

トマト ‘ファースト’ 種子へのイオンビーム照射によって誘発された短節莖突然変異体の生育肥大特性と遺伝様式

梶田 正治・湯浅 寿彦・村上 賢治
(応用植物機能学講座)

Growth Characters and Genetic Inheritance in Tomato cv. ‘First’ Mutant with Short Internodes Induced by Seed Irradiation with Ion Beam

Masaharu Masuda, Toshihiko Yuasa and Kenji Murakami
(Department of Applied Plant Science)

Tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) cv. ‘First’ mutants with short internodes grew vigorously. The number of leaves slightly increased and the shape of the leaves was similar to wild type. In inflorescence morphology, the number of flowers increased and the length of peduncle and pedicel were shorter. In fruit characteristics, weight per fruit, total yield, sugar and acid contents were similar to wild type. But a lot of malformed fruit set was observed in the mutant line, due to the number of locules and short length of the peduncle and pedicel.

The segregation ratio of the short internodes character fitted 3:1 of normal: short, hence it was considered to be controlled by a single pair of recessive genes.

Allelism with already known dwarf gene was examined by crossing with ‘Ailsa Craig’, which had a symbolized dwarf gene, *br* or *bu*. Thereby, it was revealed that *bu* and short internodes gene were in the same gene locus.

This mutant line has no negative effect on plant growth and fruit yields, but was unsuitable for use as fresh fruit by reason of malformed fruits.

These results indicated the possibility of breeding of a new cultivar with *bu* gene derived from ‘First’. Since the mutant with short internodes is derived from ‘First’, which is already a commercial variety with excellent characteristics, raising a new commercial variety with short internodes trait may not take a long time.

Key words : *bu* gene, ion beam, mutant, short internodes, tomato

緒 言

作物の突然変異育種においては、すでに実用の域に達している優良な固定品種の一層の改善を、収量・品質に関わる表現型をほとんど変化させることなく、ある特定の形質のみを変化させた個体として得ることも可能である。ここで言う特定の形質とは、誘発された表現型の遺伝形質ということになるが、変異の誘発には、これまでに集積された情報と材料の特殊性を考慮に入れた変異の予測性も重要な要素といえる。また、そこで誘発された突然変異体が直接に品種として成立しなくても、好ましい遺伝形質が誘発されると、それらは交配親として用いることができ、交配育種を行う上での優れた材料ともなりうる。最近、国際的にも自国の遺伝資源を確保する動きが強くなり、新しく遺伝資源を収集することが困難になってきていることから、常により好ましい遺伝資源の創生に努めて行く必要がある²⁾。

これまで、トマトではX線およびγ線などの放射線照

射や ethyl methane sulphonate (EMS) などの化学変異原処理によって多くの突然変異体が見出されているが^{1,3,4,7,8)}、農業的に有用な形質の固定は極めて少ない。最近、Masuda ら⁵⁾は、より広範な変異の作出を目指して‘ファースト’種子へイオンビームを照射し個体の生存率または有用変異体の誘発頻度からみて、Cイオンビームでは50Gy、Heイオンビームでは150~200Gyが適正線量であるとし、とりわけ50GyのCイオンビーム(220MeV)照射のM₂世代において短節莖突然変異(節間が短縮化した突然変異体—Fig. 1)を選抜した。固定種‘ファースト’は、多くの優良な農業形質を有し、古くから冬春トマトとして日本で高い評価を得てきたが、病害抵抗性を全く有さないことから、これに野生種の病害抵抗性を導入したF₁品種が育成され普及に移されてきた。ここで取り上げる短節莖は、整枝誘引にかかる労力の軽減を中心とした栽培管理全般の省力化につながる農業形質であると

Received October 1, 2004

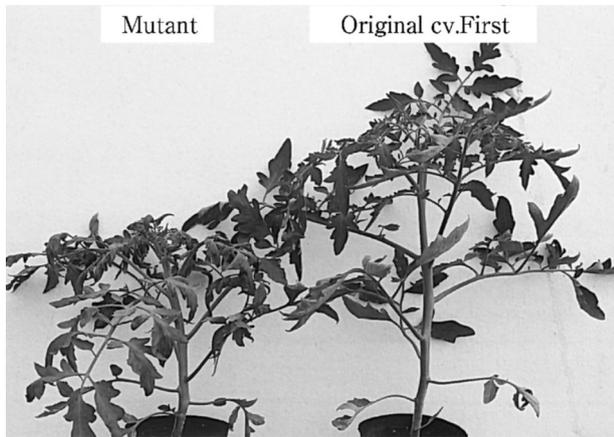


Fig. 1 Tomato 'First' mutant with short internodes.

いえる。このような観点から最近、生食用大玉トマト育種における短節間形質の利用についての報告もなされている⁶⁾。ここでは、イオンビームによって誘発された短節茎変異体の生育・着果・肥大特性と遺伝様式ならびに、既知の矮性遺伝子との相互交配によって短節茎を支配する遺伝子の同定を試みた。

材料と方法

植物材料

トマト「ファースト」純系種子に50Gyの¹²C⁵⁺イオンビーム(220MeV)を照射し、突然変異の誘発を試みた。その詳細はMasudaら⁵⁾によって述べられているが、短節茎系統作出の概略は以下のようである。イオンビーム照射は、日本原子力研究所高崎研究内のAVFサイクロトロンで行った。乾燥種子105粒を単位として5cm角のカプトン膜に挟み込み、一層にしてイオンビーム照射を行った。照射は深度制御種子照射装置の搬送台を用いて、1分×21回連続的に行った。加速粒子とそのエネルギーは、220MeVの¹²C⁵⁺イオンで50Gyとした。照射3週後に種子を直接バーミキュライトに播種し、生存した実生は第3本葉展開時に、直径12cmのポリポットに移植した。生存M₁個体のうち、開花株については自家受粉を行いM₂種子を得た。M₂種子は各系統20粒ずつ、2反復でバーミキュライトに播種し、実生段階で短節茎を選抜したものである。

本研究では、M₂世代で選抜した短節茎株において自家受粉を行い得られたM₃およびM₄個体およびオリジナル「ファースト」を供試した。

生育特性

2002年3月27日に、オリジナル「ファースト」および短節茎系統の種子をそれぞれ10粒ずつ、バーミキュライトを充填したトレーに播種し、人工気象器(25℃)で発芽させた。その後、育苗した苗の中から、比較的生育の揃ったものをそれぞれ6株選び、5月14日に、1個のプラ

ンター(80×26×20cm)に2株ずつ移植し、雨よけハウスに移した。なお、植物体は一本仕立てとし、灌水は標準濃度の大塚培養液1号、2号を適時施与した。

育苗段階での形態調査は、4月23日から5月28日までの間、1週間おきに茎長(子葉節から茎頂までの長さ)および展開葉数を測定した。6月11日に、子葉節から第3花房までの長さ、第3花房までの展開葉数、花数および果梗長(茎から第1果までの長さ)を計測した。花数と果梗長は、第1、第2および第3花房について測定した。

果実特性

オリジナル「ファースト」と短節茎系統の第1花房から第3花房において、自家受粉を行い、各花房4~5果として成熟したものから順次収穫し、果実重、心室数および種子数を測定した。

またHPLCによる果実の糖・有機酸含量の分析を行った。それぞれの個体の第1花房において、代表的な成熟果実を収穫し、縦方向に1/4に切断し、-20℃冷凍庫で凍結保存した。冷凍果実は15~25g秤量し、蓋つき瓶に移し、電子レンジで約80℃になるまで加熱し80℃に設定したウォーターバスの中で約3分湯煎した後、100mlの純水を加えた。

温室まで冷却後、内部標準液(10%エチレングリコールw/v, 100g/L, 1%酢酸10g/L)5mlを加えた後、ホモジナイザーで摩砕した。上澄み液をエッペンチューブに入れ、10,000回転で10分間遠心分離した。再度上澄み液をメンブランフィルターで濾過し、2mlのサンプル瓶に入れ、HPLCで分析した。HPLCはPU-980(JASCO)を使用し、糖分析にはRI-930(JASCO)、有機酸分析にはUV-970(JASCO)検出器を用いた。糖の分析条件は、カラム:Shodex KS-801, 温度:40℃, 移動相:H₂O, 流速:1ml/min, 有機酸の分析条件は、波長:445nm, カラム:SHIMADU SCR-102H, 温度:60℃, 移動相:過塩素酸(0.5ml/l)-pH約2.1, 流速:1ml/min, 発色試薬:0.2mM(0.125g/l)BTB+15mM(5.372g/l)Na₂HPO₄, 流速:1.5ml/minとした。

短節茎形質の遺伝様式

オリジナル「ファースト」と短節茎系統において正逆交配を行い、F₁種子を得た。2002年4月17日にオリジナル「ファースト」、短節茎系統およびF₁種子をバーミキュライト充填のプラスチックトレーに播種し、5月16日から6月5日まで5日毎に茎長と展葉数を調査した。

また、F₂世代における遺伝様式について調査するため、F₁種子の自家交配によりF₂種子を得た。その種子を9月2日にセルトレー(12×24穴)に播種し、第1および第2節間(第1節間は第1本葉と第2本葉の間の節間とする)の長さを指標に短節茎株の分離を調査した。

短節茎遺伝子の対立性検定

トマトの矮性遺伝子“br”および“bu”を品種「Ailsa

Craig' でカリフォルニア大学から入手した。これらの遺伝子は1956年, Rick と Butler⁹⁾によって記述されている。2003年2月12日, 'Ailsa Craig' のオリジナル種, その半矮性系統の *br*, および矮性系統の *bu* と, 'ファースト' のオリジナル種および短節茎突然変異系統 (M₄) を, それぞれの系統ごとに5粒ずつ, 市販の培養土を充填した直径6 cmのポットに播種した。苗は直径15 cmのポットに移植した後, 開花前にピンセットで除雄し, 開花時に相互交配を行った。交配様式は, 短節茎×*br*, *br*×短節茎, 短節茎×*bu*, *bu*×短節茎とした。

2003年11月4日, 上記の交配種子を *br* 系統および *bu* 系統と同時に播種し, 48日後に節間の短縮を指標にして写真撮影を行い, 相互の遺伝子の対立性を検定した。

結果および考察

生育特性

短節茎系統はオリジナル'ファースト'と比較して播種後11週目の茎長で約1/2に短縮化した。展開葉数は短節茎系統の方が1枚程度多かったが, 最大葉長には統計的に有意差は見られなかった。

短節茎系統の花房当たりの花数はオリジナル'ファースト'よりも多く, 果梗は短くなった。葉の形態には大きな違いは見られなかった。果梗長が短縮化し, 花数が多くなったために, 果実は密集状態を呈した。しかし, 上位花房になるにつれて花数は減少し, 果梗長も若干長くなり, 総じてこれらはオリジナル'ファースト'に近づく傾向にあった (Table 1)。

果実特性

果実収量および1果平均重には両者に違いは見られなかった。1果房平均1 kgを超え, 1果平均重は250 g以上と大果系トマトの特徴を有していた。果実の子室数は短節茎系統で若干多くなり, 子室当たりの種子数はファーストの1/2と少なかった。また, 果実の糖含量は短節茎系統ではオリジナル'ファースト'よりもやや低く, 有機酸含量はやや高くなる傾向にあったが, いずれも統計的に有意な差はなかった (Table 2)。しかし, 果実形態はオリジナル'ファースト'と比較して形状が歪になり, 裂果やキャットフェイスなどの奇形果の発生が多く見られた。

短節茎形質の遺伝様式

オリジナル'ファースト', 短節茎系統およびF₁ (短節茎系統×オリジナル'ファースト') の茎長伸長の経時的変化を Fig. 2に示した。短節茎系統×ファーストのF₁ 植物の経時的茎伸長パターンはオリジナル'ファースト'のそれに似た。正逆交雑F₁ (短節茎系統×オリジナル'ファースト', オリジナル'ファースト'×短節茎系統) の自家受粉によって得られたF₂において, 短節茎形質の分離を調査したところ, 正常型と短節茎型が3:1に分離したが, この場合, 短節茎系統を種子親としたときには, $\chi^2=0.67$, $P=0.41$ となり, 花粉親としたときには $\chi^2=0.13$, $P=0.72$ となり, 正常型と短節茎型の分離比の適合度は短節茎を花粉親にした方が高かった (Table 3)。

これらF₁およびF₂世代における形質発現の結果から, 短節茎形質は単一の劣性遺伝子によって支配されている

Table 1 Morphological characters in M₃ progenies of a tomato mutant with short internodes

Line	Shoot length ^a (cm)	Longest leaf (cm)	No. of leaves	Mean internode length ^b (cm)	No. of flowers in inflorescence			Length of peduncle and pedicel in inflorescence ^c (cm)		
					1st	2nd	3rd	1st	2nd	3rd
'First'	85.7a	35.3a	15.2a	5.7a	9.7a	9.3a	10.5a	5.8a	5.2a	7.0a
Mutant	45.9b	39.2a	16.3b	2.8b	18.3b	15.0b	13.8a	2.1b	3.5b	4.4b

Data were taken 11 weeks after sowing. (n = 6).

Different letters within columns indicate significant differences by *t*-test at $P = 0.05$.

^aMeasured stem length from cotyledonary node to apical bud.

^bStem length/number of leaves

^cFrom stem and peduncle junction to base of 1st fruit.

Table 2 Fruit characters in M₃ progenies of a tomato mutant with short internodes

Line	Total yield ^a per plant (g)	Average fruit weight (g)	No. of locules	No. of seeds per locule	Sugar concentration (g/100 g FW)		Acid concentration (g/100 g FW)	
					Glucose	Fructose	Citric	Malic
'First'	3526.0	264.4a	9.3a	21.1b	1.28a	1.42a	0.225a	0.023a
Mutant	3426.1	274.1a	11.8b	10.8a	1.09a	1.28a	0.296a	0.027a

Different letters within columns indicate significant differences by *t*-test at $P = 0.01$.

^aTotal fruit weight was taken from 1st to 3rd truss. No. of fruits per truss was restricted to 4 or 5.

ことが明らかになった。またM₂世代で短節茎系統を選抜して、自家交配を繰り返しM₃, M₄種子を得たが、茎長および節間長はオリジナル‘ファースト’に比べて全て短くなり、短節茎形質は完全に固定された。しかし、ファーストは、第1番花が鬼花となる特性を有し、この果実は大果で奇形となる。この形質は短節茎系統にもそのまま保持されていることから、この形質を実用的に利用するためには、まず、この形質発現を他品種との交配によって抑制すること（この形質は劣性形質であることは分かっている）、さらに、ミニトマトの小果で長花房の形質を導入することにより果房上での果実間の密集性が解消できるかどうか、などについて検討する必要がある。

短節茎遺伝子の対立性検定

劣性の矮性遺伝子をホモに持つ個体間で交配を行い、F₁での形質発現を確認することで、2つの矮性遺伝子が同一のものであるか検定することができる。すなわち、同一の遺伝子であればF₁世代ではホモ接合になり、矮性

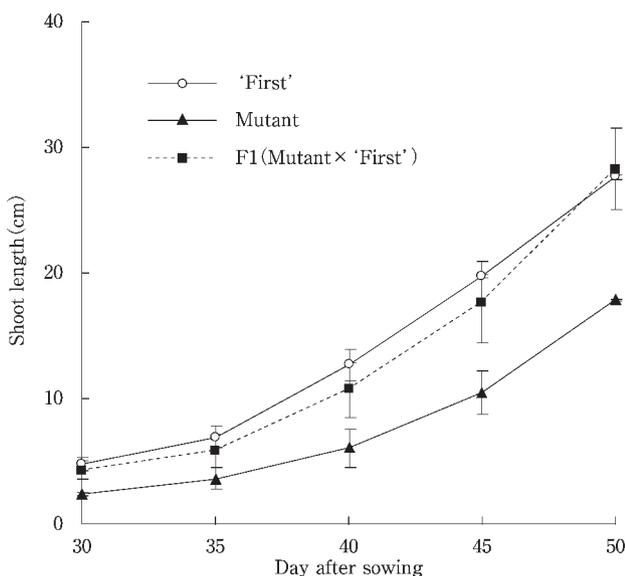


Fig. 2 Shoot growth of F₁ plant obtained from crossing original 'First' and mutant with short internodes. Seeds were sown on 10 Apr. Shoot length was calculated from cotyledonary node to apical bud. Vertical bars indicate standard deviation.

形質は発現するが、異なる遺伝子であればヘテロ接合になり、矮性形質は発現しない。短節茎系統と *br* および *bu* 遺伝子を有する 'Ailsa Craig' との相互交配によって、短節茎遺伝子が *br* および *bu* 遺伝子と同一であるかどうかを検定された。その結果、短節茎系統と *br* 個体を交配した F₁ は、草丈、節間長ともに *br* とファーストとを交配した F₁ (ヘテロ接合) 個体と類似しており、短節茎遺伝子は *br* とは異なることが明らかになった (Fig. 3)。一方、*bu* 個体と交配した F₁ は、*bu* とファーストとを交配した F₁ 個体に比べて節間の短縮化が明白であり、短節茎遺伝子は *bu* 遺伝子と同一の遺伝子である可能性が高く、同じ遺伝子座において突然変異が生じたものと考えられた。

要 約

短節茎系統は節間および果柄がオリジナル‘ファースト’の50%程度に短縮化したが、器官の分化や生長速度には差異が認められず、植物体は健全に生育した。また果実の収量や糖・有機酸含量においてもオリジナル‘ファースト’と差はなかった。しかし、子室数の増加による果形の乱れや、果柄の短縮化によって正常な肥大が妨げられ多くの奇形果が発生した。

本系統とオリジナル‘ファースト’との正逆交配を行った結果、F₁ではいずれの交配型においても植物体の形質は正常型となった。F₂世代では正常型と短節茎型の分離比が3:1となり、短節茎形質は単一の劣性遺伝子によって支配されていることが明らかになった。そこで、矮性遺伝子“*br*”および“*bu*”を品種‘Ailsa Craig’で入手し、相互交配により短節茎の遺伝子検定を行った結果、変異した遺伝子座は既知の *bu* と同じであることが示唆された。

以上のように、本研究で誘発された短節茎は大玉固定品種‘ファースト’の突然変異体であり、優れた遺伝形質を多数に有していることから、本系統の *bu* 遺伝子は実用品種育成を短期間で行うための育種素材として、有効に利用できるものと考えられた。

Table 3 Segregation of the mutant with short internodes in F₁ and F₂ generations

Cross	F ₁ phenotype	No. of segregated plants in F ₂ generation		χ^2 (3:1)	P
		Normal ^a	Mutant ^b		
Mutant(♀) × 'First'(♂)	Normal	147	43	0.667	0.414
'First'(♀) × Mutant(♂)	Normal	118	42	0.133	0.715

^aSeedlings similar to original 'First'.

^bSeedlings with short internodes.

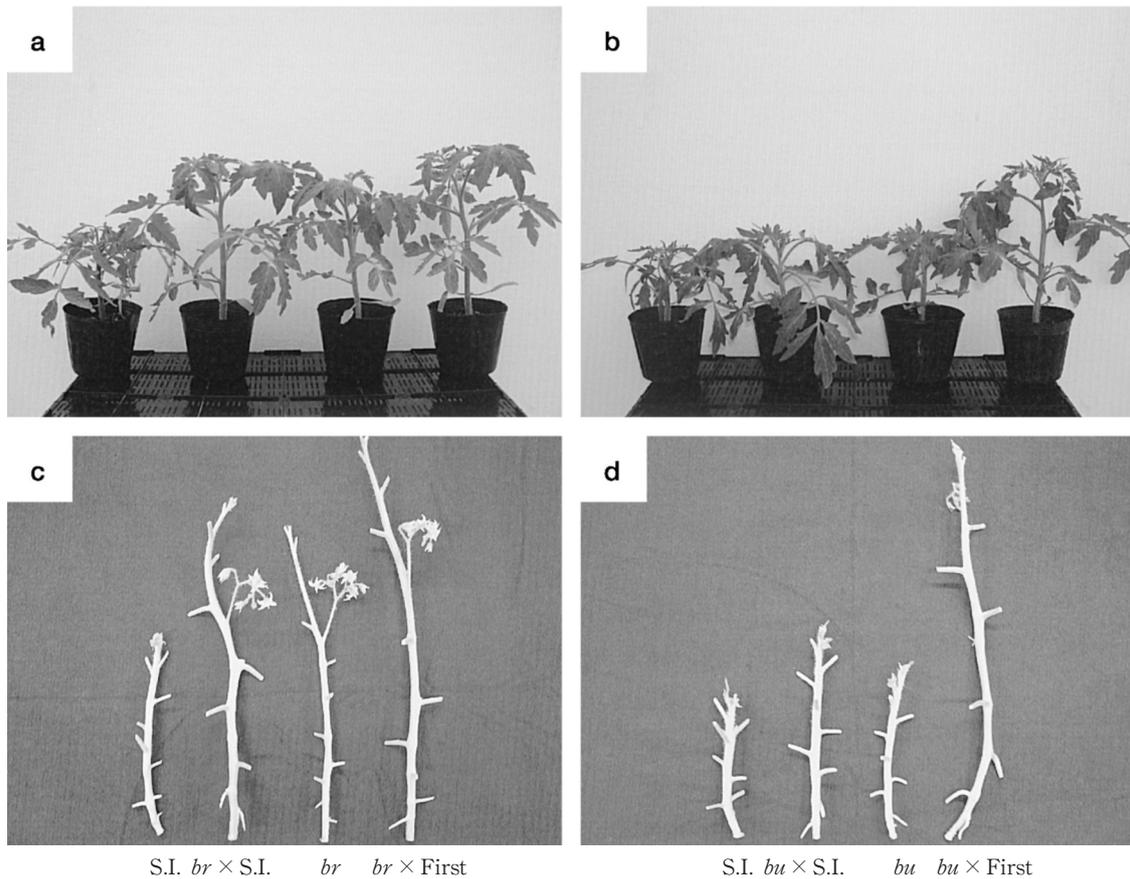


Fig. 3 Plant height (a and b) and internode length (c and d) in F_1 plants of $br \times S.I.$ (a and c) and $bu \times S.I.$ (b and d). S.I. indicates mutant with short internodes.

引用文献

- 1) Alexander, L. J., G. L. Oakes and C. A. Jaberg : The production of two needed mutations in tomato by irradiation. *J. Hered.*, **62**, 311-315 (1971)
- 2) 天野悦夫 : 放射線による作物の品種改良の世界的動向. *放射線と産業*, **67**, 4-10 (1995)
- 3) Hildering, G. J. and K. Verkerk : Chimeric structure of the tomato plant after seed treatment with EMS and X rays. *Rad. Bot.*, **5**, 317-320 (1965)
- 4) MacArthur, L. W. : X-ray mutations in the tomato. *J. Hered.*, **25**, 75-78 (1934)
- 5) Masuda, M., S. G. Agong, A. Tanaka, N. Shikazono, and Y. Hase : Mutation spectrum of tomato induced by seed radiation with carbon and helium ion beams. *Acta Hort.*, **637**, 257-262 (2004)
- 6) 松永 啓・吉田建実・佐藤隆徳・齊藤猛雄 : 生食用大玉トマト育種における短節間形質の利用. *園学雑*, **70**(別1), 244(2001)
- 7) Matsuura, R. M. and T. M. Currence : A male sterile and early ripening mutant from irradiation of tomato seed. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **80**, 515-521 (1962)
- 8) Montagno, T. J., R. D. Lineberger and S. Z. Berry : Somaclonal and radiation induced variation in *Lycopersicon esculentum*. *Envir. Exp. Bot.*, **29**, 401-408 (1989)
- 9) Rick, C. M. and L. Butler : Cytogenetics of the tomato. *Advances in genetics*, **8**, 267-382 (1956)