

機関番号：32658
 研究種目：基盤研究（B）
 研究期間：2008～2010
 課題番号：20380017
 研究課題名（和文） ゲノム情報を利用した超多収栽培用トマト品種の育成-染色体部分置換系統の利用-

研究課題名（英文） Breeding high-yielding tomato cultivars using genomic information - Usage of chromosome segment substitution lines

研究代表者
 杉山 信男（SUGIYAMA Nobuo）
 東京農業大学・農学部・教授
 研究者番号：30012040

研究成果の概要（和文）：

トマトの早期開花性に関わる量的形質遺伝子座（QTL）の第1染色体上の位置を特定後、この領域だけを *Solanum pimpinellifolium* の染色体で置換した部分置換トマトを作出し、この領域が栽培トマトの遺伝的背景の中で開花促進効果を持つことを明らかにした。また、相同性の比較から、*FLOWERING CONTROL LOCUS A* ホモログがこの QTL の候補遺伝子と考えられた。

研究成果の概要（英文）：

Quantitative trait loci (QTL) related with flowering time was identified in chromosome 1, and chromosomal segment substitution lines in this region (CCSL) were bred by backcrossing tomatoes. CCSL flowered earlier than tomato. Furthermore, homology search suggested that candidate gene for this QTL was a homolog of *FLOWERING CONTROL LOCUS A* of *Arabidopsis*.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	4,100,000	1,230,000	5,330,000
2009年度	3,400,000	1,020,000	4,420,000
2010年度	3,000,000	900,000	3,900,000
総計	10,500,000	3,150,000	13,650,000

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：開花，トマト，量的形質遺伝子座，QTL

1. 研究開始当初の背景

近年、作物のゲノム情報は飛躍的に集積しつつある。その最も大きな成果の1つに、異なる品種の間に見られる生理生態的特性の違いが、「いくつかの遺伝子（量的形質遺伝

子座、QTL）によってもたらされているのか？」また「それらは染色体のどこに座乗しているのか？」といった疑問が解明できるようになったことが挙げられる。これまでに、栽培トマト *Solanum lycopersicum* と

Solanum pimpinellifolium (トマトの祖先野生種) の交雑による組換え近交系統群 (QTL 同定用の遺伝解析系統群) を育成し、DNA マーカーによる染色体地図を作り上げた。また、この組換え近交系統群を用いてトマトと *S. pimpinellifolium* の生理生態的特性の差異に関与する多くの遺伝子座を明らかにした。しかしながら、QTL の同定は問題解決の入り口に過ぎない。遺伝子の発現は他の多くの遺伝子の影響を受けるために、特に実用化を想定した場合には *S. pimpinellifolium* の QTL が栽培トマトの遺伝的背景の中でどのように働くかを検証していく必要がある。また、将来的には当該 QTL を単離、特定することも重要な課題である。このような目的のためには、“組換え近交系統群”とは異なり、一方の親の染色体の一部だけが他方の親由来の染色体断片に置き換わっているような系統のセット、すなわち“部分置換系統群”を育成することが必要となる。本研究では、こうした解析材料を育成することによって、トマトの花芽分化の機構解明に取り組もうとするものである。

2. 研究の目的

野菜栽培の収益性を高めるため、栽培の高度化に向けた様々な試みが行われてきている。従来、我が国におけるトマト栽培は長期間にわたって収穫を続ける長期多段どり栽培が中心であった。しかし近年では、通常の栽培に比べ、密植にして第 1 果房で収穫を打ち切り、代わりに作付け回数を増やして年間収量を高める栽培方式 (一段密植栽培) が超多収栽培法として注目され始めている。この一段密植栽培方式では、開花時期が遅れると、年間作付け回数が減り、その有利性を生かすことができないので、

できるだけ早く開花させることが必要とされる。しかし、トマトは高温期には開花が遅れるため、その対策が求められている。本研究では、ゲノム情報を利用することにより、トマト栽培の高度化に向けた開花制御の問題を、基礎と実用の両面から推進する。すなわち、1) 私たちの確立した遺伝解析用トマト実験系統群を利用して、花芽分化の温度反応が染色体地図上のどの領域によって制御されているのかを明らかにするとともに、2) その地図情報および本研究で構築する「染色体部分置換系統システム」を利用して、この遺伝子領域だけが *S. pimpinellifolium* の染色体で置換されているトマトを作出する。3) この染色体部分置換トマトを用いて、導入された *S. pimpinellifolium* の当該遺伝子が栽培トマトの遺伝的背景の中でどのように機能するかを解析するとともに、4) この遺伝子の単離に向けて、その正確な位置 (座位) を明らかにする。

3. 研究の方法

- (1) トマト × *S. pimpinellifolium* の組換え近交系統群 (BC₁F₆、114 系統) を用い、育苗時の温度に応答して開花時期を変化させる QTL を検出する。
- (2) トマトを反復親とした戻し交配世代 (BC₂F₁、既に育成済み) を利用して、開花時期に関わる上記の QTL を含むゲノム領域だけが *S. pimpinellifolium* に由来し、他はトマトのゲノムから構成されている系統 (染色体部分置換系統、BC₃F₁) を育成する。
- (3) (2) で育成した染色体部分置換系統の開花反応や花芽分化時期を調べ、*S. pimpinellifolium* に由来するゲノム領域の機能を明らかにする。
- (4) 開花に関する QTL について、アラビドプ

シスで明らかにされている開花関連遺伝子との相同性の比較から候補遺伝子を明らかにする。

4. 研究成果

(1) 開花時期に関わる QTL の検出

トマトの栽培種 'M570018' とトマトの野生種 *S. pimpinellifolium* 'PI124039' の交配に由来する組換え近交系 BC₁F₆ 集団 101 系統を、育苗温度を 30/25 と 25/20 に変えて栽培し、開花までの日数 (DTF) と第 1 花房下葉数 (LN) を測定した。また、BC₁F₆ 世代の 112 系統から DNA を抽出し、107 の DNA マーカーを用いて多型解析を行った。多型解析の結果を基に連鎖地図を作成するとともに、QTL Cartographer v2.5 を用いて QTL 解析を行った。QTL 解析を行った結果、開花までの日数に関する QTL (DTF QTL) が第 1 染色体の異なる位置に 3 つ検出された。このうち、マーカー LEATPACA と SSR105 近傍の DTF QTL は高温下で、C2_At5g49480 近傍の DTF QTL は温度条件に関わらず検出された。また、第 3 染色体のマーカー C2_At5g51110 と SSR22 の近傍には、それぞれ高温下で発現する DTF QTL が検出された。一方、第一花房下葉数の QTL (LN QTL) は第 3 染色体に 2 つ、第 6、11 染色体に各 1 つが検出された。第 3 染色体と第 6 染色体の LN QTL は温度条件に関わらず検出されたが、第 11 染色体の LN QTL は低温下のみ検出された。これらの結果から、育苗温度によって発現する QTL に差があることが明らかになった。また、第 3 染色体の 2 つの LN QTL は DTF QTL とほぼ同じ位置に検出された。

(2) 花序と果実の発育を制御する QTL の解析

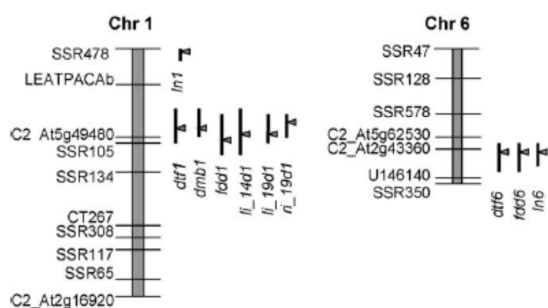
材料として、トマトの栽培種 'M57008' と近縁野生種 *S. pimpinellifolium* 'PI124039' の交配に由来する組換え近交系 (BC₁F₇) 112 系統を用い、冬と夏にビニルハウス内でポツ

ト栽培し、第 1、2 花房第 1 花の開花までの日数 (DTF1, DTF2)、第 1 花房下葉数 (LN1)、第 1、2 花房間葉数 (LN2)、第 1、2 花房の花数 (FN1, FN2)、第 1、2 花房での花房から葉への逆転換 (REV1, REV2)、第 1、2 花房におけるダブル花房の有無 (DI1, DI2)、第 1、2 花房の開花速度 (FV1, FV2) を調査した。さらに、第 1、2 花房の果実面の 80~90% が赤く着色した時に果実を収穫し、重量 (FW1, FW2)、第 1 花房果実の糖度 (BR)、第 1、2 花房それぞれの着果数 (FRN1, FRN2) と着果率 (FRR1, FRR2)、第 1、2 花房の果実重の均一性 (標準誤差) (FRSD1, FRSD2) を測定した。

QTL 解析の結果、冬と夏を通じて計 58 の QTL が検出されたが、異なる形質を制御する複数の QTL がほぼ同一の位置に座乗するケースが多く、実際に関与する遺伝子の数は限られるものと考えられた。最も顕著な例は第 1 染色体の C2_At5g49480 領域であった。この領域が野生種型になると、開花が早まるとともに花数増加や葉数減少が起こるなど、多数の QTL がほぼ同一の染色体領域にクラスター状に座乗し、多面発現の可能性が示唆された。第 2、3、4 染色体でも複数の QTL が同一の染色体領域に検出された。これらの QTL クラスターは、冬と夏のいずれの実験においても検出され、安定的に発現しているものと考えられた。また、第 1、3、4 染色体の QTL クラスターは早晩性 (第 1 花の開花までの播種後日数、DTF) を制御する QTL と重複しており、早晩性は花数や葉数など様々な形質に影響を及ぼしていることが示唆された。特に、第 1 染色体の QTL クラスターに含まれる QTL は寄与率の高い QTL が多く、この領域は早晩性と連動して花序や果実の発育を制御する重要な機能を持っていると考えられた。

(3) 開花時期に関わる形質を構成する個々の要素についての QTL 解析

開花までの日数 (DTF)、花房下葉数 (LN) は葉原基分化数 (LI)、花序分化速度 (RI)、花蕾出現までの日数 (DMB)、花蕾出現から開花までの日数 (FDD; DTF - DMB)によって影響されることが予想される。そこで、トマトの栽培種 'M570018' とトマトの野生種 *S. pimpinellifolium* 'PI124039' の交配に由来する組換え近交系 BC₁F₆ 集団 110 系統を用いて、DTF、LN、LI、RI、DMB、FDD を測定した。QTL 解析の結果、第 1 染色体のマーカー C2_At5g49480 と第 6 染色体のマーカー C2_At2g43360 QTL の近傍に 2 つの DTF QTL が検出された。第 1 染色体の DTF QTL 近傍には DMB、FDD、LI、RI QTL も検出された。また、第 6 染色体の DTF QTL の近傍には LN、FDD QTL が検出された。これらの結果は、第 1、第 6 染色体には開花に関わる QTL がクラスターとして機能していることを示していると考えられた。



第 1 図. 第 1、第 6 染色体に座乗する QTL クラスター

dtf, 開花までの日数; ln, 花房下葉数; dmb, 花房出現日; fdd, dtf-dmb; li, 葉原基数; ri, 花芽分化程度

(4) QTL の発育形態学的な特長づけ

花序や果実の発育と早晩性 (DTF) との密接な関係が QTL レベルで示唆されたことから、第 1 染色体上の QTL の位置と機能をより詳細に明らかにするため、染色体部分置換系統を

育成した。すなわち、トマト 'M570018' とトマトの近縁野生種 *S. pimpinellifolium* 'PI124039' の交配に由来する戻し交配系統 BC₂F₁ 集団の個体に反復親 'M570018' を交配して BC₃F₁ 系統を育成した。この集団について多型解析を行い、目的とする部分のみが置換された個体 56 系統を選抜した。このうち、第 1 染色体の QTL クラスターを含む領域が野生種型に置換された系統を対象に、茎頂を実体顕微鏡下で観察することにより栽培種との花芽分化時期の差異を調べた。花芽分化時期は置換系統の方が栽培種より 3 日早いだけであったが、部分置換系統は栽培種よりもプラストクロンが短く、結果として開花が起こった時期は 7 日以上も早まった。このことから、開花時期の差をもたらす発育要因として花芽分化のタイミングだけではなく、分化後の花序の発達速度も重要であることが明らかとなった。このような花序の発育速度への影響が、他の多くの形質への多面発現の原因の 1 つとなっているのではないかと考えられた。

(5) QTL の候補遺伝子の探索

これら QTL クラスターに関して、原因遺伝子の探索を試みた。早晩性に関する QTL の原因遺伝子の調査が進んでいるシロイヌナズナでは、*FLOWERING LOCUS T*、*CONSTANS*、*FRIGIDA*、*CRYPTOCHROME 2*、*FLOWERING LOCUS D*、*FLOWERING CONTROL LOCUS A*、*TERMINAL EAR-LIKE 2* および、*EMBRYONIC FLOWER 2* が早晩性の QTL の原因遺伝子 (あるいはその候補) であることに着目し、これらのトマト相同遺伝子に的を絞って今回検出された早晩性 (DTF) の QTL との関連を検討することにした。具体的には、これらの大半の遺伝子のトマト遺伝地図上の位置が未発表であることから、組換え近交系の両親の間における各

遺伝子の塩基配列の多型を探し、INDEL マーカーあるいは CAPS マーカー化して連鎖地図にマッピングした。マーカー化の難しいものは組換え近交系を対象にシーケンスを行いマッピングした。その結果、*FLOWERING CONTROL LOCUS A* 相同遺伝子と *EMBRYONIC FLOWER 2* 相同遺伝子が、それぞれ第 1 染色体と第 3 染色体の QTL クラスタ領域内に位置していることが明らかになった。シロイヌナズナにおいて *FLOWERING CONTROL LOCUS A* と *EMBRYONIC FLOWER 2* はいずれも非感光性の経路に関係していることから、中性植物であるトマトの早晩性に重要な機能を持っている可能性は十分に高いと考えられた。

以上、トマトの花序や果実の発育に関わる QTL は比較的限られた遺伝子の多面発現である可能性が高いこと、その原因として早晩性（第 1 花開花までの日数）が重要であることが伺われた。また、トマトの早晩性は花芽分化の時期だけでなく分化後の花序の発育速度そのものを制御している場合があるとともに、それらの原因遺伝子としてシロイヌナズナの *FLOWERING CONTROL LOCUS A* および *EMBRYONIC FLOWER 2* の相同遺伝子が有力な候補であることを明らかにした。

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 4 件)

Sumugat, M. R., Lee, O.N., Mine, Y. and Sugiyama, N. Quantitative trait analysis of transplanting time and other root-growth-related traits in tomato. *Scientia Horticulturae* (in press) 2011 年 (査読有)
Sumugat, M. R., Morimoto, M., Aoki, K. and Sugiyama, N. Quantitative trait loci controlling the flowering properties in tomato. *Journal of International Society for Southeast*

Asian Agriculture, 16(2), 1-9. 2010 年 (査読有)
Sumugat, M.R. and Sugiyama, N. Quantitative trait loci analysis of flowering time and vegetative traits in tomato plants raised in two methods of seedling raising. *Horticulture, Environment and Biotechnology*, 51(4), 326-334. 2010 年 (査読有)
Sumugat, M. R., Lee, O. N., Nemoto, K. and Sugiyama, N. Quantitative trait loci analysis of flowering-time-related traits in tomato. *Scientia Horticulturae*, 123(3), 343- 349. 2010 年 (査読有)

[学会発表](計 2 件)

前田美穂・トマトの開花及び果実品質に関わる QTL 解析・園芸学会、2010 年 9 月 20 日、大分大学
Sumugat, M.R. and Sugiyama N. QTL analysis of transplanting time and other root-growth-related traits in tomato. *International Horticultural Congress*, 2010 年 8 月 23 - 26 日, Lisbon (Portugal)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

杉山 信男 (SUGIYAMA Nobuo)
東京農業大学・農学部・教授
研究者番号：30012040

(2) 研究分担者

中田 美紀 (NAKATA Miki)
東京大学・農学生命科学研究科・助教
研究者番号：90436519

峯 洋子 (MINE Yoko)
東京農業大学・農学部・講師
研究者番号：70282704

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

(3) 連携研究者

無