

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 4 日現在

機関番号：14101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25660024

研究課題名(和文) 種子繁殖型イチゴ育種に向けた種子発芽制御因子のマッピングとマーカー開発

研究課題名(英文) Mapping and marker development of genetic factors controlling seed germination toward seed-propagating strawberry breeding

研究代表者

掛田 克行(KAKEDA, Katsuyuki)

三重大学・生物資源学研究科・教授

研究者番号：50221867

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：種子繁殖型イチゴ品種の実用化には、種子発芽率の高さや安定性、発芽揃いが重要であるが、このようなイチゴの種子発芽特性に関する遺伝的な研究は進んでいない。本研究では、イチゴの種子発芽に関する遺伝要因の解明を目的として、自殖分離集団を用いた種子発芽諸形質の分離パターンの解析ならびにQTL(量的形質遺伝子座)解析を行った。その結果、イチゴの種子発芽形質は複数遺伝子座が関与する量的形質であること、またいくつかの種子発芽指標(2～5wk発芽率、発芽所要日数、GR1等)に共通して連鎖群7A上に有意なQTLが存在することが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：Practical use of seed-propagating strawberry cultivars needs a high seed germination percentage, as well as stable and uniform seed germination. However, seed germination in strawberry has not been genetically studied in detail. The aim of this study is identifying genetic factors involved in seed germination by segregation analyses and QTL mapping using segregating S1 population in strawberry. The results indicated that the seed germination traits in strawberry were controlled by several quantitative trait loci, and that a significant and large-effect QTL was detected on the linkage group 7A for several seed germination indexes.

研究分野：植物遺伝育種学

キーワード：種子繁殖型イチゴ 発芽 QTL

1. 研究開始当初の背景

イチゴは消費者から高い人気を博し、生産農家に高い収益性が期待できるため、日本では世界最高レベルの優れたブランド品種が数多く産出されてきた。一方、既存の優良品種を超える新品種の開発は、従来の育種法では限界に達しているとも言われ、革新的な品種育成技術が求められている。こうした要求に対して、種子繁殖型イチゴ品種の開発・普及が画期的な解決策になると期待されている。種子繁殖型品種は、従来の栄養繁殖性品種に対して、増殖用の親株なしで育苗でき、病害虫の伝染を遮断できること、また任意の時期から栽培を開始でき、ランナー増殖の周年管理作業を省力化できることが大きな利点である。これらの点から、種子繁殖型品種は病害虫防除から種苗供給や栽培体系に至る広範な技術革新をもたらすことが期待される。これまでに種子繁殖型のイチゴ品種として、最初にオランダにおいて四季成り性の品種「エラン」が開発され、日本でも昨年(2011)千葉県農試育成の「千葉 F-1 号」が品種登録された。しかし、これらは生産性・品質面で、従来の栄養繁殖性品種に匹敵するレベルには到達しておらず、実用的な種子繁殖型イチゴ品種の開発・普及にはまだ多くの課題がある。

2. 研究の目的

イチゴの種子繁殖型品種は、病害虫防除から種苗供給や栽培体系に至る広範な技術革新をもたらすことが期待される。種子繁殖型品種には、第一に、高い種子発芽率と安定した発芽揃いが求められる。一方、イチゴの種子発芽に関する研究は、栄養繁殖作物のためほとんど進んでいない。このような観点から、本研究は、イチゴの種子発芽を制御する遺伝因子を同定し、種子繁殖型品種の育種に有用な DNA マーカーを開発することを目的とする。このため、種子発芽率の異なる分離集団を用いた発芽関連遺伝子座の QTL マッピングを試みる。栽培イチゴは 8 倍体であり、従来 DNA マーカーや連鎖地図の情報が限られていた。対して本研究では、詳細なマーカー連鎖地図情報が整備された分離集団を用いることで、イチゴの QTL 解析の先導的成果が期待できる。

3. 研究の方法

(1) 種子発芽影響要因の調査と自殖種子の獲得

イチゴ種子の発芽率は、採種時の果実熟度、採種期の季節環境、採種方法、採種から播種までの期間など、きわめて多くの要因に影響される。このため、種子発芽形質の QTL 解析に用いる「C 系統」の親および一部の個体を用いて上記の発芽影響要因に関する予備的な検討を行い、採種条件の最適化を行った。この後、「C 系統」約 150 個体から自家交配により自殖種子を獲得した。

(2) 種子発芽形質の QTL 解析

種子発芽率の QTL 解析のため、培養土を入れたトレイ、または湿らせたろ紙を敷いたシャーレに、「C 系統」の自殖種子を個体あたり 2~3 反復計 50~100 粒播種し、20°C・16 時間日長の恒温室内で育成した。播種 5 週間後まで、3~4 日ごとに発芽数を調査し、個体ごとに経時的な種子発芽率を計算した。各播種後日数における種子発芽率の頻度分布を比較し、分離集団内で最も変異の大きいステージを選定し、このステージの発芽率と最終段階(5 週間後)の発芽率を種子発芽率の QTL 解析の表現型値として用いる。種子発芽率に加え、「C 系統」内で分離が認められる他の種子発芽形質についても検討した。とくに発芽の早さと発芽揃いに注目し、平均発芽日数、発芽速度などについて、集団内変異を示す形質を探索し、それらの表現型値を QTL 解析に用いた。「C 系統」約 150 個体において、マーカーの分離データと前述の種子発芽形質の表現型データを用いて、QTL 解析を実施した。なお、各分離個体の種子発芽形質の表現型値には、種子のデータを用いた。このため個体内の種子間で遺伝子型のばらつきが生じるが、本研究の QTL 解析では、自殖次代種子の平均値を「C 系統」各個体の種子発芽表現型の推定値として用いることとした。

4. 研究成果

(1) 培土発芽試験による種子発芽要因の QTL 解析

育種中間母本「0212921」の自殖第一代(S1)分離集団(C 系統)の自殖種子を用いて、播種 1~5 週間後までの種子発芽率、発芽所要日数、発芽速度指標などの個体頻度分布を調査した。

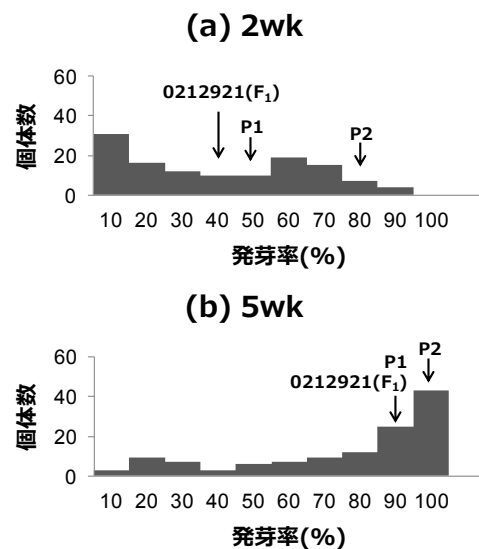


図 1. 採種 45 日後播種実験における C 系統の種子発芽率に関する個体頻度分布. (a) 播種 2 週間後 (2wk), (b) 播種 5 週間後 (5wk). 図中の ↓ は '0212921' および両親個体 (P1, P2) の自殖種子の発芽率を示す.

その結果、これらの形質値にはいずれも分離集団内の個体間で連続的な変異が認められ、イチゴの種子発芽形質は量的形質であることが示された (図 1)。

つぎに、これらの分離個体の形質値と SSR マーカーデータを用いて、イチゴの種子発芽形質に関する QTL 解析を行った。その結果、複数の種子発芽指標に共通して、連鎖群 LG7A において有意な QTL が検出された (図 2)。このことから、染色体 7A 上にイチゴの種子発芽に関わる主要な遺伝因子の存在が予測された。また、検出された QTL 近傍の DNA マーカー配列を、近縁二倍体野生種 (*Fragaria vesca*) のゲノム配列上に位置づけることで、さらに詳細な QTL マッピングを行う上で有用な情報を得た。

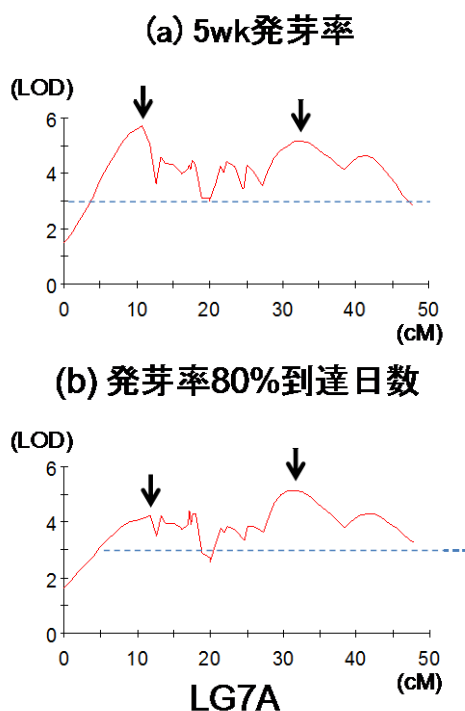


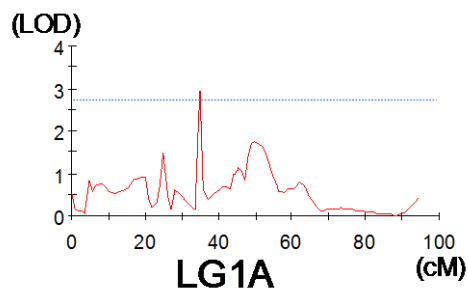
図 2. 連鎖群 7A (LG7A) に検出された QTL (採種 45 日後播種実験). (a) 播種 5 週間後 (5wk) 発芽率, (b) 発芽率 80%到達日数.

(2) シャーレ発芽試験および植物ホルモン処理による種子発芽要因の QTL 解析

(1)と同様に C 系統の自殖種子を用いて、シャーレ発芽試験を行い、播種 1~8 週間後までの種子発芽率、発芽所要日数、発芽速度指標などの個体頻度分布を調査した。なお、本試験では濃硫酸による前処理を行い、種皮除去条件下で発芽試験を開始した。その結果、培土試験と同様に、シャーレ発芽試験においても、これらの形質値は分離集団内の個体間で連続的な変異を示すことが確認された。つぎに、これらの形質値と SSR マーカーデータを用いて QTL 解析を行った結果、いくつかの有意な QTL が検出された (図 3)。一方、今回のシャーレ発芽試験 (コントロール区および

ABA 処理区) において検出された有意な QTL は、培土試験において検出された QTL の位置とは異なっていた。以上のことから、通常の培土試験において種子発芽を制御する QTL とは別に、種皮除去下での発芽制御や ABA による発芽制御に関与する QTL が複数存在することが明らかとなった。

(a) 発芽率80%到達日数



(b) ABA処理 発芽率60%到達日数

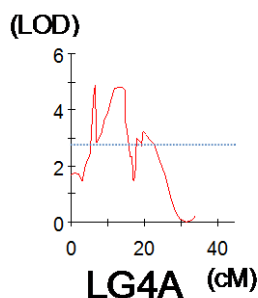


図 3. シャーレ発芽試験において検出された QTL. (a) コントロール区, 発芽率 80%到達日数, (b) ABA 処理区, 発芽率 60%到達日数.

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 7 件)

- ① 掛田克行・橋本和紀・丹羽弘光・磯部祥子・橋爪不二夫・北村八祥・森利樹、「イチゴ分離集団を用いた種子発芽に関する遺伝的解析」、園芸学会、2014年3月30日、筑波大学 (茨城県・つくば市)
- ② 橋爪不二夫・藤田絢香・磯部祥子・掛田克行、「8倍体イチゴ連鎖地図を利用したイチゴの果実形質に関する QTL 解析」、日本育種学会、2014年3月21日、東北大学 (宮城県・仙台市)
- ③ 藤田絢香・小堀純奈・橋爪不二夫・北村八祥・掛田克行・森利樹、「イチゴ育種における萎黄病抵抗性連鎖マーカー選抜効果の検

証」、日本育種学会、2014年3月21日、東北大学（宮城県・仙台市）

④橋爪不二夫・浜中悠・磯部祥子・佐藤修正・藤田絢香・掛田克行・森利樹、「8倍体イチゴ連鎖地図を利用した萎黄病抵抗性連鎖マーカーの開発」、日本育種学会、2013年10月12日、鹿児島大学（鹿児島県・鹿児島市）

⑤藤田絢香・小堀純奈・浜中悠・北村八祥・橋本和紀・掛田克行・橋爪不二夫・森利樹、「イチゴの萎黄病抵抗性連鎖マーカーの有効性検証と育種活用」、日本育種学会、2013年10月12日、鹿児島大学（鹿児島県・鹿児島市）

⑥橋爪 不二夫・松島 雄大・藤田 絢香・飯村一成・田崎公久・橋本 和紀・浜中 悠・中澤 佳子・山本 有子・辻 朋子・小堀 純奈・掛田 克行・生井 潔・森 利樹、「異なる分離集団を用いたイチゴ萎黄病抵抗性連鎖マーカーの相互評価」、日本植物細胞分子生物学会、2013年9月10日、北海道大（北海道・札幌市）

⑦橋本和紀・丹羽弘光・小堀純奈・森利樹・北村八祥・掛田克行、「イチゴ分離集団における種子発芽率および発芽所要日数の変異」、園芸学会東海支部研究会、2013年8月23日、名城大学（愛知県・名古屋市）

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

○取得状況（計 0 件）

6. 研究組織

(1) 研究代表者

掛田 克行 (KAKEDA, Katsuyuki)

三重大学・大学院生物資源学研究科・教授

研究者番号：50221867

(2) 連携研究者

磯部 祥子 (ISOBE, Sachiko)

かずさDNA研究所・先端研究部・研究室長

研究者番号：20343973

(3) 研究協力者

橋本 和紀 (HASHIMOTO, Kazuki)

丹羽 弘光 (NIWA, Hiromitsu)

橋爪 不二夫 (HASHIZUME, Fujio)

北村八祥 (KITAMURA, Hatsuyoshi)

森 利樹 (MORI, Toshiki)