

ガンマ線およびイオンビーム照射によって得られたダットンソバ半矮性系統の形態および遺伝特性

誌名	育種学研究 = Breeding research
ISSN	13447629
著者名	森下,敏和 六笠,裕治 鈴木,達郎 清水,明美 山口,博康 出花,幸之介 相井,城太郎 長谷,純宏 鹿園,直哉 田中,淳 宮沢,豊 林,依子 阿部,知子
発行元	日本育種学会
巻/号	12巻2号
掲載ページ	p. 39-43
発行年月	2010年6月

原著論文

ガンマ線およびイオンビーム照射によって得られたダツタンソバ半矮性系統の形態および遺伝特性

森下敏和^{*1,2)}・六笠裕治^{†2)}・鈴木達郎²⁾・清水明美¹⁾・山口博康^{1,3)}・出花幸之介^{1,4)}・相井城太郎⁵⁾・長谷純宏⁶⁾・鹿園直哉⁶⁾・田中 淳⁶⁾・宮沢 豊^{7,8)}・林 依子⁸⁾・阿部知子⁸⁾

¹⁾農業生物資源研究所・放射線育種場, 常陸大宮市, 〒319-2293

²⁾農業・食品産業技術総合研究機構・北海道農業研究センター, 芽室町, 〒082-0081

³⁾農業・食品産業技術総合研究機構・花き研究所, つくば市, 〒305-8519

⁴⁾沖縄県農業研究センター, 糸満市, 〒901-0336

⁵⁾新潟薬科大学, 新潟市, 〒956-8603

⁶⁾日本原子力研究開発機構・量子ビーム応用研究部門, 高崎市, 〒370-1292

⁷⁾東北大学大学院理学研究科, 仙台市, 〒980-8578

⁸⁾理化学研究所, 和光市, 〒351-0198

摘要

ダツタンソバの乾燥種子にガンマ線あるいは各種イオンビームを照射し, 耐倒伏性を有する半矮性変異系統を7系統作出し, それぞれIRBFT-6, 20, 38, 45, 63, 67, 77と名付けた. これらの半矮性は既存の遺伝資源には見出されておらず, 新規形質と考えられた. 原品種との交配F₂世代における半矮性形質の分離比から, IRBFT-6, 20, 45の半矮性は, 核の劣性一遺伝子に支配される形質と推定された. また, すべての半矮性系統を用いた片側ダイアレル交配のF₁およびF₂の草型から, IRBFT-6, 20, 45は同一の半矮性遺伝子(*sda*)に支配される一方, IRBFT-38, 63, 67, 77は, これとは異なる劣性の半矮性遺伝子(*sdb*)に支配されると推定された.

キーワード

イオンビーム, 片側ダイアレル交配, ガンマ線, 耐倒伏性, ダツタンソバ, 突然変異, 半矮性

緒言

ダツタンソバ (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.) は, 自殖性のソバ属栽培種で, 主に中国, ネパール, ブータンなどの山岳地帯で広く栽培されており, 日本でも, 地域特産的に小規模な生産が行われている. 別名を苦ソバと称し, 子実には特徴的な苦みがある (川上ら 1995). ルチンを主とする黄色いフラボノイド化合物を子実中に多く蓄積するため (Jiang *et al.* 2007, Kitabayashi *et al.* 1995), そば粉は黄色みを呈し, この色を活かした加工食品の開発が試みられている (有田ら 1999, 有田 1999). ルチンには, 血圧降下作用 (Matsubara *et al.* 1985) や抗酸化能などの機能性が知られ (Morishita *et al.* 2007), 近年は, 機能性食品素材としてのダツタンソバの利用が増えつつ

ある. ダツタンソバの機能性研究では, ヒトへの臨床試験も行われており, 高脂血症, 高血圧, 肥満の改善が報告されている (Xiping and Xianqiong 1995). 食の健康志向を背景に, ダツタンソバの需要は今後も堅調に推移すると考えられる.

ダツタンソバの機能性研究の進展とは対照的に, 遺伝・育種学的な研究は, これまで世界的にも少ない. この背景には, 作物としての需要が小さいという社会的要因の他, 花器が小さく人工交配が難しいという技術的要因があった. 実際の品種改良においても, 在来種の導入や純系分離, 人為突然変異など人工交配を必要としない方法が主に採用されており (Wang and Campbell 2004), 近年になって, 初めて交雑育種の取り組みが報告されている (Wang and Campbell 2007). 同時期に, 温湯除雄法の開発による人工交配技術の進歩があり (Mukasa *et al.* 2007a), 子葉色の遺伝性 (Mukasa *et al.* 2007b) など, 遺伝・育種学的な研究が比較的容易に行える状況となった.

ダツタンソバは草丈が高く倒伏しやすいため, 耐倒伏

編集委員: 西尾 剛

2009年6月8日受領 2009年12月16日受理

Correspondence: tosikazu@affrc.go.jp

[†]Contribution equals to corresponding author

性の向上は重要な育種目標である。しかし、導入系統などの既存の育種素材には耐倒伏性に優れるものがなく、突然変異育種による半矮性変異などの作出が有望な手段と考えられる。著者らはこれまで、ダットンソバに対するガンマ線や各種イオンビームの生物効果を明らかにしており (Morishita *et al.* 2001, 2003), 放射線照射後代に見出された変異体の中から、半矮性で耐倒伏性を有する変異系統を数点作出している。

本研究では、これら人為突然変異によって作出したダットンソバ半矮性系統の特性の評価を行うとともに、交配試験により各系統が有する半矮性遺伝子座を推定した。

材料および方法

1. 育成経過と特性調査

半矮性変異を誘発した放射線の種類と線量、および原品種を表1に示した。1999年から2004年にかけて、ダットンソバ品種 Rotundatum, Pontivy および北海 T8 号 (旧系統名 北系1号) の乾燥種子に、独立行政法人農業生物資源研究所放射線育種場のガンマールームでガンマ線、独立行政法人日本原子力研究開発機構高崎量子応用研究所のAVFサイクロトロンおよび理化学研究所のリングサイクロトロンで各種イオンビームを照射した。M₁ 個体から M₂ 種子を個体別に採種し、M₂ 世代で耐倒伏性を有する半矮性変異体を7個体見出した。その後世代を重ねて変異の安定性を確認し、これらをそれぞれ IRBFT-6, 20, 38, 45, 63, 67, 77 と名付けた。2005年に IRBFT-6, 20, 38, 45, 63, 67 を、2006年に IRBFT-77 の特性を調査した。施肥は全量元肥とし、窒素、リン酸、カリそれぞれ 2.8 g/m² 施用した。IRBFT-6 と 20 は畦間 60 cm, 株間 6.5 cm で 4.8 m² の面積に播種し (4 畦), 成熟期に耐倒伏性を調査の後、収穫して中庸な 10 個体を調査に供試した。IRBFT-38, 45, 63, 67, 77 と原品種はそれぞれ 1 畦に最大 10 粒播種し、成熟期に耐倒伏性を調査の後、生育が正常な個体を対象として草丈、子実重等を調査した。これらは農業生物資源研究所放射線育種場 (茨城県常陸大宮市) の試験圃場で実施した。

2. 半矮性遺伝子座の遺伝解析

1) 原品種との交配および F₂ 分離調査

供試材料として、IRBFT-6, 20, 45 の半矮性 3 系統およびそれらの原品種 Pontivy, 北海 T8 号, Rotundatum を用い、2006～2007年にかけて、北海道農業研究センター芽室研究拠点および農業生物資源研究所放射線育種場の温室内で交配を行った。交配は Mukasa *et al.* (2007a) の方法に従い、原品種の最頂花房を温湯処理した後、翌朝に開花した花の柱頭に、半矮性系統の葯を擦り付けて人工授粉した。結実した種子は、成熟色 (褐色) になった時点で収穫し、1ヶ月以上温室内に放置して休眠覚醒を促した後、ポットに播種した。F₁ は温室内で栽培し、成熟期に個体ごとに採種した。F₂ の栽培は、2008年に放射線育種場の試験圃場で行い、生育期に草型 (半矮性または野生型) の分離を調査した。なお、半矮性と野生型の判別は、半矮性は生育初期の草丈が低く節間が短いため、本葉 4～5 枚の時期には、野生型との識別は容易であるので遠視で行った (図1)。

2) 片側ダイアレル交配および F₂ 分離調査

供試材料として、すべての半矮性系統 (IRBFT-6, 20, 38, 45, 63, 67, 77) を用い、2008年4～11月にかけて、北海道農業研究センター芽室研究拠点の温室内で順次交配を行った。F₁ はポットに播種して温室内で養成し、播種後1ヶ月半ほど経過した時点で草型 (半矮性または野



図1. 4～5葉期の IRBFT-20 (左) と北海 T8 号 (右)。

表1. 半矮性変異系統の由来

系統	照射日	原品種	線種	LET ¹⁾ (keV/μm)	線量 (Gy)	照射場所
IRBFT-6	99/07/21	Pontivy	ガンマ線	0.2	50	放育場
IRBFT-20	99/07/21	北海 T8 号	ガンマ線	0.2	500	放育場
IRBFT-38	99/12/21	Rotundatum	ヘリウム	9	40	原研
IRBFT-45	01/03/15	Rotundatum	炭素	23	40	理研
IRBFT-63	02/02/25	Rotundatum	炭素	39	100	理研
IRBFT-67	02/07/05	Rotundatum	鉄	630	30	理研
IRBFT-77	04/06/09	Rotundatum	アルゴン	305	20	理研

¹⁾線エネルギー付与

生型)の調査を行い、半矮性系統間の遺伝子座の異同を推定した。F₁で野生型を示した一部の組合せについてはF₂種子を採種し、それぞれのF₂種子を温室内のポットに播種し、1ヶ月半ほど経過した時点で草型(半矮性または野生型)の分離を調査した。なお、半矮性と野生型の判別は、前述と同様に達観で行った。

結果および考察

1. 各半矮性系統の特性

供試した半矮性系統の特性を表2に示した。草丈と主茎長は原品種の1/3から2/3程度であった。ダットンソバの草丈と収量との間には一般に正の相関が存在するが(森下ら2006)、これらの系統は、草丈の低下にとともなる株当たりの子実重の減少は少なかった。原品種と半矮性系統の主茎長には明らかな差があるのに対し、主茎節数はほぼ同じであった。その結果、主茎の平均節間長は、原品種が5cm以上であったのに対し半矮性系統は2.0~3.2cmの範囲で、半矮性系統の主茎の節間は原品種より明らかに短かった。このことが主茎の強度を高め、耐倒伏性をもたらしていると推測された。供試した全ての半矮性系統の千粒重は原品種よりも小さかったが、そのなかでもIRBFT-67の千粒重が最も大きかった。また、IRBFT-45の一次分枝数は原品種よりやや多く、IRBFT-38の主茎節数は少ない等、半矮性系統間でも形態的特徴は僅かに異なっていた。これらの半矮性の草型は、これまで調査したダットンソバの遺伝資源には見出されてお

らず新規形質と考えられた。

2. 半矮性遺伝子座の遺伝解析

IRBFT-6, IRBFT-20, IRBFT-45とそれぞれの原品種とを交配したF₁は、いずれの組合せとも野生型であり、雌親である原品種との差異は認識できなかった。F₂世代では、野生型と半矮性型が3:1に近い比率で分離した(表3)。χ²検定の結果は、いずれの組合せも野生型:半矮性=3:1の分離比に適合し、核の劣性一遺伝子支配であることが推測された(以降、半矮性遺伝子*sdA*とする)。しかし、Pontivy×IRBFT-6の組合せでは、調査個体数が少ないため9:7の分離比にも適合する結果となり、二遺伝子支配であることを否定はできなかった(表3)。いずれにして、放射線による突然変異育種においては、大部分が優性遺伝子から劣性遺伝子への変異であることが知られており、IRBFT-6, 20, 45の半矮性についても、遺伝子の機能喪失などによる劣性突然変異であると考えられた。

半矮性7系統を供試した片側ダイアレル交配では、全21組合せのうちの12組合せで野生型のF₁が出現し、残りの9組合せからは、半矮性の後代のみが得られた(図2)。なお、IRBFT-20×IRBFT-38およびIRBFT-38×IRBFT-45の組合せにおいて、各1個体ずつ半矮性が出現したが(図2)、これらは、不完全な除雄による自殖後代であると考えられた(Mukasa *et al.* 2007a)。すべての後代が半矮性であった9組合せは、IRBFT-6, 20, 45から成るIRBFT-6×IRBFT-20, IRBFT-6×IRBFT-45, IRBFT-20×IRBFT-45と、IRBFT-38, 63, 67, 77から成るIRBFT-38×IRBFT-63,

表2. 半矮性変異系統の特性

系統・品種	草丈 (cm)	主茎長 (cm)	主茎節数	主茎平均節間長 (cm)	一次分枝数	子実収量 (g/株)	千粒重 (g)	耐倒伏性 ¹⁾	調査株数	調査年
IRBFT-6	51.4	49.3	18.0	2.7	8.3	6.3	14.1	9	10	2005
IRBFT-20	60.1	57.9	20.1	2.9	8.3	6.9	13.8	9	10	2005
IRBFT-38	41.8	34.7	13.9	2.5	7.8	7.2	13.9	9	10	2005
IRBFT-45	63.7	57.7	20.9	2.8	8.6	14.1	15.0	9	9	2005
IRBFT-63	58.7	48.8	16.0	3.1	7.3	14.7	15.8	9	3	2005
IRBFT-67	60.9	57.0	17.6	3.2	7.7	14.9	17.0	9	6	2005
IRBFT-77	37.7	33.9	16.7	2.0	9.0	5.2	16.4	9	9	2006
Pontivy	102.6	94.1	19.0	5.0	8.8	8.4	18.0	3	5	2005
北海 T8 号	112.6	106.0	20.4	5.2	8.4	12.6	19.4	5	5	2005
Rotundatum	134.6	132.5	20.4	6.5	8.6	10.9	18.4	5	5	2005

¹⁾1: 極弱, 3: 弱, 5: 中, 7: 強, 9: 極強

表3. 原品種と半矮性系統との交配F₂世代における草型の分離

組合せ	個体数		χ ² 3:1	p	χ ² 9:7	p
	野生型	半矮性				
Pontivy×IRBFT-6	21	9	0.40	0.53	2.30	0.13
北海 T8 号×IRBFT-20	54	17	0.04	0.84	11.32	<0.01**
Rotundatum×IRBFT-45	60	13	2.01	0.16	19.96	<0.01**

** : 1%水準で有意.

♀ \ ♂	IRBFT-20	IRBFT-38	IRBFT-45	IRBFT-63	IRBFT-67	IRBFT-77
IRBFT-6	半矮性 6	野生型 3	半矮性 4	野生型 5	野生型 4	野生型 4
IRBFT-20		野生型 4 (半矮性1)	半矮性 5	野生型 4	野生型 7	野生型 5
IRBFT-38			野生型 2 (半矮性1)	半矮性 5	半矮性 3	半矮性 1
IRBFT-45				野生型 3	野生型 4	野生型 4
IRBFT-63					半矮性 17	半矮性 14
IRBFT-67						半矮性 16

図 2. 片側ダイアル交配後代 F₁ 個体の草型 (図中の数値は調査個体数)

表 4. 半矮性系統間の交配 F₂ 世代における草型の分離

組合せ	個体数		χ^2 9 : 7	p	χ^2 27 : 37	p
	野生型	半矮性				
IRBFT-20×IRBFT-38	109	85	0.01	0.99	15.59	<0.01**
IRBFT-20×IRBFT-63	64	56	0.41	0.52	6.11	0.01*
IRBFT-20×IRBFT-67	137	103	0.07	0.79	21.83	<0.01**
IRBFT-20×IRBFT-77	130	109	0.33	0.56	14.60	<0.01**

*,** : 5% および 1% 水準でそれぞれ有意.

IRBFT-38×IRBFT-67, IRBFT-38×IRBFT-77, IRBFT-63×IRBFT-67, IRBFT-63×IRBFT-77, IRBFT-67×IRBFT-77 の 2 群に分けることができた. このことから, IRBFT-6, 20, 45 を支配している半矮性遺伝子は, 同一の遺伝子座に存在し, また, IRBFT-38, 63, 67, 77 の半矮性も, 前者とは異なる同一の遺伝子座に支配されると考えられた. 一方, IRBFT-6, 20, 45 の群と IRBFT-38, 63, 67, 77 の群との間の交配により得られた F₁ は, いずれの組合せでも野生型であったことから, 両群を支配する半矮性遺伝子座は異なることが推測された.

IRBFT-38, 63, 67, 77 については, これまで IRBFT-20 との半矮性遺伝子座の異同を優先的に調べてきた経緯から, 原品種との交配は実施しておらず, 半矮性に関与する遺伝子座の数は推定できていない. そこで, 片側ダイアル交配の組合せのうち, IRBFT-20×IRBFT-38, IRBFT-20×IRBFT-63, IRBFT-20×IRBFT-67, IRBFT-20×IRBFT-77 の 4 組合せについて, F₂ における草型の分離を調査し, 関与する遺伝子座数を推定した. 結果は, 4 組合せとも劣性の二遺伝子が独立遺伝する時に期待される分離比 9 : 7 に適合し (表 4), 三劣性遺伝子支配を想定した分離比 27 : 37 には適合しなかった. このことから, IRBFT-38, 63, 67, 77 の半矮性は, IRBFT-6, 20, 45 とは異なる遺伝子座の劣性一遺伝子に支配されると結論した (以降, 半矮性遺伝子 *sdB* とする). なお, 半矮性を有する F₂ 個体には, 二重劣性 (*sdAsdAsdBsdB*) が混在していたと考えられたが, 本試験では, 野生型と半矮性の判別を温室での初期生育段階で行ったため, *sda* と *sdB*

の相加的な効果は検討しなかった.

今後は, これら半矮性の原因遺伝子の分子遺伝学的な検討のほか, 各々どのような生理的機作により半矮性の形質を発現するかなど, 基礎的な知見を積み重ねる必要があると考える. さらに育種におけるこれらの半矮性遺伝子の有用性についての評価も進める必要があると考える.

謝 辞

本研究の遂行に当たり協力頂いた桑原秀則氏および鳥根克佳氏に謝意を表す. 本研究の一部は, 原子力委員会の評価に基づき, 文部科学省原子力試験研究費により実施されたものである.

引用文献

- 有田俊幸・沼田邦雄・齊尾恭子 (1999) ダツタンソバ粉の色素の黄変を利用した中華めんの製造について. 東京都立食品技術センター研究報告 8: 35-39.
- 有田俊幸 (1999) 中華麵の着色料としてのダツタンソバ. *New Food Industry* 41(9): 19-24.
- Jiang, P., F. Burczynski, C. Campbell, G. Pierce, J.A. Austria and C.J. Briggs (2007) Rutin and flavonoid contents in three buckwheat species, *Fagopyrum esculentum*, *F. tataricum* and *F. homotropicum*, and their protective effects against lipid peroxidation. *Food Res. Int.* 40: 356-364.
- Kitabayashi, H., A. Ujihara, T. Hirose and M. Minami (1995) On the genotypic differences for rutin content in Tartary buckwheat, *Fagopyrum tataricum* Gaertn. *Breed. Sci.* 45: 189-194.

- 川上 晃・茅原 紘・氏原暉男 (1995) ダットンソバ (*Fagopyrum tataricum*) の苦味の特性とその除去. 日本食品科学工学会誌 42: 892–898.
- Matsubara, T., H. Kumamoto, Y. Iizuka, T. Murakami, K. Okamoto, H. Miyake and K. Yokoi (1985) Structure and hypotensive effect of flavonoid glycosides in citrus unshiu peelings. *Agric. Biol. Chem.* 49(4): 909–914.
- Morishita, T., H. Yamaguchi and K. Degi (2001) The dose response and mutation induction by gamma ray in buckwheat. *Proc. 8th Int. Symp. Buckwheat* 334–343.
- Morishita, T., H. Yamaguchi, K. Degi, N. Shikazono, Y. Hase, A. Tanaka and T. Abe (2003) Dose response and mutation induction by ion beam irradiation in buckwheat. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B* 206: 565–569.
- 森下敏和・山口博康・出花幸之介・手塚隆久 (2006) ダットンソバの農業関連形質および子実成分の特性. 日本作物学会紀事 75: 335–344.
- Morishita, T., H. Yamaguchi and K. Degi (2007) The contribution of polyphenols to antioxidative activity in common buckwheat and Tartary buckwheat grain. *Plant Prod. Sci.* 10: 99–104.
- Mukasa, Y., T. Suzuki and Y. Honda (2007a) Emasculation of Tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.) using hot water. *Euphytica* 156: 319–326.
- Mukasa, Y., T. Suzuki and S.J. Kim (2007b) Inheritance of a dark red cotyledonal trait in Tartary buckwheat. *Fagopyrum* 24: 3–7.
- Wang, Y. and C.G. Campbell (2004) Buckwheat production, utilization, and research in China. *Fagopyrum* 21: 123–133.
- Wang, Y. and C.G. Campbell (2007) Tartary buckwheat breeding (*Fagopyrum tataricum* L. Gaertn.) through hybridization with its Rice-Tartary type. *Euphytica* 156: 399–405.
- Xiping, L. and F. Xianqiong (1995) Clinical effects of Tartary buckwheat on senile hyperlipemia. *Proc. 6th Int. Symp. Buckwheat* 947–950.

Breeding Research 12: 39–43 (2010)

Characteristics and inheritance of the semidwarf mutants of Tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.) induced by gamma ray and ion beam irradiation

Toshikazu Morishita^{1,2}, Yuji Mukasa², Tatsuro Suzuki², Akemi Shimizu¹, Hiroyasu Yamaguchi^{1,3}, Konosuke Degi^{1,4}, Jotaro Aii⁵, Yoshihiro Hase⁶, Naoya Shikazono⁶, Atsushi Tanaka⁶, Yutaka Miyazawa^{7,8}, Yoriko Hayashi⁸ and Tomoko Abe⁸

¹ Institute of radiation breeding, Hitachi-omiya, 319-2293, Japan

² National Agricultural Research Center for Hokkaido Region, Memuro, 082-0081, Japan

³ National Institute of Floricultural Science, Tsukuba, 305-8519, Japan

⁴ Okinawa Prefectural Agricultural Research Center, Itoman, 901-0336, Japan

⁵ Niigata University of Pharmacy and Applied Life Sciences, Niigata, 956-8603, Japan

⁶ Japan Atomic Energy Agency, Takasaki, 370-1292, Japan

⁷ Tohoku University, Sendai 981-8555, Japan

⁸ RIKEN, Wako, 351-0198, Japan

We obtained 7 semidwarf strains with lodging resistance by irradiating dry Tartary buckwheat seeds with gamma rays and various ion beams. These strains were named IRBFT-6, 20, 38, 45, 63, 67 and 77. These plant types have not been previously observed among Tartary buckwheat genetic resources, so it seemed that they have new characteristics. The populations of F₂ from crosses between IRBFT-6, 20, 45 (semidwarf-mutant lines) and their original varieties fitted a 3:1 segregated ratio of wild type to semidwarf type, suggesting that the semidwarf trait in IRBFT-6, 20, 45 was controlled by a nuclear single recessive gene, respectively. Judging from the plant type (wild versus semidwarf) in F₁ and F₂ of half diallel cross, it was estimated that IRBFT-6, 20, 45 had a common semidwarf gene (*sdA*) and IRBFT-38, 63, 67, 77 had another semidwarf gene (*sdB*).

Key Words: gamma ray, half diallel cross, ion beam, lodging resistance, mutation, semidwarf, Tartary buckwheat.
