

令和 3 年 6 月 21 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K05612

研究課題名(和文) 作物の花形質改良による送粉昆虫の行動制御と種子生産性の向上

研究課題名(英文) Study on improvement of flower characteristics for attracting pollinating insects and increasing seed yield

研究代表者

吉岡 洋輔 (YOSHIOKA, Yosuke)

筑波大学・生命環境系・准教授

研究者番号：50462528

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)：本課題ではアブラナ属作物においてこれまで育種の対象形質として認識されていなかった花形質の変異、特に人間の目には見えない紫外線反射率の多様性に注目し、行動生態学的実験により当該形質に対する送粉昆虫の選好性を評価した。また、セイヨウナタネ遺伝資源において、花弁の紫外線反射率には多様な変異(反射型、中間型、吸収型)が存在し、遺伝的支配の強い形質であることを明らかにした。さらに、分離集団の解析から花弁の紫外線反射率の遺伝様式を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アブラナ属作物のF1品種の種子生産における採種性の問題は育種業界において古くから重要課題であった。しかし、採種性に関わる課題として自家不和合性や細胞質雄性不稔等の生殖様式の研究が活発に進められてきた一方で、作物の花形質と送粉昆虫の選好性の関係を取りあげた研究は少なく、基礎的知見が著しく不足していた。本課題ではセイヨウナタネをモデルとして用い、送粉昆虫の選好性に関連する花形質の多様性や遺伝性等の知見を獲得した。また、作出した植物材料は今後、セイヨウナタネの採種圃場における花粉流動の実態解明や、送粉昆虫の行動を制御するための花形質の遺伝的改良を目指した研究・開発に有効に活用できると考えられる。

研究成果の概要(英文)：This study focused on variations in flower traits that were not previously recognized as target traits for breeding in Brassica crops, especially the diversity of ultraviolet (UV) reflectance that are invisible to the human eye but visible to pollinating insects. We conducted behavioral experiments on this trait and evaluated the preference of pollinating insect on it. In addition, we clarified that there is wide variation in the UV reflectance of petals (reflective type, intermediate type, absorptive type) in Brassica napus genetic resources, and that this trait may be genetically controlled. Furthermore, the mode of inheritance of the UV reflectance of petals was determined based on the analysis of segregating population.

研究分野：植物育種学

キーワード：種子生産性 アブラナ 送粉昆虫 選好性 遺伝解析 育種

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

私たち人類の健康と豊かな食生活に不可欠な野菜の多くは一代雑種(F1)品種を利用して生産されている。そのため、優れたF1品種の育成はもとより、F1品種の種子生産は野菜の生産と消費を支える極めて重要な基盤となっている。F1品種種子の生産方法はその作物の受粉様式等によって異なるが、アブラナ科等の多くの野菜類ではミツバチやマルハナバチ等による虫媒受粉で種子生産が行われている。しかし、近年では予期せぬ高温・低温、日照不足、長期の降雨などの異常気象が多発し、送粉昆虫が十分に活動できないことにより、F1品種の採種場では受粉不良による結実率の低下が頻繁に起こっている。また、野生のハチの減少や商業養蜂におけるミツバチの大量失踪(蜂群崩壊症候群)など、世界的規模で昆虫の送粉サービスが年々低下しており、種子生産をハチなどの送粉昆虫による受粉に依存することの脆弱性が顕在化している。昆虫の送粉サービス低下による種子生産性の低下は大きな経済的損失を伴うため、将来的には送粉昆虫に依存しない種子生産を実現することが理想であるが、植物の特性あるいは生産コストの点からそれが難しい作物も多く、採種場では大きな問題を抱えている。このような状況の中で、もし花形質を改良することにより送粉昆虫の誘引効果を高められる、あるいは送粉昆虫の訪花行動を人為的に制御できれば、送粉昆虫が減少する状況下でも種子の生産性を維持・向上させることができると考えられる。

F1品種の採種場において種子生産の減少を招く原因の一つとして、送粉昆虫の選好性による花粉流動の制限が挙げられる。送粉昆虫の選好性には遺伝的要因による先天的なものと、経験などを通じて学習した結果もたらされる後天的なものがあり、例えば、2つの異なる系統を植えた採種場において、送粉昆虫が片方の系統の花形質を好んで訪花する場合や、送粉昆虫が学習により報酬(蜜や花粉)の多い片方の系統の花ばかり訪花する場合には、2系統間の花粉流動が制限される。昆虫の送粉サービスがますます低下する中で、限られた送粉昆虫を有効に活用し、種子生産力を維持・向上させるためには、採種場における花粉流動の実態を理解し、有効な対策を講じる必要がある。

2. 研究の目的

採種場における花粉流動の実態を理解する上で、花形質の違いに対する送粉昆虫の識別能力の有無や、花形質に対する先天的あるいは後天的選好性の有無を明らかにすることが重要である。また、送粉昆虫の行動に影響を及ぼす花形質の遺伝性を明らかにし、効率的な遺伝的改良の方法を確立することが必要である。本研究の目的は、これまで育種の対象形質として認識されていなかった花形質の変異、特に人間の目には見えない紫外線反射率の多様性に注目し、行動生態学的実験により当該形質に対する送粉昆虫の選好性を明らかにするとともに、当該形質の多様性および遺伝性を明らかにすることである。

3. 研究の方法

(1) 送粉昆虫の選好性の評価

セイヨウナタネ(*Brassica napus*) 遺伝資源71系統と、対照として他のアブラナ属植物5種(*B. rapa*, *B. oleracea*, *B. carinata*, *B. juncea*, *B. nigra*)の遺伝資源12系統を供試した。各系統の個体から当日開花した花を無作為に5花採取し、紫外線撮影用レンズと紫外透過可視吸収フィルターを装着したデジタルカメラで撮影した。全ての花の紫外線撮影が終了した後に、画像に基づいて各系統の花の蜜標の明瞭さや花弁中央部の紫外線反射程度を評価した。また、無作為に選定したセイヨウナタネ20系統について、着花位置や生育ステージの異なる花の紫外線画像を取得し、画像解析により蜜標および花弁の紫外線反射率の変異を評価した。得られた評価値に基づいて、行動観察実験に供試する系統・個体および生育ステージを選定した。実験室内での行動観察実験では、選定した2系統の個体から採取した花房または花を用いて、学習無しと有りの場合のクロマルハナバチの選好性を調査した。

(2) 花形質(花弁の紫外線反射率)の遺伝性の解明

セイヨウナタネ遺伝資源の蜜標および花弁中央部の紫外線反射率の評価結果に基づいて、花の紫外線反射率が大きく異なるアサヒナタネ(反射型)とアブラマサリ(吸収型)を選定し、遺伝解析集団の両親系統として供試した。2019年にこれら系統間の交雑後代(F2世代)の種子を採種し、2020年に両親系統、正逆F1およびF2世代(168個体)を栽培し、(1)と同様の方法で紫外線画像を取得した。得られた画像について、画像解析ソフトを用いて紫外線反射率を定量的に評価した。また、F2世代の各個体の幼葉からDNAを採取し、ddRAD-seq(double-digest restriction site-associated DNA sequencing)法に基づいて各個体のジェノタイピングを行った。得られたSNPデータに基づいて連鎖地図を作成し、QTL解析を行った。さらに、紫外線反射率のゲノムワイド関連解析のための材料としてセイヨウナタネ遺伝資源を栽培し、自殖後代の種子を得るとともに、各個体の幼葉からDNAを採取し、ddRAD-seq法に基づいてジェノタイピングを行った。

4. 研究成果

(1) 送粉昆虫の選好性の評価

アブラナ属遺伝資源 6 種 83 系統には花弁の蜜標の明瞭さや花弁中央部における紫外線反射程度に多様な変異が認められた (図 1A)。蜜標の明瞭さを 2 分類 (明瞭, 不明瞭) で, 紫外線反射程度を 3 分類 (反射型, 吸収型とそれらの中間型) で評価した結果, セイヨウナタネでは約半数の系統が花弁に明瞭な蜜標をもち, 紫外線反射程度では 7 割以上の系統が中間型であった (図 1B, C)。セイヨウナタネ以外の 5 種では, 花弁の蜜標の明瞭さは *B. oleracea* を除く 4 種が明瞭に分類され, 花弁中央部の紫外線反射程度は全ての種が反射型に分類された。また, セイヨウナタネの同一個体内の着花位置や生育ステージの異なる花間には, 花の大きさや形状とともに, 花弁の蜜標および花弁の紫外線反射率に有意な差が認められた (図 2A, B)。ただし, その差は系統間差ほど大きなものではなかった。これらの結果から, 生花を用いた行動観察実験には明瞭な蜜標をもつアサヒナタネと, 花弁全体が紫外線を吸収する青森 1 号を供試した。その結果, 学習無しの場合は特定の系統の花に対する選好性を示さなかった。一方, 学習有りの場合では, クロマルハナバチは学習時に報酬を与えた系統に訪花する割合が学習無しの場合に比べて大きく増加したが, 統計的に有意な差は認められなかった。この結果は過去に人工花を用いた行動観察実験とは異なるため, 供試植物や学習方法等の実験手法を改良し再実験を行うことにより検証する必要がある。特に, 供試した 2 系統の花では紫外線反射率以外の形質 (大きさや香り等) が異なることから, 花弁の紫外線反射率のみが異なる準同質遺伝子系統の作出に着手し, 現在, 交配と選抜を進めている。

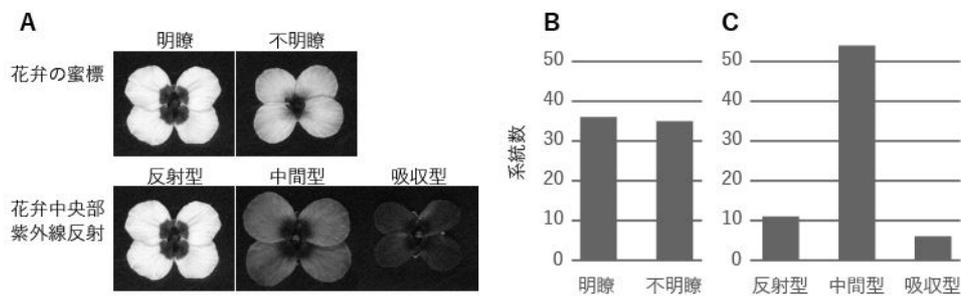


図 1. セイヨウナタネの蜜標の多様性. A: 花の蜜標の明瞭さと花弁中央部の紫外線反射程度の変異と分類, B: 花の蜜標の明瞭さ, C: 花弁中央部の紫外線反射程度

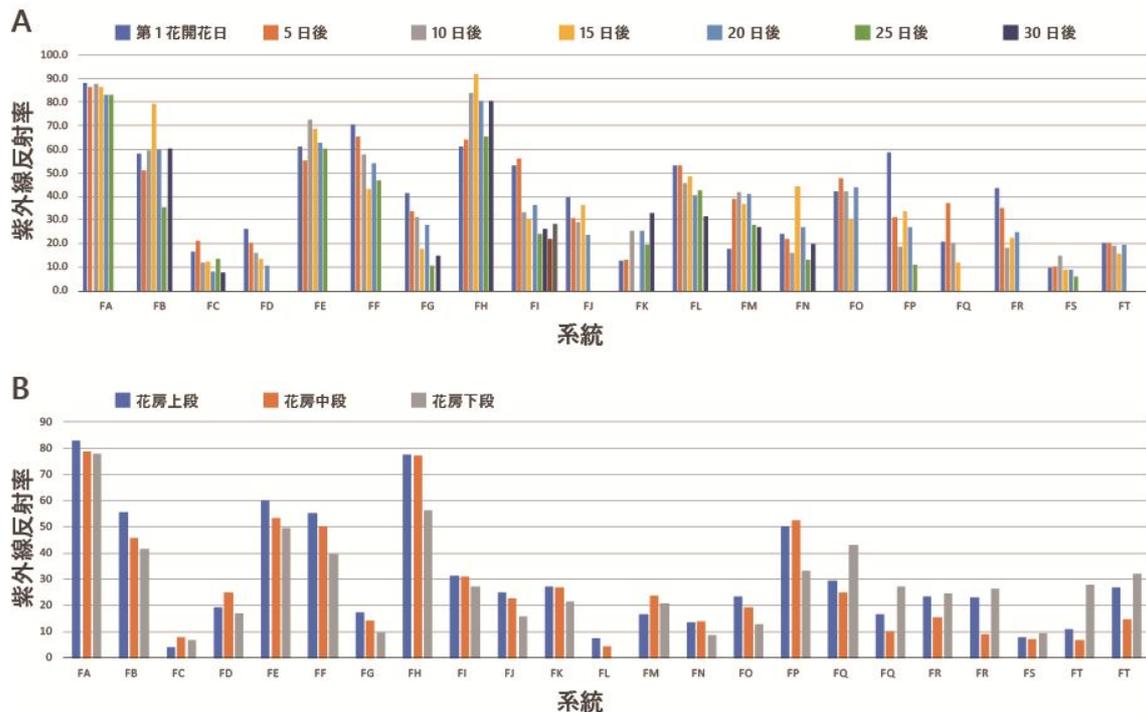


図 2. セイヨウナタネの生育ステージおよび花の老化と紫外線反射率の関係. A: 異なる生育ステージ (第 1 花開花後の日数) と花弁の紫外線反射率の変異, B: 同一花房内の着花位置による花弁の紫外線反射率の変異

(2) 花形質（花卉の紫外線反射率）の遺伝性の解明

アサヒナタネ（反射型）とアブラマサリ（吸収型）の正逆交雑によって得られた F1 世代は両親の中間型を示した。また、F2 世代は反射型、中間型および吸収型の 3 つのグループに明瞭に分かれたが、各グループで連続的な変異を示した(図 3)。F2 世代の ddRAD-seq 解析の結果、6,165 個の SNP が得られ、個体当たりのデータ取得率、マーカーあたりのデータ取得率、マーカーの分離比の歪み等によりフィルタリングを行い、最終的に 642 個の SNP を用いて全長 1,193cM の連鎖地図を構築した。なお、セイヨウナタネの染色体のうち、C ゲノム由来の SNP 数は A ゲノムに比べて極端に少なかった。これは、両親系統はともにわが国の育成品種であり、両親系統の来歴を反映しているものと考えられた。QTL 解析の結果、A ゲノムの第 6 連鎖群上に非常に高い LOD 値のピークが検出され、ピーク近傍の SNP マーカーと表現型には強い関連性が認められた(図 4)。

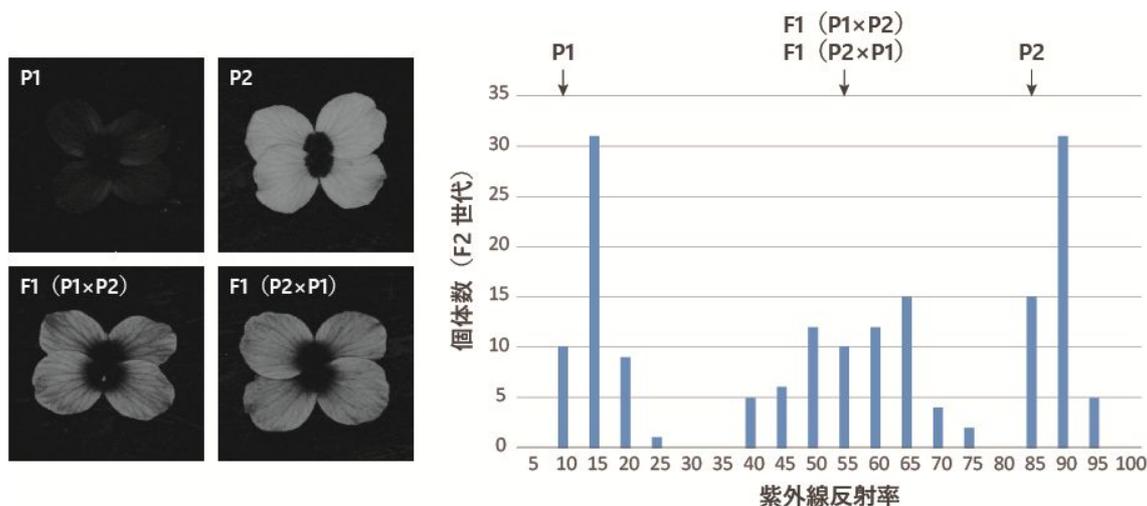


図 3. セイヨウナタネの両親系統および F1 の花の紫外線画像と F2 世代の分離

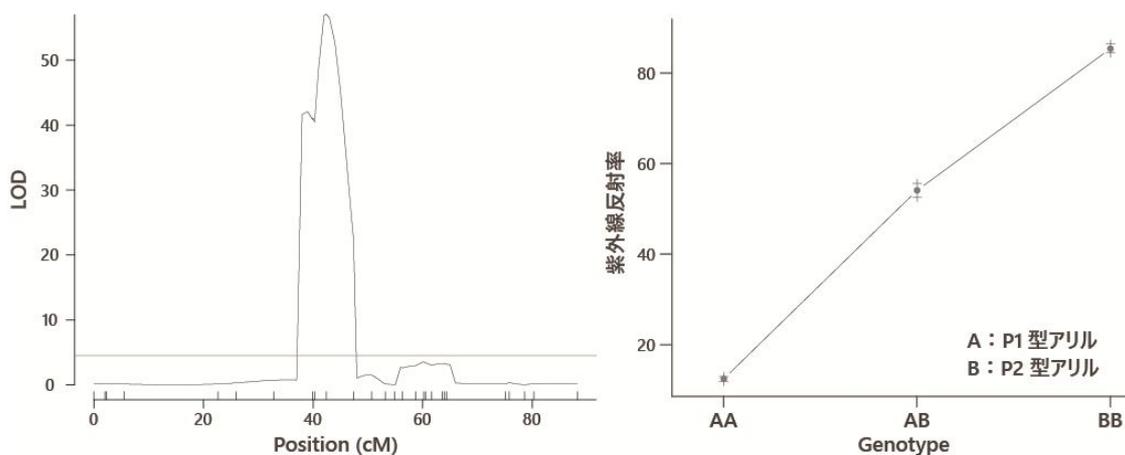


図 4 . QTL 解析の結果（左）と第 6 連鎖群の QTL 近傍マーカーと表現型との関連（右）

以上の結果から、セイヨウナタネの花の紫外線反射率には A ゲノムの第 6 染色体に座乗する主働遺伝子が関与しており、当該遺伝子の近傍マーカーで花の紫外線反射率の選抜が可能であることが示唆された。ただし、遺伝的固定が進んでいる遺伝資源にも、アサヒナタネとアブラマサリの F1 と同様の中間型を示す系統が数多くあることから、紫外線反射率に関連する別の遺伝子が存在する可能性がある。なお、遺伝解析については 2021 年に 2 回目の遺伝解析集団（両親系統、F1 及び F2 世代）の栽培を行っており、表現型評価とジェノタイピングの結果が得られ次第、QTL 解析を実施する予定である。また、ジェノタイピングデータが取得できた遺伝資源についても表現型データを取得し、ゲノムワイド関連解析を行い、2 回目の QTL 解析の結果と併せて、本研究で得られた結果を再検証する予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
研究協力者	松尾 宏樹 (MATSUO Hiroki)		
研究協力者	陳 ズイコン (CHEN Rui kun)		
研究協力者	磯部 祥子 (ISOBE Sachiko)		
研究協力者	白澤 健太 (SHIRASAWA Kenta)		

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