

# DNA マーカー選抜を利用した 効率的な水稻育種選抜システムの確立

川本 朋彦<sup>1)</sup>

キーワード：育種、QTL、水稻、選抜、直播栽培、DNAマーカー、低温苗立性

## 目次

1 緒論	91	3-7 まとめ	125
2 交配育種法による品種育成		4 低温苗立性に関与する QTL の効果	
2-1 抄録	93	4-1 抄録	126
2-2 緒言	94	4-2 緒言	126
2-3 良質・良食味の銘柄米品種の開発	95	4-3 準同質遺伝子系統(NIL)の育成と解析	126
2-4 酒造好適米品種の開発	99	4-4 まとめ	130
2-5 直播適応性品種の開発	104	5 DNA マーカーの育種選抜への利用	
2-6 まとめ	111	5-1 抄録	130
3 低温苗立性に関する QTL 解析		5-2 緒言	131
3-1 抄録	112	5-3 DNA マーカー選抜による 準同質遺伝子系統(NIL)の育成	131
3-2 緒言	112	5-4 DNA マーカー選抜を利用した 効率的育種選抜システム	136
3-3 Maratelli/あきたこまち後代 F <sub>3</sub> 系統群 を用いた低温苗立性の QTL 解析	113	5-5 まとめ	139
3-4 Maratelli/あきたこまち後代 F <sub>3</sub> 系統群 を用いた低温発芽性, 低温伸長性の QTL 解析	116	6 総合考察	139
3-5 Italica Livorno/あきたこまち後代 F <sub>3</sub> 系統群 を用いた低温苗立性の QTL 解析	120	7 謝辞	141
3-6 Italica Livorno/あきたこまち後代 F <sub>3</sub> 系統群 を用いた低温発芽性, 低温伸長性の QTL 解析	122	引用文献	142
		Abstract	145

## 1 緒論

秋田県は全国屈指の米所であり、稲作は秋田県農業の根幹と位置づけられている。良質米品種の導入や開発にも積極的で、1977 年から再開された育種事業ではあきたこまちをはじめとするいくつかの良質・良食味品種が育成され、秋田県産米の声価向上に大いに貢献してきた。こうした中、年々あきたこまちへの作付けが集中し、2006 年には水稻作付け全体の 87.7 % を占め、大きく偏った作付けとなっている(秋田農政事務所調べ)。一方、米価は下降傾向にあり 2005 年産あきたこまちの指標価格は 15,118 円と 1996 年産の 19,602 円と比較すると 4,484 円も下落しており(全国米穀取引・価格形成センター資料)、ブランド力の優位性を維持できない状況にある。そこで、JA 全農

あきたでは需要に対応した品種構成によるバランスの取れた作付け体系を図ることとし、2009 年にはあきたこまちの作付け割合を 70 % とする目標を立てた。その実現のためにはあきたこまちへの作付け偏重を是正し多様なニーズに対応するための水稻品種のラインナップが必要であり、その開発が急務となっている。現在、秋田県では、開発が必要とされる品種の育種目標として(1)良質・良食味の銘柄米品種、(2)新形質米品種、(3)酒造好適米品種、(4)超多収品種、(5)直播適応性品種の 5 つを掲げ、水稻育種事業を推進している。

秋田県の農業の将来構想から、中でも省力化に適応できる品種の育成が強く望まれている。秋田県の農業就業人口は年々減少し、2005 年で 91,068 人と 10 年

※本論文は秋田県立大学大学院生物資源科学研究科審査学位論文(博士)を一部加筆修正したものである

<sup>1)</sup> 秋田県農林水産技術センター農業試験場

前の約 91 %、20 年前の約 68 %でしかない（農林業センサス）。また、農業就業人口に占める高齢者率が 2005 年は 59.3 %と年々増加しており（農林業センサス）、稲作の早急な省力化対策が必要である。そのため技術対策として、水稻経営への直播栽培の導入が有効であると考えられている。2006 年度に秋田県内地域振興局に設置した直播実証圃の成績から、直播栽培は移植栽培に比べ生産費が約 89 %、労働時間が約 62 %と大幅に削減されることが実証された（秋田県 2007）。このことから、直播栽培と移植栽培を組み合わせることにより、春作業で 6 日程度、秋の刈り取りでは 10 日程度作業期間が拡大できると試算され、水稻の規模拡大や経営の複合化も可能になる（秋田県 2007）。しかし、秋田県における直播栽培の普及率は極めて低く、2006 年度での直播栽培の面積は 507ha と水稻作付け面積全体の 0.54 %にすぎない（秋田県水田総合利用課調べ）。その原因の一つは春先の低温による出芽・苗立の不安定性にあり、既存の品種では克服できない問題である。従って、直播栽培を定着させるためには直播適応性品種の開発は不可欠であり（山本 1990）、このような品種の開発には低温での苗立性を改善することが重要である（堀末 1995）。

直播栽培における低温苗立性に関わる形質についての報告は多岐にわたり、低温発芽性（佐々木 1974）や生育初期の低温伸長性（Carnahan et al. 1972, Daivid and Peterson 1976, Li and Rutger 1980, Ogiwara and Terashima 2001）、苗腐病抵抗性（田中ら 1991）、中茎伸長性（勝田 1998）、土中出芽性（土壌還元抵抗性）（福田ら 1997、太田ら 2003a、山口ら 2007）、加齢による種子発芽能力の低下（Yamauchi and Winn 1996）などがある。

この中の低温苗立性について、堀末（1995）は日本品種内での変異が小さいため、この形質の改良には広範な遺伝資源の利用が不可欠であるとしている。低温苗立性の遺伝資源として Kasalath（Miura et al. 2001）、*Italica Livorno*（荻原 1993、Fujino et al. 2004）、*Arroz da terra*（Ogiwara and Terashima 2001）、*Ta Hung Ku*（太田ら 2003b）、阿波赤米（山口ら 2007）などの報告があるが、そのほとんどが、日本の栽培品種とは遠縁の外国稲や在来種である。このような遺伝資源を交配母本とし単交配により品種育成した場合、食味不良などの劣悪形質の随伴によって、後代は育成途中で棄却される場合が多く、現在、外国稲由来の直播適応性を導入した品種は普及に至っていない（堀末 1995）。随伴する劣悪形質を排除しつつ、有用形質のみを確実に導入するためには戻し交配が有効であるが（Harlan and Pope 1922）、低温苗立性のような正確な評価が困難な量的形質の改良について戻し交配を導入することは難しい。

近年、DNA の構造変異を検出する DNA マーカー

が開発されたことにより量的形質に関与する遺伝子座（QTLs : Quantitative Trait Locus）を同定することが可能となった（ Tanksley 1993, Yano and Sasaki 1997）。さらに、出穂期などの量的形質であっても、それを制御する複数の QTL の近傍にある DNA マーカーを指標とし、QTL を単独で有する準同質遺伝子系統（以降、NIL と呼ぶ。）の選抜が可能になってきている（Yano et al. 1997, Yamamoto et al. 2000, Lin et al. 2000）。このような DNA マーカーを活用すれば、低温苗立性のような量的形質であっても、これに関与する染色体を特定することが可能で、さらには、DNA マーカーを用いた系統選抜も可能になると期待される。

直播適応性に関連した QTL 解析の報告として低温発芽性（Miura et al. 2001, Suh et al. 2002, Fujino et al. 2004）、幼植物の低温枯死・萎縮抵抗性（Andaya and Mackill 2003）、土中出芽性（土壌還元抵抗性）（福田ら 1997、太田 2005）などがある。低温発芽性について、Fujino et al (2004) ははやまさり/*Italica Livorno* の後代において第 3、4 染色体上に計 3 カ所の QTL を検出しており、そのうち第 3 染色体上の QTL、qLTG-3-1 は遺伝子が単離され育種への利用が期待されている（藤野ら 2007）。また、土中出芽性（土壌還元抵抗性）について太田（2005）はどんとこい/*Ta Hung Ku* の後代を材料に第 2、5 染色体上に計 2 カ所の QTL を検出しており、平行して育成している系統の選抜に有効であるとした。一方、生育初期の低温伸長性は寒冷地の湛水直播栽培において最も苗立ち率に影響を及ぼす形質であり、ヨーロッパ品種などが有用な母本であるとする報告がある（Ogiwara and Terashima 2001）。佐藤ら（1999）は RFLP マーカーを用いて *Italica Livorno* と日本品種とを材料に QTL 解析を試みたが、多型頻度が低くヨーロッパ品種と日本品種間での QTL 解析は困難であることを報告している。

近年、遺伝子地図の作成には、RFLP（制限酵素断片長多型）に加え、SSR（単純反復配列）マーカー（赤木 2000、Akagi et al. 1997）や SNP（一塩基多型）マーカー（門奈 2004）など PCR 法で検出でき、かつ近縁品種間でも比較的多型を示す DNA マーカーが多数開発されている。特に SSR マーカーはその利用に関する情報環境の整備が進んでいる。イネでもこれまでコーネル大学を中心に多数の SSR マーカーが開発され（Akagi et al. 1996、Panaud et al. 1996、Chen et al. 1997、Temnykh et al. 2000、McCouch et al. 2002）、ゲノム解読の終了により現在では数千個ものマーカーが利用可能となっている。

ここまで述べてきたように DNA マーカー選抜は低温苗立性のような劣悪形質を多く持つ外国稲を遺伝資源とした場合、さらには複雑な遺伝様式となる量的形質を改良する場合に非常に有効であると考えられる。

さらに、これまでに多くの形質について DNA マーカーによるマッピングも進展してきている。しかしながら、このような DNA マーカーは実際の育種現場での選抜にはほとんど利用されていないのが現実である。その大きな理由として、限られた人員・予算の制約の中でコストと手間のかかるマーカー選抜は利用しにくいことがあげられる。マーカー選抜にかかるコストとして井辺ら（1999）は PCR マーカーの 1 つである CAPS マーカーを利用した場合、100 個体を 100 マーカーで選抜すると、最小で 701,000 円、最大で 1,352,000 円となり、さらに 5,000 個体を 2 マーカーで選抜すると、最小で 750,000 円、最大で 1,450,000 円と試算している。このような試算、あるいは人員、その労働時間と品種開発にかかる予算とを勘案すると、実際にマーカー選抜を利用するためには、遺伝子型解析の作業を最小限にした効率良い育種選抜システムの構築が不可欠である。

最初に、第 2 章では、秋田県農林水産技術センター農業試験場でこれまで交配育種により進めてきた水稻品種開発の取り組みと最近の育成品種について触れ、独自の育種戦略の構築と選抜法の改良が新品種の育成のためにいかに重要かを論ずる。さらに、直播適応性品種育成のための低温苗立性簡易検定を開発し、それを利用することによって直播適応性系統を育成したが外国品種の劣悪形質を随伴し実用性が必ずしも十分でなかったことから、新たな育種戦略の必要性を述べる。

そのため、第 3 章では外国品種が持つ低温苗立性のみを日本品種に導入し、その他の形質を排除する育種法を確立することを目指した。そこで、外国品種の Maratelli と Italica Livorno を材料に低温苗立性に関する QTL 解析をすることで低温苗立性に関与する染色体領域を明らかにするとともに、QTL を含む染色体領域を選抜する DNA マーカーの開発を行った。

第 4 章では、第 3 章で検出された QTL の効果を検証し近接する DNA マーカーの有効性を明らかにすることを目指した。そのため、QTL 領域を持つ NIL の遺伝子型と表現型との関係を解析し、第 3 章で見出された QTL 領域には低温での苗立性を高める作用があることを明らかにした。

第 5 章では、本研究で開発した DNA マーカーを実際に利用し、低温苗立性の QTL を持つ個体を選抜しながらあきたこまちを連続戻し交配することであきたこまちの低温苗立性に関する複数の NIL を育成する過程についてまとめ、この過程で得られた染色体構成の変化を基に、DNA マーカー選抜を利用した効率的育種選抜システムを提案する。さらに、このシステムを表現型選抜による従来法と比較することで、育種の効率化に効果があることを明らかにした。すなわち、寒冷地での直播栽培に不可欠な低温苗立性に優れるという形質のみを導入するための DNA マーカーを利用

した選抜システムを確立した。

、本論文は水稻育種に関して基礎から実際の品種育成までを含んだ総合的かつ包括的な研究であり、さらには、水稻育種法の新たな方向性を示すものである。

## 2 交配育種法による品種育成

### 2-1 抄録

交配育種法による品種育成のうち銘柄米品種の秋田 89 号と酒造好適米品種の秋田酒こまちの育成についてまとめ、初期世代から戦略的な特性評価を行うことの有効性を事例によって示した。さらに、直播適応性品種の育成では、低温苗立性簡易検定を開発して低温苗立性に優れる外国稲を選抜し、交配による日本品種への形質の導入と問題点についてまとめた。

良質・良食味の銘柄米について、秋田県農林水産技術センター農業試験場では育種事業を始めた当初から秋田県オリジナルのブランド品種の育成を目標とし、食味にこだわった選抜を続けてきた。その後、耐冷性、耐病性などの特性検定については検定法の改良と圃場規模の拡大、また、食味については物性および成分による多検体検定の導入により選抜の効率化を図り、2007 年には耐冷、耐病、安定多収で良質・良食味の秋田 89 号を新品種として登録出願するに至った。秋田 89 号は岩南 8 号/秋田 58 号後代から選抜・育成された中生の晩、やや長稈、中間型、良質、多収の粳種である。栽培上の欠点が少ないため作りやすく、既存の品種ひとめぼれに比べ多収である。玄米は千粒重が大きく大粒で粗タンパク質含有率が低い。品質、食味はあきたこまち並に良好である。

酒造好適米品種については、1988 年から秋田県農業試験場、秋田県醸造試験場、秋田県酒造組合の三者共同体制によって品種開発に取り組んできた。この中では、初期世代から酒造特性に重点を置いた選抜を行ってきたことが優れた酒造好適米品種の育成につながったものと考えられる。この酒造好適米品種開発の集大成として育成した秋田酒こまちが、2003 年に秋田県の奨励品種に採用されている。秋田酒こまちは秋系酒 251/秋系酒 306 後代から選抜・育成された中生のやや長稈穂重型の粳種で酒造好適米品種である。既存の品種美山錦に比べて短稈で倒伏に強く栽培しやすい。また、美山錦より玄米は大粒で外観品質に優れ、粗タンパク質含量が低い。心白発現が良好で精米特性、醸造特性が優れる。

低温苗立性の優れた直播適応性品種を育成することを目的とし、低温苗立性簡易検定の開発と遺伝資源の評価、さらにそれらを利用した系統育成を行った。低温苗立性簡易検定とは、乾籾播種した育苗箱を満水状態のコンテナに水没させ、冷水をかけ流しする方法である。低温苗立性簡易検定での草丈、葉齢、根長は

圃場直播栽培での出芽日数、苗立率との相関が高く、この方法が低温苗立性の簡易検定法として有効であることが示された。また、低温苗立性の遺伝資源として *Italica Livorno*、*Kakai203*、*Maratelli*、*Arroze da Terra*、秋系 467、S-101 が有望であることが示された。そこで、*Maratelli* と *Italica Livorno* を交配母本とし後代を低温苗立性簡易検定で選抜することで 15 系 2181 と秋系 580 の 2 系統を育成した。これらの系統は優れた低温苗立性を示し、外国稲の持つ低温苗立性を交配によって日本稲に導入することに成功した。しかし、2 系統とも玄米品質が極めて不良であるなど実用品種としては不十分であった。この原因として外国稲の持つ劣悪形質と低温苗立性とを分別して選抜できなかったことが示唆され、この課題を解決するために新たな育種戦略の構築が必要であると考えられた。

## 2-2 緒言

秋田県における水稻の交雑育種は 1931 年 (昭 6) ~ 1941 年 (昭 16) の第 1 次県単育種事業から始まる。この間に秋田 1 号から秋田 25 号まで育成され、これらの中から秋田 1 号、秋試 2 号、秋田 7 号が奨励品種に採用されている。第二次世界大戦によって秋田県での育種事業は中断された。この間、国及び指定試験地制度によるいわゆる農林番号系統が各県の奨励品種決定試験に義務的に配布されていたため、それらの中から優良品種を選出することに力を集中してきた。しかし、1960 年代後半に始まる米の生産過剰基調の中で 1970 年 (昭 45) には生産調整 (減反) が開始され、以降、各県 (産地) 独自のうまい米品種が求められるようになった。育種には長い年月と経費を要することから様々な議論があったが、県内の農業団体の要望を受けるかたちで 1977 年 (昭 52) から秋田県独自の育種事業が再開された (1985 畠山)。

育種事業再開から 7 年後の 1984 年 (昭 59) に県単育種初の成果として育成第一号のあきたこまち (秋田 31 号) が奨励品種に採択された。このあきたこまちが誕生してから 20 年以上になるが、今や全国的な品種として、秋田県産米の声価向上に大いに貢献している。また、あきたこまちの登場以来各地で銘柄米品種を目指した育種が開始され、産地間競争激化のきっかけとなっている。このような中、品種の果たす役割はますます大きくなってきているが、秋田県農林水産技術センター農業試験場では単に良食味品種であるということだけではなく、米作りの基本は生産現場にあるということを念頭に置いた育種を進めてきた。そのため、秋田県では、(1) 良質・良食味の銘柄米、(2) 新形質米、(3) 酒造好適米、(4) 超多収品種、(5) 直播適応性品種の 5 つを米の品種改良の柱として育種事業を進めている。

良質・良食味銘柄米は、主食である米として最も重

要な性質であり、消費者ニーズに合致したものである。秋田県で育成されたあきたこまちはその優れた品質・食味が徐々に消費者から認められ、全国的なブランド品種にまで成長した。その後、たかねみのり (1984 年奨励品種採用)、あきた 39 (1991 年奨励品種採用)、でわひかり (1994 年奨励品種採用)、めんこいな (1999 年奨励品種採用) などの良質・良品米が育成されてきた。

その一方で、米の需要を拡大するためにこれまで利用されていない新しい形質を持つ米や食用以外に利用される米の品種、いわゆる新形質米品種の開発も行ってきた。これまでに紫黒糯品種小紫と低アミロース品種淡雪こまちの 2 品種を育成した。小紫は玄米の表面に紫黒色の色素を有する糯品種であり、この天然色素を用いたお菓子や調理米飯への利用、ポリフェノールを多く含むことから機能性食品への利用が考えられる (松本ら 2006)。淡雪こまちはアミロース含有率が低く粳と糯の中間的な性質を持つ品種である。玄米は少し白く濁り炊飯米は強い粘りがあるため、主に冷凍米飯などに向くとされる。また、白米の 150 % の加水量にすることにより、炊飯の際の浸漬時間を短縮した早炊き米にも利用できる (大久ら 2007)。これら品種は山間地域も含め地域に根ざした特産的な品種として活用することにより、地域の活性化とこれらの加工を通じた地場産業の振興に貢献するものと考えられる。

また、米を原料とした日本酒は秋田が誇る製品であり、その原料である酒米に米所である秋田県のオリジナル品種を用いることでより地域特産化し競争力を高めることが期待される。良食味米と平行して酒造好適米新品種の育成に取り組み、秋田県初の吟醸酒専用の酒米として吟の精 (1992 年奨励品種) の育成を皮切りに、秋の精 (1999 年奨励品種)、美郷錦 (2001 年認定品種) を育成し、さらには集大成とも言える秋田酒こまち (2000 年奨励品種) の育成に至った。

さらに、超多収品種は国内の穀物自給率の低下に対する不安や飼料穀物の安定的生産に対する期待からその早期育成が望まれている。秋田県農林水産技術センター農業試験場でもヨネシロやアキヒカリなどを交配母本として籾数増加による超多収品種の育成を目指したが、既存品種の収量性を大幅に上回る品種の育成には至らなかった。これは、武田ら (1984) が指摘するとおり、これ以上の籾数増加を図っても過繁茂を引き起こしやすく収量向上には結びつかないためであると考えられた。そこで、玄米の大粒化によるシンクサイズ増加に着目し、大粒品種オオチカラを交配母本に超多収品種秋田 63 号を育成した。秋田 63 号は寒冷地において粒大の増加により飛躍的な収量増を達成した初めての品種であるといつてよい。また、大粒性の導入に伴う稈長の増加や穂数、一穂籾数の減少は全くみられず、稈長、穂数はトヨニシキと同程度、一穂当た

りの粒数はむしろトヨニシキより多い。収量性は極めて高く、既存の品種トヨニシキやあきたこまちに比べ標準的な施肥条件で約 20 %も多収である。また、土壌窒素供給量が少ない条件でも高い生産性を示し、窒素生産効率が高い新しいタイプの超多収品種である。

農家経営への直播栽培の導入は稲作の生産費削減や規模拡大などが可能となるため、直播適応性品種の開発が急がれている。そのためには秋田県のような寒冷地でも播種後速やかに出芽するような低温苗立性の導入が必要である。秋田県農林水産技術センター農業試験場ではこれまでにいくつかの低温苗立性に優れた外国稲を交配母本として用いるとともに低温苗立性の簡易検定法を開発し選抜を行ってきた。しかし、従来の特性検定、圃場選抜だけでは外国稲の不良形質を取り除くことは難しく、未だ実用的な系統の作出には至っていない。

本章では秋田県農林水産技術センター農業試験場で進めてきた水稻の交雑育種の成果として育成してきた代表的な品種を中心に育成経過や特性についてまとめるとともに、育成に導いた選抜技術の重要性について述べる。

### 2-3 良質・良食味の銘柄米品種の開発

育種事業再開から 2007 年現在までに銘柄米品種として一般主食用品種 6 品種、糯品種 2 品種を開発した。その中で、先述したとおり育成第一号のあきたこまちが全国的なトップブランド品種となり、県内ではあきたこまちへの作付け集中が進んだ。一品種への集中は気象変動や病害虫の発生に対して危険であるとともに、収穫作業などが重なって刈り遅れによる品質の低下を招いたり、機械の利用効率向上を妨げたりする。そこであきたこまちを中心とした早生から晩生までの良食味品種ラインナップの開発を目指してきた。具体的にはあきたこまち並の品質、食味を持ち、早生ではたかねみより並以上の耐冷性、中生から晩生はトヨニシキ並以上の耐病性と収量性を併せ持つような品種を揃え、一つの品種グループとして県産米全体のレベルアップを図るという方針で進めてきた。

このように銘柄米品種の育種目標は複数の形質が全て一定水準以上を求められる難易度の高いものである。これを達成するためには、できるだけ育種規模を大きくし、その中から精度の高い検定法で優良系統を選抜する必要がある。しかし、秋田県農業試験場（現秋田県農林水産技術センター農業試験場）が秋田市仁井田にあった 1999 年までは、耐冷性、耐病性などの特性検定については地理的条件や検定圃場規模の不足など障害が多く十分な選抜ができずにいた。また、食味検定についても食味官能試験が中心で多検体を検定する方法がなかった。そこで、特性検定については検定法の改良などで検定精度を向上させ、さらに秋田県

農業試験場が秋田市雄和に移転したのを機に圃場規模を拡大して若い世代からの選抜を可能にした。食味検定についても新しい機器を導入し多検体を簡便に検定することによって選抜の効率化を図った。

このように秋田県農業試験場（現秋田県農林水産技術センター農業試験場）では選抜手法に少しずつ改良を加えながら、育種目標の達成を目指してきた。このような方針のもとで育成された品種の一つとして秋田 89 号が挙げられる。秋田 89 号は、耐冷性、耐病性ともに強く栽培しやすいこと、収量性が高いことなどから安定多収が可能な良質・良食味品種である。

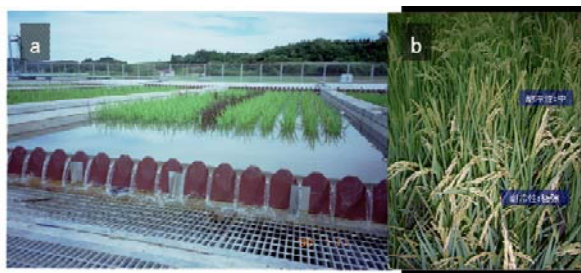
本節では選抜手法の改良の例を挙げて重要性を述べるとともに、その成果として育成された秋田 89 号について紹介する。

#### 2-3-1 選抜手法の改良

##### 1) 耐冷性検定

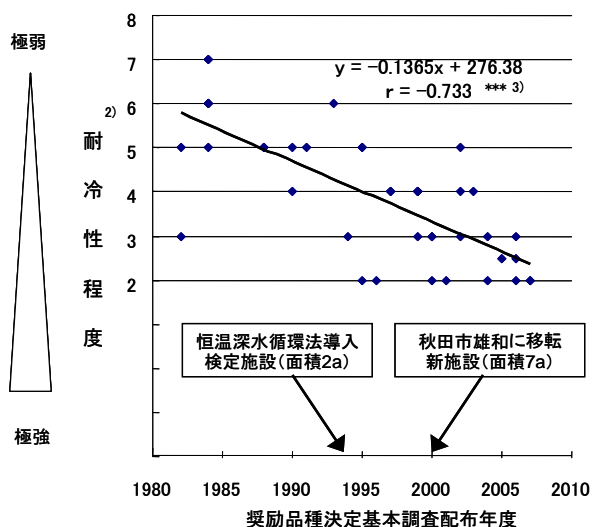
秋田県農業試験場（現秋田県農林水産技術センター農業試験場）の耐冷性検定は 1965 年の冷害を契機に地下水掛け流し圃場と 4 基の人工気象室が設置されたのが始まりである（秋田県農業試験場 1991）。地下水掛け流し圃場は浅水でしかも水温制御できなかつたため、検定精度が低かつた。また、人工気象室は温度制御は容易であるが多検定の検定には向かなかつた。そこで、1994 年に恒温深水循環法を採用した約 2a の耐冷性検定圃場を新設した。温度制御された水を循環ししかも深水にすることで、検定精度は飛躍的に向上し、ある程度の系統選抜はできるようになった。さらに、2000 年に秋田県農業試験場が秋田市雄和に移転してからはやはり恒温深水循環方式の耐冷性検定圃場を新設し（第 2-1 図）（佐藤ら 2000）、圃場面積を約 7a に拡大することで若い世代の系統選抜や雑種集団の個体選抜も可能にした。

第 2-2 図に秋田県農業試験場（現秋田県農林水産技術センター農業試験場）で育成し奨励品種決定基本調査に配布した一般主食用粳系統の耐冷性程度の推移を示す。配布系統の耐冷性程度は年次が増すごとに有意に強くなり、選抜手法の改良や検定圃場の規模拡大が耐冷性のレベルアップにつながっていることがわかる。



第2-1図 恒温深水循環法による耐冷性検定

- a 冷水掛け流し処理中の検定圃場  
 圃場規模 : 69m(横4.6m, 縦15.0m) × 8区画  
 冷水生産 : 空冷チラー(株式会社荏原製作所)による  
 水温制御 : 電動バルブが自動開閉して供給する冷水量を調節  
 灌漑水循環方式 : 循環ポンプにより毎分7.2m<sup>3</sup>の灌漑水を循環  
 処理水温 : 約19.0°C  
 水深 : 約28cm  
 処理期間 : 早生の幼穂形成期～晩生の穂揃期(7月上旬～9月上旬)  
 b 冷水掛け流し処理後の不稔発生の様子  
 耐冷性“中”の系統に比較し“極強”の系統の不稔が少ない



第2-2図 秋田県農林水産技術センター農業試験場が育成した  
 奨励品種決定基本調査配布系統<sup>1)</sup>の耐冷性程度の推移

- 1) 一般主食用梗系統のみを抽出した  
 2) 2: 極強 3: 強 4: やや強 5: 中 6: やや弱 7: 弱 8: 極弱  
 3) \*\*\* : 0.1%水準で相関有り

## 2) いもち耐病性検定

葉いもち耐病性の検定は、当初、折衷式苗代(揚床)方式で晩播、幼苗検定により実施し、後に畑苗代晩播方式の幼苗検定を行うようになった(秋田県農業試験場 1991)。しかし、秋田県農業試験場が秋田市仁井田にあった 1999 年までは、圃場が海岸部であり風が強かったため、このような方式では発病が少なく検定精度も低かった。そのため、1989 年からは約 2a の圃場に灌水装置を付設した簡易パイプハウスを建設し、上部を遮光ネット、周囲を防風ネットで覆うことにより均一な発病を促進し検定の精度を高めた(秋田県農業試験場 1991)。しかし、検定精度の向上には成功したものの、圃場規模が小さいために試験区を 400 区程度しか設置できず世代が進んだ系統の耐病性評価にとどまっていた。2000 年に秋田県農業試験場が秋田市雄和に移転したのを機に約 5a の葉いもち病検定圃場を新設した(第 2-3 図)。この圃場は灌水装置、防風ネットが設置されており精度の高い検定ができ、しかも十分な圃場面積であるため約 1,200 区の試験区を

設置できる。このことにより、若い世代からの選抜が可能にした。

穂いもち耐病性検定についても同様で、秋田県農業試験場が秋田市仁井田にあった 1999 年までは圃場規模が小さく若い世代からの系統選抜はできなかった。雄和に移転後、約 12a の検定圃場が新設されたことにより、検定精度が向上、若い世代からの系統選抜も可能になった。

以上のような検定法の改良や圃場規模の拡大が育成系統全体のいもち耐病性レベル向上を実現し、その結果、耐病性の秋田 89 号の育成につながったものと考えられる。



第2-3図 畑苗代晩播方式による葉いもち耐病性検定

- a 播種作業の様子  
 畑苗代に直接播種(6月中旬)  
 防風ネット・スプリンクラーを設置し自然発病誘発  
 b 調査適期の検定圃場  
 5葉期前後に発病程度調査, 耐病性程度を判定

## 3) 食味検定

食味の優劣は最終的には人間が実際に食べて判断するため、食味官能試験がもっとも精度の高い検定法であるといえる。しかし、食味官能試験は手間がかかるため、あまり多くの系統を検定することは不可能である。これまでの実績を見ると秋田県農林水産技術センター農業試験場では年間 120 ~ 130 系統を食味官能試験に供試するにとどまっている。そのため、多検体を簡便に評価できる検定法が必要であり、物性による選抜や化学成分による選抜などが利用されている。

物性による選抜としては、1977 年の育種事業再開当初からピーカーによる炊飯光沢検定を行い育成系統の初期世代系統選抜に利用している。また、1978 年



第2-4図 物性および化学成分による食味検定

- a テクスチュロメーター(株式会社全研 GTX-2-IN型)
- b 味度メーター(株式会社東洋精米所 MA-90型)
- c アミロースオートアナライザー(プランルー社 SOLIDprep III型)
- d タンパク質含有率測定用近赤外線測定装置(プランルー社 InfraAlyzer500型)

にはテクスチュロメーター(第2-4図 a)を、1996年には味度メーター(第2-4図 b)を導入し炊飯米の物理性を測定することで選抜の資料とした。テクスチュロメーターによる選抜は秋田県の育種事業の初期に効果を発揮し、代表的な良食味品種あきたこまちの育成に貢献した(眞崎 1983、1984)。

化学成分による食味の評価として、米の主成分であるデンプン(特にアミロース)およびタンパク質含有率に着目した知見が多く見られる。精米のアミロース含有率は低いほど良食味であり(稲津 1988)、また、精米中のタンパク質が高くなると食味は低下する(松江ら 1996)との報告がある。秋田県農業試験場でもこれらを指標とした選抜を採用し、1990年にはアミロース含有率測定用のオートアナライザー(第2-4図 c)を、1996年にはタンパク質含有率測定用の近赤外線測定装置(第2-4図 d)を導入した。

これら物性あるいは化学成分による検定を導入することにより、年間300~400系統の食味評価が可能になった。このことにより、若い世代からの食味選抜が可能になり育成系統全体のレベルアップにつながっ

た。また、複数の評価法を採用することで検定の精度を飛躍的に向上させることができたと考える。

### 2-3-2 秋田89号の育成

#### 1) 育成経過

第2-1表に秋田89号の育成経過の概略を示す。秋田89号は1995年に岩南8号を母、秋田58号を父として人工交配し、選抜、固定を進めてきた系統である。母本である岩南8号はあきたこまちを母とし良質・良食味であり、耐倒伏、耐いもち病の栽培しやすい系統であった(岩手県立農業試験場県南分場 1995)。しかし、奨励品種決定基本調査では収量性が特に低いなど秋田県には適応しないとされた(秋田県農業試験場 1997)。一方、父本の秋田58号は交配組合せが東北143号(ひとめぼれ)/秋田39号(あきた39)であり、めんこいなの兄弟にあたる。安定多収で耐冷性が強く良質・良食味の優れた系統であったが、いもち病に弱い欠点があった(秋田県農業試験場 1996、秋田県農業試験場 1997)。育種の主目標は岩南8号の耐倒伏性、耐病性と秋田58号の収量性、耐冷性を併せ持った、良質・良食味品種であった。

交配の結果、114穎花中50粒が結実し、F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub>を翌1996年に温室栽培した。1997年F<sub>3</sub>で個体選抜を行い、1,258個体から圃場で51個体を選抜、さらに室内で玄米の外観品質から36個体を選抜した。1998年にF<sub>4</sub>で単独系統選抜を行い、2000年F<sub>5</sub>から系統群系統として選抜を続け、生産力検定や特性検定を開始した。2002年から秋系544の系統名を付して系統適応性検定試験に供試し、2004年F<sub>9</sub>からは秋田89号の系統名を付して奨励品種決定本試験に供試して検討を重ねた。その結果、栽培特性、品質、食味いずれも非常に優れ、極めて有望と認められて2007年11月にはゆめおばこの品種名で種苗法に基づく品種登録の申請をした。

第2-1表 「秋田89号」の育成経過

年次	世代	育成経過
1995	交配	結実50粒/交配穎花数114粒
1996	F <sub>1</sub> ・F <sub>2</sub>	温室栽培
1997	F <sub>3</sub>	個体選抜 室内36株/圃場51株/栽植1,258株
1998	F <sub>4</sub>	系統選抜 耐冷性検定
1999	育成休止	
2000	F <sub>5</sub>	生産力検定
2001	F <sub>6</sub>	葉いもち・穂いもち検定
2002	F <sub>7</sub>	味度メーター、アミロース、タンパク質、白度
2003	F <sub>8</sub>	食味官能試験
2004	F <sub>9</sub>	秋系544 秋田89号命名 奨励配布開始
2005	F <sub>10</sub>	
2006	F <sub>11</sub>	
2007	F <sub>12</sub>	品種登録申請

注: 1999年は農試移転に伴い種子保存のうえ育成休止

第2-2表 「秋田89号」の主要特性概要

品種名	秋田89号	ひとめぼれ	めんこいな
早晚性	中生の晩	中生の晩	中生の晩
草型	中間型	偏穂数型	中間型
出穂期(月日)	8.6	8.6	8.5
成熟期(月日)	9.19	9.19	9.18
稈長(cm)	74	76	72
穂長(cm)	18.9	18.4	18.6
穂数(本 <sup>m</sup> - <sup>2</sup> )	402	448	401
稈の細太	中	やや細	中
稈の剛柔	やや剛	やや柔	やや剛
芒の多少・長短	極少・短	やや少・短	少・短
穎色	黄白	黄白	黄白
ふ先色	白	白	白
穂軸の抽出程度	中	中	中
粒着密度	中	やや疎	中
脱粒性	難	難	難
いもち耐病性			
遺伝子型	<i>Pia</i> , <i>Pii</i>	<i>Pii</i>	<i>Pia</i>
葉いもち	中	やや弱	やや弱
穂いもち	やや強	やや弱	やや弱
白葉枯耐病性	やや強	中	弱
耐倒伏性(0~5)	やや強(0.8)	やや弱(1.5)	やや強(0.5)
耐冷性(障害型)	極強	極強	中
穂発芽性	中	難	中
収量(kg <sup>a</sup> - <sup>1</sup> )			
標肥	66.0	62.3	68.3
多肥	66.0	61.1	70.7
対標準比			
標肥	106	100	110
多肥	108	100	116
玄米千粒重(g)	24.3	22.9	22.8
玄米外観品質(1~9)	上中(2.9)	上中(2.8)	上中(4.0)
玄米粗蛋白質含有率(%)	7.2	7.8	7.6

1)調査場所及び年次:

秋田県農林水産技術センター農業試験場奨励品種決定調査2004~2006年の平均値

2)玄米の収量及び対標準比の多肥を除き標肥区の成績

3)特性のランクは種苗特性分類基準による

4)玄米収量の標肥区は基肥N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O 各0.5kg<sup>a</sup>-<sup>1</sup>, 減数分裂期追肥N 0.2kg<sup>a</sup>-<sup>1</sup>多肥区は基肥N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O 各0.7kg<sup>a</sup>-<sup>1</sup>, 減数分裂期追肥N 0.2kg<sup>a</sup>-<sup>1</sup>

5)収量調査の選別ふるい目は1.9mm

## 2) 主要特性

第2-2表に秋田89号の主要特性概要を示す。秋田89号は出穂期、成熟期ともにひとめぼれ、めんこいな並で、熟期は"中生の晩"に属する。稈長はめんこいなより長くひとめぼれ並の"やや長稈"、穂長はひとめぼれ、めんこいな並、穂数はひとめぼれより少なくめんこいなとほぼ同じで草型は"中間型"に属する。秋田89号の稈の細太は"中"、剛柔は"やや剛"、芒は"極少・短"で穎色は"黄白"、ふ先色は"白"である。止葉の直立程度は"やや立"で穂軸の抽出は"中"、脱粒性は"難"である。

秋田89号のいもち病原性抵抗性遺伝子型はレース検定の結果から *Pia* と *Pii* を所有するものと推定され

第2-3表 「秋田89号」の食味関連成分に関する分析結果

品種・系統名	味度値 <sup>1)</sup>								白米アミロース含量 <sup>2)</sup> (%)				玄米粗タンパク質含量 <sup>3)</sup> (%)			
	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	平均	2001	2002	2003	平均	2004	2005	2006	平均
秋田89号	77.2	89.8	89.2	75.2	85.4	78.1	76.6	81.6	17.0	18.3	19.2	18.2	7.5	7.2	7.0	7.2
ひとめぼれ	79.2	90.6	91.5	72.6	83.5	82.9	78.5	82.7	18.2	18.5	19.4	18.7	8.2	7.7	7.5	7.8
めんこいな	75.3	82.3	85.8	72.8	70.2	74.8	66.8	75.4	17.7	18.3	19.6	18.5	7.9	7.4	7.4	7.6
あきたこまち	81.0	90.3	85.4	78.3	82.2	76.4	72.2	80.8	16.3	17.8	18.7	17.6	8.1	8.0	7.8	7.9

1)味度値は味度メーター(東洋精米製作所)により測定

2)白米アミロース含量はオートアナライザー(ブランルーベ社)により測定

3)玄米粗タンパク質含量はインフラライザー500(ブランルーベ社)により測定

た。圃場抵抗性は葉いもち、穂いもちともにひとめぼれ、めんこいなより強く、それぞれ"中"、"やや強"である。また、白葉枯病耐病性もひとめぼれ、めんこいなより強く"やや強"と判定された。秋田89号の耐倒伏性はひとめぼれより強く"やや強"である。障害型耐冷性はひとめぼれ並の"極強"、穂発芽性はめんこいな並の"中"と判定された。



第2-5図 「秋田89号」の玄米

玄米収量(篩目1.9mm)は標肥区(基肥 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O 各0.5kg<sup>a</sup>-<sup>1</sup>, 減数分裂期追肥 N 0.2kg<sup>a</sup>-<sup>1</sup>)、多肥区(基肥 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O 各0.7kg<sup>a</sup>-<sup>1</sup>, 減数分裂期追肥 N 0.2kg<sup>a</sup>-<sup>1</sup>)ともにひとめぼれより明らかに多く多収品種である。第2-5図に秋田89号の玄米写真を示す。玄米はひとめぼれ、めんこいなに比べ千粒重が大きいのが特徴で、外観品質に優れ粗蛋白質含有率は少ない。

このように秋田89号は耐倒伏、耐病、耐冷性に優れ多収で品質も良好であるため、安定して良質米の生産が期待できる。

## 3) 食味関連成分および食味官能試験

第2-3表に食味関連成分に関する分析結果を示した。味度値(東洋味度メーターによる測定値)はめんこいなより安定して高く、あきたこまち、ひとめぼれと同程度であった。乾物あたりの白米アミロース含有率は18.2%でひとめぼれ、めんこいなより低いがあきたこまちよりやや高かった。また、乾物あたりの玄米粗タンパク質含有率は7.2%でひとめぼれ、めんこいな、あきたこま치의いずれよりも低く低タンパク質であった。

第2-4表に食味官能試験結果を示す。2002年~2007



第2-4表 「秋田89号」の食味官能試験結果

試験 年月日	基準品種	総合	外観	香り	味	粘り	硬さ	パネラー 数
2002/1/17	あきたこまち	-0.190	-0.238 *	-0.190 **	-0.095	0.190	-0.429 *	21
2003/1/9	あきたこまち	-0.125	0.000	-0.167	-0.167	0.125	-0.500 **	24
2003/12/8	あきたこまち	-0.083	-0.208	-0.167 *	0.000	0.042	-0.125	23
2003/12/12	あきたこまち	-0.250	-0.500 **	0.000	-0.167	-0.167	-0.292 *	24
2004/10/13	あきたこまち	-0.083	-0.083	-0.042	-0.042	-0.083	-0.667 **	22
2004/11/19	あきたこまち	-0.125	-0.042	0.083	-0.083	0.208	-0.500 *	22
2004/12/15	ひとめぼれ	0.042	-0.083	0.083	0.250	-0.083	-0.292	22
2004/11/25	はえぬき	0.042	0.000	-0.083	0.125	0.208	-0.583 **	22
2005/11/9	あきたこまち	-0.067	-0.067	-0.067	0.000	-0.267	-0.333 *	15
2005/11/21	あきたこまち	-0.042	-0.167 *	0.083	0.000	0.000	-0.458 **	23
2006/11/10	あきたこまち	0.083	0.208 *	-0.167 *	0.042	0.042	-0.333 *	22
2006/11/15	あきたこまち	-0.056	-0.167	-0.111	-0.056	-0.167	-0.444 *	17
2007/2/16	ひとめぼれ	-0.050	-0.150	-0.100	-0.100	-0.100	-0.250	20
2007/2/16	ひとめぼれ	-0.200 *	-0.100	0.000	-0.150	-0.200 *	-0.250	20

注) 総合、外観、香り、味は+3(基準よりかなり良い)~-3(基準よりかなり不良)  
粘りは+3(基準よりかなり強い)~-3(基準よりかなり弱い)  
硬さは+3(基準よりかなり硬い)~-3(基準よりかなり柔らかい) で評価した  
\*\*は1%水準で、\*は5%水準で有意差があることを示す  
パネラーはいずれも秋田県農林水産試験場職員

年にあきたこまち、ひとめぼれ、はえぬきと比較して14回食味官能試験を行ったところ、総じて基準品種と有意な差がなく良食味であるという結果であった。また、特徴的な点は基準品種と比較して柔らかい傾向にあり、あきたこまちとは異なるふっくらとした食感であることである。

### 2-3-3 考察

本節で目指した良質・良食味の米の品種の育成を達成できた最大の要因は育種戦略によるものと考えられる。中でも徹底した特性検定と食味にこだわった選抜が挙げられる。その一方で、特性検定については秋田県農業試験場が秋田市仁井田にあった1999年までは、十分な規模の耐冷性検定、耐病性検定施設がなかったことや圃場の地理的な要因で障害不稔やいもち病の自然発生もほとんど見られなかったことから十分な選抜ができなかった。そのため、この間の育成品種の中で耐冷、耐病性品種といえるのは早生のたかねみのりのみである。2000年に秋田県農業試験場が秋田市雄和に移転してからは耐冷性検定と耐病性検定の両施設が新たに設置され、それらを最大限に活用した選抜によって耐冷性と耐病性についても育成系統全体のレベルがかなり向上してきたことも品種として完成させるに至った大きな要因と考えている。

特に、食味に関する選抜はたかねみのり(1984年奨励品種採用)、あきた39(1991年奨励品種採用)、でわひかり(1994年奨励品種採用)の育成のころは目視による炊飯光沢、テクスチュロメーターによる解析、食味官能試験などであったが、めんこいな(1999年奨励品種採用)の育成では味度メーターによる解析、アミロース、タンパク質の成分分析を加え徐々に選抜

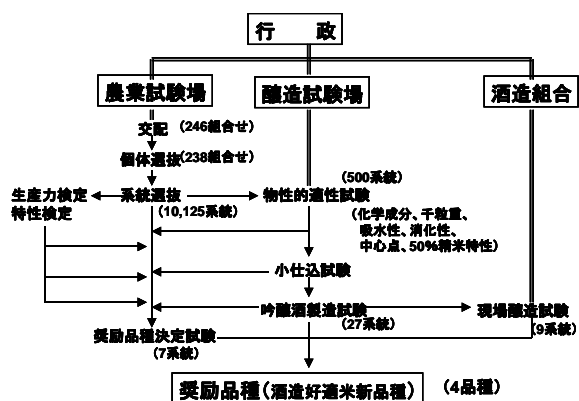
の精度を向上させていった。つまり、アミロースやタンパク質の分析、炊飯米の表面光沢などによる1次選抜で有望な系統をある程度絞り込み、残った系統について人間の感覚、いわゆる食味官能試験によって最終判断を下す方法である。

このような明確な選抜形質を設定した育種戦略とそのための選抜方法の向上を図ることによって、秋田89号のような良品質・良食味の品種の育成が達成されたと考えられる。

秋田89号は優れた良品質・良食味であるとともに様々な栽培適性をかねそなえた期待の新品種であり、今後、秋田県農業に大いに貢献するものと確信している。現在、育成中の系統も耐冷性、耐病性や品質、食味、いずれもかなり高いレベルにあり、秋田89号に続く優良品種の誕生が期待されることである。

### 2-4 酒造好適米品種の開発

1977年に水稻育種事業を再開した当初から銘柄米と併せ酒米の育種にも着手し、地域特産的な酒米品種の育成を目指してきた。しかしながら、当時の酒米育種では、主に玄米の粒大や心白の発現、栽培特性を中心とした選抜を行っており、育成の最終段階で依頼した醸造試験では良い結果を得ることができず、初期段階における酒造適性検定の必要性が示唆された。そこで秋田県農業試験場(現秋田県農林水産技術センター農業試験場)、秋田県醸造試験場(現秋田県農林水産技術センター総合食品研究所)、秋田県酒造組合の三者共同体制による酒米品種開発が提案され、1988年から酒造好適米新品種開発事業がスタートした。実需者や酒加工の専門家に育成の初期段階から参加してもらい酒造適性に重点をおいて選抜をすれば、選抜効率



第2-6図 酒造好適米新品種開発事業の仕組みと経過

が向上し育種規模を一挙に拡大できるものと期待された。育種目標は吟醸酒用酒米とし、酒造好適米として評価の高い山田錦と同等の醸造特性と秋田県のような寒冷地に適した栽培特性を併せ持った品種の育成を目指した。それまで秋田県農業試験場では、既存の酒米奨励品種である美山錦の栽培特性の改善を基本に考えていたが、醸造試験場、酒造組合との共同開発の実施により、戦略を持った酒米育種に取り組むことが可能になったと言える。

#### 2-4-1 酒造好適米新品種開発事業の仕組みと経過

第2-6図に酒造好適米新品種開発事業の仕組みと経過を示す。事業における各機関の分担は、秋田県農業試験場が交配から始まる通常の育種作業を進める中で、秋田県醸造試験場は原料米分析及び試験醸造を、酒造組合は現場仕込規模での試験醸造を担当した(畠山1994)。

こうして、初期世代系統でも固定度を見て原料米分析に供試すれば、秋田県醸造試験場から年度内に検定結果がフィードバックしてくるので選抜効率は向上し育種規模の拡大が可能になった。交配、個体選抜、系統選抜いずれも5～6倍に拡大した。

2002年までの15年間に行われた酒米品種の開発では、交配数は246組合せ、選抜に供試した系統数は10,125系統に上る。また、酒造適性検定には500系統以上を供試し、さらに次の段階の兵庫県産山田錦を対照とした白米総使用量(麴米と掛け米の合計)100～200kg規模の吟醸酒製造試験には27系統が供試さ

れ、そのうち9系統について現場規模の醸造試験が行われた。現場醸造は1回1工場の評価で終わるのではなく、複数年、複数工場での実施を前提として行った。この結果、地方番号を付して奨励品種決定試験への供試に至った系統は7系統となり、うち4系統が秋田県の奨励(認定)品種に採用されている(第2-5表、第2-7図)(畠山1994)。

酒造好適米新品種育成事業は5年毎に区切りをつけ第1期から第3期まで行われた。第1期では主に固定の進んだ手持ちの系統の酒造特性を検定するとともに将来のための交配母本の選定、第2期では初期世代の系統から酒造特性を中心とした選抜を加えた。さらに第3期では栽培特性、酒造特性検定の精度の向上と選抜スキームの見直しを行い、育成の効率化を図った。このような取り組みにより、第1期では吟の精、第2期では秋の精、美郷錦、第3期では秋田酒こまちの育成に至った。

#### 2-4-2 酒造好適米開発事業における育成品種

酒造好適米開発事業において4品種が育成された。育成第1号である吟の精は1992年本県初の吟醸酒専用の酒米として奨励品種に採用された。倒伏にはかなり強く大粒で外観上の心白の発現は極めて少ないのが特徴である(第2-5表、第2-7図)(加藤ら1994)。しかし、玄米の横断面で観察した場合、点状に見える小さな心白部分や心白として観察できないが心白構造に似ている潜在的な心白部分が多く存在し、酒造に好影響を与えているとされている(高橋ら1999a)。吟の精は高度精白における精米特性(無効精米歩合、整粒歩合)で山田錦より優れ、吟醸酒用酒米としての適性を持ち、淡麗タイプの清酒ができやすい酒造原料米とされている(第2-5表、第2-7図)(高橋ら1999b)。また、秋の精は1999年奨励品種に採用され、耐倒伏性が強く、収量性もあり栽培し易い品種である。玄米の蛋白質含量が低いのが特徴的で、吟醸酒用酒米としては山田錦より劣るが、栽培上も原料米としても美山錦を越える普通酒用の酒米として位置付けられている(第2-5表、第2-7図)(眞崎ら1999)。さらに、美郷錦2001年認定品種に採用なされ、山田錦を直接の交配親として脱粒性を改善し、秋田県の気象条件に適応

第2-5表 酒造好適米新品種開発事業での育成品種

品種名	奨励(認定) 品種採用年	草型	熟期	特徴
吟の精	1992	やや長稈 穂重型	中生の早	大粒, 高度精白可能, 吟醸酒用
秋の精	1999	やや長稈 穂重型	中生の中	多収, 低蛋白, 普通酒用
美郷錦	2001	長稈 穂重型	中生の中	低蛋白, 山田錦タイプ, 地場産業的高級酒用
秋田酒こまち	2003	やや長稈 穂重型	中生の中	「山田錦」に匹敵する醸造特性, 栽培特性に欠点が少ない



第2-7図 酒造好適米新品種開発事業における育成品種の玄米(下段4品種)

可能な早生化に成功した初の品種である。耐倒伏性、耐冷性、いもち耐病性はどれも弱く、栽培が難しい品種と言える。心白発現が良好で腹白は少ない良質品種であり、製成酒の酒質評価も良好で純米吟醸酒等の高級酒用として期待されている(第2-5表、第2-7図)(眞崎ら 2004)。これら三品種はいずれも栽培特性あるいは酒造特性に特徴を持つ優れた品種であるが、当初の目標に達したとは言い難かった。

そして、事業最終の第3期に入り秋田酒こまちの育成に至った。秋田酒こまちは、栽培上の欠点が少なく、かつ山田錦並の醸造特性を持つと評価され、当初の目標を始めて達成した系統であると言ってよい。15年間にわたる酒造好適米新品種開発事業の集大成とも言える品種である。

### 2-4-3 酒造好適米新品種開発事業の集大成

—秋田酒こまち—

#### 1) 育成経過

第2-6表に秋田酒こまちの育成経過の概略を示す。秋田酒こまちは1992年に秋系酒251を母、秋系酒306を父として人工交配し、選抜、固定を進めてきた系統である。母本である秋系酒251は1990年に試験醸造、1991年には併せて現場醸造まで行われ、精米特性、

製麴特性とともに良く特に製成酒の評価が高い有望系統であった。しかし、草型が劣り倒伏しやすく収量性が特に低いなどの栽培特性上の欠点が大きく、普及品種とすることを断念した系統である。一方、父本の秋系酒306は酒米としては短稈で倒伏に強く収量性が高いなど栽培特性の優れた系統であったが、腹白状心白が多いため精米時に碎米しやすく、また玄米粗タンパク質含有率が高いなど醸造特性上の欠点があった。育種の主目標は秋系酒251の優れた醸造特性はそのままに、栽培特性、特に耐倒伏性と収量性を向上させることであった。

交配の結果、63穎花中33粒が結実し、F<sub>1</sub>を翌1993年に温室栽培した。1994年F<sub>2</sub>で個体選抜を行い、792個体から圃場で78個体を選抜、さらに室内で玄米の外観品質から38個体を選抜した。1995年にF<sub>3</sub>で単系統選抜を行い、1996年F<sub>4</sub>から系統群系統として選抜を続け、生産力検定や特性検定、原料米分析を開始した。1998年から秋系酒492の系統名を付して奨励品種決定予備試験に供試するとともに試験醸造を行い、1999年から現場醸造試験を行った。2000年F<sub>8</sub>から秋田酒77号の系統名を付して奨励品種決定本試験に供試して検討を重ねた。その結果、栽培特性、酒造特性とともに非常に優れ、極めて有望と認められて2001年3月には種苗法に基づく品種登録の出願をし、2003年には秋田県の奨励品種として採用された。

#### 2) 主要特性

第2-7表に秋田酒こまちの主要特性概要を示す。秋田酒こまちの出穂期は美山錦、吟の精より1日程度遅く、成熟期は吟の精より遅く美山錦と同じで、熟期は“中生の中”に属する。稈長は美山錦より短く吟の精並の“やや長稈”、穂長は美山錦、吟の精より長い“やや長”、穂数は美山錦、吟の精とほぼ同じで“穂重型”に

第2-6表 「秋田酒こまち」の育成経過

年次	世代	系統・品種名	農業試験場 育成経過	総合食品研究所 酒造特性検定	酒造組合 現場醸造試験	作付面積 ha
1992	交配	「秋系酒251×秋系酒306」	(結実33粒/交配穎花数63)			
1993	F <sub>1</sub>		温室栽培			
1994	F <sub>2</sub>		圃場栽培 個体選抜(38個体/792個体)			
1995	F <sub>3</sub>		系統選抜、特性検定			
1996	F <sub>4</sub>		生産力検定	原料米分析(53点)		
1997	F <sub>5</sub>			小仕込試験(3点/45点)		
1998	F <sub>6</sub>	秋系酒492	奨励品種決定予備試験	中間規模試験醸造(1点/3点)		
1999	F <sub>7</sub>	↓		(1点/3点)現場対応→	1工場	0.5
2000	F <sub>8</sub>	秋田酒77号	奨励品種決定本試験	(1点/3点)	3工場	1.5
2001	F <sub>9</sub>	秋田酒こまち	品種登録申請(2001年3月)		20工場	8
2002	F <sub>10</sub>	↓			35工場	16
2003	F <sub>11</sub>	↓	奨励品種採用(2003年3月)		商品化	30

1)酒造特性検定の( )内は選抜点数/分析点数, 選抜点数には「秋田酒こまち」が含まれる。

第2-7表 「秋田酒こまち」の主要特性概要

品種名	秋田酒こまち	美山錦	吟の精
早晚性	中生の中	中生の中	中生の早
草型	穂重型	穂重型	穂重型
出穂期(月日)	8.7	8.6	8.5
成熟期(月日)	9.28	9.28	9.25
稈長(cm)	82	88	83
穂長(cm)	21.9	20.2	18.7
穂数(本 <sup>m</sup> - <sup>2</sup> )	317	303	319
稈の細太	太	太	太
稈の剛柔	やや剛	やや剛	やや剛
芒の多少・長短	無	無	稀・極短
ふ 色	黄白	黄白	黄白
ふ先色	黄白	黄白	黄白
止葉の直立程度	やや立	やや立	やや立
穂軸の抽出程度	中	中	中
粒着密度	やや疎	中	中
脱粒性	難	難	難
いもち耐病性			
遺伝子型	<i>Pia, Pii</i>	<i>Pia, Pii</i>	<i>Piz</i>
葉いもち	やや強	やや強	—
穂いもち	中	中	—
白葉枯耐病性	弱	中	弱
耐倒伏性(0~5)	やや弱(0.5)	弱(1.8)	やや弱(0.9)
耐冷性(障害型)	中	やや強	やや強
穂発芽性	やや難	極難	やや難
収量(kg <sup>a</sup> - <sup>1</sup> )			
標肥	59.5	59.6	67.8
多肥	55.7	56.7	66.6
対標準比			
標肥	100	100	114
多肥	98	100	117
玄米千粒重(g)	27.2	25.9	28.7
玄米外観品質(1~9)	上中(3.8)	上下(4.7)	中上(4.8)
玄米粗蛋白質含有率(%)	7.5	7.9	7.8

1)調査場所及び年次:

秋田県農業試験場奨励品種決定調査1998~2000年の平均値

2)玄米の収量及び対標準比の多肥を除き標肥区の結果

3)特性のランクは種苗特性分類基準による

4)玄米収量の標肥区は基肥N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O 各0.4kg<sup>a</sup>-<sup>1</sup>, 減数分裂期追肥N 0.2kg<sup>a</sup>-<sup>1</sup>多肥区は基肥N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O 各0.6kg<sup>a</sup>-<sup>1</sup>, 減数分裂期追肥N 0.2kg<sup>a</sup>-<sup>1</sup>

5)収量調査の選別ふるい目は12.0mm, 玄米外観品質は醸造用玄米基準

属する。また、秋田酒こまちの稈の細太は"太"、剛柔は"やや剛"、芒は"無"でふ色、ふ先色は"黄白"である。止葉の直立程度は"やや立"で穂軸の抽出は"中"、脱粒性は"難"である。

いもち病真性抵抗性遺伝子型はレース検定の結果から秋田酒こまちは *Pia* と *Pii* を所有するものと推定された。圃場抵抗性は美山錦並で葉いもちは"やや強"、穂いちは"中"である。また、白葉枯病耐病性は吟の精並の"弱"と判定された。秋田酒こまちは美山錦より倒伏が少ない"やや弱"であり酒米としては比較的倒伏に強い。さらに、障害型耐冷性は美山錦よりやや弱い"中"、穂発芽性は美山錦よりやや易で吟の精並の"やや難"と判定された。

玄米収量(篩目 2.0mm)は標肥区(基肥 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O 各 0.4kg<sup>a</sup>-<sup>1</sup>、幼穂形成期追肥 N 0.2kg<sup>a</sup>-<sup>1</sup>)、多肥区(基肥 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O 各 0.6kg<sup>a</sup>-<sup>1</sup>、幼穂形成期追肥 N 0.2kg<sup>a</sup>-<sup>1</sup>)ともに美山錦並である。玄米は美山錦に比べ、千粒重が大きく外観品質に優れ、粗蛋白質含有率は少なかった。

このように秋田酒こまちは美山錦と比較して耐病性、耐冷性、収量性ともにほぼ同等の栽培特性を有しており大きな欠点がない。また、酒米品種の多くは耐倒伏性に難があり栽培には技術を要するが、秋田酒こまちはその弱点を改良し作りやすく、秋田県での栽培

に適した品種であると言える。

### 3) 玄米および酒造特性

第 2-7 図に秋田酒こまちの玄米写真を、第 2-8 表に玄米の形態及び玄米横断面の心白型比較の結果を示す。秋田酒こまちの玄米の形状は美山錦と比べて長さが長く、幅が狭くて、山田錦に近い扁平型である。秋田酒こまちは心白の発現が多く、心白比率では線状(3 型)および眼状(4 型)の心白型が多くを占め、腹白状(5 型)心白が多い美山錦とは明らかに異なり山田錦に近い心白型である(高橋・田口 2003)。

選抜初期の段階で酒造原料米としての適性を評価するために、1997 年 F<sub>3</sub> 世代で実施した玄米と精米歩合 50 % 白米の原料米分析と小仕込試験結果を第 2-9 表に示した。小仕込試験は精米歩合 50 % の白米 200g を掛け米として使用し、各試験区とも同じ吟醸麹および酵母を使用した。秋田酒こまちは無効精米歩合や蛋白質含有率が低く、優れた精米特性を有していると考えられ、製成酒の官能試験では美山錦や吟の精に優り、山田錦に近い評価を得た。

秋田酒こまちの吟醸酒用としての適性を評価するために、秋田県醸造試験場において、1999 年に山田錦を対照として行った吟醸酒製造試験を実施した。用いた白米の精米歩合は 35 %、白米総使用量 100kg で、酵母は秋田流花酵母 AK-1 である。製成酒の成分では、酸度、アミノ酸度、グルコースとも山田錦とほぼ同じであり、官能評価では香りが良く、甘みが上品で後味が軽快とされ、評価では山田錦と比べても良好であった(第 2-10 表)。

第 2-11 表には吟醸酒製造試験における評価の一覧を示した。秋田酒こまちは精米歩合 35 % まで精米が充分可能であり、麹が造りやすく製造工程上に難点がないこと、製成酒の官能評価は山田錦と異なるタイプであるが評点は良好であり、吟醸酒用としての高い適性が認められ、目標としていた山田錦並の酒造特性を有しているものと考えられた(高橋・田口 2003)。

秋田酒こまちの現場醸造試験は 1999、2000、2001 酒造年度に実施し、それぞれ県内酒造工場の 1 工場、3 工場、20 工場で行われた。全ての仕込みで精米歩合 40 % 以下の白米を使用する大吟醸酒を白米総使用量 700 ~ 800kg 規模で製造した。

秋田酒こまちの酒造特性について 2001 酒造年度の試験醸造成績は以下のとおりである。第 2-8 図に精米 36 回の精米特性の分布を示した。白米整粒歩合は 80 % 前後に、無効精米歩合は 3.0 % 前後に、白米粗タンパク質は 3.6 % 前後にピークがあった。酒造用原料米を 40 % 精米した場合の白米整粒歩合、無効精米歩合、白米粗タンパク質はそれぞれ 80 % 以上、5.0 % 以下、4.0 % 以下であると優良と考えられており、概ね大吟

第2-8表 玄米の形態及び玄米横断面の心白型比較

品種名	玄米の形態 <sup>1)</sup>			玄米横断面の心白型比率 <sup>2)</sup> (%)				
	長さ	幅	厚さ	I型	II型	III型	IV型	V型
	mm	mm	mm	無心白	点状心白	線状心白	眼状心白	腹白状心白
秋田酒こまち	5.43	3.18	2.23	6.0	13.4	34.1	26.8	19.7
美山錦	5.27	3.26	2.29	9.4	4.7	18.4	3.0	64.5
山田錦	5.47	3.17	2.19	16.8	15.4	26.0	17.4	24.4

1)玄米の形態については整粒50粒を調査した。  
2)玄米横断面の心白型比率については整粒200粒を調査した。

第2-9表 原料米分析及び小仕込試験

品種名	精米歩合50%白米の原料米分析					小仕込試験 <sup>1)</sup>	
	千粒重	真精米歩合	整粒歩合	無効精米歩合	蛋白質含有率	製成酒の官能試験	
	g	%	%	%	%	評点 <sup>2)</sup>	短評
秋田酒こまち	26.7	50.1	85.3	1.6	3.4	2.3	きれい, 甘味上品
美山錦	25.2	50.9	57.0	4.8	3.5	3.0	かたい, 味
吟の精	27.5	48.5	75.2	2.1	3.6	3.2	きれい, 渋み
山田錦	26.4	51.0	89.8	4.5	3.4	1.8	きれい, 巾あり, 上品

1)小仕込試験は精米歩合50%の白米200gを掛け米として使用し、各試験区とも同じ吟醸麹および酵母を使用した。  
2)官能試験の評点は1(優)~5(劣)、パネラーは秋田県総合食品研究所職員6名

第2-10表 吟醸酒製造試験における製成酒<sup>1)</sup>の成分及び官能評価

品種名	もろみ 日数 (日)	日本酒度 (V/V%)	アルコール (ml)	酸度 (ml)	アミノ 酸度 (ml)	グルコース (%)	官能試験	
							評点 <sup>2)</sup>	短評
							秋田酒こまち	30.0
山田錦	30.0	3.5	17.8	1.4	0.5	1.3	2.0	香り良, 味ふくらみあり

1)精米歩合35%, 白米総使用量100kg, 酵母は秋田流花酵母AK-1使用  
2)官能試験の評点は1(優)~5(劣)、パネラーは秋田県総合食品研究所職員6名

第2-11 吟醸酒製造試験における評価一覧

	秋田酒こまち	山田錦
精米	○ 精米35%まで精米可能. 精米速度早い.	○
原料処理	△ 浸漬中の碎米目立つ.	△
製麹	◎ 蒸米の表面乾きにくい. 酵素バランスが良い.	○
酒母	○ 初期ポーメが高い.	○
もろみ	○ グルコースが高い. アミノ酸度が低い.	○
製成酒の官能評価	◎ 甘味上品, 後味軽い.	◎ 香り華やか, ふくらみ

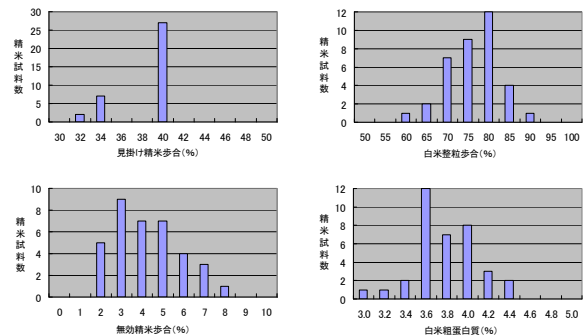
1)秋田県総合食品研究所醸造試験場(1999~2000年)  
2)評価記号は◎(優), ○(良), △(可)

醸酒の原料米としての適性を有していることが示された(高橋・田口2003)。

また、秋田酒こまちは山田錦に比較してその製成酒が日本酒度の平均がわずかに甘くなり、アミノ酸度が低い傾向であった(高橋・田口2003)。

#### 2-4-4 考察

秋田県では、1960年頃には2,000haを超える酒米



第2-8図 「秋田酒こまち」の精米特性の度数分布(高橋・田口2003から写)

1) 2001酒造年度現場醸造試験(秋田県酒造組合実施)  
2) 精米は20工場36回

の作付けがあったが、1977年には僅か22haまで減ってしまっている(秋田県農業試験場1991)。これは、当時の酒米品種が倒伏しやすく低収で農家に敬遠されたためであった。酒米は、使用目的が極めて明確な原料米であり実需者が必要とする特性を持つことが絶対条件であるが、かといって栽培特性をともなわなくては農家の作付けにはつながらない。そのため、秋田県農業試験場での酒米育種では、栽培特性の改善を重要

と考へ選抜を行ってきた。しかし、育成の最終段階には実用的な酒造特性を持つ系統が残らず、初期段階における酒造特性検定の必要性を痛感した。すなわち、栽培特性と酒造特性の両方を兼ね備えた実用品種の育成を目標とする育種では、実需者との連携がいかに重要かということを示している。そういうことから、1988年に開始した酒造好適米新品種開発事業では、実需者側である秋田県醸造試験場や秋田県酒造組合が単に品種を要望するのではなく、大きなリスクを負って育種に参画し、三者がそれぞれの役割を分担したことは特筆に値する。そして、15年間に1万を超える系統を育成、うち500系統以上を酒造特性検定に供試し、この中から4系統を秋田県の奨励(認定)品種にすることができたことは新たに構築した育種戦略の成果である。

酒造好適米新品種開発事業における育種目標は、酒米品種として最も評価の高い山田錦並の酒造特性と秋田県のような寒冷地に適した栽培特性を併せ持つ品種というかなりハードルの高い設定であったが、初期世代から酒造特性に重点をおいて選抜・育成すれば可能と考えられた。しかし、事業の第1期と第2期では当初の目標を達成することはできず、選抜・育成した系統を中間母本として利用するさらなるステップが必要であった。秋田酒こまちの両親はともに第1期の育成系統であり、特に母親の秋系酒251は倒伏しやすく収量が低いなど栽培特性上の欠点が大きく実用品種としては無理があるものの、できあがった吟醸酒の評価が極めて高い系統であり、酒造特性の優れた独自の交配母本として利用することとした。すなわち山田錦を直接の母本としなくとも酒造特性で選抜を加えた自前の系統を中間母本とし、望ましい特性の集積を図ることにより優れた酒造特性を持つ品種の育成が可能と考えた。

このような経緯で交配から選抜・固定を進めてきた秋田酒こまちは、育種の積み重ねの成果と位置づけられる。秋田酒こまちの吟醸酒は、全国新酒鑑評会で2001、2002、2003酒造年度に連続して金賞を受賞しており、その優れた酒造特性は全国的に評価されつつある。2003年からは秋田県の奨励品種として普及に移され、酒造メーカー側の需要に沿った計画的な作付けを行って順調に面積を拡大している。今後は高品質な酒を安定して消費者に供給できるように、原料米の栽培から酒の製造工程の全てにわたるきめ細かい管理と技術の構築を行うことが酒造業の振興と酒米生産の発展に必要である。

## 2-5 直播適応性品種の開発

稲作の国際化と産地間競争の激化、担い手不足が進む中で稲作の省力、低コスト化に対応するために、農家経営への水稻直播栽培の導入が有効である。秋田県

においても直播栽培の普及を重要施策とし、2006年の直播面積507ha(秋田県水田総合利用課調べ)を2010年には10,000haとすることを目標にしている。しかし秋田県のような寒冷地で既存品種を用いると、播種後の低温により十分な出芽、苗立ちが得られず減収となることが多い。そこで、既存品種並みの特性を有し、かつ低温苗立性の優れた直播適応性新品種を育成する必要がある。低温苗立性について、堀末(1995)は日本品種内では変異が小さく、それらの改良には広範な遺伝資源の利用が不可欠であるとしている。一方、外国品種を交配母本とし単交配により品種育成した場合、食味不良などの劣悪形質の随伴によって後代の多くは育成途中で棄却されるため、現在のところ外国品種由来の直播適応性を導入した品種は普及されていない。随伴する劣悪形質を排除しつつ、有用形質のみを確実に導入するためには戻し交配が有効であるが(Harlan and Pope 1922)、低温苗立性のように圃場での評価が困難な形質の改良について戻し交配を導入することは難しい。これらのことから、独自の育種戦略として低温苗立性を高精度で簡便に評価できる検定法の開発と優れた遺伝資源の探求が必要であると考えた。

本節では低温苗立性簡易検定の開発と遺伝資源の評価、さらにそれらを利用した系統育成の経過について述べる。

### 2-5-1 低温苗立性簡易検定の開発

低温苗立性に優れる系統を効率よく選抜するためには、低温苗立性を高い精度で簡便に検定しなければいけない。しかし、圃場における低温苗立性の検定では播種深度や温度条件などを精密に制御することが難しく、かつ年1回しか検定できない。

そこで本実験では、まず、育苗箱に播種した水稻種子に冷水を掛け流しすることによって、その低温苗立性を検定する方法についてその有効性を検討した。

#### 1) 材料および方法

日本型品種として日本稲のアキヒカリ、でわひかり、あきたこまち、ヨネシロ、吟の精、日本稲育成系統(秋田農試ほか)の秋田62号、ふ系185号、奥羽352号、青系129号、秋系399、秋系431、秋系433、秋系434、秋系466、秋系467、秋系468、系6061、アメリカ品種のS-101、S-201、M-103、M-202、イタリア品種のItalica Livorno、Maratelli、ポルトガル品種のArroze da Terra、旧ソビエト連邦品種のUSSR-8、ハンガリー品種のKakai203の計26品種・系統を用いた。なお、日本稲育成系統の12系統はいずれも日本稲同士の交雑後代である。

コンバイン収穫した種子は出芽・苗立ちに影響がある(大隅ら1987、諸橋ら1988、中山ら1988)こと

から、種子は前年に圃場で一般栽培し、手刈りで収穫し、乾燥したのち室温で保存した。

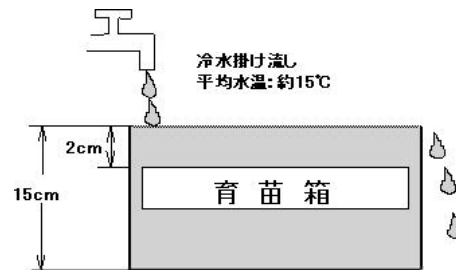
最初にこれら 26 品種・系統を用いて圃場直播試験を行った。1997 年 4 月 28 日に 1 品種・系統 100 粒を乾田に乾籾で条播（1 条 2.4m）し、約 2cm の覆土を行った（第 2-9 図）。施肥は基肥に LP コート 70（N-0.8kg<sup>a</sup>）を播種と同時に接触施肥した。反復は 3 区制とした。播種当日から約 5cm の湛水状態を保った。5 月 6 日から 2 日ごとに調査し播種から 5 % 出芽するのに要した日数と、播種から 49 日後の苗立率を調査した。

また、圃場を必要とせず低温苗立性を簡易に検定できる方法（以降、低温苗立性簡易検定と呼ぶ）についても検討した。圃場直播試験と共通の 26 品種・系統を 1997 年 4 月 11 日に育苗箱（60cm × 30cm）に乾籾で播種した。育苗箱を 16 のブロック（15cm × 7.5cm）に区分けし、1 ブロックに 1 品種・系統を 50 粒ずつ散播した。その後、播種深度を 1cm となるように覆土した。区制は 3 区制とした。育苗箱を満水状態のコンテナに水深 2cm となるように水没させ、水道水をかけ流しした（第 2-10 図、第 2-11 図）。かけ流し期間中の平均水温は 13.7 °C であった。51 日後の草丈、葉齢、根長を調査した。

## 2) 結果

第 2-12 表に圃場直播試験での 5 % 出芽日数、49 日後の苗立率および低温苗立性簡易検定における 51 日後の草丈、根長、葉齢を示した。圃場直播試験では 5 % 出芽日数が 18.7 ~ 25.3 日の範囲に、49 日後苗立率が 33.7 ~ 65.0 % の範囲に分布した。また、低温苗立性簡易検定では草丈、根長、葉齢がそれぞれ 4.5 ~ 13.1cm、2.9 ~ 5.9cm、0.4 ~ 1.6 の範囲に分布した。

第 2-12 図に低温苗立性簡易検定と圃場直播試験との関係を示す。低温苗立性簡易検定での草丈と圃場での 5 % 出芽日数との間には 0.1 % 水準で有意な負の相



第2-10図 低温苗立性簡易検定の略図

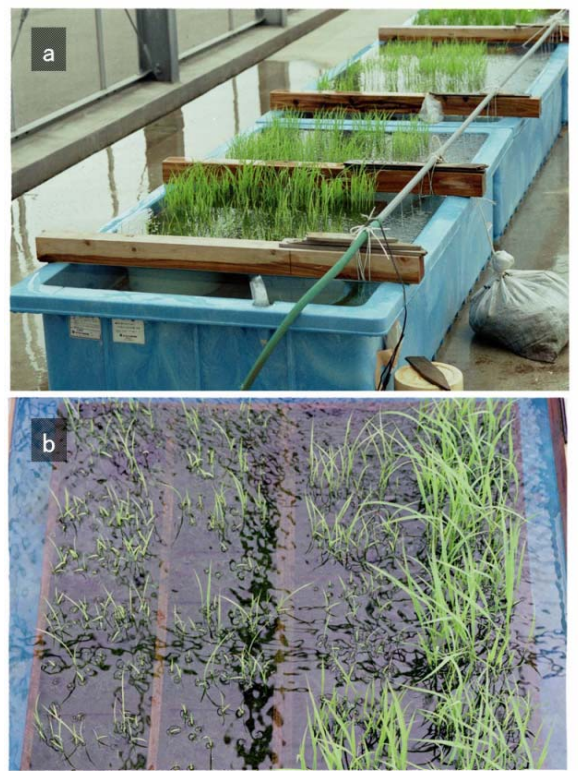
播種: 育苗箱乾籾播種  
 処理条件: 水深約2cmとなるように水没させ、約15°Cの冷水を掛け流し処理  
 処理期間: 約50日後  
 調査項目: 草丈、葉齢、根長



第2-9図 圃場直播試験

a 播種作業の様子 b 苗立の様子

播種条件: 乾田に乾籾を条播し約2cm覆土  
 施肥: LPコート70(N-0.8kg<sup>a</sup>)を播種同時接触施肥  
 水管理: 播種当日から約5cmの湛水状態を保った



第2-11図 低温苗立性簡易検定

a 低温苗立性簡易検定の全容  
 b 検定途中の苗立の様子 右側が苗立良好、左側が不良である

播種: 育苗箱乾籾播種  
 処理条件: 水深約2cmとなるように水没させ、約15°Cの冷水を掛け流し処理  
 処理期間: 約50日間  
 調査項目: 草丈、葉齢、根長

第2-12表 圃場直播試験および低温苗立性簡易検定の結果

No.	品種・系統名	圃場直播試験		低温苗立性簡易検定 <sup>3)</sup>		
		5%出芽 <sup>1)</sup> 日数 (日)	49日後 <sup>2)</sup> 苗立率 (%)	草丈 (cm)	根長 (cm)	葉齢
1	アキヒカリ	23.0	42.3	5.1	3.6	0.6
2	でわひかり	24.7	57.0	5.0	3.6	0.5
3	あきたこまち	25.3	45.3	7.0	5.0	1.0
4	ヨネシロ	24.7	49.3	4.6	3.8	0.6
5	吟の精	25.0	44.0	5.1	3.6	0.5
6	秋田62号	25.0	42.7	5.9	4.5	0.9
7	ふ系185号	23.7	44.7	5.1	3.7	0.6
8	奥羽352号	24.3	45.7	5.2	3.3	0.6
9	青系129号	24.7	46.3	5.2	4.1	0.7
10	秋系399	25.0	49.7	5.4	3.3	0.7
11	秋系431	25.3	48.3	4.6	2.9	0.4
12	秋系433	24.7	48.3	5.1	3.4	0.6
13	秋系434	23.3	33.7	5.0	3.4	0.6
14	秋系466	25.0	43.0	5.1	3.5	0.6
15	秋系467	23.3	52.3	8.6	5.4	1.4
16	秋系468	23.3	48.3	8.0	5.1	1.3
17	系6061	24.3	45.0	5.9	3.9	0.8
18	S-101	22.3	56.0	8.5	5.4	1.3
19	S-201	23.0	60.3	6.8	5.2	1.2
20	M-103	24.7	48.7	5.8	4.4	0.8
21	M-202	24.3	46.7	4.5	3.4	0.5
22	Italica Livorno	18.7	61.3	13.1	5.9	1.5
23	Maratelli	22.0	63.7	9.7	5.3	1.1
24	Arroze da Terra	19.7	65.0	9.2	5.3	1.3
25	USSR-8	19.7	51.3	10.0	4.9	1.6
26	Kakai203	20.0	54.7	10.3	5.8	1.6

1) 圃場直播試験において播種から5%出芽するまでに要した日数  
 2) 圃場直播試験において播種から49日後の苗立率  
 3) 育苗箱に乾粒で播種し平均水温13.7℃の冷水を51日間掛け流した

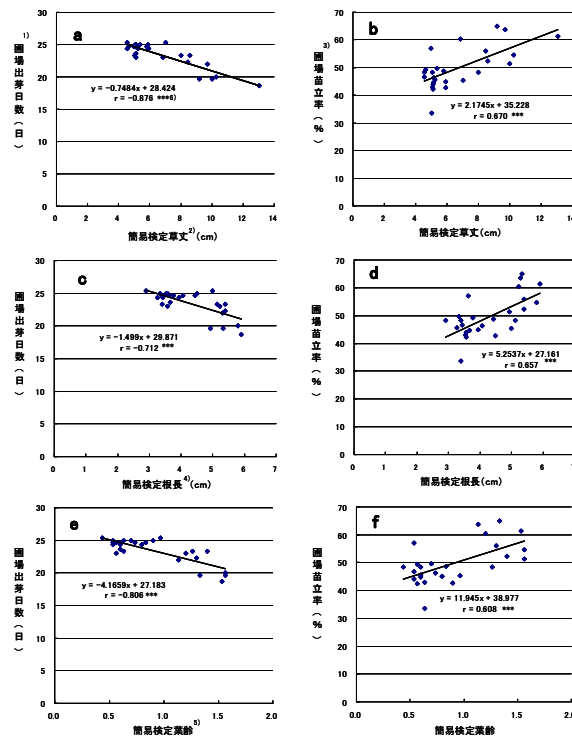
関 ( $r=0.876$ ,  $P<0.001$ )、低温苗立性簡易検定での草丈と圃場での出芽率との間には0.1%水準で有意な正の相関 ( $r=0.670$ ,  $P<0.001$ ) が認められた (第2-12図 a, b)。つまり、低温苗立性簡易検定での草丈が長い品種・系統は圃場での直播栽培での出芽が早く、苗立率も高い傾向にあった。また、低温苗立性簡易検定での根長と圃場での出芽日数、苗立率との関係、あるいは低温苗立性簡易検定での葉齢と圃場での出芽日数、苗立率との関係についても同様の相関関係が認められた (第2-12図 c, d, f)。すなわち、低温苗立性簡易検定で根長が長い葉齢が大きい品種・系統は圃場での直播栽培で出芽が早く、苗立率も高い傾向にあった。

### 3) 考察

低温苗立性簡易検定での草丈、根長、葉齢の3つのいずれの指標とも圃場での出芽日数、苗立率との相関が高かった。つまり、低温苗立性簡易検定で草丈、根長が長く、葉齢が大きい品種系統は圃場での直播栽培でも優れた出芽、苗立特性を発現することを示している。このことから、低温苗立性簡易検定は圃場直播栽培における低温苗立性の簡易検定法として有効であると考えられた。

また、本実験では播種深度1cm、水深2cm、設定処理水温15℃ (実績13.7℃)、処理期間約51日の処理条件で行い品種・系統間に明確な差がみられたため、

この条件での検定が可能であると考えられた。しかし、



第2-12図 低温苗立性簡易検定と圃場直播試験との関係

- 1) 圃場直播試験において播種から5%出芽するまでに要した日数
- 2) 低温苗立性簡易検定(育苗箱に乾粒播種し13.7℃冷水を51日間掛け流し処理)における草丈
- 3) 圃場直播試験において播種から49日後の苗立率
- 4) 低温苗立性簡易検定処理後の根長
- 5) 低温苗立性簡易検定における葉齢

より精密な検定を行うために処理条件の検討を重ねて行く必要があると考えられる。

低温苗立性簡易検定で調査した草丈、根長、葉齢のいずれの指標も圃場での出芽日数、苗立率と高い相関関係にあることから、3つの指標のうちいずれか1つを調査することで低温苗立性を検定できるものと考えられる。この中で、根はサンプリングの際に断根する機会が多く技術と時間を要するため、より簡便に検定するためには草丈か葉齢を調査することが適当であると考えられた。

### 2-5-2 低温苗立性に関する遺伝資源の探索

低温苗立性について、堀末 (1995) は日本品種内では変異が小さく、それらの改良には広範な遺伝資源の利用が不可欠であるとしている。そこで本実験では国内外の26品種・系統の中から低温苗立性について優良な遺伝資源を探索することを目的とした。

#### 1) 材料および方法

1. 低温苗立性簡易検定法の開発と共通である。

#### 2) 結果

第2-13表に供試した26品種・系統の圃場直播試験での5%出芽日数を示した。供試した品種・系統のうち Italica Livorno が18.7日で最も早く出芽し、あきた



第2-13表 圃場直播試験における5%出芽日数の品種比較

順位	品種・系統名	圃場試験5%出芽日数 <sup>1)</sup> (日)
1	Italica Livorno	18.7 a
2	Arroze da Terra	19.7 a
3	USSR-8	19.7 a
4	Kakai203	20.0 a
5	Maratelli	22.0 b
6	S-101	22.3 b
7	アキヒカリ	23.0 b c
8	S-201	23.0 b c
9	秋系434	23.3 b c d
10	秋系467	23.3 b c d
11	秋系468	23.3 b c d
12	ふ系185号	23.7 b c d e
13	奥羽352号	24.3 c d e
14	系6061	24.3 c d e
15	M-202	24.3 c d e
16	でわひかり	24.7 c d e
17	ヨネシロ	24.7 c d e
18	青系129号	24.7 c d e
19	秋系433	24.7 c d e
20	M-103	24.7 c d e
21	吟の精	25.0 d e
22	秋田62号	25.0 d e
23	秋系399	25.0 d e
24	秋系466	25.0 d e
25	あきたこまち	25.3 e
26	秋系431	25.3 e

<sup>1)</sup>播種から5%出芽するまで要した日数  
同一の英小文字は5%水準で有意差なし(最小有意差法)

第2-14表 圃場直播試験における49日後苗立率の品種比較

順位	品種・系統名	圃場試験苗立率 <sup>1)</sup> (%)
1	Arroze da Terra	65.0 a
2	Maratelli	63.7 a b
3	Italica Livorno	61.3 a b c
4	S-201	60.3 a b c
5	でわひかり	57.0 a b c d
6	S-101	56.0 a b c d e
7	Kakai203	54.7 a b c d e f
8	秋系467	52.3 a b c d e f
9	USSR-8	51.3 b c d e f
10	秋系399	49.7 c d e f
11	ヨネシロ	49.3 c d e f
12	M-103	48.7 c d e f
13	秋系431	48.3 c d e f
14	秋系433	48.3 c d e f
15	秋系468	48.3 c d e f
16	M-202	46.7 d e f g
17	青系129号	46.3 d e f g
18	奥羽352号	45.7 d e f g
19	あきたこまち	45.3 d e f g
20	系6061	45.0 d e f g
21	ふ系185号	44.7 d e f g
22	吟の精	44.0 d e f g
23	秋系466	43.0 e f g
24	秋田62号	42.7 e f g
25	アキヒカリ	42.3 f g
26	秋系434	33.7 g

<sup>1)</sup>播種から49日後の苗立率  
同一の英小文字は5%水準で有意差なし(最小有意差法)

こまち、秋系 431 が 25.3 日で出芽まで最も日数がかかった。Italica Livorno と同程度に出芽が早かった品種・系統として Arroze da Terra、USSR-8、Kakai203 が、準ずる品種・系統として Maratelli、S-101、アキヒカリ、S-201、秋系 434、秋系 467、秋系 468、ふ系 185 号が挙げられる。

第 2-14 表に供試した 26 品種・系統の圃場直播試験での 49 日後苗立率を示した。供試した品種・系統の

第2-15表 低温苗立簡易検定における草丈の品種比較

順位	品種・系統名	低温苗立性簡易検定の草丈 <sup>1)</sup> (cm)
1	Italica Livorno	13.1 a
2	Kakai203	10.3 b
3	USSR-8	10.0 b c
4	Maratelli	9.7 b c
5	Arroze da Terra	9.2 b c
6	秋系467	8.6 b c d
7	S-101	8.5 b c d
8	秋系468	8.0 c d
9	あきたこまち	7.0 d e
10	S-201	6.8 d e
11	系6061	5.9 e f
12	秋田62号	5.9 e f
13	M-103	5.8 e f
14	秋系399	5.4 e f
15	奥羽352号	5.2 e f
16	青系129号	5.2 e f
17	ふ系185号	5.1 e f
18	アキヒカリ	5.1 e f
19	吟の精	5.1 e f
20	秋系433	5.1 e f
21	秋系466	5.1 e f
22	秋系434	5.0 e f
23	でわひかり	5.0 e f
24	ヨネシロ	4.6 f
25	秋系431	4.6 f
26	M-202	4.5 f

<sup>1)</sup>冷水(平均水温13.7°C)を51日間掛け流し処理後の草丈  
同一の英小文字は5%水準で有意差なし(最小有意差法)

うち Arroze da Terra が 65.0 % で最も苗立率が高く、秋系 434 が 33.7 % で苗立率が最も低かった。Arroze da Terra と同程度に苗立率が高かった品種・系統として Maratelli、Italica Livorno、S-201、でわひかり、S-101、Kakai203、秋系 467 が見いだされた。

第 2-15 表に供試した 26 品種・系統の低温苗立性簡易検定での草丈を示した。供試した品種・系統のうち Italica Livorno が 13.1cm で最も草丈が高く、M-202 が 4.5cm で最も低かった。Italica Livorno に準ずる品種・系統として Kakai203、USSR-8、Maratelli、Arroze da Terra、秋系 467、S-101 があつた。

### 3) 考察

圃場直播試験において 5 % 出芽日数、49 日後苗立率が優れる複数の品種・系統が見出された。これら多くはヨーロッパ品種であった。三浦 (2003) はヨーロッパ品種の Italica Livorno、Maratelli、Arroze da Terra、Kakai203 などを低温発芽性が優れる遺伝資源である報告している。また、椛木ら (1990) はやはりヨーロッパ品種が低温伸長性の遺伝資源として利用できるとしている。低温発芽性や低温伸長性は低温苗立性の優劣を左右する形質の 1 つであるとの報告があり、本実験の結果と一致する。このことから、本実験で探索された品種・系統は低温苗立性の遺伝資源として有効であると考えられる。

また、共通の品種・系統を用いて低温苗立性簡易検定によって低温苗立性を評価したところ、圃場直播試験とほぼ同一の品種・系統が苗立性良好と評価され、

これらが安定した形質発現を示す有望は遺伝資源であることが確認された。

これらのことから、Italica Livorno、Kakai203、Maratelli、Arroze da Terra、秋系467、S-101が圃場直播試験において5%出芽日数、49日後苗立率および低温苗立性簡易検定における草丈のいずれも優れ、低温苗立性の遺伝資源として特に有望であると判断された。

### 2-5-3 低温苗立性簡易検定を利用した直播適応性系統の育成

前節で見いだした低温苗立性に優れる外国品種を交配母本とし、かつ冷水掛け流しによる低温苗立性簡易検定を用いることで直播適応性を持つ実用品種の育成を試みた。本研究では、外国品種の中から Maratelli と Italica Livorno を交配母本として低温苗立性に優れる系統として育成を進めた15系2181と秋系580について、それらの育成経過と主要特性、実用性について述べる。

#### 1) 15系2181の育成

##### (1) 育成経過

第2-16表に15系2181の育成経過を示す。育種目標は秋田60号の障害型耐冷性と Maratelli の低温苗立性をあきたこまちに導入して、良質・良食味の直播適応性品種を育成することであった。しかし、Maratelli は草姿不良で倒伏に弱く、脱粒性があり玄米に褐色の色素を有するなど目標達成のためには多くの改良が必要と考えられた。

15系2181は1996年に秋田60号を母、Maratelli を父として人工交配し、さらに1997年、1998年にそれぞれあきたこまちを花粉親として交配した組合せ後代から選抜、固定を進めてきた系統である。1999年にBC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>世代、2000年にBC<sub>1</sub>F<sub>2</sub>世代から低温苗立性簡易検定により13個体を個体選抜した。さらに、2001年にはBC<sub>1</sub>F<sub>3</sub>世代から単独系統選抜、2002年にはBC<sub>1</sub>F<sub>4</sub>世代から系統群系統として選抜を続け、低温苗立性簡易検定、直播生産力検定、耐冷性検定を行い、複数の

有望系統を選抜した。このうちの1系統が15系2181である。

##### (2) 低温苗立性

低温苗立性簡易検定における冷水掛け流し期間および平均水温は、2002年が4月12日～6月3日(53日間)で14.3℃、2003年が4月10日～6月5日(57日間)で14.7℃であった。検定の結果を第2-17表に示した。

全ての品種・系統が2002年よりも2003年の方が草丈、根長、葉齢ともに大きな値を示した。しかし、2カ年の実験において品種・系統間の優劣の関係には大きな違いは見られなかった。2002年の低温苗立性簡易検定において15系2181は草丈が9.8cmとあきたこまち、Maratelli よりも高く、根長、葉齢ともに Maratelli を上回り優れた低温苗立性を示した。2003年の草丈は13.1cmと Maratelli には及ばなかったもののあきたこまちより明らかに高かった。また、葉齢については2.3であきたこまち、Maratelli より進んでいた。

##### (3) その他の主要特性

15系2181の主要特性は第2-18表のとおりである。15系2181の圃場での苗立率はあきたこまちを上回ったが32.7%と低かった。熟期は出穂期が8月9日、成熟期が10月1日で、ともにあきたこまちより5日早く、早生の早に属する。稈長は61.3cmであきたこまちよりやや短く、穂数は423本m<sup>2</sup>であきたこまち並であり、草型は偏穂数型に属する。耐倒伏性はあきたこまちより改善されているが、いもち病に弱く、障害型耐冷性もあきたこまちより弱い"やや弱"であった。玄米収量(篩目1.85mm)が33.7kga<sup>-1</sup>とあきたこまちよりやや少なかったものの、玄米千粒重は23.2gでありあきたこまちより玄米は大きかった。玄米の外観は Maratelli のように褐色の色素を呈することはなかったが、品質はあきたこまちが4.0(2等上)に対し15系2181は9.0(3等下)と明らかに不良であった(第2-13図)。

第2-16表 「15系2181」の育成経過

年次	世代	経 過
1996	交配	「秋田60号/Maratelli」結実7粒/交配穎花数56粒
1997	交配	「秋田60号/Maratelli//あきたこまち」結実157粒/交配穎花数257粒
1998	交配	「秋田60号/Maratelli//2*あきたこまち」結実56粒/交配穎花数59粒
1999	BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub>	低温苗立性簡易検定による個体選抜
2000	BC <sub>1</sub> F <sub>2</sub>	↓
2001	BC <sub>1</sub> F <sub>3</sub>	系統選抜
2002	BC <sub>1</sub> F <sub>4</sub>	↓ 低温苗立性簡易検定による系統評価
2003	BC <sub>1</sub> F <sub>5</sub>	↓ 生産力検定, 特性検定

第2-17表 「15系2181」の低温苗立性

年次	品種・系統名	低温苗立性簡易検定 <sup>1)</sup>		
		草丈 (cm)	根長 (cm)	葉齢
2002年				
	あきたこまち	4.8	—	—
	Maratelli	8.0	4.2	1.1
	15系2181	9.8	5.9	1.7
2003年				
	あきたこまち	9.4	7.1	1.5
	Maratelli	18.6	7.9	2.0
	15系2181	13.1	6.3	2.3



1) 播種:育苗箱乾籾播種

処理条件:水深約2cm, 冷水(2003年14.3℃, 2004年14.7℃)を掛け流し

処理期間:2003年 53日間, 2004年 57日間

調査項目:草丈, 葉齢, 根長

第2-13図 「15系2181」及び両親の玄米

玄米品質検査等級

Maratelli:規格外 15系2181:9.0(3等下) あきたこまち:4.0(2等上)

第2-18表 「15系2181」の主要特性

年次	品種・系統名	苗立率 %	出穂期 月/日	成熟期 月/日	成熟期			倒伏 <sup>1)</sup> 0~5	穂いもち <sup>2)</sup> 0~5	耐冷性	玄米重 kga <sup>-1</sup>	千粒重 g	品質 <sup>3)</sup> 1~9
					稈長 cm	穂長 cm	穂数 本m <sup>-2</sup>						
2003年													
	あきたこまち	19.4	8/14	10/6	65.9	17.7	423	1.3	1.3	中	35.9	22.5	4.0
	15系2181	32.7	8/9	10/1	61.3	17.0	423	0.7	2.3	やや弱	33.7	23.2	9.0

1),2)倒伏・穂いもち:0(無)~5(甚)

3)品質:1(1等上)~9(3等下)

第2-19表 「秋系580」の育成経過

年次	世代	経	過
1996	交配	「秋系321/Italica Livorno」結実4粒/交配穎花数103粒	
1997	交配	「秋系321/Italica Livorno//あきたこまち」結実213粒/交配穎花数224粒	
1998	交配	「秋系321/Italica Livorno//2*あきたこまち」結実92粒/交配穎花数116粒	
1999	BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub>	低温苗立性簡易検定による個体選抜	
2000	BC <sub>1</sub> F <sub>2</sub>	↓	
2001	BC <sub>1</sub> F <sub>3</sub>	系統選抜	
2002	BC <sub>1</sub> F <sub>4</sub>	↓	
2003	BC <sub>1</sub> F <sub>5</sub>	低温苗立性簡易検定による系統評価	
2004	BC <sub>1</sub> F <sub>6</sub>	↓	
		生産力検定, 特性検定	

第2-20表 「秋系580」の低温苗立性

年次	品種・系統名	低温苗立性簡易検定 <sup>1)</sup>		
		草丈 (cm)	根長 (cm)	葉齢
2002年				
	あきたこまち	4.8	—	—
	ItalicaLivoruno	11.2	4.8	1.4
	秋系580	10.5	6.5	1.8
2003年				
	あきたこまち	9.4	7.1	1.5
	ItalicaLivoruno	22.7	7.8	2.5
	秋系580	13.7	8.7	2.3

1) 播種:育苗箱乾籾播種

処理条件:水深約2cm, 冷水(2003年14.3℃, 2004年14.7℃)を掛け流し

処理期間:2003年 53日間, 2004年 57日間

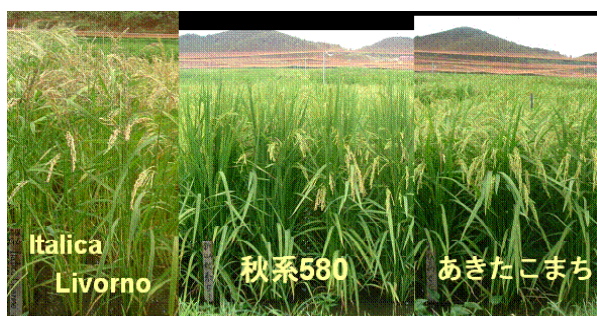
調査項目:草丈, 葉齢, 根長

第2-21表 「秋系580」の主要特性

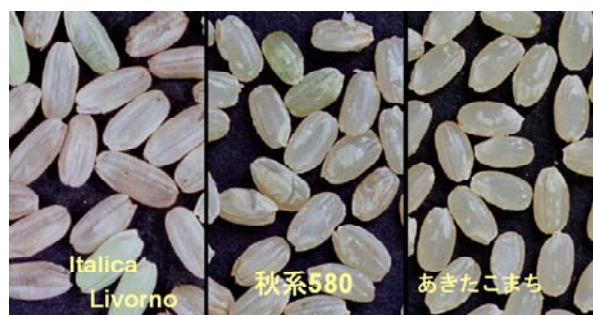
年次	品種・ 系統名	苗立率 %	出穂期 月/日	成熟期 月/日	成熟期			倒伏 <sup>1)</sup> 0~5	穂いもち <sup>2)</sup> 0~5	耐冷性	玄米重 kg <sup>a</sup> - <sup>1</sup>	千粒重 g	品質 <sup>3)</sup> 1~9
					稈長 cm	穂長 cm	穂数 本m <sup>-2</sup>						
2003年													
	あきたこまち	19.4	8/14	10/6	65.9	17.7	423	1.3	1.3	中	35.9	22.5	4.0
	秋系580	20.0	8/14	10/9	66.8	18.2	400	0.7	0.0	強	36.6	24.4	7.3
2004年													
	あきたこまち	74.7	8/8	10/4	68.5	18.5	393	3.0	0.7	中	43.9	21.5	6.4
	秋系580	63.3	8/7	10/1	70.7	18.5	362	2.0	0.0	強~やや強	54.4	23.6	9.0
平均													
	あきたこまち	47.1	8/11	10/5	67.2	18.1	408	2.2	1.0	中	39.9	22.0	5.2
	秋系580	41.7	8/10	10/5	68.8	18.4	381	1.4	0.0	強	45.5	24.0	8.2

1)、2)倒伏・穂いもち:0(無)~5(甚)

3)品質:1(1等上)~9(3等下)



第2-14図 「秋系580」および両親の成熟期の草姿



第2-15図 「秋系580」及び両親の玄米

玄米品質検査等級

Italice Livorno: 規格外 秋系580: 8.2(3等中) あきたこまち: 5.2(2等中)

## 2) 秋系 580 の育成

### (1) 育成経過

第 2-19 表に秋系 580 の育成経過を示した。育種目標は秋系 321 の障害型耐冷性と Italice Livorno の低温苗立性をあきたこまちに導入して、良質・良食味の直播適応性品種を育成することであった。しかし、Italice Livorno は草姿不良で倒伏に弱く、脱粒性があり玄米品質が悪いなど目標達成のためには多くの改良が必要とされた。

秋系 580 は 1996 年に秋系 321 を母、Italice Livorno を父として人工交配し、さらに 1997 年、1998 年にそれぞれあきたこまちを花粉親として交配した組合せ後代から選抜、固定を進めてきた系統である。そこで、1999 年に BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> 世代、2000 年に BC<sub>1</sub>F<sub>2</sub> 世代から低温苗立性簡易検定により 7 個体を個体選抜した。さらに、2001 年には BC<sub>1</sub>F<sub>3</sub> 世代から単独系統選抜、BC<sub>1</sub>F<sub>4</sub> 世代から系統群系統として選抜を続け、低温苗立性簡易検定、直播生産力検定、耐冷性検定を行い、複数の有望系統を選抜した。そのうちの 1 系統が秋系 580 である。

### (2) 低温苗立性

低温苗立性簡易検定における冷水掛け流し期間および平均水温は 2002 年が 4 月 12 日~6 月 3 日 (53 日間) で 14.3℃、2003 年が 4 月 10 日~6 月 5 日 (57 日間) で 14.7℃であった。検定結果を第 2-20 表に示

した。

全ての品種・系統が 2002 年よりも 2003 年の方が草丈、根長、葉齢ともに大きな値を示した。しかし、2 カ年の実験において品種・系統間の優劣の関係には大きな違いは見られなかった。2002 年の低温苗立性簡易検定において秋系 580 は草丈が 10.5cm とあきたこまちより明らかに高く Italice Livorno に近い値を示した。また、根長、葉齢ともに Italice Livorno を上回り優れた低温苗立性を示した。同様に、2003 年においても草丈は 13.7cm と Italice Livorno には及ばなかったもののあきたこまちより明らかに高く、根長と葉齢についてはあきたこまち、Italice Livorno より大きな値を示した。

### (3) その他の主要特性

秋系 580 の主要特性は第 2-21 表のとおりである。直播生産力検定は 2003 年、2004 年の 2 カ年にわたって実施した。秋系 580 の圃場での苗立率は 2003 年、2004 年ともに低くあきたこまちに対して優位性を見いだせなかった。2003 年は苗立率 20.0% と特に低かった。熟期は出穂期が 8 月 10 日、成熟期が 10 月 5 日で、ともにあきたこまち並で早生の晩に属する。稈長は 68.8cm、穂長は 18.4cm でいずれもあきたこまち並、穂数は 381 本 m<sup>2</sup> であきたこまちよりやや少なく、Italice Livorno の不良な草姿が大幅

に改善された(第2-14図)。倒伏程度が1.4でありあきたこまちより倒伏には強く、穂いもち病の罹病は確認されなかった。また、障害型耐冷性はあきたこまちより強い“強”であった。玄米収量(篩目1.85mm)は45.5kg<sup>a</sup>となりあきたこまちより約14%多かった。また、玄米千粒重は24.0gとなりあきたこまちより2g重かった。これに対して、玄米品質はあきたこまちが5.2(2等中)に対し秋系580は8.2(3等中)と明らかに不良であった(第2-15図)。

### 3) 考察

低温苗立性簡易検定において供試した全ての品種・系統が2002年よりも2003年の方が草丈、根長、葉齢ともに大きな値を示した。これは2003年の方が2002年に比較して冷水掛け流し期間が長く、かつ冷水の平均水温が高かったためと思われる。しかし、2カ年の実験で品種・系統間の優劣の関係には大きな違いが見られず、本実験に用いた低温苗立性簡易検定の精度が高いと考えられた。そして、15系2181と秋系580は2カ年ともあきたこまちよりも明らかに優れた外国稲並の低温苗立性を示した。このことから15系2181、秋系580の育成によって外国稲の優れた低温苗立性を日本稲に導入することに成功したものと考えられた。

しかし、圃場直播試験における苗立率は2003年、2004年(15系2181は2003年のみ)ともに低く、あきたこまちに対して優位性を見いだせなかった。これは、低温苗立性以外にも播種後の苗立を左右する要因が存在していることを示している。圃場直播試験の試験条件を低温苗立性簡易検定の条件と比較すると、播種深度、播種後の水深ともに深く、また、止水である。そのため、土中出芽性(土壤還元抵抗性)も苗立に大きく影響していると考えられる。また、秋系580の苗立率の年次間差が大きいのは、2003年の播種時に圃場の砕土率にムラがあり均平もとれていなかったことから播種深度、播種後の水深ともに深く還元条件となり、2004年と比較して苗立不良となったためと考えられる。

これら2系統は低温苗立性以外にも優れた特性を示した。15系2181はあきたこまちと比較して熟期が“早生の早”と早いこと、稈長が短く倒伏に強いことも実際の直播栽培では有利であると考えられた。また、秋系580は熟期があきたこまち並の早生であること、あきたこまちよりも耐倒伏性が改良されたことが実際の直播栽培では有利であると考えられた。さらに、あきたこまちと比較してももち病抵抗性、耐冷性が明らかに強いなど優れた特性を示した。

しかし、2系統ともにあきたこまちと比較して玄米品質が極めて不良であるなど不利形質も多く、実用品種としては不十分であると判断された。これは外国稲の持つ低温苗立性遺伝子と品質を低下させる遺伝子と

の連鎖が強く、これらを分別して選抜できなかったことに起因するものと考えられる。

近年、QTLの検出を可能にするDNAマーカーが開発されたことにより(Yano and Sasaki 1997)、外国稲の低温苗立性遺伝子とそれに連鎖する劣悪形質の遺伝子との間で組み換えが起きている個体をDNAマーカーを指標とすることで積極的に選抜することができると考えられる。これを利用することで良質・良食味の日本稲に外国稲の低温苗立性のみを導入することが可能である。このことから、これら劣悪形質を排除し実用的な直播適応性品種育成のためにはDNAマーカー選抜が有効であり、その開発のためには低温苗立性に関するQTL解析が不可欠であると考えられる。

### 2-6 まとめ

秋田県農林水産技術センター農業試験場では多様な消費者ニーズに応え、かつ農家経営に貢献できる水稲品種の育成を目指してきた。そのために、(1)良質・良食味の銘柄米、(2)新形質米、(3)酒造好適米、(4)超多収品種、(5)直播適応性品種の5つを米の品種改良の柱として育種事業を進めている。この研究プロジェクトの中で交配による品種育成を進めてきた。

銘柄米品種の開発については、耐冷性、耐病性を兼ね備えた良質・良食味品種の育成を目指してきた。これを達成するためには、耐冷性、耐病性などの特性検定については検定法の改良と圃場規模の拡大、また、食味については物性および成分による多検体検定の導入により選抜の効率化を図ってきた。このような方針のもとで育成された秋田89号は、耐冷性、耐病性ともに強く栽培しやすいこと、収量性が高いことなどから安定多収が可能な良質・良食味品種である。また、現在、育成中の系統も耐冷性、耐病性や品質、食味、いずれもかなり高いレベルにあり、秋田89号に続く優良品種の誕生が期待される場所である。

酒造好適米品種の開発については醸造特性の向上が課題であった。そこで、秋田県農業試験場、秋田県醸造試験場、秋田県酒造組合の三者共同体制による酒造好適米新品種開発事業を開始し、若い世代から酒造特性で選抜することにより解決した。酒造好適米新品種開発事業では4品種を育成し、その中でも事業の集大成である秋田酒こまちの育成によりその目標は達成された。事業は2003年度をもって終了したが、秋田県農林水産技術センター総合食品研究所(旧秋田県醸造試験場)と連携した酒造特性による系統選抜は継続している。今後はより醸造特性の優れた酒米品種、あるいは新しい特性を持った酒米品種の育成を目指す。

直播適応性品種の開発については外国品種の低温苗立性の導入を目指して、低温苗立性簡易検定を開発し選抜に利用した。外国品種の低温苗立性を日本稲に導入することには成功し、育種戦略としては誤りではな

かったと言える。しかし、育成系統は品質が劣るなど実用品種としては不十分であり、新たな育種戦略の構築が必要であると考えられる。

このように秋田県農業試験場では生産者あるいは実需者が必要とする実用品種育成のために、明確な育種目標を掲げ品種改良に取り組んできた。その達成のためには解決すべき多くの課題があったが、業務体制を見直したり選抜手法に改良を加えることなどで克服してきた。すなわち、実用品種育成のためには育種戦略の構築がいかに重要かということを示している。本章で紹介した優れた品種はこのような地道な取り組みの成果である。今後も普及品種の育成を第一とし、戦略を持った育種を行うことが重要と考える。

### 3 低温苗立性に関する QTL 解析

#### 3-1 抄録

低温苗立性の優れた遺伝資源である Maratelli と Italice Livorno の持つ低温苗立性のみを日本品種に導入するための DNA マーカーを開発するため、Maratelli と Italice Livorno の 2 品種にあきたこまちを交配して得た F<sub>3</sub> 系統群を用いて低温苗立性に関わる形質の QTL 解析を行った。

Maratelli/あきたこまちの後代で 2 ヶ所の低温苗立性の QTL が検出された。また、低温発芽性の QTL が 4 ヶ所、低温伸長性の QTL が 1 カ所検出された。低温発芽性の 1 カ所の QTL を除き、これらの QTL では外国稲の対立遺伝子が表現型を良好にする方向に働いていた。このことから、低温苗立性、低温発芽性および低温伸長性について日本品種が持たない新規の遺伝子を Maratelli が持つ可能性があり、検出された QTL を導入することでこれら形質の改良ができると期待された。

Italice Livorno/あきたこまちの後代では低温苗立性の QTL が 2 ヶ所、低温発芽性の QTL が 2 ヶ所、低温伸長性の QTL が 1 カ所検出された。これら QTL はいずれも Italice Livorno の対立遺伝子が表現型を良好にする方向に働いていることから、これらの形質を高める遺伝子を Italice Livorno が持つ可能性があり、検出された QTL を導入することでこれら形質の改良ができると期待された。

いずれの集団においても低温発芽性と低温苗立性との間に有意な相関関係が認められたが、低温伸長性と低温苗立性との間には相関関係が見られなかった。さらに、低温発芽性の QTL と低温苗立性の QTL とが同一の染色体上に検出されたことから、低温発芽性がその後の低温苗立性に対しより大きな影響を与えていると考えられた。これらのことから、低温苗立性を改良する場合、Maratelli や Italice Livorno の低温発芽性に関与する QTL (qGL-3-1、qGL-3-2、qGL-3-3、qGL-3-4、

qGL-11-1) を利用することで低温苗立性を高められる可能性が示された。

#### 3-2 緒言

世界の温帯地域、南・東南アジア高地の稲作地帯において、イネの生育ステージ全般を通じて低温ストレスが大きな問題となっており、低温耐性の導入は非常に重要である (Sthapit and Witcombe 1998)。これまで幼植物期、生殖生長期の低温耐性に焦点を絞った育種の試みがなされ、収量性向上に大いに貢献してきた。日本においても穂ばらみ期耐冷性に関してはその育種の成果がめざましく、稲作の北上を可能にした。しかしながら、移植栽培が一般的である日本では直播栽培した場合の低温苗立性について、ほとんど育種が進んでいない。近年、移植栽培は労力やコストがかかることから直播栽培の普及が奨められており、そのための低温苗立性を改良した直播適応性品種の育成が必要となってきている。

第 2 章で述べたとおり秋田県農林水産技術センター農業試験場ではこれまでに低温苗立性の優れた外国稲 Maratelli と Italice Livorno を交配母本として用いるとともに低温苗立性簡易検定を開発し選抜を行ってきた。しかし、従来の表現型による選抜だけでは低温苗立性の改善は難しく、未だ実用的な系統の作出には至っていない。これは低温苗立性の複雑な遺伝様式に起因するものと考えられ、Redona and Mackill (1996a、b) も低温苗立性は高い遺伝率を示すがその遺伝様式は複雑であると報告している。また、近代的な半矮性品種の低温苗立性を遺伝的に改良することは困難であるとする報告もある (David and Peterson 1976、Mgonja et al. 1993)。これはイネの低温苗立性にはいくつかの量的形質が関連しているためと考えられる (McKenzie et al. 1980)。これまでに稲の低温苗立性の優劣の要因として低温発芽性 (佐々木 1974、Miura et al. 2001、Fujino 2004、Fujino et al. 2004) や低温伸長性 (Peterson et al. 1978、Turner et al. 1982、Dilday et al. 1990、Ogiwara and Terashima 2001)、苗腐病抵抗性 (田中ら 1991) など複数の形質が報告されている。

近年、低温苗立性のような複雑な形質であっても遺伝子地図に基づく解析によりその遺伝的相互作用を明らかにし、遺伝子の作用として説明できるようになってきた。つまり、DNA マーカーを用いた QTL 解析が遺伝子の同定と量的形質を制御する遺伝子座の解析を可能にした (Yano and Sasaki 1997)。また、検出された QTL に連鎖する DNA マーカーを利用することによるマーカー選抜を可能にした。DNA マーカー選抜は低温苗立性とその他の劣悪形質とを分別して選抜できる利点もある。これらのことから、実用的な直播適応性品種育成のためには DNA マーカー選抜が有効であり、その開発のために低温苗立性に関する QTL 解

析が不可欠であると考えられる (Soller and Beckmann 1983、矢野 1991、鶴飼 2000)。

そこで、本章では低温苗立性の優れた遺伝資源である Maratelli と Italica Livorno を用いてそれらの持つ低温苗立性を制御する遺伝子と連鎖する DNA マーカーを開発することを目的として QTL 解析を行った。

### 3-3 Maratelli/あきたこまち後代 F<sub>3</sub> 系統群を用いた低温苗立性の QTL 解析

第 2 章で述べたとおりヨーロッパ品種の Maratelli は優れた低温苗立性を示す。また、Maratelli を母本として育成された系統 15 系 2181 も低温苗立性が優れていることから、Maratelli は低温苗立性を良好にする遺伝子を有していると考えられる。そこで、本実験では Maratelli/あきたこまち後代の F<sub>3</sub> 系統群を用いて低温苗立性の QTL 解析を試みた。

#### 3-3-1 材料および方法

##### 1) 供試材料

低温苗立性が優れる Maratelli と低温苗立性が劣るあきたこまち、および Maratelli/あきたこまち後代 F<sub>3</sub> 世代 120 系統を供試した。F<sub>3</sub> 系統の種子は秋田県農林水産技術センター農業試験場の慣行法により生産した。2002 年 4 月、32 °C、24 時間で催芽した F<sub>2</sub> 種子を育苗箱に播種し育苗ハウス内で育苗した。約 4 週間育苗した後、代掻きした水田に F<sub>2</sub> 世代の 120 個体を移植し、2002 年 9 月に F<sub>3</sub> 世代の種子を採種し 120 系統を得た。

##### 2) 低温苗立性の表現型評価

低温苗立性の評価は低温苗立性簡易検定によって 2003 年と 2004 年の 2 カ年に行った。実験は気温が昼 25 °C/夜 20 °C 条件下の温室内で、かけ流しする灌漑水の平均水温を 15 °C とし、乾籾を用いて行った。

600 × 300 × 30mm の育苗箱にペーパーポット (ニッテンペーパーポット 10 号) を設置し、72 区 (50 × 50mm) に分割した。F<sub>3</sub> 系統群は各系統の成熟した種子を 20 粒選り育苗箱内の分割した各区にそれぞれ播種した。播種後、育苗箱を 50 日間冷水かけ流し処理した。低温苗立性は低温苗立性簡易検定における草丈によって評価した。低温苗立性に関する実験を 2 カ年にわたって実施したのは、より多くの遺伝子型系統を評価するためである。また、コントロールとして同じシステムを用いて水温 25 °C としたときの草丈を常温苗立性として評価した。形質の安定性や広義の遺伝率を確認するために、両親である Maratelli とあきたこまちをそれぞれの実験毎に 6 反復供試した。

##### 3) DNA 抽出

完全展開した生葉約 1mg をサンプリングし、その

葉切片から赤木 (2000) の方法に従い DNA を抽出した。サンプリングしたイネの葉の先端を 65 °C で 1 時間風乾後、Micro Smash (トミー精工) を用いてステンレスボール (φ 3mm) により完全に粉碎した。簡易抽出バッファー (1M Tris-HCl (pH8.0)、5M NaCl、0.5M EDTA (pH8.0)、10% SDS) (Edwards et al. 1991) を 400 μL 加え、ミキサーを用いて 3 分間攪拌した後、室温で 1 時間放置した。13,000rpm で 5 分間遠心し、組織の残渣を沈殿させた。上清 300 μL を 1.5 ml エッペンドルフチューブに移し、等量のイソプロパノールを加えて混合した。室温で 20 分間放置した後、13,000rpm で 10 分間遠心した。チューブ内の液を捨て乾燥した後、DNA を 100 μL の TE buffer (10mM Tris-HCl, pH8.0, 1mM EDTA) に溶解した。

##### 4) PCR 及び電気泳動

PCR (Polymerase Chain Reaction) には GeneAmp9600 または GeneAmp9700 (Perkin-Elmer 社) を使用した。反応液 20 μL 中には 10mM Tris-HCl (pH8.3)、50mM KCl、1.5mM MgCl<sub>2</sub> buffer、4 nM dNTPs、0.25 unit rTaq (TAKARA)、20pM プライマーが含まれる。マイクロサテライトを増幅する 550 組のプライマーを使用し、反応液には Forward プライマーと Reverse プライマーを各 10pM 添加した。この反応液に DNA を 1 μL 添加して以下の条件で PCR を行った。PCR サイクルは 94 °C、2 分 → (94 °C、10 秒 → 55 °C、30 秒 → 72 °C、1 分) × 35 サイクル → 72 °C、10 分 → 4 °C とした。PCR 増幅産物は 3% MetaPhor Agarose (FMC) を用い、TBE buffer 中で定電圧 150V にて 1 時間泳動して分画した。分子量マーカーには 20 base pair ladder (TAKARA) を使用した。

##### 5) 遺伝子地図の作成及び QTL 解析

解析した各マーカーの遺伝子型のデータをもとに MAPMAKER/EXP ver. 3.0 (Lander et al. 1987) を用いて遺伝子地図の作成を行った。F<sub>2</sub> 世代における SSR マーカーの遺伝子型の期待分離比は共優性マーカーの 1:2:1 または優性マーカーの 3:1 と異なるので、マーカー毎に期待分離比に対する適合度をカイ 2 乗検定で評価した。期待分離比が 1:2:1 または 3:1 の計 89 マーカーを対象にゲノム内の分離比を 5% 水準 (α=0.05) でカイ 2 乗検定するため、シーケンシャルボンフェローニ (ホルム) 補正したカイ 2 乗 (例 α'=0.05/89=0.0006) を閾値とし、適合度の有意性検定を行った (Rice 1989)。QTL 解析はソフトウェア Windows QTL Cartographer Version 2.5 (Wang et al. 2006) に組み込まれている複合区間マッピング (Composite Interval Mapping、CIM) 法を用いた。供試データの QTL の閾値は 1,000 回の並びかえ検定 (5% 水準) によって設定した。複数の QTL が検出さ

れた形質に関しては、Windows QTL Cartographer Version 2.5の多重区間マッピング (Multiple Interval Mapping) モデルによって寄与率を算出した。

### 3-3-2 結果

#### 1) F<sub>3</sub>系統群における低温苗立性の変異

両親または F<sub>3</sub> 系統群において低温苗立性に明確な変異が見られた (第 3-1 表、第 3-1 図 a、b)。2003 年の試験における低温苗立性は Maratelli は 103mm (75mm、2004 年) を示し、一方、低温苗立性の弱いあきたこまちでは 35mm (16mm、2004 年) であった。低温苗立性に関する 2 年間の QTL 解析結果から計算される広義の遺伝率は 2003 年では 0.770、2004 年では 0.859 といずれも高かった。

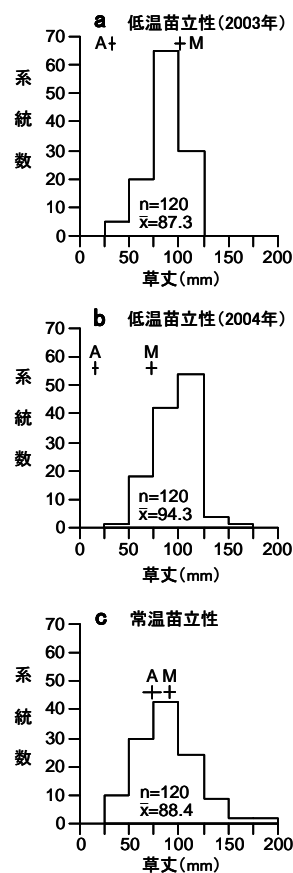
F<sub>3</sub> 系統群の低温苗立性は 2003 年では 30 ~ 121mm の範囲に、2004 年では 49 ~ 153mm の範囲に連続的に分布し、平均値はそれぞれ 87.3mm、94.3mm であった (第 3-1 表、第 3-1 図 a、b)。いずれの年次も両親を超越する系統が存在した。また、F<sub>3</sub> 系統群の低温苗立性における年次間相関は 5% 水準 ( $r=0.185$ ) で有意であった。

常温苗立性は Maratelli は 86mm を示し、あきたこまちでは 74mm であった。F<sub>3</sub> 系統群の常温苗立性は 33 ~ 184mm の範囲に連続的に分布し、平均値は 88.4mm であった (第 3-1 図 c)。両親を超越する系統も多く見られた (第 3-1 表、第 3-1 図 c)。

また、低温苗立性と常温苗立性の間には有意な相関関係は見られなかった (第 3-1 表)。

#### 2) マーカー (遺伝子型) の分離と遺伝子地図

最初に両親の DNA を用い 550 個の SSR マーカーの多型解析を行い、その内 100 個の SSR マーカーを用いて遺伝子地図の作成を行った。この中で、11 個のマーカーはマーカー間の距離が短かったため (3cM 未満 コサンビユニット) 除外し、最終的に 89 個の



第3-1図 「Maratelli/あきたこまち」後代F<sub>3</sub>系統群における低温苗立性および常温苗立性の度数分布

M:「Maratelli」の値 A:「あきたこまち」の値  
+: 中心は平均値、幅が標準偏差を表す  
n: 供試したF<sub>3</sub>系統数  $\bar{x}$ : 標準偏差

マーカーで遺伝子地図を作成した。マーカーはイネの 12 本の染色体に対応する 12 連鎖群として位置づけることができた (第 3-2 図)。マーカーはゲノム全体に散在し、マーカー間の平均距離は 26.5cM、遺伝子地図の全距離は 2,650cM となり、イネの全染色体をカバーする遺伝子地図を作成することができた (第 3-2 図)。第 2、5、7、8、9、12 染色体上のそれぞれ RM145-RM327、RM341-RM5631、RM5642-MRG348、RM214-RM234、RM6999-RM5637、RM3912-RM5786、RM5700-RM6123 間の遺伝的距離は大きく 50cM 以上あった。作成された遺伝子地図はイネゲノムの約 90

第3-1表 「Maratelli/あきたこまち」後代F<sub>3</sub>系統群における低温苗立性および常温苗立性

形質 <sup>1)</sup> (単位)	年次	Maratelli	あきたこまち	F <sub>3</sub> (範囲)	$h_B^2$ <sup>2)</sup>	$r$ <sup>3)</sup>
低温苗立性 (mm)	2003	103	35	87.3 (30-121)	0.770	-
低温苗立性 (mm)	2004	75	16	94.3 (49-153)	0.859	-
常温苗立性 (mm)	2004	86	74	88.4 (33-184)	0.752	0.136

1) 低温苗立性: 低温苗立性簡易検定 (水温 15°C) における草丈 (mm)

常温苗立性: 常温苗立性簡易検定 (水温 25°C) における草丈 (mm)

2) 広義の遺伝率を公式  $(V_P - V_E) / V_P$  で算出した。

3) 各形質と 2003、2004 年の低温苗立性 (mm) の平均値との相関係数を算出した。



%を網羅しており、何れの染色体の両端付近にはマーカーが得られた。また、5%水準で有意に期待分離比から外れたマーカーは第5染色体上のMRG4834のみであった。

### 3) QTL 解析

検出された QTL の染色体上の位置、相加効果、優性効果について第 3-2 表にまとめた。低温苗立性に関する QTL (QTL of Seedling vigor at the low temperature : 以降 qSVL) が第 3、11 染色体上に 1 つずつ見いだされた (qSVL-3-1、qSVL-11-1) (第 3-2 表、第 3-2 図)。

qSVL-3-1 は 2003 年、2004 年ともに検出され、第 3 染色体短腕上のマーカー RM3387 と RM6349 との間に検出された。qSVL-3-1 はあきたこまちの染色体を背景とする条件でがより大きな効果を示し、12.0-26.8%の寄与率であった。qSVL-11-1 はマーカー RM5716 と RM7277 との間に検出され、LOD 値 6.1、寄与率 15.9%であった。これら 2 つの QTL ともに Maratelli の対立遺伝子が低温苗立性を強くする方向に働いており、それら QTL の寄与率は全表現型の 41.5%であった (第 3-2 表、第 3-2 図)。

また、本実験では、常温苗立性に関する QTL は検出することができなかった。

第3-2表 「Maratelli/あきたこまち」後代F<sub>3</sub>系統群における低温苗立性QTLの染色体位置

QTL	染色体	マーカー <sup>1)</sup>	位置 <sup>2)</sup> (cM)	LOD値 <sup>3)</sup>	相加効果 <sup>4)</sup>	優性効果 <sup>5)</sup>	寄与率 <sup>6)</sup> (%)
低温苗立性(2003年)(閾値 LOD <sup>7)</sup> :4.2)							
qSVL-3-1	3	RM3387-RM6349	0.0	10.5	12.7	-9.7	26.8
qSVL-11-1	11	RM5716-RM7277	153.4	6.1	10.1	-2.7	15.9
						Total	41.5
低温苗立性(2004年)(閾値 LOD:3.8)							
qSVL-3-1	3	RM3387-RM6349	0.0	3.9	5.9	-11.3	12.0

1)QTL近傍のマーカー

2)染色体短腕側のマーカーからの距離(cM)

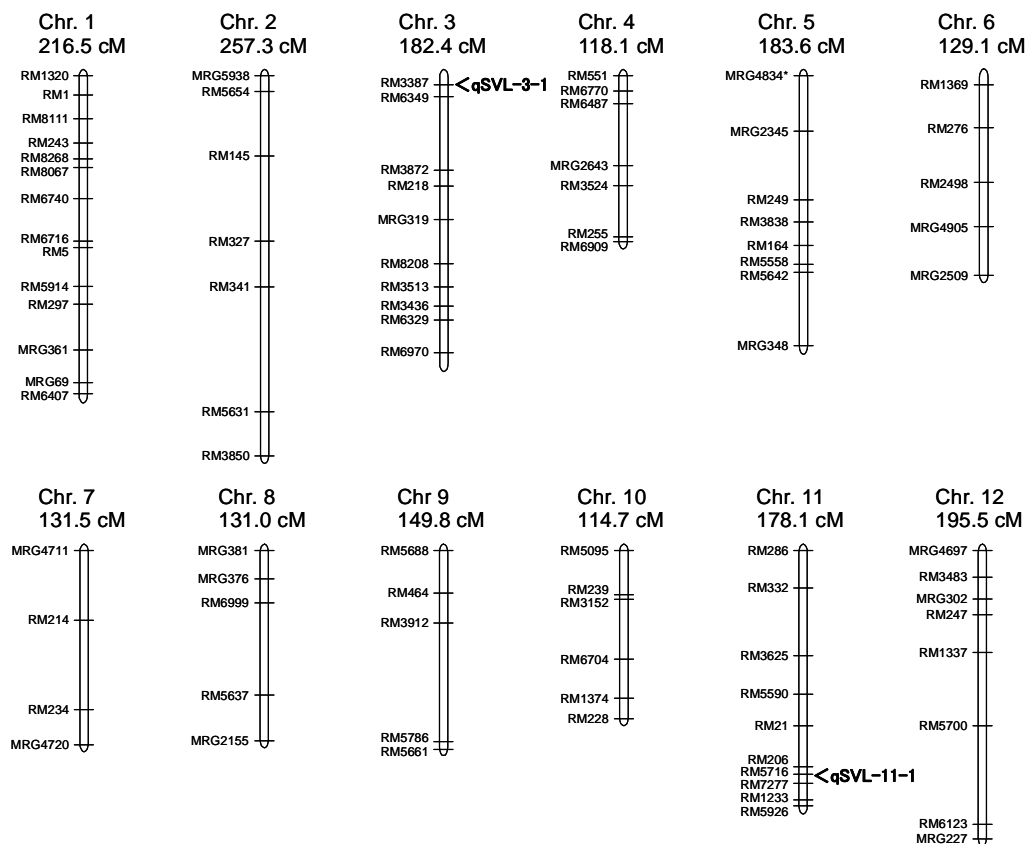
3)QTLのLOD値

4)遺伝子型が「あきたこまち」ホモ型から「Maratelli」ホモ型に置換したときの効果の1/2の値

5)優性の方向

6)全表現型に対する寄与率

7)1,000回の並びかえ検定(5%水準)で算出されたQTLの閾値



第3-2図 「Maratelli/あきたこまち」後代F<sub>3</sub>系統群の遺伝子地図と低温苗立性に関するQTLの位置

### 3-3-3 考察

F<sub>3</sub> 系統群での低温苗立性は連続的な変異を示し (第 3-1 図 a、b)、複数の遺伝子が関与する量的形質であることが示唆された。さらに、超越分離を示したことから (第 3-1 表、第 3-1 図 a、b)、Maratelli とあきたこまちの双方に低温苗立性を向上させる遺伝子が存在すると考えられた。しかしながら、本実験で検出された qSVL-3-1、qSVL-11-1 はいずれも Maratelli の対立遺伝子が低温苗立性を強くする方向に働いていた (第 3-2 表)。このことから、あきたこまちは本実験で検出できなかった作用力の小さな QTL を持つと考えられる。

本研究では、2003 年と 2004 年の 2 カ年に低温苗立性の QTL 解析を行った。しかしながら、それら 2 カ年の年次間相関は低かった ( $r=0.185$ ,  $P<0.05$ ) (第 3-1 表)。この年次間相関が低かった要因として、実験に供試した種子粒数 (1 区当たり 20 粒) が少なかったこと、各年次での実験を周りの気温や光に影響される開放条件下で実施したことが考えられる。このような条件でも低温苗立性に関して 2 つの QTL が検出されていることから、少なくともこれ以上の遺伝子が関与していると考えられた。さらには、2 カ年にわたって qSVL-3-1 は第 3 染色体短腕上の SSR マーカー RM3387 (359, 442-359, 581 bp physical map position in Gramene Annotated Nipponbare Sequence 2006、<http://www.gramene.org>) 近傍に検出された (第 3-2 表)。さらに、この QTL の寄与率は低温苗立性の表現型の 12.0-26.8% であり、低温苗立性の向上に高い効果を示すことが明らかとなった (第 3-2 表)。

また、F<sub>3</sub> 系統群での常温苗立性も連続的な変異を示し (第 3-1 図 c)、複数の遺伝子が関与する量的形質であることが示唆された。さらに、超越分離を示したことから (第 3-1 表、第 3-1 図 c)、Maratelli とあきたこまちの双方に常温苗立性を向上させる遺伝子が存在すると考えられた。しかし、常温苗立性に関する QTL は検出されず、さらに、低温苗立性との間に相関が見られないことから低温苗立性は常温苗立性とは異なる遺伝子で制御されていると考えられた。従って、低温苗立性の QTL が検出された QTL 領域には低温条件下で特異的に作用する遺伝子が座乗している可能性がある (第 3-2 表、第 3-2 図)。

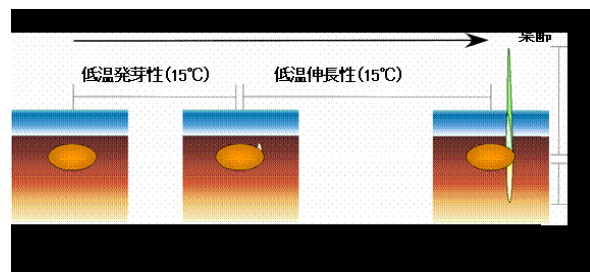
低温苗立性に関する複数の QTL の存在が示されたことから、これらを日本の良食味品種に導入し、低温苗立性の優れる良食味な直播適応性品種を育成することが期待される。さらに、QTL 近傍の DNA マーカーを指標としたマーカー選抜をそれらの育成に活用することが可能であると考えられる。

### 3-4 Maratelli/あきたこまち後代 F<sub>3</sub> 系統群を用いた低温発芽性、低温伸長性の QTL 解析

前節において Maratelli/あきたこまち後代 F<sub>3</sub> 系統群を用い低温苗立性の QTL 解析を行い、2 ヶ所の低温苗立性の QTL を検出した。同時に QTL 解析では検出できなかった作用力の小さな複数の遺伝子が低温苗立性に関与している可能性も示唆された。低温苗立性は幾つかの形質が複合して発現すると考えられることから、これらを明らかにするためには、低温苗立性に関連する幾つかの形質に分割して解析するのが有効である。

直播栽培における低温苗立性に関わる形質として、低温発芽性 (佐々木 1974) や低温伸長性 (Carnahan et al. 1972, Daivid and Peterson 1976, Li and Rutger 1980, Ogiwara and Terashima 2001)、苗腐病抵抗性 (田中ら 1991)、中茎伸長性 (勝田 1998)、土中出芽性 (土壤還元抵抗性) (福田ら 1997、太田ら 2003、山口ら 2007)、加齢による種子発芽能力の低下 (Yamauchi and Winn 1996) などの報告がある。イネの低温苗立性を改良するためにはこれら形質に関与する QTL 領域を明らかにし、それらの低温苗立性の向上に対する効果を検証することが重要である。実際の低温条件下での苗立の経過を見ると、乾粒で播種し正常な苗立ちに至るまで、低温下で種子が発芽し幼植物が伸長する過程を経る (第 3-3 図)。

本節では、低温苗立性をより詳細に解析するために、低温発芽性と低温伸長性の 2 つの形質に着目し、前節と共通の F<sub>3</sub> 系統群を用いてこれらの形質に関する QTL 解析を試みた。



第3-3図 イネの低温苗立の経過

### 3-4-1 材料および方法

#### 1) 供試材料

前節と共通の Maratelli/あきたこまち後代 F<sub>3</sub> 世代 120 系統および両親を供試した。

#### 2) 低温発芽性、低温伸長性の表現型評価

2003 年に Maratelli、あきたこまち及び F<sub>3</sub> 系統群の 15 °C での発芽性を調査した。1 系統・品種につき 25 粒の成熟した種子を濾紙を敷いた直径 60mm のペトリ皿内に置床し 7ml の蒸留水を加えた後、気温 15 °C、暗条件の恒温器で発芽させた。発芽粒数の調査は 1 日毎に 14 日間行った。コントロールとして 25 °C 条件下で同様に試験を行った。低温発芽性は 25 粒の平均発

第3-3表 「Maratelli/あきたこまち」後代F<sub>3</sub>系統群における低温発芽性および低温(常温)伸長性

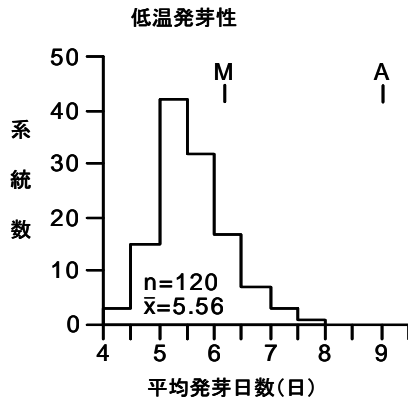
形質 <sup>1)</sup> (単位)	年次	Maratelli	あきたこまち	F <sub>3</sub> (範囲)	$h^2_B$ <sup>2)</sup>
低温発芽性(日)	2003	6.2	9.1	5.6(4.4-7.6)	-
低温伸長性(mm)	2005	69	35	49.2(27-66)	0.488
常温伸長性(mm)	2005	97	54	71.6(45-95)	0.909

1)低温発芽性:15°Cでの平均発芽日数(日)

低温伸長性:低温伸長性簡易検定(水温15°C)における第1葉鞘長(mm)

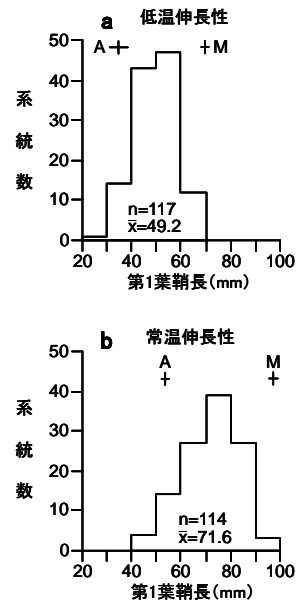
常温伸長性:常温伸長性簡易検定(水温25°C)における第1葉鞘長(mm)

2)広義の遺伝率を公式( $V_P - V_E$ )/ $V_P$ で算出した。低温発芽性の $V_P$ は算出していない。



第3-4図 「Maratelli/あきたこまち」後代F<sub>3</sub>系統群における低温発芽性の度数分布

M:「Maratelli」の値 A:「あきたこまち」の値  
 +: 中心は平均値, 幅が標準偏差を表す  
 n: 供試したF<sub>3</sub>系統数  $\bar{x}$ : 標準偏差



第3-5図 「Maratelli/あきたこまち」後代F<sub>3</sub>系統群における低温伸長性および常温伸長性の度数分布

M:「Maratelli」の値 A:「あきたこまち」の値  
 +: 中心は平均値, 幅が標準偏差を表す  
 n: 供試したF<sub>3</sub>系統数  $\bar{x}$ : 標準偏差

### 3-4-2 結果

1) F<sub>3</sub> 系統群における低温発芽性および低温(常温)伸長性の変異

両親または F<sub>3</sub> 系統群において低温発芽性および低温(常温)伸長性に明確な変異が見られた(第3-3表、第3-4図、第3-5図)。

Maratelli およびあきたこま치의低温発芽性、つまり、15°Cでの平均発芽日数は、それぞれ6.2日および9.1日であった。F<sub>3</sub> 系統群では4.4~7.6日の範囲で連続的に分布し、平均値は5.6日であった。両親を超越する系統も多く見られた(第3-3表、第3-4図)。

一方、幼植物の低温伸長性はMaratelliで69mm、あきたこまちで35mmであった。F<sub>3</sub> 系統群の低温伸長性は27~66mmの範囲に連続的に分布し、平均値49.2mmであった(第3-3表、第3-5図a)。また、常温伸長性はMaratelliで97mm、あきたこまちで54mmであった。F<sub>3</sub> 系統群の常温伸長性は45~95mmの範

芽日数で評価した。

低温伸長性を評価するために2005年に催芽粉と低温苗立性簡易検定を利用した。催芽種子は32°C、24時間、湿度100%条件で催芽したもので、低温発芽性の影響を排除し幼植物の低温伸長性のみを評価するために用いた。低温伸長性の評価は2005年の催芽粉を用いた実験による第1葉鞘長によって行なった。また、コントロールとして同じシステムを用いて水温25°Cとしたときの第1葉鞘長で常温伸長性についても評価した。形質の安定性や広義の遺伝率を確認するために、両親であるMaratelliとあきたこまちをそれぞれの実験毎に6反復供試した。

3) DNA抽出、PCR及び電気泳動及び遺伝子地図の作成及びQTL解析は3-3-1と同様の方法を用いた。

圃に連続的に分布し、平均値 71.6mm であった (第 3-3 表、第 3、5 図 b)。低温苗立性、常温苗立性ともに Maratelli を超越する系統は見られなかった (第 3-3 表、第 3-5 図)。

出された QTL の染色体上の位置、相加効果、優性効果について第 3-4 表にまとめた。

低温発芽性に関する QTL (QTL of Germinability at the low temperature : 以降 qGL) は第 1、3、11 染色体上に計 4 つ検出された (qGL-1-1、qGL-3-1、qGL-3-2、qGL-11-1) (第 3-4 表、第 3-6 図)。qGL-1-1 はマーカー RM5 と RM5914 との間に検出され、LOD 値 8.1、

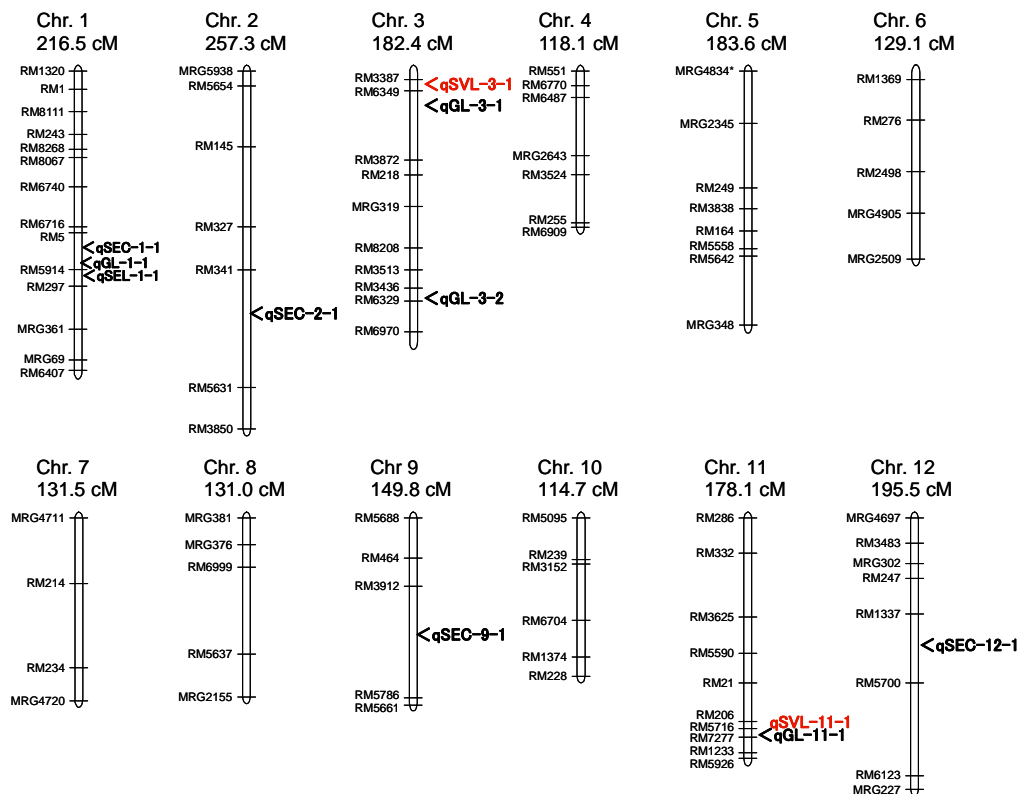
2) QTL 解析

QTL 解析には前節と共通の遺伝子地図を用い、検

第3-4表 「Maratelli/あきたこまち」後代F<sub>3</sub>系統群における低温発芽性QTLおよび低温(常温)伸長性QTLの染色体位置

QTL	染色体	マーカー <sup>1)</sup>	位置 <sup>2)</sup> (cM)	LOD値 <sup>3)</sup>	相加効果 <sup>4)</sup>	優性効果 <sup>5)</sup>	寄与率 <sup>6)</sup> (%)	
低温発芽性(閾値 LOD <sup>7)</sup> : 4.2)								
qGL-1-1	1	RM5-RM5914	137.2	8.1	0.5	0.1	22.6	
qGL-3-1	3	RM6349-RM3872	16.4	5.3	-0.3	0.4	18.6	
qGL-3-2	3	RM3436-RM6329	154.8	6.6	-0.4	-0.1	16.1	
qGL-11-1	11	RM5716-RM7277	153.4	4.6	-0.4	0.1	9.8	
							Total	70.4
低温伸長性(閾値 LOD: 3.7)								
qSEL-1-1	1	RM5914-RM297	147.4	6.1	5.1	1.1	20.9	
常温伸長性(閾値 LOD: 4.2)								
qSEC-1-1	1	RM5-RM5914	133.2	6.2	8.1	-5.9	29.7	
qSEC-2-1	2	RM341-RM5631	174.9	7.2	-6.9	-15.6	59.8	
qSEC-9-1	9	RM3912-RM5786	90.8	4.7	9.6	-7.9	51.5	
qSEC-12-1	12	RM1337-RM5700	73.2	5.2	3.1	-16.6	53.5	
							Total	99.2

- 1) QTL 近傍のマーカー
- 2) 染色体短腕側のマーカーからの距離 (cM)
- 3) QTL の LOD 値
- 4) 遺伝子型が「あきたこまち」ホモ型から「Maratelli」ホモ型に置換したときの効果の 1/2 の値
- 5) 優性の方向
- 6) 全表現型に対する寄与率
- 7) 1,000 回の並びかえ検定 (5% 水準) で算出された QTL の閾値



第3-6図 「Maratelli/あきたこまち」後代F<sub>3</sub>系統群の遺伝子地図と低温発芽性および低温(常温)伸長性に関するQTLの位置

qSVL: 低温苗立性QTL    qGL: 低温発芽性QTL  
 qSEL: 低温伸長性QTL    qSEC: 常温伸長性QTL

寄与率 22.6%であった。qGL-3-1 はマーカー RM6349 と RM3872 との間に検出され、LOD 値 5.3、寄与率 18.6%であった。qGL-3-2 はマーカー RM3436 と RM6329 との間に検出され、LOD 値 6.6、寄与率 16.1%であった。qGL-11-1 はマーカー RM5716 と RM7277 との間に検出され、LOD 値 4.6、寄与率 9.8%であった。これら QTL のうち qGL-3-1、qGL-3-2、qGL-11-1 は Maratelli、qGL-1-1 はあきたこまの対立遺伝子が低温での発芽を早くする方向に作用しており、それら QTL の寄与率は全表現型の 70.4%であった (第 3-4 表、第 3-6 図)。

低温伸長性に関する QTL (QTL of Seedling elongation at the low temperature : 以降 qSEL) は第 1 染色体上のマーカー RM5914 と RM297 との間に 1 つ見いだされ (qSEL-1-1)、LOD 値 6.1、寄与率 20.9%であった (第 3-4 表、第 3-6 図)。また、常温伸長性に関する QTL (QTL of Seedling elongation at the conventional temperature : 以降 qSEC) も第 1、2、9、12 染色体上に検出された (qSEC-1-1、qSEC-2-1、qSEC-9-1、qSEC-12-1) (第 3-4 表、第 3-6 図)。qSEC-1-1 はマーカー RM5 と RM5914 との間に検出され、LOD 値 6.2、寄与率 29.7%であった。qSEC-2-1 はマーカー RM341 と RM5631 との間に検出され、LOD 値 7.2、寄与率 59.8%であった。qSEC-9-1 はマーカー RM3912 と RM5786 との間に検出され、LOD 値 4.7、寄与率 51.5%であった。qSEC-12-1 はマーカー RM1337 と RM5700 との間に検出され、LOD 値 5.2、寄与率 53.5%であった。これら 4 つの QTL で常温伸長性の 99.2%を説明することができた (第 3-4 表、第 3-6 図)。

### 3) 低温発芽性および低温 (常温) 伸長性と低温 (常温) 苗立性との相関関係

低温発芽性および低温 (常温) 伸長性と低温 (常温) 苗立性との相関関係を第 3-5 表に示した。低温苗立性に関する形質間の相関については、F<sub>3</sub> 系統群での低温苗立性と低温伸長性 ( $r=-0.172$ )、常温苗立性 ( $r=0.136$ ) あるいは常温伸長性 ( $r=-0.122$ ) との相関関係は見られなかったが、低温苗立性と低温発芽性の間には相関関係が見られた ( $r=-0.427$ ,  $P<0.01$ )。

第3-5表 「Maratelli/あきたこまち」後代F<sub>3</sub>系統群における

#### 低温発芽性および低温 (常温) 伸長性と低温苗立性との相関関係

形質 <sup>1)</sup> (単位)	r <sup>2)</sup>
低温発芽性(日)	-0.427 **
低温伸長性(mm)	-0.172
常温伸長性(mm)	-0.122

1)低温苗立性: 低温苗立性簡易検定(水温15°C)における草丈(mm)

低温発芽性: 15°Cでの平均発芽日数(日)

低温伸長性: 低温伸長性簡易検定(水温15°C)における第1葉鞘長(mm)

常温伸長性: 常温伸長性簡易検定(水温25°C)における第1葉鞘長(mm)

2)各形質と2003、2004年の低温苗立性(mm)の平均値との相関係数を算出した。

\*\* : 1%水準で有意に相関有り

### 3-4-3 考察

低温発芽性は F<sub>3</sub> 系統群で連続的な変異を示し (第 3-4 図)、複数の遺伝子が関与する量的形質であることが示唆された。さらに、超越分離を示したこと (第 3-3 表、第 3-4 図)、QTL 解析で Maratelli とあきたこまの両方が低温発芽性を強くする方向に働く QTL を有していたことから (第 3-4 表)、Maratelli とあきたこまの双方に低温発芽性を向上させる遺伝子が存在すると考えられた。

また、低温伸長性も F<sub>3</sub> 系統群で連続的な変異を示し (第 3-5 図 a)、複数の遺伝子が関与する量的形質であることが示唆された。常温伸長性も同様に連続的な変異を示し (第 3-5 図 b)、複数の遺伝子が関与する量的形質であると考えられる。また、2 つの形質ともに Maratelli を超越する系統はなく (第 3-3 表、第 3-5 図)、これら形質を向上させる遺伝子を Maratelli が全て有していると考えられた。しかし、qSEC-2-1 はあきたこまの対立遺伝子が常温伸長性を強くする方向に働く QTL として検出された (第 3-4 表)。これは qSEC-2-1 が他の QTL と相加的な効果を持たないことによると考えられる。

低温苗立性と低温発芽性との間に有意な相関関係 ( $r=-0.427$ ,  $P<0.01$ ) があつた (第 3-5 表)。つまり、低温下でのごく初期の生育、少なくとも低温発芽性はその後の低温での苗立性に影響を及ぼしていると言える。QTL 解析でも qGL-3-1 は qSVL-3-1、qGL-11-1 は qSVL-11-1 と極近傍の染色体領域に位置しており、このことが低温苗立性と低温発芽性との有意な相関関係をもたらしたものと考えられる (第 3-2 表、第 3-4 表、第 3-6 図)。これらの 2 ヶ所の QTL と同座でかつ低温下で類似の効果を示す QTL として qGL-3-1 については qLTG-3-1 (Fujino et al. 2004) が、qGL-11-1 については qGL-11 (Miura et al. 2001) が外国稲と日本稲との交雑による QTL 解析で検出されている。このことは QTL が検出された染色体領域には低温苗立性に関与する遺伝子が座乗している可能性が高いと考えられる。すなわち、Maratelli は優れた低温発芽性を持つことにより良好な低温苗立性を示すものと考えられる。

これに対して、低温伸長性と低温苗立性との間に相関は認められず (第 3-5 表)、低温伸長性に関する QTL も低温苗立性の QTL とは別の染色体上には検出された (第 3-2 表、第 3-4 表、第 3-6 図)。このことから、低温下での幼植物の伸長性を向上させる遺伝子は存在するが、低温苗立性の向上に対する寄与率はあまり大きくないと考えられる。

以上のことから、Maratelli は低温発芽性あるいは低温伸長性を向上させる遺伝子をどちらも有しているが、低温発芽性の遺伝子の方が低温苗立性向上に有効であると言える。つまり、実際の育種において低温苗

立性を改良しようとした場合、Maratelli の低温発芽性に関する QTL (qGL-3-1、qGL-3-2、qGL-11-1) を利用することで低温苗立性を高められる可能性が示された。

### 3-5 Italice Livorno/あきたこまち後代 F<sub>3</sub> 系統群を用いた低温苗立性の QTL 解析

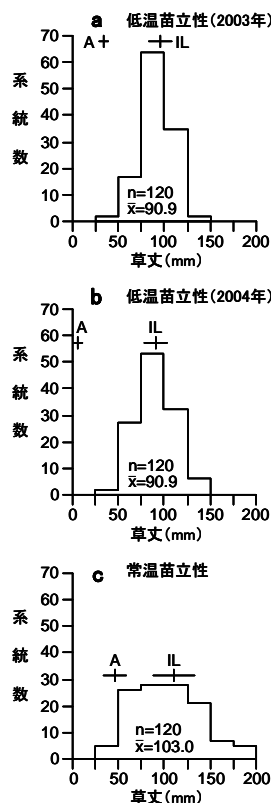
第 2 章で述べたようにヨーロッパ品種の Italice Livorno は優れた低温苗立性を示す。また、Italice Livorno を母本として育成された系統秋系 580 も低温苗立性が優れることから、Italice Livorno は低温苗立性を向上させる遺伝子を有していると考えられる。そこで、本実験では Italice Livorno/あきたこまち後代の F<sub>3</sub> 系統群を用いて低温苗立性の QTL 解析を試みた。

#### 3-5-1 材料および方法

##### 1) 供試材料

低温苗立性に優れる Italice Livorno と低温苗立性に劣るあきたこまち、および Italice Livorno/あきたこまち後代 F<sub>3</sub> 世代 120 系統を供試した。F<sub>3</sub> 系統の種子は秋田県農林水産技術センター農業試験場の慣行法により生産した。2002 年 4 月、32℃、24 時間で催芽した F<sub>2</sub> 種子を育苗箱に播種し育苗ハウス内で育苗した。約 4 週間育苗した後代掻きした水田に F<sub>2</sub> 世代の 120 個体を移植し、2002 年 9 月に F<sub>3</sub> 世代の種子を採種し 120 系統を得た。

2) 低温苗立性の表現型評価、DNA 抽出、PCR 及び電気泳動及び遺伝子地図の作成及び QTL 解析は 3-3-1 と同様の方法を用いた。



第3-7図 「Italice Livorno/あきたこまち」後代F<sub>3</sub>系統群における低温苗立性および常温苗立性の度数分布

IL:「Italice Livorno」の値 A:「あきたこまち」の値  
 +: 中心は平均値, 幅が標準偏差を表す  
 n: 供試したF<sub>3</sub>系統数  $\bar{x}$ : 標準偏差

#### 3-5-2 結果

##### 1) F<sub>3</sub> 系統群における低温苗立性の変異

低温苗立性は F<sub>3</sub> 系統群において連続的な変異を示すことが明らかとなった (第 3-6 表、第 3-7 図 a、b)。2003 年における低温苗立性は Italice Livorno は 94mm (85mm、2004 年) を示し、低温苗立性の弱いあきたこまちでは 34mm (13mm、2004 年) であった (第 3-6 表、第 3-7 図 a、b)。低温苗立性に関する 2 年間の QTL 解析結果から計算される広義の遺伝率は 2003 年では 0.625、2004 年では 0.887 といずれも高かった (第 3-6 表)。

第3-6表 「Italice Livorno/あきたこまち」後代F<sub>3</sub>系統群における低温苗立性および常温苗立性

形質 <sup>1)</sup> (単位)	年次	Italice Livorno	あきたこまち	F <sub>3</sub> (範囲)	$h^2_B$ <sup>2)</sup>	$r$ <sup>3)</sup>
低温苗立性(mm)	2003	94	34	90.9(37-130)	0.625	-
低温苗立性(mm)	2004	85	13	90.9(43-148)	0.887	-
常温苗立性(mm)	2004	110	50	103.0(36-190)	0.762	0.386**

1)低温苗立性:低温苗立性簡易検定(水温15℃)における草丈(mm)

常温苗立性:常温苗立性簡易検定(水温25℃)における草丈(mm)

2)広義の遺伝率を公式  $(V_p - V_E) / V_p$  で算出した。

3)各形質と2003、2004年の低温苗立性(mm)の平均値との相関係数を算出した。

\*\* : 1%水準で有意に相関有り

F<sub>3</sub> 系統群の低温苗立性は 2003 年では 37 ~ 130mm の範囲に、2004 年では 43 ~ 148mm の範囲に連続的に分布し、平均値はそれぞれ 90.9mm、90.9mm であった (第 3-6 表、第 3-7 図 a、b)。いずれの年次も両親を超越する系統が存在した。また、F<sub>3</sub> 系統群の低温苗立性における年次間相関は 1%水準 (r=0.374) で有意であった。

一方、常温苗立性は *Italica Livorno* は 110mm を示し、あきたこまちでは 50mm であった。F<sub>3</sub> 系統群の常温苗立性は 36 ~ 190mm の範囲に連続的に分布し、平均値は 103.0mm であった (第 3-6 表、第 3-7 図 c)。両親を超越する系統も見られた。

これら F<sub>3</sub> 系統群における低温苗立性と常温苗立性の間に有意な正の相関関係が確認された (r=0.386、P<0.01) (第 3-6 表)。

### 2) マーカー (遺伝子型) の分離と遺伝子地図

最初に両親の DNA を用い 550 個の SSR マーカーの多型解析を行い、多型のみられた 96 個の SSR マーカーを用いて遺伝子地図の作成を行った。この内 2 個のマーカーはマーカー間の距離が短かったため (3cM 未満 コサンプユニット) 除外し、最終的に 94 個のマーカーで遺伝子地図を作成した。マーカーはイネの 12 本の染色体に対応する 12 連鎖群として位置づけることができた (第 3-8 図)。マーカーはゲノム全体に散在し、マーカー間の平均距離は 20.0cM、遺伝子地図の全距離は 1,880cM となり、イネの全染色体をカバーする遺伝子地図を作成することができた (第 3-4 図)。第 1、2、7、8、12 染色体上のそれぞれ RM8067-RM6716、RM3512-RM3850、RM5752-RM6776、RM310-RM3459、RM247-RM1246 間の遺伝的距離は大きく 50cM 以上あった。作成された遺伝子地図はイネゲノムの約 85 % を網羅しているが、第 9 染色体の上端をカバーしていなかった。また、5 % 水準以上で有意に期待分離比から外れたマーカーは第 3 染色体上の RM3525 及び第 12 染色体上 RM5700 の 2 個であった。

### 3) QTL 解析

検出された QTL の染色体上の位置、相加効果、優

性効果について第 3-7 表にまとめた。低温苗立性に関する QTL が第 2、3 染色体上に 1 つずつ見いだされた (qSVL-2-1、qSVL-3-2) (第 3-7 表、第 3-8 図)。qSVL-2-1 は第 2 染色体長腕上のマーカー RM3512 と RM3850 との間に検出され、LOD 値 4.0、寄与率 24.4 % であった。qSVL-3-2 は第 3 染色体長腕上のマーカー RM6970 と RM6987 との間に検出され、LOD 値 4.6、寄与率 16.2 % であった。これら 2 つの QTL ともに *Italica Livorno* の対立遺伝子が低温苗立性を強くする方向に働いていた (第 3-7 表、第 3-8 図)。これに対して、常温苗立性に関する QTL は本実験では検出することができなかった。

### 3-5-3 考察

低温苗立性は F<sub>3</sub> 系統群で連続的な変異を示し (第 3-7 図 a、b)、複数の遺伝子が関与する量的形質であることが示唆された。さらに、超越分離が観察されたことから (第 3-6 表、第 3-7 図 a、b)、*Italica Livorno* とあきたこまちの双方に低温苗立性を向上させる遺伝子が存在すると考えられた。しかしながら、本実験で検出された qSVL-2-1、qSVL-3-2 はいずれも *Italica Livorno* の対立遺伝子が低温苗立性を強くする方向に働いていた (第 3-7 表)。このことから、あきたこまちは本実験で検出できなかった作用力の小さな QTL を持つと考えられる。

同様に、常温苗立性も F<sub>3</sub> 系統群で連続的な変異を示し (第 3-7 図 c)、複数の遺伝子が関与する量的形質であることが示唆された。さらに、超越分離を示したことから (第 3-6 表、第 3-7 図 c)、*Italica Livorno* とあきたこまちの双方に常温苗立性を向上させる遺伝子が存在すると考えられた。しかし、常温苗立性に関する QTL は検出されず (第 3-7 表、第 3-8 図)、常温苗立性には作用力の小さな遺伝子が多数関与していると考えられた。

低温苗立性の QTL が検出された領域には常温苗立性の QTL が検出されなかったことから (第 3-7 表、第 3-8 図)、これら QTL 領域には低温条件で特異的に作用する遺伝子が座乗している可能性があると考えられた。

第3-7表 「*Italica Livorno* / あきたこまち」後代F<sub>3</sub>系統群における低温苗立性QTLの染色体位置

QTL	染色体	マーカー <sup>1)</sup>	位置 <sup>2)</sup> (cM)	LOD値 <sup>3)</sup>	相加効果 <sup>4)</sup>	優性効果 <sup>5)</sup>	寄与率 <sup>6)</sup> (%)
低温苗立性(2003年)(閾値 LOD <sup>7)</sup> :3.5)							
qSVL-3-2	3	RM6970-RM6987	+4.0	4.6	0.76	0.85	16.2
低温苗立性(2004年)(閾値 LOD:3.6)							
qSVL-2-1	2	RM3512-RM3850	+12.0	4.0	1.52	-0.33	24.4

1)QTL近傍のマーカー

2)染色体短腕側のマーカーからの距離(cM)

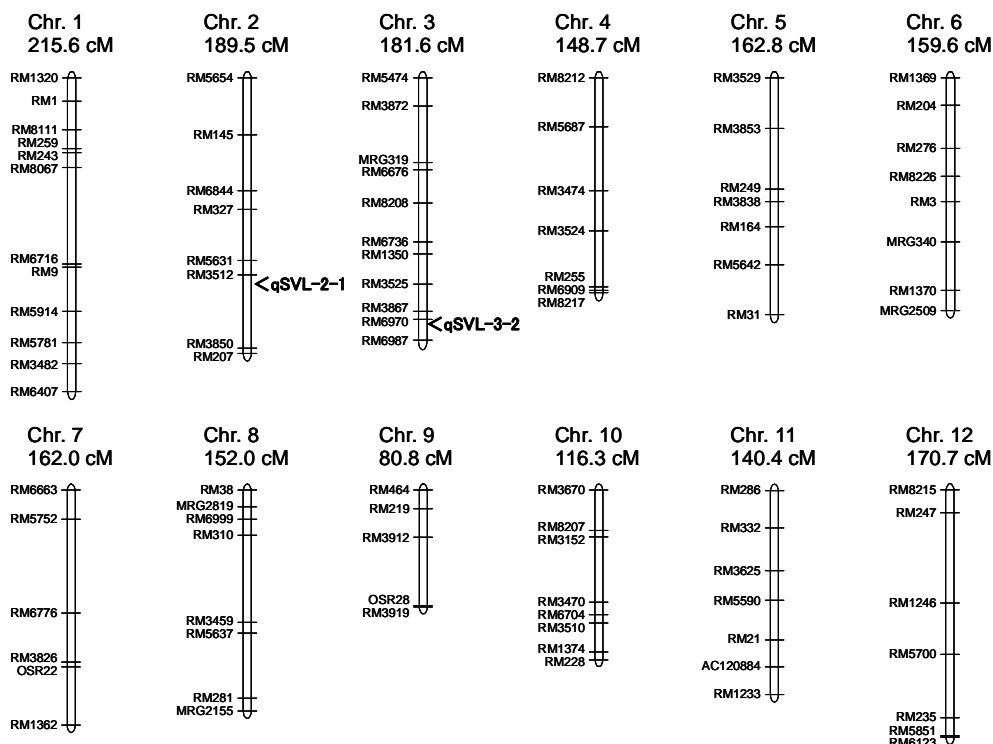
3)QTLのLOD値

4)遺伝子型が「あきたこまち」ホモ型から「*Italica Livorno*」ホモ型に置換したときの効果の1/2の値

5)優性の方向

6)全表現型に対する寄与率

7)1,000回の並びかえ検定(5%水準)で算出されたQTLの閾値



第3-8図 「Italica Livorno/あきたこまち」後代F<sub>3</sub>系統群の遺伝子地図と低温苗立性に関するQTLの位置

本実験では常温苗立性の QTL は検出されなかったが、低温苗立性と常温苗立性との間に有意な相関関係が見られたことから ( $r=0.386$ ,  $P<0.01$ ) (第 3-6 表)、効果の小さい複数の遺伝子が低温下でも働くことにより低温苗立性に影響している可能性が考えられた。

Maratelli と同様に Italica Livorno でも低温苗立性を向上させる複数の QTL が同定されたことから、これらを日本の良食味品種に導入し、低温苗立性の優れる良食味な直播適応性品種を育成することが期待される。また、QTL 近傍には DNA マーカーが存在するため、これらを利用したマーカー選抜によってこのような品種を効率的に育成することが可能になるものと考えられる。

### 3-6 Italica Livorno/あきたこまち後代 F<sub>3</sub> 系統群を用いた低温発芽性、低温伸長性の QTL 解析

前節において Italica Livorno/あきたこまち後代 F<sub>3</sub> 系統群を用い低温苗立性の QTL 解析を行い、2ヶ所の低温苗立性の QTL を検出した。同時に QTL 解析で検出できなかった作用力の小さな複数の遺伝子が低温苗立性を高めている可能性も示唆された。これらを明らかにするためには、複合形質である低温苗立性を構成する幾つかの形質に分割して解析するのが有効である。

直播栽培における低温苗立性に関わる形質として、

低温発芽性 (佐々木 1974) や低温伸長性 (Carnahan et al. 1972, Daivid and Peterson 1976, Li and Rutger 1980, Ogiwara and Terashima 2001)、苗腐病抵抗性 (田中ら 1991)、中茎伸長性 (勝田 1998)、土中出芽性 (土壤還元抵抗性) (福田ら 1997、太田ら 2003、山口ら 2007)、加齢による種子発芽能力の低下 (Yamauchi and Winn 1996) などの報告がある。イネの低温苗立性の改良のためには、これらの形質に関与している QTL 領域を明らかにし、低温苗立性の向上に対する効果を検証することが必要であると考えられる。低温条件下の苗立の経過を見ると、乾初で播種し正常な苗立ちに至るまで、低温下で種子が発芽し幼植物が伸長する過程を経ることから (第 3-3 図)、低温発芽性と低温伸長性の 2つの形質に着目した。

本節では、低温苗立性をより詳細に解析するために、前節と共通の F<sub>3</sub> 系統群を用いて低温発芽性と低温伸長性に関する QTL 解析を試みた。

#### 3-6-1 材料および方法

##### 1) 供試材料

前節と共通の Italica Livorno/あきたこまち後代 F<sub>3</sub> 世代 120 系統および両親を供試した。

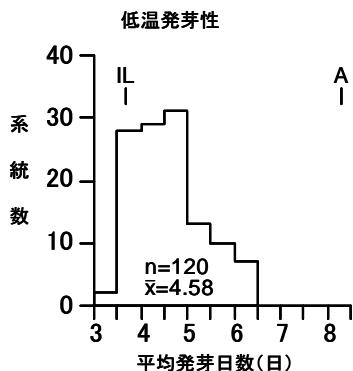
##### 2) 低温発芽性、低温伸長性の表現型評価、DNA 抽出、PCR 及び電気泳動及び遺伝子地図の作成及び QTL



第3-8表 「Italica Livorno/あきたこまち」後代F<sub>3</sub>系統群における低温発芽性および低温(常温)伸長性

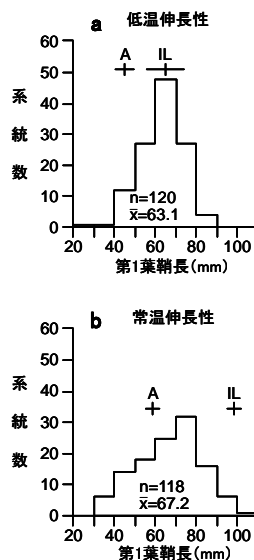
形質 <sup>1)</sup> (単位)	年次	Italica Livorno	あきたこまち	F <sub>3</sub> (範囲)	$h_B^2$ <sup>2)</sup>
低温発芽性(日)	2003	3.7	8.3	4.6(3.2-6.3)	-
低温伸長性(mm)	2005	64	45	63.1(24-85)	0.548
常温伸長性(mm)	2005	92	59	67.2(32-108)	0.946

1)低温発芽性:15℃での平均発芽日数(日)  
 低温伸長性:低温伸長性簡易検定(水温15℃)における第1葉鞘長(mm)  
 常温伸長性:常温伸長性簡易検定(水温25℃)における第1葉鞘長(mm)  
 2)広義の遺伝率を公式( $V_P-V_E$ )/ $V_P$ で算出した。低温発芽性の $V_P$ は算出していない。



第3-9図 「Italica Livorno/あきたこまち」後代F<sub>3</sub>系統群における低温発芽性の度数分布

IL:「Italica Livorno」の値 A:「あきたこまち」の値  
 +: 中心は平均値, 幅が標準偏差を表す  
 n: 供試したF<sub>3</sub>系統数  $\bar{x}$ : 標準偏差



第3-10図 「Italica Livorno/あきたこまち」後代F<sub>3</sub>系統群における低温伸長性および常温伸長性の度数分布

IL:「Italica Livorno」の値 A:「あきたこまち」の値  
 +: 中心は平均値, 幅が標準偏差を表す  
 n: 供試したF<sub>3</sub>系統数  $\bar{x}$ : 標準偏差

解析は 3-3-2 と同様の方法を用いた。

### 3-6-2 結果

1) F<sub>3</sub> 系統群における低温発芽性および低温(常温)伸長性の変異

両親または F<sub>3</sub> 系統群において低温発芽性および低温(常温)伸長性に明確な変異が見られた(第 3-8 表、第 3-9 図、第 3-10 図)。

Italica Livorno およびあきたこま치의低温発芽性、つまり、15℃での平均発芽日数は、それぞれ 3.7 日および 8.3 日であった。F<sub>3</sub> 系統群では 3.2 ~ 6.3 日の範囲で連続的に分布し、平均値は 4.6 日であった(第 3-8 表、第 3-9 図)。さらに、両親を超越する系統も見られた。

一方、低温伸長性は Italica Livorno で 64mm、あきたこまちで 45mm であった。F<sub>3</sub> 系統群の分布は範囲 24

~ 85mm、平均値 63.1mm であり、両親を超越する系統も見られた(第 3-8 表、第 3-10 図 a)。また、常温伸長性は Italica Livorno で 92mm、あきたこまちで 59mm であった。F<sub>3</sub> 系統群の分布は範囲 32 ~ 108mm、平均値 67.2mm であり、両親を超越する系統も見られた(第 3-8 表、第 3-10 図 b)。

### 2) QTL 解析

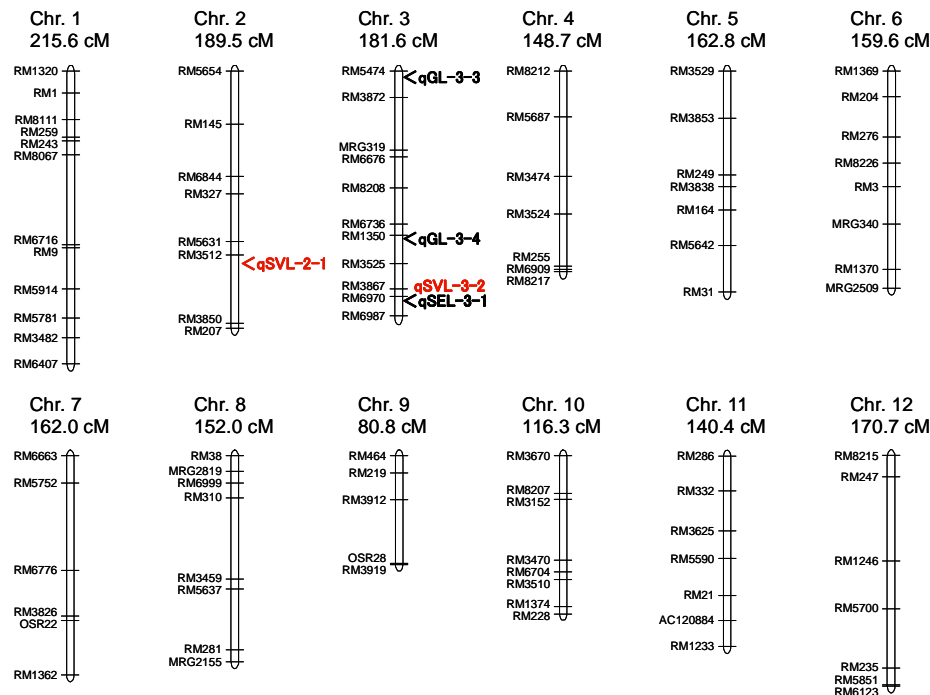
QTL 解析には前節と共通の遺伝子地図を用い、検出された QTL の染色体上の位置、相加効果、優性効果について第 3-9 表にまとめた。

低温発芽性に関する QTL は第 3 染色体上の 2ヶ所に検出された(qGL-3-3、qGL-3-4)(第 3-9 表、第 3-11 図)。qGL-3-3 は第 3 染色体短腕上のマーカー RM5474 と RM3872 との間に検出され、LOD 値 5.2、寄与率 11.6% であった。qGL-3-4 は第 3 染色体長腕上の RM1350 の領域に検出され、LOD 値 11.0、寄与率 25.2% であった。いずれの QTL も Italica Livorno の対立遺伝子が低温での発芽を早くする方向に働いていた(第

第3-9表 「Italica Livorno/あきたこまち」後代F<sub>3</sub>系統群における  
低温発芽性QTLおよび低温(常温)伸長性QTLの染色体位置

QTL	染色体	マーカー <sup>1)</sup>	位置 <sup>2)</sup> (cM)	LOD値 <sup>3)</sup>	相加効果 <sup>4)</sup>	優性効果 <sup>5)</sup>	PVE <sup>6)</sup>
低温発芽性(閾値 LOD:4.6)							
qGL-3-3	3	RM5474-RM3872	+2.0	5.2	-0.28	-0.29	11.6
qGL-3-4	3	RM1350	+0.0	11.0	-0.48	0.13	25.2
							Total 41.1
低温伸長性(閾値 LOD:3.7)							
qSEL-3-1	3	RM6970-RM6987	+10.0	5.0	0.64	-0.09	19.0

- 1)QTL近傍のマーカー
- 2)染色体短腕側のマーカーからの距離(cM)
- 3)QTLのLOD値
- 4)遺伝子型が「あきたこまち」ホモ型から「Italica Livorno」ホモ型に置換したときの効果の1/2の値
- 5)優性の方向
- 6)全表現型に対する寄与率
- 7)1,000回の並びかえ検定(5%水準)で算出されたQTLの閾値



第3-11図 「Italica Livorno/あきたこまち」後代F<sub>3</sub>系統群の遺伝子地図と  
低温発芽性および低温(常温)伸長性に関するQTLの位置

qSVL:低温苗立性QTL    qGL:低温発芽性QTL  
qSEL:低温伸長性QTL

3-9表、第3-11図)。

また、低温伸長性に関する QTL として qSEL-3-1 が第3染色体長腕上のマーカー RM6970 と RM6987 との間に検出され、LOD 値 5.0、寄与率は 19.0 %であった(第3-9表、第3-11図)。この QTL は Italica Livorno の対立遺伝子が低温伸長性を強くする方向に働いていた。しかしながら、常温伸長性に関する QTL は検出することができなかった。

3) 低温発芽性および低温(常温)伸長性と低温(常温)苗立性との相関関係

低温発芽性および低温(常温)伸長性と低温(常温)苗立性との相関関係を第3-10表に示した。

F<sub>3</sub> 系統群での低温苗立性と低温伸長性 (r=0.051)

第3-10表 「Italica Livorno/あきたこまち」後代F<sub>3</sub>系統群における  
低温発芽性および低温(常温)伸長性と低温苗立性との相関関係

形質 <sup>1)</sup> (単位)	r <sup>2)</sup>
低温発芽性(日)	-0.384 **
低温伸長性(mm)	0.051
常温伸長性(mm)	0.086 **

1)低温苗立性:低温苗立性簡易検定(水温15°C)における草丈(mm)

低温発芽性:15°Cでの平均発芽日数(日)

低温伸長性:低温伸長性簡易検定(水温15°C)における第1葉鞘長(mm)

常温伸長性:常温伸長性簡易検定(水温25°C)における第1葉鞘長(mm)

2)各形質と2003、2004年の低温苗立性(mm)の平均値との相関係数を算出した。

\*\* : 1%水準で有意に相関有り

および常温伸長性 (r=0.086) との相関関係は見いだせなかった。一方、低温苗立性と低温発芽性の間に相関関係が認められた (r=-0.384、P<0.01)。

### 3-6-3 考察

低温発芽性は  $F_3$  系統群で連続的な変異を示し (第 3-9 図)、複数の遺伝子が関与する量的形質であることが示唆された。本実験では、低温発芽性の QTL として qGL-3-3 と qGL-3-4 の 2 つが検出され、いずれも *Italica Livorno* の対立遺伝子が低温発芽性を強くする方向に働いていた (第 3-9 表)。

また、 $F_3$  系統群での低温伸長性も連続的な変異を示し (第 3-10 図 a)、複数の遺伝子が関与する量的形質であることが示唆された。常温伸長性も同様に連続的な変異を示し (第 3-10 図 b)、複数の遺伝子が関与する量的形質であると考えられる。低温伸長性については超越分離を示したことから (第 3-8 表、第 3-10 図)、*Italica Livorno* とあきたこまちの双方に低温伸長性を向上させる遺伝子が存在すると考えられた。しかしながら、本実験では *Italica Livorno* の対立遺伝子が低温伸長性を向上させる qSEL-3-1 のみが検出された (第 3-9 表、第 3-11 図)。このことから、*Italica Livorno* とあきたこまちは作用力の小さな低温伸長性を高める QTL を有しているものと考えられた。

低温苗立性と低温発芽性との間に有意な相関関係 ( $r=-0.384$ ,  $P<0.01$ ) があった (第 3-10 表)。つまり、低温下でのごく初期の生育、少なくとも低温発芽性がその後の低温での苗立性に影響を及ぼしていると言える。QTL 解析でも第 3 染色体上に低温発芽性 QTL (qGL-3-2, qGL-3-4) と低温苗立性 QTL (qSVL-3-2) の両方が検出されており (第 3-7 表、第 3-9 表、第 3-11 図)、低温苗立性と低温発芽性との有意な相関関係を説明している。また、qGL-3-2, qGL-3-4 はいずれも Fujino ら (2004) がはやまさりと *Italica Livorno* の  $F_2$  集団を用いて検出した類似の効果を示す QTL と染色体上の位置が近接している。このことから、これらが低温発芽性に関する同じ遺伝子であり、QTL が検出された染色体領域に座乗している可能性が高いと考えられる。これらのことから、*Italica Livorno* は低温発芽性を高める遺伝子を持つことにより良好な低温苗立性を示すものと考えられた。

また、qSEL-3-1 は qSVL-3-2 と同一の染色体領域の極近傍に位置していた (第 3-7 表、第 3-9 表、第 3-11 図)。これらの QTL は何れも *Italica Livorno* の対立遺伝子が低温苗立性を向上させる方向に働いていた (第 3-7 表、第 3-9 表)。これらのことより、*Italica Livorno* では低温での優れた伸長性が苗立性を向上させていることも示唆された。しかし、低温伸長性と低温苗立性との間に有意な相関関係は認められず、qSEL-3-1 のもたらす効果は低温苗立性全体に対してあまり大きくないと考えられる。

低温苗立性と常温伸長性との間には有意な相関関係が認められた ( $r=0.386$ ,  $P<0.01$ ) (第 3-11 表)。今回、

常温伸長性の QTL は検出されなかったが、効果の小さい複数の遺伝子が低温下でも働くことによって、低温苗立性にも影響している可能性が考えられた。

以上のことから、*Italica Livorno* は低温発芽性と低温伸長性を向上させる遺伝子を有しており、これらが低温苗立性を向上させると考えられたが、特に、低温発芽性の遺伝子が低温苗立性の向上に有効であると言える。つまり、低温苗立性を改良する場合、*Italica Livorno* の低温発芽性に関与する QTL (qGL-3-2, qGL-3-4) を利用することで低温苗立性を効果的に高められる可能性が示された。

### 3-7 まとめ

本研究では、秋田県でのイネの直播栽培の普及に不可欠な直播適応性品種の開発を目指し、低温下で直播しても苗が正常に成長できる形質 (低温苗立性) に関する QTL 解析を試みた。イネはこれまでの研究から、低温苗立性に関する遺伝形質について多様性に富み、中には低温での成長に優れるものの存在が知られている (小高、安部 1989)。そこで、低温苗立性に優れる外国稲の *Maratelli* と *Italica Livorno* を用い、これらに低温苗立性が劣るあきたこまちを交配して得た  $F_3$  系統群を用いて低温苗立性に関わる形質の QTL の解析を行った。

*Maratelli*/あきたこまち後代  $F_3$  系統群で 2 ヶ所 (第 3-2 表、第 3-2 図)、*Italica Livorno*/あきたこまち後代  $F_3$  系統群でも 2 ヶ所 (第 3-7 表、第 3-8 図) の低温苗立性の QTL が検出された。これら QTL はいずれも外国稲の対立遺伝子が低温苗立性を良好にする方向に働いており (第 3-2 表、第 3-7 表)、この領域には日本品種が持たない新規の低温苗立性を向上させる遺伝子が座乗している可能性が示唆された。これらの低温苗立性を向上させる QTL を日本の良食味品種に導入し、低温苗立性の優れた良食味な直播適応性品種を育成することが期待される。さらに、このような品種育成において、QTL 近傍の DNA マーカーを利用したマーカー選抜が可能である。

直播栽培における低温苗立性を左右する形質として、低温発芽性 (佐々木 1974) や低温伸長性 (Carnahan et al. 1972, Daivid and Peterson 1976, Li and Rutger 1980, Ogiwara and Terashima 2001) をはじめとする多くの形質が報告されており、イネの低温苗立性はこれらの複合形質であると考えられる。低温苗立性の改良のためにはこれら形質が関与する QTL 領域を解析し低温苗立性向上に対する効果を検証することが重要である。そこで、多くの形質のうち低温発芽性と低温伸長性の 2 つの形質に着目し、それらに関する QTL 解析を試みた。

*Maratelli*/あきたこまち後代  $F_3$  系統群では低温発芽性の QTL が 4 ヶ所と低温伸長性の QTL が 1 カ所 (第

3-4 表、第 3-6 図)、Italica Livorno/あきたこまち後代 F<sub>3</sub> 系統群では低温発芽性の QTL が 2 ヶ所と低温伸長性の QTL が 1 カ所 (第 3-9 表、第 3-11 図) 検出された。これら QTL のうち Maratelli/あきたこまち後代 F<sub>3</sub> 系統群で検出された 1 カ所の低温発芽性の QTL を除き残り 7 カ所の QTL はいずれも外国稲の対立遺伝子が表現型を良好にする方向に働いていた (第 3-4 表、第 3-9 図)。このことから、低温発芽性と低温伸長性についても日本品種が持たない新規の遺伝子を Maratelli と Italica Livorno が持つ可能性があり、これらの QTL を導入することでこれら形質の改良できると期待される。

いずれの集団においても低温発芽性と低温苗立性との間に有意な相関関係が認められたが、低温伸長性と低温苗立性との間には相関関係が見られなかった (第 3-5 表、第 3-11 表)。さらに、低温発芽性の QTL と低温苗立性の QTL とが同一の染色体上に検出されたことから (第 3-4 表、第 3-6 図、第 3-9 表、第 3-11 図)、低温発芽性がその後の低温苗立性に対しより大きな影響を与えていると言える。つまり、低温苗立性を改良する場合、Maratelli や Italica Livorno の低温発芽性に関与する QTL (qGL-3-1、qGL-3-2、qGL-3-3、qGL-3-4、qGL-11-1) を利用することで低温苗立性を高められる可能性が示された。さらに、これらの QTL は異なる染色体領域に検出されていることから、これら領域に座乗する遺伝子を集積させることで、より低温苗立性の優れる系統を育成できることが示唆された。

今後、本研究で見出された QTL の位置情報を活用したマーカー選抜を応用した交配育種により外国稲の持つ有用な低温苗立性のみを付与させた直播適応性品種の育成が可能となり、秋田県での直播栽培の普及に寄与できると期待される。

## 4 低温苗立性に関与する QTL の効果

### 4-1 抄録

QTL 領域を有する NIL を育成し、これらの QTL 領域に実際に低温苗立性を左右する遺伝子が存在するかを検証した。

Maratelli を低温苗立性の遺伝資源とし、あきたこまちを連続戻し交配しながら低温苗立性の表現型で選抜を重ねて 3 つの BC<sub>4</sub>F<sub>1</sub> 系統を育成した。それらを相互交配した中から NIL (F<sub>2</sub>) を 8 系統育成した。

8 つの NIL のうち 5 系統で低温発芽性の QTL、qGL-3-1、qGL-3-2 のいずれかあるいは両方を持っており、優れた低温発芽性を示した。このことから、これらの QTL 領域には低温発芽性を高める作用を持つ遺伝子が存在することが明らかとなった。さらに、1 ヶ所の QTL を持つ系統よりも 2 ヶ所の QTL を合わせ持つ系統の方がより高い低温発芽性を示し、これらの

遺伝子は相加的に働くものと考えられた。

低温苗立性に関する QTL、qSVL-3-1 を持つ 4 系統はいずれも優れた低温苗立性を示し、この QTL 領域には低温苗立性を向上させる遺伝子が存在することが明らかとなった。これら 4 系統は同時に低温発芽性も向上しており、qSVL-3-1 の極近傍に検出された低温発芽性 QTL、qGL-3-1 が低温発芽性を向上させることで良好な苗立になったと考えられた。

### 4-2 緒言

第 3 章において Maratelli と Italica Livorno を用いて低温苗立性に関する複数の QTL が存在することを明らかにした。このことから、DNA マーカーを用いた選抜により QTL 領域をあきたこまちなどの優良な日本品種に導入することで、表現型での選抜が難しい低温苗立性を向上できる可能性が示された。そのためには、QTL 解析で検出された低温苗立性に関与する QTL が座乗する染色体領域に実際に低温苗立性を左右する遺伝子が存在するかどうかを検証することが不可欠である。

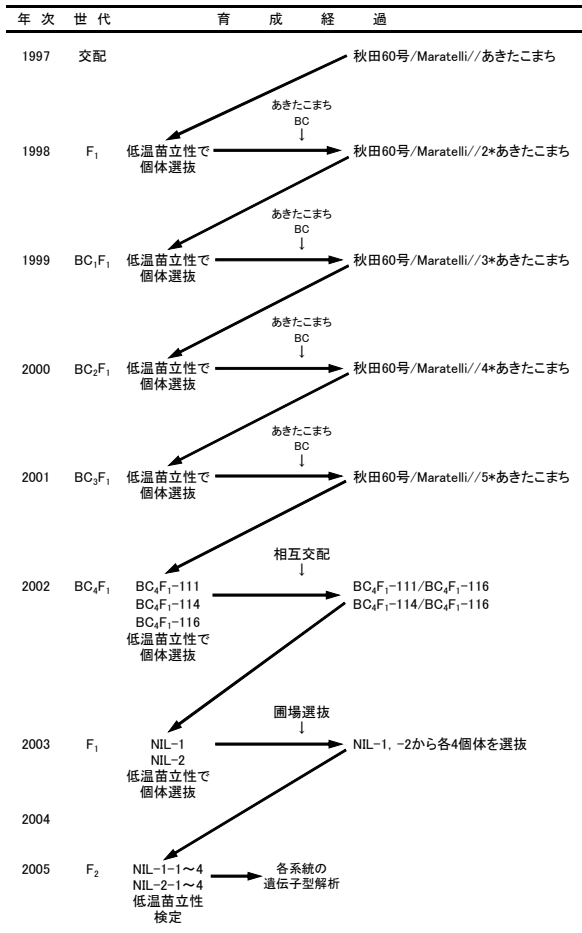
そこで、本章では Maratelli を遺伝資源とし低温苗立性の表現型で選抜しながらあきたこまちを連続戻し交配して育成した NIL について、遺伝子型と表現型との関係を解析した。

### 4-3 準同質遺伝子系統 (NIL) の育成と解析

#### 4-3-2 育成経過

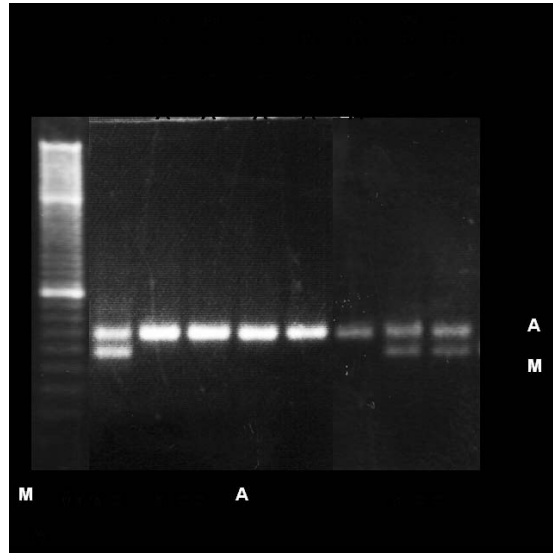
低温苗立性に関する遺伝子をあきたこまちに導入した NIL を育成するために、1997 年から Maratelli を低温苗立性の遺伝資源とし、あきたこまちを連続戻し交配しながら低温苗立性の表現型で選抜を重ねてきた (第 4-1 表)。1997 年に秋田 60 号/Maratelli の F<sub>1</sub> を母、あきたこまちを父として人工交配し、さらに 1998 年、1999 年、2000 年、2001 年にあきたこまちを連続戻し交配した。この間、毎年、交配に用いる個体は低温苗立性簡易検定による選抜を行った。2002 年に BC<sub>4</sub>F<sub>1</sub> 世代の 3 系統、BC<sub>4</sub>F<sub>1</sub>-111、BC<sub>4</sub>F<sub>1</sub>-114、BC<sub>4</sub>F<sub>1</sub>-116 を低温苗立性の優れる個体を選抜後に圃場養成し、それらの間で 2 組合せの交配を行った。それぞれの組合せを NIL-1、NIL-2 と名付けた。これら F<sub>1</sub> 世代 2 組合せの中から低温苗立性の表現型により個体選抜し、さらに出穂期、草型で各組合せ 4 個体ずつの F<sub>1</sub> を選抜した。選抜した F<sub>1</sub> 個体から F<sub>2</sub> 種子を採種し、NIL-1-1 ~ 4 および NIL-2-1 ~ 4 の 8 つの NIL を育成した。これら系統は染色体の大部分があきたこまちに置換しており、Maratelli 由来の QTL 領域が表現型に及ぼす影響を解析するのに適当であると考えられる。2005 年にこれら NIL の表現型を評価すると同時に、遺伝子型を解析し QTL 領域を持つかを解析した。

第4-1表 あきたこまち低温苗立性準同質遺伝子系統群の育成経過

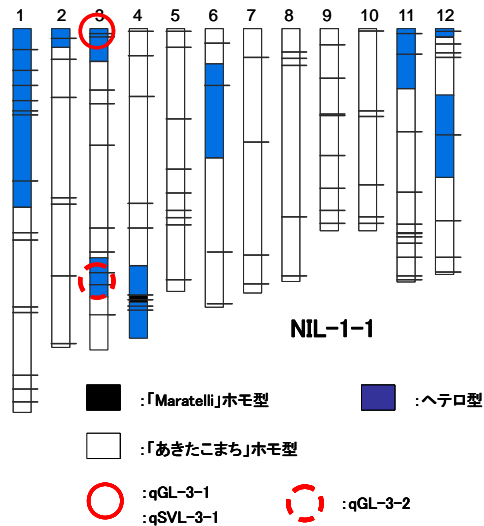


### 4-3-2 遺伝子型解析

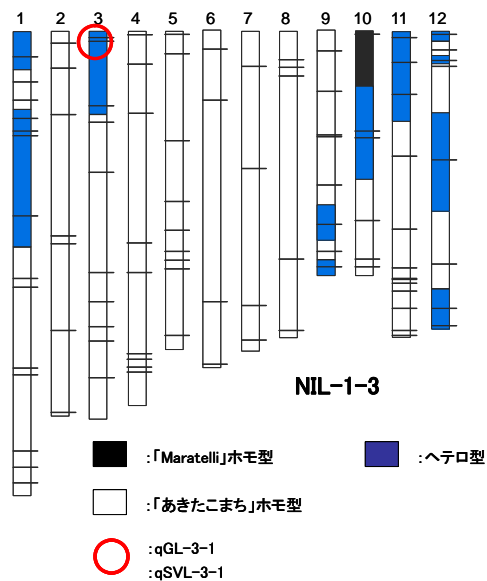
8つのNILについてQTL領域の遺伝子型の解析を行った。遺伝子型の解析は第3章と同じ方法とし、遺伝子地図作成に用いた89個のSSRマーカーで各系統の遺伝子型を解析した(第4-1図)。その結果、8系統中5系統が第3染色体上のQTLを含むMaratelliの染色体領域を残していることが明らかになった(第4-2図a、b、c、d、e、第4-3表)。NIL-1-1はqSVL-3-1(qGL-3-1)とqGL-3-2の2ヶ所のQTL領域を持っていた(第4-2図a)。また、NIL-1-3、NIL-2-1およびNIL-2-4の3系統はqSVL-3-1(qGL-3-1)のQTL領域のみを(第4-2図b、c、e)、NIL-2-3はqGL-3-2のQTL領域のみを持っていた(第4-2図d)。これらに対して、NIL-1-2、NIL-1-4およびNIL2-2の3系統はいずれもQTL領域を残していなかった。また、qGL-1-1(qSEL-1-1)とqSVL-11-1(qGL-11-1)の2つのQTL領域については8系統ともあきたこまちホモ型に置換していた。



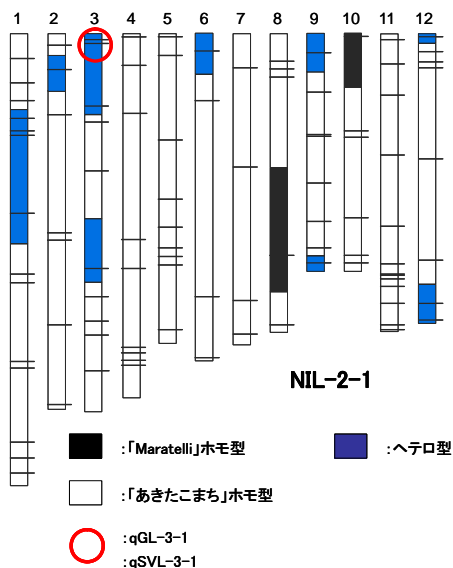
第4-1図 準同質遺伝子系統のRM8111における遺伝子型の解析



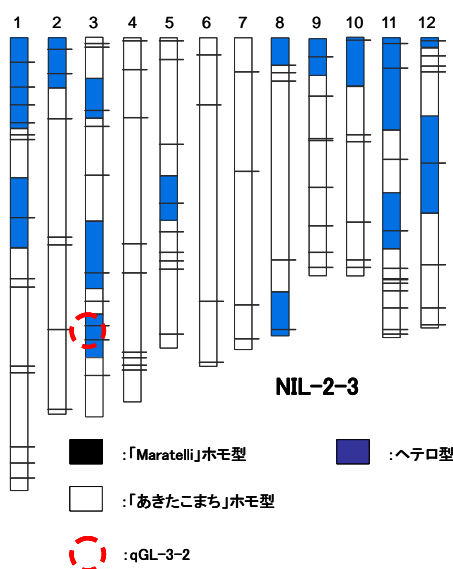
第4-2図a 準同質遺伝子系統(NIL-1-1)の染色体構成



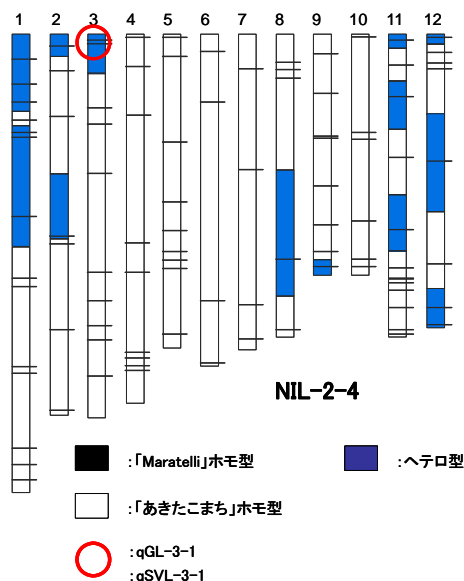
第4-2図b 準同質遺伝子系統(NIL-1-3)の染色体構成



第4-2図c 準同質遺伝子系統(NIL-2-1)の染色体構成



第4-2図d 準同質遺伝子系統(NIL-2-3)の染色体構成



第4-2図e 準同質遺伝子系統(NIL-2-4)の染色体構成

### 4-3-3 低温発芽性および低温苗立性

これら第3染色体の低温発芽性に関する QTL 領域を残す 5 つの NIL を用いて低温発芽性の解析を行った。その結果、qGL-3-1 と qGL-3-2 の 2 ヶ所の QTL を持つ NIL-1-1 の平均発芽日数は 6.09 日と最も早い値を示し、その他の qGL-3-1、qGL-3-2 いずれか 1 ヶ所の QTL を持つ NIL-2-4、NIL-2-3、NIL-2-1 および NIL-1-3 の平均発芽日数はそれぞれ 6.62、6.73、6.77 および 7.57 日を示した(第 4-2 表、第 4-3 図)。これに対し、低温発芽性に劣るあきたこまちの平均発芽日数は 8.73 日と最も遅く、低温発芽性に優れる Maratelli は 6.42 日を示した(第 4-2 表、第 4-3 図)。これらの NIL では低温発芽性があきたこまちよりも有意に高くなり、Maratelli と同程度の低温発芽性を持つことが明らかとなった(第 4-2 表、第 4-3 図)。さらに、1 ヶ所の

第4-2表 「Maratelli/あきたこまち」由来準同質遺伝子系統の低温発芽性と遺伝子型

品種・系統名	低温発芽性 <sup>1)</sup> (日)	QTL領域の遺伝子型 <sup>2)</sup>			
		qGL-1-1 qSEL-1-1	qGL-3-1 qSVL-3-1	qGL-3-2 -	qGL-11-1 qSVL-11-1
Maratelli	6.42 ab	M	M	M	M
NIL-1-1	6.09 a	A	H	H	A
NIL-1-3	7.57 b	A	H	A	A
NIL-2-1	6.77 ab	A	H	A	A
NIL-2-3	6.73 ab	A	A	H	A
NIL-2-4	6.62 ab	A	H	A	A
あきたこまち	8.73 c	A	A	A	A

1)15°Cでの平均発芽日数

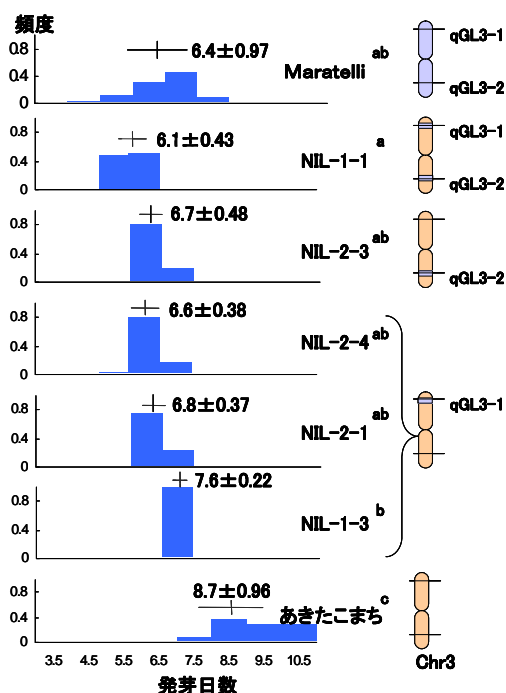
同一英数字のついた品種・系統間には1%水準で有意差がない(Tukey's test)

2)M:「Maratelli」ホモ型, A:「あきたこまち」ホモ型, H:ヘテロ型

QTLを持つ系統よりも2ヶ所のQTLを合わせ持つ系統がより高い低温発芽性を示すことが明らかとなった。

これらのNILを用いて、QTL領域が低温苗立性にどのような影響を与えるかについて解析した。低温苗立性に優れるMaratelliの草丈の平均値は163mm、低温苗立性が劣るあきたこまちの草丈は83mmで、8つのNILの草丈は115～141mmを示した(第4-3表)。低温苗立性のQTL、qSVL-3-1(qGL-3-1)領域を持つ

NIL-1-1、NIL-1-3、NIL-2-1、NIL-2-4は5%水準であきたこまちよりも有意に低温苗立性が良好であった(第4-3表)。低温発芽性QTL、qGL-3-2領域のみを持つNIL-2-3もあきたこまちよりも有意に良好な低温苗立性を示し、Maratelliと同程度であった(第4-3表)。また、これらのQTL領域を持たないNIL-1-2、NIL-1-4、NIL-2-2はいずれも有意にあきたこまちを上回る低温苗立性を示し、NIL-1-4はMaratelli並に良好であった(第4-3表)。



第4-3図 準同質遺伝子系統に見られる低温発芽性の変異  
同一アルファベットがついた品種・系統間には1%水準で有意差がない(Tukey's test)

#### 4-3-4 考察

本章で解析した8つのNILのうち5系統が低温発芽性のQTL、qGL-3-1、qGL-3-2のいずれかあるいは両方を持っていた。これら系統では低温発芽性があきたこまちよりも有意に高くなり、Maratelliと同程度の低温発芽性を持つことから、第3染色体上に検出された2ヶ所の染色体領域には低温発芽性を高める作用を有する遺伝子が存在することが明らかとなった。さらに、1ヶ所のQTLを持つ系統よりも2ヶ所のQTLを合わせ持つ系統の方がより高い低温発芽性を示したことから、これらの遺伝子は相加的に低温発芽性を高めるものと考えられた。低温発芽性を左右するQTLについては、Fujinoら(2004)がはやまさりとItalice LivornoのF<sub>2</sub>集団を用いて第3染色体上に2ヶ所と第4染色体上に1ヶ所のQTLを、Miuraら(2001)が日本晴とKasalathとの戻し交雑自殖系統を用いて第2、第4、第5および第11染色体上に5ヶ所のQTLを検出しており、これらのQTLと本研究で見いだされたQTLを集積させることによって、より低温発芽性の高い系統を育成できる可能性がある。

第4-3表 「Maratelli/あきたこまち」由来準同質遺伝子系統の低温苗立性と遺伝子型

品種・系統名	低温苗立性 <sup>1)</sup> (mm)	QTL領域の遺伝子型 <sup>2)</sup>			
		qGL-1-1 qSEL-1-1	qGL-3-1 qSVL-3-1	qGL-3-2 -	qGL-11-1 qSVL-11-1
Maratelli	163 a	M	M	M	M
NIL-1-1	141 ab	A	H	H	A
NIL-1-2	115 bc	A	A	A	A
NIL-1-3	135 bc	A	H	A	A
NIL-1-4	141 ab	A	A	A	A
NIL-2-1	133 bc	A	H	A	A
NIL-2-2	125 bc	A	A	A	A
NIL-2-3	139 abc	A	A	H	A
NIL-2-4	140 ab	A	H	A	A
あきたこまち	83 d	A	A	A	A

1)低温苗立性簡易検定による草丈(mm)

同一英数字のついた品種・系統間には5%水準で有意差がない(Tukey's test)

2)M:「Maratelli」ホモ型, A:「あきたこまち」ホモ型, H:ヘテロ型

低温苗立性に関する QTL、qSVL-3-1 を持つ系統が 8 系統中 4 系統あり、いずれもあきたこまちより有意に優れた低温苗立性を示した。このことから、第 3 染色体上に検出された QTL 領域には低温苗立性を向上させる遺伝子が存在することが明らかとなった。これら 4 系統は同時に低温発芽性も向上しており、qSVL-3-1 の極近傍に検出された低温発芽性の QTL、qGL-3-1 が低温発芽性を向上させることで良好な苗立になったと考えられる。また、低温発芽性の QTL、qGL-3-2 のみを持つ 1 系統の低温苗立性も向上していた。このことから、低温発芽性がその後の低温苗立性に大きく影響していることが示唆された。第 3 章で示された低温発芽性と低温苗立性との高い相関関係は、この作用によるものと考えられる。その一方で、本研究で検出した低温発芽性、低温苗立性の QTL を 1 つも持たない 3 系統でも低温苗立性も向上していた。このことは、第 3 章では検出されなかった作用力の小さな低温苗立性の QTL を両親が持っていることを示している。

本章において、遺伝子型を解析した QTL 領域のうち qGL-1-1 (qSEL-1-1) と qSVL-11-1 (qGL-11-1) は全ての NIL であきたこまち型のホモであり、BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub> を相互交配する時点で固定していたものと考えられる。表現型による選抜ができなかったことから、これらの QTL 領域に座乗している低温苗立性に関わる形質を支配する遺伝子が劣性で作用する可能性を示唆している。つまり、Maratelli が持つ劣性の低温苗立性遺伝子をあきたこま치의バックグラウンドに表現型による選抜で集積させることは困難であることを示している。DNA マーカー選抜は優性遺伝子、劣性遺伝子の区別なく利用が可能であるため、劣性遺伝子を導入した品種を育成しようとする場合には DNA マーカー選抜が不可欠であると言える。

#### 4-4 まとめ

本研究に用いた NIL は低温発芽性の QTL あるいは低温苗立性の QTL を有しており、表現型においても低温発芽性と低温苗立性の向上が認められた。このことから、第 3 章で検出された QTL 領域には低温発芽性、低温苗立性の遺伝子が座乗していることが明らかとなった。従って、これらを導入することにより、低温発芽性、低温苗立性の改善が期待できる。特に、低温発芽性を改善することは発芽後の低温苗立性の向上にもつながる可能性がある。また、本研究で用いた NIL が QTL 領域を持ち表現型の向上が確認できたことから、表現型の選抜により NIL の育成が可能であることも示された。しかしながら、8 系統中 3 系統が QTL 領域を持たなかったこと、第 1、11 染色体上の 2 ヶ所の QTL 領域でそれらを 1 ヶ所以上持つ系統がなかったことなどから、確実に QTL 領域を導入するためには DNA マーカー選抜が有効であると言える。特に、劣

性遺伝子の導入には DNA マーカー選抜が不可欠であると考えられる。

本章により、本研究で検出された QTL はそれを導入することにより低温発芽性、低温苗立性を向上させることが可能で、その選抜には近接する DNA マーカーが利用可能であることが明らかとなった。

## 5 DNA マーカーの育種選抜への利用

### 5-1 抄録

QTL 領域を確実に効率よく日本稲に導入するために、DNA マーカーを利用した選抜システムを構築しその有効性を明らかにしようと考えた。

DNA マーカー選抜と連続戻し交配を利用して、低温苗立性 QTL 領域を単独で持つあきたこまち NIL の育成を目指した。Maratelli/あきたこまちあるいは Italic Livorno/あきたこまち後代の F<sub>3</sub> 集団の中から QTL 領域を持ついくつかの個体を DNA マーカーで選抜した。これら個体にあきたこまちは連続戻し交配しながら DNA マーカー選抜を重ねていき、BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub> 種子、BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub> 種子を得たところまで育成が進めた。

NIL 育成の経過において、染色体はほぼ理論値どおり反復親であるあきたこまちに置換しており、また、各系統内で個体ごとの置換率には大きな変異が見られなかった。これらのことから、連続戻し交配によって世代を進めた場合、DNA マーカー選抜を加えなくてもほぼ理論値に基づき染色体は反復親に置換していくことを明らかにした。

NIL の育成には、連続戻し交配の初期世代は導入しようとする QTL 領域のみ DNA マーカーで選抜し、世代を重ね染色体全体がほぼ反復親に置換してからそれ以外の領域にマーカー選抜を利用する方法が有効であると考えた。具体的には (1) BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub> ~ BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub> 世代は QTL 領域のみ DNA マーカー選抜。 (2) BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub> 世代で網羅的に遺伝子型解析を絞り込めばヘテロ型のマーカーを絞り込む。 (3) BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub> 世代で QTL 領域以外のマーカーが全て反復親ホモ型である個体を選抜。 (4) BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub> 世代で導入しようとする QTL 領域が供与親ホモ型の個体を選抜する。以上のような育種選抜システムを採用することで、DNA マーカー選抜の効果を最大限に生かせるものと結論した。

本研究で構築した DNA マーカーを利用した選抜システムを表現型選抜による従来法と比較し、その有効性について考察した。DNA マーカー選抜システムは選抜精度が高く、大規模な栽培圃場も必要としない。そのため、世代促進が最大限に活用できるため育成期間を大幅に短縮できる。さらに、目的形質と不良形質とを分別して選抜できることができる。すなわち、この DNA マーカー選抜システムを育種事業に取り入れることによって、育種年限の短縮と育成系統のレベル



アップが可能になると同時に、圃場や人員の効率的利用が可能になると結論した。

### 5-2 緒言

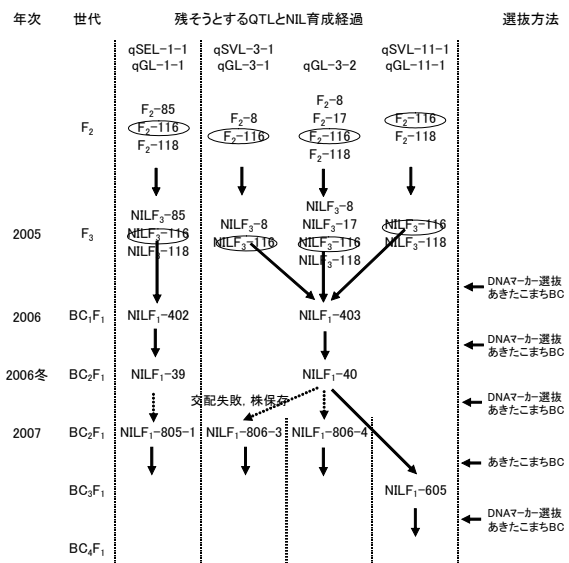
第3章で示したように、Maratelli あるいは Italice Livorno とあきたこまちの交配組合せ後代の QTL 解析から、複数の低温苗立性に関与する QTL を検出した。さらに、第4章ではこれら QTL を表現型による選抜で導入した NIL を解析し、QTL 領域の導入が低温苗立性の向上に有効であることを証明した。同時に、表現型による選抜では QTL 領域を持たない系統も選抜されたり、劣性の QTL 領域の選抜ができないなどの問題点も浮上し、より精度の高い選抜には DNA マーカーの利用が必要であると考えられた。近年、QTL の検出を可能にする DNA マーカーが開発されたことにより (Yano and Sasaki 1997)、量的形質のような複数の遺伝子が関与する形質であっても、それぞれの QTL の近傍にある DNA マーカーを指標として QTL を単独で有する NIL の選抜が可能になってきている (Yano et al. 1997、Yamamoto et al. 2000、Lin et al. 2000)。

そこで、本章では第3章で検出された QTL 領域を確実に効率的にあきたこまちに導入するために DNA マーカーを利用した選抜システムを確立し、その有効性を明らかにしようと考えた。そのため、Maratelli および Italice Livorno にあきたこまちを連続戻し交配する過程に DNA マーカー選抜を適用し、選抜された系統群の遺伝子型の経年変化を解析した。さらに、この結果を元に DNA マーカー選抜と連続戻し交配を利用したより効率の良い育種選抜システムを提案する。

### 5-3 DNA マーカー選抜による 準同質遺伝子系統 (NIL) の育成

#### 5-3-1 育成経過

1) Maratelli 由来の低温苗立性に関与する QTL の導入



第5-1図 「Maratelli」由来の低温苗立性QTLをマーカー選抜で導入した「あきたこまち」NILの育成経過

Maratelli の低温苗立性に関与する染色体領域を DNA マーカー選抜によってあきたこまちに導入した NIL の育成を進めた (第5-1図)。材料として第3章で QTL 解析に用いた Maratelli/あきたこまち後代の F<sub>2</sub> 系統群の中から、NILF<sub>3</sub>-8、NILF<sub>3</sub>-17、NILF<sub>3</sub>-85、NILF<sub>3</sub>-116、NILF<sub>3</sub>-118 の5系統を選抜して利用した。前歴の F<sub>2</sub> 個体において、系統 NILF<sub>3</sub>-8 は qSVL-3-1 (qGL-3-1) と qGL-3-2 領域をそれぞれヘテロ型で、系統 NILF<sub>3</sub>-17 は qGL-3-2 領域を Maratelli ホモ型で、系統 NILF<sub>3</sub>-85 は qGL-1-1 (qSEL-1-1) 領域をヘテロ型で、系統 NILF<sub>3</sub>-116 は qGL-1-1 (qSEL-1-1)、qSVL-3-1 (qGL-3-1) 領域をヘテロ型、qGL-3-2、qSVL-11-1 (qGL-11-1) 領域を Maratelli ホモ型で、系統 NILF<sub>3</sub>-118 は qGL-1-1 (qSEL-1-1)、qGL-3-2、qSVL-11-1 (qGL-11-1) 領域をいずれも Maratelli ホモ型で持つ (第5-1表)。

これら5系統にあきたこまちを連続戻し交配し、qGL-1-1 (qSEL-1-1)、qSVL-3-1 (qGL-3-1)、qGL-3-2、qSVL-11-1 (qGL-11-1) 領域をそれぞれ Maratelli ホモ型で持つ4つの NIL を育成することを目的とした。当初は各 F<sub>2</sub> 個体が持つ QTL 領域を全て残した NIL

第5-1表 準同質遺伝子系統育成に用いた「Maratelli/あきたこまち」後代F<sub>3</sub>系統の前歴F<sub>2</sub>個体の遺伝子型

品種・系統名	QTL領域マーカーの遺伝子型 <sup>1)</sup>										染色体 <sup>2)</sup> 置換率 (%)
	qGL-1-1, qSEL-1-1			qSVL-3-1, qGL-3-1			qGL-3-2		qSVL-11-1, qGL-11-1		
	RM5	RM5914	RM297	RM3387	RM6349	RM3872	RM3436	RM6329	RM206	RM7277	
NILF <sub>3</sub> -8	H	A	A	H	H	H	H	H	A	A	57.3
NILF <sub>3</sub> -17	A	A	A	A	A	A	M	M	A	A	54.5
NILF <sub>3</sub> -85	M	H	H	A	A	H	A	A	A	A	50.0
NILF <sub>3</sub> -116	H	H	H	H	H	M	M	M	M	M	46.1
NILF <sub>3</sub> -118	H	H	H	A	A	A	H	H	H	H	50.6

1) M: 「Maratelli」ホモ型, A: 「あきたこまち」ホモ型, H: ヘテロ型

2) 染色体置換率 (%) = ((あきたこまちホモ型のマーカー数) + (ヘテロ型のマーカー数) / 2) / (解析した全マーカー数) × 100

を育成する計画であったが、複数の QTL を同時に残そうとすると確率的に相当数の個体を遺伝子型解析する必要があったため、各 QTL 領域を単独で持つ NIL を育成することにした。遺伝子型解析は QTL 解析で作成した遺伝子地図の 89 マーカーを用いた。

2005 年に圃場に各系統 30 個体ずつ植栽し、あきたこまちに出穂期と草型が近い個体を系統あたり 3 個体、計 15 個体を選抜して遺伝子型を網羅的に解析した。これら 15 個体の中から qGL-1-1 (qSEL-1-1) の NIL 育成に用いる NILF<sub>3</sub>-116-2、qSVL-3-1 (qGL-3-1) と qGL-3-2、qSVL-11-1 (qGL-11-1) の NIL 育成に用いる NILF<sub>3</sub>-116-3 の 2 個体を選抜し、それぞれにあきたこまちを戻し交配した。戻し交配に用いた NILF<sub>3</sub>-116-2、NILF<sub>3</sub>-116-3 の 2 個体は導入しようとする QTL 領域がいずれも Maratelli ホモ型であった。また、結実した BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> 種子の数はそれぞれ 77 粒、70 粒であった。

2006 年には、NILF<sub>3</sub>-116-2、NILF<sub>3</sub>-116-3 由来の BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> 集団をそれぞれ NILF<sub>1</sub>-402、NILF<sub>1</sub>-403 と名付け 77 個体、70 個体を圃場に植栽した。この中で、あきたこまちに出穂期、草型が近い個体について遺伝子型を網羅的に解析した。この世代では前歴で交配に用いた個体の QTL 領域が全て Maratelli ホモ型であり QTL 領域の遺伝子型が分離しないため、解析する個体数を多くする必要はないと判断し、NILF<sub>1</sub>-402 は 3 個体、NILF<sub>1</sub>-403 は 6 個体についてゲノム全体にわたって遺伝子型を解析した。また、この世代以降は前歴であきたこまちホモ型であったマーカーについてはあきたこまちに置換したものと見なし解析しないこととした。解析した個体の中から qGL-1-1 (qSEL-1-1) の NIL 育成に用いる NILF<sub>1</sub>-402-2、qSVL-3-1 (qGL-3-1)、qGL-3-2、qSVL-11-1 (qGL-11-1) の NIL 育成に用いる NILF<sub>1</sub>-403-24 の 2 個体を選抜した。それぞれにあきたこまちを戻し交配し、それぞれ 55 粒、139 粒の BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> 種子を得た。

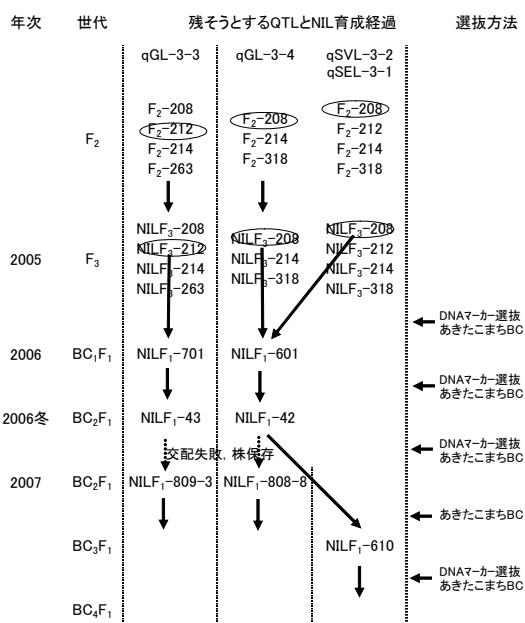
さらに、2006 年冬に NILF<sub>1</sub>-402-2、NILF<sub>1</sub>-403-24 由来の BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> 集団をそれぞれ NILF<sub>1</sub>-39、NILF<sub>1</sub>-40 と名付け各 25 個体ずつ温室内に植栽し、うち各 22 個体について遺伝子型を解析した。この世代から QTL 領域が分離するため遺伝子型解析は網羅的ではなく QTL 領域を中心に行い、解析する個体数を多くした。解析した個体の中から qGL-1-1 (qSEL-1-1) の NIL 育成に用いる NILF<sub>1</sub>-39-1、qSVL-3-1 (qGL-3-1) の NIL 育成に用いる NILF<sub>1</sub>-40-12、qGL-3-2 の NIL 育成に用いる NILF<sub>1</sub>-40-17、qSVL-11-1 (qGL-11-1) の NIL 育成に用いる NILF<sub>1</sub>-40-18 の 4 個体を選抜し、それぞれにあきたこまちを戻し交配した。しかし、冬季のため交配の条件が悪く、結実した BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub> 種子の数はそれぞれ 0 粒、0 粒、0 粒、2 粒であった。

BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub> 種子が結実した NILF<sub>1</sub>-40-18/あきたこまち

の後代はその種子を、それ以外の NILF<sub>1</sub>-39-1、NILF<sub>1</sub>-40-12、NILF<sub>1</sub>-40-17 については株保存した個体を、2007 年にそれぞれ圃場栽培した。NILF<sub>1</sub>-40-18 由来の系統には NILF<sub>1</sub>-605、株保存した NILF<sub>1</sub>-39-1、NILF<sub>1</sub>-40-12、NILF<sub>1</sub>-40-17 の各個体はそれぞれ NILF<sub>1</sub>-805-1、NILF<sub>1</sub>-806-3、NILF<sub>1</sub>-806-4 と名付けた。NILF<sub>1</sub>-605 の 2 個体については QTL 領域の遺伝子型を解析し、マーカーがヘテロ型の NILF<sub>1</sub>-605-1 を選抜、あきたこまちの戻し交配し 88 粒の BC<sub>4</sub>F<sub>1</sub> 種子を得た。同様に、NILF<sub>1</sub>-805-1、NILF<sub>1</sub>-806-3、NILF<sub>1</sub>-806-4 にもあきたこまちを戻し交配し、それぞれ 2 粒、243 粒、32 粒の BC<sub>4</sub>F<sub>1</sub> 種子を得た。

2) Italice Livorno 由来の低温苗立性に関与する QTL の導入

Italice Livorno の低温苗立性に関与する染色体領域を DNA マーカー選抜によってあきたこまちに導入した NIL の育成を進めた (第 5-2 図)。材料として第 3 章で QTL 解析に用いた Italice Livorno/あきたこまち後代の F<sub>3</sub> 系統群の中から、NILF<sub>3</sub>-208、NILF<sub>3</sub>-212、NILF<sub>3</sub>-214、NILF<sub>3</sub>-263、NILF<sub>3</sub>-318 の 5 系統を選抜して利用した。前歴の F<sub>2</sub> 個体において系統 NILF<sub>3</sub>-208 は qGL-3-3 をヘテロ型、qGL-3-4 と qSVL-3-2 (qSEL-3-1) 領域を Italice Livorno ホモ型で持ち、NILF<sub>3</sub>-212 は qGL-3-3 と qSVL-3-2 (qSEL-3-1) 領域をヘテロ型で持ち、NILF<sub>3</sub>-214 は qGL-3-3 と qGL-3-4 領域をヘテロ型、qSVL-3-2 (qSEL-3-1) 領域を Italice Livorno ホモ型で持ち、NILF<sub>3</sub>-263 は qGL-3-3 と qGL-3-4 領域をヘテロ型で持ち、さらに NILF<sub>3</sub>-318 は qGL-3-4 領域を Italice Livorno ホモ型で、qSVL-3-2 (qSEL-3-1) 領域をヘテロホモ型で持つ (第 5-2 表)。



第5-2図 「Italice Livorno」由来の低温苗立性QTLをマーカー選抜で導入した「あきたこまち」NILの育成経過

第5-2表 準同質遺伝子系統育成に用いた「Italica Livorno/あきたこまち」後代F<sub>3</sub>系統の前歴F<sub>2</sub>個体の遺伝子型

品種・系統名	QTL領域マーカーの遺伝子型 <sup>1)</sup>							染色体 <sup>2)</sup> 置換率 (%)
	qGL-3-3		qGL-3-4			qSVL-3-2, qSEL-3-1		
	RM5474	RM3872	RM6736	RM1350	RM3525	RM6970	RM6987	
NILF <sub>3</sub> -208	H	H	IL	IL	IL	IL	IL	38.8
NILF <sub>3</sub> -212	H	H	A	A	A	H	IL	43.1
NILF <sub>3</sub> -214	H	H	H	H	H	IL	IL	35.1
NILF <sub>3</sub> -263	H	H	H	A	A	A	A	38.3
NILF <sub>3</sub> -318	A	A	IL	IL	IL	H	H	40.4

1)IL:「Italica Livorno」ホモ型, A:「あきたこまち」ホモ型, H:ヘテロ型

2)染色体置換率(%)=(あきたこまちホモ型のマーカー数)+(ヘテロ型のマーカー数)/2/(解析した全マーカー数)×100

遺伝子型の解析には QTL 解析で作成した遺伝子地図の 94 マーカーを用いた。

これら系統にあきたこまちを連続戻し交配し、qGL-3-3、qGL-3-4、qSVL-3-2 (qSEL-3-1) 領域をそれぞれ Italica Livorno ホモ型で持つ 3 つの NIL を育成することを目的とした。当初は各 F<sub>2</sub> 個体が持つ QTL 領域を全て残した NIL を育成する計画であったが、複数の QTL を残そうとすると確率的に相当数の個体を遺伝子型解析する必要があったため、各 QTL 領域を単独で持つ NIL を育成することにした。

2005 年に圃場に各系統 30 個体ずつ植栽し、あきたこまちに出穂期と草型が近い個体を系統あたり 3 個体、計 15 個体選抜し遺伝子型を網羅的に解析した。これら 15 個体の中から qGL-3-3 の NIL 育成に用いる NILF<sub>3</sub>-212-1、qGL-3-4 と qSVL-3-2 (qSEL-3-1) の NIL 育成に用いる NILF<sub>3</sub>-208-1 の 2 個体を選抜し、それぞれにあきたこまちを戻し交配した。戻し交配に用いた NILF<sub>3</sub>-212-1、NILF<sub>3</sub>-208-1 の 2 個体は導入しようとする QTL 領域がいずれも Italica Livorno ホモ型であった。結実した BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub> 種子の数はそれぞれ 34 粒、25 粒であった。

2006 年に NILF<sub>3</sub>-212-1、NILF<sub>3</sub>-208-1 由来の BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub> 集団をそれぞれ NILF<sub>1</sub>-701、NILF<sub>1</sub>-601 と名付け、NILF<sub>1</sub>-701 は 13 個体、NILF<sub>1</sub>-601 は 43 個体を圃場に植栽し、あきたこまちに出穂期と草型が近い個体についてのみ全染色体について遺伝子型を網羅的に解析した。この世代では前歴で交配に用いた個体の QTL 領域が全て Italica Livorno ホモ型であり分離しないため、解析する個体数を多くする必要はないと判断し、各系統 3 個体ずつ解析した。また、この世代以降は前歴であきたこまちホモ型であったマーカーについてはあきたこまちに置換したものと見なし解析しないこととした。解析した個体の中から qGL-3-3 の NIL 育成に用いる NILF<sub>1</sub>-701-2、qGL-3-4 と qSVL-3-2 (qSEL-3-1)

の NIL 育成に用いる NILF<sub>1</sub>-601-2 の 2 個体を選抜した、それぞれにあきたこまちを戻し交配した。結実した BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub> 種子の数はそれぞれ 34 粒、25 粒であった。

2006 年冬に NILF<sub>1</sub>-701-2、NILF<sub>1</sub>-601-2 由来の BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub> 集団をそれぞれ NILF<sub>1</sub>-43、NILF<sub>1</sub>-42 と名付け各 25 個体ずつ温室内に植栽し、各系統とも 22 個体について遺伝子型を解析した。この世代から QTL 領域が分離するため遺伝子型解析は網羅的ではなく QTL 領域を中心に行い、解析する個体数を多くした。解析した個体の中から qGL-3-3 の NIL 育成に用いる NILF<sub>1</sub>-43-7、qGL-3-4 の NIL 育成に用いる NILF<sub>1</sub>-42-21、qSVL-3-2 (qSEL-3-1) の NIL 育成に用いる NILF<sub>1</sub>-42-16 の 3 個体を選抜し、それぞれにあきたこまちを戻し交配した。しかし、冬季のため交配の条件が悪く、結実した BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub> 種子の数はそれぞれ 0 粒、0 粒、4 粒であった。

BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub> 種子が結実した NILF<sub>1</sub>-42-16/あきたこまちの後代はその種子を、それ以外の NILF<sub>1</sub>-43-7、NILF<sub>1</sub>-42-21 については株保存した個体を 2007 年に圃場栽培した。NILF<sub>1</sub>-42-16 由来の系統には NILF<sub>1</sub>-610、株保存した NILF<sub>1</sub>-43-7、NILF<sub>1</sub>-42-21 の各個体にはそれぞれ NILF<sub>1</sub>-809-3、NILF<sub>1</sub>-808-8 と名付けた。NILF<sub>1</sub>-610 の 4 個体については QTL 領域の遺伝子型を解析し、マーカーがヘテロ型の NILF<sub>1</sub>-610-3 を選抜し、さらにあきたこまちを戻し交配をして 92 粒の BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub> 種子を得た。同様に、NILF<sub>1</sub>-809-3、NILF<sub>1</sub>-808-8 にもあきたこまちを戻し交配し、それぞれ 57 粒、8 粒の BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub> 種子を得た。

### 5-3-2 DNA マーカー選抜による準同質遺伝子系統 (NIL) の遺伝子型の経過

低温苗立性に関する NIL の育成のために個体毎に DNA マーカーによる遺伝子型の解析を行い、DNA マーカーで選抜した QTL 領域を持つ個体に戻し交配を行いながら世代を進めてきた。ここでは、この過程で

第5-3表 「Maratelli」由来の低温苗立性QTL領域を持つ準同質遺伝子系統の染色体置換の経過

年次 (世代)	理論値	導入しようとするQTL領域			
		qSEL-1-1 qGL-1-1	qSVL-3-1 qGL-3-1	qGL-3-2	qSVL-11-1 qGL-11-1
(F <sub>2</sub> )	系統名	F <sub>2</sub> -116	F <sub>2</sub> -116	F <sub>2</sub> -116	F <sub>2</sub> -116
	染色体置換率 <sup>1)</sup> (%)	50.0	46.1	46.1	46.1
2005	系統名	NILF <sub>3</sub> -116	NILF <sub>3</sub> -116	NILF <sub>3</sub> -116	NILF <sub>3</sub> -116
(F <sub>3</sub> )	染色体置換率 (%)	50.0	44.3~51.5	44.3~51.5	44.3~51.5
	選抜個体	NILF <sub>3</sub> -116-2	NILF <sub>3</sub> -116-3	NILF <sub>3</sub> -116-3	NILF <sub>3</sub> -116-3
	選抜個体置換率 (%)		44.3	47.9	47.9
2006	系統名	NILF <sub>1</sub> -402	NILF <sub>1</sub> -403	NILF <sub>1</sub> -403	NILF <sub>1</sub> -403
(BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub> )	染色体置換率 (%)	75.0	70.1~72.7	70.6~74.2	70.6~74.2
	選抜個体	NILF <sub>1</sub> -402-2	NILF <sub>1</sub> -403-24	NILF <sub>1</sub> -403-24	NILF <sub>1</sub> -403-24
	選抜個体置換率 (%)		72.4	74.2	74.2
2006冬	系統名	NILF <sub>1</sub> -39	NILF <sub>1</sub> -40	NILF <sub>1</sub> -40	NILF <sub>1</sub> -40
(BC <sub>2</sub> F <sub>1</sub> )	置換率(推定) (%)	87.5	81.2~89.6	81.3~88.0	81.3~88.0
	選抜個体	NILF <sub>1</sub> -39-1	NILF <sub>1</sub> -40-12	NILF <sub>1</sub> -40-17	NILF <sub>1</sub> -40-18
	選抜個体置換率 (%)		87.4	85.9	84.9
2007	系統名				NILF <sub>1</sub> -605
(BC <sub>3</sub> F <sub>1</sub> )	置換率(推定) (%)	93.8			92.4~93.5
	選抜個体				NILF <sub>1</sub> -605-1
	選抜個体置換率 (%)				93.5

1)染色体置換率(%) =

((あきたこまちホモ型のマーカー数) + (ヘテロ型のマーカー数)/2) / (解析した全マーカー数) × 100

染色体が反復親であるあきたこまちに置換していく経過について述べる。

あきたこまちの染色体へと置換した割合を染色体置換率(%)とした。便宜上、解析した全 DNA マーカーに占めるあきたこまち型であった DNA マーカーの割合として次式で求めた。

$$\left( \frac{(\text{あきたこまちホモ型のマーカー数}) + (\text{ヘテロ型のマーカー数})}{2} \right) / (\text{解析した全マーカー数}) \times 100 = \text{染色体置換率}(\%)$$

また、BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> 世代からは QTL 領域が分離するので解析する個体数を多くしたため、遺伝子型解析は網羅的ではなく QTL 領域を中心に行い、それ以外の領域は選択的に解析した。そのため染色体置換率を、解析しなかったヘテロ型のマーカーが理論値に基づき 1 世代ごとに 1/2 があきたこまちに置換していくものと仮定した場合の推定置換率とした。

1) Maratelli 由来の低温苗立性に関与する QTL の導入

Maratelli の低温苗立性に関与する染色体領域を

DNA マーカー選抜と連続戻し交配によってあきたこまちに導入した NIL の育成の過程で、染色体が反復親であるあきたこまちに置換していく経過を第 5-3 表に示す。

材料として第 3 章で QTL 解析に用いた Maratelli/あきたこまち後代の F<sub>3</sub> 世代 120 系統の中から選抜した NILF<sub>3</sub>-116 の後代を供試した。この出発材料とした NILF<sub>3</sub>-116 の前歴 F<sub>2</sub> 個体の染色体置換率は 46.1 % であった。

2005 年は F<sub>3</sub> 世代の系統 NILF<sub>3</sub>-116 の 3 個体について 89 マーカーを用いて遺伝子型を網羅的に解析した。

QTL 領域を含めた染色体の置換率は、理論値 50 % に対し、44.3 ~ 51.5 % であった。解析した遺伝子型により 3 個体の中から QTL 領域のマーカーがいずれも Maratelli ホモ型の NILF<sub>3</sub>-116-2 と NILF<sub>3</sub>-116-3 の 2 個体を選抜した。NILF<sub>3</sub>-116-2 および NILF<sub>3</sub>-116-3 の染色体置換率は、それぞれ 44.3 % および 47.9 % であった。

2006 年は NILF<sub>3</sub>-116-2 後代の BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> 世代 NILF<sub>1</sub>-402、NILF<sub>3</sub>-116-3 後代の BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> 世代 NILF<sub>1</sub>-403 の 2 集団からそれぞれ 3 個体、6 個体について遺伝子型を網羅的に解析した。QTL 領域のマーカーは理論どおりいずれ

第5-4表 「Italica Livorno」由来の低温苗立性QTL領域を持つ準同質遺伝子系統の染色体置換の経過

年次 (世代)		理論値	導入しようとするQTL領域		
			qGL-3-3	qGL-3-4	qSVL-3-2 qSEL-3-1
(F <sub>2</sub> )	系統名		F <sub>2</sub> -212	F <sub>2</sub> -208	F <sub>2</sub> -208
	染色体置換率 <sup>1)</sup>	(%) 50.0	43.1	38.8	38.8
2005 (F <sub>3</sub> )	系統名		NILF <sub>3</sub> -212	NILF <sub>3</sub> -208	NILF <sub>3</sub> -208
	染色体置換率	(%) 50.0	39.4~46.5	37.9~43.9	37.9~43.9
	選抜個体		NILF <sub>3</sub> -212-1	NILF <sub>3</sub> -208-1	NILF <sub>3</sub> -208-1
	選抜個体置換率	(%)	39.4	43.9	43.9
2006 (BC <sub>2</sub> F <sub>1</sub> )	系統名		NILF <sub>1</sub> -701	NILF <sub>1</sub> -601	NILF <sub>1</sub> -601
	染色体置換率	(%) 75.0	64.7~68.3	69.5~71.5	69.5~71.5
	選抜個体		NILF <sub>1</sub> -701-2	NILF <sub>1</sub> -601-2	NILF <sub>1</sub> -601-2
	選抜個体置換率	(%)	68.3	70.5	70.5
2006冬 (BC <sub>2</sub> F <sub>1</sub> )	系統名		NILF <sub>1</sub> -43	NILF <sub>1</sub> -42	NILF <sub>1</sub> -42
	置換率(推定)	(%) 87.5	77.2~85.4	81.8~88.9	81.8~88.9
	選抜個体		NILF <sub>1</sub> -43-7	NILF <sub>1</sub> -42-21	NILF <sub>1</sub> -42-16
	選抜個体置換率	(%)	83.2	85	86.6
2007 (BC <sub>3</sub> F <sub>1</sub> )	系統名				NILF <sub>1</sub> -610
	置換率(推定)	(%) 93.8			91.8~93.3
	選抜個体				NILF <sub>1</sub> -610-3
	選抜個体置換率	(%)			91.8

1)染色体置換率(%)=

$$((\text{あきたこまちホモ型のマーカー数}) + (\text{ヘテロ型のマーカー数}) / 2) / (\text{解析した全マーカー数}) \times 100$$

もヘテロ型であった。QTL 領域を含めた染色体の置換率は理論値 75 % に対し、NILF<sub>1</sub>-402 が 70.1 ~ 72.7 %、NILF<sub>3</sub>-403 が 70.6 ~ 74.2 % であった。解析した個体の中から染色体置換率が 72.4 % の NILF<sub>1</sub>-402-2 と 74.2 % の NILF<sub>1</sub>-403-24 を選抜した。

2006 年冬には NILF<sub>1</sub>-402 後代の BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> 世代 NILF<sub>1</sub>-39、NILF<sub>3</sub>-403 後代の BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> 世代 NILF<sub>1</sub>-40 の各 22 個体について遺伝子型を解析した。QTL 領域を含めた染色体の推定置換率は理論値 87.5 % に対し、NILF<sub>1</sub>-39 が 81.2 ~ 89.6 %、NILF<sub>1</sub>-40 が 81.3 ~ 88.0 % と推定された。解析した個体の中から NILF<sub>1</sub>-39-1、NILF<sub>1</sub>-40-12、NILF<sub>1</sub>-40-17、NILF<sub>1</sub>-40-18 を選抜した。これらの個体の染色体置換率はそれぞれ 87.4 %、85.9 %、84.9 %、85.9 % であった。

さらに 2007 年には、NILF<sub>1</sub>-40 後代の BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub> 世代 NILF<sub>1</sub>-605 の 2 個体について、QTL 領域を中心に遺伝子型を解析した結果、染色体置換率は 92.4 % と 93.5 % であった。この中から置換率が 93.5 % で QTL 領域がヘテロ型の NILF<sub>1</sub>-605-1 を選抜し、あきたこま치의 戻し交配を行った。

2) Italica Livorno 由来の低温苗立性に関与する QTL の導入

Italica Livorno の低温苗立性に関与する染色体領域を DNA マーカー選抜と連続戻し交配によってあきたこまちに導入した NIL の育成の過程で、染色体が反復親のあきたこまちに置換されていく経過を第 5-4 表に示した。

材料として第 3 章で QTL 解析に用いた Italica Livorno/あきたこまち後代の F<sub>3</sub> 世代 120 系統から選抜した NILF<sub>3</sub>-212、NILF<sub>3</sub>-208 を出発材料として用いた。材料とした NILF<sub>3</sub>-212 の前歴 F<sub>2</sub>-212、NILF<sub>3</sub>-208 の前歴 F<sub>2</sub>-208 の染色体置換率はそれぞれ 43.1 %、38.8 % であった。

2005 年は NILF<sub>3</sub>-212、NILF<sub>3</sub>-208 の各 3 個体について 94 マーカーを用いて遺伝子型を網羅的に解析した。QTL 領域を含めた染色体の置換率は、理論値 50 % に対し、それぞれ 39.4 ~ 46.5 %、37.9 ~ 43.9 % であった。遺伝子型を解析した個体の中から QTL 領域の DNA マーカーの遺伝子型がいずれも Italica Livorno ホモ型の NILF<sub>3</sub>-212-1、NILF<sub>3</sub>-208-1 の 2 個体を選抜した。これらの染色体置換率は NILF<sub>3</sub>-212-1 で 39.4 %、

NILF<sub>3</sub>-208-1 で 43.9 % であった。

2006 年は NILF<sub>3</sub>-212-1 後代の BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> 世代 NILF<sub>1</sub>-701、NILF<sub>3</sub>-208-1 後代の BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> 世代 NILF<sub>1</sub>-601 の 2 集団から各 3 個体について遺伝子型を網羅的に解析した。QTL 領域のマーカ―は理論どおりいずれもヘテロ型であった。QTL 領域を含めた染色体の置換率は理論値 75 % に対し、NILF<sub>1</sub>-701 が 64.7 ~ 68.3 %、NILF<sub>3</sub>-601 が 69.5 ~ 71.5 % であった。解析した個体の中から選抜した NILF<sub>1</sub>-701-2 と NILF<sub>1</sub>-601-2 の染色体置換率はそれぞれ 68.3 % および 70.5 % であった。

2006 年冬には NILF<sub>1</sub>-701 後代の BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> 世代 NILF<sub>1</sub>-43、NILF<sub>3</sub>-601 後代の BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> 世代 NILF<sub>1</sub>-42 の各 22 個体について遺伝子型を解析した。QTL 領域を含めた染色体の推定置換率は理論値 87.5 % に対し、NILF<sub>1</sub>-43 が 77.2 ~ 85.4 %、NILF<sub>1</sub>-42 が 81.8 ~ 88.9 % と考えられる。解析した個体の中から NILF<sub>1</sub>-43-7、NILF<sub>1</sub>-42-21、NILF<sub>1</sub>-42-16 を選抜した。これらの個体の推定される染色体置換率がそれぞれ 83.2 %、85.0 %、86.6 % であった。

さらに、2007 年に NILF<sub>1</sub>-43 後代の BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub> 世代 NILF<sub>1</sub>-610 の 4 個体について QTL 領域を中心に遺伝子型の解析を進めたところ、染色体置換率は 91.8 ~ 93.3 % であることが明らかになった。この中から置換率が 91.8 % で QTL 領域がヘテロ型の NILF<sub>1</sub>-610-3 を選抜し、あきたこまちの戻し交配を行った。

### 5-3-3 考察

本研究では DNA マーカ―選抜と連続戻し交配技術を組み合わせることで、Maratelli と Italice Livorno の低温苗立性の QTL をあきたこまちに導入した NIL の育成を試みた。染色体の置換の経過を見ると、DNA マーカ―で QTL 領域を確実に残しながら連続戻し交配していくことで、世代を重ねるごとに染色体があきたこまちに置換した割合が増加し、マーカ―選抜と連続戻し交配が NIL の育成に有効であることが証明された (第 5-3 表、第 5-4 表)。また、世代ごとの染色体置換率はいずれも理論値よりやや低い傾向にあった (第 5-3 表、第 5-4 表)。これは、当初、複数の QTL 領域を持つ NIL を育成する計画であったため、材料として Maratelli、Italice Livorno の染色体領域を多く残した系統を用いたためと考えられる。従って、連続戻し交配による NIL 育成の過程では NIL の染色体は、ほぼ理論値どおり反復親であるあきたこまちの染色体に置換していると言える。

また、各系統内で個体ごとの染色体置換率を比較すると、最大値の個体と最小値の個体との差はいずれの世代、系統においても 10 ポイント未満であり、大きな違いは見られなかった (第 5-3 表、第 5-4 表)。つまり、連続戻し交配によって世代を進めた場合、DNA マーカ―選抜を加えなくてもほぼ理論値に基づき染色

体は反復親に置換していくと考えられる。このことから、導入しようとする QTL 領域を持つ個体を DNA マーカ―で選抜さえすれば、機械的に連続戻し交配することで NIL を育成できると考えられる。

### 5-4 DNA マーカ―選抜を利用した効率的育種選抜システム

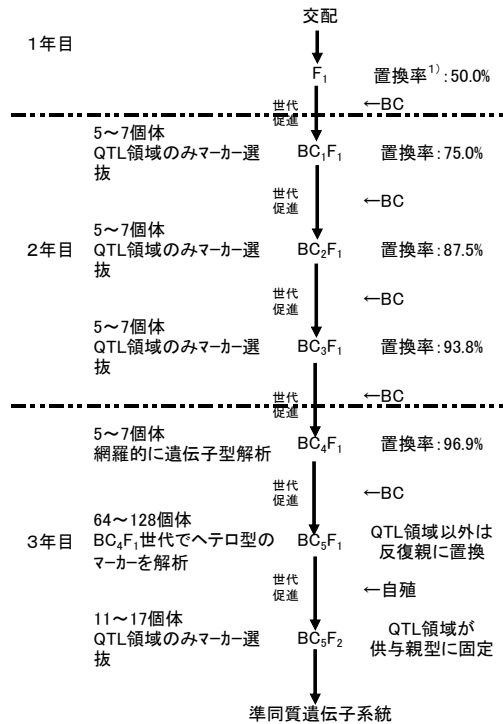
近年、DNA マーカ―が開発されたことにより、QTL の検出が可能となり (Yano and Sasaki 1997)、さらには低温苗立性などの量的形質でも関与する複数の QTL の近傍の DNA マーカ―を指標として個々の QTL を単独で有する NIL の選抜が可能となってきた (Yano et al. 1997、Yamamoto et al. 2000、Lin et al. 2000)。実際に、いもち病抵抗性 (杉浦ら 2004、藤井ら 2005、橋本ら 2005) や縞葉枯病抵抗性 (杉浦ら 2004) などの形質については実際の育種現場で DNA マーカ―選抜が行われはじめており、DNA マーカ―選抜の利用が増加していく傾向にある。しかしながら、多くの育成地では限られた人員と予算で最大限の効果を求められており、遺伝子型解析の作業がより少ない効率的な育種選抜システムが不可欠である。

第 1 節で NIL 育成過程での染色体置換の経過から、連続戻し交配によって世代を進めた場合、DNA マーカ―選抜を加えなくてもほぼ理論値に基づき染色体は反復親に置換していくことが示された。このことから、導入しようとする QTL 領域を持つ個体を DNA マーカ―で選抜さえすれば、機械的に連続戻し交配することで NIL を育成できるとの仮説を立てた。そこで、この仮説に基づき、DNA マーカ―選抜と連続戻し交配を基盤とする効果的かつ効率的な育種選抜システムを構築するとともに、そのシステムを表現型選抜による従来法と比較することにより、育種の効率化に対する効果を検証した。

#### 5-4-1 DNA マーカ―選抜システムの構築

第 1 節で得られた仮説に基づき、DNA マーカ―選抜と連続戻し交配を基盤とする効果的かつ効率的な育種選抜システムを構築した (第 5-3 図)。このシステムではイネの染色体全体をカバーした 100 個の DNA マーカ―を使って NIL を育成する場合を仮定した。

まず、QTL 領域を挟む 2 個のマーカ―で選抜しながら、残り 98 個のマーカ―を反復親ホモ型に置換していくことになる。F<sub>1</sub> 世代では QTL 領域は理論上全個体ヘテロ型なので BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> 世代から DNA マーカ―選抜を行う。前述のとおり QTL 領域以外は理論値に基づき反復親に置換していくものと仮定し、QTL 領域を挟む 2 マーカ―のみを解析する。このとき、解析した個体の全てが QTL 領域を持たない危険率を 5 % 以下にするには  $(1/2)^5 = 0.031$  なので 5 個体、1 % 以



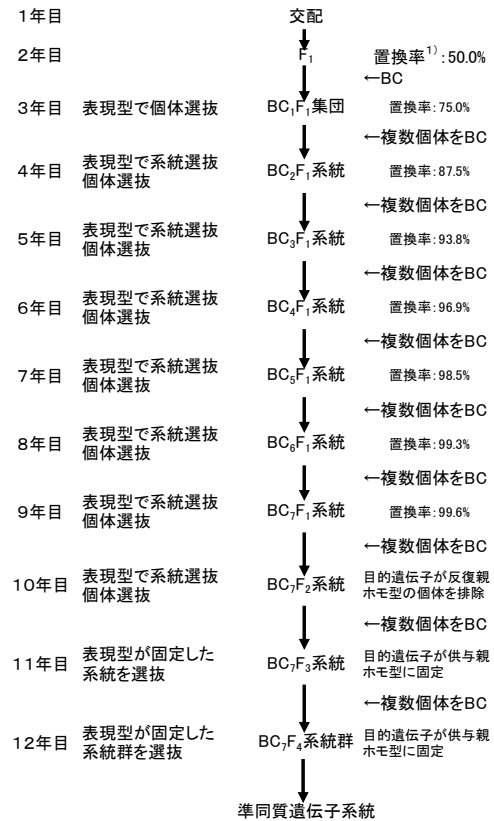
第5-3図 DNAマーカー選抜を利用した効率的育種選抜システム

1)置換率(%) = ((反復親ホモ型のマーカー数) + (ヘテロ型のマーカー数)/2) / (解析した全マーカー数) × 100

下にするには  $(1/2)^7 = 0.008$  なので 7 個体を解析する必要がある。なお、このとき QTL 領域を挟む 2 マーカーは強く連鎖しているため、これらマーカー間で組み換えが起こる確率は無視するものとする。

BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> 世代以降も同様にして選抜を重ねていくと、BC<sub>5</sub>F<sub>1</sub> 世代で理論上の染色体置換率は 96.9% となる。つまり、前述の染色体置換率を求める式に当てはめて逆算すると、残り 6~7 個のマーカーをヘテロ型から反復親ホモ型に置換する必要がある。BC<sub>5</sub>F<sub>1</sub> 世代で網羅的に遺伝子型解析をし、置換すべき 6~7 マーカーに絞り込めば、BC<sub>6</sub>F<sub>1</sub> 世代でこれらマーカーが全て反復親ホモ型である個体を選抜すればよい。このためには、 $(1/2)^6 = 1/64$ 、 $(1/2)^7 = 1/128$  なので 64~128 個体の遺伝子型解析をすればよいことになる。これは、実際の育種現場において現実的な個体数であり、妥当であると考えられる。

次に、QTL 領域がヘテロ型、それ以外の領域が反復親ホモ型となった BC<sub>5</sub>F<sub>1</sub> 個体を得ることができたら、その個体から自殖種子を採種し BC<sub>6</sub>F<sub>1</sub> 世代で導入しようとする QTL 領域が供与親ホモ型の個体を選抜する。この際、解析した個体の中に QTL 領域が供与親ホモ型の個体が存在しない危険率を 5% 以下にするには  $(3/4)^{11} = 0.042$  なので 11 個体、1% 以下にするには  $(3/4)^{17} = 0.008$  なので 17 個体を解析する必要がある。QTL 領域以外にヘテロ型を残しながら自殖しその領域が反復親ホモ型に置換した個体を選抜する方法もあるが、1 マーカーにつき 1/4 の確率となるため



第5-4図 表現型による選抜と連続戻し交配を利用した従来法による準同質遺伝子系統の育成経過

1)置換率(%) = ((反復親ホモ型のマーカー数) + (ヘテロ型のマーカー数)/2) / (解析した全マーカー数) × 100

非効率的である。QTL 領域以外に戻し交配で反復親ホモ型に置換してから自殖し、QTL 領域が供与親ホモ型となった個体を選抜するのが理想的であると考えられる。

このように、NIL の育成には、連続戻し交配の初期世代は導入しようとする QTL 領域のみ DNA マーカーで選抜し、世代を重ね染色体全体がほぼ反復親に置換してからそれ以外の領域にマーカー選抜を利用する方法を採用することで、DNA マーカー選抜の効果を最大限に生かせるものと結論した。

### 5-4-2 表現型選抜による従来法を用いた NIL の育成経過

表現型による選抜および連続戻し交配を用いた従来法（以降、従来法と呼ぶ）によって、優性の 1 遺伝子を導入した NIL を育成する場合を想定した（第 5-4 図）。DNA マーカー選抜システムと同様に導入しようとする遺伝子が座乗する染色体領域のみを残し、残りの領域を反復親に置換することになる。

まず、従来法では表現型が分離する BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> 世代から目的とする形質の表現型検定によって選抜を加える。表現型が優れる個体を選抜し戻し交配に用いるが、表現型分散は遺伝子型分散と環境分散の和からなり、環境分散が大きいかほど目的の遺伝子を選抜できない危険

率が大きくなる。そのため、できるだけ多くの個体を表現型検定に供試し、さらに複数の個体を選抜し戻し交配に用いる必要があると考える。戻し交配によって得られた  $BC_2F_1$  系統群は系統毎に表現型検定に供試し系統選抜の後、 $BC_2F_1$  世代と同様に選抜系統の中から個体選抜を行い複数個体を戻し交配する。 $BC_2F_1$  世代以降も同様にして、系統選抜、個体選抜、戻し交配をしながら世代を進めていく。このとき、第1節で得られたように連続戻し交配によって世代を進めた場合 DNA マーカー選抜を加えなくてもほぼ理論値に基づき染色体は反復親に置換していくを採用すれば、DNA マーカー選抜で 100 個の DNA マーカーを反復親ホモ型に置換した場合と同等にするためには染色体置換率が 99.3 % となる  $BC_6F_1$  世代まで世代を進める必要がある。この  $BC_6F_1$  個体を自殖させ導入しようとする遺伝子を固定する。しかし、 $BC_6F_2$  集団は分離しヘテロ個体も含まれるため表現型で個体選抜した後、さらに自殖し  $BC_6F_3$  系統で表現型が固定した系統を選抜する。環境分散が大きな形質の場合は、さらに  $BC_6F_4$  系統群とし系統群内の全系統の表現型が固定している系統群を選抜する必要があると考える。

#### 5-4-3 DNA マーカー選抜システムの効果の検証

DNA マーカー選抜システムと従来法との比較を第5-5表にまとめた。選抜手法であるが、DNA マーカー選抜システムでは DNA マーカーの多型解析、従来法は表現型検定である。表現型検定では必ず環境要因の影響を受けるため選抜精度が低い。このことから、従来法では目的の遺伝子を選抜できない危険率を考慮するとできるだけ多くの個体を表現型検定し複数個体を戻し交配する必要があり、材料の養成も系統栽培、系統群栽培が望ましい。そのためには、大規模な栽培圃場が必要である。これに対し、DNA マーカーは遺伝子そのものの違いを解析するので、環境要因の影響を

全く受けず選抜精度が高い。そのため、数個体を選抜してポット栽培できれば十分であり、栽培圃場を必要としない。また、表現型の検定には多くの時間と手間がかかる場合が多く、DNA マーカー選抜をシステム化することでそれを省くことができる。

次に選抜ステージであるが、従来法は導入しようとする形質にもよるが生育期全般にわたる。そのため、多くの場合は圃場で検定する必要があり世代促進ができずに、1年に1世代しか進められない。一方、DNA マーカー選抜システムでは幼苗期検定が可能であり、世代促進の利点を最大限に利用できる。短日処理と温室栽培を併用することによって、年間に3世代の世代促進が可能である。

これらのことから、DNA マーカー選抜システムでは従来法と比較して NIL の育成期間を大幅に短縮することが可能になる。従来法では  $BC_2F_3 \sim BC_6F_4$  世代：計 9 ~ 10 世代を進める必要がある。つまり、NIL の育成までは初年度の交配も含めると 10 ~ 11 年を要することになる。一方、DNA マーカー選抜システムでは  $BC_2F_2$  世代：計 7 世代を進める必要がある。これを DNA マーカー選抜システムと世代促進のシステムを組み合わせ年間3世代進めることによって、交配から3年間で NIL の育成が可能である。従来法と比較すると3分の1以下に育成期間を短縮することができる。さらに、劣性遺伝子を導入しようとした場合は、従来法では戻し交配で得られた  $BC_6F_1$  世代では表現型による選抜ができないため  $BC_6F_2$  系統とし後代検定する必要がある。この時、選抜された  $BC_6F_1$  世代を株保存して戻し交配に利用する場合と、 $BC_6F_2$  世代で選抜された系統の中の個体を利用する場合とがあるが、いずれにしても1年ごとに戻し交配と表現型検定とを交互に行うため優性遺伝子導入の場合と比較するとおよそ2倍の20年以上の育成期間が必要である。一方、DNA マーカー選抜の場合は優性遺伝子、劣性遺伝子の区別なく選抜が可能であるため、劣性遺伝子の導入を目的としたときに DNA マーカー選抜のメリットはさらに大きくなる。

DNA マーカー選抜の利点の1つとして形質を分別して選抜できることがあげられる。第2章、第4節の中でも述べたとおり従来法では目的とする形質と不良形質とを分別して選抜することができない。しかし、DNA マーカー選抜では目的遺伝子に連鎖する DNA マーカーとさらにそれに近接する DNA マーカー（フランキングマーカー）とを利用して、目的遺伝子付近で組み換えが起こった個体を積極的に選抜することが可能である。このことを利用して、目的形質と連鎖する不良形質とを分離することができる。

このように、DNA マーカー選抜は選抜精度が高く、大規模な栽培圃場も必要としない。また、世代促進の利点を生かすことによって、系統の育成期間を大幅に

第5-5表 DNAマーカー選抜システムと従来法との比較

比較項目	DNAマーカー選抜 <sup>1)</sup> システム	従来法 <sup>2)</sup>
選抜手法	DNAマーカー	表現型検定
選抜精度	高い	低い
育成材料	個体	系統、系統群
栽培圃場	不要	大規模圃場必要
選抜ステージ	幼苗期	生育期全般 (形質による)
世代促進	年3回	年1回
育種年限	3年	優性遺伝子 11~12年 劣性遺伝子 20年以上
目的形質と他の形質とを分別して選抜	可能	不可能

1) DNAマーカー選抜と連続戻し交配を用いてNILを育成する場合を想定した

2) 表現型選抜と連続戻し交配を用いてNILを育成する場合を想定した



短縮できる。さらに目的形質と不良形質とを分別して選抜できることが大きなメリットである。DNA マーカー選抜システムを育種事業に取り入れることによって、育種年限の短縮と育成系統のレベルアップが可能になると同時に、圃場や人員の効率的利用が可能になると考える。

### 5-5 まとめ

第3章では QTL 解析によって Maratelli や Italice Livorno の低温苗立性を向上させる遺伝子が座乗する染色体領域を特定し DNA マーカー選抜を可能にした。低温苗立性が優れる実用的な直播適応性品種を育成するためには DNA マーカー選抜を導入することが有効であると考えられる。しかしながら、限られた人員と予算で最大限の効果をを得るためには、遺伝子型解析の作業がより少ない効率的な育種選抜システムが不可欠である。

本章では、Maratelli および Italice Livorno にあきたこまちを連続戻し交配を行い、低温苗立性に関する QTL 領域を単独で有する NIL の育成を進めた。その過程で DNA マーカー選抜を適用し、さらに選抜された系統の遺伝子型の経年変化を解析した。その結果、連続戻し交配によって世代を進めた場合、DNA マーカー選抜を加えなくてもほぼ理論値に基づき染色体は反復親に置換していくことが明らかになった。このことから、導入しようとする QTL 領域を持つ個体を DNA マーカーで選抜さえすれば、機械的に連続戻し交配することで NIL を育成できるとの仮説が得られた。そこで、この仮説に基づき、DNA マーカー選抜と連続戻し交配を基盤とする効果的かつ効率的な育種選抜システムを構築した。すなわち、連続戻し交配の各世代では QTL 領域のみを残す個体を DNA マーカーで選抜し、世代を重ね染色体がほぼ反復親に置換した段階で全染色体領域についてマーカー選抜する方法である。

この選抜システムは従来の表現型での選抜に比べ、選抜精度が高く、大規模な栽培圃場も必要としないという点で優れている。また、世代促進の利点を生かすことによって系統の育成期間を大幅に短縮することができ、さらに、目的形質と不良形質とを分別して選抜できるといった利点がある。このように、この選抜システムによって水稲育種が効率化することが期待される。特に、低温苗立性のような従来の表現型に頼った選抜方法では育成が困難である形質の改良に非常に有効であり、本システムによって外国稲の持つ有用な低温苗立性のみを付与させた直播適応性品種の育成が期待される。

## 6 総合考察

秋田県農林水産技術センター農業試験場では多様な

消費者ニーズに応え、かつ農家経営に貢献できる水稲品種の育成を目指してきた。そのために、(1) 良質・良食味の銘柄米、(2) 新形質米、(3) 酒造好適米、(4) 超多収品種、(5) 直播適応性品種の5つを米の品種改良の柱として育種事業を進めている。この研究プロジェクトの中で交配による品種育成を進めてきた。

あきたこまちをはじめとするいくつかの良質・良食味品種の育成がされ、秋田県産米のブランド化など米価向上に大いに貢献している。このような成果は、育種事業を始めた当初から秋田県オリジナルのブランド品種の育成を目標とし、食味にこだわった選抜を続けてきた交配育種における選抜方法が実を結んだ結果として得られたものと考えられる。その後、耐冷性、耐病性などの特性検定については検定法の改良と圃場規模の拡大(第2-1図、第2-2図、第2-3図)、また、食味については物性および成分による多検体検定の導入(第2-4図)により選抜の効率化を図り、2007年には耐冷、耐病、安定多収で良質・良食味の秋田89号を新品種として登録出願するに至った(第2-5図)。

同時に、銘柄米に平行して酒造好適米品種の交配育種に着手し、地域特産的な酒米品種の育成を進めてきた。酒造好適米品種の開発では醸造特性の向上が最大の課題であった。そこで、1988年から秋田県農業試験場(現秋田県農林水産技術センター農業試験場)、秋田県醸造試験場(現秋田県農林水産技術センター総合食品研究所)、秋田県酒造組合の三者共同体制によって酒造好適米新品種開発事業を開始し品種開発に取り組んできた。この事業では、初期世代から酒造特性に重点を置いた選抜を行ってきたことが優れた酒米品種の育成につながったものと考えられる(第2-6図)。この酒米開発の集大成として育成した秋田酒こまちは、2003年に秋田県の奨励品種に採用され、山田錦並の醸造特性と秋田県の気候に適応した栽培特性を併せ持った優良品種である(第2-7表、第2-8表、第2-9表、第2-10表、第2-11表)。

これらの育成品種は、将来的にも秋田県農業の発展のために大いに貢献するものと確信している。これまでにこのような優れた品種が育成できた背景として、秋田県農林水産技術センター農業試験場で明確な育種目標を掲げて品種改良に取り組んできたことが挙げられる。さらに、それを実現するための選抜手法に改善を加えながら育種戦略を構築してきたことが、これらの優れた品種の育成につながったものと考えている。

直播適応性品種についても同様の考えで、寒冷地でも良好な苗立をする良質・良食味品種を育種目標とし、外国稲の低温苗立性を日本稲に導入する試みが続けてきた。最初に、選抜方法として低温苗立性簡易検定の開発を行った。これは乾籾を育苗箱に播種し、その育苗箱を満水状態のコンテナーに水没させ、冷水をかけ流しする方法であり(第2-10図、第2-11図)、

低温苗立性の簡易検定法として有効であることが明らかとなった(第 2-12 図)。一方、低温苗立性に優れる品種の探索を行い、Maratelli、Italica Livorno などヨーロッパ原産の品種の中に低温苗立性に優れるものが存在することを見出した(第 2-13 表、第 2-14 表、第 2-15 表)。

低温苗立性に優れる Maratelli と Italica Livorno を遺伝資源として利用し、低温苗立性を秋田県の主要品種へ導入し、低温苗立簡易検定で系統選抜を行うことで直播適応性品種の育成を試みた。育成された 15 系 2181 と秋系 580 は良好な苗立を示し、外国稲の持つ低温苗立性を日本稲に導入するのに低温苗立簡易検定が有効であることが証明された(第 2-17 表、第 2-20 表)。しかしながら、玄米品質が極めて不良であるなど実用品種としては不十分であった(第 2-13 図、第 2-15 図)。これは外国稲の持つ劣悪形質と低温苗立性とを分別して選抜できなかったためと考えられた。そこで、この問題を解決して実用的な直播適応性品種を育成するため新たな育種戦略の構築を目指すことにした。すなわち、低温苗立性に関する DNA マーカーの開発と、それを活用して低温苗立性を簡便かつ正確に評価し、選抜する方法の確立である。

まず、外国品種の持つ劣悪形質を排除し低温苗立性のみを導入した実用的な直播適応性の高い系統を選抜するために DNA マーカーの開発を行った。そのためには、低温苗立性に関与する染色体領域と劣悪形質を含む他の染色体領域との識別が必要となる。そこで、Maratelli と Italica Livorno の 2 品種にあきたこまちを交配した後代で低温苗立性に関係する形質の QTL 解析を行ったところ、Maratelli/あきたこまちの後代では低温苗立性に関して 2 ヶ所、低温発芽性に関して 4 ヶ所、低温伸長性に関して 1 カ所の QTL を検出することができた(第 3-2 表、第 3-2 図、第 3-4 表、第 3-6 図)。また、Italica Livorno/あきたこまちの後代では低温苗立性に関して 2 ヶ所、低温発芽性に関して 2 ヶ所、低温伸長性に関して 1 カ所の QTL を検出することができた(第 3-7 表、第 3-8 図、第 3-9 表、第 3-11 図)。これらの QTL のうち Maratelli/あきたこまちの後代で検出された 1 カ所の低温発芽性の QTL を除き残り 11 カ所の QTL はいずれも外国稲の対立遺伝子が表現型を良好にする方向に働いていた(第 3-4 表、第 3-9 表)。このことから、これら領域には日本品種が持たない新規の低温苗立性を向上させる遺伝子が座乗している可能性が示唆された。

また、いずれの集団においても低温発芽性と低温苗立性との間に有意な相関関係が認められたが、低温伸長性と低温苗立性との間には相関関係が見られなかった(第 3-5 表、第 3-10 表)。さらに、低温発芽性の QTL と低温苗立性の QTL とが同一の染色体上に検出されたことから(第 3-4 表、第 3-6 図、第 3-9 表、第 3-11

図)、低温発芽性がその後の低温苗立性に対しより大きな影響を与えていると言える。つまり、低温苗立性を改良する場合、Maratelli や Italica Livorno の低温発芽性に関与する QTL (qGL-3-1、qGL-3-2、qGL-3-3、qGL-3-4、qGL-11-1) を利用することで低温苗立性を高められる可能性が示された。さらに、これらの QTL は異なる染色体領域に検出されていることから、これら領域に座乗する遺伝子を集積させることで、より低温苗立性の優れる系統を育成できることが示唆された。今後、本研究で見いだされた低温苗立性を向上させる QTL を日本の良食味品種に導入し、低温苗立性の優れる良食味な直播適応性品種を育成することが期待される。さらに、このような品種育成において、QTL 近傍の DNA マーカーを利用したマーカー選抜が可能である。

本研究において低温発芽性がその後の低温苗立性に対しより大きな影響を与えていると考えられた。イネの低温発芽性については、胚部のカタラーゼ活性との関係が報告されており(Tanida 1996)、イネのカタラーゼ活性を形質転換により導入し、この遺伝子を過剰発現させて低温発芽性を向上させることに成功している(伊藤ら 1999)。本研究において見いだされた低温発芽性 QTL (qGL-3-1、qGL-3-2、qGL-3-3、qGL-3-4、qGL-11-1) 領域に座乗する遺伝子の単離により、これら QTL の作用とカタラーゼ遺伝子との関係が明らかになれば、低温発芽性に関する遺伝子発現の機構の解明が進むものと期待される。

一方、低温伸長性は低温発芽性よりも低温苗立に対する効果が小さいと考えられたが、種子を催芽してから播種するのが一般的な潤土直播栽培で良好な苗立を得るためには低温伸長性を無視できない。そこで、今後、この形質の遺伝機構を解明し低温伸長性を改良した実用品種を育成するためには、表現型をより精密に解析する必要がある。そのためには、催芽初にカルパー粉粒剤を粉衣して土壌還元の影響を排除するなど、環境分散をより小さくする工夫が必要であると考えられる。また、遺伝子型解析には SSR マーカー(赤木 2000、Akagi et al. 1997) や SNP マーカー(門奈 2004) など PCR 法で検出でき、かつ近縁品種間でも比較的多型を示す DNA マーカーを用いることで、できるだけ高密度な遺伝子地図を作製する必要があると考えられる。

本研究で検出された QTL の効果を検証するため、Maratelli を遺伝資源とし低温苗立性の表現型で選抜しながらあきたこまちを連続戻し交配して育成した NIL (第 4-1 表) について解析した。解析に用いた 8 つの NIL のうち 5 系統が低温発芽性の QTL を有しており、なおかつ低温発芽性の表現型の向上が認められた(第 4-2 表、第 4-3 図)。このことから、これら 5 つの NIL が有する QTL 領域には低温発芽性に関する遺伝子が

座乗していると考えられる。さらに、低温発芽性 QTL を 1ヶ所持つ系統よりも 2ヶ所持つ系統の方が良好な低温発芽性を示したことから（第 4-2 表、第 4-3 図）、これらの低温発芽性を高める遺伝子には集積効果があることが明らかとなった。

また、4つの NIL で低温苗立性の QTL (qSVL-3-1) を有しており、いずれもあきたこまちより有意に優れた低温苗立性を示した（第 4-3 表）。このことから、第 3 染色体上に検出された QTL 領域には低温苗立性を向上させる遺伝子が存在することが明らかとなった。これら 4 系統は同時に低温発芽性も向上しており（第 4-2 表、第 4-3 図）、qSVL-3-1 の極近傍に検出された低温発芽性の QTL、qGL-3-1 が低温発芽性を向上させることで良好な苗立になったと考えられる。低温発芽性に関する QTL はこれまでに複数の報告があるが、その中には本研究で見出された QTL とは異なる領域に見出されたものがある (Miura et al. 2001、Fujino et al. 2004)。また、本研究では低温苗立性に優れた品種が複数見出されており（第 2-13 表、第 2-14 表、第 2-15 表）、これらが低温発芽性を向上させる新たな QTL を持つ可能性が考えられる。すなわち、本研究で用いた Maratelli と Italice Livorno に加え、複数の母本から低温発芽性を向上させる遺伝子を集積することで、より低温苗立性の優れた系統を育成できる可能性がある。また、解析に用いた 8 つの NIL のうち 3 系統が QTL 領域を持たなかったこと、第 1、11 染色体上の 2ヶ所の QTL 領域を持つ系統がなかったことから、確実に低温苗立性に関与する QTL 領域を導入するためには DNA マーカー選抜が必要であることが示唆された。特に、劣性遺伝子の導入には DNA マーカー選抜が不可欠であると考えられた。

本研究により低温苗立性を向上させる染色体領域が特定されたことから、これらの染色体領域のみを持つ系統を DNA マーカーで選抜することが可能になった。そこで、DNA マーカー選抜と連続戻し交配を利用した効率的な育種選抜システムを構築し、その有効性を明らかにした。Maratelli および Italice Livorno にあきたこまちを連続戻し交配し低温苗立性に関する QTL 領域を単独で有する NIL を育成する過程（第 5-1 図、第 5-2 図）に DNA マーカー選抜を適用し、選抜された系統群の遺伝子型の経年変化を解析した。その結果、染色体がほぼ理論値どおり反復親であるあきたこまちに置換していくことが確かめられたため（第 5-3 表、第 5-4 表）、この現象を利用して DNA マーカー選抜と連続戻し交配を基盤とした効果的かつ効率的な選抜システムを構築した。すなわち、連続戻し交配の初期世代は導入しようとする QTL 領域のみ DNA マーカーで選抜し、世代を重ね染色体全体がほぼ反復親に置換した BC<sub>n</sub>F<sub>1</sub> 世代からそれ以外の領域にマーカー選抜を利用する方法である（第 5-3 図）。

表現型選抜による従来法（第 5-4 図）と比較し、この選抜システムの利点として次のことが挙げられる（第 5-5 表）。まず、DNA マーカー選抜は選抜精度が高く、大規模な栽培圃場も必要としない。また、世代促進の利点を生かすことによって、系統の育成期間を大幅に短縮できる。さらに目的形質と不良形質とを分別して選抜できることが大きなメリットである。

この育種選抜システムを採用することで、現在育成中の系統の中から短期間で低温苗立性のみを向上させた系統を作成できるものと考えられる。さらには、系統間の相互交配で個別に導入した複数の QTL 領域を集積させる、いわゆるピラミディングを行っていくことで、さらに低温苗立性の向上が期待できる。今後、この育種戦略が直播適応性品種の育成につながるものと期待される。

現在、秋田県ではあきたこまちが作付け全体の 90% 近くを占めており、依然として良食味品種の需要が大きいことが分かる。このため、直播適応性品種が普及するためには、消費者ニーズに対応した良食味性を有することが必要条件となる (古川 2000)。一方、本研究でも示したとおり外国品種を交配母本に用いた場合、品質不良、食味不良などの劣悪形質が随伴することが多く、現在、外国品種由来の直播適性を導入した品種は育成されていない (堀末 1995)。本研究によって、あきたこまちなどの良食味日本品種を反復親とする連続戻し交配と DNA マーカー選抜を併用して、日本品種の品質・食味を損なうことなく外国品種から低温苗立性のみを導入するという明確な直播適応性品種育成に関する育種戦略を提示できた。同時に、本研究により得られた知見や系統は今後、秋田県の直播適応性品種開発、さらには直播栽培の安定化に大きく寄与するものと考えられる。

以上のように、本研究により、従来の表現型に頼った選抜方法では育成が困難である形質の改良に活用可能な DNA マーカーを組み込んだ育種プログラムが提案され、今後、本システムを用いた直播適応性品種の育成が期待される。さらには、新たな形質についても DNA マーカーを開発することで、効率的な品種育成の推進が期待される。

## 7 謝 辞

本論文をとりまとめるにあたり、秋田県立大学理事 森宏一博士、同生物資源科学部教授 赤木宏守博士、教授 金田吉弘博士、教授 森田弘彦博士、准教授 高橋秀和博士からは終始懇切な御指導と御助言を戴くとともに御校閲を賜った。

また、元秋田県農業試験場長 藤田佳克博士（現独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構中央総合研究センター病害抵抗性研究チーム長）、前秋田県農林水産技術センター農業試験場長 児玉徹氏（現全国

農業協同組合連合会秋田県本部参与)、農業試験場長加賀屋博行博士からは研究の遂行にあたって特段の御配慮と御鞭撻を賜った。農業試験場作物部長 眞崎聡氏からは暖かい激励とこの研究の計画、実施にあたり適切にご指示と有益な御指導を賜った。

本研究は、秋田県立大学生物資源科学部植物遺伝・育種グループや秋田県農林水産技術センター職員の御協力を得て行われた。特に、秋田県立大学生物資源科学部植物遺伝・育種グループの准教授 渡辺明夫博士、准教授 桜井健二博士、手塚耕一氏から有益な御助言と御協力を戴いた。また、秋田県農林水産技術センター農業試験場作物部の小玉郁子主任研究員、松本眞一主任研究員(現秋田県農林水産技術センター農業試験場原種生産部)、加藤和直研究員、田村里矢子技師(現仙北地域振興局)、総務管理室の佐藤信和技能主任、斉藤健悦技能主任、佐藤敬亮技能技師、下田紀幸技能技師からは絶大な御協力を戴いた。さらに、農業試験場作物部の臨時職員、京極ひろみ氏、牧野里美氏、佐藤かおり氏、鈴木盛栄氏には研究の遂行にあたり多大なご協力を戴いた。

以上の方々に心から感謝を申し上げる。

#### 引用文献

- 赤木宏守 2000. DNA 多型によるイネの品種識別. 育種学研究 2 : 89-96.
- Akagi, H., Y. Yokozeki, A. Inagaki and T. Fujimura 1996. Microsatellite DNA markers for rice chromosomes. *Theor Appl Genet* 93 : 1071-1077.
- Akagi, H., Y. Yokozeki, A. Inagaki and T. Fujimura 1997. Highly polymorphic microsatellites of rice consist of AT repeats, and a classification of closely related cultivars with these microsatellite loci. *Theor Appl Genet* 94 : 61-67.
- 秋田県 2007. 平成 18 年度農林水産業及び農産漁村に関する年次報告. 38-39.
- 秋田県農業試験場 1991. 秋田県農業試験場百年史. 54-57.
- 秋田県農業試験場 1996. 平成 7 年度水稻品種に関する試験成績書. 27-41.
- 秋田県農業試験場 1997. 平成 8 年度水稻品種に関する試験成績書. 30-45.
- Andaya, V. C. and Mackill D. J 2003. Mapping of QTLs associated with cold tolerance during the vegetative stage in rice. *J Exp Bot* 54 : 2579-2585.
- Carnahan, H. L., Erickson J. R. and Mastenbroek J. J. 1972. Tolerance of rice to cool temperatures-USA. In *Rice Breeding*, Int Rice Res Inst, Los Banos, Philippines 535-540.
- Chen, X., S. Temnykh, Y. Xu, Y. G. Cho and S. R. McCouch 1997. Development of a microsatellite framework map providing genomewide coverage in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl Genet* 95 : 553-567.
- David, B. J. and Peterson M. L. 1976. Rice seedling vigor at sub-optimal temperatures. *Crop Sci* 16 : 102-105.
- Dilday, R. H., Mgonja M. A., Amonsilpa S. A., Collins F. C. and Wells B. R. 1990. Plant height vs. mesocotyl and coleoptile elongation in rice: linkage or pleiotropism? *Crop Sci* 30 : 815-818.
- Edwards, K., C. Johnstone and C. Thompson 1991. A simple and rapid method for the preparation of plant genome DNA for PCR analysis. *Nucl Acids Res* 19 : 1349.
- Fujino, K. 2004. A major gene for low temperature germinability in rice (*Oryza sativa* L.). *Euphytica* 136 : 63-68.
- 藤野賢治・関口博史・松田康之・小野和子・矢野昌裕 2007. イネ低温発芽性遺伝子 *qLTG-3-1* の単離. 育種学研究 9 (別 2) : 46.
- Fujino, K., H. Sekiguchi, T. Sato, H. Kiuchi, Y. Nonoue, Y. Takeuchi, T. Ando, S. Y. Lin and M. Yano 2004. Mapping of quantitative trait loci controlling low-temperature germinability in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl Genet* 108 : 794-799.
- Harlan, H. V. and Pope M. H. 1922. The use and value of back-crosses in small-grain breeding. *J Hered* 13 : 319-322.
- 橋本憲明・大源正明・林敬子・芦川育夫・高原美規・山本皓二 2005. イネいもち病抵抗性遺伝子 *Piz* に連鎖する DNA マーカーの育種利用. 育種学研究 7 : 143-146.
- 島山俊彦 1985. 秋田県における水稻の県単育種—再開の背景と経過—. 育種 35 : 95-96.
- 島山俊彦 1994. 秋田県における酒米育種の新展開. 醸協 89(1) : 6-12.
- 島山俊彦・斎藤正一・眞崎聡・福田兼四郎・加藤武光・佐々木力・山本寅雄・嶋貫和夫 1991. 水稻新品種たかねみのりの育成について. 秋田農試研報 31:1-22.
- 堀末登 1995. 直播適性水稻品種の開発. 直播稲作研究の最前線 第 2 巻 農林水産技術情報協会, 東京 115-131.
- 藤井潔・早野由里子・杉浦直樹・林長生・伊澤敏彦・岩崎真人 2005. イネ準同質遺伝子系統を用いた穂いもち圃場抵抗性遺伝子 *Pb1* による穂いもち発病抑制効果の定量的評価. 育種学研究 7 : 75-85.
- 福田善通・太田久稔・田村克徳・笹原英樹・福山利範・芦川育夫・上原泰樹・八木忠之 1997. 土中出芽性に関する QTL (計量形質遺伝子座) 解析. 日作紀 66 (別 1) : 242-243.

- 古川嗣彦 2001. 寒冷地における直播栽培技術の現状と展望 5. 乾田直播栽培技術 (4)技術開発の今後の展望. 北農 67:157-159.
- 稲津脩 1988. 北海道産米の食味向上による品質改善に関する研究. 北海道立農試報 66:1-89.
- 井辺時雄・吉村淳 1999. イネ育種において DNA マーカーは使えるのか? 育種学最近の進歩 41:63-66.
- 伊藤美奈子・竹澤利和・亀谷七七子・神崎洋之・寺内良平・中村郁郎 1999. イネカタラーゼ遺伝子の過剰発現による低温耐性イネの作出. 育種学研究 1(別2):60.
- 岩手県立農業試験場県南分場 1995. 水稻新配布系統成績所(岩南7号, 岩南8号). 8-13.
- 椛木信幸・金忠男 1990. イネの初期生育に關与する生理的要因の解明 1 各生育段階における成長速度の品種間差異. 北陸作物学会報 25:25-27.
- 加藤武光・畠山俊彦・眞崎聡・斎藤正一・福田兼四郎・嶽石進 1994. 水稻新品種吟の精の育成. 秋田農試研報 34:1-20.
- 勝田真澄 1998. イネ幼植物における中茎伸長性の変異と遺伝に関する研究. 農業生物資源研究所研究報告 12:55-98.
- 小高真一・安部信行 1989. 低温条件下における出芽, 苗立ちの安定機構の解明. 農林水産技術会議事務局研究成果 229:8-23.
- Lander, E., P. Green, J. Abrahamson, A. Barlow, M. Daley, S. Lincoln and L. Newburg 1987. MAPMAKER: An interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and national populations. Genomics 1:174-181.
- Li, C. C. and Rutger J. N. 1980. Inheritance of cool-temperature seedling vigor in rice and its relationship with other agronomic characters. Crop Sci 20:295-298.
- Lin, H. X., T. Yamamoto, T. Sasaki and M. Yano 2000. Characterization and detection of epistatic interactions of 3 QTLs, Hd1, Hd2, and Hd3, controlling heading date in rice using nearly isogenic lines. Theor Appl Genet 101:1021-1028.
- 眞崎聡・畠山俊彦・加藤武光・嶽石進・斎藤正一・福田兼四郎・田口光雄・山本寅雄・鎌田易尾・沼沢和紀 1995. 水稻新品種秋田 51 号の育成. 秋田農試研報 34:1-22.
- 眞崎聡・畠山俊彦・斎藤正一 1984. あきたこまち(秋田 31 号)の食味特性. 東北農業研究 35:13-14.
- 眞崎聡・畠山俊彦・斎藤正一・福田兼四郎・加藤武光・佐々木力・小野充・島田孝之助・山本寅雄・田口光雄・大森友太郎 1992. 水稻新品種あきた 3 9 の育成. 秋田農試研報 32:1-15.
- 眞崎聡・加藤武光・畠山俊彦・松本眞一・川本朋彦 2004. 水稻新品種美郷錦の育成. 秋田農試研報 44:49-72.
- 眞崎聡・加藤武光・畠山俊彦・松本眞一・川本朋彦・山本寅雄・嶽石進・斎藤正一・福田兼四郎・嶋貫和夫・池田直美 1999. 水稻新品種秋の精の育成. 秋田農試研報 40:23-43.
- 眞崎聡・斎藤正一・畠山俊彦 1983. テクスチュロメーターによる炊飯米特性の検討. 育種 33(別1):330-331.
- 松江勇次・小田原孝治・比良松道一 1996. 北部九州産米の食味に関する研究. 日作紀 65:245-252.
- 松本眞一・眞崎聡・川本朋彦・畠山俊彦・加藤武光・池田直美・斎藤正一・嶽石進・山本寅雄・嶋貫和夫・京谷薫・田口光雄・明沢誠二 1999. 水稻新品種めんこいなの育成. 秋田農試研報 40:1-22.
- 松本眞一・眞崎聡・川本朋彦・小玉郁子・畠山俊彦・加藤武光 2006. 水稻紫黒糯品種小紫の育成. 秋田農試研報 46:21-40.
- 松尾孝嶺 1974. 育種ハンドブック. 292-384.
- McCouch, S. R., L. Teytelman, Y. Xu, K. B. Lobos, K. Clare, M. Walton, B. Fu, R. Maghirang, Z. Li, Y. Xing, Q. Zhang, I. Kono, M. Yano, R. Fjellstrom, G. DeClerck, D. Schneider, S. Cartinhour, D. Ware and L. Stein 2002. Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.). DNA Research 9:199-207.
- McKenzie, K. S., Rutger J. N. and Peterson M. L. 1980. Relation of seedling vigor to semidwarfism, early maturity, and pubescence in closely related rice lines. Crop Sci 20:169-172.
- Mgonja, M. A., Ladeinde T. A. O., Akenova M. E. 1993. Genetic analysis of mesocotyl length and its relationship with other agronomic characters in rice (*Oryza sativa* L.). Euphytica 72:189-195.
- 三浦清之 2003. 水稻直播適性品種育成のための種子発芽性および苗立ち性に関する遺伝育種学的研究. 生物研研究資料 2:1-44
- Miura, K., Lin S. Y., M. Yano and T. Nagamine 2001. Mapping quantitative trait loci controlling low temperature germinability in rice (*Oryza sativa* L.). Breed Sci 51:293-299.
- 門奈理佐 2004. イネ SNPs 解析と品種鑑別法への利用. 農業および園芸 79(1):163-167.
- 諸橋準之助・田村隆夫・金子均 1988. 水稻の湛水溝付直播法の出芽・苗立ちに関する研究 第4報 種子初採種方法と出芽・苗立ち. 日作紀 57(別1):277-278.

- 中山正義・加藤明治・増淵隆一・下坪訓次・小川修  
1988. 湛水土中直播におけるコンバイン収穫物の出芽について. 日作紀 57(別1): 275-276.
- 荻原素之 1993. 水稻の湛水土壌中直播における出芽・苗立に関する研究. 石川農短大特報 20: 1-103.
- Ogiwara, H. and K. Terashima 2001. A varietal difference in coleoptile growth is correlated with seedling establishment of direct seeded rice in submerged field under low-temperature conditions. *Plant Prod Sci* 4: 166-172.
- 大久長範・小玉郁子・星野育・鶴巻ひとみ・大能俊久  
2007. 低アミロース米淡雪こまちを用いた早炊き炊飯. 食科工 54: 339-342.
- 大隅光善・土居健一・柴田義弘 1987. 湛水土壌中直播栽培における2, 3の問題点 第4報品種, 収穫方法等の違いが出芽・苗立に及ぼす影響. 九州農業研究 49: 36.
- 太田久稔 2005. 稲における土中出芽性の評価方法の開発と土中出芽性に優れた品種の育成. 東京農工大学大学院博士論文. 74-82.
- 太田久稔・井辺時雄・吉田智彦 2003a. 水稻の湛水土中直播栽培における出芽性の検定法と遺伝的変異. 日作紀 72(1): 50-55.
- 太田久稔・上原泰樹・井辺時雄・吉田智彦 2003b. 水稻の湛水土中直播栽培における土中出芽性の新たな検定法と土中出芽性の新たな遺伝資源. 日作紀 72(3): 295-300.
- Panaud, O., X. Chen and S. R. McCouch 1996. Development of microsatellite markers and characterization of simple sequence length polymorphism (SSLP) in rice (*Oryza sativa* L.). *Mol Gen Genet* 245: 187-194.
- Peterson, M. L., Jones D. B. and Rutger J. N. 1978. Cool temperature screening of rice lines for seedling vigor. *II Riso* 27: 269-274.
- Redona, E. D. and Mackill D. J. 1996a. Genetic variation for seedling vigor traits in rice. *Crop Sci* 36: 285-290.
- Redona, E. D. and Mackill D. J. 1996b. Mapping quantitative trait loci for seedling vigor in rice using RFLPs. *Theor Appl Genet* 92: 395-402.
- Rice, W. R. 1989. Analyzing tables of statistical tests. *Evolution* 43: 223-225.
- 斎藤正一・畠山俊彦・眞崎聡・福田兼四郎・加藤武光・佐々木力・山本寅雄 1989. 水稻新品種あきたこまちの育成について. 秋田農試研報 29: 65-87.
- 佐々木多喜雄 1974. 稲品種の低温発芽性に関する育種学的研究. 北海道立農試報 24: 1-90.
- 佐藤暢芳・竹内正夫・荒木悟・光浦章・菊田恭輔  
2000. 冷凍機を用いた温度一定制御試験ほ(圃)場施設—秋田県農業試験場納入—. エバラ時報 188: 67-72.
- 佐藤毅・藤野賢治・木内均・菊地治巳・野々上慈徳・竹内善信・林少揚・矢野昌裕 1999. はやまさりと *Italica Livorno* から由来する BC<sub>1</sub>F<sub>2</sub> 系統群を用いた RFLP 連鎖地図の作成. 育種学研究 1(別2): 123.
- Soller, M. and j. s. Beckmann 1983. Genetic polymorphism in varietal identification and genetic improvement. *Theor Appl Genet* 67: 25-33.
- Sthapit, B. R. and Witcombe J. R. 1998. Inheritance of tolerance to chilling stress in rice during germination and plumule greening. *Crop Sci* 38: 660-665.
- 杉浦直樹・辻孝子・藤井潔・加藤恭宏・坂紀邦・遠山孝通・早野由里子・伊澤敏彦 2004. 水稻病害抵抗性付与のための連続戻し交配育種における DNA マーカー選抜の有効性の実証. 育種学研究 6: 143-148.
- Suh, J. P., S. N. Ahn, H. P. Moon and H. S. Sub 2002. QTL analysis of low temperature germinability in a Korean weedy rice (*Oryza sativa* L.). *Rice Genetics Newsletter* 16: 53-54.
- 高橋仁・田口隆信 2003. 酒造好適米新品種秋田酒こまちの開発と酒造特性 醸協 98(9): 598-607.
- 高橋仁・廣島一郎・中田健美・斎藤久一・椎木敏 1999a. 酒造好適米吟の精の潜在的な心白について. 醸協 94(3): 244-251.
- 高橋仁・田口隆信・渡辺誠衛・石川京子・中田健美・斎藤久一・佐無田隆・岩野君夫・石川雄章 1999b. 酒造好適米吟の精の選抜と酒造特性について. 秋田県総合食品研究所報告 1: 1-7.
- 武田友四郎・岡三徳・県和一 1984. 暖地における水稻品種の物質生産に関する研究 第2報 明治期以降の新旧品種の子実生産特性. 日作紀 53: 12-21.
- Takita, T. 1983. A rice line with very large grain obtained by pyramiding genic effects. *JARQ* 17: 93-97.
- 田中文夫・田中英彦・涌井明 1991. 湛水直播水稻の苗腐敗病 *Pythium spp.* の接種法と品種抵抗性検定. 日植病報 57(1): 120.
- Tanida, M. 1996. Catalase activity of rice seed embryo and its relation to germination rate at a low temperature. *Breed Sci* 46: 23-27.
- Tanksley, S. D. 1993. Mapping polygenes. *Annu Rev Genet* 27: 205-233
- Temnykh, S., D. P. William, N. Ayres, S. Cartinhour, N. Hauck, L. Lipovich, Y. G. Cho, T. Ishii and S. R. McCouch 2000. Mapping and genome organization of microsatellite sequence in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl Genet* 100: 697-712.

- Turner, F. T., Chen C. C. and Bollich C. N. 1982. Coleoptile and mesocotyl length in semi-dwarf rice seedlings. *Crop Sci* 22 : 43-46.
- 鶴飼保雄 2000. ゲノムレベルの遺伝解析. 東京大学出版会.
- Wang, S., Basten C. J. and Zeng Z.-B. 2006. Windows QTL Cartographer 2.5. Department of Statistics, North Carolina State University, Raleigh, NC, USA.  
<http://statgen.ncsu.edu/qtlcart/WQTLCart.htm>
- 山口琢也・蛭谷武志・表野元保・山本良孝 2007. 低温土中出芽性に優れた在来品種阿波赤米の育種利用. *育種学研究* 9 : 103-110.
- 山本隆一 1990. 水稻直播栽培用品種開発の道標. *農業技術* 45 : 385-391.
- Yamamoto, T., Lin H. X., T. Sasaki and M. Yano 2000. Identification of heading date quantitative trait locus Hd6 and characterization of its epistatic interactions with Hd2 in rice using advanced backcross progeny. *Genetics* 154 : 885-891.
- Yamauchi, M, Winn T 1996. Rice seed vigor and seedling establishment in anaerobic soil. *Crop Sci* 36 : 680-686.
- 矢野昌裕 1991. 遺伝子地図の作成と育種への利用. *農業技術* 46(2) : 42-46.
- Yano, M. and T. Sasaki 1997. Genetic and molecular dissection of quantitative traits in rice. *Plant Molecular Biology* 35 : 145-153.
- Yano, M., Y. Harushima, Y. Nagamura, N. Kurata, Y. Minobe and T. Sasaki 1997. Identification of quantitative trait loci controlling heading date in rice using a high-density linkage map. *Theor Appl Genet* 95 : 1025-1032.

## Abstract

### Establishment of Efficient Selection System Using DNA marker Assisted Selection for Rice Breeding

Tomohiko KAWAMOTO

*(Agricultural Experiment Station, Akita Prefectural Agriculture, Forestry and Fisheries Research Center)*

As the lesson from the services of the conventional crossing-breeding, it shows that the strategic selection on the early generation is efficient producing the practicality cultivars.

The improvement of SVL (seedling vigor at the low temperature) is necessary to the promotion of the direct seeding culture of rice.

As new strategy, the utilization of DNA marker assisted selection is valid with breeding a cultivar with excellent SVL.

Therefore, by the QTL analysis, it specified some chromosomal gene locus which improves in SVL, and it made possible DNA marker assisted selection.

Further, on the model of the improvement of SVL, by making possible identifying the chromosomal positions with DNA markers, I established an efficient selection system.

Comparing with the conventional method, DNA marker assisted selection is excellent in the following points, (1) It is the high precision of the selection. (2) It doesn't make need large-scale growing farm field. (3) It is possible to select only by the DNA analysis and it doesn't need the selection by the phenotype. (4) It is possible to identify only a character for the purpose. (5) The period of the breeding can be reduced (1/4 of the conventional method).

In effect, by this research, it is possible to improve rice-breeding efficiently in using DNA marker assisted selection. Further, pyramiding (the accumulation of the genes by the mutual crossing of the near isogenic lines) will make possible to breed the line with the higher ability.

**Key Words:** Direct Seeding Culture, DNA marker, Rice, QTL, Seedling vigor at the low temperature, Selection,

# DNA マーカー選抜を利用した 効率的な水稻育種選抜システムの確立

川本 朋彦

(秋田県農林水産技術センター農業試験)

従来の交配育種法による品種改良の成果から、選抜初期から戦略的な育種選抜を行うことが実用品種の早期育成に効果的であることが示された。

低温苗立性の優れた直播適応性品種の育成のための新たな育種戦略としては、DNA マーカー選抜の導入が有効であると考えられた。そこで、QTL 解析によって低温苗立性を向上させる遺伝子が座乗する染色体領域を特定することで DNA マーカー選抜を可能にした。さらに、低温苗立性の改良をモデルに染色体領域を識別する DNA マーカーを利用した効率的育種選抜システムを構築した。この DNA マーカー選抜法は従来法と比較して、

(1) 選抜精度が高い、(2) 大規模な栽培圃場を必要としない、(3) DNA 分析のみで選抜でき形質毎の選抜法を必要としない、(4) 目的形質のみの識別、(5) 育成期間の短縮 (従来法の 4 分の 1) という点で優れている。

すなわち、本研究により DNA マーカー選抜を利用した効率的な水稻育種が可能となる。さらには、NIL の相互交配による遺伝子の集積 (ピラミディング) により、より能力の高い系統の育成できることが期待される。

キーワード：育種、QTL、水稻、選抜、直播栽培、DNA マーカー、低温苗立性