

低温誘導性コムギガラクトノール合成酵素の過剰発現は形質転換イネの低温ストレス耐性を向上させる

下坂悦生¹⁾・小沢憲二郎²⁾

(¹⁾農研機構・北海道農業研究センター, ²⁾農業生物資源研究所)

ガラクトノール合成酵素 (GolS) はラフィノース族オリゴ糖 (RFOs) 生合成の鍵酵素と考えられている。RFOs は、環境ストレスに対する防御の役割を果たすことが、これまでに報告されている。我々は、ガラクトノール合成酵素をコードする2種のコムギ (*Triticum aestivum* L.) cDNA (*TaGolS1*, *TaGolS2*) について、解析を行った。2種の *TaGolS* の発現は、低温ストレスに反応して誘導されたが、乾燥、高温および ABA の処理では発現は認められなかった。 *TaGolS1* あるいは *TaGolS2* cDNA を恒常的に過剰発現するイネ形質転換体を作出した。得られた

形質転換イネは、野生型イネと比較して、ガラクトノールおよびラフィノースの有意な高蓄積を示し、低温ストレス耐性の向上が認められた。これらの結果は、イネの低温ストレス耐性へのガラクトノールおよびラフィノースの関与を示唆するとともに、GolS 遺伝子を用いた遺伝子組換え技術による RFOs 生合成の遺伝的改変が、イネにおける低温ストレス耐性の向上に効果的な手法であることを示すものと考えられる。

Breeding Science 65: 363–371 (2015)

ダイズのミニコアコレクションにおける種子中セシウム蓄積の多様性

高木恭子¹⁾・加賀秋人²⁾・石本政男²⁾・羽鹿牧太³⁾・松永俊朗¹⁾

(¹⁾農研機構・中央農業総合研究センター, ²⁾農業生物資源研究所, ³⁾農研機構・作物研究所)

放射性セシウムは半減期が長く、有害性の高い放射性核種であるため、汚染土壌から作物への移行を低減させることが重要である。本研究では、ダイズの幅広い遺伝的多様性を代表するミニコアコレクションについて、種子中セシウム (Cs) 濃度に関する遺伝的変異の調査を行った。水田転換畑で三年間栽培されたコレクションは、多様な種子中 Cs 濃度を示すとともに有意な年次間相関が認められたが、Cs 濃度における表現型の安定性は同族元素であるカリウム (K) やルビジウム (Rb) に比べて低かった。Cs は K の輸送機構を通じて植物体に蓄積すると考えられているが、種子中の Cs 濃度と K 濃度の間には明確な関連性は認められず、その一方で Cs 濃度と Rb 濃度の間に

明確な正の相関が観察された。また、Cs および K の種子中濃度はそれぞれ、開花まで日数と弱い正の相関および負の相関を示した。三年間の種子中濃度のデータに基づいて、Cs 高蓄積および低蓄積候補を数系統ずつ選抜したところ、これらの二つの系統群は別の圃場でも種子中 Cs 濃度に有意な差が認められ、その差は開花期のみでは説明できないものであった。これらの結果は、ダイズ遺伝資源の中には種子中 Cs 濃度に関する遺伝的多様性が存在しており、それらは Cs 低蓄積品種の育種に利用できることを示唆するものである。

Breeding Science 65: 372–380 (2015)

玄米への吸湿処理による水稻の胴割れ耐性の新規評価法の開発

林 猛・小林麻子・富田 桂・清水豊弘

(福井県農業試験場)

水稻の胴割れ耐性に関する新たな評価法を開発し、その有効性を検証した。本評価法 (吸湿法) では、室内で玄米に吸湿させて胴割れを発生させる。胴割れ耐性の強い「日本晴」と弱い「ヤマヒカリ」を用いて吸湿条件を検討した結果、吸湿前の玄米水分率を 12% とし、25°C で 5 時間の吸湿を 1 回処理することが

最適条件であった。次に、ジャポニカ型の 12 品種を用いて吸湿法の有効性を検証した。吸湿法による胴割れ率は出穂後 10 日間の最高気温の平均値と有意な相関を示した。また、吸湿法による胴割れ率の年次間相関は従来の胴割れ耐性の評価法である刈遅れ法よりも高かった。本研究で開発した吸湿法は水稻の

胴割れ耐性を安定して評価することができ、胴割れ耐性品種の育成に有効であると考えられた。

Breeding Science 65: 381–387 (2015)

ゲノムワイド関連解析により検出された北海道イネ育種集団が保持するいもち病抵抗性 QTL

品田博史^{1,2)}・山本敏央³⁾・佐藤博一^{1,4)}・山本英司^{3,5)}・堀 清純³⁾・米丸淳一³⁾・佐藤 毅¹⁾・藤野賢治⁶⁾

(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:北海道立総合研究機構・中央農業試験場, ⁵⁾現:農研機構・野菜茶業研究所, ⁶⁾農研機構・北海道農業研究センター)

植物育種では、栽培地域における特定の環境条件に対して高い適応性を持つ品種の開発が目標とされる。その結果、長い育種過程の中で、各地の主要育成品種群にはユニークな遺伝子および遺伝子組合せが蓄積する。それら遺伝子および遺伝子組合せに関する遺伝解析は、より望ましい農業形質を持つ新品種育成のために有用である。本書では、北海道イネ品種群を材料に用いて、イネいもち病抵抗性 QTL の検出を試みた。イネゲノム全体に配置する一塩基多型および単純反復配列をターゲットにした DNA マーカーの遺伝子型を用いて、ゲノムワイド関連解析を行ったところ、北海道イネ品種群におけるいもち病抵抗

性の多様性に関連する遺伝領域が検出された。他の育種材料を使った解析を用いて、検出した関連領域の北海道イネ育種材料群における遺伝と効果を明らかにすると同時に、QTL 解析を用いて検出した関連領域にいもち病抵抗性 QTL が存在することを確認した。一連の解析結果は、北海道イネ品種群がいもち病抵抗性改良のための遺伝資源として有用であるかを検証することに役立つとともに、いもち病抵抗性を示すイネ新品種育成に有益であると考えられる。

Breeding Science 65: 388–395 (2015)

アミノエトキシビニルグリシン (AVG) 添加培地を利用したアミプロフォスメチル処理によるラファノブラシカの効率よい *in vitro* 倍数体作出

新美博之¹⁾・渡辺正己¹⁾・芹澤裕明²⁾・木庭卓人¹⁾・中村郁郎¹⁾・三位正洋^{1,3)}

(¹⁾千葉大学大学院園芸学研究科, ²⁾長野県野菜花き試験場, ³⁾現:千葉大学環境健康フィールド科学センター)

ダイコン (*Raphanus sativus*) とケール (*Brassica oleracea* var. *acephala*) の属間雑種であるラファノブラシカ (*Raphanobrassica*) の 4 倍体を作成するために、*in vitro* 植物を細胞分裂阻害剤であるアミプロフォスメチル (APM) 処理することにより最適な倍加条件を調査した。最初の実験では、処理によって 4 倍体ではなく、6 倍体と 8 倍体が誘導された。これらの *Raphanobrassica* 倍数体は *in vitro* で継代していると葉の黄化を示したが、これはエチレンの阻害剤である AVG と AgNO₃ によって防止することができた。この結果に基づいて、染色体倍加処理後の培地に AVG を添加したところ、処理した植物体の生存率が増加する

と共に、4 倍体を含む倍数体の形成率も増加した。これらの倍数体はもとの 2 倍体と比べて明らかに異なった形質を示した。4 倍体は 2 倍体に比べてシュート、花および葉のサイズが大きく、葉数も多くなった。一方、6 倍体と 8 倍体は 2 倍体よりもシュートと葉のサイズは小さく、葉の数も減少した。アブラナ科植物の機能性物質であるグルコシノレートの濃度には 2 倍体と 4 倍体の間で有意な差はみられなかったが、6 倍体と 8 倍体では 2 倍体に比べ減少した。

Breeding Science 65: 396–402 (2015)

地域の品種育成に由来するイネ品種群に着目したゲノムワイドな連関解析

藤野賢治¹⁾・小原真理¹⁾・清水敏明²⁾・小柳香奈子²⁾・池ヶ谷智仁¹⁾

(¹⁾農研機構・北海道農業研究センター, ²⁾北海道大学大学院・情報科学研究科)

地域の作物育種プログラムは、地域集団に必要となる遺伝変異を生じさせ、その地域集団が成立する過程において適応性を

向上させる。この過程に関わる遺伝的要因を明らかにするため、地域集団に特化した連関解析により、イネの品種育成によって

改良された形質の遺伝的な要因を明らかにする方法論を我々は提案した。本研究では、日本の最北地かつ世界の稲作北限地域の一つである北海道の63品種からなる地域集団を用いて連鎖解析を行った。その結果、出穂日に関して6個、低温発芽性について17個のQTLsを同定した。これらのうち、13個は新た

にこの集団で見出され、10個は既にQTLsとして報告があるものに対応すると考えられた。優良品種を含む地域集団を用いたQTLsの同定は優良形質の遺伝的要因の理解につながる。これは、地域の作物育種と直接的な関連を示す。

Breeding Science 65: 403–410 (2015)

イネ品種 N22 を共通親とする 2 集団を用いた種子貯蔵性の遺伝解析

Qiuyun Lin¹⁾・Wenyan Wang¹⁾・Yakun Ren¹⁾・Yimei Jiang¹⁾・Ailing Sun¹⁾・Ying Qian¹⁾・Yifei Zhang¹⁾・Niqing He¹⁾・Ngo Thi Hang¹⁾・Zhou Liu¹⁾・Linfang Li¹⁾・Linglong Liu¹⁾・Ling Jiang¹⁾・Jianmin Wan^{1,2)}

¹⁾State Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Research Center of Jiangsu Plant Gene Engineering, Nanjing Agricultural University, China, ²⁾Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, China)

イネ (*Oryza sativa* L.) 種子の貯蔵性は、農業的に重要な形質である。イネ品種 N22 (インド型) を共通の親として作られた 2 分離集団、即ち、Nanjing35 (日本型) /N22//Nanjing35 に由来する戻し交雑組換え近交系群 (BILs) の 122 系統と USSR5 (日本型) /N22 に由来する組換え近交系群 (RILs) の 189 系統、を用いて種子貯蔵性の量的形質遺伝子座 (QTL) 解析を行った。自然エイジングと人工的エイジングおよび両者を組み合わせたエイジングを行った後、発芽率を調査して種子貯蔵性を評価した。その結果、第 1, 2, 5, 6, 9 染色体の 5 染色体に計 7 個の QTLs が検出された。このうち、1 個の主要 QTL (*qSSn-9*) は二つの集団において共に検出され、それに対して 4 個の QTLs

(*qSSnj-2-1*, *qSSn-2-2*, *qSSn-5* および *qSSn-6*) は BIL 集団でのみ、1 個の QTL (*qSSn-1*) は RIL 集団でのみ検出された。このうち *qSSn-1* は、新規 QTL であると考えられた。*qSSnj-2-1* 以外の 5 個の QTLs (*qSSn-1*, *qSSn-2-2*, *qSSn-5*, *qSSn-6* および *qSSn-9*) においては、N22 由来対立遺伝子が種子貯蔵性を高める効果を示した。また、BIL 集団に由来する 5 個の QTLs (*qSSnj-2-1*, *qSSn-2-2*, *qSSn-5*, *qSSn-6* および *qSSn-9*) の種子貯蔵性に対する効果を調査し、準同質遺伝子系統を用いて *qSSn-5* を評価した。これらの結果は、イネ種子貯蔵性 QTLs の集積、あるいはマップベースクローニングを行うための機会を提供する。

Breeding Science 65: 411–419 (2015)

水稻品種 ASD7 のトビイロウンカならびにツマグロヨコバイに対する複合抵抗性の遺伝的基盤

マイ ヴァン タン^{1,4)}・藤田大輔^{1,2,5)}・松村正哉³⁾・吉村 淳¹⁾・安井 秀¹⁾

¹⁾九州大学大学院・農学研究院, ²⁾九州大学大学院・農学研究院・グローバル人材育成推進プロジェクト, ³⁾農研機構・九州沖縄農業研究センター, ⁴⁾現: ベトナム国立農業大学・日越国際植物研究センター, ベトナム, ⁵⁾現: 佐賀大学・農学部)

インド型イネ品種 ASD7 (*Oryza sativa* L. ssp. *indica*) は、トビイロウンカ (*Nilaparvata lugens* Stål) とツマグロヨコバイ (*Nephotettix virescens* Distant) に抵抗性を示す。本研究では、このトビイロウンカとツマグロヨコバイに対する複合抵抗性の遺伝解析を行った。ASD7 と感受性の台中 65 号の F₂ 集団と台中 65 号による戻し交雑第二世代の分離集団を用いて、トビイロウンカ抵抗性に関する 2 つの QTLs (*qBPH12* および *qBPH6*) を、それぞれ染色体 12 の長腕上と染色体 6 の短腕末端上に、ツマグロヨコバイ抵抗性に関する QTL (*qGRH5*) を染色体 5 上に検出した。*qBPH6* の ASD7 対立遺伝子がホモ接合である集団を用いて、*qBPH12* がトビイロウンカ抵抗性を支配し、SSR マーカー RM28466 および RM7376 と共分離することを明らかにし

た。*qBPH6* と *qBPH12* の両方の QTL における ASD7 対立遺伝子のホモ接合個体は、*qBPH6* と *qBPH12* のどちらか一つだけが ASD7 対立遺伝子のホモ接合個体に比較して、トビイロウンカに対する抗生作用がより早く現れた。ASD7 のトビイロウンカ抵抗性には、*qBPH12* と *qBPH6* との相互作用が関与することが示された。加えて、*qGRH5* はツマグロヨコバイ抵抗性を決定し、SSR マーカー RM6082 および RM3381 と共分離した。*qGRH5* は、既報の *GRH1* 遺伝子座と同座である。以上、イネ品種 ASD7 のトビイロウンカならびにツマグロヨコバイに対する複合抵抗性の遺伝的基盤を明らかにした。

Breeding Science 65: 420–429 (2015)

カンボジアの野生イネ集団における遺伝的多様性の評価

Chhourn Orn^{1,2)}・宍戸理恵子³⁾・秋本正博⁴⁾・石川 亮¹⁾・Than Myint Htun¹⁾・野々村賢一⁵⁾・小出陽平⁶⁾・Men Sarom⁷⁾・Seng Vang²⁾・Sakhan Sophany²⁾・Ouk Makara²⁾・石井尊生¹⁾

(¹⁾神戸大学大学院・農学研究科, ²⁾Cambodian Agricultural Research and Development Institute, Cambodia, ³⁾日本大学・生物資源科学部, ⁴⁾帯広畜産大学, ⁵⁾国立遺伝学研究所, ⁶⁾京都大学・白眉センター, ⁷⁾Royal University of Agriculture, Cambodia)

カンボジアにおいて、5つの野生イネ (*Oryza rufipogon*) 野生集団から合計 448 個体のサンプルを収集した。そして、12 個の SSR マーカーと 2 つの葉緑体マーカーを用いて、それらの集団間および集団内における遺伝的多様性の評価を行った。まず 2 つの一年生集団では、12 個すべての SSR マーカー座においてホモ接合型である植物の割合が高く (66.3% および 79.5%)、これらの植物は主に自殖による種子繁殖を行っていることが示唆された。次に 3 つの多年生集団では、すべての遺伝子座がホモ接合型である個体は見られなかったが、栄養繁殖由来の同じ遺伝子型を持つ個体が観察された。これらの重複した遺伝子型を持つ個体の割合は集団によって異なり、3.6%、

29.2% および 86.0% であった。これは環境条件の安定性が異なっていることに起因するものと考えられた。一方、葉緑体ゲノムに関しては、多くの野生イネ個体がインド型栽培イネで一般的に見られるゲノムタイプを持っていた。また、異なった葉緑体型を持つ植物が同じ集団内で維持されていた。熱帯アジアの国々では、本研究で調査した環境と同じような条件下で多くの野生イネ集団が観察されている。そのため、本研究における集団内の構造に関する結果は、今後の野生イネの遺伝的特徴の解明に重要であるとともに、自然条件下の野生イネ遺伝資源の利用と保全に大きな手がかりを与えるものである。

Breeding Science 65: 430–437 (2015)

インドネシア南スラウェシにおけるカカオの農家選抜系統の遺伝的多様性と系譜に関するマイクロサテライトマーカー解析

Diny Dinarti¹⁾・Agung W. Susilo²⁾・Lyndel W. Meinhardt³⁾・Kun Ji^{3,4)}・Lambert A. Motilal⁵⁾・Sue Mischke³⁾・Dapeng Zhang³⁾

(¹⁾Bogor Agricultural University, Faculty of Agriculture, PMBL, Department of Agronomy and Horticulture, Indonesia, ²⁾Indonesian Coffee and Cocoa Research Institute (ICCRI), Indonesia, ³⁾USDA ARS Sustainable Perennial Crops Laboratory, USA, ⁴⁾College of Horticulture and Landscape, Southwest University, China, ⁵⁾Cocoa Research Centre, The University of the West Indies, Rep. Trinidad and Tobago, West Indies)

インドネシアのカカオ生産量は世界第 3 位である。農家の畑において優秀なカカオ個体を効率よく選抜して有効に利用するためには、農家選抜系統の遺伝的多様性と系譜に関する情報が不可欠である。そこで、インドネシア南スラウェシにおいて農家が選抜してきたカカオ 53 系統、および比較品種として中南米・インドネシアの 152 系統を供試して遺伝的多様性と系譜を解析した。15 種類のマイクロサテライトマーカーを解析してクラスター分析した結果、南スラウェシの農家選抜系統が主にトリニタリオ種とアマゾン川上流に分布するフォラステロ種 2 群との雑種により構成されることが明らかになった。さらに、ベイズ法と尤度法による系譜分析により、1950 年代以降多様

なココア系統が育種に利用されてきたにもかかわらず、トリニタリオ種やパリナリ種などの少数の遺伝資源が農家選抜系統に貢献していることが示された。限られた系譜において選抜されてきたことから、カカオ病害に対する持続的抵抗性の減少が懸念される。多様な育種素材への農家のアクセスが限られていたこと、もしくは大きなカカオポッドやカカオ豆に対する農家の強い指向が選抜結果に影響した可能性がある。農耕地における多様性を拡大しスラウェシにおける持続的カカオ生産を可能にするために、異なるカカオ遺伝資源グループがもつ多様な抵抗性資源を効率よく導入する必要がある。

Breeding Science 65: 438–446 (2015)

ダイズにおける Kunitz 型トリプシンインヒビター欠失対立遺伝子のマーカー利用 遺伝子移入

Vineet kumar • Anita Rani • Reena Rawal • Vaishali Mourya

(インド農業研究協議会国立大豆研究所)

Kunitz 型トリプシンインヒビター (KTI) 欠失ダイズ品種の育成は、その不活化に必要な熱処理が過剰なコストをもたらすとともに、タンパク質の溶解性に影響を与えるため、ダイズ食品産業にとり重要な課題である。本研究では、PI542044 由来の KTI 欠失対立遺伝子をインド品種 JS97-52 にマーカー利用戻し交雑を通して導入した。BC₁F₂、BC₂F₂ ならびに BC₃F₂ における KTI 欠失個体の選抜は、トリプシンインヒビター遺伝子座に隣接する Satt228 座の欠失対立遺伝子と連鎖する SSR 変異体を標識として行った。一方、ゲノム全体に渡る 106 個の SSR 標識を用いた多型解析により、当該遺伝子外の遺伝的背景を反復

親型に固定させる選抜を行った。その結果、3 回の戻し交雑と SSR 標識を用いた遺伝背景の選抜により、平均でゲノム全体の 98.6% が反復親の遺伝子からなる KTI 欠失系統を 9 系統作出した。このレベルまでに反復親型の遺伝背景を回復するには、戻し交雑のみに基づく通常の遺伝子移入の場合、5 ないし 6 回の戻し交雑を必要とする。導入系統は KTI を欠失するだけでなく、反復親と同程度の収量を示した。KTI の除去により、反復親である JS97-52 のトリプシンインヒビター含量は 68.8% から 83.5% まで減少した。

Breeding Science 65: 447–452 (2015)