

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 28 日現在

機関番号：82111

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K14838

研究課題名（和文）ソバの生態型を支配する日長応答性遺伝子群の同定

研究課題名（英文）Identification of photoperiod-related genes contributes to ecotype differentiation in common buckwheat

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・作物研究部門・研究員

研究者番号：70806603

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、普通ソバの栽培地域・作期を規定する生態型に関わる形質およびその遺伝的制御機構の同定を進めた。その結果、ソバの生態型は日長に応答した成熟期の早晩性に規定され、他の作物と異なり成熟期と開花始期早晩性の相関が低く、それぞれ独立した遺伝子領域に制御されていることを明らかにし、生態型を改変させ得る成熟期に関わる遺伝子領域を同定できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ソバの生態型は日長応答性により「感光性の弱い夏型・強い秋型・その中間型」に大別され、夏型（早生）品種は長日条件となる高緯度地域または春まき栽培に、秋型（晩生）品種は短日条件となる低緯度地域や夏まき栽培で利用される。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、栽培地域・作期に応じた最適な生態型を示す品種のデザインが可能となり、収量性・品質の最大化が図れる。また、「高品質な秋型品種の夏型化」のような生態型改変育種が可能となれば、ソバの需要が高まる夏に高品質な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）：This study aims to identify the related trait and genetic locus of ecotype differentiation in common buckwheat. We showed that ecotype differentiation is mainly defined by the timing of seed set and maturation, whereas flowering time is less relevant. Thus, we focused on maturity time as a trait that defines the ecotype. We also detected two major quantitative trait loci (QTLs) for maturity time. Furthermore, we also detected QTLs for flowering time at loci different from maturity time QTLs, which suggests that different genetic mechanisms regulate flowering and maturity.

研究分野：植物遺伝育種学

キーワード：普通ソバ 生態型 日長応答 成熟期 遺伝資源 QTL

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

普通ソバ (*Fagopyrum esculentum*)は短日植物に分類されるが日長条件の異なる幅広い緯度・作期で栽培されており、各地域・作期に応じた生態型に分化している。ソバの生態型は日長応答性により「感光性の弱い夏型・強い秋型・その中間型」に大別され、夏型(早生)品種は長日条件となる高緯度地域または春まき栽培に、秋型(晩生)品種は短日条件となる低緯度地域や夏まき栽培で利用される。栽培地域・作期に応じた生態型の改変はソバの品種育成に必須となるが、これまでソバの生態型の作物学的・遺伝学的制御機構に関する報告はほとんどなかった。

我々は、生態型が異なる日本のソバ品種系統を用いた解析から、生態型には日長に応答した開花始期の早晩性だけでなく、開花後の生殖成長の早晩性(結実および成熟の早晩性)が重要であることを提案し、成熟期早晩性に関する遺伝解析を進めてきた。しかし、ソバの多様な遺伝資源間における生態型-開花始期-成熟期の様々な日長条件における関連は十分に解明されていない。また、ソバで利用可能な参照ゲノム配列(リファレンスゲノム)は高度に分断されたドラフトゲノム(N50 = 25.1 kb, 387,594 scaffolds)のみであり、遺伝解析で検出した量的形質遺伝子座(QTL)の物理位置の特定や近傍の候補遺伝子の検出は困難であった。

2. 研究の目的

本研究では、

(1) 世界のソバ遺伝資源を用いた生態型-開花始期-成熟期の関連解析

(2) 開花始期・成熟期に関わる遺伝子領域・候補遺伝子の同定

を目的とする。(1)においては、ロシアからブラジルまでの幅広い緯度の世界のソバ遺伝資源15系統、および日本のソバ在来種30系統を異なる日長条件で栽培し、開花始期および成熟期が日長にどのように応答するかを明らかにする。(2)においては、我々が最近開発・公開したソバの疑似染色体レベルのリファレンスゲノム(Fawcett* and Takeshima*, et al., 2023)を用いて開花始期・成熟期に関わる遺伝子領域の特定および候補遺伝子の同定までを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 世界のソバ遺伝資源を用いた生態型-開花始期-成熟期の関連解析

農研機構のジーンバンクから入手可能なロシアからブラジルまでの幅広い緯度の世界のソバ遺伝資源13系統および農研機構育成の2系統を用いて、長日条件(春まき栽培)で栽培し開花始期・成熟期を計測した(表1)。また、日本の在来種のうち夏型および秋型の系統それぞれ15系統ずつを長日条件(春まき栽培)および短日条件(夏まき栽培)で栽培し、開花始期・成熟期を計測した。栽培は全て茨城県つくば市で行った。

表1. 栽培試験に用いた世界のソバ遺伝資源

| 系統名 | 略語 | 国 | JP番号 |
|--------------------------------|------|----------|--------|
| Bogatyr | BOG | Russia | 36222 |
| Gloriya | GLO | Russia | 36227 |
| Kanadasan | KAN | Canada | 53866 |
| Mancan | MAN | Canada | 36232 |
| CM 221 | CM | China | 77943 |
| Heilengjiang | HEI | China | 215505 |
| Kitawase-soba | KTW | Japan | 80810 |
| Ruchi-king | RCK | Japan | - |
| Hitachi-akisoba | HTC | Japan | 165646 |
| Kyukei SC 7 | KSC7 | Japan | - |
| CV. Pontivy | PON | France | 81433 |
| CV. Le heller | LEH | France | 81432 |
| COL/PAK/1989/IBPGR/2516(4) | PAK | Pakistan | 86266 |
| COL/MYANMAR/2000/MAFF/023 | MYA | Myanmar | 203679 |
| Zairai-shu (Burajiru・bankosan) | BUR | Brazil | 53881 |

(2) 開花始期・成熟期に関わる遺伝子領域・候補遺伝子の同定

夏型(早生)品種と秋型(晩生)品種の交雑後代を用い、長日条件(春まき栽培)における開花始期・成熟期のQTL解析を実施した。ソバは自家不和合性に起因する他殖性植物であるが、農研機構が開発した自殖性の秋型系統であるKSC7を花粉親に用いることで、自殖後代が作出可能である(Takeshima et al., 2021)。本研究では、キタワセソバ(夏型・他殖性)×KSC7(中間秋型・自殖性)の交雑に由来するF₂集団(Cross_1)およびルチキング(夏型・他殖性)×KSC7の交雑に由来するF₂集団(Cross_2)を用いてQTL解析を実施した。さらに、Cross_1の後代(F₅-F₆)集団を用いて、夏型化(早生化)に関わるQTLの狭域化・候補遺伝子の検出を行った。

4. 研究成果

(1) 世界のソバ遺伝資源を用いた生態型—開花始期—成熟期の関連解析

長日条件下における世界のソバ遺伝資源間の開花始期の幅は 32.5~39.0 日と 1 週間以内であったものの、成熟期の幅は 73.2~101.2 日と 1 ヶ月以上であり、15 系統中 6 系統は栽培期間中に成熟に到達しなかった (図 1A)。また HEI のように、開花始期は MAN や CM221 より早いにも関わらず、栽培期間中に成熟に到達しなかった系統もみられた。また、日本の夏型・秋型の在来種群の短日・長日条件下での栽培においても、系統間の開花始期の変異幅より成熟期の変異幅が明らかに大きく、開花始期と成熟期の相関は高くなかった。また、長日条件下では秋型の系統群で成熟期の大幅な遅延が確認された (図 1B, C)。以上のことから、世界および日本在来のソバ遺伝資源においても開花始期と成熟期の早晩性は必ずしも一致せず、特に長日条件下において、ソバは開花始期より成熟期の早晩性に日長の影響を強く受けることが示された。このことから、ソバの生態型の遺伝的制御機構の解明には開花始期の早晩性より成熟期の早晩性に注目する必要があることが分かった。

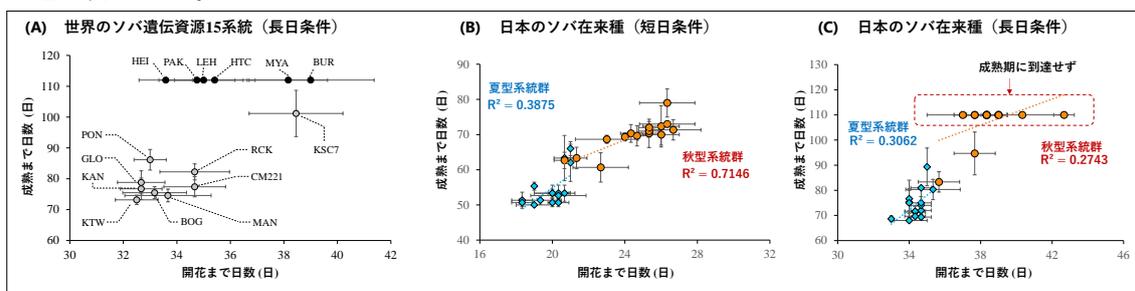


図 1. (A) 世界のソバ遺伝資源 15 系統の長日条件下での開花始期・成熟期。黒色プロット系統は栽培期間中 (播種後 112 日) 成熟まで到達しなかった。材料は表 1 参照。(B), (C) 日本の夏型在来種 15 系統および秋型在来種 15 系統の短日および長日条件下での開花始期・成熟期。

*図表は Takeshima et al. (2022) を改変

(2) 開花始期・成熟期に関わる遺伝子領域・候補遺伝子の同定

上記 (1) で示したように、長日条件下では夏型品種と秋型品種は成熟期が大きく異なり、秋型品種は開花後一向に結実せず、開花と栄養成長を並行して続け、成熟に至らない (図 2A)。このような夏型×秋型品種の交配に由来する 2 つの F₂ 集団 (Cross_1, Cross_2) を用いて、開花始期および成熟期の QTL 解析を実施した。まず、Cross_1, Cross_2 の開花始期と成熟期を比較した。その結果、開花始期と成熟期には強い相関は見られず、これらは異なる遺伝子座に制御されている可能性が示された (図 2B)。

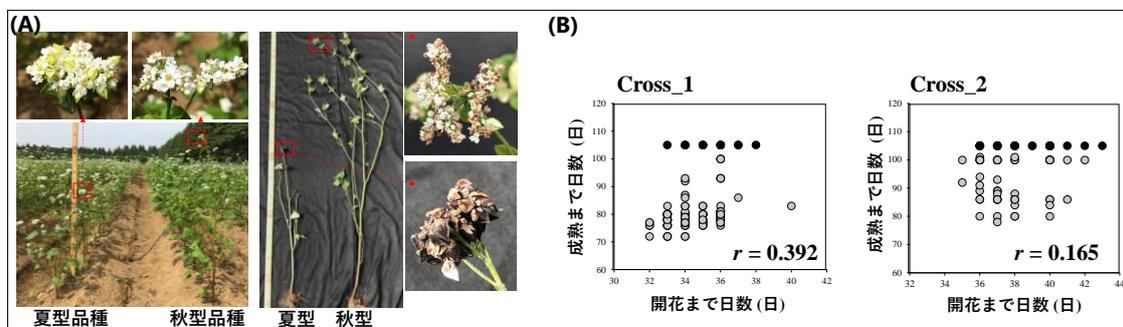


図 2. (A) 夏型および秋型品種の長日条件下における播種後 40 日目 (左側) および 70 日目 (右側)。秋型品種は開花後も結実せず、開花と栄養成長を続け、成熟に至らず倒伏する。(B) Cross_1 および Cross_2 における長日条件下での開花始期・成熟期。黒色プロット個体は栽培期間中に成熟まで到達しなかった。*図表は Takeshima et al. (2022) を改変

上記で得られた開花始期と成熟期に関する QTL 解析を実施するため、GRAS-Di による連鎖地図構築を試みた。我々は GRAS-Di のリードデプスの分布から共優性マーカーを検出する独自の手法を開発し (解析コードは Takeshima et al., 2022 参照)、Cross_1 (n=150) に関して 666 マーカー (1, 180 cM)、Cross_2 (n=120) に関して 658 マーカー (1, 137 cM) からなる高密度連鎖地図を作成した (図 3A)。この連鎖地図を用いた QTL 解析の結果、図 3B および表 2 に示すように、Cross_1 の成熟期に関しては第 6 連鎖群に LOD 値 7.7 (寄与率 21.0%) の QTL が検出され、開花始期に関しては 3 つの異なる遺伝子座に QTL が検出された。Cross_2 の成熟期に関しては第 3 連鎖群に LOD 値 6.2 (寄与率 20.5%) の QTL が検出され、開花始期に関しては第 7 連鎖群に QTL が検出された。

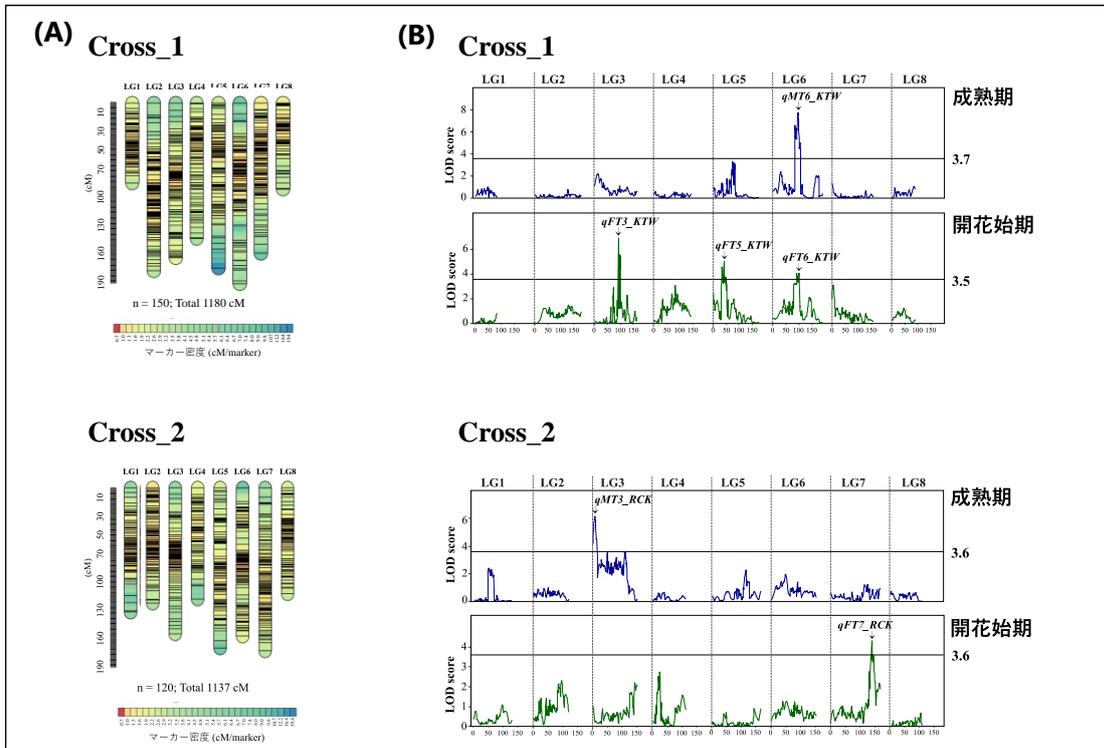


図3. (A) Cross_1 および Cross_2 で構築した連鎖地図。色はマーカー密度を示す。(B) Cross_1 および Cross_2 における開花始期・成熟期の QTL 解析の結果。*図表は Takeshima et al. (2022) を改変

表2. 開花始期および成熟期に関する QTL 解析 *図表は Takeshima et al. (2022) を改変

| 集団 | 形質 | QTLs | 連鎖群 | 最近傍マーカー (position, cM) | Peak position (cM) | LOD | 相加効果 [†] | 優性効果 | 寄与率 (%) |
|---------|------|-----------------|-----|----------------------------------------------|-----------------------|------|-------------------|-------|------------|
| Cross_1 | 成熟期 | <i>qMT6_KTW</i> | 6 | AMP0019203 – AMP0011313 (93.2) – (96.6) | 96.6 | 7.74 | -7.19 | -3.28 | 21.0 |
| | 開花始期 | <i>qFT3_KTW</i> | 3 | Toyo0004322 – AMP0024401 (91.3) – (91.7) | 91.7 | 6.96 | -6.52 | -0.03 | 15.4 |
| | | <i>qFT5_KTW</i> | 5 | AMP0000566 – AMP0023981 (39.8) – (40.8) | 40.8 | 5.03 | 0.59 | -0.5 | 11.1 |
| | | <i>qFT6_KTW</i> | 6 | AMP0011313 – AMP0026722 (96.6) – (101.3) | 100.6 | 4.09 | -0.48 | -0.49 | 9.3 |
| Cross_2 | 成熟期 | <i>qMT3_RCK</i> | 3 | AMP0019836 – AMP0023439 (6.1) – (11.2) | 6.1 | 6.20 | 4.67 | 5.76 | 20.5 |
| | 開花始期 | <i>qFT7_RCK</i> | 7 | AMP0005537 – AMP0029656 (140.9) – (143.0) | 143.0 | 4.31 | 0.63 | -0.89 | 13.6 |

[†] Cross_1についてはキタワセ型、Cross_2についてはルチキング型の遺伝子型の効果

以上のように、本研究では生態型を規定する要因として考えられる成熟期早晚性に関わるメジャー-QTLを検出できた。また、開花始期と成熟期の早晚性が異なる遺伝子座に制御されていることを明らかにした。現在、特に *qMT6_KTW* に着目し、QTL 領域の狭域化および候補遺伝子の同定を進めている。*qMT6_KTW* 周辺の 20 マーカーの配列を我々が構築した新たなリファレンスゲノムにマッピングし、*qMT6_KTW* が第三染色体上に座乗することを明らかにした。次に、Cross_1 由来の F₅-F₆ 世代を用いたマッピングを実施したところ、該当領域の約 18Mbp 内に 2 つの QTLs が座乗している可能性が得られ、*qMT6_KTW* の近傍に同じく夏型化に関わる因子 (*qMT6_KTW_2* と命名) が存在していることが疑われた。現在、2 遺伝子座の Fine-mapping を進めるとともに、両親 (キタワセソバおよび KSC7) のリシーケンスデータをもとに、*qMT6_KTW* および *qMT6_KTW_2* の候補遺伝子を検出している。

<引用文献>

① Jeffrey A Fawcett*, Ryoma Takeshima*, Shinji Kikuchi et al., “Genome sequencing reveals the genetic architecture of heterostyly and domestication history of common buckwheat” *Nature plants*, 9 (8), 1236-1251, Aug 10, 2023, * co-1st author

② Ryoma Takeshima, Shiori Yabe, Katsuhiko Matsui. “Genetic basis of maturity time is independent from that of flowering time and contributes to ecotype differentiation in common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench)” *BMC Plant Biology* 22(1) 353-353 Jul,

③ Ryoma Takeshima, Eri Ogiso-Tanaka, Yasuo Yasui, Katsuhiko Matsui. “Targeted amplicon sequencing + next-generation sequencing-based bulked segregant analysis identified genetic loci associated with preharvest sprouting tolerance in common buckwheat (*Fagopyrum esculentum*)” *BMC Plant Biology* 21(1) 18–18 Jan, 2021

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2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, Yabe Shiori, Matsui Katsuhiko | 4. 巻 22 |
| 2. 論文標題 Genetic basis of maturity time is independent from that of flowering time and contributes to ecotype differentiation in common buckwheat (<i>Fagopyrum esculentum</i> Moench) | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 BMC Plant Biology | 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) 10.1186/s12870-022-03722-6 | 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 Takeshima Ryoma, Murakami Shun, Fujiwara Yosuke, Nakano Keiko, Fuchiyama Ritsuko, Hara Takahiro, Shima Takeo, Koyama Takuya | 4. 巻 297 |
| 2. 論文標題 Subsurface drainage and raised-bed planting reduce excess water stress and increase yield in common buckwheat (<i>Fagopyrum esculentum</i> Moench) | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Field Crops Research | 6. 最初と最後の頁 108935 - 108935 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.fcr.2023.108935 | 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 竹島 亮馬, 矢部 志央理, 松井 勝弘 |
| 2. 発表標題 ソバの開花期とは独立した成熟期早晚性の遺伝解析と生態型との関連について |
| 3. 学会等名 日本育種学会 第141回講演会 |
| 4. 発表年 2022年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

社会貢献活動（生産者・実需者・行政への講演）

竹島 亮馬，令和3年度東北ソバ研究会，2022年02（東北農政局主催）
「生態型に着目したソバ品種系統の栽培適性と東北地域における湿害対策の取り組み」
https://www.naro.go.jp/laboratory/tarc/contents/files/R3Soba_M0.pdf

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 |
|---------|---------|
|---------|---------|