

平成 30 年 6 月 11 日現在

機関番号：15101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26450034

研究課題名(和文) 温暖化後も栽培可能な少低温要求性ニホンナシの育種と休眠主動遺伝子の同定

研究課題名(英文) Breeding for Japanese pear having low-chillin requirement and 1dentification of major genes related to endodormancy

研究代表者

田村 文男 (Tamura, Fumio)

鳥取大学・農学部・教授

研究者番号：50217197

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：ニホンナシTH3と台湾ナシ横山のF1 No.72、F2系統の低温要求量を調査した。No.72は少低温要求性で、そのF2系統群内の低温要求性の分布は非常に広がったこれらの系統を用い、RAD-seqにより選抜した結果、120箇所の多型が得られた。これらは、ストレス応答性のNAC-domain proteinや植物ホルモンの受容体F-box proteinなどと相同性がみられ、少低温要求性と植物ホルモン受容体の活性化の関連性が示唆された。

秋栄x F1 No.72によって得られた個体を選抜した結果、自家和合性を有し低温要求量が300CUから600CU程度と低く果実品質が良好な数個体が得られた。

研究成果の概要(英文)：We investigated chilling requirement (CR) in Taiwanese pear Yokoyama and Japanese pear TH3 (S1 of 'Osa-Nijisseiki') and their F1 of No. 72, and its F2. CR in F2 plants was widely distributed between that of Yokoyama and TH3. From these results, it was suggested that pear plants had quantitative trait loci determining CR as a genetic factor. A hundred twenty DNA polymorphisms containing NAC-domain protein and F-box protein were detected by Restriction-site Associated DNA Sequencing between the F2 plants having low and high CR. These results indicated that chilling CR in pear plants was controlled by the plant hormone receptor activity.

Some progenies from Akibae and No.72 have low chilling requirement ranged 300 to 600 CU, self-compatibility and well fruit quality.

研究分野：果樹園芸学

キーワード：温暖化適応 ナシ品種 休眠機構

1. 研究開始当初の背景

近年、九州・四国地方において、ニホンナシが正常に発芽しない現象が多発している。この原因は、自発休眠打破に必要な冬季の低温積算が満たされないからである。この根本的な対策として、少低温要求性ナシ品種の育成が不可欠といえる。また、著者は、ナシの低温要求性が QTL に支配されていることも示している。これまで、著者らは自家和合性ニホンナシ系統「TH3」と無休眠性のタイワンナシ「横山」との交雑によって得られた F1並びに一部の F2を育成しており、これらを用いた自発休眠導入に關与する主動遺伝子の特定と、果実品質が優れ、低温要求量が既存のニホンナシより著しく少ない新品種育成が期待される。

2. 研究の目的

著者らが育成した、自家和合性ニホンナシ系統「TH3」と無休眠性のタイワンナシ「横山」との F1並びに F2の中には、きわめて低温要求量の少ない個体が存在する。本研究では、これら F1、F2群から果実品質が優れ、低温要求量が既存のニホンナシより著しく少なく、さらに自家和合性の系統を選抜し、その実用性を検討する。一方、F1ではみられなかった無休眠性が F2においては認められるため、休眠導入は 1 遺伝子支配である可能性が高い。また F2においては低温要求量の多少の個体差が非常に高い。そこで、これらを用いて休眠の導入に關与する遺伝子並びに低温要求量の多少に關与する QTL 解析を行う他、果実品質、耐病性のそれぞれに關与する遺伝子を同定する。

3. 研究の方法

(1) F2の低温要求量の評価 親品種である自家和合性ホモ個体と横山並びに F1、および F2個体で、充分試料が採取できるものから 26 年度 11 月から 27 年度 2 月まで定期的に枝を採取し、温室中で促成処理を行う。

これにより、自発休眠の深さの推移を調査する。

(2) 交雑系統の実用性検定 (予備実験) F1にニホンナシを交雑した個体の枝を採取し、成木に接ぎ木を行い花芽着生をはかる。また、開花期、展葉期、落葉期を調査するとともに、十分成長した枝については 1 と同様 26 年度冬から 27 年度春期にかけて自発休眠の深さの推移を調査する。

(3) 交雑系統の実用性検定 一次選抜：一部で成長が悪く、材料が不足する場合を考慮し、開花期、展葉期、落葉期を再度調査するとともに、全ての個体について 27 年度冬から 28 年度春期にかけて自発休眠の深さの推移を調査し、低温要求性の低い個体を選抜する。

(4) 休眠關与遺伝子の単離：(1)で選抜した休眠に導入する、及び導入しない個体を用い、総 RNA のサンプリングを精製し、サブトラクション法、DD法によって分析を進める。

(5) 休眠關与遺伝子の発現解析：DNA マイクロアレイ法によって休眠前、休眠中および休眠打破後のサンプルの網羅的遺伝子発現解析を行い、休眠に關与する遺伝子発現を推定する。

4. 研究成果

F2 系統群において幅広い分布がみられたことから低温要求性の決定には QTL が關与していることが明らかであった。また、F2 系統群内には横山と同等と考えられる少低温要求性系統が存在し、横山と同じ表現型を示すと思われる個体が確認された。これらの少低温要求性系統についての生育特性についての調査を行うことで、少低温要求性と關連のある生育特性を明らかにすることで低温要求性に關与する遺伝子の探索を試みたが、低温要求性と關連の認められる生育特性はみられなかった。RAD-seq により行った。その結果、356 箇所が多型において少

低温要求性および多低温要求性の間で変異がみられた。それらの変異箇所について blast による相同性検索を行ったところ、NAC-domain protein や ALG-like protein など低温に反応する 34 箇所の既存の塩基配列との相同性がみられた。‘豊水’由来の 89 種類の SSR マーカーから横山と TH3 間で増幅断片長の異なる 12 種類のマーカーを選抜したが、F2 系統群における低温要求性に関する領域の探索には至らなかった。今後はリンゴの第 9 染色体上に存在する SSR マーカーを用いて遺伝領域の探索を試みる必要がある。F1 系統 No.74 を花粉親とし、‘秋栄’との交雑を行った。その後代を供試して自発休眠の調査を行ったところ、系統 No.3, 17, 37, 39, 42, 43 は CU.800 の時点で既に自発休眠を打破しており、少低温要求性品種育成の材料としての活用が期待された。

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 3 件)

K. Kuroki, Y. Takemura, M. Jiang, H. Marumori, N. Teratani, K. Matsumoto, T. Matsumoto and F. Tamura. 2017. Pear pollen selection using higher germination properties at low temperatures and the effect on the fruit set and quality of Japanese pear cultivars. *Scientia Horticulturae* 216: 200-204. (査読有、DOI; 10.1016/j.scienta.2017.01.013)

Y. Takemura, K. Kuroki, M. Jiang, K. Matsumoto, F. Tamura. 2015. Comparative transcriptome analysis of the less-dormant Taiwanese pear and the dormant Japanese pear during winter season. *PLoS ONE* 10 e0139595. (査読有、DOI: 10.1371/journal.pone.0139595)

Y. Takemura, K. Kuroki, M. Jiang, K. 3 Matsumoto, F. Tamura. 2015. Identification of the expressed protein and the impact of change in ascorbate peroxidase activity related to endodormancy breaking in *Pyrus pyrifolia*. *Plant Physiology and Biochemistry*. 86 121-127. (査読有)

〔学会発表〕(計 5 件)

稲本俊彦・宮川紗綾・坂廻辺忠幸・竹村圭弘・田村文男. 2017. ニホンナシの自発休眠打破と耐凍性に及ぼす ABA およびシアナミド処理の影響. 園芸学会平成 29 年度秋季大会

竹村圭弘・志田曜司・稲本俊彦・荒木駿吾・竹内ゆかり・黒木克翁・田村文男. 2016. ナシの低温要求性に関する遺伝子の RAD-Seq 解析. 園芸学会平成 29 年度秋季大会

Y. Takemura, Y. Shida, K. Kuroki, K. Tanaka, S. Yajima F. Tamura. 2016. RAD-seq analysis of genes related to chilling requirements for endodormancy breaking in pyrus plant. 4th International Symposium on Molecular Markers in Horticulture.

竹内ゆかり・竹村圭弘・志田曜司・荒木駿吾・黒木克翁・蔣明鳳・田村文男. 2015. 次世代シーケンサーを用いたトランスクリプトーム解析によるナシの芽の自発休眠打破機構の解明. 園芸学会平成 26 年度秋季大会.

荒木駿吾・竹村圭弘・志田曜司・竹内ゆかり・黒木克翁・蔣明鳳・田村文男. 2015. ニホンナシ系統 TH3 と台湾ナシ横山との F1 および F2 系統群における自発休眠導入特性. 園芸学会平成 26 年度秋季大会.

〔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
特になし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田村 文男 (TAMURA, Fumio)
鳥取大学・農学部・教授
研究者番号：50217197

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()