

総説 (招待)

ナショナルバイオリソースプロジェクトイネ (NBRP-RICE) によるイネ属遺伝資源の収集・保存・提供事業

佐藤 豊^{1,2)}・津田勝利^{1,2)}・山形悦秀³⁾・松坂弘明³⁾・鐘ヶ江弘美⁴⁾・吉田悠里¹⁾・縣 歩美¹⁾・タキムニユン¹⁾・佐藤佐江¹⁾・鈴木俊哉^{1,2)}・野坂実鈴^{1,2)}・久保貴彦³⁾・川本祥子^{1,2)}・野々村賢一^{1,2)}・安井 秀³⁾・熊丸敏博³⁾
(¹⁾ 国立遺伝学研究所, ²⁾ 総合研究大学院大学, ³⁾ 九州大学・農学部, ⁴⁾ 農研機構)

遺伝資源は生命科学研究を支える重要な基盤である。イネ (*Oryza sativa* L.) は、穀物や単子葉植物のモデル実験生物であるとともに、重要な育種素材を含んでいる。突然変異系統を含むイネ遺伝資源は、イネ研究に必須である。加えて、イネ属遺伝資源は育種のための有用遺伝子単離や野生種が生息環境に適応するためのメカニズムの理解に役立つ魅力的な研究材料である。ナショナルバイオリソースイネ (NBRP イネ) は、イネ属遺伝資源やイネ突然変異系統の利用を促進することでイネ研究に貢献するための活動を行っている。NBRP イネでは、イネ属

遺伝資源やイネ突然変異系統の収集・保存・提供活動を行うとともに、遺伝資源が持つ形態、生理、ゲノム情報などの基本情報の提供も行っている。この総説では、NBRP イネの活動とともに NBRP イネが運用するデータベース Oryzabase を紹介する。Oryzabase は NBRP イネが保有する遺伝資源の検索、各種形質やゲノム情報の閲覧、遺伝資源の注文を行うことができる。また、NBRP イネおよび世界各国で行われているイネ属遺伝資源のゲノム解読の現状についても紹介する。

Breeding Science 71: 291-298 (2021)

原著論文

Sat-BSA : 次世代シーケンサー由来ロングリードによる局所的な *de novo* アセンブリを用いた農業形質に関するゲノム構造変異の迅速同定法

瀬川天太¹⁾・西山知里¹⁾・Muluneh Tamiru-Oli²⁾・杉原 優³⁾・阿部 陽⁴⁾・曾根日菜子¹⁾・伊藤徳昭¹⁾・飛鳥井麻由¹⁾・植村亜衣子⁴⁾・及川香梨⁴⁾・宇津志博恵⁴⁾・片山 (池上) 礼子¹⁾・今村智弘¹⁾・森 正之¹⁾・寺内良平^{3,4)}・高木宏樹¹⁾
(¹⁾ 石川県立大学・生物資源環境学部, ²⁾ Department of Animal, Plant and Soil Sciences, AgriBio Building, La Trobe University, Australia, ³⁾ 京都大学大学院・農学研究科, ⁴⁾ 岩手生物工学研究センター)

次世代シーケンス (NGS) 技術の進展により、一塩基多型および短い挿入/欠失 (InDel) などの単純な変異箇所の同定が加速的に進められている。巨大な InDel やゲノム再編成などを含む構造変異 (SVs) は、植物の育種のための遺伝的多様性の重要な原資となるが、変異の複雑さから解析は困難であった。それ故、NGS 技術を用いて SVs を迅速かつ正確に同定する新たな解析手法の開発が必要である。本研究では、作物において目的形質を決定する SVs を同定するため、NGS 技術を用いた bulked-segregant analysis (BSA) 法を開発し、Sat (SVs associated with traits)-BSA と名付けた。Sat-BSA は、全 SNP 部位のアリル

頻度をもとに、まず形質に関連する候補ゲノム領域を同定し、ロングリードに基づく局所的な *de novo* アセンブリにより再構築する。最後に、複数品種を用いて、SVs、RNA-seq に基づく発現パターン、形質の連関を調べ、候補遺伝子を絞り込む。本研究では、異なる色の根茎肥大部を有するカブ品種間交雑 F₂ 世代において Sat-BSA を適用し、根茎の表現型に関連する SV を持つ 2 つの遺伝子を同定した。本研究により、Sat-BSA は、ゲノムサイズの大きい植物種やヘテロ接合性ゲノムを有する植物種において SVs を同定するのに有効であることが示された。

Breeding Science 71: 299-312 (2021)

亜種への帰属, 地理的起源, および耐乾性と関係づけたトウモロコシ遺伝資源の全世界コレクションの遺伝的多様性

Elham R.S. Soliman¹⁾・Hanaa H. El-Shazly²⁾・Andreas Börner³⁾・Abdelfattah Badr¹⁾

¹⁾Botany and Microbiology Department, Faculty of Science, Helwan University, Egypt, ²⁾Biological and Geological Sciences Department, Faculty of Education, Ain Shams University, Egypt, ³⁾Gene Bank Department, Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Germany)

トウモロコシ 40 系統からなる国際的コレクションの遺伝的多様性を DNA ISSR フィンガープリンティングを用いて評価した。15 種類のプライマーを用いてスコアした合計 180 個の ISSR マーカーのうち, 161 個 (89.59%) が多型的で 19 個が 16 系統において特異的であった。平均距離係数とダイス類似度係数に基づいたクラスター樹は, 系統が 3 つの主要なグループに分割され, 各グループには各亜種に分類された系統のクラスターを含んでいた。しかし, ISSR データの STRUCTURE 分析は系統間の遺伝的分化のレベルが低いことを示し, 系統間の遺伝子流動 (Nm) 値が低いことと一致した。ISSR データ解析に基づく主成分分析 (PCA) 散布図では, 系統はクラスター分析

で得られたものと対応する 3 グループに分割され, 各グループ内では同一亜種のいくつかの系統が互いに密接な類似性を示した。耐乾性指数 (DTIs) に基づく PCoA 散布図では, *indurata* 亜種 4 系統, *everata* 亜種 3 系統, および *indentata* 亜種 2 系統を含む 9 系統が遺伝的類似性と耐乾性を共有することが示された。耐乾性の 9 系統を含む 16 系統で見いだされたユニークな対立遺伝子の多さは, 未開拓の遺伝資源が豊富であることを表し, これらの系統はトウモロコシ商業品種の将来の育種に活用されるであろう。

Breeding Science 71: 313–325 (2021)

ddRAD-seq 法を用いたキュウリうどんこ病高度抵抗性に関する QTL の同定

下村晃一郎¹⁾・杉山充啓¹⁾・川頭洋一¹⁾・吉岡洋輔²⁾

¹⁾農研機構・野菜花き研究部門, ²⁾筑波大学・生命環境系)

Podospaera xanthii によって引き起こされるうどんこ病は, キュウリ (*Cucumis sativus* L.) において経済的に最も重要な糸状菌病害の 1 つである。雑草キュウリ系統 CS-PMR1 の交雑後代から育成された 'きゅうり中間母本農 5 号' は, 高度なうどんこ病抵抗性を示し, 有望な育種素材である。我々は, 'きゅうり中間母本農 5 号' と罹病性の在来品種 '加賀青長節成' の分離集団について, ddRAD-seq 法を用いた QTL 解析を行った。分離集団および両親系統の抵抗性はリーフディスクによる接種試験と画像解析を用いて評価した。その結果, 第 5 染色体に 20°C と 25°C の温度処理区において効果のある 1 つの主要な

QTL, 第 1 染色体に 20°C の温度処理区のみで小さな効果がある 1 つの QTL が検出された。部分集団を用いた QTL 解析の結果, 第 3 染色体に 20°C の温度処理区のみで効果のある 1 つの QTL, 第 5 染色体の主要な QTL とは異なる位置に 20°C と 25°C の温度処理区において効果のある 1 つの QTL が新たに検出された。これらの 4 つの QTL における抵抗性アリルは 'きゅうり中間母本農 5 号' に由来していた。本研究の結果は, うどんこ病抵抗性に強く連鎖する実用的な DNA 選抜マーカーの開発に利用できる。

Breeding Science 71: 326–333 (2021)

indica 品種 IR36 の遺伝的背景における 'Dee-geo-woo-gen' 由来の矮性遺伝子 *sd1-d* に対する長稈対立遺伝子 *SD1-in* および *SD1-ja* の収量および関連形質に及ぼす作用

Birendra Bahadur Rana¹⁾・上向井美佐²⁾・Mukunda Bhattarai^{1,2)}・Lokendra Rana³⁾・松本彩華³⁾・長野宏則⁴⁾・大上博基²⁾・村井正之⁵⁾

¹⁾Nepal Agricultural Research Council, Nepal, ²⁾愛媛大学大学院・連合農学研究科, ³⁾高知大学・農林海洋科学部, ⁴⁾北海道大学・北方生物圏フィールド科学センター生物生産研究農場, ⁵⁾高知大学名誉教授)

'Dee-geo-woo-gen' ('低脚烏尖') に由来する *sd1-d* は, 多肥栽培に適応した *indica* 短稈品種の育成に利用されてきた。*sd1* 座の長稈対立遺伝子 *SD1* は, *SD1-in* (*indica* 亜種) と *SD1-ja*

(*japonica* 亜種) に分化している。*indica* 品種 IR36 の *sd1-d* を, 戻し交雑によって *SD1-in* または *SD1-ja* に置換した同質遺伝子系統 (それぞれ, "5867-36" または "Koshi-36" と略称) を実験

に用いた。これら2系統とIR36を水田で3年間栽培し、収量および関連形質を調査した。実験結果に基づいて、IR36の遺伝的背景における*SD1-in*と*SD1-ja*の収量および関連形質に及ぼす作用を検討した。*SD1-in*は、*sd1-d*と比較して、1m²当りの穂数を減少させたが、1穂穎花数、登熟歩合および千粒重を増加させたため、収量(厚さ1.5mm以上の玄米重)が増加した。

*SD1-in*による千粒重の増加は、圧扁して測定した外穎の長さと同幅の増加による玄米の長さ、幅、および厚さの増加に起因した。*SD1-ja*は、*sd1-d*と比較して、外穎長が伸びて千粒重が増加し、1m²当りの穂数の減少が相補されたため、収量に有意な影響を及ぼさなかった。長稈の“5867-36”では著しい倒伏が観察され、*sd1-d*は*indica*品種の育成には不可欠と考えられた。

Breeding Science 71: 334–343 (2021)

SSR マーカーによるトルコギキョウの連鎖地図構築と開花期に関する量的形質遺伝子座の同定

川勝恭子¹⁾・八木雅史¹⁾・原田太郎^{1,2)}・山口博康¹⁾・伊藤 剛¹⁾・熊谷真彦¹⁾・伊藤龍太郎¹⁾・沼 寿隆¹⁾・片寄裕一¹⁾・金森裕之¹⁾・栗田加奈子¹⁾・福田直子¹⁾

(¹⁾農研機構, (²⁾現:岡山大学)

トルコギキョウ (*Eustoma grandiflorum*) は世界中で栽培される重要な花き園芸作物である。商業的に重要である一方で、分子遺伝学的解析に用いることができるDNAマーカーはほぼない。本研究では、トルコギキョウの遺伝連鎖地図を作成し、農業上重要な形質の量的遺伝子座(QTLs)を同定した。単純反復配列マーカー(SSR)開発のために454-パイロシーケンシング法を用いてショットガンシーケンスを取得し、8263個の推定SSRを同定した。3990個のプライマー対をコンピューターで設計し、BLAST検索によって特異的なプライマー1189対を選抜した。これらのうち1000以上のプライマー対が増幅に成

功し、最終的に278のSSRマーカーが2系統のトルコギキョウ間で多型を示した。開発したこれらのマーカーを用いて、20°C以下で生育させた時に140日以上の開花期の早晚差を示す2系統を両親とした雑種集団の遺伝連鎖地図を構築した。我々は開花期に関与する1つのQTLを同定した(表現型分散27%, LOD値3.7)。頂花生着節位が30を超える3系統では、このQTLは晩性の対立遺伝子型であったことから、このQTLに座乗するSSRマーカーはトルコギキョウ系統間の開花期の多様性を説明するかもしれない。

Breeding Science 71: 344–353 (2021)

Globodera pallida に対する抵抗性診断マーカーの改良とバレイショ育種における抵抗性遺伝資源の選抜への応用

浅野賢治¹⁾・下坂悦生¹⁾・山下陽子²⁾・奈良部孝¹⁾・相場 聡¹⁾・坂田 至¹⁾・赤井浩太郎¹⁾・岡本智史¹⁾・田宮誠司^{1,3)}

(¹⁾農研機構・北海道農業研究センター, (²⁾道総研・中央農業試験場, (³⁾現:農研機構・管理本部)

ジャガイモシロシストセンチュウ (*Globodera pallida* (Stone) Behrens) の我が国における発生が2015年に初めて確認された。本線虫に対する防除対策のうち、コストと環境負荷の観点から、抵抗性バレイショ (*Solanum tuberosum* L.) 品種の栽培が最も効果的である。これまでに日本ではジャガイモシロシストセンチュウ抵抗性品種は育成されていないので、抵抗性遺伝資源の探索と抵抗性品種の育成に重点が置かれている。本研究では、初めにジャガイモシロシストセンチュウ抵抗性遺伝子座 (*GpaIV^{rs}_{adg}* および *Gpa5*) に連鎖した既報のDNAマーカーの改良を行った。次に、改良したDNAマーカーを用いて1,000点を超える遺伝資源を評価し複数の候補となる遺伝資源をスクリーニングした。選抜した遺伝資源に対する接種検定

により日本のジャガイモシロシストセンチュウ集団に対し抵抗性を示すいくつかの系統を選抜した。さらには、ジャガイモシロシストセンチュウおよびジャガイモシロシストセンチュウ (*G. rostochiensis* (Wollenweber) Behrens) 抵抗性遺伝子座に連鎖したDNAマーカー3種の同時検出系を確立した。日本のバレイショ育種集団において、マーカーC237-Iにより抵抗性対立遺伝子 *GpaIV^{rs}_{adg}* を選抜し、抵抗性系統の有無を予測することが可能であることを実証した。本研究で選抜した抵抗性遺伝資源はジャガイモシロシストセンチュウ抵抗性品種の育成に利用でき、本研究で確立した同時検出技術は効率的な抵抗性品種の育成に貢献するであろう。

Breeding Science 71: 354–364 (2021)

GRAS-Di 技術を用いたサトウキビ国内野生種に由来する黒穂病抵抗性 QTL の検出

梅田 周¹⁾・境垣内岳雄¹⁾・田中 稔^{1,2)}・樽本祐助¹⁾・安達克樹^{1,3)}・服部太一郎¹⁾・早野美智子^{1,4)}・高橋宙之¹⁾・田村泰章¹⁾・木村達郎⁵⁾・森 昌昭⁵⁾

(¹⁾農研機構・九州沖縄農業研究センター, ²⁾現:農研機構・中央農業研究センター, ³⁾現:(株)クボタ, ⁴⁾現:農研機構・農業環境変動研究センター, ⁵⁾トヨタ自動車(株))

サトウキビ黒穂病は世界中のサトウキビ生産地域で発生が確認されている重要病害であり, 抵抗性品種の利用が最も有効な防除手段である。当グループでは高度の黒穂病抵抗性を示すサトウキビ国内野生種「西表8」を見いだした。本研究では, 「西表8」の抵抗性を受け継いだ黒穂病抵抗性育成品種「やえのうしえ」に由来する解析集団を用いて黒穂病抵抗性の QTL 解析を行った。GRAS-Di 技術を用いて重複のない 4,813 の single-dose マーカーを検出し, 連鎖地図を作成した。人為接種による抵抗性検定を行った結果, 解析集団における多くの系統が病徴

を示さず, 発病率は L 字型の頻度分布を示した。CIM 法により黒穂病発病指標に関する QTL を解析した結果, 2 年にわたり非常に高い LOD 値 (26.6 ~ 45.6) の QTL を検出した。この QTL の発病率に対する寄与率は約 50% であった。また, 本解析集団では黒穂病発病率と他の農業形質の間に有意な相関関係は見られなかった。従って, 本研究で見いだした QTL はサトウキビの黒穂病抵抗性を大幅に改善させるためのマーカー選抜に利用できる可能性がある。

Breeding Science 71: 365–374 (2021)

北海道水稲糯 2 品種間に見られる澱粉特性の違いに関わる遺伝領域

池ヶ谷智仁¹⁾・芦田かなえ^{1,2)}

(¹⁾農研機構・北海道農業研究センター, ²⁾現:農研機構・次世代作物開発研究センター)

澱粉特性はイネ (*Oryza sativa* L.) の穀粒品質や食品特性の主要な決定要因である。澱粉特性を制御することが可能になれば, より有望な特性を備えたイネ品種の開発につながる。我々は北海道で育成された 2 つの糯米品種「きたゆきもち」(糊化温度が低く, 硬くなりにくい餅ができる)と「しろくまもち」(糊化温度が高く, 硬くなりやすい餅ができる)間の集団において QTL 解析を行い, 澱粉特性の表現型変異に関連する候補領域を第 2 染色体上に検出した。この領域内の候補遺伝子として澱粉枝付け酵素 *Starch branching enzyme IIb* (*Sbellb*) を同定した。親品種における *Sbellb* の塩基配列解析によって, 「しろくまも

ち」遺伝子型 (*Sbellb^{sr}*) のコード領域に非同義置換となる一塩基多型 (SNP) を 2 箇所特定した。これらの SNP のうち 1 つを使用して設計された CAPS マーカーを用いて, 日本の本州地域のイネ 28 品種を含む合計 100 を超えるイネ品種の *Sbellb* 遺伝子型を決定した。*Sbellb^{sr}* は本州のイネ品種には見つからなかった。家系分析によると, *Sbellb^{sr}* はアメリカ品種「Cody」から北海道品種「キタアケ」を経由して, 北海道のイネ育種集団に導入されたことが示唆された。*Sbellb^{sr}* は「キタアケ」の子孫品種・系統にのみ分布していた。

Breeding Science 71: 375–383 (2021)

ノート

生重量測定によるダイズ黒根腐病抵抗性の評価法

ウィンキントゥザー・姜 昌杰

(農研機構・生物機能利用研究部門, 植物・微生物利用研究領域)

土壌糸状菌 *Calonectria ilicicola* により引き起こされるダイズ黒根腐病 (RCR) はダイズの収量と品質の低下をもたらす深刻な土壌伝染病害である。RCR の発病程度は, 現在主に感染根の腐朽程度の観察により評価されているが, 主観的なばらつきが生じやすいうえ, 根を掘り起こして洗浄する必要があるため時間と手間がかかる。本研究では, 栽培品種「エンレ

イ」を用いて, 非接種対照植物に対する接種植物の相対生重量 (RFW) は現行の観察評価法による植物頂端 ($R^2 = 0.96$), 地上部 ($R^2 = 0.82$) および根 ($R^2 = 0.89$) における RCR 発病値と有意な負の相関にあることを示した。さらに, 37 のダイズ栽培品種と 3 つのツルマメ系統を用いた 2 つの検証試験において, 茎頂の RFW は観察評価値と有意な負の相関を示し (R^2 は 0.72

と 0.79, $p < 0.01$), 各品種間の発病程度の差異を区別することができた。以上の結果から, RFW は簡便かつ迅速で安定した費用対効果の高い評価方法を提供し, ダイズ黒根腐病抵抗性の

新たな指標として利用できることが示唆された。

Breeding Science 71: 384–389 (2021)

白米の食物繊維量が3倍に増大した「コシヒカリ」の新奇突然変異系統

西村 実¹⁾・小林麻子²⁾・森田竜平³⁾・出澤佑也^{1,4)}・佐久間悠輔^{1,5)}・乙坂息吹^{1,6)}・富田 桂^{2,7)}

(¹⁾新潟大学・自然科学研究科, (²⁾福井県農業試験場, (³⁾理化学研究所・仁科加速器科学研究センター, (⁴⁾現:株式会社鈴木酒造店, (⁵⁾現:新潟県, (⁶⁾現:山形県, (⁷⁾現:ふくい農林水産支援センター)

食物繊維は, 腸内細菌との関係において高い機能性を有していることが近年明らかにされてきている。食物繊維増大変異を有するオオムギ新品種「ビューファイバー」育成の成功例につながるような高リシン変異体を, 日本で最も多く栽培されているイネ品種「コシヒカリ」の突然変異系統の中から探索した。その結果, いくつかの有望な高リシン突然変異体を見いだした。そのうちの1つである, 「WFE5」は白米の食物繊維量が「コシ

ヒカリ」の約3倍であり, この変異体に原品種を2回戻し交配することにより, 高食物繊維に関する「コシヒカリ」の準同質遺伝子系統を育成した。この系統の実用形質は, 収量性および食味の2特性を除いて「コシヒカリ」に近かった。この2特性は極めて重要な特性であることから, その改善方法について議論した。

Breeding Science 71: 390–395 (2021)

ダイズの子実収量に関わる量的形質遺伝子座の同定と検証

山口直矢¹⁾・田口(塩原)文緒²⁾・佐藤優美³⁾・千田峰生³⁾・石本政男²⁾・鴻坂扶美子⁴⁾

(¹⁾北海道立総合研究機構・十勝農業試験場, (²⁾農研機構・次世代作物開発研究センター, (³⁾弘前大学・農学生命科学部, (⁴⁾北海道立総合研究機構・中央農業試験場)

ダイズ [*Glycine max* (L.) Merrill] の多収品種育成を促進するために, 子実収量に関する遺伝解析は重要である。子実収量は複雑形質であり, 子実収量に関わる量的形質遺伝子座 (QTL) の数は多い。本研究の目的は, 子実収量に関わる QTL を同定し, 準同質遺伝子系統を用いて子実収量に与える効果を検証することである。日本品種の「トヨハルカ」と「トヨムスメ」の交配後代である組換え自殖系統群を用いて QTL 解析を行い, 8 個の子実収量に関わる QTL を同定した。組換え自殖系統群では, 3 年間にわたり, 子実収量と子実収量を向上させる対立遺伝子

数の間に有意な正の相関が見いだされた。子実収量を向上させる QTL の1つである *qSY8-1* の効果を「トヨハルカ」の遺伝背景で検証した。2 年間の収量試験の結果, *qSY8-1* が「トヨムスメ」型の準同質遺伝子系統である「トヨハルカ NIL」は, 開花期と成熟期は「トヨハルカ」と同等で, 百粒重と子実収量は「トヨハルカ」を有意に上回った (百粒重は 106%, 子実収量は 107%)。これらの結果より, *qSY8-1* は熟性遺伝子とは関わりがなく, 百粒重の増大に寄与することが示唆された。

Breeding Science 71: 396–403 (2021)