



Title	稲の標識遺伝子型系統よりの相互転座系統の育成とそれを利用した連鎖分析
Author(s)	佐藤, 茂俊; SATO, Shigetoshi; 木下, 俊郎 他
Citation	北海道大学農学部邦文紀要, 9(2), 193-199
Issue Date	1975-02-15
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/11870
Type	departmental bulletin paper
File Information	9(2)_p193-199.pdf



稲の標識遺伝子型系統よりの相互転座系統の育成と それを利用した連鎖分析

— 稲の交雑に関する研究, 第 LXII 報* —

佐藤 茂俊・木下 俊郎・高橋 萬右衛門

(北海道大学農学部育種学教室)

(昭和 49 年 9 月 13 日受理)

Linkage analysis of rice plant by the use of reciprocal translocation lines induced from linkage testers

— Genetical Studies on rice plant, LXII —

Shigetoshi SATO, Toshiro KINOSHITA
and Man-emon TAKAHASHI

(Plant Breeding Institute, Faculty of Agriculture,
Hokkaido University, Sapporo, Japan)

緒 論

相互転座は細胞学及び遺伝学の研究材料として重要であるのみならず、染色体工学の手法を活かして育種の利用も可能である。

稲では X 線処理により、主として一般品種より相互転座系統が作出された (RAMIAH et al. 1935, PARTHASARATHY 1938, 西村・倉上 1952, OKA et al. 1953)。著者らは先に西村 (1961) の作成した転座系統のセットを用いて連鎖分析を行なったが、より詳細な染色体地図の作製を旨とするためには、更に多数の転座点と標識遺伝子の連鎖を調べねばならない。そこで、著者らの保有する標識遺伝子型系統を素材に、転座系統の育成を進めており、それらを用いて遺伝子の位置効果等についての所見をも深めることを期待している。

今回は 2 種の標識遺伝子型系統より育成した転座系統についての染色体の同定と、それらを用いた連鎖分析の結果について報告する。

本文に入るに先だち、ガンマー線照射を快くお引受け下さった農林省農業技術研究所第 1 研究室長河合武博士に謹んで感謝の意を表すると共に、実験に協力せられた鈴木良始氏にもお礼申しあげる。

実験材料及び方法

2 種の標識遺伝子型系統、A-5 赤室及び A-58 黒色稲の 2 を基本材料として用いたが、それらが担う標識遺伝子とその所属連鎖群は次の如くである。

A-5 赤室…… $C^{Br}(I)$, $Pr(II)$, A , $Rd(III)$, $Rc(IV)$,
 $I-Bf(V)$

A-58 黒色稲の 2…… C^B , $wx(I)$, Pr , $Ph(II)$, A ,
 $Pn(III)$

C , A ……花青素着色, $PrPn$ ……花青素分布, Rc , Rd
……赤米, wx ……胚乳糯性, Ph ……フェノール
反応プラス

1966 年に、両系統の乾燥種子をガンマー線照射した。線量率は 6.94 r/min で、照射総線量は 20,000 r であった。処理種子より育てた個体 (M_1) について、まず種子稔性による選択を行ない、 M_2 または M_3 代で転座の有無を検定した。つづいて M_1 の転座ヘテロと判定された個体よりの後代を用いて相互転座ホモ系統を育成した。

転座を起した染色体の種類については、西村の転座系統 (RT 系統) との交雑により F_1 の減数分裂における染色体の接合様式から同定した。この際プレパラートの作成は、材料をまずファーナー液で個定し、酢酸カーミン液で染色した後、押しつぶし標本とした。その他、RT 系

* 北海道大学農学部作物育種学教室業績

統の来歴や、標識遺伝子表、転座利用の連鎖分析法等については、前報(佐藤・木下・高橋 1973)を参照されたい。

実験結果

1. 転座系統の育成

M₁を養成した1966年は冷害年のため、種子稔性はその影響を受けた。A-5: M₁の298個体, A-58: M₁の306個体について、種子稔性の変異を示したのがFig.1である。M₁での低稔性個体を重点的に選び、M₂代系統を育成して種子稔性を調査した。その結果、M₂で稔:半不稔=1:1に分離する系統はM₁の転座ヘテロ個体由来するものと推定した。Table 1には、かかる転座ヘテロ個体についての選抜実験の結果を示してある。両系統共に、種子稔性が60%以下の個体から転座ヘテロ個体が多く見出された。ただ、A-5では60~80%の個体中にも転座ヘテロ個体が含まれていた。別にA-5の照射個体よりの保存種子を用いて1972年にM₂個体の種子稔性を調べ、1973年にM₃系統における稔性分離を調査した結果がTable 2に示してある。この場合にもM₂の転座ヘテロ個体の種子稔性の変異幅は6~51%であり、次代(M₃)における稔:半不稔の分離は、いずれも理論比の1:1によく適合した。

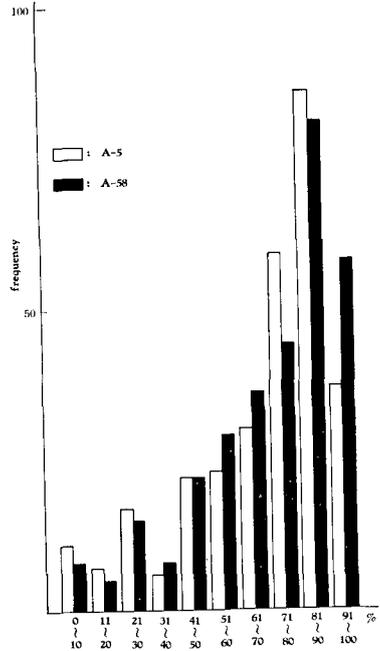


Fig. 1. Distribution pattern in degree of seed fertility given in M₁ populations of A-5 and A-58.

Table 1. Selection of translocation heterozygotes in M₁ plants estimated from the mode of segregation of fertility in M₂ pedigrees

Spikelet fertility (%) in M ₁	A-5 Akamuro		A-58 Kokushokuto-2	
	Obs. No.	No. of heterozygote*	Obs. No.	No. of heterozygote*
0~ 20	13	2	10	0
21~ 40	22	5	24	5
41~ 60	21	2	21	1
61~ 80	10	1	4	0
81~100	5	0	2	0

Note. *: Translocation heterozygotes were estimated by the segregation mode of M₂ pedigrees.

Table 2. Relation between spikelet fertility of M₂ plants and the mode of segregation in M₃ pedigrees of translocation heterozygotes

Plant No.	Spikelet fert. (%) in M ₂	Segregation of spikelet fert. in M ₃			Fitness of 1:1	
		Fertile	Semi-sterile	Total	χ ²	P
A-5: 1	6	9	7	16	0.25	.5~.7
2	8	8	7	15	0.07	.7~.8
3	19	6	7	13	0.08	.7~.8
4	26	5	6	11	0.09	.7~.8
5	51	5	4	9	0.11	.7~.8

転座ヘテロ個体の後代からは、稔性が正常に近いまでに回復した転座ホモ個体が選抜された。それらを用いて正常型との間で検定交雑を行なった F₁ は、再び転座ヘテロ個体となり、Diakinesis においては Plate 1 に示す如く、4 連染色体の形成が確められた。

2. 転座染色体の同定

相互転座ホモ系統として育成された 8 系統について、転座を起している染色体の種類を同定した。すなわち、まず転座型の明らかな RT 系統との間で交雑を行ない、F₁ の Diakinesis における染色体接合を調べた (Table 3)。BURNHAM (1956) によるならば、転座系統間の交雑では染色体の異同によって、次の 3 通りが考えられる。すなわち、1) 2 種の転座染色体のうちいずれか一方が共

通であるならば、6 連染色体 (⑥) が形成される。2) 2 個の 4 連染色体 (2④) 形成の場合には 2 本の転座染色体が共に異なる。3) 1 個の 4 連染色体 (④) 或は 2 連の染色体となる場合には、転座染色体は 2 本共に共通で、転座点 がそれぞれ接近しているか離れているかの場合である。

以下に著者らの育成した 8 種の転座系統 (T 系統) について染色体の同定を行なった結果を述べる。

a) T 4~5 b (A-5:80 由来)

検定交雑 F₁ の Diakinesis において ⑥ が形成されたのは、RT 3~4 a 並びに RT 5~6 との交雑であった。RT 3~12 a と RT 6~10 では 2④ が形成されたから、第 3 及び第 6 染色体は転座にあずかっていない。したがって第 4 と第 5 染色体の間で生じた転座である。

Table 3. Identification of interchanged chromosomes depending on the chromosome configurations at diakinesis in F₁ plants crossed with RT-lines

RT-line		A-5 Akamuro			A-58 Kokushokuto-2				
		80	178	293	197	199	204	208	279
RT	1~2	2④	2④	⑥	2④	2④	2④		2④
	2~3							⑥	
	3~4 a	⑥	2④	⑥	2④		2④		
	3~4 b							⑥	
	3~5		2④		2④		⑥	⑥	
	3~12 a	2④	2④		⑥	2④	2④	⑥	2④
	4~5 a			⑥					
	5~6	⑥	2④	2④	2④		⑥	2④	⑥
	6~7							⑥	
	6~10	2④	⑥	2④	2④	2④	⑥		2④
	7~8 a	2④	2④	2④	2④	2④			2④
	8~10 a		⑥	2④	2④	2④	⑥	2④	2④
	8~12 b	2④			⑥	2④	2④	2④	2④
	9~10 a	2④	④		2④	2④	⑥		2④
10~11 a	2④	⑥	2④	⑥		⑥		2④	
T	4~5 b					⑥		2④	
	9~10 b							2④	
Type of interchanged chromosomes		4~5 b	9~10 b	1~4 b	11~12	4~11 or 5~11	5~10	3~7	4~5 c

b) T 9~10 b (A-5:178 由来)

RT 6~10, RT 8~10 a 及び RT 10~11 a との検定交雑では、それぞれ⑥が形成され、RT 9~10 a との交雑では④が形成されたから、転座型は 9~10 であり、RT 9~10 a とは転座点を異にする。

c) T 1~4 b (A-5:293 由来)

稲の第 1 染色体は仁染色体であるので、減数分裂の観察から第 1 染色体の転座が明らかになった。RT 1~2, RT 3~4 a 及び RT 4~5 a との検定交雑では、⑥が形成されたので転座型は 1~4 と推定された。

d) T 11~12 (A-58:197 由来)

RT 3~12 a, RT 8~12 b 及び RT 10~11 a でそれぞれ⑥が形成され、RT 6~10, RT 8~10 a 及び RT 9~10 a では 2④となったので転座型は 11~12 と推定された。

e) T 4~11 or 5~11 (A-58:199 由来)

7 種の RT 系統との検定交雑では、すべて④が形成された。T 4~5 b との交雑では⑥が形成されたので、転座染色体の 1 つは第 4 か第 5 であり、他の 1 つは第 11 染色体の可能性が考えられる。

f) T 5~10 (A-58:204 由来)

⑥が形成されたのは、RT 3~5, RT 5~6, RT 6~10, RT 8~10 a, RT 9~10 a 及び RT 10~11 a との交雑であった。これらの事から転座型は 5~10 と推定された。

g) T 3~7 (A-58:208 由来)

第 3 染色体の転座を含む RT 系統 (RT 2~3, RT 3~4 b, RT 3~5 及び RT 3~12 a) 並びに RT 6~7 との検定交雑においては⑥の形成がみられた。その他、RT 5~6 との交雑では 2④となったので、転座型は 3~7 と推定された。

h) T 4~5 c (A-58:279 由来)

RT 5~6 との検定交雑では⑥を生じ、RT 6~10 とでは 2④を形成した。故に、転座染色体の 1 つは第 5 染色体体であるが、他方は、検定交雑に含まれていない第 4 染色体と推定された。

3. 連鎖分析

今回育成した転座系統より、A-5 由来の 3 系統、及び A-58 由来の 3 系統を用いて、6 種の Linkage tester との間で交雑を行ない、F₂ 集団について、転座点と標識遺伝子の関係を推定した (Table 4)。

明らかな連鎖関係が見出されたのは、6 組合せであり、その他にやや弱い連鎖関係が 1 組合せあった。他の 46 組合せでは連鎖関係は認められなかった。連鎖関係についての F₂ 分離の詳細を Table 5 に示した。

まず、第 II 連鎖群の標識遺伝子 *Pr* (顎色分布) は、T 11~12 との間で 11.8% なる組換え価で連鎖関係が認められた。*Pr* は第 11 染色体上にあると考えられるから、T 11~12 は転座腕上に標識遺伝子を有する転座系統となった。

第 IV 連鎖群の *Rc* (赤米色原素) についても T 5~10 及び T 9~10 b との間で連鎖関係が見出され、*Rc* は第 10 染色体上にあった。したがって、T 9~10 b もまた *Rc* なる標識遺伝子を有する転座系統であった。

その他、第 VIII 連鎖群の *la* (もつれ) と T 9~10 b, 第 XI 連鎖群の *bc* (鎌不要) と T 4~5 b あるいは T 4~5 c の間にもそれぞれ連鎖関係が認められた。これらの連鎖関係は、すべて既成の連鎖群と染色体の対応関係から予想される関係であって、この点からも著者らの RT 系統による染色体同定が正しかったことが裏付けられた。

しかし、第 IX 連鎖群の *nl* (苞かむり) と T 11~12 の間には、組換え価 30.4% をもって連鎖関係が認められ

Table 4. Linkage relationships between the interchanged points and the marker genes

T-line	Linkage group and marker genes																
	I <i>C wx</i>		II <i>Pr Pl d₂ lg</i>				III <i>A Rd Pn</i>			IV <i>Rc</i>	V <i>I-Bf</i>	VII <i>Hl</i>	VIII <i>la</i>	IX <i>ri nl</i>		X <i>bl₁</i>	XI <i>bc</i>
T 1~4 b	-	-			-	-	-	-	-	-	-		-				-
4~5 b	-	-						-	-	-	-						+
4~5 c		-	-		-	-	-		-			-					+
5~10		-			-		-	-	-	+						-	-
9~10 b		-	-	-	-	-		-	-	+	-	+					-
11~12		-	+				-		-				- (+)		-		-

Note. T-line are derived from linkage markers, A-5 and A-58.

+...Significant at 1% level. (+)...Significant at 5% level. -...Non-significant.

Table 5. Linkage relations between the marker genes and the interchanged points

Linkage group	Marker gene	T-line	Segregation mode				Total	R.C.V. (%)	Fitness	
			AF	AS	aF	aS			χ^2	P
II	<i>Pr</i>	T 11~12	120 (138.6)	196 (205.6)	111 (90.9)	32 (23.9)	459	11.8±2.24	10.173	.01~.02
IV	<i>Rc</i>	T 5~10	247 (257.5)	301 (293.0)	108 (109.5)	78 (74.0)	734	28.0±3.58	0.883	.8 ~.9
do	do	T 9~10 b	172 (181.1)	240 (234.4)	96 (95.9)	46 (42.6)	554	19.0±2.79	0.862	.8 ~.9
VIII	<i>la</i>	do	123 (119.4)	206 (200.9)	87 (94.1)	11 (12.6)	427	6.3±1.67	0.988	.8 ~.9
IX	<i>nl</i>	T 11~12	212 (220.6)	244 (244.4)	93 (89.4)	71 (65.6)	620	30.4±4.40	0.926	.8 ~.9
XI	<i>bc</i>	T 4~ 5 b	144 (146.2)	195 (183.1)	65 (73.3)	35 (36.4)	439	21.0±3.40	1.810	.5 ~.7
do	do	T 4~ 5 c	99 (110.4)	214 (211.3)	112 (104.1)	4 (3.2)	429	1.5±0.81	2.034	.5 ~.7

Note. A : Dominant. a : Recessive. F : Fertile. S : Semi-sterile.

() : Calculated number from the respective recombination value.

た。これは、前報で第 IX 連鎖群が、第 2 或は第 6 染色体に対応するとの関係と一致しない。したがって、*nl* の所属する連鎖群についてあらためて再検討する必要性が生じた。

考 察

標識遺伝子型系統である A-5 赤室及び A-58 黒色稲の 2 を基本材料に相互転座ホモ系統を育成した。既知の RT 系統を用いて転座染色体の同定を行ない、更に連鎖分析を行なって標識遺伝子と染色体の対応関係を確認した結果、転座系統の中には T 9~10 b, T 11~12 の如く、それぞれ転座染色体に *Rc*, あるいは *Pr* なる標識遺伝子を含む系統もあり、又、すくなくとも 7 系統については転座型を明らかにできた。T 9~10 b と T 11~12 は、連鎖分析に tester として用いるならば marker 間の組換え価と marker—転座点の組換え価から第 10, あるいは第 11 染色体において標識遺伝子の位置を直ちに決定できる利点をもつ。また各標識遺伝子について、かかる多数の異なる転座型系統を育成して互いに比較するならば将来標識遺伝子の位置効果を調べるのに役立つであろう。転座個体の遺伝学及び細胞学におけるその他の利用価値については、BURNHAM (1956) によって詳述されている。

転座染色体の同定にあたっては、Diakinesis における染色体対合像によったが、2 種の転座染色体の種類が共通している転座型間の交雑の F₁ について、Pachytene における対合様式をもあわせて検討した。すなわち、

RT 8~12 a×RT 8~12 b の交雑の F₁ では、Plate 2 に示す如く、相同染色体が末端においてよく対合したが、中央部での対合はゆるかった。また、RT 3~4 a×RT 3~4 b の F₁ では、末端ではよく対合しているのに対して、中央部は対合せずに loop を形成した (Plate 3)。その他、同一染色体の異なる部分が対合するような像もみられた (Plate 4)。これらは、TABATA (1962, 1963) がトウモロコシで観察した結果と相似しており、イネにおいても、トウモロコシやオオムギ (KASHA & BURNHAM, 1965) にみられる如く、末端より染色体の対合が始まると考えられる。

転座利用の連鎖分析で、新しい知見として注目されたのは苞かむり遺伝子 *nl* の所属染色体である。*nl* は第 11 あるいは第 12 染色体に座乗する可能性を生じた。岩田・大村 (1970) も 3 染色体利用による転座分析から、*nl* が第 IX 連鎖群に属することについて検討を要することを述べたが、第 11 染色体に対応するとみられる E 染色体との間では disomic の分離を得ている (岩田・大村, 1972)。*nl* の所属連鎖群並びに染色体に関しては、今後の検討が必要である。

摘 要

- 2 種の標識遺伝子型系統、A-5 赤室及び A-58 黒色稲の 2 の種子にガンマー線を照射 (総線量 20,000 r) して、相互転座ホモ系統を育成した。
- M₁ で生じた転座ヘテロとみられる個体は M₂ 系

統で稔性:半不稔性を1:1の比に生じた。転座ヘテロ個体の種子稔性は、6~51%の変異を示した。

3. 新しく育成された転座ホモ系統(T系統)とRT系統との検定交雑のF₁におけるDiakinesisの染色体対合様式から、転座染色体の異同を判定した。新しく得られた転座型は、A-5からは4~5b, 9~10b, 1~4b, またA-58からは11~12, 4 or 5~11, 5~10, 3~7及び4~5cの8種であった。

4. 6種のT系統を用いて、他のLinkage testerとの間で交雑を行ない、F₂において転座点と標識遺伝子の連鎖関係を調査した。その結果、PrとT11~12, RcとT5~10及びT9~10b, laとT9~10b, bcとT4~5b, T4~5c並びにnlとT11~12の間にそれぞれ連鎖関係が認められた。

5. nlは第IX連鎖群に所属する遺伝子であるが、今回の転座分析ではnlが第11あるいは12染色体のいずれかに対応するという結果を得た。nlの所属連鎖群についての再検討が必要である。

引用文献

- 1) BURNHAM, C. R. (1956): Chromosomal interchanges in plants. Bot. Review 22: 419-552.
- 2) 岩田伸夫・大村 武 (1970): 三染色体植物利用によるイネの連鎖分析. I. 育雑 20 別, 1. 91-92.
- 3) ———— (1971 a): 相互転座法によるイネの連鎖分析. I. 染色体 1. 2. 3. 4. に対応する連鎖群. 育雑 21: 19-28.
- 4) ———— (1971 b): 相互転座法によるイネの連鎖分析. II. 染色体 5. 6. 7. 8. 9. 10. 11 に対応する連鎖群, 九大農学芸雑誌 25: 137-153.
- 5) KASHA, K. J. and C. R. BURNHAM (1965): The location of interchange breakpoints in barley. II. Chromosome pairing and the intercross method. Can. J. Genet. Cytol. 7: 620-632.
- 6) 西村米八 (1961): 水稻及び大麦における相互転座の研究. 農技報 D-9: 171-235.
- 7) ————・倉上秀雄 (1952): X線処理による水稻の突然変異. 育雑 2: 65-71.
- 8) OKA, H., CHANG, T. T. and HONG, M. S. (1953): Reciprocal translocation in rice. Jap. J. Genet. 28: 87-91.
- 9) 大村 武・岩田伸夫 (1972): イネの連鎖研究. 第8, 第10, 第11連鎖群について. 育雑 22 別, 1, 49-50.
- 10) PARTHASARATHY, N. (1938): Cytological studies in *Oryzae* and *Phalarideas*. I. Cytogenetics of some X-ray derivatives in rice (*Oryza sativa* L.). J. Genet. 37: 1-40.
- 11) RAMIAH, K., N. PARTHASARATHY and S. RAMANUJAM (1935): Chromosome ring in X-rayed rice. Proc. Assoc. Econ. Biol. 2: 1-4.
- 12) 佐藤茂俊・木下俊郎・高橋萬右衛門 (1973): 西村の相互転座系統利用による稲の連鎖分析. 北大農邦文紀要 8: 367-376.
- 13) TABATA, M. (1962): Chromosome pairing in intercrosses between stocks of interchange involving the same two chromosomes in Maize. I. Diakinesis configuration in relation to breakage positions. Cytologia 27: 410-417.
- 14) ———— (1963): Chromosome pairing in intercrosses between stocks of interchanges involving the same two chromosomes in Maize. II. Pachytene configuration in relation to breakage positions. Cytologia 28: 278-292.

Summary

The reciprocal translocation lines were produced by gamma irradiation from two linkage testers, A-5 Akamuro and A-58 Kokushokuto-2.

In the progenies of semi-sterile mutants from gamma ray, exposing to the dried seeds (total exposure 20,000 r, exposure rate 6.94 r/min), the translocations were identified by segregating 1 normal: 1 partially sterile. Eight translocation homozygous lines (T-line) were chosen for the further studies on the identification of the interchanged chromosomes and linkage analysis.

The NISHIMURA's and IWATA's translocation testers (RT-line) with definite translocation types, were crossed with the T-lines. The chromosome configurations at diakinesis of meiosis were observed in F₁ plants of the test crosses, as shown in Table 3. The interchange types which were determined by the methods summarized by BURNHAM (1956), are as follows; T4~5b, 9~10b, 1~4b for three lines derived from A-5 and T11~12, 4 or 5~11, 5~10, 3~7 and 4~5c for five lines from A-58.

Linkage relationships were examined between the interchanged points and the marker genes by the use of six T-lines, as shown in Table 4. As to the relation in which χ^2 for linkage was significant, F₂ segregations for marker and the spikelet fertility were indicated with the recombination values (Table 5). The correspondence between the marker genes such as Pr, Rc, la and bc, and the chromosomes were estimated from the linkage relations and con-

confirmed the results obtained by previous reports (IWATA and OMURA, 1971 a, b; SATO, KINOSHITA and TAKAHASHI, 1973). A new linkage relation was shown between *nl* (neck leaf) of IXth linkage group and T11~12 with a recombination value

of $30.4 \pm 4.40\%$. Because the IXth linkage group corresponds with the chromosome 3rd or 6th, in the previous reports, further studies are needed for the chromosome or the linkage group to which *nl* belongs.

Plate (図版)

1. Ring formation of four chromosomes at diakinesis in the reciprocal translocation heterozygote of T 3~7. ($\times 1500$)
2. Pairing configuration of four chromosomes at pachytene stage in F_1 hybrid between RT 8~12 a and RT 8~12 b. ($\times 1500$)
- 3 and 4. Pairing of two chromosomes at pachytene stage in F_1 hybrid between RT 3~4 a and RT 3~4 b. ($\times 1500$)

Note. The arrow in each figure indicates the chromosomes in question.

