

サツマイモのβ-アミラーゼ欠損に関わる塩基配列の変異

Nadia Anwar¹⁾・菊池 彰¹⁾・熊谷 亨²⁾・渡邊和男¹⁾

(¹⁾筑波大学・生命環境科学研究科遺伝子実験センター, ²⁾作物研究所)

サツマイモのβアミラーゼ遺伝子は、加熱加工後のサツマイモに甘さを付与するβアミラーゼをコードする単一の遺伝子である。βアミラーゼ欠損を遺伝子レベルで明らかにするため、βアミラーゼ活性を持つ品種と持たない品種を用いて、βアミラーゼ遺伝子の活性中心を含む保存領域のゲノムDNA配列を解析した。その結果、βアミラーゼ欠損品種に見出された数塩基の挿入と欠失を含む変異型配列が、βアミラーゼ欠損の原因であると考察した。遺伝子の発現解析から、変異型βアミラーゼ遺伝子が正常に転写されていることが確認されたため、βアミラーゼ欠損はアミノ酸への翻訳レベルでの変異に起因すると考えら

れた。cDNAの塩基配列の解析から、変異型が持つ挿入はフレームシフトの要因となっており、ストップコドンを含むアミノ酸置換を引き起こしていることが明らかとなった。このアミノ酸置換により、基質との結合や触媒作用に必要な領域が失われたことが、βアミラーゼ活性の欠損の主因となっていると考察した。このような実用形質に関わる変異の核酸レベルでの同定は、甘みのないサツマイモを育種するための有用なDNAマーカーの開発に繋がると期待される。

Breeding Science 59: 209–216 (2009)

複数のモデルを用いたソルガムの量的形質のアソシエーション解析

Tariq Shehzad¹⁾・岩田洋佳²⁾・奥野員敏¹⁾

(¹⁾筑波大学大学院生命環境科学研究科, ²⁾農研機構・中央農業総合研究センター)

ソルガムのコアコレクション(アフリカ在来52品種とアジア在来55品種)を栽培し、生育期および成熟期に26の形態・生理形質を調査した。また、98種類のSSRプライマーセットを用いて、コアコレクション構成品種のSSRマーカー座における遺伝子型を解析した。その結果、10本の染色体に散在する98個のSSRマーカー座で470の対立遺伝子を検出した。DNA多型情報と形態・生理形質の表現型値ならびに3種類のプログラムを用いてアソシエーション解析(連鎖不平衡解析)を行った。単一のQTLが関与する場合のモデルおよび複数のQTLが関与

する場合のモデルにより、形態・生理形質についてアソシエーション解析した結果、A連鎖群に初期生育量、葉面のロウ質および穂長に関与するQTL、B連鎖群に穂数に関与するQTL、C連鎖群に中肋色に関与するQTL、F連鎖群に芒の有無に関与するQTL、J連鎖群に開花期に関与するQTLが存在する可能性が示唆された。以上の結果から、ソルガムの量的形質の変異に関与する遺伝子座の同定に、コアコレクションを用いたアソシエーション解析が利用できると考えられる。

Breeding Science 59: 217–227 (2009)

岡山県において見いだされた雑草イネの分子構成

川崎顕子¹⁾・今井克則¹⁾・牛木 純²⁾・石井俊雄³⁾・石川隆二¹⁾

(¹⁾弘前大学・農学生命科学部, ²⁾農研機構・中央農業総合研究センター, ³⁾岡山県農業総合センター)

岡山県で見いだされた雑草イネは、半矮性を含む多様な生理形態形質を示し、大きくインド型と日本型に分類される。予備試験の結果、これら雑草イネは二つのアイソザイム遺伝子座(*Acp1*と*Sdh1*)にインド型特異的対立遺伝子ならびに稀な対立遺伝子を有していた。本研究では、それら遺伝子座近傍のDNA多型の解析からこの対立遺伝子の給源を明らかにし、雑草イネの起源について考察した。*Acp1*座に近接するSSRのハプロタ

イブ解析の結果、1)日本型雑草イネは岡山県で栽培されるイネ品種と同じハプロタイプを示し、2)インド型雑草イネには主に2種類のハプロタイプが見出された。後者の二つのハプロタイプのうち一つは、飼料イネ‘モーれつ’のハプロタイプと同じであった。このハプロタイプを持つ半矮性の雑草イネは、‘モーれつ’とともに、半矮性遺伝子(*sdl1*)が示す*OsGA20ox2*内の欠失を有していた。もう一つのハプロタイプはインド型の飼料

イネ 'Tetep' のハプロタイプと同じであり、これらの系統は *Sdh1* 座の稀な対立遺伝子を共有し、その近傍の DNA 多型についても同じハプロタイプを示した。これらの結果から、岡山県

の雑草イネは複数の起源からなり、半矮性の表現型は 'モーれつ' またはインド型近代品種に由来すると考えられた。
Breeding Science 59: 229–236 (2009)

高親和性硝酸イオントランスポーター遺伝子 (*OsNRT2.1*) を導入した組換えイネの作出とその特徴

片山寿人¹⁾・森 真理²⁾・川村容子¹⁾・田中俊憲³⁾・森 正之⁴⁾・長谷川博⁵⁾

(¹⁾滋賀県農業技術振興センター, ²⁾滋賀県庁, ³⁾沖縄科学技術研究基盤整備機構, ⁴⁾石川県立大学・生物資源工学研究所, ⁵⁾滋賀県立大学・環境科学部)

窒素肥料の低投入栽培で作物収量を維持するためには、作物の窒素利用効率を向上することが重要である。その観点から本研究では低硝酸濃度下で硝酸吸収に重要な役割を果たすイネ高親和性硝酸イオントランスポーター遺伝子 (*OsNRT2.1*) をイネに導入し、*OsNRT2.1* が導入された組換えイネを2系統作出した。根での *OsNRT2.1* の発現は非組換えイネで硝酸処理開始30分後から発現したが、組換えイネでは恒常的に発現した。イネの硝酸還元遺伝子を導入した組換えイネでは導入遺伝子の発現抑制が認められたという報告があるが、イネの硝酸吸収遺伝子

をイネに導入してもその発現抑制は認められなかった。また、窒素源を硝酸カリウムもしくは硝酸アンモニウムとした水耕液で栽培を行った結果、組換えイネでは地上部の生育が向上した。以上の結果は *OsNRT2.1* を恒常発現させた組換えイネは生育を向上させることができること、さらに同種由来の硝酸吸収関連遺伝子を導入することが低窒素栽培での生育向上に有用であることを示唆している。窒素代謝や生育に係る *NRT2* の分子・生理面からのさらなる研究が必要である。

Breeding Science 59: 237–243 (2009)

新規ホスフィノスリシン-N-アセチルトランスフェラーゼ遺伝子の導入による除草剤耐性形質転換ダイズの作出

喜多洋一^{1,2)}・Moemen S. Hanafy^{1,4)}・出口道仁¹⁾・長谷川久和³⁾・寺川輝彦³⁾・喜多村啓介²⁾・石本政男¹⁾

(¹⁾北海道農業研究センター, ²⁾北海道大学大学院・農学研究院, ³⁾北興化学工業(株)・開発研究所, ⁴⁾現: National Research Center, Egypt)

夏作物であるダイズ (*Glycine max* (L.) Merr.) は雑草害が大きく、海外では除草剤耐性を付与した組換え体が実用化され、広く栽培されている。また、除草剤耐性遺伝子は形質転換ダイズを作出する際の選抜マーカーとしても利用されている。本研究では、放線菌から単離された2種のホスフィノスリシン-N-アセチルトランスフェラーゼ (PAT) 遺伝子、*hpat* と *mat* を *CaMV35S* プロモーターに連結し、ハイグロマイシン耐性遺伝子を含むベクターに挿入した。構築した2種類のベクターを遺伝子銃法によりダイズ (品種: Jack) へ導入し、ハイグロマイシンにより組換え体を選抜した。作出した組換え体は HPAT ある

いは MAT タンパク質を発現し、ピアラフォスやグルフォシネートなどの除草剤の活性成分であるホスフィノスリシンのアセチル化活性を示した。形質転換ダイズは除草剤バスタ (有効成分: グルフォシネート) に対して耐性を示し、導入形質は安定して後代に伝達した。以上の結果から、2種の新規 PAT 遺伝子はダイズへの除草剤耐性の付与に利用できることが明らかになった。今後確認する必要があるが、これらの PAT 遺伝子はダイズの形質転換における選抜マーカーとして用いることができるかもしれない。

Breeding Science 59: 245–251 (2009)

DNA マーカーを用いたインド型イネ品種カサラスのいもち病抵抗性遺伝子の遺伝解析

竹久妃奈子¹⁾・安田美智子²⁾・福田善通³⁾・小林伸哉³⁾・林 長生⁴⁾・仲下英雄²⁾・阿部知子¹⁾・佐藤雅志⁵⁾

(1)理研仁科センター, (2)理研中央研究所, (3)国際農林水産業研究センター, (4)農業生物資源研究所, (5)東北大院・生命科学)

インド型イネ品種カサラスのいもち病抵抗性遺伝子を調査した。まず、24種類の抵抗性遺伝子に関する一遺伝子系統群に対して、20種類のフィリピン産標準判別いもち病菌菌系と日本産菌系 Hoku1 を用いた抵抗性評価との比較から、カサラスの遺伝子型を推定した。カサラスは、*Piz* に非病原性で、*Pia* と *Pish* には病原性である Hoku1 に対して完全な抵抗性を示した。一方で、全てのフィリピン産菌系に対しては感受性、もしくは部分抵抗性を示した。カサラスの Hoku1 に対する抵抗性遺伝子を検出するため、カサラスと *Pia* と *Pish* を保持している日本晴との戻し交配自殖系統群を用いた量的形質座 (QTL) 解析を行った。そ

の結果、第 11 染色体の短腕の *Pia* 近傍にカサラスの遺伝子型で抵抗性を示す QTL が検出された。つぎに 50 の染色体断片置換系統群を用いた連関解析から、3 種の連関が染色体の 6, 8, 11 に検出された。第 11 染色体の連関は、QTL 解析で検出されたものと同じ領域に位置し、強い作用を示した。抵抗性評価の結果は Kasalath が *Pia* を保持していないことを示していたことから、カサラスの Hoku1 に対する抵抗性遺伝子のうち、第 11 染色体の QTL は、*Pia* の対立遺伝子か新規遺伝子であることが示唆された。

Breeding Science 59: 253–260 (2009)

西日本のコムギ品種における赤かび病進展抵抗性の品種間差異および子実へのマイコトキシン蓄積性との関係

久保堅司・河田尚之

(九州沖縄農業研究センター・筑後研究拠点)

コムギの赤かび病は子実の収量や品質の低下に加えてマイコトキシンの蓄積を引き起こすことから、世界的に大きな問題となっている。本研究は (1) 赤かび病の進展に対する抵抗性の品種間差異の効率的な評価法の開発、(2) 日本およびアジアの 23 品種の感染抵抗性、進展抵抗性、マイコトキシン蓄積性の差異の評価、(3) 感染、進展およびマイコトキシン蓄積の各抵抗性タイプ間の関係の解析、を目的として行った。開花期の切り穂への *Fusarium graminearum* 菌の接種により、慣行法と比較して短期間かつ省スペースでの検定が可能になった。品種間の比較では、「蘇麦 3 号」とその交配後代が他品種よりも有意に高い進

展抵抗性を示した。進展抵抗性と感染抵抗性との相関関係は有意ではなかった。進展抵抗性が優れる品種はマイコトキシン (DON) 濃度が低いという有意な正の相関関係が示されたが、進展抵抗性が優れていても DON 濃度の高い品種も認められた。以上の結果から、本研究で用いた進展抵抗性の評価法は育成材料等多量なサンプルのスクリーニングに効果的であると考えられた。また、西日本のコムギ品種の赤かび病抵抗性は主に進展抵抗性に因るものと推察された。さらに、抵抗性品種の育成を行う上で、子実の DON 濃度に注意を払う必要性が示唆された。

Breeding Science 59: 261–268 (2009)

イネ品種における乾物生産および窒素利用効率に関する遺伝的変異

生井幸子・鳥山和伸・福田善通

((独) 国際農林水産業研究センター)

本研究では、イネの生育初期における乾物生産性および窒素利用効率 (PNUE) の品種間差異を広範な栽培品種を用いて調査した。持続可能な農業のために低肥沃土壌や減施肥条件下の栽培に適応したイネ品種の育種にむけて、有用な情報を本結果は提示している。31 品種の幼苗を、8 窒素処理条件下で栽培した。生育初期の胚や胚乳の重さの影響を除去するため、標準区と窒素処理区との比較から相対乾物重 (RDW) を算出した。これらの品種はクラスタ分析により、5 グループに分類された。異なる

窒素条件下で、RDW が同じ水準である品種間でも PNUE に関しては広い変異が検出された。PNUE の品種間変異は低窒素条件下で、一方 RDW の変異は高窒素条件下で顕著であった。これらのデータは、インド型品種と日本型品種間、陸稲品種と水稲品種間、および在来品種と改良品種間において、幼苗の窒素利用効率は大きく異なることを示している。

Breeding Science 59: 269–276 (2009)

種間交雑に由来するカフェインレスのチャの検出および形質評価

荻野暁子¹⁾・田中淳一¹⁾・谷口郁也¹⁾・山本将之²⁾・山田恭司²⁾

(¹⁾野菜茶業研究所, (²⁾富山大学大学院・理工学研究部)

種間交雑品種「茶中間母本農6号」(*Camellia taliensis* × *C. sinensis*) の自然交雑に由来する個体群中に、カフェインをほとんど含まないチャ(カフェインレスチャ)を2個体見出した。「茶中間母本農6号」を含め、調査したすべてのチャ(*C. sinensis*)ではカフェインを多く含んでいたのに対して、今回得られたカフェインレスチャの2個体は、カフェインをほとんど含まず、カフェインの前駆物質であるテオブロミンを多量に含んでいた。HPLCによる成分分析の結果から、低カフェイン/高テオブロミンというカフェインレス形質は、「茶中間母本農6号」の種子親である「タリエンシス赤芽」(*C. taliensis*)に由来する可能性が

示された。SSRマーカーによる親子関係の確認によって、カフェインレス個体におけるカフェインレス形質は「タリエンシス赤芽」から「茶中間母本農6号」を介して、劣性遺伝したことが示唆された。さらに、「茶中間母本農6号」の後代33個体を用いた予備的な遺伝解析では、カフェインレス形質が1遺伝子座支配である可能性が示唆された。本研究で見出されたカフェインレスチャは、今後のチャ育種においてカフェインレス形質導入のための遺伝資源として大きな役割を果たすと期待される。
Breeding Science 59: 277–283 (2009)

イネ品種「日本晴」に由来する新規の短稈遺伝子座の検出

堀 清純¹⁾・山本敏央¹⁾・江花薫子¹⁾・竹内善信²⁾・矢野昌裕¹⁾

(¹⁾農業生物資源研究所, (²⁾作物研究所)

日本の *japonica* 品種における稈長の自然変異に関する QTL を検出するために、日本晴およびコシヒカリをそれぞれ遺伝的背景とする戻し交雑自殖系統群(BILs)を用いて QTL 解析を行った。解析の結果、日本晴とコシヒカリの稈長の差にかかわる合計5つの QTL を検出した。第1染色体短腕の SSR マーカー RM8068 近傍の QTL *qCLI* は調査した3年間全てで見出され、*qCLI* の日本晴アレルは稈長を1.9から3.0 cm 低くする効果を示した。コシヒカリの遺伝的背景に QTL 領域を含む日本晴の染色体断片を置換した染色体断片置換系統は、下位節間が短縮して

いた。*qCLI* の候補領域は第1染色体短腕の末端から RM10132 までの約 2.6 Mbp に絞り込まれ、*qCLI* は既報の矮性または半矮性遺伝子とは異なる遺伝子座であることが示唆された。*qCLI* 近傍の DNA マーカーについて日本晴アレルを持つ在来品種群は、その他の品種群と比較して稈長が低くなっていた。従って、日本の在来品種群内に分布していた新規の短稈遺伝子が、育種の選抜過程で我が国のイネ品種の短稈化や草型の改良に利用されてきたと考えられる。

Breeding Science 59: 285–295 (2009)

野生イネ (*Oryza rufipogon* Griff.) における *mPing* ファミリートランスポゾンの分布および増殖の解析

Shanta Karki¹⁾・築山拓司¹⁾・奥本 裕¹⁾・Govinda Rizal¹⁾・内藤 健²⁾・寺石政義¹⁾・谷坂隆俊¹⁾

(¹⁾京都大学大学院・農学研究科, (²⁾ジョージア大学)

Oryza 属を構成する10のゲノム種のうち9つを含む78アクセッションを用いて、転移活性を有する唯一の MITE (miniature inverted-repeat transposable element) *mPing* の *Oryza* 種における分布と増殖を調査した。*mPing*、*Ping* および *Pong* から成る *mPing* ファミリーは、*Oryza sativa* およびその祖先種である *O. rufipogon* の2つの AA ゲノム種においてのみ検出された。一方、転移活性をもたないイネの MITE である *Kiddo* は、AA、BB、CC、BBCC および CCDD ゲノム種において検出された。さらに、*mPing* の挿入位置およびコピー数は、*O. rufipogon* アクセッション間で大

きく異なっていた。系統解析の結果、供試した *O. rufipogon* アクセッションは、*mPing* のコピー数や *Ping* の有無とは無関係に4つのクラスターに分類されることが明らかとなった。これらの結果は、*O. rufipogon* の祖先には全ての *mPing* ファミリーが存在していたこと、および *mPing* は各アクセッションにおいて独立に増殖したことを示唆している。これらの結果に基づき、*O. rufipogon* における *mPing* ファミリーの分布および増殖に関する進化の過程を論議する。

Breeding Science 59: 297–307 (2009)

調理品質と病害抵抗性が改良された生食用ばれいしょ新品種「はるか」

小林 晃¹⁾・向島信洋¹⁾・津田昌吾¹⁾・森 元幸¹⁾・高田 (小原) 明子^{1,2)}・高田憲和^{1,3)}

(¹⁾北海道農業研究センター, (²⁾作物研究所, (³⁾種苗管理センター)

「はるか」は、塊茎の目の周りだけ赤く着色した、白色表皮を有する、白肉で中生の調理品質に優れた生食用ばれいしょ新品種である。「T9020-8」を母、「さやか」を父とする交配により選抜され、2007年に品種登録出願された。2003年から2007年まで「はるか」の特性調査を行った結果、規格内収量は「さやか」比103%、「男爵薯」比124%であった。平均一個重は104g、でん粉価は16.2%、塊茎の休眠期間は105日間であった。調理品質の評価では、「はるか」は水煮後多少黒変し、肉質はやや粘質

であり、食味は優れていた。「はるか」は「男爵薯」や「さやか」並、もしくはそれよりも優れるサラダ加工適性を有しており、チルドポテト加工適性も高かった。一方、チップやフレンチフライには適していなかった。ジャガイモシスト線虫に抵抗性で、青枯病と塊茎腐敗にもやや強い抵抗性を有する一方、ジャガイモYウイルス、ジャガイモそうか病、茎葉の疫病に対しては感受性である。

Breeding Science 59: 309–313 (2009)

ヒラタケ属きのこ、ウスヒラタケ (*Pleurotus pulmonarius*) における孢子欠損性変異形質のマーカーアシスト選抜のための STS マーカー開発

奥田康仁¹⁾・村上重幸²⁾・松本晃幸³⁾

(¹⁾鳥取大学・連合農学研究所, (²⁾菌叢研究所, (³⁾鳥取大学・農学部)

ウスヒラタケ (*Pleurotus pulmonarius*) を含めた食用きのこの栽培において、子実体より飛散する莫大な数の孢子は栽培従事者の健康や栽培施設、自然集団の遺伝的多様性に悪影響をおよぼしている。ウスヒラタケの孢子欠損性変異 (sporeless) 株 TMIC-30058 は、孢子に起因する諸問題を解消する無孢子性品種の育種に有用な菌株であることが示されている。本研究では、マーカーアシスト選抜 (MAS) への利用を目的に、sporeless 領域近傍に座乗する AFLP マーカーを STS (sequence tagged site) マーカーへ転換した。主として AFLP 法に基づくバルク解析 (BSA-AFLP) によって、sporeless 領域から遺伝的距離 0–3.4 cM

に座乗する合計 18 マーカーを同定した。これらのうち、2 AFLP マーカーは STS マーカー、SD192 および SD296 に転換され、地理的起源の異なる 15 野生菌株に対する増幅検定によって、多様な遺伝的背景下で行う育種での有用性が検証された。さらにこれら 2 STS マーカー断片は Multiplex PCR によっても再現性よく増幅された。これらの結果は、本研究で開発した 2 STS マーカーがウスヒラタケの育種において、sporeless 形質を標的とする MAS に利用可能であることを示している。

Breeding Science 59: 315–319 (2009)

イネ巨大胚系統を利用した CoQ10 の高生産

高橋咲子¹⁾・大谷寿一¹⁾・飯田修一²⁾・春原嘉弘²⁾・松下 景²⁾・前田英郎³⁾・種谷良貴⁴⁾・河合 清⁴⁾・川向 誠⁵⁾・門脇光一¹⁾

(¹⁾農業生物資源研究所, (²⁾近畿中国四国農業研究センター, (³⁾作物研究所, (⁴⁾クミアイ化学, (⁵⁾島根大学・生物資源科学部)

ユビキノンとも呼ばれるコエンザイム Q (CoQ) は、呼吸鎖の電子伝達体であり、また脂溶性の抗酸化物質である。穀類の大部分は主に側鎖長 9 単位の CoQ9 を生産するが、ヒトは主に側鎖長 10 単位の CoQ10 を生産する。CoQ10 は食品サプリメントとして人気が高い。我々はこれまでに、イネ品種「日本晴」にデカプレニル 2 リン酸合成酵素 (DdsA) の遺伝子を導入することにより、CoQ10 強化イネ (日本晴型 CoQ10 強化イネ) を作出している。日本晴型 CoQ10 強化イネ種子の CoQ10 含量 (重量当たり) は、野性型イネ種子の 10 倍に増加していた。しかしながら、日本晴型 CoQ10 強化イネの種子 CoQ10 レベルは実用

化には未だ不十分で、さらに 10 倍の CoQ10 含量増加が求められていた。本報において我々は、イネ種子において CoQ がぬかおよび胚芽に優先的に蓄積することを確認し、さらに 2 種の巨大胚系統「はいいぶき」および「中系特 70 号 (特 70)」を用いて、改良型の CoQ10 強化イネを作出した。巨大胚系統型の CoQ10 強化イネにおいては、種子の CoQ10 含量が日本晴型のそれぞれ 1.4 倍 (はいいぶき型)、または 1.8 倍 (特 70 型) に増加しており、巨大胚系統の利用が種子の CoQ10 含量増加に有効であることが示された。

Breeding Science 59: 321–326 (2009)