

令和 5 年 6 月 5 日現在

機関番号：12201

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20H02975

研究課題名（和文）大果系イチゴの果実はなぜ大きいのか？

研究課題名（英文）Identification of genes controlling the fruit size of strawberry

研究代表者

黒倉 健（Kurokura, Takeshi）

宇都宮大学・農学部・講師

研究者番号：10650898

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,500,000円

研究成果の概要（和文）：近年のイチゴ育種はより大きな果実を目標に行われているが、それをもたらす遺伝的背景については考慮されていない。本研究では古典的品種を含む国内の品種を用い、複数個所での栽培（形質評価）とゲノム情報の取得を行い、果実重を決定する器官的要因および遺伝的要因の解明を試みた。本研究により、国内の52品種について多型情報が整備されたほか、主要な16品種についてはより高精度なゲノム情報が整備された。また、果実重と相関が高い形質が特定されたほか、果実重およびこれらの形質と相関が高い遺伝的多型の存在が明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により国内のイチゴ品種のゲノム情報が整備された。この情報は公開情報とする予定であるため、今後のイチゴ育種においてマーカー開発に利用することが可能となる。また、育種の系譜が明らかな品種群に対して高精度なゲノム情報も整備されたため、イチゴのみならず他の高次倍数性作物においても染色体の挙動を解明する基盤となった。

研究成果の概要（英文）：Recent strawberry breeding programs aim for big fruits size, while the genetic backgrounds for the trait have been paid less attention. In this study, trait evaluation and genetic variant analysis were performed to clarify traits and genetic factors linked to fruit size. Genetic variant information of 52 domestic varieties was obtained, and 16 were further analyzed with HiFi read. Traits and SNP linked with fruit size were identified.

研究分野：園芸学

キーワード：GWAS 量的形質 ゲノム

## 1. 研究開始当初の背景

近年のイチゴ育種は消費者の嗜好に合わせて「より大きく」、生産者のために「大きくて収穫しやすく、価格の高い」品種、すなわち大果系品種の開発を目指して育種プログラムが生まれ、品種として登録され高値で取引されている。しかし、イチゴ果実を大きくする遺伝子の実体は明らかでなく、また栽培的にイチゴ果実を大きくする手法も試みられているものの、果実の大きさは環境変動などの影響を受けることもあり、その効果は判然としないことが多い。すなわち従来品種と比較してなぜ大果系品種ではイチゴ果実が大きくなるのか、どうすれば大きな果実を作出できるのかは不明である。

栽培作物は通常、起源野生種よりも利用部位が大型化する。このような栽培化症候群をもたらす遺伝子の研究は穀類やトマトで進んでおり、これらの作物では極少数の遺伝子が劇的に果実サイズを変えているとされる。トマトでは子室数（心皮数）を制御する *lc/fas* 遺伝子の変異が子実・果実の大型化の原因であることが明らかにされている[Chu et al., 2019]。

栽培種イチゴ(*Fragaria* × *ananassa* Duch.)は300年ほど前に *F. chiloensis* と *F. virginiana* の交配によって生じた。片親の *F. chiloensis* は南米で1000年前には栽培化されていたといわれ、その歴史のなかで栽培化にともなう果実の大型化が生じ、近年の育種によってさらに大型化が進んだと考えられる。ただ、栽培化の過程で上記の作物のように劇的に果実サイズが大型化する変異を獲得したのかは不明である。Webb et al. (1974)は、果実表面の瘦果の数・果実表面積と果実重の間に相関を見出したが、関係式に含まれる定数は品種ごとに異なると報告している。なお、この定数がどのような要因により品種ごとに異なるのかは不明である。作物学においては収量に影響を与える要素に分解し理解しようとする試みが行われている。本研究の対象であるイチゴにおいては前述の例のほか葉面積や（花房間）葉数などが果実の大きさに影響を与える要素の候補として挙げられているが、これらの要素の効果は判然としていない。

自然選択により無作為な選抜が行われる野生植物と異なり、栽培作物に対しては常に人為選抜が行われる。人為選抜では「選択の結果に引きずられた」目的以外の形質も選抜される。そこで本研究課題では、①少数遺伝子による直接的な効果としてイチゴ果実が大型化するのではなく、②原因遺伝子は複数の形質に影響しており、それらの相加効果として果実が大型化するのではないかと考えた。

## 2. 研究の目的

イチゴ品種ごとに異なっている果実の大きさの違いを成り立たせている形態的・遺伝的要因の解明を目的とする。なお、本研究においては、果実の大きさは重量によって定義する。

具体的には、国内イチゴ品種コレクションを構築し①果実の大きさに関与する栽培形質、② Multi-trait GWAS と家系解析によるそれらの形質を支配している遺伝子座・遺伝子の同定、により果実形成にかかわる因子の解明と、育種基盤の整備をめざす。また、これまで圃場における形質評価を必要とする解析の場合、環境による形質への影響を排除するため、おおむね3シーズン程度の栽培が必要とされてきた。本研究においては栄養繁殖が可能なイチゴの特性を生かし、遺伝的に同一な植物体を用いて気候条件の異なる複数の圃場での形質評価を同時に行うことで品種内の誤差を排除しつつ、データ収集に必要な栽培シーズン数の削減が可能であることを示す。

## 3. 研究の方法

### (1) イチゴ品種コレクションの構築と多型情報の収集

本研究においては、日本各地の公設試験場等から提供を受けた品種からなるイチゴ品種コレクションを新たに構築した。なお、品種の提供を受ける際にそれぞれの育成者が持つ平均果実重と、育種系譜に関する情報を入手し、情報を基に品種コレクション全体を含む「家系図」を作成し、Multi-trait GWAS の解析に組み入れたほか、コアとなる品種については PacBio Sequel II による HiFi リードを取得し、構造変異を含めた詳細な多型情報収集のための基盤構築をした。

### (2) イチゴ品種コレクションの形質評価

(1)で構築した品種コレクションのクローン苗を研究分担者に分配し、1品種3~5反復規模で初年度と次年度の2シーズンにわたりそれぞれの圃場の慣行栽培（施肥量、気温、日照量、灌水量等の条件は記録する）で形質評価を行った。得られた結果は(3)で用いた。

評価する形質は果実重、果実の位置、果実表面積、花房間葉数、花房あたり果実数、葉面積、瘦果の数で、第3花房までの測定を行った。

(3) Multi-trait GWAS, 家系解析および遺伝子発現解析による大果構成要因の解明

(1)および(2)で得られた多型情報と形質情報を用い、研究代表と研究分担者が共同でGWASを行った。GWASは単年ごとのデータおよび複数年をまとめたデータについてそれぞれ行った。形質についても、個別の形質を独立にGWASを行う従来の方法のほか、全ての形質を用いたPCAによりグルーピングしてGWASを行う手法を適用した。これらのGWASにより、それぞれの形質を支配するゲノム領域を明らかにし、果実重に関するGWASの情報と重ね合わせることで大果家系品種を成り立たせている形質と、そのQTLもしくは原因遺伝子の候補を明らかにした。

4. 研究成果

(1) イチゴ品種コレクションの構築と多型情報の収集

日本各地の公設試験場等から提供を受けた品種およびこれらの品種の基となった古典的品種の計52品種からなるイチゴ品種コレクション(図1)を新たに構築し、全品種について次世代シーケンサ(ショートリード)によってリシーケンシングを行った。

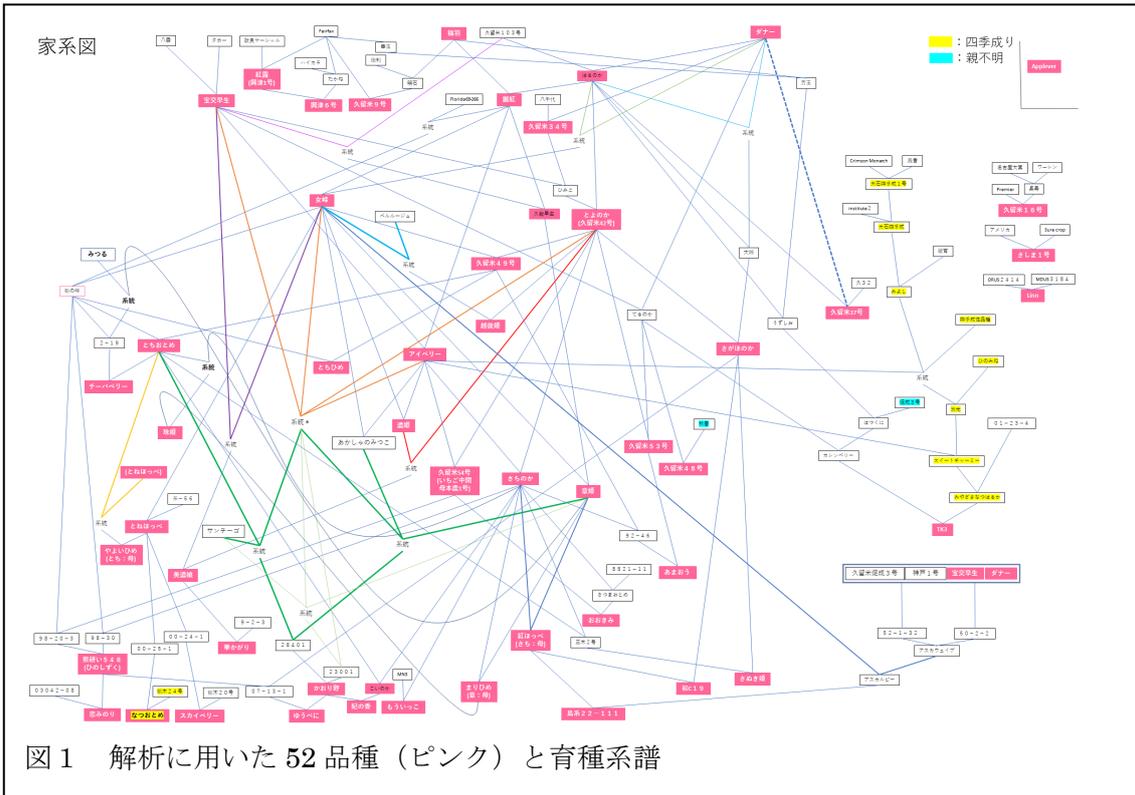


図1 解析に用いた52品種(ピンク)と育種系譜

また、これらの52品種のコアとなった16品種を選定し、PacBio Sequel IIによるHiFiリードの取得とアセンブルを行った。アセンブルされたHiFiリードを参照配列(FAN r2.3)をバックボーンに整理し品種ごとに比較したところ、SVのような大幅な変異は検出されなかったが、一方でアセンブルの信頼性や、参照配列をバックボーンとして整理する戦略の妥当性について今後検証すべきであることが示唆された(図2)。

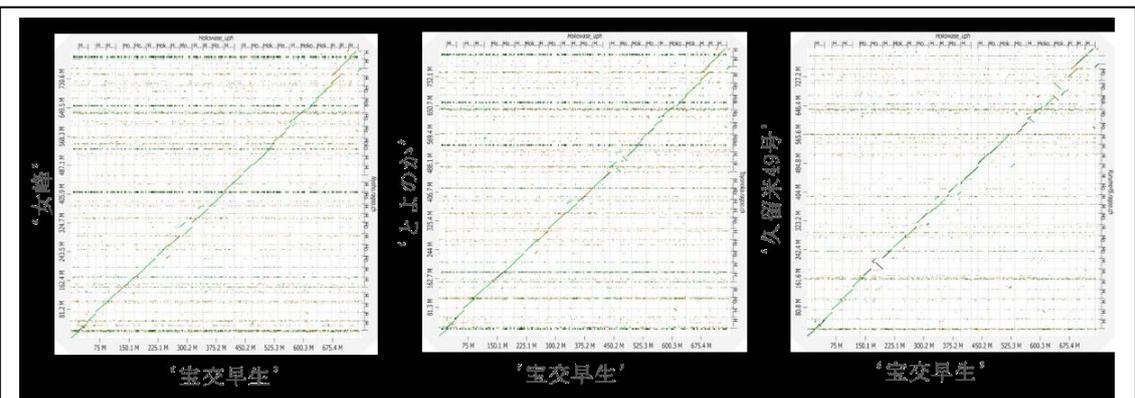


図2 異なるアセンブル戦略により構成されたコンティグの比較

(2) イチゴ品種コレクションの形質評価

平均果実重について、古典的な品種と比較して近年の品種では向上していることが再確認された (図 3)。

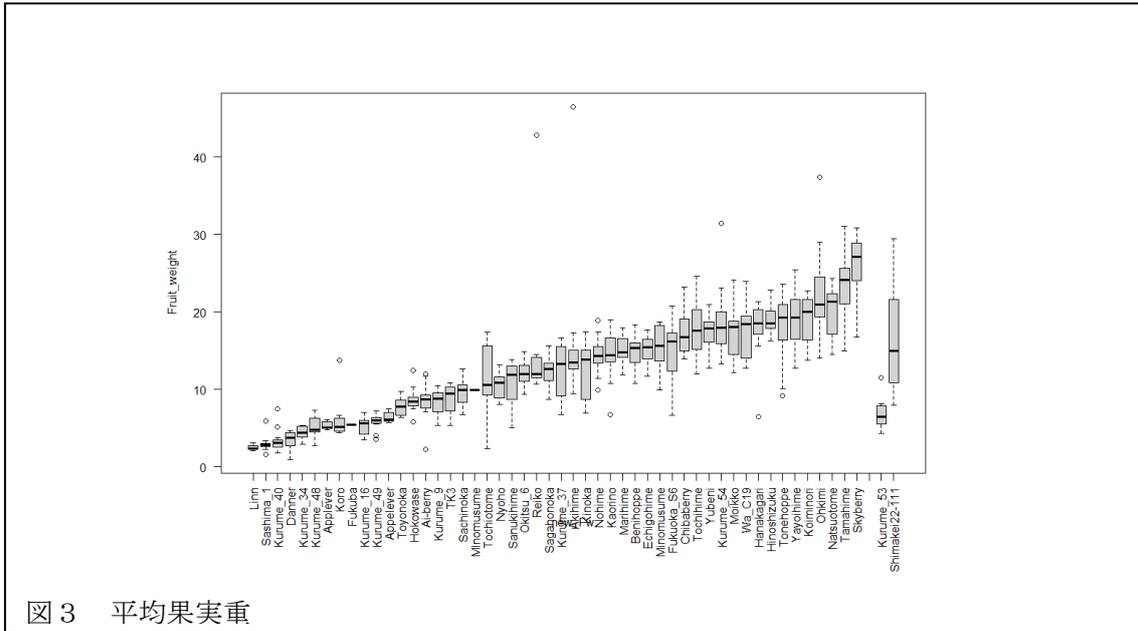


図 3 平均果実重

測定した各形質について平均果実重との相関係数を求めたが、最も高い相関がみられたのは展開第3葉の葉面積であり、花房間葉数には相関が認められなかったことから、品種改良の過程で葉面積が向上したことが果実重量の向上に貢献していることが示唆された。

(3) Multi-trait GWAS, 家系解析および遺伝子発現解析による大果構成要因の解明

平均果実重について GWAS を行ったところ、関連が高い SNP が複数検出された (図 4)。

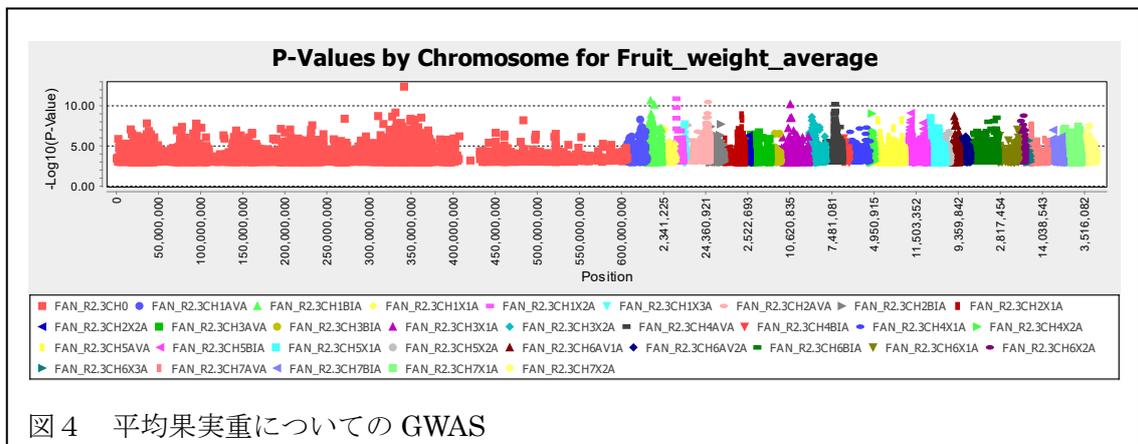


図 4 平均果実重についての GWAS

一方で、総収量の GWAS では一部同じ SNP が検出されたことから、各形質間の相関は遺伝的にも相関があることが示唆された。

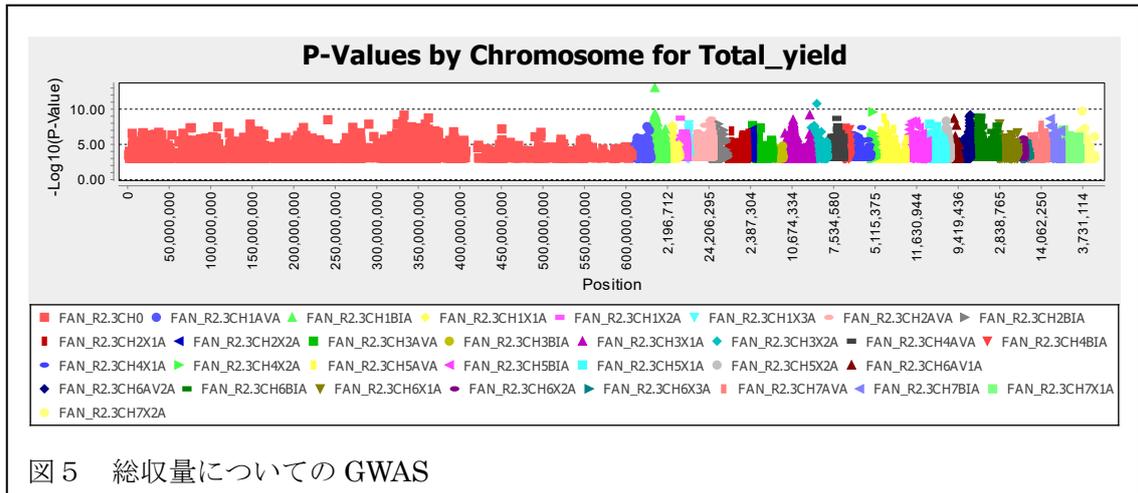


図 5 総収量についての GWAS

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 S. Isobe
2. 発表標題 Toward Pan-Genome of Strawberry
3. 学会等名 Asia-Pacific Agrobiological Genome Symposium (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Sachiko Isobe, Kenta Shirasawa, Hideki Hirakawa, Megumi Hamano, Katsutoshi Ryu, Ken Kurokura
2. 発表標題 Pan genome of strawberry varieties in Japan
3. 学会等名 31st International Horticultural Congress (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 龍勝利, 森山貴仁, 石橋正文, 濱野恵, 磯部祥子, 黒倉健
2. 発表標題 イチゴの収量性と乾物生産量の関係解析
3. 学会等名 園芸学会令和5年度春季大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 磯部祥子, 白澤健太, 平川英樹, 濱野恵, 龍勝利, 黒倉健
2. 発表標題 日本品種のイチゴのパンゲノム解析
3. 学会等名 園芸学会令和5年度春季大会
4. 発表年 2023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	龍 勝利  (Ryu Katsutoshi)  (00502478)	福岡県農林業総合試験場・筑後分場・研究員   (87110)	
研究 分担者	磯部 祥子  (Isobe Sachiko)  (20343973)	公益財団法人かずさDNA研究所・先端研究開発部・室長   (82508)	
研究 分担者	濱野 恵  (Hamano Megumi)  (20701105)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・東北農業研究センター・上級研究員   (82111)	

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