

令和 2 年 6 月 22 日現在

機関番号：34406

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H04616

研究課題名(和文)栽培バラの四季咲き性の野生起源解明と有用遺伝資源の大規模スクリーニング

研究課題名(英文)Uncovering the wild origin of continuous-flowering rose and screening of novel genetic resources

研究代表者

河村 耕史(KAWAMURA, Koji)

大阪工業大学・工学部・准教授

研究者番号：00595613

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,300,000円

研究成果の概要(和文)：世界中で栽培されている園芸バラの大半は四季咲き性をもつ。四季咲き性は中国古来の栽培品種コウシンバラに由来している。本研究はこのコウシンバラの野生起源を明らかにするため、中国四川省を中心に野生種の調査を行い、遺伝子の塩基配列情報をもとに、コウシンバラの起源について科学的な解析を行った。同時に、栽培品種や野生種の遺伝子情報をもとに、コウシンバラとは起源の異なる四季咲き性をもつ新しいバラを発見した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

栽培バラは交配育種によって数万品種まで多様化してきたが、その元となった原種はわずか7-8種とされており、遺伝的多様性が低い。栽培バラの遺伝的多様性が低いことは、病原菌耐性や稔性を低下させる要因になっていると考えられるため、新たな遺伝資源を発掘し、今後の品種改良に活かす必要がある。本研究が調べた、中国の野生バラや、新しい四季咲き性の原因変異を持つ栽培品種は、これまで育成されたバラ品種の遺伝的多様性を高めたり、耐病性や新しい形質を付与したりするうえで貴重な遺伝資源となることが期待される。中国の野生バラの多くは絶滅の危機にひんしており、早急な保全対策が必要であり、その社会的意義を科学的に示した。

研究成果の概要(英文)：We have investigated the wild origin of the continuous-flowering rose *Rosa chinensis* 'Old Blush' based on fieldwork in China for wild roses and genetic analyses of their nucleotide sequence diversity and similarity to *Rosa chinensis*. The results demonstrate hybrid origin of *Rosa chinensis* and one ancestral species is *Rosa chinensis* var. *spontanea*. We have also performed a large-scale screening of genetic resources for continuous-flowering roses and identified a rose cultivar with novel mutation for continuous-flowering characteristics.

研究分野：園芸遺伝学

キーワード：四季咲き性 遺伝的多様性 ゲノム 自家不和合性 トランスポゾン

1. 研究開始当初の背景

バラは世界中で愛されている園芸作物であり、これまで 3 万種におよぶ品種が登録されている。しかし、栽培品種の遺伝的な多様性は低く、その起源はわずか 7-8 種の前原種バラに由来する。既品種間の交雑による品種改良の余地はほとんど残されておらず、遺伝的多様性の低さに起因する稔性や耐病性の低下も顕在化してきた。バラ園芸のさらなる発展のためには、新しい遺伝資源の発掘と保存が急務の課題である。しかし、バラの園芸遺伝学分野の研究は、有用形質を制御する遺伝子座の特定やゲノム解読といった最先端のトピックに集中しており、野生の遺伝資源の探索や保存のための研究はごく少数で、記載的なフィールド調査の段階で止まっていた。

栽培バラの多くは「四季咲き性」を持つ。これは年中、花芽分化を繰り返す性質である(図 1)。これに対し、野生バラの大半は「一季咲き性」で春先の一時期にのみ花芽分化をする。バラの品種改良の歴史で、最初に「四季咲き性」を示したのは中国のコウシンバラとされている。コウシンバラは 18 世紀にヨーロッパに導入され、四季咲き性を持つ現代の栽培バラ(モダンローズ)の基礎を形成した。



図1. バラの開花様式

- (1) コウシンバラに四季咲き性をもたらした原因変異は、花芽形成を抑制する機能を持つ *KSN* 遺伝子へのトランスポゾンの挿入であることが知られていた。この機能欠損型の遺伝子 (*ksn^{copia}*) をホモで持つバラは、四季咲き性となる。コウシンバラは、史料や形態的な特徴から、中国四川省に分布する希少な野生種で一季咲き性の *Rosa chinensis* var. *spontanea* (スポンタニア) に由来するとされているが、その科学的な検証はまだなされていなかった。
- (2) 先に述べたとおり、現代の栽培バラの四季咲き性はコウシンバラに由来すると考えられていた(栽培バラ四季咲き性の単一起源説)が、それを科学的に検証した研究はなかった。栽培バラの交配の歴史は古く、品種の系統も多様化しており、必ずしもすべての四季咲き性栽培バラがコウシンバラの *ksn^{copia}* を持っているとは限らないと考えた。
- (3) バラはリンゴやモモなどのバラ科果樹で知られているように、配偶体型の自家不和合性(自分の花粉では受精しない性質)を持つと考えられるが、その実態となる S 遺伝子はまだ特定されていなかった。交配実験によって、バラの S 遺伝子は四季咲き性の原因遺伝子である *KSN* と連鎖している可能性が示唆されており、*ksn^{copia}* に連鎖した S 遺伝子の遺伝的多様性が低いことが、四季咲きバラの交配育種を妨げる要因になっている可能性が考えられた。

2. 研究の目的

本研究は多様な野生バラや栽培品種のフィールド調査を行い、加えて、分子遺伝学的な解析を実施し、今後のバラの品種改良に有用であろう遺伝資源の特定を行うことを目的とした。

- (1) コウシンバラの野生起源解明: 現代の栽培バラの基盤を形成したコウシンバラの遺伝資源は、今後の栽培バラの品種改良のための育種素材として非常に重要なものである。現代の栽培バラは、ゲノム全域にコウシンバラに由来する遺伝子配列を持つことがわかっている。これは、コウシンバラが四季咲き性だけでなく、花のかたち・色・匂い・成長様式などの形質でも栽培品種の原型として寄与しているためと考えられる。したがって、世界中で愛されている栽培品種の原型を維持しながら、新しい S 遺伝子型を導入したり、耐病性を付与するなどの品種改良をするためには、コウシンバラの野生の遺伝資源が必要である。しかし、コウシンバラの起源とされる野生種のスポンタニアは、80 年代に入って自然集団が再発見されるほど希少種で、絶滅の危機に瀕しており、早急に遺伝資源の保全を進める必要がある。そこで、本研究は、*KSN* 遺伝子の塩基配列を調べる方法で、中国でコウシンバラの起源となった野生集団を探索することを目的とした。
- (2) 栽培バラ四季咲き性の単一起源説に対し、本研究では、栽培品種のなかにも、独自の遺伝子突然変異によって、四季咲き性を獲得したものがいるとの対立仮説をたて、これを検証した。*ksn^{copia}* を持たない四季咲き性品種や系統が見つければ、それらは新しい四季咲き性の原因変異を持っている可能性があるため、栽培バラの遺伝的多様性を広げ、コウシンバラによらない四季咲きバラを育種するうえで、有用な遺伝資源としての利用が期待できる。
- (3) 四季咲き性の原因変異 *ksn^{copia}* に連鎖した S 遺伝子を特定し、その連鎖の強さ(遺伝的距離)を明らかにする。四季咲きバラの交配育種においては、受粉後に結実しないケースや、結実しても一季咲き性個体ばかり発生するケースが問題となっている。これは、四季咲き性の原因遺伝子と同じ S 遺伝子型が連鎖して起こっている可能性が高いと考えた。そこで、S 遺伝子を特定したうえで、*KSN* と S 遺伝子との遺伝的距離の推定や、*ksn^{copia}* に連鎖した S 遺伝子型の多様性を調べることを目的とした。

3. 研究の方法

- (1) フィールド調査：2018年5月と2019年5月にそれぞれ10日間程度、中国四川省と雲南省において野生バラのフィールド調査を行なった(図2)。中国の四川省はコウシンバラの野生起源とされるスポンタニアが分布している。コウシンバラはスポンタニアの純系ではなく、スポンタニアと他種の雑種起源であるとの説もあったため、スポンタニアの野生集団の調査に加えて、同所的に分布する野生バラの調査も行なった。研究協力者からの情報や、文献情報をもとに、スポンタニアが分布していると考えられる地点を調査ポイントとし、レンタカーを使ってポイントを周り、花を目印に野生バラを探した。DNA抽出用に葉を採取した。



図2. フィールド調査地点の概要

遺伝子解析：KSN 遺伝子の塩基配列をコウシンバラと比較し、最も近い野生種を調べた。さらに、ゲノム全域の類似性を検証するため、Gras-Di 解析を使ってゲノム全域の塩基配列情報を取得した。

- (2) 四季咲き性をもつ栽培品種約 200 品種について、様々な育成系統からサンプルを選び、コウシンバラに由来する *ksn^{copia}* 遺伝子をもつかどうか調べた。その後、コウシンバラとは異なる新しい変異をもった四季咲き性品種が見つかったため、その原因変異の解析と交配実験による検証を行った。
- (3) バラの S 遺伝子を特定するため、リンゴとモモの S 遺伝子である *S-RNase* と *SFB* 遺伝子のアミノ酸配列をクエリーとして、コウシンバラのゲノム情報を検索し、バラの S 遺伝子の候補領域を抽出した。その後、雌しべ、雄しべ、花弁、葉などの器官ごとに候補遺伝子の発現解析を行い、候補領域を絞った。候補遺伝子の塩基配列を複数のバラ品種、野生種で解読し、交配実験によって、S 遺伝子として機能しているかどうかを検証した。さらに、研究協力者が育成した雑種集団を使い、候補とした S 遺伝子と KSN 遺伝子との遺伝的距離（連鎖の強さ）を調べた。

4. 研究成果

- (1) 中国でのフィールド調査の成果として、希少種であるスポンタニアの大きな野生集団を四川省で一つ発見した。また、大きな集団ではないが孤立木をその他、複数地点で発見した。同じく、希少種でコウシンバラの起源に関与した可能性が指摘されている *Rosa odorata* var. *gigantea* (ギガンテア) についても、雲南省を中心に複数地点で野生個体を発見した。さらに、スポンタニアやギガンテアと同所的に分布している野生バラとして、*Rosa multiflora* var. *cathaensis* (カタエンシス)、*Rosa rubus* などその他 10 種あまりの野生バラについてもサンプルを採取した(図3)。

KSN 遺伝子の塩基配列を解析した結果、コウシンバラと最も近い塩基配列をもつ野生種はスポンタニアであった。スポンタニアは同種内にも比較的大きな遺伝的変異があり、四川省の四川省峨眉山付近で採取された個体が最もコウシンバラに近い塩基配列を持つことがわかった(KSN 遺伝子の前長 1052bp で完全に一致した)。したがって、コウシンバラの起源となった野生種の一つはこれまでの通説どおりスポンタニアであり、特に、峨眉山の近辺に分布している集団であると考えられた。しかし、峨眉山では 80 年代までスポンタニアの分布が確認されていたが、本調査時では個体を発見できなかった。峨眉山が保護地区になっていらい、ササなどの下草管理がされない場所が増え、明るい環境を好む野生バラが生息地を失っている可能性がある。希少な遺伝資源であることを考えると早急な保全対策が必要である。

コウシンバラのゲノムが解読された結果、コウシンバラはスポンタニアの純系ではなく、雑種起源であることが判明した。そこで、スポンタニアと同所的に分布していた野生種も含めて、Grasi-di 解析によりゲノム全域の塩基配列情報をランダムに取得し、コウシンバラのゲノムにマッピングする解析を行った。その結果、コウシンバラのゲノムの 80% は、スポンタニアの塩基配列と最も一致度が高かったが、残りの約 20% のゲノム領域においては、スポ

ンタニアよりもコウシンバラに近い塩基配列をもつ野生種がいることが判明した。したがって、コウシンバラは本野生種とスポンタニアの雑種起源であると考えられた。ただし、ゲノム領域の混合割合から、コウシンバラは雑種第一代ではなく、何度かスポンタニアに戻し交配されてきた品種であると考えられた。



図3. 中国四川省と雲南省で見られ野生バラと古い栽培品種の例

1-4. *Rosa chinensis* var. *spontanea* (四川省, 個体によって花色変異がある); 5. *Rosa chinensis* 'Old Blush'と思われる個体(四川省, 民家); 6. *Rosa chinensis* の1種で1季咲きの古い栽培品種(常州バラ園); 7-8. *Rosa odorata* var. *gigantea* (雲南省, 8 = 花色がピンクの個体); 9-11. *Rosa multiflora*の仲間(雲南省～四川省); 12. *Rosa rubus* (四川省)

- (2) 四季咲き性をもつ栽培品種の *KSN* 遺伝子を広い系統群で調査した結果、ある1品種の系統において、コウシンバラ由来の *ksr^{copia}* とは関連しない四季咲き性があることを発見した。この品種系統について、さらに *KSN* 遺伝子の解析を進めたところ、DNA型トランスポゾンが挿入された機能欠損型の変異をもつことがわかった。コウシンバラの *KSN* 遺伝子は、第2イントロンに *copia* 型のレトロトランスポゾンが挿入されているのに対し、このバラ品種では *KSN* 遺伝子の第3イントロンにDNA型トランスポゾンが挿入されていた。このDNA型トランスポゾンが挿入された *ksr^{DT}* 遺伝子は、品種の来歴と塩基配列の解析の結果、ノイバラ (*Rosa*

multiflora)に由来すると考えられた。したがって、*ksn^{DT}*を選抜する交配育種を行えば、コウシンバラとは遺伝的に大きく異なる四季咲き性品種が育成可能であると考えられた。また、この新しく同定された DNA 型トランスポゾンに転移活性を保持していると考えられるため、バラの分子遺伝学分野の逆遺伝学的研究ツールに応用できる可能性もある。

- (3) コウシンバラのゲノムを調べた結果、*KSN* 遺伝子が座乗する第 3 染色体に *S* 遺伝子の候補領域が見つかった。発現解析の結果から、雌しべ側因子である *S-RNase* 遺伝子は雌しべ特異的に発現しており、雄しべ側因子である *SFB* 遺伝子は雄しべ特異的に発現していることもわかった (図 4)。

次いで、この *S-RNase* 遺伝子の塩基配列をもとに、*S* 遺伝子型を分類し、交配実験を行った。コウシンバラは *S₇/S₂* 型であり、これを栽培品種 *TF* (*S₂/S₆*) に交配させて、種子をえて、種子の遺伝子型を調べたところ、*S₇/S₂* 型 20 種子、*S₇/S₆* 型 21 種子となり、予測どおりの結果が得られた。コウシンバラの *S₂* 花粉は *TF* の自家不和合性により受精できないため、*S₇* 花粉だけが受精した結果となったと考えられる。さらに、ノイバラでも、片方の *S* 遺伝子型を共有するペアで交配実験を 2018 年度と 2019 年度に実施し、合計 70 種子の遺伝子型を分析した結果、すべてにおいて仮説を支持する結果が得られた。これらの結果から、バラも他のバラ科果樹と同様に、配偶体型自家不和合性を持ち、その候補遺伝子として有力な遺伝子を特定したといえる。

この候補 *S* 遺伝子は、*KSN* 遺伝子と同じ染色体上に座乗しているため、遺伝的な連鎖の強さを交雑集団を使って測定した。研究協力者が育成した 97 個体からなる F1 雑種集団の DNA を使い、*KSN* 遺伝子型と *S* 遺伝子型の連鎖関係を調べたところ、97 個体中 19 個体 (約 20%) で組換えが起こっていた。ゲノム上の物理的距離においても両遺伝子は 10Mbp 以上離れており、研究開始時に予測していたほど密接な連鎖ではないことが判明した。実際、*TF* は *ksn^{copia}* をホモに持っているが、コウシンバラにはない *S₆* が *ksn^{copia}* に連鎖しており、交配の過程で比較的容易に *ksn^{copia}* に連鎖した *S* 遺伝子型の多様化が進んできたと考えられた。

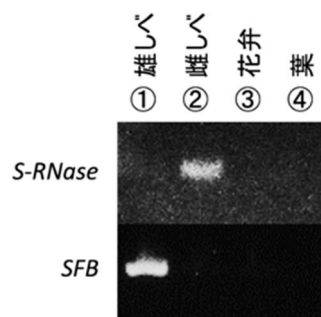


図4. 候補*S*遺伝子の器官特異的発現

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Hibrand Saint-Oyant L, Kawamura K (40名中32番目), et al	4. 巻 4
2. 論文標題 A high-quality genome sequence of <i>Rosa chinensis</i> to elucidate ornamental traits	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nature Plants	6. 最初と最後の頁 473-484
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41477-018-0166-1	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 該当する

1. 著者名 Nakamura N, Hirakawa H, Sato S, Otagaki S, Matsumoto S, Tabata S, Tanaka Y.	4. 巻 1232
2. 論文標題 Identification of the genes that regulate ornamental characters using the <i>Rosa multiflora</i> genome database.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Acta Horticulturae	6. 最初と最後の頁 111-118
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.17660/ActaHortic.2019.1232.18	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 N. Nakamura, H. Hirakawa, S. Sato, S. Otagaki, S. Matsumoto, S. Tabata, Y. Tanaka	4. 巻 25
2. 論文標題 Genome structure of <i>Rosa multiflora</i> , a wild ancestor of cultivated roses	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 DNA research	6. 最初と最後の頁 113-121
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/dnares/dsx042	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11件（うち招待講演 0件/うち国際学会 5件）

1. 発表者名 坂本亮介, 上田善弘, 玉麗, 河村耕史
2. 発表標題 栽培バラの野生起源を四季咲き性と八重花の原因遺伝子をもとに探る
3. 学会等名 日本生態学会第67回全国大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 坂本亮介, 上田善弘, 王麗, 河村耕史
2. 発表標題 栽培バラ四季咲き性の原因遺伝子KSN の遺伝的多様性解析
3. 学会等名 日本園芸学会平成30年度秋季大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 坂本亮介, 津川真輝, 落合正樹, 太田垣駿吾, 山田邦夫, 松本省吾, 河村耕史
2. 発表標題 ノイバラの自家不和合性を制御するSRNase 遺伝子の探索と配列解析
3. 学会等名 日本園芸学会平成31 年度春季大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中村 典子, 平川 英樹, 佐藤 修正, 太田垣 駿吾, 松本 省吾, 田畑 哲之, 田中 良和
2. 発表標題 栽培バラの祖先種であるノイバラ (<i>Rosa multiflora</i>) のドラフトゲノム
3. 学会等名 第35回日本植物細胞分子生物学会 (さいたま) 大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 長和宏, 落合正樹, 福井博一, 太田垣駿吾, 松本省吾
2. 発表標題 バラのトゲ形成に関わる遺伝子の探索と解析
3. 学会等名 平成29年度園芸学会東海支部大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Noriko Nakamura, Hideki Hirakawa, Shusei Sato, Shungo Otagaki, Shogo Matsumoto, Satoshi Tabata, Yoshikazu Tanaka
2. 発表標題 Genome structure of <i>Rosa multiflora</i> , an ancestral wild rose of cultivated roses
3. 学会等名 VII International Symposium on Rose Research and Cultivation (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Foucher F, Matsumoto S (63名中35番目), et al.
2. 発表標題 The rose genome sequencing initiative
3. 学会等名 VII International Symposium on Rose Research and Cultivation (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Soufflet-Freslon V, Kawamura K (14名中10番目), et al.
2. 発表標題 Control and selection of blooming seasonality in rose
3. 学会等名 VII International Symposium on Rose Research and Cultivation (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Koji Kawamura, Shungo Otagaki, Hibrand-Saint Oyant, Fabrice Foucher, Shogo Matsumoto
2. 発表標題 Isolation of Candidate Genes for Self-incompatibility in Rose
3. 学会等名 VII International Symposium on Rose Research and Cultivation (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Shungo Otagaki, Takeshi Nakao, Hibrand-Saint Oyant, Fabrice Foucher, Shogo Matsumoto, Koji Kawamura
2. 発表標題 Sequence and copy number variation of Ty1/copia retrotransposon RoRE1 in the rose genome
3. 学会等名 VII International Symposium on Rose Research and Cultivation (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 加藤大地・河村耕史・中尾壮志・松本省吾・白武勝裕・太田垣駿吾
2. 発表標題 バラゲノムにおけるTy1/copia 群レトロトランスポゾンRoRE1 のシーケンス解析およびコピー数測定
3. 学会等名 日本園芸学会 平成29年度秋季大会
4. 発表年 2017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	太田垣 駿吾 (OTAGAKI Shungo) (50597789)	名古屋大学・生命農学研究科・講師 (13901)	
研究分担者	松本 省吾 (MATSUMOTO Shogo) (90241489)	名古屋大学・生命農学研究科・教授 (13901)	
研究協力者	上田 善弘 (UEDA Yoshihiro)		

6. 研究組織 (つづき)

	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	王 麗 (WANG Li)		
研究協力者	フーシー ファブリース (FOUCHER Fabrice)		
研究協力者	ディベナー トーマス (DEBENER Thomas)		