

令和 4 年 6 月 16 日現在

機関番号：32658

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K14460

研究課題名（和文）植物の根の肥大形質を決定する原因遺伝子の同定

研究課題名（英文）Detecting genes responsible for tuberous root traits in radish

研究代表者

三井 裕樹 (Mitsui, Yuki)

東京農業大学・農学部・教授

研究者番号：40613138

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）：農作物の有用な形態形質を制御する量的遺伝子座（QTL）を明らかにすることは、個体の成長や形態形成の分子メカニズム解明と、分子レベルでの育種プログラムの推進に貢献する。根の発達は植物体全体の成長を制御し、農作物においては収穫物の収量と品質に大きく影響する。本研究では、根の肥大性に幅広い変異が存在するダイコンを用いて、根形態が異なる複数品種間で雑種後代を作出し、根形態形質の遺伝様式を解析した。また、QTL-seq法を用いて全ゲノムレベルで形質変異に関連するゲノム領域および候補遺伝子を検出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

根（胚軸、肥大茎）の発達や肥大は、多くの作物で生産、加工、流通販売に関わる重要な形質であり、種内の品種間でサイズ、形状、重量などに幅広い変異が存在する。本研究で用いたダイコンは世界中で栽培される重要な農作物であり、とりわけ日本における生産・消費量が世界で最も多く、品種の多様性も高い、日本を代表する農作物である。ダイコンの肥大形質として顕著なものである縦・横方向への肥大について、さまざまな品種間の交配で遺伝様式を明らかにし、形質に関わるゲノム領域を明らかにした本研究の成果は、育種分野および根の形態形成メカニズムの解明に寄与する。

研究成果の概要（英文）：Identification of quantitative loci (QTL) that control useful morphological traits in crops will contribute to understand mechanisms of growth and morphogenesis, and the promotion of breeding programs at the molecular level. In this study, using radish, which has a wide range of variation in tuberous root traits, we generated hybrid progeny among multiple cultivars with different root and hypocotyle morphologies to elucidate the mode of inheritance. Then, we detected genomic regions involved in variation of tuberous roots using the QTL-seq analysis.

研究分野：生物多様性、進化

キーワード：根の肥大 遺伝子変異 遺伝様式 ゲノム解析

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

農作物の有用な形態形質を制御する量的遺伝子座 (QTL) を明らかにすることは、個体の成長や形態形成の分子メカニズム解明と、分子レベルでの育種プログラムの推進に貢献する。根の肥大は、作物の収量や品質に関わる重要な形質である。特に、根部を利用する根菜類では、根の発達や肥大は、生産、加工、流通販売に直接関わる重要な形質である。根菜類の品種間には、根の肥大性や形態に幅広い変異が存在するが、それらを制御する具体的な遺伝子の同定は進んでいない。

世界中で栽培される野菜であるダイコン (*Raphanus sativus* L. アブラナ科ダイコン属) の肥大根には、形や大きさをはじめ、色、含有成分などの形質に多彩な変異がみられる。系統解析により、栽培ダイコンの品種間は遺伝的分化が小さく、近縁なグループであることが示されている。したがって、ダイコンは根の肥大成長の分子遺伝学的研究を行ううえで、非常に優れた材料である。

2. 研究の目的

本研究では、根の肥大性に幅広い変異が存在するダイコンを用いて、(1) 根形態が異なる複数の品種間で雑種系統を作出し、肥大形質の遺伝様式を明らかにした。特にダイコンの根部 (胚軸部) における肥大形質として、「横方向への肥大」、「肥大部の縦方向への伸長」、「肥大速度」に注目し、これらの形質の分離を雑種系統で評価した。

(2) 作出した雑種系統を用いて、QTL-seq 法により対照的な肥大形質が分離した個体グループ間で DNA 変異をゲノムレベルで検出し、形質変異に関与するゲノム領域を検出した。さらに、検出された候補遺伝子領域について、トランスクリプトーム解析により発現パターンを解析することで肥大に関与する原因遺伝子を探索した。

3. 研究の方法

以下の7組合せで品種間交配を行った。

- ‘青首総太’【中径 (肥大部直径)・長円筒形 (肥大部形態)】× ‘守口’【小径・細長円錐形】
- ‘聖護院’【大径・球形】× ‘京都薬味’【小径・球形】
- ‘青首総太’【中径・長円筒形】× ‘聖護院’【大径・球形】
- ‘青首総太’【中径・長円筒形】× ‘青丸紅芯’【中径・球形】
- ‘青首総太’【中径・長円筒形】× ‘黒丸’【中径・球形】
- ‘青首総太’【中径・長円筒形】× ハマダイコン【小径・細長円錐形；野生系統】
- ‘青首長太’【中径・長円筒形】× ‘白長二十日’【小径・球形】

(1) 肥大形質の遺伝様式：上記の交配組合せにより得られた F1 および F2 系統を秋期に露地栽培し、播種後約 70 日に収穫した個体の肥大部 (根部または胚軸部のより太い方) の最大径、根部および胚軸部の長さ、生重量等を計測し、雑種系統における形質の分離を解析した。

交配組合せ では、野生系統であるハマダイコンは側根がよく発達するため、側根の本数、太さ、重量も計測した。

交配組合せ では、‘青首長太’の収穫期が発芽後約 8 週~10 週、‘白長二十日’の収穫期が発芽後約 4 週と大きく異なることから、F1、F2、親系統の成長量 (胚軸径、葉数、葉長) を発芽後約 1 週おきに計測し、肥大成長速度を比較解析した。また、20℃、長日条件に制御した人工気象器内でセルトレイを用いて栽培し、初期肥大成長の指標である初生皮層の剥離時期を記録し、初期肥大成長が開始する時期を系統間で比較した。

(2) ‘青首総太’と‘聖護院’の F2 のうち各親系統に近い形態を示す 25 個体ずつのバルク DNA ライブラリを作出し、QTL-seq 解析を行った。QTL-seq 法は、形質値が両極端を示すような 2 種類の個体群のプール DNA を全ゲノムシーケンスすることで、それらの個体群間でアリル頻度が大きく異なるゲノム領域を検出する解析である。さらに、‘守口 (細長円錐形)’ ‘ハマダイコン’ (細長円錐形) (野生系統) で RNA-seq 解析を行い、肥大成長期の発現量を比較解析することで、肥大形質に関わる遺伝子を探索した。

4. 研究成果

(1) 全ての交配組合せで F1 雑種を作出し、根・胚軸の形態 (最大径、長さ、最大径と長さの比) はほぼ中間的な形質を示した。

‘青首総太’【中径・長円筒形】× ‘守口’【小径・細長円錐形】の F2 集団 (101 個体) では、最大根径は連続的に分離したが‘守口’ほど細い個体は得られなかった。一方、‘青首総太’に同等な最大根径をもつ個体は 1 割程度みられた。両親の中間的な形質をもつ個体が最も多く分離パターンは正規分布を示した。

‘聖護院’【大径・球形】× ‘京都薬味’【小径・球形】の F2 集団 (169 個体) では、‘聖護院’の大径に同等な形質をもつ個体が得られず‘京都薬味’の形質に近い小径の個体が多く分離

した。‘京都薬味’は葉の切れ込みが非常に深い形質をもつが、葉の切れ込みの深さと肥大部サイズには明確な関連はなかった。また一部で両親の形質とかけ離れた‘青首総太’に近い形質を有する個体が存在し、新しいアレルの組合せによる形質発現の可能性と、用いた系統は純系ではなく固定種であり遺伝的に均質なものではないため、親系統にはない形質が発現した可能性が考えられた。

‘青首総太’【中径・長円筒形】×‘聖護院’【大径・球形】のF2集団(326個体)では、「肥大部の細長さ(根・胚軸長/最大根径)」の形質は連続的に分離し、中間形質が最も多い正規分布を示した。

‘青首総太’【中径・長円筒形】×‘青丸紅芯’【中径・球形】のF2集団(90個体)では、肥大部形質は連続的に分離したが、根・胚軸長および肥大部重量は‘青丸紅芯’に近い形質を持つ個体が多く、‘青丸紅芯’の形質が優性的であると考えられた。

‘青首総太’【中径・長円筒形】×‘黒丸’【中径・球形】のF2集団(105個体)では、肥大部形質は連続的に分離したが、根・胚軸長および肥大部重量は‘黒丸’に近い小型で球形の形質を持つ個体が多く分離した。

‘青首総太’【中径・長円筒形】×ハマダイコン【小径・細長円錐形】のF2集団(25個体)では、肥大部の長さ、最大径、重量は両親の中間的な値を示した。また、側根の重量、本数も親系統の中間的な値を示した。

‘青首長太’【中径・長円筒形】×‘白長二十日’【小径・球形】のF2集団(237個体)では、肥大部の最大径、重量は両親の中間的な値を示したが、F2は胚軸長が比較的長く、肥大部の全長は‘青首長太’とF2で有意差がなかった。また、発芽後約1週おきに胚軸の最大径を記録した結果、F2集団は発芽後5~6週頃にかけての肥大速度が両親系統より有意に大きく、雑種系統は発芽後6週頃収穫すると、従来の品種にはない極早生、中型サイズの品質であるダイコンが得られる可能性があり、有用系統の育種につながる成果が得られた。

人工気象器内での栽培観察の結果、‘白長二十日’の胚軸径は発芽後11日頃から急激に肥大したが、‘青首長太’の胚軸径は、発芽後19日頃まで肥大は緩やかであった。‘白長二十日’の初生皮層の剥離は発芽後11日には胚軸長全体の約30%進行し、発芽後19日でほぼ完全に剥離した。一方、‘青首長太’の初生皮層剥離は発芽後11日では全く起こらず、発芽後14日目で胚軸長全体の約30%、発芽後19日目で約80%であった。F2の胚軸径は発芽後7~14日までに緩やかに肥大し、14日以降急激に肥大した。F2の初生皮層の剥離は発芽後11日頃に始まり、根の上部から胚軸へと上方向に進み、発芽後11日には胚軸長全体の約10%、14日には約50%、発芽後19日には‘白長二十日’90%剥離が進行した。以上のことから、極早生の‘白長二十日’は肥大開始の時期が早いこと、初期肥大速度も大きいことが示された。これらの初期肥大成長に関する変異が雑種に遺伝することから、育種の有用なターゲットであると考えられた。

一連の結果から、ダイコンの肥大形態は複数の遺伝子座が関与する量的形質であることが示された。全体的に肥大部重量と葉重量には高い正の相関がみられた。

(2) の‘青首総太’と‘聖護院’のF2のうち各親系統に近い形態を示す個体がそれぞれ8%と7%分離した。それら25個体ずつを同濃度でプールしたバルクDNAライブラリ(150bpのペアエンド)を作成し、HiSeq X (Illumina)でQTL-seq解析を行った。各ライブラリにつき約23億塩基のシーケンス配列が得られ、既知のダイコンゲノム配列にマッピングした結果、R2染色体上の約35 Mb周辺において、5%水準で有意に‘青首総太’と‘聖護院’のSNPが分化している領域が検出された(図1)。このR2染色体30~40 Mb領域には1568個の遺伝子が存在したため、‘青首総太’と‘聖護院’の根部肥大組織におけるRNA-seq解析を行い、根形態変異と関連する遺伝子の検出を試みた。その結果、品種間で発現量の有意に異なる遺伝子が46個検出された。それらのうち、細胞分裂等に関与するいくつかの遺伝子で複数のアミノ酸置換やインデルが存在し、根の肥大や伸長性に関与している可能性が示唆された。

‘守口’ (細長円錐形) ハマダイコン (細長円錐形) (野生系統) でもRNA-seq解析を行い、肥大成長期の根部の発現量を比較解析した。その結果、‘守口’、ハマダイコン、‘青首総太’、‘聖護院’で有意に発現量に差があるR2染色体30~40 Mb領域の遺伝子は84個検出された。それらのうち複数の遺伝子が、‘聖護院’とそれ以外の系統の肥大組織(木部柔組織)で発現量が大きく異なっており、‘聖護院’のもつ球形(縦方向への肥大量が小さい)と、横方向へ大きく太る肥大形態に関与している可能性が示唆された。

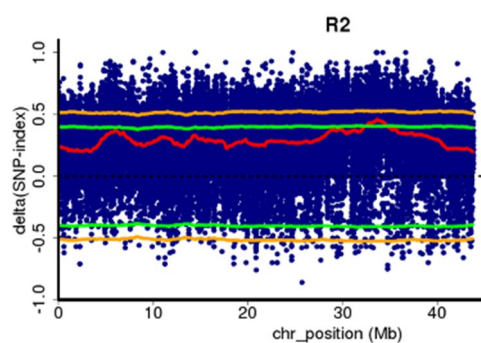


図1. QTL-seq解析によるR2染色体上のdelta SNP-indexのプロット。赤線はdelta SNP-indexの平均値(2 Mbの範囲、50 kbずつスライドさせたもの)、黄線:P < 0.01、P 緑線:P < 0.05。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 三井裕樹
2. 発表標題 GRAS-Diを用いたゲノム多型解析と形質評価で示されたダイコン野生系統の起源と在来品種成立への関与
3. 学会等名 日本植物学会第85回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 三井裕樹
2. 発表標題 ダイコンにおける根形態の遺伝様式と肥大に関わる原因遺伝子の探索
3. 学会等名 日本植物学会第84回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 三井裕樹、仲江川航、田中啓介
2. 発表標題 ダイコンを遅咲きにする原因遺伝子の同定
3. 学会等名 日本植物学会第82回大会
4. 発表年 2018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
研究協力者	小松 憲治 (Komatsu Kenji)		

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