

キュウリにおける *FT/TFL1* ジーンファミリーの同定とその特徴付け

佐藤宏行¹⁾・Heang Dany²⁾・佐々英徳²⁾・木庭卓人²⁾

(¹⁾千葉大学大学院・自然科学研究科, ²⁾千葉大学大学院・園芸学研究科)

シロイヌナズナでは *FLOWERING LOCUST (FT)* と *TERMINAL FLOWER 1 (TFL1)* が植物体の伸育性を制御しており、無限伸育性と有限伸育性の違いに寄与している。キュウリの伸育性もこれらのホモログによって制御されている可能性がある。日本では、無限伸育性のキュウリ品種が多く栽培されているが、今後、有限伸育性の栽培品種の育成が必要になると考えられる。そこで本研究では、キュウリにおいて1つの *FT* ホモログと5つの *TFL1* ホモログを単離し、これらのホモログのゲノム構成、他

種 *FT/TFL1* ホモログとの類縁関係、発現パターンを明らかにした。また、連鎖解析の結果、*FT* ホモログと1つの *TFL1* ホモログが伸育性に関連する遺伝子座 *de* とは連鎖していないことが明らかにされた。その一方、2つの *TFL1* ホモログの発現パターンが無限伸育性と有限伸育性の栽培品種の間で大きく異なっており、伸育性との関連が示唆された。

Breeding Science 59: 3–11 (2009)

イネにおける無根毛遺伝子 *rth1* のクローニング

湯尾崇央¹⁾・豊田正範¹⁾・一井眞比古²⁾・武田 真³⁾

(¹⁾香川大学・農学部, ²⁾香川大学, ³⁾岡山大学・資源生物科学研究所)

根毛は、根表皮細胞が変形して形成される突起であり、養水分吸収、植物体の支持などの重要な役割を担うと考えられている。しかし、イネ (*Oryza sativa* L.) の根毛に関する遺伝学的研究は少ないのが現状である。本研究では、オオチカラのアジ化ナトリウム処理で誘発された無根毛突然変異体 *root hairless 1 (rth1)* を用いて、本変異体の表現型の特徴と無根毛性の原因遺伝子の単離を試みた。走査電子顕微鏡による根毛の形態観察で *rth1* ではバルジが形成されるが、その後の伸長が見られなかった。ファインマッピングを行った結果、*rth1* は第7染色体長腕側約 38 kb の範囲に絞込まれた。その範囲内には3つの候補遺伝子が予測された。オオチカラと *rth1* 間でこれら候補遺伝子のシーケンスを比較したところ、アピラーゼ遺伝子 (*OsAPY*)

でスプライシング異常を引き起こすとみられる1塩基置換が見つかり、*OsAPY* が *rth1* の有力な候補と考えられた。相補性検定を行ったところ、正常な *OsAPY* を変異体に導入した形質転換体の根毛、草丈および根長は、野生型と同程度に回復した。アピラーゼは、NTPs および ADP を NMP に加水分解する酵素である。植物体内の ATP 含有量を調査した結果、*rth1* の根における ATP 含有量はオオチカラの約2倍であった。これらの結果から、*rth1* の無根毛性、短根性および地上部に見られる矮性などの表現型は、*OsAPY* の異常に伴い、ATP を加水分解できず成長に必要なエネルギーが不足するためか、あるいは ATP を放出できずに根表面の細胞外 ATP レベルが低下したためと推測された。

Breeding Science 59: 13–20 (2009)

野生オオムギ (*Hordeum spontaneum*) の超乾燥感受性クチクラ突然変異 *eibil* のマッピング

陳 国雄^{1,2)}・小松田隆夫¹⁾・Mohammad Pourkheirandish¹⁾・Mohammad Sameri¹⁾・佐藤和広³⁾・

Tamar Krugman⁴⁾・Tzion Fahima⁴⁾・Abraham B. Korol⁴⁾・Eviatar Nevo⁴⁾

(¹⁾農業生物資源研究所, ²⁾中国科学院・寒冷乾燥地域環境工学研究所, ³⁾岡山大学・資源生物科学研究所, ⁴⁾Institute of Evolution, University of Haifa)

超乾燥感受性の野生オオムギ突然変異系統 *eibil* は単一劣性遺伝することが明らかになった。この突然変異系統と品種 Morex 或は他の野生オオムギ系統を交配して作成した F₂ 分離集団を使って *eibil* 遺伝子のマッピングを行った。*eibil* と連鎖するマ

イクロサテライトマーカーの探索から *eibil* はオオムギ 3H 染色体に座乗することが明らかになった。さらにオオムギ 3H 染色体の上に座乗する複数のマイクロサテライトと EST マーカーを用いて連鎖地図を作成した。*eibil* は EST マーカーである

AV918546 と強く連鎖して組み換えないことから同染色体の bin 6 に存在する事が明らかになった。オオムギとイネのシンテニーはこの領域に関して乱れが認められ、種間における地図距離に

大きな相違と複数の逆位が認められた。

Breeding Science 59: 21-26 (2009)

陸稲 NERICA 品種と *Oryza sativa* L. または *O. glaberrima* Steud の F₁ 雑種における種子稔性

池田良一^{1,2)}・惣慶 嘉^{1,2)}・Inoussa Akintayo¹⁾

(¹⁾アフリカイネイニシアティブ (ARI) —アフリカイネセンター (WARDA), (²⁾国際協力機構 (JICA))

NERICA (New Rice for Africa) 品種を *Oryza sativa* L. と *O. glaberrima* Steud に交配した。NERICA と *O. glaberrima* の 2 系統に交配して得られた F₁ 雑種は全て不稔となったが、*O. sativa* との F₁ 雑種は、組合せによって稔実歩合が異なった。その結果、NERICA 品種を次の 3 つのグループに分類できた。すなわち、(1) インド型と日本型の両方に交雑親和性を示すもの (NERICA12, NERICA15, NERICA16, NERICA17 および NERICA18), (2) 日本型には交雑親和性を示すが、インド型には交雑不親和となるもの (NERICA3, NERICA4, NERICA7, NERICA8, NERICA9, NERICA11, NERICA13 および NERICA14), (3) 日本型にもイ

ンド型にも交雑不親和となるもの (NERICA1) である。第 1 のグループの内、NERICA15 ~ NERICA18 は、同じ交配組合せ (CG 14/3*WAB 181-18) に由来しており、いずれも *O. glaberrima* の細胞質を持つ。このように、いくつかの NERICA 品種は、インド型と日本型の両方に交雑親和性を示したが、*O. sativa* と *O. glaberrima* 両栽培種間の「橋渡し品種」となるものは見出せなかった。本試験で得られた結果は、今後さらに交雑を通じて NERICA 品種を改良するための有用な情報になると思われる。

Breeding Science 59: 27-35 (2009)

ストレスによるニンジンの不定胚誘導系を用いた胚特異的遺伝子の単離

田中元気・菊池 彰・鎌田 博

(筑波大学・生命環境科学研究科 遺伝子実験センター)

高等植物の細胞では、胚発生の初期段階における生理反応や、その反応に関与する遺伝子について、ほとんど知られていない。ニンジンは、受精胚発生のモデルとなる不定胚形成の研究に適した植物である。ストレスによるニンジン不定胚形成の誘導系は、ストレス処理を強くするにつれ、ある種の胚特異的遺伝子の発現や胚発生能力を高めることができるので、胚発生の際に発現する遺伝子を単離するのに有効である。本研究では、ニンジンの不定胚においてストレスにより誘導される遺伝子を単離するため、蛍光ディフレンシャルディスプレイ (FDD) 法を行い、胚的組織に特異的な 5 つの遺伝子を単離した。またこの

うちの 1 つの遺伝子は、受精胚発生の魚雷型初期の段階までに発現を終えた。この結果は、ストレスによるニンジンの不定胚誘導系では、胚発生の初期段階に発現する胚特異的な遺伝子が、ストレス処理による不定胚誘導の際に、胚発生能力の獲得とともに発現誘導されることを示唆している。本研究では、適切な実験系と FDD 法を組み合わせることにより、胚発生初期に発現する特徴的な遺伝子をニンジンから単離することが出来た。このような遺伝子単離のアプローチは、ゲノム情報が整備されていない多くの植物種でも実施可能であると考えられる。

Breeding Science 59: 37-46 (2009)

穀粒中の (1-3,1-4)-β-D-グルカン欠失に関するオオムギ 7H 染色体上の突然変異遺伝子

塔野岡卓司¹⁾・青木恵美子¹⁾・吉岡藤治¹⁾・武田 真²⁾

(¹⁾農研機構・作物研究所, (²⁾岡山大学・資源生物科学研究所)

(1-3,1-4)-β-D-グルカンはオオムギの胚乳細胞壁の主要構成多糖であり、アラビノキシランとともに細胞壁のマトリクスを構成している。穀粒中の (1-3,1-4)-β-D-グルカン欠失に関する 1 因

子劣性の突然変異遺伝子を見だし、*bgl*(=(1-3,1-4)-beta-D-glucanless) と命名した。*bgl* は裸性遺伝子 (*mud*) と連鎖しており、7H 染色体上の動原体付近にマッピングされた。*bgl* 座にお

ける表現型は、セルロース合成酵素様遺伝子 (*Csl*) のサブファミリーの一つで、オオムギにおけるホモログである *HvCslF6* 座における多型と完全に共分離したことから、*bgl* は *HvCslF6* 座の変異と考えられた。(1-3,1-4)- β -D-グルカンを欠失するオオムギ穀粒の特性を明らかにするため、日本の二条オオムギ品種「ニシノホシ」を遺伝的背景とする準同質遺伝子系統を作出した。

bgl を有する準同質遺伝子系統は、胚乳および糊粉層の細胞壁において(1-3,1-4)- β -D-グルカンを完全に欠失しており、胚乳細胞壁は薄く、穀粒は軟質で、搗精による砕粒の発生が多いことが明らかとなった。準同質遺伝子系統におけるこれらの穀粒の物性は、胚乳細胞壁が薄いことによると考えられた。

Breeding Science 59: 47–54 (2009)

葉緑体 DNA の繰り返し配列多型からみた栽培ダイコンの多起原性と高い遺伝的多様性

山根京子^{1,2)}・律 那¹⁾・大西近江¹⁾

(¹⁾京都大学・農学研究科, ²⁾大阪府立大学・生命環境科学研究科)

栽培ダイコン 59 系統、ならびにダイコン属の野生種 3 種 23 系統の合計 82 系統について、葉緑体 DNA の繰り返し配列 (cpSSR) 25 座が調査され、多型的な 7 座と 20 のハプロタイプが見出された。また、種間および地域間におけるハプロタイプの分布が詳細に調査された。栽培および野生ダイコンのハプロタイプ間の系統関係を明らかにするため、ネットワーク推定 (MSN) が用いられ、この MSN から、ダイコンでは、黒ダイコンならびに全く異なる cpSSR ハプロタイプを持つ 2 つの栽培ダイコン群が関与する、少なくとも 3 回の独立した栽培化が生じたという証拠が得られた。2 つの異なるハプロタイプのうちの

ひとつは、アジアにのみ分布していた。このことはアジアの栽培ダイコンが地中海地域の栽培ダイコン、あるいは野生ダイコンよりも高い cpSSR 多様性を持っていることを示す。またこれらのデータは、栽培ダイコンの農業形質の分布および多様性と一致する。それと同時に、以上のことは、アジアの栽培ダイコンはヨーロッパの栽培ダイコンから派生的に生じたものではなく、むしろヨーロッパの栽培ダイコンとは異なる野生祖先種から起原した可能性を示している。しかしながら、本研究ではアジアの栽培ダイコンの野生祖先種を特定するには至らなかった。

Breeding Science 59: 55–65 (2009)

北陸・東北地方におけるオオムギ雲形病菌 (*Rhynchosporium secalis*) のマイクロサテライトフィンガープリンティングと抵抗性品種育成のための遺伝資源

竹内一成・福山利範

(新潟大学大学院・自然科学研究科)

北陸・東北地方において、2004 年および 2005 年に採集したオオムギ雲形病菌 (*Rhynchosporium secalis*) 107 菌株の病原性およびマイクロサテライトハプロタイプの変異を調査した。18 の判別品種への接種試験から 58 病原型が同定され、調査地域では優占する病原型が明確ではなく、病原性変異は極めて多様であることが明らかになった。18 判別品種の中で *Osiris* が全菌株に対して極めて安定な抵抗性を示した。同じ既知の真性抵抗性遺伝子を有する幾つかの判別品種でも病原型に対する反応が異なることから、これらの判別品種は、日本の菌株に対して特異的に作用する未知の抵抗性遺伝子を有すると考えられる。13 のマ

イクロサテライトマーカーによって 63 ハプロタイプが同定され、6 つのクラスター (I–VI) に分類された。クラスター I および III は広域に分布しており、残る 4 クラスターは分布域が限られていた。クラスター VI は山形県にのみ分布しており、このクラスターに属する菌株は、他の 5 つのクラスターの菌株よりも多くの判別品種に病原性を示した。従って、クラスター VI の病原型に対する抵抗性育種には、*Osiris* を含む幾つかの品種が遺伝資源として推奨された。最後に、マイクロサテライトマーカーを用いたモニタリングの可能性についても検討した。

Breeding Science 59: 67–75 (2009)

レンズマメにおける新規マイクロサテライトマーカーの開発および遺伝的多様性の解析への応用

Aladdin Hamwiah¹⁾・Sripada M. Udupa²⁾・Ashutosh Sarker¹⁾・Christian Jung³⁾・Michael Baum¹⁾

¹⁾International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA), ²⁾ICARDA-INRA Cooperative Research Project, International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA), ³⁾Plant Breeding Institute, Christian-Albrechts University Kiel)

レンズマメ (*Lens culinaris* subsp. *culinaris*) の新規マイクロサテライトマーカーを作成し、それらを用いて ICARDA (Aleppo-Syria) において開発されたレンズマメコアコレクションの遺伝的多様性を解析した。栽培型レンズマメ accession ILL5588 由来ゲノミックライブラリーのマイクロサテライト隣接領域から 14 個の新規マーカーを作成した。用いたコアコレクションは、8ヶ国由来の 57 個の栽培型 (18 の育成系統を含む)、および 11ヶ国由来の 52 の野生型の生殖質 (*L. culinaris* subsp. *Orientalis*, *L. culinaris* subsp. *tomentosus* および *L. culinaris* subsp. *odemensis*) を代表する、15ヶ国からの 109 accession を含んでいる。すべてのマイクロサテライト座にわたって検出されたアレル数は計 182

で、遺伝子座あたり平均 13 アレルであった。野生型 accession は 151 アレルで、栽培型の 114 アレルと比べアレルが豊富だった。野生型 accession のマイクロサテライト座における遺伝的多様性インデックスは 0.16 (*L. culinaris* subsp. *odemensis* の SSR28 座) から 0.93 (*L. culinaris* subsp. *Orientalis* の SSR66 座) で、平均して 0.66 であり、栽培型の遺伝的多様性は 0.03 (SSR28 座) から 0.87 (SSR207 座) で、平均 0.65 であった。クラスター分析により、栽培型と野生型の 2 つの大きなクラスターに分けられることがわかった。

Breeding Science 59: 77-86 (2009)

異なる遺伝的背景を持った栽培イネ (*Oryza sativa* L.) 間における根の形態および組織構造の変異

宇賀優作¹⁾・江花薫子¹⁾・阿部 淳²⁾・森田茂紀³⁾・奥野員敏^{1,4)}・矢野昌裕¹⁾

¹⁾農業生物資源研究所, ²⁾東京大学・生産環境生物学専攻, ³⁾東京大学・附属農場, ⁴⁾現: 筑波大学)

アジア栽培イネ (*Oryza sativa* L.) は品種間で多様な根の変異を示すが、遺伝的背景の異なる品種間における変異の違いについてはよくわかっていない。本研究では、異なる遺伝的背景の栽培イネ品種群間における根の形態および組織構造の違いを明らかにするために、形態に関する形質として根の長さ指数と深根率、組織構造に関する形質として根の太さ、中心柱断面積、後生木部導管 II 断面積および数の計 6 つの形質を 59 品種について調査した。59 品種は、179 個の RFLP の遺伝子型情報に基づき 3 つの品種群に分類されている (*japonica* 品種群 13 品種, *indica*-I 品種群 21 品種, *indica*-II 品種群 25 品種)。6 つの形質を

使った主成分分析の結果, *indica* 品種群に比べ, *japonica* 品種群は根組織構造の変異が広いことが分かった。とくに, *japonica* 品種群に属する陸稲は中心柱および導管構造のサイズが他の品種群よりも大きかった。一方, *indica* 品種群は, *japonica* 品種群よりも根系形態の変異が大きいことが分かった。2 つの *indica* 品種群のうち, *indica*-I 品種群は, *indica*-II 品種群よりも深根性で太い根を持つ品種が多かった。今回の結果から, *japonica* と *indica* 品種群間で根の特性について、それぞれ異なる遺伝変異を持っていることが分かった。

Breeding Science 59: 87-93 (2009)

アグロバクテリウム法によるサツマイモ近縁二倍体種, *Ipomoea trifida* の形質転換

掛田克行・浦林達矢・大橋知恵・小黒泰輔・神山康夫

(三重大学大学院・生物資源学研究所)

サツマイモの近縁二倍体種, *Ipomoea trifida* (Convolvulaceae) は、単一遺伝子座の S 複対立遺伝子によって支配される孢子体型自家不和合性 (SSI) を示す。 *I. trifida* において、形質転換植物の解析により S 遺伝子候補の機能証明を行うため、サツマイモのアグロバクテリウム法を変更し, *I. trifida* の効率的な形質転

換法を開発した。 *A. tumefaciens* 株として EHA101, バイナリーベクターとして CaMV 35S プロモーターに連結した *GUS* および *HPT* 遺伝子を含む pIG121-Hm を用いた。胚発生カルス (ECs) にアグロバクテリウムを感染後, 10mg/L ハイグロマイシンを含む培地上で選抜培養を行った。ハイグロマイシン耐性 (Hyg^R)

の ECs を生じるカルスクラスタの頻度は最大 84.5% に達し、それらからは形質転換植物の再分化が認められた。調査した Hyg^R の再分化植物はすべて 2 つの導入遺伝子をもち、GUS 遺伝子の全組織での発現と両導入遺伝子の安定的な後代への伝達

が確認された。本形質転換法は、*I. trifida* の種々の遺伝子型に適用できることから、この植物種の S 遺伝子の同定ならびに自家不和合性に関与する遺伝子の機能解析に有用と考えられる。

Breeding Science 59: 95–98 (2009)

ペチュニアの雌ざい側非 S 特異的自家不和合性因子 HT-B は HT 様遺伝子 HTL と密接に連鎖している

Alejandro Raul Puerta¹⁾・高川麻衣子²⁾・佐々英徳^{1,2)}

(¹⁾千葉大学大学院・自然科学研究科, ²⁾千葉大学・園芸学部)

Petunia inflata などのペチュニア野生種は S-RNase の関与する配偶体型自家不和合性を示す。配偶体型自家不和合性における花粉と雌ざいの間の「自己・非自己」の識別は S 遺伝子座領域に座乗する雌ざい側因子である S-RNase と花粉側因子である SLF によってなされる。一方、S 遺伝子座に連鎖していない遺伝子座も自家不和合性反応には必要であることが知られており、非 S 特異的因子と呼ばれている。ナス科では HT-B が雌ざい側非 S 特異的因子として知られている。ペチュニアでは、他のナス科植物と同様に HT-B が雌ざい側非 S 特異的因子として存在すること、また、HT-B に類似した配列を持つが自家不和合性には関

与しない遺伝子 HTL も存在することが報告されている。本研究では、これら 2 つの HT 様遺伝子に関する 146 個体の分離集団を解析し、HT-B と HTL とが完全連鎖していることを明らかにした。さらに、HT-B と HTL を同時に含む BAC クローンから、これら 2 つの遺伝子を含む約 16 kb の XhoI 断片をサブクローニングし、その全塩基配列 16,876 b を決定した。その結果、HTL は HT-B の 4,552 b 下流に位置し、両遺伝子の転写方向は同じであることを明らかにした。

Breeding Science 59: 99–101 (2009)

ガンマ線照射変異誘発による除草剤耐性形質転換シバ (*Zoysia japonica*) の非抽苔系統の作出

裴 泰雄¹⁾・金 俊起¹⁾・宋 仁子¹⁾・宋 諤永²⁾・林 平玉^{1,3)}・宋 似淳^{1,4)}・李 孝淵^{1,4,5)}

(¹⁾濟州大学・亜熱帯園芸産業研究所, ²⁾忠南大学・園芸学科, ³⁾濟州大学・科学教育科, ⁴⁾濟州大学・生命工学部, ⁵⁾濟州大学・放射線応用科学研究所)

我々は、これまでに商業的価値を持つと考えられる除草剤耐性形質転換シバの開発に成功している。除草剤耐性 GM シバは深刻な危険要因を示していないが、野生型や近縁種への外来遺伝子の流出は生態的・商業的懸念を引き起こす。外来遺伝子の逸出を防ぐ効果的な方法は、GM 植物体の受精能力を調節することである。そのため、本研究では、栄養繁殖能力を維持しながら生殖器官の発生に欠陥のある GM シバの開発を試みた。突然変異誘導に最適な条件を決定するために、10 から 50Gy のガ

ンマ線が受粉期の GM シバに照射された。ガンマ線非照射の GM シバはすべて正常な成長を見せたのに対し、9 個体 (4%) は栄養成長期から生殖成長期への転換において顕著な欠陥を示した。これらの GM シバは、自然光と無加温の温室において生殖器官を形成せずに 4 年間栄養繁殖を続けている。この方法は、コメカグサのような栄養繁殖にて栽培される他の GM 植物にも応用可能であると考えられる。

Breeding Science 59: 103–105 (2009)