

イネMITEにおける高頻度塩基配列多型およびPCRマーカーの効率的作成への利用

小森俊之^{1,2,3)}・新田直人^{1,2,4)}

(¹⁾日本たばこ・遺伝育種研究所, ²⁾オリノバ, ³⁾現:日本たばこ・植物イノベーションセンター, ⁴⁾現:日本たばこ・たばこ事業本部)

イネを含む多くの植物のゲノムには, Miniature inverted-repeat transposable elements (MITE) が数多く存在する。本研究では, イネ MITE が塩基配列多型に富み PCR マーカー作成に有用であるか否かを明らかにするために, 日本型品種あそみのりおよびインド型品種 IR24 のゲノム配列を, MITE 領域と非 MITE 領域との間で比較した。MITE (*Gaijin*, *Castaway*, *Ditto*, *Wanderer*, *Explorer* および *Stowaway*) を含むことが報告されている 15 遺伝子座について, 各 MITE を含むゲノム配列をあそみのりと IR24 との間で比較した。非 MITE 領域のデータには, 7 個の RFLP マーカー (C81, R2303, S10019, S10602, S12564, G291 および G2155) に対応する, あそみのりおよび IR24 のゲノム配列を用いた。これら 2 品種間における塩基配列多型の頻度は, 非 MITE

領域と比較して MITE 領域ではるかに高いことが示された。塩基配列多型は, 調査した 15MITE 領域のうちの 14 領域で見出された。また, *Wanderer* と高い相同性を示すイネ塩基配列を公開データベースから 6 個選び, 各 *Wanderer* 領域における塩基配列多型をあそみのりと IR24 との間で探索した結果, いずれの領域についても, 何らかの塩基配列多型が見出された。以上の結果にもとづき合計 20 個の PCR マーカーを作成し, 連鎖地図上に位置付けることができた。このことから, MITE を利用することにより, 遺伝解析や育種のための PCR マーカーが効率的に作成できることが示された。

Breeding Science 53: 85-92 (2003)

イネの病斑葉突然変異体におけるいもち病および白葉枯病に対する抵抗性

溝淵律子¹⁾・平林秀介²⁾・梶 亮太¹⁾・西澤洋子³⁾・佐藤 光⁴⁾・小川紹文⁵⁾・岡本正弘¹⁾

(¹⁾九州沖縄農業研究センター, ²⁾作物研究所, ³⁾農業生物資源研究所, ⁴⁾九州大学, ⁵⁾近畿中国四国農業研究センター)

いもち病 (*Magnaporthe grisea*) および白葉枯病 (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*) に対して抵抗性を示す, イネ (*Oryza sativa* L.) の 5 つの病斑葉突然変異体 *spotted leaf 5-2* (*spl5-2*), *Spl12*, *spl13*, *spl14* および *Spl15* について解析した。初めに, 突然変異遺伝子の遺伝子量が病害抵抗性と病斑の発現程度に及ぼす影響について検討した。*Spl12* のヘテロ個体は, ホモ個体に比べて病斑の発現程度は低かったが, いもち病および白葉枯病に対する抵抗性の程度はほぼ同じであった。次に, 優性と劣性の突然変異体間で, 病害抵抗性の制御が異なるかどうか, 検討した。*spl5-2* および *Spl12* について, 異なる葉齢の葉に白葉枯病菌を接種したところ, いずれの変異体でも葉齢に関わらず抵抗性を示したが, 抵抗性の程度はいずれも上位葉のほうが高かった。また, 白葉枯

病菌を接種する時期を変えることにより, 病斑の発現する時期とその発現程度と病害抵抗性の関係を解析した。優性の突然変異体 (*Spl12* および *Spl15*) では劣性の突然変異体 (*spl5-2*, *spl13* および *spl14*) に比べ, 播種後早い時期から病斑の発現が見られた。また, 優性の突然変異体では, 病斑の発現程度が高く, 強い病害抵抗性を示した。最後に, 二重突然変異体の形質について解析した。*Spl12* と *spl14* の二重突然変異体の病斑は, 相加的であったが, 抵抗性程度は *spl14* と同程度であった。これらの結果は優性と劣性の突然変異体間で SPL 遺伝子の作用機構が異なる可能性を示唆している。

Breeding Science 53: 93-100 (2003)

高いラジカル消去活性を有する紫サツマイモ品種選抜のための簡易迅速な分光光度法

沖 智之^{1,3)}・納 美由紀^{1,3)}・増田真美^{1,3)}・小林美緒^{1,3)}・古田 收¹⁾・西場洋一¹⁾・熊谷 亨²⁾・佐藤哲生¹⁾・須田郁夫¹⁾

(¹⁾九州沖縄農業研究センター, ²⁾九州沖縄農業研究センター, ³⁾科学技術振興事業団・重点研究支援協力員)

アントシアニン色素を含む紫サツマイモは高い抗酸化活性を

示す。2000年に収穫された紫サツマイモから得た 80% エタノー

ル抽出液の1,1-ジフェニル-2-ピクリルヒドラジド(DPPH)ラジカル消去活性は8.6~49.0 $\mu\text{mol-Trolox/g}$ 新鮮重量であった。DPPHラジカル消去アッセイはラジカル消去活性を直接測定するには便利であるが、多数の育種系統の活性を評価するには、さらに簡便かつ迅速な手法を開発する必要がある。この目的達成のために、紫サツマイモから得た80%エタノール抽出液のUV-visスペクトルの特徴づけを行った。本抽出液は桂皮酸(あるいはその関連化合物)とアントシアニンの存在により、それぞれ325 nmと530 nm付近に吸収極大を示した。325 nmにおける吸光度値は530 nmにおける吸光度値に比べてDPPHラジカル消去活性との相関が高く、0.925の相関係数を示した。325 nmと

530 nmにおける抽出液の吸光度値を用いた重回帰解析を行うと、相関係数は0.979にまで上昇した。この検量線を2001年に収穫した紫サツマイモの抽出液に適用すると、ラジカル消去活性の推定値は実測値に対して0.977の高い相関係数と1.686の低いSEP値を示した。このように紫サツマイモから得た抽出液の325 nmと530 nmにおける吸光度を測定することにより、簡便・迅速に抽出液のDPPHラジカル消去活性の推定値を得ることができた。本アッセイは高いラジカル消去活性を有する紫サツマイモの育種系統を選抜するのに好都合になるだろう。

Breeding Science 53: 101-107 (2003)

イネの穂の発生異常は稈の伸長に影響する

春原英彦¹⁾・佐藤 光²⁾・長戸康郎¹⁾

(¹⁾東京大学大学院・農学生命科学研究科, ²⁾九州大学大学院・農学研究院)

イネの稈の節間伸長の開始は、栄養生長から生殖生長への転換とほぼ同調する。この同調性は、穂の発生が稈の節間伸長と関連している可能性を示唆している。また、稈の節間のアイデンティティが、先端からの数により決まっていると考えられることは、穂の発生が稈の節間伸長に何らかの影響を与えていることを示唆している。しかし、穂の発生と稈の節間伸長がどのような関係をもつのかはほとんど明らかになっていない。本研究では、イネ品種台中65号を遺伝的背景とした、穂や花芽に異常を示す突然変異体18系統を用い、穂の発生と稈の節間伸長の間の関係について解析した。18変異体は、主な異常が観察された器官に基づいて3グループに分類された。第1グループは主に穂軸及び枝梗で、第2グループは小穂および小花、第3グルー

プはその両器官で異常が見られたものである。穂軸及び枝梗に異常を持つ変異体の大半は、稈の伸長にも異常を示した。一方、小穂および小花のみに異常を持つ変異体では、稈の伸長はほぼ正常であった。また、稈の伸長節間長と穂の各形質間の相関解析から、穂の形質は稈の第1節間および第2節間長と高い正の相関を持つことがわかった。さらに、稈の伸長節間長を用いた主成分分析から、穂軸および枝梗に異常を持つ変異体は野生型から離れて分布し、小穂および小花のみに異常を持つ変異体は野生型の近傍に分布する傾向があることがわかった。これらの結果は、稈の伸長、特に上位節間の伸長が、穂の発生様式によって影響を受けることを示唆している。

Breeding Science 53: 109-117 (2003)

コムギ除胚半切種子で誘導される α -amylaseの特性

Albet Hader^{1,2)}・力石和英¹⁾・Ahmed Nisar¹⁾・野田和彦¹⁾

(¹⁾岡山大学・資源生物科学研究所, ²⁾中国新疆農業大学院)

コムギ(*Triticum aestivum* L.)の4系統、RL4137、OS21-5、シロガネコムギおよび北海250号の除胚半切種子を20°C、72時間吸水させ、 α -amylaseの活性を測定した。RL4137と北海250号の成熟種子(水分含量約15%)の半切種子は、吸水前より α -amylase活性が増加(3.59 mU/mg, 2.14 mU/mg)したのに対し、OS21-5とシロガネコムギでは吸水後の α -amylase活性は低く(1.05 mU/mg, 0.91 mU/mg)、統計的に有意($P < 0.01$)に異なった。RL4137とシロガネコムギの開花後30日から50日の発達中の種子の除

胚半切種子で α -amylase活性の増加を比較すると、RL4137では α -amylase活性が高まった。この α -amylaseは熱に不安定で低いpIを示し、発達中の種子の果皮で発現するとされるAMY-2タイプに似た性質を示す酵素であった。この結果は、コムギ系統の中に発達中から完熟するまでの間に糊粉層で熱に不安定なAMY-2タイプの酵素を合成する系統があることを明らかにした。

Breeding Science 53: 119-124 (2003)

MITE トランスポゾンディスプレイによるイネ属 AA ゲノム種間の効率的多型検出

高木恭子・長野宏則・貴島祐治・佐野芳雄

(北海道大学大学院・農学研究科)

Miniature Inverted Repeat Transposable Element (MITE) はイネゲノムにおける主要な反復配列である。多数散在するこれらの配列は、ゲノム全体を解析するうえで潜在的に優れている。本研究では、著者らが *waxy* 座近傍で既に同定した MITE の中からコピー数の多い 4 つ (TabitoII, StowawayOs1, Onagal および Mashu) を選択し、実験に供試した。4 つの MITE それぞれのイネゲノム内での構造を Blast 検索によって調査したところ、Mashu が最も保存性が高かった。次に、イネ属 AA ゲノム種 21 系統より抽出した DNA を用いて AFLP 法を応用したトランスポゾンディスプレイ分析を実施した。4 つの MITE いずれの配列をプライマーとして用いた場合も、明瞭なバンドパターンを生じ、1 レーン当たり 45–90 本のバンド (アダプタープライマーに任意の 3 塩基

付加の場合) が出現した。バンドパターンを系統間で比較すると、同方法は従来イネゲノムの多型検出に用いられたどの方法よりも効率的に多型を得ることが判明した。特に、Mashu の配列をプライマーとした場合では、他の 3 つの MITE に比べ 3–1.5 倍も高い頻度で多型バンドが検出でき、ジャポニカーインディカ間では 70% のバンドが多型であった。トランスポゾンディスプレイによって得られた多型を基にそれぞれ系統樹を作成すると、21 系統の遺伝的関係は 4 つの MITE いずれの場合も似通っており、*O. sativa* と *O. rufipogon* の複雑な系統関係が共通して再現された。

Breeding Science 53: 125-132 (2003)

組換え近交系を用いたダイズ種子のタンパク質、脂質含量に関する QTL 解析

Teuku Tajuddin¹⁾・渡辺啓史²⁾・山中直樹³⁾・原田久也²⁾

(¹⁾ Center for the Assessment and Application of Biotechnology, Indonesia, ²⁾ 千葉大学大学院・自然科学研究科, ³⁾ 国際農林水産業研究センター)

ダイズの種子成分であるタンパク質及び脂質の質、量を改良することはダイズ育種において最も重要な課題の一つである。種子成分の質的改良に関する遺伝学的研究は進展しているが、量的改良に関する知見はあまり得られていない。これらの形質に関与する遺伝的要因を明らかにするために、ダイズ品種、ミスズダイズと秣食豆交 503 に由来する組換え近交系を用い、2 つの異なる環境下で種子タンパク質含量と脂質含量を調査した。ダイズ種子のタンパク質および脂質含量は、同一の種子を用いて、非破壊法である近赤外光 (NIR) によるスペクトル解析によって測定した。分析の結果、タンパク質及び脂質含量の広義の遺伝率は 0.73 から 0.79 であった。一元配置分散分析、区間マッピング法、複合区間マッピング法によってタンパク質および脂質含量と有意に関係する遺伝子座を同定した。総数 17 の

QTL が少なくとも一方の環境下で同定され、10 がタンパク質含量、7 が脂質含量に関係する遺伝子座であった。タンパク質含量において個々の QTL は 3.4% から 29.7% の寄与率を示し、脂質含量において個々の QTL は 6.1% から 10.1% の寄与率を示した。同定した QTL のうちタンパク質含量および脂質含量についてそれぞれ 3 つの QTL が、調査した両方の環境下で検出された。またタンパク質含量と脂質含量の負の相関についても確認された。本研究では更に、表現形質に有意に寄与すると考えられる遺伝子座間の相互作用も検出された。本研究の結果は、タンパク質および脂質含量の遺伝的制御に対する理解の基礎となり、また最終的には種子成分の改良に結びつくものと考えられる。

Breeding Science 53: 133-140 (2003)

リョクトウ (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) の幼苗期における大粒系統の選抜方法

Gul S.S. Khattak¹⁾・Muhammad Ashraf²⁾・Tanveer Elahi³⁾・Ghulam Abbas³⁾

(¹⁾ Nuclear Institute of Food and Agriculture, Pakistan, ²⁾ Department of Botany, University of Agriculture, Faisalabad, Pakistan, ³⁾ Nuclear Institute of Agriculture and Biology, Pakistan)

アジアにおける重要なマメ科作物リョクトウの種子の大きさは、収量や市場価格に係る形質である。大粒種子系統を生育初期に選抜するための指標となる形質を探すために、幼苗期

における下胚軸長 (HL)、初生葉の長さ (PLL)、初生葉の幅 (PLW)、初生葉の面積 (PLA) と種子重との単相関を (1) 種子重の異なる遺伝的に固定した 15 系統 (2)、大粒と小粒系統の分離雑種集

団を用いて調査した。実験は、(1)(2)ともに1999年と2000年の2年間にわたり、3～5月の作期とカリフ(7月～10月の作期)の計4回パキスタンのFaisalabadで行い、各作期毎に2年間の平均値を用いて単相関を求めた。(1)の固定系統を用いた実験は3反復で行い、長さ30cm幅15cm深さ8cmの砂を入れたトレーに1系統当たり50粒を播種し、その中の30系統から葉苗期の形質を測定した。その後各系統を圃場で育て、1反復当たり5個体から測定した種子重の平均値と上記幼苗期形質との単相関を調べた。(2)の分離集団を用いた実験は圃場で行い、180のF₂幼

苗個体について上記幼苗期4形質を調査し、各F₂個体に実ったF₃種子重との単相関を調べた。(1)(2)の実験ともに結果は同様の傾向を示した。すなわち、両作期ともに種子重とHLには有意な相関は見られなかったが、種子重とPLL, PLW, PLAの間には有意な正の相関が見られた。このことから、リョクトウ分離集団における大粒系統の幼苗期における選抜形質として、初生葉の長さ(PLL)、幅(PLW)、面積(PLA)が有効に利用可能であることが判明した。

Breeding Science 53: 141-143 (2003)

Agrobacterium tumefaciens 法による除草剤耐性サツマイモの作出

大谷基泰¹⁾・脇田陽一^{1,2)}・島田多喜子¹⁾

(¹⁾石川県農業短期大学, (²⁾現:北海道立林業試験場)

サツマイモ (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) の茎頂組織から誘導した embryogenic callus に *Agrobacterium tumefaciens* 法によって除草剤耐性遺伝子である *bar* を導入した, CaMV35S プロモーターまたは EI2Ω プロモーターに制御されている *bar* 遺伝子 (35S-*bar*, EI2Ω-*bar*) をサツマイモに導入した。35S-*bar* では67個体, EI2Ω-*bar* では43個体の独立した形質転換体を得ることができた。これらの形質転換体はサザン分析によって *bar* 遺伝子の組み込みが確認された。さらに、ノーザン分析ではEI2Ω-*bar* を導入した形質転換体よりも35S-*bar* を導入した形質転換体の方が *bar* 遺伝子の発現量が高い傾向がみられた。1 mg/ml のピアラホ

ス水溶液を展開葉に塗布したところ、非形質転換体では3日後には塗布した部分が黄変し、約1週間で枯死したが、形質転換体の葉には何の変化もなかった。ピアラホ耐性については35S-*bar* とEI2Ω-*bar* の間では差異が認められなかった。*bar* 遺伝子を持つ形質転換サツマイモと非形質転換サツマイモを閉鎖系温室内で栽培したところ、両者の間には顕著な形態的差異は認められなかった。形質転換体当代の塊根を伏せ込んで得た栄養繁殖後代においても、当代と同様のピアラホ耐性があった。

Breeding Science 53: 145-148 (2003)

2倍性および同質4倍性ジャガイモにおけるポテトウイルスY抵抗性遺伝子 *Ry_{adg}* に関連した抵抗性遺伝子様断片 ADG2 の保存性について

渡邊和男^{1,2)}・張航寧^{1,3)}・白仁田明生^{1,4)}・山中慎介²⁾

(¹⁾近畿大学・生物理工学部, (²⁾筑波大学・遺伝子実験センター, (³⁾南京農業大学, (⁴⁾(株)新日本科学)

ADG2は、ジャガイモにおけるポテトウイルスY抵抗性遺伝子 *Ry_{adg}* に関連した抵抗性遺伝子様断片である。PVY感受性及び起源を異にする抵抗性遺伝子を持った遺伝的に異なる2倍性および同質4倍性ジャガイモの24遺伝系統あるいは品種について、ADG2領域をPCRにて増幅した。これら増幅断片をクローン化し、おのおののジャガイモ系統についてそれぞれ複数のクローンについてDNAシーケンス解析を行い、配列の比較をした。ADG2は、ジャガイモにおけるポテトウイルスY抵抗性遺伝子 *Ry_{adg}* に関連した保存性の高いDNA領域であることが示されたが、一方、ADG2領域は抵抗性対立遺伝子型と感受性対

立遺伝子型に大別された。*Ry* 遺伝子を持つ系統の抵抗性対立遺伝子型ADG2領域は、供試系統すべてで同一の推定アミノ酸配列を示したのに対し、抵抗性系統の感受性対立遺伝子型と感受性系統同領域は異なるアミノ酸多型を、ADG2領域全般に渡り示した。ADG2領域について、感受性と抵抗性の違いはアミノ酸換算で4残基であり、特に nucleotide binding site 内部のキナーゼモチーフにおける置換が抵抗性の損失に繋がっているのではないかと考察された。

Breeding Science 53: 149-154 (2003)

ジャガイモの BAC ライブラリー構築と PVY 抵抗性遺伝子 Ry_{adg} 関連領域の同定

張 航寧^{1,2)}・Jari P.T. Valkonen^{3,4)}・渡邊和男^{1,5)}

(¹⁾近畿大学・生物理工学部, ²⁾南京農業大学, ³⁾Swedish University of Agriculture Science (SLU), Uppsala, Sweden, ⁴⁾University of Helsinki, Finland, ⁵⁾筑波大学・遺伝子実験センター)

PVY 高度抵抗性遺伝子 Ry_{adg} を持つジャガイモ 2 倍性遺伝系統 2x(V-2)7 を用いて, bacterial artificial library (BAC) を構築した。核 DNA を, *Hind* III によって部分酵素消化を行い, パルスフィールド電気泳動を用いて 200–350 kb サイズの DNA 断片を分離した。これらを精製し, pBeloBAC11 をベクターとして大腸菌 DH10B にクローニングを行った。当該 BAC クローンは, 40 kb から 320 kb までの様々なサイズであったが, 平均 125 kb で, サブサンプルからの BAC クローンの大きさはおおむね 100–150 kb に多く頻度分布していた。葉緑体 DNA のコンタミネー

ションは, 0.54% であり, 核 DNA の BAC ライブラリーとして十分に供試験できるものと考えられた。総計 57,600 クローンを得たが, これは 2 倍性ジャガイモのゲノムサイズの 6.6 倍に相当する。このうち 28,800 クローンについて, PVY 高度抵抗性遺伝子 Ry_{adg} 関連領域の同定を試みた。これまでに抵抗性遺伝子選抜マーカーとして開発された RFLP, CAPS, SCAR 等のマーカーによって BAC クローンを選抜した。SCAR マーカーによって同抵抗性遺伝子領域を含むと考えられるクローンを 2 個同定した。
Breeding Science 53: 155-161 (2003)

Agrobacterium rhizogenes により T-DNA が導入されたペパーミント形質転換体の精油組成の変化

井上文秀¹⁾・杉浦裕幸²⁾・田淵 晃²⁾・唐澤傳英²⁾・南 峰夫²⁾

(¹⁾岐阜大学大学院・連合農学研究科, ²⁾信州大学・農学部)

ペパーミント, *Mentha piperita*, の毛状根から再生植物体を作成し, その精油成分組成の解析を行った。まず *Agrobacterium rhizogenes* IFO14554 および *A. rhizogenes* IFO14554/pBI121 を用いて毛状根の誘導を行った。植物体の茎および葉の切片を用い, 直接接種法および共存培養法により菌の感染を行った。感染処理後の植物切片を GamborgB5 (B5) 培地または Murashige & Skoog 培地に置床し 26°C において 24 時間明期で培養を行ったところ 2 週間で毛状根が誘導された。葉への直接接種法が最も高い毛状根誘導率 (43.8%) を示した。毛状根を 1 μ M NAA (1-naphthaleneacetic acid), 10 μ M 4-CPPU (N-(2-chloro-4-pyridyl)-N'-phenylurea) および 25 g/l ココナッツパウダーを含む B5 培地を用いて 26°C において暗所で培養することによりカルス化させた。さらに, このカルスを 1 μ M NAA および 10 μ M 4-CPPU を含む 1/2 濃度の B5 培地で 26°C において 24 時間明期で培養を行い

不定芽を誘導した。5 系統の毛状根から 8 個体の植物体が再分化し, 特徴的な “hairy root syndrome” を示した。再生植物体からゲノム DNA を抽出し, 導入遺伝子の PCR による検出を行った。また, 開花期の再生植物体の地上部から水蒸気蒸留により精油成分を抽出し, ガスクロマトグラフィーによる精油成分の解析を行った。rol 遺伝子が確認された再生植物体のうち, 1 系統においては精油の収量が親株と比較し約 5 倍増加し, また, 別の系統においては精油の品質を左右するメンソフラン含量の顕著な減少が認められた。これらの結果より, *A. rhizogenes* により誘導されたペパーミントの毛状根から再生植物体が得られ, また, バイナリベクター系を用いることが有用な形質転換植物体を作成するための有効な方法であることが示された。

Breeding Science 53: 163-167 (2003)

糯米における餅硬化性の簡易・迅速な測定法の開発

小林和幸・石崎和彦・河合由起子・松井崇晃・重山博信・星 豊一

(新潟県農業総合研究所・作物研究センター)

餅硬化性は, 米菓の製造過程において, 裁断に至るまでの時間の長短を左右する重要な加工特性である。しかし, これまでの評価方法は大量の試料を必要とし, また測定にも長時間を要した。そこで本研究では, 糯米育種において重要な選抜指標の一つに

なっている餅硬化性の簡易・迅速な評価方法の開発を試みた。餅生地調製方法: 試料 40 g を粉砕し, 水分含有率が 43% となるように蒸留水を加え, 十分に混合攪拌した。この加水糯粉生地を厚さ 8 mm に圧延し, 餅硬化性測定枠によって型抜きした。これ

を押え板で挟み、クリップで固定し、熱湯中で5分間加熱した。加熱後、この餅生地成型容器を流水中で10分間冷却し、水分をよく拭き取ったのち、5°Cで保管した。餅硬化性の測定方法：容器を6時間冷蔵し、室温に1時間放置後、テンシプレッサーにより餅生地の硬度を測定した。テンシプレッサーのクリアランス（圧縮幅）は3.5 mmが最適で、餅生地表面の任意の5点を測定すれば十分であった。本法の有効性：多数の糯米品種の餅硬化性を以上の方法により調査し、その有効性を検証した結果、この方法は1日約60検体の分析が可能であり、通常の製餅法によって調

製した餅生地と同等の精度で餅硬化性の評価ができるものと考えられた。また、調査試料を特定品種によって増量することにより、20 gのサンプル量でも餅硬化性の評価ができることを示した。以上のことから、本研究で開発した餅硬化性の簡易・迅速な評価方法は、育種の初期世代における特性検定に利用できるだけでなく、餅硬化性の遺伝様式や発生機構を解明する上でも有用な方法になるものと考えられる。

Breeding Science 53: 169-175 (2003)

B, C および D セプテットに属する野生バラの分子細胞遺伝学的手法を用いた核型分析

赤坂舞子¹⁾・上田善弘・木庭卓人²⁾

(¹⁾千葉大学大学院・自然科学研究科, (²⁾千葉大学・園芸学部)

バラの野生種はHurst (1925, 1928)により形態的、生態的および細胞学的特徴にもとづいてA~Eセプテットに分けられている。しかし、これは分類学的な区分とは異なる。本研究はB, C およびDセプテットに属する4種の核型の比較を行うとともに分子細胞遺伝学的手法によってリボソームRNA遺伝子の座位およびその数を決定し、それらの種の遺伝的特徴を明らかにしようとしたものである。バラの2倍体種でBセプテットに属する*R. willmottiae*, Cセプテットに属する*R. rugosa*, Dセプテットに属する*R. marretii* および*R. foliolosa*を材料にした。染色体画像解析システムCHIAS IIIを用いてギムザ染色により生じた染色体上の濃淡を定量化し、イディオグラムを作成した。それぞれの種において染色体長の大きい順に第1番から第7番と命名した。染色体長、腕比および濃淡のパターンから7対の染色体を識別することができた。いずれの種においても、最も短い7

番染色体では相同染色体間で染色体長やサテライトの大きさに違いが観察された。さらに、FISH法を用いて45Sおよび5SリボソームRNA遺伝子の物理的位置の検出を行った。45SリボソームRNA遺伝子は*R. foliolosa*を除くすべての種において7番染色体の短腕側の末端部にのみ2ヶ所確認されたが、*R. foliolosa*では3, 4, 7番染色体の短腕側の末端部に6ヶ所確認された。バラはアジア起原であると考えられており*R. foliolosa*は北アメリカ大陸に特異的な種であることから、アジアから北アメリカ大陸に伝播したのちあるいは伝播の過程でゲノムの再編成が生じたものと考えられる。5SリボソームRNA遺伝子についてはすべての種において中間の大きさの染色体の長腕部に2ヶ所検出された。本研究により、分子細胞遺伝学的手法がバラの核型の解析を行う上で有効であることが示された。

Breeding Science 53: 177-182 (2003)

シオデ (*Smilax oldhami* Miq.) の薬培養における多芽体の形成と植物体再生

田澤一二・笹原健夫

(山形大学・農学部)

雌雄異株植物であるアスパラガスでは、雌雄同体性雄性 (andromonoecy) を利用して雄性個体からなる品種 (all-male cultivar) が育成されている。同じユリ科に属し比較的近縁であると思われる雌雄異株植物のシオデでは、雌雄同体性雄性が存在しないため、有性的に雄性個体からなる品種育成は不可能である。本研究では、雄性個体からなる品種育成のための最初の段階として、シオデの薬培養、多芽体形成、植物体再生を検討した。シオデの薬培養において、固形培地を用いた場合、多芽体形成を

経て約1年後に置床薬から植物体 (55%) が形成された。また、多芽体を液体培養した場合、固形培地に比較して、多芽体の形成速度が速く、大量の多芽体が形成される結果が得られた。置床前に、薬を5°Cで数日間前処理することが、植物体再分化に極めて効果的であることが分かった。今後これら再生植物体の生理・遺伝的特徴を検討する必要がある。

Breeding Science 53: 183-185 (2003)