

シロイヌナズナのジベレリン酸 20 位酸化酵素 (AtGA20ox) 遺伝子の過剰発現はケナフ (*Hibiscus cannabinus* L.) の栄養生長と繊維品質を向上する

Samanthi Priyanka Withanage¹⁾ • Md Aktar Hossain²⁾ • Sures Kumar M.²⁾ • Hairul Azman B Roslan³⁾ •

Mohammad Puad Abdullah¹⁾ • Suhaimi B. Napis¹⁾ • Nor Aini Ab. Shukor^{2,4)}

¹⁾ Faculty of Biotechnology and Biomolecular Sciences, Universiti Putra Malaysia, Malaysia, ²⁾ Faculty of Forestry, Universiti Putra Malaysia, Malaysia, ³⁾ Faculty of Resource Science and Technology, University Malaysia Sarawak, Malaysia, ⁴⁾ Institute of Tropical Forestry and Forest Product, Universiti Putra Malaysia, Malaysia)

ケナフは用途が広い作物であり、複合材料の原料となる天然繊維として注目されている。複合材料の原料にとって繊維が長く高セルロース含量であることが求められる。しかし、ケナフ繊維は靱皮(じんび)で2.6 mm、植物全体で1.28 mmしかなく、原料として求められる繊維長4 mmには及ばない。そこで、シロイヌナズナのジベレリン酸(GA)20位酸化酵素(AtGA20ox)遺伝子の過剰発現により、ケナフのセルロース含量や繊維品質の向上に取り組んだ。イントロンを含むAtGA20ox遺伝子を2

重のカリフラワーモザイクウイルス35Sプロモーターと接続し、*in planta*形質転換法によりケナフ品種V36とG4へ導入した。活性型のGA含量が高い(0.3–1.52 ng/g生重)組換え系統を選抜し、栄養生長、生殖生長、繊維の長さや組成など、形態や生化学的な形質について調査した。その結果、活性型GAの必要量を確認する必要があるが、GAの上昇によりセルロース含量(91%)や繊維長の増加を確認した。

Breeding Science 65: 177–191 (2015)

染色体部分置換系統を用いたイネの草丈に関するQTL間の相互作用の検出と評価

Haitao Zhu • Ziqiang Liu • Xuelin Fu • Ziju Dai • Shaokui Wang • Guiquan Zhang • Ruizhen Zeng • Guifu Liu

(State Key Laboratory for Conservation and Utilization of Subtropical Agro-Bioresources, Guangdong Key Laboratory of Plant Molecular Breeding, College of Agriculture, South China Agricultural University, China)

イネ品種Hua-jing-xian 74 (HJX74)とその12種類の染色体部分置換系統を用いて片面ダイアルル交配を行った。親品種・系統を含む合計91種類の材料を3種類の栽植密度で栽培したところ、平均草丈について、10種類の染色体部分置換系統では有意な相加効果を、6種類の染色体部分置換系統では有意な優性効果を検出した。これら染色体部分置換系統を異なる栽植密度でさらに詳細に調査した。その結果、いくつかの遺伝子座の効果は栽植密度に影響を受けやすく、16.7 cm×16.7 cmの栽植密度はこれら草丈QTLの発現を阻害していることを示唆した。各々関連する4つの遺伝子型について、質的、そして、

量的解析を行った結果、これらQTL間で2遺伝子の相互作用が高頻度に見られた。調査した66種類の相互作用のうち、約42.4%がエピスタシスであった(有意水準5%)。いくつかのQTLでは単一の遺伝子座の効果を検出できなかったが、それらは2遺伝子の相互関係を形作っているようであった。重要な発見として、検出されたエピスタシスの多くは負の効果であった。加えて、これらのエピスタシスは栽植密度に影響を受けやすく、10 cm×16.7 cmの栽植密度では草丈QTL間の相互作用の発現が促進されるようであった。

Breeding Science 65: 192–200 (2015)

北海道育成イネ品種・系統より見出された炊飯米白度に関するQTL

品田博史^{1,2)} • 山本敏央³⁾ • 山本英司^{3,4)} • 堀 清純³⁾ • 平山裕治¹⁾ • 前川利彦¹⁾ • 木内 均¹⁾ • 佐藤博一^{1,5)} • 佐藤 毅¹⁾

¹⁾ 北海道立総合研究機構・上川農業試験場, ²⁾ 現:北海道立総合研究機構・十勝農業試験場, ³⁾ 農業生物資源研究所, ⁴⁾ 現:農研機構・野菜茶業研究所, ⁵⁾ 現:北海道立総合研究機構・中央農業試験場)

炊飯米の食味の改良はイネ育種における重要な育種目標の一つである。炊飯米の食味は、外観, 味, 香り, 食感など複数の

要因からなる複雑形質である。したがって、まず各要因に関わるQTLを検出し、ついでDNAマーカーを用いて各要因に関わ

る QTL の選抜を行うことは、育種における炊飯米の食味改良にとって有効な手法であると考えられる。炊飯米の白度は、炊飯米の外観品質に関わる重要形質であり、アミロース含有率や蛋白質含有率と関連することが示唆されている。しかしながら、炊飯米白度に関与する遺伝因子については特定されていない。本研究では、北海道で近年育成されたイネ品種・系統の炊飯米白度の変異を評価した。炊飯米白度が異なる 2 系統（「上育 462 号」；高白度、「上系 06214」；低白度）を交配親に用いた半

数体倍加系統（DHL）を育成し、炊飯米白度に関わる QTL 解析を行った。その結果、第 3 および第 11 染色体に白度に関わる QTL (*qWCR3* および *qWCR11*) を見出した。さらに、DHL を用いて 2 つの QTL の量的効果および北海道品種・系統における炊飯米白度と QTL 周辺領域でのマーカー座の遺伝子型との関係性を調べた。

Breeding Science 65: 201–207 (2015)

ニホンナシにおけるアレル特異的 PCR 法を用いた S 遺伝子型判定法

奈島賢児・寺上伸吾・西尾聡悟・國久美由紀・西谷千佳子・齋藤寿広・山本俊哉
(農研機構・果樹研究所)

ニホンナシ (*Pyrus pyrifolia* Nakai) における配偶体型自家不和合性は、単一かつ多アレルの S 遺伝子座により制御される。その S 遺伝子型情報は、育種や果実生産における授粉樹の選定において重要である。迅速で信頼性の高い S 遺伝子型の判定法がニホンナシ新品種の効率良い育種に不可欠である。本研究では単純かつ信頼性の高い判定法として、これまでにニホンナシにおいて報告されている 10 個の *S-RNase* アレル (S^1 から S^9 および S^k) をそれぞれ特異的に増幅する PCR プライマーをデザインした。対応する S アレルを有する場合のみ PCR 増幅が行

われるよう、特異な塩基配列を選定しプライマー設計に用いた。S 遺伝子型をホモで有する系統 (S^1/S^1 から S^9/S^9 および S^{4sm}/S^{4sm}) および、14 の主要なニホンナシ品種を用いたプライマーの特異性評価により、開発した S アレル特異的プライマーセットは効率良く S 遺伝子型を決定できることが示された。本研究で開発した S アレル特異的 PCR 法は、ニホンナシの育種プログラムにおいて、効率的な S 遺伝子型判定や、DNA マーカー選抜に役立つであろう。

Breeding Science 65: 208–215 (2015)

登熟期間中の高温による日本型水稻の背白粒および基白粒の発生に関する QTL の同定

和田卓也¹⁾・宮原克典¹⁾・園田純也²⁾・塚口直史³⁾・宮崎真行^{1,7)}・坪根正雄^{1,7)}・安藤 露^{4,8)}・江花薫子⁵⁾・山本敏央⁵⁾・岩澤紀生^{6,9)}・梅本貴之^{6,10)}・近藤始彦⁶⁾・矢野昌裕^{5,11)}

(¹⁾ 福岡県農林業総合試験場、²⁾ 鹿児島県農業開発総合センター、³⁾ 石川県立大学、⁴⁾ (社) 農林水産先端技術産業振興センター・農林水産先端技術研究所、⁵⁾ 農業生物資源研究所、⁶⁾ 農研機構・作物研究所、⁷⁾ 現：福岡県庁、⁸⁾ 現：農業生物資源研究所、⁹⁾ 現：茨城県農業総合センター農業研究所、¹⁰⁾ 現：農研機構・北海道農業研究センター、¹¹⁾ 現：農研機構・作物研究所)

地球温暖化が水稻の生育に大きな影響を及ぼしている。登熟期間中の高温は白未熟粒を増加させ、玄米の外観品質を低下させる。典型的な白未熟粒である背白粒および基白粒の発生に関わる QTL を同定するために、「つくしろまん」(高温耐性弱)と「ちくし 52 号」(高温耐性強)の交配後代から養成した組換え自殖系統を用いて QTL 解析を行った。福岡および鹿児島において、F₇ および F₈ 系統を登熟期間中に高温処理した。背白粒の発生に関わる QTL は第 1, 3 および第 8 染色体上に、また基白粒の発生に関わる QTL は第 2, 3 および第 12 染色体上に各々検出

された。このうち、背白粒に関する第 8 染色体上の QTL は、福岡と鹿児島の双方で検出された。さらに、QTL の実証試験において、「つくしろまん」の遺伝的背景に「ちくし 52 号」の染色体断片を有する準同質遺伝子系統は、「つくしろまん」に比較して低い背白粒発生率を示した。このことから、第 8 染色体上の背白粒に関する QTL は高温ストレス下で背白粒を低減させ、玄米の外観品質を向上させる効果を有すると考えられた。

Breeding Science 65: 216–225 (2015)

さまざまな地域で栽培されたイネ遺伝資源における収量と品質の関係

Xu Quan^{1,2)}・Chen Wenfu¹⁾・Xu Zhengjin¹⁾

¹⁾Rice Research Institute of Shenyang Agricultural University, Key Laboratory of Northern Japonica Rice Genetics and Breeding, Ministry of Education and Liaoning Province, Key Laboratory of Northeast Rice Biology and Genetics and Breeding, Ministry of Agriculture, China, ²⁾Laboratory of Plant Breeding, Graduate School of Agriculture, Kyoto University)

イネの育種において、収量と品質は二大目標である。中国では非常に多様なイネ品種が利用されていることから、中国の各地域で実施されてきた試験データは収量と品質の関係を解析するよい材料となる。私たちは300の遺伝資源について、収量、収量構成要素と品質の関係を解析した。ジャポニカ品種はインディカ品種よりも収量、品質とも優れていた。高い稔実率は上白米の割合を高めた。また、1000粒重は品質とは負の相関を

示したが、収量とは正に相関した。高い小穂密度（穂の長さ当たりの粒数）は収量を高めるばかりでなく、上白米の割合を高め、白未熟粒発生の抑制にも有利であった。私たちの結果によれば、イネの世界生産を、品質を犠牲にすることなく、2025年の需要推定をみたすために必要となる8500 kg/haに高めることは可能である。

Breeding Science 65: 226–232 (2015)

熱帯と亜熱帯地域におけるイネの実用的世代促進プロトコル

Jun Li¹⁾・Xianhui Hou²⁾・Jindi Liu³⁾・Changgen Qian⁴⁾・Rongcun Gao¹⁾・Linchuan Li⁵⁾・Jinjun Li¹⁾

¹⁾Jiaying Academy of Agricultural Sciences, China, ²⁾Beijing NMR Center, College of Chemistry and Molecular Engineering, Peking University, China, ³⁾Xiuzhou District Seed Management Station, China, ⁴⁾Jiaying Vocational Technological College, China, ⁵⁾Beijing Sunbiotech Co. Ltd., China)

現在のイネの生産にはすぐれた品種の育成が重要である。実用的な形質を維持しつつ有用な特性をイネに導入するには一般的な育種では、交配から遺伝的な分離を少なくして形質が安定するまでに8世代を要する。これには通常4～5年の期間を要する。この長く労力がかかるプロセスは品種育成の制限要因となっており、世代を促進する方法が要望されている。短日条件下での開花が促進されるイネの性質を利用して、用いる品種と育種目標に応じた“1+2”、“2+2”、“1+3”、“0+5”と名付けた方

法により育成のサイクルを加速することができる。この方法には、剪穎、50℃の乾燥機による種子の乾燥、低濃度硝酸による休眠打破、直播が含まれている。これにより感光性品種の一代を約70日に短縮し、1年に4～5世代を進めることを可能にした。このプロトコルにより新品種の育期間成を大幅に短縮するだけでなく、遺伝解析やマッピング集団の構築する期間も短縮することができる。

Breeding Science 65: 233–240 (2015)

異なる *Glu-B3* 遺伝子を持つ小麦品種「ゆめちから」の準同質遺伝子系統の生地物性および製パン適性の比較

伊藤美環子¹⁾・船附(丸山)稚子²⁾・池田達哉²⁾・西尾善太³⁾・長澤幸一¹⁾・田引 正¹⁾

¹⁾農研機構・北海道農業研究センター, ²⁾農研機構・近畿中国四国農業研究センター, ³⁾農林水産省)

グルテニン遺伝子座 *Glu-B3* において3種の遺伝子 (*Glu-B3ab*, *g*, *h*) を持つ「ゆめちから」の準同質遺伝子系統を用いて、生地物性および製パン適性を比較した。「ゆめちから」の6つのグルテニン遺伝子座における遺伝子構成は、*Glu-A1a*, *Glu-B1b*, *Glu-D1d*, *Glu-A3f*, *Glu-B3ab*, *Glu-D3a* である。2g ミキソグラフのピークタイム (PT) の測定結果より、3種の遺伝子は *Glu-B3g*, *Glu-B3ab*, *Glu-B3h* の順で生地物性を強くすることが明らかとなった。また、製パン時における混捏時間は PT と同様の傾向を示し、*Glu-B3g*, *Glu-B3ab*, *Glu-B3h* の順で長かっ

た。また、製パン適性を示す指標であるパン体積 (LV) およびパン比容積 (SLV) は全ての *Glu-B3* 遺伝子型グループで小麦粉タンパク質含有率に大きく影響を受けていたため、小麦粉タンパク質含有率を共変量として、共分散分析を行った結果、*Glu-B3h*, *Glu-B3ab*, *Glu-B3g* の順で LV, SLV が大きかった。これらの結果から、「ゆめちから」に *Glu-B3h* を導入することにより、製パン適性の良い系統を育成できる可能性があると考えられた。

Breeding Science 65: 241–248 (2015)

「コシヒカリ」と多様なアジア栽培稲品種間に検出されたゲノムワイドな挿入欠失 (indel) マーカー

米丸淳一¹⁾・崔善熹¹⁾・坂井寛章¹⁾・安藤露¹⁾・正村純彦¹⁾・矢野昌裕^{1,2)}・呉健忠¹⁾・福岡修一¹⁾

(¹⁾ 農業生物資源研究所, ²⁾ 農研機構・作物研究所)

イネゲノム上にみられる単純反復配列などの挿入欠失 (indel) 多型は、イネの育種に有用な QTL や遺伝子の同定および育種を効率的に行うための DNA マーカーとして幅広く利用されている。近年、次世代シーケンサー技術により多品種のゲノム解読が可能となり、ゲノムワイドな indel 多型による高精度な PCR マーカーの作出も可能となった。本研究では次世代シーケンサーを用いてインド型 5 品種、アウス型 2 品種、熱帯日本型 3 品種および国内水稲品種「コシヒカリ」における配列解析を行い、「コシヒカリ」を除く 10 品種で多数共通して検出される比較的大きな indel 多型 (10–51 bp) を抽出し、コシヒカリと多型が得られると予想される indel マーカーセットを 2 種類構

築した。それぞれ、915 領域における KNJ8-indel (「Khao Nam Jen」を含み 10 品種中 8 品種以上で共通して多型がみられたマーカーセット) と 9899 領域における C5-indel (10 品種中 8 品種以上で共通して多型がみられたマーカーセット) である。これら 2 種類のマーカーセットの一部について上記の 11 品種を含む 23 品種を用いて検証した結果、95% 以上の増幅成功率 (シングルバンドが検出) が得られたマーカーは、KNJ8-indel において 83.3%、C5-indel において 73.9% みられ、これらのマーカーセットはイネの育種および研究に有用であることが示唆された。

Breeding Science 65: 249–256 (2015)

Brassica rapa のゼロエルカ酸遺伝資源における *FAEI* の特性分析

Guixin Yan · Dan Li · Mengxian Cai · Guizhen Gao · Biyun Chen · Kun Xu · Jun Li · Feng Li · Nian Wang ·

Jiangwei Qiao · Hao Li · Tianyao Zhang · Xiaoming Wu

(Oil Crops Research Institute of the Chinese Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Oil Crops, Ministry of Agriculture, P. R. China)

油用のアブラナ類において、種子にあるエルカ酸の量の改変は品質育種の主な目標の一つである。しかしながら、低エルカ酸 (LEA) の遺伝資源は少なく、新規な資源が求められている。*Fatty acid elongase 1 (FAEI)* はエルカ酸の合成を制御する主要な遺伝子である。しかし、*B. rapa* において、エルカ酸合成機構の体系的な研究は不足している。本研究では、*B. rapa* の中国在来 1,981 品種から、ゼロエルカ酸の系統を選抜し、報告された *B. napus* の *FAEI* のようなコード配列の変異ではなく、*FAEI* の発現量の減少が LEA の原因であることを明らかにした。更に、LEA と高エルカ酸の材料の間で、*FAEI* のプロモーター

領域配列は 95% の相同性があった。LEA 系統の *FAEI* の開始コドンの上流約 1,300 bp の所に、28 塩基の欠失 (24 塩基の AT リッチ領域を含む) が同定された。分離集団において、この欠失の遺伝子型と LEA の形質は共分離した。まとめると、本研究では、アブラナ類の栽培に利用できる LEA の *B. rapa* 遺伝資源を見出し、プロモーター領域の変異が *FAEI* の発現量を改変すると推測した。本研究はエルカ酸合成に関わる新規な制御機構を示唆した。

Breeding Science 65: 257–264 (2015)

日本の油糧種子積み下ろし港周辺に野生化した遺伝子組換え除草剤耐性セイヨウナタネの長期モニタリング

勝田健介^{1,2)}・松尾和人^{3,4)}・吉村泰幸³⁾・大澤良⁵⁾

(¹⁾ 農林水産省消費・安全局, ²⁾ 現: 内閣府食品安全委員会事務局, ³⁾ 農業環境技術研究所, ⁴⁾ 現: 石川県立翠星高等学校, ⁵⁾ 筑波大学)

近年、遺伝子組換え除草剤耐性 (GMHT) セイヨウナタネ個体が、日本の油糧用セイヨウナタネ輸入港周辺の路傍等で発見されており、周囲の植物相を駆逐する、あるいは近縁野生種

と交雑することによる生物多様性影響 (カルタヘナ法で定義) が懸念されている。我々は、このような影響を評価するため 2006 年から 2011 年の 6 年間にわたって 12 のセイヨウナタネ

輸入港周辺に自生する計 1029 の *B. napus* 個体群, 1169 のセイヨウカラシナ (*B. juncea*) 個体群, 184 の在来ナタネ (*B. rapa*) 個体群の分布の推移および GMHT 個体の発生状況を調査した。その結果, 12 港の内 10 港で GMHT セイヨウナタネが観察されたが, その割合は, 年や場所によって大きく変動し, 戸畑の遺伝子組換えナタネを含まない個体群および博多の遺伝子組換えナタネのみの個体群において有意に増加したが, 12 港周辺

において共通した個体群の増加, 縮小傾向は認められず, さらに, GMHT セイヨウナタネと交雑した除草剤耐性を示すセイヨウカラシナ, 在来ナタネは発見できなかった。したがって GMHT セイヨウナタネは, 周辺の植生に侵入するような侵略的な植物ではないこと, およびその近縁種と交雑する頻度がきわめて低いことが示唆された。

Breeding Science 65: 265–275 (2015)

パイナップル (*Ananas comosus* L.) における葉縁の表現型に特異的な restriction-site-associated DNA 由来マーカー

浦崎直也¹⁾・護得久聡子¹⁾・兼島莉沙¹⁾・高嶺朝典²⁾・太郎良和彦¹⁾・竹内誠人³⁾・諸見里知絵³⁾・與那嶺要³⁾・保坂ふみ子⁴⁾・寺上伸吾⁴⁾・松村英生⁵⁾・山本俊哉⁴⁾・正田守幸³⁾

(¹⁾ 沖縄県農業研究センター, ²⁾ 沖縄県衛生環境研究所, ³⁾ 沖縄県農業研究センター名護支所, ⁴⁾ 農研機構・果樹研究所・⁵⁾ 信州大学・遺伝子実験センター)

ゲノムワイドな DNA 多型探索と葉縁の表現型特異的 DNA マーカーを見出すために, restriction-site-associated DNA sequencing 解析を実施した。材料には, パイナップル (*Ananas comosus* var. *comosus*) に属する, 葉縁がトゲ無し型の品種「ゆがふ」と先端トゲ型の系統「よねくら」, そしてそれらの F1 を用いた。F1 の葉縁は, トゲ無し型, 先端トゲ型そしてトゲ型に分離しており, 表現型毎に DNA をバルク化し, 解析した。その結果, トゲ無し (*P*) と先端トゲ (*S*) 遺伝子にそれぞれ特異的な restriction-site-associated DNA sequencing タグが得られ, それらを *PLST* と *STLST* と名付けた。アレル間多型を利用して, 5 つの *PLST* と 2 つの *STLST* を cleaved amplified polymorphic sequences (CAPS) または simple sequence repeat (SSR) マーカー

へと変換した。2 つの SSR と 3 つの CAPS マーカーを用いた F1 のジェノタイピングの結果から, 5 つの *PLST* は *P* 遺伝子の近傍にマップされ, 最も近いマーカーである *PLST1_SSR* は *P* 遺伝子から 1.5 cM の距離に位置していた。*STLST1* and *STLST3* から変換した 2 つの CAPS マーカーを用いて, 供試したトゲ型のパイナップルを *S* 遺伝子の劣性アレルのホモと判定することができた。*S* 遺伝子と 2 つの *STLST* との組換え価は 2.4 で, *S* 遺伝子から 2.2 cM の距離に位置していた。変換に成功した SSR と CAPS マーカーは, パイナップルの育種における葉縁の表現型の選抜に活用できる。

Breeding Science 65: 276–284 (2015)

WIPPER: 正確かつ効率的な大規模形質調査システム

宇津志博恵・阿部 陽・Muluneh Tamiru・小笠原由美子・小原 務・佐藤恵美子・落合祐介・寺内良平・高木宏樹

(岩手生物工学研究センター)

近年, ジェノタイピング技術の飛躍的な進歩により, 作物の育種や遺伝解析が加速している。一方, 形質調査では, 効率化および正確性を向上する技術が求められている。従来の形質調査は, 圃場において形質データを野帳に筆記し, その後, 記録したデータをコンピューターに入力する方法がとられている。しかし, この方法は, 非効率的であり, また, 誤記入および誤入力などの人為的ミスによる不正確性も問題であった。本論文で報告する「WIPPER (for Wireless Plant Phenotyp^{er})」は, Bluetooth 無線通信を利用した形質調査システムである。

WIPPER では, 形質調査データの記録を Bluetooth 無線通信により行うため, 調査にかかる時間および労力が削減され, また, 記録されたデータの正確性も向上する。実際に, WIPPER を用いてイネ組換え近郊系 100 個体の葉身幅および SPAD 値を調査した結果, 従来法と比較して短時間で正確なデータの収集に成功した。現在, 我々は, WIPPER を形質データの収集だけでなく, 種子, DNA などの遺伝資源の管理にも適用しており, 効率的な育種に利用している。

Breeding Science 65: 285–289 (2015)