

令和 5 年 6 月 20 日現在

機関番号：13701

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K15517

研究課題名（和文）バラ交雑集団を用いた花序の分枝性の遺伝解析

研究課題名（英文）Genetic analysis of inflorescence branching traits in rose hybrid populations

研究代表者

落合 正樹（Ochiai, Masaki）

岐阜大学・応用生物科学部・助教

研究者番号：80755827

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 1,500,000円

研究成果の概要（和文）：バラの園芸品種に花序の高分枝性をもたらしている原因遺伝子を明らかにすることを目的として、バラの交雑集団および既存の園芸品種群において、花序の分枝性の程度を形態学的に評価するとともに、花序の分枝性との関連が期待されるDNAマーカーとの相関を調査した。花序の分枝程度の評価指標として第一次分枝数が最も適しており、第一次分枝数は交雑集団での解析により量的な遺伝形質であることが確認できた。また着目したDNAマーカーのアレル数の定量を試みたところ、第一次分枝数とアレル数には正の相関があることが認められた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

バラの花序の分枝性の評価に適した指標を絞り込めたこと、DNAマーカーのアレル数の定量化に成功したこと、加えて、研究対象としたバラの交雑集団がそれらの関係性を評価する材料として適していると判断できたことは、花序の高分枝性の原因遺伝子の探索に関わる今後の研究の躍進に強くつながる。また、本成果を基に研究をより発展させることで、バラでのマーカー育種への活用が期待される。

研究成果の概要（英文）：In order to explore the genes responsible for high inflorescence branching in rose cultivars, traits related to inflorescence branching and the number of alleles of the DNA marker that are expected to be associated with inflorescence branching were measured in rose hybrid populations and existing horticultural cultivars. The number of primary branches was determined as the most suitable index to evaluate the degree of inflorescence branching, and it was confirmed to be a quantitative genetic trait by analysis in the hybrid population. In addition, the quantification of the number of alleles of the focused DNA marker showed that there is a positive correlation between the number of primary branches and the number of alleles.

研究分野：園芸学

キーワード：花序形態 花房 房咲き性

### 1. 研究開始当初の背景

バラの園芸品種における花序の分枝性は、花数の少ない一輪咲きから、花数の多い房咲きまで多様であり、観賞の上でも生産の上でも重要な形質である。しかしながら、現在までに房咲き性をもたらす原因遺伝子や有用な DNA マーカーは発見されていない。原因遺伝子が特定されれば、DNA マーカー化による育種の効率化のみならず、ゲノム編集などにより、既存の園芸品種の花色や花型等の形質を維持したまま、花序の分枝性のみを改変することが可能となり、育種の幅を広げることが期待される。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、バラの園芸品種に房咲き性をもたらしている原因遺伝子を明らかにすることであり、そのために、まず、バラの交雑集団において、花序の分枝性の程度の遺伝特性を形態学的に明らかにするとともに、花序の分枝性との関連が期待される DNA マーカーとの相関を評価する。加えて、バラの既存の園芸品種においても、花序の分枝性の程度と DNA マーカーの有無を調査し、それらの相関が保存されているのかを明らかにする。

### 3. 研究の方法

研究はバラの交雑集団と既存の園芸品を用いて実施した。

交雑集団としては、一輪咲き性の品種 (*Rosa* “PEKcougel” (以下、PEKcougel)) と房咲き性の品種 (*R. multiflora* “Matsushima No.3” の 4 倍体 (以下、4 倍体ノイバラ)) との交配により得られた集団を用いた。本交雑集団において、花序の形質に関わる形態調査を進めた。花序の形質としては、花房数 (頂花から葉までを第一花房としたときのシュート全体の花房の数。)、第一次分枝数 (第一花房中の主枝から分岐している枝の数。)、最下枝分枝次数 (第一花房中の最下枝の枝分かれの回数。最下枝中で枝分かれがいくつかある場合は最大の枝分かれの回数を計数した。)、第一花房の大きさ (頂花の花托の膨らみの下から葉の付け根までの長さ。)、子房径 (頂花の子房の直径。)) の 4 項目とし、いずれの調査項目も頂花が開花したタイミングで調査を実施した。先行する研究課題においてノイバラの種特異的な DNA マーカーの作出を実施した際に、花序の分枝性との関連が期待される DNA マーカーを発見しているため、この DNA マーカーの有用性について、花序形態の調査を終えた交雑集団を用いて評価を行った。また、最終的に園芸品種における花序の分枝性の由来を明らかにするために、園芸品種群での花序形態の調査と、交雑集団を用いて絞り込んだ DNA マーカーの保存性の評価を行った。加えて、公開されているノイバラのゲノム情報から、絞り込んだ DNA マーカーの近傍に座する遺伝子のリストアップを進めた。さらに、園芸品種群において、リストアップした遺伝子の配列や遺伝子発現の保存性を調査することで、原因遺伝子の絞り込みを進めた。

### 4. 研究成果

#### (1) バラ交雑集団における花序形態の評価

一輪咲き性の品種と房咲き性の品種との交配により得られた交雑集団においては、 $F_1$  系統、 $F_2$  系統、 $BC_1$  系統について花序形態に関わる形質の調査を実施した。花房数、第一次分枝数、最下枝分枝次数、第一花房の大きさ、子房径のいずれの調査項目についても、交雑集団の系統内で形質にばらつきが認められた (図 1)。そのうち、第一次分枝数は特に数値のばらつきが大きく、また、見た目としての房咲き性の程度をより適切に数値化できていると判断し、花序形態に関わる表現型の指標としては第一次分枝数に着眼した。交雑集団の系統事に評価すると、第一次分枝数はいずれの系統においても花序の分枝性が低い個体から高い個体まで表現型に幅が見られた。その中でも一輪咲き性の親品種 (PEKcougel) に戻し交配した  $BC_1$  系統では一輪咲き性の親品種に近い形質の個体が多く、房咲き性の親品種 (4 倍体ノイバラ) に戻し交配した  $BC_1$  系統では房咲き性の親品種に近い形質の個体が多くなることが確認された (図 1)。 $F_2$  系統については同一個体でも年により分枝の程度が安定しないため、形質の評価にふさわしい樹齢には達していない可能性が認められた。

#### (2) バラ交雑集団における DNA マーカーのアレル数の評価

交雑集団を対象として、花序の分枝性との関連が期待される DNA マーカーのアレル数の定量をリアルタイム PCR を用いて試みた。表現型の調査より、第一次分枝数は量的形質であることが認められたため、DNA マーカーの有無のみでなく、DNA マーカーのアレル数にも着目して評価を行った。リアルタイム PCR により定量したアレル数は、房咲き性の親品種 (4 倍体ノイバラ) で最も多く、一輪咲き性の親品種 (PEKcougel) で最も低い値を示した。房咲き性の親品種でのアレル数を 4、一輪咲き性の親品種でのアレル数を 0 とし、交雑後代でのアレル数を相対評価した。 $F_1$  系統は両親の中間的な値を示し、一輪咲き性の親品種に戻し交配した系統では一輪咲き性の親品種に近い値を示す個体が多く、房咲き性の親品種に戻し交配した系統では両親の中間的な房咲き性の親品種に近い値を示す個体が多いことを確認した (図 2)。4 倍体である本交雑集団に

おいては、特定の遺伝子や DNA マーカーのアレル数は理論上は 0 から 4 の整数に収束するが実際の測定値では中途半端は数値も認められたため、定量方法は改善の必要がある状態ではあるが、おおよそのアレル数の定量には成功していると判断できた。

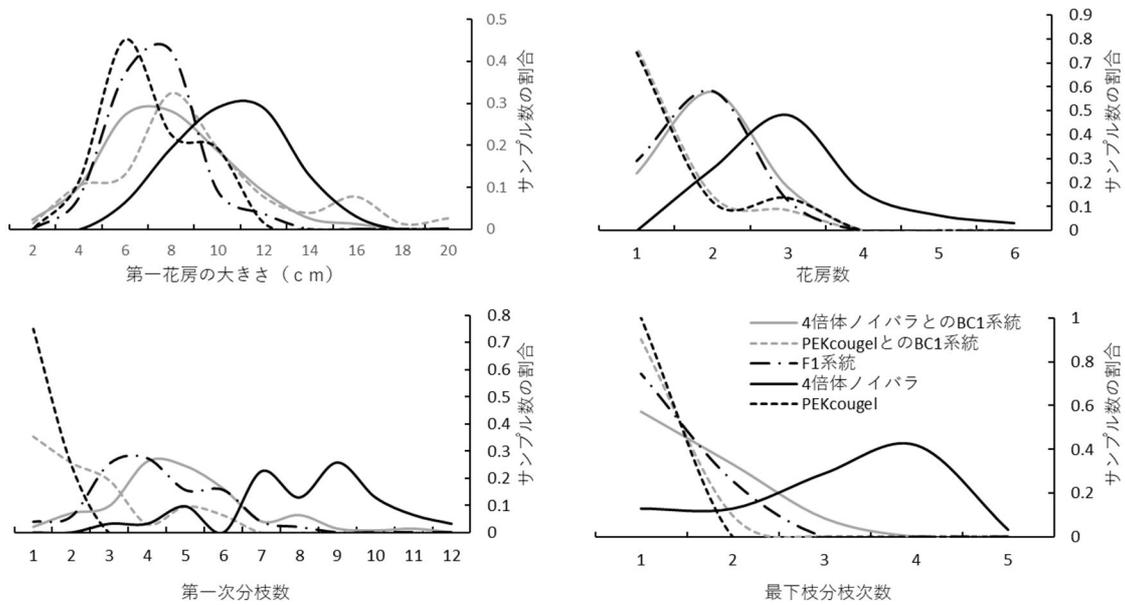


図 1. 交雑集団の系統ごとでの花序形質の分布

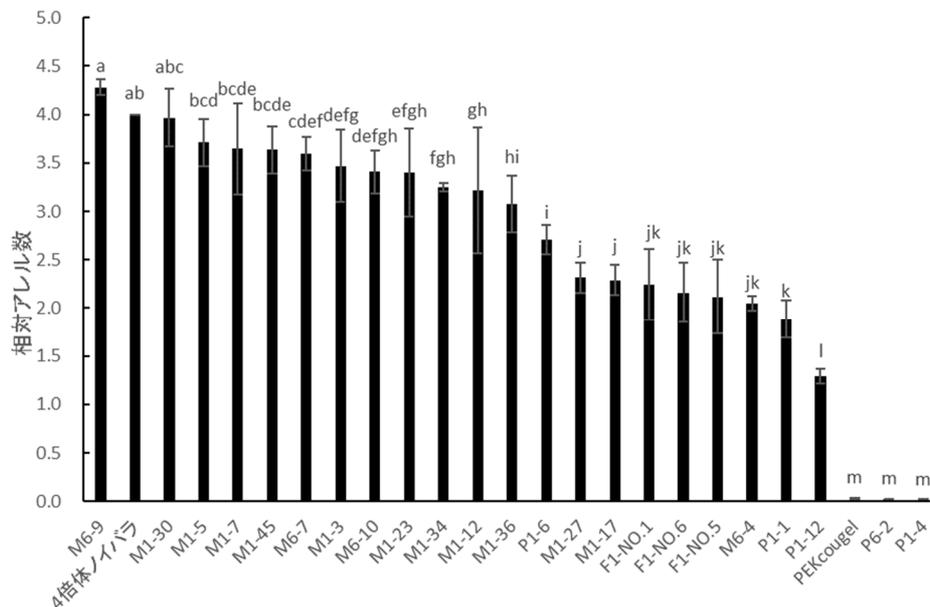


図 2. 交雑集団における調査対象とした DNA マーカーの相対アレル数  
「F1」から始まる個体名は F<sub>1</sub> 系統、「M1」・「M6」から始まる個体名は 4 倍体ノイバラとの BC<sub>1</sub> 系統、「P1」・「P6」から始まる個体名は PEKcougel との BC<sub>1</sub> 系統の個体を指す。

### (3) バラ交雑集団における花序形質と DNA マーカーのアレルの相関の評価

花序形態に関わる表現型が安定している個体を対象として、DNA マーカーのアレル数と花序形態に関わる表現型との相関を調査したところ、保有するアレル数が多いほど花序の第一次分枝数が増える傾向が認められた(図 3)。これらの結果より、交雑集団を用いて本研究を進めることが適切であること、また、本 DNA マーカーに着目することが妥当であることを確認できた。

### (4) バラの園芸品種における花序形質と DNA マーカーのアレルの相関の評価

バラの園芸品種のうち、育種の系譜上でノイバラの血を継いでいる個体が含まれると想定される園芸品種群において、花序形態に関わる形質の調査を行った。第一次分枝数に着目すると、一輪咲き性の品種から、ノイバラと同等の高い分枝性を示す品種まで幅広い形質が確認できた。園芸品種の系統分類に従って供試品種を分類すると、花数の多い形質が特徴的なポリアンサ系統

には第一次分枝数が大きい品種が多く含まれ、花数の少ない形質が特徴的なグランディフローラ系統には第一次分枝数が少ない品種が多く含まれていた(図4)。第一次分枝数は園芸品種群においても房咲き性を評価する指標として適していると判断できる。

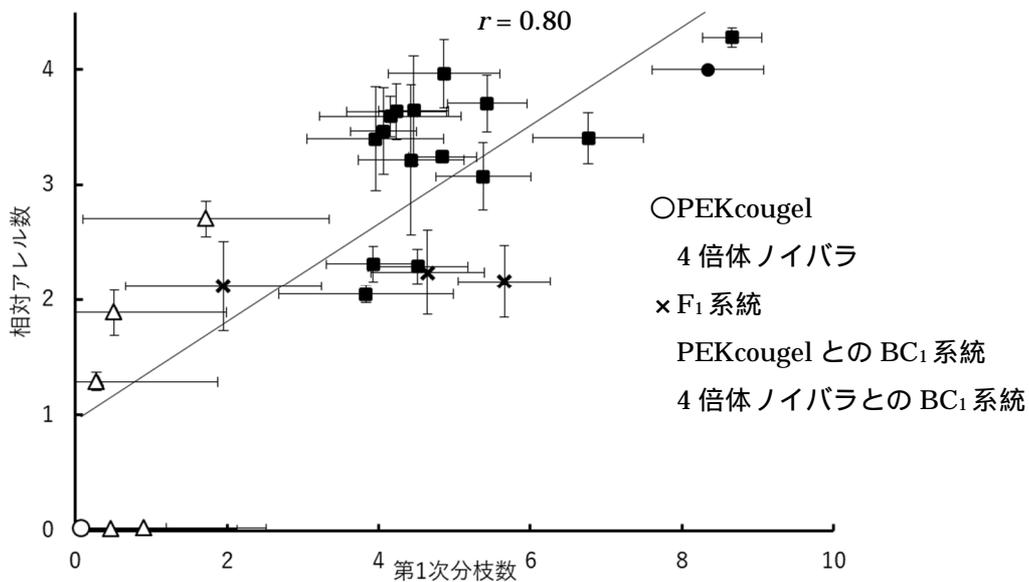


図3. 交雑集団における花序の第一次分枝数と DNA マーカーの相対アレル数の関係

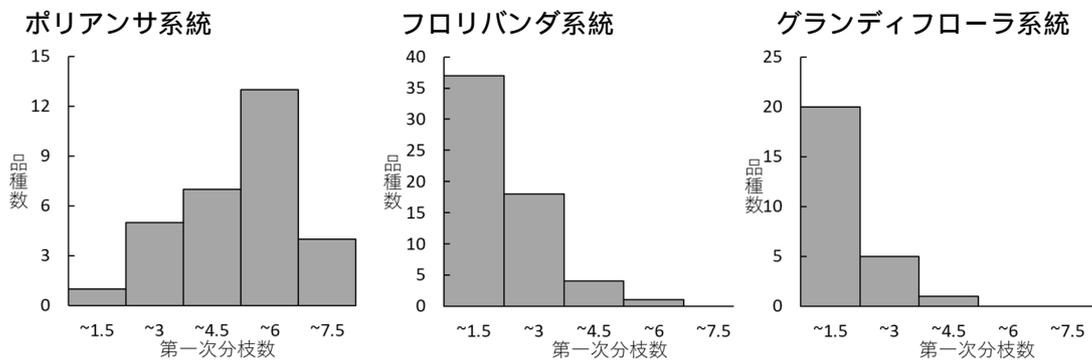


図4. バラの園芸品種における系統ごとの花序の第一次分枝数の分布

園芸品種群についても DNA マーカーのアレル数の定量を試みたが、交雑集団では認められなかった非特異的な増幅が多く確認され、PCR 条件やプライマー配列の変更により改善を試みたが解決には至っていない。園芸品種群を用いた今後の解析には、安定した PCR 条件の確立が必要である。

#### (5) 研究対象の DNA マーカーの近傍に座する遺伝子の探索

また、ノイバラのゲノム情報の解析により、研究対象の DNA マーカーが座する約 3 万 bp のコンティグが確認され、そのコンティグ上には 8 つの遺伝子と推定される配列が認められた。これらの 8 つの遺伝子はアノテーション結果からは、植物のシュートの分枝や形態形成に関わる機能を持つとは断言できない遺伝子であった。今後は、交雑集団および園芸品種群において、これらの遺伝子の保存性を確認するとともに、DNA マーカーの近傍をより広範囲に探索し、より有望な遺伝子の探索を行うことが望ましい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 落合正樹	4. 巻 6
2. 論文標題 バラにおける高次分枝性花序形態の遺伝解析	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 アグリバイオ	6. 最初と最後の頁 64-67
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔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 大橋真美・山田邦夫・落合正樹
2. 発表標題 バラ交雑集団における花序の分枝性の遺伝とDNAマーカーの探索
3. 学会等名 園芸学会令和3年度秋季大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 落合正樹・丸山大輝・福井博一・山田邦夫
2. 発表標題 倍数性育種により得られた4倍性ノイバラの形態的特徴
3. 学会等名 国際植物増殖者会議日本支部第27回岐阜大会
4. 発表年 2022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
---------	---------