

令和 3 年 6 月 16 日現在

機関番号：82111

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K14448

研究課題名（和文）ソバの生態型制御にむけた結実時期および登熟期制御因子の解析

研究課題名（英文）Genetic analysis for photoperiod-depending seed set and maturity time which defines the ecotype of common buckwheat (*Fagopyrum esculentum*)

研究代表者

竹島 亮馬 (Takeshima, Ryoma)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・次世代作物開発研究センター・研究員

研究者番号：70806603

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000 円

研究成果の概要（和文）：普通ソバの品種系統は日長応答性の違いから3つの生態型（感光性の弱い夏型・強い秋型・中間型）に区分され、生態型により栽培地域/作期が制限される。本研究では、生態型を規定する日長に応答した結実・登熟の早晩性に関わる遺伝子座の同定を目指した。夏型×中間秋型の交雑後代のQTL解析から、長日下でも結実が良好となり登熟が早くなる夏型化に関わるQTLが検出できた。また開花期と登熟期のQTLは異なる遺伝子座にも検出されたため、ソバでは日長に応答した開花早晩性と結実・登熟早晩性に異なる制御機構が存在する可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生態型を制御する遺伝子を明らかにし、育種に利用可能なマーカーを開発できれば、高品質な秋型品種の夏型化による春まき栽培地域の増加や、低緯度地域に向けた秋型品種の晩生化による多収化栽培により、ソバの反収は一気に増加する。これに加えて、高品質な夏型品種は、ソバの需要が高まる夏に新ソバを提供できるため、高付加価値の国産ブランドソバとしての売出しも期待できる。

研究成果の概要（英文）：Common buckwheat is classified into summer, intermediate, and autumn ecotypes based on their photoperiod responsiveness. This study aims to detect the genetic loci for photoperiod-depending seed setting and maturity time, which defines the ecotypes. QTL analysis of “summer×mid-autumn” crosses detected QTLs for summerization, which results in early seed setting and maturation. The QTLs for flowering time and maturity time were also detected at different loci, indicating that there may be different regulatory mechanisms.

研究分野：植物育種学

キーワード：AmpliSeq GRAS-Di QTL ソバ 登熟期 日長反応

1. 研究開始当初の背景

普通ソバは短日植物でありながら北海道から沖縄まで日本各地で栽培されており、地域・作期の栽培に応じた生態型に分化している。その生態型は、日長応答性の違いから 3 つの型—感光性の弱い夏型・強い秋型・その中間型—に区分される。すなわち、長日条件となる高緯度地域または春まき栽培では夏型品種が、短日条件となる夏まき栽培では秋型品種が利用される。

生態型はソバの適応性・生産性を規定する重要な要因であるが、その制御機構に関する報告は極めて少ない。生態型は、日長に応答した「開花の早晩性」「結実の可否」「登熟の早晩性」に規定されると考えられているが、現在まで生態型に関する遺伝解析は、開花早晩性に着目したものしか報告されていない。しかし、開花の早晩性だけでは生態型の差を必ずしも説明できない。例えば、自然長日条件下で栽培した中間秋型品種は、夏型品種と数日以内の差で開花を迎えるが、開花後一向に結実が始まらず、夏型品種と比べて登熟が著しく遅延する。このため、生態型の制御機構の理解には、開花後の結実・登熟の制御機構の解明も欠かせない。しかし現在まで、日長に応答した「結実の可否」「登熟の早晩性」に関する遺伝解析の報告は無い。

2. 研究の目的

そこで本研究では、ソバの結実とそれに続く登熟の早晩性に関わる遺伝子座の同定を目的とした。本研究では、自然長日条件下では開花期が数日以内だが登熟期に 1 か月以上の差が出る夏型×中間秋型品種の交雑後代を用いて、登熟の早晩性に関する遺伝子座の同定を目指した。

3. 研究の方法

(1) 結実・登熟の早晩性に関する母/父側の遺伝子型の影響評価

普通ソバは異形花型自家不和合性の他殖性植物である。本研究では遺伝解析を容易にするため、自家和合性の近縁野生種との種間雑種により開発した自殖性普通ソバを花粉親として用いることでF₂集団による解析を行うが、このF₂集団では自殖:他殖が3:1で分離する。また、自殖個体も容易に他花授粉を行う。この時、結実・登熟の早晩性が、母体側の遺伝子型だけでなく、花粉側の遺伝子型にも影響を受ける場合、母体側の遺伝子型のみでは正確な遺伝解析ができない。そこで本項目では、自然長日条件下で「夏型雌蕊×中間秋型花粉」「中間秋型雌蕊×夏型花粉」の交配試験を行い、結実・登熟の早晩性に関する母/父側の遺伝子型の影響を明らかにする。

(2) 登熟の早晩性に関する QTL 解析

キタワセソバ(夏型・他殖性) × 九州 SC 7 (中間秋型・自殖性)の交雑に由来する F₂ 集団において登熟の早晩性に関する QTL 解析を行った。ゲノムワイドな Genotyping のために、AmpliSeq のカスタムパネルを開発し、実施した。また、GRAS-Di による Genotyping も実施した。

(3) 長日条件下における夏型 VS 中間秋型品種間の発現変動遺伝子群の検出

長日条件下で栽培したキタワセソバ (夏型) および常陸秋ソバ (中間秋型) の葉から total RNA を抽出し、RNA-seq により発現変動遺伝子群を網羅的に検出した。

4. 研究成果

(1) 結実・登熟の早晩性に関する母/父側の遺伝子型の影響評価

交配試験の結果「夏型雌蕊×中間秋型花粉」は「夏型雌蕊×夏型花粉」と同程度によく結実し、登熟する一方「中間秋型雌蕊×夏型花粉」は「中間秋型雌蕊×中間秋型花粉」と同様に、授粉後も一向に結実せず、開花と栄養成長を継続し、登熟が著しく遅延した (図 1)。このことから、ソバの生態型間の結実の可否および登熟の早晩性は花粉側の遺伝子型から受ける影響は少なく、母体側の遺伝子型に強く制限される可能性が示された。

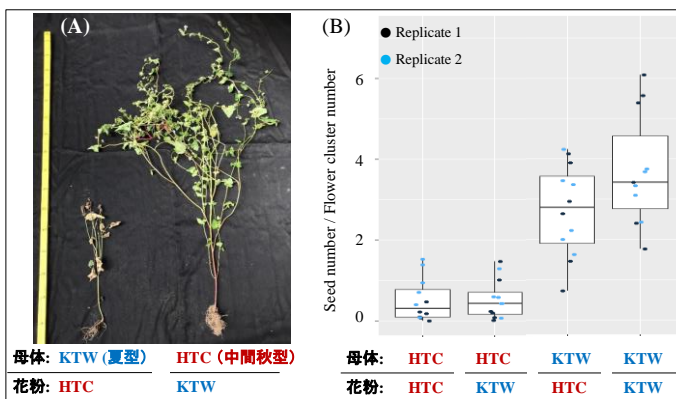


図 1. 自然長日条件下でのキタワセソバ (KTW; 夏型) と常陸秋ソバ (HTC; 中間秋型) の交配試験。(A) KTW は HTC の花粉でも容易に結実し、速やかに登熟にむかう。一方、HTC は KTW の花粉でも一向に結実しない。播種後 90 日目撮影。(B) 交配試験における結実指数 (総種子数/総花房数)

(2) 登熟の早晩性に関する QTL 解析

夏型×中間秋型の F₂ 集団において、開花・登熟の早晩性に関する QTL 解析を行った。なお、(1)の試験より登熟の早晩性は母体側の遺伝子型に依存することが明らかになったため、F₂ 集団内の自殖/他殖個体ともに授粉した花粉の遺伝子型は考慮せずに解析を行った。

現在のソバのゲノムデータベースはドラフトゲノム (N50 = 25.1 kb, 387,594 scaffolds) であり、ゲノム全体をカバーするマーカー情報も少ない。そこでまず、既報の連鎖地図に使用された DNA マーカー・プローブの全塩基配列を収集し、ドラフトゲノムへの local BLAST により全体の連鎖地図を構築し得るゲノムワイド scaffold を選定した。その後、両親間のリシーケンスデータから、選定したゲノムワイド scaffold 上に存在する多型を選定し、その多型を一度に検出できる AmpliSeq カスタムパネル (500 プライマーペア) を開発した。このカスタムパネルによる genotyping により、ソバの染色体数と同じ 8 本の連鎖地図が構築できた。またさらなるマーカー拡充のため、GRAS-Di 解析も実施した。これらのマーカーを用いた遺伝子型をもとに QTL 解析を実施した結果、登熟期に関しては第 8 連鎖群に最も効果の高い QTL (*qMT8*) が検出された。この *qMT8* はキタワセソバ型の遺伝子型で結実が良好となり登熟期が早生化することから、夏型化に関わる QTL と考えられた。また、開花期に関しては第 3 連鎖群に最も効果の高い QTL が検出された (図 2)。このことから、生態型間の開花と登熟の早晩性は異なる遺伝子座に制御されている可能性が示された。また、*qMT8* の連鎖マーカーを開発し、*qMT8* が年次を超えても登熟期に関する効果があることを確認した。さらに、*qMT8* 周辺の scaffolds にはシロイヌナズナの時計遺伝子のホモログなどが座乗しておりこれらホモログが生態型に関わる候補遺伝子のひとつとして考えられた。

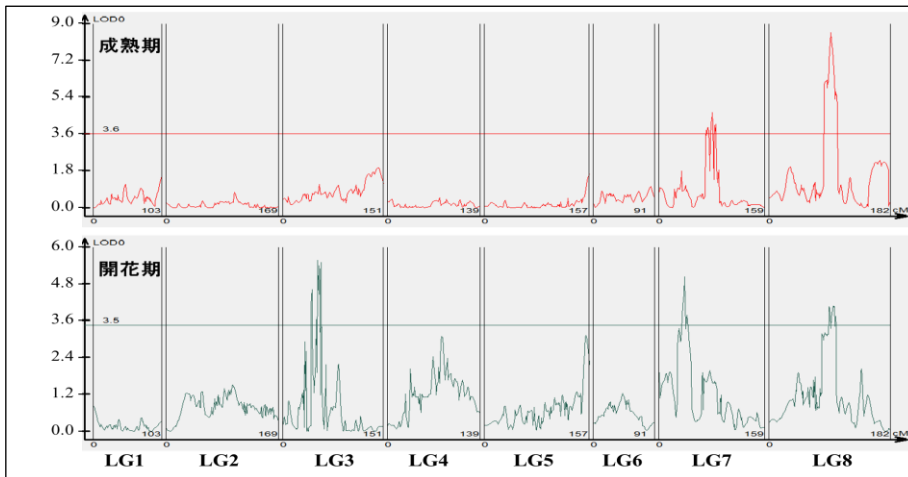


図 2. 夏型×中間秋型の F₂ 集団の自然長日下における登熟期と開花期に関する QTL 解析

(3) 長日条件下における夏型 VS 中間秋型品種間の発現変動遺伝子群の検出

長日条件下で栽培した夏型品種と秋型系統品種間の葉での RNA-seq 解析の結果、129 遺伝子が生態型間での発現変動遺伝子として検出された (図 3)。このうち、56 遺伝子はシロイヌナズナやイネ・ダイズなどで開花・登熟に関わることが報告されている *Flowering Locus T* や *CONSTANS* などのホモログであった。今後、これら発現変動遺伝子群とソバの生態型、および日長に応答した開花・結実・登熟の早晩性との関係の解明を目指す。

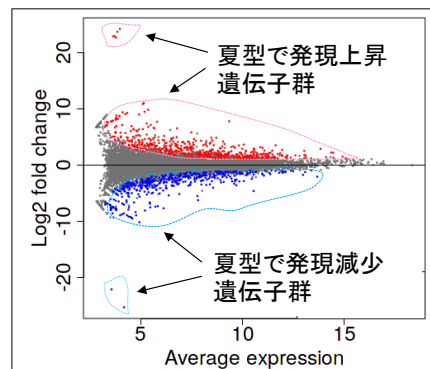


図 3. RNA-Seq の結果。発現変動遺伝子群を枠線で示している

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 Takeshima Ryoma, Ogiso-Tanaka Eri, Yasui Yasuo, Matsui Katsuhiko	4. 巻 21
2. 論文標題 Targeted amplicon sequencing + next-generation sequencing-based bulked segregant analysis identified genetic loci associated with preharvest sprouting tolerance in common buckwheat (<i>Fagopyrum esculentum</i>)	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BMC Plant Biology	6. 最初と最後の頁 1-13
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12870-020-02790-w	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4件（うち招待講演 1件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Ryoma Takeshima, Eri Ogiso-Tanaka, Yasuo Yasui, Katsuhiko Matsui
2. 発表標題 Identification of Genetic Loci Associated with Self-Compatibility, Pre-Harvest Sprouting and Maturity Time Using Targeted Next-Generation Sequencing in Common Buckwheat (<i>Fagopyrum esculentum</i>)
3. 学会等名 Plant & Animal Genome Conference XXVIII（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Ryoma Takeshima, Eri Ogiso-Tanaka, Yasuo Yasui, Katsuhiko Matsui
2. 発表標題 Identification of genetic loci associated with self-compatibility, pre-harvest sprouting and maturity time using AmpliSeq technology in common buckwheat (<i>Fagopyrum esculentum</i>)
3. 学会等名 The Genetic Solution Tour 2020 (Thermo Fisher Scientific Web seminar), 2020（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Ryoma Takeshima, Eri Ogiso-Tanaka, Yasuo Yasui, Katsuhiko Matsui
2. 発表標題 An efficient genetic analysis of common buckwheat by using Next-generation sequencing
3. 学会等名 The 9th Crop Science Seminar in East Asia（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 竹島亮馬・小木曾映里・松井勝弘
2. 発表標題 普通ソバの生態型を制御する日長応答性に関わる遺伝解析
3. 学会等名 日本育種学会第135回講演会
4. 発表年 2019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

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