ハクサイにおける複対立雄性不稔遺伝子 Ms に連鎖する AFLP マーカーの同定

Wei Peng · Feng Hui · Piao Zhongyun · Li Chengyu · Liu Zhiyong · Wang Yugang · Ji Ruiqin · Zou Ting · Ji Shujuan

(Department of Horticulture, Shenyang Agricultural University)

複対立遺伝子として遺伝する、ハクサイの雄性不稔遺伝子 Msをクローニングする最初の一歩として、我々は AFLP 法により、この遺伝子座を分子的に標識することを試みた. バルク法を行うため、雄性不稔個体と可稔個体が分離するハクサイの BC₁ マッピング集団(130 個体から構成される)を作出し、144 のプライマーの組合せをスクリーニングした結果、Ms 遺伝子と強く連鎖する 4 つの AFLP マーカーが得られた. マーカー利用選抜 (MAS)への適用を図るため、これら 4 つのマーカーのうちで Ms 遺伝

子と最も近接する AFLP01 を SCAR マーカーに転換した. 最終的に, 4 つの AFLP マーカーと 1 つの SCAR マーカーにより, 全体で 13.9 cM をカバーする Ms 遺伝子領域の遺伝地図を作成した. また AFLP01 (SCAR01) と AFLP04 の 2 つのマーカーが, Ms 遺伝子を挟んでそれぞれ 2.3 cM と 7.8 cM の距離に位置することも示された.

Breeding Science 59: 333-339 (2009)

オオムギのイネいもち病菌抵抗性のQTLマップ集団と準同質遺伝子系統による検証

 $Phinyarat\ Kongprakhon^{1)} \cdot Alfonso\ Cuesta-Marcos^{2)} \cdot Patrick\ M.\ Hayes^{2)} \cdot Kelley\ L.\ Richardson^{3)} \cdot Patrick\ M.\ Hayes^{2)} \cdot Richardson^{3)} \cdot Patrick\ M.\ Hayes^{2)} \cdot Richardson^{3)} \cdot Richardson^{3)}$

Pattama Sirithunya⁴⁾·佐藤和広⁵⁾·Brian Steffenson⁶⁾·Theerayuth Toojinda⁷⁾

(1) Faculty of Science, Kasetsart University, 2) Department of Crop and Soil Science, Oregon State University, 3) USDA-ARS, 4) Lampang Agriculture Research and Training Centre, Rajamangala University of Technology, 5) 岡山大学・資源生物科学研究所, 6) Department of Plant Pathology, University of Minnesota, 7) National Research Center for Genetic Engineering and Biotechnology, Kasetsart University)

イネいもち病菌 Pyricularia grisea はオオムギの病原となることが報告されている。オオムギにおけるこの病気の抵抗性の特異性を解明するために、これまでのマッピングの成果に、タイのイネから採取したいもち病菌株に対する葉いもち(LB)および穂いもち(NB)のそれぞれの病徴についての抵抗性を加えた。2 つの病徴に対して最も効果の大きな QTL は、染色体 IH の各種病害に関する抵抗性遺伝子の集積した領域に位置し、この領域には黄さび病(病原 Puccinia striiformis fsp. Hordei)抵抗性 QTL およびうどんこ病(病原 Blumeria graminis)抵抗性遺伝子 Mla が含まれている。LB、NB およびうどんこ病に対する抵抗性対立遺伝子はマップ集団の片親 (Baronesse) に由来したが、

黄さび病抵抗性対立遺伝子は別の親(BCD47)に由来した. Baronesse は染色体 1H を含む 3 つの黄さび病抵抗性 QTL に関する準同質遺伝子系統群(NILs)の反復親で罹病性を示す.これらの NILs について Unigene(EST)に由来する一塩基多型のハプロタイプを決定し、Mla を含むいもち病抵抗性 QTL を配置した. Baronesse および 1H 移入領域を含まない NILs は,LB および NB に抵抗性を示した.しかし,1H 移入領域を含む 2 つの NILs も LB および NB に抵抗性を示した.しかし,同時に黄さび病にも抵抗性であった.従って,黄さび病に対する抵抗性 QTL はいもち病抵抗性 QTL と組換えによって分離可能であるとみられた.

Breeding Science 59: 341–349 (2009)

アマランサス (*Amaranthus cruentus* L.) における顆粒性デンプン合成酵素 I (*GBSSI*) cDNA の分子クローニングと解析

朴 永俊 $^{1)}$ ・根本和洋 $^{2)}$ ・西川智太郎 $^{3)}$ ・松島憲一 $^{2)}$ ・南 峰夫 $^{2)}$ ・河瀬眞琴 $^{3)}$ $^{(1)}$ 信州大学・総合工学系研究科, $^{2)}$ 信州大学大学院・農学研究科, $^{3)}$ 農業生物資源研究所)

アマランサス(Amaranthus cruenthus L.)子実の外胚乳から、 顆粒性デンプン合成酵素(GBSSI)をコードする完全長 cDNA クローンを単離、解析した。 F_2 集団のアミロース含量の分離比から、A. cruentus のアミロース含量は単一の遺伝子、Waxy(GBSSI)

遺伝子によって制御されていることが明らかになった. この遺伝子の cDNA クローンの長さは 2076 bp であり、77 アミノ酸の輸送ペプチドを含む、606 アミノ酸残基のポリペプチドに相当する 1821 bp のオープンリーディングフレームを含んでいた. cDNA とゲノム(3492 bp)の配列比較の結果、アマランサスの GBSSI 遺伝子は、12 のイントロンおよびコーディング配列である 1–13 のエキソンから構成されていた. GBSSI 成熟タンパク質における相同性は、双子葉植物とは 70.2 から 75.3%、単子葉植物とは約 64.0 から 67.8% であった. 本タンパク質は、他植物の

GBSSI タンパク質でも確認されている,グリコーゲン合成酵素の活性部位に関係があるとされる KTGGL モチーフを含んでいた.配列解析により,アマランスの GBSSI は他の双子葉植物と異なる切断部位 $FIR \downarrow S$ を含む,77 アミノ酸の輸送ペプチドを持っていた.本研究は,アマランサスの外胚乳における本タンパク質の構造と機能の関係を理解するために有益な情報を提供するものである.

Breeding Science 59: 351–360 (2009)

形態変異, 高分子グルテニンサブユニット多型, および AFLP に基づくアフガニスタン由来コムギ保存系統の遺伝的多様性の評価

寺沢洋平 $^{1,2,3)}$ ・河原太八 $^{4)}$ ・笹隈哲夫 $^{1)}$ ・笹沼恒男 $^{1,3)}$ $^{(1)}$ 横浜市立大学・木原生物学研究所, $^{2)}$ 横浜市立大学・国際総合科学研究科, 3 山形大学・農学部, $^{4)}$ 京都大学・農学研究科)

京都大学で維持されてきたアフガニスタン由来コムギ保存系統の遺伝的特徴を明らかにするため、形態形質および高分子グルテニンサブユニット構成の変異を、410系統のアフガニスタンのコムギ、65系統のイランおよびパキスタンのコムギについて調査した。サンプルの大部分は原始的な形態的特徴、すなわち、高い草丈、穂先がスペルト型の大型で疎な穂をもっていた。高分子グルテニンサブユニットの組み合わせのうち、もっとも高頻度に見られたのは Glu-AIc(サブユニット null をコード)、Glu-BIb(7+8)、Glu-DIa(2+12)であった。 Glu-BIc や Glu-DId のような近代育種で好まれるアリルは、本研究で用いたサンプルの中ではまれであった。これらのことから、本研究で調べたアフガニスタン由来コムギ保存系統は、在来品種に特徴的な遺

伝的特徴を有していると結論づけられた. 遺伝的多様性に関しては、アフガニスタンにおける高分子サブユニットの変異のレベルは、近隣の国と比較して、同程度か、あるいは低いものであった. もっとも高い変異は、イラン西部とパキスタンで見られた. 選抜した 91 系統を用いた AFLP 解析でも、アフガニスタンの多様性レベルは相対的に低いことが示された. これらの結果は、遺伝的多様性の減少がアフガニスタンで起こったことを示唆している. また、本研究では、新規の高分子グルテニンサブユニット (2.8) が発見された. このことは、コムギ育種におけるアフガニスタン在来品種の潜在的有用性を示すものであろう.

Breeding Science 59: 361–371 (2009)

スペルタコムギ遺伝資源保存系統のアルミニウム耐性とフェノール酸化酵素活性 の遺伝変異の特性

Harsh Raman¹⁾ · Rummana Rahman¹⁾ · David Luckett¹⁾ · Rosy Raman¹⁾ · Ferenc Bekes²⁾ · Laszo Láng³⁾ · Zoltan Bedo³⁾

(1) EH Graham Centre for Agricultural Innovation (an alliance between NSW Department of Primary Industries and Charles Sturt University), Wagga Wagga Agricultural Institute, PMB, Wagga Wagga, ²⁾ EH Graham Centre for Agricultural Innovation and George Westons Pty Ltd, ³⁾ Agricultural Research Institute of HAS Martonvásár)

スペルタコムギ [Triticum aestivum ssp. spelta (L.) Thell.] は健康食品との評判により価値ある作物になりつつある。これまでオーストラリアではこの作物は体系的な育種の対象となってこなかった。ポリフェノール酸化酵素(PPO)活性が低く酸性土壌(Al³+)に対して耐性のスペルタ遺伝子型の同定はこの作物のさらなる品種開発のために望まれていることである。我々はオーストラリア冬作穀物コレクションの51の保存系統をPPO活性とアルミニウム耐性について評価をおこなった。PPO活性はL-

DOPA 基質を用いた可視的および分光光度計による方法で測定した. 遺伝子型による PPO 活性は 0.15 から 1.3 の値を示し, 低,中,高の 3 つに類別することができた.少なくとも 8 系統は低PPO 活性を示した(マカロニコムギ品種 Arrivato と差なし).PPO 活性測定後,同一穀粒を養液栽培法および根端へマトキシリン染色法によってアルミニウム耐性評価をおこなった.33 系統はアルミニウム耐性であった.パンコムギにおいてアルミニウム耐性や PPO 活性をもたらす遺伝子座と連関のある機能遺伝

子 (TaALMTI および XPPO-2A) は、スペルタコムギにおいてそれら遺伝子と形質との関連を確かにした。スペルタコムギにおけるアルミニウム耐性や PPO 活性のような重要農業形質改良のための遺伝変異は分子育種によりスペルタコムギの改良が可能

であることを示す。 Diversity Array Technology (DArT) による 対立遺伝子データはスペルタコムギが遺伝的に変異に富むこと を示した

Breeding Science 59: 373–381 (2009)

側列花稔性 QTL のオオムギ第 4 染色体への EST によるマッピング

Fahimeh Shahinnia^{1,2,3)} · Badraldin Ebrahim Sayed-Tabatabaei⁴⁾ · 佐藤和広 ⁵⁾ · Mohammad Pourkheirandish¹⁾ · 小松田降夫 ¹⁾

(1) 農業生物資源研究所,²⁾ Department of Agronomy and Plant Breeding, Isfahan University of Technology, Iran, ³⁾ 現 Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Germany, ⁴⁾ Department of Biotechnology, Isfahan University of Technology, Iran, ⁵⁾ 岡山大学・資源生物科学研究所)

二条オオムギの穂の側列小穂は発達も稔実も抑制されるが、 六条オオムギでは三小穂全てが稔実する。この形質は 2H 染色 体長腕に座乗している vrsl 遺伝子に強く支配されるが、4H 染 色体短腕上に座乗している I 遺伝子による修飾も受ける。4H 染 色体短腕領域を飽和する目的ですでにこの領域に位置するかあ るいはイネ第 3 染色体とシンテニーのある発現配列タグ(EST) から分子マーカーを作成した。オオムギの BJ468164-AV933435 の 4.8 cM の区間と AV942364-BJ455560 の 10 cM の区間はイネ と強い共直線性を示した。 側列稔性に関わるひとつの QTL (I) に相当)は全表現型分散の 44% を示し、CB873567-BJ473916 の区間に位置した。 I 遺伝子の準同質遺伝子系統の遺伝子型から I 遺伝子は CB873567-BJ473916 の 5.3 cM の区間に存在すると考えられた。

Breeding Science 59: 383–390 (2009)

ニホンナシ由来の新規 EST-SSR の開発

西谷千佳子・寺上伸吾・澤村 豊・高田教臣・山本俊哉 (果樹研究所)

ニホンナシ品種「豊水」の 11 種類の cDNA ライブラリーから 得た EST を基に、73 種類の新規 EST-SSR マーカーを開発した. その内訳は、2、3、4、5、6 塩基モチーフのものが、それぞれ 30、36、2、1、4 であった。48 の EST 配列は、シロイヌナズナの遺伝子と有意な相同性を示した。53 種類の SSR マーカーからの 57 座について、連鎖群と座乗位置について同定したところ、全 17 連鎖群に分布していた。これらの EST-SSR は、マーカー選抜における高速ジェノタイピングに利用可能である。単一座

EST-SSR について、ニホンナシ10 品種とセイヨウナシ10 品種で、対立遺伝子数、ヘテロ接合度の理論値や観察値を解析したところ、高い多型頻度とヘテロ性が明らかとなった。2 塩基モチーフの EST-SSR は、3 塩基モチーフに比べて、2-3 倍の多型頻度とヘテロ性を示した。多数の EST-SSR は、バラ科の他の種にも適用可能であったことから、バラ科植物での共通形質のマーカー開発に繋がるものと期待される。

Breeding Science 59: 391–400 (2009)

岡山県に発生した雑草イネと栽培品種の遺伝的類縁性と多様性

赤坂舞子 ¹⁾・牛木 純 ^{1,4)}・岩田洋佳 ¹⁾・石川隆二 ²⁾・石井俊雄 ³⁾
(¹⁾中央農業総合研究センター, ²⁾弘前大学・農学生命科学部, ³⁾岡山県農業総合センター, ⁴⁾現:北海道農業研究センター)

岡山県で発生した雑草イネの起源を明らかにするため、岡山県の雑草イネ27集団および同県の代表的な栽培品種を含む栽培イネ88品種/系統について、15組の sequence-tagged site (STS) プライマーを用いて DNA 多型解析を行った。その結果、日本型

雑草イネ13集団のバンドパターンは岡山県の代表的な栽培品種のいずれかのバンドパターンと完全に一致した。これらの雑草イネは、著しく自然脱粒する形質をのぞき、対応する栽培品種と生理形態的に極めて類似していた。岡山県に発生する雑草イ

ネと同県の栽培品種の高い遺伝的相同性と生理形態的類似性から, これらの雑草イネは, 遺伝子変異によって著しい自然脱粒

性を獲得した栽培品種の異型を起源として発生したと推定された. **Breeding Science** 59: 401–409 (2009)

イネの種間および種内交雑において F₁ 花粉不稔を引き起こす二遺伝子座の同定

Khin Thanda Win¹⁾・久保貴彦 $^{1,2)}$ ・宮崎雄太 $^{1)}$ ・土井一行 $^{1,3)}$ ・山形悦透 $^{1)}$ ・吉村 淳 $^{1)}$ $^{(1)}$ 九州大学大学院・農学研究院、 $^{2)}$ 国立遺伝学研究所、 $^{3)}$ 名古屋大学大学院・生命農学研究科)

 F_1 不稔は、最も普遍的な接合後生殖的隔離の一つであり、イネの種間および種内交雑においてもしばしば観察される。 F_1 花粉不稔の遺伝学的および細胞学的な機構を明らかにすることは、イネの遺伝資源の利用および接合後生殖的隔離の進化を理解するうえで重要である。本報ではイネの種間および種内交雑後代において同定した二つの F_1 花粉不稔遺伝子座S36 およびS25 について報告する。まず、日本型栽培イネ「台中65 号」とOryza nivara (Acc. No. IRGC105444) との種間交雑においてS36 を、日本型イネ「あそみのり」とインド型イネ「IR24」の種内交雑においてS25 を同定した。遺伝解析の結果、両遺伝子座は染色体

12 の短腕末端に位置し、ヘテロ接合体における対立遺伝子間相互作用により、日本型対立遺伝子を持つ雄性配偶子が不稔となることが明らかとなった。また、両遺伝子座は、位置情報から同一遺伝子座であることが示唆された。細胞学的な調査によって、S36 によって引き起こされる花粉不稔の異常は、デンプン蓄積が開始した後の二細胞期後期において主に開始することが明らかとなった。以上、本研究によりイネの F_1 花粉不稔の遺伝学的性質と細胞学的機構を明らかにする重要な知見が得られた。

Breeding Science 59: 411–418 (2009)

ダイズの種皮着色抑制に関与するカルコンシンターゼ遺伝子由来の内在性 siRNAs

倉内 佑 $^{1)}$ ・松本拓郎 $^{1)}$ ・種田晃人 $^{2)}$ ・佐野輝男 $^{1)}$ ・千田峰生 $^{1)}$ ($^{1)}$ 弘前大学・農学生命科学部、 $^{2)}$ 弘前大学・理工学部)

ほとんどのダイズ品種の種子は種皮着色形質を失うことにより黄色くなっている。このような種皮着色抑制はカルコンシンターゼ(CHS)遺伝子の自然に起こる転写後型ジーンサイレンシング(PTGS)による。本研究では異なる組織でRNAゲルブロット分析を行ったところ、内在性のCHS siRNAsが種皮のみに蓄積しており、CHS遺伝子のPTGSが種皮特異的であることを支持する結果が得られた。次にCHS遺伝子領域をいくつかの部分に分割し、それぞれをプローブにRNAゲルブロット分析を行った。興味深いことにエキソン2領域をプローブに用いた場

合のみ CHS siRNAs が検出された. この結果は種皮に存在する CHS siRNAs の deep sequencing 解析でも確かめられた. すなわち CHS siRNAs の多くはエキソン2の3'側半分に由来していた. CHS siRNAs の塩基配列を CHS 遺伝子や逆位反復配列を形成する pseudo CHS 遺伝子 (pseudo CHS3) 上にマッピングした結果, pimary CHS siRNAs が pseudo CHS3 の2本鎖 RNA から作出され, 引き続いて secondary siRNAs が RNA-dependent RNA polymerase による two-hit model に従って作出される可能性が示唆された. Breeding Science 59: 419–426 (2009)

トウモロコシ Mi29×テオシント "Zea nicaraguensis" の戻し交雑集団における根の通気組織形成遺伝子 Qaer1.06 領域の高密度連鎖地図

間野吉郎・大森史恵 (畜産草地研究所)

テオシント Zea nicaraguensis は耐湿性の強い水生植物のように根の皮層部分に恒常的な通気組織を形成する. 私たちはこれまでにトウモロコシ Mi29× Z. nicaraguensis の BC $_2$ F $_1$ 集団 (214 個体)を用いた解析において、非湛水条件下における根の通気組織形成能に関連する量的形質遺伝子座 (QTL) が第 1 染色体

(Qaer1.06) に座乗していることを明らかにした。本研究では、純度の高い準同質遺伝子系統を作出するために必要不可欠な Qaer1.06 領域の詳細な連鎖地図を作成することを目的とする。 62 個の SSR マーカーと 38 個の挿入/欠失 (INDEL) マーカーの多型調査を行ったところ、QTL 領域で利用できる合計 36 個

のマーカーが得られた.これらのマーカーを用いて $Mi29 \times Z$ nicaraguensis の BC_2F_1 集団 214 個体と BC_4F_1 集団 123 個体の連鎖地図を作成した.次に, BC_4F_1 集団を用いて非湛水条件下における通気組織形成能の QTL 解析を行ったところ,Qaer1.06 の近

傍である第1染色体の bin 1.05 領域に QTL が見出された. 本研究で得られたマーカーは Qaer1.05-6 を持つ純度の高い準同質遺伝子を作出するにあたり有用であると考えられる.

Breeding Science 59: 427–433 (2009)

ダイズの主要な QTL である qPDH1 は複数のダイズ品種の難裂莢性に共通に関与する

山田哲也 $^{1)}$ ・船附秀行 $^{2)}$ ・萩原誠司 $^{3)}$ ・藤田正平 $^{4)}$ ・田中義則 $^{3)}$ ・辻 博之 $^{2)}$ ・石本政男 $^{2)}$ ・藤野介延 $^{5)}$ ・羽鹿牧太 $^{1)}$

(1)作物研究所,2)北海道農業研究センター,3)北海道立十勝農業試験場,4)北海道立中央農業試験場,5)北海道大学大学院・農学研究院)

ダイズの裂莢性を支配する主要な量的形質遺伝子座(QTL)である qPDHI は、これまでに、タイ品種 SJ2 由来の難裂莢性を持つ品種の交雑後代において同定されている。この QTL は連鎖群 J 上の SSR マーカー、Sat_366 の近傍に位置する。異なる遺伝資源に由来する難裂莢性遺伝子が一般的に qPDHI に存在するのかを調べるため、複数の分離集団について DNA マーカーを用いて遺伝解析を実施した。易裂莢性品種トョムスメと、難裂莢性品種 Harosoy との交雑に由来する F_2 集団において、裂莢性に関する主要な QTL が qPDHI の近傍に検出され、 $F_{4:5}$ 集団についても同じ位置に QTL が検出された。難裂莢性親としてワセ

コガネやカリュタカを用いた場合でも、主要な QTL が qPDH1 の近傍に検出された。その QTL の遺伝子型がヘテロ型の場合には高い裂莢性を示し、難裂莢性がほぼ劣性形質であることが示唆された。 難裂莢性品種どうしの交雑に由来する F_2 集団については、 Sat_366 の遺伝子型がヘテロ型であっても難裂莢性となった。 これらの結果から、難裂莢性品種はその由来に係わらず、劣性の難裂莢性対立遺伝子を qPDH1 に持ち、 qPDH1 近傍の分子マーカーが難裂莢性ダイズのマーカー選抜に用い得ることが示唆された。

Breeding Science 59: 435–440 (2009)

近縁野生イネ Oryza longistaminata の種間交配に由来する集団における雑種不稔性 と草丈の QTL 解析

Zhiwei Chen $^{1,2)}$ · Fengyi Hu $^{2)}$ · Peng Xu $^{2)}$ · Jing Li $^{2)}$ · Xianneng Deng $^{2)}$ · Jiawu Zhou $^{2)}$ · Fei Li $^{3)}$ · Shanna Chen $^{1)}$ · Dayun Tao $^{2)}$

(1) Life-science School, Yunnan University, China, 2) Food Crops Research Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, China, 3) Yunnan Agricultural University, China)

の SI と同じものであった. このことから O. sativa と AA ゲノム 近縁種との間の生殖障壁を制御する同祖的な雑種不稔性の遺伝 子座が存在することが示唆される. 草丈の QTL マッピングも BC_7F_2 集団の 1 つで行われた. 1 つの QTL, qphI は第 1 染色体 長腕の RM6333 付近に検出され、半矮性遺伝子 sd-I に一致した. これらの新しい QTL の情報は O. longistaminata を含む種間交雑 を介した品種開発の効率を向上させ、これらの QTL の詳細マッピングの過程を補うであろう.

Breeding Science 59: 441–445 (2009)

個体およびバルクサンプル法を用いた ISSR および RAPD 分析によるカブ品種間の遺伝的類似度の一致性

和久井健司 1)・岩田洋佳 2)・高橋 有 3)・高畑義人 3)・藤垣順三 1) (1)東京農業大学短期大学部、2)中央農業総合研究センター、3)岩手大学・農学部)

遺伝的多様性を内在するカブ品種の遺伝的類似性を効率的に評価する手法を明らかとするため、6品種各37個体のDNAを抽出し、RAPD およびISSR 分析を個体別に行った場合(個体サンプル法)とプールして行った場合(バルクサンプル法)とで得られた品種間の遺伝的類似度を比較した。すなわち、個体およびバルクサンプル法で検出されたそれぞれ125 および124の多型バンドに基づき、4つの異なる遺伝的類似性尺度によって6

品種間の遺伝的類似度行列を推定し、行列間の相関よりその相同性を評価した。その結果、4つの遺伝的類似性尺度の相関は、すべての尺度の組み合わせにおいて有意に高かった。また、品種内個体数として6~8個体を用いた個体サンプル法により、遺伝的多様性を有する品種間の遺伝的類似度を正確に評価できることが分かった。

Breeding Science 59: 447–452 (2009)