

## 稲品種の米の理化学的性質に関する QTL 解析

李 澤福<sup>1)</sup>・万 建民<sup>1)</sup>・夏 家発<sup>2)</sup>・矢野昌裕<sup>3)</sup>

(<sup>1)</sup>南京農業大学“作物遺伝と資源開発”国家重点研究室, <sup>2)</sup>安徽省・農業科学院水稻研究所, <sup>3)</sup>農業生物資源研究所)

日本晴 / Kasalath//Kasalath 由来の BIL (Backcross inbred lines) 集団を栽培して、連続 2 年間に米のアミロース含量, アルカリ抵抗性およびゲルーコンシステンシ (gel consistency) などの米品質と関係がある理化学的性質を測定し, DNA マーカーを利用して, 複合区間マッピング法により QTL 解析を行った. その結果, アミロース含量と関係がある四つの QTL が第 3, 4, 5, 6 染色体に検出された. このうち, 第 6 染色体の短腕の糯遺伝子区域に在る qAC-6 と第 5 染色体の qAC-5 の QTL は連続 2 年間に検出さ

れ, 特に qAC-6 の寄与率は 80% であった. 他の QTL の寄与率は 10% 以下であった. また, アルカリ抵抗性と関係がある QTL は 3 個検出され, 第 6 染色体の糯遺伝子区域と *alk* 遺伝子区域ではそれぞれ一つの QTL があり, 第 3 染色体にもう一つの QTL があった. このうち特に *alk* 遺伝子区域にある QTL は連続 2 年間に検出され, 寄与率も大きかった. ゲルーコンシステンシと関係している QTL は 5 個検出したが, 寄与率は低かった.

**Breeding Science** 53 : 209-215 (2003)

## 日本産ダイズ 6 品種の種子タンパク質含量と異なる濃度の塩化マグネシウムで調整した豆腐の堅さとの相関関係

戸田恭子<sup>1)</sup>・小野伴忠<sup>2)</sup>・喜多村啓介<sup>1)</sup>・羽鹿牧太<sup>1)</sup>・高橋浩司<sup>1)</sup>・中村善行<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>作物研究所, <sup>2)</sup>岩手大学・農学部)

豆腐の堅さはダイズの種子タンパク質含量とある程度相関することが知られているが, タンパク質含量が高いダイズからも柔らかい豆腐が出来ることがあり, 両者の整合性は十分には解明されていない. そこで本研究では, フクユタカ, サチユタカなど日本産ダイズ 6 品種について, 種子タンパク質含量と豆腐の堅さとの相関を再検討した. 種子タンパク質含量は燃焼法で測定した窒素含量に 6.25 を乗じて算出した. 一方, 生絞り法で調整した豆乳に凝固剤として塩化マグネシウムを加えて充填豆腐を作製して, その破断応力をクリープメータで測定した. 凝固剤濃度を 0.2% から 0.5% まで変化させると破断応力が増加して最大値に達したが, 凝固剤濃度に対する破断応力の変化は品種により異なった. 6 品種の種子タンパク質含量と, 製造現場や従来の加工試験で用いられる凝固剤濃度 (0.25%) における破断応力, および最大破断応力との相関を調べると, 前者に有意な相

関がなかった ( $r=0.27$ ) のに対し, 後者は 0.1% 水準で有意な相関が認められた ( $r=0.87$ ). しかし, サチユタカ以外の 5 品種では, 種子タンパク質含量に対して, 凝固剤濃度 0.25% で調整した豆腐の破断応力でも 0.1% 水準で有意な相関が認められた ( $r=0.52$ ). サチユタカは, 6 品種の中で, 最大破断応力を示す凝固剤濃度が最も高く, その平均値は 0.45% だった. また, 凝固剤濃度 0.25% で調整した豆腐の破断応力は, 6 品種の中で最低であった. 一方, フクユタカはこの値が 0.34% で最も低く, 凝固剤濃度 0.25% で調整した豆腐の破断応力は 6 品種の中で最も高かった. これらのことから, 最大破断応力を示す凝固剤濃度は, 種子タンパク質含量とともに, 豆腐の堅さの指標になり得ると考えられる.

**Breeding Science** 53 : 217-223 (2003)

## ビール大麦における側面裂皮粒発生に関する QTL 解析

甲斐浩臣・馬場孝秀<sup>1)</sup>・塚崎守啓・内村要介・古庄雅彦

(福岡県農業総合試験場, <sup>1)</sup>現: 中央農業総合研究センター・北陸研究センター)

ビール大麦において側面裂皮粒が発生しない品種を選抜する Marker Assisted Selection (MAS) システムを確立するために, 998 個の DNA マーカーを使って, 側面裂皮粒の発生が極めて少ない「きぬゆたか」と発生が多い「吉系 15」の間で多型を検出できる

DNA マーカーをスクリーニングした. その結果, 55 個の DNA マーカーで両親間に多型を検出できた. これらの DNA マーカーと両親間の  $F_1$  から作出した 150 系統の半数体倍加系統を用いて, 全長 546.8cM, 7 対の大麦染色体上に 8 個の連鎖群からなる

遺伝子地図を構築した。また側面裂皮粒発生に関する QTL 解析によって、3 個の QTL が大麦 2H, 3H および 6H 染色体上に存在

することを明らかにした。

**Breeding Science** 53 : 225-230 (2003)

## C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub> 中間型 *Diplotaxis tenuifolia* とダイコンとの属間雑種の育成

房 相佑<sup>1)</sup>・水野由美子<sup>1)</sup>・金子幸雄<sup>1)</sup>・松澤康男<sup>1)</sup>・房 極秀<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup>宇都宮大学・農学部, <sup>2)</sup>韓国国立益山大学・生命工学科)

C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub> 中間型 *Diplotaxis tenuifolia* (DtDt, 2n=22) とダイコン (*Raphanus sativus*, RR, 2n=18) 5 品種との属間交雑を行い、1 個体の F<sub>1</sub> 雑種が *D. tenuifolia* × ダイコン品種 '4-season leaf' の組合せから子房培養と胚培養の併用によって得られた。コルヒチン処理を施して作出された複二倍体 (DtDtRR, 2n=40) は、減数分裂において正常な染色体行動と比較的高い花粉稔性 (75%) を示した。複二倍体と両親種との戻し交雑を行ったところ、複二倍体 × ダイコンの交雑から DtRR ゲノムをもつ BC<sub>1</sub> 雑種 2 個体 (2n=29) が得られ、一方、*D. tenuifolia* × 複二倍体の交雑では DtDtR ゲノムをもつ BC<sub>1</sub> 雑種 1 個体 (2n=31) が得られた。前者の BC<sub>1</sub> 雑種 (DtRR, 2n=29) とダイコン品種 '4-season leaf' との正逆戻し交雑を行い、BC<sub>1</sub> 雑種 × ダイコンの組合せから

*D. tenuifolia* の細胞質をもつ 102 個体の BC<sub>2</sub> 雑種を、逆交雑ではダイコン細胞質をもつ 12 個体の BC<sub>2</sub> 雑種を得た。これら雑種植物の体細胞染色体数は 2n=18 から 2n=23 であり、ダイコン (2n=18) に *D. tenuifolia* の染色体が 0~5 本添加された雑種であった。ダイコンに *D. tenuifolia* 染色体が 1 本添加された個体 (Monosomic Addition Line; MAL) の出現率は、*D. tenuifolia* 細胞質をもつ BC<sub>2</sub> 雑種では 24.7% であり、ダイコン細胞質をもつ BC<sub>2</sub> 雑種では 41.6% を示した。本研究で育成された属間雑種は、今後アブラナ科作物の C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub> 中間型植物の研究や遺伝的改良のための育種素材として有用であると考えられる。

**Breeding Science** 53 : 231-236 (2003)

## 水稻中間母本農 11 号の遺伝的背景における *d18-k* (kotaketamanishiki dwarf) の穂孕期の耐冷性に及ぼす作用、ならびに、その深水処理との関係

村井正之<sup>1)</sup>・Hari Bahadur KC<sup>1,2)</sup>・吉田徹志<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>高知大学・農学部, <sup>2)</sup>現 : Nepal Agricultural Research Council)

イネの矮性遺伝子 *d18-k* (kotaketamanishiki dwarf) は、穂孕期の耐冷性を向上させることが知られている。他方、水稻中間母本農 11 号 (PL11 と略称) は、ボルネオの在来種 'Padi Labou Alumbis' に由来する耐冷性遺伝子を有し、穂孕期耐冷性が極めて強い。本研究では、PL11 を反復親として育成した同質遺伝子系統 (D11 と略称) を用いて、*d18-k* が PL11 の耐冷性を更に向上できるか否かを検討した。昼間の光強度を 600 μmol PAR m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> に設定した人工気象室を用いて、12 °C 5 日間の水深の異なる冷温処理、すなわち DW 処理 (水深 15 cm) および CA 処理 (水深 0 cm) を行った。両処理においては、D11 の冷温による退化穎花数 (白籾を含む) は PL11 より有意に少なかった。退化穎花も含めた授精穎花数の減少程度を示す FS-T/C (冷温処理における 1 穂授精穎花数 / コントロールの 1 穂授精穎花数, %) では、CA 処理において、D11 の最低値 (開花 14 日前) は PL11 の最低値 (開花 12

日前) より高かった。さらに、L<sub>5</sub> (FS-T/C の最も低い連続する 5 日間におけるそれらの値の平均値) においても、D11 は PL11 より高かった。すなわち、D11 の耐冷性は、PL11 より高い。DW 処理において、D11 の FS-T/C は常に 85% 以上であり、高度耐冷性に加えて深水による効果が有意であった。しかし、PL11 においては、深水による保護的効果が認められなかった。稔実歩合においても、同様な結果が得られた。穂孕期における D11 の穂の高さは PL11 より顕著に低く、深水灌漑による冷害の軽減が容易であることを示唆した。コントロールにおける葯当り充実花粉数においては、D11 > PL11 であった。また、D11 は、CA 処理による充実花粉数の減少が著しく少なかった。以上より、*d18-k* は、高度耐冷性品種の育成のために有用であると結論された。

**Breeding Science** 53 : 237-244 (2003)

## イネ *GL2* 型ホメオボックス遺伝子群の表皮分化における機能解析

伊藤百代・千徳直樹・西村明日香・洪 淳寛・佐藤 豊・松岡 信

(名古屋大学・生物機能開発利用研究センター)

*GL2* 型ホメオボックス遺伝子群は、表皮分化に関わる植物のホメオボックス遺伝子群である。これらの遺伝子のイネの表皮分化過程における機能を解析するために、5つのイネ *GL2* 型ホメオボックス遺伝子 (*Roc1-Roc5*) を単離し、まず、*in situ* ハイブリダイゼーションによる空間的な発現パターンの解析を行った。この結果、5つの *Roc* 遺伝子はすべて、(原)表皮細胞特異的な発現を示すことが明らかとなった。次に、ノザンハイブリダイゼーション、および RT-PCR により発現パターンの解析を行ったところ、胚発生過程、および胚発生以降の形態形成過程のいずれにおいても、5つの遺伝子は、時間的にオーバーラップするもののそれぞれ特徴的な発現パターンを示すことが明らかとなった。5つの *Roc* 遺伝子の発現は、すべてが空間的には同じ表皮細胞特異的であり、時間的にもオーバーラップすることから、次に、これらの *Roc* タンパク質間の 2 量体形成能について Two

Hybrid 法を用いて解析を行った。解析の結果、*Roc* タンパク質は、これまでにいくつかの *GL2* ホメオドメイン (HD) タンパク質で報告されているホモ 2 量体形成能のみでなく、異なる *Roc* タンパク質間のヘテロ 2 量体形成能も保持していることが明らかとなった。さらに興味深いことに、*Roc* タンパク質によっては、ホモ 2 量体よりも、他の *Roc* タンパク質とのヘテロ 2 量体形成を好む傾向があることも明らかとなった。種々の発現解析の結果は、表皮分化の種々の過程において、*Roc* タンパク質がそれぞれ異なる組み合わせや量比で存在することを示唆しており、さらに 2 量体形成能の解析結果を統合すると、*Roc* タンパク質は、表皮分化の種々の過程ごとに 2 量体形成の組み合わせを変化させることで、表皮分化に関わる多くの遺伝子を制御している可能性が考えられた。

**Breeding Science** 53 : 245-253 (2003)

## イネ (*Oryza sativa* L.) の止葉に影響する量的形質遺伝子座

小林創平<sup>1,2)</sup>・福田善通<sup>2)</sup>・森田 敏<sup>3)</sup>・佐藤雅志<sup>4)</sup>・大崎 満<sup>1)</sup>・G.S. Khush<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup>北海道大学・農学研究科, <sup>2)</sup>国際イネ研究所, <sup>3)</sup>農林水産技術会議, <sup>4)</sup>東北大学・生命科学研究所)

イネの止葉は穂に炭水化物を供給する重要な役割を果たしている。そこで本研究は、1997年に上越(日本)で、2000-01年の乾期(1-4月)と雨季(6-10月)に Los Baños (フィリピン)で(計4作期)、密陽23号(インド型)とアキヒカリ(日本型)を親とする組換え近交自殖系 191 系統 ( $F_7$ ) を栽培し、止葉の長さおよび幅、角度に関して量的形質遺伝子座 (QTL) 解析を行った。その結果、密陽23号とアキヒカリの止葉形質の分離を、3つのグループに分類される9つの染色体領域によって説明できた。グループ I に分類された3領域(第1および4, 6染色体)の QTL は、止葉の長さおよび幅の両方を増加させ、栽培地に関わらず、安定した効果を示した。特に、第4染色体長腕上の領域(近傍

マーカー, *XNpb235*) は、長さおよび幅の変異をそれぞれ 9-17% と 20-26% 説明していた。グループ II の4領域(第2および3, 10, 11染色体)は長さ、グループ III の2領域(第8および12染色体)は幅に作用した。QTL の検出パターンより、グループ II と III に属する3領域(第3および10, 12染色体)は、Los Baños の栽培環境下で顕著に発現することが明らかになった。止葉の角度に関しては、組換え近交自殖系統で大きく分離していたが、明確な影響を及ぼす領域は同定されなかった。これら9つの染色体領域の詳細な解析により、止葉の発達に関する遺伝様式を明らかにした。

**Breeding Science** 53 : 255-262 (2003)

## イネにおける穂の形態に関与する主動遺伝子 *Ur1* をヘテロ型に有する多収な *japonica* の $F_1$

村井正之<sup>1)</sup>・永山敦士<sup>1)</sup>・佐藤茂俊<sup>2)</sup>・Hari Bahadur KC<sup>1,4)</sup>・伊勢一男<sup>3)</sup>・吉田徹志<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>高知大学・農学部, <sup>2)</sup>琉球大学・農学部, <sup>3)</sup>国際農林水産業研究センター, <sup>4)</sup>現: Nepal Agricultural Research Council)

イネの不完全優性遺伝子 *Ur1* (Undulate rachis-1) は、2次枝梗数と2次枝梗当たり穎花数の増加によって1穂穎花数を増加する作用を有する。*Ur1* はシンクサイズを拡大することによって収量を増加することができ、収量増加程度は *Ur1/Ur1* 型と *Ur1*

／+型の両者ではほぼ同様である (Murai *et al.* 2002)。本研究では、*Ur1* によって、多収な  $F_1$  の収量をさらに増加できることを検証した。九州地方における極短稈品種「ニシヒカリ」を共通の母方として、*japonica* 品種台中 65 号の *sdl* (*dee-geo-woo-gen dwarf*)

に関する同質遺伝子系統、または、*Ur1* と *sd1* の両方を有する同質遺伝子系統を交雑し、*Ur1* を有さない  $F_1$  ( $H^+$  と略称) ならびに *Ur1* / + 型の  $F_1$  ( $H^U$ ) を得た。  $H^U$ ,  $H^+$  および ‘ヒノヒカリ’ (比較品種) は、1999 年に 3 肥料水準 (少, 中, 多肥) で栽培された。 ‘ニシヒカリ’ は、中肥のみで栽培された。 2000 年には、 $H^U$  と ‘ヒノヒカリ’ が 2 倍肥 (極多肥 =  $N 16 \text{ g/m}^2$ ) で栽培された。  $H^+$  は、better parent の ‘ニシヒカリ’ より 21 % 多収であり、高いヘテロシスを示した。  $H^+$  の収量は、3 肥料水準において、 ‘ヒノヒカリ’ より 12~15 % 高かった。  $H^+$  の登熟歩合は、 ‘ニシ

ヒカリ’ または ‘ヒノヒカリ’ より高かった。  $H^U$  の収量は、 $H^+$  より 12~15 % 増加した。  $H^U$  の多収の要因は 1 穂穎花数の増加であり、登熟歩合は  $H^+$  より減少した。  $H^U$  は、 ‘ヒノヒカリ’ と比較すると、3 肥料水準において、22~24 % ( $116\sim 137 \text{ g/m}^2$ ) 多収であった。 2 倍肥では、 $H^U$  の収量は  $723 \text{ g/m}^2$  であった。 以上のように、*Ur1* の収量増加効果により、多収な  $F_1$  の収量性をさらに高めることができた。 *Ur1* は、多収性の  $F_1$  品種を育成するために有用であると結論された。

**Breeding Science** 53 : 263-269 (2003)

## ホールクロップサイレージ用の水稻新品種

坂井 真<sup>1,3)</sup>・飯田修一<sup>2)</sup>・前田英郎<sup>2)</sup>・春原嘉弘<sup>2)</sup>・根本 博<sup>1)</sup>・井辺時雄<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>作物研究所, (<sup>2)</sup>近畿中国四国農業研究センター, (<sup>3)</sup>現:青森県農林総合研究センター)

水稻新品種「ホシアオバ」, 「クサノホシ」, 「クサホナミ」は 2002 年に育成されたホールクロップサイレージ (稲発酵粗飼料) 用品種である。「ホシアオバ」は“多収系 174 (中国 113 号) / 北陸 130 号 (オオチカラ)”, 「クサノホシ」は“多収系 175 (中国 113 号の姉妹系統) / アケノホシ”, 「クサホナミ」は“アケノホシ / 中国 113 号”の交配後代から育成された。「クサホナミ」は作物研究所で、他の 2 品種は近畿中国四国農業研究センターで選抜が行われた。これらの 3 品種はいずれも長稈で直立した長い上位葉を持ち、分げつは少なく極穂重型の草型を示す。3 品種とも耐倒伏性は移植栽培、直播栽培ともに強く、いもち病には真性抵抗性遺伝子を保有し、圃場抵抗性は不明である。縞葉枯病にも抵抗性を示す。「ホシアオバ」は出穂期が「日本晴」並で、玄米は極大粒である。育成地での移植栽培で、地上部全重、玄米重はそれぞれ「日本晴」比 112 %, 129 % であった。「クサノホシ」は出穂期が「日本晴」より 12 日晩生で、1 穂着粒数が

極めて大きい。育成地での移植栽培で、地上部全重、玄米重はそれぞれ「日本晴」比 120 %, 126 % であった。「クサホナミ」は出穂期が「日本晴」より 9 日晩生で、1 穂着粒数が極めて大きい。葉身・穎には毛茸がない無毛性である。育成地での移植栽培で、地上部全重、玄米重は「日本晴」比 119 %, 133 % であった。これら 3 品種の乾物 TDN 含量は 60 % 前後と通常の日本品種並であるが、地上部全重が多収であることから、単位面積当たり TDN 収量は通常の日本品種より優る。これら 3 品種のホールクロップサイレージの飼料価値は、ほぼチモシー乾草またはイタリアンライグラスサイレージ並かやや優る。これら 3 品種の栽培適地は「ホシアオバ」が本州の東北地方中南部以南、「クサノホシ」が東北、北陸を除く本州と四国、九州、「クサホナミ」が東北を除く本州と四国、九州と考えられる。

**Breeding Science** 53 : 271-275 (2003)

## ダイズ種子からの簡易 DNA 抽出法

紙谷元一<sup>1)</sup>・木口忠彦<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup>北海道立中央農業試験場, (<sup>2)</sup>北海道立北見農業試験場)

ダイズ種子の子葉中央部に直径 2.5 mm のドリルで穴をあけ、得られる粉末を DNA 抽出用試料とした。種子の中心まで、子葉 1 枚分で 10~30 mg の試料が得られる。試料を 1.5 ml のテストチューブに入れ、16  $\mu\text{g}$  のプロテナーゼ-K を含む SDS 溶液 (10 mM Tris-HCl (pH 7.8), 5 mM EDTA, 0.5 % SDS, 0.5 % NP-40, 0.5 % Tween-20) 0.2 ml を加え、55 °C で 20 分間加温した。等量のフェノール/クロロホルム/イソアミルアルコール (25 : 24 : 1) を加え除タンパク後、上清を新たなテストチューブに移し等量のイソプロパノールを加え沈殿を回収した。15.3~27.4 mg の種子粉末試料から抽出された DNA 量は 32.9~50.0  $\mu\text{g}$  で、

DNA 抽出液の  $OD_{260}/OD_{280}$  比は 1.74~1.81 であり、アガロースゲルの電気泳動の結果でも高分子の DNA が得られた。抽出した DNA は 30 ng/ $\mu\text{l}$  に濃度を調整し、1  $\mu\text{l}$  を PCR に供試した。SSR プライマーによる増幅では品種に固有の断片が増幅され、葉から CTAB 法で抽出した DNA と増幅の結果が一致した。ドリルで試料を採取後の種子は圃場に播種が可能であり、正常な生育を示した。本法は操作が迅速かつ簡便で、播種前に種子の遺伝子型を検定できるため、DNA マーカー選抜等に利用が期待できる。

**Breeding Science** 53 : 277-279 (2003)