

原著論文

ハクサイ (*Brassica rapa* L.) の日本品種における根こぶ病抵抗性遺伝子 (*Crr1a*) のアレル多様性

畠山勝徳<sup>1,2)</sup>・湯澤彰太<sup>1,4)</sup>・殿崎 薫<sup>1)</sup>・高畑義人<sup>1,3)</sup>・松元 哲<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup>岩手大学・農学部, (<sup>2)</sup>農研機構・野菜花き研究部門, (<sup>3)</sup>岩手生物工学研究センター, (<sup>4)</sup>現:株式会社トーホク)

根こぶ病抵抗性 (CR) はハクサイの育種において世界的に重要な形質である。根こぶ病抵抗性の原因遺伝子 *Crr1a* はクローニングされ、NLR タンパク質をコードすることが示されているが、そのアレル多様性や分子機能は不明なままである。本研究で我々は、6つのハクサイ根こぶ病抵抗性 F<sub>1</sub> 品種からクローニングされた3つの *Crr1a* アレルの塩基配列の多様性と機能について解析した。Gain-of-function 解析から、CR 品種「黄波90」から単離された *Crr1a*<sup>Kinami90-a</sup> アレルは、*Crr1a*<sup>G004</sup> アレルで観察されたのと同様の根こぶ病抵抗性を付与することを明らかにした。2つの感受性アレルはC末端領域の172アミノ酸残基を共に欠失していたことから、我々は機能型アレルの172アミノ酸残基を感受性アレルのC末端領域に融合したキメラ

*Crr1a*を導入したシロイヌナズナの根こぶ病抵抗性を解析した。C末端領域を感受性アレルに融合することで、根こぶ病抵抗性が回復したことから、感受性アレルの罹病性はC末端領域の欠失によるものであることが示された。我々は2つの機能型 *Crr1a* アレルを検出するDNAマーカーを開発し、機能型アレルがヨーロッパの飼料用カブには頻繁に見いだされるものの、日本のハクサイの根こぶ病抵抗性品種にはほとんど導入されていないことを明らかにした。これらの結果は、DNAマーカーによる根こぶ病抵抗性育種に貢献するとともに、根こぶ病抵抗性の分子機構の理解に役立つと考えられる。

**Breeding Science 72:** 115–123 (2022)

大粒イネ品種「秋田63号」の籾サイズに関わる量的遺伝子座 *GS3* の収量特性と生理的窒素利用効率への寄与

小原実広<sup>1)</sup>・金田吉弘<sup>2)</sup>・小玉郁子<sup>3)</sup>・松本眞一<sup>3)</sup>・川本朋彦<sup>3)</sup>・石山敬貴<sup>4)</sup>・前 忠彦<sup>4)</sup>・牧野 周<sup>4)</sup>

(<sup>1)</sup>国際農林水産業研究センター生物資源・利用領域, (<sup>2)</sup>秋田県立大学・生物資源科学研究科, (<sup>3)</sup>秋田県農業試験場, (<sup>4)</sup>東北大学大学院・農学研究科)

窒素利用効率の高い品種の開発は、穀物の安定的な生産に重要と考えられる。多収大粒イネ品種「秋田63号」(温帯ジャポニカ型)は、籾収量 (GY) に対する生理的な窒素利用効率 (PNUE) が高い。著者らの先行研究において、大粒籾をもたらす *GS3* アレルが「秋田63号」にあることが示された。本研究においては、「秋田63号」における *GS3* の収量特性と PNUE の籾収量に対する影響を確認した。「岩手75号」と「秋田63号」に由来する F<sub>2</sub> 集団における玄米の長さは、*GS3* で説明される連続分布を示した。「秋田63号」の遺伝背景をもち、標準的な

籾サイズをもたらす「コシヒカリ」の *GS3* アレルに置換した準同質遺伝子系統、Akita63NILGS3-Koshihikari を作出した。Akita63NILGS3-Koshihikari に比較して、「秋田63号」は籾の長さ一玄米重は大きく、籾収量が有意に増加したが、地上部の窒素含量と乾物重に有意な差はなかった。これらの結果は、大粒籾をもたらす *GS3* アレルは、「秋田63号」における高い籾収量 PNUE の一因であることを示している。これらの知見は、窒素利用効率が高いイネ品種の開発を促進するものである。

**Breeding Science 72:** 124–131 (2022)

アズキの日長感受性に関わる主働遺伝子 *Flowering Date1* はダイズの開花抑制因子 *E1* 遺伝子のオルソログである

井元佑亮<sup>1)</sup>・吉川晶子<sup>1)</sup>・堀内優貴<sup>2)</sup>・伊井田拓実<sup>1)</sup>・岡 大晴<sup>1)</sup>・松田修一<sup>1)</sup>・得字圭彦<sup>3)</sup>・森 正彦<sup>1)</sup>・加藤清明<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>帯広畜産大学・環境農学研究部門, (<sup>2)</sup>北海道立総合研究機構農業研究本部十勝農業試験場豆類畑作グループ, (<sup>3)</sup>帯広畜産大学・人間科学研究部門)

アズキ (*Vigna angularis*) は温帯起源の重要なマメ科作物であり、日長非感受性は緯度の適応性に関わる重要な要因である。Flowering Date1 (*FDI*) はアズキの日長感受性に大きな効果をもつが、この遺伝子座の分子基盤は未解明であった。本研究では、*FDI* 遺伝子座を 17.1 kb 内にマップし、その領域には *EI* オルソログ (*VaEI*) のみが含まれることを明らかにした。日長非感受性のアズキ品種 ‘しゅまり’ と日長感受性の ‘Acc2265’ の比較では、*FDI* 遺伝子座の *VaEI* の上流配列に 29 箇所の挿入欠失と 178 箇所の塩基多型がみられた。長日条件における

‘Acc2265’ の *VaEI* の遺伝子発現は短日条件よりも高かったが、‘しゅまり’ の *VaEI* の遺伝子発現は日長に関係なく低かった。これらのことから、*FDI* の責任遺伝子は *VaEI* であり、長日条件に反応して発現上昇し、開花抑制因子として機能することが示唆された。長日条件下で *VaEI* の発現を上昇させられないことは、長日条件で開花する能力があることを意味する。本研究結果は、アズキの開花に関する分子制御の理解を深め、高緯度地域におけるアズキの品種改良の手がかりを提供する。

**Breeding Science 72:** 132–140 (2022)

## ソルガム稔性回復遺伝子 *Rf5* 領域の精密マッピングとイネ科作物間でのマイクロシンテニー解析

清沢敦志<sup>1)</sup>・米丸淳一<sup>2)</sup>・水野浩志<sup>2)</sup>・金森裕之<sup>2)</sup>・呉 健忠<sup>2)</sup>・川東広幸<sup>2)</sup>・後藤和美<sup>1,3)</sup>

(<sup>1)</sup>長野県畜産試験場, (<sup>2)</sup>農研機構・作物研究部門, (<sup>3)</sup>長野県農業開発公社上伊那事業所)

細胞質雌性不稔 (CMS) は、ソルガム F<sub>1</sub> ハイブリッド種子の商業的生産を行うための受粉制御に広く用いられている。これまでに、ソルガムでは 6 つの主要な稔性回復遺伝子、*Rf1* ~ *Rf6* が報告されている。本研究では、「Nakei MS-3A」×「JN43」の交配後代集団を用いて、ソルガムの第 5 染色体に座乗する *Rf5* 遺伝子座を精密にマッピングした。*Rf5* 遺伝子座は、BTx623 ゲノムでは 140 kb (JN43 では 161 kb) の領域に絞り込まれ、その中にはイネの稔性回復遺伝子 *Rf1* と相同性のある 6 つの遺伝子 (PPR.1 ~ PPR.6) を含む 16 の予測遺伝子が存在していた。これら 6 つの相同遺伝子は、タンデムな pentatrico-

peptide repeat (PPR) モチーフをもっている。多くの *Rf* 遺伝子は PPR タンパク質をコードしており、PPR タンパク質は RNA 転写産物と結合し、RNA レベルで遺伝子発現を調節する。イネ、アワ、トウモロコシの対応する相同染色体上の *Rf5* 遺伝子座には PPR 遺伝子が検出されなかったことから、この遺伝子群は、ソルガムがこれらの種から分岐した後に、染色体の転位と重複によって生じたと考えられる。これら遺伝子の塩基配列を稔性系統と CMS 系統で比較した結果、PPR.4 が *Rf5* の最も有力な候補遺伝子であることが明らかとなった。

**Breeding Science 72:** 141–149 (2022)

## 低温ストレス下における幼苗期のジャポニカイネの ITRAQ に基づく定量プロテオーム解析

Dongjin Qing<sup>1,2)</sup>・Guofu Deng<sup>1)</sup>・Yinghua Pan<sup>1)</sup>・Lijun Gao<sup>2)</sup>・Haifu Liang<sup>1)</sup>・Weiyong Zhou<sup>1)</sup>・Weiwei Chen<sup>1)</sup>・Jingcheng Li<sup>1)</sup>・Juan Huang<sup>2)</sup>・Ju Gao<sup>2)</sup>・Chunju Lu<sup>1)</sup>・Hao Wu<sup>2)</sup>・Kaiqiang Liu<sup>1)</sup>・Gaoxing Dai<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>Rice Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences/Guangxi Key Laboratory of Rice Genetics and Breeding, China, (<sup>2)</sup>Guangxi Academy of Agricultural Sciences/Guangxi Crop Genetic Improvement and Biotechnology Laboratory, China)

低温はイネの生育と収量に影響する重要な環境要因の一つである。ジャポニカ米の低温ストレスに対する応答を深く理解するために、タンパク質レベルの変化を、アイソパリックタグを用いた相対および絶対定量標識 (iTRAQ) に基づく定量プロテオミクス解析によって検出した。耐冷性イネ品種 Kongyu131 の播種後 2 週間の苗を 8°C で 24, 48 および 72 時間処理した後、全タンパク質を抽出し、定量プロテオミクス解析に使用した。合計 5,082 のタンパク質が検出され、そのうち 289 のタンパク質は低温により制御されていた。低温ストレス群における 169 および 125 のタンパク質の発現は、コントロール群に対してそれぞれ特異的に増加および減少した。機能解析の結果、低温制

御タンパク質の多くは光合成、代謝経路、二次代謝産物の生合成、炭素代謝に関係していた。ウェスタンブロット解析においては、低温制御タンパク質の挙動は iTRAQ のデータと一致していた。25 の低温制御タンパク質に対応する遺伝子を用いて定量的リアルタイム PCR 解析を行ったところ、mRNA レベルは必ずしもタンパク質レベルと一致していなかった。本研究で重要な点は、イネの低温ストレス応答に関するプロテオミクスの新たな知見と耐冷性イネ育種のための候補遺伝子の情報を提供することである。

**Breeding Science 72:** 150–168 (2022)

## 中国のコムギ在来品種および商業用品種における HMW グルテニンサブユニットの対立遺伝子変異と遺伝的多様性

Xiaofang Wang<sup>1)</sup>・Ruilian Song<sup>1)</sup>・Yue An<sup>1)</sup>・Haiyi Pei<sup>1)</sup>・Song Gao<sup>1)</sup>・Daokun Sun<sup>1)</sup>・Xifeng Ren<sup>1,2)</sup>

(<sup>1)</sup>College of Plant Science and Technology, Huazhong Agricultural University, China, (<sup>2)</sup>Hubei Hongshan Laboratory, China)

コムギの在来品種は、*Glu-1* 遺伝子座に豊富な遺伝的変異を有し、近代コムギ品種の遺伝的改良、特に品質改善に望ましい遺伝資源である。本研究では、我々は中国の4つの主要なコムギ栽培地域からの597の在来品種と926の商業用コムギ品種について SDS-PAGE を用いて *Glu-1* 遺伝子座の対立遺伝子変異を解析した。その結果、遺伝子型として Null 型、7+8 型、および 2+12 型がコムギ在来品種の主要な HMW-GS であった。在来品種と比較して、商業用品種では 1 型、7+9 型、14+15 型、5+10 型などの高品質の対立遺伝子の頻度が高かった。4つの地域の商業用コムギ集団の遺伝的多様性（遺伝子座あたりの対

立遺伝子 (A) = 7.33, 多型遺伝子座の割合 (P) = 1.00, 遺伝子座あたりの有効対立遺伝子数 (Ae) = 2.347, 予想されるヘテロ接合度 (He) = 0.563) は、在来品種集団よりも有意に高く、南西部の冬コムギ地域の集団では最も高い遺伝的多様性がみられた。HMW-GS の遺伝的多様性は、在来品種集団と商業用品種集団の集団間ではなく、それぞれの集団内で主にみられた。在来品種は希少なサブユニットや対立遺伝子が豊富であり、現代コムギ品種の品質を改善するための遺伝資源を提供するかもしれない。

**Breeding Science 72:** 169–180 (2022)

### ノート

## 単純反復配列マーカーに基づく東南アジアのミント (*Mentha* spp.) の分類

福井友梨<sup>1)</sup>・齊藤萌子<sup>2)</sup>・中村夏野<sup>2)</sup>・水野太智<sup>2)</sup>・佐藤修一<sup>1)</sup>・佃 真優<sup>1)</sup>・中岡沙織<sup>2)</sup>・坪井慧太<sup>2)</sup>・佐々木梓沙<sup>2)</sup>・倉持幸司<sup>3)</sup>・Panida Boonyaritthongchai<sup>4)</sup>・Nichapat Kaewmanee<sup>4)</sup>・Krit Thirapanmethee<sup>5)</sup>・Mullika Traidej Chomnawang<sup>5)</sup>・Bhanubong Bongcheewin<sup>6)</sup>・Thuy Linh Nguyen<sup>7)</sup>・Huong Lan Thi Nguyen<sup>7)</sup>・Huong Thi Le<sup>7)</sup>・岡本繁久<sup>8)</sup>・中村貴子<sup>1,2)</sup>・中村考志<sup>1,2,9,10)</sup>・久保中央<sup>1,2,11)</sup>

(<sup>1)</sup>京都府立大学大学院・生命環境科学研究科, (<sup>2)</sup>京都府立大学・生命環境学部, (<sup>3)</sup>東京理科大学・理工学部応用生物科学科, (<sup>4)</sup>School of Bioresources and Technology, King Mongkut's University of Technology Thonburi, Thailand, (<sup>5)</sup>Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Thailand, (<sup>6)</sup>Department of Pharmaceutical Botany, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Thailand, (<sup>7)</sup>Institute for Preventive Medicine and Public Health and Hanoi Medical University Hospital, Hanoi Medical University, Vietnam, (<sup>8)</sup>鹿児島大学・農学部食料生命科学科, (<sup>9)</sup>現:京都府立大学・文学部和食文化学科, (<sup>10)</sup>京都府農林水産技術センター企画室, (<sup>11)</sup>京都府農林水産技術センター生物資源研究センター)

ミント属は、種間交雑や倍数化によって生じた多数の種を含む複雑な属である。東南アジアのミントは料理や薬用目的で広く使用されているが、不完全にしか区別されていない。本研究では、単純反復配列 (SSR) マーカーと葉の形態から、東南アジアのミントと既知品種、およびシソ科近縁種 (イヌハッカ属) を解析した。東南アジアのミントは、葉脈のパターンと葉形指数に基づき、2タイプに明確に区別された。我々は、ミント属と他のシソ科植物種で良好な増幅を可能にする12個のSSRマーカーを開発した。SSRに基づく樹形図では、ミント系統は

IからVIのグループに分類可能だった。東南アジアのミントはグループIとIIに分かれ、ほとんどの供試した種が樹形図上で分離した。グループIとIIには既知の種として *M. × cordifolia* と *M. arvensis* がそれぞれ含まれた。この2グループの分離は集団構造解析によっても支持された。本研究で開発したSSRマーカーは、複数のミントを同時に分類し、既知のミント品種やこれまで未分類だった東南アジアのミントの遺伝的構成に関する理解を深める上で役立つものである。

**Breeding Science 72:** 181–187 (2022)