

特集記事

バレイショの遺伝育種学と遺伝資源についての一連の研究

渡邊和男

(近畿大学 生物理工学部, 打田町, 〒649-6493)

Genetics, Breeding and Genetic Resources on Potato and its Relatives

Kazuo N. Watanabe

(Fac. Biol. Sci. & Technol., Kinki Univ., Uchita, Wakayama, 649-6493)

キーワード: *Solanum*, 野生種遺伝資源, 倍数性, 全数性
配偶子, 抵抗性, 量的遺伝子群

はじめに

バレイショの主要品種は同質四倍性で他殖性である。これらは、倍数体であっても、主に自殖性である穀類とは異なった遺伝および育種上の特徴がある。特に、バレイショの育種目標となる多くの育種形質は、量的遺伝を行うため、その遺伝様式や関わる育種での選抜は複雑である。また、ジャガイモは双子葉植物であり、単子葉植物と比べ、特に減数分裂における細胞遺伝学上の特徴がある。そして、バレイショには、多数の近縁野生種が存在し、多様な変異や強力な病虫害抵抗性等の育種形質を備えている。これらを生かしての倍数性および染色体操作の基本および育種への応用について、これまでの著者の蓄積を紹介したい。なお、本著は渡邊(1994)を基礎として、これに大幅に加筆・改訂し、情報を新しくしたものである。なお、バレイショ一般については、Watanabe(1998)を参考にされたい。

1. ジャガイモ育種上の問題点

四倍体ジャガイモの育種には次の様な幾つかの特徴があり、これらが問題点として育種作業を複雑にしている(Ross 1986, Watanabe 1991, Watanabe 1994, 渡邊 1994)。

1) 狭い遺伝的変異:

欧米や日本の既存の四倍体品種の遺伝的変異は限られており、多くは Early Rose 等同一の栽培品種をその起源に含んでいる。日本の主要品種もしくりで、同じ様な類縁関係を持っている傾向がある(Watanabe 1998)。このような狭い遺伝的背景は、古くは、バレイショ疫病によるアイルランドでの飢饉に見られるように、新病虫害に対して非常に脆弱である。これら従来品種から、新しい抵抗性等の有用遺伝子を探索できる可能性は低い。例え

ば、昨今、北海道を主として問題になっているそう茄病のように、既存品種に十分な抵抗性が見られないことがある。また、疫病が新たに、ここ数年来世界的に流行しているが、これに対抗する強力な抵抗性は既存品種からは見いだされていない。

2) 倍数性遺伝:

四倍性の遺伝様式は、二倍性に比べ遙かに複雑である。二倍体では、一遺伝子座あたり、2つの対立遺伝子しか存在しないのに対し、バレイショのような同質四倍体では、一遺伝子座に最高4つの対立遺伝子が存在し、これらの高次相互作用が起こり得る(Watanabeら 1991b)。また、複対立遺伝子で多数の対立遺伝子が存在するときは、一遺伝子座においても、遺伝子型は乗数的に、増加してゆく。そして、二遺伝子座や多数の遺伝子座による支配を受けている形質の場合は、より複雑になってくる。ゆえに、量的形質や複数の単純遺伝形質を同時に選抜することは、同質四倍体では、二倍体に比べ、遙かに困難であることが想像される。

3) 量的形質:

バレイショの育種目標は、疫病やそう茄病等の抵抗性やでんぷん含量等のように、一般的に量的形質である。同質四倍性と環境要因との関係(genotype × environment interaction, Watanabeら 1999b)がからんで、遺伝形質の発現が複雑であり、それゆえ量的形質の選抜は難しく、育種家の経験と地道な後代検定や反復試験などに頼るしかない。

4) 遺伝子相互作用:

雑種強勢や超優性がバレイショ育種上重要であり、これは上記1)で述べたように対立遺伝子間の相互作用(Intra-locus interaction)や遺伝子座間の上位あるいは下位性(Inter-locus interaction)が大きく関係してくる(Watanabeら 1991b)。一方では、相加的効果による種々の量的形質が存在するため、上記四倍性遺伝を含めて、特定形質を固定するのは非常に困難である。

5) 選抜マーカー:

イネ、トマト、コムギのような古典的な形態による標識遺伝子はあまりない。また、分子マーカーの発展はあるもののいまだに実用面では遅れている。

6) 染色体操作:

コムギのように、個々の染色体を識別し、異なる起源の染色体間の組み換えを行うことは容易ではない。よって、染色体添加系統や異数体のような特殊な遺伝系統を作出することは難しい。また、個々の染色体の判別が難しいため、種間交雑や系統間交雑において遺伝子(生殖質)浸透を的確に追尾できない。

以上の様な要素のため、従来のバレイショ育種は品種育成までに、2万から10万の実生集団を毎年展開することを必要とし、数と確率の勝負のために、多大な努力と資材が費やされてきた。また、野生種の利用においては、栽培品種群へのその体系的な導入法が十分に理解されていなかった。そのため野生種利用に著しい時間が要求されたり、敬遠されたりしてきたが、近年になり、次に述べるような多くの育種への実用的知見が得られており、これらを生かした育種への利用を以下に解説してゆく。

2. 野生種の利用および二倍体レベルでの育種操作

ジャガイモの遺伝資源は多様である。近縁種の地理的分布は北米の中西部から南米のチリまで幅広く存在する。気候的にも、南米の海岸砂漠、アリゾナやメキシコの乾燥地帯から、アンデスの熱帯高地、アマゾン上流の亜熱帯地域と多様な生息域があり、それらにあわせて約200種が存在している(Ross 1986)。野生種についての分類学的詳細は、Ross (1986)等に引用されているHawkesやOchoaらの文献を参考にされたい。

これら近縁種は、二倍体から六倍体まで異なる倍数性種からなっている。特に、栽培種には二倍体から五倍体までが認められており、これらの多くは、ペルーやポリビアを中心としたアンデス高地で栽培されており、幅広い品種が目的に応じて利用されている。これは、似たような特性しか持たない欧米や日本の品種とは好対照である。特に二倍体と四倍体の栽培種は、バレイショの品種改良に使われてきた。二倍性野生種は上記近縁種のうちの約70%を占め、これらの多くは、二倍性栽培種群と直接交雑できる。倍数体の野生種も、*S. demissum* (6x)や*S. stoloniferum* (4x)のように、例は少ないが抵抗性育種に使われてきたものもあるが、煩雑な倍数性操作と選抜のため利用が敬遠されている。

これら野生種では、病虫害抵抗性、耐冷性や耐霜性等の異常環境耐性の面で、既存の四倍性栽培品種のものより、はるかに優れているものが沢山ある。また、近縁の栽培種には、赤、オレンジや紫の色素を持ち、これらが機能食品として用いられる可能性もある(Brownら1993, 石井ら1996)。近縁野生種には、例えば、疫病、青枯病、シストセンチュウ、ネコブセンチュウ、ウイルス病(PLRV, PVY, PVX等)、ジャガイモガ等病虫害への高いレベルの抵抗性が挙げられる。また、腺状毛(glandular trichomes)のように、幅広く害虫に対して防御能力を持つ

形質を備えている近縁種もある(Bonierbaleら1994)。野生種由来の代表的抵抗性形質は、Ross (1986)を参考にされたい。

上記のような有用な野生種の多くは二倍体である。先に挙げたように、二倍体レベルでの交雑および選抜は、四倍体レベルに比べて、遙かに関与する遺伝様式が単純である。それゆえ、二倍体で抵抗性を備えた有用な野生種系統と栽培系統との種間雑種を育成し、幾つかの異なる抵抗性や他の農業形質を兼ね備えた系統を選抜することや、量的形質の選抜は、四倍体レベルよりも非常に有効である(Watanabeら1995a, b, 1996a, b)。また、アルカロイド等の毒性物質も、二倍体レベルで早期にかつ比較的容易に、その含量を指定安全値域に落とすことができるので、これも利点である。そして、バレイショ近縁種には、次に述べるようないくつかの特徴的生殖生理機構が存在することが知られている。それらは種の分化に深く関わっていると同時に、多くの二倍性の野生種を利用する上で重要な要素であり、これらによって、四倍体の品種改良の基盤としての二倍体での育種が可能になったと言って過言ではない。

まず第一に、EBN (Endosperm Balanced Number)があげられる。これは、種間交雑の成否を決める重要な要因のひとつである。EBNは、遺伝形質であり、同じEBN値を持つ種同士では、倍数性の違いがあっても交雑が成功する。異なるEBN値の種間では、同じ倍数性であっても、胚乳が生長停止することにより胚の生長が止まり、交雑が難易あるいは不稔となる。このEBN情報によって、種間交雑の成否が推測できるようになり、野生種利用を促進するのに役立っている。また、トマト等においても、この概念は適用でき、幅広くナス科作物の交配の推測に応用できる可能性がある(Carputoら1999)。EBNの原理の詳細は、Peloquinら(1989)に引用されているHanne-manらの著作を参照されたい。

第二には、異なる倍数体間、特に二倍体と四倍体での交雑を可能にする全数性の配偶子の存在がある。これは、次の章で詳細を述べたい。

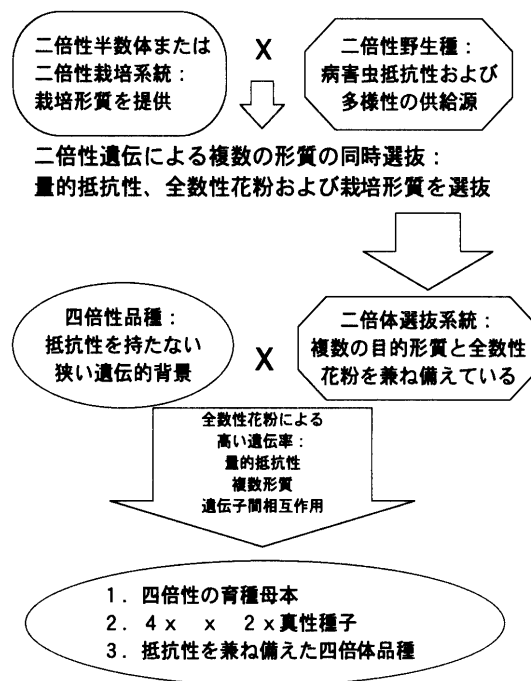
第三には、四倍体から二倍性の半数体が容易に作出することができることである。特定の二倍体遺伝系統を花粉親として、四倍体に交雑すると、処女単為生殖が起こり、母本の半数体が作出できる。また、花粉や葯培養によっても二倍性の半数体は作出できるが、半数体の活力は、処女単為生殖由来のものの方が強いようである。これら二倍性の半数体は、四倍体栽培品種の遺伝形質を二倍性半数体系統で維持しつつ、野生種由来の有用形質を取り込むために重要な意味がある。また、これら半数体は四倍体の特定形質の遺伝を解析するのに役立つ一方、育種に利用する際には半数体化に伴う自殖弱性に注意しなければいけない(Kotchら1992)。なお、半数体の詳細については、Janskyら(1990)を参考にされたい。

従来は、上記の二倍性野生種が直接四倍体ジャガイモ

品種に交雑されていたが、交雑の難易な点や後代での複雑な四倍性遺伝のため、育種作業は緩慢としていて、かなりの時間を要してきた (Ross 1986)。しかし、前記の生殖生理機構の知見が十分に集積されたことによって、二倍体レベルでの野生種由来の有用遺伝子の導入および育種が提唱され、実用化されてきた。その研究経過や総論については、Peloquin ら (1989) および Watanabe ら (1995a) を参考にされたい。二倍体野生種を利用する作業過程の一例を、第1表および第1図にあげる (Watanabe ら 1995d)。これは、あくまでもすべての作業が効率よく進んだ場合であるが、多くのケースでは、抵抗性の選抜等により時間が割かれ、これが全体のプロセスを遅らせる主な原因になる。野生種由来の高い抵抗性を持つ中間母本を育成するのは野生種から始めても3-5年で十分であるが、従来の育種法による主品種育成にはより長い年月と努力が要されることをここに銘記しておきたい。

第2表および3表には、二倍体育種系統間の交雑から得られた実生集団での抵抗性の選抜効率の一例を挙げてみた (Watanabe ら 1996b)。33 交配組合せの実生集団を育成し、真正種子由来の 990 個体について各種検定を行った。第2表には全数性の配偶子の選抜についてあげた。アセトカーミン染色により、640 系統中 350 系統において全数性花粉の存在が認められた。全数性花粉粒の頻度は

個体により変異があった。全数性の卵核については、4倍体を花粉親として二倍体に交配して試験を行った。108の試験個体内、8系統において全数性の卵核の発生が認め



第1図. 二倍体野生種を使った遺伝資源利用法の典型例 (渡邊 1994 よりの改訂)

第1表. 二倍体ジャガイモ遺伝資源利用に関する作業過程の代表例 (Watanabe ら 1995d).

初年	二年目	三年目	四年目	五年目
1) 野性種での目標 (抵抗性) 形質の選抜	1) 二倍性 F ₁ 雑種の実生集団の育成	1) 予備選抜固体群の抵抗性評価	1) 特性抵抗性の評価を継続	1) 4x x 2x による育種用種子の大量増殖
2) 半数体の作出および選抜	2) 実生集団での、稔性、全数性配偶子、塊茎概様、および目的形質に関する予備的選抜; 主に悪い系統の淘汰	2) 全数性配偶子の評価およびそれによる四倍体との交雑率の試験	2) 4x x 2x 交雑による四倍性後代の試験的作出とその抵抗性の予備的評価	2) 4x x 2x 実生集団での選抜のためのいも増殖; 四倍体での育種へ移行
3) 選抜半数体あるいは既成の二倍体育種系統と野性種選抜系統間の交雑	3) 実生集団からいも個体集団の育成/いもを各種抵抗性評価のために繁殖	3) いも形質の一般的评价; 適応性検定	3) 適応性検定; 一般形質の継続評価/選抜二倍体中間母本の無病化	3) 選抜二倍体を使ってより目標形質を集積するための新しい二倍体個体群の育成

第2表. 二倍体実生集団での全数性配偶子の選抜効果. (Watanabe ら 1996b).

全数性配偶子	実生集団数	全数性配偶子を有する実生集団	測定個体総数	不稔個体数	正常配偶子のみを作る個体数	全数性配偶子を作る個体数
花粉	33	32	640	37	253	350
卵	30	13	108	0	90	18

第3表. 二倍体レベルでのジャガイモ遺伝資源利用の一例, 量的抵抗性の高い選抜頻度. 四倍体での育種操作では通常2万から10万の実生個体を目的形質の選抜に必要とするが, 二倍体では, 非常に小さな実生集団(990個体からなる33実生集団)でも十分に複数形質が選抜できる(Watanabeら1996b).

抵抗性	実生集団総数	評価個体総数	抵抗性を持つ実生集団数	抵抗性を持つ個体数(%)
青枯病	33	383	4	8(1.0)
ジャガイモガ	29	179	8	12(6.2)
ネコブセンチュウ	31	247	10	17(6.9)
葉巻病(PLRV)	30	137	7	11(8.0)
PVY	30	137	28	126(92.0)

られた。第3表では、青枯病、ジャガイモガ、ネコブセンチュウ、ジャガイモウイルスY(PVY)、および葉巻病(PLRV)について抵抗性の検定を行った。総計147系統において、上記抵抗性形質のいずれかが認められた。ネコブセンチュウ、青枯病、およびジャガイモガへの抵抗性はすべて量的形質であり、組み換え操作や選抜が相対的に難しいにもかかわらず、複数の抵抗性個体が得られていることを強調しておきたい。四倍体レベルでのバレイショ育種では、通常数万に及ぶ実生個体群から有望系統を選抜するが、それとは対照的に二倍体レベルでは、非常に小さな集団でも十分に目的形質を備えた系統を選抜することが可能である。これは、二倍体レベルで、四倍体レベルに比べ容易に染色体間の組み換えがおこり、任意に染色体操作が行われうることを示唆するものである。

以上の様な過程を経て、国際ポテトセンターから数多くの二倍体中間母本が育成されてきた(Watanabeら1991c, 1994b, Watanabeら1999a, b)。これらは、亜熱帯および熱帯を中心とした特に発展途上国において、育種素材として使われている。

3. 全数性配偶子の細胞遺伝学

ジャガイモ近縁野生種では、全数性配偶子は花粉および卵ともにおいて一般的に見られる生殖形質である(Watanabe・Peloquin 1989, 1991, 1993, Werner・Peloquin, 1990)。これらは、主に減数分裂時の異常に起因することが知られている。

全数性の花粉については、主に3種の異なる減数分裂時の異常が関与しており、これらは異なる男性主導遺伝子によってそれぞれ単純遺伝することが知られている(MokとPeloquin 1975)。これら遺伝子は、減数分裂において花粉の染色体数を非還元にする。一方、遺伝的には、遺伝情報はある程度還元されるので、非還元性花粉と呼ぶのは明らかに適切ではない(Mok・Peloquin, 1975, Peloquinら1989, Watanabeら1991b)。また、これら遺伝子群は、修飾遺伝子および温度等環境要因とからんで発現

の度合は多変である(Watanabe・Peloquin 1989)。特に、これらのうち、*ps*遺伝子(parallel spindles)は栽培種をも含めた多くの近縁野生種に高い遺伝子頻度で存在することがわかっている(Watanabe・Peloquin 1989, 1991)。これは、二倍体で全数性の花粉を選抜する際に大きな利点である。

二倍体選抜系統から四倍体対象品種への目標形質の導入は、主に全数性花粉を使った倍数性操作によって行われる。特に、*ps*遺伝子由来の全数性花粉は二倍体において発現頻度が高く、効率よく選抜できるので、目的抵抗性および全数性花粉を持つ二倍体系統を選抜することは容易である。遺伝的に減数分裂の第一分裂還元由来に相当の全数性花粉(FDR, First Division Restitution 2n pollen)は親二倍体個体の遺伝的組成の約80%を後代に伝達できる(Watanabeら1991b)。*ps*遺伝子は細胞遺伝学的には、減数分裂第2分裂で異常を起こすが、遺伝的機作は、FDRに相当する(Mok・Peloquin 1975, Watanabeら1991b)。また、FDRは、遺伝的に多くの利点を備えているために、二倍体有望系統がこれを備えているのは、特に量的形質に関する集団育種および進化学上重要な意義がある(Watanabeら1991b, 1992b, 1999a)。従って、上記第1章で述べたジャガイモ育種に関する幾つかの障害は、全数性花粉の使用によってある程度は、解消できる。これは、全数性花粉を生産する二倍体系統の望ましい超優性や雑種強勢を、かなり元の状態で(遺伝的還元が少ない)全数性花粉が、 $4x \times 2x$ 交雑において後代に伝達できるからである。よって、交雑世代における選抜効率は $4x \times 4x$ 交雑に比べて高くなる(Watanabeら1991c, 1992b, 1999a, b)。

4. 全数性花粉による倍数性操作および量的形質の四倍体への導入

第1図に、二倍体から四倍体への形質の導入のプロセスを示した(第2表も参照されたい)。第4表に、FDR全数性花粉を使った倍数性操作による、二倍体から四倍体系

表4. $4x \times 2x$ 交雑における二倍体抵抗性系統から四倍体ジャガイモ品種への量的抵抗性の伝達/選抜頻度。
 $4x \times 4x$ では選抜頻度は往々にして5%以下であるが、 $4x \times 2x$ では相対的に選抜頻度は高い(Watanabeら1999aからの要約)。

抵抗性形質	実生集団総数	評価個体総数	抵抗性を持つ実生集団数	抵抗性を持つ個体数 (%)
ネコブセンチュウ抵抗性(RKN)	15	610	11	124(20.3%)
青枯病抵抗性(BW)	14	720	14	279(38.8%)
疫病+BW	7	53	3	14(26.4%)
BW+RKN	7	53	1	1(1.9%)
RKN+glandular trichomes	1	25	1	14(56%)

統への量的抵抗性の形質伝達頻度の例をあげる(Watanabeら1999a)。従来の $4x \times 4x$ の交雑においては、親となる抵抗性系統の肝心の抵抗性の程度が低いあるいは抵抗性自体が存在しないこともあって、その後代では最大でも数%の抵抗性個体が認められたにすぎなかった。第4表に挙げた形質に関しては、FDR全数性花粉利用による $4x \times 2x$ 交雑では平均でも約10%の抵抗性後代が認められた(Watanabeら1991c, 1992b, 1999ab)。また、 $4x \times 2x$ 交雑によって、複数の量的抵抗性を同時に遺伝させ、量的抵抗性形質を複数持ち合わせる後代を高い頻度で選抜できることも示されている(第4表, Watanabeら1999a)。抵抗性個体の頻度が育種作業のすべてを決めるわけではないが、多数の形質に着目しなければならない品種改良でも、実生集団の大きさには、圃場、資材や労力の関係から展開できる限界があるので、抵抗性を持つ個体頻度が高くなることによって、少しでも有効に、実生集団を選抜してゆけるのではないかと考えられる。

第4表に挙げられている形質は、だいたい5-6の量的遺伝子座が関与していることが、育種上の経験から考えられている。また、疫病のように主導遺伝子も存在している場合があり、主導遺伝子の効果と量的遺伝子群の効果を識別することが難しく、これまでは遺伝解析が容易に進んでこなかった。一方、一部ではあるが、全数性配偶子の遺伝的機作から推定される抵抗性後代の頻度と実測値を照らし併せて見ることによって、量的遺伝子座の数を推定することはできる(Watanabeら1991c, 1999a)。これは、育種が単なる賭け事的確率論と経験に基づくだけでなく、全数性配偶子の利用によって抵抗性を持つ後代の頻度の予測ができることを示唆するものである。また、昨今分子マーカーによる量的形質の特徴化が進んでいるので、これと全数性の配偶子の遺伝的作用を考え併せることによって、より正確に、選抜集団の大きさと抵抗性後代の頻度を定める事ができ、育種操作を容易にしていけるであろう。これとは別に、環境因子との兼ね合いでの遺伝率も、問題となるが、これについてはいまだに、さまざ

まな形質について、総合的な情報はなく、今後QTL解析等により、総合的理解が深まってゆくことを期待したい。

ところで、細胞質遺伝因子が形質発現に関与している時には、全数性の卵の機能を使う必要がある。しかし、高い頻度の $2n$ eggsを作り、 $2x \times 4x$ 交雑において後代を作る2倍体抵抗性中間母本は未だに少ない(Ortiz・Peloquin 1991)。例えば、ジャガイモガ抵抗性発現には細胞質因子が関係していると考えられており(Watanabeら1999a, c)、このような場合には、2倍体の抵抗性系統で $2n$ eggsを生産できる個体が望まれる。一方、全数性配偶子がどうしても使えない場合は、対処法として、*in vitro* somatic doublingが使用できるが、体細胞倍加による自殖弱勢があらわれる可能性が大きい(Orrillo・Watanabe 1995, Watanabeら1999c)。

5. 倍数性野生種の利用法開発および中間母本の育成

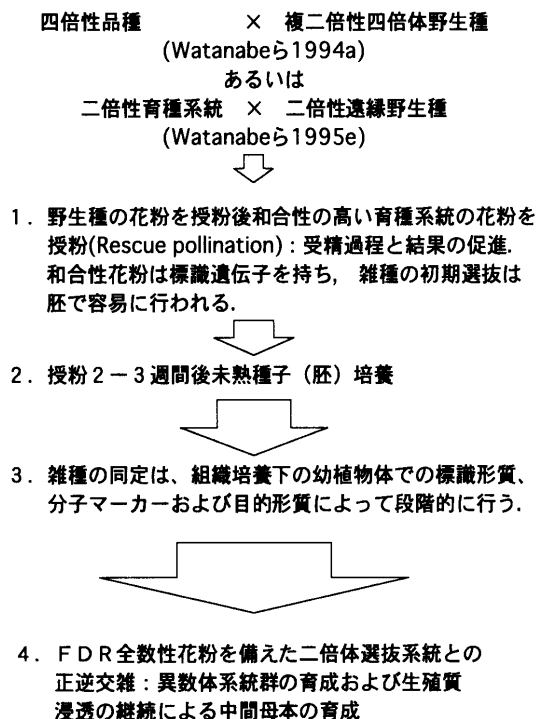
バレイショ近縁野生種には、複二倍性倍数体種(disomic polyploid wild species)が存在する(Watanabe・Orrillo 1994)。これらは、コムギのように倍数体であるが、二倍体と同じ様な遺伝様式を示し、多くの二倍体種が自家不和合性であったり、栽培四倍体が他殖可能であったりするのは異なり、自殖性である。disomic tetraploidの代表種の*S. acaule*や*S. stoloniferum*は、PVX, PVY, PLRV等ウイルス病、疫病、害虫への優れた抵抗性を備えている事がよく知られている(Iwanagaら1991, Watanabeら1991a)。またdisomic hexaploidの*S. demissum*は疫病への抵抗性の供給源として用いられてきた。これらは、バレイショ育種のために古くから注目されてきたが、特徴的な生殖生理および遺伝的性質のため、非常に非効率的な利用過程で使われてきた。これまでに、二十年近くかかって、PVYおよびPVXへの高度の単一優性抵抗性遺伝子が多くの四倍体中間母本に導入されてきたことをその一例としておく(Ross 1986)。特に、複二倍性四倍体野生種の利用についての難点は以下に起因する。

1) 四倍体栽培種とは異なる EBN 値のために四倍体栽培種とは交雑ができないことや、2) 二倍性栽培種や野生種とは交雑が可能であるが、後代は三倍体となり、不稔性のため複雑な倍数性操作を経て数世代のちにしかひきつづいての利用ができないことなどが問題点になるであろう。また、*S. demissum* のような複二倍性六倍体種については、同質四倍体の栽培種と直接交雑可能であるが、野生形質を取り除くための戻し交雑に数世代かかり、かつ選抜集団が巨大になる欠点がある。

筆者らは、最近のジャガイモ遺伝学の知見を利用して、これら複二倍性倍数体野生種をより効率的に使う過程を提案してきた (Iwanaga ら 1991, Watanabe ら 1992a)。その方法の概略を第 2 図に示す。この方法によって、初めての複二倍性四倍体の *S. acaule* と同質四倍体栽培品種との F₁ 雑種が、著者らによって作出された (Iwanaga ら 1991)。第 2 図による disomic tetraploid 野生種の利用法には次の様な利点が考えられる (Watanabe ら 1992c, 1994a)。

- 1) 雑種一代は sesquiploid に相当し、多様な組み換えがおこる。これは、四倍性の品種が同質四倍体であることと disomic tetraploid の野生種が二つの異なるゲノムからなる複二倍性であることから考えられる。
- 2) 異数体等遺伝分析様材料が作出できる。
- 3) 戻し交雑が可能で、二倍性および四倍性両方の育種材料ができる。
- 4) 雑種一代および戻し交雑第一代でも十分な農業形質が認められる。

この方法によって、ここ数年で既に多くの中間母本が、*S. acaule* や *S. stoloniferum* を使って育成されてきた (Watanabe ら 1992c, 1994a, 1997b)。この方法によって、



第 2 図. Rescue pollination を用いた遠縁野生種の遺伝資源利用の例 (渡邊 1994 からの改訂)

disomic polyploid species が幅広くかつ従来に比べより効率的に利用されることが示唆された。RFLP や RAPD-STs 等のマーカーを適用することによって、よりの確に遺伝子浸透および育種作業が進められつつある (Shiranita ら 1999, Watanabe ら 1997b)。

6. 遠縁種間交雑の可能性

塊茎形成種とは相対的に遠縁な非塊茎形成種の二倍体野生種には、*S. brevidens*, *S. etuberosum*, *S. fernandezianum* 等がある。これらは、栽培品種や近縁種にない優れた葉巻病ウイルス抵抗性や軟腐病耐性があることが知られている。また、PVY 抵抗性のように栽培種や近縁種とは異なる非対立の抵抗性遺伝子を持っている場合があり (Kasai ら 1999a, Shiranita ら 1998, Valkonen ら 1995b, 1996)、遺伝子多様性を知り、育種に利用して行く上で重要である。これらは、遺伝的多様性を高めたり、抵抗性素材としての価値は多くあるが、しかし、ジャガイモ栽培種やその近縁野生種とは直接交雑せず、複雑な橋渡し交雑や細胞融合によってしかこれまでは育種材料が育成できなかった。このような作業過程のなかで確実に抵抗性を維持し、他の有用形質も同様に選抜して行くことは容易ではなかった。また、生殖質浸透の過程で抵抗性形質が弱まったりすることもあり、多くの育種家はこれら非塊茎形成種の二倍体野生種を敬遠してきた。

一方、最近になって、第 2 図と同様な方法で、二倍体栽培系統との初めての直接 F₁ 雑種が著者らによって作出された (Valkonen ら 1995b, Watanabe ら 1995c)。これら雑種には次の様な遺伝育種上の意義および可能性があると考えられる。

- 1) F₁ 雑種でのゲノム比が 1:1 であるため、RFLP 等分子マーカーによる遺伝子解析が容易にでき、これまでわからなかった多様な形質の遺伝様式が解明できる。
- 2) トマトの近縁野生種を含めた他の遠縁種との橋渡し交雑に使用できる (Carputo ら 1999)。
- 3) 従来の倍数性の細胞融合個体とは違い、二倍性の育種系統ができる。
- 4) 塊茎形成種と非塊茎形成種との根本的違いを二倍体レベルで分子遺伝学的解析ができる。
- 5) 細胞融合個体とは異なり、生物多様性条約 (Convention of Biological Diversity, CBD) やヨーロッパ諸国等で問題となっている GMO (genetically modified organisms, あるいは最近では LMOs と呼ばれている傾向がある: Living Modified Organisms) に関する規制を全くうけない (Watanabe ら 1995b, 1997a)。
- 6) 戻し交雑第 1 代で、花粉稔性の回復や塊茎形成が認められているので、これら非塊茎形成野生種の生殖交雑に基づく効率的な利用が可能になってきた。

著者らによる非塊茎形成種と栽培種との遠縁種間交雑の成功は、オランダをはじめとする EU 諸国における非塊茎形成種に由来する細胞融合個体の生物学的安全性に関

する法的規制を取り除いた。これによって、野生種利用への理解を飛躍的に進めただけでなく、細胞融合等で非効率であった生殖質浸透をより効果的に行うことができるようになった。基礎的な科学的知見の応用により、テクノロジーに振り回されない遺伝資源利用法を構築することは、バレイショに限らず多様な作物にあてはまることであると考えられる。

7. バレイショ分子育種:DNAマーカーの利用による育種操作の効率化と染色体操作

バレイショは他殖性の四倍体であることは先にも述べたが、倍数体である割には、ゲノムサイズは小さい。ゲノムサイズはおおよそトマトと同じで、一ゲノム($X=12$)あたり約0.7pgと作物のなかではイネと同様に小さい(Valkonenら1994a)。これは、染色体の物理的大きさにも反映し、異数体や染色体添加系統作出など、コムギやオオムギ類で行われている様な染色体操作は従来不可能であった(Watanabe・Orrillo1993, Watanabe1994)。一方では、RFLP, RAPD, AFLP等の分子マーカーの発達によって、バレイショでの染色体操作が可能となりつつある(Dodds・Watanabe1990, Watanabeら1995b, 1997a)。これは、野生種由来の有用遺伝子の栽培種への浸透や、育種操作上、常に難しい量的抵抗性の選抜に非常に役立つ。

特定のバレイショ分離集団について、シストセンチュウ抵抗性遺伝子 *HI* や PVX 抵抗性遺伝子 *Rx* 等の単一優性遺伝子の分子マーカーや、ごく一部であるが量的形質について、耐虫性の Glandular trichomes (Bonierbaleら1994) や疫病に関する量的抵抗性遺伝子群 (Leonards-Schippersら1994) の連鎖マーカー同定が報告されている。しかし、適用できるマーカーの種類や対応する形質はいまだに少なく、基盤的な研究と MAS (marker-assisted selection) への試用が必要である。分子マーカーに関する学術論文は沢山あるが、多様な育種集団や品種群を用いて、これらマーカーの汎用性を地道に試験し、育種的に有効であるか否かの蓄積が十分でないのが現実である。また品種選抜に際し、技術の簡易化やコストダウンも必要であり、これらの研究および開発はいまだ端緒であると考えられる。

著者らは、PVY (ポテトウイルス Y) 高度抵抗性遺伝子 *Ryadg* および PVA (ポテトウイルス A) 高度抵抗性遺伝子 *Raadg* について分子マーカー群を同定した (Hämäläinenら1997, 1998, Valkonenら1994b)。多様な2倍体および4倍体品種・系統群について、各種分子マーカーを用いて汎用性を試し、育種での選抜への開発を行った。

RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism: Shiranitaら1998), RAPD-STS (Randomly Amplified Polymorphic DNAs-Sequence Tagged Site: Shiranitaら1999), CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic DNA: Kasaiら1999a, Sorriら1999), SCAR (Sequence Char-

acterized Amplified Region: Kasaiら1999b)等のマーカーを作成し、精度の向上と作業の簡易化を目指した。SCARでは、日本品種を含む多様な品種群で100%抵抗性と感受性の判別ができるに至った。

まとめ

遺伝子工学によって異種生物由来の有用遺伝子を導入し、新品種を作出することは、バレイショでも行われ、北米ではすでに品種もできてきている (Watanabeら1995a)。特に、北米では特定形質の品種改良には、組み換え体技術を用いることが、バレイショでも主流となる印象がある。一方、バレイショには手つかずの多様な野生種遺伝資源が存在する。多変な病虫害や過酷な環境変異と戦いあるいは共存してきた近縁種遺伝資源の有用形質を、主に生殖交雑や遠縁種交雑の障壁を克服することによって、これら有用形質を使いこなすところに価値がある。また、野生種の利用は、遺伝および育種の効率の面だけではなく、生物学的安全性やそれに関わる法的規制および消費者の関心にも重要な意義がある。これまで上記に述べてきたように、遠縁種の利用法、全数性配偶子の利用や倍数性操作を適用し、分子マーカーや罹病診断キット等の新しい分子生物学的な知見を使うことによって、これまで敬遠されてきた野生種遺伝資源が有効に利用でき、理論と実践に即した品種育成に近づけるのではないかと考えられる。

また、これら野生種は、品種改良のための素材として使えるだけでなく、抵抗性遺伝子の供給源として、バレイショだけでなく多様な作物の品種改良に役立つと考えられる。バイオテクノロジー全盛で、遺伝資源の探索、評価、開拓および利用等一連の作業が、軽視されがちだが、従来育種で培ってきた手法、そしてこれらの弱点を強化する先端技術と遺伝資源の利用により、21世紀の需要に応じた品種が育成されてゆくことを期待したい。最後に、育種家の地道な努力と長年の経験が他の作物同様に重要な要素であることを明記しておきたい。一方、世界的に、このようなバレイショに長じた育種家が減少しており、新しい世代を養成する機関もなくなってきていることは、生物学的および技術的な要素以上に、深刻な問題になってくるのではないかと考えられる。そして、基礎的な研究を行う研究者も国際的に減少してきており、これまでの知見が失われてきている。知見を守り使っていくだけでなく、若い世代の人材養成も重要な課題である。

謝辞

一連の研究を行い発展させてゆくことに御支援を賜った多数の方々に、この場をお借りして深く感謝を申し上げます。学術振興会、未来開拓学術研究推進事業、植物の生物ストレス応答の解析とその利用、JSPS-

RFTR96L00603 (古澤プロジェクト)による多大な助成を賜り、ここに御礼申し上げます。

引用文献

- Bonierbale, M. W., R. L. Plaisted, O. Pineda and S. D. Tanksley (1994) *Theor. Appl. Genet.* 87: 973-987.
- Brown, C. R., C. G. Edwards, C. P. Yang and B. B. Dean (1993) *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 118: 145-150.
- Carputo, D., L. Monti, J. E. Werner and L. Frusciante (1999) *Theor. Appl. Genet.* 98: 478-484.
- Dodds, J.H. and K. Watanabe (1990) *Diversity* 6: 26-28.
- Hämäläinen, J.H., K. N. Watanabe, J.P.T. Valkonen, A. Arihara, R. L. Plaisted, E. Pehu, L. Miller and S. A. Slack (1997) *Theor. Appl. Genet.* 94: 192-197.
- , V. A. Sorri, K. N. Watanabe, C. Gebhardt, J. P. T. Valkonen (1998) *Theor. Appl. Genet.* 96: 1036-1043.
- 石井現相・森元 幸・梅村芳樹・瀧川重信・田原哲士 (1996) *日本食品科学工業会誌* 43: 887-895.
- Iwanaga, M., R. Freyre and K. Watanabe (1991) *Euphytica* 52: 183-191.
- Jansky, S. H., G. L. Yerck, S. J. Peloquin (1990) *Pl. Breed.* 104: 290-294.
- Kasai, K., Y. Morikawa, V. A. Sorri, J. P. T. Valkonen, K. N. Watanabe (1999a) *育種学研究 1 (別 1)*: 610.
- Kasai, K., Y. Morikawa, V. A. Sorri, J. P. T. Valkonen, C. Gebhardt and K.N. Watanabe (1999b) *Genome*: In press.
- Kotch, G. P., R. Ortiz, S. J. Peloquin (1992) *Genome* 35: 103-108.
- Leonards-Schippers, C., W. Gieffers, R. Schäfer-Pregl, E. Ritter, S. J. Knapp, F. Salamini, C. Gebhardt (1994) *Genetics* 137: 67-77.
- Mok, D. W. S. and S. J. Peloquin (1975) *Heredity* 35: 295-302.
- Orrillo, M. and K. Watanabe (1995) *Revista ALAP* 7/8: 76-85. (In Spanish)
- Ortiz, R., S. J. Peloquin (1991) *Euphytica* 57: 103-107.
- Peloquin, S. J., G. L. Yerck, J. E. Werner and E. Darro (1989) *Genome* 31: 1000-1004.
- Pineda, O., M. W. Bonierbale, R. L. Plaisted, B. B. Brodie, S. D. Tanksley (1993) *Genome* 36: 152-156.
- Ritter, E., T. Debener, A. Barone, F. Salamini, C. Gebhardt (1993) *Molec. Gen. Genet.* 227: 81-85.
- Ross, H. (1986) *Potato Breeding - Problem and Perspectives*. Verlag PaulParey, Berlin. 132p.
- Shiranita, A. Kasai, K., J. H. Hämäläinen, V. A. Sorri, J. P. T. Valkonen, C. Gebhardt and K. N. Watanabe (1998) *Breed. Sci.* 48 Suppl. 2: 240.
- Shiranita, A., A. Tsujikawa, K. Kasai, J. P. T. Valkonen, J. A. Watanabe, and K. N. Watanabe (1999) *育種学研究 1 (別 1)*: 609.
- Sorri, V. A., K. N. Watanabe, and J. P. T. Valkonen (1999) *Theor. Appl. Genet.* 99: 164-170.
- Valkonen, J. P. T., V-M. Rokka, and K. N. Watanabe (1998) *Phytopathology* 88: 1073-1077.
- , S. A. Slack, and K. N. Watanabe (1995a) *Ann. Appl. Biol.* 126: 143-152.
- , K. Watanabe, and E. Pehu (1994a) *Jpn. J. Genet.* 69: 525-536.
- , R. A. C. Jones, S. A. Slack and K. N. Watanabe (1996) *Plant Breed.* 115:433-438.
- , S. A. Slack, R. L. Plaisted and K. N. Watanabe (1994b) *Plant Disease* 78: 1177-1180.
- , ——, ——, M. Orrillo and K. N. Watanabe (1995b) *Plant Breeding*. 114: 421-426.
- , M. Orrillo, and K. N. Watanabe (1999a) *Breeding Science* 49: 53-61.
- , —— and —— (1999b) *Breed. Sci.* 49: 63-68.
- , —— and —— (1999c) *Pl. Biotechnol.* 16: 223-228.
- Watanabe, K. N. (1991) *Proceeding of Plan. Conf. on the Application of Biotechnology to Germplasm Enhancement of Potatoes*. International Potato Center (CIP). 135-140.
- (1994) *Potato Molecular Genetics*. In J. E. Bradshaw and G. Mackey (eds.), Chapter 10, *Potato Genetics*, CAB International, Wallingford, UK. 213-235.
- 渡邊和男 (1994) *ジャガイモにおける倍数性および染色体操作*. *育種学最近の進歩*. 35巻, 養賢堂. 104-109.
- Watanabe, K. N. (1998) *Potato Mini-White Paper*. Potatoes in Japan (Ed). Japan International Cooperation Agency (JICA) and Japan Society for Root and Tuber Crops. Version 1.4. Electronical version at <http://www.jsai.or.jp/~Jrt/>
- and S.J.Peloquin (1989) *Theor. Appl. Genet.* 78: 329-335.
- and (1991) *Theor. Appl. Genet.* 82: 621-626.
- and M. Orrillo (1993) *Am. Potato J.* 70: 543-548.
- and S.J. Peloquin (1993) *Genome* 36: 8-13.
- and M. Orrillo (1994) *Jpn. J. Genet.* 69: 637-643.
- and M. Iwanaga (1999) *Pl. Biotechnol.* 16: 7-13.
- , ——, and R.Freyre (1991a) *Proceedings of 2nd. Intern. Symp. Chrom. Eng. Plant., Univ. Missouri, Columbia, MO, USA, August 13-15, 1990*. 239-243.
- , S.J. Peloquin, and T. Endo (1991b) *Genome* 34: 28-34.
- , C. Arbizu and P. Schmiediche (1992a) *Genome* 35: 53-57.
- , H. EL-Nashaar, and M. Iwanaga (1992b) *Euphytica* 60: 21-26.
- , S. Vega and M. Orrillo (1992c) *Am. Potato J.* 69: 613-614.
- , M. Orrillo and A. M. Golmirzaie (1995a) *Euphytica* 85: 457-464.
- , J. P. T. Valkonen and P. Gregory, (1995b) *Use of Biotechnology Tools in Plant Protection, Genetic Re-*

- sources Management and Crop Genetic Improvement in Potatoes with a Special Reference to the Technology Transfer to Developing Countries. In: Altman, D. W. and K. N. Watanabe (eds.), Plant Biotechnology Transfer to Developing Countries. R. G. Landes Co., Texas, USA. 179-190.
- , A. M. Golmirzaie and P. Gregory (1997a) Chapter 10. Use of Biotechnology Tools in Potato Genetic Resources Management and Breeding. In: Watanabe, K. and E. Pehu 1997. (eds.) Plant Biotechnology and Plant Genetic Resources for Sustainability and Productivity. R. G. Landes Co., Georgetown, Texas, USA. 145-154.
- , M. Iwanaga, H. El-Nashaar and P. Jatala (1991c) Proceedings of the 2nd. Intern. Symp. Chrom. Eng. Plant., Univ. Missouri, Columbia, MO, USA, August 13-15, 1990. 128-132.
- , M. Orrillo, S. Vega, R. Masuelli and K. Ishiki (1994a) Theor. Appl. Genet. 88: 135-140.
- , —, S. Perez, J. Crusado and J. A. Watanabe (1996a) Breed. Sci. 46: 245-250.
- , Y. Tsujikawa, J. A. Watanabe, J. P. T. Valkonen & M. Orrillo (1997b) Breed. Sci. 47 Supple (2): 121.
- , M. Orrillo, M. Iwanaga, R. Ortiz, R. Freyre and S. Perez (1994b) Am. Potato J. 71: 599-604.
- , —, S. Vega, A. Hurtado, J.P.T. Valkonen, E. Pehu, and S. D. Tanksley (1995c) Genome 38: 27-35.
- , —, —, S. Perez, J. Crusado, A. M. Golmirzaie and J. A. Watanabe (1996b) Breeding Sci. 46: 327-336.
- , —, —, M. Iwanaga, R. Ortiz, R. Freyre, G. Yerck, S. J. Peloquin and K. Ishiki (1995d) Breed. Sci. 45: 341-347.
- Werner J. E. and S. J. Pelquin (1990) J. Hered. 81: 371-374.