

平成 22 年 5 月 28 日現在

研究種目：若手研究 (B)  
 研究期間：2008 ～ 2009  
 課題番号：20780003  
 研究課題名 (和文) ミヤコグサの農業形質に関する QTL とマメ科植物との  
 シンテニー領域の解明  
 研究課題名 (英文) QTL analysis of agronomic traits in *Lotus japonicus* and elucidation  
 of synteny region with legume species  
 研究代表者  
 権藤 崇裕 (GONDO TAKAHIRO)  
 宮崎大学・フロンティア科学実験総合センター・助教  
 研究者番号：10437949

研究成果の概要 (和文)：本研究は、マメ科のモデル植物であるミヤコグサを用いて、マメ科重要形質の開花始日、茎色、一莢粒数、裂莢性および種子重に関わる量的形質遺伝子座 (QTL) を明らかとした。検出された QTL は、開花始日および茎色でそれぞれ 1 つ、一莢粒数、裂莢性および種子重でそれぞれ 4 つであり、高密度な DNA マーカーを用いることで、QTL の位置を絞り込むことができた。種子重に関する QTL については、ミヤコグサとダイズのシンテニー関係を比較したところ、検出された 4 つの QTL のうち 3 つがダイズの既知の QTL と対応していた。

研究成果の概要 (英文)：In this study, we identified the quantitative trait loci (QTLs) related to agronomically important traits of flowering time (FT), stem color (SC), seeds per pod (SPO), pod shattering (POS) and seed mass (SM) in model legume *Lotus japonicus*. Detected QTLs were a single position in FT and SC, four positions in SPO, POS and SM respectively. The position of QTL could be narrowed with a high density DNA marker. Three of SM QTLs mapped to the corresponding genomic positions equivalent QTLs in soybean.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2009 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,500,000	450,000	1,950,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学

キーワード：ミヤコグサ、モデル植物、QTL、シンテニー、農業形質

## 1. 研究開始当初の背景

量的形質遺伝子座 (QTL) 解析は、開花や草丈、収量など、農業上重要な量的形質をコントロールする遺伝子領域を明らかにする

ことができ、作物の育種に活用することが期待されている。また、近年のゲノム研究の進展による研究資源 (ゲノムクローンライブラリー、DNA マーカー、塩基配列情報) の充

実により、QTL の同定・単離といった一連の分子遺伝学な解析が可能となりつつある。一方、このような分子遺伝学解析は複雑なゲノム構造をもつ植物種では詳細な解析を行うことが困難であるため、モデル植物を媒介として解析することが寛容である。

ミヤコグサは、自殖性の2倍体でゲノムサイズが約 480cM と小さく (Hayashi et al. 2001)、世代時間が短いことからマメ科のモデル植物として着目されている。このことからミヤコグサでは、バイオリソースプロジェクトにおいて研究資源の充実が図られ、国内野生系統、組換え自殖系統および DNA クローンなどのリソースが整備されている (<http://www.legumebase.agr.miyazaki-u.ac.jp/>)。また、全塩基配列が解読されたことから、ミヤコグサを分子遺伝学的に研究する上で十分な研究基盤が確立している。さらに、ミヤコグサを中心に他のマメ科作物とのゲノムシンテニーが明らかにされつつあることから (Choi et al. 2004; Zhu et al. 2005)、ミヤコグサにおいて農業上重要な形質に関わる QTL を明らかにすることで対応するマメ科作物の遺伝子領域が推定できる。

## 2. 研究の目的

我々は、これまでミヤコグサにおいて開花 (開花始日、開花程度)、草丈、草型および再生性、茎の形質 (茎太、茎色)、葉の形質 (葉長、葉幅)、莢の形質 (莢長、莢幅、一莢粒数)、種子重など、13 の基本的な農業形質に関する QTL を明らかとしてきた (Gondo et al. 2007)。この中で、種子重に関する 5 つの QTL のうち 4 つがダイズの既知の QTL と対応しており、他の主要なマメ科作物においても保存性が高いことから、得られた種子重の QTL はマメ科作物の中で同祖的な QTL である可能性が高いものと推察されている。このように、マメ科作物の重要形質は、遺伝的に保存性が高いと考えられ、ミヤコグサで得られた QTL 情報をマメ科作物に活用できる可能性がある。今後は、マメ科作物において重要な育種形質に着目して解析を進め、ミヤコグサで得られた QTL をどのようにダイズなどのマメ科作物に応用するかが重要な課題である。

本研究は、マメ科作物において特に重要な形質である裂莢性について着目し、モデル植物であるミヤコグサを用いて QTL 解析を行うとともに、これまで解析した 13 農業形質の QTL のうち、開花始日、茎色、一莢粒数、種子重および裂莢性について、高密度な DNA マーカーを用い、QTL の位置を絞り込む。また、得られた QTL について、他のマメ科植物にリンクする遺伝子領域を推定し、モデル植物から作物への研究の可能性を模索する。

## 3. 研究の方法

### (1) 裂莢性の評価および QTL 解析

供試材料はミヤコグサ Miyakojima MG-20 (Miyakojima) と Gifu B-129 (Gifu) の RI 系統 110 系統である。RI 系統は、2008 年 4 月に播種した後、発芽した個体をポットに 1 系統 5 個体ずつ移植して温室内で栽培した。莢は、表面が乾燥し完全に登熟したのから順次採取し、系統ごとに 4°C で保存させた。裂莢試験は、莢を 20 個ずつ紙袋に入れ、室温で 1 日放置した後、40°C に予熱した温風乾燥機で 3 時間および 6 時間処理して裂莢率を調査した。QTL 解析は、形質データについてゲノム全体を網羅している 96 個の SSR マーカーの分離データを用い、MapQTL5.0 により MQM マッピングを行った。なお、QTL 検出の閾値は LOD 値 2.0 以上とした。

### (2) マメ科重要形質に関する詳細な QTL 解析

マメ科の重要形質である開花始日、茎色、一莢粒数、種子重および裂莢性について、解析を行った。これまで評価した形質データをもとにかずさ DNA 研究所で開発された 323 個の SNP マーカーの分離データを用い、MapQTL5.0 により MQM マッピングを行った。なお、QTL 検出の閾値は permutation test で 5% 水準にあたる LOD 値を用いた。

## 4. 研究成果

### (1) ミヤコグサの裂莢性に関する QTL

RI 系統 110 系統を温室内で栽培し、完全に登熟した莢を採取して、裂莢性を調査した。RI 系統の裂莢率は、親系統である Miyakojima と Gifu をもとに大きく分離しており、乾燥 3 時間処理区では 6.3~88.8% (平均: 54.4%)、6 時間処理区では 16.0~100% (平均: 71.2%) であった (図 1)。

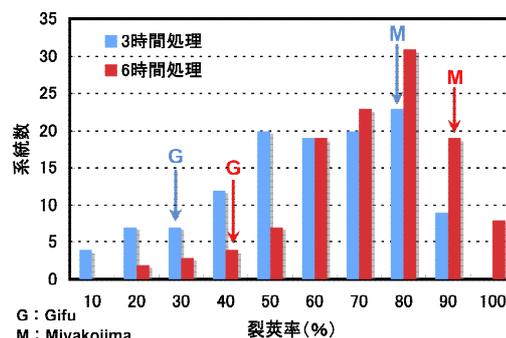


図 1. Miyakojima MG-20 (M) x Gifu B-129 (G) の RI 系統における裂莢率の頻度分布

検出された QTL は、乾燥 3 時間処理区が 1 個、6 時間処理区が 4 個であり、第 1、3、4 染色体上に認められた (図 2)。第 3 染色体の QTL は、両処理で同じ位置に認められ、その

効果も類似していることから、同一の QTL であると考えられた。最も効果の高い QTL は、第 4 染色体に座乗し、LOD 値が 2.8、寄与率が 9.4% で Gifu アリルを増加させる作用を示していた。一方、その他 3 つの QTL は、全て Gifu アリルを減少させていた。以上のことから、ミヤコグサの裂莢性は、ダイズのように主要な QTL が支配しているのではなく、効果の低い QTL が複数関与しているものと考えられる。

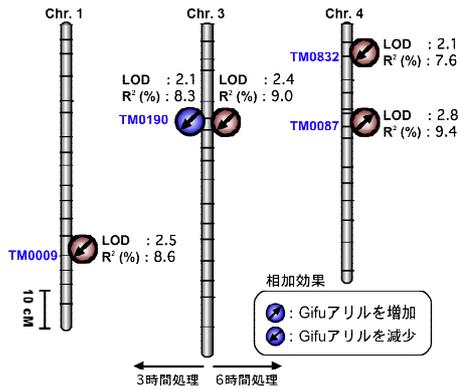


図 2. ミヤコグサの裂莢性に関する QTL

(2) ミヤコグサにおけるマメ科主要形質に関する QTL 領域とダイズとのシンテニー関係  
 これまで解析した 13 農業形質の QTL のうち、開花始日、莖色、一莢粒数、種子重および裂莢性について、かずさ DNA 研究所で開発された 323 個の SNP マーカー情報を用い、QTL の位置を絞り込んだ。今回検出された QTL のほとんどは、これまで解っている QTL とほぼ同じ領域に位置しており、その効果についても同様であった。最も効果の高い莖色の QTL は、第 2 染色体の 25.8~28.3 cM の間に位置しており、LOD 値が約 30 で 70% 近い寄与率を示していた。開花始日については第 1 染色体の 42.6~44.2 cM で両年同じ位置に QTL が検出され、LOD 値が約 6.0 で 20% 近い寄与率を示していた。一莢粒数に関する QTL は、4 つ検出され、裂莢性については、QTL の効果が低く検出されなかった。種子重に関する QTL は、合計 4 つ検出され、ミヤコグサとダイズのシンテニー関係を比較すると、そのうち 3 つがダイズの既知の QTL と対応していた。また、ミヤコグサの種子重の QTL と他の主要なマメ科作物との対応関係から、得られた種子重の QTL は、マメ科植物間で遺伝的に保存性が高いものと推察される。

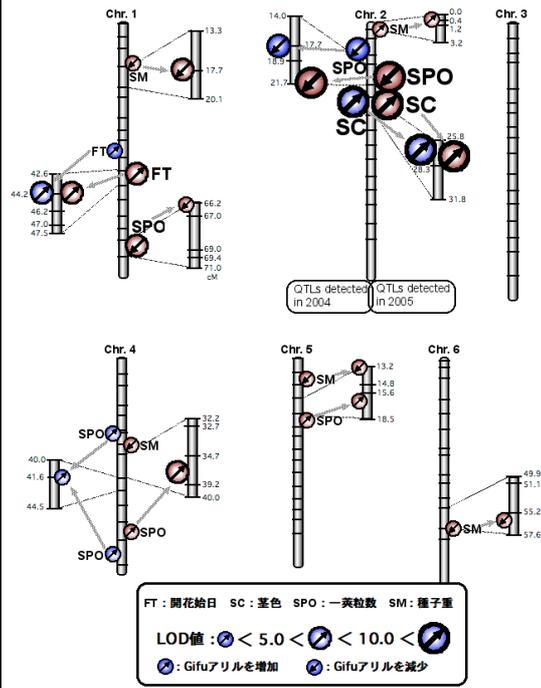


図 3. ミヤコグサの開花始日、莖色、一莢粒数および種子重に関する詳細な QTL の位置

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

- ① 橋口正嗣、榎藤崇裕、明石 良、バイオリソース&データベース活用術「ミヤコグサ・ダイズ モデル植物から作物への展開」、細胞工学別冊、査読無、2009、pp212-215

[学会発表] (計 2 件)

- ① 榎藤崇裕、橋口正嗣、明石 良、ミヤコグサの裂莢性に関する QTL 解析、日本育種学会、2009. 03. 28、つくば国際会議場
- ② 榎藤崇裕、橋口正嗣、明石 良、ミヤコグサ (*Lotus japonicus*) の農業形質に関する QTL とマメ科植物間のシンテニー、日本分子生物学会春期シンポジウム、2009. 05. 11、宮崎シーガイア ワールドコンベンションセンター・サミット

6. 研究組織

(1) 研究代表者

権藤 崇裕 (GONDO TAKAHIRO)

宮崎大学・フロンティア科学総合実験センター・助教

研究者番号：10437949

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：