

マイクロサテライトマーカーによるサクラ栽培品種‘染井吉野’のクローン性および雑種種ソメイヨシノに属する数品種の血縁確認に関する解析

池谷祐幸¹⁾・太田 智¹⁾・河原孝行²⁾・勝木俊雄³⁾・間瀬誠子¹⁾・佐藤義彦¹⁾・山本俊哉¹⁾

(¹⁾果樹研究所, ²⁾森林総合研究所・北海道支所, ³⁾森林総合研究所)

‘染井吉野’は、日本のサクラのうち最もよく知られる栽培品種で、雑種種ソメイヨシノ (*Prunus×yedoensis*) に分類される。この品種が完全に1クローンであるかどうかを確かめるため、19世紀後半から20世紀初頭に植栽された47個体を含む‘染井吉野’とされる52個体を材料として、21種のマイクロサテライトマーカーについて遺伝子型を決定した。その結果、50個体において完全に同一の遺伝子型を示し、残りの2個体は‘染井吉野’の次代であると推定された。このことから‘染井吉野’は

単一の個体から増殖されたクローンであると推定された。また、同じ手法を用いて雑種種ソメイヨシノに属する6栽培品種の血縁関係を解析したところ、文献記録とは矛盾がなかった。すなわち、‘三島桜’と‘昭和桜’は‘染井吉野’の次代であり、‘天城吉野’、‘伊豆吉野’、‘御帝吉野’および‘枝垂染井吉野’は、‘染井吉野’とは近縁な血縁関係ではなかった。

Breeding Science 57: 1-6 (2007)

野生イネの持つ草型に関連した QTL クラスターとその生態的役割

大西一光・堀内優貴・石郷岡典子・高木恭子・市川直史・丸岡正道・佐野芳雄

(北海道大学・農学研究院)

アジア栽培イネ *Oryza sativa* の祖先野生種 *O. rufipogon* は、生活史特性に関して一年生型から多年生型までの幅広い変異を持ち連続的な分化を示す。一年生型は、攪乱環境への適応性とともに、短い茎葉と多数の分けつを持ち匍匐型の草型を示すといった特徴が見られる。本研究では、一年生野生イネと栽培イネ(ジャポニカ型)の間の遺伝的分化を QTL 解析により調査した。組換え自殖系統 (RILs) において適応性や栽培化に関連した計 20 形質を評価した。その結果、計 28 の QTL がゲノム上に同定できた。草型に関しては 6 つの QTL が第 7 染色体の短腕にクラスターとして見いだされた。この領域を含む染色体断片を栽培系

統に導入した準同質遺伝子系統を調査したところ、QTL クラスターは栽培イネの遺伝背景で明瞭な効果を示すことが確認できた。同様の QTL クラスターは由来の異なる一年生野生イネから見いだされたことから、この QTL クラスターが一年生型に広く分布する可能性が示唆された。さらに攪乱耐性(踏みつけ耐性)の QTL が QTL クラスターの領域内に見いだされた。以上の結果をもとに、一年生野生イネにおける QTL クラスターの生態的役割について議論した。

Breeding Science 57: 7-16 (2007)

Agropyron cristatum × 二粒系コムギ交雑後代におけるゲノム構成と耐病性の発現

Mahmoud Hamed Soliman^{1,2)}・Adoración Cabrera²⁾・Josefina Carmen Sillero³⁾・Diego Rubiales¹⁾

(¹⁾Institute of Sustainable Agriculture, CSIC, Spain, ²⁾University of Córdoba, Spain, ³⁾CIFA Alameda del Obispo, IFAPA-CICE, Spain)

葉枯病、うどんこ病、黄さび病、小さび病は、世界各地で発生しているコムギの主要病害である。マカロニコムギ (*Triticum turgidum*) の遺伝資源に、これらの病害に対する高い抵抗性は見出されないが、*A. cristatum* などのいくつかのコムギ近縁種は抵抗性を示す。二粒系コムギへの耐病性遺伝子導入を目的に、二倍体種の *T. tauschii* と *A. cristatum* の交雑によって作出された、自殖性のある異質四倍体 (2n=4x=28; DDPP) を用いて交雑を行った。二粒系コムギと交雑して得られた複二倍体 (2n=8x=56;

AABBDDPP) に二粒系コムギを 2 回戻し交雑して得られた個体について、罹病性を調査した。供試した個体のゲノム構成は、*A. cristatum* の全 DNA と *T. tauschii* から単離した pAs1 反復配列をプローブとして FISH 法によって解析した。すべての個体には、*A. cristatum* の染色体ないしはその断片が残っており、葉枯病とうどんこ病に感染せず、黄さび病および小さび病に対しては高い抵抗性を有していた。

Breeding Science 57: 17-21 (2007)

ダイズ種子における高 α -トコフェロール含量形質の遺伝解析

Maria Stefanie Dwiyanti・氏家 綾・Le Thi Bich Thuy・山田哲也・喜多村啓介

(北海道大学大学院・農学院)

トコフェロールはビタミンEとして知られる脂溶性の抗酸化物質である。トコフェロールはダイズ種子中に多く含まれているが、ビタミンE活性が最も高い α -トコフェロールの含有率が低いため、近年、高 α -トコフェロール含有ダイズの育種が進められている。これまでに同定された α -トコフェロール含有率が20–30%の品種「Keszthelyi A.S.」と α -トコフェロール含有率が10%以下の品種「いちひめ」との交配後代(F_2 , F_3 世代)を用いて、高 α -トコフェロール含有量の遺伝解析を行った。 F_2 個体(F_3 種子)集団において、 α -トコフェロール含量と総トコフェロール含量との相関関係が認められなかったため、 α -トコフェロールと総トコフェロール含量は独立に制御され、 α -トコフェロール含量の変化は総トコフェロール含量に影響を及ぼさない

といえる。 F_2 種子集団の広義遺伝率は0.645であったことから、ダイズの α -トコフェロール含有率は遺伝的な形質であることが示唆された。 χ^2 検定より、SSRマーカーSat_243とSat_167(連鎖群K)が高 α -トコフェロール含有率と強い連鎖を示したため、これらのマーカーは高 α -トコフェロール系統のマーカー利用選抜に利用できると考えられた。 F_2 種子と F_2 個体(F_3 種子)集団において、 α -トコフェロール含有率が γ -トコフェロール含有率と強い相関関係が認められたことから、高 α -トコフェロール個体では、 γ -トコフェロールメチルトランスフェラーゼの活性が高いものと推定した。

Breeding Science 57: 23–28 (2007)

我が国の醸造用オオムギ品種『はるな二条』を用いた Bacterial Artificial Chromosome (BAC) ライブラリーの構築と特性評価

最相大輔¹⁾・明楽映里子¹⁾・川崎信二²⁾・佐藤和広¹⁾・武田和義¹⁾

(¹⁾岡山大学・資源生物科学研究所, (²⁾農業生物資源研究所)

栽培オオムギ (*Hordeum vulgare* L.) は、世界中で広く栽培されている重要な作物であり、遺伝学の研究材料としても広く用いられてきた。オオムギはゲノムサイズが非常に大きい作物であるが(約 5,000 Mb)、近年 Expressed Sequence Tags (ESTs) の大量開発を発端に、DNA マーカーの作出、マイクロアレイの作製等、オオムギゲノム科学研究の基盤整備が進められている。しかしながら、ゲノム科学研究の重要なリソースの一つである巨大インサート DNA ライブラリーの整備は決して十分とは言えない状況であった。著者らは、我が国の醸造用オオムギ品種「はるな二条」を材料に、Bacterial Artificial Chromosome (BAC) ライブラリーの構築と特性評価を行ったので報告する。294,912 クローンから成るこの BAC ライブラリーは、768 枚の 384 穴マイクロタイプレートに整列化された。平均インサートサイズは 115.2 kb と見積もられた。全体の 0.5% のクローンがイン

サートを欠いており、葉緑体 DNA に由来する DNA 断片を 1.7% 含んでいた。これらを差し引くと、「はるな二条」の BAC ライブラリーは、およそ 6.6 ゲノム分に相当すると見積もられた。更におよそ 30 万の BAC クローンから速やかに目的のクローンを同定するために、プール DNA とコロニーハイブリダイゼーションを組み合わせた迅速選抜方法を開発した。この方法を用いて、染色体の座乗位置が明らかとなっている 13 の EST マーカーおよび sequence-tagged site (STS) マーカーについてライブラリーからの選抜を行い、マーカー当たり平均で 5.1 の BAC クローンを同定した。本研究で構築した「はるな二条」の BAC ライブラリーは、オオムギゲノム科学研究に、有用なリソースを提供するものである。

Breeding Science 57: 29–38 (2007)

オオムギ EST マーカーを利用した二倍体コムギの連鎖地図飽和と QTL 解析

堀 清純¹⁾・竹原小百合¹⁾・南角奈美¹⁾・佐藤和広¹⁾・笹限哲夫²⁾・武田和義¹⁾

(¹⁾岡山大学・資源生物科学研究所, (²⁾横浜市立大学・木原生物学研究所)

二倍体コムギの栽培種 (*Triticum monococcum* L.) KT3-5 と野生種 (*T. boeoticum* Boiss.) KT1-1 の交雑に由来する組換え自殖

集団 (F_{10} 世代) において、オオムギの発現配列タグ (EST) 由来の PCR マーカーを用いた連鎖地図を構築した。同じ集団です

でマップされている96のRFLPマーカーに加えて、2,695のオオムギESTマーカー中の242マーカーの座位を特定した。連鎖地図の全長は1,038.1 cM、平均マーカー間距離は3.1 cMであった。オオムギESTマーカーは二倍体コムギ連鎖地図中の複数の新規な末端部に座乗して地図を飽和し、マーカー密度を高めた。これらのオオムギESTマーカーのうち、オオムギで位置の特定されているマーカーの順序を二倍体コムギと比較したところ、構造変異のみられた第4および第5同祖群の長腕領域を

除き、両種でよく保存されていた。構築した連鎖地図の有用性を確認するために、二倍体コムギの組換え自殖集団で9つの農業形質を評価し、複合区間マッピング法によって解析したところ、合計24のQTLを検出した。このように、オオムギESTはオオムギコムギ間の同祖関係を明らかにするだけでなく、コムギゲノムで利用可能なDNAマーカーを開発する際にも威力を発揮する。

Breeding Science 57: 39–45 (2007)

水稻の登熟期の高温条件下における背白米発生率に関するQTL解析

田畑美奈子^{1,4)}・平林秀介²⁾・竹内善信²⁾・安東郁男²⁾・飯田幸彦^{1,5)}・大澤 良³⁾

(¹⁾茨城県農業総合センター、²⁾作物研究所、³⁾筑波大学大学院・生命環境科学研究科、⁴⁾現：常陸太田地域農業改良普及センター、⁵⁾現：常陸大宮地域農業改良普及センター)

近年、水稻では、登熟期の高温により背白米が多発し、玄米品質が著しく低下する高温障害が全国的に問題となっており、高温耐性を付与した品種の育成が求められている。そこで、高温耐性品種育成の基盤を得るために、水稻の登熟期の高温条件下における背白米発生に関する遺伝子座を明らかにすることを試みた。高温下での背白米発生率が高い「チヨニシキ」と低い「越路早生」の組換え自殖系統(RILs) F₆世代の107系統を供試し、106のSSRマーカーを用いてQTL解析を行った。供試系統は温室で栽培し、出穂期から成熟期までの登熟期間に高温処理を行い、背白米発生率は系統平均値を得た。本試験の結果、背白米発生率は「チヨニシキ」が56%、「越路早生」が6.1%で顕著な差がみられ、RILs (F₆)は両親の間で連続分布を示した。QTL解析の結果、第1、第2および第8染色体上に背白米発生に関

与する4つのQTL—*qWK1-1*, *qWK1-2*, *qWK2*, *qWK8*—が検出され、後者3つのQTLでは「越路早生」の対立遺伝子が背白米の発生を減少させた。なかでも第1染色体の*qWK1-2*について越路早生ホモ型系統とチヨニシキホモ型系統の背白米発生率を比較した結果、*qWK1-2*の相加効果は7.3%であった。また、*qWK1-2*だけでなく*qWK2*および*qWK8*においても「越路早生」の対立遺伝子をもつ系統では背白米発生率がより減少したことから、これら3つのQTLを集積させる選抜を行うことで、高温下での背白米発生に対する耐性品種が育成できることが示唆された。今後、夏期の高温はより深刻になると予想されるため、本試験の結果は、高温耐性品種のMASを効率的に行ううえで有益な情報となる。

Breeding Science 57: 47–52 (2007)

イネ育種における*sd1* 遺伝子の有用性に関する遺伝学および分子生物学的解析

浅野賢治¹⁾・高師知紀²⁾・三浦孝太郎¹⁾・Qian Qian³⁾・北野秀己¹⁾・松岡 信¹⁾・芦荻基行¹⁾

(¹⁾名古屋大学・生物機能開発利用研究センター、²⁾(株)ホンダ・リサーチ・インスティテュート・ジャパン、³⁾中国稲研究所)

耐倒伏性を付与した半矮性多収品種IR8の導入は、イネの収量増加をもたらし、イネの「緑の革命」の主要因となった。IR8の半矮性はジベレリン合成の最終段階を触媒する*gibberellin 20 oxidase-2* (GA20ox-2)をコードする*SD1*の機能喪失によるものであった。本研究ではイネ半矮性品種育成に*sd1*の変異がどのくらい利用されたかを調査した。遺伝学および分子生物学的解析からIR8の*sd1*アリルもジャポニカ品種の育成に利用されていることが明らかになった。また、57の半矮性品種に関し

て塩基配列を決定したところ、中国、アメリカ、日本において少なくとも7つの*sd1*アリルが半矮性品種の育種に利用されていることが明らかになった。一つの形質に関してこれほど多くの異なるアリルが利用されていることは、GA20ox-2遺伝子の変異がイネにとって農業上有利な形態をもたらすということを改めて強調するものである。

Breeding Science 57: 53–58 (2007)

Brassica rapa L. の自家不和合性程度に関するダイアレル分析

堀崎敦史・新倉 聡

((株) トーホク)

自家不和合性を利用した F₁ 種子生産において、自家不和合性程度は F₁ 種子純度に直接影響を与える。そこで我々は、虫媒受粉検定を用いて結実率を調査し、Brassica rapa L. に属する 6 近交系統によるダイアレル分析を行った。その結果、高い自家不和合性を示した 3 近交系統 (Ka1-22, Ka1-3, Ch1-504) は、それぞれ異なる遺伝様式を示した。より詳細にこれらの遺伝性を明らかにするため、各系統と残りの 3 系統による 4×4 ダイアレル分析を行った。Ka1-22 を含む分析では、不完全優性を示し、親の優性遺伝子の比率 (Vr+Wr) と親の値 (Pr) との間で有意な相関が認められなかった。このことから、Ka1-22 は高い自家不

和合性程度を支配する、優性の遺伝子を有していることが示唆された。Ch1-504 を含む分析では、(Vr+Wr) と Pr との間で有意な相関が認められ、Ch1-504 は高い自家不和合性程度を支配する劣性の遺伝子を有する事が示唆された。Ka1-3 を含む分析では、エピスタシスおよび特異的組合せによる効果が認められた。本研究は、高い自家不和合性程度を支配する遺伝子の多様性を、厳密に評価した最初の報告である。高い自家不和合性程度を示す系統はそれぞれ異なる遺伝性を示す事が示唆された事から、育種にあたって慎重な素材選びが必要とされる。

Breeding Science 57: 59-63 (2007)

日本のコムギ品種が持つ日長非感受性遺伝子 Ppd-B1 と Ppd-D1 の準同質遺伝子系統の作出ならびに茎頂発育におよぼす効果

谷尾昌彦^{1,3)}・加藤鎌司²⁾

(¹⁾国際農林水産業研究センター, (²⁾岡山大学, (³⁾現:北海道農業研究センター)

日本のコムギ品種が持つ日長非感受性遺伝子 Ppd-B1 と Ppd-D1 の特性を明らかにするため、準同質遺伝子系統 (NILs) を作出し、それらの茎頂発育におよぼす効果を調査した。NIL「H(A)」は、日長感受性品種「ハルヒカリ」を反復親、日長非感受性品種「埼玉 27 号」(Ppd-D1) を一回親とする戻し交雑によって作出された。NILs「H(B)」, 「H(C)」および「H(D)」は、日長非感受性品種「フクワセコムギ」(Ppd-B1 Ppd-D1) を一回親として同様に作出された。NILs の遺伝解析の結果、「H(A)」, 「H

(B)」, 「H(C)」および「H(D)」はそれぞれ Ppd-D1, Ppd-D1, Ppd-B1 および Ppd-B1 Ppd-D1 を持つことが確かめられた。そして、Ppd-B1 と Ppd-D1 は不完全優性ならびに交互作用を示し、Ppd-B1 は Ppd-D1 よりも強い日長非感受性効果を持つことが明らかとなった。また、NILs の茎頂発育に関する解析の結果、Ppd-B1 と Ppd-D1 はともに、二重隆起形成とその後の幼穂発育を促進する効果を持つことが示された。

Breeding Science 57: 65-72 (2007)

フローサイトメトリー解析および染色体観察によって決定されたイネ属野生イネ 20 種のゲノムサイズ

宮林登志江¹⁾・野々村賢一^{1,2)}・森島啓子³⁾・倉田のり^{1,2)}

(¹⁾国立遺伝学研究所, (²⁾総合研究大学院大学, (³⁾平塚市幸町)

三島の国立遺伝学研究所 (NIG) では、イネ属野生イネ 20 種で構成される 1,725 系統を維持している。それらは世界中の熱帯・亜熱帯地域から収集され、O. shlechteri Pilger を除く全てのイネ属野生種を網羅している。そのなかから、コアコレクションとして 282 系統を、全 NIG コレクションの遺伝的特性を代表するように選定した。イネ属コアコレクションのうち、全 20 種 9 ゲノムタイプを網羅するように抽出した 39 系統を用いて、フローサイトメトリーおよび顕微鏡観察によりゲノムサイズを測定した。同一種内そして同一ゲノムタイプ内では、ほとんどの

系統でゲノムサイズにばらつきは認められなかった。一方、CC, CCDD, HHJJ のゲノムタイプで構成される種では、同一ゲノムタイプ内でのゲノムサイズが有意にばらついた。また、体細胞染色体の全長および倍数性をいくつかの系統で調べたところ、それらの値は DNA 含有量との間に高い相関を示した。本研究では、簡易なフローサイトメトリー解析により、信頼性の高いゲノムサイズ評価法を提示するとともに、これまで報告の無かった 5 つの野生種のゲノムサイズを新たに決定した。本研究から、DNA 含有量は、ゲノム多様性を量る最も単純かつ信頼のおける指標

であり、イネ属の遺伝子資源を評価・同定するための有効な手段であるといえる。

Breeding Science 57: 73–78 (2007)

W_xタンパク質を二重および三重欠失したコムギ準同質遺伝子系統における種子と小麦粉品質の評価

高田兼則・谷中美貴子・藤田由美子・石川直幸

(近畿中国四国農業研究センター)

硬質コムギ品種の「春のあけぼの」と「春よ恋」を反復親として W_xタンパク質の W_x-A1 と W_x-B1 および W_x-B1 と W_x-D1 の二重欠失および W_x-A1, W_x-B1, W_x-D1 の三重欠失(モチ性)の準同質遺伝子系統を育成し、これらの欠失が小麦粉製粉や品質に与える影響を調査した。製粉歩留はモチ性になることにより有意に低下した。製粉歩留には、小麦粉中のアラビノキシラン含量が影響することが報告されているが、モチ性では種子と小麦粉でアラビノキシラン含量が増加していた。また、モチ性では小麦粉の明るさ(L*)が低下したが、色相に影響することが示唆されているポリフェノール含量が増加していた。小麦粉

生地の物性をファリノグラフで評価した結果、モチ性は小麦粉の吸水率が著しく高く、生地形成後の生地の強さの低下程度を示す弱化度が大きかった。吸水率は、W_x-B1 欠失の反復親と比較して、二重欠失の系統も有意に高かった。小麦粉の吸水率には、損傷デンプン含量とアラビノキシラン含量の影響が報告されており、モチ性においてはこれらの含量が高いことが吸水率の高さに関係していると考えられた。二重欠失は、デンプンの糊化特性を除いては、小麦粉品質に大きな影響は認められなかった。

Breeding Science 57: 79–83 (2007)