

東京農業大学
博士論文

トマトの早期開花性と草姿に関わる QTL 解析

指導教授 峯 洋子

2019 年 3 月 21 日

農学専攻
中野 玄

第1章. 研究の背景と目的	1
第2章. 開花時期ならびに開花に至るまでの諸過程に関わる QTL 解析	7
第1節. 花芽分化時期についての QTL 解析	7
第2節. 発芽関連形質についての QTL 解析	23
第3節. 葉間期についての QTL 解析	36
摘要	43
第3章. NIL を用いた QTL 解析	45
第1節. 第1染色体の DTF QTL 検出領域	45
第2節. 第3染色体の DFI QTL 検出領域	60
第3節. 第4染色体の DFI QTL 検出領域	67
摘要	78
第4章. 草姿に関わる QTL 解析	80
摘要	97
第5章. 総合考察	98
総摘要	105
Summary	107
謝辞	109
引用文献	110

第 1 章 研究の背景と目的

国内トマト生産の動向

作物栽培において収量の向上は重要な課題の一つであり、特に近年の施設栽培トマトでは、年間の総収量を高めることが経営上重要であるとされる。我が国における年間のトマト収量は 1980 年代以降 $10\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$ に満たない値でほぼ横ばいを続けているが、(農林水産省, 2017), オランダの年間トマト収量は 1983 年の $30\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$ から 2005 年では $60\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$ へと 22 年間で 2 倍になっている (Higashide ら, 2015 ; FAO, 2016)。オランダ品種の収量が高い原因の一つとして、Saito ら (2011) はオランダ品種の方が我が国の品種よりも、光合成速度が高いことを挙げており、Higashide ら (2012) は、我が国の品種育成において収量性の向上ではなく、品質が重視された結果であると述べている。オランダの他、アメリカ・カリフォルニア州でも過去 80 年間に加工トマトの年間収量が 2 倍以上になっていることが報告されている (Barrios-Masias と Jackson, 2014)。

我が国のトマト収量が低いもう一つの要因は、オランダとの夏の気象条件の違いである。我が国のような高温多湿地域では、夏季の高温により収量が低下しやすく、トマトの長期多段栽培で高収量を実現するためには環境制御技術が不可欠になる (安場ら, 2011)。しかし、夏場の温室内の環境制御には高軒高温室の建設、空調施設の設置など多大な投資が必要で、一般の生産者が簡単に実施できるものではない (鈴木, 2006)。このため、近年、年間の総収量を向上させる栽培法として、第 1~3 花房の上、2~3 枚の葉を残して摘心する低段密植栽培が提案されている。低段密植栽培では、夏季の高温による草勢低下の影響を小さくすることができるが、短期間で栽培を打ち切るために、収穫段数が減少し、個体あたりの収量が

低下する。そこで、栽植本数を増やし、年間作付け回数を 3~4 回に増やすことによって面積あたりの収量を維持、あるいは向上させようという狙いがある（久富と藤本，1978）。低段密植栽培の特性を十分に発揮させるためには、定植後、第 1~2 花房の開花時期や収穫までの日数が短く、また密植条件下でも高い群落光合成速度を維持できる特性を持った品種の育成が必要と考えられるが、低段密植栽培に向けた品種の育成については、ほとんど行われていない。

トマトの開花時期に関する遺伝学的研究

シロイヌナズナでは開花時期に関する突然変異体を利用した遺伝学的研究が進み、光（日長や光質）、温度、植物ホルモン、齢などがシグナルとなるいくつかの経路が花成に関与し（Boss ら，2004；Lee と Lee，2010）、最終的には花成シグナルが 3 つの遺伝子（*LEAFY*，*FLOWERING LOCUS T*，*AGAMOUS-LIKE 20*）に統合されて花成が誘導されることが明らかになっている（Simpson と Dean，2002）。また、イネでは、突然変異体の利用の他、開花時期に大きな差がある種間や亜種間の交配によって組み換え近交系統を育成して量的形質遺伝子座（QTL）解析が行われ、開花に関わる QTL や遺伝子が明らかにされている（Izawa ら，2000；Lin ら，2000；Kojima ら，2002；Monna ら，2002；Hagiwara ら，2009）。その結果、シロイヌナズナとは異なり、長日条件下と短日条件下とでは異なる経路によって花成が進行することが明らかにされている（Komiya ら，2008；Komiya ら，2009；Tsuji ら，2010）。一方、トマトではシロイヌナズナやイネに比べると研究が遅れており、開花に関する QTL やシグナルを統合する遺伝子を同定する研究が進んでいる段階で、花成経路の解明

には至っていない (Périlleux ら, 2014).

Jiménez-Gómez ら (2007) は, 開花に関わる QTL について既往の研究を取りまとめ, 播種から開花までの日数 (DTF), 第 1 花房下葉数 (LN), 果実発達までの日数 (DFF), 果実成熟日数 (DFR) に関わる QTL が同一の領域に見出される場合のあることを指摘している. このように複数の QTL が同じ位置に検出された場合には, 一つの QTL が複数の形質を制御している可能性があるが, Jiménez-Gómez ら (2007) は一つの QTL の多面発現によって DTF, LN, DFF, DFR が制御されている可能性について明確な議論をしていない. ところで, 開花時期は発芽, 花芽分化, 花芽発達などの諸過程に分割することができるが, これまで行われてきた研究は開花時期=花芽分化時期と考え, 発芽や花芽発達の過程については考慮していない. このため, 発芽, 花芽分化, 花芽発達などの諸過程を制御する QTL が異なる位置にばらばらに存在しているのか, あるいは, まとまった位置に存在する場所があるのか, さらに多面的発現をしている QTL があるのか, といった点については全く調べられていない.

量的形質遺伝子座 (QTL) 解析とマーカー利用選抜 (MAS)

DNA マーカー解析技術が普及し, QTL 解析用マッピング集団が開発され, これまでに収量, 開花時期, 植物形態など, 多数の形質に関わる QTL 解析が行われてきた. その結果, これまでに, 農業上有用と考えられる形質についてイネ, トウモロコシ, トマトでは多数の QTL が検出されている (Stuber ら, 1992 ; De Vicente と Tanksley, 1993 ; Lindhout ら, 1994 ; Grandillo と Tanksley, 1996 ; Xiao ら, 1998 ; Monforte ら, 1999 ; Doganlar ら,

2002 ; Morean ら, 2004 ; Ma ら, 2007 ; Villalta ら, 2007 ; Wang ら, 2012). 育種において, 表現型に基づいた選抜ではなく, 有用な形質と連鎖した DNA マーカーの遺伝子型によって選抜 (マーカー利用選抜, MAS ; Foolad と Panthee, 2012) を行うと, 育種は効率的に進めることができると考えられているが (Hospital, 2009), 実際の育種計画に利用されることは少ない (Bernardo, 2008). その背景には, QTL×QTL 交互作用 (Eshed と Zamir, 1996) や QTL×環境交互作用 (El-Soda ら, 2014) などによって, 導入した QTL の効果が打ち消されてしまう場合があるためである (Shen ら, 2001). このため, 環境条件や遺伝的背景が異なっても安定的に効果が表れる QTL を見出すことが育種上, 重要とされる. しかし, QTL×QTL 交互作用や QTL×環境交互作用を従来の F₂ 集団や戻し交雑自殖系集団 (BIL) を用いた QTL 解析のみで明らかにすることは困難である (Melchinger ら, 1998 ; Canady ら, 2005 ; Keurentjes ら, 2007 ; Hospital, 2009 ; Barrantes ら, 2014). そこで, 栽培種の遺伝的背景に, 標的とした QTL 領域だけを野生種由来の染色体断片で置換した準同質遺伝子系統 (NIL) を育成し, QTL の効果を評価する必要があるとされている (Paterson ら, 1990 ; Bernacchi と Tanksley, 1997 ; Monforte ら, 2001 ; Ebitani ら, 2005 ; Chaib ら, 2006). しかし, NIL の育成には時間や労力を含め, 多大なコストがかかることから, QTL×QTL (エピスタシス) 交互作用や QTL×環境交互作用 (QE 効果) についてはまだ十分に調べられていない.

密植適応性からみた草姿

低段密植栽培では収量を確保するため, 栽植密度を高めるが, 密植にするほど葉が込み合

い、茎葉の相互遮蔽によって受光量が減少し、群落光合成量が減って、減収する危険性が高まる。一方、群落の受光量は、単位地表面積当たりの葉面積（積算葉面積指数）が同じでも、葉の付き方や出葉角度によって差が生じる。したがって、低段密植栽培のように、積算葉面積指数の高い群落での栽培においては、受光量を高める植物体の立体的構造（草姿）を明らかにすることが必要と考えられる。Higashide と Heuvelink (2009) は、1950 年から 2000 年の 50 年間に育成されたオランダのトマト品種で、育成年が新しい品種ほど収量が高くなる原因として、葉と茎との角度が小さくなって群落の吸光係数 (k) が低下し、光利用効率が高くなることを挙げている。Feng ら (2010) は、直立型と下垂型の 2 つのトマト系統を比較し、直立型の系統は、短く、垂直に近い葉を持つため、群落内部における光強度の減少が抑えられることを明らかにした。したがって、低段密植栽培の利点を最大限発揮するためには、Feng ら (2010) の指摘するような短く、垂直に近い葉を持つ品種の育成が必要になると考えられるが、これまで、我が国ではそうした育種は行われておらず、それら形質に関わる QTL もまだ十分解明されてはいない。

本研究の目的

本研究の目的は、(1) 開花時期を構成する様々な形質（花芽分化，発芽，葉間期）について戻し交雑自殖系集団（BIL）を用いた QTL 解析を行い、(2) QTL 解析によって検出された QTL を標的とした NIL を育成し、これを複数の環境で栽培して、遺伝子型×環境相互作用を調べることによって、開花関連形質に対する QTL と QE の効果を評価すること、(3) 密植条件に適した草姿（葉の角度や広がり）に関わる QTL について調査し、開花に関わる

QTL との関連について検討することである.

第2章 開花時期ならびに開花に至るまでの諸過程に関わる QTL 解析

第1節 花芽分化時期についての QTL 解析

2.1.1. 緒 言

トマトの開花までの日数 (DTF) は、収穫開始時期を決定する重要な要因である (Calvert, 1959). トマトは一般に、8-12 枚程度の葉を形成した後、頂芽に花序の原基を形成する (Lifschitz と Eshed, 2006). したがって、葉の分化速度が同じ場合には、第1花房を分化するまでの葉数 (LN) が少ないほど早期に開花する. 特に、日射が弱く日長が短い時期における栽培では LN が少ないことは早期開花に有利な形質であるとされる (Dieleman と Heuvelink, 1992). このため、LN は、開花時期の指標として利用されることが多い. LN で見たトマトの開花時期は、子葉展開後約9日間の 'sensitive phase' に遭遇した環境条件に左右されることが報告されている (Wittwer と Teubner, 1956; Samach と Lotan, 2007).

トマトの花成誘導を制御する遺伝子に関する研究は数多く行われている (Quinet と Kinet, 2007; Samach と Lotan, 2007; Lozano ら, 2009). Jiménez-Gómez ら (2002) は、トマトの花成を制御している既知の遺伝子 (*PHYE*, *FA*, *FLC* 様, *CRY1*, *PHYB2*, *SP*, *J*) と DTF QTL や LN QTL が同じ位置に座乗していることを指摘している. そこで、DTF QTL や LN QTL はトマトの花成時期に重要な役割を果たしていると考えられるが、開花時期は花成時期だけによって支配されているのではなく、発芽や出芽の早晚、花芽分化後の花芽の発達速度、葉の分化速度などにも影響されると考えられる. しかし、これらの過程について QTL 解析を行った研究は少なく、DTF QTL が子葉展開から蕾出現までの日数 (DMB) や蕾出現から開花までの日数 (FDD) を制御する QTL と同じ位置に検出される場合があること

を明らかにした例があるに過ぎない (Sumugat ら, 2010). 複数の QTL が同一位置に検出された場合, 一つの QTL が複数の形質を制御している多面発現である場合と, 個々の形質を制御する複数の QTL がごく近傍に座乗している場合が考えられるが, DTF が DMB や FDD など, 開花に至る諸過程のすべて, あるいは多くを制御する一つの QTL の多面発現によって制御されているのか, どうかは明らかにされていない. そこで, この点を明らかにする手がかりを得ることを目的に, 本章では QTL 解析によって, 花芽分化や子葉展開を制御する QTL と DTF QTL が同じ位置に検出されるかどうかを明らかにしようとした.

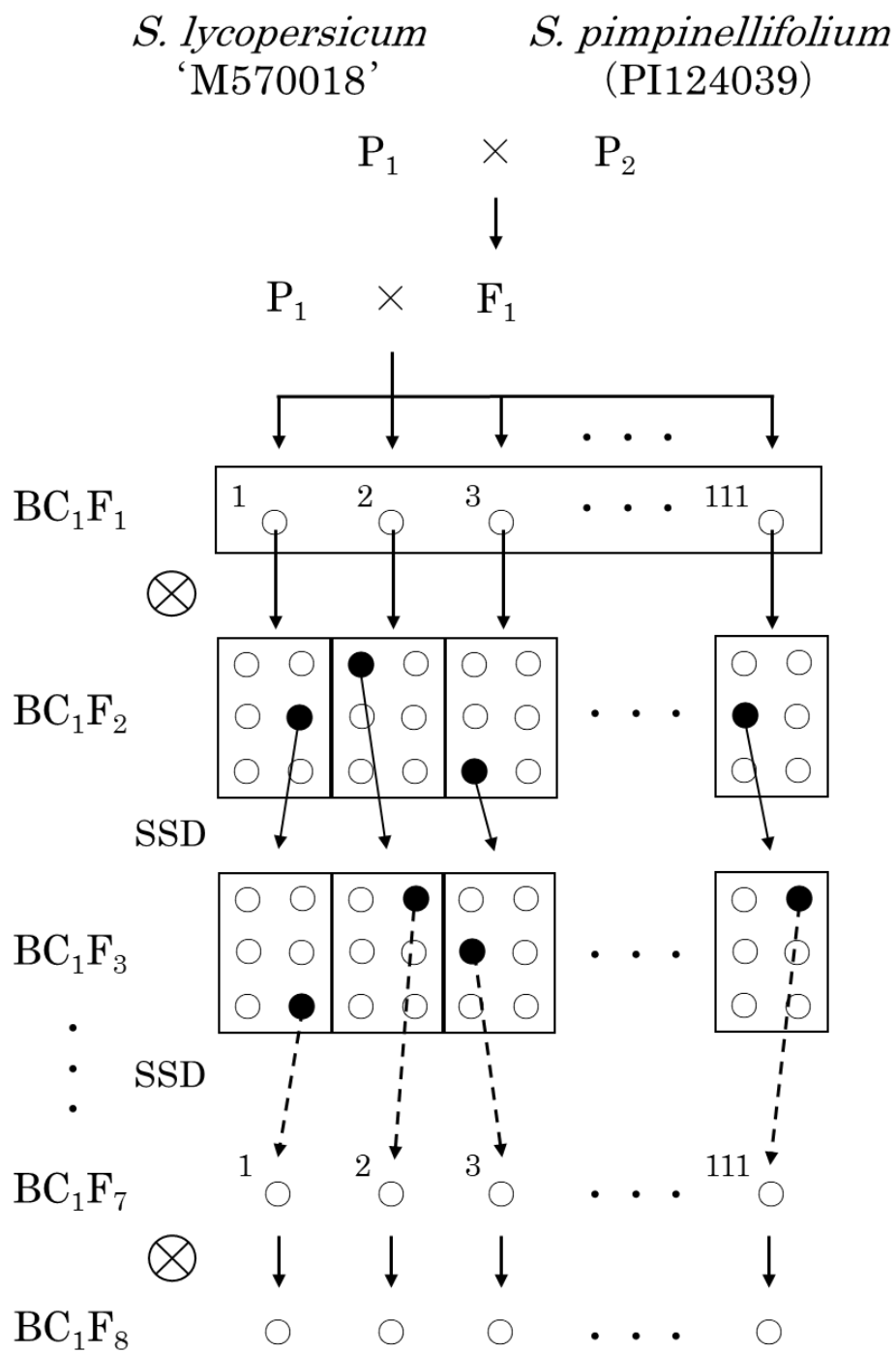
2.1.2. 材料および方法

植物材料

トマト栽培種 *Solanum lycopersicum* 'M570018' と近縁野生種 *Solanum pimpinellifolium* (PI124039) を交配した F₁ に栽培種の花粉を戻し交配して得られた BC₁F₁ を単粒系統法 (SSD) によって BC₁F₇ 世代まで進めた戻し交雑自殖系集団 (BIL) 111 系統を供試した。BC₁F₇ 世代を遺伝子型評価, BC₁F₈ 世代を表現型評価に利用した (第 1 図)。

播種から開花までの日数と第 1 花房下葉数に関わる QTL 解析

2012 年 4 月 11 日 (春実験) と 2012 年 9 月 13 日 (秋実験) に, BIL と両親の種子をニッピ園芸培土 1 号 (日本肥糧, 東京) とサカタスーパーミックス A (サカタのタネ, 神奈川) を体積比で 1:1 に混合した培養土を詰めた, 直径 7.5cm プラスチックポットに播種した。植物体は春実験では 2012 年 5 月 3 日, 秋実験では 2012 年 10 月 3 日に直径 18cm プラスチックポットに定植した。整枝は一本仕立てとし, 栽植密度は 5.7 本/m² となるようにポットを配置した。播種後 8 週目からは毎日, 1000 倍に希釈した液肥 (ハイポネックス 6-10-5, ハイポネックスジャパン, 大阪) を 1 ポット当たり 300ml 施与した。実験は乱塊法で 5 反復となるように設計した。播種から第 1 花房の第 1 花が開花するまでの日数 (DTF) と第 1 花房下葉数 (LN) を計測した。



第 1 図 戻し交雑自殖系集団 (BIL) 111 系統の育成経過. SSD: 単粒系統法.

子葉展開までの日数と花芽分化時期に関わる QTL 解析

2011 年 11 月 (試験 1), 2012 年 1 月 (試験 2), 2012 年 2 月 (試験 3), 2012 年 6 月 (試験 4) に, BIL と両親の種子を各系統 4 粒ずつ, 培養土 (与作-N150, ジェイカムアグリ, 東京) を詰めた直径 7.5cm のプラスチックポットに各系統 6 ポットになるように播種した. 試験 1~4 の平均気温はそれぞれ 20.1°C, 18.9°C, 18.0°C, 22.8°C であった. 植物体は温室内で管理し, 25°C 以上で換気, 14°C 以下で暖房が入るように設定した. 植物体は子葉展開までの日数 (COT) を記録し, 数日後に各系統 3 個体の茎頂を実体顕微鏡下で観察した. 茎頂が二分した個体を花芽分化個体とし (Allen と Sussex, 1996), 観察した 3 個体すべてで花芽分化が認められるまで続けた. 子葉展開から花芽分化までの日数 (DFI) を算出した.

DNA マーカー解析と QTL 解析

161 のマーカーを用いて連鎖地図を作成した. DNA は植物体から 0.1g の葉を採取し, Phyto Pure plant DNA extraction kit (Amersham Biosciences, Buckinghamshire, UK) を用いて抽出した. 2ml のマイクロチューブに細かく刻んだ葉片と Phyto Pure plant DNA extraction kit の反応 I 液 600 μ l と反応 II 液 200 μ l を入れてビーズ式ホモジナイザー (BeadSmash 12, ワケンビーテック, 京都) にかけて, 2000rpm で 60 秒間粉碎した. その後の操作は製造者の方法に準じて行った. PCR の反応液は鋳型 DNA (4ng/ μ l) 10 μ l, BPB (ブロモフェノールブルー/グリセロール(99.5%)) 2 μ l, 10 \times PCR バッファー2 μ l, 2.5mM dNTP 1.6 μ l, 50mM の MgCl₂ 0.72 μ l, 20 μ M forward and reverse primers 0.4 μ l, 0.5units の Taq DNA ポリメラーゼ (BioTaq, Bioline, London), 滅菌水 3.18 μ l で全量を 20 μ l とし

た.

PCR の条件は最初 94°C に 5 分間置いた後, (1) 94°C 30 秒, (2) 48-55°C 45 秒, (3) 72°C 45 秒を 35 サイクル繰り返し, 最後に 72°C に 5 分間置いた. サイクル中の反応 (2) におけるアニーリング温度は, 各マーカーの T_m 値に合わせて適宜設定した. COS II と CAPS マーカーの場合は, その PCR 産物を 37°C 10 時間制限酵素処理した. 制限酵素は *AfaI*, *AluI*, *BamHI*, *BclI*, *BclII*, *BglII*, *DraI*, *DpnII*, *EcoRI*, *EcoRV*, *FbaI*, *HincII*, *HindIII*, *HinfI*, *KpnI*, *MspI*, *PvuII*, *XbaI* の 17 種類を用いた. 上記の PCR 産物を対象にポリアクリルアミドゲルまたはアガロースゲルを用いた電気泳動を行い, 多型解析を行った. PCR 産物は, ポリアクリルアミドゲルを用いた場合には, ランニングゲル (13% アクリルアミド/ビスアクリルアミド, 18cm×6cm) にスタッキングゲル (5% アクリルアミド/ビスアクリルアミド) を重ね, NB-5010 (日本エイドー, 東京) を用いて 80V, 90 分間電気泳動を行った. アガロースゲルを用いた場合には, 3% アガロースゲルを用い 150V, 90 分間電気泳動を行った. ゲルの染色には 0.1ppm の臭化エチジウム (和光, 大阪) を使用した. 上記染色液に 30 分間浸したゲルをゲル撮影装置に置き, UV 光照射して泳動像を撮影し DNA バンドを解析した.

連鎖地図作成には MAPMAKER/EXP ver.3.0b の ‘ri self’ モードを用いた (Lander ら, 1987). 組み換え率を遺伝的距離 (cM) に変換するために Kosambi 関数を用いた (Kosambi, 1944). 得られた連鎖地図と形質データについて QTL Network ver2.1 (Yang ら, 2007, 2008) を用いて栽培時期を環境要因として QTL 解析を行った ($P > 0.05$, 1000 permutations). 検出した QTL の名前は, 形質の略称に続いて染色体番号を付し, 同じ染色体上に同じ形質を制御する QTL が複数検出された場合は, 染色体番号に続けて昇順で番号を付けた.

2.1.3. 結 果

播種から開花までの日数と第1花房下葉数

春、秋の実験ともに、栽培種は野生種に比べてDTFが長く（第1表）、BILの平均値は栽培種と野生種の間であった。一方、LNには、野生種、栽培種、BILの間で有意な差は認められなかった。DTFとLN、いずれの形質もBILの頻度分布は連続的な分布を示した（第2図）。DTFとLNは春実験と秋実験の両方で有意な相関を示した（それぞれ $r = 0.64^{**}$ と $r=0.62^{**}$ ）。

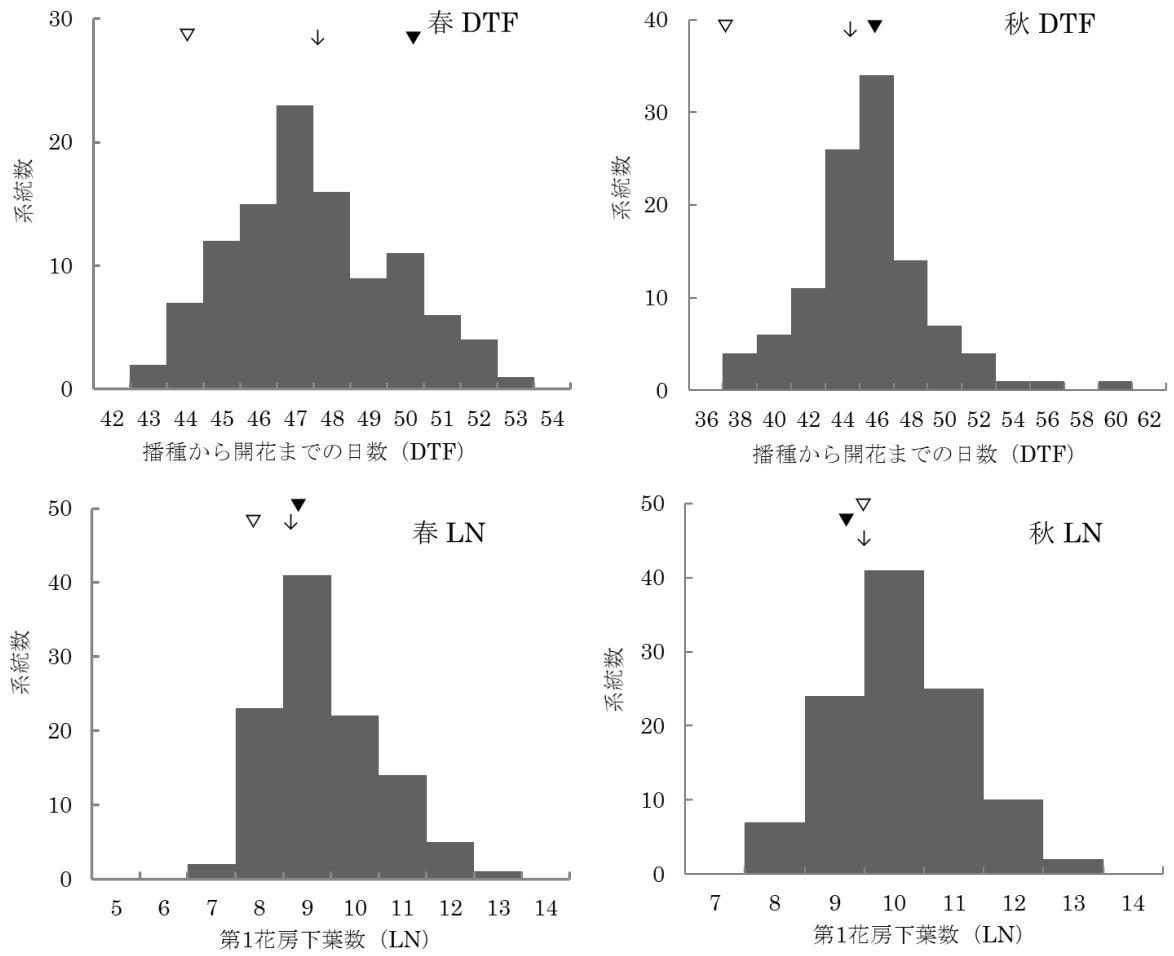
第1表 播種から開花までの日数と第1花房下葉数の平均値、標準誤差および有意性

季節／ 形質	SL ^z	SP ^z	BIL ^z	SL : BIL	SP : BIL	SL : SP
春実験						
DTF ^x	50.4±0.5	44.4±0.5	47.8±0.2	**	**	**
LN ^x	8.9±0.2	8.2±0.2	8.8±0.1	NS	NS	NS
秋実験						
DTF	46.9±1.1	38.1±0.6	45.3±0.2	NS	**	**
LN	9.3±0.2	9.5±0.5	9.5±0.1	NS	NS	NS

^z SL：栽培種，SP：野生種，BIL：戻し交雑自殖系集団

^y Tukey-Kramer 検定による統計解析結果。NSは有意差なし，**は1%水準で有意差を示す。

^x DTF：播種から開花までの日数，LN：第1花房下葉数



第2図 戻し交雑自殖系集団における播種から開花までの日数と第1花房下葉数の頻度分布。
 ▼：栽培種‘M570018’の平均値，▽：近縁野生種（PI124039）の平均値，↓：戻し交雑自殖系集団の平均値

DTF に関わる相加効果 QTL (相加効果を持つ QTL, 以下同様) が第 1, 7 染色体に各 1 つ, LN に関わる相加効果 QTL が第 3, 7 染色体に各 1 つ検出された (第 2 表). *dtf1* と *dtf7* の寄与率を合わせると表現型変異の 25% を占めており, どちらも野生種由来の対立遺伝子が DTF を短縮させる方向の働きを示した. *ln3* と *ln7* はそれぞれ表現型変異の 28.1% と 4.6% を占めており, *ln3* は野生種の対立遺伝子が LN を増加させたが, *ln7* は LN を減少させる方向に働いた. また, DTF に関わるエピスタシス QTL 対が 1 対検出され (第 3 表), 組み換え型の対立遺伝子対が DTF を増加させることが示された. なお, エピスタシス QTL 対の QTL は共に相加効果を示さなかった.

第 2 表 播種から開花までの日数と第 1 花房下葉数の相加効果 QTL

形質	QTL	近接マーカー	F 値 ^z	A ^y	h ² _A ^x
DTF	<i>dtf1</i>	TGS0271~C2_At5g49480	15.9	1.258	12.1
	<i>dtf7</i>	SSR45~C2_At3g15430	12.2	1.269	13.6
LN	<i>ln3</i>	LELAT59G~TGS0103	33.3	-0.712	28.1
	<i>ln7</i>	SSR45~C2_At3g15430	9.0	0.408	4.6

^z QTL が検出された領域の F 値のピーク値

^y A: 相加効果, 正の値は栽培種の対立遺伝子が野生種の対立遺伝子よりも表現型値を増加させ, 負の値は野生種由来の対立遺伝子が栽培種の対立遺伝子よりも表現型値を増加させることを示す.

^x 相加効果によって説明された表現型変異の割合 (%)

第 3 表 播種から開花までの日数のエピスタシス QTL

形質	QTL _i	近接マーカー	QTL _j	近接マーカー	AA ^z	h ² _A ^y
DTF	<i>dtf3</i>	CBF~LELAT59G	<i>dtf5</i>	C2_At3g55360~SSR162	1.258	12.1

^z AA: 相加×相加効果, 正の値は遺伝子座同士が両親型 (QiQi QjQj もしくは qiqi qjqj) のとき組み換え型の遺伝子座 (QiQi qjqj もしくは qiqi QjQj) よりも表現型値を増加させ, 負の値は組み換え型の遺伝子座同士が両親型の遺伝子座よりも表現型値を増加させることを示す.

^y QTL によって説明された表現型変異の割合 (%)

子葉展開までの日数と花芽分化までの日数

DFIは数字が系統ごとに1つずつしか得られないため、統計処理を行うことができなかった。DFIは試験によって分布パターンが大きく異なり、試験4では二つのピークが見られたが、COTはいずれの試験でも同様の、連続的な分布を示した(第3図)。COTに関して、試験1と4では野生種よりも栽培種の方が遅かったが、試験2では野生種の方が遅く、試験3では野生種と栽培種の間有意差は認められなかった(第4表)。また、BILの平均値は試験4を除いて両親との差は有意であった。DFIとCOTの相関係数は試験2と3では正の値、試験1と4では負の値を表した(相関係数はそれぞれ-0.21*, 0.20*, 0.13, -0.20*)。

DFIに関わる相加効果QTLが第3, 4, 6, 7染色体に各1つ検出され、寄与率はそれぞれ7.1%, 3.8%, 5.9%, 6.8%であった(第5表)。*dfi3*は野生種由来の対立遺伝子がDFIを0.78日増加させたが、*dfi4-2*, *dfi6*, *dfi7*はそれぞれ野生種の対立遺伝子が0.52日, 0.67日, 0.97日減少させることが示された。また、2つの相加効果QTLに関わる1対のエピスタシスQTLと4つの相加効果を示さないQTLに関わる2対のエピスタシスQTLが第1, 3, 4, 7, 8, 12染色体に検出された(第6表)。COTに関して、第1染色体に2つ、第4染色体に1つの相加効果QTLを検出し、寄与率は3.4~10.9%であった。検出された3つのCOT QTLのうち2つはQE作用を示し、COT QTLは環境に影響を受けやすいことが示された(第5表)。

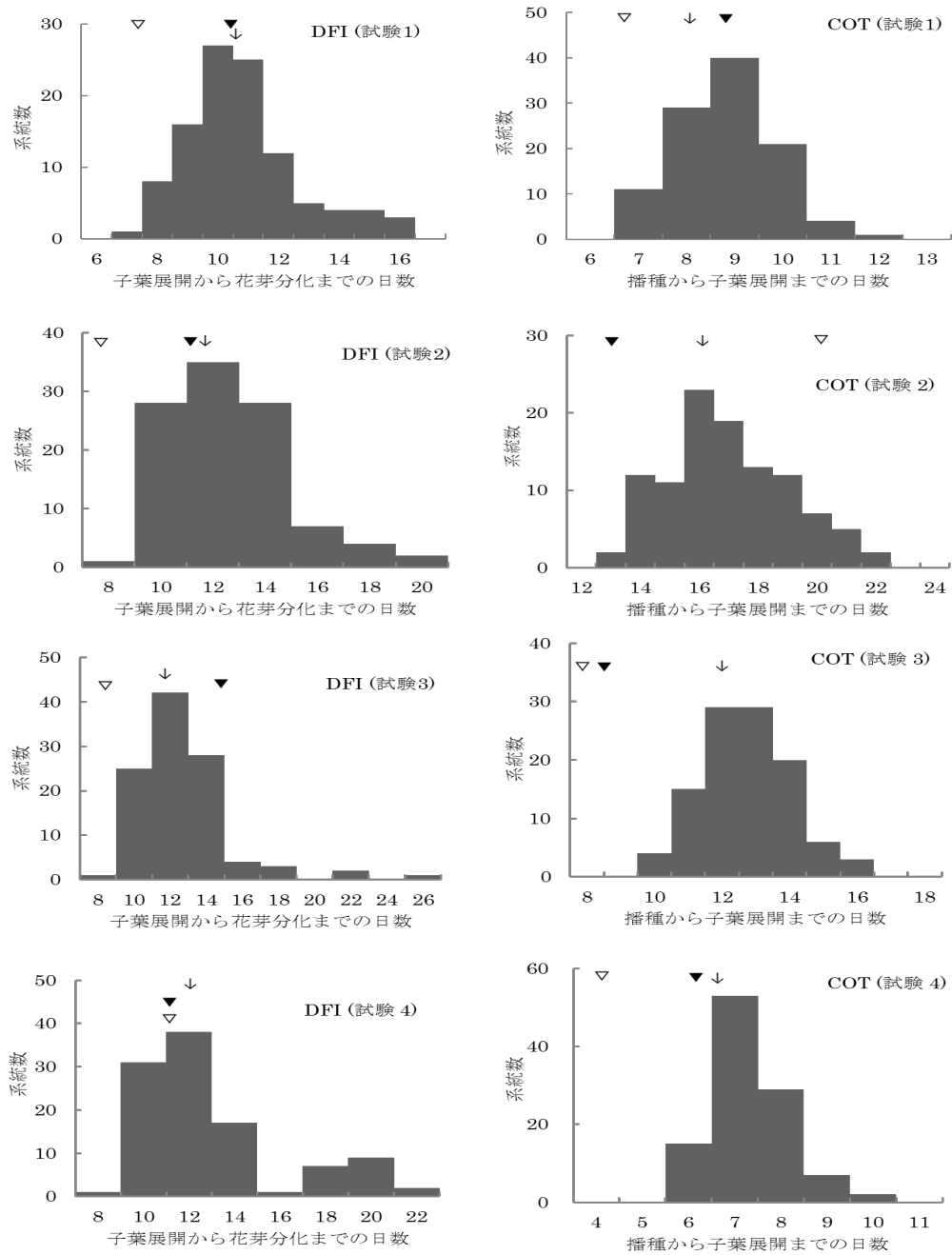
第 4 表 花芽分化までの日数，子葉展開までの日数の平均値，標準誤差および有意性

形質	SL ^z	SP ^z	BIL ^z	有意性 ^y		
				SL : BIL	SP : BIL	SL : SP
試験 1						
DFI ^x	11.0	8.0	10.9±0.2	—	—	—
COT ^x	8.8±0.4	7.0±0.2	8.3±0.0	**	**	**
試験 2						
DFI	12.0	9.0	12.1±0.2	—	—	—
COT	13.3±0.3	20.0±0.4	16.3±0.1	**	**	**
試験 3						
DFI	15.0	10.0	12.2±0.2	—	—	—
COT	8.9±0.4	8.3±0.2	12.2±0.0	**	**	NS
試験 4						
DFI	12.0	12.0	12.5±0.3	—	—	—
COT	6.3±0.1	4.5±0.2	6.8±0.0	NS	**	**

^z SL：栽培種，SP：野生種，BIL：戻し交雑自殖系集団

^y Tukey-Kramer 検定による統計解析結果．NS は有意差なし，**は 1%水準で有意差を示す．

^x DFI：子葉展開から花芽分化までの日数，COT：播種から子葉展開までの日数



第3図 戻し交雑自殖系集団における子葉展開から花芽分化までの日数と播種から子葉展開までの日数の頻度分布図. ▼:栽培種‘M570018’の平均値, ▽:近縁野生種(PI124039)の平均値, ↓:戻し交雑自殖系集団の平均値

第 5 表 花芽分化までの日数と子葉展開までの日数の相加効果 QTL

形質	QTL	近接マーカー	F 値 ^z	A ^y	$h^2_{A^x}$	AE ^y	$h^2_{AE^x}$
DFI	<i>dfi3</i> ^{*w}	LELAT59G~TGS0103	5.9	-0.776	7.1		
	<i>dfi4-2</i>	TGS0411~LEOH37	6.4	0.517	3.8		
	<i>dfi6</i>	U146140~SSR350	5.9	0.665	5.9		
	<i>dfi7</i> ^{*w}	U216327~SSR45	8.0	0.973	6.8		
COT	<i>cot1-1</i>	TGS0271~C2_At5g49480	5.5	0.059	6.0		
	<u><i>cot1-2</i></u> ^w	SSR134~TGS3365	5.2	0.599	10.9	-0.251(e4)	2.1
	<u><i>cot4</i></u> ^w	SSR306~TGS0411	6.4	0.199	3.4	0.250(e2)	2.7

^z QTL が検出された領域の F 値のピーク値

^y A : 相加効果, 正の値は栽培種の対立遺伝子が野生種の対立遺伝子よりも表現型値を増加させ, 負の値は野生種由来の対立遺伝子が栽培種の対立遺伝子よりも表現型値を増加させることを示す.

AE : 相加×環境交互作用 ; (e2) 試験 2, (e4) 試験 4.

^x h^2_A : 相加効果によって説明された表現型変異の割合 (%)

h^2_{AE} : 相加×環境交互作用によって説明された表現型変異の割合 (%)

^w 下線を付した QTL は相加×環境交互作用を示した QTL, *を付した QTL は相加効果とエピスタシス効果の両方を示した QTL を表す.

第 6 表 子葉展開から花芽分化までの日数のエピスタシス QTL

形質	QTLi	近接マーカー	QTLj	近接マーカー	AA ^z	$h^2_{A^y}$
DFI	<i>dfi1</i>	TGS3365~TGS0748	<i>dfi4-1</i>	Hero~LEOH361	0.526	2.9
	<i>dfi3</i> ^{*x}	LELAT59G~TGS0103	<i>dfi7</i> ^{*x}	U216327~SSR45	-0.504	3.3
	<i>dfi8</i>	SSR344~TGS0559	<i>dfi12</i>	cLET-8-K4~CT99	-0.681	5.0

^z AA : 相加×相加効果, 正の値は遺伝子座同士が両親型 (QiQi QjQj もしくは qiqi qjqj) のとき組み換え型の遺伝子座 (QiQi qjqj もしくは qiqi QjQj) よりも表現型値を増加させ, 負の値は組み換え型の遺伝子座同士が両親型の遺伝子座よりも表現型値を増加させることを示す.

^y QTL によって説明された表現型変異の割合 (%)

^x *を付した QTL は相加効果とエピスタシス効果の両方を示した QTL を表す.

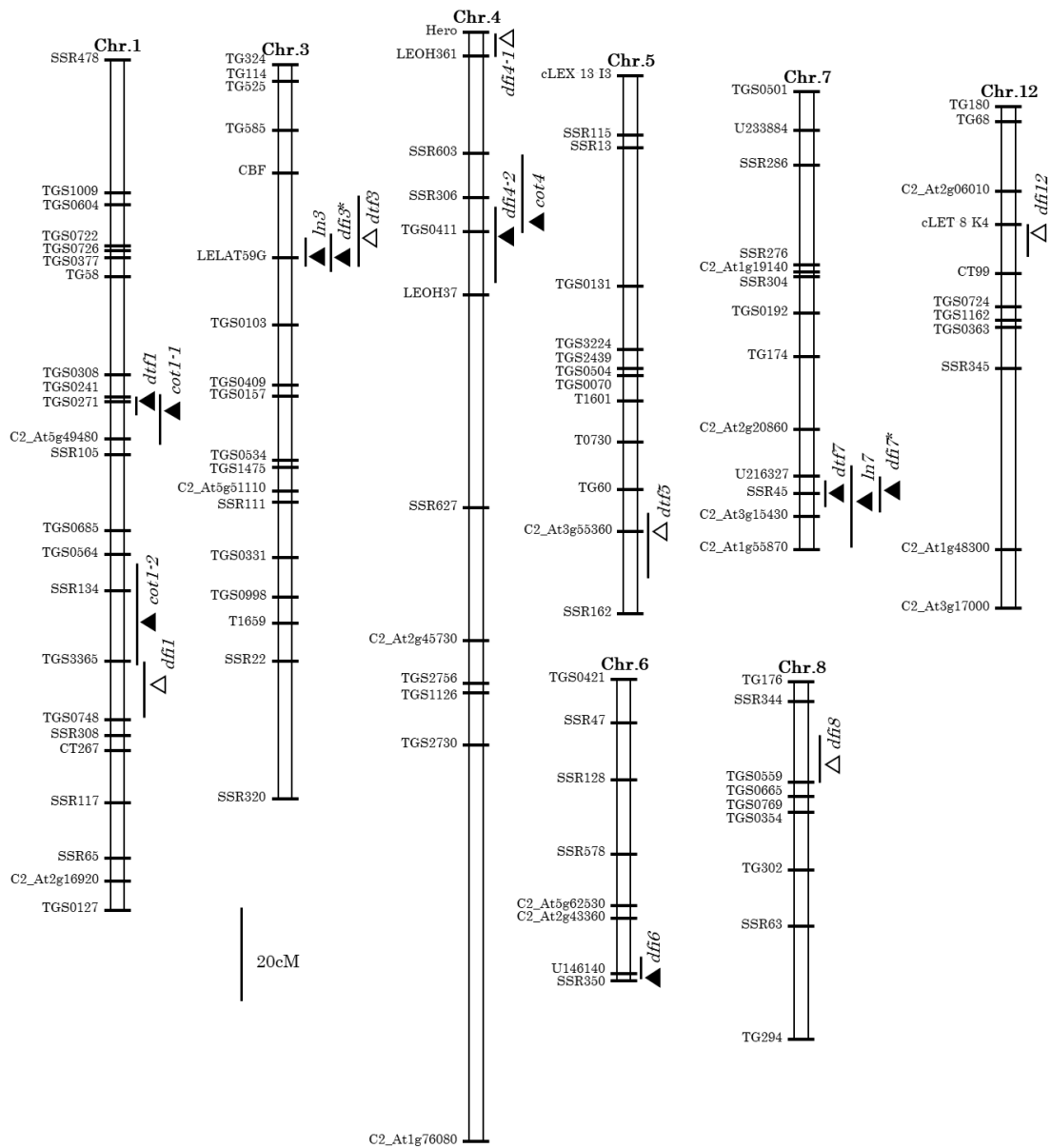
2.1.4. 考 察

本実験で検出した相加効果 QTL は、*cot1-2*を除き、5つの領域にまとまって検出された。すなわち、第 1, 7 染色体上の 2 つの DTF QTL, 第 3, 7 染色体の 2 つの LN QTL, 第 3, 4, 6, 7 染色体上の 4 つの DFI QTL, 第 1, 4 染色体上の 3 つの COT QTL であった (第 4 図)。このうち、第 1 染色体では DTF QTL と COT QTL (*cot1-1*), 第 3 染色体では LN QTL と DFI QTL, 第 4 染色体では DFI QTL と COT QTL, 第 7 染色体では DTF QTL, LN QTL, DFI QTL が同じ位置に検出された。世代は異なるものの、これまでに同じ植物材料を用いて行われた QTL 解析で、第 3 染色体 (Cagas ら, 2008), 第 4 染色体 (Sumugat と Sugiyama, 2010), 第 6 染色体 (Sumugat ら, 2010) にも DTF QTL が検出されているが、本実験と既往の研究で DTF QTL が検出された領域と本実験で DTF, DFI, LN, COT QTL が検出された領域は一致した。特に、DFI QTL は 5 つの領域のうち、第 3, 4, 6, 7 染色体の領域に検出され (第 4 図), また、これら DTF QTL と DFI QTL の相加効果の方向は一致していた。以上の結果から、多くの場合、DFI QTL は DTF の制御において重要な役割を果たしていると考えられた。なお、第 1 染色体のマーカー TGS0271~C2_At5g49480 近傍に DTF QTL (*dtf1*) を検出したものの、この領域に DFI QTL を検出できなかったが、Sumugat ら (2010) は、*dtf1* の近傍に子葉展開後 19 日目に花芽分化している個体の割合 (RI_19d) を制御する QTL を検出している。したがって、第 1 染色体の DTF QTL と DFI の関連については、今後、さらに検討が必要であると思われる。

本実験で検出した第 3, 7 染色体の 2 つの LN QTL のうち、*ln3* は野生種由来の対立遺伝子が LN を増加、*ln7* は LN を減少させる働きを示した。本実験では検出されなかったが、

Sumugat ら (2010) は, 第 6 染色体の DTF QTL と同じ位置に, 野生種の対立遺伝子が LN を減少させる QTL (*In6*) を検出している. これら第 3, 6, 7 染色体上に検出された LN QTL は, DTF QTL や DFI QTL と相加効果の方向が一致していたこと, LN は DFI を決める重要な要因の一つと考えられることから, この 3 つの QTL 領域に座乗している LN QTL は DTF や DFI を制御している可能性が示された.

子葉展開までの日数の短縮も, 開花までの日数の短縮につながると考えられるので, COT についても QTL 解析を行った. その結果, 第 1 染色体に 2 つ, 第 4 染色体に 1 つの COT QTL を検出した. このうち第 1 染色体に検出した *cot1-1* と第 4 染色体に検出した *cot4* は DTF QTL と同じ領域に検出された. この結果から, 第 1, 4 染色体の COT QTL は芽生えの時期を早め, その結果, 開花時期を早めることに寄与している可能性が考えられた. しかし, *cot4* には QE が認められ, QTL の効果は栽培条件によって変動することが示されたので, 早期開花性の育種に *cot4* を利用するには注意が必要と考えられた.



第 4 図 本実験で検出した播種から開花までの日数 (DTF), 第 1 花房下葉数 (LN), 子葉展開から花芽分化までの日数 (DFI), 播種から子葉展開までの日数 (COT) を制御する QTL の位置.

黒三角は相加効果のある QTL, 白三角は相加効果のないエピスタシス QTL の F 値のピーク位置を表す. QTL 名に*を付したものはエピスタシス効果も表した QTL を表す. QTL に付随した棒線は QTL の信頼区間を表す.

第 2 節 発芽時期関連形質についての QTL 解析

2.2.1. 緒 言

COT は開花までの過程の一部分を占め、DTF に影響を及ぼすと考えられるので、第 1 節では COT についても QTL 解析を行った。その結果、第 1, 4 染色体の DTF QTL 領域には COT QTL も検出され、DTF QTL の中には、COT を制御する働きを持つものが含まれる可能性が示された。COT には発芽の早晩が関連していると考えられるが、前節では発芽に関わる QTL については検討しなかった。シロイヌナズナでは、開花に対して抑制的に働き、植物体が低温に遭遇することで、その発現量が減少し、花成を誘導する遺伝子、*FLOWERING LOCUS C (FLC)* が同定されている。Chiang ら (2009) は、この *FLC* 遺伝子が発芽にも関与しており、種子が低温にさらされることで *FLC* の発現量を増加させるとともに、発芽を促進させる働きがあることを明らかにした。Chiang ら (2009) の結果は、*FLC* が多面発現し、開花と発芽の両方を制御していることを示唆している。

トマトの発芽適温は 20-25°C であるとされているが (Foolad ら, 1999), 温度をはじめとした環境条件によって、発芽日数や発芽率が大きく異なることが明らかにされている (Scott と Jones, 1982)。発芽に関わる QTL についての研究は少ないが、Foolad ら (1999, 2007) は、低温や塩ストレス条件下とストレスの無い条件下で発芽時期に関する QTL 解析を行い、特定のストレス条件下のみ効果を発現する QTL と環境条件に関わらず効果を発現する QTL があることを見出している。また、これらのうち、育種にあたっては、環境条件に関わらず、安定的に効果を示す QTL を利用すべきであると述べている。

そこで本実験では、(1) BIL を用いて QTL 解析を行い、発芽時期に関わる QTL が DTF QTL

と同じ位置に検出されるか確かめること、(2) 25°Cと 15°Cの 2 つの発芽温度で発芽に関わる QTL について QE を調べ、環境に関わらず安定的に発現する QTL を見出すことを目的とした。

2.2.2. 材料および方法

直径 84mm の発芽率調査用粘着シール付ろ紙（らくだね，武蔵野種苗園，東京）を敷いた 90mm シャーレ 1 つにつき，BIL と両親の種子，各系統 50 粒を置床し，脱イオン水 2.5ml を注入し蓋をした後，15°Cあるいは 25°C一定の暗黒条件に設定した人工気象室（LH-200，日本医科機器製作所，大阪）に静置した．各温度 1 シャーレ 50 粒を 1 反復とし，6 反復ずつ発芽試験を行った．発芽調査は，15°C下では播種後 7 日間は 12 時間おきに，以降 24 時間おきに 30 日間，25°C下では，播種後 5 日間は 12 時間おきに，以降 24 時間おきに 14 日間観察した．

発芽が認められた種子は廃棄し，15°Cでは置床後 30 日目，25°Cでは置床後 14 日目の発芽率を最終発芽率（FGP）とした．FGP の 50%，90%に達するまでの日数（それぞれ GT₅₀ と GT₉₀）を計測した．平均発芽日数（MGT）は $\Sigma(nD)/\Sigma n$ によって算出した（Picken ら，1986）． n は発芽試験開始から D 日目に新しく発芽した種子の数を表し， Σn は試験最終日までに発芽したすべての種子数を表す．また，発芽日数の変動係数（COVAR）も算出した．

DNA マーカー解析と QTL 解析は第 1 節と同様の手法を用いて行った．

2.2.3. 結 果

FGP は右側に歪んだ分布を示し、その他の形質は左側に歪んだ分布を示した（第 5 図）。野生種の FGP は栽培種や BIL よりも小さく、COVAR も BIL の平均値よりも野生種の方が小さかった（第 7 表）。一方、MGT, GT₅₀, GT₉₀ では両親と BIL の間で有意な差はなかった。本研究で調査したすべての形質は環境効果（発芽温度条件）と遺伝子型×環境相互作用が有意であった（データは示していない）。差が有意ではないものの、野生種は 25℃条件下では栽培種や BIL よりも発芽速度が早いですが、15℃条件下では逆に遅くなった。温度条件に関わらず、FGP は他の形質と有意な負の相関を示し、MGT, GT₅₀, GT₉₀ の間ではそれぞれ有意な正の相関が認められた（第 8 表）。COVAR では、MGT, GT₉₀ との間にそれぞれ有意な正の相関が見られたが、GT₅₀ との間には有意な相関は認められなかった。

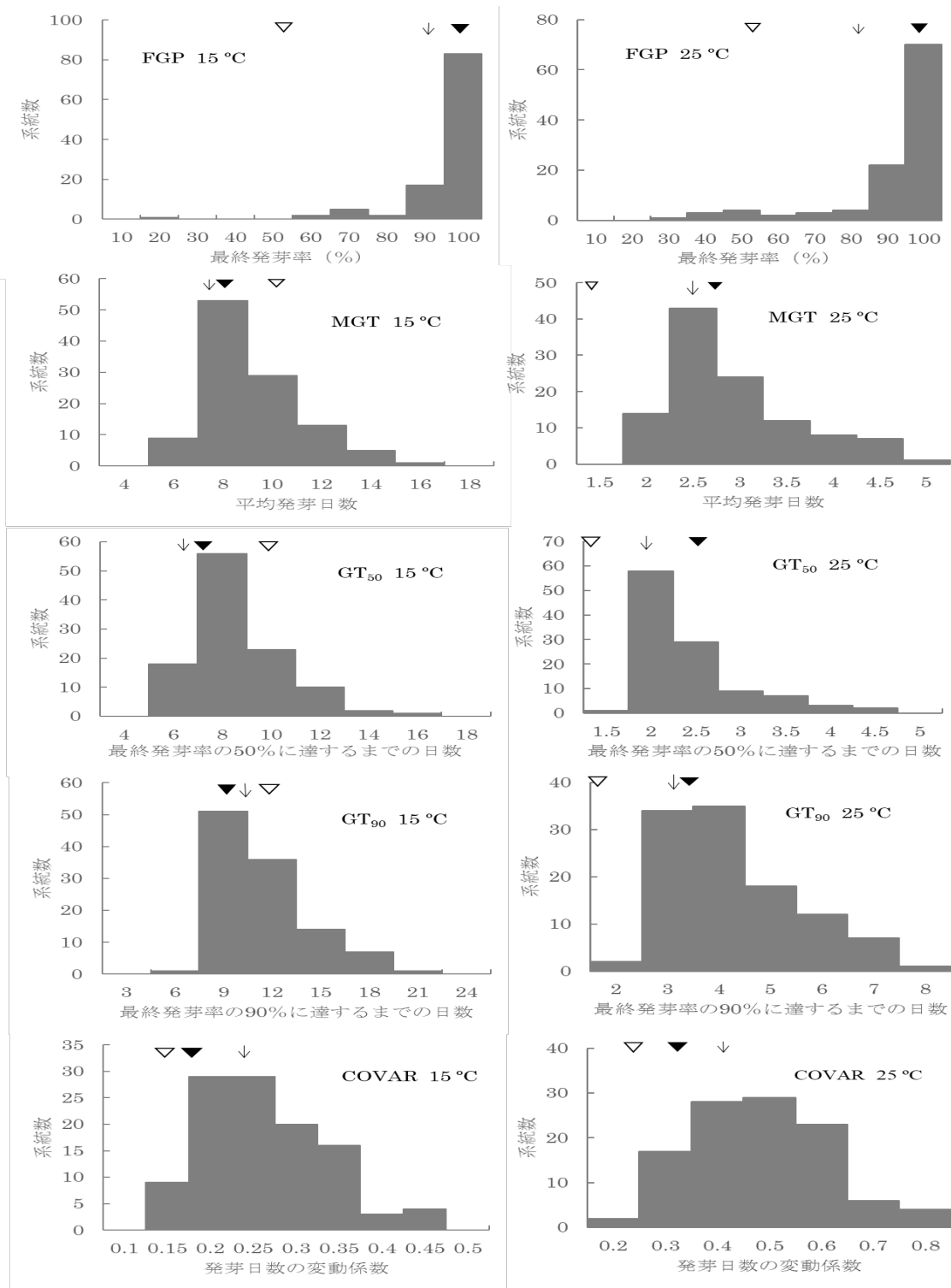
第 7 表 発芽時期に関わる形質の平均値と標準誤差および有意性

形質	温度	SL ^z	SP ^z	BIL ^z	有意性 ^y		
					SL : BIL	SP : BIL	SL : SP
FGP ^x	25°C	98.7±0.7	57.7±13.6	87.6±0.7	NS	**	**
	15°C	98.7±0.4	53.7±20.9	92.5±0.6			
MGT ^x	25°C	2.8±0.1	1.4±0.1	2.6±0.0	NS	NS	NS
	15°C	8.3±1.1	10.3±1.8	8.0±0.1			
GT ₅₀ ^x	25°C	2.6±0.2	1.3±0.2	2.2±0.0	NS	NS	NS
	15°C	7.8±1.0	10.2±1.9	7.7±0.1			
GT ₉₀ ^x	25°C	3.8±0.1	1.9±0.1	3.7±0.1	NS	NS	NS
	15°C	10.0±1.6	11.3±1.5	10.2±0.1			
COVAR ^x	25°C	0.36±0.03	0.26±0.04	0.43±0.01	NS	*	NS
	15°C	0.17±0.03	0.15±0.05	0.24±0.00			

^z SL : 栽培種, SP : 野生種, BIL : 戻し交雑自殖系集団

^y Tukey-Kramer 検定による統計解析結果. NS は有意差なし, *, **はそれぞれ 5%, 1%水準で有意差を示す.

^x FGP : 最終発芽率, MGT : 平均発芽日数, GT₅₀ : 最終発芽率の 50%に達するまでの日数, GT₉₀ : 最終発芽率の 90%に達するまでの日数, COVAR : 発芽日数の変動係数



第5図 戻し交雑自殖系集団における発芽に関わる形質の頻度分布図. ▼:栽培種‘M570018’の平均値, ▽:近縁野生種(PI124039)の平均値, ↓:戻し交雑自殖系集団の平均値

第 8 表 温度条件ごとの発芽に関わる形質の相関係数

形質	温度	相関係数			
		FGP	MGT	GT ₅₀	GT ₉₀
MGT	25℃	-0.60**			
	15℃	-0.46**			
GT ₅₀	25℃	-0.51**	0.86**		
	15℃	-0.42**	0.96**		
GT ₉₀	25℃	-0.50**	0.88**	0.63**	
	15℃	-0.52**	0.91**	0.82**	
COVAR	25℃	-0.25**	0.39**	0.04	0.47**
	15℃	-0.27**	0.17**	0.03	0.39**

**を付した相関係数は無相関の検定により 1%水準で有意であることを示す.

相加効果 QTL が第 1, 2, 3, 11 染色体に, 合計 11 検出された (第 9 表). MGT QTL, GT₅₀ QTL, GT₉₀ QTL は第 1, 2, 3 染色体の同じ位置に検出された. 第 3 染色体では, *fgp3* も *mgt3*, *gt503*, *gt903* の近傍に検出された. 第 1 染色体の当該 QTL は野生種由来の対立遺伝子が MGT, GT₅₀, GT₉₀ を減少させる働きを示し, 第 2, 3 染色体の当該 QTL は MGT, GT₅₀, GT₉₀ を増加させる働きを示した. 相加×環境 (QE) 交互作用により, 第 1 染色体の当該 QTL は 15°C 条件では野生種由来の対立遺伝子による MGT, GT₅₀, GT₉₀ の短縮効果が大きくなり, 25°C 条件ではこの短縮効果が打ち消されることが示された. 第 3 染色体に検出された QTL の中では *fgp3* のみが環境との交互作用を示し, 野生種由来の対立遺伝子が FGP を低下させ, 25°C 条件下で FGP への効果はより高まった. COVAR は, FGP, MGT, GT₉₀ と有意な相関を示したにも関わらず, COVAR QTL は単独で, 第 11 染色体に検出された. この QTL は野生種由来の対立遺伝子が COVAR を増加させ, 25°C 条件下ではその効果はより高まることが示された.

相加効果を持たないエピスタシス QTL が 5 対検出された (第 10 表). *gt909* と *gt9011*, *covar1-1* と *covar5-1* では組み換え型の対立遺伝子の組み合わせが GT₉₀ と COVAR を減少させ, *mgt6* と *mgt11*, *gt504* と *gt508*, *covar1-2* と *covar5-2* では同様の組み合わせが MGT, GT₅₀, COVAR を増加させることが示された.

第 9 表 発芽時期関連形質の相加効果 QTL

形質	QTL	近接マーカー	F 値 ^z	A ^y	h ² _A ^x	AE ^y	h ² _{AE} ^x
FGP	<u><i>fgp3</i></u> ^w	SSR22~SSR320	11.7	4.793	8.4	2.641(e1)	3.5
						-2.597(e2)	
MGT	<u><i>mgt1</i></u> ^w	C2_At5g49480~SSR105	12.0	0.445	9.6	-0.246(e1)	3.2
						0.253(e2)	
						<u><i>mgt2</i></u> ^w	
						-0.317(e2)	
GT ₅₀	<u><i>mgt3</i></u>	SSR22~SSR320	9.6	-0.496	7.8		
GT ₅₀	<u><i>gt501</i></u> ^w	C2_At5g49480~SSR105	11.4	0.483	9.3	-0.276(e1)	3.2
						0.280(e2)	
						<u><i>gt502</i></u> ^w	
						-0.280(e2)	
GT ₉₀	<u><i>gt503</i></u>	SSR22~SSR320	8.4	-0.438	6.2		
GT ₉₀	<u><i>gt901</i></u> ^w	TGS0271~C2_At5g49480	12.3	0.733	8.0	-0.369(e1)	2.1
						0.365(e2)	
						<u><i>gt902</i></u> ^w	
						-0.365(e2)	
COVAR	<u><i>gt903</i></u>	SSR22~SSR320	8.7	-0.618	8.2		
COVAR	<u><i>covar11</i></u> ^w	TGS2081~C2_At3g44880	8.4	-0.025	3.9	-0.022(e1)	4.3
						0.022(e2)	

^z QTL が検出された領域の F 値のピーク値

^y A : 相加効果, 正の値は栽培種の対立遺伝子が野生種の対立遺伝子よりも表現型値を増加させ, 負の値は野生種由来の対立遺伝子が栽培種の対立遺伝子よりも表現型値を増加させることを示す.

AE : 相加×環境交互作用 ; (e1) 25°C, (e2) 15°C.

^x h²_A : 相加効果によって説明された表現型変異の割合 (%)

h²_{AE} : 相加×環境交互作用によって説明された表現型変異の割合 (%)

^w 下線を付した QTL は相加×環境交互作用を示した QTL を表す.

第 10 表 発芽時期に関わる形質のエピスタシス QTL

形質	QTLi	近接マーカー	QTLj	近接マーカー	AA ^z	<i>h</i> ² _{AA^y}
MGT	<i>mgt6</i>	SSR578~C2_At5g62530	<i>mgt11</i>	TG497~TGS3087	-0.422	5.7
GT ₅₀	<i>gt₅₀₄</i>	TGS0411~LEOH37	<i>gt₅₀₈</i>	SSR344~TGS0559	-0.289	3.6
	<i>gt₅₀₉</i>	TGS0365~SSR19	<i>gt₅₀₁₁</i>	TGS2081~ C2_At3g44880	0.340	4.5
COVAR	<i>covar1-1</i>	SSR478~TGS1009	<i>covar5-1</i>	TGS0131~TGS3224	0.041	7.6
	<i>covar1-2</i>	TGS1009~TGS0604	<i>covar5-2</i>	T1601~T0730	-0.028	4.7

^z AA : 相加×相加効果, 正の値は遺伝子座同士が両親型 (QiQi QjQj もしくは qiqi qjqj) のとき組み換え型の遺伝子座 (QiQi qjqj もしくは qiqi QjQj) よりも表現型値を増加させ, 負の値は組み換え型の遺伝子座同士が両親型の遺伝子座よりも表現型値を増加させることを示す.

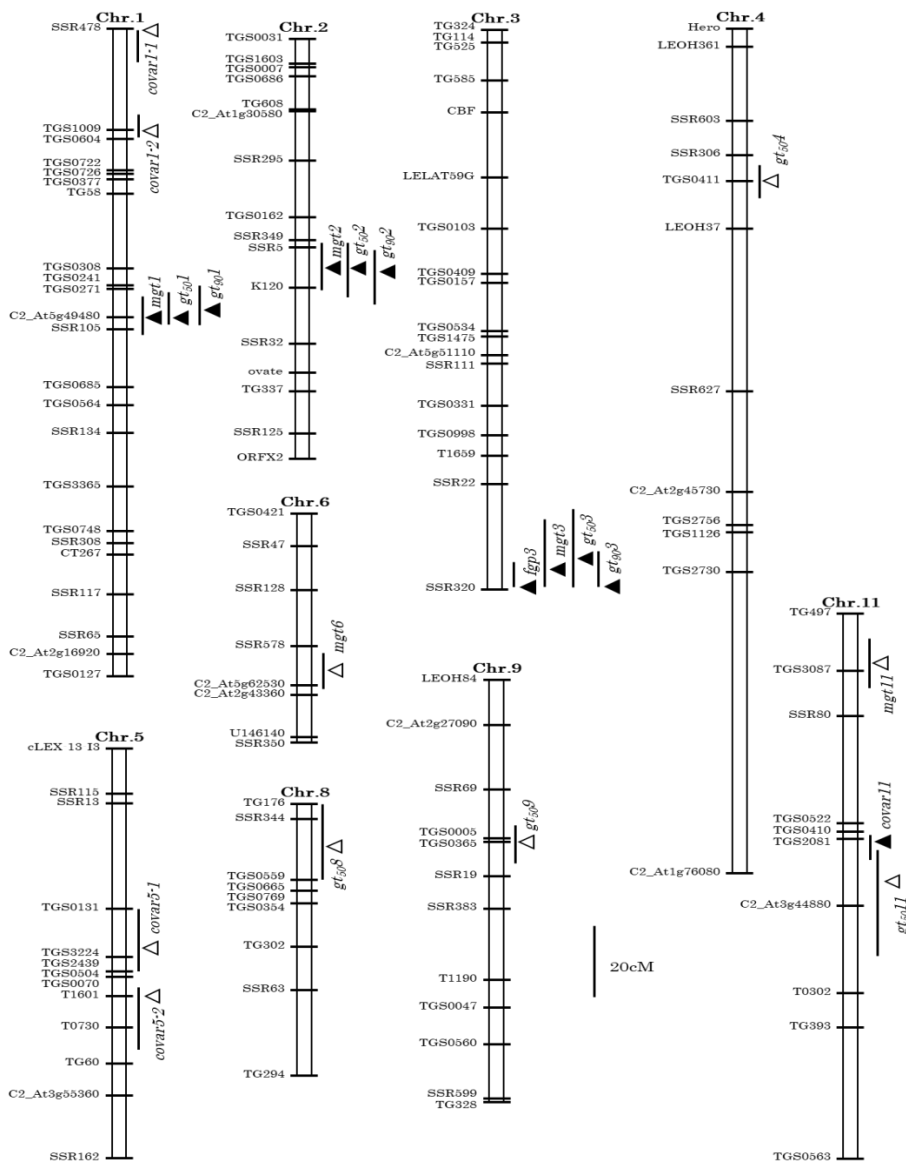
^y QTL によって説明された表現型変異の割合 (%)

2.2.4. 考 察

第 1 節で DTF QTL が検出された領域に、発芽に関わる QTL が検出されるかどうかを確かめるために QTL 解析を行った結果、第 1 染色体の DTF QTL 領域に、*mgt1*, *gt501*, *gt901* を検出した (第 6 図). この領域には *cot1-1* も検出されており、相加効果の方向も一致した. この結果から、*mgt1*, *gt501*, *gt901* による発芽 (幼根突出) までの時間の短縮が、COT や DTF の短縮に寄与していると考えられた. しかし、*cot1-1* は QE を示さず、環境に関わらず安定的に効果を発現する QTL であったのに対し、本実験で第 1 染色体に検出された発芽に関わる QTL は、温度条件が 25°C の時には、野生種由来の対立遺伝子の効果が低減する QTL であった. したがって、同じ領域に検出されたものの、発芽時期に関わる QTL は *cot1-1* や *dtf1* とは別の、異なる QTL であると考えられた. この点を明らかにするためには、これら QTL のより正確な位置を明らかにする必要がある. 第 2 章第 1 節の実験で第 4 染色体の *dtf4* 近傍には、*cot4* が検出されていたため、発芽に関わる QTL も検出されることが期待されたが、本実験では相加効果 QTL は検出されず、単独では効果を発揮しないエピスタシス QTL として *gt504* が検出された. したがって、第 4 染色体においても発芽関連遺伝子が DTF に影響を及ぼしている可能性を完全に否定することはできず、これを明らかにするためには検出力のより高い QTL 解析用集団を用いた実験が必要であると考えられた.

種子発芽の向上を目的としたマーカー利用選抜 (MAS) 育種では、環境に関わらず安定的に効果を発現する QTL が求められる (Foolad ら, 1999). そこで、温度条件に着目し、QTL と発芽温度との交互作用 (QE) について調査した. その結果、QE を示さない QTL は第 3 染色体に検出された QTL (*mgt3*, *gt503*, *gt903*) だけであったが、これらの QTL は野生種

由来の対立遺伝子が発芽を遅らせる働きを示した。したがって、環境に関わらず、安定的に発芽促進効果を示す、野生種由来の QTL は本実験では見つけることができなかった。野生種由来の対立遺伝子が発芽を促進する方向に働く QTL は第 1 染色体に検出された *mgt1*, *gt501*, *gt901* だけであった。これらの QTL は QE を示すものの、15°C 下では野生種由来の対立遺伝子の発芽促進効果がより一層強められることが認められた。したがって、これらの QTL は低温下での発芽促進を目的とした育種に利用できるのではないかと考えられた。



第 6 図 本実験で検出した最終発芽率 (FGP), 平均発芽日数 (MGT), 最終発芽率の 50%, 90%に達するまでの日数 (GT₅₀, GT₉₀), 発芽日数の変動係数 (COVAR) を制御する QTL の位置. 黒三角は相加効果のある QTL, 白三角は相加効果のないエピスタシス QTL の F 値のピーク位置を表す. QTL に付随した棒線は QTL の信頼区間を表す.

第3節 葉間期についての QTL 解析

2.3.1. 緒 言

植物の齢は、日数あるいは分化した葉原基数で表される。日数で齢を評価する場合には、生育環境の影響を受けやすいが、葉原基が分化してから次の葉原基が分化するまでの日数(葉間期, PLA)を基本単位とした評価法(葉間期指数)では生育環境の影響を抑えることができるので(Erickson と Michelini, 1957; Lamoreaux ら, 1978), 葉間期指数は環境応答性の評価にも利用されている(Vallejos ら, 1983)。

花芽分化の早晩は、花芽分化までの日数(DFI)あるいは花芽分化までに分化した葉原基数(LN)のいずれかで表されるが、DFI, LN, PLAの間には $DFI(\text{日数}) = LN(\text{葉数}) \times PLA(\text{日}/\text{葉数})$ の関係性が成り立つ。第2章第1節の実験では、第3, 6, 7染色体の DFI QTL が検出された領域に LN QTL が検出されたが、第4染色体の DFI QTL が検出された領域に LN QTL は検出されなかった。これは第4染色体では LN QTL ではなく、PLA QTL が DFI QTL に大きな影響を及ぼしていることを示唆している。しかし、葉間期に関する遺伝学的な研究は少なく、イネで数例の報告があるに過ぎない。Itoh ら(1998)は、イネの *plastochron 1* 劣性突然変異体では、野生型に比べて葉間期は半分になるが、生殖成長相への移行時期は野生型と同じであったことから、生殖成長移行期の葉数(トマトの LN に相当する)が倍増すること、すなわち、LN QTL, PLA QTL が検出されても DFI QTL が検出されない場合もあることを示した。

これまで、トマトの DFI を LN と PLA とに分割して調べた研究は皆無である。そこで本研究では、PLA について QTL 解析を行い、第2章第1節で DTF QTL を検出した領域に PLA

QTL が検出されるかどうかを確かめることを目的とした.

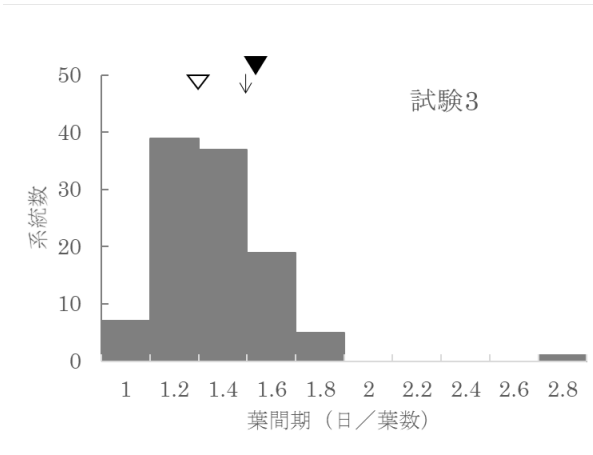
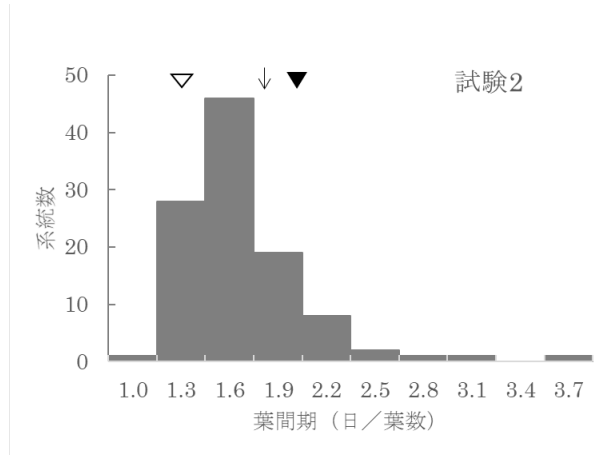
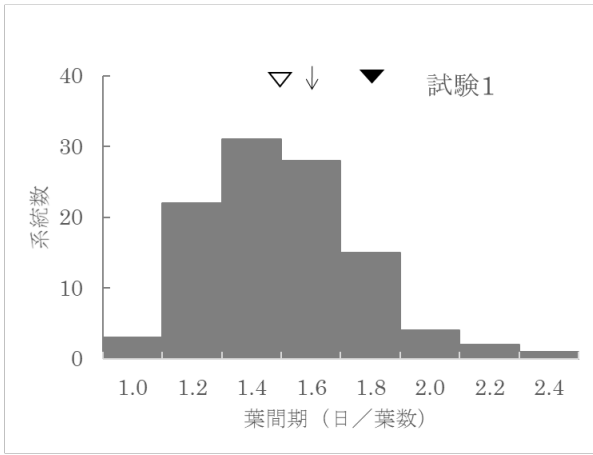
2.3.2. 材料および方法

2016年5月8日(試験1), 9月16日(試験2), 2017年6月27日(試験3)にBILと両親の種子をニッピ園芸培土1号(日本肥糧, 東京)とサカタスーパーミックスA(サカタのタネ, 神奈川)を体積比で1:1に混合した培養土を詰めた直径7.5cmプラスチックポットに各系統3粒ずつ, 7ポットに播種した。子葉展開以降毎日, 各系統2個体について実体顕微鏡下で分化した葉原基の数を数えた。測定は花芽分化が認められるか, 植物体がなくなるまで行った。そして系統ごとに子葉展開後日数を横軸に, 分化葉数を縦軸に散布図を作成して近似直線を求め, その傾きの逆数をPLAとした。

2.3.3. 結果および考察

この実験の範囲内では、花芽分化が認められる前にサンプルがなくなってしまう系統が大抵であったため、LNを測定することができなかった。PLAは各系統で1つしか数字が得られないため、統計処理を行えなかった。3回の試験のすべてで野生種は栽培種よりもPLAが短く、BILの平均値は野生種と栽培種の間であった(第7図)。さらに、いずれの試験でも左側に歪んだ分布を示した。

PLAを制御する相加効果QTLは第1,4染色体にそれぞれ一つずつ検出された(第11表)。*pla1*は野生種の対立遺伝子がPLAを減少させる方向に働き、*pla4*は野生種の対立遺伝子がPLAを増加させる方向に働くことが示された。さらに、*pla4*は環境(栽培時期)との交互作用を示し、野生種由来のQTLがPLAを増加させる効果は9月の実験で、より顕著になることが示された。*pla1*は第2章第1節で*dtf1*を検出した領域に検出された(第8図)。これに対して、この領域にはDFI QTL, LN QTLが検出されなかったため、これらQTLとPLA QTLとの関係は明確でない。しかし、相加効果の小さなQTLに関してはBILのQTL検出能力はそれほど高くないため、実際は存在しているDFI QTLを検出できなかった可能性も考えられる。この点については、第3章でNILを用いて検討した。一方、*pla4*は開花時期を制御するQTLを検出した位置とは異なる領域に検出されたことから、開花時期とは関連がないと考えられた。また、相加効果を示さない第3染色体と第9染色体に座乗するQTL間にエピスタシスが認められ、これら2つのQTLの対立遺伝子が組み換え型となった場合に、PLAが減少することが示された(第12表)。



第7図 戻し交雑自殖系集団における葉間期に関わる形質の頻度分布図.

▼：栽培種‘M570018’の値，▽：近縁野生種（PI124039）の値，↓：戻し交雑自殖系集団の平均値

第 11 表 葉間期に関わる相加効果 QTL

形質	QTL	近接マーカー	F 値 ^z	A ^y	$h^2_{A^x}$	AE ^y	$h^2_{AE^x}$
PLA	<i>pla1</i>	TGS0308~TGS0241	7.9	0.094	8.8		
	<i>pla4^w</i>	TGS1126~TGS2730	5.9	-0.068	4.1	-0.046(e2)	2.1

^z QTL が検出された領域の F 値のピーク値

^y A : 相加効果, 正の値は栽培種の対立遺伝子が野生種の対立遺伝子よりも表現型値を増加させ, 負の値は野生種由来の対立遺伝子が栽培種の対立遺伝子よりも表現型値を増加させることを示す.

AE : 相加×環境交互作用 ; (e2) 試験 2

^x h^2_A : 相加効果によって説明された表現型変異の割合 (%)

h^2_{AE} : 相加×環境交互作用によって説明された表現型変異の割合 (%)

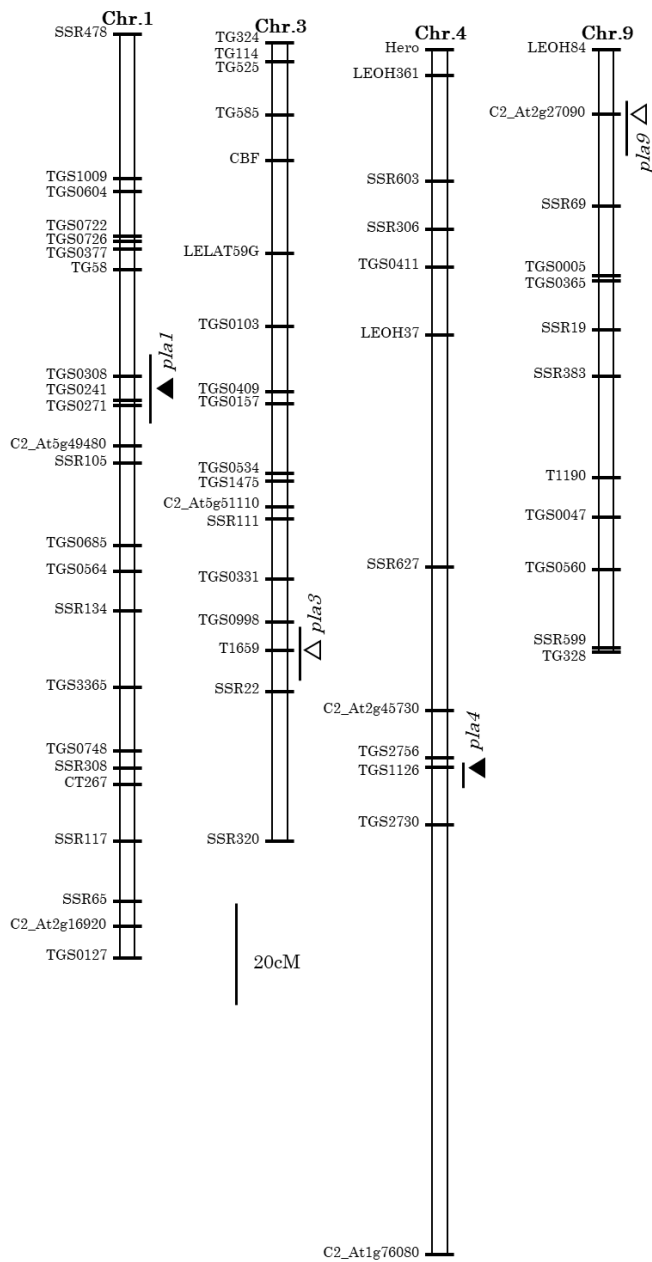
^w 下線を付した QTL は相加×環境交互作用を示した QTL を表す.

第 12 表 葉間期に関わるエピスタシス QTL

形質	QTL _i	近接マーカー	QTL _j	近接マーカー	AA ^z	$h^2_{AA^y}$
PLA	<i>pla3</i>	T1659~SSR22	<i>pla9</i>	C2_At2g27090~SSR69	0.064	4.6

^z AA : 相加×相加効果, 正の値は遺伝子座同士が両親型 (QiQi QjQj もしくは qiqi qjqj) のとき組み換え型の遺伝子座 (QiQi qjqj もしくは qiqi QjQj) よりも表現型値を増加させ, 負の値は組み換え型の遺伝子座同士が両親型の遺伝子座よりも表現型値を増加させることを示す.

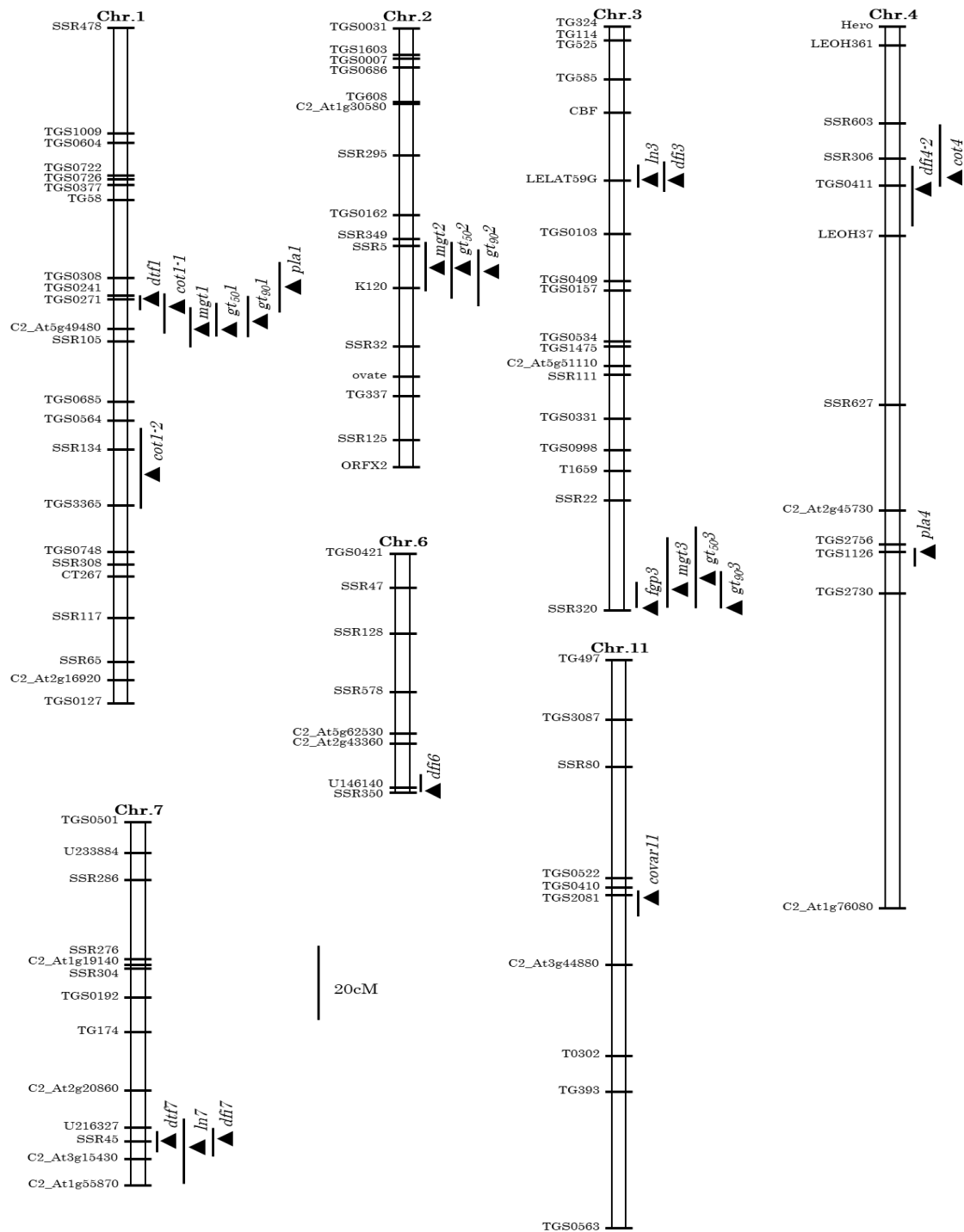
^y QTL によって説明された表現型変異の割合 (%)



第 8 図 葉間期に関わる QTL の連鎖地図. 黒三角は相加効果のある QTL, 白三角は相加効果のないエピスタシス QTL の F 値のピーク位置を表す. QTL に付随した棒線は QTL の信頼区間を表す.

第 2 章 摘 要

開花時期はいくつかの発達過程に分割することができ、それぞれの発達過程が異なる機作で制御されていると考えられる。また、花芽分化までの日数 (DFI) は花芽分化までに分化した葉原基数 (LN) と葉間期 (PLA) に分割される。しかし、開花時期や花芽分化までの日数を個々の素過程に分割して調べた研究は、これまで、ほとんど行われていない。そこで DTF, DFI を構成する諸過程のうち、発芽、子葉展開、花芽分化、LN, PLA について、トマト栽培種 *Solanum lycopersicum* ‘M570018’ と近縁野生種 *Solanum pimpinellifolium* (PI124039) の交配に由来する BIL を用いて QTL 解析を行った。その結果、第 1, 7 染色体に DTF QTL, 第 3, 4, 6, 7 染色体に DFI を制御する QTL, 第 3, 7 染色体に LN QTL が検出された。LN QTL が検出された領域には DFI QTL が検出され、このうち第 7 染色体については DTF QTL も検出された。第 1 染色体の DTF QTL が検出された領域には、発芽時期、子葉展開までの日数 (COT), PLA に関わる QTL も検出されたが、DFI QTL は検出されなかった。一方、第 4 染色体の DFI QTL が検出された領域には、COT QTL が検出された。以上、第 1, 3, 4, 6, 7 染色体には DTF を構成する諸過程に関わる QTL がまとまって検出されることが明らかになった。さらに、同一の交配親で育成した解析用集団を用いた研究で第 3, 4, 6 染色体の DFI QTL が検出された領域に DTF QTL が検出されたことが報告されていることから、特に DFI QTL が DTF の制御に重要な役割を果たしていると推察した。



第 9 図 第 2 章で検出した相加効果 QTL の位置 印は第 8 図と同様。

第3章 NILを用いた QTL 解析

第1節 第1染色体の DTF QTL 検出領域

3.1.1. 緒言

第2章で行った QTL 解析の結果、第3, 4, 6, 7染色体に DFI QTL が検出され、このうち第7染色体の DFI QTL が検出された領域に LN QTL, DTF QTL が検出され、第3染色体の DFI QTL が検出された領域に LN QTL が検出された。また、第3, 4, 6染色体の DFI QTL が検出された領域に DTF QTL は検出されなかったが、本研究と同じ両親系統に由来する BIL を用いた研究で、これら領域に DTF QTL が検出されており、DFI QTL や LN QTL が DTF の制御に重要な役割を果たしていると考えられた。これに対して、第1染色体のマーカー TGS0308~C2_At5g49480 近傍には DTF, COT, MGT, GT₅₀, GT₉₀, PLA を制御する QTL がまとまって検出され、これら QTL の相加効果は全て、野生種由来の対立遺伝子が日数を短縮する方向に働いていた。したがって、これら QTL が多面発現 QTL である可能性も考えられた。Singh と Singh (2015) は、相関関係のある複数の形質について QTL 解析を行い、同じ位置に QTL が検出されるかどうかを確かめることによって、複数の形質が単一 QTL の多面発現によって制御されているのか、ごく近傍に座乗する複数の QTL によって制御されているのかを推察できると指摘している。

Sumugat ら (2010) は第1染色体のこの領域に DTF QTL 以外に、子葉展開から蕾出現までの日数 (DMB)、蕾出現から開花までの日数 (FDD) に関わる QTL を検出しているが、第2章を含め、本研究で用いた両親系統に由来する BIL での QTL 解析で、この領域に DFI QTL, LN QTL は検出されなかった (Nakano ら, 2016)。しかし、BIL や組み換え近交系

統のような通常の QTL 解析集団では、比較的効果の小さい相加効果 QTL を検出することは難しいとされる。このため、第 1 染色体の TGS0308~C2_At5g49480 近傍に DFI QTL や LN QTL が検出されなかった理由として、(1) 第 1 染色体の DFI QTL や LN QTL が相加効果の小さい QTL であった、(2) 第 1 染色体では DFI や LN ではなく、COT, MGT, GT₅₀, GT₉₀, PLA など制御する複数の QTL によって、あるいは、これら形質を制御する単一の QTL の多面発現によって DTF が制御されていることが考えられる。相加効果の小さな QTL を検出する方法として、栽培種の遺伝的背景に、特定の領域を野生種由来の染色体断片に置き換えた準同質遺伝子系統 (NIL) を育成し、栽培種とそれぞれの形質を比較する方法が推奨されている (Eshed と Zamir, 1995)。また、野生種由来の染色体断片が短い NIL を育成することができれば、それぞれの形質に関わる QTL が同一 QTL なのか、近傍に座乗する別々の QTL なのかを明らかにすることが可能になる。さらに、NIL は遺伝的に固定されているため、NIL と栽培種の形質を複数の環境で比較することによって、環境に関わらず、効果が安定している QTL なのか、環境によって効果が変動しやすい QTL なのかを明らかにすることが可能となる。本実験では、(1) 第 1 染色体のマーカー TGS0308~C2_At5g49480 近傍が野生種ホモ型に置き換わり、その他の領域は全て栽培種ホモ型にした NIL を育成する、(2) DTF を分割した諸過程として COT, DFI, DMB, FDD を、COT に関わる形質として FGP, MGT, GT₅₀, GT₉₀, COVAR を、また DFI を構成する要素である LN, PLA を栽培種と比較し、この領域にこれら QTL が存在するかどうかを確かめることを目的に実験を行った。

3.1.2. 材料および方法

NIL の育成

NILは第10図のような過程で育成された。すなわち、トマト栽培種 *Solanum lycopersicum* ‘M570018’ と野生種 *Solanum pimpinellifolium* (PI124039) の F₁ に栽培種（花粉親）を3回戻し交配した BC₃F₁ 世代の自殖により得られた BC₃F₂ 世代を栽培種と交配し、二次 F₁ (Secondary F₁, SF₁) とした。QTL 領域を狭めるため、SF₁ にさらに栽培種を戻し交配し、この領域をヘテロ型にした (SBC₁F₁)。SBC₁F₁ を2回自殖して TGS0308~C2_At5g49480 に野生種ホモ断片を持つ 2-40-87-132 系統（以下 87-132 系統）を選抜し、この系統を用いて実験を行った。選抜の過程で可能な限り、目的とする QTL 領域のみが野生種由来の遺伝子断片となり、その他の領域は栽培種ホモ型となるように 161 の DNA マーカーを用いてマーカー利用選抜 (MAS) を行った。

播種から開花までの素過程に関わる形質評価

野生種、栽培種、87-132 系統の種子を 2015 年 5 月 1 日、5 月 25 日、7 月 26 日、9 月 1 日、10 月 10 日、2016 年 2 月 2 日、4 月 30 日、9 月 18 日、2017 年 9 月 27 日にニッピ園芸培土（日本肥糧、東京）とサカタスーパーミックス A（サカタのタネ、神奈川）を容積比 1 : 1 の割合で詰めた直径 12cm プラスチックポットまたは 15cm プラスチックポットの周辺部 4 か所と中央に 5 粒ずつ、各系統 30 ポットに播種した。播種後は適宜灌水し、花芽分化が確認された後は適宜ハイポネックス 2000 倍液を灌水した。また、花芽分化が確認された後、1 ポット当たり 1 株になるように間引きを行った。



第 10 図 87-132 系統の育成過程. MAS : マーカー利用選抜.

播種から開花までの日数 (DTF) を 3 つの期間に分け、播種から子葉展開までの日数 (COT)、子葉展開から肉眼で蕾 (1mm 以上) が確認できるまでの日数 (DMB)、蕾出現から開花までの日数 (FDD) を調査した。さらに、子葉展開後 5 日目から無作為に 5 個体をサンプリングし、実体顕微鏡を用いて 5 個体全てで茎頂が二分した日を花芽分化日とし (Allen と Sussex, 1996)、子葉展開から花芽分化までの日数 (DFI)、花芽分化節位 (LN) を調査した。5 月 25 日以降の試験では、第 1 花房の第 1 花が開花した際に LN を計測した。

異なる温度条件下での種子発芽時期の評価

第 2 章第 2 節と同様に、直径 84mm の発芽率調査用粘着シール付ろ紙を敷いた 90mm シャーレ 1 つにつき各系統 50 粒を置床し、脱イオン水 2.5ml を注入して蓋をした。その後、15°Cあるいは 25°C一定の暗黒条件に設定した人工気象室に静置した。各温度 1 シャーレ 50 粒を 1 反復とし、計 6 反復ずつ発芽試験を行った。発芽調査は、15°C下では播種後 7 日間は 12 時間おきに、以降 24 時間おきに 30 日間、25°C下では、播種後 5 日間は 12 時間おきに、以降 24 時間おきに 14 日間行った。

発芽が認められた種子は廃棄し、最終発芽率 (FGP)、FGP の 50%、90%に達するまでの日数 (それぞれ GT₅₀ と GT₉₀)、平均発芽日数 (MGT)、発芽日数の変動係数 (COVAR) を算出した。

葉間期の評価

野生種、栽培種、87-132 系統の種子を 2017 年 5 月 10 日、9 月 27 日、11 月 23 日に DTF

の調査で用いた混合培養土を詰めた直径 12cm プラスチックポットに 5 粒ずつ各系統 30 ポットに播種した。播種後は適宜灌水し、子葉展開が確認された日から毎日無作為に 3 ないし 5 個体をサンプリングし、分化した葉原基数を計測した。計測は花芽分化が認められるまで行った。系統ごとに子葉展開後日数を横軸に、分化葉原基数を縦軸にプロットし、近似直線を求め、その傾きの逆数を PLA とした。同様に子葉展開から花芽分化までの日数 (DFI) と第 1 花房分化節位 (LN) を計測した。

3.1.3. 結 果

播種から開花までの素過程に関わる形質評価

栽培種と 87-132 系統を比較すると、COT では 2015 年 5 月 1 日、5 月 25 日、7 月 26 日、9 月 1 日、2016 年 2 月 2 日播種の試験で 87-132 系統の方が有意に短くなった（第 13 表）。87-132 系統の DMB は栽培種よりも短く、5 月 1 日、5 月 25 日、9 月 1 日、10 月 10 日、2016 年 9 月 18 日播種の試験ではその差は有意であった。FDD では、有意差が認められたのは 5 月 1 日と 2016 年 4 月 30 日播種の試験のみであった。これら 3 つの形質を合計した DTF は、全ての播種時期で短くなったが、7 月 26 日、10 月 10 日、2016 年 9 月 27 日播種の試験では有意差は認められなかった。DFI は各系統一つの測定値しか得られなかったため、統計処理を行うことができなかった。また、9 月 18 日播種試験の野生種は発芽率が極端に低かったため（26%）、DFI を調査していないが、87-132 系統の DFI は 2016 年 4 月 30 日播種の試験を除いて栽培種よりも短くなり、その差は最大で 4 日であった。LN は 9 月 1 日播種の試験で 87-132 系統が栽培種よりも有意に大きくなったが、その他の試験では有意差は認められなかった。また、野生種の LN は栽培時期の影響を受けて大きく変動し、栽培種、NIL よりも有意に大きくなる場合と小さくなる場合があった。

第 13 表 異なる播種日において第 1 染色体の DTF QTL 領域が開花関連形質に及ぼす影響

系統	形質					
	COT ^y	DMB ^y	FDD ^y	DTF ^y	DFI ^y	LN ^y
2015 年 5 月 1 日 ^z						
SL ^x	6.4 a ^w	19.6 a	14.6 a	40.2 a	13	8.6 a
SP ^x	5.1 c	16.3 c	10.2 c	31.4 c	9	8.0 a
NIL ^x	5.7 b	17.8 b	13.6 b	36.7 b	9	8.1 a
2015 年 5 月 25 日						
SL	6.5 a	20.5 a	14.2 a	40.6 a	12	9.4 a
SP	4.4 c	16.6 c	11.4 b	31.9 c	11	9.3 a
NIL	5.7 b	17.9 b	14.0 a	37.0 b	10	9.0 a
2015 年 7 月 26 日						
SL	5.4 a	18.9 a	15.6 a	39.6 a	15	9.3 b
SP	4.2 c	15.0 b	12.9 b	31.9 b	10	10.6 a
NIL	4.8 b	18.2 a	15.9 a	38.6 a	14	9.4 b
2015 年 9 月 1 日						
SL	5.3 a	20.3 a	20.0 a	45.4 a	16	9.5 c
SP	4.1 c	17.9 c	15.8 b	37.9 c	14	11.0 a
NIL	4.8 b	19.7 b	19.6 a	44.0 b	15	10.1 b
2015 年 10 月 10 日						
SL	8.2 a	19.1 a	33.9 a	60.7 a	12	7.6 a
SP	6.7 b	17.0 c	19.4 b	42.5 b	9	6.8 b
NIL	8.3 a	18.2 b	33.9 a	59.6 a	10	7.3 a
2016 年 2 月 2 日						
SL	11.5 a	17.6 a	27.4 a	55.9 a	13	7.7 a
SP	9.4 c	14.5 b	19.8 b	42.3 c	8	6.1 b
NIL	11.1 b	17.0 a	27.1 a	54.4 b	11	7.3 a

第 13 表 (続き)

系統	形質					
	COT	DMB	FDD	DTF	DFI	LN
2016 年 4 月 30 日						
SL	7.1 a	17.8 a	17.7 a	42.4 a	12	9.1 b
SP	6.0 b	16.0 b	13.5 c	35.2 c	11	9.5 a
NIL	7.1 a	17.7 a	17.1 b	41.4 b	12	9.2 b
2016 年 9 月 18 日						
SL	6.9 a	19.2 a	25.3 a	51.6 a	14	9.7 ab
SP	6.6 a	16.5 c	18.5 b	40.3 c	ND	10.0 a
NIL	6.8 a	17.9 b	24.5 a	48.9 b	13	9.3 b
2017 年 9 月 27 日						
SL	7.3 a	24.1 a	27.8 a	60.2 a	15	8.7 a
SP	5.9 b	13.4 b	21.9 b	40.8 b	8	7.1 b
NIL	7.7 a	22.9 a	27.7 a	58.5 a	13	8.6 a
分散分析						
遺伝子型	** v	**	**	**	-	NS
播種日	**	**	**	**	-	**
遺伝子型×播種日	**	**	**	**	-	**

^z 播種日

^v COT : 播種から子葉展開までの日数, DMB : 子葉展開から蕾出現までの日数, FDD : 蕾出現から開花までの日数, DTF : 播種から開花までの日数, DFI : 子葉展開から花芽分化までの日数, LN : 第 1 花房下葉数.

^x SL : 栽培種, SP : 野生種, NIL : 準同質遺伝子系統 (87-132 系統)

^w 同じ播種日・形質の異なる英小文字は Tukey-Kramer 検定により 5%水準で有意差を表す.

^v 二元配置分散分析の結果. NS は有意性なし, **は 1%有意を表す.

異なる温度条件下での種子発芽時期の評価

二元配置分散分析の結果、COVAR を除く形質で、遺伝子型および環境（発芽温度）の主効果はそれぞれ有意であり、遺伝子型と環境の交互作用は COVAR を含む全ての形質で有意であった（第 14 表）。87-132 系統は栽培種と比較して、25°C 条件では FGP が有意に低く、MGT と COVAR は有意に高かった。一方、15°C 条件では 87-132 系統の MGT、GT₅₀、GT₉₀ が有意に短くなった。

葉間期の評価

DFI と PLA は数字が一つしか得られないため、統計処理を行うことができなかったが、87-132 系統の DFI と PLA は 3 回の試験全てで栽培種よりも短くなり、その差はそれぞれ 2～4 日と 0.3～1.1 日であった（第 15 表）。LN には、栽培種と 87-132 系統の間に有意な差は認められなかった。

第 14 表 異なる発芽温度において第 1 染色体の DTF QTL 領域が発芽特性に及ぼす影響

系統	FGP ^z	MGT ^z	GT ₅₀ ^z	GT ₉₀ ^z	COVAR ^z
25°C					
SL ^y	98.0 a ^x	1.5 f	1.5 d	1.5 e	0.12 b
SP ^y	80.7 b	2.1 e	2.0 cd	2.5 d	0.24 b
NIL ^y	78.7 b	2.6 d	2.2 c	3.0 d	0.48 a
15°C					
SL	97.3 a	5.1 b	4.8 b	6.7 b	0.30 ab
SP	84.0 b	6.7 a	6.5 a	8.0 a	0.19 b
NIL	99.3 a	4.5 c	4.3 b	5.0 c	0.11 b
分散分析					
遺伝子型	*** ^w	**	**	**	NS
温度	**	**	**	**	NS
遺伝子型×温度	**	**	**	**	**

^z FGP：最終発芽率（%），MGT：平均発芽日数，GT₅₀：最終発芽率の 50%に達するまでの日数，GT₉₀：最終発芽率の 90%に達するまでの日数，COVAR：発芽日数の変動係数

^y SL：栽培種，SP：野生種，NIL：準同質遺伝子系統（87-132 系統）。

^x 同列の異なる英小文字は Tukey-Kramer 法によって 5%水準で有意差を表す。

^w 二元配置分散分析の結果。NS は有意性なし，**は 1%有意を表す。

第 15 表 異なる播種日において第 1 染色体の DTF QTL 領域が花芽分化までの日数とその
 関連形質に及ぼす影響

系統	DFI ^z	LN ^z	PLA ^z
5 月 10 日 ^x			
SL ^y	12	7.8 a ^w	2.1
SP ^y	7	8.0 a	1.2
NIL ^y	10	8.0 a	1.8
9 月 27 日			
SL	17	7.3 ab	4.1
SP	8	6.8 c	2.2
NIL	13	7.7 a	3.0
11 月 23 日			
SL	17	7.3 a	3.6
SP	10	6.1 b	2.4
NIL	14	7.2 a	3.2

^z DFI : 子葉展開から花芽分化までの日数, LN : 第 1 花房下葉数, PLA : 葉間期 (日/葉数)

^y SL : 栽培種, SP : 野生種, NIL : 準同質遺伝子系統 (87-132 系統).

^x 播種日

^w 同じ播種日の異なる英小文字は Tukey-Kramer 法によって 5%水準で有意差を表す.

3.1.4. 考 察

第 1 染色体のマーカーTGS0308~C2_At5g49480 近傍には、これまでに *dtf1* と *cot1-1* (Nakano ら, 2016), *dmb1* と *fdd1* (Sumugat ら, 2010), 発芽時期に関わる QTL (*mgt1*, *gt501*, *gt901*) や *pla1* が検出されている。しかし, BIL を用いた QTL 解析では DFI を制御する QTL は検出されなかった。そこで, この領域のみを野生種由来の染色体断片に置き換えた NIL を育成し, DFI を含めた開花時期に関わる形質や発芽時期に関わる形質を栽培種と比較した。9 回中 3 回の試験では, 栽培種と 87-132 系統の DTF に有意な差は認められなかった。しかし, 9 回中 8 回の試験では, DTF を構成する COT, DMB, FDD のうち一つ以上の形質で有意な短縮効果が認められ, また, 二つ以上の形質で短縮効果が認められるときには必ず DTF も有意に短くなることが確認された。栽培種と 87-132 系統を比較すると, COT, DMB は 9 回の試験のうち 5 回の試験で有意な差が認められたが, FDD で有意差が確認されたのは 2 回のみであった。したがって, *dtf1* は播種から開花までの 3 つの過程 (COT, DMB, FDD) のうち, 蕾出現から開花までの期間よりも, 子葉展開や蕾形成といった過程と密接に関連していると考えられた。また, 87-132 系統は栽培種に比べ, 一例 (2016 年 4 月) を除いて DFI が短くなったことから, TGS0308~C2_At5g49480 近傍に DFI QTL が存在するが, この QTL は相加効果が小さいか, QE の影響を受けやすい QTL であるため, 通常の BIL を用いた QTL 解析では検出できなかったと考えられた。また, LN は 9 回中 1 回の試験で 87-132 系統の方が栽培種よりも有意に大きくなったが, 他の試験では 87-132 系統と栽培種の間には有意差は認められなかったことから, 少なくとも DTF の短縮に働く LN QTL は第 1 染色体の TGS0308~C2_At5g49480 近傍に存在しないと考えられた。さらに, 葉間期を調査した 3

回の試験でも、LN に有意差は認められず、この結論が支持された。

第 1 染色体に検出された発芽時期に関わる QTL (*mgt1*, *gt501*, *gt901*) は第 2, 3 染色体に検出された QTL と異なり、野生種由来の対立遺伝子が発芽までの期間を短縮するが、25°C 条件下ではその効果が弱まってしまうことから、低温 (15°C) 発芽性の改良に有用な QTL であると考えられた (第 2 章第 2 節)。この効果は NIL を用いた実験でも確認され、15°C 条件では栽培種よりも発芽までの期間が有意に短縮された。しかし、QE は QTL 解析の結果よりも大きく、25°C 条件では BIL での実験とは異なり、87-132 系統は栽培種よりも発芽が遅くなった。これらの結果は、NIL を利用することによって QE をより正確に評価できることを示唆している。

PLA は 3 回の試験のいずれにおいても短くなり、BIL を用いた QTL 解析の結果とよく一致した。DFI は、花房が分化するまでに形成された葉原基数 (LN) と葉原基が一つ分化するのに要した日数 (PLA) の積であるが、本実験の結果、TGS0308~C2_At5g49480 に *pla1*, *dfi1* が存在するものの、LN を小さくする *ln1* は存在しないことが示されたので、*pla1* と *dfi1* は同一の QTL と考えられ、これが DTF を制御していると考えられた。本実験では 87-123 系統の方が栽培種に比べ、COT, DMB, FDD が有意に短くなる場合があった。DFI に関しては、破壊的な調査しかできないため、本研究の DTF を分割する試験では DFI の代わりに DMB を調査したが、DMB のかなりの部分は DFI が占めているので、*pla1* が DMB に影響を及ぼすことを示唆する結果が得られたと考えられる。一方、*pla1* が COT と FDD を短縮させる効果を持っているかどうかについては明らかにできなかった。なお、第 2 章の実験で TGS0271~C2_At5g49480 に座乗する *cot1-1* は QE を示さなかったが、本実験の発芽時期に

関する QTL は大きな QE を示した。したがって、COT QTL は発芽の早晩に関わる QTL とは別な QTL で、幼根突出後の胚軸の伸長速度や子葉展開速度などを制御する QTL ではないかと考えられる。PLA が胚軸伸長や子葉展開に関与している可能性も考えられるが、この点については今後、確かめる必要がある。

以上の結果から、PLA QTL は花芽分化を含め、幼根突出から花芽分化直後までの過程を制御し、野生種由来の対立遺伝子が日数を短縮する方向に働いているのではないかと考えられた。また、PLA QTL は環境条件の影響を受けるものの、その効果は比較的安定しているため、多くの試験で日数の短縮が見られたと考えられた。

第 2 節 第 3 染色体の DFI QTL 検出領域

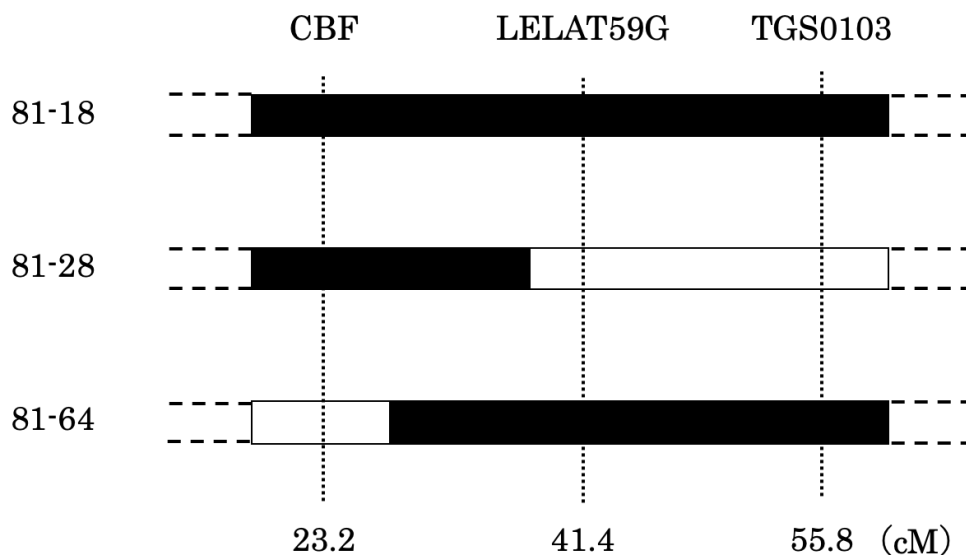
3.2.1. 緒 言

第 2 章の BIL を用いた QTL 解析では、検出された 4 つの DFI QTL のうち、第 3 染色体の DFI QTL のみが、野生種由来の対立遺伝子が開花時期を遅らせる効果を示した。また、第 3 染色体の DFI QTL 領域には、LN QTL が検出されており、相加効果の方向も一致していた。これらの結果は、トマトの第 3 染色体の DTF QTL や LN QTL 近傍に、開花時期の制御に重要な役割を果たす *FALSIFLORA* 遺伝子や *FLOWERING LOCUS C* 様遺伝子が同定されている (Jiménez-Gómez ら, 2007) こととよく一致する。しかし、この領域に DFI, LN 以外に DTF を構成する諸過程に関わる QTL が存在するかどうかは明らかになっていない。開花時期を遅らせる QTL あるいは遺伝子は、早期開花性品種の育成への利用は難しいものの、花成誘導のメカニズムを解明するためには重要な知見の一つである。そこで本実験では、第 3 染色体に検出した DFI QTL に着目し、この QTL を含む領域が野生種ホモ型で、その他の領域は全て栽培種ホモ型になっている準同質遺伝子系統 (NIL) を育成し、栽培種と NIL について DTF を構成する個々の素過程 (発芽時期等) を比較することを目的とした。

3.2.2. 材料および方法

NIL の育成

トマト栽培種 *Solanum lycopersicum* ‘M570018’ と野生種 *Solanum pimpinellifolium* (PI124039) の F₁ に栽培種 (花粉親) を 5 回戻し交配した BC₅F₁ 世代の自殖により得られた BC₅F₂ 世代を実験に利用した。この過程で可能な限り、目的とする QTL 領域 (マーカー CBF~TGS0103) に野生種ホモ断片を持ち、その他の領域は栽培種ホモ型となるように 161 の DNA マーカーを用いてマーカー利用選抜 (MAS) を行った。QTL の位置をより正確に同定するために、染色体断片の長さが異なる 3 つの NIL (81-18, 81-28, 81-64) を選抜した (第 11 図)。



第 11 図 第 3 染色体を標的とした NILs の遺伝子型図。黒いバーが野生種ホモ型を表す。

播種から開花までの素過程に関わる形質評価

野生種，栽培種，3つのNILsの種子を2018年3月28日に第1染色体のNILを用いた実験と同じ混合培養土を詰めた，直径12cmプラスチックポットの周辺部4か所と中央に，5粒ずつ各系統30ポット播種した．播種後は適宜灌水し，花芽分化が確認された後は適宜ハイポネックス2000倍液を灌液した．また，花芽分化が確認された後，1ポット当たり1株になるように間引きを行った．

播種から子葉展開までの日数（COT），子葉展開から蕾出現までの日数（DMB），蕾出現から開花までの日数（FDD），播種から開花までの日数（DTF），子葉展開から花芽分化までの日数（DFI），第1花房下葉数（LN）を計測した．LNは第1花房の第1花が開花した際に計測した．

発芽試験

発芽率調査用粘着シール付ろ紙を敷いたシャーレ1つにつき各系統50粒を置床し，脱イオン水2.5mlを注入し蓋をした後，25°C一定の暗黒条件に設定した人工気象室に静置した．1シャーレ50粒を1反復とし，5反復ずつ発芽試験を行った．発芽調査は，播種後5日間は12時間おきに，以降24時間おきに14日間観察した．

発芽が認められた種子は廃棄し，最終発芽率（FGP），FGPの50%，90%に達するまでの日数（それぞれGT₅₀とGT₉₀），平均発芽日数（MGT）を算出した．

3.2.3. 結 果

ガラス温室内での栽培実験において、COT は 3 つの NILs 全てで栽培種よりも有意に短くなった (第 16 表)。DMB は栽培種に比べ、81-64, 81-18 は有意に長く、81-28 は有意に短くなった。FDD は 81-18 のみで栽培種よりも有意に短くなった。DTF を栽培種と NILs とで比較すると、81-28 は有意に早く、81-64 は有意に遅くなり、81-18 では有意差は認められなかった。各系統の測定値が一つしかなく、統計処理はできなかったが、NILs の DFI は栽培種と比較して、81-18 で 2 日長く、81-28 で 4 日短く、81-64 で 7 日長くなった。LN を栽培種と比較すると、81-18 と 81-64 で栽培種よりも有意に多くなったが、81-28 では有意に少なくなった。

人工気象器内での発芽試験で栽培種と NILs を比較すると、FGP と GT₅₀ では有意差は認められなかった (第 16 表)。一方、MGT と GT₉₀ では 3 つの NILs 全てで栽培種よりも短くなった。

第 16 表 第 3 染色体の DFI QTL 領域が開花関連形質と発芽関連形質に及ぼす影響

形質	系統				
	SL ^z	SP ^z	81-18 ^z	81-28 ^z	81-64 ^z
COT ^y	7.5 a ^x	6.0 c	6.3 b	6.4 b	6.3 b
DMB ^y	18.5 c	15.6 e	20.6 b	17.5 d	21.6 a
FDD ^y	22.5 a	16.1 c	21.6 b	22.1 ab	21.9 ab
DTF ^y	47.7 b	37.1 d	48.4 b	45.7 c	49.5 a
DFI ^y	14	10	16	10	17
LN ^y	8.5 b	8.6 b	9.3 a	8.0 c	9.4 a
FGP ^y	99.6 a	78.4 b	98.8 a	98.8 a	100 a
MGT ^y	2.2 a	1.6 c	1.7 bc	1.8 b	1.8 bc
GT ₅₀ ^y	2.0 a	1.6 b	1.7 ab	2.0 a	1.9 ab
GT ₉₀ ^y	2.4 a	1.8 b	2.0 b	2.0 b	2.0 b

^z SL : 栽培種, SP : 野生種, 81-18, 81-28, 81-64 : 準同質遺伝子系統 (NIL)

^y COT : 播種から子葉展開までの日数, DMB : 子葉展開から蕾出現までの日数, FDD : 蕾出現から開花までの日数, DTF : 播種から開花までの日数, DFI : 子葉展開から花芽分化までの日数, LN : 第 1 花房下葉数, FGP : 最終発芽率 (%), MGT : 平均発芽日数, GT₅₀ : 最終発芽率の 50% に達するまでの日数, GT₉₀ : 最終発芽率の 90% に達するまでの日数

^x 同行の異なる英小文字は Tukey-Kramer 検定により 5% 水準で有意差を表す.

3.2.4. 考 察

第2章第1節の BIL を用いた QTL 解析において、第3染色体に座乗する DTF QTL では野生種由来の対立遺伝子が開花時期を遅らせることが示されたが、本実験の結果、81-64 系統は栽培種よりも DTF が大きくなることが明らかとなった。したがって、BIL を用いた QTL 解析で検出された *dtf3* はマーカー LELAT59G~TGS0103 近傍に座乗していると考えられた。しかし、同じ領域に野生種の染色体断片を持つ 81-18 系統では栽培種と開花時期に差がなく、CBF~LELAT59G に野生種染色体断片を持つ 81-28 系統では栽培種よりも DTF が有意に短くなった。また、81-28 系統については、DFI や DMB も栽培種よりも短く、LN も栽培種より少なくなった。したがって、マーカー CBF 近傍には BIL を用いた QTL 解析では見出せなかった、開花時期を早める QTL が存在すると考えられた。これらの2つの QTL 領域を持つ 81-18 系統が開花時期の点で栽培種と差がなかったのは、2つの QTL の相加効果が打ち消しあったからであると考えれば、矛盾なく説明できる。また、81-18 系統の DFI や DMB が栽培種よりも遅くなっていたことから、マーカー LELAT59G~TGS0103 近傍の QTL の方が、マーカー CBF 近傍の QTL よりも効果が大きいのではないかと考えられた。さらに、DTF, DFI, LN に対する効果の方向性をみると、LELAT59G~TGS0103 近傍の QTL ではこれらを長く、長く、多くする方向に、CBF 近傍の QTL では逆に短く、短く、少なくする方向にそれぞれ働いていたことから、いずれの場合においても LN QTL として DFI や DTF を制御していると考えられた。第2章第3節の実験でこの領域に PLA QTL は検出されていないものの、本実験では PLA を調査していないので、この QTL が PLA に影響を及ぼしていないと結論するためには、さらに検討が必要である。

BILによるQTL解析では、発芽や出芽に関連したQTLは検出されなかったものの、NILsを用いた実験でCOTへの影響が認められたので、発芽に関わるQTLが存在するかどうかを確かめるために発芽試験を行った。その結果、FGPへの影響は認められなかったが、全てのNILsでMGTが短縮された。したがって、3つのNILsで染色体断片が重複している領域に発芽時期を制御するQTLが存在する可能性が示された。

以上、開花時期に関わる形質は3つのNILsそれぞれで異なる結果を示したので、マーカー-CBF近傍に座乗し、野生種の対立遺伝子が開花時期を早めるQTLと、マーカー-LELAT59G~TGS0103近傍に座乗し、野生種の対立遺伝子が開花時期を遅延させるQTLに分離することが出来た。一方、発芽時期に関しては、全てのNILsで差がなく、この領域のどこにQTLが座乗しているのか、その範囲を狭めることは難しかった。

第 3 節 第 4 染色体の DFI QTL 検出領域

3.3.1. 緒 言

第 2 章第 1 節の BIL を用いた QTL 解析で DFI QTL が検出された 4 つの領域のうち、第 3, 7 染色体には LN QTL が検出された。また、第 3 章第 1 節の NIL を用いた実験で DTF QTL (*dtf1*)、葉間期に関わる QTL (*pla1*) が検出された領域に DFI QTL が存在するが、野生種由来の対立遺伝子が LN を短縮する働きを持つ QTL は存在しないことが示された。したがって、DFI は PLA と LN とによって制御されているが、制御の機作は座乗する染色体によって異なり、第 1 染色体では PLA QTL が、第 3, 7 染色体では LN QTL が DFI を制御しているのではないかと考えられた。しかし、第 2 章第 1 節の BIL を用いた実験では、第 4, 6 染色体の DFI QTL が検出された領域からは PLA QTL, LN QTL は検出されず、これら染色体については、PLA QTL, LN QTL のいずれが DFI を制御しているかについては明らかでない。既に述べたように、相加効果の小さな QTL は通常の BIL を用いた QTL 解析では検出が難しいとされるので、第 4, 6 染色体の LN QTL, PLA QTL は単独では効果が小さい可能性が考えられる。そこで、本節では、第 4 染色体の DFI QTL が検出された領域を野生種由来の染色体断片に置換えた NIL を育成し、播種から開花までのそれぞれの過程に及ぼす影響を調べるとともに、LN, PLA を調査し、*dfi4* が LN や PLA に影響を及ぼすかどうか確かめることを目的に実験を行った。

3.3.2. 材料および方法

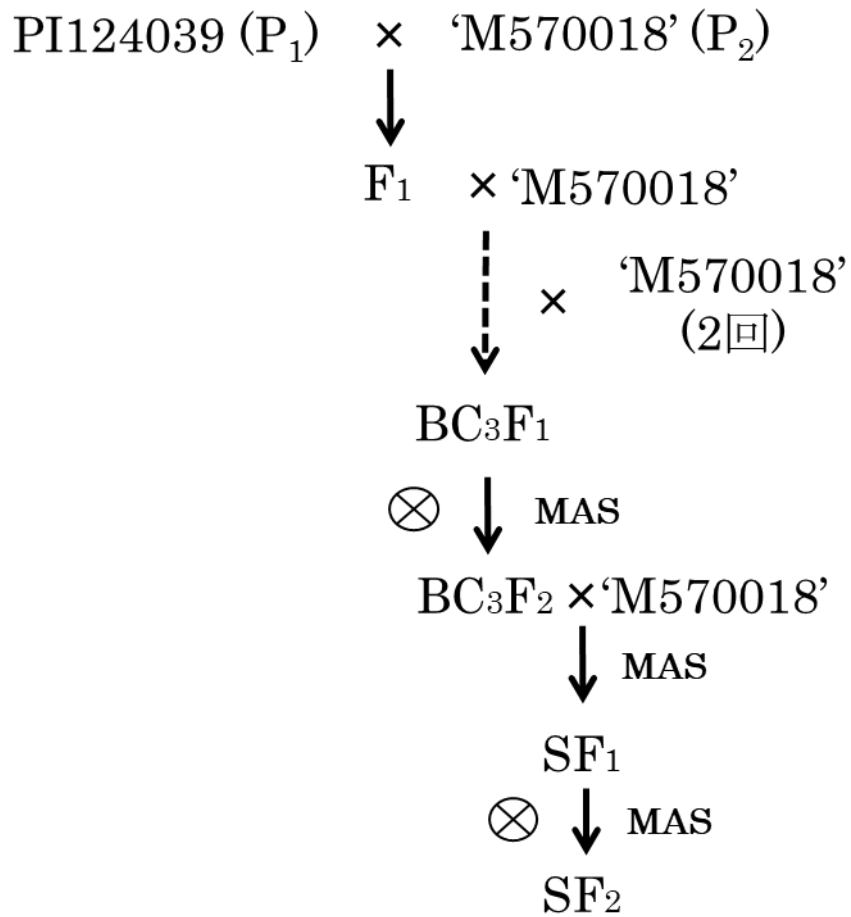
NILの育成

NILは第12図のような過程で育成された。すなわち、トマト栽培種 *Solanum lycopersicum* ‘M570018’ と野生種 *Solanum pimpinellifolium* (PI124039) の F₁ に栽培種（花粉親）を3回戻し交配した BC₃F₁ 世代の自殖により得られた BC₃F₂ 世代を栽培種と交配し、二次 F₁ (Secondary F₁, SF₁) とした。この SF₁ を自殖した SF₂ (1-123) 系統を供試した。この過程で、目的とする QTL 領域 (SSR603~TGS0411) のみが野生種由来の遺伝子断片であり、その他の領域は栽培種ホモ型となるように 161 の DNA マーカーを用いてマーカー利用選抜 (MAS) を行った。

播種から開花までの素過程に関わる形質評価

野生種、栽培種、1-123 系統の種子を 2016 年 9 月 28 日、2017 年 5 月 1 日、7 月 20 日、11 月 15 日に混合培養土を詰めた、直径 12cm プラスチックポットに 5 粒ずつ各系統 30 ポットに播種した。播種後は適宜灌水し、花芽分化が確認された後は適宜ハイポネックス 2000 倍液を灌液した。また、花芽分化が確認された後、1 ポット当たり 1 株になるように間引きを行った。

播種から子葉展開までの日数 (COT)、子葉展開から蕾出現までの日数 (DMB)、蕾出現から開花までの日数 (FDD)、播種から開花までの日数 (DTF)、子葉展開から花芽分化までの日数 (DFI) を計測し、LN は第 1 花房第 1 花の開花時に計測した。



第 12 図 NIL (1-123) の育成過程. MAS : マーカー利用選抜.

葉間期の評価

野生種，栽培種，1-123 系統の種子を 2017 年 5 月 10 日，9 月 27 日，11 月 23 日に DTF の調査と同様の混合培養土を詰めた直径 12cm プラスチックポットに 5 粒ずつ各系統 30 ポット播種した．播種後は適宜灌水し，子葉展開が確認された日から毎日無作為に 3 個体もしくは 5 個体をサンプリングし分化した葉の枚数を計測した．計測は花芽分化が認められるまで行った．そして，子葉展開後日数を横軸に，分化葉原基数を縦軸に各系統の値をプロットして近似直線を求め，その傾きの逆数を PLA とした．同様に子葉展開から花芽分化までの日数 (DFI) と第 1 花房分化節位 (LN) を計測した．なお，この実験は本章第 1 節の実験と同じ時期に行ったため，栽培種と野生種の測定値 (第 18 表) は第 15 表の値と同じである．

発芽試験

発芽率調査用粘着シール付ろ紙を敷いたシャーレ 1 つにつき各系統 50 粒を置床し，脱イオン水 2.5ml を注入し蓋をした後，25°C もしくは 15°C 一定の暗黒条件に設定した人工気象室に静置した．1 シャーレ 50 粒を 1 反復とし，6 反復ずつ発芽試験を行った．発芽調査は，播種後 5 日間は 12 時間おきに，以降 24 時間おきに 14 日間観察した．

発芽が認められた種子は廃棄し，最終発芽率 (FGP)，FGP の 50%，90% に達するまでの日数 (それぞれ GT_{50} と GT_{90})，平均発芽日数 (MGT)，発芽日数の変動係数 (COVAR) を算出した．

3.3.3. 結 果

播種から開花までの素過程に関わる形質評価

二元配置分散分析の結果，統計解析を行った全ての形質で遺伝子型と播種日のそれぞれの主効果および遺伝子型×播種日の交互作用は有意であった（第 17 表）．1-123 系統の COT は 2017 年 7 月 20 日と 11 月 15 日に播種を行った試験で栽培種よりも有意に短くなった．DMB は 7 月の試験を除く全ての試験で 1-123 系統の方が有意に短くなった．1-123 系統の FDD は 2016 年の 9 月の試験を除いたすべての試験で，栽培種よりも有意に短くなった．これら 3 つの合計値である DTF では，どの播種日でも栽培種よりも 1-123 系統の方が有意に短くなった．統計処理はしていないが，DFI も栽培種よりも NIL の方が短く，その差は 2～6 日であった．LN では 2017 年 7 月 20 日の試験を除く全ての試験で有意に小さくなった．

第 17 表 異なる播種日において第 4 染色体の DFI QTL 領域が開花関連形質に及ぼす影響

系統	形質					
	COT ^z	DMB ^z	FDD ^z	DTF ^z	DFI ^z	LN ^z
2016 年 9 月 27 日 ^x						
SL ^y	6.7 a ^w	19.6 a	30.5 a	56.3 a	14	8.8 a
SP ^y	5.1 b	13.5 c	20.4 b	38.9 c	8	8.0 b
NIL ^y	6.8 a	15.8 b	31.0 a	53.2 b	11	8.3 b
2017 年 5 月 1 日						
SL	8.0 b	19.2 a	18.8 a	46.2 a	13	9.3 a
SP	6.4 c	14.4 c	14.7 c	36.4 c	10	8.8 b
NIL	8.4 a	15.5 b	17.9 b	42.0 b	11	8.1 c
2017 年 7 月 20 日						
SL	7.0 a	19.0 a	16.8 a	42.2 a	14	9.8 b
SP	4.2 c	15.6 b	15.6 b	35.5 c	11	11.4 a
NIL	6.3 b	18.7 a	15.4 b	39.6 b	12	9.4 b
2017 年 11 月 15 日						
SL	15.1 a	25.6 a	30.1 a	70.0 a	17	7.8 a
SP	10.1 c	17.3 c	21.3 c	48.2 c	9	6.0 c
NIL	13.4 b	22.7 b	29.0 b	64.5 b	11	7.4 b
分散分析						
遺伝子型	** ^v	**	**	**	-	**
播種日	**	**	**	**	-	**
遺伝子型×播種日	**	**	**	**	-	**

^z COT：播種から子葉展開までの日数，DMB：子葉展開から蕾出現までの日数，FDD：蕾出現から開花までの日数，DTF：播種から開花までの日数，DFI：子葉展開から花芽分化までの日数，LN：第 1 花房下葉数。

^y SL：栽培種，SP：野生種，NIL：準同質遺伝子系統（1-123 系統）

^x 播種日

^w 同じ播種日・形質の異なる英小文字は Tukey-Kramer 検定により 5%水準で有意差を表す。

^v 二元配置分散分析の結果。**は 1%有意を表す。

葉間期

PLA と DFI は統計処理を行っていないが、栽培種よりも 1-123 系統の方が短かった（第 18 表）。一方、LN では栽培種と 1-123 系統の間に有意差は認められなかった。

発芽時期

二元配置分散分析の結果、遺伝子型の主効果は FGP と COVAR で、温度の主効果は COVAR を除く全ての形質で有意であった（第 19 表）。FGP と COVAR ではさらに、遺伝子型×温度交互作用も認められた。栽培種と 1-123 系統を比較すると、同一の温度条件、形質では差は認められなかった。さらに、15℃条件の FGP と 25℃条件の GT₅₀ を除く全ての形質で、1-123 系統は栽培種よりも斉一発芽性、早期発芽性の両方について劣る傾向を示した。

第 18 表 異なる播種日において第 4 染色体の DFI QTL 領域が DFI, PLA, LN に及ぼす影響

系統	DFI ^z	LN ^z	PLA ^z
5 月 10 日 ^x			
SL ^y	12	7.8 a ^w	2.1
SP ^y	7	8.0 a	1.2
NIL ^y	7	7.9 a	1.3
9 月 27 日			
SL	17	7.3 ab	4.1
SP	8	6.8 c	2.2
NIL	12	7.2 bc	2.8
11 月 23 日			
SL	17	7.3 a	3.6
SP	10	6.1 b	2.4
NIL	11	7.2 a	2.4

^z DFI : 子葉展開から花芽分化までの日数, LN : 第 1 花房下葉数, PLA : 葉間期 (日/葉数)

^y SL : 栽培種, SP : 野生種, NIL : 準同質遺伝子系統 (1-123 系統).

^x 播種日

^w 同じ播種日の異なる英小文字は Tukey-Kramer 法によって 5%水準で有意差を表す.

第 19 表 異なる発芽温度において第 4 染色体の DFI QTL 領域が発芽に及ぼす影響

系統	FGP ^z	MGT ^z	GT ₅₀ ^z	GT ₉₀ ^z	COVAR ^z
25°C					
SL ^y	98.7 a ^x	1.9 b	1.7 a	2.3 b	0.48 ab
SP ^y	56.7 b	1.3 b	1.3 a	1.5 b	0.23 b
NIL ^y	96.0 a	2.3 b	1.8 a	3.2 b	0.76 a
15°C					
SL	98.0 a	5.6 ab	5.5 a	6.7 ab	0.17 b
SP	5.3 c	7.9 a	6.0 a	11.2 a	0.56 ab
NIL	99.3 a	5.7 ab	5.3 a	6.8 ab	0.37 b
分散分析					
遺伝子型	**w	NS	NS	NS	*
温度	**	**	**	**	NS
遺伝子型×温度	**	NS	NS	NS	**

^z FGP : 最終発芽率 (%), MGT : 平均発芽日数, GT₅₀ : 最終発芽率の 50% に達するまでの日数, GT₉₀ : 最終発芽率の 90% に達するまでの日数, COVAR : 発芽日数の変動係数

^y SL : 栽培種, SP : 野生種, NIL : 準同質遺伝子系統 (1-123 系統).

^x 同列の異なる英小文字は Tukey-Kramer 法によって 5% 水準で有意差を表す.

^w 二元配置分散分析の結果. NS は有意性なし, *, ** はそれぞれ 5%, 1% 有意を表す.

3.3.4. 考 察

開花時期に関わる形質の全てで、遺伝子型×播種日の交互作用が認められたが、多重比較検定の結果、栽培種と NIL 間では播種日に関わらず NIL の DTF は栽培種よりも短く、この領域に含まれる QTL の効果は安定していると考えられた。DTF を構成する 3 つの素過程のうち COT では、2017 年 7 月 20 日、11 月 15 日の実験でのみ有意差が認められた。一方、DFI と DMB は全ての播種日で NIL の方が短く、統計処理を行った DMB について見ると、2017 年 7 月 20 日の実験を除くと、有意差が認められた。また、2016 年 9 月 27 日の実験を除くすべての播種日で、NIL の FDD は栽培種よりも短くなった。これらの結果から、第 4 染色体の DTF QTL は、開花に至るすべての過程を制御していると考えられた。

DFI は PLA と LN に分解することができるが、NIL の方が栽培種よりも PLA は小さく、また LN についても、7 月 20 日の試験を除くと、栽培種よりも NIL の方が有意に少なかった。したがって、BIL の実験では、第 4 染色体に LN QTL、PLA QTL は検出されなかったが、これは BIL の QTL 検出能力の問題で、NIL を用いることによって効果の小さな QTL を検出できることが示された。また、第 4 染色体では LN QTL、PLA QTL の働きによって DTF が影響を受けるが、LN に差がない場合でも PLA QTL の働きで DTF が影響を受けていることが明らかとなった。

第 2 章第 1 節の BIL を用いた実験では、第 4 染色体の DFI QTL 領域に COT QTL を検出し、野生種由来の対立遺伝子が日数を短縮する方向に働いていたが、本実験では、栽培時期によっては NIL の COT が栽培種のそれよりも有意に短くなる場合と栽培種と差がない場合があった。このことは、COT QTL の効果は環境の影響を受けやすいことを示唆している。

一方、第2章第2節で BIL を用いて発芽関連形質について行った QTL 解析では、第4染色体には主効果を示す、発芽に関わる QTL は見いだせなかった。そこで、温度一定の人工気象器内で温度を 15°C と 25°C に変えて発芽試験を行ったが、日数に関連した形質 (MGT, GT₅₀, GT₉₀) では遺伝子型による主効果は認められず、温度効果のみが有意となり、多重比較検定からも、NIL と栽培種との間に有意差は認められなかった。したがって、第4染色体の NIL に含まれる QTL は COT を短縮する効果を示す場合があるが、それは幼根突出以降の胚軸伸長や子葉の展開速度などを促進することによるもので、幼根突出までの期間を短縮することによるものではないと考えられた。

以上の結果から、第4染色体では PLA QTL と LN QTL とが DFI の制御に働いているが、LN QTL が効果を示さない場合でも PLA の働きによって DFI が影響を受けることから、PLA QTL と LN QTL とは近傍に座乗する別々の QTL で、効果の強さや安定性では PLA QTL の方が勝っていると考えられた。PLA QTL, LN QTL と DMB QTL や FDD QTL との関連性については、本研究では明らかにできなかった。この点を確認するためには、挿入する野生種由来の染色体断片をさらに短くした NIL を育成する必要がある。

第3章 摘要

第2章では戻し交雑自殖系 (BIL) を用いた QTL 解析によって、第1, 3, 4, 6, 7 染色体に開花時期に関わる QTL が検出された。しかし、BIL を用いた QTL 解析では形質値にばらつきが多く、効果の小さな QTL は実験誤差として切り捨てられてしまうことがある。そこで、第1, 3, 4 染色体に検出した QTL に着目をし、これら QTL 領域のみが野生種ホモ型になっていて、その他の領域は全て栽培種ホモ型になっている準同質遺伝子系統 (NIL) を育成し、第2章で検出した QTL の効果を評価した。

第1染色体の NIL (87-132 系統) は、播種日を変えた9回の試験のうち、DTF は6回、COT は5回、DMB は5回、FDD は2回の試験で有意に短くなり、LN は1回の試験で有意に大きくなった。また DFI も9回中8回の試験で87-132 系統の方が短く、うち5回は2日以上花芽分化が早まった。25℃条件下の発芽試験では、栽培種よりも87-132 系統の方が発芽日数が長く、日数のばらつきも大きくなった。15℃条件では発芽の均一性は栽培種と87-132 系統で差はないが、発芽日数は87-132 系統の方が短くなった。さらに、播種日を変えて DFI, LN, PLA を調査した3回の試験では、いずれも87-132 系統は栽培種よりも DFI と PLA が短くなり、LN には差がなかった。

第3染色体の QTL 領域について、野生種由来の染色体断片の長さが異なる3つの NILs (81-18, 81-28, 81-64 系統) を育成し、栽培種と比較した。その結果、DTF は81-64 系統で長く、81-28 系統で短く、81-64 系統と栽培種に差はなかった。第3染色体の NILs は3つの系統とも栽培種より COT が短く、発芽に関わる形質の中では、MGT と GT_{90} が短くなった。

第 4 染色体の NIL (1-123 系統) は 4 回の試験のうち, DTF は 4 回, COT は 2 回, DMB は 3 回, FDD は 3 回, LN は 3 回の試験で栽培種よりも有意に短かった. しかし, COT は 4 回中 1 回の試験で栽培種よりも有意に長くなった. DFI ではどの播種日でも 1-123 系統の方が栽培種よりも短くなった. 25°C と 15°C の 2 つの温度条件で発芽試験を行ったが, 栽培種と 1-123 系統の間で発芽に関わる形質に差はなかった. また, PLA を調査した試験では, PLA は 1-123 系統で短かったが, LN には有意差がなかった.

以上の結果から, 第 1 染色体では PLA QTL が DFI QTL として働き, 第 3 染色体では LN QTL が DFI QTL として働いているが, 第 4 染色体では PLA QTL が主, LN QTL が副として DFI を制御していると推察した. また, 第 3 染色体に, これまで見出されている DFI QTL とは効果の方向の異なる, 新たな DFI QTL が存在していることが示された.

第4章 草姿に関わる QTL 解析

4.1. 緒 言

トマトの収量は、植物の総乾物生産量と果実への同化産物の転流率によって決定される (Heuvelink ら, 2018)。総乾物生産量は群落光合成量と密接に関連しており、群落光合成量は葉面積あたりの光合成速度、積算葉面積指数 (土地面積あたりの葉面積)、群落の受光態勢によって左右される。植物群落内では、群落内部に行くほど光強度は減少するが (Saeki, 1960)、減少の程度は積算葉面積指数によって異なる。すなわち、密植にするほど積算葉面積指数は高くなり、ある程度以上になると、茎葉の相互遮蔽によって受光量が減少し、群落光合成速度が減って、減収の原因となる。しかし、積算葉面積指数が同じでも、主軸 (茎) への葉の付き方や出葉角度によって茎葉の相互遮蔽の程度に差が生じるので、相互遮蔽が起こりやすい低段密植栽培においては、植物の立体構造 (草姿) に配慮し、受光量の低下を防ぐことが重要と考えられる。

Higashide と Heuvelink (2009) は、1950 年から 2000 年の 50 年間に育成されたオランダのトマト品種では、育成年の新しい品種ほど収量が高いことを指摘し、その原因として吸光係数 (k) が低下し、光利用効率が高まったためと考察している。吸光係数は葉の傾きによって決定され、理論的には葉が水平な時に $k = 1$ となり、垂直に近い葉を持つ群落ほど吸光係数は小さくなる (彦坂, 2003)。Feng ら (2010) は、直立型と下垂型の 2 つのトマト系統を比較し、直立型の系統は、短く、垂直に近い葉を持つため、群落内部であっても光強度の減少が抑えられることを明らかにした。さらに、植物生育モデルを利用したシミュレーション実験では、葉が細長く (葉長/葉幅 > 1)、節間が長いことが光環境の改善に有利であ

ることが示されている (Sarlikioti ら, 2011).

イネやコムギなどでは植物群落構造に関わる遺伝学的な研究は盛んに行われているが、トマトでは少なく、わずかに Chitwood ら (2013) が、トマト野生種 *S. pennellii* を片親として育成した同質遺伝子系統を用いて、葉の形や大きさに関わる QTL を検出しているに過ぎない。また、本研究のこれまでの章では、低段密植栽培に向けた品種として、早期開花性に注目し、これに関する QTL について研究を行ってきた。しかし、早期開花性を示す品種であっても、密植に不適な草姿を示す品種であれば、低段密植栽培の特徴を発揮できない可能性がある。また、早期開花性と密植適応性の関連を考察した報告はほとんどない。そこで本実験では、第 2 章で行った QTL 解析と同様の手法によって、植物群落内の光環境に影響を及ぼすと考えられる形質について QTL 解析を行い、これら QTL の中に、開花に関わる QTL の近傍に検出される QTL があるかどうかを調べた。

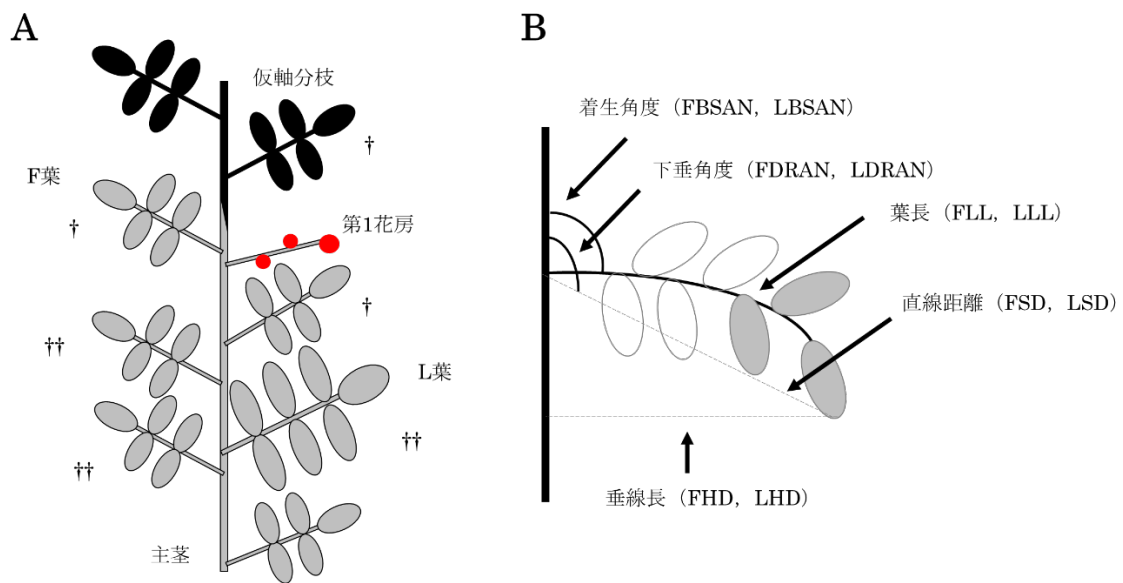
4.2. 材料および方法

栽培条件と調査項目

戻し交雑自殖系集団 (BIL) の 111 系統とその両親である, 'M570018' と PI124039 系統の種子を 2012 年 4 月 11 日 (春実験) と 9 月 13 日 (秋実験) にサカタスーパーミックス A (サカタのタネ, 神奈川) を詰めた直径 7.5cm プラスチックポットに 1 粒ずつ, 各系統 10 ポットに播種した. 5 月 3 日 (春実験) と 10 月 3 日 (秋実験) に各系統 5 株をサカタスーパーミックス A とクレハ園芸培土 (クレハ, 東京) を体積比で 1 : 1 に混合した培養土を詰めた直径 18cm プラスチックポットに移植した. 実験は乱塊法で 5 反復となるようにポットを配置した. 播種後 8 週目からは週に 3 回, 1000 倍希釈したハイポネックス (6-10-5, ハイポネックスジャパン, 大阪) 溶液を 300mL ずつ施与した. 植物体は第 1 花房第 1 花開花時に第 3 花房 (春実験) もしくは第 2 花房 (秋実験) の上 3 枚の葉を残して摘心した. 栽植密度は竹川と土屋 (2010) がトマトの低段密植栽培で推奨している約 5.7 本 m^{-2} になるようにした.

春実験では播種後 70 日目, 秋実験では播種後 69 日目に各系統 5 株について草丈 (PH), 全葉数 (TLN) を測定し, PH を TLN で除した値を節間長 (INT) とした. 葉のサイズや傾きに関わる形質は 2 つの異なる葉 (F 葉と L 葉) について計測した. F 葉は第 1 花房直下の葉 (Samach と Rotan, 2007), L 葉は最大葉である (第 12 図 A). これら 2 つの葉について, 葉長 (FLL, LLL), 垂線長 (FHD, LHD), 直線距離 (FSD, LSD), 下垂角度 (FDRAN, LDRAN), 着生角度 (FBSAN, LBSAN) を測定し (第 12 図 B), 葉長を直線距離で除した値を葉の屈曲度 (FCUR, LCUR) の指標, F 葉と L 葉, それぞれを含めた上下 3 枚の葉の

垂線長の平均を草冠サイズ (FCAN, LKAN) の指標とした. また, 春実験では F 葉の先端の小葉長 (FSL), 小葉幅 (FSW) を, 秋実験では F 葉の葉幅 (FLW) も測定した. DNA マーカー解析や QTL 解析などの手法は, 第 2 章と同様に行った.



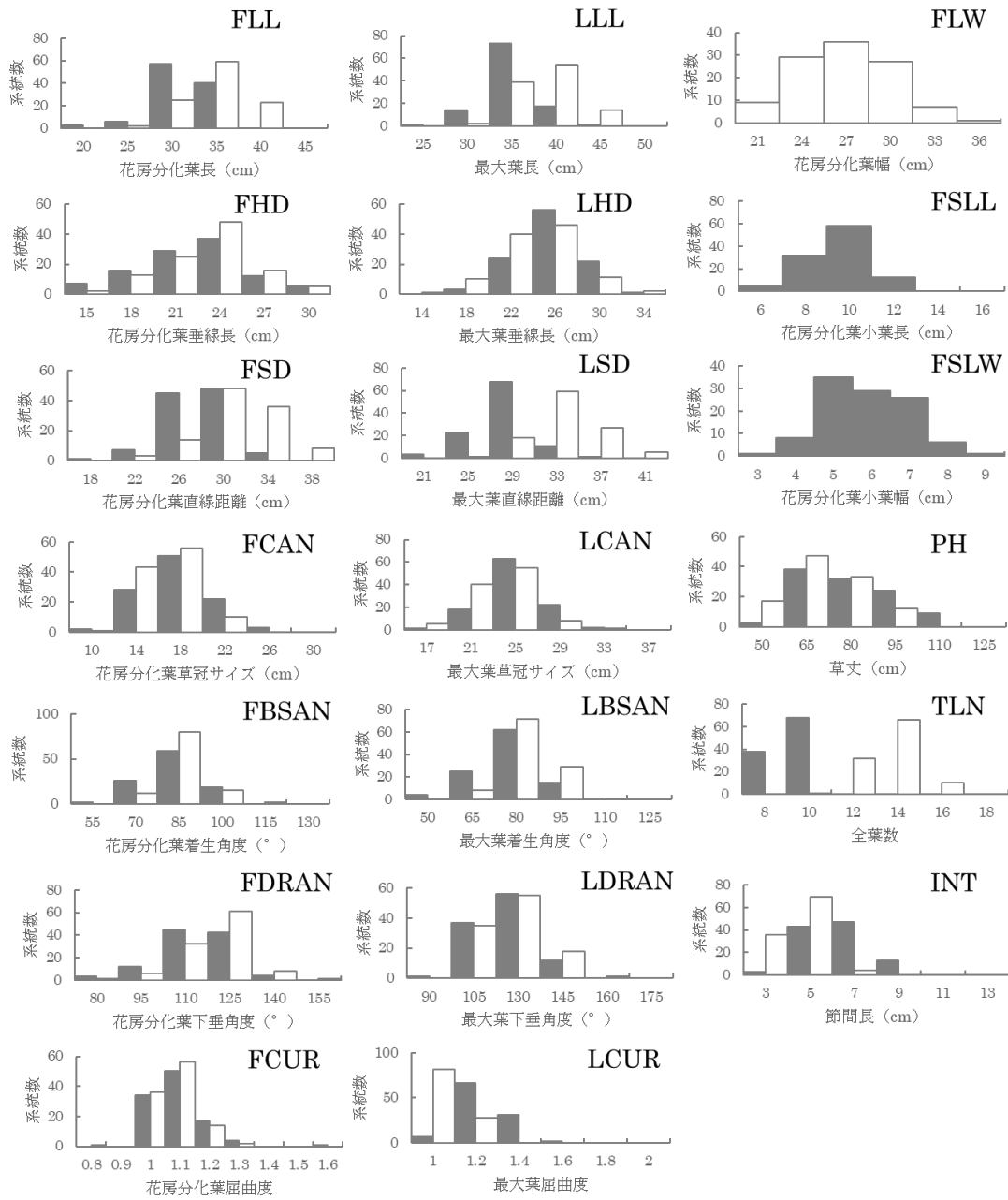
第 12 図 計測した葉の位置 (A) と形態 (B). (A) : †と††はそれぞれ花房分化葉 (F 葉) と最大葉 (L 葉) の草冠サイズの測定に使用した葉の位置

4.3. 結 果

形質評価

調査したすべての形質で連続的な変異を表した（第 13 図）。栽培種は野生種よりも FLL, LLL, PH, INT が大きく, FBSAN, LBSAN, TLN については野生種の方が大きな値を示した（第 20 表）。葉の下垂角度の平均値はいずれも 90° を超えた。FDRAN では野生種と栽培種で有意差はなかったが, LDRAN では栽培種の方が有意に大きかった。また, FCAN では栽培種の方が野生種よりも小さかったが, LKAN では栽培種と野生種の間には有意な差はなかった。BIL の平均値は, ほぼすべての形質で両親の間の値となったが, どちらかというところ、栽培種に近い値を示した。FHD, FCUR を除くすべての形質で環境効果（栽培時期）が有意となり, FLL, LLL, FSD, LHD, LSD, LCUR, FCAN, LKAN, TLN では遺伝子型×環境交互作用も有意であった。

F 葉と L 葉の同一形質間には, 季節を問わず有意な相関が認められた（データは示していない）。春実験の L 葉を除くと, 葉の位置に関わらず, 春, 秋ともに葉長と草冠サイズの間には有意な相関が認められた（第 21 表）。秋実験の F 葉を除くと, 草冠サイズは常に着生角度と下垂角度に対して負の相関を示した。すなわち, 着生角度や下垂角度は 90° 以上なので, それらが増加すると, 葉はより下垂するため, 草冠サイズが小さくなることが示された。一方, 葉長は草丈と節間長に対し正の相関を示し, 草丈と節間長は強い正の相関を示した。節間長は春実験の F 葉を除き, 下垂角度と正の相関を示した。また, 秋実験では, F 葉, L 葉のいずれの下垂角度も全葉数との間に負の相関を示した。



第 13 図 草姿に関わる形質の頻度分布図。黒いバーが春実験、白いバーが秋実験の結果を表す。

第 20 表 草姿に関わる形質の平均値，標準誤差および有意性.

形質	季節	SL ^z	SP ^z	BIL ^z	有意性 ^y		
					SL : BIL	SP : BIL	SL : SP
FLL ^x	春	36.6±0.6	31.3±0.6	33.7±0.2	**	**	**
	秋	39.0±0.4	30.0±0.6	37.2±0.2			
LLL ^x	春	38.3±1.1	33.5±0.6	37.4±0.1	**	**	**
	秋	43.5±0.5	32.6±0.6	41.1±0.2			
FHD ^x	春	28.1±0.9	27.3±0.9	23.9±0.2	**	NS	NS
	秋	26.4±1.1	21.8±0.7	24.6±0.2			
LHD ^x	春	31.8±0.7	30.5±0.7	27.8±0.2	**	NS	NS
	秋	27.4±1.2	24.9±1.2	26.2±0.2			
FSD ^x	春	33.4±0.6	29.8±0.7	29.7±0.2	*	**	**
	秋	33.7±0.8	26.7±0.6	32.9±0.2			
LSD ^x	春	31.8±1.1	31.4±0.5	30.4±0.2	**	**	**
	秋	37.9±0.8	28.9±0.9	35.7±0.2			
FCAN ^x	春	17.2±0.2	24.1±1.0	19.8±0.2	**	**	**
	秋	16.7±0.6	18.2±0.7	18.6±0.1			
LCAN ^x	春	30.1±0.5	29.3±0.6	27.3±0.2	*	NS	NS
	秋	26.0±0.9	24.2±1.2	25.3±0.2			
FBSAN ^x	春	85.9±2.0	97.9±4.6	90.4±0.6	**	**	**
	秋	83.6±2.2	102.0±3.3	92.9±0.6			
LBSAN ^x	春	75.0±3.1	98.0±2.5	84.0±0.5	**	**	**
	秋	83.3±2.7	98.7±4.6	89.9±0.7			
FDRAN ^x	春	118±3.2	109±5.5	122±0.7	NS	**	NS
	秋	125±2.4	125±5.9	127±0.7			
LDRAN ^x	春	138±1.9	114±3.9	132±0.6	NS	**	**
	秋	138±3.4	124±5.1	135±0.7			
FCUR ^x	春	0.93±0.06	1.05±0.02	1.15±0.01	NS	*	*
	秋	1.17±0.03	1.13±0.02	1.13±0.01			

第 20 表 (続き)

形質	季節	SL	SP	BIL	有意性		
					SL : BIL	SP : BIL	SL : SP
LCUR ^x	春	1.21±0.02	1.07±0.02	1.35±0.01	**	**	*
	秋	1.15±0.02	1.14±0.03	1.16±0.00			
PH ^x	春	94.3±3.0	69.4±2.1	87.5±0.8	**	**	**
	秋	88.0±3.9	55.1±2.8	77.5±0.7			
TLN ^x	春	9.5±0.2	13.6±0.3	10.2±0.0	**	**	**
	秋	14.0±0.2	14.3±0.4	14.4±0.1			
INT ^x	春	8.9±0.4	5.8±0.2	7.4±0.1	**	**	**
	秋	6.3±0.3	3.9±0.2	5.4±0.0			
FLW ^x	春	30.3±0.8	22.4±0.8	28.5±0.2	NS	**	**
FSL ^x	秋	10.5±0.3	7.8±0.2	10.5±0.1	NS	**	**
FSLW ^x	秋	6.7±0.3	5.2±0.1	6.3±0.1	NS	**	**

^z SL : 栽培種, SP : 野生種, BIL : 戻し交雑自殖系集団

^y Tukey-Kramer 検定による統計解析結果. NS は有意差なし, *, ** はそれぞれ 5%, 1% 水準で有意差を示す.

^x FLL, LLL : 葉長 (cm), FHD, LHD : 垂線長 (cm), FCAN, LCAN : 草冠サイズ (cm), FBSAN, LBSAN : 着生角度 (°), FDRAN, LDRAN : 下垂角度 (°), FCUR, LCUR : 屈曲度, PH : 草丈 (cm), TLN : 全葉数, INT : 節間長 (cm), FLW : 花房分化葉幅 (cm, 秋実験のみ測定), FSL : 花房分化葉小葉長 (cm, 春実験のみ測定), FSLW : 花房分化葉小葉幅 (cm, 春実験のみ測定)

第 21 表 (A) 花房分化葉 (B) 最大葉の形質間の相関.

(A)

	FLL	FCAN	FBSAN	FDRAN	FCUR	TLN	PH
FCAN	0.100 ** <i>0.186 **</i>						
FBSAN	-0.165 ** <i>0.003</i>	-0.121 * <i>-0.022</i>					
FDRAN	0.079 <i>0.189 **</i>	-0.304 ** <i>-0.145 **</i>	0.373 ** <i>0.344 **</i>				
FCUR	0.103 * <i>0.104 *</i>	-0.016 <i>-0.033</i>	-0.230 ** <i>-0.128 **</i>	0.201 ** <i>0.098 *</i>			
TLN ^b	-0.085 * <i>-0.145 *</i>	0.131 ** <i>-0.074</i>	0.061 <i>-0.160 **</i>	-0.019 <i>-0.244 **</i>	-0.070 <i>-0.094 *</i>		
PH ^b	0.136 ** <i>0.209 **</i>	-0.008 <i>-0.008</i>	-0.066 <i>-0.089 *</i>	-0.072 <i>-0.023</i>	-0.041 <i>-0.071</i>	0.031 <i>0.264 **</i>	
INT ^b	0.174 ** <i>0.284 **</i>	-0.080 <i>0.026</i>	-0.137 ** <i>-0.004</i>	-0.032 <i>0.114 **</i>	0.013 <i>-0.013</i>	-0.108 * <i>-0.275 **</i>	0.741 ** <i>0.845 **</i>

(B)

	LLL	LCAN	LBSAN	LDRAN	LCUR	TLN	PH
LCAN	0.259 ** <i>0.041</i>						
LBSAN	-0.159 ** <i>0.044</i>	-0.095 * <i>-0.101 *</i>					
LDRAN	0.195 ** <i>0.248 **</i>	-0.430 ** <i>-0.387 **</i>	0.411 ** <i>0.221 **</i>				
LCUR	0.070 <i>0.053</i>	-0.030 <i>-0.047</i>	-0.312 ** <i>-0.116 **</i>	-0.028 <i>0.021</i>			
TLN	0.059 <i>0.009</i>	0.069 <i>-0.149 **</i>	0.009 <i>-0.054</i>	-0.072 <i>-0.104 *</i>	-0.093 * <i>-0.098 *</i>		
PH	0.226 ** <i>0.277 **</i>	0.142 ** <i>0.103 *</i>	-0.078 <i>-0.061</i>	0.047 <i>0.077</i>	-0.049 <i>0.062</i>	0.031 <i>0.264 **</i>	
INT	0.229 ** <i>0.279 **</i>	-0.049 <i>-0.017</i>	-0.085 <i>-0.036</i>	0.116 ** <i>0.130 **</i>	0.011 <i>0.120 **</i>	-0.108 * <i>-0.275 **</i>	0.741 ** <i>0.845 **</i>

斜体は秋実験の相関係数を表す. TLN, PH, INT 間の相関係数は (A) と (B) で同様である. 塗りつぶされた相関係数は無相関検定で有意であったものを表す. **と*はそれぞれ 1%, 5%.

QTL 解析

計測した 20 の形質のうち、14 の形質について、相加効果 QTL が 24 検出された (第 22 表)。葉長を制御する QTL は第 1 染色体 (*fl1*) と第 3 染色体 (*fl3*, *ll3*) に検出され、寄与率はそれぞれ 10.9, 10.9, 9.2% であった。*ll3* は *fl3* と同じ位置に検出され、どちらも栽培種の対立遺伝子が葉長を増加させる方向に働いた。FLW を制御する QTL は第 1 染色体 (*flw1*) と第 10 染色体 (*flw10*) に検出された。*flw1* の相加効果は正で、栽培種の対立遺伝子が FLW を増加させる方向に働くことが示されたが、*flw10* の相加効果は負であった。なお、*flw1* が検出された領域は *fl1* が検出された領域の近傍であった。*fsan10* は *flw10* の近傍に検出され、栽培種の対立遺伝子が FBSAN を増加させる方向に働いた。FDRAN QTL は第 2, 12 染色体に一つずつ検出された。*fdran2* の相加効果は正の値を示したが、*fdran12* の相加効果は負であった。第 12 染色体には *ldran12* も検出され、相加効果の方向は *fdran12* と一致していたが、検出位置は異なった。草冠サイズの QTL は第 2 (*fcan2*, *lcan2*), 4 (*fcan4*), 12 (*fcan12*, *lcan12*) 染色体に検出された。第 2, 4 染色体に検出した QTL は栽培種の対立遺伝子が草冠サイズを減少させる方向に働いたが、第 12 染色体の QTL は増加させる方向に働いた。*fcan12* と *lcan12* は *fdran12* と *hd12* と同じ位置に検出された。*fcan12*, *lcan12*, *hd12* の相加効果の方向は一致しており、いずれも *fdran12* の相加効果とは逆となった。TLN に関わる QTL は第 1 染色体と第 3 染色体に検出され、どちらも栽培種の対立遺伝子が TLN を減少させた。PH については、*ph2*, *ph3*, *ph4*, *ph6* が検出され、栽培種の対立遺伝子が PH を減少させる方向に働いた。*ph4* の近傍には *int4* が検出され、両者の相加効果の方向は一致した。

第 22 表 草姿に関わる相加効果 QTL

形質	QTL	位置 cM (信頼区間)	F 値 ^z	A ^y	$h^2_{A^x}$	AE ^y	$h^2_{AE^x}$
FLL	<i>fl1</i>	83.1 (75.0~95.6)	8.0	0.918	10.9		
	<i>fl3</i>	128.7 (121.6~142.7)	8.6	0.838	10.9		
LLL	<i>ll3</i>	127.7 (122.6~140.7)	8.9	0.899	9.2		
LHD	<i>lhd12</i>	5.3 (1.0~13.3)	10.4	1.133	9.9		
FCAN	<i>fcan2^w</i>	113.9 (106.0~117.9)	13.2	-0.959	8.4	0.433 (e2)	2.0
	<i>fcan4</i>	29.0 (14.1~41.5)	8.4	-0.460	5.6		
	<i>fcan12^w</i>	1.0 (0.0~7.3)	15.8	0.856	9.0	0.560 (e1) -0.553 (e2)	3.4
LCAN	<i>lcan2</i>	114.9 (99.0~117.9)	8.2	-0.651	6.8		
	<i>lcan12</i>	6.3 (1.0~14.3)	10.7	1.001	10.7		
FBSAN	<i>fbzan10</i>	45.0 (42.4~47.5)	7.6	2.713	8.4		
FDRAN	<i>fdzan2</i>	115.9 (109.0~117.9)	7.7	3.949	8.4		
	<i>fdzan12</i>	5.3 (0.0~15.3)	8.0	-3.759	7.9		
LDRAN	<i>ldzan12</i>	40.8 (35.8~43.8)	9.4	-3.314	8.2		
PH	<i>ph2</i>	85.7 (80.9~88.7)	14.2	-4.233	9.9		
	<i>ph3</i>	41.4 (36.2~45.4)	9.9	-3.791	6.9		
	<i>ph4</i>	133.3 (124.9~147.5)	9.9	-5.362	15.1		
	<i>ph6</i>	1.0 (0.0~9.0)	8.6	-5.384	13.4		
TLN	<i>tln1</i>	114.5 (109.8~124.5)	7.7	-0.342	9.3		
	<i>tln3</i>	41.4 (35.2~44.4)	12.8	-0.432	16.8		
INT	<i>int4</i>	136.3 (131.3~148.5)	18.4	-0.553	16.8		
FLW	<i>flw1</i>	72.0 (69.3~84.6)	14.2	1.273	14.9		
	<i>flw10</i>	46.0 (42.4~64.5)	11.1	-0.642	9.6		
FSL	<i>fsll1</i>	83.1 (66.4~90.6)	19.7	0.653	20.1		
FSLW	<i>fslw2</i>	102.0 (94.8~108.0)	21.7	-0.565	19.7		

^z QTL が検出された領域の F 値のピーク値

^y A: 相加効果, 正の値は栽培種の対立遺伝子が野生種の対立遺伝子よりも表現型値を増加させ, 負の値は野生種由来の対立遺伝子が栽培種の対立遺伝子よりも表現型値を増加させることを示す.

AE: 相加×環境交互作用; (e1) 春, (e2) 秋.

^x h^2_A : 相加効果によって説明された表現型変異の割合 (%)

h^2_{AE} : 相加×環境交互作用によって説明された表現型変異の割合 (%)

^w 下線を付した QTL は相加×環境交互作用を示した QTL を表す

エピスタシス QTL は FLL, FLW, FHD, FCAN, LKAN, TLN について計 10 対検出された (第 23 表). FLL に関するエピスタシス QTL は第 2 染色体と第 8 染色体間に 1 対, 第 4 染色体と第 10 染色体間に 2 対検出された. これら QTL の相加×相加作用は全て負の値で, 組み換え型の対立遺伝子の組み合わせが FLL を増加させることが示された. これらの寄与率は 8.5, 9.2, 11.0% で, 相加効果 QTL の寄与率とほぼ同程度であった. *flw4-flw10* の相加×相加作用も負の値であった. FHD ではエピスタシス QTL が 2 対検出された. *fhd2-fhd4* では, 組み換え型の対立遺伝子の組み合わせが FHD を増加させ, *fhd3-fhd11* では, 両親型の組み合わせが FHD を増加させることが示された. 草冠サイズについて, エピスタシス QTL は 3 対検出され, 第 3 染色体と第 11 染色体間 (*fcan3-fcan11, lcan3-lcan11*) に 2 対, 第 4 染色体と第 7 染色体間 (*fcan4-fcan7*) に 1 対検出された. 第 3, 11 染色体間に検出されたエピスタシス QTL では, 両親型の対立遺伝子の組み合わせが草冠サイズを増加させ, 第 4, 7 染色体間に検出されたエピスタシス QTL では組み換え型が草冠サイズを増加させる方向に働いた. エピスタシス QTL である *fcan3* と *lcan3* は葉長を制御する相加効果 QTL である *fl13* と *ll3* と同じ位置に検出された. TLN のエピスタシス QTL (*tln9* と *tln10*) では, 組み換え型の対立遺伝子の組み合わせが TLN を増加させた.

第 23 表 草姿に関わるエピスタシス QTL

形質	QTL _i	位置 (cM)	QTL _j	位置 (cM)	AA ^z	<i>h</i> ² _{A^y}
FLL	<i>fl12</i>	67.6	<i>fl18</i>	68.3	-1.026	8.5
	<i>fl14-1</i>	71.3	<i>fl110-1</i>	60.5	-1.574	9.2
	<i>fl14-2</i>	139.5	<i>fl110-2</i>	8.4	-0.876	11.0
FHD	<i>fhd2</i>	24.3	<i>fhd4</i>	141.5	-1.247	14.4
	<i>fhd3</i>	132.7	<i>fhd11</i>	64.2	1.356	15.2
FCAN	<i>fcan3</i>	129.7	<i>fcan11</i>	64.2	0.808	9.3
	<i>fcan4</i>	35.5	<i>fcan7</i>	84.3	-0.761	9.4
LCAN	<i>lcan3</i>	126.6	<i>lcan11</i>	64.2	0.969	8.1
FLW	<i>flw4</i>	71.3	<i>flw10</i>	32.2	-2.012	13.3
TLN	<i>tl19</i>	64.3	<i>tl10</i>	28.6	-0.273	68.9

^z AA : 相加×相加効果, 正の値は遺伝子座同士が両親型 (Q_iQ_i Q_jQ_j もしくは q_iq_i q_jq_j) のとき組み換え型の遺伝子座 (Q_iQ_i q_jq_j もしくは q_iq_i Q_jQ_j) よりも表現型値を増加させ, 負の値は組み換え型の遺伝子座同士が両親型の遺伝子座よりも表現型値を増加させることを示す.

^y QTL によって説明された表現型変異の割合 (%)

4.4. 考 察

トマト植物体の横方向の広がり葉位によって異なると考えられるため、2つの葉位について葉の角度、大きさ、水平方向への広がりを調査した。その結果、葉長に関わる QTL では *fl3* と *ll3*, 葉の下垂角度では *fdran12* と *ldran12*, 草冠サイズでは *fcan2* と *lcan2*, *fcan12* と *lcan12* がそれぞれほぼ同じ位置に検出され、相加効果の方向は葉位に関わらず同じであった。したがって、葉長、下垂角度あるいは草冠サイズに関わる QTL は、それぞれ、葉位に関わらず、同じように働く QTL であると考えられた。

本実験の結果、異なる形質を制御する相加効果 QTL が複数検出される領域が第 1, 2, 4, 10, 12 染色体に 1 か所ずつ、第 3 染色体に 2 か所確認された (第 14 図)。このうち第 2 染色体では、草冠サイズを制御する QTL である *fcan2*, *lcan2* と下垂角度を制御する QTL である *fdran2* が同一の領域に検出され、それぞれ栽培種の対立遺伝子が草冠サイズを減少、下垂角度を増加させた。葉の大きさが同じ場合、下垂角度が 90° よりも大きくなる (下垂する) と草冠サイズは小さくなると考えられるので、第 2 染色体のマーカー ORFX2 近傍に存在する下垂角度に関わる QTL は、下垂角度に対する影響を通じて草冠サイズに影響を及ぼしていると考えられた。同様に、第 12 染色体には *fdran12*, *ldran12*, *fcan12*, *lcan12* が同じ領域に検出され、第 2 染色体の QTL とは異なり、栽培種の対立遺伝子が草冠サイズを増加、下垂角度を減少させた。したがって、これら QTL についても、下垂角度に対する影響を通じて草冠サイズが影響を受けたと考えられる。なお、葉長を制御する相加効果 QTL (*fl3* と *ll3*) が検出された領域には草冠サイズを制御するエピスタシス QTL (*fcan3* と *lcan3*) が検出されたことから、草冠サイズには葉の下垂角度だけでなく、葉長が関与している可能

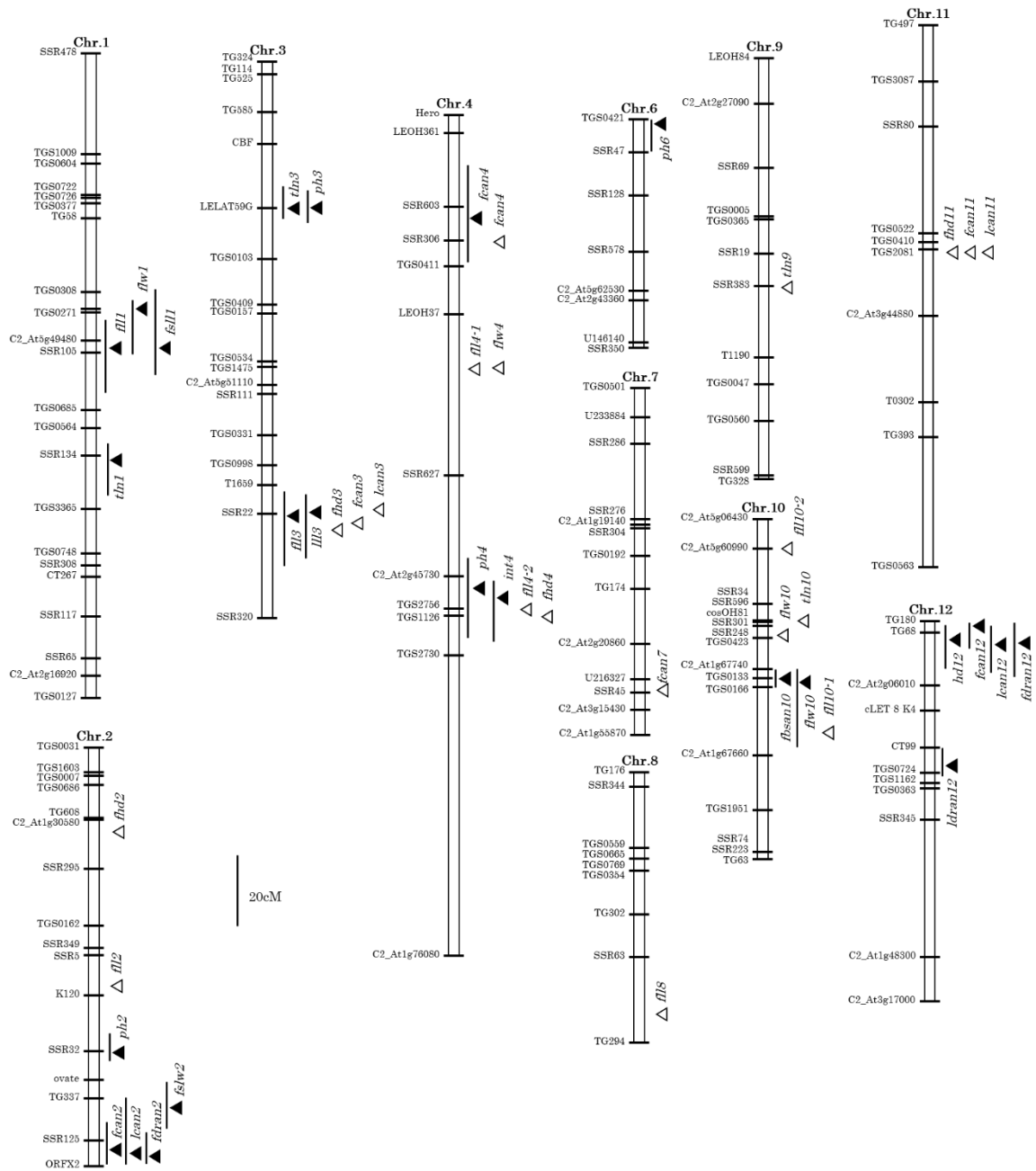
性が示された.

LCAN あるいは FCAN が小さいと、隣り合う植物体の葉の重なり程度が少なくなるので、密植条件下においても光利用効率が高い品種の育成には、野生種由来の対立遺伝子が LCAN あるいは FCAN を小さくする方向に働く QTL の利用が有望であると考えられる。本実験では第 2, 12 染色体に LCAN QTL, 第 2, 4, 12 染色体に FCAN QTL が検出されたが、野生種由来の対立遺伝子が LCAN あるいは FCAN を減少させる方向に働く QTL は、第 12 染色体に座乗する QTL だけであった。育種への利用という観点からは、環境に関わらず、安定的に効果を示す QTL が望ましいとされるが、*lcan12*, *fcan12* は QE を示す QTL であり、その点では問題のある QTL と考えられた。

本実験で検出した QTL のうち、第 1 染色体に検出された相加効果 QTL のうち、*fl1*, *flw1*, *fsll1* は *dtf1*, *pla1* とほぼ同じ領域から検出され、野生種の対立遺伝子が葉のサイズに関わる形質である FLL, FLW, FSSL の値を小さくする方向に働き、DTF, PLA を短縮する方向に働くことが明らかになった。葉間期が短縮された突然変異体では葉のサイズが小さくなったという報告があるので (Itoh ら, 1998), この領域に存在する PLA QTL が葉のサイズにも影響を及ぼしている可能性がある。しかし、この領域には CAN QTL が検出されなかったため、葉のサイズを小さくすることによって受光態勢が改善されるか、また群落光合成速度が上昇するのか、どうかについては、さらに検証することが必要と考えられた。一方、第 4 染色体に検出した相加効果 QTL のうち、*fcan4* は *dfi4* とほぼ同じ領域に検出され、野生種の対立遺伝子が水平方向への葉の広がり大きくし、DFI を短縮する方向に働くことが明らかになった。また、同じ領域には LCAN のエピスタシス QTL である *lcan4* も検出されてい

る。これらの結果は、草冠サイズに関連する形質と花芽分化時期を制御する QTL が第 4 染色体のごく近い位置に座乗していることを示唆しているが、この領域に存在する野生種由来の DFI QTL と FCAN QTL はそれぞれ花芽分化を早め、草冠サイズを拡大させるので、低段密植栽培向けの品種改良にあたっては、これら QTL を分離する必要があることが示された。

なお、第 3 染色体の DTF QTL 領域には *tln3* と *ph3* を検出し、どちらも野生種由来の対立遺伝子が TLN と PH を増加させる方向に働いた。この領域には LN QTL が検出されており、相加効果の方向も一致していた。したがって LN QTL による栄養成長期の延長が TLN や PH に影響した可能性も考えられる。この点についても、今後、検討する必要がある。



第 14 図 草姿に関わる QTL 連鎖地図。▼は相加効果 QTL, ▽はエピスタシス QTL の F 値のピーク値を表す。相加効果 QTL に付随した棒線は信頼区間を表す。

第4章 摘要

栽植密度を高めることによって総収量の上昇が見込まれるが、栽植密度が高すぎると、相互遮蔽のために群落内部の光環境が悪化し、単位面積当たりの収量が減少する可能性がある。したがって、低段密植栽培向きの品種としては、早期開花性を示すだけでなく、群落内部の光強度の低下を抑えることができる草姿を持つことが重要であるが、トマトの草姿に関わる遺伝学的研究はほとんどない。そこで、葉のサイズや傾きなどについて QTL 解析を行った。トマトの葉は葉位によってサイズや角度が異なることから、葉に関わる形質については最大葉 (L 葉) と花房分化葉 (F 葉) の 2 つの異なる葉位で調査した。合計 20 の形質について QTL 解析を行った結果、14 の形質に関わる 24 の相加効果 QTL を検出した。葉の水平方向の広がり の指標となる CAN に関わる QTL (FCAN QTL, LKAN QTL) は第 1, 4, 12 染色体に計 5 つ検出された。CAN QTL は、多くの場合、葉長 (LL) や葉の下垂角度 (DRAN) を制御する QTL と同じ位置に検出され、葉の大きさや下垂角度が CAN を決定する重要な因子であると考えられた。CAN QTL のうち、野生種由来の対立遺伝子が CAN を小さくする働きを示したのは第 12 染色体に検出された QTL で、低段密植栽培向けの品種育成に有望な QTL と考えられた。第 4 染色体の CAN QTL は、開花関連 QTL の近傍に検出されたが、相加効果の方向から考えて、早期開花性と密植適応性の両立には DFI QTL と CAN QTL の分離が必要と考えられた。

第 5 章 総合考察

播種から開花までの過程に関わる QTL の相互関連

播種から開花までの過程は発芽，花芽分化，花芽の発達などの諸過程に分割することができる．DTF QTL とこれら諸過程に関わる QTL が同じ位置に検出される場合には，その（あるいは，それらの）QTL によって DTF が制御されている可能性がある．これを調査するため，BIL を用いて QTL 解析を行ったところ，第 1 染色体の同一領域に DTF QTL, COT QTL, PLA QTL, 発芽関連 QTL, 第 3 染色体の同一領域に DFI QTL と LN QTL, 第 4 染色体の同一領域に DFI QTL と COT QTL, 第 7 染色体の同一領域に DTF QTL, DFI QTL, LN QTL が検出された．本研究で DTF QTL は第 1, 7 染色体に検出されたただけであったが，同じ両親系統に由来する BIL を用いた既往の研究（Cagas ら, 2008; Sumugat ら, 2010; Sumugat と Sugiyama, 2010）では，第 1, 3, 4, 6, 7 染色体に計 5 つの DTF QTL が検出されており，第 1 染色体を除くと，それらが検出された領域と本研究で DFI QTL が検出された領域はほぼ一致した．さらに，NIL を用いた実験の結果，第 1 染色体の DTF QTL 検出領域を野生種染色体断片に置換した NIL では，栽培種に比べ，DTF だけでなく，DFI も短くなることが明らかになった．このように，DTF QTL が検出される領域には DFI QTL が存在することが示されたことから，DTF の制御には DFI QTL が重要な役割を果たしていると考えられた．

ところで，DFI は花芽分化までに分化した葉原基数（LN）と 1 葉原基を分化するのに要する日数（PLA）の積である．BIL を用いた QTL 解析では，第 1 染色体の DFI QTL が検出

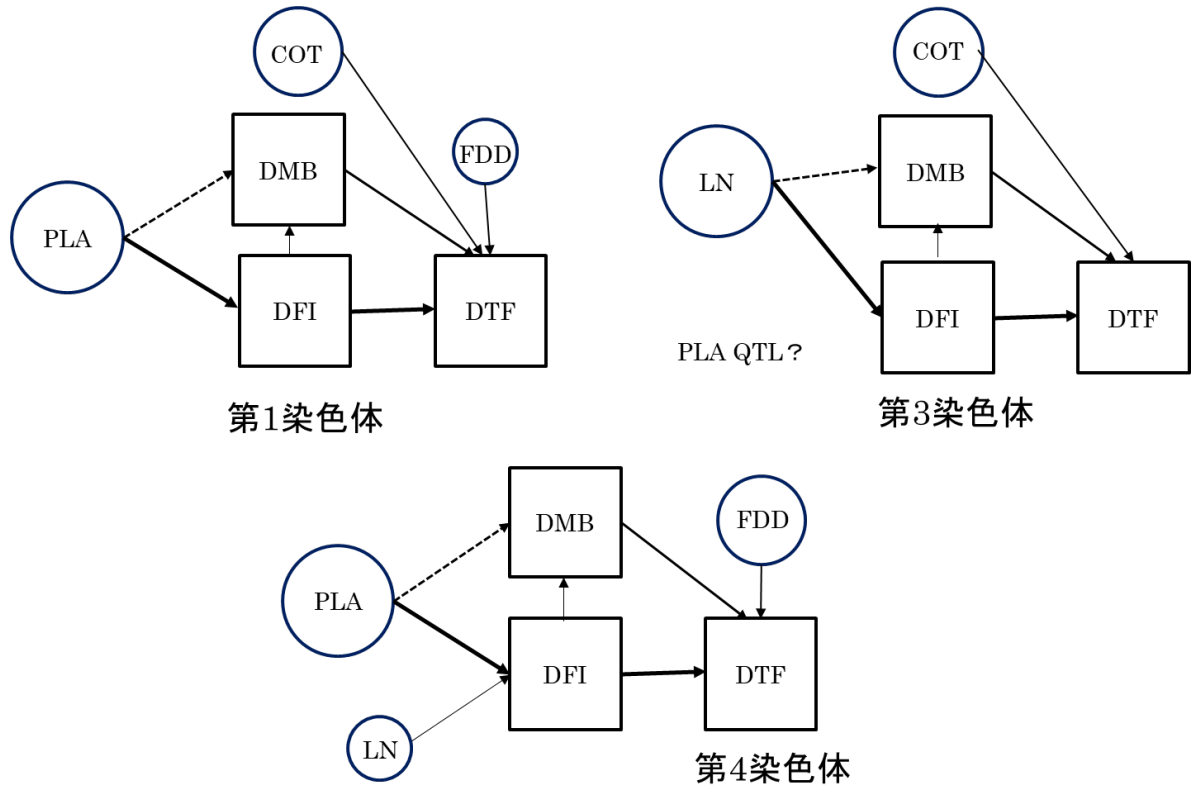
された領域に PLA QTL, 第 3, 7 染色体の DFI QTL 検出領域に LN QTL が検出された. また, NIL を用いた実験で, 第 1 染色体の DFI QTL と PLA QTL が検出された領域に野生種由来の対立遺伝子が LN を短縮する QTL は存在しないことが確かめられたので, 第 1 染色体の DFI QTL は PLA QTL と同一の QTL であると考えられた. これに対して, BIL を用いた実験において, 第 4 染色体の DFI QTL が検出された領域に PLA QTL, LN QTL は検出されなかったが, NIL を用いた実験において, 栽培種に比べ, NIL はいずれの試験でも PLA が短く, またいくつかの試験では LN が短くなった. そこで, 第 4 染色体では主に PLA QTL が DFI を制御しているが, LN QTL も DFI にある程度, 影響を及ぼしていると考えられた. BIL を用いた実験から, 第 3, 7 染色体では LN QTL が DFI QTL として働いていると考えられたが, NIL を用いた実験で PLA を調査していないので, これら領域に PLA QTL が存在し, LN QTL とともに DFI QTL として働いている可能性を否定することはできなかった.

第 1 染色体において DTF QTL が検出された領域に発芽に関わる QTL と COT QTL が検出され, 第 4 染色体において DFI QTL が検出された領域に COT QTL が検出された. 発芽の早晩は COT に大きな影響を及ぼすと考えられる. しかし, 第 1 染色体の NIL を用いた実験で, NIL の COT は栽培種のそれに比べて短くなったが, 発芽までの日数は 15°C で栽培種よりも短く, 25°C では長くなった. また, 第 4 染色体の NIL を用いた実験では, 栽培種に比べ, COT が短くなる場合があったが, 発芽には差が見られなかった. このように COT と発芽速度とでは結果が異なったことから, 第 1, 4 染色体において, 発芽に関わる QTL と COT QTL は別々の QTL であると考えられた. COT は幼根突出までの日数とその後子葉展開までの日数の和であるが, COT QTL は胚軸伸長や子葉展開など, 幼根突出後の成長に影響

響を及ぼしている可能性が考えられる。

BIL を用いた QTL 解析では DMB と FDD を調査しなかったが、本研究と同じ両親に由来する BIL を用いた Sumugat ら (2010) の実験によれば、第 1 染色体に DTF QTL, DMB QTL, FDD QTL, 第 1, 6 染色体に DTF QTL と FDD QTL が検出されている。また、第 1 染色体の DTF QTL, DMB QTL, FDD QTL の相加効果はそれぞれ 2.88, 1.89, 1.01 で、DMB QTL と FDD QTL の相加効果の和が DTF QTL の相加効果とほぼ一致することが報告されている (Sumugat ら, 2010)。この結果は、DMB QTL と FDD QTL が DTF を制御していることを示唆している。しかし、本実験の第 1 染色体の NIL の実験から明らかなように、FDD は DMB, COT に比べると栽培環境の影響を受けやすく、NIL と栽培種の間には有意差が認められない場合が多かった。したがって、第 1 染色体の FDD QTL が DTF に影響を及ぼしているが、その効果は小さく、また環境の影響を受けやすい QTL であり、PLA QTL の近傍に座乗していると考えられた。一方、本研究の BIL を用いた実験で第 6 染色体に DTF QTL は検出されなかったため、Sumugat ら (2010) が報告した第 6 染色体の FDD QTL は存在するとしても、DTF に及ぼす効果はあまり大きなものではないと思われた。この点については、NIL を育成し、確認する必要がある。また、DFI は DMB の一部であるので、Sumugat ら (2010) が検出している DMB QTL は DFI QTL と同一の QTL である可能性も考えられる。

以上の結果から、第 15 図に示すように、染色体によって DTF を制御している機作が異なるが、いずれの染色体においても、播種から開花までの諸過程のうち、花芽発達以前の過程、中でも DFI が重要な役割を果たしており、また DFI は、LN (花芽分化までに分化した葉原基数) あるいは PLA を制御する QTL によって影響されることが明らかとなった。



第 15 図. 第 1 染色体, 第 3 染色体, 第 4 染色体における早期開花性制御機構の模式図. ○は QTL を, ○の大きさ, 線の太さは効果の強さ, □は形質を示す. 点線の矢印は, 明確な関係があるかどうか証明されなかったことを示す. COT: 播種から子葉展開までの日数, DMB: 子葉展開から蕾出現までの日数, FDD: 蕾出現から開花までの日数, DTF: 播種から開花までの日数, PLA: 葉間期, LN: 第 1 花房下葉数.

NIL の有用性

単独で効果を発現する相加効果 QTL については、BIL よりも NIL の方が検出力の高いことが報告されている (Tanksley と Nelson, 1996). 本研究においても、BIL を用いた QTL 解析では検出されない QTL (第 1 染色体の DFI QTL, 第 4 染色体の PLA QTL) を検出することが出来た. さらに、第 3 染色体の DFI QTL 領域について、野生種の染色体断片の長さが異なる 3 つの NIL を育成し、栽培種だけでなく、NIL 間での違いを比較することによって、BIL を用いた QTL 解析で検出した QTL とは異なる、新たな QTL を検出することが出来た. 染色体断片の長さが異なる複数の NIL を利用することによって、同じ働きを持つ、近接した QTL を分離できるだけでなく、QTL が座乗する位置をより正確に決め、さらには遺伝子をクローニングすることができることとされるので (岩佐と一色, 2010)、置換断片の長さが異なる NIL を利用することが望ましいと考えられた. しかし、本研究の第 1, 4 染色体では、当該領域に座乗するマーカーは互いに強く連鎖しており、分離させることはできず、複数の NIL を用いることができなかった.

これまでに、組み換え近交系 (RIL) や BIL のような QTL 解析集団を用いて QE を検出しようとした研究は多数報告されているが (Zhuang ら, 1997 ; Austin と Lee, 1998 ; Melchinger ら, 1998), 有意な QE (QTL×環境交互作用) の検出はほとんどされていない. しかし、これらの研究においても、表現型レベルでの遺伝子型×環境交互作用は有意であった. このことは、Melchinger ら (1998) が指摘しているように、統計的手法の特性上、QE に比べ、遺伝子型×環境交互作用の方が検出されやすいことを反映していると思われる. Monforte ら (2001) は、NIL を用いた実験で表現型を測定し、遺伝子型×環境交互作用を

調査することは QE を評価することなので、通常の QTL 解析集団で QE を評価するよりも検出力が高いと報告している。本研究においても、BIL を用いた QTL 解析では、第 1 染色体の DTF QTL, COT QTL, 第 4 染色体の DFI QTL に QE は検出されなかったが、NIL を用いた実験では、第 1 染色体の DTF と COT で有意な遺伝子型×環境交互作用が認められた。DFI については統計処理を行っていないものの、DFI と強い関連がある DTF の遺伝子型×環境交互作用は有意であった。これらの結果から、相加効果 QTL の検出と QE の評価において NIL は有用な植物材料であることが明らかとなった。

密植条件に適応できる草姿

低段密植栽培において重要な形質の一つとして、密植適応性があり、密植適応性の向上には草姿の改善が必要である。しかし、野生種由来の対立遺伝子が受光態勢を有利にするように働く草姿関連 QTL の近傍に、開花を遅らせる方向に働く QTL が座乗している可能性も考えられる。そうした場合には、草姿関連 QTL と開花関連 QTL を分離し、開花を遅延させる QTL 領域を栽培種の遺伝子型に置き換えなければ、育種目標を実現できない。そこで、BIL を用いた QTL 解析によって草姿に関わる QTL を調べ、開花時期を制御する QTL との関連を調査した。密植条件では、隣り合う植物体との葉の重なりの方が小さい方が有利だと考えられるため、調査した形質の中でも特に、水平方向への葉の広がり指標である、CAN を制御する QTL に着目した。第 2, 4, 12 染色体に合計 5 つ検出された CAN QTL のうち、第 4 染色体の QTL (*fcan4*) は *dfi4* と同じ領域に検出され、野生種の対立遺伝子が *fcan4* では花房分化葉の CAN を増加させ、*dfi4* では花芽分化時期を早めた。したがって、低段密植栽

培に向けた品種育成にあたっては、これら QTL を分離する必要があると考えられた。

今後の課題

本研究において検出された 5 つの DFI QTL について、第 1, 3, 4 染色体については NIL を育成し、PLA QTL と LN QTL とに分けて考察した。その結果、これらの染色体には野生種由来の対立遺伝子が PLA を短く、あるいは LN を少なくし、その結果、DFI を短くする QTL が存在することが明らかとなった。しかし、個々の QTL の効果はそれほど大きくはないので、育種の観点からは、これらの QTL を集積する必要があると考えられた。さらに第 6, 7 染色体についても NIL を育成し、PLA を短く、LN を少なくする QTL を見出すことが必要と考えられた。QTL の集積に当たっては QTL×QTL 交互作用（エピスタシス）が働き、QTL の効果が打ち消されてしまう場合があるが、本研究では十分研究することは出来なかった。エピスタシスの評価には、各 QTL の効果を有する NIL 同士を交配し、各 QTL の単独の効果の和となるかどうかを調査する手法で行われることが多い（Eshed と Zamir, 1996 ; Gur と Zamir, 2004 ; Ashikari ら, 2005 ; Wang ら, 2012 ; Li ら, 2014）。そこで現在、本研究で育成した NIL 同士を交配し、後代を育成中である。

総摘要

低段密植栽培に適したトマト品種の育成のため、開花時期や草姿を制御する量的形質遺伝子座 (QTL) について、戻し交雑自殖系 (BIL) や準同質遺伝子系統 (NIL) を用いて調査した。BIL を用いた実験では、開花時期を制御する QTL として第 1, 7 染色体に播種から開花までの日数 (DTF) に関わる QTL, 第 3, 7 染色体に第 1 花房下葉数 (LN) に関わる QTL, 第 3, 4, 6, 7 染色体に花芽分化までの日数 (DFI) に関わる QTL を検出した。第 3, 7 染色体に検出した QTL は全て同じ位置に検出され、相加効果の方向も一致した。開花時期に関わる形質として、DTF, LN, DFI に加え、発芽や子葉展開 (COT), 葉間期 (PLA) についても調査を行い、第 1 染色体の DTF QTL 領域に発芽に関わる QTL と COT QTL と PLA QTL, 第 4 染色体の DFI QTL 領域に COT QTL を検出した。

BIL で検出した QTL について、QTL の詳細な位置の特定と QE の評価のために第 1, 3, 4 染色体の QTL 領域を野生種由来の染色体断片に置き換えた NIL を育成し、栽培種と形質を比較した。その結果、BIL を用いた QTL 解析では検出できなかった新たな QTL として、第 1 染色体の DTF QTL 検出領域に DFI QTL, 第 4 染色体の DFI QTL 検出領域に PLA QTL が検出された。また、第 1, 4 染色体の DTF に関わる形質 (COT, DMB, FDD, LN) や発芽速度に関わる形質 (MGT, GT_{50} , GT_{90}) のうち、第 4 染色体の発芽速度に関わる形質を除き、遺伝子型 (栽培種 vs. NIL) × 環境交互作用が有意であったことから、環境によって QTL の効果が異なることが明らかとなった。しかし、遺伝子型 × 環境交互作用があるにもかかわらず、DFI QTL やそれと密接に関連する LN QTL, PLA QTL は、他の QTL に比較し、安定的に発現する QTL であった。第 3 染色体については置換断片の長さが異なる NIL を 3

つ育成し、NIL 間についても比較した結果、BIL では検出された LN QTL, DFI QTL とは効果の方向が異なる、新たな QTL を検出した。これにより、NIL を育成した第 1, 3, 4 染色体のいずれにおいても、花芽分化時期や開花までの日数を短くする QTL を見出すことができた。

草姿について調査した 20 形質のうち、BIL を用いた QTL 解析の結果、24 の QTL を検出した。密植条件では、葉の広がり小さいと受光態勢がよく、乾物生産にとって有利であることから、検出した QTL のうち、草冠サイズ (CAN) QTL に着目した。CAN QTL は第 2, 4, 12 染色体に合計 5 つ検出されたが、このうち第 4 染色体の CAN QTL は DFI QTL と同じ位置に検出した。野生種の対立遺伝子が第 4 染色体の DFI QTL では DFI を短縮させ、CAN QTL では CAN を拡大させるため、低段密植栽培に向けた品種育成にあたっては、これら QTL を分離する必要があると考えられた。

以上、本研究において、DTF の制御には DFI が重要な役割を果たしていること、また DFI は LN QTL あるいは PLA QTL のいずれか、あるいは両方によって制御されていることを明らかにし、早期開花性の育種における LN QTL, PLA QTL の重要性を指摘した。

Quantitative trait loci analysis of precocious flowering and tomato plant forms

Summary

For single-truss tomato production, early flowering cultivars and adaptation to high plant densities are required. Using backcross inbred lines (BILs) and near isogenic lines (NILs) derived from *Solanum lycopersicum* ‘M570018’ (SL) and *Solanum pimpinellifolium* (SP, PI124039) cross, quantitative trait loci (QTLs) analyses of flowering time, plant form and other related traits were conducted. By means of QTL analyses using BILs, two QTLs for days to flowering (DTF) on chromosomes 1 and 7, two QTLs for the number of leaves preceding first inflorescence (LN) on chromosomes 3 and 7, and four QTLs for days to floral initiation (DFI) on chromosomes 3, 4, 6 and 7 were detected. DTF, LN and DFI QTLs detected on chromosomes 3 and 7 were co-located. Two QTLs for days to cotyledon expansion (COT) were detected in the regions where DTF QTL and DFI QTL were detected on chromosomes 1 and 4, respectively. Furthermore, the QTLs of germination time and plastochron (PLA) were also found to be co-located with DTF QTL on chromosome 1.

The effects of QTLs detected using BILs on chromosomes 1, 3 and 4 were evaluated

under different experimental conditions, using NILs of SP chromosome segment harboring QTLs controlling DTF or DFI. Most traits related to flowering and germination showed significant genotype-by-environment ($G \times E$) interactions, but the effects of DFI QTL, PLA QTL and LN QTL were stable and large as compared with germination.

Two novel DFI QTLs and a novel PLA QTL were detected on chromosomes 1 and 3, and chromosome 4, respectively. Consequently, QTLs causing early flower-initiation were detected in chromosomes 1, 3 and 4.

In QTL analysis using BIL on twenty traits related to plant form, twenty-four QTLs were detected. At high plant density condition, compact plant architecture can prevent mutual shading of photosynthetically active foliage, suggesting the importance of canopy size (CAN) for increasing tomato production. Of five CAN QTLs detected on chromosomes 2, 4 and 12, CAN QTL on chromosome 4 was co-located with DFI QTL. QTLs derived from SP on chromosome 4 increased CAN and decreased DFI. Therefore, these QTLs should be separated to breed cultivars exhibiting both early flowering and adaptability to high plant density.

In conclusion, this study suggests that DFI has a key role in the regulation of DTF and DFI is in turn regulated by LN QTL and/or PLA QTL.

謝辞

学位審査にあたり，指導教授として尽力いただいた峯洋子教授，実験を行うにあたり数々のご援助，ご指導をいただきました杉山信男先生，ご多忙の中，副査としてご意見いただきました雨木若慶教授，西尾善太准教授，実験や栽培管理のお手伝いや，データの提供をいただきました高畑健准教授，佐々木和成さん，小林伸大さん，加藤日向子さん，佐々木駿さん，本郷由美子さん，伊澤花織さん，三瓶彩香さんに感謝します．

本研究の一部は JSPS 科研費 JP18J10247 の助成を受けたものです．

引用文献

- Allen, K. D. and I. M. Sussex. 1996. *Falsiflora* and *anantha* control early stages of floral meristem development in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Planta* 200: 254-264.
- Ashikari, M., H. Sakakibara, S. Lin, T. Yamamoto, T. Takashi, A. Nishimura, E. R. Angeles, Q. Qian, H. Kitano and M. Matsuoka. 2005. Cytokinin oxidase regulates rice grain production. *Science* 309: 741-745.
- Austin, D. F. and M. Lee. 1998. Detection of quantitative trait loci for grain yield and yield components in maize across generations in stress and nonstress environments. *Crop Sci.* 38: 1296-1308.
- Barrantes, W., A. Fernández-del-Carmen, G. López-Casado, M. Á. González-Sánchez, R. Fernández-Muñoz, A. Granell and A. J. Monforte. 2014. Highly efficient genomics-assisted development of a library of introgression lines of *Solanum pimpinellifolium*. *Mol. Breeding* 34: 1817-1831.
- Barrios-Masias, F. H. and L. E. Jackson. 2014. California processing tomatoes: morphological, physiological and phenological traits associated with crop improvement during the last 80 years. *Euro. J. Agron.* 53: 45-55.
- Bernacchi, D. and S. D. Tanksley. 1997. An interspecific backcross of *Lycopersicon esculentum* × *L. hirsutum*: linkage analysis and a QTL study of sexual compatibility factors and floral traits. *Genetics* 147: 861-877.

- Bernardo, R. 2008. Molecular markers and selection for complex traits in plants: Learning from the last 20 years. *Crop Sci.* 48: 1649-1664.
- Boss, P. K., R. M. Bastow, J. S. Mylne and C. Dean. 2004. Multiple pathways in the decision to flower: enabling, promoting, and resetting. *The Plant Cell* 16: S18-S31.
- Cagas, C. C., O. N. Lee, K. Nemoto and N. Sugiyama. 2008. Quantitative trait loci controlling flowering time and related traits in a *Solanum lycopersicum* × *S. pimpinellifolium* cross. *Sci. Hortic.* 116: 144-151.
- Calvert, A. 1959. Effect of the early environment on development of flowering in the tomato. II. Light and temperature interactions. *J. Hort. Sci.* 34: 154-162.
- Canady, M. A., V. Meglic and R. T. Chetelat. 2005. A library of *Solanum lycopersicoides* introgression lines in cultivated tomato. *Genome* 48: 685-697.
- Chaib, J., L. Lecomte, M. Buret and M. Causse. 2006. Stability over genetic backgrounds, generations and years of quantitative trait locus (QTLs) for organoleptic quality in tomato. *Theor. Appl. Genet.* 112: 934-944.
- Chiang, G. C. K., D. Baura, E. M. Kramer, R. M. Amashino and K. Donohue. 2009. Major flowering time gene, *FLOWERING LOCUS C*, regulates seed germination in *Arabidopsis thaliana*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 106: 11661-11666.
- Chitwood, D. H., R. Kumar, L. R. Headland, A. Ranjan, M. F. Covington, Y. Ichihashi, D. Fulop, J. M. Jiménez-Gómez, J. Peng, J. N. Maloof and N. R. Sinha. 2013. A

- quantitative genetic basis for leaf morphology in a set of precisely defined tomato introgression lines. *Plant Physiol.* 25: 2465-2481.
- De Vicente, M. C. and S. D. Tanksley. 1993. QTL analysis of transgressive segregation in an interspecific tomato cross. *Genetics* 134: 585-596.
- Dieleman, J. A. and E. Heuvelink. 1992. Factors affecting the number of leaves preceding the first inflorescence in the tomato. *J. Hort. Sci.* 67: 1-10.
- Doganlar, S., A. Frary, H. M. Ku and S. D. Tanksley. 2002. mapping quantitative trait loci in inbred backcross lines of *Lycopersicon pimpinellifolium* (LA1589). *Genome* 45: 1189-1202.
- Ebitani, T., Y. Takeuchi, Y. Nonoue, T. Yamamoto, K. Takeuchi and M. Yano. 2005. Construction and evaluation of chromosome segment substitution lines carrying overlapping chromosome segments of *indica* rice cultivar 'Kasalath' in a genetic background of *japonica* elite cultivar 'Koshihikari'. *Breeding Sci.* 55: 65-73.
- El-Soda, M., M. Malosetti, B. J. Zwaan, M. Koornneef and M. G. M. Aarts. 2014. Genotype × environment interaction QTL mapping in plants: lessons from *Arabidopsis*. *Trends in Plant Sci.* 19: 390-398.
- Erickson, R. O. and F. J. Michelini. 1957. The plastochron index. *Amer. J. Bot.* 44: 297-305.

- Eshed, Y. and D. Zamir. 1995. An introgression line population of *Lycopersicon pennellii* in the cultivated tomato enables the identification and fine mapping of yield-associated QTL. *Genetics* 141: 1147-1162.
- Eshed, Y. and D. Zamir. 1996. Less-than-additive epistatic interactions of quantitative trait loci in tomato. *Genetics* 143: 1807-1817.
- FAO. 2016. Netherlands: Tomatoes, yield (hectogram per hectare).
<http://www.factfish.com/statistic-country/netherlands/tomatoes%2C%20yield>
- Feng, H., T. Zhang, Y. Shi, W. Wang and W. Wang. 2010. Research of plant type and light distribution of tomatoes determined by imaging technology. *Afr. J. Agric. Res.* 5: 1860-1867.
- Foolad, M. R. and G. Y. Lin. 1998. Genetic analysis of low-temperature tolerance during germination in tomato, *Lycopersicon esculentum* Mill. *Plant Breeding* 117: 171-176.
- Foolad, M. R. and D. R. Panthee. 2012. Marker-assisted selection in tomato breeding. *Crit. Rev. in Plant Sci.* 31: 93-123.
- Foolad, M. R., G. Y. Lin and F. Q. Chen. 1999. Comparison of QTLs for seed germination under non-stress, cold stress and salt stress in tomato. *Plant Breed.* 118: 167-173.
- Foolad, M. R., P. Subbiah and L. Zhang. 2007. Common QTL affect the rate of tomato seed germination under different stress and nonstress conditions. *Int. J. Plant. Genomics* 2007: 1-10.

- Grandillo, S. and S. D. Tanksley. 1996. QTL analysis of horticultural traits differentiating the cultivated tomato from the closely related species *Lycopersicon pimpinellifolium*. *Theor. Appl. Genet.* 92: 935-951.
- Gur, A. and D. Zamir. 2004. Unused natural variation can lift yield barriers in plant breeding. *PLoS Biology* 2: e245.
- Higashide, T. and E. Heuvelink. 2009. Physiological and morphological changes over the past 50 years in yield components in tomato. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 134: 460-465.
- Higashide, T., K. Yasuba, K. Suzuki, A. Nakano and H. Ohmori. 2012. Yield of Japanese tomato cultivars has been hampered by a breeding focus on flavor. *HortSci.* 47: 1408-1411.
- Higashide, T., K. Yasuba, T. Kuroyanagi and A. Nakano. 2015. Decreasing or non-decreasing allocation of dry matter to fruit in Japanese tomato cultivars in spite of the increase in total dry matter of plants by CO₂ elevation and fogging. *Hort. J.* 84: 111-121.
- 彦坂幸毅. 2003. 群落の光合成：葉の集合としての群落，個体の集合としての群落. 種生物学会編. 光と水と植物のかたち—植物生理生態学入門—. pp.57-84.
- 久富時男・藤本幸平. 1978. トマトの1段密植栽培に関する研究（第1報）は種時期別の生育，収量について. 園学雑 46 : 487-494.
- Hagiwara, W. E., N. Uwamoto, A. Sasaki, K. Matsubara, H. Nagano, K. Onishi and Y. Sano. 2009. Diversification in flowering time due to tandem *FT-like* gene

- duplication, generating novel Mendelian factors in wild and cultivated rice. *Mol. Ecology* 18: 1537-1549.
- Heuvelink, E., T. Li and M. Dorais. 2018. Crop growth and yield In: Heuvelink, E. (ed.) *Tomatoes 2nd edition*. CABI. pp. 89-136.
- Hospital, F. 2009. Challenges for effective marker-assisted selection in plants. *Genetica* 136: 303-310.
- Itoh, J. I., A. Hasegawa, H. Kitano and Y. Nagato. 1998. A recessive heterochronic mutation, *plastochron1*, shortens the plastochron and elongates the vegetative phase in rice. *The Plant Cell* 10: 1511-1521.
- 岩佐裕章・一色正之. 2010. イネのマップベースクローニング. 横浜市立大学論叢自然科学系列 59 : 69-77.
- Izawa, T. T. Oikawa, S. Tokutomi, K. Okuno and K. Shimamoto. 2000. Phytochromes confer the photoperiodic control of flowering in rice (a short-day plant). *The Plant J.* 22: 391-399.
- Jiménez-Gómez, J. M., C. Alonso-Blanco, A. Borja, G. Anastasio, T. Angosto, R. Lozano and J. M. Martínez-Zepater. 2007. Quantitative genetic analysis of flowering time in tomato. *Genome* 50: 303-315.
- Keurentjes, J. J. B., L. Bentsink, C. Alonso-Blanco, C. J. Hanhart, H. Blankestijn-De Vries, S. Effgen, D. Vresgdenhil and M. Koornneef. 2007. Development of a

- near-isogenic line population of *Arabidopsis thaliana* and comparison of mapping power with a recombinant inbred line population. *Genetics* 175: 891-905.
- Kojima, S., Y. Takahashi, Y. Kobayashi, L. Monna, T. Sasaki, T. Araki and M. Yano. 2002. *Hd3a*, a rice ortholog of the *Arabidopsis FT* gene, promotes transition to flowering downstream of *Hd1* under short-day conditions. *Plant Cell Physiol.* 43: 1096-1105.
- Komiya, R., A. Ikegami, S. Tamaki, S. Yokoi and K. Shimamoto. 2008. *Hd3a* and *RFT1* are essential for flowering time. *Development* 135: 767-774.
- Komiya, R., S. Yokoi and K. Shimamoto. 2009. A gene network for long-day flowering activates *RFT1* encoding a mobile flowering signal in rice. *Development* 136: 3443-3450.
- Kosambi, D. D. 1944. The estimation of map distances from recombination values. *Ann. Eugen.* 12: 172-175.
- Lamoreaux, R. J., W. R. Chaney and K. M. Brown. 1978. The plastochron index: A review after two decades of use. *Amer. J. Bot.* 65: 586-593.
- Lander, E. S., P. Green, J. Abrahamson, A. Barlow, M. J. Daly, S. E. Lincoln and L. Newburg. 1987. MAPMAKER: An interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations. *Genomics* 1: 174-181.
- Lee, J. and I. Lee. 2010. Regulation and function of *SOC1*, a flowering pathway integrator. *J. Exp. Bot.* 61: 2247-2254.

- Li, F., H. T. Jia, L. Liu, C. X. Zhang, Z. J. Liu and Z. X. Zhang. 2014. Quantitative trait loci mapping for kernel row number using chromosome segment substitution lines in maize. *Genet. Mol. Res.* 13: 1707-1716.
- Lifschitz, E. and Y. Eshed. 2006 Universal florigenic signals triggered by *FT* homologues regulate growth and flowering cycles in perennial day-neutral tomato. *J. Exp. Bot.* 57: 3405-3414.
- Lin, H. X., T. Yamamoto, T. Sasaki and M. Yano. 2000. Characterization and detection of epistatic interactions of 3 QTLs, *Hd1*, *Hd2*, and *Hd3*, controlling heading date in rice using nearly isogenic lines. *Theor. Appl. Genet.* 101: 1021-1028.
- Lindhout, P., S. V. Heusden, G. Pet, J. W. Van Ooijen, H. Sandbrink, R. Verkerk, R. Vrieling and P. Zabel. 1994. Perspectives of molecular marker assisted breeding for earliness in tomato. *Euphytica* 79: 279-286.
- Lozano, R., E. Giménez, B. Cara, J. Capel and T. Angosto. 2009. Genetic analysis of reproductive development in tomato. *Int. J. Dev. Biol.* 53: 1635-1648.
- Ma, X. Q., J. H. Tang, W. T. Teng, J. B. Yan, Y. J. Meng and J. S. Li. 2007. Epistatic interaction is an important genetic basis of grain yield and its components in maize. *Mol. Breeding* 20: 41-51.
- Melchinger, A. E., H. F. Utz and C. C. Schön. 1998. Quantitative trait locus (QTL) mapping using different testers and independent population samples in maize

reveals low power of QTL detection and large bias in estimates of QTL effects.

Genetics 149: 383-403.

Monforte, A. J., M. J. Asins and E. A. Carbonell. 1999. Salt tolerance in *Lycopersicon* Spp.

VII. Pleiotropic action of genes controlling earliness on fruit yield. Theor. Appl.

Genet. 98: 593-601.

Monforte, A. J., E. Friedman, D. Zamir and S. D. Tanksley. 2001. Comparison of a set of

allelic QTL-NILs for chromosome 4 of tomato: Deductions about natural variation

and implications for germplasm utilization. Theor. Appl. Genet. 102: 572-590.

Monna, L., H. X. Lin, S. Kojima, T. Sasaki and M. Yano. 2002. Genetic dissection of a

genomic region for a quantitative trait locus, *Hd3*, into two loci, *Hd3a* and *Hd3b*,

controlling heading date in rice. Theor. Appl. Genet. 104: 772-778.

Morean, L., A. Charcosset and A. Gallais. 2004. Use of trial clustering to study QTL ×

environment effects for grain yield and related traits. Theor. Appl. Genet. 110:

92-105.

Nakano, H., N. Kobayashi, K. Takahata, Y. Mine and N. Sugiyama. 2016. Quantitative

trait loci analysis of the time of floral initiation in tomato. Sci. Hortic. 201: 199-210.

農林水産省. 2017. 作物統計調査, 作況調査 (野菜), 長期累年.

<https://www.e-stat.go.jp/stat-search/files?page=1&layout=datalist&toukei=0050021>

[5&tstat=000001013427&cycle=0&year=20170&month=0&tclass1=000001032286&](https://www.e-stat.go.jp/stat-search/files?page=1&layout=datalist&toukei=0050021&tstat=000001013427&cycle=0&year=20170&month=0&tclass1=000001032286&)

[tclass2=000001037845](https://www.e-stat.go.jp/stat-search/files?page=1&layout=datalist&toukei=0050021&tstat=000001013427&cycle=0&year=20170&month=0&tclass1=000001032286&tclass2=000001037845)

- Paterson, A. H., J. W. DeVerna, B. Lanini and S. D. Tanksley. 1990. Fine mapping of quantitative trait loci using selected overlapping recombinant chromosomes, in an interspecies cross of tomato. *Genetics* 124: 735-742.
- Périlleux, C., G. Lobet and P. Tocquin. 2014. Inflorescence development in tomato: gene functions within a zigzag model. *Front. Plant. Sci.* 5: 121.
- Picken, A. J. F., K. Stewart and D. Klapwijk. 1986. Germination and vegetative development In: Atherson J. G. and J. Rudich (Ed.) *The tomato crop. A scientific basis for improvement.* Chapman and Hall, pp.111-166.
- Quinet, M. and J-M. Kinet. 2007. Transition to flowering and morphogenesis of reproductive structure in tomato. *Int. J. Plant Biol.* 1: 64-74.
- Saeki, T. 1960. Interrelationships between leaf amount, light distribution and total photosynthesis in a plant community. *Bot. Mag.* 73: 55-63.
- Saito, T., Y-G. Lin, M. Matsuda, S. Watanaba, C. Matsukura and N. Fukuda. 2011. An investigation of differences in fruit yield and components contributing to increased fruit yield in Japanese and Dutch tomato cultivars. *Plant Biotechnol.* 28: 455-461.
- Samach, A. and H. Rotan. 2007. The transition to flowering in tomato. *Plant Biotechnol.* 24: 71-82.
- Sarlikioti, V., P. H. B. de Visser, G. H. Buck-Sorlin and L. F. M. Marcelis. 2011. How plant architecture affects light absorption and photosynthesis in tomato: towards an

- ideotype for plant architecture using a functional-structural plant model. *Ann. Bot.*108: 1065-1073.
- Scott, S. J. and R. A. Jones. 1982. Low temperature seed germination of *Lycopersicon* species evaluated by survival analysis. *Euphytica* 31: 869-883.
- Shen, L., B. Courtois, K. L. McNally, S. Robin and Z. Li. 2001. Evaluation of near-isogenic lines of rice introgressed with QTLs for root depth through marker-aided selection. *Theor. Appl. Genet.* 103: 75-83.
- Simpson, G. G. and C. Dean. 2002. *Arabidopsis*, the Rosetta stone of flowering time? *Science* 296: 285-289.
- Singh, B. D. and A. K. Singh. 2015. Mapping of quantitative trait loci In: *Marker-assisted plant breeding: principles and practices*. Springer. pp. 185-216.
- Stuber, C. W., S. E. Lincoln, D. W. Wolff, T. Helentjaris and E. S. Lander. 1992. Identification of genetic factors contributing to heterosis in a hybrid from two elite maize inbred lines using molecular markers. *Genetics* 132: 823-839.
- Sumugat, M. R., and N. Sugiyama. 2010. Quantitative trait loci analysis of flowering time and vegetative traits in tomato plants grown using different seedling raising methods. *Hort. Env. Biotechnol.* 51: 326-334.
- Sumugat M. R., O. N. Lee, K. Nemoto and N. Sugiyama. 2010. Quantitative trait loci analysis of flowering-time-related traits in tomato. *Sci. Hortic.* 123: 343-349.
- 鈴木克己. 2006. 高軒高ハウスを利用したトマト生産. *野菜茶業研究集報*. 3 : 73-77.

- 竹川昌宏・土屋和. 2010. トマトの3段どり養液栽培における周年栽培体系モデル. 兵庫農技総研報 58 : 1-7.
- Tanksley, S. D. and J. C. Nelson. 1996. Advanced backcross QTL analysis: a method for the simultaneous discovery and transfer of valuable QTLs from unadapted germplasm into elite breeding lines. *Theor. Appl. Genet.* 92: 191-203.
- Tsuji, H., K. Taoka and K. Shimamoto. 2010. Regulation of flowering time in rice: two florigen genes, a complex gene network, and natural variation. *Curr. Opin. in Plant Biol.* 14: 1-8.
- Vallejos, C. E., J. M. Lyons, R. W. Breidenbach and M. F. Miller. 1983. Characterization of a differential low-temperature growth response in two species of *Lycopersicon*: the plastochron as a tool. *Planta* 159: 487-196.
- Villalta, I., G. P. Bernet, E. A. Carbonell and M. J. Asins. 2007. Comparative QTL analysis of salinity tolerance in terms of fruit yield using two solanum populations of F₇ lines. *Theor. Appl. Genet.* 114: 1001-1017.
- Xiao, J., J. Li, S. Grandillo, S. N. Ahn, L. Yuan, S. D. Tanksley and S. R. McCouch. 1998. Identification of trait-improving quantitative trait loci alleles from a wild rice relative, *Oryza rufipogon*. *Genetics* 150: 899-909.
- Yang, J., J. Zhu and R. W. Williams. 2007. Mapping the genetic architecture of complex traits in experimental populations. *Bioinformatics* 23: 1527-1536.

- Yang, J., C. Hu, H. Hu, R. Yu, Z. Xia, X. Ye and J. Zhu. 2008. QTL Network: mapping and visualizing genetic architecture of complex traits in experimental populations. *Bioinformatics* 24: 721-723.
- 安場健一郎・鈴木克己・佐々木英和・東出忠桐・高市益行. 2011. トマト長期多段栽培における多収のための統合環境制御下での温室環境と収量の推移. 野菜茶業研究所報告 10 : 85-90.
- Wang, P., Y. Xing, Z. Li and S. Yu. 2012. Improving rice yield and quality by QTL pyramiding. *Mol. Breeding* 29: 903-913.
- Wittwer, S. H. and F. G. Teubner. 1956. Cold exposure of tomato seedlings and flower formation. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 67: 369-376.
- Zhuang, J. Y., H. X. Lin, J. Lu, H. R. Qian, S. Hittalmani, N. Huang and K. L. Zheng. 1997. Analysis of QTL \times environment interaction for yield components and plant height in rice. *Theor. Appl. Genet.* 95: 799-808.