

ヒエ (*Echinochloa esculenta*) およびその近縁野生種の SSR 変異における差異

野澤 樹^{1,2)}・高橋光子²⁾・中井弘和²⁾・佐藤洋一郎³⁾

(¹⁾岐阜大学大学院・連合農学研究科, ²⁾静岡大学・農学部, ³⁾総合地球環境学研究所)

日本に分布するヒエ (*Echinochloa esculenta*), その近縁野生種であるイヌビエ (*E. crus-galli* var. *crus-galli*) およびイネ擬態雑草のひとつであるヒメタイヌビエ (*E. crus-galli* var. *formosensis*) における SSR 変異を調査した. 供試したヒエ属の3分類群は, SSR アレルの組み合わせによって13種類のタイプに分類できた. 49系統を供試したヒエではタイプ1およびタイプ4の2種類のタイプのみが検出された. 94個体のイヌビエでは12種類のタイプが, 12個体のヒメタイヌビエでは6種類のタイプが検出された. SSR アレルの頻度に基づく平均遺伝子多様度 (H) の

値は栽培種であるヒエでは0.37, イヌビエでは0.56, ヒメタイヌビエでは0.55であった. またそれぞれのタイプの頻度に基づく Shannon の係数 (H') の値は, ヒエでは0.69, イヌビエでは1.90, ヒメタイヌビエでは1.47となった. どちらの指数でも栽培種であるヒエの多様性が低くなった. またヒエでみられた2種類のタイプの地理的分布には偏りがみられ, タイプ1は北海道, 東北地方と, 九州を中心に分布し, タイプ4は東北地方から中部地方にかけて分布していた.

Breeding Science 56: 335–340 (2006)

イネの種間交雑 *Oryza sativa* × *O. minuta* から由来する戻し交雑後代系統を利用した出穂期および芒の長さに関する量的形質遺伝子座の検出

Le-Hung Linh¹⁾・Feng-Xue Jin¹⁾・Kyung-Ho Kang²⁾・Young-Tae Lee²⁾・Soo-Jin Kwon³⁾・Sang-Nag Ahn¹⁾

(¹⁾Department of Agronomy, College of Agriculture & Life Sciences, Chungnam National University, ²⁾National Institute of Crop Science, RDA, ³⁾National Institute of Agricultural Biotechnology, RDA)

イネのジャポニカ品種 Hwaseongbyeo を繰り返し親, *Oryza minuta* (Acc.101141) を供与親とした BC5F5 系統から戻し交雑後代系統 WH29001 を選抜した. WH29001 は Hwaseongbyeo と似ているが, 芒の長さとお出穂期に差が認められた. これらの違いは, WH29001 に移入された *Oryza minuta* の染色体断片に起因すると考えられる. SSR マーカーによる解析で, WH29001 のゲノム内に移入された, 13箇所 *O. minuta* 特異的な染色体断片を同定した. 芒の長さとお出穂期に関する量的形質遺伝子座 (QTL) を解析するために, Hwaseongbyeo/WH29001 の交配から由来する F2/F3 集団を作出した. 197種類の F2 個体について, *O. minuta* から移入された染色体断片上の SSR マーカーを用いて, マーカー

の遺伝子型を調査するとともに, 197種類の F3 系統群について, 二つの形質の表現型の調査を行った. QTL 解析によって, 芒の長さとお出穂期に関してそれぞれ2種類の QTL が, 第6および第9染色体上に検出された. これらの4種類の QTL の F3 系統群の表現型変異への寄与率は, 8.1% から 51.0% であった. 芒の長さとお出穂期に関する QTL はそれぞれ, 第6および第9染色体上で同じ領域に見出された. 検出できた QTL のうち, 第9染色体のお出穂期および第6染色体の芒の長さに関する QTL は, これまでの栽培種間の解析では検出されていない. この結果は, *O. minuta* から新規な対立遺伝子が移入されたことを示唆する.

Breeding Science 56: 341–349 (2006)

パンコムギにおいてうどんこ病抵抗性を示す *Aegilops geniculata* Roth の 6U 染色体

Tsvetana Stoilova¹⁾・Penko Spetsov²⁾

(¹⁾Institute of Genetics, Bulgarian Academy of Sciences, Bulgaria, ²⁾Dobroudja Agricultural Institute, Bulgaria)

幼苗および成体でうどんこ病抵抗性を示すコムギ *Aegilops geniculata* のダイソミック添加およびモノソミック置換系統の育成・分離について記載する. 細胞学的分析によって, 抵抗性派生系統には次端部動原体染色体が存在することが明らかになった. ポリアクリルアミドゲル電気泳動分析によって, コムギ親

品種 Trakya と抵抗性派生系統の種子貯蔵タンパク質の間にメルカプトエタノール還元時の β ゾーンにおいて違いが見られた. β ゾーンの強染色性は, *Ae. geniculata* の6番染色体を示すマーカーであることが予想された. これら系統の Got-1 および Est-4 座のアイソザイムの活性はコムギよりも低かった. 添加系統の Amp-

1 遺伝子座を分析することによって、*Ae. geniculata* の 6U 染色体の量的マーカーが同定された。6U 染色体をもつ添加系統または 6D 染色体とのモノソミック置換系統の後代で $2n=43$ および 42 の個体はうどんこ病抵抗性に関して分離した。この染色体のモ

ノソミックおよびダイソミック状態は分離集団において抵抗性植物を選抜することによって維持することができた。

Breeding Science 56: 351–357 (2006)

「陸稲関東 72 号」由来のイネ縞葉枯病抵抗性 QTL の遺伝的解析

前田英郎^{1,2)}・松下 景¹⁾・飯田修一¹⁾・春原嘉弘¹⁾

(¹⁾近畿中国四国農業研究センター, ²⁾現: 作物研究所)

「陸稲関東 72 号」に由来するイネ縞葉枯病抵抗性に関与する 2 つの QTL の効果を確認するため、それらの QTL が座乗する染色体領域を「コシヒカリ」に導入した準同質遺伝子系統を作出し、抵抗性の検定を行った。「陸稲関東 72 号」から縞葉枯病抵抗性を導入された水稲系統である「中国 40 号」に「コシヒカリ」を戻し交配した BC_4F_2 から QTL が座乗する第 2 染色体ならびに第 11 染色体の領域がそれぞれ陸稲の染色体に置換された系統を DNA マーカーを用いて選抜した。また、これら 2 系統を交配した F_2 から両方の染色体領域が「陸稲関東 72 号」型に置換された系統の選抜を行った。作出した 3 つの準同質遺伝子系統を用いて縞葉枯病抵抗性検定を行った結果、第 2 および第 11

染色体の QTL は異なる作用を示した。第 11 染色体の QTL は縞葉枯病に対して強い作用力を示し、感染率を大幅に低下させる作用を持ち、また、第 2 染色体の QTL は作用力が弱く、感染後の病徴の進展を抑制する作用を持つことが確認された。さらに両方の QTL を導入した系統は感染率および感染後の病徴の進展に対して「中国 40 号」と同等の強い抵抗性を示した。作出した 3 つの準同質遺伝子系統は出穂期、成熟期、稈長、穂長、千粒重においてコシヒカリと差はなく、イネ縞葉枯病抵抗性の育種素材として有望であると考えられた。

Breeding Science 56: 359–364 (2006)

トウモロコシミトコンドリア型アルデヒド脱水素酵素遺伝子の冠水時および冠水解除時の発現解析

目黒直樹¹⁾・辻 寛之^{1,4)}・鈴木保宏²⁾・堤 伸浩¹⁾・平井篤志³⁾・中園幹生¹⁾

(¹⁾東京大学・大学院農学生命科学研究科, ²⁾作物研究所, ³⁾名城大学農学部, ⁴⁾現: 奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科)

植物は、冠水時のエタノール発酵系の中段階あるいは冠水解除後のエタノールの酸化で生じるアセトアルデヒドの毒性により障害を受ける。この有毒なアセトアルデヒドを毒性の低い酢酸に変換する反応を触媒するのがアルデヒド脱水素酵素 (ALDH) である。イネではミトコンドリア型 ALDH (mtALDH) が冠水解除後のアセトアルデヒドによる障害の緩和に関わると考えられている。本研究では、冠水抵抗性の低いトウモロコシを材料に、mtALDH をコードする *rf2a*, *rf2b* 遺伝子の発現の冠水応答性について解析した。冠水処理により、*rf2a* mRNA 量は減少し、*rf2b* mRNA 量は増加した。冠水を解除すると、これらの mRNA 量は元のレベルに戻った。次に、冠水中および冠水解

除後の mtALDH タンパク質量の変化を調査した。mtALDH タンパク質量は、冠水処理により減少し、冠水解除後も低いままであった。一方で、ALDH 活性は、冠水により減少し、冠水解除後徐々に冠水前と同等のレベルにまで回復した。さらに、冠水時と冠水解除時の植物体内のアセトアルデヒド量を測定したところ、冠水前に少なかったアセトアルデヒドは、冠水後では増加し、冠水解除後もさらに緩やかに増加し続ける。これらの結果より、トウモロコシでは、冠水時、冠水解除時の ALDH 活性が低いために、アセトアルデヒドを効率よく無毒化できずに、アセトアルデヒドによる障害を受けやすいと考えた。

Breeding Science 56: 365–370 (2006)

ACO (ant colony optimization) アルゴリズムによる遺伝子連鎖地図作成とソフトウェア AntMap

岩田洋佳・二宮正士

(中央農業総合研究センター)

分子マーカー分析の高速化・高効率化により、大量のマーカーを利用した連鎖地図作成が可能となる。多数のマーカーを連鎖地図内に組み込むためには、連鎖地図作成のための高効率手法の開発が不可欠である。遺伝子座数が多い場合には可能な順序の数が膨大となり、遺伝子座の順序付けは連鎖地図作成時における最も困難な問題となる。われわれはこの問題に取り組むため、遺伝子座の順序付けのための新しいアルゴリズムを開発し、新開発コンピュータプログラム AntMap に実装した。このアルゴリズムは ACO (ant colony optimization) に基づいている。なお ACO とは、アリの群れが巣穴から食料源までの最短経路を発見する際の協力行動に発想を得た一連のメタヒューリスティックアルゴリズムの呼称である。AntMap は、このアルゴリズムを

用いて、隣接区間の組換え価の総和を最小にする順序、または対数尤度を最大にする順序を求める。シミュレーション解析の結果、われわれのアルゴリズムの高い有効性が確認された。アルゴリズムの高性能化により、連鎖地図作成に要する時間と労力の節約が可能となり、さらに、ブートストラップ検定による推定順序の検証も可能となった。われわれのアルゴリズムと AntMap は、連鎖地図作成のための高速大量処理システムの構築を可能とするだろう。AntMap は、GNU general public license のもとで公開されている。このサイトから、AntMap のソースコードと実行プログラムを得ることができる。

Breeding Science 56: 371-377 (2006)

5 種類のアイソザイム分析により明らかになった東アジアの在来コムギ (*Triticum aestivum* L.) 集団における遺伝的多様性と類縁関係

Surya Kant Ghimire¹⁾・明石由香利¹⁾・増田明子¹⁾・鷲尾建紀¹⁾・西田英隆¹⁾・周 永紅²⁾・顔 濟²⁾・徐 旗³⁾・李 璋³⁾・加藤鎌司¹⁾

(¹⁾岡山大学・自然科学研究科, ²⁾四川農業大学・小麦研究所, ³⁾西北植物研究所)

東アジアの在来コムギにおける多様性や遺伝的構造を明らかにするために、中国、モンゴル、韓国および日本の在来コムギ 324 品種を供試してアイソザイム分析を行った。5 種類のアイソザイム (ADH, DIA, GPI, PER, PGD) を分析した結果、31 種類の多型バンドを検出することができ、多様性解析のためのマーカーとして用いた。各地域集団における各バンド頻度から算出した遺伝的多様度は中国国内でも地域によって異なり、東部の集団より西部の集団で大きいことが判明した。地域間での遺伝的距離に基づくクラスター分析の結果、20 集団が 3 つのクラスターに分類された。中国西部の 5 集団は、新疆ウイグル自治区および寧夏回族自治区・甘肅省の集団とチベット自治区・四川省 (西部)・雲南省の集団との間で遺伝的に多少分化している傾向が認められたものの、いずれも同じクラスターに分類された。これまでの研究結果とあわせて考えると、ネパールからチベットにコムギが伝播したことが明らかである。第 2 のグループに

モンゴルから日本 (東北部) に至る北部地域の集団が含まれたことから、これら地域のコムギ品種が遺伝的に近縁なことが明らかになり、シルクロードの北路を通してコムギが伝播したことが示された。第 3 のグループには、陝西省から中国東南部、日本 (西南部) に至る地域の集団が含まれた。一方、陝西省のコムギ集団は、寧夏回族自治区・甘肅省から河北省に至る地域の集団とも密接に関係していることから、シルクロードを通して新疆ウイグル自治区—寧夏回族自治区・甘肅省—陝西省へ導入されたコムギが中国沿岸部の山東省まで導入されたと考えられた。なお、日本のコムギについては、東北部の集団と西南部の集団との間で遺伝的分化が認められたが、中国沿岸部においても同様の南北間分化が認められたことから、日本のコムギの起源が単純ではないことが示唆された。

Breeding Science 56: 379-387 (2006)

市販ペチュニア品種における花のアントシアニン合成系を制御する Flavonoid-3',5'-Hydroxylase 遺伝子に対する PCR マーカーの開発

松原紀嘉¹⁾・陳素梅¹⁾・李進雄²⁾・児玉浩明²⁾・國分尚³⁾・渡辺均³⁾・安藤敏夫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, (³⁾千葉大学・環境健康都市園芸フィールド科学教育研究センター)

市販ペチュニア品種の花冠主要色素はアントシアニンで構成されている。シアニジン系（シアニジンとペオニジン）とデルフィニジン系アントシアニン（デルフィニジン、ペチュニジンおよびマルビジン）の生産は、2つの独立遺伝子座 *Hf1* と *Hf2* によりエンコードされる flavonoid-3',5'-hydroxylase に制御される。*Hf2* 遺伝子座における劣性対立遺伝子 *hf2-1* は、第1イントロンに約200 bpの欠失とエクソンの塩基置換による8カ所のミスセンス変異が存在した。*hf2-1* の転写レベルは *Hf2* の転写レベルより明らかに減少していた。本研究では、*Hf1* と *Hf2* 遺伝子座の

遺伝子型を決定する PCR マーカーを開発した。これは PCR 産物の多型により *Hf1*, *hf1-2* および *hf1-3* 対立遺伝子と、*Hf2* と *hf2-1* 対立遺伝子の遺伝子型を識別できる技術である。供試した129品種において、この PCR マーカーによる *Hf1/Hf2* 遺伝子型と花冠主要アントシアニジンの表現型に矛盾はなかった。過去に報告された *Hf1* 遺伝子座の劣性変異対立遺伝子 *hf1-1* (第2エクソンに *Spm* 様トランスポゾンが挿入) は、市販ペチュニア品種では検出されなかった。

Breeding Science 56: 389–397 (2006)

近赤外およびフーリエ変換赤外分光法を用いた植物ゲノム DNA の遺伝子型の判別

江村耕司¹⁾・山中慎介^{2,3)}・磯田博子²⁾・渡邊和男²⁾

(¹⁾筑波大学大学院・バイオシステム研究科, (²⁾筑波大学大学院・生命環境科学研究科, (³⁾現：農業生物資源研究所)

遺伝子組換え作物の検出、または通常非組換え作物の品種・系統レベルの簡便な識別法の開発に対する昨今の要請に応えるべく、分光学的方法による新規ゲノム評価法の検討を行った。材料には遺伝子組換えトウモロコシ Bt11 およびそれに対応する非組換えトウモロコシを用いた。これらの生葉から DNA を抽出し、近赤外 (NIR) およびフーリエ変換赤外 (FT-IR) 分析を行った。また、イネ同質遺伝子系統ならびに遺伝的背景の異なる品種を用い、同様の方法で DNA を抽出したものを FT-IR 分析に供試した。NIR 法による分析では、得られたスペクトルデータを平滑化後1次微分変換し、波長 700–800 nm の1次微分スペクトルについて主成分分析 (PCA) を行った結果、Bt11 と非組換えに対応する2つのクラスターに分かれたが、異なる測定回の結果間には高い相関は認められなかった。FT-IR 分析では、2850–3000 cm⁻¹ についての PCA で両者を区別することができ、

判別が可能であった。さらに異なる測定回の結果間にも有意な相関が認められ、測定時期に依存することなく判別が可能であった。そこで安定して結果の得られた FT-IR 法を用いてイネ同質遺伝子系統ならびに品種の識別を試みた。同質遺伝子系統については明瞭な傾向は認められず、特定の遺伝子座における対立遺伝子のみの違いを判別するには至らなかった。典型的な *japonica* および *indica* 品種について FT-IR 分析を行ったところ、1350–1500 cm⁻¹ の PCA で *japonica* と *indica* に対応するクラスターが明瞭に区別され、さらに *indica* グループ内の2品種も判別が可能であった。以上より、FT-IR 法によってトウモロコシ DNA における導入遺伝子の有無を安定的に識別することが可能であり、また、さらに異なるイネ品種に由来する DNA の識別が可能であることが示唆された。

Breeding Science 56: 399–403 (2006)

DNA マーカー選抜による水稻品種コシヒカリの出穂期に関する同質遺伝子系統の育成

竹内善信^{1,4)}・蛭谷武志^{2,5)}・山本敏央^{1,2)}・佐藤宏之³⁾・太田久稔³⁾・平林秀介³⁾・加藤浩³⁾・安東郁男³⁾・根本博³⁾・井辺時雄³⁾・矢野昌裕²⁾

(¹⁾農林水産先端技術研究所, (²⁾農業生物資源研究所, (³⁾作物研究所, (⁴⁾現：作物研究所, (⁵⁾現：富山県農業技術センター)

イネの出穂期は、栽培適地を決定する上で、農業上重要な形質の一つである。筆者らは、これまで日本型イネ品種コシヒカリとインド型品種 *Kasalath* の戻し交雑後代を用いて、出穂期に

関する複数の QTL を染色体上に位置づけている。本研究では、コシヒカリの栽培適地の拡大や収穫期における労力分散ならびに交配母本としての能力の拡大を目指して、DNA マーカー選抜

によるコシヒカリの出穂期に関する同質遺伝子系統シリーズ (ILs) を育成した。戻し交雑育種とマーカー選抜を組み合わせ、4種類のIL, 和系367 (*Hd6*), 関東IL1号 (*Hd1*), 和系370 (*Hd4*) および和系371 (*Hd5*) を選抜した。それぞれの系統は、コシヒカリの遺伝的背景のなかで、第3, 第6, 第7および第8染色体上のQTLを含む領域をKasalathの染色体断片に置換したものである。置換されたゲノム断片の大きさは、それぞれ170 kb, 560 kb, 7960 kb および625 kb と推定され、その他のゲノム領域はコシヒカリ型に固定していると考えられる。生産力検定試験と特性検定試験による育種的評価の結果、関東IL1号は4月中旬に播種した場合、茨城県谷和原ではコシヒカリより13日早い出穂であった。また、和系370, 和系367 および和系371 は、コ

シヒカリに比べて各3日, 10日および11日程度、出穂が遅れた。和系367, 和系370 および和系371 については、出穂期以外の調査形質は全てコシヒカリと同等であった。第6染色体の*Hd1*を置換した関東IL1号はコシヒカリより短稈となり、耐冷性が弱くなった。また2003年度の調査では食味もやや劣る結果となった。関東IL1号の短稈は、*Hd1* 遺伝子の多面発現によって起こっている可能性を示唆できた。関東IL1号の耐冷性は、*Hd1* 遺伝子の多面発現により弱くなった可能性も考えられるが、Kasalathに由来する耐冷性を弱くする遺伝子と*Hd1* が密接に連鎖している可能性も考えられ、この点については、さらに検討する必要がある。

Breeding Science 56: 405–413 (2006)

陸稲農林12号が保有するいもち病圃場抵抗性に関するQTL解析

佐藤宏之¹⁾・竹内善信¹⁾・平林秀介¹⁾・根本 博¹⁾・平山正賢^{1,2)}・加藤 浩¹⁾・井辺時雄¹⁾・安東郁男¹⁾

(¹⁾作物研究所, ²⁾現:茨城県農業総合センター)

陸稲農林12号が強度のいもち病圃場抵抗性を保有することは、広く知られているが、抵抗性に関する遺伝子分析は行われていない。本研究では、陸稲農林12号と水稲品種コシヒカリの交配に由来するF₂集団およびF₃系統群を対象に、SSRマーカーを用いて、いもち病圃場抵抗性に関するQTL解析を行った。解析の結果、第3および11染色体上にいもち病圃場抵抗性に関与する2つのQTL (*qBFR3* および *qBFR11*) を検出した。これら2つのQTLでは、陸稲農林12号由来の遺伝子が抵抗性を付与する方向に働いており、表現型全分散の40.8%がこれらの働きによって説明できた。また、作用力の大きなQTLである*qBFR*

*11*の座乗位置は、近傍マーカーの位置から判断して、善林ら(2005)が報告したいもち病圃場抵抗性遺伝子*Pi34*とほぼ同じであることが分かった。*Pi34*を保有する植物体は、特定の菌株(IBOS8-1-1)によって著しく罹病する特性があることから、上述したF₃系統群のうち、*qBFR11*のみを保有する系統であるF₃-151に、IBOS8-1-1の分生胞子を接種したところ、同系統はこの菌株に対して圃場抵抗性を示した。以上の結果から、本研究で同定した*qBFR11*は、*Pi34*とは異なる遺伝子である可能性が示唆された。

Breeding Science 56: 415–418 (2006)