンコムギの育種においても出穂・開花・収穫時期の制御は重要な課題の1つである。特に日本においては収穫時期が梅雨と重なるため、品質の保持や穂発芽や赤カビ病の回避といった目的から、早生品種の育成が求められている。パンコムギの在来品種や、近縁の野生種の集団中には、出穂・開花時期について幅広い遺伝的変異が認められる。開花時期の決定に関する分子メカニズムについては、モデル植物であるシロイヌナズナやイネで詳細が明らかにされてきた。コムギでは春化要求性、日長感受性、純粋早晩生の3つの遺伝的要因によって出穂の時期が決定されるとされ、このうち春化要求性と日長感受性については少数の主働遺伝子が知られており、そのいくつかは単離同定済みである。これに対して純粋早晩性は効果の小さい複数の遺伝子が関わる量的形質であるとされているが、まだその分子実体はほとんど分かっていない。このような背景のもと、本研究はネパールの在来コムギ系統と日本のコムギ品種に見られる早生性の遺伝的要因の違いや、パンコムギ祖先野生種の1つであるタルホコムギに由来し6倍性の遺伝的背景下で機能する早生遺伝子について、いずれも量的形質遺伝子座(QTL)解析によって明らかにしようと試みた。

第1章では、シロイヌナズナにおける栄養成長から生殖成長への移行の分子機構について取りまとめた後、コムギにおける出穂・開花時期の制御機構についてこれまでの知見をまとめ、コムギ在来品種や近縁種に認められる出穂・開花時期の多様性、これらの情報を背景とした本研究の目的について述べている。

第2章では、出穂・開花の時期に幅広い変異をもつネパール在来コムギ系統の中から早生の2系統(KU-4770, KU-180)を選び、日本のコムギ品種で早生標準品種であるシロガネコムギとの間でF<sub>2</sub>集団(計2集団)を作出し、出穂期、開花期、収穫期、開花から収穫までの期間の4つの開花関連形質について調査を行い、早生形質に関するQTL解析を行った。用いたネパール在来系統の開花期は、神戸大学農場で栽培した場合、シロガネコムギとほぼ同じであった。チベット地域と極東ではコムギの伝播経路が異なるとされるため、早生性に寄与する遺伝子座はネパール在来系統と日本のコムギ品種間で異なると考えられた。作出したF<sub>2</sub>集団のうちKU-4770系統とシロガネコムギの集団を用いて、全染色体をおよそカバーする連鎖地図をSimple Sequence Repeat (SSR)マーカーをもとに作成し、この連鎖地図を用いて開花関連形質のQTL解析を行った。1000回のpermutation testで求めた閾値を超えるLODスコアを示したQTLは、4つの開花関連形質のうち出穂期、開花期、収穫期についていずれも2B及び2D染色体短腕上の同祖な位置に1つずつ検出された。これらのQTLはKU-180系統とシロガネコムギの集団でも確認された。周辺のSSRマーカーとの位置関係からこれらの2BS及び2DS上のQTLは、それぞれ日長感受性の主働遺伝子である*Ppd-B1*及び*Ppd-D1*であると考えられた。実際、本研究に用いたシロガネコムギもネパール在来系統も出穂に関して日長に非感受性であり、短日条件下でも出穂した。シロガネコムギの*Ppd-D1*では上流のプロモーター領域に欠失が認められ、KU-4770とKU-180では*Ppd-B1*座にintactな*Ppd-B1*コピーが2コピー存在することが明らかとなり、これらの欠失あるいはコピー数の変異がそれぞれの非日長感受性と早生性に関与していることが示唆された。すなわち、異なる*Ppd-1*同祖遺伝子がほぼ同等の効果をもって日本コムギ品種とネパール在来系統のそれぞれの早生性に関与していると考えられた。

第3章では、パンコムギにDゲノムを提供した祖先野生種の1つであるタルホコムギが有する遺伝的多様性の中から、異質6倍性の遺伝的背景下でも機能する早生遺伝子を同定するために、合成パンコムギを研究材料に用いた。用いた合成パンコムギ系統は、二粒系コムギ品種LangdonをA, Bゲノム親に、様々

氏名	Nguyen Tuan Anh		
論文 題目	Quantitative trait locus analysis for flowering time in hexaploid wheat (6倍性コムギの開花期を制御する量的形質遺伝子座の研究)		
審査委員	区分	職名	氏名
	主査	准教授	宅見 薫雄
	副査	教授	杉本 敏男
	副査	教授	土佐 幸雄
	副査		

なタルホコムギ系統をDゲノム親として交配して育成した異質6倍体系統群である。これまでの解析から、この合成パンコムギ系統には出穂・開花・収穫期に幅広い変異が認められ、その変異は親となったタルホコムギにおける出穂期の変異と有意に相関することも分かっている。またタルホコムギはlineage 1 (L1)とL2の大きく2つの系統群に分化しており、L1とL2間では多型的な分子マーカーを見出すことが比較的容易であることが明らかとなっている。そこで、L1とL2に属するタルホコムギ系統を親に持つ合成パンコムギで、出穂・開花期の異なる系統を計4組選び、F<sub>2</sub>集団を作出した。この4つのF<sub>2</sub>集団を用いて、出穂期、開花期、収穫期、開花から収穫までの期間の4つの開花関連形質について調査を行い、SSRマーカーをもとに連鎖地図を作成し、早生形質に関するQTL解析を行った。その結果、4D以外の6つの染色体上に計10個のQTLを検出した。このうち1D染色体長腕上の出穂期のQTLはこれまでに一粒系コムギで同定されている純粋早晩性遺伝子*Eps-A1*と同祖な位置に座乗し、2D染色体短腕上のQTLは日長への感受性とは関係しないものの*Ppd-D1*と同じ位置に座乗していた。また、3D染色体上の開花から収穫までの期間のQTLを含めていくつかのQTLが新規に見出されたものであった。これらのQTLはタルホコムギの遺伝的変異に由来し、異質6倍性の遺伝的背景下でも機能するQTLであると推定された。すなわち本研究は、合成パンコムギを解析することで異質6倍体でも機能する農業上重要なタルホコムギの遺伝子を同定することが可能であることを示唆している。

第4章では、第3章で見出したタルホコムギ由来のDゲノム上の早生性に関わるQTLがパンコムギ品種との交配後代で検出できるかどうかを調べるために、2系統の合成パンコムギの早生系統に日本のパンコムギ品種である農林61号あるいはキタノカオリを交配し、F<sub>2</sub>集団を作出した。この2つのF<sub>2</sub>集団を用いて、出穂期、開花期、収穫期、開花から収穫までの期間の4つの開花関連形質について調査を行い、SSRマーカーをもとに連鎖地図を作成し、早生形質に関するQTL解析を行った。その結果、出穂期、開花期、収穫期のQTLがこの2つの集団で2D染色体の短腕に検出され、いずれにおいても日本のパンコムギ品種のアリルの効果により早生になることが明らかとなった。この2D上のQTLの位置は*Ppd-D1*と一致し、この日長非感受性アリルの効果により早生F<sub>2</sub>個体が分離すると考えられた。合成パンコムギ由来の早生アリルは、5A染色体上に見いだされ、その染色体上の位置は集団によって異なったが、キタノカオリとの集団において見いだされたQTLは春化要求性を決める*Vrn-A1*の位置と一致した。合成パンコムギ同士の集団でDゲノム上に検出されたQTLの多くは日本のパンコムギ品種とのF<sub>2</sub>集団中では検出できなかったが、*Ppd-D1*座について合成パンコムギ由来の劣性アリルをホモに持つF<sub>2</sub>個体のみを抽出し、個々のQTL座の推定遺伝子型に基づいて比較したところ、合成パンコムギ早生系統由来のアリルホモの場合に有意な早生効果を見出すことができた。すなわち日本のパンコムギ早生品種が広く持つとされる*Ppd-D1*座の日長非感受性アリルの効果が非常に大きいため、F<sub>2</sub>集団中ではタルホコムギ由来の早生アリルの効果が隠れてしまったと考えられた。遺伝的背景をさらに均一化した、例えば戻し交配集団ではタルホコムギ由来の早生アリルの効果も有意なQTLとして検出できることが期待された。よって、いくつかのタルホコムギ由来の早生アリルは、効果は小さいものの、パンコムギ品種において早生性を発揮できることが明らかとなり、祖先野生種の農業上重要な量的形質遺伝子も合成パンコムギを介してパンコムギ育種に利用できることが示唆された。

以上のように、本研究は、パンコムギ在来系統と合成パンコムギ系統を用いて非常に多くのF<sub>2</sub>集団を供試し、異質6倍体の遺伝的背景下で出穂・開花期に関与するQTLを新規なものも含めて同定するとともに、日本のパンコムギ品種との交配後代で同定した早生アリルの発現についてその効果を明らかにしたものである。同定したQTLはパンコムギの早生育種に重要な知見を与えることが期待でき、さらに近縁野生種からの有用遺伝子の導入による作物育種にも新たな知見をもたらす成果の集積であると言える。よって、学位申請者のNguyen Tuan Anhは、博士(農学)の学位を得る資格があると認める。