

令和 3 年 6 月 29 日現在

機関番号：10105

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K05566

研究課題名(和文)コムギ7B染色体新規QTLsによる出穂期 Fine-tuningの育種基盤の確立

研究課題名(英文)Fine-tuning of heading time using novel QTLs on chromosome 7B in wheat

研究代表者

大西 一光 (Onishi, Kazumitsu)

帯広畜産大学・畜産学部・准教授

研究者番号：50526704

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は7B染色体VRN-B3領域に検出された由来の異なる二つの出穂性遺伝子(QHt-7B-ZenとQHt-7B-Ru)について遺伝子効果の検証とファインマッピングを行った。準同質遺伝子系統を用いて、2つの遺伝子は純粋早晩性への効果を持つことを明らかにした。両遺伝子ともにTaFT-B1遺伝子(=VRN-B3)を含む領域にマッピングすることができた。CSのアレルと比較して、QHt-7B-RuはTaFT-B1遺伝子に1つのアミノ酸置換とプロモータ領域約4.8 kbp内に多数の挿入欠失や塩基置換が見いだされた。またTaFT遺伝子のコピー数が出穂性の変異と関連する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでコムギにおける出穂性の研究は、主に播性による品種分化や地域適応性に関わる効果の大きな主働遺伝子が対象であり、MAS(マーカー利用選抜)による育種の利用もPPD1座とVRN1座のアレル変異に限られている。さらに、数日レベルでの出穂期Fine-tuningはこれまで育種の現場で必要とされているにも関わらず実現が困難であった。本研究は、7B染色体VRN-B3領域に検出された由来の異なる二つの出穂性QTLに関して、コムギ出穂期のFine-tuningの育種・研究基盤を確立できた。

研究成果の概要(英文)：We conducted the examination of the genetic effects and fine mapping for two heading time genes (QTLs) on the short arm on chromosome 7B, QHt-7B-Zen from Zenkouzi-komugi and QHt-7B-Ru from st. Rumania of spelt wheat. By using near isogenic lines (NILs) under Chinese Spring (CS) genetic background, QHt-7B-Zen and QHt-7B-Ru were revealed to have the effect on earliness per se. The chromosomal locations of QHt-7B-Zen and QHt-7B-Ru were delimited into the regions including TaFT-B1 gene (=VRN-B3). By compared with CS allele, TaFT-B1 gene in QHt-7B-Ru region has one amino acid substitution and a number of indels and SNPs in 4.8 kbp promoter region. In addition, copy number variation of TaFT1 gene also might be involved in heading time variation due to alleles in these QTLs.

研究分野：植物育種学

キーワード：コムギ 出穂性 QTL

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

コムギにおいて、出穂性は地域環境への適応性や収量と密接に関連する重要な農業形質である。特に雨の多い日本では、収穫時期が雨季と重ならないよう出穂期を制御することが安定生産を行うために極めて重要となる。コムギの出穂性は春化要求性と日長反応性、純粋早晩性により制御され、世界の遺伝資源における出穂期の多様性は、主に春化要求性遺伝子の *VRN1* 座(5A、5B および 5D)と *VRN4* 座(5D) および日長反応性遺伝子の *PPD1* 座(2A、2B および 2D)の変異により説明されてきた。しかしながら、育種により出穂期を緻密に制御(Fine-tuning)し実用品種を育成するためには、それぞれの地域環境下において微細な QTL (アレル)間の効果の差異を検証し、原因遺伝子を特定することで MAS (マーカー利用選抜)を行うことが不可欠である。

これまでに Chinese Spring (CS) とゼンコウジコムギ (Zen) およびスペルトコムギ系統 st. Rumania (Ru)間の 2 組の組換え自殖系統 (NILs) において、7B 染色体短腕領域に効果の大きい出穂性 QTL を検出し、CS と比較して早生アレル (*QHT-7B-Zen*: ゼンコウジコムギ由来; Cao *et al.* 2016) と晩生アレル (*QHT-7B-Ru*: st. Rumania 由来; Sakai *et al.* 2018) を見出した (図 1)。この領域には *VRN-B3* 座が乗っており、原因遺伝子がフロリゲンをコードする *TaFT1* 遺伝子であることが明らかとなっている (Yan *et al.* 2006)。Hope の持つ *Vrn-B3* アレルは、プロモーター領域におけるレトロトランスポソンの挿入により、CS の持つ *vrn-B3* アレルに比べ早生化の効果を持つ (Yan *et al.* 2006)。CS に *QHT-7B-Zen* と *QHT-7B-Ru* 領域を戻し交雑により導入した準同質遺伝子系統 (NILs: BC₆ 世代) の CS(*QHT-7B-Zen*) と CS(*QHT-7B-Ru*)、および Hope の 7B 染色体 (*Vrn-B3*) を持つ CS の染色体置換系統 CS(Hope7B) の出穂期を比較したところ、*QHT-7B-Zen* と *QHT-7B-Ru* は CS アレルに比べそれぞれ 3~4 日早生化または晩生化の効果を持ち、Hope 由来 *Vrn-B3* と合わせた 4 つのアレルを用いることで北海道の圃場環境下において約 10~12 日の範囲で出穂期の Fine-tuning が可能と考えられた。これまでに *QHT-7B-Zen* については、*TaFT1* 遺伝子プロモーター領域約 1 kb とコーディング領域で CS との間に配列変異が見られていない。この領域では、*VRN-B3* 座とは異なる遺伝子座の存在も示唆されており (Khlestkina *et al.* 2009 Euphytica 165) *QHT-7B-Zen* と *QHT-7B-Ru* は *VRN-B3* 座の未知のアレルまたは近傍に連鎖する別の遺伝子である可能性が考えられる。

2. 研究の目的

本研究は、7B 染色体 *VRN-B3* 領域に検出された由来の異なる 2 つの出穂性 QTL (*QHT-7B-Zen* と *QHT-7B-Ru*) について以下の点について明らかにすることで、コムギ出穂期の Fine-tuning の育種基盤を確立する。

- 1) *QHT-7B-Zen* と *QHT-7B-Ru* についてファインマッピングを行い、候補領域を絞り込む。
- 2) *TaFT1* 遺伝子について、塩基配列と遺伝子のコピー数の解析を行う。
- 3) 準同質遺伝子系統 (NILs) を用いた解析から、春化要求性、日長反応性、純粋早晩性のいずれに効果があるかを検証する
- 4) 北海道品種への戻し交雑を進め、実用品種の遺伝背景で遺伝子効果と育種利用の可能性を検証する。

3. 研究の方法

(1) *QHT-7B-Zen* と *QHT-7B-Ru* の春化要求性、日長反応性、純粋早晩性への遺伝的効果

CS 遺伝背景の NILs (BC₆ 世代) である CS(*QHT-7B-Zen*) と CS(*QHT-7B-Ru*)、および Hope の 7B 染色体 (*Vrn-B3*) を持つ CS(Hope7B) を人工気象室内で、春化処理無一長日条件、春化処理有一長日条件、の 2 条件で栽培し出穂日を調査した。春化処理は播種後 3~5 /8 時間日長で 6 週間行い、長日条件は 16 /8 時間日長とした。

育種における有用性を検証するため、北海道の春播き栽培条件と岡山の秋播き栽培条件下で出穂日を調査し、緯度や栽培環境が QTL の効果に与える影響を比較解析した。また北海道春播きコムギ品種「はるきらり」を背景とする NILs の育成を進めた。

(2) *QHT-7B-Zen* と *QHT-7B-Ru* のファインマッピング

QHT-7B-Zen と *QHT-7B-Ru* について、ラフマッピングを行った後、BC₆ 世代の大規模分離集団 (各 900~1000 個体) を用いたファインマッピングを進めた。目的遺伝子を挟み込む 2 つのマーカー間の組換え

【1 研究目的、研究方法など(つづき)】

え型個体を選抜し、その後代で組換え型と非組み換え型ホモ型個体を選抜したのち表現型を評価した。マーカー開発は CS の Reference 配列 (Wheat Genome Sequencing Consortium RefSeq v1.0; International Wheat Genome Sequencing Consortium 2018) をもとに行なった。SSR 領域を中心にプライマーを設計し、ゲノム特異性を確認したのち系統間の多型を調査した。

(3) *QHt-7B-Zen* と *QHt-7B-Ru* 候補遺伝子の塩基配列と遺伝子コピー数の解析

QHt-7B-Zen と *QHt-7B-Ru* の候補遺伝子の一つである *VRN-B3* (*TaFT-B1*) 遺伝子について、コード領域とプロモーター領域約 4.8 kbp 塩基配列を比較した。コムギの *VRN-A1*、*PPD-B1* およびオオムギの *VRN-H3* 遺伝子ではコピー数の変異が出穂性に影響を与えていることが報告されており (Díaz *et al.* 2012 PLoS ONE 7, Nitcher *et al.* 2013 MGG 288)。近年 CS では、*TaFT-B1* 遺伝子が 3 コピー存在することが報告された (Shimizu *et al.* 2021)。そこで、QTL の原因配列が *TaFT1* 遺伝子のコピー数変異である可能性を検証するため、CS と NILs を用いてデジタル PCR 法によりコピー数を調査した。

4. 研究成果

(1) 春化により CS(Hope7B)を除くすべての系統で早生化が見られたが、春化および未春化条件ともに、CS(Hope7B) < CS(*QHt-7B-Zen*) < CS < CS(*QHt-7B-Ru*)の順で、数日ずつ出穂日の違いが見られたことから、*QHt-7B-Zen* と *QHt-7B-Ru* は純粋早晩性への効果を持つことが示唆された。北海道の春播き栽培条件と岡山の秋播き栽培条件下で出穂日を比較したところ、帯広の春播き栽培条件とは異なる傾向を示した。また年次により一致した傾向は認められなかったことから、今後さらなる検証を行うとともに、QTL の効果における温度や日長条件の影響を詳細に調査する必要があると考えられた。

北海道の実用品種の遺伝背景下において QTL の効果を検証するために、春まきコムギ品種「はるきらり」に、CS、Zen、Ru および *Vrn-B3* アレルを持つ HOPE から 7B 染色体短腕領域を導入した準同質遺伝子系統 (BC₆) を育成できた。

(2) まず QTL 領域にマーカーの作出を進め、*QHt-7B-Zen* と *QHt-7B-Ru* について BC₆F₂ から得られた組換え体を用いラフマッピングを進めた。その結果、両 QTL とも候補領域を *TaFT-B1* 遺伝子を含む約 9 Mbp の領域に狭めることができた。また *QHt-7B-Zen* と *QHt-7B-Ru* ともに、CS のアレルに対して、不完全優性の効果を示した。さらに 2 つの QTL に関する大規模分離集団を用いたマッピングを行った。*QHt-7B-Ru* の候補領域については、*TaFT-B1* 遺伝子 (=VRN-B3) を含む約 2.2 Mb の領域に座乗することが示唆された。また *QHt-7B-Zen* に関しては、*TaFT-B1* 遺伝子を含む約 1.6 Mb 内に 10 個の組換え体を選抜した。現在両集団の後代を用いて表現型の詳細な調査を進めている。

(3) *QHt-7B-Zen* と *QHt-7B-Ru* について、候補遺伝子の一つである *TaFT-B1* 遺伝子のプロモーター領域約 4.8 kb の配列を比較した。その結果、*QHt-7B-Ru* については 1 つのアミン酸置換とプロモーター領域に多数の挿入欠失や塩基置換が見いだされた。デジタル PCR 法により *TaFT* 遺伝子のコピー数を調査したところ、*QHt-7B-Zen* 領域には CS と同様に 3 コピー存在していたのに対して、*QHt-7B-Ru* 領域には 1 コピーしか存在しないことが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yuki Sakai, Liangzi Cao, Ryosuke Funata, Takatou Shiraishi, Koki Yoshikawa, Kohei Maeno, Hideho Miura, Kazumitsu Onishi	4. 巻 68
2. 論文標題 QTLs for agronomic traits detected in recombinant inbred lines derived from a bread wheat × spelt cross	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Breeding Science	6. 最初と最後の頁 587-595
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1270/jsbbs.18046	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	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	三浦 秀穂 (Miura Hideho) (10173981)	帯広畜産大学・畜産学部・教授 (10105)	
研究分担者	加藤 鎌司 (Kato Kenji) (40161096)	岡山大学・環境生命科学研究所・教授 (15301)	

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
---------	---------