

ショウガ科植物遺伝的多様性解析におけるイネ SSR マーカーの RAPD としての利便性

Shakeel Ahmad Jatoi¹⁾・菊池 彰¹⁾・San San Yi²⁾・Khaw Wai Naing²⁾・山中慎介^{1,3)}・渡邊純子¹⁾・渡邊和男¹⁾

(¹⁾筑波大学生命環境科学研究科・遺伝子実験センター,²⁾ミャンマー農業公社・野菜果樹研究開発センター,³⁾農業生物資源研究所・ジーンバンク)

ショウガ科 (*Zingiberaceae*) に属する種は生育環境や表現形質に関して幅広い変異をもち、またそれらの利用法とも併せて多様性に富んでいる。しかしながら、遺伝学的な観点から見た場合、利用可能な分子マーカーが少ないこともあり、種間における系統関係や種内の多様性 (遺伝的多様性) に関する知見は乏しい。本研究ではイネ (*Oryza sativa*) で開発された 12 個のマイクロサテライトマーカーをショウガ科の 3 つの属 (*Zingiber*, *Alpinia* および *Curcuma*) の 14 系統に供試し、科を超えた (*Poaceae* → *Zingiberaceae*) 遠縁種の多様性測定におけるモデル植物由来の分子マーカーの利用の可能性について検討した。供試した 12 マーカーのうち 4 マーカーではまったく増幅産物が認められなかったが、残り 8 マーカーでは計 141 本の増幅バンドが認められ、うち 140 本 (99.5%) が多型を示した。平均バンド数は 1 マー

カーあたり 17.6 本であった。全体的な傾向としてイネで予想されるものより長い断片が増幅された。なかにはイネと同程度の長さのものも得られたが、シーケンス解析の結果、標的となる反復配列は含まれていなかった。しかしながら、安定して多型を示す増幅断片が多数得られたことから、これらを用いた多様性測定を試み多変量解析に供した。全系統から得られた多型データをもとにクラスター分析および主成分分析を行ったところ、両解析において 4 つのグループに大別され、*Curcuma* および *Alpinia* 属の系統がそれぞれ 1 個ずつのグループを、また *Zingiber* 属は残りの 2 グループを構成していた。これらのことは、イネのマイクロサテライトマーカーの、ショウガ科の多様性測定への利用の可能性を示唆している。

Breeding Science 56: 107-111 (2006)

ダイズ β-コングリシニン欠失性に連鎖する分子マーカー

坪倉康隆¹⁾・羽鹿牧太²⁾・原田久也¹⁾

(¹⁾千葉大学・園芸学部,²⁾作物研究所)

ダイズの貯蔵タンパク質である β-コングリシニンは主要なアレルゲンを含み、グリシニンと比較して、含硫アミノ酸含量、ゲル形成能、ゲル強度が低い。そのため β-コングリシニン含量を低下させることがダイズの育種目標の一つとなっている。熊本県天草で発見されたツルマメ QT2 系統は β-コングリシニンの 3 つのサブユニットすべてを欠失しており、この形質は単一の優性遺伝子 *Scg-1* (*Suppressor of β-conglycinin*) により支配されていた。この β-コングリシニン欠失性を戻し交雑によってフクユタカに導入した準同質遺伝子系統 QY7-25 とフクユタカを用いて、β-コングリシニン欠失性に連鎖する DNA マーカーの作出を行った。β-コングリシニンの各サブユニット遺伝子の塩基配列を決定したところ、フクユタカと QY7-25 の間で β サブユニッ

ト遺伝子に 10 カ所の一塩基多型を検出した。この一塩基多型を利用し、フクユタカと QY7-25 を両親とする F₂ 集団 118 個体で β-コングリシニン欠失性との連鎖解析を行ったところ、2 つの β サブユニット遺伝子が β-コングリシニン欠失性と共分離することが明らかとなった。またこの DNA マーカーはフクユタカと QY7-25 間だけでなく、日本の主要なダイズ品種間でも多型を示し、*Scg-1* をダイズに導入する為の実用的な選抜マーカーであることが分かった。さらにこのマーカーを利用して、ミスズダイズと秣食豆公 503 を両親とする F₂ 集団を用いて、*Scg-1* が分子連鎖地図の連鎖群 I に座乗する事を明らかにした。

Breeding Science 56: 113-117 (2006)

ダイズモザイクウィルス (SMV) 外被タンパク質遺伝子導入による SMV 抵抗性形質転換ダイズの作出

古谷規行¹⁾・日高 線²⁾・小坂能尚¹⁾・静川幸明¹⁾・兼松誠司²⁾

(¹⁾京都府農業資源研究センター, ²⁾東北農業研究センター)

ダイズモザイクウィルス (SMV) 弱毒株の外被タンパク質 (CP) 遺伝子とハイグロマシニン耐性遺伝子をダイズ品種 Jack (SMV 感受性) の未熟種子から誘導した不定胚へパーティクルガン法でコートランスフォーメーションした。遺伝子を導入した不定胚をハイグロマシニンを含む液体培地で振とう培養し、ハイグロマシニン抵抗性の不定胚を選抜した。選抜したハイグロマシニン抵抗性不定胚を再分化させ 121 個体の植物体が得られた。そのうち 11 の植物体で CP 遺伝子の導入が確認された。これら植物体の T₁ 世代を SMV 接種検定に供試し病徴観察とエライザ分

析により SMV に対する抵抗性を有する 3 系統の形質転換体ダイズが得られた。3 系統ともノーザンブロット分析で導入遺伝子の転写が確認され、うち 2 系統はウエスタンブロット分析で外被タンパク質の合成が確認された。これら 3 系統の SMV に対する抵抗性は、予め弱毒ウィルスを接種した Jack が SMV に対して示す抵抗性の強さと同程度であり、ウィルス外被タンパク質遺伝子の導入により実用レベルの抵抗性付与に成功したと考えられる。

Breeding Science 56: 119–124 (2006)

バンバラマメ交雑方法の開発

Jira Suwanprasert¹⁾・Theerayut Toojinda²⁾・Peerasak Srinives³⁾・Sontichai Chanprame^{1,3)}

(¹⁾Center for Agricultural Biotechnology, Kasetsart University, ²⁾Rice Gene Discovery Unit, National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, Kasetsart University, ³⁾Department of Agronomy, Kasetsart University)

バンバラマメ (*Vigna subterranea*) は、アフリカを中心とした熱帯地域で栽培されるマメ科作物である。多様な遺伝資源の収集保存が行われているが、交雑成功例がほとんどなく、遺伝学的な研究や交雑育種が行われてこなかった。我々は、これまでに Schenkel (2002) や Massawe ら (2003) によって報告されていた交雑方法をタイにおいて試みたが全く成功しなかったため、形態的に多様な 4 品種を用いて効率の良い交雑方法の開発を試み、23 粒の F₁ 雑種種子の獲得に成功した。交雑の成功は、F₁ 植物の形態によって確認した。実験の結果、交雑の成功には 2 つの要因 (除雄方法と受粉時刻) が重要であることが明らかになっ

た。除雄に関しては、つぼみの竜骨弁を雌蕊や柱頭を傷つけないように切除すれば、開花前日の午後 3 時から 10 時の間に行った除雄時刻の間で、交雑成功率に差は見られなかった。しかし、受粉時刻が交雑の成功率に与える影響は大きく、交雑に成功したのは、蒴が自然に裂開する時刻から約 1 時間の間 (午前 2:30 から 3:30) に受粉を行った場合に限られていた。さらに、種子親に用いる植物の花柄伸長期に受粉を行うと交雑成功率が高いことも明らかになった。

Breeding Science 56: 125–129 (2006)

高分子量および低分子量グルテニン・サブユニットと小麦粉品質の関係

田引 正¹⁾・池口正二郎²⁾・池田達哉³⁾

(¹⁾北海道農業研究センター, ²⁾ホクレン農業総合研究所, ³⁾近畿中国四国農業研究センター)

高分子量および低分子量グルテニンサブユニットの小麦粉品質におよぼす影響を明らかにするため、*Glu-D3* を除く 5 遺伝子座で対立関係がある硬質品種の Grandin (*Glu-A1b*, *Glu-B1c*, *Glu-D1d*, *Glu-A3f*, *Glu-B3h* および *Glu-D3a*) と硬質系統の北見春 57 号 (*Glu-A1a*, *Glu-B1i*, *Glu-D1a*, *Glu-A3c*, *Glu-B3b* および *Glu-D3a*) の交配 F₁ に由来する 59 半数体倍加系統を用いて、グルテニン遺伝子型と小麦粉品質の関係について検討した。その結果、小麦粉の蛋白質含量に対してはどの遺伝子座でも有意な差はな

かったが、*Glu-A1*, *Glu-D1* および *Glu-B3* 座の対立遺伝子座間でグルテン特性および生地物性に有意な差が認められた。*Glu-D1d* は *Glu-D1a* より有意に湿麩量、乾麩量が少なく、グルテンインデックス (GI) が高く、ミキソグラフの生地形成時間 (MD) は長く、生地が強くなる傾向があった。同様に、*Glu-B3b* は *Glu-B3h* より生地が強くなる傾向があり、その程度は *Glu-D1* 座でみられた場合とほぼ同程度であった。この 2 遺伝子座よりも弱い有意な差が *Glu-A1* 座でも認められ、*Glu-A1a* は *Glu-A1b* より生地が

強くなる傾向が見られた。さらに、*Glu-D1d* と *Glu-B3b* には湿麩量、乾麩量、GI および MD に対して、相互作用があり、両方の遺伝子をもつことによりグルテンと生地がさらに強くなった。この結果から、今までに多くの報告がある高分子量グルテニン *Glu-*

D1d 遺伝子の生産物 (5+10) だけでなく低分子量グルテニンである *Glu-B3b* 遺伝子がコードするサブユニットもグルテンおよび生地を強くする作用があることが明らかとなった。

Breeding Science 56: 131–136 (2006)

Capsicum annuum の種内交雑由来半数性倍数体を用いた疫病 (*Phytophthora capsici* Leon.) 抵抗性に関する QTL 解析

杉田 亘¹⁾・山口和典^{1,3)}・木下哲次¹⁾・湯地健一^{1,4)}・杉村幸代^{1,5)}・長田龍太郎^{1,6)}・川崎信二²⁾・轟 篤¹⁾

(¹⁾宮崎県総合農業試験場, (²⁾農業生物資源研究所, (³⁾現:中部農業改良普及センター, (⁴⁾現:児湯農業改良普及センター, (⁵⁾現:宮崎県庁, (⁶⁾現:宮崎県立農業大学校)

疫病 (*Phytophthora capsici* Leon.) 罹病性 ‘K9-11’ (*Capsicum annuum* L.) と疫病抵抗性 ‘AC2258’ (*C. annuum* L.) の F₁ の蒴培養由来の半数性倍数体集団 (n=176) を用い、疫病菌の接種検定を行った。総連鎖グループ長 1100.5 cM の計 16 の連鎖群 (LGs) からなる連鎖地図を用いて、疫病抵抗性に関する QTL 解析を行った。その結果、LG1、LG6 および LG7 の 3 連鎖群に 3 つの QTL が検出された。最も LOD 値の高い QTL *Phyt-1* は LG7 上で検出され、LOD 値 67.02、寄与率 82.7% を示した。最も近傍のマーカーは AFLP マーカー M10E3-6 であった。LG1 上で検出された QTL *Phyt-2* は、LOD 値 2.54、寄与率 6.4% を示した。最も

近傍のマーカーは RAPD マーカー RP13-1 であった。QTL *Phyt-3* は LG6 上で検出され、LOD 値 2.20、寄与率 5.6% を示した。最も近傍のマーカーは AFLP マーカー M9E3-11 であった。2 つのマーカー M10E3-6 と RP13-1 を同時に用いることで、強い抵抗性を持った系統を効率よく選抜できることが確認された。ホモ接合の *Phyt-1* と *Phyt-2* を同時に有することで、疫病抵抗性ピーマン育成の可能性が示唆された。これらの分子マーカーは、抵抗性遺伝資源 ‘AC2258’ を用いたピーマン育種における疫病抵抗性系統のマーカー選抜に有効であると思われる。

Breeding Science 56: 137–145 (2006)

キャベツ (*Brassica oleracea* L.) における早晩性と相関の高い発育形質の遺伝分析

田中紀史・新倉 聡

((株) トーホク・清原育種農場)

キャベツの早晩性に対するヘテロシスの影響の実態を明らかにするために、早晩性と特に相関の高い、結球葉位 (leaf position at which the head formation started: LPH)、外葉の第 5 葉位における葉長 (L5)、第 15 葉位における葉幅 (W15) ならびに葉形指数 (葉幅/葉長) (LSI15) の 4 発育形質について、7 近交系統を用いてダイヤレル分析を行った。LPH は相加効果と平均的優性効果が高く、広義、狭義ともに高い遺伝率を示し、低い方向が

優性となる不完全優性を示した。一方、L5 並びに W15 は平均的優性効果が非常に大きく低い狭義の遺伝率を示し、長い或いは幅広の方向が優性となる超優性を示した。LSI 15 は相加効果が高く、広義、狭義ともに比較的高い遺伝率を示し、不完全優性を示した。以上の結果から、発育形質を考慮したキャベツの早生 F₁ 雑種品種育種の選抜方法について議論した。

Breeding Science 56: 147–153 (2006)

ダイズ品種トヨムスメにおけるダイズシストセンチュウレース 3 に対する抵抗性の QTL 解析

Shameema Akhter Ferdous¹⁾・渡辺啓史^{1,4)}・鈴木 (折原) 千賀²⁾・田中義則³⁾・紙谷元一³⁾・山中直樹⁴⁾・原田久也¹⁾

(¹⁾千葉大学・園芸学部, (²⁾北海道立十勝農業試験場, (³⁾北海道立中央農業試験場, (⁴⁾国際農林水産業研究センター)

ダイズシストセンチュウによる被害はダイズの虫害の中でも経済的に最も甚大なもののひとつである。その被害は抵抗性品

種を用いることにより、最も効果的に低減することが出来る。QTL マッピングは植物の持つ遺伝的に複雑な抵抗性を解析する

のに有効な方法であり、種々のダイズシストセンチュウ抵抗性遺伝資源について QTL 解析を行なうことが必要である。本研究の目的は AFLP 法とバルク法を組み合わせ、トヨムスメが持つ下田不知由来のダイズシストセンチュウレース 3 に対する抵抗性の QTL に強連鎖する DNA マーカーを同定することである。トヨムスメと感受性のツルコガネに由来する 115 系統から成る組換え近交系を用いて、AFLP, RFLP, SSR, RAPD マーカーの遺伝子型を解析して、複合区間マッピング法により、QTL 解析を行なった。2 年間のシスト着生指数のデータに基づき解析し

た結果、連鎖群 G 上の既知の抵抗性遺伝子 *rhg1* に加えて、トヨムスメでは連鎖群 B1 上の AFLP マーカーの近傍に 2 つの QTL, *rhg-t1*, *rhg-t2* が同定された。非対立遺伝子間相互作用を解析したところ、*rhg1* と *rhg-t1* の組み合わせにより、どの単一の遺伝子に比較しても抵抗性が向上することが示唆された。*rhg-1*, *rhg-t1* 近傍の AFLP マーカーを PCR に基づく STS 化に変換することが出来れば、下田不知由来のダイズシストセンチュウ抵抗性のマーカー選抜に用いることが可能である。

Breeding Science 56: 155–163 (2006)

ナシの生果実および果実加工品の DNA 鑑定

山本俊哉¹⁾・木村鉄也²⁾・林 建樹¹⁾・伴 義之²⁾

(¹⁾果樹研究所, (²⁾種苗管理センター)

ナシの生果実および果実加工品について、DNA 鑑定方法を確立した。4 種類の DNA 抽出方法、すなわち改変 CTAB 法および 3 種類の市販 DNA 抽出キット (DNeasy Plant Mini Kit, G2 buffer + Genomic-tip20/G, Nucleon Phytopure Plant DNA Extraction Kit) を検討した。生果実のサンプルでは、検討したすべての抽出方法で、SSR マーカーによる品種の同定が可能な良質のゲノム DNA が抽出できた。その中で、G2 buffer と Genomic-tip20/G を用いた方法が、生果実だけでなく果実加工品でも、最も良好な DNA 抽出結果を示した。乾燥果実のサンプルでは、部分的に分解されたゲノム DNA を単離することができ、供試したすべての SSR マーカーで分析が可能であった。SSR 解析の結果から、乾燥果実の SSR 遺伝子型はセイヨウナシ品種「パートレット」と同一であったことから、品種同定が可能であることが示された。缶詰果実とジュースのサンプルでは、抽出されたゲノム DNA は、

ひどく分解されており、500 bp 以下の長さであった。得られたゲノム DNA は、多コピー遺伝子である rDNA を増幅可能な量と質を持つ DNA であったが、葉緑体 DNA の塩基配列からデザインされたプライマーでは増幅バンドは得られなかった。缶詰果実やジュースから抽出されたゲノム DNA を用いて、15 種類の SSR マーカーで分析を行った結果、150–160 bp 以下の長さの塩基配列をターゲットとする 9 種類の SSR マーカーで、目的の増幅バンドが検出された。一方、それ以上の長さをターゲットとする 6 種類の SSR マーカーでは、目的の増幅バンドが検出されなかった。これらの結果から、150 bp 以下の短いサイズの塩基配列を増幅する SSR マーカーを利用することにより、缶詰果実およびジュースからの DNA 鑑定と品種同定技術を確立できた。

Breeding Science 56: 165–171 (2006)

スペインのオオムギ遺伝資源におけるオオムギ小さび病抵抗性のスクリーニング

Munqez Jamil Yacoub Shtaya¹⁾・Josefina Carmen Sillero²⁾・Diego Rubiales¹⁾

(¹⁾Institute of Sustainable Agriculture, CSIC, Spain, (²⁾CIFA Alameda del Obispo, IFAPA-CICE, Spain)

スペインで保存されている 418 点のオオムギ遺伝資源について、オオムギ小さび病抵抗性の圃場検定を 2002 年から 2003 年の 2 年にわたってスペイン、コルドバで実施し、ルーベでも病斑が確認できない 6 系統を、耐病性の要因を解析するための素材として選定した。このうち 5 系統は、罹病性の“L94”よりも潜伏期間が有意に長く、部分抵抗性をもつ“Vada”と同程度以上の期間であった。環境制御下における接種試験では、すべ

ての系統が“L94”より罹病率が低く、菌のコロニーは小さかった。組織学的な解析の結果、4 系統では宿主細胞の壊死と耐病性には関係がなく、早期に座止するコロニーの割合が高いことによっていた。また、他の 2 系統は過過敏反応に基づく抵抗性を有することが明らかになった。

Breeding Science 56: 173–177 (2006)

Brassica 葉柄抽出物を用いた DNA heteroduplex 切断によるガンマ線照射イネの後代からの突然変異体の選抜

佐藤 豊¹⁾・白澤健太¹⁾・高橋由信¹⁾・西村 実²⁾・西尾 剛¹⁾

(¹⁾東北大学大学院農学研究科, ²⁾農業生物資源研究所放射線育種場)

逆遺伝学的方法による突然変異体の選抜は、遺伝子機能の研究や作物育種に有効な手段である。セロリの heteroduplex 切断酵素を用いた SNP 分析により EMS 処理植物の後代から突然変異体を選抜する TILLING (Targeting Induced Local Lesions in Genomes) が、様々な植物種に応用されてきた。ガンマ線誘発点突然変異は逆遺伝学的方法では見出されていないので、ガンマ線照射イネの集団から突然変異体を選抜することを試みた。野生型 DNA と突然変異 DNA の heteroduplex を *Brassica rapa* の葉柄から抽出したエンドヌクレアーゼで切断し、切断した DNA をアガロースゲル電気泳動で検出した。ガンマ線照射した 2,130 の

M₁ 個体からの M₂ を、1.0~1.5 kb の 25 遺伝子領域において変異を持つ突然変異体のスクリーニングに用いた。その結果、6 つの突然変異体が得られ、ガンマ線による突然変異率は 6,190 kb あたり 1 つと算出された。突然変異のうち 4 つは一塩基置換であり、2 つはそれぞれ 2 塩基および 4 塩基の欠失であった。これらの結果は、ガンマ線での点突然変異率は EMS 処理よりかなり低いが、検出された突然変異のうちノックアウト突然変異の率はガンマ線の方が EMS 処理よりも高いことを示唆する。

Breeding Science 56: 179-183 (2006)

RISA 法を用いた微生物群集構造解析に基づく市販牧草種子の品種識別

池田成志¹⁾・伊藤 希^{1,2)}・江面 浩^{1,2)}・南澤 究³⁾・藤村達人^{1,2)}

(¹⁾筑波大学・遺伝子実験センター, ²⁾筑波大学大学院・生命環境科学研究科, ³⁾東北大学大学院・生命科学研究所)

DNA マーカーの作成が困難である牧草類について、種子表面の微生物群集構造をマーカーとした市販品種の識別の可能性について検討した。日本における代表的な牧草であるイタリアンライグラスおよびチモシーの市販種子の表面から微生物 DNA を抽出し、ribosomal intergenic spacer analysis (RISA) 法を用いて種子表面の微生物群集構造を DNA 多型として評価した。その結果、イタリアンライグラスとチモシー両草種の種子から RISA 法により安定した DNA 多型プロファイルが得られた。また両草種において DNA 多型プロファイルの品種内類似性および品種間

類似性を比較した結果、これらの中で統計的に有意な差が認められ DNA 多型の類似性を指標とした牧草品種の識別の可能性が示唆された。さらに、DNA 多型に基づいたクラスタリング解析によりイタリアンライグラスにおいては 14 品種中 12 品種について、チモシーにおいては 9 品種中 7 品種について他の品種との識別が可能であった。以上の結果から、種子表面上の微生物群集構造に由来する DNA 多型を指標として利用することにより牧草種子の品種識別が可能であることが示された。

Breeding Science 56: 185-188 (2006)

主成分分析に基づく *Brassica rapa* の花器構造変異の定量的評価

Syafaruddin¹⁾・吉岡洋輔¹⁾・堀崎敦史²⁾・新倉 聡²⁾・大澤 良¹⁾

(¹⁾筑波大学大学院・生命環境科学研究科, ²⁾(株) トーホク)

虫媒の他殖性植物では、柱頭と葯の位置関係などの花器構造の変異が、昆虫が訪花したときの花粉移動に影響を与え、植物の受粉効率を決める大きな要因として考えられている。本研究では、*Brassica rapa* の 34 系統を用い、花器構造を主成分分析により定量的に評価し、その種内多様性を明らかにした。2003 年 4 月から 5 月にかけて、1 系統あたり 3 個体から当日開花した主茎の花を採取し、画像解析により雌雄蕊に関わる 8 つの形質と、花弁面積および縦横長を測定した。雌雄蕊に関連する 8 つの形質の測定値に基づく主成分分析を行い、得られた主成分を花器

構造の指標値として用いた。また、特定の主成分得点をもつ花器構造を再描画することにより、各主成分の花器構造に対する意味を視覚化した。主成分分析の結果、第 1 主成分は花器の全体的な大きさを表し、その寄与率は 68% であった。第 2 主成分から第 4 主成分の寄与率は小さかったが、第 2、第 3 主成分が柱頭と葯の位置関係、第 4 主成分が葯の相対的な大きさを表しているものと考えられた。次に測定した全ての形質とこれら 4 主成分について、遺伝子型、個体、小花を要因とした枝分かれ配置の分散分析を行ったところ、全て遺伝子型の効果が有意で

あった。このことから、花器形質および主成分分析によって抽出された花器構造の多様な変異には、遺伝的な要因が働いていることが示唆された。*Brassica rapa*の花器構造は自殖性的な構造から他殖性的な構造まで連続的な変異を含んでおり、それら

が遺伝的に支配されていることを踏まえ、過去の研究で明らかにされた受粉生物学的知見と併せて、*Brassica rapa*の花器構造がF₁採種効率に影響を与えている可能性について考察した。
Breeding Science 56: 189–194 (2006)

ダイズシストセンチュウ抵抗性 QTL, *rhg-t1* の近傍に存在する AFLP マーカーの PCR に基づくマーカーへの変換

Shameema Akhter Ferdous¹⁾・渡辺啓史^{1,4)}・鈴木(折原)千賀²⁾・田中義則³⁾・紙谷元一³⁾・山中直樹⁴⁾・原田久也¹⁾

(¹⁾千葉大学・園芸学部, (²⁾北海道立十勝農業試験場, (³⁾北海道立中央農業試験場, (⁴⁾国際農林水産業研究センター)

ダイズ品種トヨムスメが持つ下田不知由来のダイズシストセンチュウレース3に対する抵抗性遺伝子 *rhg-t1* 近傍の AFLP マーカーをマーカー選抜に利用出来るように、PCR に基づくマーカーに変換することを試みた。トヨムスメとダイズシストセンチュウレース3に感受性の品種ツルコガネの間で多型のあるバンドをポリアクリルアミドゲルから切り出し、クローン化して塩基配列を決定して、新たなプライマーを設計した。このようにして10の AFLP マーカーについて SCAR (sequence characterized amplified region) マーカー化を行なったが、トヨムスメとツルコガネの間で多型を示したのは8つであった。残りの2つにつ

いては、新たなプライマーで BAC ライブラリーのスクリーニングを行い、得られたクローンをを用いて、SCAR 断片近傍の塩基配列を決定してプライマーを再構築し、SSCP (single-strand conformation polymorphism) 法で多型を検出した。これらの PCR に基づくマーカーは一つを除き、全て共優性であった。このようにして新たに作出した DNA マーカーの有効性について、下田不知、ゲデンシラズ1号を含む10の抵抗性品種・系統と11の感受性品種・系統を用いて検討した。
Breeding Science 56: 195–199 (2006)

RAPD と AFLP マーカーにより明らかになった中国のサツマイモ在来品種の遺伝的多様性と遺伝的類縁関係

Xue-Qin He^{1,3)}・Qing-Chang Liu¹⁾・伊敷弘俊²⁾・Hong Zhai¹⁾・Yu-Ping Wang¹⁾

(¹⁾中国農業大学・植物遺伝育種学科, (²⁾国際農林水産業研究センター・沖縄支所, (³⁾内蒙古農業大学・農学科)

中国のサツマイモ在来品種の遺伝的変異を RAPD と AFLP マーカーで調査し、在来品種の遺伝的多様性と遺伝的類縁関係を明らかにした。中国においてサツマイモ (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) が栽培されている代表的な6地域で収集された在来品種100系統と主要栽培品種8系統の遺伝的変異を、218個の RAPD マーカーと245個の AFLP マーカーで分析した。両マーカーにより、中国のサツマイモ在来品種は遺伝的多様性が大きいこと

が明らかになった。また、両マーカーによる平均的遺伝的距離を計算すると、中国のサツマイモ在来品種は主要栽培品種とかなり遠い類縁関係にあることが明らかになった。両マーカーによる主要栽培品種間の類縁関係は、他の方法による既報の類縁関係と一致した。中国のサツマイモ在来品種がサツマイモ育種のために貴重な遺伝資源となることを本研究は示唆した。
Breeding Science 56: 201–207 (2006)

蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーションによるヒガンバナ属種間雑種と自殖後代についての研究

尾川武史・樽本 勲・馬 彪・上野美華子・森川利信

(大阪府立大学大学院・生命環境科学研究科)

Lycoris 属の倍数体形成時における染色体の動態を調査するために、人為種間雑種、人為自殖後代およびその両親について、蛍

光 *in situ* ハイブリダイゼーション (FISH) による 18S-5.8S-26S rDNA サイトの調査を行った。種子親として用いた *L. incarnata*

($2n=3x=30$) では、8 個の rDNA サイトが観察された。花粉親として用いた *L. sprengeri* ($2n=2x=22$) では 2 個、*L. radiata* var. *pumila* ($2n=2x=22$) と *L. sanguinea* ($2n=2x=22$) では 4 個の rDNA サイトが観察された。これらの種間雑種 ($2n=4x=41$)、*L. incarnata* × *L. sprengeri* は 9 個、*L. incarnata* × *L. radiata* var. *pumila* と *L. incarnata* × *L. sanguinea* var. *sanguinea* は 10 個の rDNA サイトをもっていた。*L. sprengeri* の自殖によって得られた三倍体 ($2n=3x=33$) は 3 個の rDNA サイトをもっていた。以上の結果から、調査した 3 雑種は *L. incarnata* (8 rDNA サイト) の非還元配偶

子 ($3n$) と花粉親 (2 または 4 rDNA サイト) の正常な配偶子 (n) との融合によって形成された四倍体であることが確認された。また、*L. sprengeri* の三倍体自殖後代も親の非還元配偶子 ($2n$) と正常な配偶子 (n) との融合によって形成されたことが確認された。このように *Lycoris* 属における三倍体と四倍体の形成時には、それぞれ、二倍体親と三倍体親の非還元配偶子が関与していることが明らかとなった。

Breeding Science 56: 209–212 (2006)