

令和 4 年 6 月 21 日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06009

研究課題名(和文) ソルガムの葉面積・再生性増大関連遺伝子の研究

研究課題名(英文) Study of genes related to increased leaf area and regeneration ability in sorghum

研究代表者

川東 広幸 (Kawahigashi, Hiroyuki)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・果樹品種育成研究領域 果樹茶育種基盤グループ・主席研究員

研究者番号：80373249

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：ソルガム(*Sorghum bicolor* (L.) Moench)の単位面積あたりの収穫量を上げるために、第10染色体に座乗する葉の面積を増大させる遺伝子領域(qLL10)と収穫後の再生能力を上げる遺伝子領域(qRG10)について研究を行いました。ソルガムの交配後代から得られた組み換え自殖系統を用いて、マッピングを実施したところ、それぞれの遺伝子候補領域が0.25Mおよび1.2Mの範囲に絞り込むことができました。qRG10について、幼苗切断後の再生芽における遺伝子発現を検討したところ、候補領域内で再生性能力に 관련된遺伝子発現パターンを示す遺伝子がいくつか見いだされました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ソルガム(*Sorghum bicolor* (L.) Moench)は、アフリカ原産のC4作物であり、夏期に旺盛な生育を示します。種子が食料使用のほか、草体は牛飼育用の飼料として重要な作物です。現在の耕地面積をそのままに単位面積の収穫量を飛躍的にしかも安価に上げることができれば、食料及びバイオマス資源の安定的供給が可能になるほか、二酸化炭素の固定化にも貢献することが期待されます。

研究成果の概要(英文)：To increase the yield per unit area of sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench), we studied a gene region that increases the leaf area (qLL10) and that increases postharvest regeneration capacity (qRG10) on chromosome 10. A detailed gene mapping was performed using recombinant lines derived from a cross of sorghum and sudangrass progeny, which allowed us to narrow the range of candidate gene regions to 0.25M and 1.2M, respectively. Gene expression of qRG10 region in regenerating shoots after seedling transection revealed several genes that exhibit gene expression patterns correlated with regenerative ability within the candidate regions.

研究分野：農業遺伝学

キーワード：ソルガム 再生性 収量性増大 バイオマス 飼料作物 C4作物

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ソルガム(*Sorghum bicolor* (L.) Moench)は、アフリカ原産の一年生作物でありアフリカやインドといった乾燥地帯において広く栽培され、世界で5番目に生産量の多い主要穀類です(約5800万トン、<http://faostat3.fao.org/>)。ソルガムは日本全国のほとんどの地域で生育可能であるうえ、トウモロコシ栽培に不適な過湿土壌さらには耕作放棄地などの肥沃度が低い土地でも旺盛な生育量を確保することが可能なC4作物であります。日本では暖地・温暖地(関東以西)~寒冷地南部における長大型飼料作物の作付面積(平成25年作物統計)は、ソルガムが約15200haであり、ソルガムはとうもろこしに次ぐ重要な飼料作物といえます。日本では牛の飼育用の飼料として利用される夏作物であり、国産飼料の自給率を上げるためにも重要な作物です。

ソルガムは高い乾物生産性を示すことから、飼料作物やバイオマス資源作物としても広く利用されています。ソルガムの場合、年間の乾物生産を向上させるためには、個体あたりの乾物量を上げる年に数回の収穫を可能にするという方策が考えられます。については、出穂、草型を変える稈長の制御に関する研究がこれまで行われてきました。一方で、光合成の主体となる葉自体を増大させる研究はほとんど行われていませんでした。については、刈り取り後の再生性が重要な特性となります。

ソルガムの栽培品種においては葉身長および葉幅に幅広い変異がみられることから葉面積に関する遺伝的な多様性が存在し、葉面積の変異に直結することが考えられます。また、再生性においても幅広い変異があることが知られており、特にソルガムの近縁種スーダングラス(*Sorghum bicolor* var. *sudanese*)は高い再生能を持つことが知られています。

我々はこれまでの研究で、再生性に優れ葉身長の高いスーダングラスの市販品種「GreenLeaf」と再生性が不良で葉身長の短いソルガム系統「那系 MS-3B」の交配後代から得られた組換え自殖系統を用いて、葉面積の増大に関与する量的形質遺伝子座(Quantitative trait locus、以下QTL)で、第10染色体に座乗するqLL10と、再々性に関与するQTL(qLL10)を見だし、qRG10は再生時における再生芽の形成に関与し、再生芽を増やすことで再生性を高めていることを明らかにしています。

2. 研究の目的

本研究ではソルガムの単位面積あたりの収穫量を上げるために、葉の面積を増大させる遺伝子とソルガムの再生能力を上げる遺伝子を決定し、それらの遺伝子が収量へどのような効果をもたらすか、その機能を解明することを目的として研究を行います。

3. 研究の方法

これまでに見いだされてきた、ソルガムの葉長 qLL10 および再生性 qRG10 の座乗領域をさらに狭めると同時に、次世代シーケンサーで得られたゲノム配列情報および転写産物情報によって、両形質を支配する候補遺伝子の同定を行いました。

2019年度

qLL10, qRG10 の座乗位置をさらに絞り込むために、信州大学園場にて交配後代から該当 QTL 領域をさらに絞り込んだ BC2 後代を育成し、自殖系統種子を大量に確保するとともに、戻し交配を進め一部の系統については自殖を行いました。自殖を行った戻し交雑系統については、栽培調査を行い、DNA マーカーの解析の手法を用いて BC2 後代における組換え自殖系統を順次選抜し、領域を絞り込みました。さらに QTL 候補領域を絞り込むための後代検定用の材料の作出を行いました。葉面積については、面積の大きい系統「JN43」と面積の小さい系統「那系 MS-3B」由来の集団を利用し、再生性については再生性の良好なスーダングラス市販品種「GreenLeaf」と再生性の不良なソルガム系統「那系 MS-3B」の交配集団を用いました。

2020年度

前年度と同様に qLL10, qRG10 の座乗位置をさらに絞り込むために、信州大学園場にて該当 QTL 領域をさらに絞り込んだ BC2 後代を育成し、栽培調査を行い、DNA マーカーの解析の手法を用いて領域を絞り込みました。ソルガムの再生性 qRG10 については、「Greenleaf」と「那系 MS-3B」の交配集団より得られた2種類の固定系統#59と#110について遺伝背景を確認するために次世代シーケンサーによる解析をおこないました。

2021年度

2020年度夏期のソルガム栽培試験結果をもって固定系統を選抜しました。また、葉面積 qLL10 については2021年度に葉面積の大きい系統「JN43」と葉面積の小さい系統「那系 MS-3B」の交配集団から得られた交雑系統後代(#53, #93, #105, #107, #181)および親系統を使用して、研究をおこないました。また、ソルガムの再生性 qRG10 については「Greenleaf」と「那系 MS-3B」の交配集団より得られた2種類の固定系統#59と#110および親系統を使用し、研究を行いました。春から夏の時期に選抜系統を温室条件下で異なる水分条件下で管理栽培し、当該サンプルを得た

後 RNA-seq 解析を実施しました。

4. 研究成果

本研究では第 10 染色体短腕の異なる位置に座乗する qRG10 及び qLL10 の座乗領域を狭めるためのマッピングを実施しました。再生性 qRG10 及び葉長 qLL10 は共にソルガム第 10 染色体短腕の比較的近い位置に座乗しています。葉面積については「JN43」と「那系 MS-3B」由来の集団を利用し、2019 年度、候補領域内の組み換え個体が多数得られたため、qLL10 の候補領域を約 5 M から 1.2M に大幅に絞り込むことができました。また、2020 年度の栽培実験の結果から、qLL10 の候補領域を約 1.2M から約 250 k bp に大幅に絞り込むことができました(図 1)。

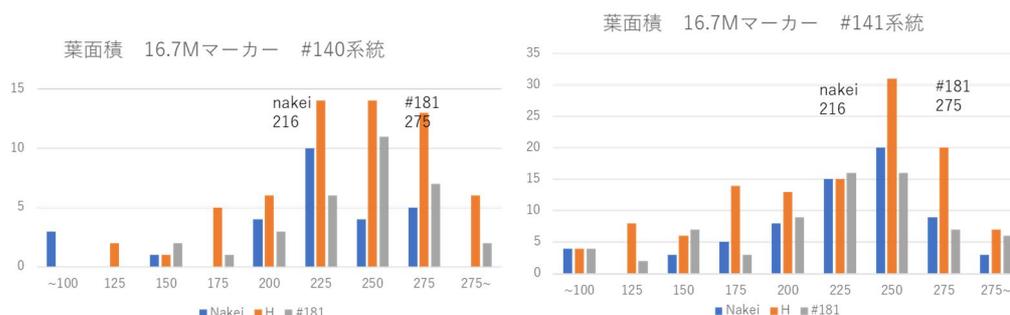


図1 葉面積のヒストグラム

候補領域がヘテロの系統(#140)および「那系 MS-3B」型で固定された系統(#141)における 16.7M の位置のマーカーによる遺伝子型で分類した場合の葉面積のヒストグラム(右)#140 では「那系 MS-3B」型の葉面積が小さいという遺伝子型による葉面積の差が見られる。(左)#141 では染色体 10 番の 14.9M の領域まで「那系 MS-3B」型で固定されている。そのため、遺伝子型による葉面積の差が見られない。#181 は葉面積の大きい系統「JN43」型の固定系統を示す。

また、この領域内には候補遺伝子が 10 個存在していることが予測されました(図 2)。幼苗未展開葉を用いた RNA-seq 解析の結果では、遺伝子発現状況はこれまでの遺伝子マッピングと一致しましたが、想定領域内に遺伝子発現量と収量の相関性の高い遺伝子は見いだされませんでした。qLL10 の候補遺伝子領域の近傍に出穂に関係する CO 様の遺伝子が存在し、この遺伝子の関与の可能性が残っています。

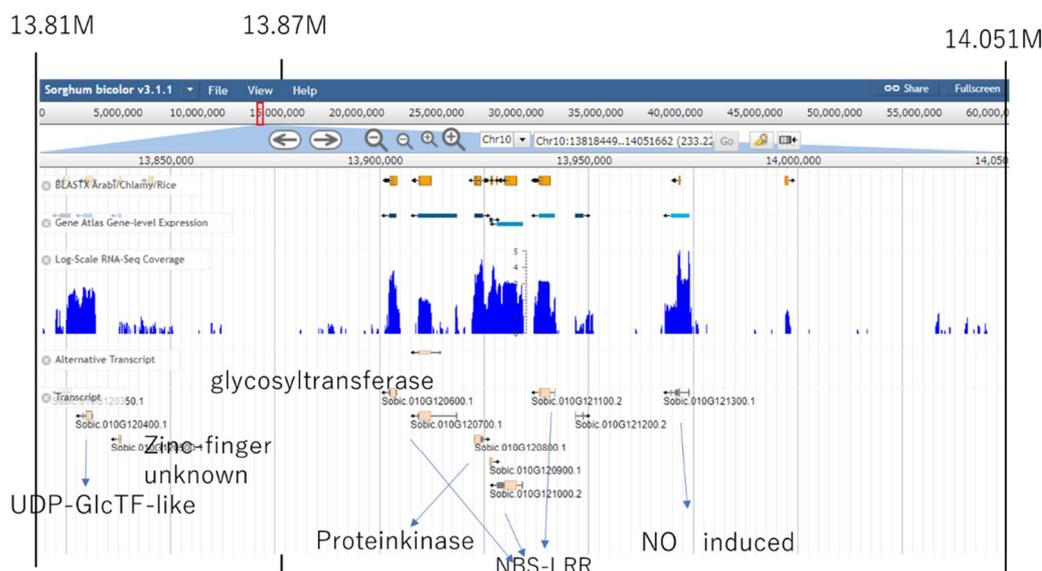


図2 葉面積を増大させる遺伝子候補領域と予測遺伝子

再生性 qRG10 および葉長 qLL10 はともにソルガム第 10 染色体短腕の比較的近い位置に座乗し、両者の領域は重複を含め最小 8、最大 16Mb 程度離れていると考えられていましたが、2019 年度の解析で両者の座乗位置が明確に分離し、それぞれの候補領域を約 1.2M に絞り込むことができ

ました。

2020年度も再生性に対する圃場試験を行いました。気象条件の影響などから、再生性の試験結果のばらつきが大きく、候補領域を狭めるには至りませんでした。そこで、候補領域が固定した系統(#59, #110)を利用して次世代シーケンサーを利用した候補領域のゲノム配列の検定を実施しました。その結果、第10染色体の11-12.9Mbの領域にGreenleaf由来の染色体領域が存在することを確認しました(図3)。この候補領域内に77個の候補遺伝子が存在しました。それらの遺伝子転写産物における遺伝子の変異比較を実施し、遺伝子の機能として中程度及び重篤な影響を与える変異の数が1つ以上ある遺伝子を43個見いだすことができました。

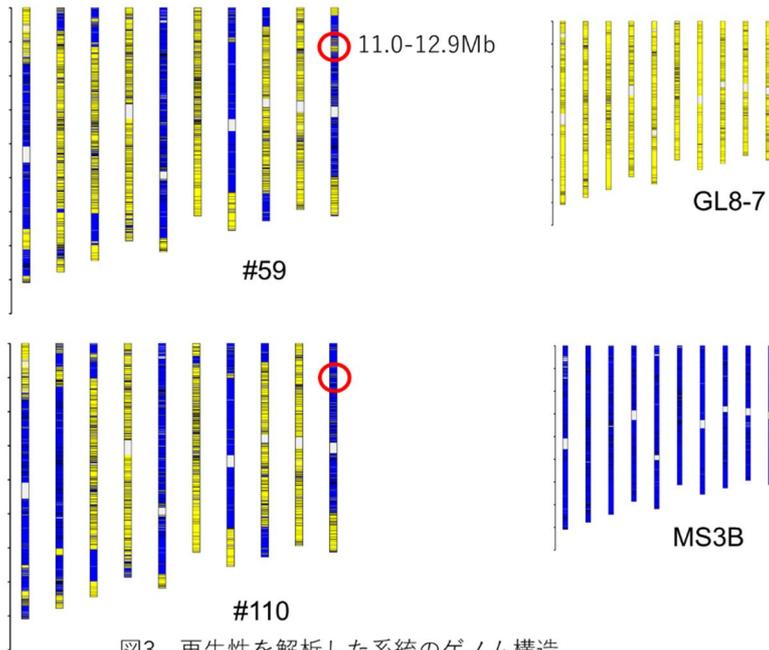


図3 再生性を解析した系統のゲノム構造

続いてソルガムの再生性を決定する遺伝子を絞り込むため RNA-seq 解析を実施しました。再生性には土中の水分条件が大きく関与するため、乾燥条件と吸水条件で1ヶ月の幼苗を切断し24時間後の再生芽の遺伝子発現状況を比較しました。まず、乾燥条件と湿潤条件では大きく遺伝子発現が異なっていました。また、固定系統の遺伝子発現は「Greenleaf」に近い発現程度を示しました(図4)。当該領域で明らかに遺伝子発現様式が異なり、再生能力に相関がある遺伝子がいくつか見いだされました(図4右)。今後は今回の研究で見いだされた遺伝子の機能について解析を実施していく予定です。

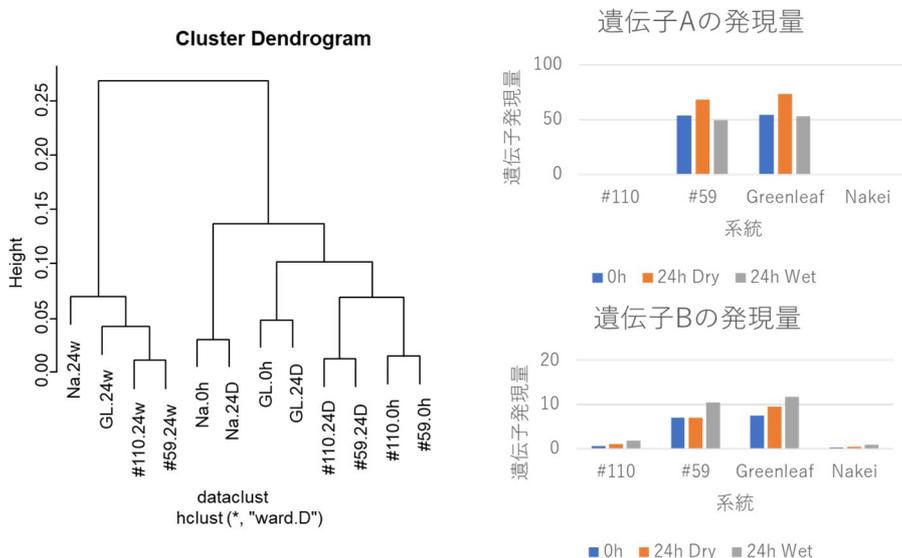


図4 TMM正規化により正規化された発現情報を用いたクラスタリング(右)と候補遺伝子の遺伝子発現量の比較(左)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kawahigashi Hiroyuki, Yonemaru Jun ichi, Kiyosawa Atsushi, Mizuno Hiroshi, Kasuga Sigemitsu	4. 巻 68
2. 論文標題 DNA marker analysis of flowering time, semi dwarf, fertility restorer, and brown midrib genes in sorghum (<i>Sorghum bicolor</i> [L.] Moench)	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Grassland Science	6. 最初と最後の頁 101 ~ 113
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/grs.12343	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yonemaru Jun ichi, Kasuga Shigemitsu, Kawahigashi Hiroyuki	4. 巻 69
2. 論文標題 QTL analysis of regrowth ability in bmr sorghum (<i>Sorghum bicolor</i> [L.] Moench) × sudangrass (<i>S. bicolor</i> subsp. <i>drummondii</i>) populations	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Grassland Science	6. 最初と最後の頁 1-9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/grs.12365	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	春日 重光 (Kasuga Shigemitsu) (50345758)	信州大学・学術研究院農学系・教授 (13601)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 協力者	米丸 淳一 (Yonemaru Jun-ichi)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------