

ユリ園芸種における SDR 由来の 2n 花粉形成

Ki-Byung Lim¹⁾・Tsai-Mu Shen²⁾・Rodrigo Barba-Gonzalez³⁾・M.S.Ramanna⁴⁾・Jaap M.Van Tuyl³⁾

¹⁾Genomics Division, National Institute of Agricultural Biotechnology (NIAB), ²⁾Dept. of Horticulture, National Chiayi University,

³⁾BU Biodiversity and Breeding, Plant Research International, ⁴⁾Laboratory of Plant Breeding, Wageningen University)

ユリの 2n 花粉形成機構について分析するため、アジアティックハイブリッド ‘Enchantment’ と *Lilium pumilum* の節内種間雑種を用いた。本種間雑種 (2n = 2x = 24) では、個体毎に 2n 花粉形成率が異なった。減数分裂第 1 分裂中期の染色体対合および中期から後期への染色体移動は正常であったが、第 2 分裂での復旧核形成 (SDR) によって、2n 花粉が生じていることが分かっ

た。雑種の高い花粉稔性は、減数分裂の第 1 分裂中期における高率な二価染色体形成 (11.9II) と、染色体の不分離や分断化などの減数分裂異常が相まって生じたと思われる。雑種を交配母本に用いたところ後代が得られた。ユリ育種における 2n 花粉の重要性について考察した。

Breeding Science 54: 13-18 (2004)

陸稲関東 72 号のイネ縞葉枯病抵抗性に関する QTL 解析

前田英郎¹⁾・杉澤 武^{1,2)}・根本 博^{1,3)}・春原嘉弘¹⁾

¹⁾近畿中国四国農業研究センター, ²⁾現: 種苗管理センター西日本農場, ³⁾現: 作物研究所)

日本陸稲に由来する縞葉枯病抵抗性に関する量的遺伝子座 (QTL) 解析を感受性品種「日本晴」と抵抗性系統の「陸稲関東 72 号」の F₂ 集団を用いて行った。縞葉枯病抵抗性検定には網室検定における感染率 (%) と幼苗検定における発病指数の両方を調査し、それぞれ QTL 解析を行った。その結果、感染率の解析からは第 11 染色体に作用力の大きな QTL が検出され、発病指数の解析からは第 2、および第 11 染色体に QTL が検出された。Stva についてはこれまで第 6 染色体に座乗していると報告されていたが、本研究においては第 6 染色体に QTL は検出されなかった。検出された QTL の存在を確認するために F₂ 集団から第 11 染色体の QTL 領域が陸稲型ホモ型で第 2 染色体の QTL 領域がヘテロ型となっている個体 (NR23) および第 2 染色体の QTL 領域が陸稲型ホモ型で第 11 染色体の QTL 領域がヘテロ型となっている個体 (NR8) を選抜した。これらの個体の自殖後代を用いて QTL 解析を行った結果、第 2 および第 11 染色体上に

抵抗性に関与する QTL が存在していることが確認できた。陸稲関東 72 号から抵抗性を導入した水稲系統「中国 40 号」および「中国 41 号」について置換染色体断片の解析を行った結果、第 2、11 染色体の QTL 領域は陸稲品種の染色体断片に置換されていることが明らかとなった。第 11 染色体領域の QTL はインド型品種由来の縞葉枯病抵抗性遺伝子である *Stvb-i* と同じ領域に検出されていることから陸稲由来の抵抗性遺伝子 *Stvb* に相当すると考えられた。しかしながら、本研究において検出された QTL はこれまでの *Stvb* に関する報告とは異なり、感染率に対して非常に強い作用力を示すことが推察された。第 2 染色体長腕に検出された抵抗性関連 QTL は感染率には関与せず、第 11 染色体の QTL の存在下において感染後の病徴の進行を抑制する作用を持つ可能性が示唆された。

Breeding Science 54: 19-26 (2004)

ハスモンヨトウ (*Spodoptera litura*) 抵抗性ダイズ品種の抗生的効果とその遺伝

小松邦彦¹⁾・奥田しおり¹⁾・高橋将一¹⁾・松永亮一^{1,2)}

¹⁾九州沖縄農業研究センター, ²⁾現: 国際農林水産業研究センター)

ハスモンヨトウ抵抗性ダイズ品種として「ヒメシラズ」が知られているが、その抵抗性の遺伝的な解析は進んでいない。そこで、「ヒメシラズ」のハスモンヨトウ幼虫に対する抗生的効果に着目して簡便な評価法を開発し、さらに感受性品種「フクユタ

カ」と「ヒメシラズ」の交配に由来する F₂ 集団を用いてその遺伝的特性を調査した。抗生的効果は、ハスモンヨトウの 6 齢幼虫を蛹になるまでサンプル葉で飼育し、その期間と蛹重を測定して評価した。幼虫の雌雄による誤差は (蛹重 / 6 齢期間) を指数

(SII; Standardized Insect-growth Index) とすることで補正した。この評価法で「ヒメシラズ」、すでに遺伝的な解析がなされている抵抗性品種「ソウデンダイズ」および感受性品種「フクユタカ」の抗生的効果を調査したところ、全ての品種間に有意な差が認められた。次に「フクユタカ」と「ヒメシラズ」の F₂, 143 個体を同様の方法で評価した。抗生的効果の広義の遺伝率は 71.3% と算出された。また、その頻度分布から、抗生的効果の遺伝的制御には効果の大きな劣性遺伝子が関連していると考えられた。さらに、この F₂ 集団に関して、「ソウデンダイズ」のオオタバコ

が抵抗性に関する QTL に連鎖する SSR マーカー、Satt220 の遺伝子型と抗生的効果の関係を調査したところ遺伝子型間に有意な差が認められた。「ソウデンダイズ」においては当該 QTL に部分劣性で効果の高い遺伝子が座乗していることが知られており、「ヒメシラズ」において抗生的効果との関連が示唆された劣性遺伝子は既知の「ソウデンダイズ」の遺伝子と同じである可能性が高いと考えられた。

Breeding Science 54: 27-32 (2004)

トウガラシのオレンジ果実色はカプサンチン-カプソルビン合成遺伝子の欠失による

郎 亜琴¹⁾・柳川諭史²⁾・笹沼恒男¹⁾・笹隈哲夫¹⁾

(¹⁾横浜市立大学・木原生物学研究所, (²⁾㈱トキタ種苗・研究農場)

トウガラシ (*Capsicum annuum* L.) の育種にとって、果実色は重要な課題である。いろいろな果実色系統を任意に選択するための DNA マーカー選抜法の開発を目的の第一歩として、われわれはカロテノイド合成に関与する 6 種の遺伝子に関する分子遺伝学的解析を行った。オレンジ色果実の msGTY-1 系統と赤色果実の 277long 間での F₂ 分離集団を用いて、これらの関連遺伝子断片の PCR 多型分析を行った。カプサンチン-カプソルビン合成酵素 (CCS) 遺伝子に関しては明確な PCR 多型の分離が見られたが、他の遺伝子断片では果実色の分離と一致する多型は見られなかった。CCS 遺伝子は、ゲノミック・サザンハイブリダイゼーション試験でも RFLP が見られた。同遺伝子の構造を調

べたところ、オレンジ色個体では 5' 端の欠失が見つかり、また、RT-PCR 試験により、この遺伝子はオレンジ色個体では発現していないことが判明した。一方、完熟果皮のカロテノイド成分を薄層クロマトグラフィー法で解析したところ、赤色果実では主要成分であるカプサンチンが合成されていたが、オレンジ果実ではそのスポットが無かった。この違いは F₂ 集団における果実色分離、CCS 多型分離と完全に一致していた。以上の研究から、トウガラシのオレンジ果実色は、CCS 遺伝子の欠失により、機能ある遺伝子発現が行われず、カプサンチンが合成されないためであることが示唆された。

Breeding Science 54: 33-39 (2004)

野生オオムギにおける β-アミラーゼの変異

張 文勝^{1,2)}・金子隆史³⁾・武田和義¹⁾

(¹⁾岡山大学・資源生物科学研究所, (²⁾中国科学院・石家荘農業現代化研究所, (³⁾サッポロビール㈱バイオリソース開発研究所)

野生オオムギ 19 種、27 分類群に属する 337 系統について穀粒の β-アミラーゼの等電点電気泳動像 (IEF) と熱安定性の多型を解析した。栽培オオムギの祖先種とされる *Hordeum vulgare* ssp. *spontaneum* の IEF パターンは他の野生オオムギとは極端に異なっていた。*H. vulgare* ssp. *vulgare* で従来知られていた I 型と II 型の IEF パターンの他に ssp. *spontaneum* では Ia 型と III 型の 2 つが新たに見出された。*H. vulgare* ssp. *spontaneum* 以外の野生種では 21 の異なる IEF パターンが見出された。野生オオムギでは栽培

オオムギで見出される A (高)、B (中)、C (低) の熱安定性タイプの他に、A より高いものや C より低いもの、あるいは A と B、B と C の中間型などが認められた。*H. arizonicum*, *H. jubatum*, *H. depressum* および *H. brachyantherum* のいくつかの系統は A 型よりも高い熱安定性を示した。これらの事実からオオムギ属における β-アミラーゼ遺伝子の系統進化について考察した。

Breeding Science 54: 41-49 (2004)

キク [*Dendranthema grandiflorum* (Ramat.) Kitamura] におけるキク・クロロフィル a/b 結合タンパク質 (cab) 遺伝子のプロモーターを用いた外来遺伝子の効率的な発現

間 竜太郎¹⁾・大平和幸^{2,4)}・田中良和²⁾・吉田和哉³⁾・岸本早苗¹⁾・柴田道夫¹⁾・大宮あけみ¹⁾

¹⁾花き研究所, ²⁾サントリー・先進技術応用研究所, ³⁾奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科,

⁴⁾現: 奈良先端科学技術大学院大学・知的財産本部)

キク属野生種であるリュウノウギク (*Dendranthema japonicum* Makino) から単離したクロロフィル a/b 結合タンパク質 (cab) 遺伝子のプロモーターが, キク [*Dendranthema grandiflorum* (Ramat.) Kitamura] において外来遺伝子を効率的に発現させることを明らかにした. β -グルクロニダーゼ遺伝子 (*gus*) の上流にキクの cab プロモーター (35S/*gus*) あるいはカリフラワーモザイクウイルスの 35S プロモーター (Cab/*gus*) を連結したキメラ遺伝子を 'セイマリン', '秀芳の宝' 等 8 系統のキクに導入したところ, 35S/*gus* が導入されたと推定される 115 個体と Cab/*gus* が導入さ

れたと推定される 185 個体の合計 300 個体を得た. 葉の GUS 活性を調査したところ, 35S/*gus* が導入されたと推定される個体の 9.6% (11/115), Cab/*gus* が導入されたと推定される個体の 24.3% (45/185) が GUS 活性を有していた. なお, サザン分析の結果 GUS 活性を示さなかった個体にも GUS 遺伝子が導入されていることが明らかとなった. これらの結果から, リュウノウギクの Cab プロモーターは 35S プロモーターに比べて, キクの葉において外来遺伝子を発現させる能力が高いことが示された.

Breeding Science 54: 51-58 (2004)

Nicotiana tabacum と *N. suaveolens* の種間雑種に現れる雑種致死の過程で観察されたアポトーシス様細胞死

手塚孝弘・丸橋 亘

(茨城大学・農学部)

Nicotiana tabacum × *N. suaveolens* の交雑組合せは試験管内受粉と胚珠培養の適用によって雑種実生を得ることができるが, 28°C 条件で育成すると幼苗期に致死性が現れ枯死する. この雑種実生に現れる致死症状の特徴は, 初期症状として胚軸と根が褐変し, その後全身が褐変して枯死するというものであった. 試験管内受粉と胚珠培養の適用によって, 合計 117 個体の雑種実生を作出した. 雑種実生に現れる致死性は 36°C 条件で抑制することができるので, 28°C 条件での発芽直後に実生を 36°C 条件へ移し育成した. 36°C 条件で維持している実生を 28°C 条件へ移したところ, 実生の生育が停止し致死症状が現れた. この致死の過程ではクロマチンの凝縮, 核の断片化, DNA のヌクレオソ-

ム単位での断片化といったアポトーシスに特徴的な症状が観察された. 一方, 36°C 条件で致死性を回避している雑種実生では, これらのアポトーシスに特徴的な症状は認められなかった. 本交雑組合せで認められた致死症状およびアポトーシスを特徴付ける症状は逆交雑 *N. suaveolens* × *N. tabacum* でも同様に観察されていることから, 本交雑組合せに現れる雑種致死ならびにアポトーシス様細胞死は核ゲノムの相互作用に起因するものであり, 細胞質因子は関与していないことが示唆された. さらに, 本交雑組合せにおけるアポトーシス様細胞死の進行は初めに茎と根で開始され, 続いて葉で開始されていた.

Breeding Science 54: 59-66 (2004)

Oryza glaberrima における広範囲な遺伝的変異による *GSTZ1* 遺伝子の破壊

土屋徳司・中村郁郎

(千葉大学大学院・自然科学研究科)

アジア栽培イネ (*O. sativa*) の全ゲノムの塩基配列が決定されようとしている現在, *O. sativa* とその類縁種との比較ゲノム研究は, 遺伝子の機能を明らかにする手法として重要なものとなっている. イネには 2 個の zeta クラス glutathione S transferase (GSTZ) 遺伝子があり, チロシンやフェニルアラニンの代謝系

に関与していると考えられる. イネの 2 つの *GSTZ* 遺伝子 (*OsGSTZ1* と *OsGSTZ2*) は, 第 12 染色体上に直列に整列して座乗している. 上流の *OsGSTZ1* 遺伝子は構成的に発現しているのに対し, 下流の *OsGSTZ2* 遺伝子はストレスにより誘導されることが明らかになっている. 本研究では, アフリカの栽培イネであ

る *O. glaberrima* と野生種である *O. longistaminata* の *GSTZ* 遺伝子の発現を RT-PCR 法により解析した。その結果、*O. longistaminata* では *GSTZ1* と *GSTZ2* の両方が発現していたが、*O. glaberrima* では下流の *GSTZ2* のみが発現している事が明らかになった。そこでゲノムウォーキングを行う事により *O. glaberrima* の *GSTZ1* 遺伝子座のゲノム配列を解析した。*O. sativa* と *O. glaberrima* のゲノム配列を比較したところ *OgGSTZ1* 遺伝子の第 8 イントロンより上流の約 2 kb の塩基配列が *O. sativa* での *OsGSTZ1* 遺伝子から約 1 Mb 離れた上流に位置する BAC クローンの塩基配列と逆向きで高い相同性が認められた。この結果は広範囲な遺伝的

再構成または逆位により *O. glaberrima* の *GSTZ1* 遺伝子 (*OgGSTZ1*) が破壊されている事を示唆している。この遺伝的な変異は、*O. glaberrima* の祖先種である *O. barthii* でも確認された。*O. sativa* と *O. glaberrima* の間には種子収量、一年生/多年性など、葉から種子への窒素転流に関わる形質に差異があることが知られているので、*O. glaberrima* の *OgGSTZ1* 遺伝子が欠損していることは、*GSTZ* 遺伝子の機能を解明するために興味深い知見であると考えられる。

Breeding Science 54: 67-73 (2004)

シイタケの遺伝マーカーのスクリーニングにおける遠縁交雑株使用の評価

宮崎和弘¹⁾・根田 仁²⁾

(¹⁾森林総合研究所・九州支所, ²⁾森林総合研究所)

シイタケ (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler) のヘテロ接合マーカーのスクリーニングを効率的に行うため、遠縁交雑株使用の有利性について数値的な評価を試みた。シイタケは、日本、中国、アメリカ合衆国などで栽培されている栽培きのこであり、天然分布域は、東南アジア、中国、日本、およびオセアニアにまたがっている。日本産菌株 13 株、パプアニューギニア産菌株 1 株、ニュージーランド産菌株 1 菌株を RAPD で解析し、142 のマーカーによる遺伝距離の測定を行った結果、日本産 13 菌株がひとつのクレイドを形成し、地理的な距離が遺伝距離によく対応していた。日本産野生菌株 (G408) とニュージーランド産野生菌株 (D703) 間で交雑を行い、合計 8 菌株の遠縁交雑株を得た。390

の 10 塩基プライマーでヘテロ接合 RAPD マーカーのスクリーニングを行ったところ、交雑株 MCR14 および MCR15 において最大となる、614 のヘテロ接合マーカーが存在していた。共通する 130 プライマーで比較を行ったところ、遠縁交雑株 MCR14 および MCR15 では 255 のヘテロ接合マーカーが検出されたが、市販菌株 (H600) では 116 のヘテロ接合マーカーしか検出されなかった。日本産菌株とニュージーランド産菌株の間の遠縁交雑株を利用することで、ヘテロ接合マーカーのスクリーニングの効率があがること (市販菌株 H600 との比較において、2.25 倍) が確認された。

Breeding Science 54: 75-78 (2004)

日本の秋まき小麦における赤かび病抵抗性の多様性

西尾善太¹⁾・高田兼則¹⁾・田引 正¹⁾・伊藤美環子¹⁾・竹中重仁¹⁾・桑原達雄¹⁾・入来規雄²⁾・坂 智広³⁾

(¹⁾北海道農業研究センター・畑作研究部, ²⁾北海道農業研究センター・地域基盤部, ³⁾国際農林水産業研究センター)

日本の秋まき小麦 (主として北海道の秋まき小麦) における赤かび病抵抗性の多様性を、赤かび病抵抗性が既知の春まき小麦と開花期を揃えて評価した。赤かび病の接種は、スプリンクラーを 5 分間隔で散水して連続的な降雨条件を作り、各材料の開花期の小花内に孢子懸濁液 (1×10^5 個/ml) を 10 μ l ずつ注入して行った。接種試験は、2 または 3 反復で、圃場条件と、保温するためのビニルハウス条件で行った。発病度は、接種から 21 日後に Ban and Suenaga (2000) の指数に従って、遠観によって調査した。2001 年および 2002 年に、合計で 273 品種および育成系統を検定した。圃場およびビニルハウスにおける赤かび病発病度の相関係数は、2001 年が 0.84 ($n = 70$, $P < 0.01$)、2002 年が 0.72 ($n = 233$, $P < 0.01$) で、2 年とも高かった。年次間の発

病度の相関係数は 0.73 ($n = 30$, $P < 0.01$) であった。以上より、本検定法によって圃場条件でも十分な精度の結果が得られた。発病度と開花期の相関係数は、0.43 ($n = 273$, $P < 0.01$) であり、開花期が遅い材料の発病度が高い傾向が見られた。供試した材料の中では、中国品種の蘇麦 3 号およびその派生系統が最も低い発病度を示した。北海道の秋まき小麦品種の中では、タクネコムギが西海 165 号と同程度の低い発病度を示した。国内から供試した材料の地域別の赤かび病発病度は、九州の材料が最も低く、東北の材料が中程度で、北海道の材料は最も高かった。中国以外の海外材料の赤かび病発病度は、いずれも中程度であった。

Breeding Science 54: 79-84 (2004)