

令和 2 年 6 月 10 日現在

機関番号：10105

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07618

研究課題名(和文) 機械化栽培体系の確立を目指したアズキの長胚軸性と有限伸育性QTLの同定

研究課題名(英文) Genetic mapping of QTLs controlling plant architecture for machinery harvesting in adzuki bean

研究代表者

森 正彦 (MORI, Masahiko)

帯広畜産大学・畜産学部・助教

研究者番号：60645711

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：アズキの草型に関連する形質の遺伝機構を解明することを目的として、上胚軸長と伸育性に関わる量的形質遺伝子座(QTL)の検出を試みた。QTL解析の結果、長胚軸性に関わる2つのQTLsを検出した。また、長胚軸性は劣性遺伝子により制御されること、そして2つのQTLs間には相互作用があることを明らかにした。また、胚軸長QTLの座落領域に茎の伸育性に関わるQTLを特定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

農家戸数の減少と高齢化が進みつつあり、農作物の省力機械化栽培技術の開発に対する期待は非常に大きい。特に、機械収穫適性の低いアズキでは新品種の開発が望まれている。本研究課題は、アズキの機械化栽培適性と大きく関わる発芽後の植物の形態形成および生育後期の草型の遺伝機構を明らかになった。本研究成果は、活用して新品種を開発をとおしてアズキの新しい栽培技術の確立に貢献すると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We conducted a quantitative trait loci (QTL) analysis to clarify the genetic mechanism of plant type such as epicotyl length and stem twining in adzuki bean. From result of QTL analysis, we detected two QTLs for longer epicotyl length. In addition, the segregation patterns revealed that longer epicotyl length is controlled by recessive genes. Furthermore, it was clarified that there was epistatic effect between two QTLs. We identified a QTL associated with stem twining that was co-located on epicotyl length QTL.

研究分野：作物学

キーワード：アズキ 機械収穫適性 上胚軸長 伸育性 QTL

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

現在、農家戸数の減少と高齢化が進みつつあり、ダイズやアズキなどのマメ類の省力機械化技術開発に対する期待は非常に大きい。マメ類の機械化適性は、胚軸長(地表面から初生葉節までの長さ)と強く関連する。例えば、出芽後の除草のためのカルチベーターによる中耕時には、耕した土で幼植物体が埋没しないような長い胚軸(長胚軸性)を必要とする。また、コンバインによる収穫時には、地表面から最下位着莢位置までの高さは、地際の莢を刈り取り刃で切断することで生じる収穫ロスに影響するため、10 cm 以上を確保する必要がある。この最下位着莢位置までの高さは、胚軸長と関連する。

研究の先行しているダイズは、下胚軸伸長型で、これまでに、自然突然変異に起因する4つの遺伝子座が連鎖地図上に同定されている(Lee et al. 2001; Alcivar et al. 2007)。しかし、いずれの遺伝子も単離されていないために、その分子的なメカニズムは不明である。また、上胚軸伸長型については、本申請課題で対象とするアズキにおいて、栽培アズキ(*Vigna angularis* var. *angularis*)の胚軸長が、その祖先種(ヤブツルアズキ *V. angularis* var. *nipponensis*)よりも長く(沢田ら 2000) この胚軸長の違いには第1連鎖群と第9連鎖群に座乗する2つの量的形質遺伝子座(QTL)が関与する(Kaga et al. 2008)。さらに、国内のアズキ品種と近縁野生種(*V. nepalensis*)の交雑後代のQTL解析からは、第1連鎖群と第2連鎖群に上胚軸の伸長に関わるQTLが検出されている(Isemura et al. 2007)。ただし、これらのQTLは単離には至っておらず、アズキにおける上胚軸の伸長制御の分子的なメカニズムも未解明である。また、在来品種を含むアズキ品種(n = 2,306)内にも胚軸長に2.6cm から 11.9 cm までの大きな変異があるが(沢田ら 2000) QTLの特定には至っていない。

長胚軸系統を片親とした交雑 F₁ 個体は全て有限伸育性だが、F₂ 世代以降に無限伸育性の個体が出現する。従って、無限伸育性個体の出現には複数の劣性のQTLが関与しているものと推定された。他の先行研究では、ヤブツルアズキの無限伸育性と栽培アズキの有限伸育性の違いは、第9連鎖群の1つの優性の無限伸育性遺伝子で説明されている(Kaga et al. 2008)。このアズキ第9連鎖群とシンテニーの関係にあるリョクトウ(*V. radiata*)の第9連鎖群にも、当該形質を司る遺伝子が同定されており(Isemura et al. 2012)、種を越えて同一遺伝子の変異が栽培化に寄与した可能性がある。しかし、申請者が予測しているアズキ栽培品種に内在する複数の劣性の無限伸育性QTLについての報告は無く、第9連鎖群の栽培化に寄与した1つの優性の無限伸育性遺伝子と同座なのか、あるいは、いずれも別の遺伝子の突然変異に起因するのかは不明である。

2. 研究の目的

本研究はアズキの機械化栽培体系確立に向けた遺伝情報の基盤構築を目指し、上胚軸の伸長を制御するQTLおよび無限伸育性に関与するQTLの検出を行った。また、上胚軸の伸長に関わる2つのQTLを単一遺伝子座としてマップし、QTL間の相互作用について検証した。

3. 研究の方法

(1) QTL-seq 解析による胚軸長 QTL の同定

長胚軸系統の「十育 161 号」と普通胚軸系統の「ちはやひめ」の交雑に由来する F₇ 組み換え自殖系統(RILs) 155 系統を植物材料として供試して、制御環境下(平均気温 18.3°C : 16 時間日長)で胚軸長を評価した。F₇RILsのうち、胚軸の長い上位 10 系統を長胚軸系統グループ、胚軸の短い下位 10 系統を短胚軸系統グループとして選抜し、リシーケンス解析に用いた。QTL-Seq Pipeline (<http://genome-e.ibrc.or.jp/home/bioinformatics-team/mutmap>) を使用し

て QTL 領域の推定を行った。

(2) 胚軸長 QTLs のマッピングと QTL 間の相互作用の検証

QTL-seq 解析で検出した QTL 領域には多数の推定遺伝子が存在した。このため、第 7 染色体 (*qECL7*) および第 10 染色体上 (*qECL10*) の QTLs について領域の詳細化に取り組んだ。*qECL10* のマッピングには、長胚軸系統の「十系 1121 号」と普通胚軸系統の「十育 167 号」の F₄ 残余ヘテロ接合体系統 (RHLs) から得られた F₅ 種子を供試した。*qECL7* のマッピングには、「ちはやひめ」/「十育 161 号」の F₃ 系統を用いた。これらの材料を、昼 22 (6:00 ~ 22:00) / 夜 15 (22:00 ~ 6:00) に設定した人工気象器内で栽培し、胚軸長を計測した。各個体の遺伝子型は、「十育 161 号」と「ちはやひめ」のリシーケンスデータをもとに開発した InDel マーカーを用いて決定した。

(3) 無限伸育性 QTL の検出

QTL-seq 解析に供試した F₇ RILs のうち無限伸育性 (つる性) を有する個体は 1 個体のみであった。このため、「ちはやひめ」/「十育 161 号」の F₂ 集団を新たに作出した。圃場環境下で集団を栽培し、生育後期につる化した個体を無限伸育性として評価した。

4. 研究成果

(1) QTL-seq 解析による胚軸長 QTL の同定

長胚軸系統グループ (胚軸長: 12.0 ~ 14.1 cm) と短胚軸系統グループ (胚軸長: 3.2 ~ 4.4 cm) を各 10 系統選抜した。QTL 解析の結果、QTL の閾値 ($P < 0.01$) を超える Δ SNP-index 値を第 2、第 7、第 10、第 11 染色体上の 4 ヶ所に検出し、それぞれを *qECL2*、*qECL7*、*qECL10*、*qECL11* と名付けた。検出した QTL は全て「十育 161 号」タイプの SNP を持つことで胚軸長を増加させた。これらの QTL 領域内に推定される遺伝子数は、*qECL2* が 402 個、*qECL7* が 469 個、*qECL10* が 1,229 個、*qECL11* が 465 個であった。

(2) 胚軸長 QTLs のマッピングと QTL 間の相互作用の検証

qECL10 のマッピングに供試した「十系 1121 号」/「十育 167 号」の F₅ 131 個体の胚軸長は、2.0 ~ 6.0 cm の胚軸長をもつ 95 個体 (短胚軸型) と 7.0 ~ 13.0 cm の胚軸長をもつ 36 個体 (長胚軸型) が不連続に分離した。短胚軸型と長胚軸型の分離比は 3 : 1 の比に適合した ($\chi^2 = 0.43$, $p = 0.51$) ことから、*qECL10* は劣勢ホモ接合型で長胚軸となることが示された。連鎖解析の結果、*qECL10* は第 10 染色体の 28.6Mb 付近に座乗する DNA マーカーから 1.5 cM 離れた位置にマッピングされた。Vigna Genome Server (<https://viggs.dna.affrc.go.jp/>) によると、*qECL10* が座乗する 255kb には、37 種の推定遺伝子がコードされていた。

qECL7 のマッピングには、「ちはやひめ」/「十育 161 号」F₂ 世代の個体から、*qECL7* の候補領域をヘテロ接合型に、*qECL10* 領域を短胚軸型ホモあるいは長胚軸型ホモにもつ 2 個体を用いた。*qECL10* 領域を短胚軸型ホモにもつ集団の胚軸長には個体間の差異がほとんどなかった。一方、*qECL10* 領域を長胚軸型ホモにもつ集団では胚軸長が不連続的に分布し、普通胚軸型と長胚軸型の分離比が 3 : 1 の比に適合した ($\chi^2 = 0.80$, $p = 0.37$)。このことから、*qECL7* は *qECL10* と同様に劣勢ホモ接合型で長胚軸となることが示された。連鎖解析の結果、*qECL7* は第 7 染色体の 10.0Mb 近傍に座乗する DNA マーカーから 0.2cM 離れた位置にマップされた。

qECL7 と *qECL10* との相互作用を検証したところ、*qECL10* の遺伝子型が普通胚軸型の場合、*qECL7* の遺伝子型に関わらず胚軸長は短かった。一方、*qECL10* と *qECL7* の遺伝子型を共に長胚軸型にもつ場合、胚軸長が長くなった ($p < 0.01$)。このことから、*qECL7* と *qECL10* は相互作用することが示された。

(3) 無限伸育性 QTL の検出

「十育 161 号」と「ちはやひめ」のリシーケンスデータをもとに開発した InDel マーカーを用いて、アズキの全染色体 (11 本) をカバーする連鎖地図を作製した。MQM 法により QTL 解析を行った結果、第 7 染色体上につる性個体の出現に關与する QTL が検出された。この QTL は「十育 161 号」型の対立遺伝子をもつことで「つる」の発生を増加させる効果があった。*qECL7* と無限伸育性 QTL が同一領域に存在したことから、これらの形質に関わる遺伝子は連鎖もしくは同一遺伝子による多面発現の可能性が考えられた。

今後は、ファインマッピングにより長胚軸性に関与する候補遺伝子を絞り込む予定である。また、*qECL7* と無限伸育性 QTL との関係性を明らかにし、機械化適性を向上した品種の育成の促進を目指す。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 川合のどか・森正彦・長澤秀高・加藤清明
2. 発表標題 長胚軸性アズキの選抜マーカーの開発
3. 学会等名 日本育種学会・日本作物学会北海道談話会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森正彦・河原大悟・山崎絵里・永野惇・佐藤仁・加藤清明
2. 発表標題 アズキの胚軸長に関わる遺伝子座の特定
3. 学会等名 日本育種学会・日本作物学会北海道談話会
4. 発表年 2017年

〔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	長澤 秀高 (Nagasawa Hidetaka) (90788077)	地方独立行政法人北海道立総合研究機構・農業研究本部十勝農業試験場・研究職員 (80122)	
研究分担者	佐藤 仁 (Sato Hitoshi) (20536643)	地方独立行政法人北海道立総合研究機構・農業研究本部中央農業試験場・主任主査 (80122)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	加藤 清明 (Kato Kiyooki) (60271748)	帯広畜産大学・畜産学部・教授 (10105)	