

令和 4 年 6 月 22 日現在

機関番号：24302

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06341

研究課題名(和文) 高ストレス耐性アワ作出に向けたエノコログサ耐塩性関連遺伝子の解明

研究課題名(英文) Analysis of genes for salt-tolerance in green foxtail toward breeding of salt-tolerant foxtail millet

研究代表者

大迫 敬義 (Ohsako, Takanori)

京都府立大学・生命環境科学研究科・准教授

研究者番号：80363969

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：アワ(宮崎県産)とハマエノコロ(神奈川県三浦市城ケ島自生)の雑種ならびにエノコログサ(京都府京都市自生)とハマエノコロ(京都府京丹後市三津自生)の雑種にそれぞれ由来するF2分離集団を用いて、GRAS-Diマーカーにより連鎖地図を作製した。各F2系統を自殖させて得た種子から育成した実生を用いて養液栽培により耐塩性を評価し、QTL解析を実施した。アワ×ハマエノコロ集団では第5染色体に有意なQTLを検出した。エノコログサ×ハマエノコロ集団では第2、第3、第5ならびに第9染色体にQTLを見出した。この結果は、自生地を異にするハマエノコロの耐塩性がそれぞれ独自の遺伝的基盤を有することを示す。

研究成果の学術的意義や社会的意義

2系統のハマエノコロの耐塩性の遺伝的基盤が異なることが示され、国内のハマエノコロの耐塩性が平行進化により独立に獲得されたことが示唆された。この成果は海浜環境における植物の適応進化の解明に寄与するものである。異なる野生種由来の複数の耐塩性関連遺伝子を交配などにより導入することで強力な耐塩性を持つ新規アワ系統を育成できる可能性が示され、塩性化土壌における作物生産の拡大に貢献する成果を得た。

研究成果の概要(英文)：We constructed linkage maps using two segregating populations derived from a cross between foxtail millet (74-12-6-3) and coastal green foxtail (Jogashima 1) and a cross between green foxtail (Katsurasaka 2) and coastal green foxtail (Mitsu 4) with GRAS-Di markers. Tolerance to salt stress was evaluated with F3 seedlings by hydroponic culture using media containing 100 mM and 0 mM (control) NaCl. For 74-12-6-3 x Jogashima 1 population, a QTL for salt stress tolerance was detected on chromosome 5. For QTLs were seen on chromosomes 2, 3, 5, and 9 for Katsurasaka 2 x Mitsu 4 population. Our result indicates that geographically distinct populations possess different genetic architectures for salt stress tolerance and suggests parallel evolution of the traits for adaptation to coastal habitat.

研究分野：植物遺伝学

キーワード：アワ エノコログサ 耐塩性 QTL解析 GRAS-Di 適応進化

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

イネ科の雑穀であるアワ *Setaria italica* ssp. *italica* は、古くからアジアを中心に世界で広く栽培され、多くの人々の炭水化物ならびにタンパク質摂取源として重要な役割を果たしてきた。キビやソルガムなどの作物やバイオ燃料植物であるスイッチグラスなどの有用植物を多数含むキビ亜科のモデル植物としてゲノム科学的解析が進んでおり、農業形質を対象とした QTL 解析の例も多数ある。アワの祖先野生種であるエノコログサ *S. italica* ssp. *viridis* は、世界各地の亜寒帯から亜熱帯までを含む広い地域に分布しており、様々な環境への幅広い適応を示す。中でも海岸の崖地や砂浜に自生する東アジア固有変種であるハマエノコロは、塩分に対する耐性を有することが我々の研究により明らかとなってきた。

2. 研究の目的

本研究では、日本国内のハマエノコロが示す耐塩性の遺伝的基盤の解明を目指し、次世代シーケンサーを用いたジェノタイプング技術である GRAS-Di 法による遺伝解析を実施した。

耐塩性の低いアワおよびエノコログサと耐塩性の高いハマエノコロを交配して雑種を作成し、それらの自家受精により得た分離集団を用いて QTL 解析により、ハマエノコロに耐塩性をもたらし遺伝子座の数と効果を明らかにすることが本研究の目的である。

3. 研究の方法

本研究では、先行実験により地下部の高い耐塩性が認められたハマエノコロ系統と、耐塩性が低いアワならびにエノコログサを交配し、雑種第一代を自家受精させて F₂ 分離集団を作成した。交配組み合わせは、宮崎県在来アワ (74-12-6-3) と太平洋岸のハマエノコロ (Jogashima 1) ならびに京都府内陸部のエノコログサ (Katsurasaka 2) と日本海岸のハマエノコロ (Mitsu 4) の 2 組み合わせとした。それぞれの集団について 100 個体の F₂ 系統を育成し、GRAS-Di により決定した遺伝子型に基づき連鎖地図を作製した。各系統について F₂ 個体を自殖させて得た種子を発芽させ、100 mM NaCl 濃度を 100 mM (塩処理区) ならびに 0 mM (対照区) とした培養液を用いて 3 葉期以降 2 週間の水耕栽培により耐塩性を検出した。地上部ならびに地下部の乾燥重量の塩処理区/対照区比ならびに塩処理区生存率について、連鎖地図を基に QTL 解析を行い耐塩性関連遺伝子座を検出した。

4. 研究成果

研究の主な成果

71-12-6-3 × Jogashima 1 では、GRAS-Di により得られた 2380 個の有効なマーカーにより連鎖解析を実施した結果、1005 個のマーカーからなる総計 2002 cM の連鎖地図が構築された (図 1)。QTL 解析の結果、地上部ならびに地下部乾燥重量の処理区/対照区比に関する有意な QTL が第 5 染色体上に検出された (図 2)。両形質は同一位置に座乗した。寄与率はそれぞれ 19.1%、18.6%であった。加えて、permutation test の結果有意ではないものの地下部乾燥重量に関して 15.1%の寄与率を示す QTL が第 1 染色体上に見出された。

Katsurasaka 2 × Mitsu 4 では、2832 個の有効な GRAS-Di マーカーに基づく連鎖解析の結果、1003 個のマーカーからなる総計 1701 cM の連鎖地図が構築された (図 3)。QTL 解析により、第 2、第 3、第 5 ならびに第 9 染色体に QTL を見出した (図 4)。

得られた成果の国内外における位置づけとインパクト

本研究では、太平洋側ならびに日本海側に自生するハマエノコロがそれぞれ異なる耐塩性 QTL を示すことが明らかとなった。この結果は、自生地を異にするハマエノコロの耐塩性がそれぞれ独自の遺伝的基盤を有することを示している。これは海浜環境への適応に寄与する形質が平行進化により獲得された結果と考えられ、海岸域における植物の適応進化の解明に貢献するものである。さらに応用的側面では、複数の耐塩性関連遺伝子座を交配によりアワへ集積することで強力な耐塩性を持つ新規アワ系統育成できる可能性が示され、塩類集積土壌における作物生産の拡大に貢献する成果を得た。

本研究はキビ亜科作物の海岸性近縁野生種のストレス耐性の遺伝的解析としては世界で初めての成果であり、同亜科内の他の作物の遺伝資源の形質の多様性の解明に大いに寄与すると考えられる。

今後の展望

本研究では日本国内に自生するアワ近縁野生種であるハマエノコロが有する耐塩性の遺伝的基盤を初めて解明した。今後は本成果を足掛かりとして、マーカー数や系統数の拡大や代表者がこれまで収集した多数の野生系統を用いたゲノムワイド関連解析を進めることで耐塩性遺伝子の単離の達成が期待される。原因遺伝子が明らかとなれば高耐塩性アワの作出の実現可能性が高まるほか、ハマエノコロの海岸環境への適応進化の解明にもつながる。

また、アワとエノコログサ・ハマエノコロの交配においては、雑種が稔性を有する場合と不稔となる場合があるが明らかとなった。これは日本国内のエノコログサ・ハマエノコロにアワとの交雑親和性に関する多様性が存在することを示す。本研究で構築した Katsurasaka 2 × Mitsu 4 の分離集団はアワとの交雑不親和性の遺伝解析の素材としても利用できる。

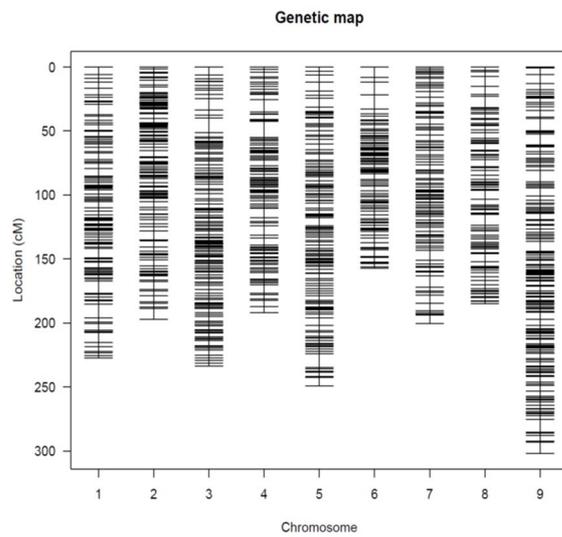


図1 71-12-6-3 × Jogashima 1 雑種 F₂ 集団の GRAS-Di 遺伝子型を用いて構築された連鎖地図。

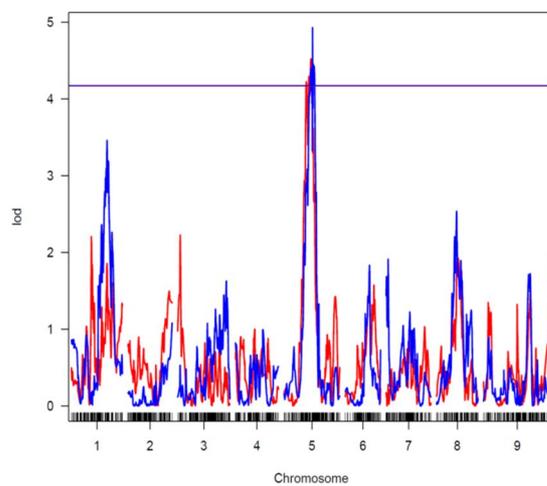


図2 71-12-6-3 × Jogashima 1 雑種 F₂ 集団における耐塩性 QTL。赤色は地上部、青色は地下部の塩処理区/対照区比の QTL の LOD 値を示す。

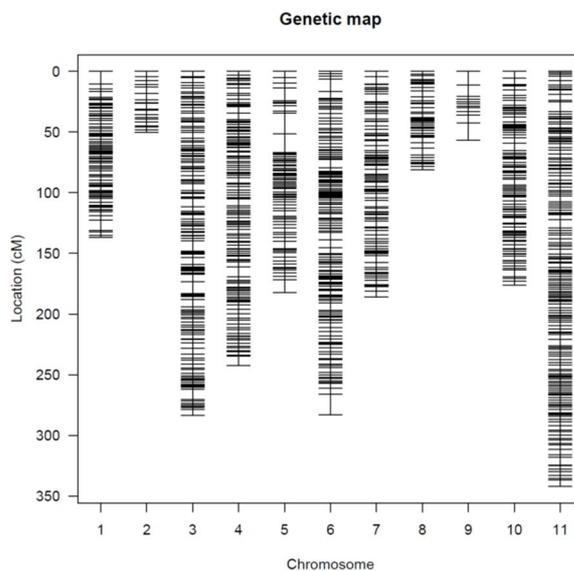


図3 Katsurasaka 2 × Mitsu 4 雑種 F₂ 集団の GRAS-Di 遺伝子型を用いて構築された連鎖地図。

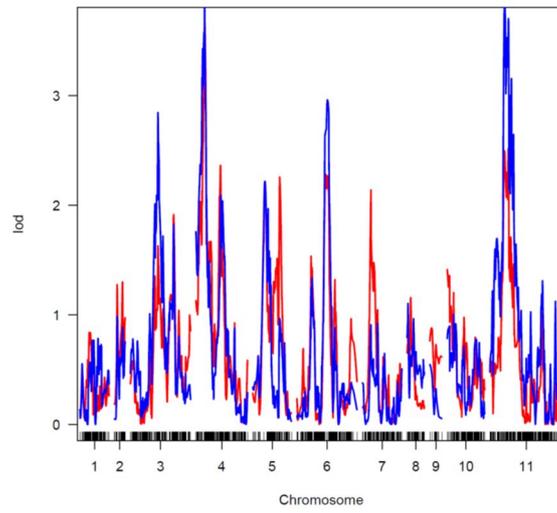


図4 Katsurasaka 2 × Mitsu 4 雑種 F₂ 集団における耐塩性 QTL。赤色は地上部、青色は地下部の塩処理区/対照区比の QTL の LOD 値を示す。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Fukunaga Kenji, Ohsako Takanori	4. 巻 65
2. 論文標題 Green foxtail, <i>Setaria viridis</i> (L.) P. Beauv. as a model plant? Its application for weed biology	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Weed Science and Technology	6. 最初と最後の頁 140 ~ 149
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3719/weed.65.140	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 -
1. 著者名 Ohsako Takanori, Li Chengyun	4. 巻 70
2. 論文標題 Classification and systematics of the <i>Fagopyrum</i> species	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Breeding Science	6. 最初と最後の頁 93 ~ 100
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1270/jsbbs.19028	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 該当する
1. 著者名 Fukunaga Kenji, Abe Akira, Mukainari Yohei, Komori Kaho, Tanaka Keisuke, Fujihara Akari, Yaegashi Hiroki, Kobayashi Michie, Ito Kazue, Ohsako Takanori, Kawase Makoto	4. 巻 12
2. 論文標題 Recombinant inbred lines and next-generation sequencing enable rapid identification of candidate genes involved in morphological and agronomic traits in foxtail millet	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-04012-1	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 -
1. 著者名 Tamura Yasuhiro, Kubo Nakao, Ohsako Takanori	4. 巻 69
2. 論文標題 Genetic diversity among Japanese local populations of an edible and medicinal coastal plant <i>Glehnia littoralis</i> F. Schmidt ex Miq.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Genetic Resources and Crop Evolution	6. 最初と最後の頁 85 ~ 97
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10722-021-01205-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Zhang Lumin, Kamitakahara Hiroshi, Sasaki Ryosuke, Oikawa Akira, Saito Kazuki, Murayama Hideki, Ohsako Takanori, Itai Akihiro	4. 巻 272
2. 論文標題 Effect of exogenous GA4+?7 and BA+?CPPU treatments on fruit lignin and primary metabolites in Japanese pear “Gold Nijisseiki”	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientia Horticulturae	6. 最初と最後の頁 109593 ~ 109593
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.scienta.2020.109593	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Lumin ZhangLumin Zhang Graduate School of Life and Environmental Sciences, Kyoto Prefectural University, Kitaina-Yazuma Oji 74, Seika-cho, Soraku-gun, Kyoto 619-0244, Japan More by Lumin Zhang Orcidhttp://orcid.org/0000-0001-8255-4223 , Hiroshi Kamitakahara, Hideki Murayama, Takanori Ohsako, and Akihiro Itai	4. 巻 68
2. 論文標題 Analysis of fruit lignin content, composition, and linkage types in pear cultivars and related species	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Agricultural and Food Chemistry	6. 最初と最後の頁 2493 ~ 2505
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 田中智子、山本菜穂子、福永健二、大迫敬義
2. 発表標題 アワ近縁野生種ハマエノコロの耐塩性に関するQTL解析
3. 学会等名 日本育種学会第137回講演会
4. 発表年 2020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	福永 健二 (Fukunaga Kenji) (50435533)	県立広島大学・生命環境学部・教授 (25406)	

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