

ナタネの低グルコシノレート個体選抜のための簡易迅速な検定法

石田正彦^{1,3)}・高畑義人²⁾・海妻矩彦²⁾

(¹⁾東北農業研究センター, ²⁾岩手大学・農学部, ³⁾現:野菜茶業研究所)

ナタネの種子グルコシノレート含量と播種後3日目までの発芽子葉に含まれるグルコシノレート含量との差は小さかった。そこで、播種後2-3日目の発芽子葉に含まれるグルコシノレートからグルコースを遊離させ、グルコース測定試薬‘グルコースCII-テストワコー’を添加して比色することで、種子1粒レベルでグルコシノレート含量を簡易迅速に評価する検定法を開発した。グルコシノレート含量が異なる3品種の発芽子葉を供試し、個体別に簡易法とHPLC法でそれぞれ測定したところ、簡易法によるグルコース測定値はHPLC法によるグルコシノレート値と類似した分布傾向を示し、低グルコシノレート個体にお

けるグルコース値は高グルコシノレート個体に比べて明らかに低かった。さらに、グルコシノレート含量が異なる30品種の発芽子葉と種子を供試し、簡易検定法によるグルコース含量とHPLC法によるグルコシノレート含量との関係を調査した。その結果、両測定値間で高い正の相関関係($r=0.825$)が認められ、本法の精度が高いことが確認された。本検定法は操作が簡便であり、種子1粒レベルでグルコシノレート含量を評価することが可能であることから、 F_2 世代でナタネの低グルコシノレート個体を選抜することが可能である。

Breeding Science 53: 291-296 (2003)

Inter-simple sequence repeats (ISSRs) を利用したサツマイモと近縁野生種の遺伝解析

胡景杰¹⁾・中谷誠²⁾・Antonio G. Lalusin³⁾・蔵之内利和²⁾・藤村達人⁴⁾

(¹⁾筑波大学大学院・農学研究科, ²⁾作物研究所, ³⁾筑波大学大学院・生命環境科学研究科, ⁴⁾筑波大学・農林工学系)

サツマイモと近縁野生種の遺伝子マーカーを作出する上で、inter-simple sequence repeats (ISSRs) を利用したPCRマーカーの有用性を評価した。ISSRはsimple sequence repeats (SSRs)モチーフをPCRプライマーとして用いて増幅し、SSR間の多型を検出するものである。100個のSSRプライマーを利用して、24個について増幅バンドが得られ、その反応系を最適化した。これらの中で、2塩基反復のSSRは3'側ないし5'側に1~数塩基アンカー配列が付加されたものであった。3, 4ないし5塩基反復のSSRの場合にはアンカー配列を付加しないものであった。多型性に富む8個のプライマーを利用して、サツマイモおよびその近縁野生種の34種のアクセッションの類縁性を調査した。これらのISSRマーカーは非常に多型性に富んでいた。サツマイモ

に属するアクセッションは各々由来した地域ごとにクラスターを形成した。サツマイモ交雑後代のpseudo-test cross集団の中でISSRマーカーを利用して遺伝様式を調べた。22のSSRプライマーで70の再現性のある多型性を示すISSRマーカーとして利用でき、メンデル遺伝を示すことがわかった。これらの70マーカーの中で単式の遺伝を示すものが70%、複式の遺伝を示すものが15.7%であった。2個の単式の遺伝を示すマーカー間で一組の連鎖を見出した。本マーカーが、サツマイモと近縁野生種の分類や、サツマイモの連鎖地図の構築に便利に利用できるものであることがわかった。

Breeding Science 53: 297-304 (2003)

多段階収量選抜における過去情報利用のための逆分散重み付け法の適用範囲

石井卓朗^{1,3)}・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, ³⁾現:茨城県農業総合センター・生物工学研究所)

多段階収量選抜においては、当該選抜段階(年次)の収量データだけではなく、それ以前の選抜段階の収量データ(過去情報)をも利用して供試系統の収量性を評価することは、選抜効率の向上を図るうえで極めて重要である。各段階の選抜は、当該年

次およびそれ以前の収量データの平均値に基づいて行われるが、この場合の平均値の計算方法としては、3種類の重み付け方法、すなわち、当該年次およびそれ以前の収量データをそれぞれの年次の誤差分散の逆数によって重み付ける方法(IV)、各年次

に配分された圃場面積によって重み付ける方法 (FA) および各年次のデータを重み付けせずに等しく扱う方法 (EQ) が考えられる。これらの3方法の中で、IV が理論的には最も優れるが、その計算に必要な収量の計測誤差分散 (V) と遺伝子型×年次の交互作用分散 (I) が正確に推定し難いという理由で、これまでは一般的に用いられてこなかった。本報では、有限供試系統集団における上記3つの重み付け方法の効率を、優良系統が獲得される成功確率を指標として、モンテカルロ・シミュレーションによって比較した。その結果、 V と I の推定値がかなり不正確な場

合においても、IV は他の重み付け方法よりも優れていることが示された。IV の計算には余分な労力や特別な装置を必要としないため、選抜を行うにあたっては、各年次で得られた収量データから V と I を推定し、IV を用いて行うことが望ましい。このような方法で過去情報を利用した多段階選抜は、全ての供試系統を同じ年数にわたって収量計測して行う非段階的選抜よりも有利である。

Breeding Science 53: 305-312 (2003)

放射線照射により作出した耐塩性水稻系統の選抜とその特性

In Sok Lee¹⁾ · Dong Sub Kim¹⁾ · Sang Jae Lee¹⁾ · Hi Sup Song¹⁾ · Yong Pyo Lim²⁾ · Young Il Lee¹⁾

(¹⁾韓国原子力研究所, ²⁾忠南大学校)

放射線照射による突然変異誘発と組織培養を併用し、耐塩性について水稻の育種素材を効率的に作出する育種法を試みた。水稻品種 Dongjinbyeo の玄米由来のカルスを作出し、⁶⁰Co 由来の γ 線を 0, 30, 50, 70, 90 Gy 照射した。その後、細断したカルスを 1.5% NaCl を含んだ N_6 培地で 72 時間養成し、耐塩性を備えたカルスを選抜する課程を 3 回繰り返した。こうして得られた M_3 世代 (5,000 系統) の 3 葉期苗を 0.75% の NaCl 水溶液に 3 週間浸し、350 系統を選抜した。さらに、これらの M_3 系統を海岸の塩類蓄積土壌 (10~14 mS) で栽培試験に供試し、最終的に 40 系統を選抜した。特に、2 系統 (18-1, 50-1) は塩類蓄積土壌において原品種 (Dongjinbyeo) より優れた草丈、穂長、茎数、穎花数そして収量を示した。これらの耐塩性系統について DNA レ

ベルでの多様性を明らかにするため、30 種類のランダムプライマーを用いて RAPD 解析を試みた。その結果、2つの RAPD プライマー (OPE-15, OPF-08) が耐塩性系統 (18-1, 50-1) に特異的な RAPD 断片を示した。OPF-08 をプローブに用いたサザン解析により、耐塩性系統 (18-1, 50-1) における塩基配列の相同性が確認された。さらに、OPF-08 を用いたノーザン解析により 1% NaCl 水溶液に 24 時間浸した耐塩性系統の発現量が感受性系統よりも高いことを見いだした。従って、これらの耐塩性系統は今後の耐塩性品種の育成において有益な育種素材として期待される。

Breeding Science 53: 313-318 (2003)

マカロニコムギにおける準同質系統の農業形質

Harouna I. Amadou · Pantouses J. Kaltsikes · Penelope J. Bebeli

(Department of Plant Breeding and Biometry, Agricultural University of Athens, Greece)

本研究ではマカロニコムギの長穎 (P)、穎毛 (Hg)、黒色穎 (Bg)、非帯白性 (W_f^1) および紫稈 (Pc) 遺伝子の効果について、それらの準同質系統の 18 農業形質を調査した。品種 LD222 とそれに 10 回戻し交配して得た 6 系統の準同質系統 (NILs) を用いた。調査は 2 年間にわたり、アテネ農科大学の研究圃場で実施した。 P 、 W_f^1 および Pc 遺伝子についての準同質系統はそれぞれ 14, 7, 4 形質に関して LD222 に比べ有意差があった。これらの遺伝子は草丈には影響しなかったが、粒収量には逆効果が認

められた。 P 遺伝子は出穂遅延、穂軸長の増加および 100 粒重に関与したが、収量と収穫指数は低下した。統計的に有意でなかったが、 W_f^1 および Pc の両遺伝子は 100 粒重、穂あたり粒重および分けつ数の低下を伴い、低収性を示した。一方、LD222 の遺伝的背景で、 Bg と Hg 遺伝子はいずれも調査された実用形質にほとんど影響しなかった。

Breeding Science 53: 319-324 (2003)

キャベツにおける早生 F₁ 雑種品種の特徴付け

田中紀史・新倉 聡

(株)トーホク・清原育種農場)

キャベツは連続的な栄養生長の途中で結球現象を経て収穫される野菜であるため、その収穫物は収穫前の形質（発育形質）に大きく影響されることが考えられる。本研究では、6市販 F₁ 雑種品種ならびに、7近交系統のダイアレル交配から得られた正逆両交雑を併せた 21 F₁ 雑種の、計 27 F₁ 雑種を用いて、キャベツの早生品種の特徴付けを行った。我々は、まず、結球部が一定の球重に到達する定植後日数（Head-maturing period: HMP）を評価値として、全 F₁ 雑種について、日本で最も市場価値が高い球重 1250 g の HMP（HMP1250）を算出した。HMP1250 は 60 日から 88 日までの変異が認められ、各 F₁ 雑種の HMP1250 は経験的

に捉えられる早晩性とよく一致した。これより、我々は HMP1250 がキャベツの早晩性を定義する妥当な評価法と考えた。次に、HMP1250 と発育形質との相関分析から、HMP1250 は外葉の葉形（葉幅／葉長）、結球葉位（結球の開始する葉位）、外葉の大きさと相関が高いことが明らかとなった。これより、キャベツの早晩性はこれらの発育形質に分けて考えられることが示唆された。すなわち、早生性を有する F₁ 雑種品種は、低い葉位から葉幅の広い葉形に変化し、結球葉位が低く、葉が大きいという発育形質の特性を示す品種であることが明らかとなった。

Breeding Science 53: 325-333 (2003)

栽培サイズと半野生サイズの交雑組合せ由来の組換え型自殖系統における AFLP-SSR 高密度連鎖地図の作成

Pilson Choi^{1,4)}・間野吉郎^{1,5)}・石川篤子^{1,2)}・小田島 雅^{3,6)}・梅沢泰史^{3,7)}・藤村達人³⁾・高畑義人²⁾・小松田隆夫¹⁾

¹⁾農業生物資源研究所, ²⁾岩手大学・農学部, ³⁾筑波大学・農林学系, ⁴⁾現: Eugentech, Korea Research Institute of Bioscience & Biotechnology, ⁵⁾現: 畜産草地研究所, ⁶⁾現: 岩手生物工学研究センター, ⁷⁾現: 理化学研究所・筑波研究所)

不定胚形成能が異なるサイズ栽培種毛振と半野生サイズ秣食豆交 502 の交雑集団を用いて連鎖地図を作成した。マッピング集団には F₁₁ 世代の組換え型自殖系統合計 117 系統を用い、515 の AFLP と 85 の SSR マーカーを用いて 30 連鎖群からなる 2,089cM の連鎖地図を作成した。AFLP 解析は、短期間で手頃な価格で解析できる小型ゲルと銀染色による簡易 AFLP 法を用いた。本研究で得られた連鎖地図とすでに報告されている連鎖地

図とを比較したところ、1) 多型の頻度は栽培種間の頻度と同じであり、2) 栽培種と半野生型の連鎖地図の長さは栽培種と野生種のそれと比較して 13% 短かった。本研究で得られた高密度連鎖地図は、半野生サイズの持つ質的形質や量的形質のマッピングに役立つ。

Breeding Science 53: 335-344 (2003)

アジア栽培イネ (*Oryza sativa* L.) および近縁野生種 (*O. rufipogon* Griff.) の花器形質の変異

宇賀優作^{1,2,4)}・福田善通²⁾・大澤 良³⁾・藤村達人¹⁾

¹⁾筑波大学・農林工学系, ²⁾国際イネ研究所, ³⁾筑波大学・農林学系, ⁴⁾現: 農業生物資源研究所)

アジアイネの花器形質の種間および種内変異を明らかにするため、栽培イネ (*Oryza sativa* L.) 128 品種（インド型 72, 日本型 56）と近縁野生種 (*O. rufipogon* Griff.) 53 系統（多年生型 32, 一年生型 21）を用いて、雌蕊、雄蕊および糊に関連する 11 の形質を調査した。野生イネにおける多年生と一年生、栽培イネと野生イネ、栽培イネにおけるインド型と日本型について、それぞれの種間および種内変異の差異を検討した。その結果、一年生野生イネは、多年生よりも柱頭長および葯長が小さく、一年生

が多年生よりも他殖率が低い特徴と対応していた。栽培イネは、野生イネに比べ、柱頭露出程度および柱頭長、葯長が小さかったが、外内穎幅・厚は大きく、栽培イネの自殖性や種子生産性が野生イネよりも高いことに深く関わっていると考えられる。栽培種内では、インド型は日本型に比べ、柱頭や糊が細長い傾向が認められたが、野生イネと栽培イネ間の差ほど大きな違いはなかった。このことから、栽培イネの花器形質の変異とインド型と日本型の品種分化との間にはほとんど関係がないと考えら

れる。以上の結果、花器形質の種間および種内変異の幅がそれぞれ異なることを明らかにすることができた。

Breeding Science 53: 345-352 (2003)

ソルガムの花芽分化を制御する温度感応遺伝子の同定

樽本 勲¹⁾・梁瀬雅則¹⁾・岩原洋子¹⁾・久住洋平¹⁾・森川利信¹⁾・春日重光²⁾

(¹⁾大阪府立大学大学院・農学生命科学研究科, ²⁾長野県畜産試験場)

初期生育時夜間の低温 (20°C 以下) により花芽分化が促進されるソルガム夜低温要求型品種に対して想定されていた花芽分化に関与する温度感応遺伝子の同定を試みた。日長・温度中立型品種の 390 と大紅カク, 夜低温要求型品種の Regs. Hegari と MS175, F₁ 品種のヒロミドリ (390 × Regs. Hegari) とナツイブキ (MS175 × 大紅カク), およびヒロミドリとナツイブキの F₂, F₃, BC₁F₁ を供試し, 夜低温要求性が満たされない圃場条件下, すなわち播種後 40 日間は 13 時間日長以上の長日で, かつ夜間最低気温 20°C 以上となる 7 月上旬に大阪府立大学圃場に播種・栽培し, 個体別に止葉抽出日を調査した。F₁ 品種ヒロミドリとナツイブキは, 夜低温要求型品種 Regs. Hegari や MS175 と同様に夜低温要求性が満たされない条件下 (夜間最低気温 20°C 以上)

で止葉抽出日が遅延して晩生となったことから, この高温下での晩生化は優性遺伝子によると考えられた。止葉抽出まで日数 (DEFL) についての F₂ 分離は, (早生: 晩生 = 1 : 3) に一致し, 晩生は単一優性遺伝子により支配されることが示された。また F₁ と日長・温度中立型品種との BC₁F₁ では, DEFL に対する分離は (早生: 晩生 = 1 : 1) に一致し, さらに F₁ と夜低温要求型品種との BC₁F₁ では, すべての個体が晩生となり DEFL に分離は見られなかった。これらの結果から, 花芽分化に関与する温度感応遺伝子は単因子優性であり, また初期生育時夜間の低温 (20°C 以下) により花芽分化が促進される夜低温要求性を示す遺伝子型に *TT* を付与した。

Breeding Science 53: 353-357 (2003)

Bacillus thuringiensis 由来改良 δ -endotoxin 遺伝子の導入による鱗翅目昆虫高度耐性キクの作出

篠山治恵¹⁾・望月 淳²⁾・駒野雅保¹⁾・野村幸雄¹⁾・永井輝行¹⁾

(¹⁾福井県農業試験場, ²⁾農業環境技術研究所)

キクは日本において, 生産量・生産額ともに第 1 位を誇る重要な花卉品目であるが, 農薬の散布回数が多いため, 生産コストがかかり, 生産者の健康や環境への負荷が大きい品目でもある。前報において, 鱗翅目昆虫に殺虫性を示す土壌細菌 *Bacillus thuringiensis* 由来の delta-endotoxin 遺伝子 (*cryIAb*) を遺伝子組換え技術によってキクに導入したところ, 幼虫の発育遅延効果と食害抑制効果を持つ組換えキク (Bt キク) の作出に成功した。今回は, 殺虫性を高めるため, *cryIAb* 遺伝子の塩基配列をキク科植物で使用頻度の高いコドンに置き換えて設計し, 人工合成した改良 *cryIAb* (改良 Bt) 遺伝子を遺伝子組換え技術によってキクに導入し, 強い耐虫性を持つ組換えキクの作出を試みた。改良 Bt 遺伝子を含むベクターを持つ *Agrobacterium* を用いて形質転換を行ったところ, 3,618 葉片から, 317 個の植物体が再分化

し, 全ての個体に導入遺伝子の存在が確認された。さらに, ノーザンブロット分析では, 改良 Bt 遺伝子を有する組換えキク (改良 Bt キク) では, 1.8 kbp にはっきりとしたバンドが検出されたが, Bt キクでは degradation を起こしていた。Bt キクおよび改良 Bt キクよりそれぞれ無作為に 20 個体を抽出し, ウェスタンブロット分析を行った。Bt キクでは 56 kDa, 改良 Bt キクでは 58 kDa のバンドが検出された。オオタバコガ初齢幼虫を用いて耐虫性検定を行ったところ, 食害面積は非組換え体 (91.1%), Bt キク (10.3%) に対し, 改良 Bt キクでは 0.8% であり, しかも供試したオオタバコガ幼虫は全て初齢のまま死亡するという強い耐虫性を持った組換えキクの作出に成功した。

Breeding Science 53: 359-367 (2003)