

茨城農総セ
生工研研報
Bull. Ibaraki
Plant Biotech. Inst.
No. 8 2005

ISSN 1341-2809

BULLETIN
OF THE
PLANT BIOTECHNOLOGY INSTITUTE
IBARAKI AGRICULTURAL CENTER

NO. 8
March 2005

茨城県農業総合センター 生物工学研究所研究報告

第 8 号

平成 17 年 3 月

茨城県農業総合センター
生物工学研究所

茨城県西茨城郡岩間町安居 3165-1
Ago, Iwama, Nishi-Ibaraki, Ibaraki, 319-0292, Japan

目 次

報 文

イネのいもち病圃場抵抗性に関する遺伝学的解析

宮本 勝 1

陸稲在来品種の特性解析

岡野克紀・岡本和之・眞部 徹・石井卓朗 27

研究資料

グラジオラスのプロトプラスト単離およびその利用に係わる諸条件の検討

高津康正・富田健夫 51

イネのいもち病圃場抵抗性に関する遺伝学的解析

宮 本 勝

緒言	1
第1章 イネいもち病圃場抵抗性遺伝子の解析	4
第1節 RFLPによる日本在来陸稲品種のクラスター解析	4
第2節 日本在来陸稲「嘉平」のいもち病圃場抵抗性に関する QTL 解析	8
第3節 「嘉平」のいもち病圃場抵抗性に関する QTL 間相互作用	11
第2章 日本在来陸稲における第4染色体の RFLP 座といもち病圃場抵抗性程度との関連	13
第1節 日本在来陸稲の RFLP 解析	13
第2節 日本在来陸稲の葉いもち抵抗性程度と RFLP の関連	17
総合考察	19
摘要	20
謝辞	21
引用文献	21
Summary	26

緒 言

いもち病は日本のみならず温帯地域で最も重要なイネ病害である。イネいもち病菌 (*Magnaporthe grisea*) はイネの葉と穂を中心に侵し、抵抗性程度の低い品種の葉に感染した場合、ひどいときには局部的に多発し、葉全体が褐変し、時には株全体が枯死する、いわゆる“ずりこみ”症状を示す。穂に感染した場合も穂首が褐変し、収穫そのものにも多大な影響を及ぼす。その防除には多大な経費と労力を要するが、被害を抑えるためには抵抗性の高い品種を栽培することが最も有効な方法である。そのため、特に大正時代から、抵抗性の改良は重要な育種目標となり、その結果多くのいもち病抵抗性品種が育成された。これまでに日本で育成されたいもち病抵抗性品種は大別すると次の4群に分けることができる。

- 1) 日本型イネである水稲同士の交配によるもの
- 2) 日本型イネである陸稲（水稲とは異なる生態型と

される）の抵抗性を導入したもの

- 3) インド型等の外国稲の利用による抵抗性の改良
- 4) 日本型イネに分類される支那稲から抵抗性を導入したもの

日本型イネである日本で栽培されている水稲（以下日本水稲とする）同士による抵抗性の改良では、上州／撰一の組み合わせから「農林6号」、同じく銀坊主／朝日から「農林8号」、農林6号／農林8号から「農林22号」などのいもち病抵抗性に優れた品種が育成された。これらの品種は母本としても利用され、多くの優良品種が育成されており、特に「農林22号」を母本として育成された品種は「コシヒカリ」、「越路早生」等合計32品種にもほのぼの（平野 1980）。日本で栽培されている陸稲（日本陸稲）は、いもち病の発生しやすい畑条件で栽培されていることもあり、多くの品種が高い抵抗性を示すことが知られていた。愛知県農業試験場では陸稲「戦捷」を利用した抵抗性育種が行われた。しかし陸稲自身の不良形

質のために良い品種・系統が長い間得られなかったが、「田戦捷」、「真珠」、「双葉」等の品質はやや劣るものの水稻に比べると抵抗性の強くなった品種が育成され、1944年に育成された「秀峰」は良質の抵抗性品種とされた(森元 1980)。それ以降、「ほまれ錦」、「銀河」および「秋晴」等いもち病抵抗性に優れる良質な品種が次々と育成された。インド型イネ等の外国稲については、耐病性の強い品種のあることが認められていたが、日本型イネとの交配では遠縁交雑による不稔が多発した。そのため、これらの品種を利用した育種の特徴として、交配後代の形質を日本水稻に近づけるため数多くの戻し交雑が行われ、「Tadukan」、「Zenith」、「TKM.1」ならびに「Modan」等のインド型イネの抵抗性を取り入れた中間母本が育成された。その後、「シモキタ」(鳥山ら 1963)、「サトミノリ」(鳥山ら 1968)等の抵抗性品種が登録された。中国で栽培される支那稲の中には日本型イネに分類される品種のあることが見いだされ(松尾 1952)、「荔支江」、「杜稻」が日本型イネと稔性のある抵抗性品種として選定された。その中から、「クサブエ」(伊藤ら 1961)、「ユーカラ」(佐本・大内 1968)等の実用品種も育成された。

抵抗性品種の育成とともに遺伝学的な解析も進み、佐々木(1922)はいもち病抵抗性がメンデルの法則にしたがって遺伝することを見いだした。また、他の多くの植物の病害抵抗性と同様に、イネのいもち病抵抗性は真性抵抗性と圃場抵抗性に分けられることが明らかになり、真性抵抗性遺伝子についてはFlor(1954, 1955)がアマさび病について提起した遺伝子対遺伝子説がイネーいもち病にも当てはまることが示された(山崎・清沢 1966)。これは特異的に反応するイネの真性抵抗性遺伝子といもち病菌の非病原性遺伝子の相互作用の結果が親和性か非親和性かを決めているという説である。真性抵抗性は質的抵抗性・主働遺伝子抵抗性と呼ばれることもあり、一般に高度の抵抗性とされる。多くの場合、単一の、あるいは少数の遺伝子により十分な抵抗性を示すが、少なくとも単一遺伝子による抵抗性では、遺伝子対遺伝子説により、ある特定のレースに対してのみ抵抗性を示す。外国稲より導入された高度の抵抗性は真性抵抗性遺伝子により引き起こされていることが明らかにされ、インド型イネである「Tadukan」は *Pita-2*、「Zenith」は *Piz*、「TKM.

1」は *Piz-t* のそれぞれ従来の日本の品種にはみられない真性抵抗性遺伝子を保持していた。しかし、これらの高度抵抗性品種は、育成当初は従来の品種に比べ非常に強い抵抗性を示したものの、普及させると間もなく罹病性菌の出現によりいもち病が大発生し、高度抵抗性が崩壊した(松本ら 1965; 山田 1965; 古田・日野 1967)。このように外国稲の高度抵抗性を持つ品種が罹病化した場合、かえって被害が甚大になる傾向を示したため、真性抵抗性に代えて高度圃場抵抗性を利用した方が良いとの方策が提案された(伊藤 1967)。

圃場抵抗性は一般的に複数の微働遺伝子により支配されると考えられており、量的抵抗性とも呼ばれている。この抵抗性では病原菌の感染は起きるがその程度は低い。また、真性抵抗性とは異なり、レースに対する特異性を示さないとされるため、育種上有用とされている。初期の育成系統でいもち病抵抗性に優れるとされた「農林 22 号」の菌系研 54-04 に対する抵抗性は、1つの主働遺伝子と2~3の微働遺伝子により支配されていることが明らかにされた(Kiyosawa *et al.* 1967)。一方、日本陸稲は真性抵抗性の分類からみると、判別レースに対して抵抗性を持たない+型、あるいは *Pia* を持つものがほとんどであるため、その抵抗性は圃場抵抗性によるものと考えられていた。そのため圃場抵抗性の遺伝資源として非常に有用であるが、従来の育種法では抵抗性と不良形質の遺伝子間連鎖を切ることが困難であったため、実用化されたのは愛知農試で育成された「戦捷」を母本とする一連の品種のみである。陸稲由来の圃場抵抗性については、陸稲「黒禾」(篠田ら 1971)、陸稲「農林稲 4 号」(阿部ら 1974; 丸山ら 1983)、水稻の戦捷系抵抗性品種である「ほまれ錦」・「銀河」(Kiyosawa 1970)等で遺伝解析が行われた。Kiyosawa(1970)は、戦捷系抵抗性品種の抵抗性が親品種の「戦捷」より低下していることを認め、量的抵抗性である圃場抵抗性の導入の困難さが示された。その一方で、いもち病の大発生条件下では圃場抵抗性だけでは不十分であるという例が数多くあるため、真性抵抗性の利用も考慮しなければならないとされており、抵抗性の崩壊を防ぐためにいくつかの対策が考えられている。それらは、

- 1) 複数の真性抵抗性遺伝子の1品種への集積。
- 2) 真性抵抗性と圃場抵抗性の結合。

3) 真性抵抗性に関するマルチライン(多系品種)の利用等である。1)の集積品種については従来の選抜法では育成に時間がかかり、検定に複数の抵抗性遺伝子を侵すような突然変異を起こしたレースを作出あるいは探索して利用する必要がある。現在までに知られて(育成されている)最も高度な抵抗性遺伝子を持った品種は「ハマアサヒ」で、*Pia*, *Pii*, *Pik*, *Pib*を持っていたが、罹病化を防ぐことはできなかった。2)については、真性抵抗性が崩壊したとしても圃場抵抗性は有効に働き、品種としての寿命が長くなると考えられるため広く望まれることとなった。これは真性抵抗性遺伝子を導入した品種ではVertifolia effect (van der Plank 1963)により圃場抵抗性を育成過程において落としてしまっている例が多かったことに対する策である。3)のマルチラインについてはエンバクの冠さび病、黒さび病、コムギの黒さび病、黄さび病および赤さび病などで利用された例がある。マルチライン利用の利点として、多数の系統からなることによる罹病化への確率を減少させ、個々の遺伝子の寿命を長くさせることができること、構成する系統、つまり抵抗性遺伝子の取り替えが可能であること、複対立の関係にある遺伝子を同時に利用できること等がある(小泉 1983b)。具体的な抑制効果としては、葉いもちの病徴進展を抑制し、その効果はその場所に分布するレースに対する抵抗性品種の割合が高くなるほど顕著であること、また穂いもちについても同様の効果がみられるが、その効果は葉いもちより小さいことが明らかになっている(小泉 1983a; 小泉 1983b)。一方、問題点としては、品種改良上、保守的であり、育成に時間がかかること(Browning and Frey 1969)、育成に用いる母本品種以上の特性を得ることが期待されず、育成途中で戻し親に用いた品種の需要が低下してしまえばその有用性は低下してしまう可能性がある。

近年、分子マーカーをもとにした連鎖地図の作成が急速に進歩しており、特にイネは単子葉作物のモデルとして、日本を中心に染色体地図の充実や実用形質の位置付けが進んでいる(Saito *et al.* 1991; Causse *et al.* 1994; Harushima *et al.* 1998)。分子マーカーを利用することの利点としては、従来の突然変異を利用した形態マーカーとは異なりDNA自身を解析するため、マーカーの数がほとんど無限で共優性を示すものが多く、その検出に環境要因は影

響しないこと、染色体上での位置が確認されている形質であれば、分子マーカーの解析のみで形質遺伝子の存在を確認できるため、逐一形質評価を行う必要がないこと等があげられる。先に述べた抵抗性遺伝子に関する集積品種や多系品種は、いもち病菌による抵抗性検定を行うことなく育成することも可能となり、育成期間の劇的な短縮も可能である。特に、圃場抵抗性の検定は真性抵抗性の有無に左右され、宿主イネが検定圃場に存在するいもち病菌と非親和性の真性抵抗性遺伝子を保持している場合、圃場抵抗性の程度を簡易に検定することは困難である。分子マーカーの利用を進めることは圃場抵抗性を維持したまま真性抵抗性遺伝子を導入することも可能となる。これは従来の圃場検定による選抜では不可能であった利点である。

本研究では、従来研究の多くなされている「戦捷」ではなく、「戦捷」とは遠縁と思われる品種を探索し、古典的な遺伝解析はなされていたものの、染色体上での正確な位置の知られていなかった日本陸稲由来の新たないもち病圃場抵抗性に関する量的形質遺伝子座(QTL)の同定を試みた。イネでは、染色体全体にわたり膨大なDNAマーカーが作出されており、比較的多型出現頻度の低いとされる日本型イネ同士である水稲-陸稲間での連鎖解析も十分可能だと考えられたため、集団の育成には水稲「コシヒカリ」を感受性親として用いた。

以上の研究をもとに、著者はMarker-assisted selection (MAS)によるいもち病圃場抵抗性遺伝子の実用品種への迅速な付与を行うために、同遺伝子に関する分子マーカーの作出を試みた。さらにこれらの分子マーカーが、いもち病抵抗性遺伝子の優良品種への導入のための選抜利用等に適することを考察した。現在いもち病真性抵抗性遺伝子については遺伝子単離やマッピングが進んでいる(Song *et al.* 1995; Miyamoto *et al.* 1996; Rybka *et al.* 1997; Yoshimura *et al.* 1998; Wang *et al.* 1999)。そのため分子マーカーによる選抜は可能であるが、圃場抵抗性についてはその段階ではない。本研究では、特に、これらの両抵抗性遺伝子の集積による高度抵抗性品種の育成のための基礎的部分を明らかにした。また、在来品種として保存されている日本陸稲での圃場抵抗性に関する対立遺伝子の出現頻度と、いもち病抵抗性を併せて検討し、QTL解析に供試した品種の抵抗性が非常に強い作用を

もつことを明らかにした。

第1章 イネいもち病圃場抵抗性遺伝子の解析

いもち病圃場抵抗性は一般的にレースに対する特異性を示さないとされるため、抵抗性育種では非常に重要とされている。畑状態で栽培される陸稲には、いもち病に強い品種のあることが良く知られている。そのため、陸稲は水稻育種における抵抗性母本として、また遺伝的解析の材料としても使われてきた。その中で、日本の在来陸稲品種「戦捷」は水稻の抵抗性育種における最も著名な陸稲品種である(森元 1980)。しかし、愛知県農業試験場で「戦捷」を母本として利用した例以外では実用品種が育成されることはなかった。それは水稻に導入すると食味や玄米品質を低下させる形質遺伝子が陸稲のいもち病圃場抵抗性遺伝子と強く連鎖しているために、陸稲のいもち病抵抗性のみが導入された水稻系統の育成が困難であるためとされている。その一方で、陸稲のいもち病抵抗性に関する遺伝解析についても、「戦捷」及び「戦捷」の派生系統を用いてなされたものがほとんどで、陸稲間での抵抗性の多様性に言及しているものはほとんど無かった。そのため本章では「戦捷」とは遠縁の品種を見いだすことを目的とし、制限酵素断片長多型 (RFLP) による日本在来陸稲品種のクラスター解析を行い、陸稲品種間における遺伝的な類縁関係を明らかにすることを試みた。次いで、「戦捷」とはやや遠縁と思われる陸稲品種「嘉平」について、RFLP による QTL 解析を試みた。また、ここで得られた抵抗性遺伝子の育種での利用を考慮すると、複数の QTL 間で相互作用がある場合は、それらの QTL を同時に導入させることが必要となる。この可能性を検討するため、第3節では、第2節で同定された QTL について相互作用の有無を検討した。

第1節 RFLP による日本陸稲のクラスター解析

本章では、日本陸稲のいもち病圃場抵抗性に注目し、解析を行うための抵抗性親の選定を目的として、クラスター解析を行った。日本在来陸稲はその多くが高度のいもち病圃場抵抗性を示すものの、全体としてみると、抵抗性弱から極強まで分布している。特に、抵抗性の強い品種について、「戦捷」と出来るだけ遠縁の品種を探索す

るため、RFLP による品種の分類を試みた。

材料および方法

材料

茨城県農業総合センター生物工学研究所に在来品種として保存されている陸稲 15 品種を用いた (Table 1)。これらの品種は角田 (1975; 1987) が分類した品種群から、いもち病圃場抵抗性の極弱～極強の品種を選定した。日本型イネの水稻「日本晴」およびインド型イネ「Kasalath」の DNA をイネゲノム研究チーム (つくば市観音台) より分与していただき、それらをサザンハイブリダイゼーションの比較品種とした。

Table 1. Upland rice varieties used in this study

Variety	Varietal group ¹⁾	Blast resistance evaluated
Yakan	Yakan	ss ³⁾
Kirishima	Hakanmuri-Kurumiwase-Kirishima	r ³⁾
Kahei	Kahei	rr ²⁾
Sensho	Sensho	r ²⁾
Kuroka	Sensho	rr ²⁾
Urasan	Nagarawase-Urasan	r ³⁾
Hakanmuri	Hakanmuri-Kurumiwase-Kirishima	ss ²⁾
Kairyo 41	Manchurian upland rice	ss ⁴⁾
Kurumiwase	Kurumiwase-Yonoyukimochi	ss ³⁾
Akamai	Akamai	rr ³⁾
Omachi	Deverted from Japanese lowland rice	m ⁴⁾
Kameji	Deverted from Japanese lowland rice	r ⁴⁾
Tamasari	Tamasari	s ²⁾
Fundechangomi	Kurohige	ss ⁴⁾
Minomochi	Sensho	r ²⁾

1) Varietal group shows the classification by phylogenetic similarity described by Tsunoda (1975, 1986), 2) Abe et al. (1976), 3) Ezuka et al. (1969), 4) unpublished data at Plant Biotechnology Institute, IBARAKI Agricultural Center

DNA の処理

イネ幼苗から全 DNA を CTAB 法 (Murrey and Thompson 1980) により抽出した。ゲノミックリザンハイブリダイゼーションは Kurata *et al.* (1994) の方法に従った。全 DNA は *Bam*HI, *Bgl*II, *Eco*RV, *Hind*III, *Apa*I, *Dra*I, *Eco*RI および *Kpn*I の合計 8 種類の制限酵素でそれぞれ完全消化後、0.8% アガロースゲルで電気泳動を行い、ナイロンフィルター (Boehringer Mannheim) 上に 0.4N NaOH を用いて転写した。フィルターは 2×SSC で 2 回洗浄後、120℃ でベイクングした。プローブのラベリング、ハイブリダイゼーションおよび検出は ECL Direct nucleic acid labeling and detection system (Amersham Pharmacia)

を用いた。この解析ではイネの12染色体に分布する109のRFLPマーカー (Kurata *et al.* 1994) を用いた。

データ解析

ダイス係数 (Nei and Li 1979) はコンピュータソフトウェア NTSYS-PC ver2.01 (Rohlf 1997) を用いて算出した。遺伝的距離はUPGMA (unweighted pair group arithmetical average) に基づいて同ソフトウェアにより算出し、デンドログラムを作成した。

結果

日本在来陸稲, 日本水稲およびインド型イネの多型

109のRFLPマーカーによる陸稲15品種, 「日本晴」

および「Kasalath」をサザン解析したところ, 1本から4本のメジャーバンドが検出された。多型のパターンは大まかに以下の4つのタイプに分類された。①「日本晴」, 「Kasalath」とは異なる断片長を示し, 陸稲間で多型は検出されなかった (G275-*EcoRV* in Fig. 1)。②全ての陸稲は「Kasalath」と同じ断片長を示し, 「日本晴」のみ異なる断片長を示した (G1465-*HindIII* in Fig. 1)。③陸稲品種間で多型が検出され, 「日本晴」, 「Kasalath」それぞれと同じ断片長を示す品種がみられた (C178-*HindIII* in Fig. 1)。④全ての品種は「日本晴」と同じ断片長を示し, 多型が無かったが, 「Kasalath」は異なる断片長であった (R1843-*KpnI* in Fig. 1)。④のパターンは109マーカー中65にみられ, 60%を占めた。同様に①, ②, ③のバ

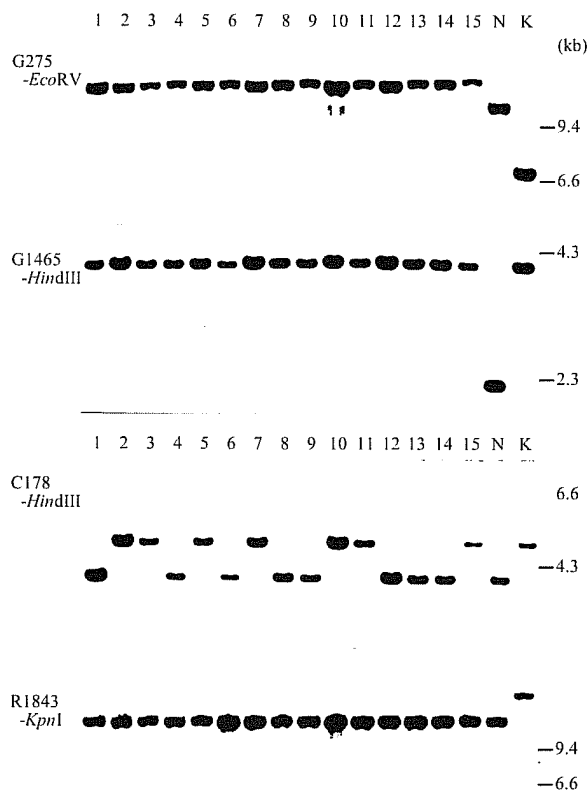


Fig.1. Southern blots of Japanese upland rice varieties with Nipponbare(N) and Kasalath(K). Lanes 1; Yakan, 2; Kahei, 3; Kirishima, 4; Sensho, 5; Kuroka, 6; Urasan, 7; Hakanmuri, 8; Kairyo 41, 9; Kurumiwase, 10; Akama i, 11; Omachi, 12; Kameji, 13; 41, 9; Kurumiwase, 10; Akamai, 11; Omachi, 12; Kameji, 13; 41, 9; Kurumiwase, 10; Akamai, 11; Omachi, 12; Kameji, 13; Tamasari, 14; Fundechangomi, 15; Minomochi. Restriction enzymes that digested genome DNA and hybridized RFLP markers are shown on the left.

ターンはそれぞれ35マーカー (31%), 4マーカー (4%), 5マーカー (5%) であった。これらの品種の関係を明らかにするために, RFLPの情報から, Dice係数に基づいて遺伝的距離を算出した (Table 2)。Pair-wise similarity

coefficients は「Kasalath」と「日本晴」との間で0.232, 「Kasalath」とそれぞれの在来陸稲間で0.293 - 0.362, 「日本晴」と在来陸稲間で0.714 - 0.830, 在来陸稲間で0.807 - 0.980であった (Table 2)。

Table2. Similarity matrix for Dice's coefficient

	Yakan	Kahei	Kirishima	Sensho	Kuroka	Urasan	Hakanmuri	Kairyo 41	Kurumiwase
Yakan	1.000								
Kahei	0.945	1.000							
Kirishima	0.946	0.918	1.000						
Sensho	0.890	0.912	0.854	1.000					
Kuroka	0.897	0.932	0.861	0.980	1.000				
Urasan	0.904	0.946	0.875	0.966	0.946	1.000			
Hakanmuri	0.932	0.973	0.904	0.932	0.952	0.952	1.000		
Kairyo 41	0.915	0.926	0.894	0.913	0.919	0.919	0.940	1.000	
Kurumiwase	0.860	0.827	0.847	0.834	0.827	0.827	0.834	0.870	1.000
Akamai	0.932	0.946	0.890	0.925	0.946	0.946	0.952	0.926	0.827
Omachi	0.911	0.925	0.883	0.932	0.939	0.952	0.946	0.913	0.807
Kameji	0.911	0.952	0.868	0.946	0.952	0.952	0.959	0.926	0.834
Tamasari	0.911	0.891	0.875	0.884	0.891	0.878	0.898	0.913	0.895
Fundechangomi	0.942	0.895	0.918	0.881	0.875	0.875	0.895	0.903	0.872
Minomochi	0.884	0.932	0.861	0.973	0.980	0.952	0.946	0.899	0.807
Nipponbare	0.781	0.762	0.754	0.755	0.748	0.762	0.741	0.772	0.820
Kasalath	0.323	0.341	0.343	0.362	0.362	0.355	0.362	0.343	0.293

	Akamai	Omachi	Kameji	Tamasari	Fundechangomi	Minomochi	Nipponbare	Kasalath
Yakan								
Kahei								
Kirishima								
Sensho								
Kuroka								
Urasan								
Hakanmuri								
Kairyo 41								
Kurumiwase								
Akamai	1.000							
Omachi	0.980	1.000						
Kameji	0.925	0.918	1.000					
Tamasari	0.918	0.912	0.898	1.000				
Fundechangomi	0.875	0.854	0.868	0.875	1.000			
Minomochi	0.925	0.932	0.946	0.871	0.868	1.000		
Nipponbare	0.762	0.755	0.755	0.830	0.773	0.741	1.000	
Kasalath	0.348	0.355	0.348	0.314	0.327	0.362	0.232	1.000

Range of values from 0 to 1.0 with values closer to 1.0 indicating increasing similarity.

インド型および日本型イネと日本在来陸稲間の遺伝的多様度

Fig. 2 は Dice 係数に基づいて、UPGMA 法により算出した陸稲在来品種及び比較品種の「Kasalath」, 「日本晴」についてのデンドログラムを示す。供試した 15 品種は明瞭に区別され, 「Kasalath」, 「日本晴」とは異なる陸稲のみから成り立つ 1 つの主要なグループに分類された。その中で, 12 品種は 4 つのサブクラスターを作り, 残りの 3 品種はそれぞれ単独で分類された。第 1 サブクラスターは「ヤカン」, 「霧島」, および「フンデチャンゴミー」を含んでいた。同様に第 2 サブクラスターは「嘉平」, 「葉冠」, 「亀治」を, 第 3 サブクラスターは「戦捷」, 「黒禾」, 「美濃稲」および「浦三」, 第 4 サブクラスターは dice 係数が 0.980 と非常に密接な関連を示した「赤米」, 「雄町」から成り, 「改良 41 号」, 「胡桃早生」, 「田優」はそれぞれ独立して分類された。第 3 サブクラスターに分類

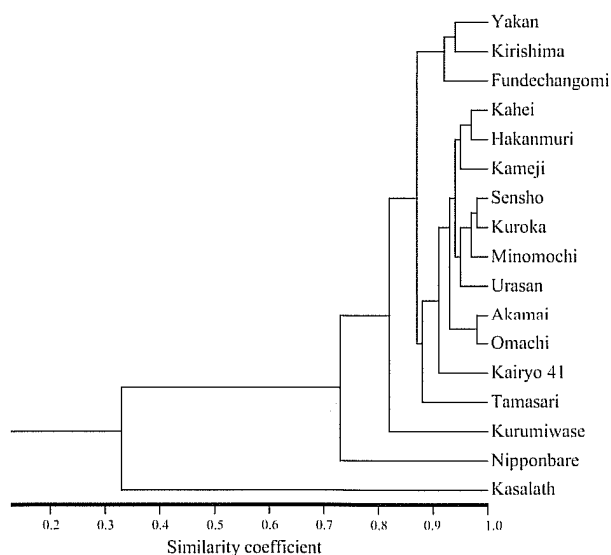


Fig. 2. Dendrogram of domestic upland rice varieties with Kasalath (*indica*) and Nipponbare (*japonica* lowland) constructed by UPGMA method based on Dice's coefficients. Scale on bottom is Dice's coefficient of similarity.

された4品種は、中程度以上のいもち病圃場抵抗性を示す品種のみで占められた。また他の品種とサブクラスターを形成することなく分類された3品種はいずれもいもち病圃場抵抗性程度が低かった。第1、第2および第4サブクラスターでは特に抵抗性との関連は見いだされなかった。

考察

日本水稻と陸稲の関係

日本陸稲はフェノール反応(岡 1953)、胚乳のアルカリ崩壊性(山口・木村 1958)等の表現型により日本水稻と区別されることが知られている。今回の RFLP によるクラスター解析では、陸稲在来品種は「日本晴」とは区別された1つの主要なクラスターを形成することが示唆された。しかし、60%の RFLP マーカーは「日本晴」と陸稲の間で多型が検出されず、日本陸稲-水稻間の密接な関係を示した。日本在来陸稲は *japonica* 亜種(日本型イネ)の生態型の1つである熱帯 *japonica* (*javanica*) に分類される(岡 1953)。さらに RAPD マーカーによる解析ではほとんどの陸稲は *japonica* クラスターに分類されることが示されている(Yu and Nguyen 1994; Mackill 1995)。本試験の結果も、これらと同じ傾向を示すものであった。一方、「田優」および「改良41号」は「日本晴」と比較的高い類似性を示し、pair-wise similarity coefficients はそれぞれ 0.830, 0.820 であった。今回の解析は、RFLP による分類は系統学的な関連を調べるのに有用であることを示しており、特に近縁が予想される生態型内における詳しい分化を知るのにも役立つものと思われる。

品種分類

在来品種中で、「嘉平」と「葉冠」は RFLP から類似性の高いことが示唆され、「ヤカン」と「霧島」も同様であった(Fig. 2)。角田(1975)は「嘉平」と「葉冠」および「ヤカン」と「霧島」を異なる群に分類しているが、これらの品種は全て九州南部で見いだされており(小野 1973)、「嘉平」と「葉冠」は出穂期、糯稈性といった表現型も似ている。いもち病圃場抵抗性については「嘉平」、「霧島」は極強とされ、「葉冠」、「ヤカン」は極弱とされており、大きく異なる。これらの品種の RFLP レベルで

の類似性を考慮すると、これらの品種は同じ、あるいは関連のある祖先品種から派生しており、「ヤカン」、「葉冠」は品種の成立の過程で、いもち病圃場抵抗性を失ってしまった可能性も考えられる。特に九州南部の暖地では関東・東北地方よりもいもち病抵抗性が重要でないともされることは、上記の可能性を支持するものである。

「戦捷」と「黒禾」も RFLP での類似性が高かった(Fig. 2)。この結果は角田(1975)と良く一致したが、角田(1987)は後に「黒禾」をいもち病圃場抵抗性の解析から独立した系統に分類している。「雄町」と「亀治」は水稻から陸稲に転用された品種群(水稻転用品種)に分類されていたが、今回の RFLP による解析では、「日本晴」とはやや遠縁の関係にあることが示唆された(Fig. 2)。雄町は「赤米」と類似性が高いことが示唆された。「赤米」、「雄町」とも同名で水陸稲を含む多くの遺伝資源が収集されていることが知られている。そのため、今回使用した「赤米」が水稻転用品種と断言することはできないが、少なくとも、典型的な陸稲とは若干異なることが示唆された。

いもち病圃場抵抗性との関連

異なる品種群に属する品種の RFLP による遺伝的な類似性を見いだすことは、系統学的な関連を考えることのみならず、多くの特性に関してその遺伝子型を推定する上でも情報を得ることができる。いもち病圃場抵抗性については、「戦捷」について多くの遺伝学的解析がなされている(Goto 1978; 東 1995; Fukuoka and Okuno 2001; 加藤ら 2002)。東(1995)はイネの合計10の染色体がいもち病圃場抵抗性と関連があることを報告している。一方、陸稲「農林糯4号」についての遺伝解析は比較的作用力の大きい2つの遺伝子座といくつかの微動遺伝子がいもち病圃場抵抗性に関与しているとの報告もなされている(阿部ら 1974)。育種に応用するには大きな効果を持つ比較的小さい遺伝子座を見いだすことが望ましいが、現実的には10もの遺伝子座を同定、集積することは非常に困難である。一方、2つの遺伝子座であれば実現可能であり、今後、陸稲については、阿部ら(1974)、Fukuoka and Okuno(2001)および加藤ら(2002)によって示唆されている作用力の大きな少数の遺伝子についての解析が重要であると思われる。また、これまでいもち病圃場

抵抗性が「戦捷」およびその派生品種を中心に行われてきたことを考えると、「戦捷」とは遠縁の陸稲について解析を行うことは、新たな圃場抵抗性遺伝子の同定の可能性もある。今回の研究で見いだされた「嘉平」や「霧島」はその解析の候補と考えられる。一方、「戦捷」と「黒禾」は今回作成されたデンドログラムでは非常に近縁と思われたが、いもち病圃場抵抗性遺伝子に関してはこれらの品種間では異なるとされており、デンドログラムでは近縁であっても、特定の形質に関しては異なる遺伝子により支配されている可能性もあるため、最終的には品種ごとの連鎖解析が必要である。

第2節 日本在来陸稲「嘉平」のいもち病圃場抵抗性に関する QTL 解析

高度のいもち病圃場抵抗性を示す著名な陸稲「戦捷」については多くの遺伝学的解析がなされている。現在までのところ、水稻のいもち病抵抗性育種に利用された陸稲は「戦捷」のみである。また、陸稲に関しても、育成品種の多くは「戦捷」が系譜上に関わっているため、いもち病抵抗性に関しても戦捷由来の遺伝子が多くを占めるものと思われる。そのため、陸稲由来の新たな抵抗性に関する遺伝資源の同定は、抵抗性育種での利用可能な遺伝子を増やし、抵抗性を安定化させることが期待される。第1節で、「戦捷」とは遠縁の陸稲品種が同定されたが、その中で、以降の解析用の抵抗性母本として陸稲「嘉平」を選定した。「嘉平」は明治時代に九州南部で採取された品種であり（小野 1973）、草型、出穂期やふ先の色などの形態的・生理的な表現型が「戦捷」とは大きく異なる。角田（1975）の報告でも、「戦捷」とは異なる品種群に属するとしている。本節では連鎖解析のための集団の育成を行い、RFLP によるいもち病圃場抵抗性に関する QTL 解析を試みた。

材料および方法

材料

陸稲「嘉平」と水稻「コシヒカリ」を交配し、F₂ 集団と F₃ 系統を養成した。「嘉平」は高度のいもち病圃場抵抗性を示し、「コシヒカリ」は感受性である。これら両品種は日本型イネに分類されるものの生態型は異なる。アイソザイム解析によると、陸稲は水稻よりも多様性に富ん

でいるとされている（石川 1994）。241 個体の F₂ 集団は 1997 年に茨城県農業総合センター農業研究所（水戸市上国井町）の水田で慣行法により栽培した。各個体から 10g の緑葉を採取し、DNA を抽出し、さらに各個体の自殖種子を採種した。これらの種子は畑晩播多窒素法によるいもち病圃場抵抗性検定に使用した。

いもち病圃場抵抗性の評価

上記 F₃ 系統は畑晩播多窒素法によるいもち病圃場抵抗性検定（江塚ら 1969）に供試した。本試験は茨城県農業総合センター農業研究所畑圃場（表層腐植質黒ボク土）で 1998 年に実施した。各系統および両親から約 50 粒の種子を 1 試験区（畦長 50cm, 畦幅 15cm）に播種し、基肥として N, P₂O₅, K₂O をそれぞれ 15, 15, 32 (g/m²) 施肥した。胞子接種は行わず、自然感染で発病させ、目視による達観調査により抵抗性程度を評価した。判定は 8 月 10 日に奥津ら（1984）の基準に従い行った。

RFLP 解析

F₂ 集団および親品種の全 DNA は CTAB 法 (Murray and Thompson 1980) により緑葉から抽出した。DNA は 8 種類の制限酵素、*Bam*HI, *Bgl*II, *Eco*RV, *Hind*III, *Apa*I, *Dra*I, *Eco*RI, および *Kpn*I により完全消化した。電気泳動、およびフィルターへの転写は Kurata *et al.* (1994) の方法にそれぞれ従った。3 μl の全 DNA を 0.8% アガロースゲルに充填し、70V で 20 分間、20V で 16 ~ 18 時間電気泳動を行った。RFLP マーカーは Harushima *et al.* (1998) のイネ高密度連鎖地図から 307 個を選び供試した。プローブの検出は ECL Direct nucleic acid labeling and detection system (Amersham Pharmacia Biotech) を使用した。まず連鎖地図作成に使用した集団の親である「嘉平」と「コシヒカリ」で多型の検出される RFLP マーカーと制限酵素の組合せを見いだすために、全ての RFLP マーカーを親品種間でスクリーニングした。F₂ 集団における多型マーカーの検出には LOD 値が 3.0, recombination fraction が 4.0 以上を連鎖有りとして解析した。

連鎖地図の構築と QTL 解析

F₂ 集団での多型解析結果に基づく連鎖群およびその中

でのマーカー順列の決定にはコンピュータソフトウェア Mapmaker/ EXP Ver. 3.0 (Lincoln *et al.* 1992a) を使用した。また、同ソフトウェアの Kosambi 地図関数により、連鎖地図長を計算した。コンピュータソフトウェア Mapmaker/ QTL Ver. 1.1 (Lincoln *et al.* 1992b) は、いもち病圃場抵抗性に関与した染色体部位を検出するために使用した。LOD 値はマーカーの位置でのみ計算し、インターバルマッピングは行わなかった。最初に行った単因子モデルによる QTL 解析では LOD 値 2.5 以上の QTL を有意なものとした。この集団では 2 つの QTL が検出され、これらは同じ染色体上で近い位置に存在していたため、多因子モデルの QTL 解析を引き続き行い、作用力の強い QTL の影響を取り除いた。この解析では LOD 値 39.5 (最も作用力の強い QTL である *qBFR4-1* の LOD 値 + 2.5) 以上を有意なものとした。

結果

F₃ 系統のいもち病圃場抵抗性程度

今回解析した集団の両親である「嘉平」、「コシヒカリ」のいもち病抵抗性程度はそれぞれ 1.0, 4.5 で差は明瞭だった。F₃ 系統は 0.5 から 4.5 まで連続的に分布し、ほとんどの系統が両親間の抵抗性程度の範囲内に位置した (Fig. 3)。

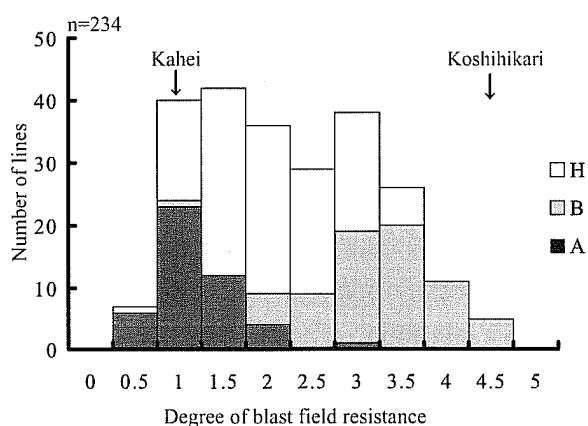


Fig. 3. Frequency distribution of the level of field resistance to blast in F₃ lines derived from a cross between Kahei (upland rice variety, highly resistant) and Koshihikari (Japanese lowland variety, susceptible). F₃ lines were classified into three genotype classes based on the genotype of RFLP marker C600, which is the nearest codominant marker to *qBFR4-1*. A, homozygous genotype of Kahei; B, homozygous genotype of Koshihikari; C, heterozygous genotype. The degree of resistance of Kahei and Koshihikari are indicated by arrows.

嘉平 / コシヒカリ由来 F₂ の連鎖地図構築

イネの 12 本の染色体に分布する 250 の RFLP マーカーについて親解析を行い、「嘉平」、「コシヒカリ」間で多型を示すマーカーの探索を行った結果、68 のマーカーが多型を示した。最初の QTL 解析では第 4 染色体に 2 つの QTL が検出されたため、この染色体に座乗する 57 の RFLP マーカーについて新たに親解析を行った。この中からは 11 マーカーが多型を示したため、合計 79 マーカーにより連鎖地図の構築を行ったところ、17 連鎖群が得られた。これらの連鎖群は Harushima *et al.* (1998) の地図情報に基づき 12 染色体に再構築した。その結果、嘉平 / コシヒカリの連鎖地図長は 409cM となり、Harushima *et al.* (1998) の地図の約 38% をカバーするものとなった。ほとんどの RFLP マーカーは Harushima *et al.* (1998) と同じ順序となったが、R1759 のみは異なる染色体部位に位置づけられた。R1759 は Harushima *et al.* (1998) では第 12 染色体の長腕末端側に位置していた。「嘉平」と「コシヒカリ」の組合せにおいて、R1759 で多型を示した DNA 断片は Harushima *et al.* (1998) の Kasalath/ 日本晴の組合せで多型の得られた DNA 断片とは異なると思われ、今回育成した集団では第 4 染色体に位置づけられた (Fig. 4)。

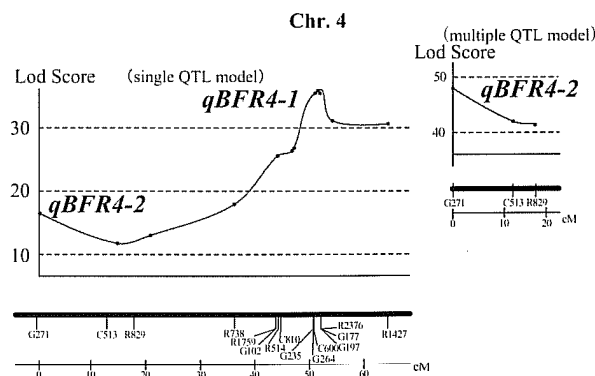


Fig. 4. Log-likelihood curve for blast field resistance of chromosome 4. The horizontal bar shows the linkage maps of RFLP markers on chromosome 4 based on a single QTL model. Lod score of 39.5 was used as a threshold to detect *qBFR4-2* on chromosome 4 in the analysis of a multiple-QTL model.

いもち病圃場抵抗性に関する QTL 解析

F₂ 集団の各個体から作成した連鎖地図および各 F₂ 個体由来する F₃ 系統の葉いもち抵抗性検定の結果から、い

もち病圃場抵抗性に関する単因子モデルの QTL 解析を行ったところ、2つの QTL, *qBFR4-1*, *qBFR4-2* が検出された (Fig. 4). 最も作用力の強い *qBFR4-1* は第 4 染色体長腕末端側の RFLP マーカー G264 の近傍に検出された。この QTL で F_3 世代での全表現型分散の 61.6% を説明することができ、相加的、優性効果はそれぞれ 1.13, -0.23 であった (Table 3). 2 番目に効果的な QTL である *qBFR4-2* は RFLP マーカー G271 の近傍に位置づけられ、*qBFR4-1* とは約 57cM の距離であった。*qBFR4-1* の影響は非常に大きいため、*qBFR4-2* の検出は多因子モデル

Table 3. Putative QTLs for blast field resistance. *qBFR4-2* was analyzed by removing the effect of *qBFR4-1* based on the multiple-QTL model

QTL	NM	Chr	LOD	AE	DE	PVE
<i>qBFR4-1</i>	G264	4	37	1.13	-0.23	61.6
<i>qBFR4-2</i>	G271	4	48.3	0.49	0.03	71.4

NM: the nearest marker locus to the QTL. Chr: Chromosome number, LOD: log likelihood value calculated by MAPMAKER/QTL ver1.1, AE: Additive effect of the QTL, DE: Dominance effect of the QTL, PVE: Percent of total F_3 phenotypic variance explained by the QTL. All calculated values of *qBFR4-2* are based on the analysis of multiple QTL model with *qBFR4-1*. The threshold of LOD score of *qBFR4-1* was 2.5. Significant threshold in multiple-QTL model analysis for *BFR4-2* was LOD score of 39.5.

ルによる QTL 解析を再び行った (Fig. 4). その結果より、これら 2つの QTL により、 F_3 の全表現型分散の 71.4% を説明することができた (Table 3). ここで、*qBFR4-2* についてはその短腕側に RFLP マーカーが得られなかったため、詳細な位置の決定はできなかった。*qBFR4-1* および *qBFR4-2* の位置は陸稲「オワリハタモチ」で検出された QTL (Fukuoka and Okuno 2001) および「戦捷」で検出された QTL (加藤ら 2002) と良く一致した。しかし、「オワリハタモチ」と「戦捷」の最も効果的な QTL は G271 近傍のものであり、「嘉平」で検出された QTL とは異なっていた。今回の解析では第 11 染色体に位置する RFLP マーカー C1172 の極近傍にも QTL が得られたが、閾値以下 (LOD = 2.2) だったため、詳細な解析は行わなかった (Fig. 5). しかし、水稻「中部 32 号」の QTL 解析では同様に C1172 近傍にいもち病圃場抵抗性に関する QTL が検出されている (Zembayashi *et al.* 2002).

考察

これまでの日本陸稲由来のいもち病圃場抵抗性の解析は、「戦捷」とその後代品種について中心に行われてきた。

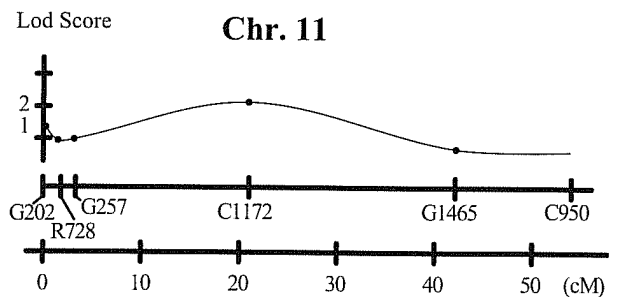


Fig. 5. Log-likelihood curve for blast field resistance of chromosome 11. Details are same with Fig. 4.

これは「戦捷」が最初にいもち病抵抗性育種に利用されたことによる。陸稲「嘉平」は非常に強いいもち病圃場抵抗性を示し (篠田ら 1971), 形態的研究から「戦捷」とは異なる品種グループである (角田 1987) ことを併せて考えると、新たな抵抗性遺伝資源であることも示唆されるが、これまで「嘉平」に関する遺伝学的解析はなされていなかった。

陸稲「嘉平」と水稻「コシヒカリ」は同じ日本型イネであるものの、形態的には大きく異なる。この組合せでの RFLP 解析の結果、供試した 307 の RFLP マーカーのうち、79 が多型を示した。使用した RFLP マーカーはインド型イネ「Kasalath」と日本型イネ「日本晴」の組合せから作成された (Harushima *et al.* 1998) ものであり、当然多型の出現頻度の低くなることは予想されたが、改めて日本陸稲と水稻の近縁さを示す結果であった。幸運なことに、今回検出された QTL の近傍染色体領域には多くの RFLP マーカーが位置づけられ (Fig. 4), さらに、同定された 2つの QTL は、 F_3 世代での全表現型分散の 70% 以上を示すという効果的なものであった (Table 3). そのため以降の解析は、全染色体にわたる連鎖地図作成は行わず、第 4 染色体の 2つの QTL に焦点を置いた。

「嘉平」のいもち病圃場抵抗性に関する QTL 解析の結果から、検出された 2つの QTL はいずれも「嘉平」の対立遺伝子が抵抗性を強くする方向に作用していた。最も強い作用を示した *qBFR4-1* のみで全表現型分散の 60% 以上を説明することができ、その作用力の大きさは真性抵抗性遺伝子に近いものであった。そのため、遺伝子単離を目的とするならば、今回検出された *qBFR4-1* は非常にいもち病圃場抵抗性に関する QTL 解析のみならず、

古典的な遺伝学的解析もなされている。東（1995）は、陸稲のいもち病圃場抵抗性に関与する遺伝子は第4染色体上にあることを示唆しており、Fukuoka and Okuno（2001）は陸稲「オワリハタモチ」の圃場抵抗性に関するQTLを第4、第9および第12染色体上に検出した。また、加藤ら（2002）は陸稲「戦捷」の第4、第11および第12染色体にQTLを検出した。「オワリハタモチ」および「戦捷」の第4染色体のQTLに関しては「嘉平」のQTLの位置と良く一致した。しかし、第4染色体上の2つのQTLの相対的な作用力の関係は相反する結果であった。

「オワリハタモチ」、「戦捷」の最も作用力の強いQTLはG271近傍のものであり（Fukuoka and Okuno 2001; 加藤ら 2002）、「嘉平」では、G271近傍の $qBFR4-2$ はG264近傍の $qBFR4-1$ よりも小さな作用力を示した。これら3品種の第4染色体上の2つのQTLはそれぞれ異なる対立遺伝子を持っていると考えられるが、それを証明するためにはそれらのQTLに関して、同じ遺伝的背景を持つ準同質遺伝子系統の育成など、更なる研究が必要とされる。

一方、アフリカで栽培されている陸稲「Moroberekan」（日本型イネ）のQTL解析の結果は、第4染色体にQTLの無いことを示しており（Wang *et al.* 1994）、第4染色体のQTLは日本陸稲に特異的なQTLである可能性が示唆された。

今回の解析では閾値以下ではあったが、「嘉平」の第11染色体のRFLPマーカーC1172近傍にQTLの存在が示唆された（Fig. 5）。水稻「中部32号」ではいもち病圃場抵抗性に関するQTLが第11染色体上のRFLPマーカーC1172近傍に見いだされ、第4染色体上には検出されなかった（Zenbayashi *et al.* 2002）。また、「戦捷」についても第11染色体のC1172付近にQTLが検出されている（加藤ら 2002）。それらのQTLの位置は互いに良く一致した。「中部32号」はその育成系譜上に「戦捷」が含まれていることから、「戦捷」由来のいもち病圃場抵抗性遺伝子を持ち、その育成過程において第4染色体のQTLは全て除かれてしまったため、第11染色体のQTLのみが残ったものと思われる。

陸稲のいもち病圃場抵抗性遺伝子の集積が可能であることは既に報告されており（奥津ら 1974）、集積に関わる遺伝子の数が抵抗性の持続性や、菌のスペクトラムの広さに影響することが示唆されている（Bonman 1992）。

「オワリハタモチ」、「戦捷」の最も作用力の強いG271付近のQTLと「嘉平」のG264付近のQTLは集積可能と思われ、これら2つのQTLの組合せはいもち病抵抗性を高める、あるいは安定化されるものと期待される。これを試みるにあたり、従来の選抜法では困難である。これらのQTLは、単独でも高い作用力を示すため、圃場検定を行う際にQTLを単独に持つ系統と集積した系統との間で表現型の差が区別できない可能性があるためである。また、QTL間の距離が比較的小さいため、分離集団中で2つのQTLの集積した系統の出現頻度は非常に少ないと思われる。しかし、DNAマーカーを利用したMASであれば、圃場抵抗性の集積のみならず、自然発生条件下で親和性菌の見いだされないような真性抵抗性遺伝子との集積も効率的に行うことができる。この戦略をより実現性の高いものとするためにはさらに強く連鎖するDNAマーカーの同定が必要である（Yano and Sasaki 1997）。近年PCRのみで多型の検出できるSimple sequence repeat (SSR) マーカーがイネで普及してきた。このような解析の簡易なマーカーの充実は、MASをより現実可能なものとさせる。

第3節 「嘉平」のいもち病圃場抵抗性に関するQTL間相互作用

QTLを司る遺伝子を戻し交雑で単因子の系統とした場合に、QTLを検出した世代から期待される作用力が得られない場合がある。その理由の一つとして、QTL間の相互作用が挙げられる。相互作用が補足遺伝子型である場合は、相互作用の関係にある遺伝子をセットで導入しなければ、期待される作用を得ることはできない。いもち病圃場抵抗性のような量的形質では、表現型の明確な分類はできないが、遺伝子型はDNAマーカーにより推定することができる。遺伝子型が識別できる場合には、各遺伝子型の表現型値の平均を比較することにより遺伝子座間の相互作用の有無を調べることができる（鶴飼 2002）。そこで本節では、前節で検出されたQTLである $qBFR4-1$ 、 $qBFR4-2$ および閾値以下ではあるが、第11染色体に検出されたQTLについて、RFLPによる遺伝子型別にいもち病圃場抵抗性程度の二元配置分散分析を行い、その相互作用の有無を検討した。

材料および方法

材料には前節で育成した嘉平/コシヒカリのF₂世代の各個体を供試した。F₂個体を *qBFR4-1*, *qBFR4-2* のそれぞれに最も強く連鎖する共優性の RFLP マーカー C600, G271, さらに作用力は低かったものの第 11 染色体の C1172 の 3 つの遺伝子型で分類し, 2 つの QTL ごとの組合せ, 合計 3 組合せの間で二元配置の分散分析を行い, RFLP の遺伝子型と, いもち病圃場抵抗性の程度の間統計的な相互作用があるかどうかを検討した。データの整理にはマイクロソフト社エクセル, 統計計算には統計計算ソフトウェア Statcel (柳井 1998) を使用した。

結果

全ての QTL は嘉平型が抵抗性を高める方向に作用しているため, 3 つの遺伝子型の組合せでは, 嘉平ホモを示した場合の抵抗性がほとんどの場合最も高く, ヘテロ, コシヒカリホモとなるにしたがい抵抗性程度は低下していった。一方, コシヒカリホモの組合せの中で, C600/G271, C600/C1172 の組合せよりも G271/C1172 の抵抗性程度が高かった。これらの結果より二元配置の分散分析を行った結果が Fig. 6 である。C600 と G271 の二元配置の分散分析の結果は F 値が 0.86, P 値が 0.49 であり, 0.1% 水準で相互作用が認められなかった。同様に C600/C1172 では F 値 0.51, $p = 0.73$, G271/C1172 では F 値 0.84, $P = 0.50$ で, 相互作用は認められなかった。

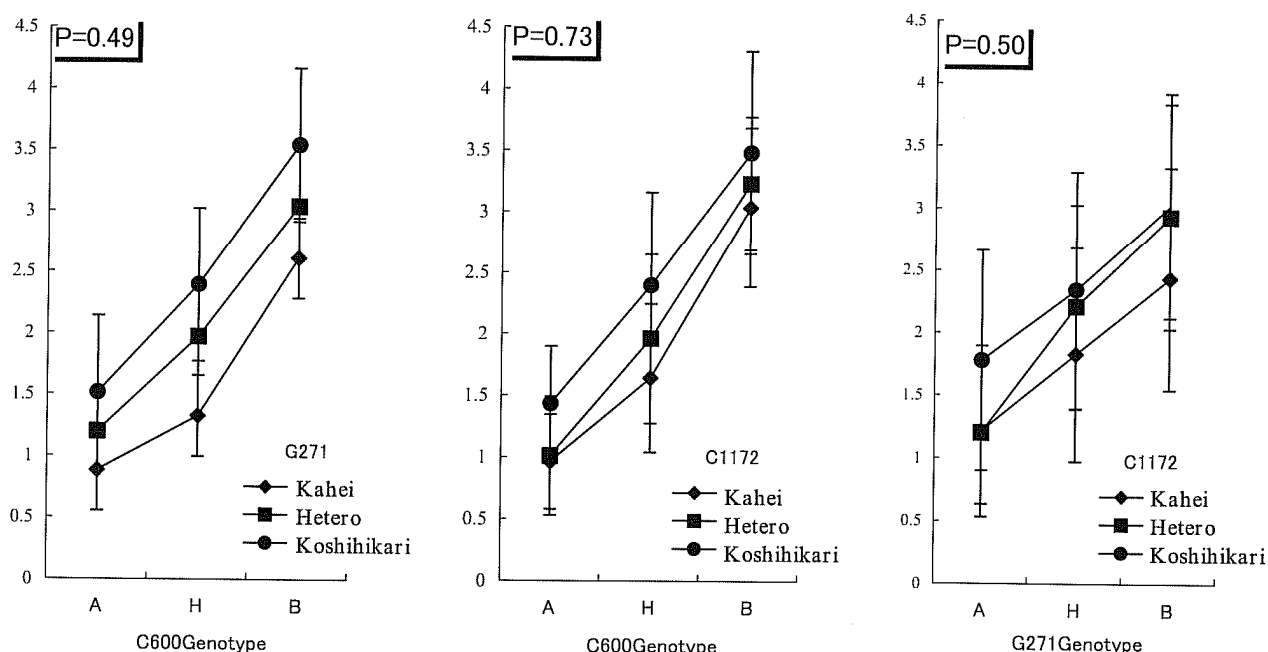


Fig. 6. Mean values of blast field resistance in different combinations of genotype classes of C600 (*qBFR4-1*) and G271 (*qBFR4-2*), C600 and C1172 (nearest marker to the QTL on chromosome 11) and G271 and C1172. P, given in each figure shows the probability of the F-test under the hypothesis of no digenic interaction. A, B and H indicate the homozygous genotype of Kahei, Koshihikari and heterozygous genotype at the marker position indicated at the bottom of each figure. The genotype of markers indicated in each figure are homozygous for Kahei (◆), Koshihikari (●) and heterozygous (■), respectively.

考察

一般的に量的形質では質的形質以上に遺伝子座間の相互作用を考慮に入れることが重要とされている。本試験で解析しているような量的形質でも, 遺伝子型間での表現型の平均値を比較することにより, 遺伝子座間の相互作用の有無を調べることができる。しかし, 量的形質で

は関与する遺伝子座が多く, 遺伝子の効果が環境変動に対して小さく, 表現型の測定だけでは遺伝子座間の相互作用は判断できないため, 統計的解析が必要とされている。実際の解析としては, オオムギ(Thomas and Tapsell 1983), コムギ(Klami and Qualset 1973, Singh *et al.* 1986), ダイズ(Mansur *et al.* 1993)等の例がある。本試験の結果

では、2つのQTLと、1つのQTL候補の3遺伝子座間での相互作用は検出されなかった。このことから、嘉平/コシヒカリの組合せから検出されたQTLは、それぞれ単独で導入した場合でも、F₂/F₃世代で解析された作用力が機能するものと期待される。一方で、生化学的には遺伝子座間相互作用があっても、統計的に相互作用が検出されるとは限らないとも指摘されている(Wade 1992)。本試験で検出したQTLに関するNILの育成についても、水稻「コシヒカリ」への導入を試みており、DNAマーカーにより圃場抵抗性遺伝子を確認しながら「コシヒカリ」への戻し交雑を行っているところである。水稻-陸稲は同じ日本型イネ亜種に属し、生態型が異なるとされており、従来の研究の中心であったインド型イネ-日本型イネ間よりもかなり遺伝的には似ているため、導入遺伝子の親和性は高いものと考えられる。しかしながら、戻し交雑の世代ごとにいもち病圃場抵抗性の検定を行うことにより、水稻に抵抗性を付与できるかどうかを確認することが必要だと思われる。

第2章 日本在来陸稲における第4染色体のRFLP座といもち病圃場抵抗性の程度との関連

本章では陸稲「嘉平」で検出された第4染色体に座乗するQTL極近傍のRFLPマーカーによる陸稲在来品種でのRFLP解析といもち病圃場抵抗性との関連について述べる。Sorrells and Wilson (1997)は目的とする遺伝子座の塩基配列レベルでの変異解析は優れた対立遺伝子を同定するのに有効であることを報告している。陸稲のいもち病圃場抵抗性については、主要なQTLのLOD値は非常に高く(第3章; Fukuoka and Okuno 2001; Miyamoto *et al.* 2001; 加藤ら 2002)、真性抵抗性遺伝子並の作用力を示している。さらに、QTLはDNAマーカーにより詳細に連鎖解析されているため、近傍のDNAマーカーによる簡易な解析で、QTLの遺伝子型を検定できることが推定される。優れた対立遺伝子が同定されれば、陸稲のみならず、水稻へのMASによるいもち病圃場抵抗性導入のdonor遺伝子とすることが可能である。

第1節 日本在来陸稲のRFLP解析

日本在来陸稲のいもち病圃場抵抗性に関するQTL解

析については、いくつかの研究がなされており(Fukuoka and Okuno, 2001; Miyamoto *et al.* 2001; 加藤ら 2002)、第4染色体のQTLはほぼ同じ位置に座乗している。これらの研究の抵抗性親は全て異なるが、第4染色体に関しては、日本陸稲間では同じ遺伝子座か、非常に近い位置にある遺伝子座により、圃場抵抗性が支配されていることが示唆される。本節では、第3章で同定された「嘉平」の第4染色体のQTLに最も強く連鎖するDNAマーカーは、他の陸稲品種のQTLとも連鎖している(Fukuoka and Okuno, 2001; 加藤ら 2002)ことから、各QTLについて、1つのRFLPマーカーを選定し、陸稲在来品種の圃場抵抗性による分類を試みた。

材料および方法

材料

茨城県農業総合センター生物工学研究所に在来品種として保存されている陸稲158品種についてRFLP解析に供試した(Table 4)。これらの品種は、いもち病圃場抵抗性に関しては完全にランダムである。水稻「日本晴」は比較品種とするために供試した。これら在来品種は2000年に茨城県農業総合センター農業研究所水田圃場で慣行栽培し、DNA抽出のための緑葉採取およびいもち病抵抗性検定のための採種を行った。

DNAの処理と解析

全DNAはMurray and Thompson(1980)のCTAB法により、出穂期に緑葉より抽出した。全DNAの制限酵素処理、電気泳動はKurata *et al.* (1994)の方法に従った。プローブの標識および検出はECL direct nucleic acid labeling and detection system(Amersham Pharmacia plc)を使用した。今回のRFLP解析には陸稲「嘉平」と「戦捷」を指標品種とし、在来陸稲は比較品種との断片長の比較により分類した。RFLPマーカーは*qBFR4-1*と*qBFR4-2*に強く連鎖するC600およびG271(Kurata *et al.* 1994)を使用した。予備実験として比較品種を8つの制限酵素(*Bam*HI, *Bgl*II, *Eco*RV, *Hind*III, *Apa*I, *Dra*I, *Eco*RI, *Kpn*I)で処理し、C600, G271でサザン解析を行った。その結果、G271では指標品種の「嘉平」、「戦捷」間で多型は得られなかったものの、C600については多型を示した*Hind*IIIを全品種について処理する制限酵素とした。比較品種の「日本晴」とは両RFLP座で区別することができた。

結果

いもち病圃場抵抗性に関与した QTL 近傍 RFLP の多様度

「嘉平」のいもち病圃場抵抗性に関する QTL, *qBFR4-2* に連鎖した RFLP 座 G271 は単一バンドによる分離が見られた (Fig. 7). ほとんど全ての品種のサザン解析でのパターンは 2 つの遺伝子型に分けられ, それらは断片長により G271-a, G271-b と命名した. 供試品種中, 85 品種 (54%) と「日本晴」が G271-a を示し, 「戦捷」, 「嘉平」および 70 品種 (46%) は G271-b であった. 「山稈禾」は G271-a, b とは異なる断片長を示した.

qBFR4-1 に強く連鎖した C600 の解析では, 2 から 3 本のバンドによる明瞭な品種間差が認められた (Fig. 7). 「日本晴」は 3 本のバンドによるフィンガープリントを示し, 供試した陸稲の中で 50 品種 (32%) がこのパターンを示し, これを C600-a とした. 「戦捷」は「日本晴」とは異なる 3 本のフィンガープリントを示し, 72 品種 (46%) が同様のパターンであった. 「嘉平」は 2 本のフィンガープリントを示し, 35 品種 (22%) が同じパターンを示した. これらの遺伝子型は, 「戦捷」型を C600-b, 「嘉平」型を C600-c とした. 「山稈禾」はこの遺伝子座でも特異的な断片長を示し, 「山稈禾」と同じフィンガープリントを示す品種は見いだされなかった.

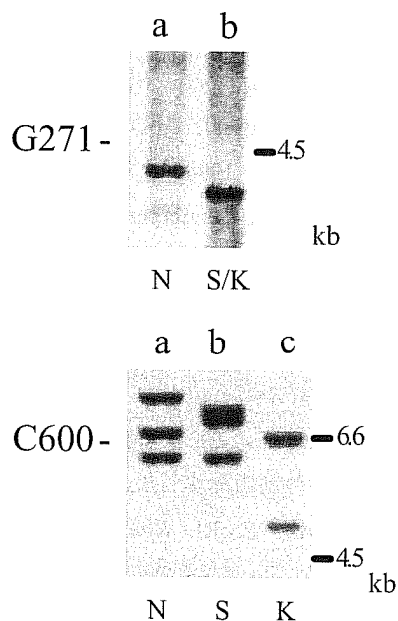


Fig. 7. Southern blot analysis of Kahei (K), Sensho (S) and Nipponbare (N) using the RFLP markers C600 and G271. The assigned alleles are indicated above the pictures.

考察

陸稲「嘉平」で検出された第 4 染色体上の QTL に最も強く連鎖する共優性の RFLP マーカーは *qBFR4-1* が C600 で, *qBFR4-2* が G271 であり, 「戦捷」についてもほぼ同じ位置に QTL が検出されている (加藤ら 2002). そのため, 今回使用した C600 と G271 については陸稲を用いたいもち病圃場抵抗性の解析に広く使用できる可能性がある. 陸稲「戦捷」で最も強い作用を示す QTL に最も近接する RFLP マーカーである G271 では, 供試した 158 品種は, 1 品種を除いて, 2 つのグループに分けることができた. 「戦捷」と「嘉平」は同じ断片長を示し, 158 品種中 70 品種が同様であった. もう一つのグループは比較品種の水稲「日本晴」と同じ断片長を示し, 85 品種が同様であった. C600 の解析では, 2 ないし 3 本の断片が検出された. 「戦捷」は 3 本の断片が検出され, 「嘉平」はそれらの断片とは異なる位置に 2 本の断片が検出された. 「日本晴」も 3 本の断片が検出されたが, 「戦捷」とは明らかに異なる断片が 2 本, ほぼ同じ位置の断片が 1 本検出された. 角田 (1975, 1986) は, 陸稲として栽培されていた在来品種の中には水稲から転用されたものがあることを示唆している. 今回供試した品種では, 「亀治」, 「亀の尾」, 「赤米」がこれに相当する. これらの品種は, 農業生物資源ジーンバンクの特性表によると, 水稲, 陸稲の双方に同名の品種が登録されている. 本研究で供試した品種は全て陸稲であるが, 「亀の尾」, 「亀治」の G271 座は「日本晴」と同じ断片長であった. これらのことから考察すると, 畑栽培は高度のいもち病抵抗性が必要とされるため, 陸稲として適応するためには, 少なくともいもち病抵抗性に関する遺伝子座の変異か, 自然交雑による抵抗性遺伝子の導入が起こり, いもち病抵抗性の改良が必要であったものと思われる. その際, C600 座と G271 座では, C600 座の抵抗性程度が高いため, 亀の尾, 亀治では効果の高い C600 座の陸稲型への変異が起こった可能性が示唆された.

本節では, いもち病圃場抵抗性の遺伝子座の解析のみで品種の来歴を考察したが, 正確には, 染色体領域全体にわたる相同性の確認が必要だと思われる. 陸稲の成立については, 水陸未分化の状態 で日本に導入され, その後水稲, 陸稲へと分化したとされているが, この問題についても今後実験的に明らかにすることができるものと思われる.

Table 4. Allele combination and the degree of blast field resistance of Japanese upland rice varieties

No	Variety name	Allele		Blast field resistance	No	Variety name	Allele		Blast field resistance
		C600	G271				C600	G271	
1	Hokkaiakage	a	a	2.8	53	Damattero	c	b	0.3
2	Hokkaiwase	a	a	2.8	54	Tamasari	a	a	2.5
3	Kairyo 41	a	b	2.5	55	Kurokawa	b	b	2.5
4	Sankanka	—	—	0.0	56	Kounosurikuto 2	a	b	2.5
5	Kurumiwase 43	a	b	1.5	57	Urasan	a	a	3.0
6	Iwatekurumi	a	a	2.8	58	Hakuai	c	a	0.5
7	Oshima 6	b	b	2.5	59	Kurumiwase 18	b	b	3.8
8	Sashimarikuto	a	a	3.0	60	Momotaro	b	a	2.0
9	Ohkuwanishiki	a	a	2.5	61	Wasehassaku	c	b	0.3
10	Hiderisirazu A	a	a	3.0	62	Akamai	b	a	1.5
11	Hiderisirazu D	a	a	2.5	63	Sensho	b	b	3.5
12	Shinagawawase	a	a	3.8	64	Oiran	a	a	3.5
13	Taihowase	a	a	2.5	65	Tamasari 1	a	a	2.8
14	Mogamichikanari 1	b	b	2.5	66	Kyushu	b	b	2.0
15	Tikanari 1	c	b	0.8	67	Oshima 2	b	b	1.3
16	Chikanari jun 1	b	b	2.5	68	Wasesekitori c	b	b	1.8
17	Sekitori	a	a	2.5	69	Wasesekiroti g	b	b	2.3
18	Shusei 3	a	a	2.8	70	Fujisuke	b	b	2.5
19	Shindaiookoshi	b	b	2.3	71	Senshoibaraki 1	b	b	1.3
20	Kurnai	a	b	2.3	72	Shindaiookoshiibaraki 1	b	a	1.5
21	Mitonishiki	a	a	2.8	73	Meguro	c	a	0.3
22	Mutsuki	a	a	3.5	74	Edogawa	b	a	2.8
23	Amonkyuri	a	a	4.3	75	Mogamiuruchi 1	b	b	2.3
24	Kanekobouzu	a	b	3.0	76	Wasedango	a	a	2.8
25	Yamanoi	b	b	2.0	77	Waseshinshu	a	a	3.0
26	Akaine	c	b	0.5	78	Tokyosensho	b	b	2.5
27	Akaka	a	a	2.5	79	Ohatawase	b	b	1.3
28	Ishikawa	a	b	2.0	80	Hirayama	c	a	0.8
29	Araki	a	a	3.0	81	Shidarebozu	a	a	3.5
30	Rikuaraki	a	a	3.3	82	Terenzu	b	b	1.5
31	Yonaoshi	c	a	2.3	83	Kinryu	b	b	1.0
32	Shinshuwase	a	a	2.5	84	Ibarakishiga	c	a	2.5
33	Mikuninohomare	a	b	2.3	85	Kenjonishiki	a	a	3.0
34	Wasesekitori e	a	a	2.5	86	Fujiokasen	b	b	1.3
35	Kazusawase	a	a	2.8	87	Chikanari 2	a	a	3.5
36	Tokyokaneko	b	b	2.3	88	Tokiwanishiki	b	b	1.5
37	Kahokutaiwan	c	b	0.5	89	Urasan	b	b	2.3
38	Suzumeshirazu	a	a	2.5	90	Senshoho	b	b	1.8
39	Kameji	c	b	0.8	91	Hiderisirazu	b	b	1.8
40	Takaranishiki	c	b	0.0	92	Gouneyongoku	b	b	1.8
41	Urasan 1	b	b	1.8	93	Santoine	a	a	3.5
42	Kairyo 14	b	a	2.8	94	Senshutsu	b	b	1.8
43	Fukura	c	b	1.0	95	Owari 19	b	b	2.3
44	Tamasari b	a	a	3.0	96	Ikezawa a	b	b	2.0
45	Nagarawaseura 26	c	b	0.8	97	Sekaiichi	c	a	0.3
46	Chiyodawase	b	b	2.8	98	Omoriboza	a	a	3.5
47	Rikuaikoku	b	b	1.8	99	Isogetsu	b	b	1.5
48	Kamenoo	b	a	2.5	100	Horarin	c	a	0.5
49	Iwatekurumiwase 1	a	a	3.0	101	Ohatawase	b	b	1.8
50	Naganowase	c	b	0.5	102	Sangoku	b	b	2.0
51	Kuroka	c	a	0.3	103	Ginsukeyakan	c	b	1.0
52	Kuniichi	a	a	3.3	104	Rikutoasahi	b	a	2.5

Table 4. (continued)

No	Variety name	Allele		Blast field resistance	No	Variety name	Allele		Blast field resistance
		C600	G271				C600	G271	
105	Santaro	c	b	1.0	157	Akagiwase	c	a	1.0
106	Tokyohirayama	c	a	0.5	158	Okinawarikuto	b	b	1.5
107	Omachi	b	b	1.3					
108	Houzan	b	b	2.0					
109	Asaga	a	b	1.8					
110	Sekiyama	b	b	2.5					
111	Nabewari	c	a	0.3					
112	Bozuyakan	c	a	0.3					
113	Matoba 1	c	a	0.3					
114	Kairyo 13	a	a	3.5					
115	Akayakan	b	b	2.0					
116	Shinsukeyakan	c	a	1.5					
117	Fundechangomi	b	a	2.5					
118	Rikutoshinriki 1	a	a	3.5					
119	Sinriki 1	b	a	2.8					
120	Kumatawase	c	a	0.5					
121	Nan	b	a	2.3					
122	Chozoboza	b	b	2.5					
123	Hagakure	a	b	1.8					
124	Biruma	a	b	1.5					
125	Okutetaro	c	a	1.0					
126	Tomei	c	a	0.5					
127	Tamahakko	b	a	2.8					
128	chibakirishima	c	a	0.8					
129	Tanbohakanmuri	b	b	0.8					
130	Rikuto 2	b	a	2.3					
131	Tokushimakyushu	c	a	1.0					
132	Kahei	c	b	0.5					
133	Miyanishiki	b	a	2.8					
134	Matsuyama	b	a	3.3					
135	Chokeisyakusenmodoshi	b	a	3.5					
136	Onjo	b	a	3.3					
137	Hoharahakanmuri	b	a	2.5					
138	Kuronbo	b	a	2.8					
139	Hakanmuri 1	b	a	2.8					
140	Oiran 1	b	b	2.0					
141	Tajima 1	b	b	1.5					
142	Yakan	b	a	2.0					
143	Kimotsukezairaiyakan	b	a	3.3					
144	Kirishima	b	a	2.8					
145	Okkamodoshi	c	b	0.8					
146	Awafuki	b	a	1.8					
147	Takajiro	b	b	2.5					
148	Terishirazu	c	b	0.0					
149	Mie	c	b	0.8					
150	Yamadabake	b	a	2.8					
151	Santamomi	b	a	3.5					
152	Kozo	b	a	2.5					
153	OnjoHakanmuri	b	b	1.5					
154	Fukubozu	a	a	2.8					
155	Shirohige	a	a	3.0					
156	Ohgurowase	a	a	2.5					

第2節 日本在来陸稻の葉いもち抵抗性程度と RFLP の関連

前節で述べたとおり、第4染色体上のいもち病圃場抵抗性に関する QTL の近傍 RFLP 座の解析により、日本在来陸稻をいくつかのグループに分けられることができた。次いで、これらのグループ間で抵抗性程度に違いがあるかどうかを調べることが必要である。異なる対立遺伝子を持つと思われるグループ間で、いもち病抵抗性程度に有意な差が見いだすことができれば、それらのグループ間で、抵抗性は異なる対立遺伝子によるものと思われる。本節では、前節で供試した陸稻在来品種について葉いもち検定により圃場抵抗性程度を評価し、RFLP 解析による対立遺伝子ごとの抵抗性程度、さらに、2つの RFLP 座の組合せによる抵抗性程度を明らかにすることを試みた。

材料と方法

いもち病圃場抵抗性検定

いもち病圃場抵抗性の検定は 2001 年に Miyamoto *et al.* (2001) の方法で行った。全ての品種は 2 反復で検定した。抵抗性程度は目視の達観調査により、0～5 に中間値を含めた 11 段階で評価した。

統計計算

統計計算はマイクロソフト社エクセルと統計ソフトウェア Statcel (柳井 1998) を使用した。

結果

日本在来陸稻のいもち病圃場抵抗性程度

日本在来陸稻のいもち病圃場抵抗性程度の差は明瞭であった (Fig. 8)。分布は連続的で、抵抗性程度は無病徴、無病斑の 0 から、4.5 まで観察された (Fig. 8, Table 4)。最も分布が多かったのは 2.5 付近の中間的な抵抗性程度を示した品種群であり、ここを中心に正規分布に近い分布を示したが、1.0 程度の抵抗性を示した品種数はやや多かった。指標品種の「嘉平」と「戦捷」はそれぞれ 0.5, 3.5 であった。

RFLP 座の遺伝子型といもち病圃場抵抗性程度の関連

RFLP 座の遺伝子型といもち病圃場抵抗性程度の関連を評価した。これらの解析結果を Table 4 に示す。G271-

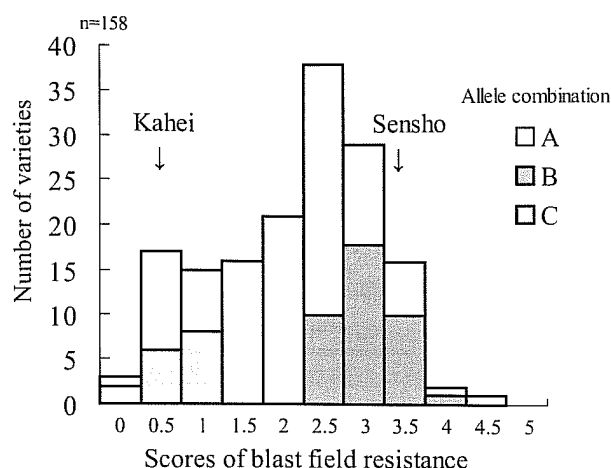


Fig. 8. Frequency distribution of the scores for blast field resistance in Japanese upland rice varieties. The scores of the variety Kahei and Sensho are indicated by arrows. Allele combination A; varieties in which allele combination B and C were excluded. B denotes the varieties with the C600-a and G271-a alleles. C denotes the varieties with the C600-c and G271-b alleles.

a を持つ品種群のいもち病圃場抵抗性程度の平均は 2.37 で、G271-b を持つ品種群の平均である 1.68 とは有意差 (F 値 = 21.44, $p = 7.67 \times 10^{-6}$) が認められた (Table 5)。

Table 5. Mean scores of blast field resistance for varieties with common alleles and allele combinations except for one variety

Allele (combination) ^{a)}	No. of varieties ^{b)}	Mean	S.D.
C600-a	50	2.81	0.56
C600-b	72	2.20	0.64
C600-c	35	0.69	0.53
G271-a	85	2.37	1.02
G271-b	72	1.68	0.80
C600-a + G271-a	40	2.98	0.43
C600-a + G271-b	10	2.10	0.49
C600-b + G271-a	26	2.59	0.54
C600-b + G271-b	46	1.99	0.59
C600-c + G271-a	19	0.78	0.66
C600-c + G271-b	16	0.58	0.33

^{a)} Assigned allele at both C600 and G271 loci.

^{b)} Observed number of varieties that harbored each of the represented alleles

C600 座については、C600-a を持つ品種群の平均は 2.81, C600-b は 2.20, C600-c は 0.69 であり (Table 5), G271 座と同様に極めて有意 (F 値 = 134.05, $p = 1.92 \times 10^{-32}$)

であった。2つのRFLP座の対立遺伝子の組合せではC600-cとG271-bを持つ品種群の抵抗性程度が0.58と最も高かった(Table 5)。この遺伝子型を示した品種は0から1.0の範囲で分布していた(Fig. 8)。次いで抵抗性程度の高かったのはC600-cとG271-aの組合せであり、抵抗性程度の平均は0.78で、最も強い組合せとの間で統計的

な有意差は見いだされなかった(Table 6)。一方最も弱い対立遺伝子の組合せはC600-aとG271-aを持つ品種群であり、抵抗性程度は2.98で、品種の分布は2.5から4.5の範囲であった(Fig. 8)。最も強い組合せと最も弱い組合せの間には0.1%水準で有意差が認められた(Table 6)。

Table 6. Difference in the mean scores of blast field resistance based on allele combinations linked to the QTL for blast field resistance

Allele combination (b)	Allele combination (a)					
	C600-a + G271-a	C600-a + G271-b	C600-b + G271-a	C600-b + G271-b	C600-c + G271-a	C600-c + G271-b
C600-a + G271-a	—	—	—	—	—	—
C600-a + G271-b	0.88 ***	—	—	—	—	—
C600-b + G271-a	0.40 **	-0.49 *	—	—	—	—
C600-b + G271-b	1.00 ***	0.12	0.61 ***	—	—	—
C600-c + G271-a	2.21 ***	1.32 ***	1.81 ***	1.20 ***	—	—
C600-c + G271-b	2.40 ***	1.52 ***	2.01 ***	1.40 ***	0.20	—

Difference in mean score; allele combination (a) - allele combination (b). *, **, ***; level of significance of the genotype effect based on Fisher's Protected Least Significant Differences, 5%, 1%, 0.1%, respectively.

考察

日本の在来陸稲の第4染色体における2つの遺伝子座といもち病圃場抵抗性程度の関連を知るために、第4染色体上のいもち病圃場抵抗性に関与するQTLに強く連鎖したRFLPマーカーによる解析と葉いもち検定による抵抗性の評価を行った。2つのRFLPマーカーおよび陸稲158品種の解析の結果では、「山稈禾」を除いて陸稲は6つの品種群に分類された。「嘉平」の最も強い作用を示すQTLである*qBFR4-1*に強く連鎖したC600は、3つの対立遺伝子から成る複対立遺伝子座であることが示唆され、対立遺伝子間の抵抗性程度は統計的に極めて有意な差が認められた。同様に*qBFR4-2*に連鎖したRFLPマーカーG271による解析でも対立遺伝子間で有意な差が認められた。これらの結果は、今回使用したRFLPマーカーとQTLの作用を示す遺伝子とは共通の起源由来であり、またそれらは極近傍にあるため、圃場抵抗性遺伝子の複対立性を十分反映していることを示唆している。そのため、G271とC600による解析で効率的に日本在来陸稲の圃場抵抗性程度を推定できることが明らかとなった。その一方で、これら2つの遺伝子座で全く異なる断片長を示した「山稈禾」は、いもち病圃場抵抗性程度が極強であることを考慮すると、これら2つの遺伝子座に

ついて、他の陸稲とは異なる新たな圃場抵抗性遺伝子を持っている可能性が示唆された。

加藤ら(2002)は陸稲「戦捷」より第4染色体上にいもち病圃場抵抗性に関する2つのQTLを検出した。最も効果的なQTLはRFLPマーカーG271に連鎖しており、2番目に効果的なQTLはG177の近傍に見いだされた。G177はC600とは2～3cMの距離にある(Kurata *et al.* 1994)。そのため、今回供試したRFLPマーカーは「嘉平」より同定されたものであるが、「戦捷」およびその他の陸稲でも有用であることが示された。さらに本研究で見いだされたRFLPマーカーは複対立性を示すため、単一のDNAマーカーで第4染色体上のいもち病圃場抵抗性に関する複対立遺伝子を区別することが可能だと思われる。

篠田ら(1971)は陸稲「黒禾」のいもち病圃場抵抗性に関与した染色体領域を推定しており、第4染色体と第12染色体に座乗する3つ以上の遺伝子により支配されていると報告している。今回の解析で「黒禾」はC600-cおよびG271-aを持つことが示され、「黒禾」の抵抗性の主要な部分はC600-cに連鎖した*qBFR4-1*によるものと考えられた。今回の解析では考慮に入れなかった第12染色体については、「嘉平」と「コシヒカリ」の組合せによるQTL解析では検出されなかった(Miyamoto *et al.*

2001) ものの, 「戦捷」での解析では作用力の小さな QTL が検出されている (加藤ら 2002). 以上の結果をまとめると, G271 と C600 を用いた RFLP 解析は, 日本在来陸稲のいもち病圃場抵抗性程度を推定するのに適したマーカーであり, その中で「嘉平」の遺伝子型である G271-b と C600-c は圃場抵抗性について最も効果的な組合せであることが示された.

イネの抵抗性育種を考えた場合, 複数の真性抵抗性遺伝子を利用したマルチラインで示唆されているように, 複数の遺伝子利用は抵抗性を安定化させることが示されている. 陸稲の圃場抵抗性遺伝子を利用してマルチラインの育成を考えた場合, 主要な抵抗性を示す遺伝子は第 4 染色体の 2 つの遺伝子座に座乗しているため, マーカー選抜は非常に容易である. また, 今回解析した 2 つの RFLP 座の双方で特異的な断片長を示した「山稈禾」についてはいもち病圃場抵抗性について新規の遺伝子である可能性が示唆され, 今後の解析が望まれる.

総合考察

いもち病抵抗性については多くの研究がなされており, 遺伝学的研究に基づいた抵抗性品種が数多く育成された. 真性抵抗性遺伝子については 1970 年代までに日本水稲, 外国稲及び支那稲由来のものについて多くの遺伝学的な解析がなされ, *Pik* を導入した「クサブエ」, *Pia*, *Pii*, *Pik*, *Pib* をもつ「ハマアサヒ」等, 多数の品種が育成されている. さらに現在では, 抵抗性の崩壊を避けるため真性抵抗性遺伝子単独での利用よりも, 複数の抵抗性遺伝子を持つ集積品種, 抵抗性遺伝子の異なる複数の系統より成るマルチライン (多系品種) 及び圃場抵抗性との組合せによる抵抗性品種が注目されている. この中では, マルチラインが最も実用化に近いと思われる (Kojima *et al.* 2002, Hasegawa *et al.* 2002). 一方, これらの抵抗性品種の育成を試みる場合に, 従来の選抜方法では困難な場合がある. 特に真性抵抗性と圃場抵抗性との組合せを育種目標とする場合では, 系統および集団が特別な真性抵抗性遺伝子を保持していると, 圃場抵抗性の程度に関係なく抵抗性強と判定されてしまう. 集積品種及びマルチラインについても, 導入する真性抵抗性遺伝子に親和性の菌の探索が必要とされる. ここで, 分子マーカーは

これらの問題を解決する手法と考えられ, 本研究ではいもち病圃場抵抗性遺伝子について分子マーカーを同定し, MAS (Marker-assisted selection) による抵抗性育種のための基礎的な知見を見いだした.

1. いもち病圃場抵抗性遺伝子について

日本の在来陸稲にはいもち病圃場抵抗性の極めて強い品種があり, これらの抵抗性の水稲への導入は広く望まれるものであった. しかし, 陸稲には悪劣形質が多く, しかも圃場抵抗性は複数の遺伝子により支配されていることから, 水稲への導入は容易ではなかった. 本研究では陸稲の中でも圃場抵抗性の強い品種である「嘉平」について, 水稲「コシヒカリ」と交配し, その後代から, 圃場抵抗性に関する QTL を同定した. 特に第 4 染色体に座乗する *qBFR4-1* と *qBFR4-2* は作用力が非常に高く, いずれも真性抵抗性の作用に匹敵するものであった. Fukuoka and Okuno (2001) や加藤ら (2002) は, 「オワリハタモチ」および「戦捷」のいもち病圃場抵抗性に関する QTL が, 嘉平の QTL の極近傍に位置することを見いだしている. 「嘉平」と「オワリハタモチ」および「戦捷」の QTL が同じ遺伝子座であるか, 極近傍に存在する異なる遺伝子座であるかは, 現在のところ実験的に明らかではない. しかしながら, 本研究の第 4 章の結果では, 同じ遺伝子座にある異なる対立遺伝子であることを示唆し, *qBFR4-1* については「山稈禾」を含めて 4 つ, *qBFR4-2* については「山稈禾」を含めて 3 つの対立遺伝子の存在が示唆された. いもち病真性抵抗性遺伝子については *Pik*, *Pik-m*, *Pik-p*, *Pik-s* 及び *Pik-h*, *Pita* と *Pita-2*, *Piz* と *Piz-t* はそれぞれ複対立遺伝子とされており, 圃場抵抗性遺伝子についても, 同様の可能性が示された. 特に *qBFR4-1* と *qBFR4-2* の複対立遺伝子については, それぞれ単一の DNA マーカーにより区別することが可能であり, MAS を行う上では選抜が簡易である. しかし圃場抵抗性が崩壊しないという保証はなく, 「中国 31 号」から見いだされた *Pif* はレースに対する特異性が認められており (鳥山ら 1968), 「越南 108 号」(井上ら 1987), 「ふ系 138 号」(三上ら 1990) のような 1 個の主働遺伝子による圃場抵抗性の場合も崩壊の可能性を否定できない. また, 育成系譜上に陸稲を持つ水稲「中部 32 号」はいもち病圃場抵抗性が強いものの, 罹病性のいもち病菌

が見出されている（小泉・藤 1995）。その一方で、陸稲はいもち病の発生に好適な畑状態で長く栽培されているのにもかかわらず、いわゆる抵抗性の崩壊は報告されていない。このことは、圃場抵抗性の構成する遺伝子の作用力が高い場合でも、全体としては複数の遺伝子による抵抗性として発現しているため、安定した抵抗性となっていることを示唆している。

2. いもち病真性抵抗性遺伝子および圃場抵抗性遺伝子利用による抵抗性品種の育成

抵抗性品種の罹病化への対策として、マルチラインの育成のほかに、圃場抵抗性の利用、多遺伝子品種の栽培、単遺伝子品種の展開栽培、単遺伝子品種の交替栽培、真性抵抗性と圃場抵抗性の組合せが考えられている（清沢 1982）。これらのうちどれが最も病害防除効果があるか、あるいは実用上優れているかは実験的な研究が少なく、現在のところ明らかではない。しかし、先に述べたように、いもち病真性抵抗性を導入した品種は、その多くが抵抗性の崩壊を示した（Kiyosawa 1982）。最も多くの抵抗性遺伝子（*Pia*, *Pii*, *Pik*, *Pib*）を持つ「ハマサヒ」についても罹病化を防ぐことができなかった（Kiyosawa *et al.* 1984）。真性抵抗性品種の罹病化の要因として、圃場抵抗性が弱まってしまうことが原因の一つともされている。真性抵抗性遺伝子を取り込むことにより圃場抵抗性の低下する現象はジャガイモで見出されており、Vertifolia effect（van der Plank 1963）と呼ばれている。その原因として、真性抵抗性のみで選抜されているため、圃場抵抗性を育成の過程で失ってしまうことや、真性抵抗性遺伝子自身が圃場抵抗性を低下させる効果を持つことなどが考えられた。浅賀・吉村（1969）によると、*Pia*, *Pik* について、雑種後代を育成し、真性抵抗性について可能な組合せ、*PiaPik*, *Pia+*, *+Pik*, *++* の系統群間に圃場抵抗性の差を認めなかった。また本研究の圃場抵抗性の解析に使用した「嘉平」は *Pia* を持つが、その QTL 解析において、*Pia* の座乗する第 6 染色体上には、圃場抵抗性に関して、抵抗性を強くするあるいは弱くする因子等は見出されなかった。これらの結果は、嘉平/コシヒカリの集団では真性抵抗性遺伝子自身は圃場抵抗性に影響はない、あるいはあったとしても、検出されうるものではないことを示している。これらの結果

より、ジャガイモで見出された Vertifolia effect について、イネといもち病の関係では、選抜の過程で圃場抵抗性を失ってしまうことが主な要因ではないかと考えられる。現在のところ、コシヒカリマルチライン（Hasegawa *et al.* 2002, Kojima *et al.* 2002）については普及の段階にまで来ているが、このこれらを構成する系統は全ていもち病真性抵抗性遺伝子を利用したものである。今後、圃場抵抗性遺伝子についても、遺伝学的解析および母本の育成が進めば、マルチラインの構成遺伝子としての利用が期待される。圃場抵抗性と真性抵抗性の組合せを行う場合、従来の選抜法では欠落することの多かった圃場抵抗性についても、MAS であれば、確実に選抜できること、さらに、日本在来陸稲由来の圃場抵抗性については、少数の遺伝子により抵抗性の大部分が支配されているため、MAS を行う上でも、効率的に抵抗性を向上させることが可能である。

摘 要

いもち病は日本のみならず、世界の温帯地域において最も重要な病害であり、抵抗性品種の育成は最も効果的な防除方法である。イネのいもち病抵抗性は遺伝的な様式の違いから真性抵抗性と圃場抵抗性に分けられる。真性抵抗性はいもち病菌のレースに対し特異性を示し、多くの品種の抵抗性は普及後間もなく崩壊した。そのため、その後のいもち病抵抗性育種は、圃場抵抗性の利用が進められた。一方で、圃場抵抗性のみでは抵抗性が充分でないこともあり、真性抵抗性との組合せによる抵抗性の向上が試みられている。本研究では圃場抵抗性遺伝子について連鎖解析を行い、以下のような点を明らかにした。

- 1) 日本在来陸稲品種について、従来いもち病圃場抵抗性について多くの研究のなされている「戦捷」とは遠縁の品種を見出す目的で、RFLP によるクラスター解析を行った。その結果、日本在来陸稲は、日本型水稻の「日本晴」とは非常に近縁であることが示された。供試した陸稲品種は 4 つのサブクラスターに分類されることが示唆され、「戦捷」とはやや遠縁で、いもち病圃場抵抗性程度が極強である品種「嘉平」を見出した。
- 2) いもち病圃場抵抗性極強である陸稲「嘉平」より、同

形質に関する QTL を同定した。これらの QTL, *qBFR4-1* と *qBFR4-2* は第 4 染色体に座乗し, *qBFR4-1* の F_3 世代での全表現型分散に対する寄与率が 61.6%, 多因子モデルの QTL 解析による *qBFR4-1* と *qBFR4-2* の寄与率は 71.4% であった。これにより, 「嘉平」のいもち病圃場抵抗性の大部分は, 第 4 染色体上に同定された 2 つの QTL に支配されていることが示唆された。また, 著名な陸稲品種である「戦捷」より同定された QTL と染色体上での位置はほとんど同じであったが, 相対的な作用力の程度が異なるため, 新たな対立遺伝子であることが示唆された。

- 3) 「嘉平」より同定された QTL である *qBFR4-1*, *qBFR4-2* および第 11 染色体に座乗する QTL について, 二元配置の分散分析により相互作用の有無を検討した。その結果は *qBFR4-1* と *qBFR4-2*, *qBFR4-1* と第 11 染色体の QTL および *qBFR4-2* と第 11 染色体の QTL のそれぞれの間に相互作用は見出されず, これらの QTL を単独で NIL 化する際に, F_3/F_3 世代の結果から期待される作用力は維持されることが示唆された。
- 4) 第 4 染色体に座乗する *qBFR4-1* と *qBFR4-2* のそれぞれの近傍 RFLP マーカーを用い, 陸稲在来品種の解析を行ったところ, 使用した 2 つの RFLP マーカーにより陸稲を品種群に分けることができた。*qBFR4-1* に強く連鎖した C600 座については主に 3 つの対立遺伝子を見出した。これらは C600-a, C600-b, C600-c として区別した。いもち病圃場抵抗性程度はそれぞれ 2.81, 2.20, 0.69 で, これらの間には統計的に極めて有意な差が認められた。*qBFR4-2* に強く連鎖した G271 座については主に 2 つの対立遺伝子を見出した。これらは G271-a, G271-b として区別し, いもち病圃場抵抗性程度はそれぞれ 2.37, 1.68 であった。これらの間にも統計的に極めて有意な差がみられた。これらの遺伝子型の組合せより 6 つの品種群に分類し, 各品種群間でのいもち病圃場抵抗性程度は, 統計的に非常に有意な差が認められた。これは先に RFLP により分類した品種群間で, 確かに対立遺伝子が異なることを示唆している。また, 6) で同定した「嘉平」の第 4 染色体に座乗する QTL の対立遺伝子である c600-c と G271-b が陸稲在来品種中で最も強い作用を示す対立遺伝子であることも示唆された。さらに, 陸稲「山稈禾」は C600 座,

G271 座とも他の陸稲品種とは異なるパターンを示しており, この品種のいもち病圃場抵抗性程度が極強であることを考え合わせると, 新たないもち病圃場抵抗性に関する遺伝資源であることが示唆された。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり, 懇切なご指導とご鞭撻及び校閲をいただいた東京農工大学寺岡 徹教授に心より感謝の意を表す。宇都宮大学農学部奥田誠一教授, 夏秋知英教授, 茨城大学農学部阿久津克己教授, 東京農工大学有江 力助教授には本論文について多大なる御助言と校閲をしていただいた。独立行政法人農業生物資源研究所岡 成美新生物資源創出研究グループ長には本論文に関する貴重なご助言および校閲を賜った。同研究所矢野昌裕応用遺伝研究グループ長にはいもち病圃場抵抗性の解析に関して, 多くの御助言をいただいた。深く感謝の意を表す。さらに, 元茨城県農業総合センター生物工学研究所所長西村繁夫博士 (現筑波大学教授), 元普通作育種研究室陸稲育種指定試験地主任根本 博博士 (現独立行政法人作物研究所研究交流科長), 普通作育種研究室長平澤秀雄氏, 普通作育種研究室陸稲育種グループの平山正賢氏, 岡本和之氏には研究推進にあたり, 多大な協力をいただいた。生物工学研究所臨時職員の河和田由美さん, 岡本 (林) 香織さん, 美山 (綿引) 洋美さん, 木村真由美さんらの補助がなければ本研究は進められなかったものと思われる。実験材料の管理・養成には茨城県農業総合センター農業研究所管理課 (生物工学研究所兼務) 職員に多大な協力をいただいた。

ここに記して, これらの方々に心からの感謝を捧げる次第である。

引用文献

- 阿部祥治・清沢茂久・小野信一 (1974) 陸稲のいもち病抵抗性の遺伝に関する研究. 第 1 報. 陸稲農林稲 4 号のいもち病抵抗性の遺伝. 茨城農試研報 15: 47-64.
- 阿部祥治・須賀立夫・小野信一 (1976) 陸稲のいもち

- 病抵抗性の遺伝に関する研究. 第3報. 陸稲品種のいもち病真性抵抗性遺伝子の推定. 茨城農試研報 17: 77-82.
- 浅賀宏一・吉村彰治 (1969) いもち病に対するイネ姉妹系統の圃場抵抗性 (その1). 日植病報 35: 100.
- Bonman, J.M. (1992) Durable resistance to rice blast disease-environmental influences. *Euphytica* 63: 115-123.
- Browning, J.A. and K.J. Frey (1969) Multiline cultivars as a means of disease control. *Phytopath.* 7: 355-382.
- Causse, M.A., T.M. Pulton, Y.G. Cho, S.N. Ahn, J. Chunwongse, K. Wu, J. Xiao, Z. Yu, P.C. Ronald, S.E. Harrington, G. Second, S.R. McCouch and S. D. Tanksley (1994) Saturated molecular map of the rice genome based on interspecific backcross population. *Genetics*. 138: 1251-1274.
- 江塚昭典・柚木利文・桜井義郎・篠田治躬・鳥山国士 (1969) いもち病に対するイネ品種の抵抗性に関する研究. (第2報). 本田および畑苗代におけるほ場抵抗性の検定. 中国農試報 E-4: 33-53.
- Flor, H.H. (1954) Identification of races of flax rust by lines with single rust-conditioning genes. *USDA Tech. Bull.* 1087: 25.
- Flor, H.H. (1955) Host-parasite interaction in flax rust: its genetics and other implications. *Adv. Genetics* 8: 29-54.
- Fukuoka, S. and K. Okuno (2001) QTL analysis and mapping of *pi21*, a recessive gene for field resistance to rice blast in Japanese upland rice. *Theor. Appl. Genetics* 103: 185-190.
- 古田力・日野稔彦 (1967) 中国地域におけるシナ稻系品種千秋楽のいもち病発生事例. 中国農研報 37:3-5.
- Goto, I (1978) Genetic studies on resistance of rice plant to blast fungus III. Decline in the blast resistance of Ginga, a descendant variety of Sensho. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 44: 447-455.
- Harushima, Y., M. Yano, A. Shomura, M. Sato, T. Shimano, Y. Kuboki, T. Yamamoto, S-Y. Lin, B. A. Antonio, A. Parco, H. Kajiya, N. Huang, K. Yamamoto, Y. Nagamura, N. Kurata, G.S. Khush and T. Sasaki (1998) A high density rice genetic linkage map with 2275 markers using a single F_2 population. *Genetics* 148: 479-494.
- Hasegawa, R., T. Hori, K. Ishikawa, H. Kasaneyaama and T. Hoshi (2002) Rice blast control with Koshihikari multilines in Niigata prefecture. 3rd IRBC abstract p61.
- 東正昭 (1995) イネのいもち病圃場抵抗性の遺伝様式. 東北農試研報 90:19-75.
- 平野哲也 (1980) 日本在来品種利用による育種. “稲のいもち病と抵抗性育種” 山崎義人・高坂卓爾編著, 博友社, 東京 15-25.
- 井上正勝・斉藤滋・池田良一 (1987) 越南 108 号におけるいもち病圃場抵抗性の遺伝分析. 育種 37 (別2): 300-301.
- 石川隆二 (1994) イネのアイソザイムに関する遺伝育種学的研究. 弘前大学農学部学術報告 57:105-180.
- 伊藤隆二・橋爪厚・小野敏忠・櫛渕欣也・根岸節郎・岩井孝・谷口普・香山俊秋 (1961) 水稻品種「クサブエ」について. 関東東山農試報 18:23-33.
- 伊藤隆二 (1967) いもち病抵抗性品種の罹病化とその育種の対策 育種学最近の進歩 8:61-66.
- 加藤恭宏・遠藤征馬・矢野昌裕・佐々木卓治・井上正勝・工藤悟 (2002) 陸稲の葉いもち圃場抵抗性に関与する量的形質遺伝子座の連鎖解析. 育種学研究 4:119-124.
- Kiyosawa, S. S. Matsumoto and S.C. Lee (1967) Inheritance of resistance of rice variety Norin 22 to two blast fungus strains. *Jpn. J. Breed.* 17: 1-6.
- Kiyosawa, S. (1970) Inheritance of blast resistance of the rice varieties Homare Nishiki and Ginga. *Bull. Nat. Inst. Agr. Sci.* D23:73-105
- 清沢茂久 (1982) 今後の病害抵抗性育種と関連する諸問題. 農業技術 37:444-448, 500-505, 538-542, 38:20-24.
- Kiyosawa, S. (1982) Genetic and epidemiological modeling of breakdown of plant disease resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.* 20: 93-117.
- Kiyosawa, S., K. Shinoda and Y. Ohta (1984) Tests for pathogenicity of blast fungus isolates collected from the rice variety, Hama Asahi in Aomori Prefecture. *Japan. J. Breed.* 34: 485-489.

- Klami, Y.Y. and C.O. Qualset (1973) Genetics of heading time in wheat (*Triticum aestivum* L.). I. The inheritance of photoperiodic response. *Genetics* 74: 139-156.
- 小泉信三 (1983a) イネいもち病菌のレース対策としての多系品種利用の可能性と問題点 (1). 植物防疫 37:477-480.
- 小泉信三 (1983b) イネいもち病菌のレース対策としての多系品種利用の可能性と問題点 (2). 植物防疫 37:548-551.
- 小泉信三・藤晋一 (1995) 水稻「中部 32 号」の葉いもちほ場抵抗性のいもち病菌菌株による変動. 愛知農総試研報 27: 85-93.
- Kojima, Y, T. Ebitani, Y. Yamamoto and T. Nagamine (2002) Development and utilization of isogenic lines, Koshihikari Toyama BL with blast resistance genes on genetic background of japonica rice variety, "Koshihikari" 3rd IRBC abstract p61.
- Kurata, N., Y. Nagamura, K. Yamamoto, Y. Harushima, N. Suc, J. Wu, B. A. Antonio, A. Shomura, T. Shimizu, S-Y. Lin, T. Inoue, A. Fukuda, T. Shimano, Y. Kuboki, T. Toyama, Y. Miyamoto, T. Kirihara, K. Hayasaka, A. Miyao, L. Monna, H. S. Zhong, Y. Tamura, Z. -X. Wang, T. Momma, Y. Umehara, M. Yano, T. Sasaki and Y. Minobe (1994) A 300 kilobase interval genetic map of rice including 883 expressed sequences. *Nature Genetics* 8:365-732.
- Lincoln, S., M. Daly and E. Lander (1992a) Constructing genetic maps with MAPMAKER/EXE3.0. Whitehead Institute Technical Report. 3rd edition. Massachusetts.
- Lincoln, S., M. Daly and E. Lander (1992b) Mapping genes controlling quantitative traits with MAPMAKER/QTL 1.1. Whitehead Institute Technical Report. 2nd Edition. Massachusetts.
- Mackill D.J. (1995) Classifying *japonica* rice cultivars with RAPD markers. *Crop Sci.* 35: 889-894.
- Mansur, L.M., A.L. Carriquiry and A.P. Rao-Arelli (1993) Generation mean analysis of resistance to race 3 of soybean cyst nematode. *Crop Sci.* 33: 1249-1253.
- 丸山清明・菊池文雄・横尾政雄 (1983) 陸稲農林糯 4 号の葉いもち圃場抵抗性の遺伝分析ならびに育種的利用. 農技研報 D35:1-31.
- 松本定利・岩城寛・豊田文雄・西尾善重・青木満・手塚徳弥・片山栄助・滝田泰章・齊藤浩一 (1965) 栃木県における水稻クサブエのいもち病発生について. 関東東山病虫研報 12:9.
- 松尾孝嶺 (1952) 稲栽培に関する種生態学的研究. 農技研報 D3: 1-112.
- 三上泰正・川村陽一・堀末登 (1990) ふ系 138 号のいもち病抵抗性について. 日作東北支部報 33:87-88.
- Miyamoto, M., I. Ando, K. Rybka, O. Kodama and S. Kawasaki (1996) High resolution mapping of the *indica* derived rice blast resistance genes. I. *Pi-b*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 9: 6-13.
- Miyamoto, M., M. Yano and H. Hirasawa (2001) Mapping of quantitative trait loci conferring blast field resistance in the Japanese upland rice variety Kahei. *Breed. Sci.* 51: 257-261.
- Miyamoto, M. and H. Hirasawa (2003) Relationship between RFLP loci with different alleles on chromosome 4 and the levels of blast field resistance in Japanese upland rice varieties. *Breed. Sci.* 53: 1-5.
- 森元 武 (1980) 中国陸稲戦捷利用による育種. "稲のいもち病と抵抗性育種" 山崎義人・高坂卓爾編著, 博友社, 東京. 15-25.
- Murray, M.G. and W.F. Thompson (1980) Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Res.* 8: 4321-4325.
- Nei, M. and W.H. Li (1979) Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 76: 5269-5273.
- 岡彦一 (1953) 稲品種間の各種形質の変異とその組合せ. 1. 栽培稲の系統発生的分化 第 1 報. 育種学雑誌 31:33-43.
- 小野敏忠 (1973) 日本在来陸稲の来歴について. 育種学雑誌 3:207-211.
- 奥津善章・古河義昭・石原正敏・須賀立夫 (1984) 陸稲のいもち病抵抗性の遺伝に関する研究. 第 4 報 微動遺伝子の集積による圃場抵抗性向上の可能性について. 茨城農試研報 24:17-24.

- Rohlf, F.J. (1997) NTSYS-PC Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Ver. 2.00. Applied Biostatistics Inc. N.Y.
- Rybka, K., M. Miyamoto, I. Ando, A. Saito and S. Kawasaki (1997) High resolution mapping of the *indica* derived rice blast resistance genes II. *Pi-ta2* and *Pi-ta* and a consideration of their origin. Mol. Plant-Microbe Interact. 10: 517-524.
- Saito, A., M. Yano, N. Kishimoto, M. Nakagahara, M. Yoshimura, A. Yoshimura, K. Saito, S. Kuhara, Y. Ukai, M. Kawase, T. Nagamine, S. Yoshimura, O. Ideta, R. Ohsawa, Y. Hayano, N. Iwata and M. Sugiura (1991) Linkage map of restriction fragment length polymorphism loci in rice Jpn. J. Breed. 41: 665-670.
- 佐本四郎・大内邦夫 (1968) いもち病耐病性の高度化に関する研究 北海道農試報告 73:1-61
- 佐々木林太郎 (1922) 稲熱病に対する抵抗性の遺伝について. 遺伝学雑誌 1:81-85
- 篠田治躬・鳥山國士・柚木利文・江塚昭典・桜井義郎 (1971) いもち病に対するイネ品種の抵抗性に関する研究 (第6報) いもち病抵抗性遺伝子の連鎖群 中国農試研報 A20:1-25.
- Singh, G., G.S. Bhullar and K.S. Gill (1986) Genetic control of grain yield and its related traits in bread wheat. Theor. Appl. Genet. 72: 536-540.
- Song, W.-Y., Wang, G.-L., Chen, L.-L., Kim H.-S., Pi, L.-Y., Holsten, T., Gardner, J., Wang, B., Zhai W.-X., Zhu, L.-H., Fauquet, C. and Ronald P. (1995) A receptor kinase-like protein encoded by the rice disease resistance gene, *Xa21*. Science 270. 1804-1806.
- Sorrells, M.E. and W. A. Wilson (1997) Direct classification and selection of superior alleles for crop improvement. Crop Sci. 37: 691-697.
- Thomas, W.T.B. and C.R. Tapsell (1985) Cross prediction studies on spring barley. 3. Correlations between characters. Theor. Appl. Genet. 71: 550-555.
- 鳥山國士・蓬原雄三・和田純二 (1963) 水稻新品種「シモキタ」について. 青森農試報 4:1-9.
- 鳥山國士・仮谷桂・鷲尾養・坂本敏・山本隆一・篠田治躬 (1968) 水稻品種「サトミノリ」および「アキジ」の育成について. 中国農試報告 A16:1-18.
- 鳥山國士, 柚木利文, 篠田治躬 (1968) いもち病抵抗性品種の育成に関する研究. II. 中国 31 号に見出された高度ほ場抵抗性の遺伝. 育種 18 (別 1) :145-146.
- 角田重三郎 (1975) 日本陸稲品種の系統分類. 育種学雑誌 25: 121-131.
- 角田重三郎 (1987) アジアの陸稲, その分布と特性と系譜. 東南アジア研究, 25:39-50.
- 鶴飼保雄 (2002) エピスタシス “量的形質の遺伝解析” 医学出版, 東京. 149-172.
- van der Plank, J E. (1963) Plant diseases: Epidemics and control. Academic Press, New York and London. p206.
- Wade, M.J. (1992) Epistasis. In: Keywords in evolutionary biology. 87-91. Harvard Univ. Press. Cambridge, Massachusetts. p414.
- Wang, G., D.J. Mackill, J.M. Bonman, S.R. McCouch, M.C. Champoux and R.J. Nelson (1994) RFLP mapping of genes conferring complete and partial resistance to blast in a durably resistant cultivar. Genetics 136: 1421-1434.
- Wang, Z.X., M. Yano, U. Yamanouchi, M. Iwamoto, L. Monna, H. Hayasaka, Y. Katayose and T. Sasaki (1999) The *Pib* gene for rice blast resistance belongs to the nucleotide binding and leucine-rich repeat class of plant disease resistance genes. Plant J. 19:55-64.
- 山口彦之・木村定雄 (1958) 日本陸稲在来種の若干形質の品種間変異について. 育種 7:241-246.
- 山崎義人・清沢茂久 (1966) イネのいもち病抵抗性の遺伝に関する研究 I. いもち病菌の数種の系統に対する日本稲品種の抵抗性の遺伝. 農技研報 D14:39-69.
- 山田昌男 (1965) 外国稲系高度いもち病抵抗性品種の発病. 植物防疫 19:231-234.
- 柳井久江 (1998) 2 要因で分類される多群の差の検定. 多重比較. “4steps エクセル統計” OMS 出版, 埼玉. 135-162.
- Yano, M. and T. Sasaki (1997) Genetic and molecular dissection of quantitative traits in rice. Plant Mol. Biol. 35: 145-153.
- Yoshimura, S., Yamanouchi, U., Katayose, Y., Toki, S., Wang, Z.X., Kono, I., Kurata, N., Yano, M., Iwata, N. and

- Sasaki, T. (1998) Expression of *Xa1*, a bacterial blight-resistance gene in rice, is induced by bacterial inoculation. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 95: 1663-1998.
- Yu, L.X. and H.T. Nguyen (1994) Genetic variation detected with RAPD markers among upland and lowland rice cultivars (*Oryza sativa* L). Theor. Appl. Genet. 87: 668-672.
- Zenbayashi, K., T. Ashizawa, T. Tani and S. Koizumi (2002) Mapping of the QTL (quantitative trait locus) conferring partial resistance to leaf blast resistance in rice cultivar Chubu32. Theor. Appl. Genet. 104: 547-552

Genetic studies on field resistance of rice to blast disease

Masaru Miyamoto

*Agricultural Research Institute, Ibaraki Agricultural Center,
Ryugasaki, Ibaraki, 301-0816, Japan*

Summary

Rice blast, caused by the fungus, *Magnaporthe grisea*, is the most severe rice disease in Japan and many other temperate regions. The most effective strategy to control this disease is to use the resistant cultivars to it. From conventional genetic studies on blast resistance, two modes of resistance were identified. One is complete resistance caused by race-specific, single major genes. The other is quantitative (partial or field resistance) caused by the combination of genes with major and minor effects.

In this thesis, field resistance genes were genetically analyzed and investigated followings.

(1) To identify new genetic resources for blast field resistance, cluster analysis based on RFLP were performed using Japanese upland rice cultivars. In general, a higher level of polymorphism was found between Japanese upland rice cultivars and *indica* rice "Kasalath" while fewer polymorphisms were found between Japanese upland rice cultivars and Japanese paddy cultivar "Nipponbare". A dendrogram that shows the genetic distance of 15 upland rice cultivars, "Kasalath" and "Nipponbare" was constructed based on their DNA polymorphism. Japanese upland rices were divided into four subclusters and indicated that the cultivar "Kahei" that is highly resistant was relatively distant to the eminent cultivar "Sensho". Thus, choosing "Kahei" as a resistant parental line was likely to generate new genetic resource for blast field resistance.

(2) A linkage mapping of quantitative trait loci (QTLs) for blast field resistance using F_2 plants/ F_3 progenies derived from a cross between "Kahei" and lowland cultivar "Koshihikari" was performed. Two putative QTLs on chromosome 4 were identified. *qBFR4-1* was mapped in the vicinity of RFLP marker G264 and this QTL explained about 62% of the total phenotypic variation in F_3 lines. Another QTL, *qBFR4-2* was also mapped near the RFLP marker G271 on chromosome 4. These two QTLs on chromosome 4 explained about 71% of total phenotypic variation based on the analysis of a multiple-QTL model. The high level of resistance to blast in "Kahei" was mainly explained by these two QTLs.

(3) Two-way ANOVA among *qBFR4-1*, *qBFR4-2* and QTL on chromosome 11 suggested that the interactions among them did not detect. So that effects of QTLs would be kept if the single QTL would be introgressed into different genetic background.

(4) The genetic relationship between the level of blast field resistance and putative alleles at the *qBFR4-1* and *qBFR4-2* loci was analysed using RFLP markers that are closest to each QTL and by a field test for blast resistance among Japanese upland rice cultivars. Three major RFLP alleles (C600-a, C600-b, C600-c) and two major alleles (G271-a, G271-b) were postulated based on the fragment sizes. As a result, the upland rice cultivars were divided into six varietal groups and the levels of resistance were obviously different among them. These results suggest the RFLP markers used in this study seemed to be suitable for DNA marker-assisted selection of blast field resistance in rice breeding.

In these studies, molecular markers for blast field resistance genes were identified and segregation analysis suggested these markers are useful for marker-assisted selection. Furthermore, results of this study could contribute significantly to the breeding for blast resistance cultivars using field resistance genes to rice blast.

陸稲在来品種の特性解析

岡野克紀・岡本和之・眞部徹・石井卓朗

1997 年および 2000 年～2003 年にかけて、茨城県農業総合センター生物工学研究所普通作育種研究室において保存する 289 点の陸稲在来品種の特性解析を行った。一次特性として出穂期、稈長、穂長等を評価し、二次特性として低温発芽性、耐干性、中茎伸長性を評価した。陸稲在来品種において、調査した各形質内で幅広い変異を示した。また、各形質間の相関を調査し、耐干性と玄米長、低温発芽性と出穂期、中茎伸長性と玄米長等が高い相関を示した。

キーワード：陸稲、遺伝資源、在来品種、耐干性、低温発芽性、中茎伸長性

I. 緒 言

陸稲の栽培面積は 1960 年に全国において 184,000ha と稲作面積の 6% を占めたが（根本 1995）、近年のコメの供給過剰や耕作地の園芸産地への転換、農業従事者の高齢化による耕作放棄などで急激に作付けが減少しており、現在約 5,010ha（関東農政局水戸統計・情報センター 2005）となっている。しかし、陸稲は蔬菜などの連作障害防止のため、輪作体系に組み込まれている重要な畑作物であり（小野 1977）、茨城県では農業水利に恵まれていないこともあって昔から主要作物として位置づけられてきた。

陸稲は畑栽培されてきたことから耐干性、いもち病抵抗性、直播適応性などの水稻にはない栽培上優れた形質を持ち合わせている（小野 1977）。特に在来品種は遺伝的多様性の供給源であり、これまでに陸稲在来品種「戦捷」が圃場抵抗性の遺伝資源として用いられ、水稻のいもち病抵抗性品種の改良に大きく貢献してきたことはよく知られている（東・赤間 1992）。陸稲在来品種は地域的な特徴と多様性を保持しながらそれぞれの地域で栽培されてきた。しかし、今日育種手法が進歩し、純系淘汰や交配育種によって均一的な改良品種が栽培されるようになり、多様な在来品種から少数の育成品種へと品種構成は変化し、陸稲在来品種は急速に失われつつある。

近年、遺伝資源獲得競争の激化と遺伝資源活用の可能性が高まることにより、新規の遺伝資源の確保や利用が注目されている。遺伝資源は収集するだけでなく、その特性を明らかにし、情報を育種家に提供することによってはじめて利用の可能性が開かれる。しかし、その作業は大量の材料を扱うことから、多大な労力と経費を必要とする。また、これまでにない新しい評価方法が必要になり、研究機関の連携が必要となってくる（池橋 1996）。このため、我が国では独立行政法人農業生物資源研究所ジーンバンクがセンターバンクとなって作物ごとに設置したサブバンクと協力しながら各種作物遺伝資源の収集、評価、保存、配布を行っている。茨城県農業総合センター生物工学研究所普通作育種研究室は国内唯一の陸稲育種機関として新品種の育成とともに独自に開発した耐干性や低温発芽性などの特性検定評価手法を利用して、陸稲在来品種の特性評価を行ってきた。

本研究は 1997 年および 2000 年から 2003 年にかけて、農林水産ジーンバンク事業の植物遺伝資源の特性調査委託事業として実施した。当研究室で保存する 289 点の陸稲在来品種の一次および二次特性の評価を植物遺伝資源特性評価マニュアルに従って調査した。また、その調査結果をもとに本報では育種素材として有効利用できるようデータベース化を行った。

Ⅱ. 材料および方法

1. 供試材料

本研究には茨城県農業総合センター生物工学研究所普通作育種研究室において維持、保存している陸稲在来品種の289品種を用いた。糯梗の別では梗181品種、糯108品種である。原産地は判明している175品種において、北海道から沖縄までの分布であった。地方別の内訳は北海道6品種、東北34品種、関東東山75品種、中部9品種、北陸4品種、近畿4品種、中国5品種、四国4品種、九州32品種、沖縄1品種であった。派生系統を含むと思われる同名異種が「早不知 (A,D)」、「黒芒」、「北海赤毛」、「北海早生」、「ヤカン」、「早生関取 (c,e,g)」、「江曾島糯」、「早凱旋」、「美濃糯」、「野神力糯」の10名称にて存在した。また、熊本1号といった人工交雑品種も含まれている。

2. 材料の養成

材料はすべての供試年次で5月中旬に育苗箱へ播種した。培地には粒状培土を用いた。育苗箱を板目紙で10分割に間仕切りした後に各品種約100粒播種した。播種後、粒状培土で覆土し、ベフラゾエート（商品名 ヘルシード水中和剤）500倍希釈液を水稻用育苗箱1枚あたり500ml灌注し、さらに培地が十分湿るよう灌水した。灌水後、育苗箱の上部を紙で覆い、保温式育苗機に育苗箱を静置し、30℃で48時間加温した。発芽を確認後、育苗箱の紙を外してガラス室に移動し、白色保温シート下で馴化させた。緑化後、保温シートを外した。ガラス室内温度は25℃から30℃で管理し、適宜灌水を行った。本葉5枚が展開するまで育苗を継続した。

6月中旬に茨城県水戸市上国井町の茨城県農業総合センター農業研究所12号水田圃場（表層腐植質多湿黒ボク土）に定植した。基肥は10aあたり窒素、リン酸、加里とも7kgとした。1株1本植え、各品種1条35株を株間15cm、条間30cmの並木植えとした。出穂後に異株抜きを行い、異株と疑わしき個体は除去した。栽培期間中の追肥は行わなかった。

3. 導入遺伝子の発現

調査形質は農林水産省農業生物資源研究所（現 独立行政法人農業生物資源研究所）発刊の植物遺伝資源特性評価マニュアルに準拠した。一次特性として稈長、穂長、穂数、ふ先色、籾長、籾幅、玄米長、玄米幅、梗・糯の

別、出穂期、穎色、芒の有無と多少、芒長を調査した。二次特性として耐干性、低温出芽性を調査した。加えて、暗所中における中茎伸長性を調査した。

(1) 出穂期

出穂期は定植した株の半数において、穂の一部の抽出が確認された日とした。また、栽培年次における出穂変動の誤差を除去するため、同じ水田において栽培した陸稲主要3品種のトヨハタモチ、キヨハタモチ、ゆめのはたちの同年度における出穂日の平均を基準とし、その日数差も評価した。

(2) 稈長、穂長、穂数

各品種において、稈長、穂長、穂数を調査した。調査は成熟期に中庸な5株を任意に選び行った。株元から最長稈の穂首までの長さを稈長とし、同じく最長稈の穂首から穂先端までの長さを穂長とした。穂数は遅れ穂を除いた株あたりの穂数とした。それぞれの計測値の平均を各品種における評価値とした。

(3) ふ先色、穎色

ふ先色、穎色は出穂後3週間目におけるふ先の色、穎の色とした。

(4) 籾長、籾幅、玄米長、玄米幅

籾長、籾幅、玄米長、玄米幅計測の材料として品種保存用の種子を用いた。籾長、籾幅は平均的な任意の5粒を選び、ダイヤルゲージによって計測した。玄米も同様に長さ、幅を計測し、それぞれの計測値の平均を各品種における評価値とした。

(5) 梗・糯の別

籾長等計測の材料と同じく、品種保存用の種子を用いた。約50粒の種子を一穂用籾摺器（藤原製作所）により籾を除去し、肉眼により梗・糯の別を判断した。肉眼にて判断が困難な場合はヨード・ヨードカリ反応の反応色により判断した。

(6) 芒の有無と多少、芒長

芒の有無と多少、芒長は出穂後3週間目に調査した。芒がある場合には多少を達観にて評価した。芒長は1.5cmまでを極短とし、1cm刻みに長まで評価し、それ以上を極長とした。

(7) 耐干性

茨城県農業総合センター農業研究所敷地内に設置したファイロンハウスにて栽培を行った。U字溝を埋設する

ことによって1mの有底ベッドとした。4つの有底ベッドを2つずつ処理区および対照区とした。施肥量は10aあたり窒素4.8kg、リン酸7.2kg、加里6.4kgの全量基肥とした。条間30cm、株間5cmに播種、覆土した。各品種1条7株とし、1株あたり3粒を処理区、対照区それぞれに播種した。本葉3枚が展開後、1株1本に間引きし、欠株部には補植を行った。灌水は多孔チューブを用い、処理区、対照区とも播種時に十分行い、その後は過乾燥にならないよう適宜灌水を行った。処理区について、試験に供試した品種中、最早生品種の出穂前20-25日から最晩生品種の出穂期までの間、植物体が枯死しない程度に灌水を控え、土壌を乾燥させた。乳熟期から成熟期にかけては適宜灌水した。対照区については栽培期間を通し、適宜灌水を行った。供試した材料がすべて成熟期となった時点を取穫期とした。株は地際で刈り取り、品種毎に束ね、網室内で自然乾燥させた。乾燥後、全重および籾重を計測した。耐干性の評価は干ばつ処理区の籾重と干ばつ処理区籾重/無処理区籾重比の相関図を作り、判定した。

(8) 低温発芽性

各品種25粒ずつの種子を0.25%次亜塩素酸ナトリウム水溶液に20分間浸漬し、殺菌した。滅菌水で2回すすいだ後、90×15mmシャーレ内の0.8%寒天培地に置床した。この際、胚部がシャーレ底面側になるよう寒天培地に種子を埋没させた。15℃の恒温器にシャーレ底面が上面になるよう静置し、6日後に発芽した籾数を調査した。基準品種の発芽率を基に低温発芽性の評価を行った。各品種2反復行った。

(9) 中茎伸長性

中茎伸長性の調査は勝田(1998)の報告を改変して行った。各品種10粒ずつの種子を2%次亜塩素酸ナトリウム水溶液に15分間浸漬し、滅菌した。滅菌水で2回すすいだ後、1.5mlの滅菌水の入った30×150mm試験管内に無菌播種した。試験管はアルミホイルで覆い、30℃の恒温器内で10日間、暗黒下で培養した。発芽後、伸長した中茎長を計測した。中茎は便宜的に胚基部から冠根までとした。各品種2反復行った。

(10) 相関係数の算出

各形質間の相関係数を計算するにあたり、分級評価である形質に関しては植物遺伝資源評価マニュアルに従い

数値に変換した。ふ先色については黄白-黄(1)、黄褐(2)、褐(3)、赤褐(4)、淡赤(5)、赤(6)、淡紫(7)、紫(8)、黒紫(9)とした。穎色については黄白(1)、黄(2)、黄金(3)、赤黄-橙(4)、褐-茶(5)、赤褐-褐(6)、紫(7)、黒紫(8)とした。糯・粳の別については粳(2)、糯(8)とした。芒の有無と多少については無(0)から極多(8)とした。芒長については無(0)、極短(2)から極長(8)とした。耐干性については極強(1)、強(3)から弱(7)、極弱(9)とした。低温発芽性については極高(1)、高(3)から低(7)、極低(9)とした。

Ⅲ. 結 果

1. 陸稲在来陸稲の一次特性

(1) 出穂期の変異

今回供試した陸稲在来品種は導入元が北海道から沖縄と日本各地であり、出穂期は7月20日から9月2日と広い幅を持ち(図1)、平均出穂日は8月12日であった。しかし、年次によって陸稲主要3品種の平均出穂期が8月2日から8月8日と7日間の幅があった。そこで気候の変化による年次間差を除外するため、各年における主要3品種の平均出穂期を基準とした日数差を調査したところ、13日前から29日後と出穂期自体の変異幅に差はなかったが(図2)、品種間における早晩の順位は変化した。出穂期差から早晩性をみると、基準より出穂の早い17品種のうち、北海道から導入のものが3品種を占め、その他も東北、関東の品種であった。基準より10日遅くなった晩生品種には東北から九州までと、原産地に広い地域幅が見られた。また、糯品種、粳品種とも基準からの出穂期の日数差が二群に分かれ、二群間の差は糯品種において粳品種より大きかった。

(2) 稈長の変異

供試した陸稲在来品種の稈長は52cmの「山の井」から129cmの「神力1号」、「長茎シャクセンモドシ」、「コゾ」まで77cmの変異があった(図3)。供試品種の平均稈長は93.1cmであり、90cm - 100cmを中心とした分布であった。粳糯を分け、平均稈長を調査すると粳品種が92.9cm、糯品種が93.4cmと差はなかった。しかし、糯品種の変異は70cmの「黒目糯」から111cmの「支那糯」までの41cmであり、粳品種と比較し変異が小さかった。

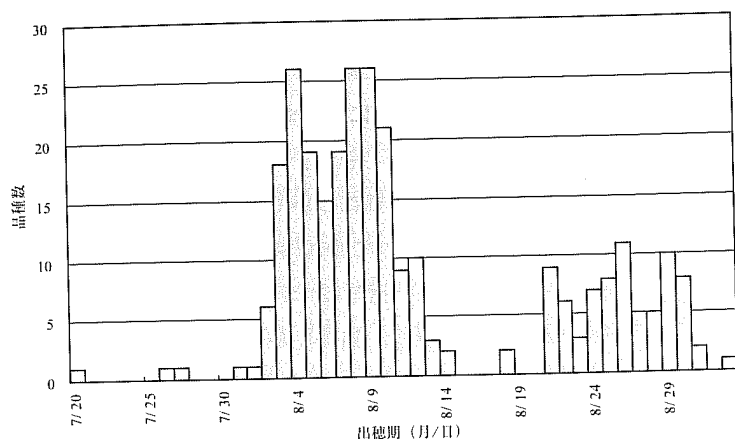


図 1. 陸稲在来品種における出穂期の分布

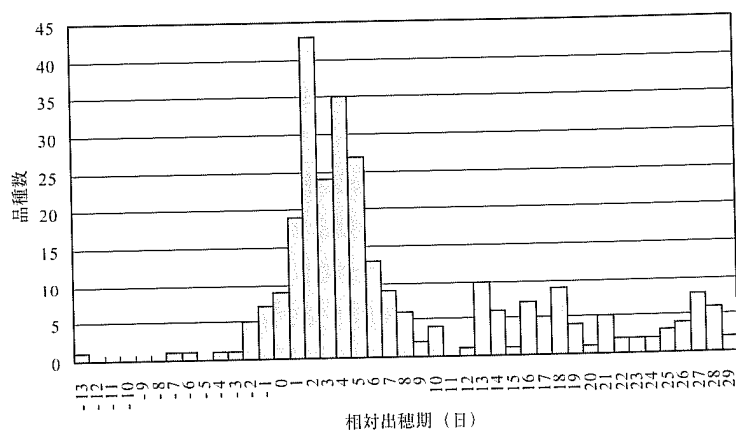


図 2. 陸稲在来品種における相対出穂期の分布
供試した品種と同年次に栽培した陸稲主要 3 品種の平均を基準とし、供試品種との出穂期の日数差を示した。

(3) 穂長の変異

穂長は 16.5cm の「改良 14 号」から 28.8cm の「夜の雪 36 号」まで 12.3cm の変異があった (図 4)。平均は梗品種が 21.2cm、糯品種が 22.6cm、全体では 21.7cm で

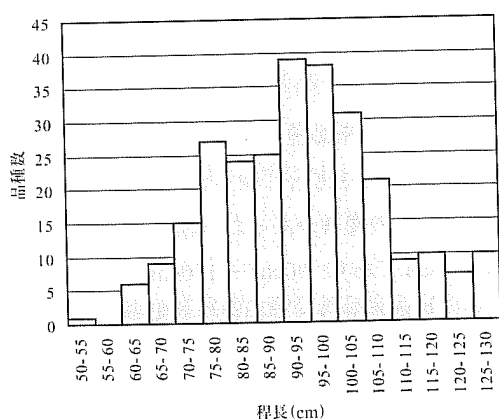


図 3. 陸稲在来品種における稈長の分布

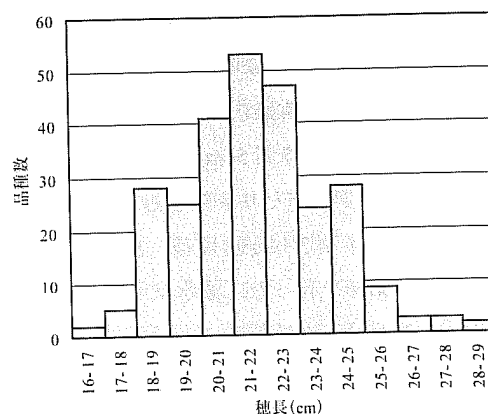


図 4. 陸稲在来品種における穂長の分布

あった。21cm を中心に分布し、供試した品種の 9 割が 18cm から 24cm の範囲に分布した。

(4) 穂数の変異

1 株あたりの平均穂数は 4.4 本の「関取」から 17.6 本の「関山」まで、約 4 倍の範囲で変異があり、全体の平均穂数は 9.7 本であった (図 5)。穂数の分布にはばらつきが大きく、6 本から 12 本の間に多くの分布が見られた。糯品種において、半数近くが未調査ではあるが、5.4 本の「アメリカ」から 11.8 本の「矢吹」まで約 2 倍の変異であり、平均穂数は 8.3 本であった。

(5) ふ先色、穎色の変異

ふ先色の分類について、供試したほぼ半数の 140 品種において黄白-黄に分類された (図 6)。次いで淡赤が 43 品種、紫が 29 品種、赤が 25 品種、褐が 13 品種、黒紫 7 品種、淡紫 5 品種、黄褐 2 品種、赤褐 1 品種であった。成熟期穎色の分類について、144 品種において黄白であった (図 7)。また、黄が 89 品種と合わせて 233 品種

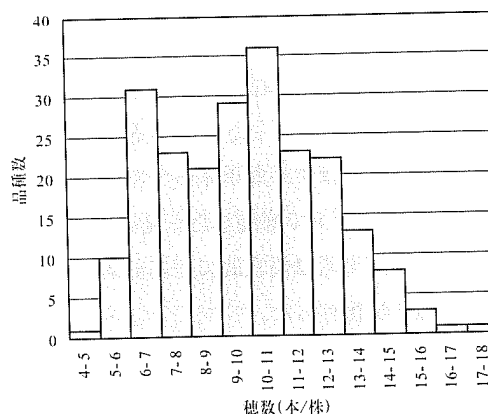


図 5. 陸稲在来品種における株あたり穂数の分布

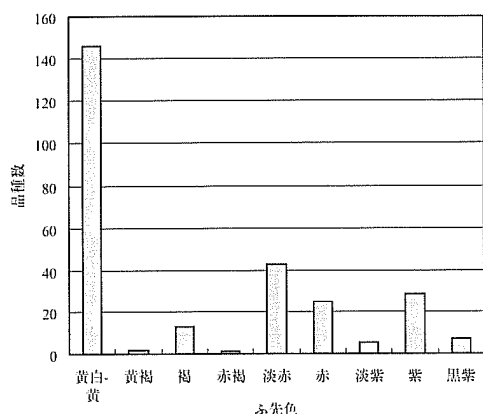


図 6. 陸稲在来品種におけるふ先色の分布

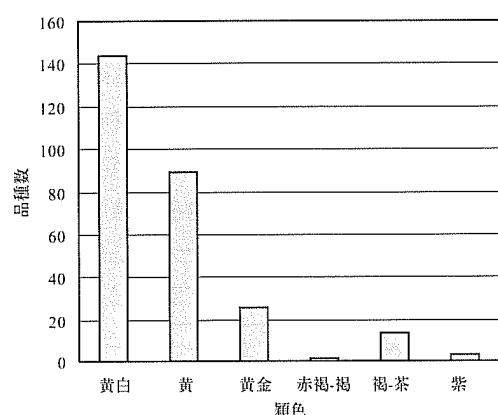


図 7. 陸稲在来品種における穎色の分布

と供試した 84% を占めていた。次いで黄金が 26 品種、褐・茶が 14 品種、紫が 3 品種、赤褐・褐が 1 品種であった。

(6) 粳形，玄米形の変異

粳の形状として、粳長において 6.7mm の「六月」から 9.6mm の「山の井」まで 2.9mm の変異幅があり、平均 8.1mm であった (図 8a)。また粳幅では 2.9mm の「葉広」から 4.0mm の「アラビア糰」他 3 品種まで 1.1mm の変異幅があり、平均は 3.6mm であった (図 8b)。粳長では 7.7mm を中心とする分布と 8.3mm を中心とする分布がみられた。この傾向は粳品種で顕著であり、糰品種においては粳長 8.3mm から 9.0mm を示す品種が多い傾向であった。粳幅では平均値を中心としてほぼ正規分布を示した。

玄米長は 4.7mm の「良温」他 2 品種から 7.0mm の「オンジョ」まで 2.3mm の変異があった (図 9a)。平均玄米長は 5.7mm であり、5.3mm から 6.0mm の範囲に多く分布していた。玄米長も粳長と同じく 5.5mm と 5.8mm を中心とする 2 つの分布が見られた (図 9b)。玄

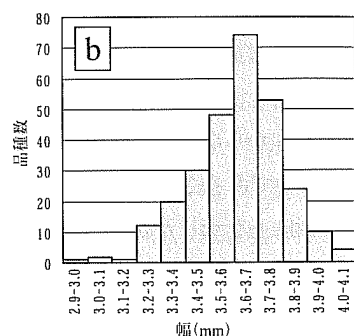
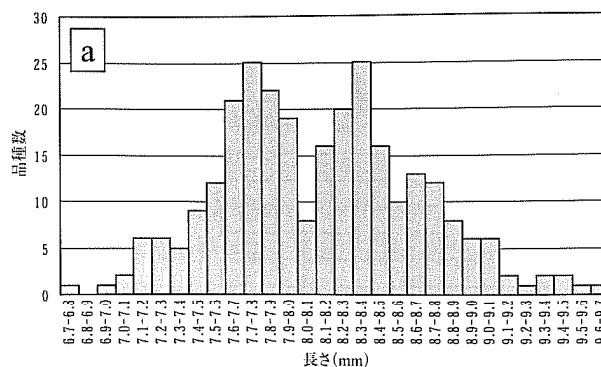


図 8. 陸稲在来品種の粳形の分布
(a) 粳長, (b) 粳幅

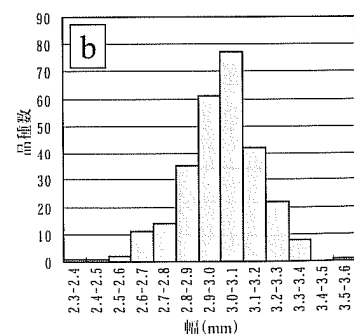
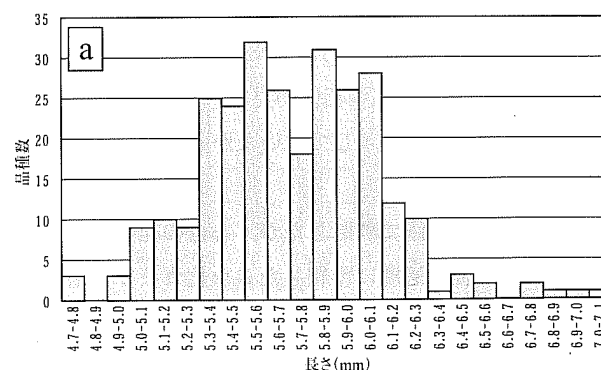


図 9. 陸稲在来品種の玄米形の分布
(a) 玄米長, (b) 玄米幅

米幅において、2.3mm の「葉広」から 3.5mm の「権現堂葉冠」まで 1.2mm の変異幅があった。玄米幅の平均である 3.0mm を中心として粳長とほぼ同じく正規分布を示

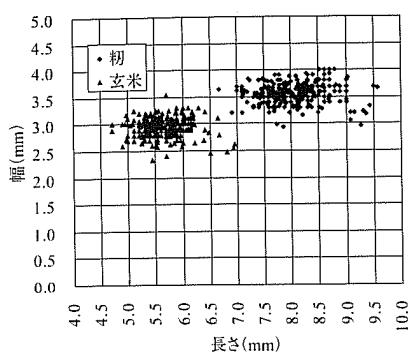


図 10. 陸稲在来品種における粳および玄米の長さとの分布

した。

粳長／幅比では 1.8 の「六月」から 3.1 の「高城」までの変異幅があった(図 10)。平均である 2.3 を中心とした分布がある一方、7 品種が 2.8 以上を示したが、これらはすべて粳品種であり、比較して糯品種は変異の幅が狭い傾向あった。

玄米長／幅比では、1.6 の「六月」から 2.7 の「高城」までの変異があり(図 10)、その平均は 1.9 であったが、それよりやや小さい 1.8 を中心として分布していた。最小、最大を示した品種は粳長／幅比の場合と同じであり、粳、玄米長／幅比間に高い相関が見られたが、順位としては必ずしも同じ傾向を示してはいなかった。

(7) 粳・糯の変異

粳・糯の別は肉眼で判断したが、心白の発生や乳白米と疑わしい場合は適度に希釈したヨウ化カリウム溶液にて染色を行った。胚乳が粳のものが 179 品種、糯のものが 94 品種であった。また、「胡桃早生」、「大畑早生」の 2 品種では両者が混在していた。品種保存台帳の記載と粳・糯の別が異なるものが 9 品種存在し、「大畑」、「銀助ヤカン」、「三太郎」、「陸稲神力 1 号」、「白鬚」の粳 5 品

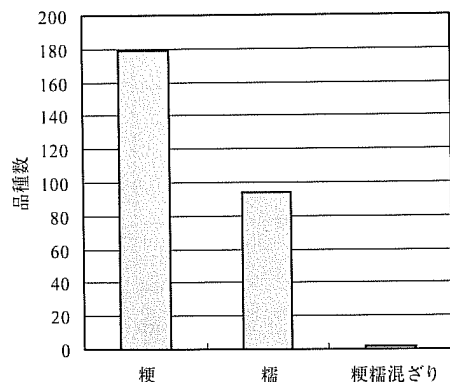


図 11. 陸稲在来品種における粳、糯の分類

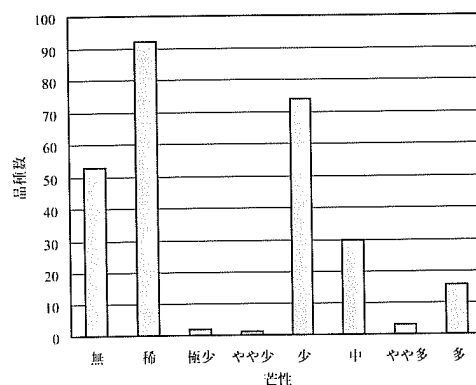


図 12. 陸稲在来品種における芒の有無および多少の分布

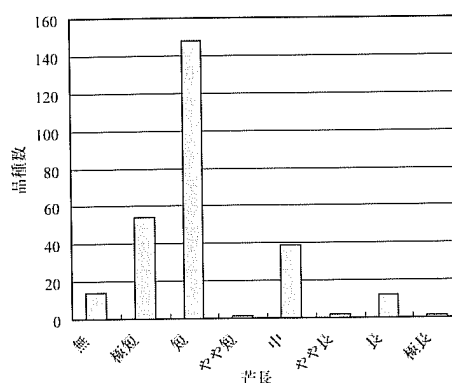


図 13. 陸稲在来品種における芒長の分布

種では糯になっており、「巴糯」、「豊年」、「黒芒」、「ばらばら」の糯 4 品種では粳になっていた(図 11)。

(8) 芒の有無と多少および長さ

達観で評価した芒の多少において、92 品種が稀であり、無の 53 品種を合わせ供試した約半数がほとんど芒の発生しない品種であった。芒の発生するものでは 74 品種で少、30 品種で中、16 品種で多、3 品種でやや多、2 品種で極少、1 品種でやや少であった(図 12)。

芒性無しの品種を除いた芒長の分布では、過半数の 148 品種において短であり、また 16 品種が極短、1 品種がやや短と短い品種が多い傾向であった。また 39 品種が中、12 品種が長、2 品種がやや長、1 品種が極長であり、変異の幅は大きかった(図 13)。また、芒の多少とその長さには相関が見られた(表 1)。

2. 陸稲在来品種の二次特性の評価

(1) 耐干性の変異

耐干性検定ハウスにおける耐干性を極強から極弱まで 7 段階に評価を行った。289 品種中、115 品種の耐干性が

中であり、変異の中心であった。11 品種で極強、29 品種で強、31 品種でやや強、42 品種でやや弱、37 品種で弱、8 品種で極弱であり、品種間の変異が見られた(図 14)。やや弱以下の品種には粳品種に比べ、糯品種の割合が高かった。

(2) 低温発芽性の変異

寒天培地中における低温発芽性は極高から極低まで 7 段階に評価を行った。289 品種中、82 品種が低であり、最も分布が多かった。次いで 59 品種が中、53 品種がやや高、39 品種がやや低、32 品種が低、5 品種が極低、2 品種が極高であった(図 15)。評価が極低、極高の 7 品種は糯品種であり、すべての階級に分布していたが、粳品種は低から高までの分布であった。

(3) 中茎伸長性の変異

暗黒下での中茎長は各品種内の平均値において、0.6mm の「最上近成 1 号」から 39.4mm の「定平旭」まで

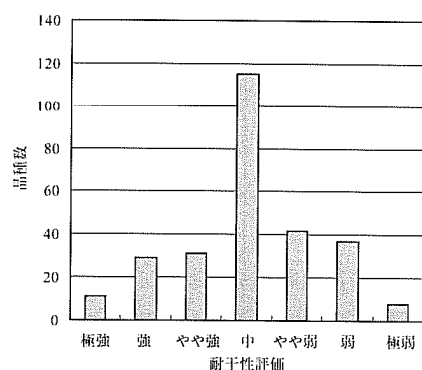


図 14. 陸稲在来品種における耐干性の評価

38.8mm の変異幅があった。品種間の平均は 9.3mm であり、8mm から 9mm のあいだに 39 品種と最も多く分布し(図 16)、粳、糯品種ともに同じ傾向であった。約 9 割の品種において 3mm から 14mm の間に分布した。粳品種は 0.6mm から 32.7mm に、糯品種は 3.5mm から 39.4mm に分布した。粳品種に比べ糯品種の伸長量が大きく、その平均値は粳品種で 3.9mm、糯品種で 11.3mm であった。

3. 各形質間の相関

各形質間の相関係数を求めた(表 1)。調査した項目の中において、稈長と穂数、籾長と玄米長、籾幅と玄米幅、出穂期と稈長、出穂期と粳・糯の別、穎色とふ先色、芒の有無と芒長などが 1%水準の高い正の相関を示した。また、稈長と玄米幅、穂数と玄米幅、穂数と粳・糯の別、玄米長と耐干性、低温発芽性と出穂期、中茎伸長性と玄米長が 1%水準の高い負の相関を示した。

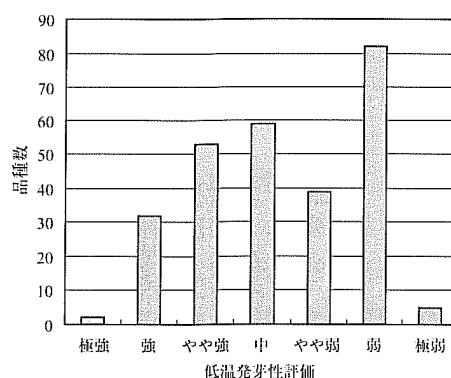


図 15. 陸稲在来品種における低温発芽性の評価

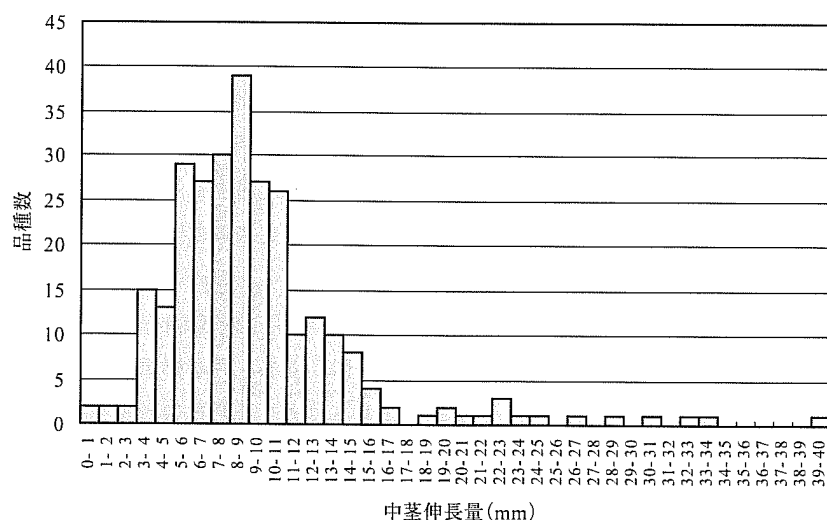


図 16. 陸稲在来品種における中茎伸長性の分布

表1 陸稲在来品種の各形質間の相関

形質	出穂期	相対 出穂期	稈長	穂長	穂数	ふ先色	糊長	糊幅	糊長 / 糊幅	玄米長	玄米幅	玄米長 / 玄米幅	梗・糯	穎色	芒有無	芒長	耐干性	低温 発芽性	中茎 伸長性
出穂期		0.969**	0.642**	0.028	0.210**	-0.148*	0.174*	0.009	0.141	0.114	-0.435**	0.176*	0.320**	-0.173*	0.170*	0.238**	0.017	-0.299**	-0.036
相対出穂期	271		0.511**	0.053	0.041	-0.148*	0.206**	0.063	0.129	0.114	-0.335**	0.140*	0.454**	-0.198**	0.108	0.175*	0.029	-0.233**	-0.031
稈長	271	271		0.154**	0.479**	-0.060	0.098	-0.125	0.169*	0.099	-0.589**	0.230**	0.022	0.048	0.232**	0.292**	0.101	-0.234**	0.034
穂長	271	271	271		0.092	0.116	0.224**	-0.039	0.196**	0.095	-0.232	0.177*	0.315**	-0.018	0.225**	0.243**	-0.049	-0.062	-0.003
穂数	222	222	240	240		-0.048	0.115	-0.050	0.125	0.190**	-0.476**	0.232**	-0.264**	-0.018	0.225**	0.244**	-0.049	-0.062	-0.003
ふ先色	271	271	271	271	222		-0.257**	0.014	-0.209**	-0.22432	0.060	-0.171*	-0.119	0.245**	0.177*	0.092	0.046	0.062	0.182**
糊長	271	271	271	271	222	271		0.057	0.761**	0.866	-0.086	0.686**	0.211	-0.286**	-0.117	0.011	-0.180*	0.082	-0.248**
糊幅	271	271	271	271	222	271	277		-0.600**	0.071	0.425**	-0.454**	0.166*	-0.181**	-0.187**	-0.165*	-0.050	0.125	-0.038
糊長/幅	271	271	271	271	222	271	277	277		0.654**	-0.346**	0.852**	0.047	-0.112	0.017	0.111	-0.107	-0.029	-0.177*
玄米長	271	271	271	271	222	271	277	277	277		-0.010	0.747**	-0.039	-0.245**	-0.078	0.059	-0.202**	0.028	-0.325**
玄米幅	271	271	271	271	222	271	277	277	277	277		-0.448**	-0.258**	-0.058	-0.347**	-0.336**	-0.031	0.116	-0.145*
玄米長/幅	271	271	271	271	222	271	277	277	277	277	277		-0.038	-0.092	0.094	0.193**	-0.140*	-0.020	-0.198**
梗・糯	268	268	269	269	222	268	275	275	275	275	275	275		-0.129	0.021	0.011	0.116	0.151*	0.228**
穎色	270	270	270	270	221	270	277	277	277	277	277	277	274		0.256**	0.231**	0.098	0.155*	0.145*
芒有無	271	271	271	271	222	271	271	271	271	271	271	271	268	270		0.750**	0.031	-0.079	0.092
芒長	271	271	271	271	222	271	271	271	271	271	271	271	268	270	271		0.025	0.000	0.107
耐干性	271	271	271	271	221	271	273	273	273	273	273	273	270	272	271	271		0.036	0.176*
低温発芽性	270	270	270	270	222	270	273	273	273	273	273	273	269	272	270	270	271		0.036
中茎伸長	259	259	259	259	211	253	273	273	273	273	273	273	261	265	260	260	260	260	

斜線より右上の数字は各形質間の相関係数を、左下の数字は各形質間で比較した品種数をあらわす。なお、相関係数に付した**は1%水準、*は5%水準で有意であることを示す。

IV. 考 察

1. 陸稲在来品種の一次特性

(1) 出穂期

イネは短日植物であり、日長が短くなるに従い、出穂が促進される。また、一般に高温では低温よりも出穂が促進される。日本は温帯に位置し、日長の周年変動幅は比較的大きく、かつ緯度が高くなるほど変動幅は大きくなる(坂井・中川 1996)。供試した陸稲在来品種では導入された原産地に適した生態型を示したと考えられる。日長の変異幅が大きな東北を在来とする品種では感光性が弱く、日長差による出穂の変異が小さいため早生となり、九州など低緯度地域に在来する感光性の強い品種では相対的に晩生となったと考えられる。栽培品種と比べ、供試した陸稲在来品種の平均出穂日が8日遅く、品種育成によって栽培品種の早生化が進んでいったと推測される。角田(1975)は、日本陸稲は形態的、生態的特徴からみて、朝鮮半島・中国東北部から導入された北方系品種群と台湾・フィリピン・インドネシアなどから導入された南方品種群に分類している。また横尾ら(1980)は第6染色体上の複対立性をもつ遺伝子座 *Lm* がイネの出穂期を支配しており、早生品種の出穂期は主として *Lm'* またはそれに類似の *Lm* 座の早生遺伝子に支配され、中生、晩生品種は *Lm''* またはそれに類似の *Lm* 座の晩生遺伝子が関与していると述べている。これらのことから、供試した品種で出穂期が2群に分かれたのは、陸稲が品種によって異なる導入経路を持ち、出穂期に関わる遺伝子が異なるからではないかと推測される。

(2) 稈長

現在の主要栽培品種の稈長は70cmから80cmであり、これに比べ供試した陸稲在来品種では長稈のものが多く存在した。稈長と出穂期には高い相関が見られ、出穂期が遅い品種ほど基本栄養生長期間が長くとれ、長稈になるものと考えられる。イネ伝播期に海外から持ち込まれた陸稲の栽培地域が北へ広がるにつれ、栄養生長期間の短いものが選抜され、また、倒伏害を軽減できるよう、短稈が好まれ栽培されてきたと考えられる。

(3) 穂長、穂数

陸稲在来品種と比較して、現在の陸稲栽培品種の穂長は19cmないし20cmであり若干の短穂化が図られ、また

栽培品種の1株穂数は10本前後であり若干の穂数増加がみられた。多収を目的とした場合、収量構成要素のうち穂数が最も窒素濃度の対して敏感に反応し、また一般的に穂数型は穂重型より短稈で多肥栽培に向くといわれている(中根・丸山 1992)。品種育成により多くの栽培品種の草型が穂重型から穂数型と変化したなかで陸稲在来品種が昔ながらの姿を残しているのであろう。一般的に穂長と穂数には負の相関がみられるが、供試した陸稲在来品種では穂長と穂数の相関は見られず(表1)、穂重型、穂数型という分類はできなかった。

(4) ふ先色、穎色

ふ先色は2つの遺伝子座の対立遺伝子の補足的作用によって発現し、色素源に関するC遺伝子座と色素の添加に関するA遺伝子座が関与し、それぞれの遺伝子座に多数の複対立遺伝子が存在することが知られている(Takahashi 1957)。また、栽培イネの野生祖先種はふ先色を持ち、多様性中心に近い地域のイネには多様な変異が見られる(Ye Tint Tun 2003)ことから、陸稲在来品種には遺伝的に多様な変異が含まれていると考えられる。

(5) 籾、玄米形状

子実形状の各構成要素について、籾長、玄米長間および籾幅、玄米幅間に高い相関が見られた。また、玄米の長さとの比は玄米および籾の長さ、幅とも相関を示した。しかし、籾長、籾幅間および玄米長、玄米幅間には相関が見られなかった。今回供試した陸稲在来品種において、籾の長さとの比は1.8から3.1の間で連続的な分布を示し、山口・木村の報告(1958)とほぼ一致した。松尾(1952)は籾の長さとの比をもって栽培イネの分類の第一次基準とし、a型(短型)、b型(大型)、c型(細型)の3型に分類した。また、籾型は他の形態的諸形質と密接な関係があり、生態的な諸形質とも関係が深いと述べている。松尾によるとa型には日本水稲や朝鮮、満州および華中原産、b型には熱帯ジャポニカ種、c型はインド、ベトナムおよび中国中部以南原産が分類される。日本陸稲は主にb型に分類されるといわれ、同じ指標を用いて今回供試した品種の分類を試みると、a型に62品種、b型に177品種、c型に38品種が分類された。このことから陸稲在来品種が様々な地域を起源として持つことが推測される。

(6) 芒性

芒は外穎の先端が細長く伸びたもので、水稻に比べ陸稲ではこれをものが多い。原始的形態としては外穎に芒をもつが、現在の栽培品種では退化している(星川 1975)。また、野生稲は有芒であるが、栽培稲では有芒品種は少なく、イネ栽培化の過程で無芒となる方向に遺伝的改変が行われてきたと考えられている(長戸 1990)。供試した陸稲在来品種では約半数が有芒品種であり、遺伝的に昔ながらの形態を保持していると考えられる。芒の有無多少と芒長には高い相関が見られ、芒の有無多少とふ先色には相関が見られた(表 1)。これまでに芒の有無に関して連鎖群の異なる 4 つの遺伝子が明らかになっており、これら遺伝子の組み合わせで芒長が変化するといわれている(長戸 1990)。供試した陸稲在来品種の芒性についても複数の遺伝子が関与することで変異が起きていると考えられる。

2. 陸稲在来品種の二次特性

(1) 耐干性

陸稲は畑作物の中で要水量の多い作物であり、干ばつによって収量が大きく左右される(平山・須賀 1996)。耐干性には根量を増やし吸水量を増加させる生態的耐干性と蒸散を抑えることで水の消費を抑える生理的耐干性があり、両者を総合して耐干性としている。耐干性の検定に関する研究は古くから行われており、田畑収量比、生育・収量の干ばつ区/灌水区比、茎葉重/根重比と根型、幼苗草型、塩素酸カリ抗毒性、低水分条件下での出芽特性などと耐干性の関係が検討されてきた。今回調査した形質のうち、耐干性は穂長、籾長、玄米長および中性伸長性との間で相関が見られた。前述のとおり、籾の形には生態的諸形質と相関があるといわれており(松尾 1952)、耐干性に関わる何らかの形態的、生態的諸形質が籾の形に反映されたと考えられる。

(2) 低温発芽性

低温発芽性は栽培の省力化が期待される直播栽培の適応性における指標の一つであり、播種後の低温期にも安定した苗立ちの確保ができる。陸稲の栽培はもともと直播であり、水稻に比べ低温発芽性は優れる。陸稲在来品種には日本の水稻在来品種からの転用品種やフィリピンの水陸兼用型を起源とするものが含まれ、このような陸稲在来品種の複雑な由来が幅広い変異の要因と考えられ

る。低温発芽性と出穂期には高い相関が見られ、出穂の遅い品種ほど低温発芽性に優れる傾向があった。一般に高温下で登熟すれば強い休眠が形成されるといわれており(池橋 1992)、休眠性と低温発芽性が関連していることが推測される。しかし、低温発芽性は早生品種ほど高い傾向にあるといわれ(高橋 1990)、本研究の結果とは一致しなかった。

(3) 中茎伸長性

中茎の伸長特性について、Hamada (1937) などの報告ではインディカ品種は伸長しやすく、ジャポニカ品種では伸長しにくいといわれてきた。また勝田 (1998) の報告では広義のインディカ品種に含まれる秣系品種は伸長量が低く、特異なグループと述べられている。山口・木村 (1958) は暗所中の中茎長の品種間差異において、日本水稻は短いものが多いが、陸稲においては幅の広い変異を認めた。今回供試した品種においても 0.6mm から 39.4mm と幅の広い変異が認められた。勝田 (1998) はまた、導入遺伝資源における中茎伸長性の地理的変異を調査し、中茎伸長性の大きな品種はネパール、インド、バングラデシュなどの南アジア原産に多く、日本や中国など東アジアの国では中茎が伸長しない品種の分布が優先しているとした。陸稲在来陸稲の中茎伸長性に多様な変異が見られたことは日本の陸稲在来品種の起源がアジアの様々な地域を起源とすることが推測される。また、中茎伸長性は耐干性の評価と負の相関が認められた(表 1)。このことは耐干性を推測する一つの尺度として有効であろう。

引用文献

- Hamada, H. (1937) Physiologisch-systematische Untersuchungen über das Wachstum der Keimorgane von *Oryza sativa* L. 京大紀要 12 (3): 259-309.
- 東正昭・赤間芳洋 (1992) 病虫害抵抗性品種の育種
1. いもち病。日本の稲育種(櫛渕欽也 監修) 農業技術協会, 東京. 270-279.
- 平山正賢・須賀立夫 (1996) 耐干性. イネ育種マニュアル(山本隆一・堀末登・池田良一 共編) 養賢堂, 東京. 152-155.
- 星川清親 (1975) 解剖図説イネの生長. 農文協, 東

- 京. 19.
- 池橋宏 (1992) 生理抵抗性品種の育種 5. 穂発芽性. 日本の稲育種 (櫛渕欽也 監修) 農業技術協会, 東京. 360-365.
- 池橋宏 (1996) 遺伝資源の保存と利用. 植物の遺伝と育種. 養賢堂, 東京. 240-246.
- 角田重三郎 (1975) 日本の陸稲品種の系統分類. 育種 25 (2): 121-131.
- 関東農政局水戸統計・情報センター (2005) 茨城県農林水産統計年報平成15年～平成16年. 関東農政局水戸統計情報センター, 茨城. 38
- 勝田 (石) 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. 生物研報 12: 55-98.
- 松尾孝嶺 (1952) 栽培稲に関する種子生態学的研究. 農技研報 D3: 1-111.
- 中根晃, 丸山清明 (1992) 低コスト生産性品種の育種 1. 多収性. 日本の稲育種 (櫛渕欽也 監修) 農業技術協会, 東京. 230-243.
- 根本博 (1995) 陸稲育種の現状と今後の方向. 農業技術 50 (5): 213-217.
- 長戸康郎 (1990) 種子. 稲学大成第三巻・遺伝編 (編集委員代表 松尾孝嶺) 農文協, 東京. 169-173.
- 小野信一 (1977) 植物特性と栽培の意義. 農業技術体系作物編 7 オカボ 農文協, 東京. 基 3-9.
- 坂井真・中川宣興 (1996) 時なし短期生育性. イネ育種マニュアル (山本隆一・堀末登・池田良一 共編) 養賢堂, 東京. 127-133.
- Takahashi, M. (1957) Analysis of apicular color genes essential to anthocyanin coloration in rice. J. Fac. Agr. Hokkaido Univ. 50: 266-302
- 高橋成人 (1990) 発芽性と環境変異温度. 稲学大成第三巻・遺伝編 (編集委員代表 松尾孝嶺) 農文協, 東京. 257-261.
- 山口彦之・木村定雄 (1958) 日本陸稲在来種の若干形質の品種間差異について. 育種 7: 241-245.
- Ye Tint Tun, K. Irie, T. Nagamine, F. Kikuchi and H. Fujimaki (2003) Genetic diversity of rice landraces in Myanmar characterized by esterase isozyme and amylase content. SABRAO Jour. Breed. Genet. (in press)
- 横尾政雄, 菊池文雄, 中根晃, 藤巻宏 (1980) いもち病抵抗性と連鎖利用によるイネの出穂期の遺伝分析. 農技研報告 D31: 95-126.

Analysis and Characterization of Japanese Local Upland Rice Varieties

Katsunori Okano, Kazuyuki Okamoto, Toru Manabe and Takuro Ishii

*Plant Biotechnology institute, Ibaraki Agricultural Center,
Ago, Iwama, Nishi-ibaraki, Ibaraki, 319-0292, Japan*

Summary

Two hundred eighty nine varieties of Japanese local upland rice varieties were characterized and analyzed. The evaluations were carried out for primary and secondary traits. As primary traits, heading time, culm length and as secondary traits, drought resistance, degree of low-temperature germination and mesocotyl elongation were characterized. There were large genetic variations. Correlation coefficients between evaluated traits were also calculated. It became clear that there were correlations between drought resistance and grain length, degree of low-temperature germination and heading time, and mesocotyl elongation and grain length.

Key Words: upland rice, genetic resources, local variety, drought resistance, low-temperature germination, mesocotyl elongation

付表. 供試した陸稲在来品種の特性一覧

保存番号	品 種 名	出穂期	稈長 (cm)	穂長 (cm)	穂数 (本 / 株)	ふ先色	初長 (mm)	初幅 (mm)	玄米長 (mm)	玄米幅 (mm)	梗・糯
1	北海赤毛	7月20日	64.0	20.5	10.0	紫	7.81	3.38	5.66	3.38	梗
2	北海早生	8月4日	70.0	24.9	9.0	淡紫	7.79	3.55	5.25	3.55	梗
3	改良41号	8月3日	79.0	21.8	9.0	黄白-黄	9.08	3.21	6.23	3.21	梗
4	B o s o	7月27日	78.0	18.9	10.4	黄白-黄	7.57	3.50	5.36	3.50	梗
5	山稈禾	8月3日	86.0	23.0	10.8	黄白-黄	9.15	3.21	6.67	3.21	梗
6	胡桃早生	8月4日	77.0	19.8	6.0	褐	7.66	3.66	5.47	3.66	梗糯混
7	胡桃早生43号	8月4日	68.0	19.3	8.8	黄白-黄	8.31	3.30	5.78	3.30	梗
8	岩手胡桃	8月4日	80.0	20.9	6.2	褐	7.82	3.56	5.44	3.56	梗
9	大島6号	8月3日	72.0	18.4	7.8	黄白-黄	8.71	3.53	6.02	3.53	梗
10	猿島陸稲	8月4日	77.0	21.9	5.0	褐	7.73	2.98	5.50	2.98	梗
11	大桑錦	8月3日	83.0	20.8	6.4	褐	8.30	3.43	5.78	3.43	梗
12	旱不知A	8月3日	82.0	21.3	6.8	褐	7.66	3.55	5.34	3.55	梗
13	旱不知D	8月3日	79.0	23.0	6.0	黄白-黄	7.80	3.55	5.36	3.55	梗
14	品川早生	8月4日	77.0	21.5	5.8	黄白-黄	7.77	3.65	5.35	3.65	梗
15	大宝早生	8月2日	82.0	21.7	6.0	褐	8.06	3.50	5.92	3.50	梗糯混
16	最上近成1号	8月3日	76.0	18.2	7.2	淡紫	7.68	3.59	5.58	3.59	梗
17	近成1号	8月7日	81.0	24.5	8.0	赤	8.32	3.36	5.70	3.36	梗
18	近成純1号	8月4日	77.0	18.7	6.2	黄白-黄	7.67	3.56	5.69	3.56	梗
19	常陸錦	8月4日	76.0	21.5	6.4	黄白-黄	7.88	3.63	5.50	3.63	梗
20	関取	8月4日	84.0	21.4	4.4	黄白-黄	8.05	3.33	5.48	3.33	梗
21	秋誠3号	8月6日	80.0	18.6	5.4	黄白-黄	7.84	3.65	5.76	3.65	梗
22	身代起	8月5日	74.0	22.1	6.4	赤	8.49	3.53	6.00	3.53	梗
23	K u r n a i	8月6日	64.0	23.0	7.4	赤	7.42	3.47	5.27	3.47	梗
24	水戸錦	8月5日	77.0	21.9	5.4	黄白-黄	8.11	3.26	5.75	3.26	梗
25	六月	8月3日	65.0	20.2	6.6	淡紫	6.68	3.65	4.97	3.65	梗
26	ヤカン	8月2日	62.0	18.8	7.4	黄白-黄	8.83	3.72	6.03	3.72	梗
27	アモンキュリー	8月5日	71.0	20.2	6.2	褐	7.46	3.54	5.37	3.54	梗
28	金子坊主	8月3日	68.0	20.7	7.0	黄白-黄	7.97	3.89	5.63	3.89	梗
29	山の井	8月8日	52.0	19.7	6.2	黄白-黄	9.58	3.66	6.65	3.66	梗
30	赤稲	8月3日	78.0	24.6	5.6	紫	9.02	3.87	6.40	3.87	梗
31	赤禾	8月4日	74.0	23.9	8.2	赤	7.64	3.54	5.45	3.54	梗
32	石川	8月5日	68.0	22.3	8.6	黄白-黄	7.78	3.91	5.75	3.91	梗
33	荒木	8月8日	74.0	19.5	6.8	褐	7.64	3.59	5.44	3.59	梗
34	陸荒木	8月4日	83.0	20.3	6.0	紫	7.60	3.51	5.42	3.51	梗
35	世直	8月10日	64.0	19.4	5.4	紫	7.94	3.73	5.55	3.73	梗
36	信州早生	8月4日	82.0	23.7	6.0	黄白-黄	7.93	3.62	5.59	3.62	梗
37	皇国誉	8月5日	61.0	18.9	7.8	黄白-黄	8.46	3.80	6.17	3.80	梗
38	早生関取e	8月7日	65.0	19.5	6.8	紫	7.93	3.71	5.56	3.71	梗
39	上総早生	8月7日	69.0	20.7	6.6	褐	7.47	3.60	5.31	3.60	梗
40	照熊	8月11日	76.0	21.4	6.0	黄白-黄	7.75	3.44	5.46	3.44	梗
41	東京金子	8月8日	70.0	21.7	7.2	紫	7.71	3.57	5.69	3.57	梗
42	鹿北台湾	8月10日	76.0	20.6	8.4	紫	8.70	3.52	5.98	3.52	梗
43	雀不知	8月4日	71.0	19.6	6.6	黄白-黄	7.70	3.56	5.36	3.56	梗
44	亀治	8月9日	72.0	21.0	7.8	紫	8.29	3.49	5.75	3.49	梗
45	梗1号	8月5日	71.0	20.5	5.6	黄白-黄	7.56	3.36	5.38	3.36	梗
46	宝錦	8月7日	82.0	24.6	7.0	褐	8.24	3.62	5.81	3.62	梗
47	浦三1号	8月4日	79.0	19.8	7.4	黄白-黄	7.64	3.56	5.54	3.56	梗
48	改良14号	8月4日	79.0	16.5	6.8	紫	7.68	3.50	5.42	3.50	梗
49	福良	8月6日	79.0	20.2	5.8	褐	7.66	3.66	5.33	3.66	梗
50	田優b	8月5日	69.0	20.7	8.8	赤	7.58	3.66	5.42	3.66	梗
51	長柄早生浦26号	8月8日	75.0	25.2	8.2	赤	8.26	3.53	5.57	3.53	梗
52	千代田早生	8月12日	64.0	19.8	8.4	黄白-黄	8.70	3.39	5.91	3.39	梗
53	陸愛国	8月6日	65.0	19.5	8.6	紫	7.65	3.29	5.42	3.29	梗
54	亀の尾	8月5日	78.0	19.4	5.2	黄白-黄	7.68	3.32	5.49	3.32	梗
55	岩手胡桃早生1号	8月4日	76.0	18.9	6.2	黄白-黄	7.46	3.65	5.30	3.65	梗
56	長野早生	8月7日	83.0	20.3	6.8	赤	8.16	3.61	5.82	3.09	梗
57	黒禾	8月11日	71.0	20.2	7.2	紫	8.14	3.74	5.92	3.02	梗
58	国一	8月5日	77.0	19.5	9.0	紫	7.69	3.74	5.46	3.15	梗
59	ダマッテロー	8月4日	79.0	22.9	7.6	紫	8.41	3.56	5.68	2.96	梗
60	田優	8月5日	68.0	18.0	6.2	赤	7.01	3.61	5.09	3.00	梗
61	黒皮	8月11日	90.0	22.1	12.6	淡赤	8.13	3.37	5.57	2.80	梗
62	鴻巣陸稲2号	8月7日	97.0	22.1	14.0	黄白-黄	8.40	3.57	5.82	3.07	梗
63	栃水浦三1号	8月7日	96.0	24.3	12.4	淡赤	7.37	3.49	5.22	3.01	梗
64	浦山	8月7日	107.0	21.1	12.6	淡赤	7.01	3.68	4.94	3.02	梗
65	博愛	8月9日	96.0	22.1	10.4	紫	7.72	3.55	5.41	3.00	梗

付表. 供試した陸稲在来品種の特性一覧

保存番号	品 種 名	穎色	芒	芒長	耐干性	低温発芽性	中茎伸長性 (mm)	導入元
1	北海赤毛	黄	多	極長	極弱	高		北海道
2	北海早生	褐-茶	多	やや長	弱	低	4.8	北海道
3	改良41号	黄	多	やや長	中	低	4.1	国内
4	B o s o	黄金	無	極短	弱	低	5.6	不明
5	山稗禾	黄	無	極短	弱	中	2.4	国内
6	胡桃早生	黄	無	極短	中	中	2.1	東北
7	胡桃早生43号	黄金	無	極短	中	低	5.1	東北
8	岩手胡桃	黄白	無	極短	中	高	5.6	岩手
9	大島6号	黄	稀	極短	強	低	6.0	関東東山
10	猿島陸稲	黄	無	極短	中	やや高	4.3	国内
11	大桑錦	黄白	中	やや短	中	低	6.6	国内
12	早不知A	黄金	無	極短	弱	やや高	5.6	東北
13	早不知D	黄金	無	極短	中	やや高	5.0	東北
14	品川早生	黄	無	極短	中	中	5.5	茨城
15	大宝早生	黄白	少	短	弱	中	1.0	国内
16	最上近成1号	黄白	無	極短	弱	低	0.6	山形
17	近成1号	黄	無	極短	中	低	3.7	山形
18	近成純1号	黄白	無	極短	中	低	1.7	山形
19	常陸錦	黄金	無	極短	弱	低	3.3	茨城
20	関取	褐-茶	無	極短	極弱	やや低	3.1	関東東山
21	秋誠3号	黄白	中	中	中	低	6.0	国内
22	身代起	黄白	無	極短	中	低	6.4	国内
23	K u r n a i	黄	無	極短	中	やや高	7.2	不明
24	水戸錦	黄金	無	極短	弱	やや低	8.2	茨城
25	六月	黄	無	極短	中	低	8.5	国内
26	ヤカン	黄	無	極短	強	低	5.4	鹿児島
27	アモンキュリー	黄金	無	極短	強	中	10.4	不明
28	金子坊主	黄白	無	極短	中	低	10.2	関東東山
29	山の井	黄	稀	極短	極強	中	5.4	群馬
30	赤稲	黄	無	極短	強	低	6.2	北海道
31	赤禾	黄白	稀	極短	中	やや低	9.3	東北
32	石川	黄白	無	極短	強	低	6.9	北陸
33	荒木	黄	無	極短	弱	中	22.7	関東東山
34	陸荒木	黄	無	極短	中	やや低	13.5	関東東山
35	世直	黄白	少	短	極強	中	14.5	茨城
36	信州早生	黄	無	極短	中	高	19.6	長野
37	皇国誉	黄白	無	極短	強	中	1.5	国内
38	早生関取e	黄白	無	極短	中	やや高	8.4	関東東山
39	上総早生	黄	無	極短	極弱	低	7.4	茨城
40	照熊	黄白	多	短	中	高	9.3	茨城
41	東京金子	黄白	稀	極短	中	低	8.8	東京
42	鹿北台湾	黄	稀	極短	極強	やや低	7.1	不明
43	雀不知	黄白	無	極短	弱	やや高	6.0	青森
44	亀治	黄	無	極短	強	低	9.1	島根
45	梗1号	黄白	稀	極短	弱	高	4.4	国内
46	宝錦	黄白	稀	極短	強	低	13.0	国内
47	浦三1号	黄金	稀	極短	中	やや高	12.8	栃木
48	改良14号	黄	無	極短	強	やや低	12.0	国内
49	福良	黄	無	極短	中	低	5.3	国内
50	田優b	黄	無	極短	中	中	32.7	関東東山
51	長柄早生浦26号	黄	無	極短	強	低	7.9	関東東山
52	千代田早生	黄白	稀	極短	中	低	4.8	国内
53	陸愛国	黄白	稀	極短	中	低	3.8	関東東山
54	亀の尾	黄	稀	極短	中	やや高	10.4	東北
55	岩手胡桃早生1号	黄	稀	極短	中	高	9.1	岩手
56	長野早生	黄	稀	極短	強	低	-	長野
57	黒禾	黄白	多	長	中	中	7.2	関東東山
58	国一	黄	無	極短	弱	低	14.0	国内
59	ダマッテロー	黄	少	短	強	低	7.7	国内
60	田優	黄	無	極短	弱	低	6.7	関東東山
61	黒皮	黄白	少	短	やや強	低	5.4	国内
62	鴻巣陸稲2号	黄	少	短	中	中	14.8	埼玉
63	栃木浦三1号	黄金	稀	短	中	やや低	13.6	栃木
64	浦山	黄金	稀	短	中	中	12.1	栃木
65	博愛	褐-茶	稀	短	やや強	低	6.4	国内

保存番号	品 種 名	出穂期	稈長 (cm)	穂長 (cm)	穂数 (本/株)	ふ先色	初長 (mm)	初幅 (mm)	玄米長 (mm)	玄米幅 (mm)	梗・糯
66	胡桃早生 18 号	8 月 4 日	106.0	20.6	1.2	黄白-黄	8.07	3.48	5.85	2.89	梗
67	桃太郎	8 月 9 日	115.0	22.5	9.2	黄白-黄	8.05	3.29	5.84	2.65	梗
68	早生八作	8 月 7 日	106.0	22.6	12.4	淡赤	7.46	3.37	5.25	2.64	梗
69	赤米	8 月 5 日	81.0	21.5	10.0	黄白-黄	7.80	3.82	5.62	3.06	梗
70	戦捷	8 月 6 日	94.0	20.4	9.8	黄白-黄	8.61	3.66	6.22	2.99	梗
71	雷電	8 月 10 日	83.0	18.5	10.8	黄白-黄	7.84	3.60	5.66	2.94	梗
72	オイラン	8 月 7 日	93.0	19.2	11.2	淡赤	7.59	3.68	5.41	3.20	梗
73	高千穂	8 月 7 日	98.0	20.4	11.4	淡赤	7.94	3.56	5.56	2.93	梗
74	田優 1 号	8 月 10 日	89.0	19.9	12.2	黄白-黄	8.16	3.65	5.82	3.00	梗
75	九州	8 月 9 日	91.0	21.6	11.4	紫	8.44	3.49	6.11	2.92	梗
76	大島 2 号	8 月 9 日	89.0	24.1	13.6	紫	8.67	3.45	6.15	2.93	梗
77	久蔵	8 月 11 日	101.0	24.0	10.2	淡赤	7.57	3.63	5.34	3.04	梗
78	早生関取 c	8 月 8 日	103.0	23.4	9.6	黄白-黄	7.73	3.48	5.43	2.89	梗
79	早生関取 g	8 月 8 日	102.0	20.7	11.2	黄白-黄	8.71	3.92	6.19	3.19	梗
80	藤助	8 月 9 日	96.0	21.6	11.4	黄白-黄	8.42	3.57	6.14	3.14	梗
81	戦捷茨城 1 号	-	-	-	-	-	8.26	3.73	5.73	3.16	梗
82	身代起茨城 1 号	8 月 12 日	79.0	22.3	11.4	淡赤	7.59	3.58	5.34	2.94	梗
83	黒芒	8 月 12 日	96.0	23.0	9.2	淡紫	7.78	3.66	5.34	2.91	梗
84	氷川	8 月 10 日	116.0	24.9	11.6	淡赤	7.65	3.59	5.50	3.03	梗
85	目黒	8 月 10 日	96.0	24.4	8.8	紫	8.38	3.69	5.83	2.88	梗
86	江戸川	8 月 7 日	117.0	22.7	15.8	淡赤	8.37	3.29	5.77	2.63	梗
87	最上梗 1 号	8 月 5 日	115.0	21.6	13.0	黄白-黄	7.56	3.39	5.38	2.92	梗
88	早生団子	8 月 10 日	96.0	18.6	1.2	黄白-黄	7.47	3.57	5.33	2.84	梗
89	早生信州	8 月 10 日	103.0	20.4	9.4	淡赤	7.63	3.79	5.30	3.14	梗
90	東京戦捷	8 月 10 日	97.0	21.0	12.6	黄白-黄	8.58	3.71	6.16	3.04	梗
91	大畑早生	8 月 8 日	91.0	21.5	12.8	黄白-黄	8.00	3.79	5.79	3.11	梗
92	平山	8 月 12 日	94.0	20.8	12.4	紫	7.84	3.65	5.85	3.06	梗
93	枝垂坊主	8 月 9 日	113.0	22.4	14.6	淡赤	7.85	3.75	5.59	3.14	梗
94	テレンズ	8 月 9 日	103.0	22.0	11.6	黄白-黄	8.30	3.63	6.09	2.88	梗
95	金竜	8 月 9 日	95.0	20.8	12.4	淡赤	7.67	3.49	5.56	3.01	梗
96	茨城滋賀	8 月 12 日	99.0	21.8	12.6	淡赤	7.79	3.72	5.58	3.10	梗
97	献上錦	8 月 10 日	112.0	24.0	10.4	紫	7.76	3.80	5.23	2.98	梗
98	岡玉錦	8 月 9 日	104.0	23.0	12.6	淡赤	8.02	3.55	5.52	3.03	梗
99	富士岡撰	8 月 9 日	86.0	21.5	15.4	紫	7.10	3.64	5.94	2.92	梗
100	近成 2 号	8 月 8 日	100.0	22.2	12.4	淡赤	7.57	3.78	5.33	3.20	梗
101	常磐錦	8 月 9 日	91.0	23.2	14.0	黄白-黄	8.08	3.63	5.85	2.85	梗
102	浦三	8 月 10 日	111.0	24.7	14.0	淡赤	8.25	3.58	5.92	2.89	梗
103	関根	8 月 9 日	97.0	24.3	13.3	淡赤	8.34	3.59	5.72	3.02	梗
104	戦捷穂	8 月 7 日	90.0	24.0	15.2	黄白-黄	8.57	3.70	5.86	3.00	梗
105	早不知	8 月 9 日	87.0	23.5	14.8	黄白-黄	8.53	3.60	6.14	2.88	梗
106	五畝四石	8 月 9 日	93.0	21.9	12.2	黄白-黄	8.31	3.78	6.01	3.07	梗
107	山頭稲	8 月 8 日	105.0	23.6	9.0	淡赤	7.32	3.56	5.24	2.95	梗
108	選出	8 月 7 日	94.0	21.9	13.8	黄白-黄	8.16	3.60	5.87	2.89	梗
109	尾張 79 号	8 月 9 日	91.0	22.9	16.2	黄白-黄	8.19	3.54	5.83	3.08	梗
110	池沢 a	8 月 11 日	89.0	21.5	11.4	黄白-黄	8.24	3.73	5.74	3.07	梗
111	世界一	8 月 10 日	93.0	23.7	11.2	紫	8.22	3.74	6.10	3.02	梗
112	重り坊主	8 月 8 日	94.0	21.1	9.6	淡赤	7.53	3.68	5.31	2.98	梗
113	磯月	8 月 9 日	92.0	21.5	12.4	黄白-黄	8.49	3.70	6.05	2.88	梗
114	ホラリン	8 月 12 日	88.0	22.0	10.4	紫	8.21	3.71	5.84	3.00	梗
115	大畑	8 月 10 日	84.0	19.5	10.6	黄白-黄	8.25	3.70	6.02	3.13	糯
116	三石	8 月 12 日	86.0	22.7	9.4	黄白-黄	8.12	3.40	5.89	2.82	梗
117	銀助ヤカン	-	-	-	-	-	8.08	3.89	5.51	3.22	糯
118	陸稲旭	8 月 18 日	89.0	22.2	10.0	黄白-黄	7.77	3.47	5.50	2.96	梗
119	三太郎	-	-	-	-	-	7.90	3.76	5.34	3.04	糯
120	東京平山	8 月 11 日	86.0	23.8	13.6	紫	8.16	3.67	5.84	2.89	梗
121	雄町	8 月 10 日	85.0	22.2	13.0	黄白-黄	7.74	3.56	5.52	2.86	梗
122	芳山	8 月 9 日	86.0	22.9	11.2	黄白-黄	8.15	3.56	5.95	2.94	梗
123	浅賀	8 月 12 日	77.0	24.5	11.8	黄白-黄	7.83	3.57	5.64	2.97	梗
124	関山	8 月 13 日	100.0	20.5	17.6	黄白-黄	8.43	3.76	5.94	2.94	梗
125	ナベワリ	8 月 22 日	121.0	22.3	12.8	淡赤	8.38	3.63	5.57	2.99	梗
126	坊主ヤカン	8 月 21 日	126.6	20.9	10.4	淡赤	7.77	3.72	5.61	3.15	梗
127	的場 1 号	8 月 22 日	124.8	22.2	10.0	淡赤	7.48	3.65	5.35	3.02	梗
128	改良 13 号	8 月 18 日	99.2	25.4	10.4	赤	7.40	3.36	5.26	2.76	梗
129	赤ヤカン	8 月 24 日	106.0	19.7	14.0	黄白-黄	8.20	3.44	5.78	2.76	梗
130	真助ヤカン	8 月 22 日	117.2	18.7	10.6	褐	7.31	3.33	4.96	2.73	梗
131	フンデチャンゴミー	8 月 21 日	114.8	20.4	14.0	紫	8.34	3.62	5.97	2.78	梗

保存番号	品 種 名	穎色	芒	芒長	耐干性	低温発芽性	中茎伸長性 (mm)	導入元
66	胡桃早生 18 号	黄金	稀少	短	中	中	6.9	東北
67	桃太郎	黄	少	短	中	低	10.4	国内
68	早生八作	黄金	少	短	やや弱	中	7.4	東北
69	赤米	黄	少	短	やや弱	中	5.4	東北
70	戦捷	黄白	少	短	やや弱	低	8.5	東京
71	雷電	黄	少	短	やや弱	中	9.3	関東東山
72	オイラン	黄	稀	短	やや弱	中	12.7	熊本
73	高千穂	黄	稀	短	やや弱	やや低	8.4	宮崎
74	田優 1 号	黄	稀	短	弱	中	10.9	岩手
75	九州	黄	少	短	やや弱	やや低	3.8	九州
76	大島 2 号	黄	稀	短	やや弱	低	5.1	関東東山
77	久蔵	黄金	稀	短	やや強	やや低	11.2	国内
78	早生関取 c	黄金	少	短	弱	低	6.7	関東東山
79	早生関取 g	黄	少	中	やや弱	低	6.3	関東東山
80	藤助	黄白	稀	中	強	低	4.9	国内
81	戦捷茨城 1 号	黄白	-	-	-	-	6.2	-
82	身代起茨城 1 号	黄金	稀	短	強	やや低	9.0	茨城
83	黒芒	黄白	中	中	中	やや低	10.7	東北
84	氷川	黄金	少	短	中	中	12.1	国内
85	目黒	黄白	稀	短	中	やや低	15.2	関東東山
86	江戸川	黄	少	短	中	低	10.4	関東東山
87	最上梗 1 号	黄金	少	短	やや弱	やや低	13.4	山形
88	早生団子	黄	中	中	中	中	11.9	東海
89	早生信州	黄金	稀	短	やや弱	中	14.7	長野
90	東京戦捷	黄白	少	中	中	低	3.8	東京
91	大畑早生	黄白	少	短	中	やや低	8.1	群馬
92	平山	黄白	中	中	中	やや低	8.5	東京
93	枝垂坊主	褐-茶	稀	短	やや弱	やや低	7.7	国内
94	テレンズ	黄白	少	中	やや強	低	6.6	国内
95	金竜	黄	中	中	やや強	中	9.8	国内
96	茨城滋賀	黄金	中	中	中	中	26.4	国内
97	献上錦	褐-茶	稀	短	中	低	7.3	岩手
98	岡玉錦	黄	稀	短	やや弱	やや低	16.6	関東東山
99	富士岡撰	黄白	稀	短	中	低	7.9	国内
100	近成 2 号	黄白	稀	短	中	低	8.7	山形
101	常磐錦	黄白	少	短	やや強	低	7.3	福島
102	浦三	黄	稀	短	強	低	-	栃木
103	関根	黄	稀	短	中	低	6.5	国内
104	戦捷穂	黄白	少	短	中	やや低	10.8	東京
105	旱不知	黄白	少	短	極強	やや低	9.5	東北
106	五畝四石	黄白	少	短	やや弱	やや低	8.5	国内
107	山頭稲	黄金	少	短	中	高	13.1	国内
108	選出	黄白	少	短	中	やや低	8.0	国内
109	尾張 79 号	黄白	少	短	やや強	やや低	9.7	愛知
110	池沢 a	黄	少	短	強	中	8.7	国内
111	世界一	黄	少	短	中	やや低	10.1	千葉
112	重り坊主	-	稀	短	中	やや低	3.3	国内
113	磯月	黄白	少	短	中	やや低	6.7	国内
114	ホラリン	褐-茶	少	短	中	低	11.5	国内
115	大畑	黄白	少	短	中	中	5.4	群馬
116	三石	黄	少	短	やや強	やや低	9.9	奈良
117	銀助ヤカン	黄	-	-	-	-	11.7	-
118	陸稲旭	黄	少	短	中	中	4.6	鳥取
119	三太郎	黄	-	-	-	-	-	-
120	東京平山	黄白	中	中	強	中	10.4	東京
121	雄町	黄白	少	短	中	中	3.5	中国
122	芳山	黄白	少	短	極強	やや低	4.0	国内
123	浅賀	黄	稀	短	強	低	5.8	国内
124	関山	黄	少	短	中	中	3.1	国内
125	ナベワリ	黄	中	短	中	やや高	5.7	国内
126	坊主ヤカン	黄白	中	短	中	やや高	8.3	鹿児島
127	的場 1 号	黄	無	中	中	やや高	13.8	国内
128	改良 13 号	黄金	中	短	やや強	高	5.9	国内
129	赤ヤカン	黄	少	短	中	高	7.1	鹿児島
130	真助ヤカン	黄	中	短	やや弱	やや高	10.6	鹿児島
131	フンデチャンゴミー	黄	中	短	中	やや高	4.0	不明

保存番号	品 種 名	出穂期	稈長 (cm)	穂長 (cm)	穂数 (本/株)	ふ先色	籾長 (mm)	籾幅 (mm)	玄米長 (mm)	玄米幅 (mm)	梗・糯
132	陸稲神力1号	-	-	-	-	-	7.85	3.49	5.54	2.97	糯
133	神力1号	8月21日	129.2	18.2	11.6	黄白-黄	8.16	3.42	5.70	2.83	梗
134	久間田早生	8月21日	124.8	20.1	11.8	淡赤	8.23	3.61	5.61	2.95	梗
135	ナン	8月22日	128.0	21.3	9.6	黄白-黄	8.19	3.69	5.75	3.04	梗
136	長蔵坊主	8月21日	118.6	18.9	10.8	淡赤	8.38	3.42	5.95	2.69	梗
137	ハガクレ	8月26日	101.2	19.8	10.8	淡赤	7.21	3.84	5.11	3.08	梗
138	ビルマ	8月26日	107.0	20.9	11.2	淡赤	7.24	3.81	5.21	2.98	梗
139	晩生太郎	8月24日	120.0	20.9	11.0	淡赤	7.53	3.69	5.27	3.03	梗
140	東明	8月23日	126.2	22.3	13.4	淡赤	8.15	3.29	5.76	2.82	梗
141	玉白光	8月24日	123.2	19.9	10.8	黄白-黄	7.93	3.59	5.55	2.93	梗
142	千葉霧島	8月24日	113.6	22.0	10.0	淡赤	7.87	3.57	5.47	3.01	梗
143	短芒葉冠	8月21日	108.2	18.4	13.8	黄白-黄	7.74	3.50	5.53	3.01	梗
144	陸稲2号	8月21日	102.0	19.4	11.2	黄白-黄	8.06	3.50	5.76	2.87	梗
145	徳島九州	8月21日	97.6	18.1	10.2	褐	7.33	3.53	5.34	2.95	梗
146	嘉平	8月25日	102.6	24.9	8.4	淡赤	8.01	3.57	5.85	2.98	梗
147	葉広	8月27日	106.4	21.4	14.0	黄白-黄	7.84	2.93	5.45	2.32	梗
148	葉冠	8月22日	90.6	18.8	13.0	黄白-黄	7.83	3.42	5.60	2.90	梗
149	葉冠20号	8月25日	90.6	18.0	10.8	黄白-黄	7.44	3.52	5.45	3.04	梗
150	鹿児島葉冠1号	8月24日	92.8	17.4	10.4	黄白-黄	7.86	3.62	5.57	3.04	梗
151	宮錦	8月24日	88.6	19.7	10.8	黄白-黄	7.97	3.21	5.53	2.58	梗
152	松山	8月26日	112.6	20.3	12.8	黄白-黄	7.90	3.38	5.52	2.88	梗
153	長茎シャクセンモドシ	8月26日	129.4	22.0	15.0	黄白-黄	9.36	3.18	6.92	2.55	梗
154	オンジョ	8月26日	112.6	24.4	12.0	黄白-黄	9.32	3.22	6.96	2.63	梗
155	蓬原葉冠	8月27日	103.0	18.6	9.4	黄白-黄	7.77	3.33	5.85	2.78	梗
156	クロンボ	8月26日	105.6	16.8	8.6	黄白-黄	7.68	3.24	5.29	2.71	梗
157	葉冠1号	8月25日	111.4	18.2	10.6	黄白-黄	8.48	3.20	5.54	2.67	梗
158	オイラン1号	8月26日	116.4	23.6	10.2	黄白-黄	8.09	3.32	5.53	2.71	梗
159	田島1号	8月21日	101.4	22.7	13.0	黄白-黄	8.56	3.28	6.01	2.64	梗
160	ヤカン	8月24日	107.2	20.2	11.8	黄白-黄	7.88	3.29	5.45	2.60	梗
161	肝付在来ヤカン	8月27日	121.8	18.2	11.4	黄白-黄	7.85	3.45	5.74	2.88	梗
162	霧島	8月30日	118.2	20.6	10.6	淡赤	8.37	3.30	5.98	2.58	梗
163	オッカモドシ	8月29日	108.6	24.3	10.6	淡赤	7.96	3.61	5.76	2.97	梗
164	阿波富貴	8月30日	120.0	21.9	11.4	淡赤	9.09	3.07	6.51	2.45	梗
165	高城	8月25日	120.8	22.1	11.0	淡赤	9.26	2.96	6.82	2.47	梗
166	照不知	8月26日	94.0	18.3	12.8	赤	7.47	3.84	5.35	3.17	梗
167	三重	9月2日	97.0	18.6	10.6	赤	7.15	3.62	5.05	2.99	梗
168	山田化	8月22日	108.0	21.6	9.8	赤	8.13	3.51	5.85	2.90	梗
169	三太初	8月29日	125.4	21.5	9.8	赤	7.41	3.80	5.57	3.26	梗
170	コゾ	8月26日	129.4	20.8	12.4	黄白-黄	9.00	3.45	6.47	2.85	梗
171	黒鬚選出	8月28日	121.8	21.6	10.0	赤	9.43	3.32	6.38	2.69	梗
172	権現堂葉冠	8月27日	126.2	20.4	10.4	赤	8.17	3.48	5.71	3.54	梗
173	オンジョ葉冠	8月25日	119.4	21.9	13.2	黄白-黄	7.69	3.46	5.44	2.89	梗
174	福坊主	8月13日	95.4	19.9	12.8	黄白-黄	7.38	3.58	5.20	3.05	梗
175	白鬚	-	-	-	-	-	8.27	3.93	5.87	3.20	糯
176	大国早生	8月10日	91.8	17.5	12.6	黄白-黄	7.09	3.70	5.10	3.25	梗
177	赤城早生	8月11日	86.6	17.7	9.8	赤	7.53	3.82	5.51	3.25	梗
178	布島早生	8月11日	106.8	18.1	13.2	赤	8.51	3.60	6.04	3.04	梗
179	沖縄陸稲	8月12日	96.0	20.0	13.8	黄白-黄	8.20	3.16	5.98	3.24	梗
180	北海早生	8月13日	102.6	21.1	12.0	黄白-黄	7.12	3.54	5.03	2.98	梗
181	北海赤毛	8月4日	90.4	22.4	11.4	黄白-黄	8.11	3.44	5.76	2.83	梗
501	水野黒糯	-	-	-	-	-	7.20	3.60	5.20	2.90	糯
502	巴糯	8月5日	92.0	21.3	-	黄白-黄	7.60	3.20	5.30	2.80	梗
503	金子糯	8月6日	103.0	25.8	-	黄褐	7.40	3.30	5.50	2.60	-
504	夜の雪	8月8日	93.0	27.3	-	黒紫	7.60	3.20	5.40	2.70	糯
505	最上糯1号	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
506	大島3号	8月9日	90.0	22.8	-	黄白-黄	7.80	3.60	5.50	3.00	梗
507	夜の雪糯	8月10日	91.0	28.2	-	黒紫	7.90	3.50	5.50	2.90	糯
508	夜の雪36号	8月9日	89.0	28.8	-	黒紫	8.00	3.40	5.40	2.80	糯
509	定平旭	8月11日	92.0	23.2	-	淡赤	7.70	3.50	4.90	3.00	糯
510	太郎作糯	8月10日	92.0	21.5	-	赤	7.10	3.20	5.00	2.80	糯
511	多枝糯	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
512	鴻巣陸稲5号	8月12日	83.0	21.5	-	黄白-黄	8.20	3.70	5.60	3.00	糯
513	千本	8月10日	86.0	24.8	-	黄白-黄	7.90	3.70	5.50	3.00	梗
514	東京支那糯	8月10日	85.0	21.4	-	赤	7.60	3.60	5.10	2.80	糯
515	旭糯	8月12日	85.0	23.8	-	黄白-黄	8.80	3.70	5.80	2.90	糯
516	大黒糯	8月10日	92.0	22.8	-	黄白-黄	8.60	3.40	5.70	2.70	糯

保存番号	品 種 名	穎色	芒	芒長	耐干性	低温発芽性	中茎伸長性 (mm)	導入元
132	陸稲神力1号	黄白	-	-	-	-	3.3	東北
133	神力1号	黄白	稀	短	中	やや高	4.7	宮崎
134	久間田早生	黄白	少	短	中	やや高	6.7	近畿
135	ナン	黄	少	中	中	中	5.2	鹿児島
136	長蔵坊主	黄白	少	中	中	やや高	5.1	国内
137	ハガクレ	黄白	無	-	やや弱	高	8.8	九州
138	ビルマ	黄白	稀	短	やや弱	高	9.0	不明
139	晩生太郎	黄白	少	中	中	高	4.6	関東東山
140	東明	黄	稀	短	中	やや高	10.1	関東東山
141	玉白光	黄	稀	短	強	やや高	11.9	関東東山
142	千葉霧島	黄	少	短	中	やや高	15.6	千葉
143	短芒葉冠	黄	少	短	中	高	5.1	鹿児島
144	陸稲2号	黄金	少	短	中	中	8.4	関東東山
145	徳島九州	黄金	中	中	やや弱	やや高	10.4	国内
146	嘉平	黄白	少	中	やや弱	高	10.9	鹿児島
147	葉広	黄	少	中	中	高	10.3	東北
148	葉冠	黄白	少	短	中	高	8.5	鹿児島
149	葉冠20号	黄白	中	中	やや強	やや高	10.0	九州
150	鹿児島葉冠1号	黄白	中	中	やや強	やや高	8.8	鹿児島
151	宮錦	黄	少	短	中	やや高	8.9	宮崎
152	松山	黄	少	短	中	やや高	10.4	愛媛
153	長茎シャクセンモドシ	黄	少	中	やや強	高	4.9	国内
154	オンジョ	黄金	少	中	中	やや高	8.9	国内
155	蓬原葉冠	黄	少	中	中	中	14.6	鹿児島
156	クロンボ	黄白	稀	短	やや強	高	9.3	鹿児島
157	葉冠1号	黄	稀	短	やや強	やや高	8.6	九州
158	オイラン1号	黄白	稀	短	中	高	11.3	熊本
159	田島1号	黄	稀	短	中	やや高	9.6	熊本
160	ヤカン	黄	少	中	中	やや高	9.1	鹿児島
161	肝付在来ヤカン	黄白	中	中	中	やや高	5.6	鹿児島
162	霧島	黄白	少	中	やや弱	やや高	6.8	鹿児島
163	オッカモドシ	黄白	稀	短	やや強	やや高	10.8	国内
164	阿波富貴	黄白	稀	短	中	やや高	3.1	徳島
165	高城	黄白	稀	短	中	高	5.1	国内
166	照不知	黄	稀	短	中	やや高	4.8	国内
167	三重	黄白	少	短	中	高	6.6	三重
168	山田化	黄白	中	中	中	高	8.8	鹿児島
169	三太初	黄白	少	中	中	中	7.5	国内
170	コゾ	黄白	少	中	中	高	3.8	国内
171	黒鬚選出	黄	少	短	中	やや高	6.7	東北
172	権現堂葉冠	黄白	中	中	中	やや高	6.2	九州
173	オンジョ葉冠	黄白	少	短	中	やや高	11.0	九州
174	福坊主	黄金	少	短	中	やや高	7.2	東北
175	白鬚	黄	-	-	-	-	8.0	愛知
176	大國早生	黄金	少	短	やや強	やや低	-	山形
177	赤城早生	黄	少	短	やや弱	やや高	8.2	群馬
178	布島早生	黄	少	中	中	やや高	7.4	国内
179	沖縄陸稲	黄	中	短	中	やや高	5.2	沖縄
180	北海早生	褐-茶	中	中	強	低	8.6	北海道
181	北海赤毛	褐-茶	中	中	強	-	-	北海道
501	水野黒糯	褐-茶	-	-	極弱	低	-	国内
502	巴糯	黄白	無	-	弱	高	12.4	北海道
503	金子糯	赤褐-褐	多	長	弱	低	33.1	東京
504	夜の雪	褐-茶	多	長	やや弱	低	23.1	茨城
505	最上糯1号	-	-	-	-	-	22.0	東京
506	大島3号	黄白	無	-	やや弱	極高	23.0	関東東山
507	夜の雪糯	褐-茶	多	長	弱	中	24.5	茨城
508	夜の雪36号	黄	少	長	弱	低	20.7	群馬
509	定平旭	黄白	稀	短	弱	低	39.4	秋田
510	太郎作糯	黄	稀	短	やや弱	極低	28.1	関東東山
511	多枝糯	-	-	-	-	-	6.7	鹿児島
512	鴻巣陸稲5号	黄白	稀	短	やや弱	中	9.8	埼玉
513	千本	黄	中	中	やや弱	低	6.8	国内
514	東京支那糯	黄白	少	短	中	低	12.4	国内
515	旭糯	黄白	中	短	やや弱	低	8.9	鳥取
516	大黒糯	黄白	少	短	やや弱	低	16.8	秋田

保存番号	品 種 名	出穂期	稈長 (cm)	穂長 (cm)	穂数 (本/株)	ふ先色	初長 (mm)	初幅 (mm)	玄米長 (mm)	玄米幅 (mm)	梗・糯
517	良温	8月10日	86.0	23.8	-	黄白-黄	8.30	3.50	4.70	3.00	糯
518	凱旋茨城2号	8月12日	90.0	22.3	-	黄白-黄	8.90	3.60	5.80	3.00	糯
519	定温	8月13日	90.0	26.0	-	黄白-黄	7.60	3.40	5.00	2.70	糯
520	豊年糯	8月12日	83.0	21.0	-	黒紫	9.00	3.60	6.00	3.00	糯
521	赤糯	8月12日	104.0	27.5	-	淡赤	8.10	3.70	5.80	2.80	糯
522	大島4号	8月12日	80.0	24.5	-	黄白-黄	7.70	3.50	5.40	2.90	糯
523	蝦夷早生	-	-	-	-	-	-	-	-	-	梗
524	大島1号	8月11日	94.0	25.4	-	黄白-黄	7.50	3.40	5.10	2.90	糯
525	早凱旋	9月12日	102.0	22.2	-	黄白-黄	7.60	3.30	5.10	2.70	糯
526	支那糯	8月12日	111.0	24.6	-	黄白-黄	8.30	3.60	5.70	3.00	糯
527	江曾島糯	8月13日	98.0	25.5	-	黄白-黄	8.60	3.50	5.80	3.00	糯
528	江曾島糯	-	-	-	-	-	-	-	-	-	梗
529	江曾島	8月20日	95.0	23.9	-	紫	7.70	3.90	5.20	3.20	糯
530	団子b	8月16日	97.0	25.4	-	黄白-黄	9.00	3.70	6.00	2.90	糯
531	早生団子糯	8月19日	80.0	19.7	-	黄白-黄	7.20	3.40	5.00	2.70	糯
532	団子糯2号	8月16日	86.0	22.6	-	黄白-黄	7.70	3.40	5.40	2.90	糯
533	高砂早生	8月19日	95.0	22.2	-	黄白-黄	8.20	3.60	5.30	2.90	糯
534	上州b	8月18日	92.0	22.3	-	黄白-黄	8.60	3.60	5.80	3.00	糯
535	支那d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	梗
536	早生江曾島糯20号	8月20日	94.0	22.1	-	黄白-黄	9.00	3.80	6.00	3.10	糯
537	金芳崎43号	8月17日	97.0	24.2	-	黄白-黄	9.50	3.70	6.40	2.90	糯
538	美濃早生	8月17日	96.0	22.8	-	黄白-黄	8.90	3.60	6.10	3.00	糯
539	東京藤蔵糯	8月16日	87.0	23.0	-	黄白-黄	8.70	3.40	5.90	2.80	糯
540	台湾糯	-	-	-	-	-	-	-	-	-	梗
541	中生島糯	8月16日	95.0	25.5	-	黒紫	8.90	3.60	6.00	2.90	糯
542	豊年	8月18日	88.0	20.8	-	黄白-黄	8.20	3.50	5.50	2.80	糯
543	ヤスモチ	8月17日	97.0	24.2	-	紫	8.40	3.50	5.70	2.80	糯
544	近藤糯	8月15日	98.0	24.1	-	黒紫	8.30	3.60	5.70	3.00	糯
545	百日早生	8月21日	105.0	23.6	-	黄白-黄	8.30	3.60	5.60	2.90	糯
546	平川晩稻	8月23日	109.0	24.3	-	黄白-黄	8.40	3.90	5.70	3.10	糯
547	富国糯	8月21日	91.0	21.8	-	黄白-黄	8.60	3.60	6.10	2.90	糯
548	日の出	-	-	-	-	-	-	-	-	-	梗
549	凱旋糯	8月17日	100.0	23.8	-	黄白-黄	7.60	3.40	5.30	2.90	糯
550	平和糯	8月20日	99.0	21.2	-	黄白-黄	8.80	3.60	5.90	3.00	糯
551	鴻巣陸稻4号	8月24日	108.0	24.7	-	黄白-黄	8.40	3.60	5.60	2.80	糯
552	富貴	8月23日	106.0	25.6	-	黄白-黄	8.40	3.60	5.80	2.90	糯
553	在来	-	-	-	-	-	7.80	3.50	5.50	2.80	糯
554	四國糯	8月15日	85.0	21.4	-	黒紫	7.90	3.60	5.30	3.00	糯
555	藤蔵糯16号	8月23日	96.0	23.6	-	黄褐	8.80	3.70	6.00	2.90	糯
556	藤蔵糯	-	-	-	-	-	-	-	-	-	梗
557	頃藤糯	8月23日	110.0	24.1	-	黄白-黄	8.40	3.70	5.80	2.90	糯
558	熱田凱旋	8月21日	108.0	24.4	-	黄白-黄	8.70	3.50	5.90	2.70	糯
559	尾張糯	8月23日	107.0	26.5	-	黄白-黄	8.50	3.60	5.90	3.10	糯
560	美濃糯	-	-	-	-	-	-	-	-	-	糯
561	美濃糯	8月8日	87.0	22.3	8.2	黄白-黄	8.80	3.70	6.10	2.90	糯
562	國光糯	8月10日	95.0	22.9	8.4	黄白-黄	8.50	3.30	5.70	2.40	糯
563	鹿沼糯	8月12日	93.0	20.4	9.4	黄白-黄	9.00	3.40	6.10	2.90	糯
564	行方糯	8月23日	99.0	20.9	7.8	赤	7.30	3.50	5.00	3.00	糯
565	日野毛糯	8月26日	101.0	23.2	7.8	赤	6.90	3.20	4.90	2.60	糯
566	栃木不明種	8月23日	98.0	22.3	6.4	赤	7.60	3.50	5.10	2.80	糯
567	アメリカ	8月25日	104.0	21.1	5.4	赤	7.20	3.60	5.10	2.90	糯
568	黒禾糯	8月28日	100.0	21.8	7.0	赤	7.10	3.50	4.70	3.00	糯
569	栃木溝合糯	8月8日	93.0	26.1	6.0	淡紫	8.90	3.40	5.90	2.80	糯
570	矢作糯j	8月25日	100.0	21.9	8.0	赤	7.40	3.50	5.10	2.80	糯
571	毛糯	8月29日	94.0	20.8	6.2	淡赤	7.30	3.30	5.00	2.70	糯
572	野神力糯	8月30日	93.0	22.0	8.4	黄白-黄	8.90	3.70	6.00	2.90	糯
573	野神力糯	8月30日	94.0	23.4	10.6	黄白-黄	8.80	3.60	5.60	2.80	糯
574	吉野糯114号	8月28日	93.0	21.8	7.8	黄白-黄	8.90	3.60	6.20	3.00	糯
575	吉野糯在来	8月14日	97.0	21.5	6.8	紫	7.70	3.30	5.30	2.80	糯
576	吉野糯	8月30日	95.0	22.5	8.0	黄白-黄	8.60	3.50	6.00	2.90	糯
577	清国大王糯	8月30日	101.0	22.2	7.2	黄白-黄	8.70	3.80	6.00	3.00	糯
578	鹿兒島凱旋糯1号	8月28日	101.0	21.3	9.6	黄白-黄	8.70	3.80	6.20	3.00	糯
579	高知在来種	8月29日	100.0	21.6	9.2	黄白-黄	8.50	3.80	6.00	3.20	糯
580	熊本1号	8月30日	105.0	24.7	7.4	黄白-黄	8.60	4.00	6.10	3.30	糯
581	神力	8月29日	100.0	22.3	7.8	黄白-黄	8.70	4.00	6.00	3.30	糯
582	団子糯	8月29日	102.0	22.5	7.2	黄白-黄	8.70	3.70	6.10	3.10	糯

保存番号	品 種 名	穎色	芒	芒長	耐干性	低温発芽性	中茎伸長性 (mm)	導入元
517	良温	黄白	稀	短	弱	低	13.0	岩手
518	凱旋茨城 2 号	黄白	稀	短	やや弱	中	8.4	茨城
519	定温	黄白	無	-	やや弱	低	9.3	岩手
520	豊年糯	黄白	中	中	やや強	低	5.2	新潟
521	赤糯	褐-茶	中	中長	弱	低	14.1	東北
522	大島 4 号	黄白	稀	短	弱	高	11.9	関東東山
523	蝦夷早生	-	-	-	-	-	9.0	不明
524	大島 1 号	黄白	稀	短	やや強	中	15.0	関東東山
525	早凱旋	黄白	多	長	弱	低	22.2	東北
526	支那糯	黄白	少	短	強	低	10.7	関東東山
527	江曾島糯	黄白	稀	短	やや弱	中	8.1	栃木
528	江曾島糯	-	-	-	-	-	6.8	鹿児島
529	江曾島	黄	稀	短	極弱	高	13.5	栃木
530	団子 b	黄	稀	短	弱	低	8.3	関東東山
531	早生団子糯	黄	多	長	中	中	8.7	東海
532	団子糯 2 号	黄白	多	長	中	中	9.9	宮崎
533	高砂早生	黄白	中	長	極強	高	8.6	国内
534	上州 b	黄白	無	-	やや強	低	6.9	群馬
535	支那 d	-	-	-	-	-	15.3	鹿児島
536	早生江曾島糯 20 号	黄白	稀	短	やや弱	極低	10.3	栃木
537	金芳崎 43 号	黄白	稀	短	やや弱	低	6.9	国内
538	美濃早生	黄白	稀	短	やや弱	低	9.5	岐阜
539	東京藤蔵糯	黄	稀	短	中	高	9.7	東京
540	台湾糯	-	-	-	-	-	9.4	鹿児島
541	中生島糯	黄	多	長	弱	高	9.9	国内
542	豊年	黄	少	中	強	中	8.6	新潟
543	ヤスモチ	黄白	中	短	中	中	13.5	国内
544	近藤糯	紫	中	短	やや強	低	7.8	国内
545	百日早生	黄白	稀	短	やや弱	低	12.1	国内
546	平川晩稲	黄	稀	短	やや強	低	7.2	国内
547	富国糯	黄白	少	短	中	低	8.0	北海道
548	日の出	-	-	-	-	-	11.9	国内
549	凱旋糯	黄白	稀	短	やや強	高	9.9	東北
550	平和糯	黄白	稀	短	極弱	極低	9.5	新潟
551	鴻巣陸稲 4 号	黄白	稀	短	やや弱	低	9.7	埼玉
552	富貴	黄白	稀	短	弱	中	9.2	国内
553	在来	黄白	-	-	中	低	14.5	国内
554	四國糯	黄	少	短	やや弱	高	30.9	四国
555	藤蔵糯 16 号	黄白	稀	短	弱	極低	19.5	東京
556	藤蔵糯	-	-	-	-	-	10.3	東北
557	頃藤糯	黄白	稀	短	弱	低	10.8	東京
558	熱田凱旋	黄	少	短	極強	中	12.5	愛知
559	尾張糯	黄白	少	短	極弱	低	10.7	愛知
560	美濃糯	-	-	-	-	-	15.3	愛知
561	美濃糯	黄白	極少	極短	強	やや高	7.2	山形
562	國光糯	黄白	稀	-	やや強	極低	9.0	関東東山
563	鹿沼糯	黄白	無	短	弱	中	8.7	関東東山
564	行方糯	黄白	中	短	やや弱	低	-	関東東山
565	日野毛糯	紫	中	短	中	やや低	9.6	島根
566	栃木不明種	黄白	やや多	短	やや弱	やや高	-	栃木
567	アメリカ	褐-茶	多	長	弱	低	-	国内
568	黒禾糯	黄白	多	中	中	やや低	-	関東東山
569	栃木溝合糯	黄白	稀	淡	やや強	やや低	13.1	栃木
570	矢作糯 j	黄白	中	短	中	やや高	8.6	茨城
571	毛糯	褐-茶	やや多	中	やや弱	低	nd	東北
572	野神力糯	黄白	稀	-	強	中	3.5	鹿児島
573	野神力糯	黄白	稀	-	中	中	6.4	鹿児島
574	吉野糯 114 号	黄白	稀	-	中	中	5.9	岐阜
575	吉野糯在来	紫	多	中	強	やや低	9.2	奈良
576	吉野糯	黄白	稀	-	やや強	やや高	5.2	奈良
577	清国大王糯	黄白	無	-	中	やや高	7.3	国内
578	鹿児島凱旋糯 1 号	黄白	稀	-	中	中	7.1	鹿児島
579	高知在来種	黄白	稀	-	中	やや高	9.9	高知
580	熊本 1 号	黄白	稀	極短	やや強	やや高	12.9	国内
581	神力	黄白	極少	極短	弱	中	7.5	九州
582	団子糯	黄白	稀	-	中	やや高	9.0	東海

保存番号	品 種 名	出穂期	稈長 (cm)	穂長 (cm)	穂数 (本/株)	ふ先色	初長 (mm)	初幅 (mm)	玄米長 (mm)	玄米幅 (mm)	梗・糯
583	中島糯	8月29日	103.0	21.5	9.2	黄白-黄	8.60	3.60	6.00	3.10	糯
584	瑞穂司糯	8月31日	102.0	21.1	9.6	黄白-黄	8.60	3.90	6.00	3.20	糯
585	鹿兒島凱旋糯	8月27日	101.0	22.8	9.0	黄白-黄	8.50	4.00	5.90	3.30	糯
586	アラビア糯	8月26日	97.0	20.4	6.8	黄白-黄	8.80	4.00	6.20	3.10	糯
587	埼玉糯1号	8月29日	99.0	21.8	9.2	黄白-黄	8.30	3.70	5.90	3.20	糯
588	山辺糯	8月8日	79.0	20.8	7.8	黄白-黄	8.30	3.70	5.90	3.10	糯
589	早不知c糯	8月7日	83.0	19.0	9.8	黄白-黄	8.40	3.60	6.00	3.00	糯
590	正糯	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
591	野糯	8月29日	103.0	22.2	8.4	黄白-黄	8.30	3.70	5.90	3.10	糯
592	イギリス	8月31日	97.0	20.5	10.2	黄白-黄	8.30	3.80	6.00	3.10	糯
593	早凱旋	8月29日	96.0	21.7	9.6	黄白-黄	8.60	3.80	6.30	3.30	糯
594	黒芒	8月10日	72.0	18.7	9.4	紫	8.30	3.90	6.00	3.20	梗
595	金光坊	8月3日	85.0	18.5	9.0	淡赤	7.40	3.80	5.00	3.10	糯
596	若の花	8月27日	105.0	21.8	8.6	淡赤	7.60	3.70	5.20	3.00	糯
597	陸稲サク米	8月30日	97.0	19.6	10.8	黄白-黄	8.80	3.70	6.10	3.10	糯
598	バラバラ糯	8月10日	72.0	20.6	9.6	黄白-黄	8.30	3.70	5.60	3.00	糯
599	矢吹	7月31日	77.0	18.1	11.8	淡赤	8.00	3.50	5.40	2.90	糯
600	神奈川	8月5日	84.0	17.7	6.6	淡赤	7.10	3.60	4.70	2.90	糯
601	ばらばら	7月26日	82.0	19.9	8.8	赤褐	7.90	3.40	5.90	2.90	梗
602	瀬谷1号	8月9日	71.0	20.3	8.8	黄白-黄	8.10	3.80	5.60	3.00	糯
603	瀬谷2号	8月10日	76.0	18.8	9.2	黄白-黄	8.30	3.60	5.80	3.00	糯
604	八街在来	8月5日	82.0	17.6	7.6	淡赤	7.50	3.50	5.20	2.80	糯
605	ミヤマモチ	8月4日	79.0	25.3	6.3	黄白-黄	7.90	3.40	5.30	2.70	糯
606	ハタミノリモチ	8月10日	82.0	27.0	6.7	紫	8.30	3.50	5.50	2.80	糯
607	黒目糯	8月4日	70.0	22.5	7.8	黄白-黄	8.70	3.80	6.20	3.10	糯
608	津南畑糯	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

保存番号	品 種 名	穎色	芒	芒長	耐干性	低温発芽性	中茎伸長性 (mm)	導入元
583	中島糯	黄白	稀	-	弱	中	7.2	-
584	瑞穂司糯	黄白	稀	-	中	やや高	6.7	-
585	鹿兒島凱旋糯	黄白	稀	-	中	やや高	8.1	-
586	アラビア糯	黄白	稀	-	中	やや低	6.9	-
587	埼玉糯 1 号	黄白	稀	短	やや弱	やや高	5.2	-
588	山辺糯	黄白	稀	-	極強	やや低	7.1	-
589	早不知 c 糯	黄白	稀	-	極強	やや低	7.7	-
590	正糯	-	-	-	-	-	4.6	-
591	野糯	黄白	稀	-	やや弱	中	8.4	-
592	イギリス	黄白	稀	-	弱	中	6.2	-
593	早凱旋	黄白	稀	極短	やや強	やや低	5.3	-
594	黒芒	黄白	やや少	短	やや強	やや高	10.2	-
595	金光坊	黄白	無	-	極弱	中	18.3	-
596	若の花	黄白	無	-	やや強	低	nd	-
597	陸稲サク米	黄白	稀	-	中	やや低	7.6	-
598	バラバラ糯	黄白	無	-	強	中	8.3	-
599	矢吹	黄白	無	-	やや強	低	4.0	-
600	神奈川	黄白	無	-	弱	中	13.6	-
601	ばらばら	黄白	やや多	中	弱	やや高	10.9	-
602	瀬谷 1 号	黄白	稀	-	強	中	7.3	-
603	瀬谷 2 号	黄白	稀	-	やや強	低	11.6	-
604	八街在来	黄白	無	-	弱	中	12.7	-
605	ミヤマモチ	黄白	稀	短	極強	高	nd	-
606	ハタミノリモチ	黄白	少	短	強	極高	8.0	-
607	黒目糯	黄白	無	-	極強	やや低	14.6	-
608	津南畑糯	-	-	-	-	-	10.8	-

研究資料

グラジオラスのプロトプラスト単離および その利用に係る諸条件の検討

高津康正・富田健夫

プロトプラストは細胞壁を有さないという特性があり、種々の細胞生物学的な実験や DNA 抽出等を行う場合には好都合であると考えられる。グラジオラスにおいては従来法による染色体観察には熟練を要してきた。また葉の組織が硬いために、DNA 抽出の際のサンプルの磨碎に労力を要している。これらのことから、プロトプラストを利用した染色体観察方法（酵素解離法）に係る実験条件、並びにプロトプラスト化した細胞からの省力的な DNA 抽出方法について検討した。その結果、染色体観察のためには根端を材料として 2.0% セルラーゼ・オンゾカ RS + 1.5% マセロザイム R200 + 0.3% ペクトリアーゼ Y23 の混合酵素液により、25℃ にて 45 分間～60 分間の消化処理を行うことが適当であることを明らかにした。また、2.0% セルラーゼ・オンゾカ RS + 0.05% ペクトリアーゼ Y-23 の混合酵素液を用いて、30℃ で 6 時間の消化処理を行うことで葉肉プロトプラストが得られ、これを用いて省力的な DNA 抽出が可能であることが示された。

キーワード：染色体観察，DNA 抽出，プロトプラスト，グラジオラス

I. 緒 言

プロトプラストの単離・培養については 1980 年代より種々の植物種で試みられてきており (Gajdova ら 2004)、いくつかの植物種ではプロトプラスト由来の再分化個体も得られている (大塚ら 1985, Nakano・Mii 1992)。特にイネでは、培養困難とされた品種にも適応可能な培養系の確立 (西宮ら 2000) など種々の研究の蓄積がある。しかし研究が進むに従って同時にプロトプラスト培養の困難性や再分化個体に観察される障害についても明らかとなってきている (Gajdova ら 2004)。またプロトプラストを利用した細胞融合により種属間雑種を作出する試みも数多くなされてきたが、例えば *Cucumis* 属においては雑種性が確認されたものは 2 例 (Yamaguchi・Shiga 1993, Bordas ら 1998) に留まっており、その困難性が推察され

る。これらのことから、現在ではプロトプラストを利用して変異を誘発したり体細胞雑種を作出して育種に利用しようとする研究は数少ないものとなっている。

一方、プロトプラストには細胞壁を有さないという特性があり、種々の細胞生物学的な実験や DNA 抽出等を行う場合には好都合であると考えられる。特に単子葉植物では細胞組織が概して硬く、染色体観察の際の根端の押しつぶしや葉片細胞からの DNA 抽出の際に労力を要することが多い。

グラジオラスにおいては、球茎から太く硬い直根が生じるために従来法による染色体観察には熟練を要してきた。またイネと同様に葉の中肋などの組織が硬いために、DNA 抽出の際のサンプルの磨碎に労力を要し、DNA の収量にも影響をおよぼすものと考えられる。DNA マーカーを利用した育種をすすめるためには、多数のサンプ

ルから効率よく DNA を抽出することが必要となってくる。また RAPD 法などの利用にあたっては再現性の高いデータを得るために、より質のよい（不純物の混入の少ない）DNA を得ることが望ましい。そこでこれらの問題を解決するために、プロトプラストを利用した染色体観察方法（酵素解離法）および省力的な DNA 抽出法について検討した。なお本研究は、農林水産省から先端技術等地域実用化研究促進事業（バイオテクノロジー型）「グラジオラスの種間交雑育種における DNA マーカー利用技術の開発」（1997～2002）の助成を受けて実施したものである。

II. 材料および方法

1. 酵素解離法による染色体数の確認方法の検討

材料として染色体数の確認が比較的容易と思われる 2 倍体 ($2n = 30$) 野生種 (*Gladiolus tristis*) を用いて、プロトプラスト単離の条件検討を行った。球茎をバーミキュライトを詰めた 6 cm 径のポリポットで栽培し、1 cm 程度に伸長した根の先端を氷冷しながら採取した。根端の採取は晴天日の午前 10:00 ころに行った。酵素液を 1.5 ml チューブ内に 1 ml ずつ分注し、採取した根端を 1 本ずつ浸漬して 25℃ で消化処理した。

酵素液の組成は 2.0% セルラーゼオノヅカ RS + 1.5% マセロザイム R200 + 0.3% ペクトリアーゼ Y23 + 1 mM EDTA2Na (pH4.2) とし（丸橋私信）、処理時間を 30, 45, 60 または 75 分間としてその効果を比較した。酵素処理の終了した根端を蒸留水で 2 回洗浄した後、ファーマー液（エタノール：酢酸 = 3:1）を滴下しながら解剖針でスライドガラス上に拡散した。

処理後、単離したプロトプラストの状態および染色体数についてノマルスキー型光学顕微鏡（オリンパス BX50）にて観察し、最適な酵素処理時間および染色体数確認の可否について判断した。

2. グラジオラスからの葉肉プロトプラストを経由した DNA 抽出条件の検討

(1) グラジオラス葉片からのプロトプラスト単離条件の検討

材料としては、茨城県岩間町の露地圃場で県耕種基準に則り栽培したグラジオラス (*G. x grandiflora*) ‘トラベ

ラ’ の成葉を用いた。グラジオラスではこれまでにプロトプラスト単離に関する報告が知られていないため、細胞壁分解酵素の組成として単子葉植物または双子葉植物で報告のある組成を試用した。すなわち、大槻（1990）のイネ用の酵素液を改変したグラジオラス用処方（2.0% セルラーゼオノヅカ RS + 0.05% ペクトリアーゼ Y-23, 500 mM マンニトール, pH5.6: 以下 G 処方とする）、または山田（1992）により報告されているキク用の処方（0.5% セルラーゼオノヅカ RS + 0.25% マセロザイム R10）を CPW 液（Frearson ら 1973, Table 1）にて溶解したもの（pH5.6, 以下 M 処方とする）とし、これら 2 種類の酵素を用いてその効果を比較した。

Table 1. Composition of CPW solution used in the experiment for protoplast isolation from gladiolus leaves.

Components	mg / l
KH ₂ PO ₄	27.2
KNO ₃	101.0
CaCl ₂ · 2H ₂ O	1480.0
MgSO ₄ · 7H ₂ O	246.0
KI	0.16
CuSO ₄ · 5H ₂ O	0.025
Mannitol	9108.5
pH5.6	

また本実験ではプロトプラストの培養が目的ではないため、材料の滅菌処理は行わずに採取した成葉をそのまま酵素処理に用いた。成葉 0.2 g を横方向に細刻した後、2 ml（10 倍量）の酵素液を加えて 30℃ で 6 時間、暗黒条件で消化処理を行った。酵素処理の終了した細胞液をナイロンメッシュ（85 μm）で濾過し、濾液を微量高速冷却遠心器にて 6,000 rpm で 1 分間遠心（室温）してプロトプラストを回収した。

(2) 抽出した DNA の品質に関する検討

上記により回収したプロトプラストを CPW 液に再懸濁して、向井・山本（1997）の方法をベースとした改変 CTAB 法により DNA を抽出した（Fig.1）。また DNA の品質を比較するために、同様に露地栽培したグラジオラス ‘トラベラ’ の成葉 0.2 g から、乳鉢および液体窒素を用いて磨砕する方法による改変 CTAB 法により DNA を抽出して供試した。

抽出した DNA はそれぞれ TE 緩衝液（10 mM Tris, 1

sample leaf
 ↓
 chopped in 1 mm width
 ↓
 enzyme treatment for 6 hours
 ↓
 filtration (85 μ m mesh)
 ↓
 6,000rpm, 1 min.
 ↓
 precipitation
 ↓
 suspend in IB buffer
 ↓
 add 5 volume of LB buffer
 ↓
 add CTAB, 65°C for 10 min.
 ↓
 chloroform extraction
 15,000rpm, 10 min.
 ↓
 supernatant
 ↓
 add same volume of isopropanol
 ↓
 6,000rpm, 5 min.
 ↓
 suspend in TE buffer

Fig.1. Procedure of DNA extraction from gladiolus leaf via protoplast. This is according to the method described by Mukai and Yamamoto(1997).

mM EDTA) で 50 倍に希釈して、分光光度計 (ベックマン, DU-7400) により紫外線吸光度を測定した。

次に、調整した DNA を鋳型として 5 種類のランダムプライマー (OPA07, OPA09, OPA11, OPA14 および OPA15, Operon, 10 mer kits) による PCR を行い, RAPD パターンを比較した。PCR 反応液 (50 μ l) の組成は, 10 mM Tris-HCL (pH 8.5), 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂, 200 μ M dNTP mix, 200 pM プライマー, 250 ng 鋳型 DNA および 2.5 ユニットの AmpliTaq Gold™ とし, 温度条件は 95°C・9 分間の保温の後, 94°C・1 分, 40°C・2 分, 72°C・3 分 (40 サイクル) とした。

PCR 産物は 5 μ l ずつ 1.5% アガロースゲルを用いた電気泳動 (100 V, 20 分) により分離し, バンドパターンを比較することでそれぞれの鋳型とした DNA の品質を推定した。

Ⅲ. 結果および考察

1. 酵素解離法による染色体数の確認方法の検討

結果は図 2 に示すとおりである。処理時間については, 30 分間処理では細胞壁の消化が不十分であり原型を留めている細胞がほとんどであった (Fig.2A)。グラジオラスは比較的太い根を有することから処理時間を長くする必要があることが示された。45 分間または 60 分間処理

した場合には, 細胞壁が溶解され良好な状態のプロトプラストが単離された。また観察の結果, 単離された細胞内に含まれるそれぞれの染色体も容易に識別することが可能であった (Fig.2B)。一方, 75 分間処理では外観上も根端が過剰に溶解していた。顕微鏡観察の結果においてもプロトプラストとしての原型を留めておらず, 染色体も拡散してしまっており細胞ごとの染色体数は判別不能であることが示された (Fig.2C)。

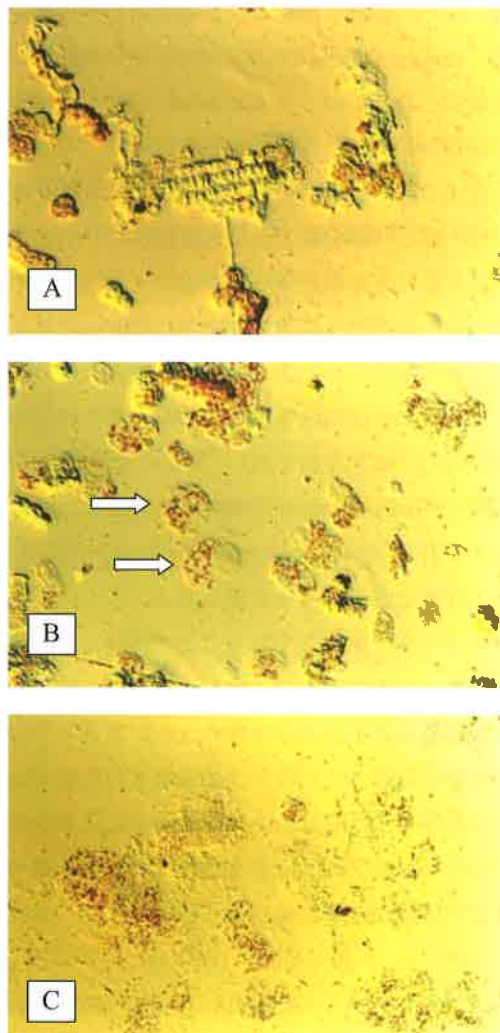


Fig.2. Protoplasts isolated from root tips of *G. tristis* digested with enzyme mixture (2.0 % cellulase Onozuka RS, 1.5 % macerozyme R200 and 0.3 % pectolyase Y-23) at 25°C.

These plates show effects of treatment hour.

A: Root tips were digested with enzyme mixture for 30 min.

B: Root tips were digested with enzyme mixture for 60 min.

C: Root tips were digested with enzyme mixture for 75 min.

White arrows show the protoplasts with chromosome.

このように、グラジオラスの根端から良好な状態のプロトプラストを単離するためには、上記組成の酵素液を用いて25℃で45分間～60分間の処理を行うことが適当であることが明らかとなった。またこの処理時間における観察の結果、染色体数の確認についても良好に実施できることが示された。本方法ではノマルスキー型顕微鏡を必要とするという点を除けば、従来から行われている押しつぶし法と比較して操作自体にはとくに熟練を要する過程もなく、容易に染色体数の確認を行うことが可能である。Yamaguchi and Shiga (1993) はメロンにおいて酵素解離法と DAPI (4', 6-diamidino-2-phenylindole) 染色を組み合わせることで染色体数の確認を行っており、これも簡便な方法であると思われる。また従来酵素解離法では、細胞が硬く押しつぶし法では染色体標本の作成が困難な場合には有効であるが、染色体数が大きく、また物理的に大きな染色体をもつ植物では完全に広がった染色体標本をつくるのは難しいとされてきた (中崎 1995)。今回供試した *G. tristis* は染色体数 $2n = 30$ の野生種であるが、高津ら (2002) は本方法を用いて $2n = 45$ のグラジオラス野生種 (*G. orchidiflorus*) を始め、物理的に大きな染色体を有する野生種 (*G. equitans*) でも染色体数を確認しており、有効な方法であると思われる。さらに、根端細胞をプロトプラスト化しておくことで観察にあたっての操作が容易になるとともに、押しつぶし法で時折みられる個々の細胞に含まれる染色体セットが散逸してしまうという現象も防ぎやすくなり、染色体数の確認がより容易になるものと考えられる。以上のように、グラジオラスにおいては根端より単離したプロトプラストを用いた染色体数の確認が有効であることが示された。

2. 葉肉プロトプラストを経由した DNA 抽出条件の検討

(1) グラジオラス葉片からのプロトプラスト単離条件の検討

葉肉プロトプラストの単離に適した酵素液の組成を検討したところ、イネのプロトプラスト単離に用いる酵素液を改変した G 処方において、良好な状態のプロトプラストが数多く単離されていることが明らかとなった (Fig.3)。プロトプラストの収量は 5×10^4 個/ml となった。これに対しキク用の M 処方を用いた場合では細胞

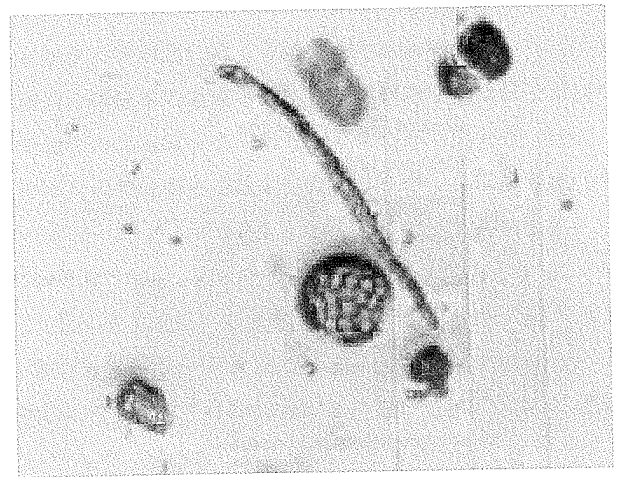


Fig.3. Protoplasts isolated from leaves of gladiolus 'Traveler' digested with enzyme mixture (2.0 % cellulase Onozuka RS and 0.05 % pectolyase Y-23) at 30℃ for 6 hours.

壁の消化が不十分であり、良好な状態のプロトプラストは少数に留まった。またこれら2種類の酵素液で処理した後回収したプロトプラストを用いてそれぞれDNAの抽出を試み、最終的なDNAの収量を分光光度計により推定したところ、G 処方では処理した区では後述のようにDNAが回収されていることが示唆されたが、M 処方ではA260の値が非常に低く十分な量のDNAは回収されていないものと考えられた。このように、グラジオラス葉片からのプロトプラスト単離のためにはキク用のM 処方は不適当であり、イネ用の処方を改変したG 処方が有効であることが示された。

イネの場合には、プロトプラストの単離にあたり材料としてカルスを用いて30℃・3時間の消化処理を行っている (西宮ら 2000)。今回のグラジオラスの場合は30℃で6時間というかなり長時間の処理を行ったが、得られたプロトプラストの状態は良好であった。この要因としては屋外で生育した植物体を材料として用いたため、葉片が非常に硬いものであったことが関係しているものと思われる。

これらのことから、グラジオラスの葉肉プロトプラストの単離にあたっては2.0%セルラーゼオノヅカRSと0.05%ペクトリナーゼY-23の混合酵素液を用いて、30℃で6時間消化処理を行うことが適当であることが示された。

(2) 抽出した DNA の品質に関する検討

G 処方の酵素液を用いてプロトプラスト経由で抽出した DNA と生葉より従来法により抽出した DNA について、まず収量等を比較した。プロトプラスト由来の DNA は収量 $246 \text{ ng} / \mu\text{l}$, $A_{260} / A_{230} = 1.50$ ならびに $A_{260} / A_{280} = 1.99$ となった。一方、生葉由来の DNA は収量 $234 \text{ ng} / \mu\text{l}$, $A_{260} / A_{230} = 1.61$ ならびに $A_{260} / A_{280} = 1.96$ であった。両区とも収量はほぼ同等で、多糖類の混入も問題にならない程度であると判断された。

次に、OPA07, 09, 11, 14 および 15 プライマーを用いた PCR を行い RAPD パターンを比較した (Fig. 4)。そ

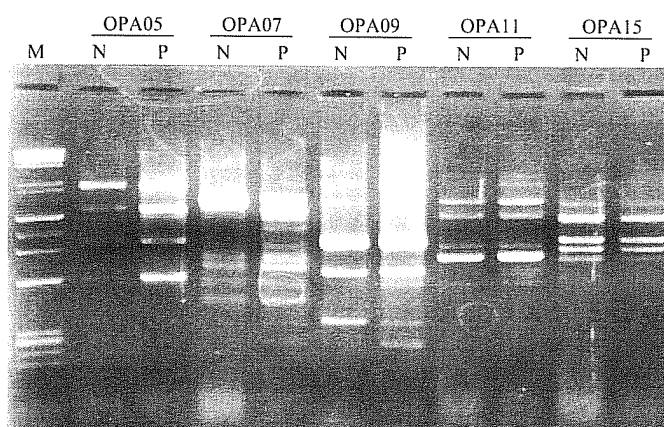


Fig.4. This plate shows RAPDs produced by PCR using two different template DNA and 5 random primers (OPA05, OPA07, OPA09, OPA11 and OPA15).

Each template DNA provided same pattern of RAPDs using 5 primers, respectively.

N: RAPDs produced by PCR using a template DNA extracted by a normal protocol.

P: RAPDs produced by PCR using a template DNA extracted from leaves via protoplasts.

M: λ /Hind III digest and ϕ X/Hae III digest

の結果、プロトプラスト由来の DNA を鋳型に用いた場合でも、RAPD パターンは生葉由来の DNA を鋳型として用いた場合と同等であり、中にはより鮮明なバンドが得られる場合 (OPA05 など) もみられた。これは酵素処理によって細胞壁を除くことにより抽出した DNA への多糖類等の不純物の混入が最小限に抑えられ、ランダムプライマーを用いた PCR による RAPD の増幅 (RAPD 法) が順調に行われたためと思われる。RAPD 法による多型検出においてはその再現性が問題となる場合も多いが、本法で得た DNA を鋳型として用いた場合にはより

再現性の高いデータが得られるものと期待される。

以上のように、プロトプラストを利用した DNA 抽出法においても従来法と同等以上の品質の DNA が得られ、PCR の鋳型として用いるには十分であることが示された。本法では、従来法においてネックとなっている液体窒素および乳鉢を用いてサンプルを磨砕するステップが省略されるため、DNA 抽出作業の省力化が可能と考えられる。特に分離集団の遺伝分析など多量のサンプルから品質のよい DNA を抽出する必要がある場合には有効な手法となるものと思われる。

今回はグラジオラスを材料としてプロトプラストの単離およびその利用方法について検討したが、ここに示した方法はグラジオラスと同様に硬い葉を有するアヤメ科植物など他種の植物にも応用可能であると思われる。FISH (Fluorescein *in situ* hybridization) 法などではプロトプラストを経由して調整した染色体を用いてハイブリダイゼーション実験を行っているが、細胞壁を有さないという利点をもつプロトプラストについては、培養のみならずこのような種々の実験においても利用方法があるものと期待される。

引用文献

- Bordas, M., L.Gonzalez-Candelas, M.Dabauza, D. Ramon and V. Moreno (1998) Somatic hybridization between an albino *Cucumis melo* L.mutant and *Cucumis myriocarpus* Naud. Plant Science 132 : 179-190.
- Frearson, E.V., J.B. Power and E.C. Cocking (1973) The isolation, culture and regeneration of Petunia leaf protoplasts Dev. Biol. 33 : 130-137.
- Gajdova, J., A.Lebeda and B.Navratilova (2004) Protoplast cultures of *Cucumis* and *Cucurbita* spp. Proc. of Cucurbitaceae, 8 th EUCARPIA : 441-454.
- 向井譲・山本直樹 (1997) 木本植物からの DNA・RNA 単離法, 新版植物の PCR 実験プロトコル, 島本功・佐々木卓治監修, 秀潤社, 東京, 57-62.
- Nakano, M and M. Mii (1992) Protoplast culture and plant regeneration of several species in the genus *Dianthus*. Plant Cell Reports 11 : 225-228.

- 中崎鉄也 (1995) 染色体の観察, “植物遺伝育種学実験法” 谷坂隆俊編, 朝倉書店, 東京. 61-69.
- 西宮智美・横田国夫・飯田幸彦・桐原俊明・須賀立夫 (2000) 水稻品種「コシヒカリ」におけるプロトプラスト培養系の確立, ならびにカルスの培養特性に関わるいくつかの要因. 茨城農総生工研研報 3 : 1-16.
- 大塚寿夫・末松信彦・戸田幹彦 (1985) キクのプロトプラスト培養と植物体再分化. 静岡農試研報. 30 : 648-649.
- 大槻義昭 (1990) 実験映像マニュアル, イネ・プロトプラスト培養系解説, (社) 農林水産技術情報協会, 東京.
- 高津康正・眞部徹・霞正一・山田哲也・青木隆治・井上栄一・森中洋一・丸橋亘・林幹夫 (2002) 南部アフリカ原産グラジオラス野生種の遺伝資源収集評価. 育種学研究 4 : 87-94.
- 山田栄成 (1992) キクのプロトプラスト培養, 花のバイオ技術, 誠文堂新光社, 東京. 136-137.
- Yamaguchi, J. and T. Shiga. (1993). Characteristics of regeneration plants via protoplast electrofusion between melon (*Cucumis melo*) and pumpkin (interspecific hybrid, *Cucurbita maxima* x *C. moschata*). Jpn. J. Breed. 43 : 173-182.

Research Note

Examinations for Chromosome Counting and DNA Extraction using Protoplast

Isolated from Gladiolus

Yasumasa Takatsu and Ken-o Tomita

*Plant Biotechnology Institute, Ibaraki Agricultural Center
Ago, Iwama, Nishi-ibaraki, Ibaraki, 319-0292, Japan*

Summary

We examined the best condition for chromosome counting using protoplasts isolated from gladiolus root tips, and it was clarified that good protoplasts were isolated from root tips by a digestion using a mixture of 2.0% cellulase' Onozuka' RS, 1.5% macerozyme R200 and 0.3% pectolyase Y23 for 45 to 60 minutes at 25°C. Chromosome was observed easily using these protoplasts compared with a normal method.

Protoplasts were isolated from gladiolus leaves using a mixture of 2.0% cellulase' Onozuka' RS and 0.05% pectolyase Y23 for 6 hours at 30°C. DNA was extracted from these protoplasts by a modified CTAB method. And it was showed that extracted DNA was possible to use as a template for RAPD analysis. This method is easy and labor saving.

Key words: chromosome counting, DNA extraction, gladiolus, protoplast

所 長 松 井 武 彦

編集委員長 石 井 卓 朗

編 集 委 員 富 田 健 夫
鈴 木 一 典
池 上 隆 文

茨城県農業総合センター生物工学研究所研究報告 第8号
平成17年3月20日発行

発行所 茨城県農業総合センター生物工学研究所
〒319-0292 西茨城郡岩間町安居3165-1
電話 0299 - 45 - 8330

印刷所 ワタヒキ印刷株式会社
〒310-0012 水戸市城東1丁目5番21号
電話 029 - 221 - 4381 (代)

Bulletin
of the
Plant Biotechnology Institute
Ibaraki Agricultural Center
No.8 (2005)

Contents

Original Papers

- Genetic Studies on Field Resistance of Rice to Blast Disease. 1
Masaru Miyamoto

- Analysis and Characterization and Japanese Local Upland Rice Varieties. 27
Katunori Okano, Kazuyuki Okamoto, Toru Manabe and Takuro Ishii

Research Note

- Examinations for Chromosome Counting and DNA Extraction using Protoplast Isolated
from Gladiolus. 51
Yasumasa Takatsu and Ken-o Tomita