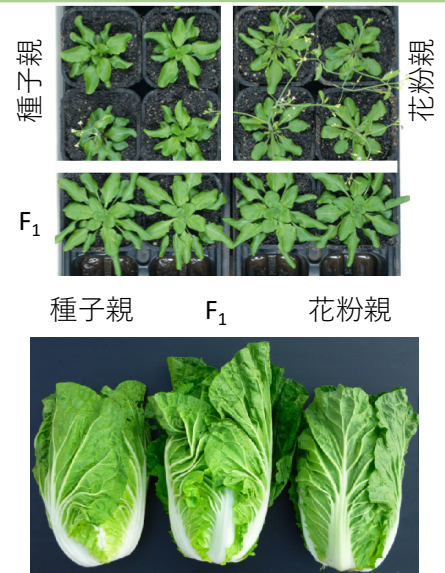


アブラナ科植物における雑種強勢研究

研究期間：2008～2018年

研究背景・目的

植物では、同一種内あるいは異種間の交雑によって生じた雑種が両親よりも優れた形質を示す『雑種強勢/ヘテロシス』という現象が知られている (Fujimoto *et al.* 2018)。現在、多くの野菜は、異なる性質をもつ両親系統間の交雑によって得られた雑種第一代 (F₁: First Filial Generation) の種子を大量に採種し、品種とする一代雑種 (F₁) 品種である。F₁品種には、「両親系統の優良形質を同時に付与できる。」や「形質が均一である。」といった特徴に加え、「雑種強勢により生育が旺盛で収量性が向上する。」といった特徴がある。よって、雑種強勢は、植物の収量増加に貢献した遺伝現象として知られており、F₁品種による収量改善効果が著しいことは既に明白だが、未だ、雑種強勢の分子機構は、ほとんど明らかになっていない。そこで、雑種強勢の分子機構の解明を目指して、モデル植物のシロイヌナズナやアブラナ科野菜のハクサイを中心に、分子生物学的な研究を進めている。



実験概要

- 遺伝学的解析 (QTL解析等) により、植物サイズに関連するゲノム領域の特定
- トランスクリプトーム解析による、両親系統とF₁で発現が異なる遺伝子の同定
- エピゲノム解析による、両親系統とF₁で遺伝子の修飾状態 (DNAメチル化)、ヒストン化学修飾状態が異なる領域の同定

結果と考察

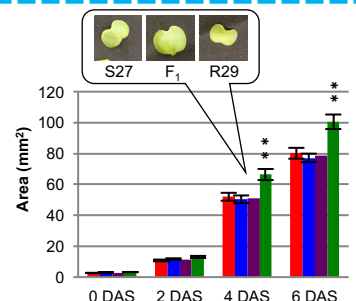
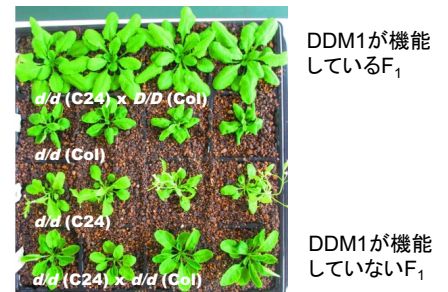
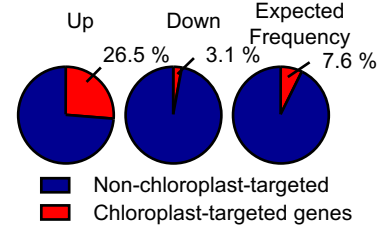
シロイヌナズナ

- ✓ 雑種強勢は、播種後数日で現れる (Fujimoto *et al.* 2012)。
- ✓ 雑種強勢が現れる前のステージでは、F₁は両親系統に比べて葉緑体ターゲット遺伝子の発現レベルが高くなる (右上図) (Fujimoto *et al.* 2012)。
- ✓ 光合成活性自体は両親系統とF₁で変わらないが、F₁は葉面積が大きいことから、個体あたりの光合成量はF₁で大きく、これが雑種強勢の維持と増幅には重要である (Fujimoto *et al.* 2012)。
- ✓ 特定の領域のヘテロ接合性が雑種強勢の発現に関わっている (unpublished data)
- ✓ 雑種強勢には、クロマチンリモデリング因子DDM1の機能が重要である (右中央図) (Kawanabe, Ishikura, Miyaji *et al.* 2016)。

ハクサイ

- ✓ 雑種強勢は、播種後数日で現れる (右下図) (Saeki *et al.* 2016)。
- ✓ 雑種強勢が現れる前のステージでは、F₁は両親系統に比べて葉緑体ターゲット遺伝子の発現レベルが高くなる (Saeki *et al.* 2016)。
- ✓ F₁は葉面積が大きいことから、個体あたりの光合成量はF₁の方が大きく、これが雑種強勢の維持と増幅には重要である (Saeki *et al.* 2016)。
- ✓ 両親系統の遺伝距離は雑種強勢の程度とは関連性がない (Kawamura *et al.* 2016)。

葉緑体ターゲット遺伝子 播種後3日 F₁ vs. MPV



発表論文

1. Fujimoto R, Taylor JM, Shirasawa S, Peacock WJ, Dennis ES. (2012) Heterosis of *Arabidopsis* hybrids between C24 and Col is associated with increased photosynthesis capacity. *Proc Natl Acad Sci USA* 109: 7109-7114.
2. Saeki N, Kawanabe T, Ying H, Shimizu M, Kojima M, Abe H, Okazaki K, Kaji M, Taylor JM, Sakakibara H, Peacock WJ, Dennis ES, Fujimoto R. (2016) Molecular and cellular characteristics of hybrid vigour in a commercial hybrid of Chinese cabbage. *BMC Plant Biol.* 16: 45.
3. Kawamura K, Kawanabe T, Shimizu M, Nagano AJ, Saeki N, Okazaki K, Kaji M, Dennis ES, Osabe K, Fujimoto R. (2016) Genetic distance of inbred lines of Chinese cabbage and its relationship to heterosis. *Plant Gene* 5: 1-7 .
4. Kawanabe T, Ishikura S, Miyaji N, Sasaki T, Wu L, Itabashi E, Takada S, Shimizu M, Takasaki-Yasuda T, Osabe K, Peacock WJ, Dennis ES, Fujimoto R (2016) Role of DNA methylation in hybrid vigor in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA* 113: E6704-E6711.
5. 藤本龍 (2017) アブラナ科植物におけるゲノム多様性および雑種強勢に関する研究. *育種学研究* 19: 116-123.
6. Itabashi E, Osabe K, Fujimoto R, Kakizaki T. (2017) Epigenetic regulation of agronomical traits in Brassicaceae. *Plant Cell Rep* 37: 87-101 .
7. Fujimoto R, Uezono K, Ishikura S, Osabe K, Peacock WJ, Dennis ES (2018) Recent research on the mechanism of heterosis is important for crop and vegetable breeding systems. *Breed Sci* 68: 145-158
8. Shea DJ, Shimizu M, Itabashi E, Miyaji N, Miyazaki J, Osabe K, Kaji M, Okazaki K, Fujimoto R. (2018) Genome re-sequencing, SNP analysis, and genetic mapping of the parental lines of a commercial F₁ hybrid cultivar of Chinese cabbage. *Breed Sci* 68: 375-380.
9. Miyaji N, Fujimoto R. (2018) Hybrid vigor: importance of epigenetic processes and consequences for breeding. *Adv Bot Res* 88: 247-275.

学会発表

1. 藤本龍 (2017) アブラナ科植物におけるゲノム多様性および雑種強勢に関する研究
日本育種学会第131回講演会
2. Fujimoto R, Shimizu M, Miyaji N, Takada S, Fukushima N, Kaji M, Peacock WJ, Dennis ES (2016) Characterization of early developmental and yield heterosis in Chinese cabbage. *Brassica* 2016

3. 共同研究先

株式会社 渡辺採種場

CSIRO (オーストラリア)

アブラナ科野菜における分子育種

研究期間: 2011~2018年

研究背景・目的

アブラナ科野菜の品種育成においては、色、形、収量性、耐病性等、品種育成を行う上で重要となる形質がある。従来の育種では、これらの形質は、育種家による栽培試験によって選抜がなされてきた。一方、形質をDNAマーカーにより選抜できれば、育種選抜の効率化を図ることが可能となる。例えば、耐病性においては、接種試験により抵抗性の有無を判定することが可能であるが、その病害抵抗性に関するDNAマーカーが存在すれば、接種試験を行うことなく、抵抗性を判定できる。DNAマーカー選抜は、大量個体を扱うことができ、複数の形質を同時に判定することが可能であり、さらに、栽培環境による影響を受けないといった特徴がある。しかし、DNAマーカー選抜を実施するためには、その形質に関わる遺伝子が座乗する連鎖領域や、遺伝子そのものを特定する必要がある。我々は、アブラナ科野菜における重要形質の連鎖領域や遺伝子を特定し、DNAマーカーを作出し、育種の効率化に貢献することを目指して研究を進めている。

実験概要

- 遺伝学的解析 (QTL-seq解析等)により、形質に関わる連鎖領域を特定
- DNAマーカーの作製
- 選抜育種過程におけるDNAマーカーの実証試験

結果と考察

自家不和合性遺伝子のSハプロタイプ同定

アブラナ科植物は、自己の花粉との受精を拒絶する自家不和合性という性質を持っている。この性質は、F₁品種の採種に利用されている。自家不和合性は、1つの遺伝子座によって制御されており、花粉側因子と柱頭側因子が同じSハプロタイプ由来であると、受精が拒絶される。つまり、品種育成においては、異なるSハプロタイプを両親系統に用いる必要がある。育種素材においてSハプロタイプを同定することで、事前に交配が可能であるかを把握することができる。また、作製したF₁においては、自殖種子の混入が防がれているかを確認する必要がある。DNAマーカーによるSハプロタイプ同定法を利用することで、F₁種子の純度検定が可能となる。

- ✓ DNAマーカーを用いて、ハクサイ、コマツナの近交系のSハプロタイプ同定を実施した (Kawamura *et al.* 2015)。
- ✓ DNAマーカーを用いて、キャベツ市販品種におけるSハプロタイプ同定を実施し (Kawamura *et al.* 2017)、新規DNAマーカーを作製した (unpublished data)。
- ✓ ハクサイ、キャベツにおいて、多型検出能力が高いSSRマーカーを見出した (Kawamura *et al.* 2015, 2017)

病害抵抗性遺伝子の同定

- ✓ ハクサイにおいて、萎黄病抵抗性遺伝子を同定した (Shimizu *et al.* 2014)。
- ✓ ハクサイにおける、萎黄病抵抗性DNAマーカーを開発した (Shimizu *et al.* 2014, Kawamura *et al.* 2015)
- ✓ キャベツにおいて、萎黄病抵抗性遺伝子を同定した (Shimizu *et al.* 2015)。
- ✓ キャベツにおいて、萎黄病抵抗性DNAマーカーを開発した (Shimizu *et al.* 2015, Kawamura *et al.* 2017)
- ✓ キャベツにおいて、根こぶ病抵抗性の遺伝様式を明らかにし (Tomita *et al.* 2012)、DNAマーカー選抜により、キャベツ市販品種の抵抗性を予測した (Kawamura *et al.* 2017)。

晩抽性に関わるDNAマーカーの作製

アブラナ科葉菜類は、出荷前に花芽をつけると商品価値が損なわれるため、開花が遅い(抽だいが遅い)晩抽性が重要な形質となる (Shea *et al.* 2018)。そこで、アブラナ科葉菜類の晩抽性の分子機構を理解し、DNAマーカー選抜を育種過程へ導入することを試みている。

発表論文

1. Pu Z *et al.* (2012) Genetic mapping of a fusarium wilt resistance gene in *Brassica oleracea*. *Mol Breed* 30: 809-818.
2. Shimizu M *et al.* (2014) Identification of candidate genes for Fusarium yellows resistance in Chinese cabbage by differential expression analysis. *Plant Mol Biol* 85: 247-257.
3. Shimizu M *et al.* (2015) Map-based cloning of a candidate gene conferring Fusarium yellows resistance in *Brassica oleracea*. *Theor Appl Genet* 128: 119-130.
4. Kawamura *et al.* (2015) Genetic characterization of inbred lines of Chinese cabbage by DNA markers; towards the application of DNA markers to breeding of F₁ hybrid cultivars. *Data Brief* 6: 229-237.
5. Pu Z *et al.* (2016) Changes in the proteome of xylem sap in *Brassica oleracea* in response to *Fusarium oxysporum* stress. *Front Plant Sci* 7: 31.
6. Kawanabe T *et al.* (2016) Development of primer sets that can verify the enrichment of histone modifications, and their application to examining vernalization-mediated chromatin changes in *Brassica rapa* L. *Genes Genet Syst* 91: 1-10.
7. Kawamura K *et al.* (2017) Assessment of DNA markers for seed contamination testing and selection of disease resistance in cabbage. *Euphytica* 213: 28.
8. Miyaji N *et al.* (2017) Comparison of transcriptome profiles by *Fusarium oxysporum* inoculation between Fusarium yellows resistant and susceptible lines in *Brassica rapa* L. *Plant Cell Rep* 36: 1841-1854.
9. Shea DJ *et al.* (2018) The role of *FLOWERING LOCUS C* in vernalization of *Brassica*: the importance of vernalization research in the face of climate change. *Crop & Pasture Sci* 69: 30-39.

特許

- ✓ アブラナ科植物のS遺伝子型同定方法 (特願 2003-78590)
発明者：西尾剛、藤本龍、岡本俊介、赤松豊和、坂本浩司、榛澤英昭
- ✓ 萎黄病菌耐性を有するポリヌクレオチド、及びその利用、並びにアブラナ科植物の萎黄病菌に対する耐性の判定方法」(特開2015-073509)
発明者：岡崎桂一、藤本龍、川辺隆大、清水元樹、蒲子じん、加治誠、長岡朝彦

共同研究先

株式会社 渡辺採種場

新潟大学大学院自然科学研究科

農研機構 野菜花き研究部門