

## 人為合成複二倍体 *Raphanobrassica* を利用したダイコン 1 染色体添加型ナタネの育成とその特性

赤羽美智子<sup>1,2)</sup>・金子幸雄<sup>1)</sup>・伊藤陽一<sup>1)</sup>・中田好美<sup>1)</sup>・房 相佑<sup>1)</sup>・松澤康男<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>宇都宮大学・農学部, <sup>2)</sup>東京農工大学大学院・連合農学研究科)

2 種類の人為合成複二倍体 *Raphanobrassica* (*Raphanus sativus*×*Brassica rapa*, 2n=38, RRAA および *R. sativus*×*B. oleracea*, 2n=36, RRCC) とナタネ (*B. napus*, 2n=38, AACC) との交雑をとおして、ダイコン (*R. sativus*, 2n=18, RR) 1 染色体添加型ナタネ (monosomic addition lines; MALs) の育成を試みた。交雑により得られた F<sub>1</sub> 植物に染色体倍加処理を行い、2 種類の異質八倍体植物 (RRAAAACC および AACRRCC) を作出した。これらにナタネを連続戻し交雑することによって、BC<sub>2</sub> 世代において初めて 1 染色体添加型植物 (2n=39) が得られた。1 染色体添加型植物におけるダイコン由来の染色体の同定は GISH 法を用いて行い、ダイコンの 9 本の染色体は、各染色体特異的 RAPD マーカーを用いて識別することができた。その結果、BC<sub>3</sub> と BC<sub>4</sub> 世

代において、異質細胞質型 (ダイコン細胞質) では 8 タイプ (h を除く a-i タイプ)、同質細胞質型 (ナタネ細胞質) では完全な 9 タイプ (a-i) のダイコン 1 染色体添加型ナタネを得た。これらの添加型植物は、細胞質や添加染色体の違いによって異なる形態学的・生理学的および細胞遺伝学的特性を示しており、ダイコンの a 染色体には異質細胞質型にみられる雄性不稔性の稔性回復遺伝子が、g 染色体には白色花弁に関する遺伝子が座乗している可能性が示唆された。以上のことから、2 種類のダイコン 1 染色体添加型ナタネは、ダイコンの各染色体が保有する農業的有用形質の評価やダイコンからナタネへの遺伝子導入を行う上で、有用な育種素材となると思われた。

**Breeding Science** 59: 109–118 (2009)

## リンドウ属植物における葉緑体 DNA 塩基配列および核 DNA 量からみた遺伝的類縁関係の推定

三柴啓一郎<sup>1)</sup>・山根京子<sup>1)</sup>・中塚貴司<sup>2)</sup>・中野友貴<sup>2)</sup>・山村三郎<sup>2)</sup>・阿部 潤<sup>3)</sup>・川村浩美<sup>3)</sup>・高畑義人<sup>4)</sup>・西原昌宏<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup>大阪府立大学大学院・生命環境科学研究科, <sup>2)</sup>(財) 岩手生物工学研究センター, <sup>3)</sup>岩手県農業研究センター, <sup>4)</sup>岩手大学・農学部)

リンドウ属遺伝資源を用いた育種を行うための基礎的知見を得ることを目的として、リンドウ属野生種 36 分類群、および栽培種 14 分類群の葉緑体 DNA 塩基配列および核 DNA 量を調査し、これらのデータから遺伝的類縁関係を推定した。葉緑体ゲノムの *trnL* (UAA) イントロン、*rpl16* コード領域、および *rpl16-rpl14* 遺伝子間スペーサー (IGS) 領域の塩基配列情報をもとに近隣結合法と最大節約法による系統樹を作成した。これらの結果は、従来の形態に基づく分類を概ね支持するものであったが、*G. cachemirica* と *G. yakushimensis* の 2 種は異なる分類群となった。また *rpl16* コード領域と *rpl16-rpl14* IGS 領域に 1ヶ所ずつ存在する一塩基多型によって、日本で主に育種に用いられている

*G. triflora* や *G. scabra* を含む *Pneumonanthe* 節、*Cruciata* 節、および *Kudoa* 節の 1 種 (*G. cachemirica*) から成る 30 分類群を 3 つのハプロタイプ (A ~ C) に分けることができた。フローサイトメトリーによる核 DNA 量解析の結果、ハプロタイプ A に属する分類群の核 DNA 量は 6.47 ~ 11.75 pg であったのに対し、ハプロタイプ B および C に属する分類群では、それぞれ 3.49 ~ 3.78 pg および 3.57 ~ 3.71 pg と共通して少なかった。本研究で得られた知見は、収集した遺伝資源をリンドウ育種に活用する上で有用である。

**Breeding Science** 59: 119–127 (2009)

## 熱中性子照射において種子の水分含量はアルファ粒子の生物学的効果比 (RBE) に影響を与えるが陽子の RBE には影響しない

鶴飼保雄<sup>1)</sup>・山口勲夫<sup>1)</sup>・高木 浩<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup>農業生物資源研究所・放射線育種場, <sup>2)</sup>宮崎大学・農学部)

熱中性子照射に先立ちホウ酸水溶液に 13 時間浸漬後再乾燥したオオムギ (*Hordeum vulgare* L.) 種子の水分含量がボロン添加効果 (BAE) およびアルファ粒子と陽子の生物学的効果比 (RBE) におよぼす影響を調べた。正常 (種子胚水分含量 10.21%), 低 (2.55%), および高 (28.0%) 水分含量間で, 種子の <sup>10</sup>B 吸収量に対する BAE の回帰が異なっていた。回帰係数は正常の水分含量で最も高く, 低水分が中間, 高水分で最も低かった。アルファ粒子の RBE も水分含量間で有意に異なり, 正常, 低および高水

分でそれぞれ 46.4, 37.4, 17.0 となった。それとは対照的に, 陽子の RBE は水分含量によって有意に異なることはなかった。異なる水分含量間におけるアルファ粒子の RBE 比は, ガンマ線感受性の比, BAE の比, 水分含量の比という 3 つの比の積によって表されることがわかった。アルファ粒子の BAE および RBE をともに高めるには, 種子の水分含量を正常 (約 10%) に調整することが重要であると結論された。

**Breeding Science** 59: 129–137 (2009)

## 物性測定機器を用いたキュウリ果実食感の定量的評価

吉岡洋輔・堀江秀樹・杉山充啓・坂田好輝

(野菜茶業研究所)

シャキシャキやパリパリなどの言葉で表現される果実の食感には, キュウリ果実の商品価値を決める重要な特性である。食感に関する試験研究や育種を行う際には果実物性の精度の高い評価が望まれるが, キュウリの果実物性は硬さなどの簡単に計測できる物性値を除いて, 評価者の心理による誤差が生じやすい定性的な評価が広く行われている。本研究では, 食感に関する試験研究や育種において適用可能な新しい評価法の開発を目的として, 試料を円筒型プランジャーで貫入するとき得られる応力曲線の解析に基づく種々の物性評価法をキュウリ果実に適用し, それらの有効性を検証した。日本で育成された 12 品種・系統の果実の果肉部および胎座部に直径 3 mm のプランジャーを貫入し, 得られた応力曲線について, 二次微分値の解析, フ

ラクトル解析, フーリエ解析, そしてピーク解析を行い, 応力曲線の特徴量を算出した。二次微分値の総和やフラクタル次元などの果実物性の特徴量には品種・系統間に多様な変異がみられ, 分散分析の結果, それら特徴量に有意な品種効果が認められた。また, シャキシャキ感 (あるいはパリパリ感) の官能評価値とそれら特徴量に密接な関係が認められた。以上のことから, 応力曲線の解析に基づく物性評価法は果実のシャキシャキ感 (あるいはパリパリ感) を定量的に評価することが可能であり, 食感に関する試験研究や育種において有効な評価法になると考えられる。

**Breeding Science** 59: 139–147 (2009)

## 分子マーカーを用いた AVRDC (世界野菜センター) リョクトウ優良親系統の多様性評価

Prakit Somta・Warunee Sommanas・Peerasak Srinives

(Department of Agronomy, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University)

AVRDC-世界野菜センター (AVRDC) は 30 年以上にわたってリョクトウ (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) を研究してきた。AVRDC によって開発されたリョクトウの育成系統は協力関係にある国の農家にリリースされ, 国家による計画の元に遺伝資源として用いられてきた。AVRDC の育種計画により, 主に 39 の親系統を用いて 6500 を上回る交配が行われてきた。本研究では, 241 個の SSR を用いて親系統と AVRDC の育成系統に由来

する 5 品種の多様性を評価した。48 個の SSR マーカーで多型が検出された。AVRDC 優良親系統は遺伝的多様性が高かった。マーカーあたり 2 ~ 19 アレルの多型を示し, 0.049 ~ 0.883 の PIC 値である SSR マーカーを用いて 39 の親系統で計 175 アレルが検出された。多型 SSR によってすべてのリョクトウ系統は識別された。SSR 多型に基づいて UPGMA クラスタリングにより遺伝資源をグループ分けしたところ, 起源ないしは育成系譜

の情報とおおむね一致した。AVRDC から選抜された 5 品種は中程度の遺伝的多様性を示した。39 の親系統で見られた 175 アレルのうち、69 アレル (39.43%) は 5 品種でも見いだされた。これらの品種はフィリピンの遺伝資源にグループ分けされ、多くは育成系譜の 1 つの親系統に近縁であった。これらの結果

によれば、AVRDC リョクトウ優良親系統を用いた育種による遺伝的多様性の減少は大きくない。更に、既報の栽培リョクトウのより大きなコレクションで見いだされた多様性と比べ、本研究で見いだされた多様性は比較的大きなものである。

**Breeding Science** 59: 149–157 (2009)

## EST-SSR マーカーを用いたコムギ品種の識別

藤田由美子<sup>1)</sup>・福岡浩之<sup>2)</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>野菜茶業研究所)

種苗法の改正により、植物品種の育成者の権利はその品種の収穫物および加工品にまでおよぶこととなった。また、食品表示を適正化するための法制度が強化され、原料となった品種名の表示についても規則が定められた。このため、コムギ品種育成者の権利保護とコムギ加工食品の品種名表示の検定を可能にするため、EST (Expressed Sequence Tag) を基に、品種識別のための SSR (Simple Sequence Repeat) マーカーを開発した。read2Marker ソフトウェアを利用して、UniGene データベースを検索して得られた 3,759 の SSR サイトのうち、一定の反復条件を満たす 186 サイトについて、コムギ 14 品種で PCR 増幅の有

無と多型を調査した。小麦粉と混ぜて使用されることの多い 5 種類の作物の DNA とは反応しないなどの条件を含めて、最終的に 10 サイトを選定した。国内 41 品種およびオーストラリア、アメリカ、カナダから輸入される銘柄に含まれる主要な 17 品種について、これらのサイトにおける SSR 多型を調査したところ、国内品種と国外品種の識別が可能であり、また、ホクシンや農林 61 号などの主要な国内品種を個別に識別することができた。さらに、コムギの市販加工食品を分析した結果、原料品種名の表示が適正であることを判定することができた。

**Breeding Science** 59: 159–167 (2009)

## イネにおけるイオンビーム照射による変異誘発効果

山口博康<sup>1,3)</sup>・長谷純宏<sup>2)</sup>・田中 淳<sup>2)</sup>・鹿園直哉<sup>2,4)</sup>・出花幸之介<sup>1,5)</sup>・清水明美<sup>1)</sup>・森下敏和<sup>1,6)</sup>

(<sup>1)</sup>農業生物資源研究所・放射線育種場, <sup>2)</sup>原子力機構・量子ビーム応用研究部門, <sup>3)</sup>花き研究所, <sup>4)</sup>原子力研究機構・先端基礎研究センター, <sup>5)</sup>沖縄県農業研究センター, <sup>6)</sup>北海道農業研究センター)

突然変異育種のための変異原としてのイオンビームの有用性について検討するため、致死或不稔などの照射影響の出現程度に対する変異頻度の高さで定義される‘効率’、変異スペクトル、および最適照射線量をガンマ線と比較した。イネ品種「ひとめぼれ」の種子に炭素イオン (平均 LET=76 および 107 keV/μm)、ヘリウムイオン (9 keV/μm)、ガンマ線を種々の線量で照射し、生存率と稔実率を調査した。さらに穂別系統法により葉緑素変異の頻度とタイプ (アルビナ、キサクタ、およびビリディス) を調査した。生存率および稔実率を基準とした‘効率’は、イオンビームのほうがガンマ線より高い、あるいは同等であった。

加えて、変異率はイオンビームのほうがガンマ線よりも高かった。このことから、イオンビームではガンマ線に比べて、照射によるダメージが少ない変異体を効率的に得られることが明らかになった。アルビナ、キサクタ、ビリディスの相対頻度には線種、線量による差が無く、葉緑素変異のスペクトルは同じであると判断された。いずれの線種においても、生存率曲線において肩となる付近の線量による照射で、効率的に変異体を得られることが示された。

**Breeding Science** 59: 169–177 (2009)

## 日本の陸稲から見出したM型アミロペクチンを持つ品種の特性

岡本和之<sup>1)</sup>・平澤秀雄<sup>1)</sup>・梅本貴之<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup>茨城農総セ・生物学研究所, <sup>2)</sup>作物研究所)

近年、イネ (*Oryza sativa* L.) は米デンプンの違いによってL、SおよびM型アミロペクチンを持つ品種 (アミロペクチン側鎖の中鎖比率が高い, 低い, 両者の中間) の3群に分類できることが報告されている。著者らはアルカリ崩壊性スコアおよび米粉の糊化開始温度 (PT) を指標として日本の在来陸稲 174 品種からM型の候補品種を選んだ。さらに, アミロペクチンの側鎖長分布を解析したところ, これら4品種がS型品種「コシヒカリ」とL型品種「IRAT109」との中間的なアミロペクチンの構造を示した。また, 団子生地を作成し冷却後3時間・24時間後

の硬度を比較したところ, それぞれ, L型, M型, S型品種の順に硬くなった。一方, アミロペクチンの短鎖比率 (ACR) は冷却3時間および24時間後の団子生地の硬度との間に負の相関関係が認められた。これらの結果, 「近成純1号」, 「北海赤毛」, 「改良13号」および「最上近成1号」はM型アミロペクチンを持つ品種であること, 日本の在来陸稲梗品種はデンプン変異について遺伝的多様性に富むことが明らかになった。

**Breeding Science** 59: 179–186 (2009)

## オオムギ (*Hordeum vulgare* L.) 種子の熱中性子照射におけるアルファ粒子と陽子の生物学的効果比の同時推定

鶴飼保雄<sup>1)</sup>・山下 淳<sup>1)</sup>・高木 浩<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup>農業生物資源研究所・放射線育種場, <sup>2)</sup>宮崎大学・農学部)

オオムギ (*Hordeum vulgare* L.) 種子の熱中性子照射において放出されるアルファ粒子と陽子の生物学的効果比 (RBE) を推定した。<sup>10</sup>Bを吸収させた種子に熱中性子およびガンマ線を照射した。乾燥種子および<sup>10</sup>Bを吸収させた種子中のホウ素分布は均質である, およびホウ素原子は水分子に伴って自由に種子中に吸収されるという, これまで信じられてきた2つの仮説は成立しないことが示された。<sup>10</sup>Bリッチのホウ素からなるホウ酸の4800 μg·g<sup>-1</sup>水溶液に浸漬し再乾燥した種子の熱中性子照射で58.2

という高いボロン添加効果 (BAE) が認められた。アルファ粒子および陽子のRBEの推定値は吸収された<sup>10</sup>Bの量とは無関係にほぼ一定であった。ホウ素の種子吸収法および穂吸収法でアルファ粒子のRBEは平均してそれぞれ55.0および55.1, また陽子のRBEはそれぞれ48.7および43.9であった。熱中性子照射においてそのエネルギーを吸収するのは, 通常の乾燥種子では主に陽子であるが,<sup>10</sup>Bリッチの種子ではホウ素となった。

**Breeding Science** 59: 187–193 (2009)

## 紫黒米イネ品種「おくのむらさき」を使った圃場条件下におけるイネの自然交雑率の評価

遠藤貴司<sup>1)</sup>・佐藤秀樹<sup>2)</sup>・山口誠之<sup>2)</sup>・片岡知守<sup>3)</sup>・中込弘二<sup>2)</sup>・伊藤貴絵<sup>4)</sup>・森 宏一<sup>4)</sup>

(<sup>1)</sup>宮城県古川農業試験場, <sup>2)</sup>東北農業研究センター, <sup>3)</sup>九州沖縄農業研究センター, <sup>4)</sup>秋田県立大学)

イネの自然交雑率と花粉飛散, 気象要因の関係を明らかにするため, 2003年から2007年の5年間にわたり圃場試験を実施した。花粉親として紫黒米の梗品種「おくのむらさき」, 種子親として糯品種「ヒメノモチ」を供試することにより, 玄米のキセニアとF<sub>1</sub>幼植物体の葉色の2つの表現型を用いて花粉親由来の交雑粒を精度良く判定することができた。また, 種子親の移植日を花粉親と比べて4段階に変化させた結果, 花粉親と種子親の出穂日の差が11日以内の試験区では交雑が生じたが, 13日

以上の試験区では生じなかった。花粉親の開花期間における日中の風速が強かった2004年および2007年においては, 花粉親から20m以上離れた位置でも交雑粒が検出された。したがって, イネの自然交雑率は, 花粉親と種子親の開花期間が重なり, 花粉親の開花期間の日中の風速が強い場合に高くなることが推察された。さらに, 自然交雑率は, 花粉親と種子親の出穂日の差が大きい試験区において顕著に減少した。

**Breeding Science** 59: 195–202 (2009)

## ダイコン 1 染色体添加型ナタネの根こぶ病抵抗性の評価

赤羽美智子<sup>1,3)</sup>・金子幸雄<sup>1)</sup>・畠山勝徳<sup>2)</sup>・石田正彦<sup>2)</sup>・房 相佑<sup>1)</sup>・松澤康男<sup>1)</sup><sup>(1)</sup>宇都宮大学・農学部, <sup>(2)</sup>野菜茶業研究所, <sup>(3)</sup>東京農工大学大学院・連合農学研究科)

根こぶ病は *Plasmodiophora brassicae* による土壌伝染性病害であり、アブラナ科作物における重要病害の一つである。ダイコン (*Raphanus sativus*, 2n=18, RR) は根こぶ病に対して抵抗性を示すが、その抵抗性メカニズムに関する報告は少ない。本研究では、人為合成複二倍体 *Raphanobrassica* (*R. sativus*×*Brassica oleracea*, 2n=36, RRCC) とナタネ (*B. napus*, 2n=38, AACC) との交雑によって得られた 9 タイプのダイコン 1 染色体添加型ナタネ (monosomic addition lines; MALs, a~i タイプ) を用いて、それぞれのダイコン染色体の根こぶ病抵抗性を発病株率 (%) と発病指数 (0~3) から評価した。

9 タイプの 1 染色体添加型ナタネ (a~i タイプ) のうち、c

タイプは使用した根こぶ病 Ano-01 菌に対して強い抵抗性 (発病株率 73.1%, 発病指数 0.7) を示した。一方、残りの 8 タイプおよび各タイプから得られた染色体消失型植物 (2n=38, AACC) は完全な罹病性 (発病株率 100%, 発病指数 3.0) を示した。このことから、ダイコンの c 染色体には、Ano-01 菌に対する根こぶ病抵抗性の主働遺伝子が座乗しているものと思われた。しかし、c 染色体添加型植物は弱い罹病性を示す個体も存在していたことから、ダイコンの根こぶ病抵抗性は、微働遺伝子または補足遺伝子 (群) も関与している可能性が示唆された。

**Breeding Science** 59: 203-206 (2009)