

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06042

研究課題名(和文)ダイコンの種子生産性向上：一莢粒数を制御する遺伝子領域の同定

研究課題名(英文) Improving seed productivity of Radish: Identification of gene regions controlling the number of seeds per silique

研究代表者

柿崎 智博 (Kakizaki, Tomohiro)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・野菜花き研究部門・上級研究員

研究者番号：30547229

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：ダイコンは我が国で古くから栽培されてきた歴史を持ち、年間摂取量の多い野菜の一つである。ダイコンは一つの莢から得られる種子数が他のアブラナ科植物と比べ非常に少ない。そのため種子生産コストの上昇を招く要因となっている。本研究では日本型ダイコンに比べて一莢あたりの種子数が多いサヤダイコンについて、一莢あたり種子数の遺伝解析を行った。サヤダイコンと日本型ダイコンとの交雑F2集団を使ったQTL解析を3カ年にわたり実施したが、サヤダイコンに由来するQTLは検出されなかった。一方でサヤダイコンに由来する早抽性QTLが検出され、ダイコン育種過程において世代期間の短縮などに利用できる可能性が見いだされた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

種子の収量性に関する研究は、種子を食用とするイネやダイズなどを材料として行われており、多くの知見が蓄積している。翻って葉や根などを食用とする多くの野菜類においては、種子収量性に関する知見はわずかである。しかしながら種子の生産コスト削減の面から、葉根菜類においても種子収量性向上に関する研究は重要である。本研究では一莢あたりの種子数が日本型ダイコンの約2倍であるサヤダイコンについてその遺伝性を理解するとともに、一莢種子数に關与する遺伝子領域の同定を試みた。

研究成果の概要(英文)：Daikon (*Raphanus sativus* L.) has a long history of cultivation in Japan and is one of the vegetables with the highest annual intake. Compared to other cruciferous plants, the number of seeds obtained from a single silique is very low. This is a reason for the high cost of seed production.

In this study, genetic analysis of the number of seeds per silique was conducted for Saya-daikon, which has a higher number of seeds per silique than Japanese radish. QTL analysis was conducted for two years using F2 populations of crosses between Saya-daikon and Japanese radish, but QTL derived from Saya-daikon could not be identified. On the other hand, an early-bolting QTL derived from Saya-daikon was detected and found to have the potential to be used for shortening the generation period in the daikon breeding process.

研究分野：植物育種学

キーワード：ダイコン 種子生産性 QTL解析 サヤダイコン

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

種子の収量性に関する研究は、種子を食用とするイネやダイズなどを材料として行われており、多くの知見が蓄積している。また油量用作物であるナタネにおいても種子の収量性は優先すべき育種目標とされている。翻って葉や根などを食用とする多くの野菜類においては、種子収量性に関する知見はわずかである。その一方で、種子生産の低コスト化が必要とされるアブラナ科の野菜育種においても種子収量性の向上が望まれている。

2. 研究の目的

ダイコンなどのアブラナ科野菜の品種開発過程においては、蓄受粉などにより自家不和合性を回避した自殖による純系の作出と、虫媒受粉による純系間での採種 (F_1 採種) が必要である。ダイコンは一莢から得られる種子数が他のアブラナ科植物に比して非常に少なく、品種開発現場において潜在的な問題となっている。

本申請ではインドヤタイなどで若莢が食用とされているサヤダイコンの一莢種子数 (多粒性) に着目し、その遺伝性の解明とそれを支配する染色体領域の同定を行う。具体的には、高密度連鎖地図に基づいた遺伝解析を実施することで候補領域の絞り込みを行うとともに、種子数に対する母性効果の確認、来歴の異なるサヤダイコン系統を用いた遺伝解析を並行して行うことにより、多粒性に関与する遺伝子座数の推定ならびにそれらの集積効果について検証する。

3. 研究の方法

(1) 母性効果の検証

Yang et al. (2017) によると、ナタネ (*Brassica napus* L.) の遺伝資源における一莢種子数には母性効果が大きく働いていることが示唆されている。このことは、 F_1 採種の際に一莢種子数を増加させる遺伝子を種子親 (のみ) に導入することにより一莢種子数の増加を達成することを意味する。これは親系統の開発計画上重要な知見であり、ダイコンにおいても同様の事象が確認されるかについて検証する必要がある。そこで、サヤダイコンと一莢種子数の少ない白首ダイコンの相互交配集団を作出し、ダイコンの一莢種子数に対する母性効果を確認する。

(2) 胚珠数と種子数の相関

分離集団の一莢種子数の評価には、大型のハウスが必要であることや交配環境の影響を受けることが想定されるため、より確実な一莢種子数の評価方法を確立する必要がある。そこで、開花直後の柱頭をサンプリングし、実体顕微鏡により未受精の胚珠数をカウントし、粒数との相関を検証することで、胚珠数が一莢種子数を代替できるか検討する。

(3) 一莢種子数を支配する遺伝子座の同定

本研究の遺伝解析には、応募者が作成したサヤダイコン SD93-50 および SD91-282 と日本型ダイコン固定系統 PL5 との F_2 分離集団を用いる。分離集団と親系統および F_1 個体を同一ハウスに定植し、ミツバチを用いた相互交配により得られる種子数を調査する。ダイコンは自家不和合性を有するため、分離集団と親系統のみでは S 遺伝子型の多様性が乏しくなり十分な種子を得られないことが予想される。そのため、異なる S 遺伝子の供給源として分離集団とは異なる S 遺伝子型の日本型ダイコンを同一ハウス内で栽培し、自家不和合性による種子数の低下を防止する。

4. 研究成果

(1) 母性効果の検証

3系統のサヤダイコンと PL5 の正逆交雑により得られた F_1 の胚珠数を調査した (図 1)。いずれの組合せにおいてもサヤダイコンの細胞質による種子数への母性効果は認められず、本形質は核ゲノムの影響を受ける形質であると考えられた。

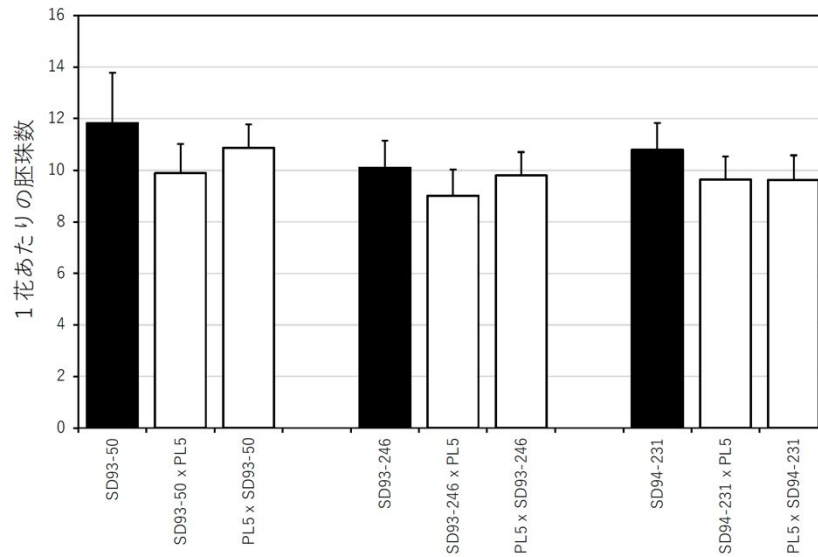


図1. 正逆交雑により得られたF₁個体の胚珠数
黒いバーはサヤダイコン系統を、白いバーはPL5とのF₁を示す。

(2) 胚珠数と種子数の相関

サヤダイコンとPL5のF₂分離集団における一莢あたりの胚珠数（開花直後）と、稔実した種子数の相関を図2に示した。両者の相関係数は0.61とやや高い相関が見られたが、胚珠数で稔実種子数を代替することは困難と考えられた。この原因としては、受粉後の胚発生から登熟までの間に生じた障害により、すべての胚珠が種子とならないこと、またその割合は個体により変動することが考えられた。

また、ハウス内の定植位置による種子数への影響は見られなかった。

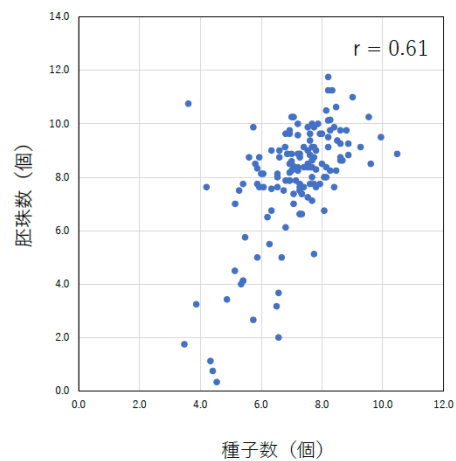


図2. F₂集団における一莢あたりの胚珠数と種子数の相関

(3) 一莢種子数を支配する遺伝子座の同定

QTL解析により一莢種子数に關する染色体領域を同定するため、一莢種子数の多いサヤダイコン系統SD91-282と、一莢種子数の少ない固定系統PL5のF₂分離集団(144個体)を育成した。分離集団と親系統およびF₁個体をハウスに定植しミツバチによる相互交配により得られる一莢種子数を調査した。その他の関連形質として開花到達日数、総種子数、総種子重、千粒重、莢長を調査した。

遺伝子型の取得はddRAD-seq法(Shirasawa et al. 2016)を用いた。各個体のゲノムDNAを制限酵素MspIとPstIで断片化した後、個体を識別するIndex配列を付加した。F₂分離集団144個体、F₁個体および両親のライブラリーを混合し、HiSeqXによる配列取得を行った。得られた配列データはIndex配列ごとに整理した後、FaQC、BWA-MEM、samtools等の各種解析プログラムにより、多型データへと変換した。BWA-MEMに用いたリファレンス配列はかずさDNA研究所より公開されている桜島大根のドラフトゲノム配列を用いた。最終的に信頼度の高い1,491マーカーを用いて連鎖地図を作成し、QTL解析に使用した。QTL解析にはR/qtIを用い、Haley-Knott回帰に基づく複合インターバルマッピングを行った(5%水準、permutation test 1000回)。

図3に形質調査を実施した6つの種子関連形質間の相関を示す。サヤダイコンSD91-282の一莢種子数は10.0個であり、固定系統PL5(同4.4個)の約2倍であった。F₁の一莢種子数は両親の中間(同7.9個)であった。F₂集団の一莢種子数は連続的に分離し、サヤダイコンと同程度の個体も含まれていた。一莢種子数と総種子数はやや弱い正の相関を示したことから、一莢種子数を増加させることで、種子収量を向上できることが示唆された。

ddRAD-seqにより得られた1,491マーカーから構成される連鎖地図を使ったQTL解析を行ったが、サヤダイコン由来の一莢種子数を増加させるQTLは得られなかった。一方で、定植後の開花到達日数に關するQTLは第2連鎖群と第7連鎖群に検出され、いずれもサヤダイ

コンの対立遺伝子が開花日数を早める効果を有していた。サヤダイコンは開花に低温を必要とせず、世代期間が短い。そのため QTL はダイコン育種において世代期間の短縮に役立つかもしれない。以上の結果は SD91-282 を使った 2 カ年の QTL 解析で共通していた。また、由来の異なるサヤダイコン系統 SD93-50 を片親とした場合においても同様であった。

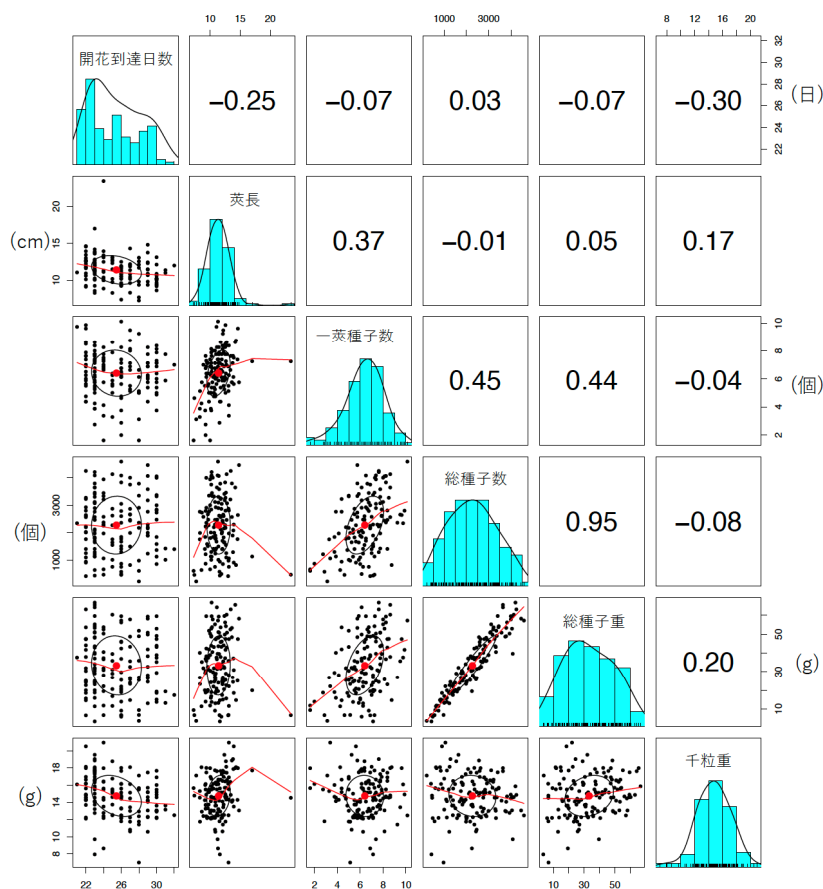


図 3. F₂分離集団における各形質間の相関

左上から右下にかけてのヒストグラムは各形質の分布を示す。

左下半分には交差する 2 形質間の散布図を、右上半分にはその相関係数 (r) を示す。

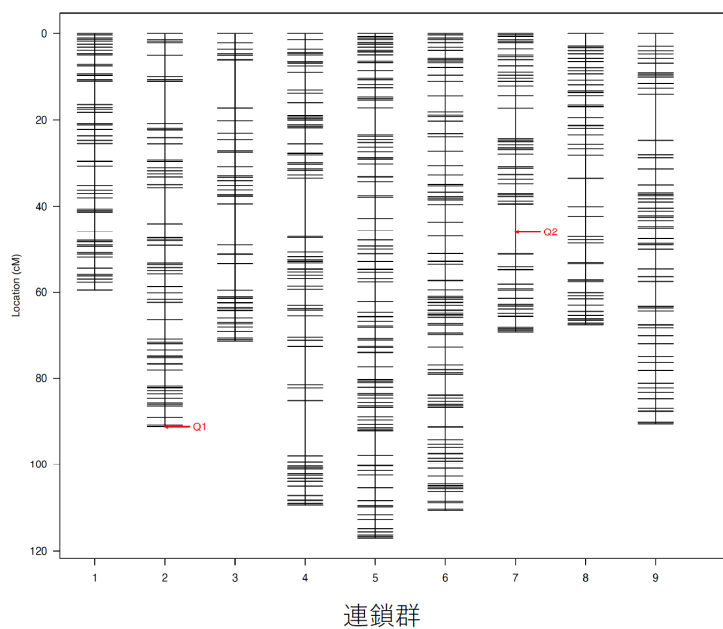


図 4. ddRAD-Seq により構築された連鎖地図と開花 QTL の位置 (Q1、Q2)。

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

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