

令和 4 年 6 月 16 日現在

機関番号：82111

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K14463

研究課題名（和文）ゲノムのヘテロ接合度が生産性に与える影響 - カキにおける近交弱勢打破に向けて -

研究課題名（英文）Effect of genomic heterozygosity on productivity -to break the inbreeding depression in persimmon-

研究代表者

尾上 典之（Onoue, Noriyuki）

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・果樹茶業研究部門・主任研究員

研究者番号：50613121

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）：カキ育種では、近親交配が進んでおり、その悪影響である近交弱勢による生産性低下が大きな問題となっている。本研究は、近交弱勢の研究にこれまで用いられることが少なかった、ゲノム情報を活用することで、カキにおける近交弱勢の実態を明らかにしようとするものである。ゲノム情報から近親交配の強さを推定することで、近親交配が進むにつれて、果実重、収量および樹勢の低下、また結果樹齢の遅延が生じることを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

果樹の交雑育種において、近親交配は生産性を低下させる大きな要因の一つである。果樹は、果実が実るまで長い年数を必要とすること等から、少ない世代で優良品種を生み出すため、少数の優良品種を交雑親として用いる傾向があり、近親交配に陥りやすい状況にある。近親交配を避けて、高生産性個体を効率的に育種する手法の開発は、果樹では大きな課題であるが、研究が十分進んでいるとは言い難い。本研究により、ゲノム情報を元にして、遠縁にあたる両親の組合せを選ぶことで、集団全体としての生産性向上につながり、高生産性個体を育成する有効な手段になりうると分かった。

研究成果の概要（英文）：In persimmon breeding, crossbreeding within narrow genetic resources increased the homozygosity of the offspring. Resultant inbreeding depression reduced the productivity of the offspring. Here we assessed how inbreeding affects a population's productivity by using genomic information, which was less used for studying inbreeding depression. Based on the inbreeding level estimated from genomic information, we have detected significant reductions of fruit weight, yield, and tree vigor at the first fruit-bearing age, and delay of the first fruit-bearing age itself as inbreeding progressed.

研究分野：果樹育種学

キーワード：カキ 多収 近親交配 近交弱勢

1. 研究開始当初の背景

カキには、完全甘ガキと非完全甘ガキ（不完全甘ガキ、不完全渋ガキ、および完全渋ガキ）とがあり、収穫期に前者は常に果実に渋みが残らないのに対して、後者は常に果実に渋みが残ったり種子数によって甘渋が変動したりする。したがって、収穫後に脱渋処理が不要な完全甘ガキの方が生食用果実の経済栽培には適している。

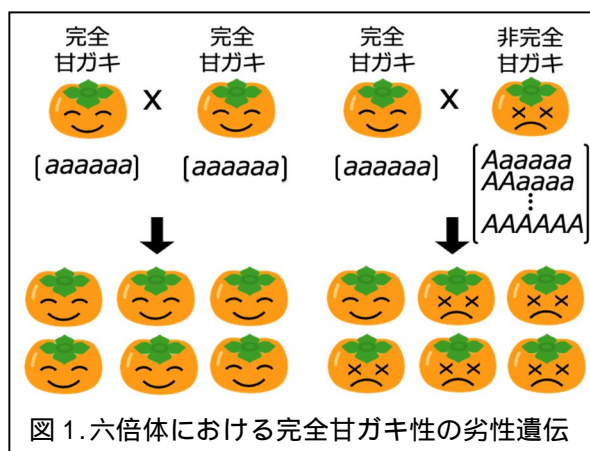


図1. 六倍体における完全甘ガキ性の劣性遺伝

1938年に国としてカキ育種を開始して以後、農研機構では、完全甘ガキ性を有する優良品種の育成を目指してきた。カキは六倍体であり、完全甘ガキ性は単一の遺伝子座 (AST) に支配される劣性形質である。したがって、図1に示すように、完全甘ガキ同士の交配で生まれた F_1 世代は全て完全甘ガキとなるが、非完全甘ガキを交配に用いた場合は完全甘ガキの出現率が極端に低下する (Ikeda et al., *J Jpn Soc Horticult Sci* 54:39-45, 1985)。さらに、完全甘ガキは由来が新しく、1912年の全国調査ではカキ品種が1000以上報告されているのに対して、現存する在来の完全甘ガキは18品種のみである。これらの多くは、近畿・東海地方に集中して見つかった。

こうした状況下で効率的に完全甘ガキ品種を育成するために、完全甘ガキ同士を中心とした交雑を長年続けて来た結果、近交弱勢による生産性の低下が1980年代後半に顕在化してきた (Yamada, *Jpn Agr Res Q* 27:33-37, 2013)。そこで2000年代以降は、近親交配を回避するために、完全甘ガキとは遠縁と考えられる在来の非完全甘ガキを交配母本として利用する戦略を採っている。さらに、完全甘ガキ × 非完全甘ガキの交雑から得た実生集団から、DNAマーカー選抜によって完全甘ガキ個体のみを圃場に展開することで、完全甘ガキ育種の効率化を図っている。しかし、交配親として用いた非完全甘ガキが実際にどの程度完全甘ガキから遠縁かは不明であり、近交弱勢をどの程度回避できているかも十分明らかでないまま現在に至っている。

2. 研究の目的

高生産性育種をさらに加速するためには、品種間の類縁関係を定量的に把握するとともに、近交弱勢の影響を明らかにすることが課題である。本研究は、カキの類縁関係の推定に次世代シーケンス解析で得た配列情報を活用することで、高生産性個体の育種を効率化する手法を開発しようとするものである。

類縁関係の指標としてこれまで用いられて来た近縁係数 (F_{PED}) は、家系図を元に計算される。したがって、家系情報が不足している場合、正確に近縁度を推定できない。特に、由来の分からない在来品種同士では類縁関係を実際より低く見積もってしまう場合がある。そこで、家系情報の代わりに、次世代シーケンス解析で得たゲノム情報を用いた場合の有効性を明らかにする。

カキにおける近交弱勢の報告は、果実重のみに留まっており(Yamada et al., *J Am Soc Hortic Sci* 119:1298-1302, 1994) 他の生産性関連形質への影響ははまだ不明である。そこで、果実重以外の形質における近交弱勢の有無を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 品種間の近縁度の推定

カキ育種に用いられる主要な交配母本と、3世代以上前の祖先まで既知の個体を、次世代シーケンス解析の一種である ddRAD-seq に供試する。得られた配列情報から、母本間のマーカー近縁度 (F_M) を推定する。3世代以上前の祖先まで既知の標準個体間の F_{PED} を、便宜的に‘真’の F_{PED} として、この値とのピアソン相関係数を指標にして、最適な配列情報の処理条件と推定手法を探索する。

(2) 近交度が交雑集団に与える影響

ddRAD-seq に供試した主要母本間の交雑で育成された実生集団について、生産性関連形質(初結時の収量、果実数、果実重、樹勢、および初結実時の樹齢)の集団平均値を取得する。交雑親の配列情報を元に推定した実生集団の近縁度と、各形質の集団平均値とを比較解析する。

4. 研究成果

(1) 品種・系統間の近縁度の推定

カキ 64 品種・系統(3世代以上前の祖先まで家系が完全に分かっている 17 標準個体、および主要 47 母本)について、葉からゲノム DNA を抽出し、ddRAD-seq に供試した。マメガキゲノムに対してマッピングした後、同質六倍体のカキに対応した量的遺伝子型 AAAAAA, AAAAAa, AAAAaa ... aaaaaa) を検出する際の、最低リード数閾値(10~300)の条件を検討した。また、高次倍数体に対応した F_M の推定方法を 9 種類検討した。

リード数閾値が大きくなるにつれて、 F_M を推定する際に利用できるマーカー数は減った。9 種類のいずれの推定方法においても、リード数閾値の小さい 10 か 20 の時に、最も強い正の相関を示すとともに、リード数閾値が大きくなるにつれて、3 世代以上前の祖先まで既知の標準個体間の F_{PED} との相関は弱くなった。一般的に、二倍体では 5 リード程度で正確な遺伝子型を推定できる。一方、高次倍数体では、正確な量的遺伝子型を推定するには、より多くのリードが必要で、例えば同質四倍体のパレイショでは 60-80 x のリードが必要とされている(Uitdewilligen et al. *PLoS ONE* 8:e62355, 2013)。このことから、リード数閾値が低い場合は、量的遺伝子型が不正確になって、その結果、相関が弱くなると予測していた。しかし、本結果は予想と逆であった。

この理由を探るため、サンプル間の遺伝子型欠測率とマーカー数が、 F_M の推定精度に与える影響をさらに解析した。その結果、リード数閾値が小さい場合、リード数閾値が大きい場合と比べて、サンプル間の遺伝子型欠測率が低くなること、および F_M を推定する際に利用できるマーカー数が増えることが分かった。これら 2 要因によって F_M の推定精度が向上する影響が、遺伝子型が不正確になって F_M の推定精度が低下する影響を上回ったことが、リード数閾値が小さい

場合に F_M の推定精度が高かった理由と考えられた。リード数閾値と推定方法の組合せのうち、
‘真’の近縁度との相関が最も高かった条件は、リード数閾値 10 (11,379 マーカー) における
Loiselle et al. (*Am J Bot* 82:1420-1425, 1995; *Heredity* 114:133-142, 2015) の方法であ
った。相関係数は 0.84 であった。

上記の条件および方法で、主要 47 母本間の F_M を推定したところ、 F_{PED} では見出せなかった潜
在的な近縁度の違いを、 F_M は見出せることが示された。なかでも、 $F_{PED}=0$ の組合せにおいて、 F_M
は大きなばらつきを示した。この組合せの中では、中国と日本由来の品種間の F_M が特に小さか
った。このことは、同じ $F_{PED}=0$ を示す組合せにおいて、日本-日本よりも、中国-日本の組合せ方
が、より近縁度が低くなる傾向があることを示唆している。したがって、積極的に中国由来の遺
伝資源を交配親に利用することで、遺伝背景の多様性を回復させて、近交弱勢を回避できると期
待される。

(2) 近交度が交雑集団の生産性関連形質に与える影響

交雑育成したカキ実生約 100 集団について、ddRAD-seq で得た交配親の多型情報から F_M を推
定して、 F_M と生産性に関わる形質の集団平均値との関連を回帰分析した。その結果、 F_M の上昇に
伴い、果実重、収量および樹勢の低下、また結果樹齢の遅延が認められた。これらの傾向は、家
系図から推定した F_{PED} では見出せなかったことから、ゲノム情報から F_M を推定する有効性が支
持された。本研究により、これまで報告された果実重以外の形質において、近交弱勢が認められ
た。このことから、近交弱勢による生産性低下を定量的に示すことができたと考えている。また、
ゲノム情報を元に、低い F_M を示す両親の組合せを選べば、集団全体としての生産性向上につな
がり、高生産性個体を育成する有効な手段となりうると分かった。本成果は国際誌に投稿し、現
在査読中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 尾上典之, 永野惇, 河野淳, 東暁史, 佐藤明彦
2. 発表標題 六倍体であるカキ品種間の近縁度推定に向けたゲノムワイドな量的多型の利用
3. 学会等名 園芸学会平成31年度春季大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 尾上典之, 河野淳, 東暁史, 松崎隆介, 永野惇, 佐藤明彦
2. 発表標題 RAD-seqを用いて推定した近交度によるカキ収量関連形質における近交弱勢の検出
3. 学会等名 園芸学会令和3年度秋季大会
4. 発表年 2021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
---------------------------	-----------------------	----

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