

## hybrid breakdown 1 (t) 遺伝子座はコシヒカリ (*Oryza sativa*) と野生種 *O. nivara* の種間交雑において雑種崩壊を引き起こす

三浦孝太郎<sup>1,2)</sup>・山本英司<sup>1)</sup>・森中洋一<sup>3)</sup>・高師知紀<sup>3)</sup>・北野英己<sup>1)</sup>・松岡 信<sup>1)</sup>・芦刈基行<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>名古屋大学生物機能開発利用研究センター, <sup>2)</sup>日本学術振興会特別研究員, <sup>3)</sup>ホンダ・リサーチ・インスティテュート・ジャパン)

栽培種とその野生型祖先種の様な種間交雑における子孫ではしばしば生殖障壁が観察される。この様な障壁は農業的に重要な遺伝子導入の妨げとなる。我々はコシヒカリ (*Oryza sativa japonica*) と野生種 *Oryza nivara* 間の染色体断片導入系統群を作成する過程で F<sub>2</sub> あるいはそれ以降の世代に発生する生殖障壁、雑種崩壊が起こることを見いだした。この雑種崩壊の影響を受けた植物体は著しく生育が阻害され、出穂前に枯死する。連鎖

解析と染色体断片導入系統を作成した結果、コシヒカリの遺伝的背景に *O. nivara* の第2染色体短腕末端を有するとこの雑種崩壊が誘導されることを見いだした。この遺伝子座 *hbd1 (t)* はコシヒカリと栽培種 Nona Bokra (*O. sativa indica*) 間で報告されている *hbd1* 座と一致した。また、本研究ではこの *hbd1 (t)* 座を 50 kb の染色体領域に特定した。

**Breeding Science** 58: 99–105 (2008)

## AFLP マーカーにより解析されたダイコン遺伝資源の遺伝的多様性と世界各地のダイコン系統の関係

王 寧・北本尚子・大澤 良・藤村達人

(筑波大学大学院・生命環境科学研究科)

ダイコン (*Raphanus sativus* L.) は、世界に広く分布し、多様な特徴を持つ有用な野菜である。しかしながら栽培ダイコンの多様化と栽培化の歴史に関する詳細な研究は、これまでなされていなかった。本研究では、世界各地のダイコンの遺伝的関係、ならびにそれらの多様性を理解するため、北アフリカおよびユーラシア大陸の 21 か国に由来する栽培ダイコン 65 系統について、221 個の AFLP マーカーを用いた解析を行なった。その結果、これらの系統は、由来した地域ごとに、NJ 系統樹上で 4 つのグルー

プ (ヨーロッパ、中近東、南アジアと東アジア) にまとまった。またそれぞれの地域内では、地理的障壁にもかかわらず、遺伝資源の交流がしばしばおきている可能性が示された。遺伝子多様度の平均は、中近東の 0.267 から東アジアの 0.297 まで、グループ内における値の間に大きな差異は認められず、各地域に現存する栽培ダイコン系統は、それらが形成される過程で明らかなボトルネック効果を受けていないことが示された。

**Breeding Science** 58: 107–112 (2008)

## イネ (*Oryza sativa* L.) の窒素動態に関与するゲノム染色体領域の同定とその特徴

小林創平<sup>1,2,3)</sup>・福田善通<sup>2,4)</sup>・武田尚人<sup>1)</sup>・佐藤雅志<sup>5)</sup>・大崎 満<sup>3)</sup>

(<sup>1)</sup>北海道農業研究センター, <sup>2)</sup>国際稲研究所, <sup>3)</sup>北海道大学大学院・農学研究院, <sup>4)</sup>国際農林水産業研究センター, <sup>5)</sup>東北大学大学院・生命科学研究所)

イネにおける窒素の蓄積と転流は、米の収量や品質を決定づける重要な生理的プロセスである。本研究の目的は、量的形質遺伝子座 (QTL) 解析により、窒素動態に関与するゲノム染色体領域を同定し、その特徴を解明することである。密陽 23 号 (インド型) とアキヒカリ (日本型) を親とする 191 の組換え近交系を、日本・上越とフィリピン・ロスパーニョスにおいて計 4 つの作期にわたり評価し、葉身の窒素濃度に作用する QTL を 182 個の RFLP マーカーによる連鎖地図上に位置づけた。その結果、

計 15 の染色体領域が窒素動態に関与しており、各領域は 3 つのグループに分類されることが示された。グループ 1 の 4 領域 (第 1, 2, 7, 8 染色体) は、出穂前の葉身窒素濃度のみで作用したことから、栄養成長期の窒素蓄積を制御すると考えられた。一方、グループ 2 の 8 領域 (第 2, 3, 4, 6, 7, 9, 10, 12 染色体) は、出穂後の窒素濃度に作用したことから、生殖成長期の窒素転流を制御すると思われた。グループ 3 の 3 領域 (第 1, 2, 10 染色体) は、両時期の窒素濃度に作用した。全 15 領域のうち 12

は、QTL の発現が作期や栽培地（生育環境）によって変化した。つまり遺伝子型×生育ステージの組合せで9領域、遺伝子型×作期で8領域について有意な交互作用が検出された。これらの結果から、生育ステージや生育環境により作用力が変化する複

数の遺伝子も、イネの窒素動態の遺伝的制御機構には含まれることが明らかとなった。

**Breeding Science** 58: 113–120 (2008)

## コムギの高分子量グルテニンサブユニット遺伝子と低分子量グルテニンサブユニットタンパク質を発現する形質転換イネの作出

荒木悦子<sup>1)</sup>・池田達哉<sup>1)</sup>・荻原保成<sup>2)</sup>・豊田 敦<sup>3)</sup>・矢野 博<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>近畿中国四国農業研究センター, <sup>2)</sup>横浜市立大学・木原生研, <sup>3)</sup>理化学研究所)

コムギのゲノム DNA を含む TAC ライブラリーから、高分子量グルテニンサブユニット (HMW-GS) 遺伝子、低分子量グルテニンサブユニット (LMW-GS) 遺伝子を含むクローンを単離した。単離した TAC クローンをを用いて、アグロバクテリウム法により、HMW-GS 遺伝子、LMW-GS 遺伝子のそれぞれをイネ系統 LGC1 に導入した。HMW-GS 遺伝子をもつ遺伝子組換えイネ系統と、LMW-GS 遺伝子をもつ遺伝子組換えイネ系統を交配し、HMW-GS 遺伝子と LMW-GS 遺伝子の両方をもつイネ系統を作出した。それら3種類の形質転換イネ系統の胚乳における GS の発現を分析した。すべての形質転換イネ系統の胚乳で、導入した GS 遺伝子が発現し GS タンパク質が蓄積していた。発現した

GS タンパク質の N 末端のアミノ酸配列は、成熟型 GS のアミノ酸配列と一致した。さらに、GS タンパク質は、コムギ胚乳内と同様の不溶性画分で抽出されたことから、イネの胚乳内に蓄積した GS は、コムギ胚乳内と同様のプロセッシングを受けた成熟型 GS であり、不溶性のポリマータンパク質を形成することがわかった。これはイネとコムギのタンパク質プロセッシングシステムは保存されていることを示唆し、本研究の結果は、イネのタンパク質プロセッシングシステムを利用してイネで成熟グルテンタンパク質を生産できる可能性を示している。

**Breeding Science** 58: 121–128 (2008)

## オオムギ未熟胚由来カルスからの植物体再分化における光制御

力石和英・松浦恭和・前川雅彦・武田和義

(岡山大学・資源生物科学研究所)

オオムギ未熟胚からのカルス誘導を16時間日長と暗黒条件を組み合わせた様々な光条件下で行い、カルス誘導および植物体再分化に及ぼす光条件の影響を調査した。「K-3」と「関東二条5号」では、暗黒条件下でのカルス誘導が植物体再分化を促進するのに対し、「Lenins」では暗黒条件が再分化に対して抑制的に作用した。4週間のカルス誘導期間のうち前半の2週間は暗黒条件、後半の2週間は16時間日長 (D2L2) にして、「K-3」、「関東二条5号」の未熟胚よりカルス誘導を行った場合、植物体再分化率は前後半の光条件を入れ替えた L2D2 に比べて高かった。D2L2 と L2D2 は暗黒条件と16時間日長の長さは同じであるにもかかわらず、これら光条件が植物体再分化に及ぼす影響は異なった。このことから、カルス誘導の初期で光に対する感受性が高いと考えられた。オーキシンおよびサイトカイニン応

答性遺伝子である *AUX/IAA* と *WPK4* のカルスにおける発現量を調査したところ、「K-3」と「関東二条5号」の暗黒条件下で誘導したカルスでは *WPK4* の発現が低く、*AUX/IAA* の *WPK4* に対する発現量比は暗黒条件下で高くなった。単色光 (白色, 赤色, 遠赤色, 青色) がカルス増殖および植物体再分化に及ぼす影響を調査したところ、「K-3」、「関東二条5号」では白色光と同様に青色光が植物体再分化を抑制した。また、「関東二条5号」に関しては遠赤色光も植物体再分化に対して抑制的に作用した。光はサイトカイニン含量もしくは応答性を改変することにより、カルスからの植物体再分化を制御する可能性が考えられる。また、未熟胚由来カルスからの植物体再分化における光制御には青色光のシグナルが関与するものと考えられた。

**Breeding Science** 58: 129–135 (2008)

## トウガラシ (*Capsicum annuum* L.) の *Colletotrichum capsici* による炭疽病に対する主要な劣性抵抗性遺伝子

Sang Hoon Kim · Jae Bok Yoon · Jae Wahng Do · Hyo Guen Park

(Research and Development Unit, Pepper and Breeding Institute, Business Incubator, College of Agriculture and Life Science, Seoul National University)

*Colletotrichum* 属によるトウガラシ炭疽病はアジアの多くの国で重要な病害である。最近、韓国在来のトウガラシ品種「Daepoong-cho」が *C. capsici* に対して抵抗性であることが見出された。「Yeoju」×「Daepoong-cho」の交配に由来する分離集団を用い、*C. capsici* 抵抗性の遺伝を解析し、「Daepoong-cho」×「AR」の交配に由来する F<sub>1</sub> 個体と F<sub>2</sub> 個体を用いて同座性検定を行った。「AR」はトウガラシ *C. chinense* Jacq. 品種「PBC932」由来の炭疽病抵抗性の育種系統である。摘果した成熟緑果にマイクロインジェクション法で接種し、7日後に発病頻度、病斑伸展が見られなかった接種部位も含んだ病斑直径の平均値、病斑伸展が見られ

た接種部位のみの病斑直径の平均値で抵抗性を評価した。「Yeoju」×「Daepoong-cho」に由来する F<sub>2</sub> および BC<sub>R</sub> 集団での *C. capsici* に対する抵抗性と感受性の分離比は、それぞれ 1:3 と 1:1 のメンデル比に適合した。これは、「Daepoong-cho」の *C. capsici* に対する抵抗性は単一劣性遺伝子によることを示している。同座性検定の結果、抵抗性の 2 系統「Daepoong-cho」および「AR」は異なるトウガラシ属の種、*C. annuum* と *C. chinense* に由来するにもかかわらず、同一の *C. capsici* 抵抗性遺伝子を持つことがわかった。

**Breeding Science** 58: 137-141 (2008)

## 普通ソバにおけるアントシアニン合成をプロアントシアニジン合成へ移行させる遺伝子

松井勝弘 · 江口研太郎 · 手塚隆久

(九州沖縄農業研究センター)

普通ソバにおいて、ルチン、アントシアニン、プロアントシアニジン は代表的なフラボノイド系物質であり、これらはフラボノイド生合成系で合成される。これらフラボノイドは抗酸化性のような有用な特質を有している。ソバの茎基部は通常、赤色またはピンク色であり、これらはアントシアニンの蓄積による。私たちは自然突然変異で起こった緑色茎変異体 (GS) を普通ソバ集団中に見出した。この変異体の生理的、遺伝的特徴づけのため、また合成系のどこで止まっているのか、さらにはアントシアニンが合成されないことにより、他のフラボノイド物質の合成が影響を受けていないかを推定するために、実生におけるルチン、アントシアニンおよびプロアントシアニジンの測

定と遺伝解析を行った。GS 変異体の実生には HPLC 分析からアントシアニンは蓄積されないが、ルチンとプロアントシアニジンは蓄積されることが分かった。GS 変異体には茎、葉柄、葉脈および葯にもアントシアニンは蓄積されなかった。遺伝解析の結果、GS 変異体は 1 つの劣性遺伝子 (仮に *gs1* と名付けた) に支配されていた。F<sub>2</sub> 分離集団における GS 植物体のプロアントシアニジン含量は有意に野生型よりも高かった。このことから、GS の表現型はロイコシアニジンかシアニジンとアントシアニンの間の酵素の欠質か転写因子の欠陥によることが考えられた。

**Breeding Science** 58: 143-148 (2008)

## オオムギ半矮性遺伝子 *uzu* は未熟胚由来カルスからの植物体再分化を抑制する

力石和英 · 最相大輔 · 武田和義

(岡山大学・資源生物科学研究所)

オオムギには過性と呼ばれる半矮性品種があり、これら品種は日本南西部、朝鮮半島南部および中国沿岸部に分布している。過性は濃緑色の葉や子葉鞘、芒および穂が短くなるなどの表現型を示し、これら形質は単因子劣性遺伝子である *uzu* により制御されている。過性はブラシノステロイド受容体遺伝子 (*HvBR11*) の変異に起因する。ブラシノステロイドは植物の形態

形成に関して、オーキシンと協調的に作用することが明らかとなっている。オーキシンは組織培養において重要なホルモンであることから、本研究では並・渦品種間の交配組み合わせにより作成された F<sub>2</sub> 集団および渦遺伝子に関する同質遺伝子系統について、カルス増殖および植物体再分化などの培養特性を調査した。F<sub>2</sub> 個体および同質遺伝子系統ともに、渦遺伝子型の個体

は並遺伝子型に比べて低い再分化率を示した。このことから、渦遺伝子は植物体再分化に抑制的に作用することが明らかとなった。カルス増殖に関しては、並・渦遺伝子型間に差は認められなかった。同質遺伝子系統の未熟胚を異なる濃度の 2,4-D を含む培地に置床し、高温条件下 (25°C) で培養した。カルス形成

および発芽に関して、渦系統は並系統に比べて外生オーキシンに対して高い感受性を示した。渦系統における組織培養特性はブラシノステロイドとオーキシンのクロストークを通じて制御される可能性がある。

**Breeding Science** 58: 149–155 (2008)

## ミヤコグサとのシンテニーに基づくダイズゲノムの特性解析

坪倉康隆<sup>1)</sup>・恩田隆卓<sup>2)</sup>・佐藤修正<sup>3)</sup>・夏正俊<sup>1)</sup>・林正紀<sup>1)</sup>・福島有紀恵<sup>2)</sup>・田畑哲之<sup>3)</sup>・原田久也<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>農業生物資源研究所, (<sup>2)</sup>千葉大学大学院・自然科学研究科, (<sup>3)</sup>かざさ DNA 研究所)

マメ科のモデル植物であるミヤコグサのゲノム情報をダイズに活用するため、ミヤコグサのゲノムと比較したダイズゲノムの特徴を解析した。ダイズとミヤコグサのマクロシンテニーは同一の cDNA クローンを RFLP 法で両者の連鎖地図に位置づけること、およびダイズ連鎖地図上の cDNA マーカーに対するミヤコグサのオーソログの位置を同定することにより行った。比較的大きなシンテニーブロックが部分的に検出されたが、ほとんどのダイズ連鎖群はミヤコグサとの短いシンテニーブロックのモザイクとなっていた。またパラログ、オーソログの分布から異なる連鎖群上の同祖領域が示唆された。両種のマイクロシ

ンテニーを調べるため、順に D1b, B2, H のマクロシンテニーを示す領域に位置づけられた *GmNFR1a* 遺伝子, *GmNFR1b* 遺伝子, *NtsI* 遺伝子に対する 3 つの BAC クローンを選び出した。これらの BAC クローンと相同なミヤコグサのゲノム領域との間に高度な共線性が見られた。これらのことからミヤコグサのゲノム情報はダイズの DNA マーカー開発, マップベースクローニング, ゲノム塩基配列のアセンブルに利用が可能であると考えられる。

**Breeding Science** 58: 157–167 (2008)

## 古米臭の発生に関わるイネ種子のリポキシゲナーゼ 3 遺伝子の同定と、その欠失系統の選抜のための SNP マーカーの開発

白澤健太<sup>1,2)</sup>・竹内善信<sup>1)</sup>・蛭谷武志<sup>3)</sup>・鈴木保宏<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>農研機構・作物研究所, (<sup>2)</sup>現：かざさ研究所, (<sup>3)</sup>富山県農業技術センター)

米の貯蔵にともなう劣化 (古米化, 古米臭の発生) を防止することは、主要穀物の品質維持の面から重要な問題である。玄米中の脂質はリポキシゲナーゼ (LOX) により過酸化物となり、その後古米臭の発生の原因となる揮発性物質へと変換される。イネ種子に含まれる LOX はヌカ層に存在し、その主要なアイソザイムは LOX-3 である。これまでの研究から、タイの品種「Daw Dam」は LOX-3 タンパク質を欠くことと、LOX-3 欠失品種では LOX-3 保有品種に比べて古米臭の発生が軽減することを明らかにした。貯蔵米の品質劣化は、単一の劣性遺伝子により支配される LOX-3 欠失性により抑制できると期待されるが、LOX-3 欠失系統の選抜には時間や労力を必要とするウェスタンブロット分析により行われている。そこで、DNA 多型に基づく LOX-3 欠失性の簡易な選抜法を確立するために、「Daw Dam」と「日本晴」の F<sub>2</sub> 集団を用いて、RFLP マーカーや SSR マーカーと LOX-3 欠失性との連鎖解析を行った。その結果、LOX-3 欠失性は、第 3 染色体上の SSR マーカー座 RM6736 と RM6329 の間の 3 つの LOX 様遺伝子を含む領域に位置づけられた。次に、抗 LOX-3 モ

ノクローナル抗体を結合したアフィニティカラムを用いて LOX-3 タンパク質を精製し、3 つの部分アミノ酸配列を決定した。これら 3 つの部分配列は、上記の 3 つの LOX 様遺伝子のうち、*Os03g0700400* 遺伝子がコードするタンパク質のアミノ酸配列のみと完全に一致した。そこで、「Daw Dam」の *Os03g0700400* 遺伝子の塩基配列を決定し、公開されている日本晴の配列と比較したところ、「Daw Dam」の対立遺伝子の第 7 エキソンに G から A への一塩基多型 (SNP) が見出された。この SNP により「Daw Dam」の対立遺伝子では終止コドンが生じ、これがナンセンス変異の原因となっていると考えられた。以上の結果から、*Os03g0700400* 遺伝子が LOX-3 遺伝子であると結論づけることができた。この SNP を含む塩基配列を利用し、見出した SNP を検出できる CAPS 法、およびドットブロット SNP 法を開発した。これらの方法を用いることで、LOX-3 欠失系統の簡易かつ安価な選抜が可能である。

**Breeding Science** 58: 169–176 (2008)

## ハマダイコンにおけるオグラ型雄性不稔の稔性回復遺伝子 *orf687* の分布の解析

安本景太・松本欣剛・寺地 徹・山岸 博

(京都産業大学・工学部)

ハマダイコンにおけるオグラ型細胞質雄性不稔に対する稔性回復遺伝子の分布を調査した。材料には、我国の15集団および韓国の2集団から採種されたハマダイコン計226個体を用いた。DNAを単離後、ミトコンドリアのオグラ型雄性不稔遺伝子 *orf138* を増幅するPCRを行った。PCRの結果、95個体(42%)が *orf138* を増幅し、オグラ型細胞質を持っていた。このうち2個体を除く93個体は正常な花粉稔性を示す稔性回復個体であった。また、正常型細胞質を持つ131個体については、オグラ型雄性不稔ダイコンとの交雑F<sub>1</sub>の花粉稔性を観察し、114個体が稔性回復遺伝子を持つと判定した。この結果、稔性回復遺伝子を持つ個体は、オグラ型細胞質と正常型細胞質の個体を合わせ207個体(91.6%)に及んだ。この207個体について、現在まで

に同定されている稔性回復遺伝子 *orf687* の遺伝子型を調べた。ヘテロ二本鎖切断酵素によるスクリーニングとPCR-RFLPによる分析から、稔性回復機能を持つ優性の *orf687* と同一のRFLPパターンを示す個体が30個体(14.5%)認められた。また、これらの個体は主に我国の南部に位置する集団に属していた。しかしながら、大部分の個体(148個体, 71.5%)は、*orf687* に関して、稔性回復機能を持たない劣性の遺伝子型であった。これらの結果から、ハマダイコンでは、同定されている稔性回復遺伝子 *orf687* を持つものは少なく、これとは異なる稔性回復遺伝子が広く分布していると考えられた。

**Breeding Science** 58: 177-182 (2008)

## 秋まきコムギの戻し交配系統における赤かび病抵抗性に関連するマーカー選抜の効果

西尾善太・伊藤美環子・谷尾昌彦・田引 正・山内宏昭

(北海道農業研究センター)

*Fusarium graminearum* 等によって引き起こされるコムギ赤かび病は、デオキシニバレノール等のかび毒を産出することから世界的に大きな問題となっている。一般に北海道のコムギ品種は、赤かび病の多発地帯である九州および華南地方のコムギ品種と比べて抵抗性が劣ることが知られている。このため、赤かび病抵抗性品種「蘇麦3号」において報告されている赤かび病抵抗性に関連する既知のDNAマーカーの効果を、赤かび病に罹病性の秋まきコムギ品種「きたもえ」を戻し交配親として調査した。「蘇麦3号/きたもえ//きたもえ」の交配集団から、親品種「きたもえ」と同程度の越冬性を示したBC<sub>1</sub>F<sub>2</sub>世代の40系統を選抜し、「蘇麦3号」で報告されている染色体3BS上の赤かび病抵抗性に関連するマイクロサテライトマーカーの多型を調査

した。これらの各系統の後代のBC<sub>1</sub>F<sub>3</sub>集団についてそれぞれの赤かび病抵抗性を調査した結果、マーカー *barc133*, *barc147*, *gwm533.1* および *barc102* で挟まれる約10cMの領域が「蘇麦3号」型を持つBC<sub>1</sub>F<sub>3</sub>集団が「きたもえ」よりも有意に低い発病度を示した。これらのマーカーがヘテロ型のBC<sub>1</sub>F<sub>3</sub>集団は「きたもえ」と有意な発病度の差は見られなかった。赤かび病抵抗性に関連するDNAマーカーの遺伝子型と雪腐病の発病度には有意な関係が見られなかったことから、本マーカーは北海道の秋まきコムギの赤かび病抵抗性の改良にも有用であると考えられた。

**Breeding Science** 58: 183-185 (2008)