

日本陸稲における第4染色体のいもち病圃場抵抗性に関する QTL に強く連鎖した RFLP 座の遺伝子型と抵抗性の関係

宮本 勝^{1,2)}・平沢秀雄¹⁾

(¹⁾茨城県農業総合センター・生物工学研究所, ²⁾現: 茨城県農業総合センター・農業研究所)

日本在来陸稲嘉平より見いだされたいもち病圃場抵抗性に関する QTL, *qBFR4-1* および *qBFR4-2* は第4染色体に座乗し, 非常に大きな作用を示す. 本研究では, *qBFR4-1*, *qBFR4-2* に連鎖した RFLP マーカー C600 と G271 を用いて, 日本在来陸稲品種におけるいもち病圃場抵抗性の程度と *qBFR4-1*, *qBFR4-2* の対立遺伝子の関係を見いだすことを目的とした. 陸稲 158 品種のサザン解析と畑晩播法による葉いもち検定を行ったところ, *qBFR4-1* に強く連鎖した RFLP マーカー C600 では, その断片長から3つの対立遺伝子 (C600-a, C600-b, C600-c) に分けることができた. C600-b を持つ品種は最も多く, 72 品種であった. 各対立遺伝子を持つ品種群のいもち病圃場抵抗性程度の平均はそれぞれ 2.81, 2.20, 0.69 であり, 0.1% 水準で有意な差が認められた. *qBFR4-2* に連鎖した RFLP マーカー G271 による解析では2つの対立遺伝子 (G271-a, G271-b) を持つ品種群に分けられ, い

もち病圃場抵抗性程度の平均はそれぞれ 2.37, 1.68 であり, 0.1% 水準で有意差が認められた. これら2つの RFLP 座の遺伝子型から6品種群を分けることができ, その中での抵抗性程度は, 陸稲嘉平の遺伝子型である C600-c/G271-b を示した品種群が最も強く (0.58), 水稲日本晴と同じ遺伝子型である C600-a/G271-a を示した品種群は最も抵抗性程度が低かった (2.98). 一方, 陸稲山稈禾は両 RFLP 座の解析で他の品種には見られない特異的な断片長を示し, 異なる対立遺伝子の存在が示唆された. これらの結果から, 日本陸稲のいもち病圃場抵抗性に関与した2つの QTL には2および3種類の主要な対立遺伝子が存在し, 抵抗性程度は, これらの QTL に連鎖した RFLP 座の解析により評価できることが示唆された. また Marker-assisted selection を行う上でも本研究で使用した RFLP マーカーは有用であると考えられる. **Breeding Science** 53: 1-5 (2003)

スイートピーの巻きひげ形質と連鎖した SCAR マーカーの開発

花田裕美¹⁾・平井正志²⁾

(¹⁾和歌山県農林水産総合技術センター・暖地園芸センター, ²⁾京都府立大学・農学部)

スイートピー (*Lathyrus odoratus* L.) の切り花用品種「グレース」と巻きひげが無い露地栽培用品種「スノーピー紫」の交雑 F₂ 集団において, 巻きひげの有無について調査した. その結果, 巻きひげのある形質は優性の1遺伝子座支配であった. 巻きひげ形質と連鎖した RAPD マーカーを開発するため, バルク法により302種類のランダムプライマーを用い RAPD を検索したところ, 2種類のプライマー, WB32 および WB67 で DNA 多型が確認された. WB32 では巻きひげのあるバルクで特異的な DNA 断片が増幅され, WB67 では巻きひげの無いバルクで特異的な断片が検出された. 交雑 F₂ 集団において, これらの RAPD マーカーの有無と巻きひげ形質の関係について調査した結果, WB32

では巻きひげ形質との連鎖が確認されたが, WB67 では確認されなかった. そこで, WB32 で検出された多型 DNA 断片 (1 kb) をクローニングし, 塩基配列情報に基づき, 特異的プライマーを合成した. このプライマーでは, RAPD 分析から期待された優性バンド SWB32a が巻きひげ有り個体で明確に増幅された. F₂ 集団において, SWB32a と巻きひげの有無について調査した結果, SWB32a と巻きひげ遺伝子座は地図距離 7.7cM で連鎖していることが確認された. 今後, この SCAR マーカーはスイートピー育種において巻きひげの無い切り花用品種を育成する際の選抜マーカーとして有用であると考えられる.

Breeding Science 53: 7-13 (2003)

連続的な収量分布をする有限個の供試系統からなる集団に対する3つの多段階収量選抜方式の比較

石井卓朗¹⁾・米澤勝衛²⁾

(¹⁾ 農業生物資源研究所, ²⁾ 京都産業大学・工学部)

生産力検定試験におけるような多段階収量選抜では、3つの異なる選抜方式、すなわち、各選抜段階で上位一定割合の系統を選抜する方式（パターンI）、各段階で対照品種よりも高い収量を示す系統を選抜する方式（パターンII）および各段階である一定値よりも高い収量を示す系統を選抜する方式（パターンIII）が適用可能であるが、実際の選抜試験ではパターンIIが一般的に用いられている。本報では、出発系統数が20、40および60の集団について、モンテカルロ・シミュレーションで優良系統が獲得される確率（成功確率）を求め、上記の3つの選抜方式の効率を比較した。計算結果により、パターンIが最も効率的であると結論し、併せて、優良系統を含まない集団に資源

を費やす無駄を最小限に抑えるための補足策として、最初の1段階目では有望な収量スコアを示す系統が一つも無ければその時点で全系統を棄て、一つでもあればパターンIで選抜を続けることを提案する。選抜段階数は、遺伝子型と年次の交互作用が存在しない場合には3で十分であるが、大きな交互作用が予想される場合や初めの2、3段階目で認められた場合には、3よりも多くても引き合う。パターンIIとIIIは、遺伝子型と年次の交互作用や年次効果による誤差の影響を大きく受けるため、効率的ではない。

Breeding Science 53: 15-20 (2003)

メロン (*Cucumis melo* L.) におけるマイクロサテライトマーカーの開発と主要ウリ科作物への適用

千葉直樹¹⁾・諏訪部圭太・布目 司・平井正志²⁾

(野菜茶業研究所, ¹⁾ 現: 宮城県農業・園芸総合研究所, ²⁾ 現: 京都府立大学・農学部)

メロン品種アールス・フェボリット系春系3号のゲノムからマイクロサテライトを単離し、マイクロサテライトマーカーを開発した。ゲノミックライブラリーから(GA/CT)_nと(GT/CA)_nの単純塩基配列(SSR s)を含むクローンの塩基配列を解読し、プライマーを設計した。春系3号のゲノムでPCRした結果、31セットのプライマーが安定したシングルバンドとして増幅された。そのうち28セットは、メロンの変種12系統間で多型が得られた。さらに、開発したマーカーがメロン以外のウリ科植物で利用できるかを評価するため、8種のウリ科作物(キュウリ、スイカ、ニホンカボチャ、セイヨウカボチャ、ペポカボチャ、ユ

ウガオ、トウガン、ニガウリ)と1野生種(カラスウリ)に対し、増幅断片が得られるかを試みた。その結果、13セットで主要なウリ科作物であるキュウリ、スイカ、カボチャのゲノムから、共通に増幅断片が得られた。メロンのマイクロサテライトマーカーが最も適用できた種は、ニガウリ(24マーカー)であり、続いてキュウリ(20マーカー)、カボチャ(18マーカー)の順であった。本研究で開発したウリ科の種間で保存性の高いマイクロサテライトマーカーは、ウリ科作物のシンテニーの研究に有用であろう。

Breeding Science 53: 21-27 (2003)

トウモロコシのアントシアニン合成系遺伝子の制御因子 *C1* と *B-peru* による発達中のコムギ幼葉鞘におけるアントシアニンの一過的発現

Nisar Ahmed・前川雅彦・宇都木繁子・氷見英子・Hader Ablet・力石和英・野田和彦

(岡山大学・資源生物科学研究所)

トウモロコシのアントシアニン合成系遺伝子の転写制御因子 *C1/B-peru* を発達中のコムギ幼葉鞘にパーティクルボンバードメント法で導入した。アントシアニン色素が明確な赤い点として誘導され、その数は幼葉鞘当たり約60に達した。一方、同時に導入した *GusA* 遺伝子では約20の滲んだ青いGUSの点が誘導

された。発芽後36時間の幼葉鞘が、これら外来遺伝子の導入発現に最も良い組織であった。また1から5μgのプラスミドDNAで覆った金粒子で十分にアントシアニンやGUSの発現が誘導された。ヘリウムガス圧(900, 1100, 1300, 1500ポンド/インチ²) 或いは停止スクリーンと幼葉鞘間の距離(10, 15, 20cm)

は遺伝子導入効率には有意に影響を与えなかった。一方、MS 培地に半径 1cm の円状に並べた芽生えで最も良く遺伝子が導入された。これらの結果は、コムギ幼葉鞘はコムギ遺伝子の一過的

発現分析に良い組織であり、また *Cl/B-peru* はレポーター遺伝子として使用できることを示した。

Breeding Science 53: 29-34 (2003)

SSR マーカーによる日本のモモの親子鑑定

山本俊哉¹⁾・持田耕平²⁾・今井 剛¹⁾・土師 岳¹⁾・八重垣英明¹⁾・山口正己¹⁾・松田長生¹⁾・荻原 勲²⁾・林 建樹¹⁾

(¹⁾果樹研究所, (²⁾東京農工大学・農学部)

17 種類の SSR マーカーを用いて、交雑育種で育成されたモモ 9 品種、枝変わり 2 品種、偶発実生由来 5 品種の合計 16 の日本のモモ栽培品種の親子鑑定を行った。交雑育種により育成された 9 品種では、すべての SSR 座において親の対立遺伝子が矛盾なく子供に伝達されていたことから、親子の関係が確認された。枝変わり品種の「暁星」は、原品種の「あかつき」と全く同じ遺伝子型を示したことから、枝変わりであることが示唆された。一方、枝変わり品種とされる「日川白鳳」では、原品種の「白鳳」と比較して、12ヶ所の SSR 座で異なる遺伝子型を示した。

このことから、「日川白鳳」は「白鳳」の枝変わりではないことが明らかとなった。偶発実生由来と考えられている 4 品種「阿部白桃」、「川中島白桃」、「高陽白桃」、「清水白桃」では、各 SSR 座で推定親の「白桃」の対立遺伝子の一方を持っていた。これらの結果から、この 4 品種は、枝変わりではなく、「白桃」の子供であることが示唆された。以上のことから、SSR マーカーは、限られた遺伝資源に由来しているとされる日本の栽培モモ品種の親子鑑定に有効に利用することができた。

Breeding Science 53: 35-40 (2003)

サツマイモ (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) の受精から胚発生過程と低稔実性との関連における組織学的研究

村田達郎・松田 靖

(九州東海大学・農学部)

サツマイモの低稔実性に直接関与する原因を究明するために、11 品種を用いて 14 交配組合せを行い、受粉 4、7 時間および 2 日後の受精から胚発生過程を組織学的に観察した。開花当日の花粉稔性は供試したすべての品種で 80% 以上であり、受粉 4 時間後の柱頭上の花粉発芽もほとんどの交配組合せで 10~20% を示した。そのため花粉稔性あるいは柱頭上の花粉発芽が低稔実性の直接の原因であるとは考えられなかった。次に受粉 7 時間後の子房の横断切片を作製し、花粉誘導組織を通過した花粉管数を観察した。その結果、交配組合せによって異なったが、花粉誘導組織を通過した花粉管数と一蒴当りの種子数との間には密接な関連は示されず、花粉管数の多少が稔実性に影響を及

ぼす大きな原因であるとは思われなかった。さらに受粉 2 日後の子房の横断切片を作製し、花粉管の胚のう内への侵入および胚発生の状況を観察した。その結果、花粉管が侵入していない胚のうは、多くの場合卵装置の発達が途中で停止したために生じたと思われる異常胚のうであることが判明した。また、受粉 2 日後で観察された前胚数と一蒴当りの種子数との間に密接な関係が示されたために、受粉 2 日後で観察された前胚は途中で生育を停止することなく、完熟種子になることが推察された。以上の結果から、サツマイモの低稔実性の大きな原因は、花粉管が侵入しない異常胚のうが多いためであることが判明した。

Breeding Science 53: 41-49 (2003)

イネの出穂期に関与する量的形質遺伝子座 *Hd4* および *Hd5* の連鎖解析と特徴づけ

林 鴻宣^{1,3)}・梁 正偉^{1,4)}・佐々木卓治²⁾・矢野昌裕²⁾

(¹⁾ 生物系特定産業技術研究推進機構, (²⁾ 農業生物資源研究所, (³⁾ 現: Shanghai Institute of Plant Physiology and Ecology, Chinese Academy of Sciences, (⁴⁾ 現: Northeast Institute of Geography and Agricultural Ecology, Chinese Academy of Sciences)

日本型イネ品種「日本晴」を繰り返し親としたインド型品種「Kasalath」との戻し交雑後代を利用して、出穂期に関与する量的形質遺伝子座 *Hd4* および *Hd5* の連鎖解析を行った。*Hd4* は第7染色体の RFLP マーカー R46 および C39 の間に、*Hd5* は第8染色体の C166 と R902 の間にそれぞれ単一遺伝子座として位置づけられた。さらに *Hd4* および *Hd5* を含む Kasalath の染色体領域を日本晴のゲノムに置換した準同質遺伝子系統 NIL (*Hd4*) および NIL (*Hd5*) を、戻し交雑後代からマーカー支援による選抜で作出した。NIL (*Hd4*) および NIL (*Hd5*) の到穂日数は、長日条件 (14 時間明) あるいはつくば市の圃場栽培では日本晴に比較して増加したが、短日条件 (10 時間明) では日本晴とほぼ

同じであった。NIL (*Hd4*) および NIL (*Hd5*) と感光性遺伝子 *Hd1* および *Hd2* の準同質遺伝子系統 NIL (*Hd1*) および NIL (*Hd2*) との交配によって得られた F₂ 集団の解析により遺伝子間相互作用の有無を調べた。*Hd4* の晩生化作用は *Hd1* および *Hd2* の形質発現に対して、相加的であり、*Hd4* と *Hd1* および *Hd2* の間には相互作用は認められなかった。*Hd5* と *Hd2* の間にも相互作用は認められず、遺伝子作用は相加的であることが判明したが、*Hd5* と *Hd1* の間には相互作用が認められ、*Hd5* は *Hd1* 遺伝子の上流あるいは下流の経路において作用する可能性が示唆された。以上の結果を基に、*Hd4* および *Hd5* の生物学的機能を推定した。

Breeding Science 53: 51-59 (2003)

多重遺伝子族を形成するイネアレルゲン遺伝子に対するアンチセンス遺伝子の効果

多田雄一¹⁾・赤木宏守^{1,3)}・藤村達人^{1,4)}・松田 幹²⁾

(¹⁾ 三井化学・ライフサイエンス研究所, (²⁾ 名古屋大学大学院・生命農学研究所, (³⁾ 秋田県立大学・生物資源科学部, (⁴⁾ 筑波大学・農林工学系)

多重遺伝子族を形成するイネアレルゲン遺伝子の発現を抑制するためにアンチセンス法を適用した。イネの主要アレルゲン遺伝子 cDNA をそのアレルゲン遺伝子、イネデンプン枝付け酵素遺伝子、イネプロラミン遺伝子またはイネグルテリン遺伝子の各プロモーターに結合したアンチセンス遺伝子を導入した組換えイネを 100 個体以上作成した。それらのイネの一部では、アレルゲン含量は 20% 以下に抑えられたが、完全抑制された個体は得られなかった。また、それらの組換えイネでは、転写されたアンチセンス鎖が発現抑制に利用されずに残存していたことから、我々は内生のアレルゲン遺伝子と導入したアンチセンス遺伝子の発現に時間的あるいは空間的な差異がある可能性を検証した。しかしながら、両遺伝子の発現には、大きな時間的ある

いは空間的な差異は認められなかった。次に我々は、イネアレルゲン遺伝子族に含まれる個々の遺伝子の発現に対する導入したアンチセンス遺伝子の効果を二次元電気泳動とウェスタン解析によって調べた。その結果、導入したアンチセンス配列と相同性が高いアレルゲン遺伝子の産物量は顕著に低下しているが、比較的相同性が低いアレルゲン遺伝子の産物量は低下の割合が低いことが判明した。これらのことから、イネアレルゲン遺伝子族に対するアンチセンス遺伝子の効果は、用いたアンチセンス配列とターゲットとなるアレルゲン遺伝子の配列に依存することが明らかとなった。

Breeding Science 53: 61-67 (2003)

ジャガイモのキュウリモザイクウイルス抵抗性における温度感受性とウイルス系統特異性について

Fevziye Celebi-Toprak^{1,2,3)}・Steven A. Slack^{1,4)}・Patrick Russo⁵⁾

(¹⁾ Department of Plant Pathology, Cornell University, (²⁾ Department of Biology, Pamukkale University, (³⁾ Gene Research Center, University of Tsukuba, (⁴⁾ Ohio Agricultural Research and Development Center, Ohio State University, (⁵⁾ Luganskaya 9 PO Box 25 115516 Moscow Russian Federation)

キュウリモザイクウイルス (CMV) は世界的に重要な植物病原である。多くのナス科植物種に感染し収量を激減させることが知られているが、ジャガイモでの報告例は希少である。本研

究では、サブグループ I に属する Pf-CMV および Fny-CMV とサブグループ II に属する A9-CMV のウイルス株を用いて、多様なジャガイモ遺伝子型における感染性の試験を行った。供試した

ジャガイモ系統のうち8系統については、3つのウイルス株の内少なくとも一種については全身感染が起こることがわかった。さらに、温度感受性が存在し、24°Cでは、多くのジャガイモ品種は全身感染抵抗性を示したが、30°Cにおいては、これらすべての品種は感受性になった。これらの結果から、CMVに対し

て多くのジャガイモ系統が持っている抵抗性は、高温栽培地帯では機能しなくなることおよびウイルスの特定系統への感染特異性が存在することが示唆された。

Breeding Science 53: 69-75 (2003)

ナス 3 塩基反復マイクロサテライトの単離

布目 司・諏訪部圭太・大山暁男・福岡浩之

(野菜茶業研究所)

ナスゲノムライブラリーを3塩基反復配列を用いてスクリーニングし、マイクロサテライト配列を含むクローンを97個単離した。単離したクローンにおいては、(AAC/TTG) n および(ACC/TGG) n をモチーフとするマイクロサテライトが全体の84.5%を占めており、83.5%のマイクロサテライトは繰返し回数が7以下だった。マイクロサテライト隣接配列にプライマーを設計し、ナスおよびナス近縁種を用いて多型性を検定したところ、対立遺伝子数はナス品種間では2.1、ナス近縁種では2.9であった。また多型検出頻度はナス品種間では0.31、ナス近縁種間では0.32であり、他の植物に比べて多型性が低かった。ナス品種間で多型

を検出したマーカーのほとんどは、繰返し回数が8以上であったが、マイクロサテライトの反復回数と多型検出頻度との間に相関は見られなかった。ナス品種でPCR増幅の確認されたマーカーは、*Solanum incanum*でもPCR増幅産物が確認された。しかし、他のナス近縁種では、約半数のマーカーのみでPCR増幅産物が確認された。また、ナスF₂集団を用いた多型解析により、開発したマイクロサテライトマーカーが共優性に遺伝することを確認した。

Breeding Science 53: 77-83 (2003)