

品種・遺伝資源

トウモロコシとテオシント幼植物において湛水条件下で 地表に生じる不定根量の系統変異と遺伝解析

間野吉郎*・村木正則・藤森雅博・高溝正

(農業技術研究機構)

要旨：耐湿性には複数の要因が関与しており、そのうち湛水条件下において地表に不定根を形成する能力は過剰水分に対する重要な適応要因のひとつと考えられている。トウモロコシ自殖系統とその近縁種のテオシントの幼植物について、湛水条件下において地表に生じる不定根量の変異を調査すると共に2つの交雑集団を用いて不定根形成能の遺伝解析を行った。幼植物を2週間にわたって湛水処理を行った際の地表に生じる不定根の量には、供試した43系統において系統間差異が認められ、テオシント2系統の不定根形成量はいずれも多かった。不定根形成量の反復間相関係数は0.749と1%水準で有意であり、再現性が認められた。不定根が形成されにくいトウモロコシ自殖系統B64と形成されやすいテオシント *Zea mays* ssp. *huehuetenangensis* のF₂、F₃交雑集団、およびB64と不定根が形成されやすいトウモロコシ自殖系統Na4のF₂、F₃交雑集団のいずれにおいても不定根形成量は連続的な変異を示し、複数の遺伝子に支配されていると考えられた。B64と *Z. mays* ssp. *huehuetenangensis* およびB64とNa4のF₂とF₃の不定根形成量の相関係数から推定した遺伝率はそれぞれ0.357と0.405、回帰係数から推定した遺伝率はそれぞれ0.139と0.301であった。

キーワード：遺伝資源、耐湿性、トウモロコシ、テオシント、不定根、幼植物。

わが国の飼料作物の基幹であるトウモロコシは平成15年度(2003年度)現在全国で9万100ha栽培されており(平成15年 耕地及び作付け面積統計)、食糧自給率向上のためにはその栽培面積の拡大が望まれている。一方で、100万ha以上の転作調整田が存在しており、水田転換畑におけるトウモロコシの栽培が求められている。しかし水田転換畑は排水不良地が多く、主に梅雨の長雨によって湿害が多発して深刻な問題となっている。そのため、自給飼料の安定供給を図るには水田転換畑において作物の生産性を上げることが重要となり耐湿性育種が必要に迫られている。

作物の耐湿性に関する研究において、オオムギ(大久保・武田1991)とトウモロコシ(間野ら2002)の品種間の耐性の順位は生育ステージによって変化することが知られている。さらにそれぞれの生育ステージにおいても、耐湿性には複数の要因が関与していると考えられている。幼植物の湿害を例にすると、まず過剰な水分により根へ酸素の供給が制限されることがあり、その適応、回避反応として根の通気組織の発達(有門1960, 1975, Drewら1980)、地表における不定根形成(Kawase1981, 田瀬・小林1992, Vartapetian and Jackson1997)、および浅根性(Oyanagiら1993)などが考えられている。また、別の要因として還元状態によって生じる二価鉄、硫化水素、有機酸などの害も報告されている(山崎1952)。

幼植物の耐湿性を評価するときに上述した複数の要因を全て込みにした場合、環境によって最も表現型に影響を及ぼす要因が変化し、実験の再現性が得られない場合が出てくる。例えば、有機物が少ない土壌を用いて耐湿性の検定

を行った場合には、還元が進まずに主に過剰な水分によるストレスが表現型に影響を及ぼすのに対して、有機物が多い土壌で耐湿性検定時の温度が高い場合には、土壌の還元が進み二価鉄や硫化水素の害が表現型に及ぼす影響がより強くなると考えられる。従って、“幼植物における耐湿性”というように生育ステージを限定した場合においても、要因を細分化してそれぞれの要因を評価することにより精度の高い検定が可能となる。

間野ら(2002)はトウモロコシ自殖系統を用いて幼植物における耐湿性の変異を明らかにした。この試験では土壌の酸化還元電位は約190mVと還元状態はあまり進んでいなかったことから、主に過剰な水分条件に対する抵抗性の変異を見たものである。その土壌条件下において耐湿性が強いと判定された系統のいくつかは耐湿性に関連する形質のひとつである不定根が地表に形成される場合があり、さらに不定根形成能は他の作物においても耐湿性の指標となるなどその重要性が報告されている(田瀬・小林1992)。そこで本研究では、幼植物の耐湿性に関連する要因の中で過剰水分条件下における不定根の形成能に着目して、トウモロコシ自殖系統とその近縁種のテオシントにおける系統変異と遺伝性を解析した。

材料と方法

実験には農業生物資源研究所ジーンバンクと畜産草地研究所が保有するトウモロコシ自殖系統の中から、41系統を供試した。これらの自殖系統は前報(間野ら2002)で幼植物の耐湿性を検定したものである。また、USDAから分

譲を受けた *Zea mays* ssp. *huehuetenangensis* (PI441934) と *Zea luxurians* (PI441933) のテオシント 2 系統も同時に検定した。

1. 不定根形成量の変異

トウモロコシ自殖 41 系統とテオシント 2 系統の合計 43 系統の不定根形成量を温度制御していないガラス室内で検定した。各系統を 1/5000 a のポットに 6 粒ずつ播種し、3 個体に間引いた。播種後 2 週間目に地表面から上約 1 cm の湛水処理を 2 週間行った。不定根を形成する能力の評価は、播種後 4 週間目に地表にあらわれた不定根の量をポットごとに調査し、3 個体の合計を目視によりスコア 0 (無) ～スコア 3 (多) の 4 段階で行った。各スコアにおける地表の根の長さの合計は個体当たりそれぞれ 5 cm 以下、5～30 cm、30～60 cm、60 cm 以上である。なお、本実験における根の長さは不定根 (節根) のみを測定し、分枝根 (側根) は含んでいない。検定には、粒状培土 (呉羽化学: ポットあたり N=1.2g, P=5.7g, K=1.8 g 含有) を用いた。この土壌条件では、生育期間を通して土壌の還元はあまり進まないことが明らかになっている (間野ら 2002)。実験は 2001 年 6 月と 7 月の 2 回 (2 反復) 行い、それぞれの反復について 1 区 (ポット) 3 個体で、2 区の計 6 個体を評価した。

2. 遺伝解析

(1) F₂ 集団の分離

実験には湛水処理を行っても地表にほとんど不定根が生じないトウモロコシ自殖系統 B64 (農業生物資源研究所 ジーンバンクコード 00094105) と多数の根を形成するテオシント *Z. mays* ssp. *huehuetenangensis* の F₂ 集団 120 個体と、B64 と多数の根を形成するトウモロコシ自殖系統 Na4 (畜産草地研究所育成) の F₂ 集団 110 個体を供試した。実験は 2002 年 10 月から 11 月にかけて自然日長下で昼 30℃、夜 25℃の温室で前項の不定根形成量の変異を調べた実験と同様な方法で行った。ただし、1/10000 a のポットに各 1 個体植えとし、播種後 2 週間目に地表面から上約 3 cm の湛水処理を行った。

(2) F₃ 集団の分離と親子相関

上記の F₂ 集団の不定根形成量を調べた後、2 つの交雑集団の各個体を 1/5000 a のポットに移植して通常栽培を行った。自殖種子が得られた B64 x *Z. mays* ssp. *huehuetenangensis* の 48 の F₃ 集団と、B64 x Na4 の 45 の F₃ 集団を供試し、各集団の F₃ について 8-15 個体の不定根形成量を 2003 年 5 月から 8 月にかけて F₂ 集団の検定と同様な方法で調査した。F₃ 集団の検定においては供試個体数が多かったことから、それぞれの組合せについて 2 回に分けて検定を行った。なお、F₂ の後代が得られなかった個体は、主に雄穂と雌穂の開花期が合わなかったため自殖種子が得られなかった。

不定根形成量と湛水条件下における根長の関係調べるために、B64 x *Z. mays* ssp. *huehuetenangensis* の交雑由来の

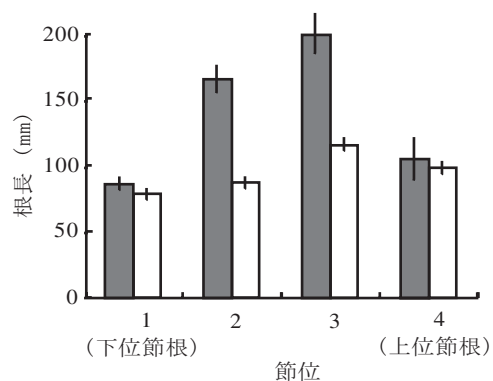
F₃ 個体の中から、不定根形成量が多い 8 個体と少ない 8 個体を無作為に抽出して節位別に根長を比較した。

結 果

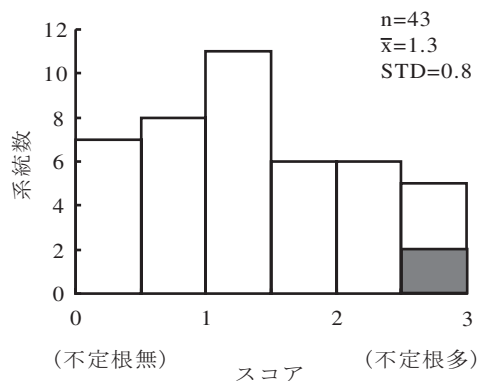
1. 不定根形成量の変異

本実験の湛水処理によって地表にあらわれた不定根の多くは植物体の基部の下から 2 番目および 3 番目の節から出た根であった。後述する遺伝解析で不定根形成能を調査した B64 x *Z. mays* ssp. *huehuetenangensis* の交雑由来の F₃ 個体について不定根形成量が多い 8 個体と少ない 8 個体の間で節位別に根長を比較したところ、下から 2 番目および 3 番目の節の根長は不定根形成量が多い個体のほうが有意に長かった (第 1 図)。

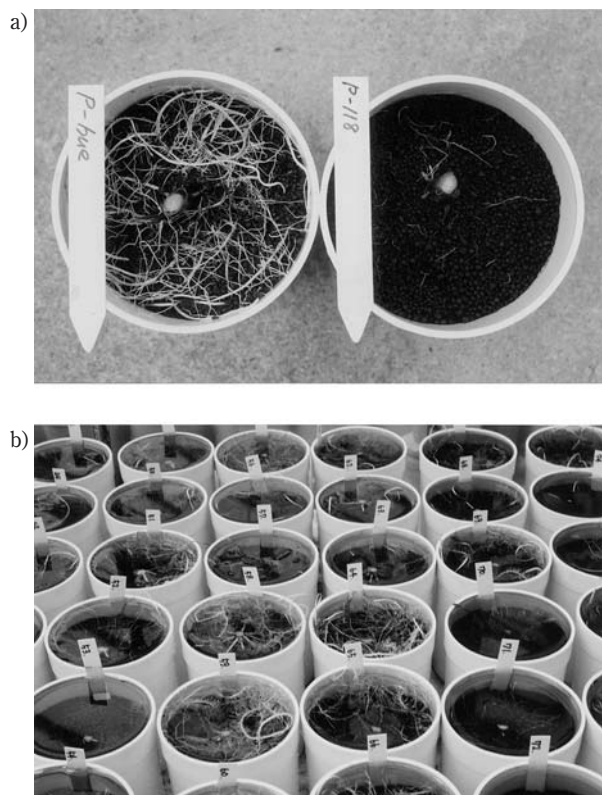
供試した 43 系統は不定根形成量について連続変異を示し、いくつかの不定根を形成しやすい系統 (*Zea mays* ssp. *huehuetenangensis* スコア 3.0, *Zea luxurians* スコア 3.0, Na4 スコア 2.8, WF9 スコア 2.5, A669 スコア 2.5), 形成しにくい系統 (A671, N19, B68Ht, H84 いずれもスコ



第 1 図 不定根形成量が多い系統 (■) と少ない系統 (□) の節位別にみた根長の比較。B64 x *Z. mays* ssp. *huehuetenangensis* 由来の F₃ 集団を供試し、不定根が多く形成される 8 個体と形成されない 8 個体を比較。根長 (地中也含めた長さ) は各個体について各節 3-4 本の節根の平均値。縦棒は標準誤差を示す (n=8)。



第 2 図 トウモロコシ自殖系統 (□) およびテオシント 2 系統 (■) の湛水条件下における地表の不定根形成量の変異。



第3図 a) テオシント *Z. mays* ssp. *huehuetenangensis* (左, 目視スコア3) とトウモロコシ自殖系統 B64 (右, 目視スコア0) の湛水条件下における地表の不定根形成量。b) B64 x *Z. mays* ssp. *huehuetenangensis* の F_2 集団における地表の不定根形成量の分離。いずれも地上部の植物体は切除している。

ア0.0)が見出された(第2図)。供試したテオシント2系統の不定根形成量はいずれも多かった。その一例を第3図aに示す。

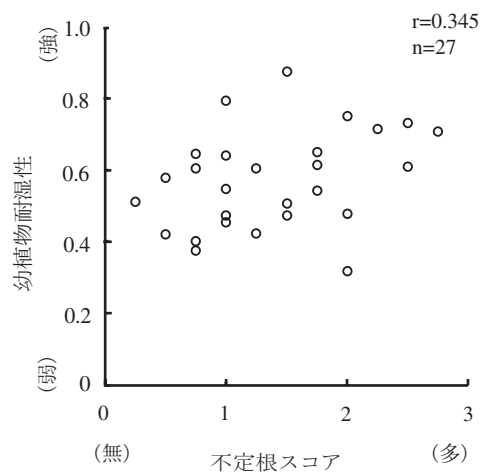
43系統のうち欠損データのあるものを除いた27系統について反復間の相関係数は0.749であり1%水準で有意であった。また、分散分析の結果も系統間差異は1%水準で有意であった。

今回、不定根形成量を調査した系統は、すでに処理区と対照区の乾物重比を指標とした幼植物の耐湿性を検定している(間野ら2002)ことから、不定根形成量と耐湿性との関係を調べたところ、相関係数は0.345 ($n=27$)と有意ではなかった(第4図)。一方、実際の栽培場面で重要な情報となる処理区における乾物重の絶対値と不定根形成量との関係は、反復1では相関係数が0.490、反復2では0.648といずれも1%水準で有意であった。

2. 遺伝解析

(1) F_2 集団の分離

第3図bにトウモロコシとテオシントの組合せである B64 x *Z. mays* ssp. *huehuetenangensis* の F_2 集団における不定根形成量に関する分離を示す。供試した2組合せの F_2 集団は不定根形成量について連続的な変異を示し、B64 x *Z.*



第4図 湛水条件下における地表の不定根形成量と幼植物における耐湿性との関係。幼植物耐湿性は処理区と対照区の乾物重比を指標とした。各系統の不定根スコアは、調査した4ポット(反復あたり2ポットで2反復)のスコアの平均値。

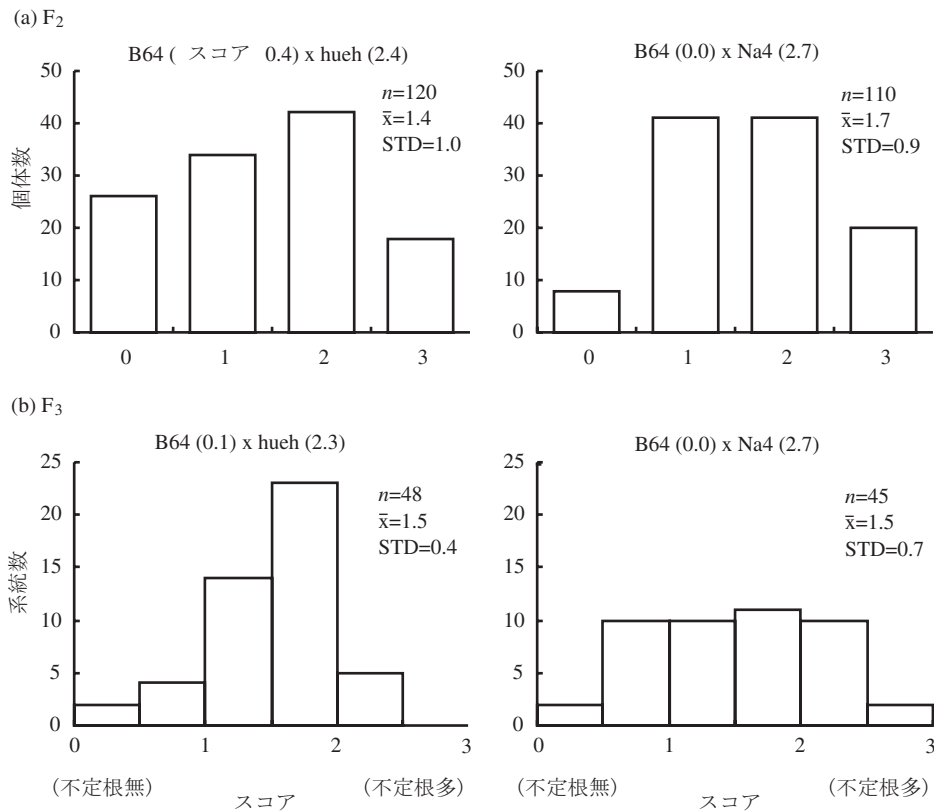
mays ssp. *huehuetenangensis* の組合せではスコアの平均値が1.4 ($n=120$)であり、また、トウモロコシ同士の B64 x Na4 の組合せではスコアの平均値が1.7 ($n=110$)であった(第5図a)。同時に検定した親系統のテオシント *Z. mays* ssp. *huehuetenangensis* のスコアは 2.4 ± 0.2 (平均±標準誤差) ($n=8$)、トウモロコシ Na4 のスコアは 2.7 ± 0.2 ($n=7$)と不定根形成量が多く、一方共通親であるトウモロコシ B64 のスコアは 0.4 ± 0.2 ($n=5$) および 0.0 ($n=7$) とほとんど不定根が形成されなかった。また、B64 x Na4 の組合せについては F_1 個体も検定しており、その不定根形成量のスコアは 2.4 ± 0.2 ($n=5$) と不定根形成量が多い Na4 に近かった。

(2) F_3 集団の分離と親子相関

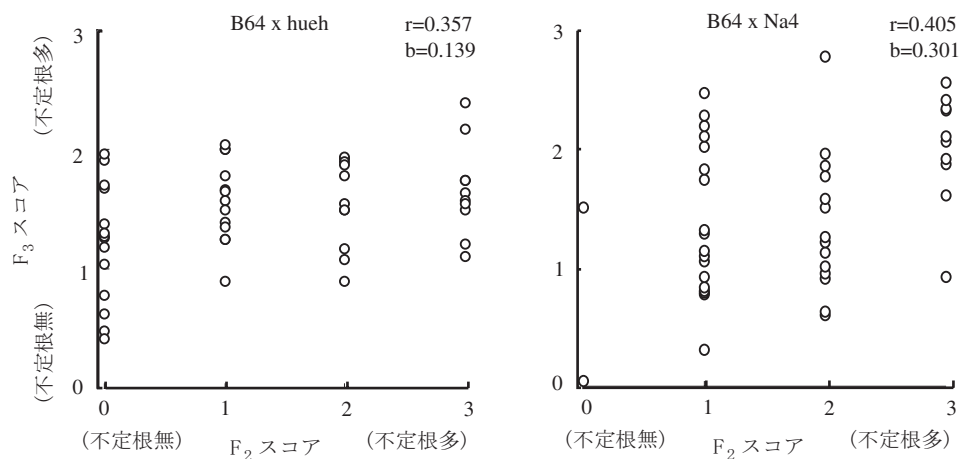
B64 x *Z. mays* ssp. *huehuetenangensis* および B64 x Na4 の F_3 集団における不定根形成量に関する変異を第5図bに示す。親系統の不定根形成量は *Z. mays* ssp. *huehuetenangensis* のスコアが 2.3 ± 0.1 ($n=13$)、Na4 ではスコアが 2.7 ± 0.2 ($n=22$)、共通親である B64 はスコアが 0.1 ± 0.1 ($n=8$) および 0.0 ($n=10$)といずれも F_2 検定時とほぼ同じであった。

F_3 集団は不定根形成量についてはいずれの組合せも連続変異を示し、B64 x *Z. mays* ssp. *huehuetenangensis* の組合せではスコアの平均値が1.5、また B64 x Na4 の組合せではスコアの平均値が1.5と、それぞれ F_2 個体の平均値に近い値であった。

F_2 世代と F_3 世代の親子関係を検討するために、 F_2 集団の各個体の不定根形成量と F_3 集団の不定根形成量の親子相関ならびに親子回帰を算出したところ、B64 x *Z. mays* ssp. *huehuetenangensis* の組合せでは相関係数が0.357、回帰係数が0.139、また、B64 x Na4 の組合せでは相関係数



第5図 B64 x *Z. mays* ssp. *huehuetenangensis* (hueh と省略) および B64 x Na4 の F₂ 集団 (a) および F₃ 集団 (b) の湛水条件下における地表の不定根形成量の変異.



第6図 B64 x *Z. mays* ssp. *huehuetenangensis* および B64 x Na4 の F₂ 集団と F₃ 集団の湛水条件下における地表の不定根形成量の親子相関・回帰.

が 0.405, 回帰係数が 0.301 であった (第6図).

考 察

本実験においてトウモロコシ自殖系統とその近縁種であるテオシントの湛水条件下における地表の不定根形成能には系統間差異が存在することが明らかとなり, いくつかの不定根形成能が高い系統を見出すことが出来た.

作物の野生種・近縁種には栽培種と比較してストレス耐

性が強いものが存在することが知られており重要な遺伝資源として利用されている (Harlan 1976). 本実験においてもテオシント *Z. mays* ssp. *huehuetenangensis* と *Z. luxurians* は不定根形成能が高く, 耐湿性育種の遺伝資源として利用できる可能性が示された. テオシントは主に降水量が非常に多いメキシコ, グアテマラ, ホンジュラスなどに自生しており, 耐湿性が強いと言われている. 本実験には供試しなかったが *Z. mays* ssp. *mexicana*, *Z. mays* ssp. *parviglumis*, *Z.*

diploperennis, *Z. perennis*, さらには最近ニカラグアで発見された *Z. nicaraguensis* (Itlis and Benz 2000, Bird 2000) などのテオシントの中には耐湿性がより強いものが存在するかもしれない。

テオシントと同様にトウモロコシも降水量が多い熱帯・亜熱帯にも分布する。湛水条件下で不定根が多数形成されるトウモロコシの Na4 はカリビア型フリント種に属する日本在来種に由来し、熱帯・亜熱帯起源である。また、Lizaso ら (2001) はベネズエラ在来の熱帯系のトウモロコシを湛水処理したところ多数の不定根を形成したと報告しており、本形質は高温多雨の地域における過剰水分に対する適応のひとつである可能性が指摘されている。さらに、本実験に供試した *Z. mays* ssp. *huehuetenangensis* は地表から上 12 cm と非常に強い湛水処理を行った場合においても極めて多数の不定根を形成して良好な生育を示すことから、湛水条件下で地表に不定根を形成する能力は過剰な水分条件に適応するための重要な形質のひとつであると言える。

テオシントの *Z. mays* ssp. *huehuetenangensis* およびトウモロコシの Na4 が持つ湛水条件下において地表に多くの不定根を形成させる能力は F_2 集団が連続的に分離したことから主働遺伝子の関与は認められず、複数の遺伝子に支配される形質であることが明らかとなった。2つの交雑組合せにおいて F_2 と F_3 世代の親子相関係数からの遺伝率の推定値は 0.357 と 0.405, 親子回帰係数からは 0.139 と 0.301 であった。なお、親子回帰係数が低かったのは F_3 世代で遺伝変異が小さくなったためと考えられる。

初期世代の遺伝率は十分には高くないものの、湛水条件下で地表に不定根を形成する能力は遺伝形質であり、本実験に供試した2つの交雑集団を用いて量的形質遺伝子座 (QTL) 解析が可能であると考えられる。今後 QTL 解析を行えばテオシントとトウモロコシの不定根形成能が同じ遺伝子に支配されているかどうかは明らかになるであろう。また、明らかとなる QTL の近傍の分子マーカーを用いることによって効率的に耐湿性の間接選抜を行うことが出来ると考えられる。

本実験によって、不定根形成能が高い系統を見出すことが出来たとともに、その遺伝様式の一部が明らかとなった。前述したように湛水条件下で地表に不定根を形成する能力は過剰な水分条件に適応するための重要な形質のひとつであると考えられるが、不定根形成量と幼植物の耐湿性との相関係数は有意ではなく (第4図) 耐湿性には他の要因も関与していると考えられる。なお、第4図において不定根スコアが 2.0 で幼植物耐湿性が 0.32 の系統 (HUOBAL,

中国の系統) を除くと相関係数が 0.494 と有意となり、不定根形成量と幼植物の耐湿性との間に正の関係が示唆されると共に、HUOBAL は通気組織が出来にくいなど、不定根形成能以外の耐湿性関連形質を持っていない可能性が示された。今後、通気組織形成能や還元状態における耐性などの耐湿性に関係する他の要因についても遺伝様式とメカニズムを明らかにする予定である。これらの要因を別々に解析して、個々の優れた遺伝子型を組み合わせることができれば効率の良い耐湿性育種を行うことが可能であると考えられる。

引用文献

- 有門博樹 1960. 通気組織系の発達と作物の耐湿性との関係. 第12報 水・陸生植物の根中におけるガス含量と酸素濃度. 日作紀 29: 55-56.
- 有門博樹 1975. 通気組織系と作物の耐湿性. オリエンタル印刷, 東京. 95.
- Bird, R.McK. 2000. A remarkable new teosinte from Nicaragua: Growth and treatment of progeny. Maize Gen. Coop. Newsl. 74: 58-59.
- Drew, M.C., A. Chamel, J.-P. Garrec and A. Fourcy 1980. Cortical air spaces (aerenchyma) in roots of corn subjected to oxygen stress. Plant Physiol. 65: 506-511.
- Harlan, J.R. 1976. Genetic resources in wild relatives of crops. Crop Sci. 16: 329-333.
- Itlis, H.H. and Benz, B.F. 2000. *Zea nicaraguensis* (Poaceae), a new teosinte from Pacific coastal Nicaragua. Novon. 10: 382-390.
- Lizaso, J.I., Melendez, L.M. and Ramirez, R. 2001. Early flooding of two cultivars of tropical maize. I. shoot and root growth. J. Plant Nutr. 24: 979-995.
- Kawase, M. 1981. Anatomical and morphological adaptation of plants to waterlogging. Hort. Sci. 16: 8-12.
- 間野吉郎・村木正則・小松敏憲・藤森雅博・秋山典昭・高溝正 2002. トウモロコシ自殖系統における種子の冠水抵抗性および幼植物耐湿性の変異. 日作紀 71: 361-367.
- 大久保和男・武田和義 1991. オオムギの幼植物における耐湿性の品種変異. 育雑 41 (別2): 396-397.
- Oyanagi, A., T. Nakamoto and S. Morita 1993. The gravitropic response of roots and the shaping of the root system in cereal plants. Environ. Exp. Bot. 33: 141-158.
- 田瀬和浩・小林真 1992. イタリアンライグラスの耐湿性に関する研究. 第2報 イタリアンライグラスの耐湿性簡易検定法. 北陸作物学会報 27: 76-78.
- Vartapetian, B.B. and Jackson, M.B. 1997. Plant adaptations to anaerobic stress. Ann. Bot. 79: 3-20.
- 山崎伝 1952. 畑作物の湿害に関する土壌化学的並に植物生理学的研究. 農技研報 B, 1: 1-92.

Varietal Difference and Genetic Analysis of Adventitious Root Formation at the Soil Surface during Flooding in Maize and Teosinte Seedlings: Yoshiro MANO*, Masanori MURAKI, Masahiro FUJIMORI and Tadashi TAKAMIZO (*National Institute of Livestock and Grassland Science, Nasushiobara 329-2793, Japan*)

Abstract : Adventitious root-forming (ARF) ability, at the soil surface, is most important for adaptation of the plant to soil flooding or waterlogging. We evaluated the ARF ability of maize and teosinte seedlings under a waterlogged condition, and analyzed the mode of inheritance of the trait. The ARF ability was evaluated by the visual rating of root formation at the soil surface after exposure to flooding for 2 weeks. The ARF ability showed a wide variation among 43 maize and teosinte lines. In particular, teosinte showed a high ARF ability. The correlation coefficient between replications was 0.749, indicating the significant repeatability of the experiments. Two sets of F_2 populations and F_3 lines of B64 (low ARF ability) x *Zea mays* ssp. *huehuetenangensis* (high ARF ability) and B64 x Na4 (high ARF ability) showed continuous variation for the ARF ability, suggesting that this morphological trait was controlled by multiple genes. Heritabilities estimated from correlation coefficient and regression coefficient between F_2 and F_3 were 0.357 and 0.139 in the B64 x *Z. mays* ssp. *huehuetenangensis* cross and 0.405 and 0.301 in the B64 x Na4 cross, respectively.

Key words : Adventitious root, Genetic resource, Maize, Seedling, Teosinte, Waterlogging
