

マイクロサテライトおよび葉緑体 DNA 変異を指標としたサクラソウ園芸品種の起源推定

本城正憲^{1,4)}・半田 高²⁾・津村義彦³⁾・鷲谷いづみ¹⁾・大澤 良²⁾

(¹⁾東京大学大学院・農学生命科学研究科, ²⁾筑波大学大学院・生命環境科学研究科, ³⁾森林総合研究所, ⁴⁾農研機構・東北農業研究センター)

伝統的園芸植物のひとつであるサクラソウは 300 年以上の栽培の歴史をもつ。これら園芸品種の起源を探るため、筑波大学が保有する 120 品種の起源をマイクロサテライトおよび葉緑体 DNA 変異を指標として調べた。各品種および北海道から九州までの代表的な野生サクラソウ個体群のマイクロサテライト変異をもとにアサインメントテストを行った結果、多くの品種は関東地方の荒川流域の野生個体群に由来する可能性が高いことが明らかになった。また、葉緑体 DNA 分析の結果、一部の品種

は荒川流域以外の地域に由来するものと考えられたが、多くの品種は荒川流域の野生個体群由来であると推定された。また、調査した品種群には、現存野生個体群からは見出されていない 3 種類の葉緑体 DNA ハプロタイプが認められ、野生個体群では消失した遺伝的変異を伝統的園芸品種が保持していることが示された。

Breeding Science 58: 347–354 (2008)

野生ダイズと栽培ダイズは共通の耐塩性 QTL を有する

Aladdin Hamwiah^{1,2)}・許 東河¹⁾

(¹⁾国際農林水産業研究センター, ²⁾International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA))

本研究では、塩感受性ダイズ品種 Jackson と耐塩性野生ダイズ系統 JWS156-1 の交配に由来する F₂ 集団を用いて、野生ダイズ由来の耐塩性に関与する QTL を同定し、栽培ダイズ品種間の交配で検出された耐塩性 QTL と比較した。耐塩性の評価は、120 mM NaCl を含む培養液で 20 日間水耕した幼苗の耐塩指数と葉色 (SPAD 値) に基づいて行った。両形質とも F₂ 集団では連続分布を示したが、耐塩性個体の出現率が高かった。QTL 解析

の結果、ダイズ連鎖群 N に 68.7% の寄与率を持つ効果の大きな QTL が検出された。耐塩性の対立遺伝子は野生ダイズに由来し、塩感受性対立遺伝子に対して不完全優性を示した。本研究で検出された QTL は、栽培ダイズ品種間の交配で検出された QTL と同じゲノム領域に位置し、野生ダイズと栽培ダイズが共通の耐塩性 QTL を持つことが明らかになった。

Breeding Science 58: 355–359 (2008)

ダイズ種子中における脂質含量とリノレン酸含有率の遺伝的関係

柴田雅之・高山清彦・氏家 綾・山田哲也・阿部 純・喜多村啓介

(北海道大学大学院・農学院)

ダイズは種子に約 20% の脂質を含む重要な油糧作物であり、食用・工業用を問わず様々な場面で利用されている。ダイズ脂質の構成成分である脂肪酸の割合をみると、不飽和脂肪酸の一種であるリノレン酸含有率が 10% 程度と少ない。一方、ダイズの祖先野生種であるツルマメは脂質中に約 20% のリノレン酸を含有することが認められているが脂質含量はダイズの半分程度と少ない。ダイズとツルマメの間で認められた脂質含量とリノレン酸含有率の差異をもとにダイズとツルマメの交配集団を用いて脂肪酸解析を行った結果、脂質含量とリノレン酸含有率と

も両親間に連続分布を示し、脂質含量とリノレン酸含有率の間に相関係数 $r = -0.45$ に相当する負の相関が認められた。以上の結果を踏まえて QTL 解析を行ったところ、E 連鎖群の SSR マーカー Satt384 の近傍に脂質含量およびリノレン酸含有率に関する QTL が検出され、種子中の脂質含量とリノレン酸含有率との間に認められた負の相関には遺伝的な因子が関係していることが示唆された。

Breeding Science 58: 361–366 (2008)

日本最北地域イネ品種群における出穂日を制御する QTL のマッピング

藤野賢治・関口博史

(ホクレン農業協同組合連合会・農業総合研究所)

イネの出穂日は、地域適応およびその地域での作期構成において重要である。様々な解析集団を用いて、出穂日を制御する多くの遺伝子が明らかにされてきたが、どの遺伝子が特定の地域での品種群内における出穂日の変異に関わっているのかは明らかになっていない。特定の地域での育種プログラムで用いられる品種は遺伝的に極めて近いいため、QTL 解析には多大な労力が必要となっている。本研究では、日本の最北地域である北海道の品種群における出穂日の変異に関わる遺伝子を、3 組合せ

の F2 集団を用いて明らかにした。いずれの F2 集団においても出穂日数は連続的な変異であった。QTL 解析にあたっては、既報の出穂日に関する QTL 領域に座乗する SSR マーカーを用いた。第 3 染色体に *qDTH3*, 第 6 染色体に *qDTH6-1* および *qDTH6-2* の 3 個の QTL の存在が明らかとなった。これらの QTL と既報の QTL との関係について考察した。

Breeding Science 58: 367–373 (2008)

カンキツにおける多胚性遺伝子座ゲノム領域のマーカー高密度化とハプロタイプ特異的 BAC コンテイング構築

中野道治¹⁾・清水徳朗²⁾・藤井 浩²⁾・島田武彦²⁾・遠藤朋子²⁾・根角博久²⁾・國賀 武^{2,3)}・大村三男⁴⁾

(¹⁾岐阜大学・連合農学研究所, ²⁾果樹研究所, ³⁾現: 近畿中国四国農業研究センター, ⁴⁾静岡大学・農学部)

カンキツ属植物では、珠心から形成される体細胞胚が接合子胚と共に同一種子内に共存する多胚性が多くの品種で観察される。多胚性遺伝子座に関して更なるゲノム情報を得るために、3 集団の連鎖地図の関係を多胚性遺伝子座近傍領域に位置付けられたマーカーにより決定した。「F180」×「はるみ」集団において、CAPS マーカーを用いて多胚性遺伝子座のマッピングを行った結果、多胚性遺伝子座は高密度マーカー領域に位置付けられ、特にマーカー Mf0086 と完全連鎖を示した。Mf0086 を用いて BAC ライブラリーのスクリーニングを行った結果、多胚性およ

び単胚性の各ハプロタイプに対応する 2 つのコンテイングが形成された。これらのコンテイング内に検出された SNP マーカーは、「宮川早生」と「はるみ」の第 1 連鎖群において多胚性遺伝子座に最も近接してマップされた。多胚性遺伝子座周辺のマーカー順序は、マッピングに供した異なる育成系譜の品種間で高度に保存されていたため、検出された多胚性遺伝子座近傍のゲノム領域が広範なカンキツ属品種で共通する可能性が考えられた。

Breeding Science 58: 375–383 (2008)

Brassica 属とその近縁属における花器形質の変異性と繁殖様式との関連

高畑義人¹⁾・今野 昇²⁾・日向康吉²⁾

(¹⁾岩手大学・農学部, ²⁾東北大学・農学研究科)

Brassica 属およびその近縁属 53 種 119 系統について、1 花当たり花粉粒数、花粉粒長径、葯の長さ、1 花当たり胚珠数、花粉-胚珠比 (pollen-ovule ratio) の 5 つの花器形質を調査した。これら 5 つの形質はすべて種間で大きな変異性を示し、特に 1 花当たり花粉粒数、1 花当たり胚珠数、花粉-胚珠比の変異が大きかった。花粉粒数は、*Eruca sativa* および *E. vesicaria* の $23\text{--}24 \times 10^4$ 粒から *Diplotaxis viminea* の 0.3×10^4 粒まで、花粉-胚珠比では *Hutera repensis* の 19800 から *D. viminea* の 100 まで変異が認められた。花粉-胚珠比は 6 つの花器形質を用いた主成分分析の第 1 主成分値にあたる 1 花当たりエネルギーコストと有意な相関を示し、これら 2 つの指標はそれぞれの種の繁殖様式と密接

に関係していた。最も低い花粉-胚珠比と最小の 1 花当たりエネルギーコストを示した植物は絶対的自殖性植物種であった。一方、他殖性植物種はそれより高い花粉-胚珠比と大きな 1 花当たりエネルギーコストを示したが、これら 2 つの指標は種によって大きく異なっていた。条件的自殖性植物種である *Brassica* 属の複二倍体栽培種の花粉-胚珠比と 1 花当たりエネルギーコストの値は他殖性植物種の範囲の中にあり、1 花当たりエネルギーコストはそれぞれの両親種の中間を示したが、花粉-胚珠比は他殖性の両親種より低かった。これらの結果に基づいて花粉-胚珠比と植物の適応戦略との関連を考察した。

Breeding Science 58: 385–392 (2008)

ツルマメ (*Glycine soja* Sieb. et Zucc.) の高ルテイン形質の遺伝解析および成分特性の解析

金丸京平・王 紹東・山田哲也・阿部 純・喜多村啓介

(北海道大学大学院・農学院)

著者らはこれまでに多数の遺伝資源のダイズおよびツルマメ品種・系統の探索により、機能的成分であるルテインの含量が高いツルマメ系統を見出した。本研究ではツルマメの高ルテイン形質について、ダイズ品種と高ルテインツルマメ系統との交配に由来する3つの集団を用いて遺伝解析を行った。その結果、ダイズ系統「十育241」×高ルテインツルマメ系統「B09092」の交配に由来するF₂種子のルテイン含量は両親間に連続分布を示し、ツルマメ親「B09092」並みの種子を認めた。「十育241」×「B09092」およびダイズ品種「トヨムスメ」×高ルテインツルマメ系統「GD50344」のF₂種子で推定された広義の遺伝率はそれぞれ0.555と0.667であった。また、ダイズ系統「TK780」×高ルテインツルマメ「B01167」のF₉種子とF₁₀種子のルテイン含量は高い正の相関(r=0.784)を示した。これらの結果は高ルテ

イン形質が遺伝形質であることを示唆している。ダイズ品種「トヨムスメ」×ツルマメ「GD50344」のF₃種子において、高ルテイン形質とツルマメ特有の小粒形質との間に相関関係は認められなかった。一方、3集団において、ルテイン含量と開花期との間に有意な正の相関関係を認めた。また、高ルテインツルマメ系統では、主要なルテインに加え、ネオキササンチン、ピオラキササンチンおよびアンセラキササンチン等のキサントフィル類を検出した。これらのキサントフィル類は、高ルテイン含量を示す交配後代の種子においても検出され、これらのキサントフィル類とルテイン含量との間に正の相関を認めた。このことから、ツルマメに由来する高ルテイン形質は、ルテインを含めたキサントフィル類の生合成系または代謝系の変異によると考察した。
Breeding Science 58: 393–400 (2008)

SSR マーカーによる実ウメおよび花ウメの遺伝的多様性の解析

林 恭平^{1,2)}・島津 康²⁾・八重垣英明³⁾・山口正己³⁾・池谷祐幸^{1,3)}・山本俊哉^{1,3)}

(¹⁾筑波大学大学院・生命環境科学研究科, ²⁾和歌山県農林水産総合技術センター, ³⁾果樹研究所)

日本由来の実ウメ56品種と花ウメ55品種、中国由来の8系統、台湾由来の7系統、タイ由来の1系統を含む127のウメ (*Prunus mume* Siebold et Zucc.) 品種・系統について、SSR マーカーにより遺伝的多様性を評価した。モモやアンズで開発された58種類のSSR マーカーのうち、39種類がウメで1–2本の増幅バンドを生じ、種を越えて利用可能であることが示唆された。そのうち、明瞭な増幅と高い多型性を示した14種類のSSR マーカーを選んで解析に用いた。14種類のSSR マーカー(座)でウメを解析した結果、155の推定対立遺伝子(平均11.1)が得ら

れた。ヘテロ接合度の観察値(H_o)と期待値(H_e)は、それぞれ0.29–0.88(平均0.61)、0.32–0.92(平均0.68)であった。ウメ127品種・系統とアンズ3品種で作成した樹形図では、1)アンズと豊後系のウメ、2)台湾とタイ由来の系統、3)日本と中国由来の実ウメと花ウメの3つのグループに大別された。本研究では、実ウメと花ウメの間に明確な遺伝的な差異は検出されず、花ウメから実ウメが選抜されてきたという従来からの仮説を支持した。

Breeding Science 58: 401–410 (2008)

ヒノキ挿し木品種ナンゴウヒにおけるクローン間の遺伝的關係と遺伝的起源

後藤 晋¹⁾・高橋 誠²⁾・松本麻子³⁾・家入龍二⁴⁾・津村義彦³⁾

(¹⁾東京大学大学院・農学生命科学研究科, ²⁾森林総合研究所・林木育種センター, ³⁾森林総合研究所, ⁴⁾熊本県森林保全課)

ナンゴウヒはヒノキの栽培品種で、挿し木で増殖され複数のクローンが事業的に利用されている。本研究では、10個の多型的なマイクロサテライトマーカーを用いて、ナンゴウヒの遺伝的多様性、構成クローン間の遺伝的關係、その遺伝的起源について、ヒノキ天然集団と比較しながら評価した。天然集団と比べて、ナンゴウヒの遺伝的多様性は低く、構成クローンは遺伝

的に近縁であった。父性解析の結果、古い神社や寺院によく見られるクローンN14は、他の11クローンと親子関係にある可能性が示された。11クローンのうち、N6とN13はそれぞれ8座と7座の遺伝子型がN14と一致しており、これら2クローンはN14と遺伝的に近縁な個体との交配によって生じたものと推察された。25のヒノキ天然集団を候補としたアサインメントテ

ストによって、ナンゴウヒ各クローンがそれぞれの天然集団に由来する確率を推定した結果、多くのクローンについて九州地方の英彦山、四国地方の別子山が起源集団の可能性があると判定された。しかし、いずれの天然集団も起源ではないと判定されたクローンも複数認められた。以上の結果から、今後のナン

ゴウヒの育種のあり方として、ナンゴウヒと近縁関係にないヒノキ精英樹との交配、起源集団の可能性が高い天然集団からの再選抜、という2つが検討できると考えられた。

Breeding Science 58: 411–418 (2008)

日本型水稻品種間の交雑に由来する組換え自殖固定系統群を用いた炊飯米の粘りに関する QTL の検出

小林麻子・富田 桂

(福井県農業試験場)

2つの日本型水稻品種「さきひかり」および「日本晴」の交雑に由来する組換え自殖固定系統群 (RIL) を用いて、炊飯米の粘りに関する QTL 解析を行った。「さきひかり」の炊飯米は強い粘りを持ち極良食味であるが、「日本晴」の炊飯米は粘りが少なく食味が劣る。RIL188 系統を 2005, 2006 および 2007 年に栽培し、炊飯米の粘りを官能試験により評価するとともに、白米のアミロース含有率およびデンプンの糊化特性 (最高粘度, 最低粘度, 最終粘度, ブレークダウンおよびコンシステンシー) を測定した。連鎖地図は 113 種の SSR マーカーを用い、MAPMAKER/EXP3.0 により作成した。QTL 解析は Windows QTL Cartographer 2.5 における複合インターバルマッピング法により行った。その結果、粘りに関する 6 つの QTL を第 1, 3 (2カ所), 6, 7 および 8 染色体に検出し、いずれも「さきひかり」の対立遺伝子が粘りを増加させた。その中で、第 3 染色体短腕上の qST3-1 は、

3 年間の試験において共通して検出されたが、その他の QTL は 1 年のみで検出された。qST3-1 は粘りに関する遺伝子を含む有望な領域であると考えられた。アミロース含有率に関する 2 つの QTL を第 1 および 2 染色体に、糊化特性に関する 19 の QTL を第 1, 3, 4, 6, 7, 8, 10 および 12 染色体に検出した。RIL の粘りは糊化特性と有意な相関関係があり、またいくつかの糊化特性に関する QTL は粘りに関する QTL 領域と同じ領域に検出された。一般に炊飯米の粘りはアミロース含有率と関係があるとされるが、本研究の結果から、RIL の粘りには糊化特性とも強い関係があることが示唆された。本研究で得られた炊飯米の粘りに関する QTL 情報は、食味についての DNA マーカー選抜システムの確立に有用であると考えられる。

Breeding Science 58: 419–426 (2008)

水稻品種コシヒカリの食味および理化学的特性に関わる QTL のマッピング

和田卓也・尾形武文・坪根正雄・内村要介・松江勇次

(福岡県農業総合試験場)

日本型水稻の食味に関わる染色体領域を明らかにし、食味に関する DNA マーカー選抜システムを構築するために、コシヒカリの食味に関する QTL 解析を行った。遺伝的に近縁な森多早生 (食味劣) とコシヒカリ (食味優) の交配後代から養成した RI 系統を用いた。食味官能試験は、総合 (OE), 外観 (LO), 味 (TA), 粘り (ST), 硬さ (HA) の 5 項目について 3 年間 (F₇ ~ F₉) 行い、各項目別に QTL 解析を行った。QTL 解析の結果、第 5 染色体を除く 16 領域に計 43 個の食味に関する QTL が検出された。第 1, 3, 6, 7, 10 染色体上の QTL は複数年にわたっ

て共通に認められた。全 QTL のうち、37 個の QTL において、コシヒカリ型の対立遺伝子が食味を向上させる作用を有していた。理化学的特性に関する QTL 解析では、炊飯米のテクスチャーに関する 8 個の QTL, 白米のアミノ酸割合に関与する 3 個の QTL が各々見出された。これら理化学的特性に関わる QTL のうち、第 1, 3, 6, 7 の各染色体上の QTL は食味の QTL の近傍に検出された。

Breeding Science 58: 427–435 (2008)

コシヒカリの食味に關与する第3染色体短腕上の QTL のマッピング

竹内善信¹⁾・堀 清純²⁾・鈴木啓太郎³⁾・野々上慈徳⁴⁾・竹本陽子¹⁾・前田英郎¹⁾・佐藤宏之¹⁾・平林秀介¹⁾・太田久稔¹⁾・石井卓郎¹⁾・加藤 浩¹⁾・根本 博¹⁾・井辺時雄^{1,5)}・大坪研一^{3,6)}・矢野昌裕²⁾・安東郁男¹⁾
(¹⁾作物研究所, ²⁾農業生物資源研究所, ³⁾食品総合研究所, ⁴⁾農林水産先端技術研究所, ⁵⁾現:九州沖縄農業研究センター, ⁶⁾現:新潟大学)

良食味の稲品種コシヒカリの米飯の食味官能値に關与する QTL を探索するために、コシヒカリと米飯の光沢、うま味、粘りが少なく、硬く食味の劣る日本晴との交雑に由来する日本晴の戻し交雑系統群 (BILs) とコシヒカリの BILs を用いて QTL 解析を行った。各系統の米飯の食味官能試験は、光沢、うま味、粘り、硬さおよび総合評価値の 5 項目で行った。各項目について QTL 解析を行ったところ、10 個の QTLs が第 3 (短腕末端と長腕)、第 6 および第 11 染色体上の 4 領域に見出された。これら

のうち、第 3 染色体の短腕末端上の 5 個の QTLs は、両 BILs において共通に見出され、コシヒカリの対立遺伝子が食味を良くする方向に作用していた。さらに、この第 3 染色体の短腕末端上の QTLs は、日本晴の遺伝的背景に QTLs 領域をコシヒカリの染色体断片に置換した染色体断片置換系統を用いても存在が確認できた。

Breeding Science 58: 437-445 (2008)

2 種のダイズ高オレイン酸突然変異体 M23 と KK21 では、小胞体型オメガ -6 脂肪酸不飽和化酵素をコードする *GmFAD2-1a* 遺伝子が破壊されている

穴井豊昭¹⁾・山田智子¹⁾・秀島溜満子¹⁾・木下剛仁^{1,2)}・Shaikh M. Rahman^{1,3)}・高木 胖¹⁾
(¹⁾佐賀大学・農学部, ²⁾佐賀県農業試験研究センター, ³⁾近畿中国四国農業研究センター)

オレイン酸含有量の増加は、ダイズ (*Glycine max* (L.) Merr.) の主要な育種目標の一つである。以前、我々は X-線照射によって、2 種類の高オレイン酸ダイズ突然変異体 M23 および KK21 を作出した。我々は、これらの変異体において、小胞体型オメガ -6 脂肪酸不飽和化酵素をコードする遺伝子に変異を生じたのではないかと予測した。本研究の目的は、*GmFAD2* 遺伝子ファミリーのうち登熟中の種子におけるオレイン酸の生合成に貢献しているメンバーを明らかにするとともに、これらの突然変異遺伝子の解析を行うことにより、高オレイン酸ダイズの育種に利用可能な分子マーカーを確立することである。登熟中の種子では 3 種類の *GmFAD2* 遺伝子が発現しており、このうち

GmFAD2-1a と *GmFAD2-1b* の遺伝子産物は、*GmFAD2-2a* のものより高い活性を示すことが明らかになった。また、我々は M23 と KK21 の *GmFAD2-1a* 遺伝子において異なる突然変異が生じていることを明らかにし、スクレーパーゼによって切断した DNA 断片の多型により、KK21 変異体と野生型の対立遺伝子座を見分けるための新たな分子マーカーの開発も行った。これらの情報は M23 もしくは KK21 由来の突然変異遺伝子を使用したダイズの油脂品質の改良、および新規の高オレイン酸ダイズ突然変異体のスクリーニングの際に有用であると考えられる。

Breeding Science 58: 447-452 (2008)

キュウリ (*Cucumis sativus* L.) における草型に關する QTL の検出

Xiao Zun Li¹⁾・Xiao Jun Yuan¹⁾・Su Jiang¹⁾・Jun Song Pan¹⁾・Si Li Deng¹⁾・Gang Wang¹⁾・Huan Le He¹⁾・Ai Zhong Wu¹⁾・Li Huang Zhu²⁾・木庭卓人³⁾・Run Cai¹⁾

(¹⁾School of Agriculture and Biology, Shanghai Jiaotong University, ²⁾Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, ³⁾千葉大学大学院・園芸学研究所)

中国におけるキュウリ育種の効率を改良するために、我々はこれまで果実および花の形質に關する QTL をマッピングした。本研究では、温室内で測定した側枝数 (LBN)、側枝全長 (LBTL)、主枝長 (MSL)、節間長 (INL)、主枝径 (MSD)、および葉柄長 (PL) の草型 6 形質に關する QTL のマッピングを行った。6 形質に対し 14 の QTL が同定され (LBN, 3; LBTL, 2; MSL, 3; INL, 2; MSD, 2; PL, 2)、それぞれの相対的遺伝率

は 1.6% ~ 29.5% であった。4 形質 (LBN, LBTL, MSL, INL) の 5 つの QTL は、有意な (P=0.05) QE 交互作用が認められた。この 6 形質における広義の遺伝率は、8.5% ~ 47.0% であった。本研究で検出した QTL 並びに前報における果実と花の形質に關する QTL は、中国におけるマーカー選抜によるキュウリの有望品種育成に役立つであろう。

Breeding Science 58: 453-460 (2008)

T_m-shift タイピング法に基づく一塩基多型マーカー設計の標準工程の開発

福岡浩之・宮武宏治・根来里美・布目 司・大山暁男・山口博隆

(農研機構・野菜茶業研究所)

一塩基多型 (SNPs) マーカー開発の標準工程を確立する目的で, 安価かつ省力的なマーカー化手法として期待される T_m-shift タイピング法の評価と改良を行った. 特殊な改変型酵素を用いる既報の手法を改変し安定したマーカー化成功率を得るため, SNPs の判別能に対してアリル特異的プライマーへのミスマッチ塩基の導入や異なる蛍光色素および DNA ポリメラーゼが与える影響について 100 を越えるナスの系統間 SNPs を題材として

詳細に検討した. また, 特殊な条件を要するため汎用ツールでは設計が難しいプライマーセットの自動設計プログラムを開発した. その結果に基づいて最適化された標準工程を用いることにより, 任意の一塩基多型について 80% を越えるマーカー化成功率が期待できることが示された.

Breeding Science 58: 461-464 (2008)

アブラムシ接種によるサツマイモ帯状粗皮病抵抗性検定法の確立とウイルス抵抗性組換えサツマイモの抵抗性評価

岡田吉弘¹⁾・岩井 久²⁾・齋藤 彰¹⁾

(¹⁾九州沖縄農業研究センター, ²⁾鹿児島大学・農学部)

サツマイモ帯状粗皮病は, サツマイモ斑紋モザイクウイルス強毒系統 (SPFMV-S) により引き起こされるサツマイモの最重要病害の一つであるが, 未だ有効な抵抗性遺伝資源も見出されておらず, 抵抗性育種は困難である. 我々は, これまでに本ウイルスの外被タンパク質遺伝子を導入した組換えサツマイモを作出し, 自然発病した株を用いた接ぎ木接種により, 組換え体が複数の SPFMV 系統に対しても抵抗性を示すことを報告している. しかしながら, 本ウイルスはモモアカアブラムシにより非永続伝播されると言われており, 実用化を目指した場合, 媒介昆虫を用いた接種検定が必要である. そこで本報では, 媒介昆虫であるモモアカアブラムシを用いた帯状粗皮病ウイルスの接種検定法を確立し, 組換え体の抵抗性の再評価を実施した. 本病はモモアカアブラムシにより伝播されると言われているが, 罹病株から健全株へ媒介昆虫を用いて伝播させた報告は無く, 状況証拠として汚染圃場にモモアカアブラムシが飛来している事, モモアカアブラムシは特に多くの種類のウイルスを伝播する事, およびアサガオへは一部伝播が可能であった事が報告されているのみである. 従って, まずは予備試験として一般的な

非永続伝播型ウイルスの接種法を試み, RT-PCR により検定した. その結果, 明瞭なウイルス由来のシグナルは検出されなかったが, 根を検定材料とした際に, 不明瞭ながらウイルス由来と考えられるシグナルが得られた. そこで検定部位に根を用いる事とし, 接種条件を改変した試験を試みた. その結果, 根では確実にウイルスの感染・増殖が確認できたが, 葉を用いた場合では, 検定する葉によりばらつきが見られ, 罹病株の株内でのウイルス濃度のばらつきとも一致した. 従って, 検定部位には生育の旺盛な根を用いることが望ましいと考えられた. 本手法による繰り返し試験においても確実にウイルスの感染・増殖を確認できたことから, 組換え体 4 系統についての接種検定を実施した. その結果, 非組換え体 (健全株) からは接種によりウイルス由来のシグナルが確認されたが, 組換え体からはシグナルは検出されず, いずれの組換え体も抵抗性を示す結果が得られた. 以上の事から, このウイルス抵抗性組換えサツマイモは, 圃場においても抵抗性を発揮できる可能性が示唆された.

Breeding Science 58: 465-468 (2008)

イタリアンライグラス (*Lolium multiflorum* Lam.) ゲノム由来の病害抵抗性遺伝子アナログのマッピング

三浦優一^{1,2)}・丁 成龍^{1,3)}・平田球子¹⁾・高橋 亘^{1,4)}

(¹⁾(社)日本草地畜産種子協会・飼料作物研究所, (²⁾現:(社)日本草地畜産種子協会・九州試験地, (³⁾現:江蘇省農業科学院, (⁴⁾現:農研機構・畜産草地研究所)

イタリアンライグラスにおける既報の病害抵抗性遺伝子アナログ (resistance gene analog; RGA) を利用して, NBS (nucleotide-binding site)-LRR (leucine-rich repeat) 遺伝子群と相同性をもつゲノミック DNA 塩基配列断片を連鎖地図上にマッピングした. この RGA 群については, 植物における既知の病害抵抗性遺伝子 (R-genes) で多く認められる NBS ドメインのアミノ酸配列保存領域を基に設計した degenerate プライマーを利用して nested-PCR 法によりクローニングされており, さらに, これら RGA 断片を効率よく増幅するための STS (sequence-tagged sites) 化プライマーの作製がなされている. イタリアンライグラス連鎖地図上に, RGA クローン群をマッピングするために, F₁ 解析集団を用いて RGA の制限酵素消化断片長による DNA 多型検出を試みた. そ

の結果, 供試した 50 個の RGA のうち, 11 個において解析集団内での多型が確認された. 次に, 多型が検出された RGA マーカーの遺伝子型データをもとに, JoinMap version 3.0 を用いて連鎖解析を行った. その結果, AFLP (amplified fragment length polymorphism) マーカー, SSR (simple sequence repeat) マーカーおよび EST (expressed sequence tag) 由来 CAPS (cleaved amplified polymorphic sequence) マーカーによって構築された 7 連鎖群からなる連鎖地図上に, 11 個の RGA うち 10 個がマッピングされた. この知見は, 病害抵抗性関連遺伝子に連鎖する新規 DNA マーカーを明らかにするために有用であると考えられる.

Breeding Science 58: 469–473 (2008)

キュウリ (*Cucumis sativus* L.) における 101 の新規 SSR マーカーの開発と SSR マーカーベースの連鎖地図の作成

吹野伸子¹⁾・吉岡洋輔¹⁾・久保中央²⁾・平井正志²⁾・杉山充啓¹⁾・坂田好輝¹⁾・松元 哲¹⁾

(¹⁾野菜茶業研究所, (²⁾京都府立大学大学院・生命環境科学研究科)

キュウリ (*Cucumis sativus* L.) は世界的に重要な野菜であるが, これまでに報告されている simple-sequence repeat (SSR) マーカーの数は少なく, SSR マーカーでゲノム全体をカバーする連鎖地図を作成するには不十分である. そこで, SSR 濃縮ライブラリーから, 2304 クローンの塩基配列を決定して SSR マーカーの開発を行った. *C. sativus* および *C. melo* (メロン) 各 3 品種・系統を用いて, 開発したマーカーの増幅および多型を調査した. その結果, *C. sativus* と *C. melo* の両方またはいずれかで種内多型の検出が可能である 101 マーカーを見出した. *C. sativus* においては, これら 101 マーカーはすべて増幅が可能であり種内で多型を示したマーカーが 91 個あった. *C. melo* では, 32 マーカーでは増幅が見られなかったが 41 マーカーが種内で

多型を示した. 本研究で開発した SSR マーカー, これまでにキュウリとメロンで報告されている SSR マーカーおよび sequence-characterized amplified region (SCAR) マーカーを用いて, 「PI197088-1」と「山東」の交雑後代由来の組換え型自殖系統 113 系統の解析を行った. 作成した連鎖地図は, SSR マーカー 120 個および SCAR マーカー 6 個が座乗し, 全長 625.7 cM, 8 連鎖群からなっている. 過去に報告された連鎖地図と共通のマーカーは 22 個であった. 本連鎖地図はキュウリで初めての SSR マーカーベースの連鎖地図であり, さらにマーカーを追加することにより標準連鎖地図として利用できるかと期待される.

Breeding Science 58: 475–483 (2008)