

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 12 日現在

機関番号：10105

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K20839

研究課題名(和文) 根の分布特性に関わる量的形質遺伝子座の同定

研究課題名(英文) Detection of quantitative trait locus for root angle at the seedling stage in wheat

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) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：コムギの生産量は生産地域における局地的な旱魃や豪雨により不安定となっている。安定的かつ持続的な生産を維持するためには、コムギが生育期間中の水ストレスを回避する必要がある。根の分布特性は水ストレスを回避するうえで重要な役割を果たす。本研究では浅根性の「シロガネコムギ」と深根性の「Rosella」の根の分布特性を決定する遺伝的要因を明らかにするために、両品種の交配に由来する後代系統を用いて根の伸長方向に関わる量的形質遺伝子座(QTLs)の解析を行った。

研究成果の概要(英文)：Stable production of wheat is important under the global climate changing. Unequal distribution of precipitation causes hazardous drought and severe waterlogging problem in many production areas and may lead to a drastic reduction in economic yield. The wheat plant having deep root system or shallow root system is one of the essential factors to avoid water stresses. On the other hand, root system is generally expressed as a quantitative trait governed by many genes, and in a few cases these genes have mapped to specific chromosome regions in wheat. In the present study, we conducted QTL analysis for root growth angle at the seedling stage using recombinant inbred lines (RILs) derived from the cross between parental lines showing contrasting phenotypes.

研究分野：作物生産科学

キーワード：コムギ 浅根性 深根性 種子根伸長角度 QTL

1. 研究開始当初の背景

コムギの生産量は生産地域における局地的な旱魃や豪雨により不安定となっている。安定的かつ持続的なコムギ生産を維持するうえで、いかに水ストレスを軽減させるかが重要な課題となっている。水ストレス環境下で作物の収量低下を防ぐために重要な役割を担っている形質の1つに根の分布特性が挙げられる。深い根の分布特性をもつコムギは土壌の表層部が乾燥した際でも深層部の水を吸収できるため、乾燥ストレスを回避できることがよく知られている。一方、根の分布が浅いコムギは土壌水分が過剰な条件下でも酸素濃度の低下による根の生育阻害を受け難いため、過湿ストレスに強いといわれている。

根の分布特性に密接に関わる形質の1つに根の伸長角度がある。根の分布が深いコムギは土壌水平方向からの根の伸長角度が大きいこと、根の分布が浅いコムギは根の伸長角度が小さいことが知られている。これまでトウモロコシやイネにおいて、根の伸長角度に関わる量的形質遺伝子座(QTLs)が同定されている。コムギでも他のイネ科作物と同様に根の伸長角度に関わるQTLs解析が進められてきた。その結果、複数の染色体領域にQTLsが検出されてきたが、現在までにコムギでは効果の大きなQTLsを同定できていない。これは、QTLs解析に供試した集団の種子根伸長角度の変異幅が小さかったためであると考えられる。

これまで申請者は、浅根性で土壌水平方向からの根の伸長角度が小さいコムギ品種「シロガネコムギ」(SK)と深根性で根の伸長角度が大きい「Rosella」(Ro)を用いて両品種の種子根の伸長角度を個別の根毎(初生種子根、第1対生種子根、第2対生種子根)に調査してきた。この結果、初生種子根は両品種ともに垂直方向へ伸長し根の伸長角度に差が無いこと、第1および第2対生種子根の伸長角度には両品種間で大きな差があることを明らかにした。次に、両品種の交雑から得られた交配後代の種子根の伸長角度を評価したところ、F₂個体の第1、第2対生種子根の伸長角度はともに連続的に分布し、集団内の変異幅が既報のQTLs解析で使用された実験材料よりも大きいことを見出した。このため、上記材料を用いることで効果の大きな種子根伸長角度のQTLsを同定できる可能性がある。また、根の分布特性と水ストレス耐性(乾燥・過湿)との関係性を明らかにするためには、根の伸長角度のみが顕著に異なる実験材料(準同質遺伝子系統)を育成する必要がある。

2. 研究の目的

本研究では、コムギの種子根伸長開度に関わるQTLsを同定するために、根の伸長開度が顕著に異なる品種の交配に由来する組換え自殖系統を用いてQTL解析を行う。また、

遺伝子候補領域の絞り込み、根の分布特性と水ストレス耐性との関係性の解明に必要となる準同質遺伝子系統の作出に向けて実験材料の育成を進める。

3. 研究の方法

(1) 組換え自殖系統(RILs)の作出

単粒系統法(SSD)により世代をF₅まで進めたSK/Roの世代促進を胚救出法によって行った。催芽した各系統の種子をセルトレイに移植後、2葉期まで25℃、12時間日長で育成した。その後、4℃、8時間日長で1ヶ月間春化处理をした。春化处理後の植物体は開花期まで人工気象器内で25℃、24時間日長条件で育成した。系統ごとに開花日を調査し、開花後14日目の未熟種子から未熟胚を摘出し、1/4 MS寒天培地上で胚を培養した。培地上で3cm程度に育った植物体をセルトレイに移植した。その後は春化处理、育成、未熟胚の摘出を繰り返した。

(2) 染色体連鎖地図の構築

Somers et al. (2004) および Grain Gene (<http://wheat.pw.usda.gov/GG2/index.shtml>)で公開されているコムギのSSRマーカーから、全染色体に均等に分布するように461個のマーカーを選抜し、SKとRo間の多型解析を実施した。両親間で多型が得られた116個のSSRマーカーについて、F₈個体から抽出したDNAを用いてRILsの遺伝子型を決定した。マーカー間の連鎖解析はJoinMap version 4.1 (Van Ooijen 2011)によって行い、染色体連鎖地図を作製した。

(3) RILsの種子根伸長開度の評価

本実験には、十分量の種子が得られたF₉世代の96 RILsを供試した。ポリエチレン製のバッグに2つ折りしたろ紙(縦11.5cm、横19.5cm)を入れ、1cm深の溶液を入れたバットにバッグを垂直に立て、ろ紙に溶液を吸い上げさせた。催芽させた種子をろ紙の間に胚が下を向くように3cm間隔で5粒播種した。その後、20℃、16時間日長で植物体を生育させた。

播種後10日目にバッグからろ紙を取り出し、根の形態をデジタルカメラで撮影した。撮影した画像をImage Jに取り込み、角度測定ツールを用いて各個体の種子根伸長開度を根毎(第1、第2対生種子根)に計測した。この時、各根の基部と基部から2cm位置とを結ぶ線の間角度をそれぞれ第1対生種子根、第2対生種子根の伸長開度とした。このため、種子根の開度が小さいと水平方向からの根の伸長角度が大きく、反対に開度大きいと根の伸長角度が小さいことを示す。なお、各系統の種子根伸長開度は15個体の平均値で示した。

(4) 種子根伸長開度のQTL解析

(2)で得られたRILsの遺伝子型データと

SK / Ro の染色体連鎖地図および (3) で解析した RILs の表現型データを用いて MapQTL version 6 (VanOoijen and Maliepaard 2009) の simple interval mapping によって種子根伸長開度の QTL を検出した。

(5) 戻し交配系統 (BCLs) の作出

(4) で同定した 6D 染色体の QTL を SK 型に持ち種子根伸長開度が最も大きかった RIL と Ro 型で伸長開度が最も小さかった RIL をそれぞれ 1 系統選抜した。これらの系統に SK および Ro を戻し交配し、BCLs を作出した。BCLs 作出の際は、(1) と同様、胚救出法によって行った。

4. 研究成果

(1) 組換え自殖系統 (RILs) の作出

世代促進を行い SK / Ro の 108 RILs (F_8) を作出した。胚救出法を用いて世代促進を行うことにより、約 120 日間で世代を 1 世代進めることができた。このことにより、種子を収穫して世代促進を行う従来法よりも 1 世代あたりにかかる日数が約 60 日間短縮できた。

(2) 染色体連鎖地図の構築

両親間で多型が検出された 116 個の SSR マーカーを用いて連鎖解析を行った結果、多型マーカーが得られなかった 3D, 4B, 7D 染色体を除く 18 連鎖群、106 マーカーからなる 1181cM の染色体連鎖地図が作製された。既報の連鎖地図と比較したところ、本実験で作製した連鎖地図はコムギの約 46% の領域をカバーするものであった。

(3) RILs の種子根伸長開度の評価

RILs の種子根伸長開度の遺伝変異を根毎に評価した (図 1)。SK と Ro の第 1 対生種子根の伸長開度はそれぞれ 100.3° と 83.6° 、第 2 対生種子根は 107.3° と 123.8° となり、両形質ともに両親間で大きな差 ($P < 0.01$) が見られた。また、RILs (96 系統) の種子根伸長開度を評価したところ、第 1 対生種子根では $61 \sim 120^\circ$ 、第 2 対生種子根は $78 \sim 143^\circ$ とそれぞれ連続的に幅広い変異を示した。第 1、第 2 対生種子根ともに Ro よりも伸長開度の小さい RILs が出現し、超越分離をしていた。このため、伸長開度の大きい (水平方向からの根の伸長角度が小さい) SK にも種子根伸長開度を小さくする遺伝子座が存在することが考えられた。一方、SK よりも伸長開度の大きい超越型はほとんど観察されなかった。

第 1 対生種子根と第 2 対生種子根の伸長開度の関係を解析した (図 2)。その結果、両形質の間には強い正の相関関係 ($r = 0.86$, $P < 0.01$) が認められた。このことから、第 1 および第 2 対生種子根の伸長開度の制御には同一の遺伝子座が関わっている可能性が示唆された。

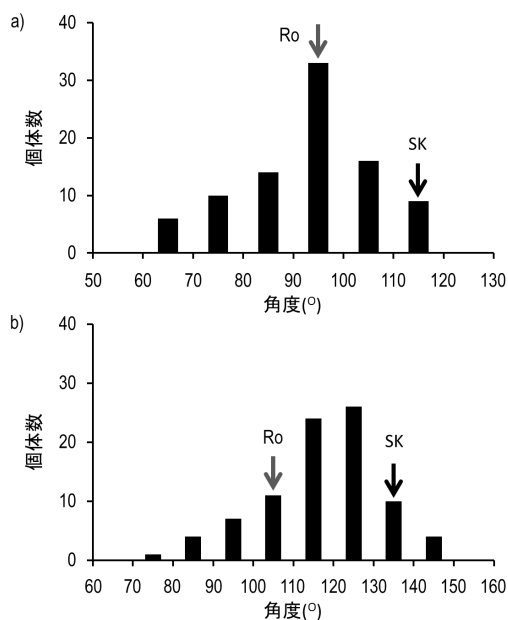


図 1 96 RILs の a) 第 1 対生種子根と b) 第 2 対生種子根の種子根伸長開度の遺伝変異

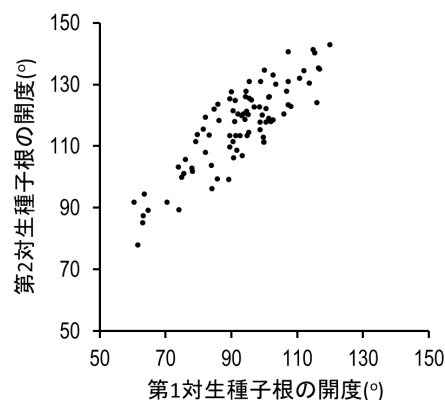


図 2 96 RILs の第 1 対生種子根と第 2 対生種子根の伸長開度の関係

(4) 種子根伸長開度の QTL 解析

各系統の表現型データと遺伝子型データ、連鎖地図情報を用いて QTLs 解析を行った。その結果、6D 染色体上に第 1 対生種子根 (LOD 値: 3.2) と第 2 対生種子根 (LOD 値: 5.0) の伸長開度に関わる QTL を検出した。この QTL 近傍の SSR マーカー座における遺伝子型の伸長開度の平均値は、第 1 対生種子根では SK 型の個体が 100.3° 、Ro 型個体が 83.6° 、第 2 対生種子根は SK 型個体が 123.8° 、Ro 型の個体が 107.3° となり、SK 型の対立遺伝子をもつことで種子根の伸長開度を大きくすることが示された。また、伸長開度への寄与率は第 1 対生種子根、第 2 対生種子根でそれぞれ 15.5%、23.2% となった。6D 染色体上に検出した QTL は、これまでにコムギで報告されている QTL が座乗する染色体とは異なっていた。このため、この QTL は新規のも

のである可能性が示唆された。イネで単離されている *Dro1* 遺伝子が座乗する染色体位置はコムギの第 5 同祖群染色体であると言われていることから、6D 上の QTL は *Dro1* 遺伝子と同祖遺伝子ではないと考えられる。

一方、その他の染色体領域には種子根伸長開度に関わる QTL は検出されなかった。このため、本研究でカバーできなかった染色体領域に QTL が存在する可能性が残された。引き続き両親間の多型マーカーを用いて染色体連鎖地図の充実を図る必要がある。

(5) 戻し交配系統 (BCLs) の作出

現在、RILs (F_8) に SK および Ro をそれぞれ 2 回連続戻し交配をした BC_2F_1 個体を育成中である。今後、6D 染色体の連鎖地図を高密度化し QTL を挟み込む SSR マーカーを用いて選抜を行い、さらに 2 度の戻し交配をすることで準同質遺伝子系統の作出を進める。

5. 主な発表論文等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

森 正彦 (MORI Masahiko)

国立大学法人帯広畜産大学・畜産学部・助教

研究者番号：60645711