

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 14 日現在

機関番号：12601  
研究種目：若手研究(B)  
研究期間：2011～2013  
課題番号：23780023  
研究課題名(和文)ゲノム情報を利用したレタスの抽台制御機構の解明

研究課題名(英文)Genetic regulation of bolting time in lettuce

## 研究代表者

李 温裕 (LEE, ONEW)

東京大学・農学生命科学研究科・助教

研究者番号：10447360

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円、(間接経費) 990,000円

研究成果の概要(和文)：レタスは花成が誘導されたのち茎が著しく伸長する抽だいに至る。本研究では抽だいを制御する遺伝子座の検出を目的にQTL解析を行った。レタスの栽培種‘チマサンチュー’(早抽性)と‘レッドファイヤー’(晩抽性)の組換え近交系F5集団126系統を栽培した。抽だい、開花および種子形成までの播種後日数を計測した。両親についてRAD(Restriction Site Associated DNA)シーケンスを行い、連鎖地図を作製した。QTL解析の結果、抽だいまでの日数のQTLは、第1および第16連鎖群付近で検出された。今後は、より精細な連鎖地図を作製し、QTL解析を行うことを予定している。

研究成果の概要(英文)：Lettuce (*Lactuca sativa*) plants elongate their flower stalks (bolting) when grown under high temperature and long day-length. Here we conducted QTL analysis to know the genetic control of bolting time in lettuce. We used a F5 population developed from two lettuce cultivars Chimasanchu (early bolting type) and Redfire (late bolting type) to measure days to bolting, flowering and seed formation. We developed SNPs markers using RAD-tag sequence and constructed a linkage map. Composite interval mapping detected 2 QTLs for bolting on linkage group 1 and 16. The presence of Redfire in the detected QTL on linkage group 16 accounted for 58% of phenotypic variation. Further study is needed to increase number of markers on linkage map to perform more precise QTL analysis.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：園芸学・造園学

キーワード：レタス 抽だい QTL解析 RAD シーケンス 連鎖地図

### 1. 研究開始当初の背景

高温条件下におけるレタス栽培では早期抽台や結球異常が発生し、生産上問題となっている。抽台性は量的形質であり、遺伝子型と環境条件の交互作用によって決まるために解析が困難であった。本研究では、レタスの組換え近交系集団を育成し、EST マーカー及び SNP 検出法により高密度連鎖地図を作成、QTL 解析法により抽台性を制御するゲノム領域を検出するとともに、遺伝子型 × 環境交互作用を調べ、抽台の原因遺伝子座を同定する。また、検出された QTL に強く連鎖するマーカーを見出すことで、晩抽性レタスの選抜に有用なマーカー開発を目指す。

### 2. 研究の目的

レタス (*Lactuca sativa* L.) は植物体の形から完全結球、半結球、コス、リーフ、ステムタイプの 5 つの種類に分けられる。また、レタスは同じ結球野菜のキャベツ、ハクサイに比べ、結球性が不安定な性質を持っているとされる。申請者は葉形の変化や葉の立ち上がり角が球の結球程度を決める重要な要因の一つであると考え、球形に関する QTL を探索してきた(平成 20 - 21 年年度若手研究(B))。調査の結果、葉の立ち上がり角度は葉長、葉幅、中肋幅、葉形比と高い相関関係を示した。また、QTL 解析の結果、これらの QTL は第 1 染色体上にクラスターを形成して検出され、LK0243 マーカーに強く連鎖していることが分かった。

抽台が早いかどうかは花芽形成が早いかどうかということに加えて結球速度の早晩にも支配される(野菜園芸大百科)。一般

に不結球型のレタスは早抽性で、結球型のレタスは晩抽性を示す。同じ結球型のレタスでも外葉が内側へ巻かれて内葉が完全に閉じ込められる完全結球タイプ(crisphead type)は、内葉が緩く緊まった形の半結球タイプ(butterhead type)より晩抽性を示すとされる。これらのことから葉形の変化、結球程度、抽台性は同一遺伝子座の多面発現によって制御されている可能性が示唆される。また、遺伝子型 × 環境交互作用を調べることにより、結球程度及び抽台性が環境の影響を同じように受けるのか、どうかを明らかにできる。

### 3. 研究の方法

抽台性の異なる 2 種のレタス栽培種を交配し、組換え近交系集団を育成する。F<sub>4</sub> 集団から DNA を抽出し、EST マーカー及び 1 塩基多型(SNP)検出法で多型解析を用い、高密度連鎖地図を作成する。F<sub>5</sub> 集団を複数の環境条件下で栽培し、検出された QTL に強く連鎖するマーカーを見出すことで、晩抽性レタスの選抜に有用なマーカー開発を目指す。また、連鎖している EST マーカーのゲノム情報から QTL の原因になっている遺伝子を推定する。

材料として、レタスの栽培種‘チマサンチュ’ (茎レタス、早抽性)と‘レッドファイヤー’ (リーフレタス、晩抽性)の組換え近交系、F<sub>5</sub> 集団 126 系統を各 5 個体ずつ栽培し、抽だい、開花および種子形成までの播種後日数、茎長、葉数および花序の節数を計測した。抽だいの開始時期は解剖せずに決定することができなかったため、今回はレタス株の上方より花蕾を目視できた時

を抽だい開始時とした

#### 4. 研究成果

両親について RAD (Restriction Site Associated DNA) シーケンスを行ない、両親がそれぞれホモ接合型で持ち、親間で多型の見られる RAD マーカー 44,683 個を得た。1 箇所の SNP をもつ RAD マーカーのなかから High Resolution Melting (高解像度融解曲線) 解析に適した 174 個のマーカーを選んでプライマーを設計し、HRM により親品種間で SNP 多型の検出が可能かを判別した。その結果、42 個のマーカーにおいて多型を検出できた。

42 個の RAD マーカーと、既に報告されている EST マーカー 34 個、および SSR マーカー 10 個の合計 86 個のマーカーの多型結果をもとに、R の qtl パッケージを用いて連鎖地図を作製した。その結果、86 個中 81 個のマーカーが連鎖群を形成した。得られた連鎖地図は全長 902.5cM、マーカー間の平均距離 13.9cM、連鎖群数 16 個であった。連鎖群は、位置するマーカー数の多い順に 1 から 16 までの番号を割り振った。すでに報告されているマーカーのレタス染色体上の位置情報から、第 1 から第 9 染色体に、それぞれ 3、2、1、2、1、0、2、1、1 個の連鎖群が対応すると推定された。残りの 3 つの連鎖群については、いずれの染色体とも当てはまらなかった。

次に、各形質について R の qtl パッケージを用いて、CIM 法による QTL 解析を行った。その結果、抽だいまでの日数の QTL は、第 1 連鎖群のマーカー SNP6343 付近、および第 16 連鎖群のマーカー LK1425 付近の計 2 か所で検出された。第 1 連鎖群に位置する QTL は 'レッドファイヤー' の対立遺伝子が、第 16 連鎖群に位置する QTL は 'チマサンチャー' の対立遺伝子が、日数を増加する方向にはたらいていた。また、播種から

開花までの日数、茎長および葉数についても LK1425 付近に QTL が検出され、'チマサンチャー' の対立遺伝子が日数、茎長および葉数を増加する方向ではたらいていた。一方で、種子形成までの日数および花序の節数を制御する QTL は検出されなかった。

今回の解析により、両親どちらの遺伝子型にも抽だいを遅らせる QTL が存在することが示唆された。また、第 16 連鎖群に位置するマーカー LK1425 の近辺に抽だい、開花および種子形成期までの日数、茎長、葉数に関する QTL がクラスターを形成して存在している可能性があった。今後は、より詳細な連鎖地図を作製し、QTL 解析を行うことを予定している。

#### 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 0 件)

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 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 0 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

李 温裕（LEE ONEW）  
東京大学・大学院農学生命科学研究科・助教  
研究者番号：10447360

### (2)研究分担者

（ ）

研究者番号：

### (3)連携研究者

（ ）

研究者番号：