

令和 5 年 6 月 16 日現在

機関番号：82111

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K15505

研究課題名(和文) サツマイモ近縁野生種における根の肥大性に関わるQTL領域の特定

研究課題名(英文) Identification of QTLs involved in root thickness in the wild sweetpotato

研究代表者

末松 恵祐 (Suematsu, Keisuke)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・九州沖縄農業研究センター・研究員

研究者番号：30807996

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：サツマイモの近縁野生種である *Ipomoea trifida* は、一般的に塊根を形成しないことが知られているが、塊根様の太い根を形成する系統が見つかっている。そこで本研究ではQTL-seqを用いてこの根の肥大性に関わるQTL (qRT1) を特定した。さらにqRT1に存在する構造変異からqRT1の候補遺伝子 *ItRT1* を特定した。この遺伝子のサツマイモホモログ *IbRT1* は梗根および塊根で特異的に発現することを明らかにした。以上のことから、本研究によりサツマイモ野生種およびサツマイモにおいて *ItRT1* (*IbRT1*) は根の肥大に関与することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

サツマイモは野生種から進化の過程で根の肥大性を獲得したと考えられるものの、どのような変異の集積により塊根を形成するようになったのか、その遺伝学的背景は不明な点が多い。本研究で発見されたQTLおよびその候補遺伝子は、サツマイモ塊根の進化に関与することが示唆されており、この謎を解明する鍵となることが期待される。さらに、本遺伝子を足掛かりにサツマイモにおける塊根形成メカニズムの解明が進むものと考えられる。

研究成果の概要(英文)： *Ipomoea trifida*, the closest relative of sweetpotato, does not generally form storage roots, but some lines develop thick roots. In this study, QTL (qRT1) involved in the root thickness was identified using QTL-seq. Moreover, the candidate gene for *ItRT1* was identified from genes on the structural variant located in qRT1. The sweetpotato homolog of *ItRT1*, *IbRT1*, was specifically expressed in pencil roots and storage roots. Therefore, the results of this study suggest *ItRT1* and *IbRT1* are related to root development in *I. trifida* and sweetpotato.

研究分野：遺伝育種科学

キーワード：サツマイモ *Ipomoea trifida* 根の肥大性 QTL

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

サツマイモの近縁野生種である *Ipomoea trifida* は、一般的に塊根を形成しないことが知られているが、塊根様の太い根を形成する系統が見出された。本研究では、このような根が肥大する特徴的な *I. trifida* を用いて、根の肥大に関わる QTL を明らかにするとともに、サツマイモにおける塊根形成能との関連について研究を進める。

2. 研究の目的

I. trifida およびサツマイモにおける根の肥大に関与する遺伝的要因を解明する。具体的には以下の4つを目的とし、研究を実施した。

- ・二倍体 *I. trifida* における根の肥大に関与する QTL 領域の同定
- ・検出された QTL 領域内における、肥大根特異的な発現遺伝子の解明
- ・QTL の効果の検証および原因変異・原因遺伝子の探索
- ・サツマイモにおける塊根形成 QTL の同定および二倍体 *I. trifida* において根の肥大に関与する QTL および遺伝子との比較

3. 研究の方法

(1) 二倍体 *I. trifida* 系統の Mx23Hm (非肥大性、自家和合、ホモ) と 0431-1 (肥大性、自家不和合、ヘテロ) の交配によって得られた BC₁F₁ 集団をポット試験と圃場試験に供試した。それぞれの試験で根の肥大性を測定し、根が肥大した個体のバルク DNA および根が肥大しなかった個体のバルク DNA を調整した。それぞれのバルク DNA をシーケンスし、QTL-seq を用いて解析した。

(2) 根の肥大に関わる QTL (*qRT1*) について Mx23Hm を 0431-1 に戻し交配することにより BC₅F₃ 系統 (0431-1 型 *qRT1* の NIL4-RT1、NIL12-RT1 および Mx23Hm 型 *qRT1* の NIL1-rt1、NIL10-rt1) を作出し、これら 4 系統の根の肥大性を比較した。

(3) NIL4-RT1 の DNA を抽出し、MinION および NovaSeq 6000 を用いて DNA 配列を取得した。得られた配列から De novo アセンブリを実施し、*qRT1* 領域の DNA 配列を Mx23Hm (ltr_r2.2) と比較した。また、NIL4-RT1 および NIL10-rt1 の主根肥大部 RNA を経時的に 3 回サンプリングし、RNA-seq により NIL4-RT1 ゲノムの *qRT1* 領域内に予測された遺伝子の発現量を比較した。

(4) これまでの結果から原因遺伝子の候補として *ItRT1* を特定した。サツマイモおよび 2 倍体~6 倍体トリフィーダ遺伝資源 22 系統の DNA を抽出し PCR によって *ItRT1* の有無を調査した。また、*ItRT1* について近縁種 (サツマイモ、マメアサガオ、アサガオ) のゲノムデータベースから相同遺伝子を抽出し、分子系統解析を行った。

(5) サツマイモにおいて *ItRT1* のオースログ *lbRT1* を特定、RACE 法を用いて遺伝子配列を決定した後、当該遺伝子の組織別 (塊根, 梗根, 細根, 葉, 葉柄, 茎) の遺伝子発現量をリアルタイム RT-PCR によって測定した。

(6) 六倍体サツマイモと六倍体 *I. trifida* との F1 集団を用いて、栽培形質に関わるゲノムワイド関連解析 (GWAS) を実施した。

4. 研究成果

(1) QTL-seqの結果、ポット試験と圃場試験の両方で chr06 に有意なピークが認められた。chr06 において両試験で検出された共通する領域 2.94Mb - 8.71Mb を根の肥大性に関与する QTL (qRT1) と推定した。

(2) 戻し交配とマーカー選抜により qRT1 の領域を約 380kb に絞り込んだ BC₅F₃ 系統を作出した。BC₅F₃ 系統である NIL4-RT1 および NIL12-RT1 は、NIL1-rt1 および NIL10-rt1 に比べて根直径および主根重が有意に大きいことが明らかになった。このことから qRT1 の約 380 kb 内に根の肥大性に関与する遺伝子があることが示唆された。

(3) qRT1 の原因変異を特定するために NIL4-RT1 の De novo アセンブリを行い、Mx23Hm のゲノム配列 (litr_r2.2) と比較したところ、qRT1 には挿入欠失を含む約 80kb の構造変異が存在することが明らかになった。また NIL4-RT1 の qRT1 領域には 63 遺伝子が予測された。そのうち NIL10-rt1 に比べて NIL4-RT1 で発現量が特に高い遺伝子を特定し、本遺伝子を qRT1 の原因遺伝子候補 *ItRT1* とした。この *ItRT1* は構造変異内に座し、欠失により Mx23Hm ゲノムには *ItRT1* は存在しないことが明らかになった。

(4) 遺伝資源の *ItRT1* の有無を確認したところ、サツマイモおよび 4-6 倍体メキシコアサガオは全て *ItRT1* を有するが、2 倍体メキシコアサガオは系統間で異なった (*ItRT1* 増幅有 5 系統; 無 7 系統)。また、分子系統解析の結果、*ItRT1* には 3 つのパラログがあり、これらは近縁のマメアサガオやアサガオにも存在するが、*ItRT1*(*lbRT1*) 自体はトリフィーダ系統の一部とサツマイモにのみ存在することが示唆された。

(5) *lbRT1* の遺伝子発現量を調査した結果、梗根および塊根では発現していたが、細根や地上部の各器官での発現は認められなかった。

(6) GWAS により塊根の色素量ならびに巻つる性や茎径などの地上部形質に関わる遺伝子座を検出することができた。一方で、塊根形成能に関わる遺伝子座は検出できなかった。

以上の結果により、サツマイモ野生種およびサツマイモにおいて根の肥大に関与する遺伝子が推定された。今後は、サツマイモの塊根形成メカニズムの全容解明に向けて、本候補遺伝子の機能解析などさらなる研究を行う予定である。

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 Suematsu Keisuke, Tanaka Masaru, Isobe Sachiko	4. 巻 25
2. 論文標題 Identification of a major QTL for root thickness in diploid wild sweetpotato (<i>Ipomoea trifida</i>) using QTL-seq	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plant Production Science	6. 最初と最後の頁 120 ~ 129
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/1343943X.2021.1927766	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3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 末松恵祐
2. 発表標題 BSAおよびGWASによる6倍体サツマイモの巻つる性に関する遺伝子座の特定
3. 学会等名 日本育種学会第141回講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 末松恵祐・田中勝・磯部祥子
2. 発表標題 QTL-seqによるサツマイモ二倍体野生種 <i>Ipomoea trifida</i> における根の肥大性に関与する遺伝領域の特定
3. 学会等名 日本作物学会第251回講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 末松恵祐・田中勝
2. 発表標題 サツマイモ塊根の進化に関わる根の肥大遺伝子の推定
3. 学会等名 日本育種学会第143回講演会
4. 発表年 2023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
---------	---------