

平成 30 年 6 月 26 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K07291

研究課題名(和文) 自殖種子による新しい栽培ギク育種法の確立

研究課題名(英文) Establishment of new breeding technique for cultivated mum by using self-compatible Chrysanthemum

研究代表者

谷口 研至 (Taniguchi, Kenji)

広島大学・理学研究科・特任准教授

研究者番号：10163627

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：自家不和合性の栽培ギクはF₂世代以降の子孫を大量に残すことが困難で、自殖系統を利用した近代的な遺伝育種が非常に遅れてきた。この問題を解決するために、我々は二倍体キクタニギクの野生集団から発見された自家和合性を栽培ギクに導入し、自家和合性で多様な形質の新栽培ギク115ラインを分離した。交配親の長管さし弁が候補形質として選ばれ、四倍体のF₁, BC₁F₁, BC₂F₁～BC₂F₃子孫の遺伝的分離が調べられた。理論的に推定されたとおり、BC₂F₃世代で、自家和合性をもった種子で繁殖し、完全に管弁をもつ劣性ホモ系統が得られた。ここに自殖種子による遺伝学に基づいた遺伝形質の「デザイン」が可能になった。

研究成果の概要(英文)：Self-incompatibility cultivated-mums are difficult to leave a large amount of offspring after the F₂ generation, so modern breeding of cultivated-mums using self-compatible line has been delayed. In order to solve this problem, we introduced self-compatible gene newly discovered from the wild population of diploid chrysanthemum into a hexaploid cultivated mum and segregated 115 lines with various traits from new tetraploid mums that propagate on self-compatibility. Peripheral flowers with spoon-like tip and tubular base of the cultivated mum was selected as a candidate trait, and genetic segregation was examined for this trait of tetraploid F₁, BC₁F₁, BC₂F₁, BC₂F₂ and BC₂F₃ progeny. As estimated theoretically, in the BC₂F₃ generation, a recessive homozygote with complete tubular ray florets that breeds with self-compatible seeds was isolated.

研究分野：植物遺伝学

キーワード：栽培ギク育種 自家和合性 キクタニギク Chrysanthemum

1. 研究開始当初の背景

わが国ではキクの栽培が江戸時代に流行し、この時期に多くの交配がなされ、現在見られる多くの品種の原型がつくられた。また、栽培ギクは我が国の切り花生産の40%を占める重要な花卉であり、世界の花卉市場でも最も多く流通している。キクの新品種は、主に三つの方法によって創り出されている。

1. **交配育種**は候補親間の F₁ 子孫の中から優良形質の選抜が行われ、大量クローン苗として商品化される。

2. **芽条突然変異**を利用する方法はキクでは比較的良好に生じる枝変わりを利用したもので、挿し芽や組織培養により多くの品種が作られている。

3. **放射線育種**は積極的に芽条突然変異を発生させてその中から優良品種を選抜し、品種育成する方法である。

そして得られた品種はクローン増殖による大量苗生産技術を利用して商品化されている。

多くの有用作物は種子による品種改良がなされるのが普通であり、効率がよい。しかし、キク育種には栽培ギクのもつ二つの特性、すなわち自家不和合成及び六倍体という高次倍数体であることにより、遺伝学に基づいた育種が非常に難しい。交配も頻繁に行われてきたが、F₁ 雑種の後代子孫を取ることが困難であることから、F₁ 雑種で得られた優良品種をクローン増殖するという手法に留まっている。そのため逆に種苗生産に関する極めて効率的なクローン大量増殖技術が発展してきた。

我々は 2010 年に、二倍体キクタニギクの自然集団から自家和合性の個体を発見した(谷口ら 2014)。この自家和合性遺伝子を栽培ギクに取り込むことにより、純系(ホモ接合体)を利用した遺伝学に基づくキク育種の近代化を推し進めることが可能となると考えた。

2. 研究の目的

自家不和合性の栽培ギクに自殖遺伝子を導入し、種子繁殖による純系(ホモ接合体)を作成できるシステムを構築し、優良形質の組み合わせによる「デザイン」を可能にする基盤技術を確認する。そして、種子繁殖栽培ギクを利用して育種効率を大幅に高め、これまでのキク育種の問題点の解決を目指す。

その解決のために以下の点を具体的に実施していく。

1) 自殖性二倍体キクタニギクと栽培ギクの F₁ 雑種に自殖性四倍体キクタニギクを戻し交雑した BC₁F₁ 子孫に、さらに自殖性四倍体キクタニギクを戻し交雑し、BC₂F₁ 自殖四倍体を作成する。

2) それ以降の自殖子孫 (BC₂F₂) から候補とする各種遺伝形質(栽培ギクを特徴付ける、主に舌状花の形と頭花としての集合状態、草姿に関する形質)を固定する。特に交配親とした栽培ギクの長管サジ弁の固定に着目する。

3) 有用形質がホモ化された自殖四倍体ラインの遺伝的特性を明らかにする。

4) 有用遺伝子の組み合わせによる「デザイン」を行うことで、新しい自殖系四倍体栽培ギク母本を作成し、種子による新育種技術の確立を図る。

3. 研究の方法

1) 材料：二倍体自家和合性キクタニギク AEV2, 人為四倍体自家和合性キクタニギク TLR2, 栽培ギク六倍体「ゴールドインイエロー」YQQ1, およびこれらの種の交配子孫 (F₁ 雑種から BC₂F₃ 子孫) までを使用した。

2) 人為四倍体キクタニギクの作成

自殖二倍体キクタニギクを、水を十分に浸したウレタンマット上に播種した。6 日後に、ウレタンマットごと取り出しキムタオルで十分に水を切った後、マットごと 0.002% コルヒチン処理水溶液に移し 3 日間処理した。種まき用土を十分に水を含ませた 10x20 穴トレイに幼苗を置床し、その後 1.5 ヶ月後に 6cm ポットに植え替え、形態的に強壮に見え茎の太い個体について、根端の染色体数の確認を行い染色体数の確認を行った。根端部の倍数性キメラの可能性もあるので、最終的には染色体確認された個体の自殖種子の染色体を確認し、人為四倍数体系統として認定した。

3) 自殖四倍体ラインの作成

二倍体自家和合性キクタニギクと六倍体栽培ギクとの F₁ 雑種に、自殖性人為四倍体キクタニギクを戻し交配した BC₁F₁ 子孫を得た。さらに戻し交雑し、BC₂F₁ 子孫およびその後代を作成した(図 1)。この世代には自殖四倍体子孫の 1 遺伝子がランダムに分配したと仮定すると 1/6 の確率で劣性ホモ個体が生じることが期待される。袋かけを行い、種子稔性の高い自殖系統の選抜を行った。自殖性の判定は 1 頭状花あたりの完熟そう果数 (APS 率) が 8 以上を自家和合性個体とした。

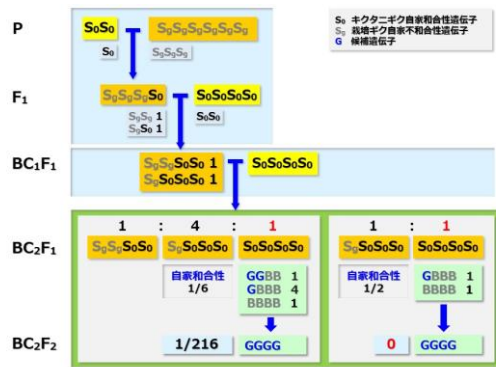


図1. 四倍体F₁雑種からの自家和合性系統の作成方法

BC₂F₁ 世代で選抜した自殖個体から BC₂F₂ 子孫を得て、ここで分離してくる、栽培ギク及び野生ギクの有用な育種形質の自殖ラインを作成した。1 遺伝子がランダムに分配したと仮定すると 1/216 の確率で栽培ギク遺伝子の劣性ホモ接合体の分離が期待され、この世代で有用形質が多く固定してくると期待される。そこで栽培ギクまたは野生ギクの花を中心にした優良候補形質(ほとんどは劣性ホモ個体と考えられる)を選抜し、遺伝的分離ラインを作成した。

4) 自殖四倍体ラインの遺伝的特性解析

BC₂F₂ および BC₂F₃ 子孫に分離してきた自殖性個体から各種遺伝形質を選抜し、系統として樹立した。遺伝形質としては、切り花として最も多く利用されているスプレーギクの形質を基準に、花序および頭状花の形態(八重咲き、さじ弁、管弁、平弁)、花色(白舌、黄舌、赤舌)をとりあげた。その中で特徴的な舌状花の変異形質、すなわち平弁と管弁の遺伝的な関係について解析した。

5) 育種形質のデザインと再構築

遺伝的に BC₂F₂ 子孫から選抜・固定化されたラインから、候補形質を組み合わせ、交配子孫を作成し、目的通りデザインした形質の固定化を試みた。

6) 自殖性四倍体栽培ギク母本の作成

4) の自殖四倍体ラインから固定化した有用形質系統をもとに栽培ギク母本のシリーズを作成する。

4. 研究成果

1) 自殖性人為四倍体の作成

自殖性二倍体キクタニギク AEV2 のコルヒチン誘導四倍体 TLR2 系統を作成しその自殖後代 F₁, F₂, F₃ 後代まで作成した。これらの自殖四倍体キクタニギク系統が栽培ギクとキクタニギクと四倍体 F₁ 雑種および四倍体後代子孫の交配親として使用された。

2) 栽培ギク自殖四倍体ラインの作成

自殖性二倍体キクタニギクと栽培ギクの F₁ 雑種に、自殖性四倍体キクタニギクを戻し交雑した BC₁F₁ 子孫(自家不和合性であるがわずかに種子を形成することがある)を得た。さらに自殖性四倍体キクタニギクに戻し交雑し、BC₂F₁ 子孫を得た。X5PN ファミリーにおいては自殖系統が 35.3%、さらにその後代の BC₂F₂ 子孫(自殖系統が 55.9%)と BC₂F₃ 子孫が得られた(図 2)。また基本的に自家不和合性である BC₁F₁ 子孫のうちの 1 個体の後代の BC₁F₂ 子孫、その後代 BC₁F₃ 子孫から高頻度に自家和合性系統を得た。2 ファミリーより派生した BC₂F₂ と BC₁F₂ 世代で固定化された 223 系統から、自殖性四倍体が 115 系統得られ、各系統において多様な形質を示した。

理論的に交配開始から 3 世代後に初めて出現が期待される自殖系統が 1/6 (16.7%) の確率となることが推定された(図 1)。実際の交配においても 3 世代後の BC₂F₁ 世代に初めて自殖系が得られた。しかし自殖系統の出現率が予想の 2 倍と高い割合を示した。またその次の世代は自殖系統として選んだ個体の BC₂F₂ 子孫ですべて自殖系統であることが推定されていたが、実際には前の世代子孫より自殖性の割合は高くなっているものの 55.9%にとどまっていた。この原因に関しては本研究からは解決できなかったが、これらの子孫の中に花粉形成率が高いものから全く形成しないものまで多様な変異を生じていたことと関係があるかもしれない。

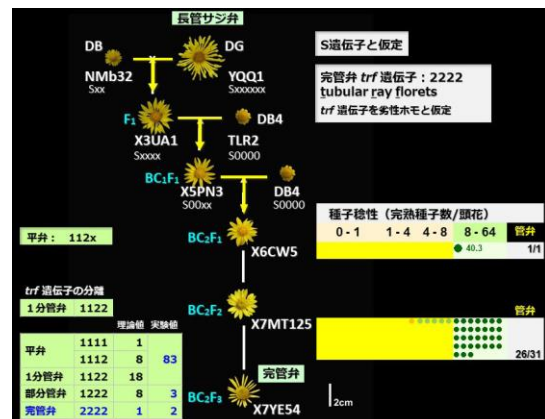


図2. 栽培ギクYQQ1の戻し交雑による四倍体自殖系統の確立

3) 自殖四倍体ラインの栽培ギク形質の固定

この世代にはキクタニギクに見られる単型的な黄色平弁に加えて、栽培ギク親として使用した長管さじ弁をもつ系統(ゴールデンイエロー)が内在してもっていたと考えられる親に見られなかった管弁や匙弁の多様な型、舌状花の長さおよび幅に関する様々なサイズ、舌状花の様々なタイプのカー(笥状(内巻き)、外巻き、ネジレ巻き)、八重性、頭状花サイズなどの形質が想像以上に多く分離した(図 3 に一部のタイプを示す)。以上の結果は栽培ギク親として発現

していた形質だけではなく、栽培ギクに内在していた様々な遺伝子が顕在化してきたものと考えられる。これまで言われてきた栽培ギク育種におけるヘテロ接合性を改めて強く示すものである。またこれらの遺伝形質に関しても一定の割合でホモ化した系統も得られているはずであるが現時点でいくつの遺伝子座および対立遺伝子が関与しているかについて確定することはできず、さらに後代を解析していく必要がある。

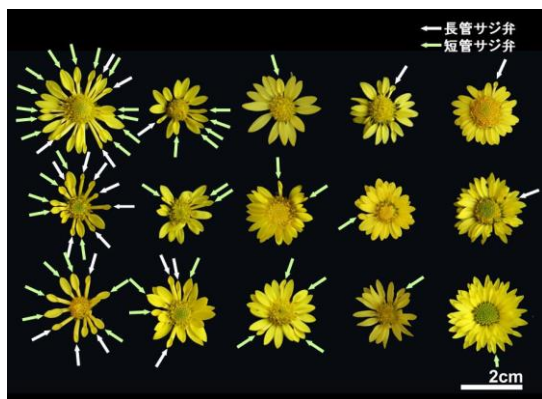


図 3. BC₂F₂ 世代に分離してきた管弁

その中で栽培ギクの長管サジ弁は非常に目立った特徴的な形質として認められることからこの形質に着目して遺伝的な解析を進めた。この形質は F₁ 世代で潜在化することから劣形質であると考えられた。そこでこの形質が 1 遺伝子座の劣形質でランダムに分配すると仮定した場合 BC₂F₂ 世代で初めて 1/256 の確率で出現することが期待された。実際には X5PN3 ファミリーの BC₂F₂ 世代で初めて管弁が認められた (図 2、図 3)。この世代では得られた自殖系 31 個体中平弁の中に頭花当たり 1-2 個の管弁をもつ 26 個体が得られ、管弁の不完全な発現であるが予想以上に高い頻度を示した。そして BC₂F₃ 世代で管弁をもつ個体が出現し、完全な管弁も分離してきた (図 4)。88 個体中完全な管弁が 2 個体、舌状花 < 管状花の混在した不完全な管弁が 3 個体、1-2 管状花が 19 個体得られた。

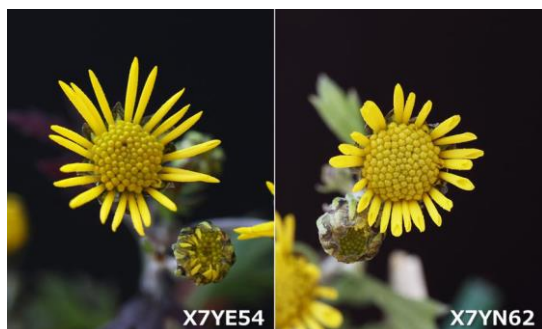


図 4. BC₂F₃ 世代で固定化した完管弁

以上の結果より親形質の長管さじ弁はヘテロの状態の発現で、完全な管弁がホモ接合であると考え、管弁は劣性、平弁は

優性と考えられた。そこで管弁の遺伝子型を 2、平弁を 1 とすると、BC₂F₃ 世代の完全な管弁の遺伝子型は 2222、部分的管弁は 1222、一部管弁 1122、平弁 1111 および 1112 と考えられた。BC₂F₂ 世代では一部管弁の遺伝子型 1122、BC₂F₁ 世代の遺伝子型 1112 または 1122 と考えられ合理的に説明できた。BC₂F₂ 世代では 1122 と考えられるが、実際に 31 個体中 26 個体が一部管弁であることを考えると、管弁遺伝子の発現が非常に弱く不安定な状態であることから管弁化しない状態が生じることがあると考えた。

以上の結果に基づいて、2 個以上の有用形質のデザインを試みた。管弁と甘い香り、管弁と長花梗・短花梗、管弁と姿のよい散房花序および管弁を大長舌、八重舌に置き換えた組み合わせた形質の系統間交配を行った。既にこれらの自殖子孫を得ており、予定通りにデザインした品種が分離していると考えられるが、予定より遅れてしまい、今秋まで待たなければならない。一方、デザインの計画には入れていなかったが 1 遺伝子座の対立遺伝子の組合せ、すなわちホモ接合性およびヘテロ接合性によるデザインも可能であることが、管弁の遺伝解析から確かめられた。すなわち、1111, 1112, 1122, 1222, 2222 の組合せで異なるタイプの管弁をデザインすること可能であることが確かめられ、系統として樹立された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕 (計 0 件)

〔学会発表〕 (計 5 件)

- ① 谷口研至・草場信 (2017) キクを種子からつくる III. 自殖性四倍体栽培ギクにおける遺伝子のホモ化過程の解析 園芸学会 平成 29 年度秋季大会 (酪農学園大学)
- ② 中野道治・谷口研至・八木雅史・住友克彦・久松完・磯部祥子・草場信 (2016) キク属モデル系統の開発とその利用 園芸学会 平成 28 年度春季大会 (東京農業大学)
- ③ 谷口研至・草場信 (2016) キクを種子からつくる II. 新四倍体栽培ギクの自殖化選抜について. 園芸学会 平成 29 年度秋季大会 (酪農学園大学)
- ④ 小塚俊明, 中野道治, 坂本智昭, 木村成介, 有賀悠貴, 谷口研至, 草場信 (2016) キクタニギク自家和合系統を用いたキク属モデル植物の開発 植物

学会第 80 回大会 (沖縄)

- ⑤ Masako Satoyama, Koji Sakamori, Kazuhiko Matsuda, Kenji Taniguchi, Nobuko Ohmido (2015) Chromosome Study of Pyrethrum. II International Symposium on Pyrethrum.

[図書] (計 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

谷口研至 (Taniguchi, Kenji)
広島大学・大学院理学研究科・特任准教授
研究者番号：10163627

(2) 研究分担者

草場信 (Kusaba, Makoto)
広島大学・大学院理学研究科・教授
研究者番号：20370653

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()