

ソバ属種間交雑における胚、胚乳および胚柄細胞の超微細構造的変化

Nilufar Yasmin Shaikh¹⁾・関 黎明²⁾・足立泰二¹⁾

(¹⁾大阪府立大学大学院・農学生命科学研究科, ²⁾宮崎大学・農学部)

ソバ属種間交雑における受精後の障害を明らかにする目的で、受粉後1日から5日目の胚、胚乳および胚柄細胞の変化の様相を光学顕微鏡と透過型電子顕微鏡を用いて観察した。自家受粉と適法受粉を行ったものを対照にすると、種間交雑胚はいろいろな微細構造上の異常性を示した。胚乳不発育、退化胚乳を伴う液胞化した幼胚の細胞、さらに胚、胚乳および胚柄細胞の崩壊などである。これら胚乳細胞の退化は栄養分の輸送を正常に保たず、結果的には胚の生育を妨げ、胚崩壊への引き金に

なっている様子が見られた。異常性は *F. tataricum*×*F. esculentum* の組み合わせより *F. cymosum*×*F. esculentum* の雑種で少なかった。このことは後者の交配組み合わせが交雑育種の素材を提供し得るものと考えられる。また胚乳の欠落や退化が受精後2〜3日で生じていることから、受精後の育種障害を克服するにはこの時期の胚珠を培養することにより雑種胚を救出できるであろう。

Breeding Science 52: 171-176 (2002)

個体選抜時における地力差由来の形質計測誤差制御の対コスト効率

矢野健太郎¹⁾・大澤 良²⁾・米澤勝衛³⁾

(¹⁾京都大学・農学部, ²⁾筑波大学・農林学系, ³⁾京都産業大学・工学部)

同一資源投入量の下で最大の育種成果を達成するという視点から、分離世代での個体選抜において、圃場条件の均一度を改善する方法あるいは近隣個体のデータを統計処理する方法などを用いて、地力差に起因する量的形質の計測誤差を縮減することが効率的かどうかを判定するための規準を導いた。2つの近交系統の交配に由来するF₂集団を出発集団とするMass selectionを想定した数値計算により、誤差縮減に要するコストが個体の栽培に要するコストに比べてごく小さい植物の場合以外は、誤差縮減を行うよりも選抜対象集団(交配組合せ)の数やサイズ

(個体数)を増やしたほうが有利であることが示された。他殖性穀粒作物の収量の場合、選抜を2, 3世代で終了しなければならない場合は誤差縮減が有用であるが、集団の持つ遺伝的ポテンシャルを充分利用するためそれ以上の世代数選抜を行う場合は、集団のサイズを確保することのほうが大切である。自殖性穀粒作物の場合は、誤差縮減が有利である場面はない。自殖性、他殖性いずれにおいても、選抜目標が高い場合ほど集団サイズが大切である。

Breeding Science 52: 177-184 (2002)

酒造好適米の簡易・迅速な精米法の開発と精白米の特性評価

小林和幸

(新潟県農業総合研究所・作物研究センター)

試験用小型搗精器パーレストに大麦搗精用キットを装着して玄米の搗精を行った結果、酒造用原料米全国統一分析法における規定の精米歩合70%まで簡易・迅速に精米することができた。この精米法は20g以下の少量の米に適用でき、堅型の小型精米機HS-4と比較して、①精米時間は1/7から1/10短く、②碎米率は低く、③サンプル水分の蒸発は少なく、④精白米は球状に精米される傾向が強いという特徴を示した。この精米法によって調製した精白米では、HS-4のものに比べ、「一本メ」のように玄米剛度が低い品種において、吸水率が顕著に高まり、また精白米の窒素含有率は低い値を示した。しかし、この精米

法による精白米の窒素含有率および20分吸水率は、品種固有の特性を示す安定した評価項目であることが示されたことから、品種間の相対的な特性の評価に支障はないものと判断された。本研究で開発されたこの簡易・迅速な精米法は、これまで育種の初期段階では検定されてこなかった70%精白米の窒素含有率や吸水特性の評価を可能とし、酒造好適米育種における初期選抜の効率化を図る上で極めて重要な手法になるものと考えられた。

Breeding Science 52: 185-191 (2002)

Moricandia arvensis 1染色体添加型異質細胞質 (*M. arvensis*) ダイコン (2n=19) の育成

房 相佑¹⁾・金子幸雄¹⁾・松澤康男¹⁾・房 極秀²⁾

(¹⁾宇都宮大学・農学部, (²⁾韓国国立益山大学・生命工学科)

Moricandia arvensis (MaMa, 2n=28) とダイコン品種 'Pink ball' との間で育成された2個体の二基三倍体 BC₁ 植物 (MaRR, 2n=32) にダイコン品種 'Pink ball' を戻し交雑し, 55個体の BC₂ 植物が得られた。それらの体細胞染色体数は, 1個体の高倍数体 (2n=44) を除いて 2n=18 から 2n=23 であった。2n=19~23 の体細胞染色体数をもつ 16個体の BC₂ 植物から, BC₃ 世代で 64個体の 2n=19 植物が得られた。それらの植物は, 花粉母細胞の減数分裂第一中期においてダイコンゲノムの9つの二価と添加された *M. arvensis* 1染色体の1つの一価の染色体対合 (9II+1I) を示した。また, これらは添加された *M. arvensis* ゲノムの1染色体によって独特の形態のおよび生理的特性が発現されたことから, 12タイプ (a~l) の *M. arvensis* 1染色体添加型異質細胞質 (*M. arvensis*) ダイコン (Monosomic Chromosome Addition Line; MAL) に分類された。12タイプの MAL にダイコンを戻し交雑した場合, 受粉花当たりの平均結実数は, 2.88粒 (f-タイプ) か

ら 0.51粒 (j-タイプ) までであった。各タイプ内で相対的に小粒の種子を選んで播種した場合, 雌性配偶子による MAL の伝達率は, 32.5% (f-と j-タイプ) から 5.5% (h-タイプ) までの変異を示した。12タイプの MAL それぞれがもつ独特の形質は, BC₄ と BC₅ 世代へ伝達され, BC₅ 世代で RAPD マーカーによって DNA レベルでも分類可能であった。MAL の花粉稔性は, 85.6% (c-タイプ) から完全雄性不稔 (g-, h-, i- および j-タイプ) までの変異を示した。一方, 可稔の MAL から得られた異質細胞質 (*M. arvensis*) ダイコン (2n=18) は, 完全雄性不稔を示した。本研究で育成された 12タイプの MAL は, *M. arvensis* の個々の染色体に座乗している有用遺伝子 (群) を検索するための素材として, また異質細胞質 (*M. arvensis*) ダイコンは, ダイコンにおける新たな細胞質雄性不稔系統を育成するために有用であると考えられる。

Breeding Science 52: 193-199 (2002)

ハイブリッドライスのヘテロシスに有利な AFLP マーカーの同定

Xiaochuan Liu¹⁾・伊敷弘俊²⁾・Weixia Wang¹⁾

(¹⁾China National Rice Research Institute, (²⁾国際農林水産業研究センター・沖縄支所)

ハイブリッドライスの育種では, 交配親を改良するための育種母本を選抜することとヘテロシス効果を推定することが最も重要である。本研究では, AFLP 分析と半ダイアレル分析を応用し, ハイブリッドライス育種のこれらの点に関する分析を行った。F₁ 世代で発現する代表的なヘテロシス形質に基づいて, 収量に現れるヘテロシスと関連し AFLP 分析で検出できる遺伝的変異を同定する革新的方法を開発した。交配親間の遺伝的変異は確かに F₁ ヘテロシスと関係があり, 雑種強勢には少数の遺伝子座が寄与していることが示された。85個の AFLP マー

カーから, 異なる有意な遺伝的効果で玄米収量のヘテロシスに寄与する有利な対立遺伝子 11個とヘテロシス効果を有意に低下させる不利な対立遺伝子 8個を発見した。これらの有利な対立遺伝子と不利な対立遺伝子を用いて, ハイブリッドライス育種に活用するために 42系統のヘテロシス効果の潜在能力を評価した。更に, ヘテロシス発現に関してもこれらの対立遺伝子の観点から考察した。

Breeding Science 52: 201-206 (2002)

葉緑体 DNA に基づくヤマユリ, サクユリおよびヒメサユリの系統解析

西川智太郎¹⁾・岡崎桂一²⁾・長峰 司¹⁾

(¹⁾農業生物資源研究所, (²⁾新潟大学・農学部)

アルケリリオン節 (ユリ属) は, ユリの主要品種群であるオリエンタルハイブリッドの育種親として重要である。本節の系統関係を明らかにするために, 葉緑体のスペーサー領域 (*trnT-trnL*, *trnL-trnF*, *atpB-rbcL*) の塩基配列を用いて解析を行った。葉緑体の3領域は合計 1,627 bp であり, これらを最節約法を用

いて解析した結果, アルケリリオン節は (1) ヤマユリ, ヒメサユリ, (2) (1) 以外のアルケリリオン節, の2つのグループに分かれた。同じ種 (*L. auratum*) であるヤマユリとサクユリは異なる細胞質型であり, ヤマユリはヒメサユリとより近縁であることが明らかになった。2つのグループは本州中央部を挟んで,

(1)が東方に、(2)が西方に分布しており、前者の細胞質をヒメサユリ型(東型)、後者をササユリ型(西型)と見なすことが出来

た.
Breeding Science 52: 207-213 (2002)

草丈制御遺伝子、*D18*のアンチセンス形質転換体を用いたイネ草丈制御

伊藤博紀¹⁾・上口(田中)美弥子¹⁾・坂本知昭^{2,3)}・萱野暁明²⁾・田中宥司²⁾・芦荻基行¹⁾・松岡 信¹⁾

(¹⁾名古屋大学・生物分子応答研究センター、²⁾農業生物資源研究所、³⁾東京大学大学院・農学生命科学研究科附属農場)

ジベレリン(GA)3β水酸化酵素は活性型GA合成の最終段階を触媒する酵素である。イネにおいて本酵素をコードする遺伝子は少なくとも2つ存在し(*OsGA3ox1*と*OsGA3ox2*)、それぞれはイネ生活環を通じて異なる発現制御を受けている。これまでに、筆者らは*OsGA3ox2*遺伝子が*D18*遺伝子と同一であることを報告している。*d18-AD*(秋晴矮性)、*d18-Id18^h*(豊雪矮性)、*d18-dy*(矮稲-C)としてこれまでに同定されている*D18*遺伝子の機能欠失型変異体は矮性表現型を示し、その矮性表現型は活性型GAであるGA1量の減少によることが明らかとなっている。*D18*遺伝子が活性型GA合成の最終段階(GA20からGA1への変換)を触媒するGA3β水酸化酵素をコードしていたということ・その遺伝子発現は反応生成物である活性型GAによって負のフィードバック制御を受けるということは、*D18*が活性型GA合成系において重要な制御ステップであることを予想させた。そこで、この酵素活性を調節することによってイネの草丈

制御が可能か否かを検討するために、筆者らは*D18*遺伝子のアンチセンス鎖を発現する形質転換イネを作製し、その解析を行った。その結果、*D18*アンチセンス形質転換イネはコントロールであるベクターのみを導入した形質転換イネと比較して80-90%の草丈の半矮性表現型を示した。さらに、これらの*D18*アンチセンス形質転換体では内生の*D18*転写産物の量が減少していることも確認した。一方で、*D18*アンチセンス形質転換体ではGA3β水酸化酵素の前段階であるGA53からGA20の反応を触媒するGA20酸化酵素をコードする遺伝子、*OsGA20ox1*、の発現が上昇していた。これらの*D18*アンチセンス形質転換体の解析結果は、GA3β水酸化酵素の発現を人為的に減少させたことにより、イネ植物体内の活性型GA量が減少し、その結果として草丈が矮化したということを示唆している。
Breeding Science 52: 215-218 (2002)

キュウリモザイクウイルス抵抗性を示すウイルス複製酵素遺伝子断片を導入した遺伝子組み換えトマトの作出

布目 司¹⁾・福本文良^{1,3)}・寺見文宏^{1,3)}・花田 薫^{2,4)}・平井正志^{1,5)}

(¹⁾野菜茶業研究所、²⁾九州沖縄農業研究センター、³⁾現：北海道農業研究センター、⁴⁾現：農業生物資源研究所、⁵⁾現：京都府立大学・農学部)

キュウリモザイクウイルス(CMV)サブグループIIに属するウイルスよりウイルス複製酵素(RNA依存RNA合成酵素)遺伝子断片をクローニングし、トマトへ形質転換した。クローニングした複製酵素断片は、RNA依存RNA合成酵素の活性部位と考えられるGDDアミノ酸モチーフおよびヌクレオシド3リン酸結合モチーフを含まないC末端配列である。アグロバクテリウムを用いた形質転換により、独立した137個体を作成した。全形質転換体をCMV接種検定に供試したところ、約10%の系統が高いウイルス抵抗性を示し、15系統を抵抗性系統として

選抜した。病徴の見られなかった系統について、CMVの増殖を指標植物を用いて調査したところ、3系統は接種葉および接種葉上位葉ともにCMVの増殖は見られなかった。導入遺伝子のPCR増幅およびカナマイシン抵抗性検定により、選抜系統後代への導入遺伝子の遺伝を確認した。また、いくつかの選抜系統後代では、CMV抵抗性の遺伝が確認された。これらの抵抗性系統はCMV抵抗性素材として有用である。

Breeding Science 52: 219-223 (2002)

e-RAPD(emphasized-RAPD)：マイナーなRAPDバンドを鮮明なバンドに変換する簡易で強力な方法

田中淳一・谷口郁也

(野菜茶業研究所・枕崎茶業研究拠点)

RAPD(random amplified polymorphic DNA)法は連鎖地図の作成やQTL解析等の遺伝解析、遺伝的多様性の評価、品種鑑別の評価等に広く利用されてきた。しかし、マイナーなRAPDバンドは再現性や信頼性が低い問題があった。本報はマイナーなRAPDバンドを鮮明で信頼性の高いバンドに変換する簡易で効果的な方法の紹介である。まず、オリジナルのプライマーの3'末端にそれぞれA, T, GおよびCを付加したプライマー4種類を新たに合成する。次にそれらのプライマー単独(4種類)、およびこのうち2プライマーの混合(6組合せ)を用いてオリジナルのプライマーとともにPCRを行う。そしてそれら産物を同時に泳動すると標的としたマイナーなバンドが強調され、バックグラウンドであったバンドが消去される。この様にして得られた強調されたRAPD(e-RAPD)バンドはオリジナルなバンドより鮮明で、再現性が高い。この方法には以下の利点がある。

(1)確立されたe-RAPD(emphasized-RAPD)バンドはそのままMAS(marker-assisted selection)に用いることができる。(2)標的となるバンドのDNA量が増すことにより、必要な場合はSTS(sequence tagged site)化も容易になる。(3)STS化に比べて多型を喪失する危険性が小さい。(4)プライマー合成の後はPCRと泳動のみの作業であり、複雑な工程を必要とせず数時間で作業が完了する。育種現場においてMASを実用化するためには、簡易かつ安価で、短時間で完了する検出システムが不可欠である。実用的なMASのために、RAPD法を用いて連鎖マーカーを得てそれをe-RAPD化する方法は、AFLP(amplified fragment length polymorphism)法を用いて連鎖マーカーを得てそれをSTS化するよりも簡素かつ容易である。

Breeding Science 52: 225-229 (2002)

紅色雪腐病菌の種子接種に対する秋播コムギ品種の反応

入来規雄¹⁾・中島 隆²⁾・川上 顕¹⁾

(¹⁾北海道農業研究センター, ²⁾九州沖縄農業研究センター)

種子伝染を感染経路とする紅色雪腐病に対する秋播コムギ品種の抵抗性反応を、分生子の種子接種により札幌において圃場で観察した。1996/1997年～1998/1999年の3ヶ年は、PI 173438(雪腐病抵抗性高)、ホロシリコムギ(同やや高)、チホクコムギ(同中)、Ibis(同弱)の4品種を用い、高濃度分生子懸濁液(1 mlあたり分生子数 2×10^7 個)による接種区、低濃度懸濁液(同 2×10^6)による接種区、および雪腐黒色小粒菌核病の自然発生区で抵抗性の発現を観察した。接種区における雪腐病被害は紅色雪腐病菌によるものが主体で、高濃度懸濁液による接種区のほうが低濃度懸濁液による接種区よりも被害程度および品種間差が大きい傾向が認められた。3ヶ年とも被害が最も低かったのはPI 173438で、ついでホロシリコムギであり、Ibisの被害が最も大きく、この順位は雪腐黒色小粒菌核病自然発生区と同

じであった。1998/1999年に、31品種を用いて雪腐黒色小粒菌核病自然発生区と紅色雪腐病菌の分生子高濃度懸濁液による種子接種区の被害を比較した。両区における被害には高い相関が認められ($r=0.90$, $P<0.01$)、これまで雪腐小粒菌核病抵抗性と報告されている品種はいずれも高い抵抗性を示した。これらの結果から、種子伝染を感染経路とする紅色雪腐病に対する抵抗性の品種間差が確認され、同抵抗性は、雪腐黒色小粒菌核病抵抗性、雪腐褐色小粒菌核病抵抗性、土壌伝染を感染経路とする紅色雪腐病に対する抵抗性と正の相関があると考えられた。またこの抵抗性は、褐色雪腐病抵抗性とも正の相関があると思われる。

Breeding Science 52: 231-233 (2002)