

総説

キマメハイブリッド品種は自殖品種よりストレスにうまく対処できるだろうか？

Kul Bhushan Saxena¹⁾・Arbind K. Choudhary²⁾・Rachit K. Saxena¹⁾・Yashvir S. Chauhan³⁾

¹⁾International Crops Research Institute for the Semi-Arid-Tropics (ICRISAT), India, ²⁾ICAR Research Complex for Eastern Region, India, ³⁾Department of Agriculture and Fisheries, Australia)

キマメ [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.] は、熱帯および亜熱帯地域における重要な天水栽培マメ科作物であり、6–9 か月におよぶ長い生育期間中に多くの生物的–非生物的ストレスに遭遇する。最近開発された細胞質雄性不稔に基づくキマメハイブリッド品種は、伝統的自殖品種に比べて安定多収性に大きく優れていることが示されている。本総説において著者らは、種子発芽、

幼根生長、根バイオマス生産、水ストレス下での水分維持等の形質にみられる雑種強勢が、ハイブリッド品種にいくつかの生物学的および非生物的ストレスに対して純系品種よりうまく対処できる優位性を与えていることに関する議論を行う。

Breeding Science 70: 423–429 (2020)

原著論文

Capsicum annuum × *Capsicum chinense* の F₁ 植物で認められる雑種弱勢には過敏反応に類似した反応が関与する

白柿薫平¹⁾・横井修司^{1,2,3)}・手塚孝弘^{1,2)}

¹⁾大阪府立大学大学院・生命環境科学研究科, ²⁾大阪府立大学・生命環境科学域附属教育研究フィールド, ³⁾大阪府立大学・21世紀科学研究センター・バイオエコノミー研究所)

トウガラシ雑種弱勢は、F₁ 植物が本葉を数枚展開した後に葉分化を停止することが特徴とされる。*Capsicum annuum* と *Capsicum chinense* との特定の交雑組合せで F₁ 植物が弱勢を示すが、この現象が初めて報告されて以来、詳細な調査は行われていない。本研究では、トウガラシ雑種弱勢の形態および生理的な特徴づけを行った。F₁ 植物は、両親と比べて発芽後 20 日目までは劣った生育を示さなかったが、発芽後 40 日目には新しい葉がほとんど形成されなくなり、草丈伸長の遅延と上位節間長の減少が雑種弱勢の表現型として現れた。F₁ 植物の茎頂分裂組織は発達が遅延し、扁平で表層の細胞層が不明瞭という異

常な構造を示していた。このような茎頂分裂組織の異常によって、F₁ 植物に矮化が生じるのかもしれない。F₁ 植物の葉では細胞死と H₂O₂ の蓄積が検出され、DNA のヌクレオソーム単位での断片化が認められたことから、細胞死はプログラムされた細胞死であると考えられた。また、F₁ 植物の葉で病害抵抗性誘導のマーカー遺伝子である *PR1* と *PR2* の発現増加が認められた。以上の結果より、過敏反応に類似した反応がトウガラシ雑種弱勢に関与することが示唆された。

Breeding Science 70: 430–437 (2020)

ナスのトゲの有無を制御する主要遺伝子座の詳細マッピングと近傍に見出された 0.5-kb の挿入／欠失のマーカー選抜における有効性

宮武宏治¹⁾・齊藤猛雄¹⁾・布目 司¹⁾・山口博隆¹⁾・根来里美^{1,3)}・大山暁男^{1,4)}・呉 健忠²⁾・片寄裕一²⁾・福岡浩之^{1,5)}

¹⁾農研機構・野菜花き研究部門安濃野菜研究拠点, ²⁾農研機構・次世代作物開発研究センター, ³⁾現：名古屋大学・トランスフォーマティブ生命分子研究所 (ITbM), ⁴⁾現：農研機構・野菜花き研究部門 (つくば), ⁵⁾現：タキイ種苗株式会社)

ナスのトゲは栽培中の作業効率の低下や輸送中の果皮の傷害

を招くことから、望ましくない形質として考えられている。植

物におけるトゲの発生についての分子的機序は完全には明らかとなっていないことから、我々はナスのトゲ無しの原因となる半優性遺伝子座、*Prickle (Pl)* をマッピングした。この遺伝子座は、トゲが生じないナス品種「とげなし千両二号」とトゲが生じるナス系統 LS1934 との交雑に由来する F₂ 集団の連鎖地図の第 6 染色体上に座乗していた。トマトとのシンテニーマッピングにより、ナスの *Pl* 遺伝子座が座乗するゲノム領域が同定された。細菌人工染色体 (BAC) の検索により、トゲを有するナスのゲノム配列内から、*Pl* 遺伝子座を含むクローンのコンティグ配列を取得した。得られた BAC コンティグの長さ

は 133 kb であり、16 個の候補遺伝子を含んでいた。その中に、特徴的な 0.5-kb の挿入／欠失が検出された。当該 0.5-kb の挿入は、世界中のトゲを有するナスにおいて共通に見出されたことから、この挿入／欠失を増幅するプライマー対は、トゲ無し形質のマーカー選抜に利用できた。これらの結果は、*Pl* 遺伝子のマップベースクローニングや遺伝子機能の解明のほか、最終的には、植物におけるトゲの発生の原因となっている分子制御メカニズムを理解する上で、新たな手がかりを与えることになる。
Breeding Science 70: 438–448 (2020)

ダイズの低温種皮着色抵抗性に関わる主要遺伝子はウイルス種子斑紋を軽減する

猿田正恭^{1,5)}・葦名熙公²⁾・松本拓郎²⁾・大久保喜光²⁾・平岡未帆²⁾・葛西厚史²⁾・大西志全^{3,6)}・船附秀行^{4,5)}・川崎通夫²⁾・佐野輝男²⁾・千田峰生²⁾

(¹⁾ 農研機構・近畿中国四国農業研究センター、²⁾ 弘前大学・農学生命科学部、³⁾ 北海道立総合研究機構・十勝農業試験場、⁴⁾ 農研機構・北海道農業研究センター、⁵⁾ 現：農研機構・次世代作物開発研究センター、⁶⁾ 現：北海道立総合研究機構・北見農業試験場)

黄ダイズでは、*CHS* 遺伝子の RNA サイレンシングによる種皮着色抑制が低温もしくはウイルスサプレッサーで阻害された場合、低温種皮着色もしくは種子斑紋がそれぞれ生じる。日本の黄ダイズでは低温種皮着色程度に品種間差があり、例えばトヨムスメは感受性であり、トヨホマレはある程度の抵抗性を持ち、トヨハルカは高度な抵抗性を有している。本研究では、ダイズモザイクウイルス (SMV) による種子斑紋程度をこれら 3 つの品種間で比較した。明らかな違いが見出され、その程度は順にトヨホマレ > トヨムスメ > トヨハルカであった。種皮に

おける *CHS* 転写産物量は SMV 感染で増加し、種子斑紋程度に関わっていることが、RNA ゲルプロット分析により示された。逆転写定量 PCR 解析により、SMV 感染トヨホマレでなげ斑紋程度が最も高かったのかについて明らかになった。すなわち、種皮での SMV 力価が他の 2 つの感染品種よりも高かったためであると考えられた。さらに、低温種皮着色抵抗性に関わる主要遺伝子である *Ic* 遺伝子は SMV に感染したトヨハルカの種子斑紋程度を軽減できる可能性が示唆された。

Breeding Science 70: 449–455 (2020)

gw2 変異はイネ (*Oryza sativa* L.) の種子幅および稈径を太くする

山口航平¹⁾・山本竜也^{1,2)}・瀬上修平^{1,3)}・堀川実穂^{1,4)}・茶谷弦輝¹⁾・北野英己⁵⁾・岩崎行玄¹⁾・三浦孝太郎¹⁾

(¹⁾ 福井県立大学・生物資源学部、²⁾ 現：福井県畜産試験場、³⁾ 現：大阪府立環境農林水産総合研究所、⁴⁾ 現：JA 敦賀美方、⁵⁾ 名古屋大学・生物機能開発利用研究センター)

種子サイズはイネの最も重要な農業形質の一つである。収量増加を目指して、我々はコシヒカリ背景変異体から種子が大型化した変異体のスクリーニングを行った。その結果、種子が大きく、収量が増加した変異体 KEMS39 を得た。栽培調査の結果、この変異体は節間が太くなり、倒伏抵抗性が向上していることが明らかになった。次世代シーケンズ解析を行ったところ、この変異体は *GW2* 遺伝子の第 6 インترونの 3' スプライシング部位に変異を生じる事で、mRNA が 67 塩基欠失していることが明らかになった。この変異が種子の大型化と太い節間

に寄与しているか確かめるために遺伝子編集を行い、*GW2* の 3' スプライシング部位に 7 塩基の欠失を生じた変異体を作出した。この *gw2* 変異体は種子の大型化と太い節間の表現型を示し、KEMS39 の原因遺伝子は *GW2* であると結論づけられ、太い節間は *gw2* 変異の多面発現によるものと推測した。これらの結果から、我々は *gw2* 変異が種子生産性と耐倒伏性を同時に付与するバランスの取れた多収を可能にする重要な遺伝資源であると結論づけた。

Breeding Science 70: 456–461 (2020)

トマトにおける青枯病のマーカー利用育種に適した分子マーカーの開発

Alebel Mekuriaw Abebe¹⁾・Jinwoo Choi¹⁾・Youngjun Kim¹⁾・Chang-Sik Oh²⁾・Inhwa Yeom³⁾・Ill-Sup Nou⁴⁾・Je Min Lee¹⁾

¹⁾Department of Horticultural Science, Kyungpook National University, South Korea, ²⁾Department of Horticultural Biotechnology, College of Life Science, Kyung Hee University, South Korea, ³⁾Department of Horticulture and Breeding, Andong National University, South Korea, ⁴⁾Department of Horticulture, Suncheon National University, South Korea)

Ralstonia pseudosolanacearum 種によって引き起こされる細菌性青枯病は維管束に障害を生じる重要な病害で、熱帯および亜熱帯地域でのトマトの生産を制限する。青枯病抵抗性に関する2つの主要な量的形質遺伝子座 (QTL) が *Solanum lycopersicum* ‘Hawaii 7996’ の6番 (*Bwr-6*) および12番 (*Bwr-12*) 染色体上に同定されているが、青枯病抵抗性のためのマーカー利用育種は十分に確立されていない。QTLを精査するために、*Bwr-6* 領域内に6つのCAPSとdCAPSマーカー、および*Bwr-12* 近傍に1つのdCAPSマーカーを開発し、117トマト品種の抵抗性レベルを評価した。遺伝子型および表現型分析に基づい

て、6番染色体上のRsR6-5および12番染色体上のRsR12-1の2つのマーカーを選抜した。RsR6-5とRsR12-1の組み合わせにより、抵抗性品種と罹病性品種を効果的に区別できた。さらに、これら2つのマーカーの有効性は、‘E6203’ (罹病性) と ‘Hawaii 7998’ (抵抗性) の間のF₂集団から派生したF₃世代で確かめられた。両方のマーカー遺伝子座において抵抗性アレルを持つと青枯病抵抗性となった。これらのマーカーは青枯病抵抗性トマトのマーカー利用育種を促進するであろう。

Breeding Science 70: 462–473 (2020)

PI 84751 に由来する *rhg1* と *Rhg4* と共にダイズシストセンチュウレース1抵抗性をもたらすダイズ *rhg2* 座のマッピング

鈴木千賀¹⁾・田口文緒²⁾・池田千亜紀^{3,5)}・岩橋雅夫^{3,5)}・松井匠³⁾・山下陽子⁴⁾・小倉玲奈^{4,6)}

¹⁾道総研十勝農試, ²⁾農研機構・次世代作物開発研究センター, ³⁾茨城県農業総合センター生物工学研究所, ⁴⁾道総研中央農試, ⁵⁾現:茨城県南農林事務所, ⁶⁾現:道総研北見農試)

ダイズシストセンチュウ (soybean cyst nematode; SCN, *Heterodera glycines* Ichinohe) は、ダイズ (*Glycine max* (L.) Merr.) の世界的に重要な病害である。「十系758号」(罹病性)と「To-8E」(レース1と3抵抗性、「PI 84751」と「ゲデンシラズ」に由来)との交配に由来する組換え自殖系統群 (RILs) を用いたQTL解析により、SCNレース1に対する3個の抵抗性QTLが検出された。3個のQTLのうち2個は、連鎖地図上の位置から *rhg1* と *Rhg4* であろうと推定された。第11染色体のSatt359付近に検出された3個目のQTLを、*rhg2* と仮称した。レース1抵抗性だったRILsのすべてがこれら3個のQTLすべてを持つ

ていた。「NIL-SCN」(「納豆小粒」背景に「PI 84751」由来の抵抗性を持つ)と納豆小粒との交配後代で、3個のQTLをすべて持つ系統、あるいは全く持たない系統も含め、QTLをいろいろな組合せで持つ系統群を作出した。それらの系統群を茨城県水戸市のレース1線虫圃場で評価したところ、3個のQTLをすべて持つとレース1抵抗性になることがわかった。作出した組換え固定系統10対の圃場評価により、*rhg2* 座は第11染色体の2つのSSRマーカー、Sat_123 (=WGSP11_0140)とBARCSOYSSR11_1420との間の821 kb領域に位置づけられた。

Breeding Science 70: 474–480 (2020)

ノート

多検体処理と低コスト化を実現したRNA抽出方法

吉野花奈美・西嶋 遼・川勝泰二

(農研機構・生物機能利用研究部門)

これまでRNA抽出方法は、フェノールやグアニジン、シリカなどの特性を利用して改良されてきた。しかしながら、多検体トランスクリプトーム解析に対応したハイスルーブット

なRNA抽出方法はほとんど報告がなかった。そこで、本研究ではグアニジンとイソプロパノール、磁気ビーズを利用したハイスルーブットなRNA抽出方法 (HighGI法) を開発した。

HighGI 法の抽出バッファーは劇物であるフェノールを含まず、カラムを使用する市販キットと比べて、定価ベースで約 1/27 までコストを抑えられる (1 サンプルあたり 31 円)。HighGI 法で抽出した RNA の品質・収量は、従来より利用されてきたフェノール法、カラムを用いた市販キットを用いて抽出した RNA の品質・収量と遜色なかった。また HighGI 法では、カラムを

用いた市販キットでは回収できない 200 bp 以下の低分子 RNA も回収されていた。HighGI 法は自動分注ワークステーションを用いた半自動化が可能であり、大幅な低コスト化と多検体処理が可能となった。

Breeding Science 70: 481–486 (2020)

DNA マーカーによる 3 つの大豆交雑後代系統群の煮豆堅さ評価

戸田恭子¹⁾・加藤 信²⁾・平田香里²⁾・菊池彰夫²⁾・二瓶由美¹⁾・羽鹿牧太¹⁾

(¹⁾農研機構・次世代作物開発研究センター, ²⁾農研機構・東北農業研究センター)

煮豆 (蒸煮大豆) の硬さは煮豆 (総菜), 納豆, 味噌, 醤油等の大豆加工食品の品質にとって重要な形質である。以前, 我々は煮豆の堅さには主にペクチンメチルエステラーゼ遺伝子である *Glyma03g03360* が影響を及ぼし, またカルシウム含量が煮豆の硬さに対して二次的な要因となることを報告した。そこで煮豆の堅さを簡易かつ迅速に評価する手法を確立するため, *Glyma03g03360* の 1 塩基多型を検出する amplification refractory mutation system-polymerase chain reaction (ARMS-PCR) をプライマーを設計し, 3 つの交雑後代系統群について煮豆の堅さ評価を行った。この方法により判定された遺伝子型と cleaved amplified polymorphic sequence (CAPS) 法による判定結果を比

較した結果, 判定した 284 系統のうち, 7 つは両者の判定が異なった。CAPS 法では A ホモ型をヘテロ型と誤判定していることが明らかとなり, ARMS-PCR のほうが信憑性が高いことが示唆された。*Glyma03g03360* 遺伝子型は, 中間値を除いて, 煮豆の堅さの判定を行うことが可能であった。また, 同じ遺伝子型の系統群において, カルシウム含量は煮豆の堅さと有意な正の相関を示した。これらの結果から, 本研究で確立した ARMS-PCR は煮豆の堅さの選抜用 DNA マーカーとして有効であり, またカルシウム含量は補足的な評価に用いることが可能であることが示唆された。

Breeding Science 70: 487–493 (2020)

Gossypium hirsutum を遺伝的背景に持つ *Gossypium anomalum* 由来異種染色体添加系統の完全セット : その遺伝子型および表現型の特性

Shan Meng^{1,2)}・Zhenzhen Xu^{1,2)}・Peng Xu^{1,2)}・Aimin Chen³⁾・Qi Guo^{1,2)}・Liang Zhao^{1,2)}・Xianglong Chen^{1,2)}・Tian Wen³⁾・Xiangui Zhang^{1,2)}・Guowei Zhang^{1,2)}・Wanchao Ni^{1,2)}・Xinlian Shen^{1,2)}

(¹⁾Key Laboratory for Cotton and Canola Research at the Lower Reach of the Yangtze River Plain, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, China,

²⁾Institute of Industrial Crops, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences (JAAS), China, ³⁾JOIN HOPE SEEDS Co., Ltd., China)

Gossypium anomalum (B₁B₁) は, 繊維品質, 病虫害抵抗性などの有用な特性を持つという点で *G. hirsutum* (A₁A₁D₁D₁) の遺伝的改良のための貴重な野生の遺伝資源であるが, 遠縁交雑特有の様々な難しさが育種利用を妨げてきた。異種染色体添加系統 (Monosomic Alien Addition Line, MAAL) は, 種間遺伝子導入のための有力なツールである。*G. anomalum* から有用な遺伝子を発掘するため, まず, *G. hirsutum* × *G. anomalum* の後代から稔性のある 6 倍体を獲得し, BC₂F₁ から BC₄F₄ の連続戻し交配および自殖の過程では SSR マーカーを用いて染色体添加系統を選抜した。最後に, 全 13 個染色体の MAALs の完

全セットを開発した。すべての MAALs は, 各染色体に特異的な SSR マーカーと全ゲノムリシーケンシングによって確認した。MAALs は, 形態学的形質, 農学的形質, 収量関連形質および繊維品質形質に関して豊富な変異を示した。MAAL_3B は優れた繊維強度と繊細度を示し, 導入された染色体がこれらの形質を向上される遺伝子を持つ可能性が示唆された。開発した MAALs の完全セットは, *G. anomalum* の有用遺伝子の同定と遺伝子導入に使える貴重な遺伝的橋渡し材料としてワタの遺伝的改良のための重要な基盤になりうる。

Breeding Science 70: 494–501 (2020)

日本のタバコ在来品種「国分」由来のうどんこ病抵抗性のアレル特異的 DNA マーカーの開発

小松知之・佐藤正紀・宇田川久史・田島智之・新井雅雄

(日本たばこ産業株式会社葉たばこ研究所)

日本のタバコ在来品種「国分」は、二因子劣性のアレルにより制御される高度なうどんこ病抵抗性を示し、これらの抵抗性遺伝子は、タバコ育種におけるうどんこ病抵抗性の遺伝資源として広く利用されている。しかし、従来育種により抵抗性を導入する場合、戻し交配途中に2つの劣性遺伝子の導入確認のため親系統との検定交配と、絶対寄生菌であるうどんこ病菌を用いた接種試験が必要であり、非常に煩雑な作業となる。我々はこれまでに、「国分」のうどんこ病抵抗性は、二つの *Mildew resistance locus O* 遺伝子、*NtMLO1* および *NtMLO2* のイントロ

ン領域内の突然変異によるスプライシング異常が原因であることを報告した。今回、*NtMLO1/2* 遺伝子の変異を検出する CAPS 法およびアレル特異的 PCR (AS-PCR) 法による DNA マーカーを開発したので報告する。これらの DNA マーカーは、戻し交配後代の幼苗で *NtMLO* 遺伝子のヘテロ接合体を検出する共優性マーカーとして利用でき、タバコのうどんこ病抵抗性育種の効率化を可能にする。

Breeding Science 70: 502–507 (2020)

人為選抜を経た *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni の栽培集団の遺伝的多様性を評価するための ISSR マーカー

Gilberto Codignole Luz¹⁾・Danuza Kelly Strioto²⁾・Claudete Aparecida Mangolin³⁾・Maria de Fátima P.S. Machado³⁾

¹⁾Postgraduate Program in Agronomy, State University of Maringá, PR Brazil, ²⁾Postgraduate Program in Genetics and Breeding, State University of Maringá, PR Brazil, ³⁾Department of Cell Biology and Genetics, State University of Maringá, PR Brazil)

ステビアの重要な農業形質に関する人為選抜は、遺伝的分化と遺伝的に均一なもしくは多様な状態で構造化した集団を品種群内に形成する可能性がある。本研究では inter simple sequence repeats of DNA (ISSR markers) を用いて、実生繁殖で維持された1つの栽培集団 (SR1) と人為選抜によって作出され栄養繁殖によって維持された4つの栽培集団 (SR2–SR5) の集団内と集団間の遺伝的多様性を調査した。SR1 集団は最も高い多様度 (89.24%) を示したのに対し、SR2 は最も低かった (60.13%)。栄養繁殖に関する形質で植物を選抜すると DNA レベルで遺伝的により均一な集団が形成され、有性生殖で維持された集団は

高い遺伝的多様性を持つことが ISSR マーカーによって明らかになった。高い遺伝的多様性は、5 集団が遺伝的に構造化した集団であることを示唆する。SR3 と SR5 集団に比べると SR2 と SR4 は DNA レベルで選抜形質についてより均質な植物個体から成立している。SR2 と SR4 集団において選抜された優占的で均質な遺伝子型は、将来の育種プログラムにおいて対照的な個体間の交雑から望ましい農業形質を持ったステビアの個体を得る戦略の追跡に有益となろう。

Breeding Science 70: 508–514 (2020)