

シロイヌナズナ細胞質デヒドロアスコルビン酸還元酵素遺伝子 1 を過剰発現させた形質転換ジャガイモは除草剤、乾燥、塩ストレスに高い耐性を示した

Amin Elsadig Eltayeb^{1,2)}・山本祥平¹⁾・Mohamed Elsadig Eltayeb Habora¹⁾・Lina Yin^{1,2)}・辻本 壽³⁾・田中 淨¹⁾

(¹⁾鳥取大学・農学部, ²⁾鳥取大学・乾燥地研究センター, ³⁾鳥取大学・農学部)

アスコルビン酸 (ビタミン C) は強い抗酸化物質でフリーラジカルの消去物質であり、乾燥や塩ストレス、除草剤使用による悪環境条件で引き起こされる酸素障害に対して植物を防御する。デヒドロアスコルビン酸還元酵素 (DHAR: EC 1.8.5.1) とモノデヒドロアスコルビン酸還元酵素 (MDAR: EC 1.6.5.4) はアスコルビン酸再生とその還元型プールの維持にとって必須である。この研究ではシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) DHAR 遺伝子 (*AtDHAR1*) を細胞質で過剰発現させた形質転換ジャガイモ (*Solanum tuberosum* L.) の開発について報告する。形質転換植物は野生型と比べて、4.5 倍の DHAR 活性、2.8 倍の還元型

のアスコルビン酸のレベルを示した。メチルバイオロゲン処理したときに、形質転換植物はより低いイオン漏出、より高いクロロフィル含量、より低い過酸化水素蓄積、より低い可視障害症状での評価において耐性の向上を示した。さらに、形質転換植物は乾燥と塩ストレス下でより速い成長を示した。我々の結果から、DHAR の過剰発現によりアスコルビン酸含量を増加させることは、除草剤耐性ジャガイモの開発にとって実用的な手法であることを示している。

Breeding Science 61: 3–10 (2011)

普通系コムギの低分子量グルテニン・サブユニットをコードする *Glu-B3* 座の遺伝子型を識別する圃場マーカーとしての *Rg-B1* 座に支配される「ふ色」の適用性

藤井 潔^{1,2)}・辻 孝子¹⁾・吉田朋史¹⁾・船附稚子³⁾・池田達哉⁴⁾

(¹⁾愛知県農業総合試験場, ²⁾愛知県立農業大学校, ³⁾北海道農業研究センター, ⁴⁾近畿中国四国農業研究センター)

普通系コムギ (*Triticum aestivum* L.) の 1B 染色体短腕に座乗し、低分子量グルテニン・サブユニットをコードする *Glu-B3* 座の複対立遺伝子は生地物性と関連している。これら複対立遺伝子の中で *Glu-B3g* が生地強度を増大させることが知られている。育成系統に *Glu-B3g* 遺伝子を効率的に導入するためには、DNA マーカーを用いた選抜法 (DNA-MAS) がきわめて有効な手段である。本研究では、*Glu-B3* 座の遺伝子型を識別するための「圃場マーカー」として、1B 染色体短腕に座乗する *Rg-B1* (*Rgl*) 座に支配される「ふ色」の適用性を検討した。各系統集団の組合せにおいて、両親の *Glu-B3* 座および *Rg-B1* 座の遺伝子型が共に異なる 3 種類の F₄ 系統集団を連鎖解析に用いた。各系統の *Glu-B3* 座遺伝子型の判別には、*Glu-B3* 座の複対立遺伝子に特異

的な DNA マーカーを用いた。*Rg-B1* 座の遺伝子型は各系統の「ふ色」によって判別した。その結果、3 種類の系統集団の全てで *Glu-B3* 座と *Rg-B1* 座との間に有意な強い連鎖が認められた。DNA-MAS と比較して、短時間かつ低コストで遺伝子型判別が可能であるので、*Rg-B1* 座に支配される「ふ色」は、*Glu-B3* 座の遺伝子型を識別するための有用な「圃場マーカー」となることが明らかになった。この「圃場マーカー」を用いることで DNA-MAS のための煩雑な実験操作が不要となり、育種圃場で系統や個体の「ふ色」を観察するだけで *Glu-B3g* 遺伝子を保有する優良コムギ系統を選抜することが可能となる。

Breeding Science 61: 11–16 (2011)

イネ *DENSE PANICLE 1* の機能欠失型突然変異は半矮性と若干の穎花数の増加をもたらす

田口(塩原)文緒¹⁾・川越 靖²⁾・加藤 浩³⁾・小野寺治子²⁾・田切明美²⁾・原 奈保²⁾・宮尾安藝雄⁴⁾・
廣近洋彦⁴⁾・北野英己⁵⁾・矢野昌裕¹⁾・土岐精一²⁾

(¹⁾農業生物資源研究所・QTL ゲノム育種研究センター, (²⁾農業生物資源研究所・植物科学領域, (³⁾作物研究所・低コスト稲育種研究チーム,
⁴⁾農業生物資源研究所・基盤研究領域, (⁵⁾名古屋大学・生物機能開発利用研究センター)

穀類の育種では、半矮性と穎花数の増加は好ましい形質である。我々はイネ *DENSE PANICLE 1* (*DN1*) 変異体アレル *Dn1-1* がこれら両方の特性をもたらす、*Dn1-1* は機能欠失型の突然変異であることを示した。*DN1* は *DENSE AND ERECT PANICLE 1* (*DEP1*) (= *qPE9-1*) の対立遺伝子である。茎頂における *OsCKX2* の発現レベルは、*Dn1-1* 変異体と野生型とで同等で、*OsCKX2* は穎花数の増加に寄与しないことが示された。*Dn1-1* アレルと *Dn1-3* アレルとの比較から、*DN1* の N 末領域に含まれる coiled-coil ドメインと核移行シグナルが半矮性の原因となっている可能性が示唆された。同様に、1 個の膜貫通型 α ヘリックス、VWFC

モジュールおよび four-disulfide core ドメインが、更に穎花数を増加させることが明らかになった。Green fluorescent protein (GFP) 融合 *DN1* タンパク質の解析から *DN1* は核と細胞膜に局在し、N 末断片が切り出されることが示唆された。*Dn1-1* 変異体のジベレリン、ブラシノライドおよびカイネチンに対する感受性は正常で、ブラシノライド関連変異体とのエピスタシスは見られなかった。*DN1* はこれらの植物ホルモンのシグナル伝達系では機能していないと考えられる。

Breeding Science 61: 17–25 (2011)

日本のダイズ帯化変異体の遺伝学的および分子生物学的解析

恩田隆卓¹⁾・渡辺啓史²⁾・佐山貴司^{2,3)}・小松邦彦³⁾・岡野克紀⁴⁾・石本政男^{2,3)}・原田久也²⁾

(¹⁾千葉大学大学院・園芸学研究科, (²⁾農業生物資源研究所, (³⁾北海道農業研究センター, (⁴⁾茨城県農業総合センター)

ダイズの帯化変異は単一の劣性遺伝子によって支配され、扁平な茎、分枝の減少、茎頂部における花房の密集した形状という形態的特徴を生じる。これまでに帯化変異の形態的特徴は詳細に解析されているが、分子的な情報は限られている。本研究では 3 種類の日本在来の帯化変異系統、錫杖大豆、帯化大豆、錫杖豆と正常な国産ダイズ品種を両親として、分離集団を作出した。これら 3 種の F₂ 集団を用いた連鎖解析の結果、帯化遺伝子座 (*F* 遺伝子座) を第 2 染色体 (D1b 連鎖群) 上に位置づけた。1536 個体を用いた大規模集団解析の結果、ひとつの DNA マーカーが帯化変異と共分離することがわかった。この DNA

マーカーによって得られる増幅断片は、正常型の対立遺伝子を持つ場合に限られており、錫杖大豆と他の 2 つの帯化変異系統において、この DNA マーカーを含む近傍領域を PCR 法によって増幅することができなかった。このことは帯化型の対立遺伝子 (*f*) で、なんらかの欠失、もしくは大きなゲノム構造の変化が生じていることを示唆している。公開されたダイズのゲノム構造に基づくと、帯化変異と共分離する領域には 2 つの遺伝子、Glyma02g36940 および Glyma02g36960 が予測されている。本論文ではこれらの候補遺伝子と帯化変異との関係について議論した。

Breeding Science 61: 26–34 (2011)

形質転換イネを用いたオオムギ *Nud* 遺伝子の発現および機能解析

掛田克行¹⁾・石原倫光¹⁾・泉 洋平²⁾・佐藤和広²⁾・武田 真²⁾

(¹⁾三重大学大学院・生物資源学研究科, (²⁾岡山大学・資源植物科学研究所)

禾穀類のほとんどは脱穀が容易な裸性の穀粒(穎果)をもつが、オオムギ品種の大多数は穎が固着した皮性の穎果を有する。オオムギ穎果の裸性は単一の遺伝子座 *nud* によって遺伝的に制御され、*Nud* 遺伝子(皮性アレル)は脂質合成経路を調節する ERF ファミリーの転写因子をコードしている。オオムギ *Nud* 遺伝子の機能解析を目的に、我々は発達中の穎果で *Nud* を発現

させた形質転換イネを作出した。すべての形質転換系統において、成熟時の穎果からは容易に穎が剥がれ、*Nud* 導入遺伝子の発現に関わりなく裸性表現型は変化しなかった。形質転換イネの穎果の組織化学的解析および脂質解析において発達中の穎果表面には脂質蓄積量の増加がみられなかったことから、*Nud* を介した脂質経路はイネの穎果では機能していないことが示唆さ

れた。一方、*Nud* の推定イネオルソログである *Os06ERF* 遺伝子も発達中の穎果で特異的に発現していた。しかし、イネの穎果における *Os06ERF* ならびに導入 *Nud* 遺伝子の発現はいずれも、オオムギの穎果における *Nud* の発現時期より早いステージで止

まることが示された。このことから、穎と穎果を接着するための経路の活性化には *Nud* 発現のタイミングがきわめて重要であるという新たな仮説が提起される。

Breeding Science 61: 35–42 (2011)

土壌カドミウムを効率に除去するイネのカドミウム集積に係わる QTL の検出

安部 匡¹⁾・田口 (塩原) 文緒²⁾・小島洋一郎³⁾・蛭谷武志³⁾・倉俣正人¹⁾・山本敏央²⁾・矢野昌裕²⁾・石川 覚¹⁾

(¹⁾農業環境技術研究所, (²⁾農業生物資源研究所, (³⁾富山県農林水産総合技術センター)

カドミウム (Cd) 高集積イネ品種 (*Oryza sativa* L.) による植物浄化は、Cd に汚染された水田土壌を修復する有望な技術である。地上部の Cd 集積に係わる遺伝情報は、Cd 浄化に利用できるイネ品種を開発する上で、必要不可欠である。我々は Cd 低集積品種「コシヒカリ」と高集積品種「Jarjan」の交雑から得られた戻し交雑系統群を開発した。それら系統群を Cd 濃度の異なる 3 つの水田土壌 (Cd 低濃度の 2 圃場と Cd 高濃度土壌を充填したポット) で栽培した。QTL 解析の結果、玄米と稲わらの Cd 集積を支配する主要な QTL はどの土壌で栽培したときも、第

7 染色体 (*qCdp7* と命名) に検出され、その QTL の寄与率は 31 ~ 54% であった。*qCdp7* による Cd の浄化効率を確認するため、*qCdp7* を Jarjan 型で持つ数系統を Cd 汚染土壌で栽培した。さらに「コシヒカリ」をその跡地土壌で栽培し、地上部 Cd 濃度が著しく減少することを確認した。これらの結果から、Jarjan 型の *qCdp7* は、土壌から Cd を除去するのに有効であることがわかった。

Breeding Science 61: 43–51 (2011)

主成分分析と QTL 解析によって明らかにされた栽培イネ花序構造の変異

田口 (塩原) 文緒¹⁾・小島洋一郎²⁾・蛭谷武志²⁾・矢野昌裕¹⁾・江花薫子¹⁾

(¹⁾農業生物資源研究所, (²⁾富山県農林水産総合技術センター)

栽培イネ (*Oryza sativa* L.) 花序構造の変異を規定する要因を特定するため、292 系統 (インディカ 136 系統, ジャポニカ 156 系統) を用いた主成分分析 (PCA) を行った。第一主成分で全分散の 40.6% が説明され、主に二次枝梗原基形成期が長くなることによるものと考えられた。第二主成分は 23.4% を説明し、主に穂軸と一次枝梗の上により多数の原基が形成されることにより説明された。インディカにはより多数の一次枝梗と側生器官がある一方、ジャポニカではより穂軸が長く、その穂軸にはより多くの側生器官があることから、穂の発生においてヘテロ

クロニックな違いがあることが示唆された。コシヒカリ、および穂あたり穎花数について最多となった 3 系統を含む他の 6 系統との交配に由来する 5 つの F₂ 集団と 1 つの Backcross Inbred Lines を用い、穂形質および出穂日についての QTL 解析を行った。10 の穂形質について合計 174 個の QTL が検出された。第 3, 第 6, 第 7 染色体の QTL のみが 2 集団ないし 3 集団で共通に検出され、栽培イネの花序構造の変異は多くの遺伝子によって決定されていることが示唆された。

Breeding Science 61: 52–60 (2011)

熱帯ジャポニカ品種 Silewah より新たに見出されたイネ穂ばらみ期耐冷性 QTL

森 正彦^{1,2)}・大西一光^{1,2,3)}・時園佳朗³⁾・品田博史²⁾・吉村 徹²⁾・沼尾吉則²⁾・三浦秀穂¹⁾・佐藤 毅²⁾

(¹⁾帯広畜産大学, (²⁾(地独) 北海道立総合研究機構・上川農業試験場, (³⁾北海道大学大学院・農学研究院)

イネにおいて穂ばらみ期の低温ストレスは、花粉の形成異常に起因する種子稔性の低下を引き起こし、米生産に深刻な被害をもたらす。熱帯ジャポニカ品種 Silewah を供与親として、高い耐冷性を持つ系統が複数育成されているものの、耐冷性に関

与する遺伝因子に関しては未知の部分が多い。本研究では耐冷性に効果を持つ QTL を同定するため、Silewah との交雑から育成された新たな耐冷性系統について表現型の評価と分子的解析を行った。分子マーカーを用いた解析から、高い耐冷性を持つ

2系統が第3, 4および11染色体上の同じ領域に Silewah 由来の染色体断片を持つことが明らかとなった. 分離集団を用いて Single marker analysis を行ったところ, 第3染色体上の Silewah 由来の対立遺伝子 (*qCTB3-Silewah*) が耐冷性を付与することが明らかとなった. また *qCTB3-Silewah* の耐冷性への効果は, 優良品種を反復親とした戻し交雑集団において表現型により選抜

した育成系統で *qCTB3-Silewah* が選抜の対象となっていたことから確認された. *qCTB3* は以前に報告された Silewah 由来の QTL とは異なることから, 遺伝背景や環境に依存して異なる QTL が育種に利用されるものと考えられた.

Breeding Science 61: 61–68 (2011)

準同質遺伝子系統を利用したイネの粒重に関する QTL, *gw8.1* および *gw9.1* 間の相互作用検出

Feng-Xue Jin^{1,4)} · Shi-Dong Ji¹⁾ · Xiao-Bo Xie²⁾ · Ju-Won Kang¹⁾ · Hong-Guang Ju³⁾ · Sang-Nag Ahn¹⁾

⁽¹⁾ Department of Agronomy, College of Agriculture & Life Sciences, Chungnam National University, Korea, ⁽²⁾ Institute of Horticulture, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, China, ⁽³⁾ Agricultural Department, Agricultural College of Yanbian University, China, ⁽⁴⁾ Present address: Biotechnology Research Center, Jilin Academy of Agricultural Sciences, China)

粒重はイネの育種選抜における重要な形質の一つである. これまでの研究において, 粒重に関与する2種類の QTL, *gw8.1* および *gw9.1*, が Hwaseong と *Oryza rufipogon* (IRGC 105491) の交雑後代において検出されていた. 本研究では, これらの QTL の遺伝子発現に相互作用が関与するかどうかを明らかにするために, *gw8.1* および *gw9.1* の準同質遺伝子系統間の F₂ 集団を作成し, 連鎖する単純反復配列 (SSR) マーカーを利用して, それぞれの遺伝子を組み合わせた準同質遺伝子系統を選抜した. 二元配置の分散分析の結果, 二つの遺伝子間に相互作用が関与

することが明らかとなった ($P=0.0084$). この相互作用は, 遺伝子を集積した F₃ 準同質遺伝子系統によって確認することができた. *gw8.1* はさらなる詳細マッピングの結果, SSR マーカー RM23204 および RM23211 間の 110.1 kb のゲノム領域に存在することが明らかとなった. これらの結果は, 準同質遺伝子系統を利用して粒重の QTL 間の相互作用を明らかにした最初の事例である.

Breeding Science 61: 69–75 (2011)

栽培イネ *Oryza sativa* Nipponbare および野生イネ *O. rufipogon* 間の戻し交雑自殖系統群の作出ならびにそれらを用いた耐干性に関する QTL 解析

Pham Thien Thanh · Phuong Dang Thai Phan · 森 直樹 · 石川 亮 · 石井 尊生

(神戸大学大学院・農学研究科)

野生種などの遠縁植物由来の有用形質を評価する場合, それらを栽培種で複数回戻し交雑した分離集団を用いると効果的である. そこで本研究では, まず, 野生イネ系統 *Oryza rufipogon* W630 を栽培イネ品種 *O. sativa* Nipponbare で2回戻し交雑し, さらに自殖を重ねることによって, 159系統からなる BC₂F₈ 世代の戻し交雑自殖系統群 (BRILs) を育成した. これらの BRILs より DNA を抽出して, ゲノム中に散在する 180 の SSR マーカー座の遺伝子型を調べたところ, ほぼホモ型に固定していること

がわかった. そこでさらに, これら系統の自殖後代を用いて耐干性に関する QTL 解析を行った. その結果, 6つの QTL が推定され, そのうち3つの遺伝子座において, 野生種の対立遺伝子が耐干性を向上させる効果を持つことが明らかになった. 本研究で分子マーカー座の遺伝子型を決定した BRILs は, 今後野生種に特異的な様々な形質に関する QTL 解析に応用可能であると考えられる.

Breeding Science 61: 76–79 (2011)

オオムギ 7H 染色体上の短芒遺伝子 *short awn 2* (*lks2*) および密穂遺伝子 *dense spike 1* (*dsp1*) の分子マッピング

武田 真¹⁾・湯尾崇央¹⁾・櫻井幸恵²⁾・三宅頌子²⁾・一井眞比古³⁾

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

short awn 2 (*lks2*) および *dense spike 1* (*dsp1*) は東アジアのオオムギに固有の遺伝子である。これら2つの穂関連形態遺伝子は安定生産および地域適応性に関係するとみられるため重要である。これら遺伝子をポジショナルクローニングする第一歩として、樺太在来と会津裸3号の交雑 F₂ 98 個体を用いて分子マッピングを行った。*dsp1* は 7H 染色体短腕基部にマップされた。*lks2* は 7H 長腕上で、EST ベースのマーカーである k0415 と k06123 の間にそれぞれ基部側 0.5 cM および末端側 1.0 cM の距離において位置していた。k0415 と k06123 はともにイネ第 6 染

色体上の遺伝子と相同性を有し、それらの間の物理距離は 5.6 Mbp であった。この区間において、イネ-オオムギマイクロシニターを利用してマーカー開発を試みた。57 個のイネ遺伝子から出発して、15 個 (26.3%) の多型を示す EST ベースのマーカーが得られた。*lks2* の候補領域にはマイクロコリアリティーの乱れが観察されたことから、オオムギとイネが共通祖先から分化する過程で *lks2* 担荷領域に構造変異が生じたことが示唆される。

Breeding Science 61: 80–85 (2011)

茎葉の収量が高く糖含量が高いホールクロップサイレージ用イネ新品種「たちすずか」

松下 景¹⁾・飯田修一¹⁾・出田 収¹⁾・春原嘉弘^{1,2)}・前田英郎^{1,2)}・田村泰章^{3,4)}・河野幸雄⁵⁾・高桑将滋⁵⁾

(¹⁾近畿中国四国農業研究センター, ²⁾現: 作物研究所, ³⁾国際農林水産業研究センター, ⁴⁾現: 九州沖縄農業研究センター, ⁵⁾広島県立総合技術研究所・畜産技術センター)

ホールクロップサイレージ (WCS) 用のイネ新品種「たちすずか」を育成した。2007 年から 2009 年にかけての試験によると、「たちすずか」の稈長は「クサノホシ」より 11 cm 長い。「たちすずか」の穂は短く、短穂突然変異 *sp1* と形態的に類似する。「たちすずか」は収穫適期である黄熟期およびその 1 ヶ月後において高い耐倒伏性を示す。「たちすずか」の茎葉収量は「クサノホシ」と比較し大幅に高い反面、子実収量はごく少ない。イネ WCS を給与した際、一部の粗が牛体内で消化されずに排泄さ

れ、これによる栄養分のロスが生じる。「たちすずか」では粗わら比が低いため、その WCS を給与した際の粗の不消化による栄養分ロスが「クサノホシ」の WCS を給与した際よりも低いと考えられる。さらに、イネ体内の糖含量が低いことが WCS の不良発酵の原因の一つと考えられているが、「たちすずか」の糖含量は「クサノホシ」より大幅に高い。

Breeding Science 61: 86–92 (2011)

黄色の胚乳を有する *Oryza sativa* 自然突然変異系統からの *oryzamuraic acid A* および *D* の単離・同定

中野 洋¹⁾・田村克徳¹⁾・坂井 真¹⁾・大岡直人²⁾・荒川 誠²⁾・矢ヶ崎健治²⁾・箕田豊尚²⁾・野田 聡²⁾・新井 守²⁾

(¹⁾九州沖縄農業研究センター, ²⁾埼玉県農林総合研究センター)

これまでに黄色の胚乳を有する *Oryza sativa* 人為突然変異品種「初山吹」の玄米からのみ単離されていた新規の含窒素複素環骨格を有するアルカロイド *oryzamuraic acid A* および *D* が、黄色の胚乳を有する *Oryza sativa* 自然突然変異系統「むさしの 20 号」の玄米からも単離された。「むさしの 20 号」の玄米における

oryzamuraic acid A および *D* の含有率は、「初山吹」とほぼ同じであった。これらの結果は、*oryzamuraic acid A* が「むさしの 20 号」の玄米の黄色に重要な役割を演じていることを示唆している。

Breeding Science 61: 93–95 (2011)

Brassica における多検体のための小孢子培養法の改良

高橋 有・横井修司・高畑義人

(岩手大学・農学部)

小孢子培養は半数体および倍加半数体の作出のために重要な方法である。*Brassica* 属各種における小孢子培養のプロトコルは確立されているが、多数の遺伝子型を扱うには労力を要する。我々は本論文で多検体を扱うための小孢子培養法の改良を報告する。この改良された方法は、蕾当たりの単離小孢子数並びに

シャーレ当たりの胚の獲得数において慣例法と同様の結果を示した。この改良したプロトコルは簡便であり、慣例法より同一時間内に2-4倍多くの遺伝子型を扱うことができる。本方法は植物育種家および遺伝学者にとって有益な技術となる。

Breeding Science 61: 96-98 (2011)