

ダイズのグループ A サポニン C-22 位における糖鎖組成に関する変異の遺伝解析

高田吉丈¹⁾・佐山貴司²⁾・菊池彰夫³⁾・加藤 信³⁾・龍崎菜々⁴⁾・中本有美²⁾・鈴木彩子²⁾・塚本知玄⁴⁾・石本政男²⁾

(¹⁾近畿中国四国農業研究センター, (²⁾北海道農業研究センター, (³⁾東北農業研究センター, (⁴⁾岩手大学大学院・農学研究科)

サポニンには植物に広く分布する多様な二次代謝物の一群である。ダイズ種子に含まれるサポニン成分の中には薬理効果を示すものが多数存在するが、種子胚軸中のグループ A サポニンは C-22 位末端にアセチル化糖を持ち苦味と収斂味の原因となる。我々は C-22 位末端糖がアセチル化されていない A0- α g と deacetyl-Af を含む 4 種類のグループ A サポニン変異体について、4 つの F₂ 集団と 1 つの組換え自殖系統群を作出し、遺伝解析を行った。各変異系統のグループ A サポニン型は第 7 染色体 (連鎖群 M) 上の単純反復配列 (SSR) マーカー Satt336 近傍の遺伝

子によって決定されていた。脱アセチルサポニンである A0- α g と deacetyl-Af に関する遺伝子座として、これまでは異なる Sg-1 および Sg-2 座が当てられてきたが、両サポニン変異体の交雑後代を用いた対立性検定では後代にアセチル化サポニンである Aa 型や Ab 型は出現しなかった。これらの結果は、4 種類のグループ A サポニン型は Sg-1 座の複数の対立遺伝子によって支配されることを示唆する。

Breeding Science 60: 3-8 (2010)

リンドウの花から放出される揮発性物質の遺伝子型変異

李 在民¹⁾・菅原悦子²⁾・横井修司¹⁾・高畑義人¹⁾

(¹⁾岩手大学・農学部, (²⁾岩手大学・教育学部)

リンドウ (*Gentiana triflora*, *G. scabra*) は重要な花卉品目の一つであるが、不快な香気を放出するため、室内の利用には向かない。不快臭のない新品種を育成するためには、これらの香気成分を理解することが必要である。リンドウの花の香気成分をヘッドスペース-固相マイクロ抽出/ガスクロマトグラフィー-質量分析法 (HS-SPME/GC-MS) により分析した。リンドウの花から放出される香気は花の齢と共に増加し開花後 3 日目に最大となり、その後は減少した。花は揮発性物質を一日中放出しているが、その放出量は昼より夜が高かった。13 の遺伝子型の

香気成分を調査したところ、合計 98 の香気成分が検出され、量的・質的変異が見られた。これらの成分のうち、lilac aldehydes (terpenoid) は *G. scabra* にのみ検出された。主成分分析の結果は同じ種に属する品種・系統はまとまることを示した。13 の遺伝子型のうち、「安代の夏」は最も多い揮発性物質を放出し、強い不快臭を持っていた。2-メチルブタン酸がリンドウの不快臭をもたらす香気成分の一つであると考えられる。

Breeding Science 60: 9-17 (2010)

台中 65 号を遺伝的背景に持つツマグロヨコバイ抵抗性遺伝子に関する近似同質遺伝子系統と集積系統の作出

藤田大輔^{1,2)}・吉村 淳¹⁾・安井 秀¹⁾

(¹⁾九州大学大学院・農学研究院, (²⁾国際稲研究所)

ツマグロヨコバイ (*Nephotettix cincticeps* Uhler) は、温帯アジア地域に広く分布するイネの害虫である。これまでに、6 つのツマグロヨコバイ抵抗性遺伝子 (*Grh1*, *Grh2*, *Grh3*, *Grh4*, *Grh5* および *Grh6*) と 1 つの量的形質遺伝子座 (*qGRH4*) がイネ連鎖地図上に位置づけられている。これらの遺伝子座に連鎖する SSR マーカーを用いて、台中 65 号を遺伝的背景に持つ *Grh1*, *Grh2*,

Grh4, *Grh5*, *Grh6* および *qGRH4* に関する近似同質遺伝子系統を作出した。さらに作出した近似同質遺伝子系統を利用して、2 遺伝子の集積系統 (*Grh2/Grh6*, *Grh4/Grh6* および *Grh5/qGRH4*) を作出した。近似同質遺伝子系統と集積系統のツマグロヨコバイ抵抗性を抗生作用検定により評価したところ、*Grh1* もしくは *Grh5* を保有する近似同質遺伝子系統は供与親と同等の抵抗性強

度を示したが、*Grh2* もしくは *Grh6* を保有する近似同質遺伝子系統は供与親よりも低い抵抗性強度を示した。また、*Grh4* もしくは *qGRH4* を保有する近似同質遺伝子系統は感受性であった。

一方、集積系統の抵抗性強度は近似同質遺伝子系統に比べ有意に増大した。

Breeding Science 60: 18–27 (2010)

ダイズ種皮の網目状裂皮に関する QTL 解析

Maurice E. Oyoo¹⁾・Stephen M. Githiri²⁾・Eduardo R. Benitez³⁾・高橋良二^{1,3)}

(¹⁾筑波大学、²⁾Kwa-Zulu Natal 大学、South Africa、³⁾作物研究所)

ダイズ種皮に生じる裂皮には、不規則に生じるタイプ I と網目状に生じるタイプ II の 2 種類がある。本研究では、タイプ II の裂皮に関する QTL 解析を行った。網目状裂皮を示す日本の在来種「ウズラマメ」と種皮の正常なアメリカ品種「Clark」の黒色種皮突然変異系統との交雑 F₂ 集団と F₃ 系統を供試した。F₂ 集団について、1 個の形態マーカーと 189 個の SSR マーカーの遺伝子型を調査し、31 連鎖群からなる合計 2463 cM の連鎖地図を作成した。各種子の裂皮の程度を裂皮指数（裂皮無：0～甚：

4）で評価し、個体の平均値を平均裂皮指数として QTL 解析を行った。その結果、C1 連鎖群上の約 62 cM 離れた位置に 2 個の QTL (*ncr 1* と *ncr 2*) が見出された。*ncr 1* と *ncr 2* の LOD 値はそれぞれ 5.90 と 8.61 であり、観察された表現型分散の 16.0% と 32.4% を説明した。両者は相加的に作用しており、どちらも「ウズラマメ」タイプの遺伝子型で平均裂皮指数が増加した。F₂ 集団で認められた QTL の効果は F₃ 系統においても確認された。

Breeding Science 60: 28–33 (2010)

形態形質と RAPD 分析に基づくイラン在来メロンの Flexuosus 群と Dudaim 群の多様性解析

Forouzandeh Soltani¹⁾・明石由香利²⁾・Abdolkarim Kashi¹⁾・Zabihollah Zamani¹⁾・Yones Mostofi¹⁾・加藤鎌司²⁾

(¹⁾Department of Horticultural Sciences, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Iran、²⁾岡山大学大学院・自然科学研究科)

イラン在来メロンのうち Flexuosus 群（スネークメロン）と Dudaim 群（ポケットメロン）の多様性を形態形質と生理学的形質による解析および RAPD 分析によって明らかにした。供試材料は全て種子長が 9 mm 以上の大粒系メロンであり、31 種類の形態および生理学的形質において有意な系統間差異が認められた。Flexuosus 群の 25 系統のなかには、細長い果実、薄緑色の果皮、リブ（果実表面の縦溝）および低い果肉糖度という典型的な果実形質の系統も認められたが、短い果実、深緑色の果皮、心皮数が 5、リブなし、高い果肉糖度という例外的な形質を示す系統も存在した。形態および生理学的形質に基づくクラスター分析により、イラン在来メロンは 7 つのグループに分けられ、Dudaim 群（クラスター V）は Flexuosus 群とは明確に分かれた。Flexuosus 群の 25 系統は、典型的な果実タイプの系統（クラス

ター I）とその他の系統（クラスター III～VI）に分かれた。RAPD 分析の結果、Flexuosus 群 25 系統の多様性指数は 0.201 であり、高い遺伝的多様性を示した。RAPD 多型に基づくクラスター分析の結果、Flexuosus 群が 6 つのクラスターに分かれ、しかも 4 つのクラスターではイランや他地域の大粒系メロン（Inodorus 群（フユメロン）および Cantalupensis（イボメロン）群）と一緒にグループを形成したことから、これらの大粒系メロンが遺伝的に近縁であることが判明した。以上の結果は、大粒系メロンの Flexuosus 群、Inodorus 群および Cantalupensis 群は遺伝的に分化していないことを示している。また、この原因としてはグループ間での自然交雑が示唆された。

Breeding Science 60: 34–45 (2010)

イネ品種における米遊離アミノ酸プロファイルの差異

Joseph Sherman Kamara・小西省吾・笹沼恒男・阿部利徳

(山形大学・農学部)

米の遊離アミノ酸は、米の食味・官能に影響する 1 要因として重要と考えられるようになってきている。イネ品種における

この特性の違いを明らかにするために、49 品種を用い、Pico-Tag 法によって、遊離アミノ酸含量を決定した。それらのうち

13 品種について、24 時間の発芽処理後の遊離アミノ酸蓄積パターンの変動についても試験した。その結果、全遊離アミノ酸ばかりでなく個々の遊離アミノ酸においても顕著な品種間差異が認められた。特にある特定の遊離アミノ酸の蓄積に着目したとき、インド型品種および日本型品種間で、有意な差異が認められた。アスパラギン酸由来の全遊離アミノ酸とグルタミン酸由来の全遊離アミノ酸の比 (A/G 比) を求めると、インド型品種および日本型品種の米を分ける有用な指標となることがわかった。米の A/G 比はインド型品種群 (1.07) より日本型品種群

(0.68) のほうが低かった。これは日本型品種の米はインド型品種の米と比較して、グルタミン酸由来のアミノ酸を多く蓄積する傾向にあるということを示している。また、発芽処理により、ほとんどの品種で A/G 比は低下したが、インド型品種でより迅速に低下した。これらの結果は、アスパラギン酸由来およびグルタミン酸由来の遊離アミノ酸の蓄積に着目したとき、胚乳中での遊離アミノ酸の蓄積パターンが、日本型品種およびインド型品種間で大きく異なることを示している。

Breeding Science 60: 46–54 (2010)

画像解析的手法によるイネの穂型解析と穂形質に関する QTL の検出

池田真由子¹⁾・広瀬佳嗣²⁾・高師知紀²⁾・柴田洋佑³⁾・山村卓也⁴⁾・香村敏郎⁴⁾・土井一行¹⁾・芦荻基行⁴⁾・松岡 信⁴⁾・北野英己⁴⁾

(¹⁾名古屋大学大学院・生命農学研究科, (²⁾ホンダ・リサーチ・インスティテュート・ジャパン (HRI-JP), (³⁾愛知教育大学大学院・教育学研究科, (⁴⁾名古屋大学・生物機能開発利用研究センター)

イネの 1 穂穎果数を制御することは、収量増大を実現させる上で重要である。イネの穂は複雑な分枝構造を有しているため、我々は、まず穂のスキャナー画像から種々の枝梗長、枝梗数および 1 穂穎果数等の形質を自動計測することが可能なソフトウェア、PASTAR (PANicle STRUCTURE Analyzer for Rice) および PASTA Viewer を開発した。PASTA Viewer は、実測値を用いて穂の着粒構造を描画することも可能である。この画像解析的手法を用いて、イネ多粒系統の穂型を解析するとともに、コシヒカリと“New Plant Type”に分類される多粒系統 NP-6 との交雑 F₂ 集団

を用いて、自動計測した 18 種類の穂形質に関して QTL 解析を行った。その結果、幾つかの穂形質に対して単独に作用する QTL も検出されたが、NP-6 の対立遺伝子が正に作用する QTL が集中した領域が第 1、第 6 および第 8 染色体上に検出された。このことから、NP-6 の穂型とその多粒性は、穂型に部分的な効果を示す遺伝子座とともに、多面的作用を示す少数の遺伝子座によって主に制御されていることが示唆された。

Breeding Science 60: 55–64 (2010)

キュウリの果実物性に関する組合せ能力の検定

吉岡洋輔・杉山充啓・坂田好輝

(野菜茶業研究所)

キュウリ果実の食感、特に歯触りはキュウリのおいしさを決める重要な特性であり、品種育成に際しての選抜基準になっている。しかし、これまでキュウリの食感は硬さなどの簡単に計測できるものを除いて、評価者の心理による誤差が生じやすい定性的な評価が一般的であった。そのため、客観的あるいは定量的な評価が必要とされる遺伝解析は殆ど行われておらず、良食感品種の効率的な育成に必要な知見の蓄積が進んでいない。本研究では、来歴の異なる日本のキュウリ 8 品種・系統の総当たり交配 (片側) により得られた 36 の F₁ (親系統の自殖次代を含む) について、食感に関わる果実物性を物性測定機器を用いて定量的に評価し、その評価値に基づいて組合せ能力の検定を行った。その結果、果肉部および胎座部の硬さや果肉の歯切れ感などに関わる全ての物性値 (応力曲線の二次微分値の総和

やフラクタル次元など) において、ほとんどの F₁ が両親系統間の値をとった。また、一般組合せ能力 (GCA) と特定組合せ能力 (SCA) の効果は有意であり、GCA の効果は SCA よりも大きく、各親系統の GCA と表現型値には強い相関関係が認められた。今回のダイヤレル交配においては、食感に関わる果実物性ではヘテロシスはほとんどみられず、また、GCA の寄与が SCA に比べて大きいことから、親系統の GCA によって F₁ のおおよその値を推定できることが示された。硬くて歯切れの良い食感を目標にした F₁ 品種の育成では、GCA を最大限に活用することが重要であり、特に、F₁ の親系統候補の選抜過程で系統の食感を正確に評価し、GCA の高い系統を選抜していくことが効率的な育種に結びつくと考えられた。

Breeding Science 60: 65–70 (2010)

イネのトビイロウンカ抵抗性遺伝子 *bph4* はイネのトビイロウンカ抵抗性遺伝子 *Bph3* の座乗染色体領域にマップされる

Jirapong Jairin¹⁾ · Kalaya Sansen¹⁾ · Waraporn Wongboon¹⁾ · Jate Kothcharek²⁾

(¹⁾Ubon Ratchathani Rice Research Center, Thailand, ²⁾Phitsanulok Rice Research Center, Thailand)

イネのトビイロウンカ (BPH) 抵抗性遺伝子 *bph4* はイネの染色体 6 の短腕に座乗することが知られていた。しかしながら、その遺伝子の正確な座乗位置は決定されていなかった。*bph4* 遺伝子座の座乗位置を特定するために、染色体 6 上の 0.0–63.4 cM に位置する 15 の SSR (simple sequence repeat) マーカーを用いて、TN1 と Babawee ならびに Babawee と KDML105 の交雑に由来するそれぞれ 95 個体と 78 個体からなる F₂ 集団のトビイロウンカ抵抗性反応を調査して抵抗性個体と感受性個体を識別した。調査した 15 の SSR マーカーのうち、SSR マーカー *RM586* が F₂ 集団における抵抗性と感受性の分離と共分離していた。それぞれ 95 個体と 78 個体からなる F₂ 集団を用いて作製した SSR マー

カー連鎖地図を利用したトビイロウンカ抵抗性に関する QTL 解析の結果、*bph4* は SSR マーカー *RM589* と *RM586* の間にマップされた。この領域は既に報告されているトビイロウンカ抵抗性遺伝子 *Bph3* の座乗染色体領域と一致した。抵抗性遺伝子 *bph4* に連鎖する SSR マーカーは、F₂ 集団における全体の変異の 58.8–70.1% を説明しており、トビイロウンカ抵抗性育種上の選抜マーカーとして利用可能である。また、本研究は、劣性遺伝子として報告されている *bph4* が、異なる遺伝的背景のもとでは優性遺伝子として働いていることを示している。

Breeding Science 60: 71–75 (2010)

Brassica rapa におけるアントシアニン着色を制御する新規遺伝子座のマッピング

林 健^{1,5)} · 松元 哲²⁾ · 塚崎 光²⁾ · 近藤友宏³⁾ · 久保中央^{1,4)} · 平井正志^{1,4)}

(¹⁾京都府農林水産技術センター・生物資源研究センター, ²⁾野菜茶業研究所, ³⁾(株)日本農林社, ⁴⁾京都府立大学大学院・生命環境科学研究科, ⁵⁾現: 京都府農林水産技術センター・農林センター)

Brassica rapa の一種であり、アントシアニンによって着色されている‘伊予緋蕪’の倍加半数体系統とアントシアニン色素をもたないハクサイの自殖系統‘Y54’を交配した。その結果、アントシアニン着色の有無は F₂ 集団において 79:27 に分離し、着色の有無は一遺伝子による制御を受けているものと推察された。そこでバルク法による解析を行った。全体で 480 種類のランダムプライマーを一对の F₂ 個体由来のバルク化された DNA サンプルに対して用い、スクリーニングを行ったところ、5 つの RAPD マーカーが着色遺伝子座の近傍に存在することを見出した。そして、4 つの RAPD マーカー、2 つの SSR マーカー、1 つの CAPS マーカーからなる着色遺伝子座周辺の部分連鎖地図

を構築した。ランダムプライマー OPU10 によって増幅される 0.84 kb の断片をクローニングし、塩基配列を決定したのち、CAPS マーカーへ変換した (OPU10C)。この CAPS マーカーは部分連鎖地図上において、着色遺伝子座から 4 cM 離れており、以前報告された *B. rapa* の参照地図では R07 連鎖群にマップされた。この着色遺伝子座は、以前、R09 連鎖群にマップされていると報告のあった、アントシアニン制御に関与する *anl* 遺伝子座とは異なるものであった。そこで、我々はこの新たな遺伝子座を *Anp* と名付けた。この遺伝子座は今後、*B. rapa* の育種やゲノムの特徴づけに有用であろう。

Breeding Science 60: 76–80 (2010)

シイタケ (*Lentinula edodes*) の子実体形成期に大量に発現している遺伝子のマッピング

宮崎和弘¹⁾ · 坂井美穂²⁾ · 宮崎安将³⁾

(¹⁾森林総合研究所・九州支所, ²⁾日本文理大学, ³⁾森林総合研究所)

きのこの分子育種において、遺伝子発現レベルで子実体形成のメカニズムを理解することは、不可欠なアプローチのひとつである。子実体の形質を制御する遺伝子を特定するため、ならびにこれらの遺伝子の機能を決定するためには、候補遺伝子の

位置が QTL 分析のデータと関連づけられる必要がある。シイタケの子実体形成のメカニズムを分析するための最初のステップとして、我々は子実体形成期に特異的または大量に発現している遺伝子のうちの 12 の遺伝子座について、連鎖地図への位置づ

けを行った。ふたつのマッピングされた遺伝子はそれぞれ, *mbc* 遺伝子および EST マーカーのひとつである LEEST359 と完全に同一の分離パターンを示した。加えて, 別のふたつの遺伝子は, お互いに完全に同一の分離パターンを示したことから, シイタケのゲノム上の大変近い位置にあることが示唆された。全体的

にみると, 子実体原基および子実体形成期に特異的もしくは大量に発現している 12 の遺伝子は, シイタケのゲノム全体に散在しており, 8 つの連鎖群にマッピングされた。

Breeding Science 60: 81–86 (2010)

モルッカネム (*Paraserianthes falcataria*) における SNP マーカーの開発とマルチプレックス SNUPE による DNA タイピング

Vivi Yuskianti^{1,2)}・白石 進³⁾

(¹)九州大学大学院・生物資源環境科学府, ²⁾現:The Center for Forest Biotechnology and Tree Improvement, Indonesia, ³⁾九州大学大学院・農学研究院)

近年の DNA 技術の進歩により, 分子マーカーとしての一塩基多型 (SNP) の利用が高まっている。モルッカネムにおいて SNP が開発され, 一塩基伸長反応 (SNUPE) によるマルチプレックス DNA タイピング法を作成した。RAPD で増幅された PCR 産物の中から 17 個の SCAR マーカーが作られ, そのうちからヘテロ接合体率の高い 12 個の SNP を選抜し, それぞれ 4 個の SNP で構成される 3 セットのマルチプレックス SNUPE 分析系を構築

した。この系の個体識別能 (discrimination power: DP) を推定した結果, A セット (DP: 0.968) が最も高く, 次いで, B セット, C セットであった。3 セットすべてを使用した場合の識別能はほぼ 100% であった。この SNUPE 分析系は, この林業樹種において実用的な個体識別法として使用できる。

Breeding Science 60: 87–92 (2010)

パプリカ (*Capsicum annuum* L., カラーピーマン) の核遺伝子型雄性不稔性に連鎖した CAPS マーカー

Jundae Lee¹⁾・Jung-Heon Han¹⁾・Chul-Geon An²⁾・Won Phil Lee¹⁾・Jae Bok Yoon¹⁾

(¹)College of Agriculture and Life Sciences, Seoul National University, South Korea, ²⁾Gyeongsangnam-do Agricultural Research and Extension Services, South Korea)

核遺伝子型雄性不稔性 (GMS) は, トウガラシ (*Capsicum annuum* L.) の F₁ 種子生産技術として広く利用されている。しかし, 一般には劣性の核遺伝子に支配されているトウガラシの GMS 遺伝子に連鎖した分子マーカーの開発は, ほとんど行われていない。本研究では, BSA (bulk segregant analysis) 法と AFLP (amplified fragment length polymorphism) 技術を用いて, パプリカの GMS に連鎖した DNA マーカーの開発を行った。市販の F₁ 品種「Mirage」と「Fiesta」の自殖により作成した 2 つの F₂ 集団を用い, 256 のプライマー組合せを用いた BSA-AFLP

法により解析を行った。5 つの再現性のある多型検出プライマーの組合せの中で, AFLP マーカーである Egat/Mcgg を共優性である CAPS (cleavage amplified polymorphic sequence) マーカーに変換した。PmsM1-CAPS と名付けたこのマーカーは, 雄性不稔遺伝子 (*ms*) から 2 ~ 3 cM の位置に座乗する。PmsM1-CAPS は, 異なる GMS 遺伝子を持つ「MiniBell」では連鎖は見られないが, 「Helsinki」由来の F₂ 集団や本研究に用いた F₁ 品種由来の F₃ 集団における雄性不稔性のスクリーニングに有用である。

Breeding Science 60: 93–98 (2010)