

DNA マーカーを用いた水稻の
食味と高温登熟耐性に関する
遺伝育種学的研究

2009年6月

小林麻子

DNA マーカーを用いた水稻の
食味と高温登熟耐性に関する
遺伝育種学的研究

筑波大学大学院
生命環境科学研究科
博士（農学）学位論文

小林麻子

目 次

第1章	緒言	1
1 - 1	研究の背景と目的	1
1 - 1 - 1	コシヒカリの特性と改良	1
1 - 1 - 2	食味および高温登熟耐性に関する選抜の現状と問題点	3
1 - 1 - 3	食味および高温登熟耐性に関するDNAマーカー選抜	4
1 - 1 - 4	研究の目的と概要	5
第2章	コシヒカリ/アキヒカリ集団を用いた炊飯米の粘りのQTL解析と準同質遺伝 子系統によるQTLの検証	6
2 - 1	材料および方法	7
2 - 1 - 1	植物材料	7
2 - 1 - 2	食味官能試験	8
2 - 1 - 3	食味関連形質調査	10
2 - 1 - 4	遺伝子型分析	11
2 - 2	結果	14
2 - 2 - 1	DHLの形質変異	14
2 - 2 - 2	QTL解析結果	19
2 - 2 - 3	NILのグラフ遺伝子型	23
2 - 2 - 4	NILの粘り、アミロース含有率およびタンパク質含有率	26
2 - 2 - 5	粘りおよびアミロース含有率に関するQTLの候補ゲノム領域 の絞り込み	29
2 - 2 - 6	NILの農業形質	29
2 - 3	考察	30
2 - 4	まとめ	34
第3章	さきひかり/日本晴集団を用いた食味に関するQTL解析	35
3 - 1	材料および方法	38
3 - 1 - 1	植物材料	38
3 - 1 - 2	食味官能試験による粘りの評価	38
3 - 1 - 3	アミロース含有率と糊化特性の測定	38
3 - 1 - 4	遺伝子型分析	39
3 - 2	結果	41
3 - 2 - 1	両親とRILの形質および w_xCT 変異	41
3 - 2 - 2	相関分析	47
3 - 2 - 3	QTL解析結果	49

3 - 3	考察	55
3 - 4	まとめ	60
第4章	高温登熟耐性に関するQTL解析	61
4 - 1	材料および方法	63
4 - 1 - 1	植物材料	63
4 - 1 - 2	玄米品質および他の形質の評価方法	63
4 - 1 - 3	遺伝子型分析	64
4 - 2	結果	65
4 - 2 - 1	到穂日数と登熟期間の気温	65
4 - 2 - 2	両親、F ₂ およびF ₃ 集団における背白粒および基白粒発生率の変動	68
4 - 2 - 3	連鎖地図の作成	71
4 - 2 - 4	QTL解析結果	71
4 - 2 - 5	圃場における背白粒発生率	71
4 - 2 - 6	圃場における基白粒発生率	76
4 - 2 - 7	温室における背基白粒発生率	76
4 - 2 - 8	その他の形質	76
4 - 3	考察	77
4 - 4	まとめ	79
第5章	総合考察	80
5 - 1	本研究の意義	80
5 - 1 - 1	研究の概要と意義	80
5 - 1 - 2	食味および高温登熟耐性に関するMASシステムの開発における本研究の到達点	81
5 - 2	残された課題	83
5 - 2 - 1	食味および高温登熟耐性に関するMASシステムの開発における課題	83
5 - 2 - 2	食味形質評価における課題	84
5 - 3	本研究の応用	85
5 - 3 - 1	得られた遺伝育種学的知見の育種への応用	85
5 - 3 - 2	福井県農業試験場における今後の水稻育種の目標	86
	摘要	87
	Summary	91
	謝辞	94
	引用文献	95

略語

第 1 章

DHL : 倍加半数体系統 (doubled haploid line)

MAS : DNA マーカー選抜 (marker-assisted selection)

NIL : 準同質遺伝子系統 (near-isogenic line)

QTL : 量的形質遺伝子座 (quantitative trait loci)

RIL : 組換え自殖系統 (recombinant inbred line)

第 2 章

BIL : 戻し交雑自殖系統 (backcrossed inbred line)

CIM : 複合インターバルマッピング (composite interval mapping)

RAPD : 無作為増幅多型 (random amplified polymorphic DNA)

RFLP : 制限酵素断片長多型 (restriction fragment length polymorphism)

STS : 配列標識部位 (sequence-tagged site)

CTAB : 臭化セチルトリメチルアンモニウム (cetyl trimethylammonium bromide)

SNP : 一塩基置換多型 (single nucleotide polymorphism)

SSR : 単純配列反復 (simple sequence repeat)

第1章 緒言

1 - 1 研究の背景と目的

1 - 1 - 1 コシヒカリの特性と改良

「コシヒカリ」は、1956年に福井県農業試験場（以降福井農試）で育成された水稲品種である。コシヒカリの奨励品種採用県の増加経過について、岩田（1995）は3期に大きく類別した。第1期は、コシヒカリが新潟県、千葉県および栃木県で奨励品種に採用された1950年代後半で、将来の良食味時代に備えて首都圏に対する主産地を形成しておこうとする先駆的な取り組みが行われた時期であった。第2期は、九州・四国地方で奨励品種に採用された1960年代前半で、コシヒカリが西南暖地の早場米地帯の主力品種として位置づけられた時期であった。第3期は、奨励品種採用県が全国に広がった1969年以降で、米の余る時代を迎え、自主流通米対策の戦略品種としてコシヒカリへの需要が高まった時期であった。さらに1975年以降、コシヒカリ特有の栽培方法が確立されたことにより作付面積が一気に拡大し、1979年には作付面積日本一（約30万ha）となった（岩田1995）。以来、2008年までコシヒカリは作付面積日本一の座を保っている。

農林水産省（2008）によると2008年のコシヒカリの作付面積は約60万haで、全国の水稲作付面積の約37%を占めた。このことはコシヒカリの良食味が広く日本の市場に受け入れられていることばかりでなく、コシヒカリの広域適応性が高いことを示している。コシヒカリの感温性、感光性および基本栄養成長性の程度は、それぞれ“大”、“やや大”および“中”である（細井1981）。これらの特性を各地域の作型に合わせることにより、コシヒカリは東北南部から九州地域まで北緯31°～38°の間で栽培可能であることが、作付面積の拡大につながった（濱村1995）。また穂発芽性が“難”で（上原1995b）登熟後期が秋雨の時期にあたる地域や台風による倒伏が問題となる地域でも穂発芽しにくいことや、障害型耐冷性が“強”で（上原1995a）寒冷地での栽培も可能であるといった長所も備えている。

コシヒカリの食味を保持し各地域に適応した品種の育成も進められ、寒冷地では「あきたこまち」（斉藤ら1989）、「ひとめぼれ」（佐々木ら1994）、「はえぬき」（佐藤ら1992）などが、温暖地および暖地では「ヒノヒカリ」（八木ら1990）、「キヌヒカリ」（古賀ら1989）、「夢つくし」（今林ら1995）などが育成さ

れた。このようにコシヒカ리를母本とした育種が各地で行われた結果、2008年の全国の水稲作付面積の上位10品種をコシヒカリとその子孫品種が占め、それらの作付面積合計の割合は約78%を占めた(農林水産省2008)。

しかしコシヒカリは、稈が長く倒伏しやすいことや、いもち病に弱いという好ましくない農業形質を持つ(藤巻1995)ため、それらの不良形質の改良が行われてきた。短稈化をめざした改良では、ガンマ線照射による突然変異を利用した「北陸100号」(佐本・金井1975)、連続戻し交雑により半矮性遺伝子 *sd1-j(t)* をコシヒカリに導入した同質遺伝子系統「佐賀1号」(野中ら1991)、*sd1* を導入した「ヒカリ新世紀」(伊田・富田2008)、あるいは *sd1-r* を導入した「ヒカリッコ」(村井・遠藤2006)などが育成された。いもち病抵抗性の付与をめざした改良では、葉いもちに対する真性抵抗性遺伝子を導入した同質遺伝子系統の混合・交代栽培によるコシヒカリのマルチラインが育成された。これには、福井県育成の「コシヒカリ BL1 号」(富田ら2005b)、新潟県育成の「コシヒカリ新潟 BL1~8 号」、富山県育成の「コシヒカリ富山 BL1~6 号」(小島ら2003)がある。

一方、近年日本各地で玄米の外観品質の劣化が問題となっており(有坂2001、寺島ら2001、表野ら2003、河津ら2007)、登熟期間の高温が玄米の外観品質に影響を及ぼすことが示唆された(今野ら1991、森田2000、寺島ら2001)。福井県でも1998年までは一等米比率は80~95%を保っていたが、1999年以降、一等米比率の変動が大きくなり、しばしば70%を下回り、特に1999年および2002年の一等米比率はそれぞれ69%および62%にまで落ち込んだ。この2年の夏は猛暑であり、福井市の8月の平均気温は平年値26.8に対して、それぞれ28.7および28.5であった。西村ら(2000)は、コシヒカリや北陸地域で育成された「越路早生」、「フクヒカリ」等のコシヒカリの類縁関係にある品種の中には高温耐性の高い品種が多く、その理由として北陸地域における品種の登熟期が7月後半から8月前半の高温期にあたり、その中で品種育成が行われてきたことで結果的に高温登熟耐性の高い遺伝子型が選抜されてきたことによると述べている。しかし、近年の極端な高温化に対して、コシヒカリの高温登熟耐性は北陸地域では“やや弱”(永畠2007)、暖地では“中”(若松ら2007)と評価された。従って、コシヒカリの高温登熟耐性の改良は日本の育種事業にとって喫緊の重要課題である。福井農試が育成した「ハナエチゼン」(堀内ら1992)の高温登熟耐性は高い(永畠2007)が食味はコシヒカリより粘りが弱く、やや劣る(河津ら1997)。そこで、コシヒカリの良食味性とハナエチゼンの高温登熟耐性との結合をめざす育種を開始した。

1 - 1 - 2 食味および高温登熟耐性に関する選抜の現状と問題点

福井農試における育種では、食味は官能試験により、高温登熟耐性は温室栽培により評価および選抜を行っている。しかし、これらの形質評価には多量の試料を必要とするため、遺伝的に固定した後期世代からしか選抜が開始できないこと、食味は登熟期間の気温（西村ら 1985）や土壌の窒素レベル（石間ら 1974）による影響を受け、玄米外観品質も登熟期間の気温（長戸・江幡 1965）や土壌の窒素レベル（若松ら 2008）による影響を受けるため、確実な選抜を行うためには複数年での評価が必要なこと、さらに形質評価を行うためには、収穫、乾燥、脱穀、籾すりなどの作業に多大の時間と労力がかかることが選抜上の問題点となっている。

そこで福井農試では、より早い世代での食味と高温登熟耐性に関する補助的な選抜を試みてきた。食味に関しては、胚乳デンプンのアミロース含有率（Okuno *et al.* 1983、Kumar and Khush 1987、Yano *et al.* 1988）、白米のタンパク質含有率（片岡 1978）および炊飯光沢（藤巻・櫛淵 1975）による補助的な選抜を行っている。しかし、これらの形質はあくまで間接的なものであり、官能試験による食味評価と必ずしも一致しないため、最終的には官能試験による食味評価を行う必要がある。また、和田ら（2006）は食味と理化学的特性の関係について、食味がコシヒカリ並みの品種群（第1群）、コシヒカリより優れる品種群（第2群）、コシヒカリよりやや劣る品種群（第3群）およびコシヒカリより大きく劣る品種群（第4群）の4つの品種群に分けて検証し、アミロース含有率は食味が優れる第1～3群間の相互の差が有意ではなかったことを示した。さらに和田ら（2002）は、登熟期間の高温傾向により食味が劣る品種のアミロース含有率が良食味品種並みに低下したことから、アミロース含有率による選抜効果が小さくなる可能性を指摘している。高温登熟耐性に関しては、圃場栽培した玄米の外観品質による補助的な選抜を行っている。福井農試では登熟期間の平均気温が27℃を超えることが多く、通常は圃場でも高温登熟耐性の選抜が行えるが、2003年のような冷夏には強い選択圧がかからない可能性がある。さらに、気候変動に関する政府間パネルが予想する今後の一層の高温化に対しては、やはり温室栽培で高温ストレスをかけた上での選抜が必要である。

1 - 1 - 3 食味および高温登熟耐性に関する DNA マーカー選抜

前述のように食味および高温登熟耐性に関する従来の官能試験や温室栽培による選抜方法には、初期世代からの選抜が行えないこと、複数年での評価が必要なこと、形質評価に多大の時間と労力がかかることなどの問題点があり、また、福井農試で行ってきた補助的な選抜にも効果的な選択圧が得られない場合があるため、より効率的で効果的な選抜法の開発が育種現場から強く求められていた。

そのような選抜法の一つに、DNA マーカー選抜 (marker assisted selection: MAS) が挙げられる。MAS システムは、初期世代から選抜を開始できること、環境条件の影響を排除できること、形質評価における労働力の投下を低減できることから、従来の選抜方法の問題点を解決できる (Shirasawa *et al.* 2008)。

MAS を食味や高温登熟耐性といった複数の遺伝子の関与が予想される量的形質に利用するためには、まずそれぞれの形質に関して量的形質遺伝子座 (quantitative trait loci: QTL) 解析を行い、関与する QTL の数や染色体上の座乗位置、それらの形質変動への寄与率、対立遺伝子の作用力などの遺伝育種学的基礎を解明する必要がある。さらに、これらの形質を制御している遺伝子に密接に連鎖した DNA マーカーを同定する必要がある。

いもち病抵抗性や縞葉枯病抵抗性に関しては、育種現場でも MAS が実用化されている (藤井ら 1999、Fukuoka and Okuno 2001、井澤ら 2001、佐々木ら 2002、小島ら 2003、石川 2004、Terashima *et al.* 2008)。近年、ゲノム研究の進展により遺伝解析に利用可能な DNA マーカーが充実してきた (Harushima *et al.* 1998、McCouch *et al.* 2002)。その結果、出穂期や穂発芽性などの複雑な遺伝様式に従う量的形質に関与する QTL の同定も可能となり (Yano and Sasaki 1997)、いくつかの QTL 遺伝子が単離された (Yamamoto and Yano 2008)。

食味に関しては、Ahn *et al.* (1993)、Li *et al.* (2003a)、Wan *et al.* (2004) および Takeuchi *et al.* (2007) により日本型品種とインド型品種間の雑種後代を利用した QTL 解析が行われたが、この日印交雑を利用した解析集団では日本型品種間の食味の変異を検出しにくいと考えられる。高温登熟耐性に関しては、西村ら (2000) は本形質が遺伝的に制御されていることを示し、田畑ら (2005) は高温登熟耐性に関する統計遺伝学的解析を行った。また、日本型品種とインド型品種間の雑種後代を利用して chalkiness といわれる胚乳の白濁に関する QTL 解析 (Xu *et al.* 2000、Li *et al.* 2003b) や玄米外観品質に関する QTL 解析 (He *et al.* 1999) が行われたが、これらの日印交雑を利用した解析集団においては出穂期や粒形などの変異が大きく、白未熟粒の発生と粒形やアミロース含有率との関係が強く示唆され、検出された QTL が必ずしも高温登熟耐性のみに関与していると

はいえない。

一方、日本型品種間では DNA マーカーの多型検出頻度が著しく低く（河野ら 2000） QTL 解析に困難を伴うことが多かった。しかし、2004 年のイネゲノム解読終了により、従来多型が検出されにくかった日本型品種の解析集団でも利用可能な DNA マーカーが増えてきた。またウェブ上に公開された塩基配列データから目的とする領域に DNA マーカーを新たに作成することも可能になった。

1 - 1 - 4 研究の目的と概要

本研究では、近年充実してきた DNA マーカー情報および塩基配列情報を利用し、従来、遺伝的差異の検出が困難であった日本型品種の食味と高温登熟耐性に関する QTL 解析を行い、関与する QTL の数や染色体上の座乗位置、それらの形質変動への寄与率、対立遺伝子の作用力などの遺伝育種学的基礎を解明することを目的とした。

第 2 章ではコシヒカリと「アキヒカリ」の交雑に由来する倍加半数体系統（doubled haploid line: DHL）を用いて食味関連形質に関する QTL 解析を行った。さらに第 2 染色体に検出した炊飯米の粘りおよびアミロース含有率に関する QTL について、準同質遺伝子系統（near-isogenic line: NIL）を用いてその作用力を検証した。第 3 章では、熟期はどちらも晩生であるが、食味特性が大きく異なる「さきひかり」と「日本晴」の交雑に由来する組換え自殖系統（Recombinant inbred line: RIL）を用いて食味関連形質に関する QTL 解析を行った。第 4 章では、高温登熟耐性が大きく異なる八ナエチゼンと「新潟早生」の交雑に由来する F₂ および F₃ 集団を用いて高温登熟耐性に関する QTL 解析を行った。

以上のように、本研究では従来遺伝的差異の検出が困難であった日本型品種を用いて、水稻の食味および高温登熟耐性に関する QTL 解析を行い、さらに食味に関しては NIL を用いて QTL 作用力を検証して、MAS の基礎となる遺伝育種学的基礎を解明した。これらの知見は、コシヒカリの良食味性と八ナエチゼンの高温登熟耐性との結合をめざす育種に大きく貢献する。

第2章 コシヒカリ/アキヒカリ集団を用いた炊飯米の粘りの QTL 解析と準同質遺伝子系統による QTL の検証

これまでに、インド型品種と日本型品種の雑種後代を用いた食味に関する QTL 解析が行われ、「あそみのり」と「IR24」の RIL における食味総合評価、粘り、タンパク質含有率、アミロース含有率およびアミログラム特性に関する QTL (Wan *et al.* 2004)、コシヒカリと「Kasalath」の戻し交雑自殖系統 (Backcrossed inbred line: BIL) における食味とアミロース含有率に関する QTL (Takeuchi *et al.* 2007)、日本晴と Kasalath の BIL におけるアミロース含有率、アルカリ崩壊度およびゲルコンシステンシーに関する QTL (Li *et al.* 2003a) などが報告されている。しかし、これらの研究では、アミロース合成に関する第 6 染色体上の *wx* 遺伝子座について、発現量の高い *Wx-a* (インド型) および発現量の低い *Wx-b* (日本型) (Sano 1984) の違いが食味関連形質に大きく影響し、日本型品種間の食味の変異に関する遺伝的要因を検出しにくいと考えられる。

一方、日本型品種の食味に関する遺伝解析を行った例は限られていた。これは、日本型品種間では DNA マーカーの多型検出頻度が著しく低く (河野ら 2000)、QTL 解析に困難を伴うためと考えられる。しかし、Takeuchi *et al.* (2001) は日本型品種コシヒカリとアキヒカリの交雑 F₁ の葯培養に由来する DHL を作出し、制限酵素断片長多型 (restriction fragment length polymorphism: RFLP) マーカーを利用して連鎖地図を作成するとともに穂ばらみ期耐冷性に関する QTL の検出に成功した。また、Yamagishi *et al.* (2002) は同じ DHL を用いて一次枝梗数、二次枝梗数、一次枝梗籾数および二次枝梗籾数に関する QTL を検出した。コシヒカリの炊飯米は粘りが強く、光沢があり、その食味は良好であるのに対し、アキヒカリの炊飯米は粘りが弱く、その食味はコシヒカリに比べて劣る (山本・小川 1992) ことから、作出された DHL は日本型品種の食味に関する QTL 解析にも利用可能であると考えられた。

そこで、本章ではこの DHL の食味官能試験を行い、食味に関する QTL の検出を試みた。また、食味評価と関連性の高い炊飯光沢とアミロース含有率についての QTL を検出し、食味に関する QTL との関連を検討した。さらに粘りとアミロース含有率に関して最も大きな作用力を持つことが示唆された第 2 染色体長腕の QTL 領域について、アキヒカリの遺伝的背景へコシヒカリの染色体断片を導入した 6 系統の NIL を作成した。これらの NIL の粘りおよびアミロース含有率を調査することにより、QTL 作用力を検証した。さらに、導入した染色体断片を比較することにより、粘りおよびアミロース含有率に関する QTL の候補ゲノム領域の絞り込みを行った。

2 - 1 材料および方法

2 - 1 - 1 植物材料

(1) 雑種集団

QTL 解析に用いた雑種集団は、Yamagishi *et al.* (1996) の方法で得られたコシヒカリとアキヒカリの交雑 F₁ の葯培養に由来する DHL、212 系統 (Takeuchi *et al.* 2001) である。

(2) NIL の養成

QTL 作用力の検証に用いる NIL 養成のため、DH92¹をドナーとして選定し、アキヒカリを反復親として連続戻し交雑を行った。

(3) 雑種集団および NIL の栽培

DHL は 1997 年および 1999 年に、6 系統の NIL は 2006 年および 2007 年に、福井農試 (北緯 36° 03') において栽培した。比較として両親のアキヒカリおよびコシヒカリを用いた。

DHL および両親は 4 月下旬に播種、5 月中旬に各系統 48 株を栽植密度 20.7 株 m⁻² で本田に移植し、基肥施肥 (N 成分 6.0 g m⁻²) のみの栽培を行い、移植から出穂までの日数として到穂日数を調査した。成熟期となった 8 月下旬から 10 月上旬にかけて、32 株を収穫した。

NIL および両親は 4 月下旬に播種、5 月中旬に各系統 80 株を栽植密度 20.7 株 m⁻² で本田に移植し、基肥 (N 成分 6.0g m⁻²) および穂肥 (N 成分 3.6g m⁻² を 2 回に分施) を施用して栽培した。主要な農業特性として、到穂日数、稈長、穂長および穂数を両年とも調査した。アキヒカリおよび NIL は出穂後 31 日目、コシヒカリは出穂後 36 日目に 72 株を収穫した。用いた世代は NIL-1、3、4 および 6 では 2006 年は BC₄F₆、2007 年は BC₄F₇ であった。NIL-2 および 5 では 2006 年は BC₄F₄、2007 年は BC₄F₅ であった。

¹ Takeuchi *et al.* (2001) による DHL の 1 系統

2 - 1 - 2 食味官能試験

(1) DHL の食味官能試験

1997 年の食味官能試験は以下のように行った。トーヨーテスター精米機（東洋精米機製作所、和歌山、日本）で搗精歩合 90% に搗精した白米 450 g を東芝保温釜 RCK-Y5M（東芝、東京、日本）で炊飯し、炊飯米の外観および粘りについて基準品種「ハウネンワセ」を 5 点として 2 点（外観不良、粘り弱）から 8 点（外観良好、粘り強）の範囲で評価を行った。外観とは、ご飯のつやの良否、白さ、砕米・煮崩れの有無等を基準米と比べて判断するものである（福井・小林 1996）。評価者は 7 人で、内訳は男性 6 名、女性 1 名であり、年齢は 27～56 歳であった（Table 1）。7 人の評価値の平均値を QTL 解析に用いた。

1999 年の食味官能試験は 1997 年の試験に改良を加え、以下のように行った。搗精において熱の影響の少ない精米機サタケワンパス（サタケ、東京、日本）を用い、評価の精度を向上させるために基準品種を 2 種類用いた。搗精歩合 90% に搗精した白米 450 g を東芝保温釜 RCK-Y5M（東芝、東京、日本）で炊飯し、炊飯米の外観および粘りについてアキヒカリとコシヒカリをそれぞれ 2 点、4 点の基準品種とし、1 点（外観不良、粘り弱）から 5 点（外観良好、粘り強）の範囲で評価を行った。評価者は 5 人で、内訳は男性 4 名、女性 1 名であり、年齢は 28～58 歳であった（Table 1）。5 人の評価値の平均値を QTL 解析に用いた。

(2) NIL の食味官能試験

2006 年および 2007 年ともに食味官能試験は以下のように行った。クリーンワンパス（サタケ、東京、日本）を用いて搗精歩合 90% に搗精した白米 150 g を洗米器はやとぎ（クレセント、広島、日本）を用いて 2 分間洗米し、500 ml ビーカーに移して 90 分間吸水させた。その後、白米重量に対して 1.26 倍の水とともに電気炊飯器 ERC-9F（ニチワ電器、兵庫、日本）で炊飯した。炊飯米の粘りは、アキヒカリを 0 点の基準として、-1 点（アキヒカリより粘らない）、+1 点（アキヒカリより粘る）、および +2 点（アキヒカリよりかなり粘る）の 4 段階で評価した。評価者は 6 人で、内訳は男性 4 名、女性 2 名であり、年齢は 24 歳～47 歳であった（Table 1）。各試料 3 反復で粘りを評価した。各 NIL の粘り評価値の平均値を、ランダムに配置したアキヒカリの粘り評価値の平均値と、多重検定 Dunnett の方法によって比較した。

Table 1. Configuration, sex, age and stickiness scores of panels who participated in the eating tests in each chapter.

Panel	Sex	Age	1997 ¹⁾	1999	2005	2006	2007
A	male	50s		-0.88, 0.47 ²⁾			
B	male	20s		-0.88, 0.41			
C	male	50s		-0.91, 0.53			
D	male	40s		-1.08, 0.55	-1.50, 0.52	-1.35, 0.49	-1.16, 0.38
E	female	30s		-1.07, 0.58	-0.93, 0.27	-0.91, 0.29	-1.00, 0.00
G	male	40s			-1.67, 0.62	-1.18, 0.59	-1.27, 0.59
H	male	40s			-0.81, 0.46	-0.95, 0.48	-1.01, 0.56
F	female	20s			-0.92, 0.53	-1.17, 0.56	
G	male	40s			-1.33, 0.49	-1.17, 0.46	
H	male	50s					
I	male	30s					
J	female	40s					
Number of test times			-	31	13	19	18
Eating test			DHL(Chapter2)	DHL(Chapter2)	NIL(Chapter2) RIL(Chapter3)	NIL(Chapter2) RIL(Chapter3)	RIL(Chapter3)

¹⁾ In 1997, panels who participated in the eating tests of DHL were shown as .

²⁾ Stickiness score and standard deviation of Nipponbare compared to Koshihikari at the eating tests of general breeding programs in Fukui Agricultural Experiment Station. The stickiness scores were given as -2 (much less sticky than Koshihikari), -1 (less sticky than Koshihikari), 0 (same as Koshihikari) and +1 (stickier than Koshihikari).

(3) 各評価者の粘り評価値

Table 1 に各年次の官能試験に参加した評価者の構成、性別および年齢を示した。また、各評価者について、各年次の一般育種事業で行った官能試験においてコシヒカ리를 0 点の標準品種とし、評価の幅を-2 点（粘り弱）から 1 点（粘り強）とした時の、日本晴の粘り評価値の平均値および標準偏差を示した。コシヒカリおよび日本晴は、山本・小川（1992）の行った食味官能試験での粘り評価値がそれぞれ 0.38 および-0.85 であり、粘りに関して明確な差がある品種である。本研究での評価者によるコシヒカリの粘りを 0 としたときの日本晴の粘り評価値は-1.67 から-0.88 の範囲であり、いずれの評価者もコシヒカリと日本晴の粘りの差を明確に区別できるとともに、均一な評価者が揃っているといえた。

2 - 1 - 3 食味関連形質調査

食味関連形質として、DHL については胚乳デンプンのアミロース含有率、炊飯光沢および到穂日数を、NIL については胚乳デンプンのアミロース含有率、白米のタンパク質含有率および到穂日数を以下の方法で調査した。

(1) アミロース含有率

100 g の白米を試験用粉砕器（Blabender, Duisburg, Germany）で粉砕し、0.15 mm の篩で篩い、オートアナライザーII（Bran+Luebbe, Norderstedt, Germany）により、3 反復で測定した。

(2) タンパク質含有率

100 g の白米を試験用粉砕器（Blabender, Duisburg, Germany）で粉砕し、0.15 mm の篩で篩い、インフラライザー450（Bran+Luebbe, Norderstedt, Germany）により、6 反復で測定した。

(3) 炊飯光沢

炊飯光沢はピーカー法（藤巻・櫛淵 1975）にて検定した。白米 10 g を 50 ml ピーカーに入れ、12 ml の蒸留水を加えた。30 分間吸水させた後、アルミ箔で密閉し高圧蒸気滅菌機 KT-40（ALP、東京、日本）で圧力 19.6 kPa に達してから 10 分間加熱した。減圧しながら 30 分間蒸らしを行い、室温で 1 時間放置した後、炊飯光沢を判定した。基準品種として日本晴およびコシヒカ리를それぞれ 3 点および 5 点として、1 点（光沢小）～6 点（光沢大）の 6 段階で判定した。試験は

3 反復で行った。

(4) 到穂日数

株中で最初の穂が抽出した日をその株の出穂日とし、各系統 5 株の平均を系統の出穂日として、移植日からの到穂日数を算出した。

2 - 1 - 4 遺伝子型分析

(1) DNA 抽出

全 DNA は、臭化セチルトリメチルアンモニウム (cetyl trimethylammonium bromide: CTAB) 法 (Murray and Thompson 1980) によって生葉から抽出した。

(2) PCR

PCR は 10 ng DNA、10 mM Tris-HCl(pH8.0)、50 mM KCl、4 μ M プライマーペア、1.5 mM MgCl₂、2.0 mM dNTPs および 0.5 U Taq ExHS DNA ポリメラーゼ (Takara 京都、日本) を含んだ 10 μ l の溶液で行った。溶液混合物は PCR システム iCycler Thermal Cycler System (BIO RAD、USA) を用いて 94 1 分間処理の後、94 30 秒間、55 1 分間、72 2 分間のサイクルを 35 回繰り返した。PCR 産物は、2.5% アガロース / TBE ゲルで分画した。EtBr 溶液で染色し UV イルミネーターで観察して多型を検出した。

(3) DHL の連鎖地図の作成

171 種の DNA マーカーの遺伝子型データ (Takeuchi *et al.* 2001) をもとに解析ソフト MAPMAKER/EXP ver3.0b (Lander *et al.* 1987) を用いて連鎖解析を行い、連鎖地図を作成した。用いた DNA マーカーの内訳は、RFLP マーカーが 135 種、無作為増幅多型 (random amplified polymorphic DNA: RAPD) マーカーが 34 種、配列標識部位 (sequence-tagged site: STS) マーカーが 2 種である。マーカー間距離を概算する地図関数には Kosambi 関数を用いた。

(4) QTL 解析

QTL 解析は、Windows QTL Cartographer 2.0 (Wang *et al.* 2004) を用い、DHL に対する複合インターバルマッピング (composite interval mapping: CIM) 法により解析を行った。CIM 解析では、遺伝的背景を制御するために、同ソフトのモデル 6 をもとに 5 つのマーカーと 10 cM のウィンドウサイズを用い、QTL の探

索は 2 cM 間隔で行った。同ソフトの 1000 回の並べ替え検定によってゲノムワイドの 5% 有意水準に対応する閾値を各形質に対して求め、得られた LOD 値がこの閾値を超えた場合に QTL が検出されたと判定した。有意な QTL インターバルにおける LOD 値のピークを、連鎖地図上における推定される QTL の位置に相当すると見なした。全表現型分散に対する各 QTL の寄与率および相加効果も同ソフトを用いて計算した。

(5) NIL のターゲット QTL 領域の調査

NIL 候補の選抜段階では、ターゲット QTL 領域に座乗する 12 種の単純配列反復 (simple sequence repeat: SSR) マーカー (Temnykh *et al.* 2001、McCouch *et al.* 2002) および 3 種の一塩基置換多型 (single nucleotide polymorphism: SNP) マーカー (植物ゲノムセンター、<http://www.pgcdna.co.jp/snps/>) を用いて MAS を行った。さらに置換断片の領域を決定するために、ゲノム配列情報 (IRGSP、<http://rgp.dna.affrc.go.jp/E/IRGSP/index.html>) を利用して、7 種の SSR マーカーを新たに作出した。この 7 種の SSR マーカーのプライマー配列情報を Table 2 に示した。

(6) NIL の遺伝的背景の調査

遺伝的背景は、2004 年、NIL-1、3、4 および 6 (世代 : BC₄F₄) について 21 種の RFLP マーカーを用いて調査した。この段階で 3 つ以上の RFLP マーカーについてコシヒカリの対立遺伝子型を示す系統を破棄した。また 2006 年、全ての NIL について同質性を確認するため、12 染色体に渡る 89 種の SSR マーカー (Temnykh *et al.* 2001、McCouch *et al.* 2002) を用いて遺伝的背景を調査した。

Table 2. Sequences of primer sets of SSR markers newly developed.

Marker name	Forward primer	Reverse primer
KA4	cacacaggcttcgcaattta	tttcctccttgtagccta
KA30	atggtgcccataatgagtg	tgtagttaacacatcgaggagga
KA35	aaactaccgaacggagcctaa	tagcgcgtagcaaccttctt
KA43	cctttctgaatgcggaattt	gaaatgatggcatgggagat
KA68	ggtggggatcggaattaac	tgcaatgggctactttcaga
KA70	cagtcctcctccatcctaaaa	gcactttcgatgttttgac
KA80	tactgctcatggeccttctc	gtactcggctcctccggattt

2 - 2 結 果

2 - 2 - 1 DHL の形質変異

DHL、212 系統における各形質の頻度分布を Fig. 1 に示した。

(1) 外 観

食味官能試験における外観については、1997 年の試験でのアキヒカリおよびコシヒカリの評価値の平均はそれぞれ 4.6 および 5.8 であり、DHL の評価値は 4.3~6.2 で、ほぼ両親の間に分布した (Fig. 1A)。1999 年の試験でのアキヒカリおよびコシヒカリの評価値の平均はそれぞれ 2.1 および 3.7 であり、DHL の評価値は 1.2~4.0 で、アキヒカリより外観が劣る系統が超越分離した (Fig. 1B)。

(2) 粘 り

食味官能試験における粘りについては、1997 年の試験でのアキヒカリおよびコシヒカリの評価値の平均はそれぞれ 5.7 および 6.2 であり、1999 年の試験でのアキヒカリおよびコシヒカリの評価値の平均はそれぞれ 2.3 および 3.3 であった。1997 年と 1999 年では評価の基準と幅が異なるため、粘り評価値の絶対値は 1999 年のコシヒカリは 1997 年のアキヒカリよりも小さかった。しかし、コシヒカリとアキヒカリの相対的な粘り評価値は、1997 年、1999 年ともにコシヒカリの方が大きく、コシヒカリは明らかにアキヒカリよりも粘りが強かった。DHL の粘り評価値は、1997 年は 4.8~7.0 (Fig. 1C) で、アキヒカリより粘りが弱い系統が超越分離し、1999 年は 1.3~4.0 (Fig. 1D) で、両側に超越分離した。

(3) アミロース含有率

1997 年の試験でのアキヒカリおよびコシヒカリのアミロース含有率の平均はそれぞれ 15.9% および 16.2% であり、DHL は 13.3~21.2% で、両側に超越分離を示し、特に両親よりアミロース含有率の高い系統が多かった (Fig. 1E)。1999 年の試験でのアキヒカリおよびコシヒカリのアミロース含有率の平均はそれぞれ 17.7% および 14.2% であり、DHL は 11.2~23.2% で、両側に超越分離した (Fig. 1F)。

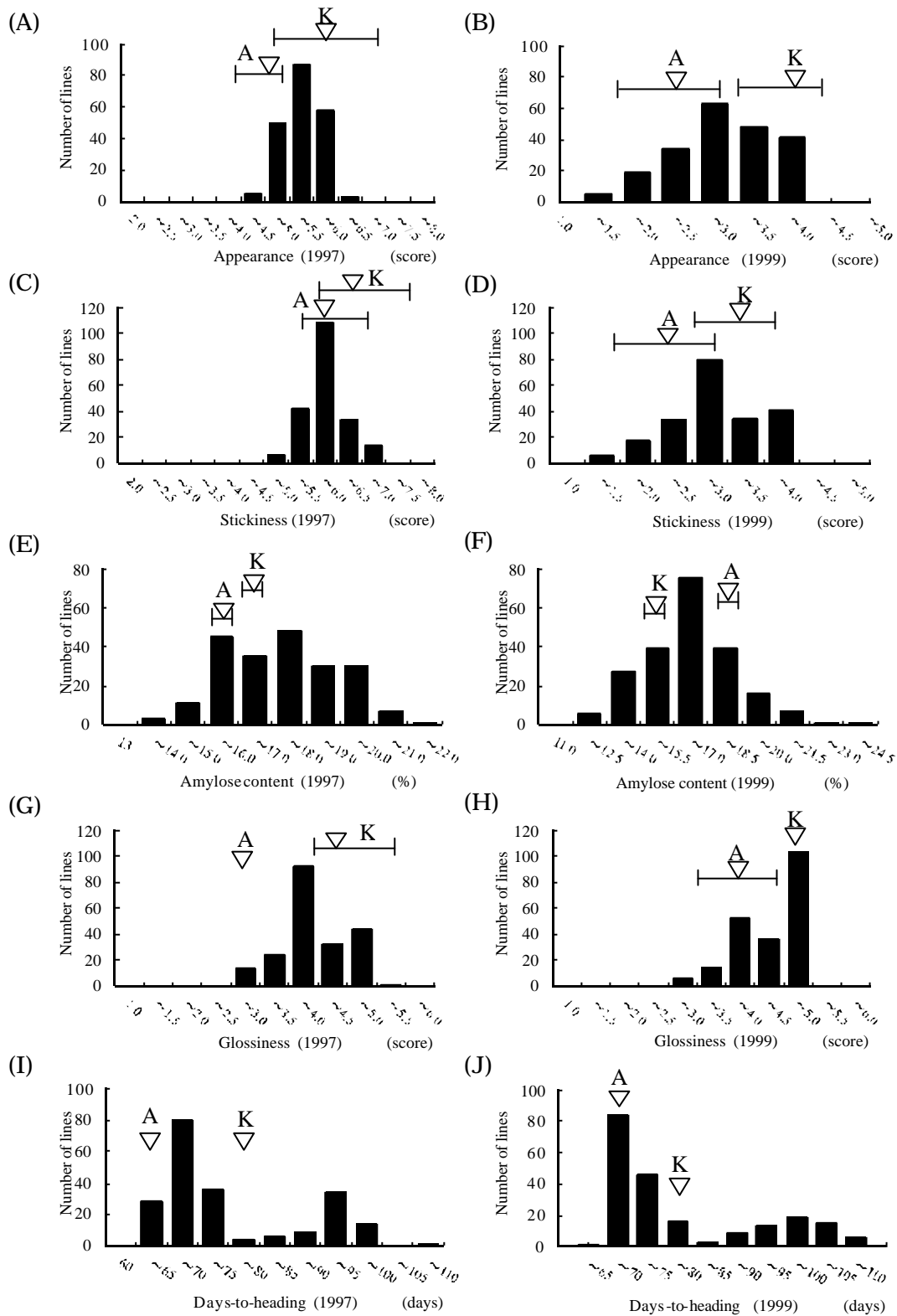


Fig. 1. Frequency distributions of traits related to eating quality in DHLs derived from cross between Akihikari and Koshihikari. (A) and (B): Appearance in 1997 and 1999. (C) and (D): Stickiness in 1997 and 1999. (E) and (F): Amylose content in 1997 and 1999. (G) and (H): Glossiness in 1997 and 1999. (H) and (I): Days-to-heading in 1997 and 1999. Arrow heads and bars indicate the mean value and standard deviation of parents, respectively. A and K indicate Akihikari and Koshihikari, respectively.

(4) 炊飯光沢

炊飯光沢については、1997 年の試験でのアキヒカリおよびコシヒカリの評価値の平均はそれぞれ 3.0 および 4.3 であり、DHL の評価値は 2.7~5.3 で、ほぼ両親の間に分布した (Fig. 1G)。1999 年の試験でのアキヒカリおよびコシヒカリの評価値の平均はそれぞれ 3.7 および 5.0 であり、DHL の評価値は 3.0~5.0 で、アキヒカリより評価値が低い方に超越分離した。(Fig. 1H)

(5) 到穂日数

1997 年の試験でのアキヒカリおよびコシヒカリの到穂日数の平均はそれぞれ 63 日および 76 日であり、DHL は 62~105 日で、全体の約 3 分の 1 系統が晩生側に超越分離した (Fig. 1I)。1999 年の試験でのアキヒカリおよびコシヒカリの到穂日数の平均はそれぞれ 70 日および 79 日であり、DHL は 65~110 日で、両側に超越分離し、特に全体の約 3 分の 1 系統が晩生側に超越分離した (Fig. 1J)。DHL の到穂日数の変異は 1997 年および 1999 年ではそれぞれ 43 日および 45 日であり、DHL 間の登熟期間 (出穂期から 30 日間) の平均気温の差はそれぞれ約 7.2 および約 4.3 であった。

(6) 相関分析

食味官能試験における評価値および食味関連形質測定値の相関分析を行った。食味官能試験における粘りおよび外観は炊飯光沢および到穂日数と有意な正の相関があった (Table 3)。Fig. 2 に 1997 年および 1999 年間の形質評価値の分布を示した。

Table 3. Correlation coefficients among traits associated with eating quality of cooked rice in 1997 and 1999.

	Year	Appearance of cooked rice	Stickiness of cooked rice	Amylose content	Glossiness of cooked rice	Days-to- heading	1997/1999 ¹⁾
Appearance of cooked rice	(1997)	1.00					0.33**
	(1999)	1.00					
Stickiness of cooked rice	(1997)	0.20*	1.00				0.40**
	(1999)	0.83**	1.00				
Amylose content	(1997)	0.16*	-0.13	1.00			0.36**
	(1999)	-0.11	-0.12	1.00			
Glossiness of cooked rice	(1997)	0.24*	0.31**	-0.26**	1.00		0.46**
	(1999)	0.59**	0.57**	-0.18*	1.00		
Days-to- heading	(1997)	0.36**	0.24*	0.56**	0.07	1.00	0.98**
	(1999)	0.40**	0.41**	0.05	0.39**	1.00	

¹⁾ Correlation coefficient between 1997 and 1999.

*, **: Significant at $P < 0.05$ and 0.01 , respectively.

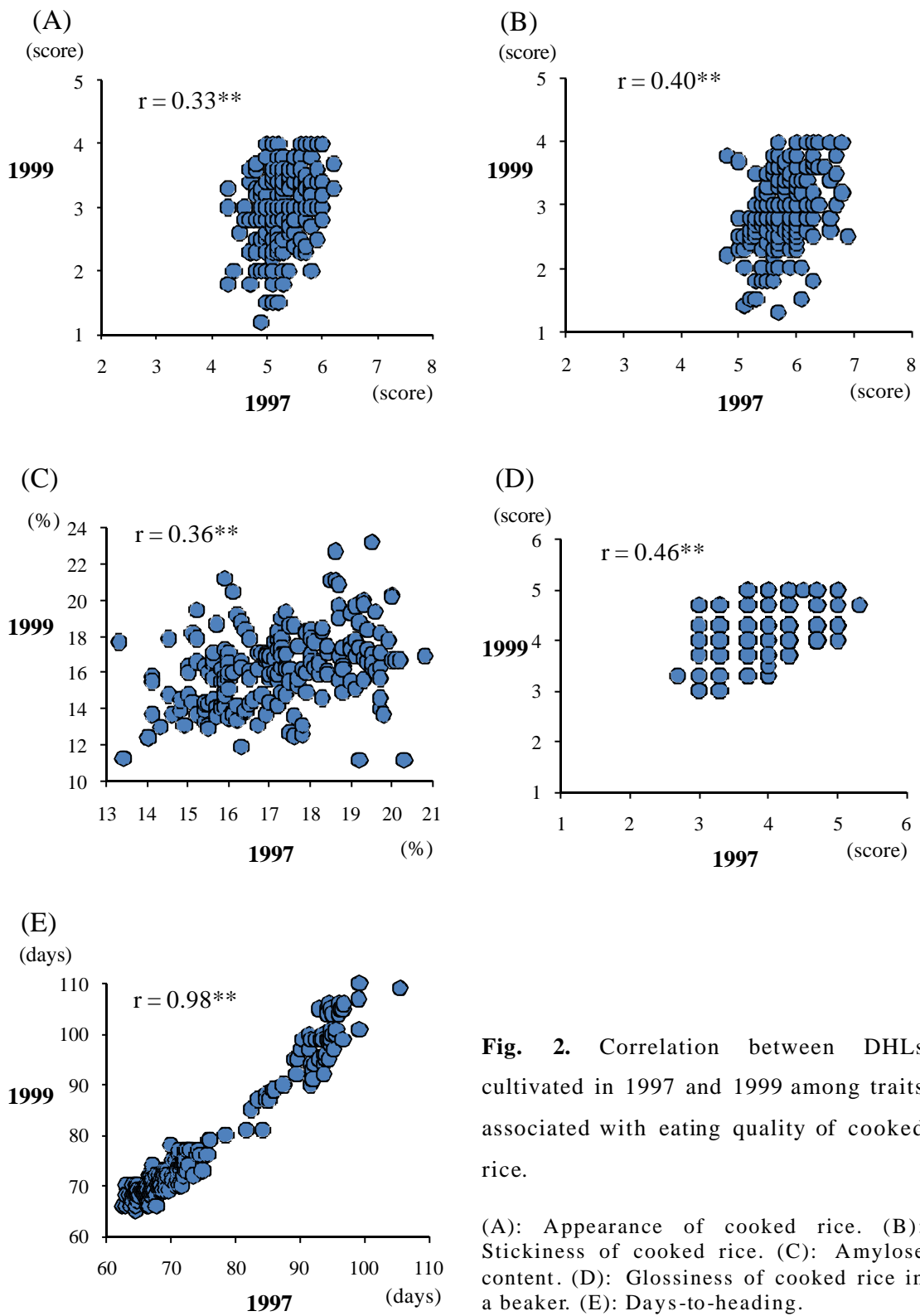


Fig. 2. Correlation between DHLs cultivated in 1997 and 1999 among traits associated with eating quality of cooked rice.

(A): Appearance of cooked rice. (B): Stickiness of cooked rice. (C): Amylose content. (D): Glossiness of cooked rice in a beaker. (E): Days-to-heading.

2 - 2 - 2 QTL 解析結果

QTL 解析の結果を Table 4 および Fig. 3 に示した。

(1) 外観

外観 (1997 年) に関する QTL は、第 3 染色体の R44 近傍と R2462 近傍、第 4 染色体の R2376A 近傍および第 6 染色体の C459 近傍の 4 カ所に検出された。R44 近傍および C459 近傍に検出された QTL においては、コシヒカリの対立遺伝子が外観評価を上げ、寄与率はそれぞれ 10.1% および 10.3% であった。一方、R2462 近傍および R2376A 近傍に検出された QTL においてはコシヒカリの対立遺伝子が外観評価を下げ、寄与率はそれぞれ 17.9% および 5.6% であった。

外観 (1999 年) に関する QTL は、第 2 染色体の OPAJ13 近傍および第 6 染色体の R2171 近傍の 2 カ所に検出され、いずれの QTL においてもコシヒカリの対立遺伝子が外観評価を上げ、寄与率はそれぞれ 8.3% および 18.1% であった。

(2) 粘り

粘り (1997 年) に関する QTL は、第 1 染色体の G6006 近傍、第 2 染色体の C370 近傍および第 3 染色体の R2462 近傍の 3 カ所に検出された。C370 近傍に検出された QTL においてはコシヒカリの対立遺伝子が粘りを増加させ、寄与率は 7.4% であった。一方、G6006 近傍および R2462 近傍に検出された QTL においては、コシヒカリの対立遺伝子が粘りを減少させ、寄与率はそれぞれ 7.3% および 8.4% であった。

粘り (1999 年) に関する QTL は、第 1 染色体の R559 近傍、第 2 染色体の OPAJ13 近傍、第 3 染色体の R2462 近傍および第 6 染色体の R2171 近傍に検出された。OPAJ13 近傍および R2171 近傍に検出された QTL においては、コシヒカリの対立遺伝子が粘りを増加させ、寄与率はそれぞれ 12.0% および 20.5% であった。一方、R559 近傍および R2462 近傍に検出された QTL においては、コシヒカリの対立遺伝子が粘りを減少させ、寄与率はそれぞれ 4.4% および 6.2% であった。

Table 4. Putative QTLs for traits associated with eating quality of cooked rice.

Traits	1997						1999					
	Chr.	Nearest Maker	LOD	AE ¹⁾	PVE ²⁾	Threshold value ³⁾	Chr.	Nearest Maker	LOD	AE	PVE	Threshold value
Appearance of cooked rice						2.82	2	OPAJ13	4.74	0.36	8.3	3.20
		3	R44	4.02	0.26	10.1						
		3	R2462	7.69	-0.35	17.9						
		4	R2376A	3.30	-0.19	5.6						
		6	R2171	10.54	0.53	18.1						
		6	C459	5.67	0.25	10.3						
Stickiness of cooked rice	1	G6006	3.43	-0.23	7.3	2.61						2.58
		1	R559	2.68	-0.26	4.4						
		2	OPAJ13	7.73	0.42	12.0						
		2	C370	3.96	0.23	7.4						
		3	C1402B	4.36	-0.26	8.4						
		3	R2462	3.81	-0.32	6.2						
Amylose content	2	OPAJ13	14.91	-1.99	37.1	3.23	2	OPAJ13	8.80	-2.16	26.6	2.91
	2	M235	3.75	-0.76	5.1		2	M235	3.24	-1.05	6.0	
	3	C393	6.02	-0.97	8.7							
	5	C1264	3.36	-0.70	4.6							
	6	C459	8.97	1.26	14.9							
	6	R2171	12.45	0.55	20.5							
Glossiness of cooked rice	2	OPAJ13	3.65	0.36	10.0	2.85						2.84
		2	M235	5.11	0.33	8.4						
		2	C1137	3.04	0.25	5.1						
		3	R2462	2.99	-0.28	6.1						
		6	C459	8.57	0.46	16.2						
		10	Y6866R	3.67	0.28	5.7						
Days-to-heading	10	S14155	3.23	0.26	5.6							
	3	C721	3.99	3.73	2.5	2.70	3	C721	7.38	6.40	5.9	3.31
	3	R2462	29.63	-12.05	25.9		3	R2462	26.27	-12.75	23.2	
	6	R2171	42.97	16.02	43.8		6	R2171	38.40	16.91	38.7	

¹⁾ Additive effects of the Koshihikari allele.

²⁾ Percentage of total phenotypic variance explained by each QTL.

³⁾ Significant threshold LOD value ($P < 0.05$) determined by computing 1,000 permutations.

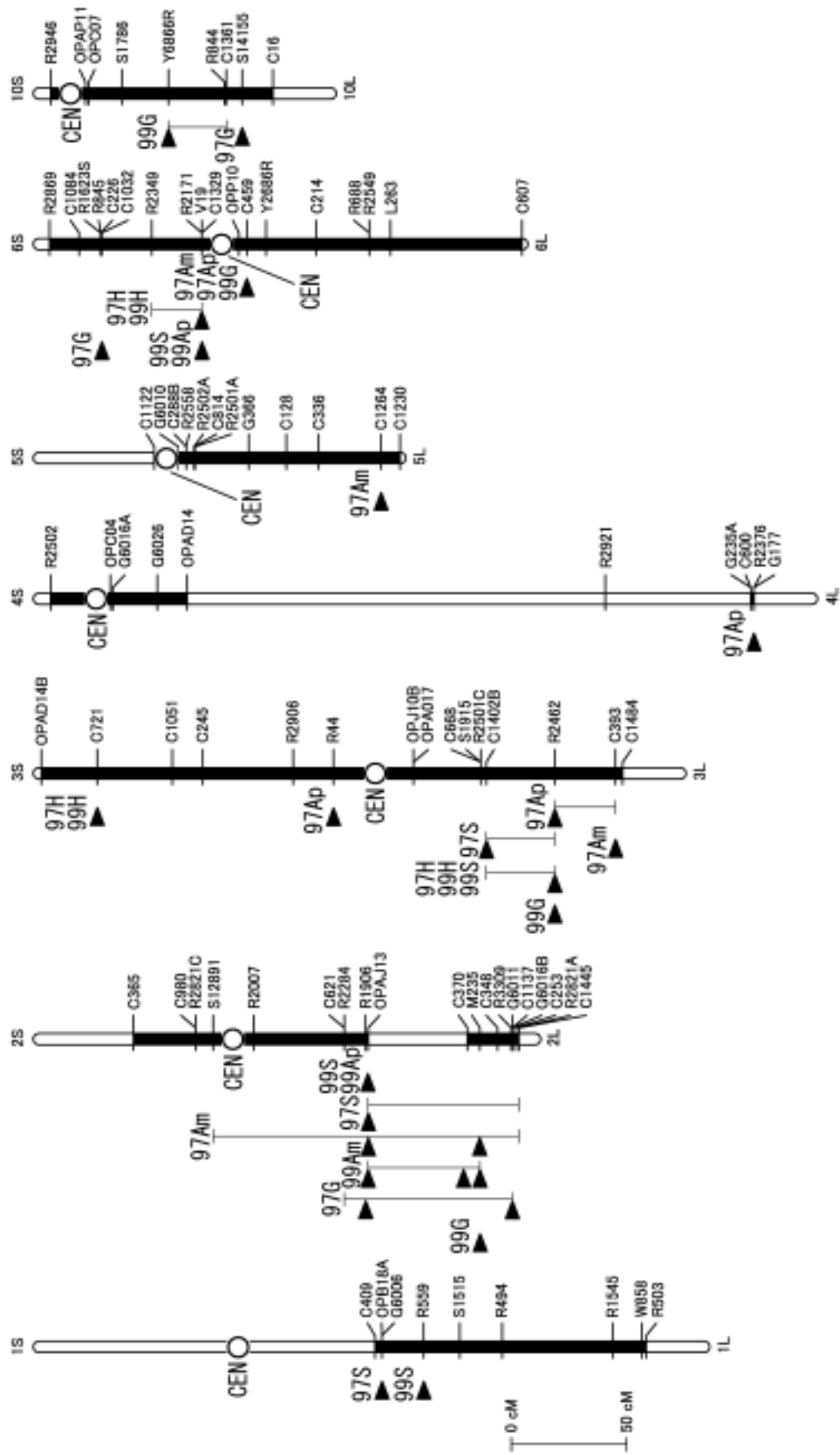


Fig. 3. Positions of QTLs for stickiness and appearance of cooked rice, amylose content, glossiness of cooked rice in a beaker, and days-to-heading.

Bars represent the putative region of QTL with LOD score higher than significant threshold value ($P < 0.05$) in QTL Cartographer. \blacktriangle shows the peak of LOD score. Ap: Appearance. S: Stickiness. Am: Amylose content. G: Glossiness. H: Days-to-heading. CEN: Approximate position of centromere.

(3) アミロース含有率

アミロース含有率 (1997 年) に関する QTL は、第 2 染色体の OPAJ13 近傍と M235 近傍、第 3 染色体の C393 近傍、第 5 染色体の C1264 近傍および第 6 染色体の C459 近傍に検出された。C459 近傍に検出された QTL においては、コシヒカリの対立遺伝子がアミロース含有率を増加させ、コシヒカリの対立遺伝子の相加効果は 1.26、寄与率は 14.9% であった。一方、OPAJ13 近傍、M235 近傍、C393 近傍および C1264 近傍に検出された QTL においては、コシヒカリの対立遺伝子がアミロース含有率を減少させ、コシヒカリの対立遺伝子の相加効果はそれぞれ -1.99、-0.76、-0.97 および -0.70 であり、寄与率はそれぞれ 37.1%、5.1%、8.7% および 4.6% であった。

アミロース含有率 (1999 年) に関する QTL は、第 2 染色体の OPAJ13 近傍と M235 近傍に検出され、コシヒカリの対立遺伝子がアミロース含有率を減少させ、コシヒカリの対立遺伝子の相加効果はそれぞれ -2.16 および -1.05 であり、寄与率はそれぞれ 26.6% および 6.0% であった。

(4) 炊飯光沢

炊飯光沢 (1997 年) に関する QTL は、第 2 染色体の OPAJ13 近傍と C1137 近傍、第 6 染色体の C1032 近傍および第 10 染色体の S14155 近傍に検出され、いずれの QTL においてもコシヒカリの対立遺伝子が炊飯光沢を増加させ、寄与率はそれぞれ 10.0%、5.1%、7.0% および 5.6% であった。

炊飯光沢 (1999 年) に関する QTL は、第 2 染色体の M235 近傍、第 3 染色体の R2462 近傍、第 6 染色体の C459 近傍および第 10 染色体の Y6855R 近傍に検出された。M235 近傍、C459 近傍および Y6855R 近傍に検出された QTL においては、コシヒカリの対立遺伝子が炊飯光沢を増加させ、寄与率はそれぞれ 8.4%、16.2% および 5.7% であった。一方、R2462 近傍に検出された QTL においては、コシヒカリの対立遺伝子が炊飯光沢を低下させ、寄与率は 6.1% であった。

(5) 到穂日数

到穂日数 (1997 年) に関する QTL は、第 3 染色体の C721 近傍と R2462 近傍および第 6 染色体の R2171 近傍に検出された。C721 近傍および R2171 近傍に検出された QTL においては、コシヒカリの対立遺伝子が到穂日数を増加させ、コシヒカリの対立遺伝子の相加効果はそれぞれ 3.73 日および 16.02 日、寄与率はそれぞれ 2.5% および 43.8% であった。一方、R2462 近傍に検出された QTL においては、コシヒカリの対立遺伝子が到穂日数を減少させ、コシヒカリの対立遺伝子の相加効果は -12.05 日、寄与率は 25.9% であった。

到穂日数（1999年）に関する QTL は、第 3 染色体の C721 近傍と R2462 近傍および第 6 染色体の R2171 近傍に検出された。C721 近傍および R2171 近傍に検出された QTL においては、コシヒカリの対立遺伝子が到穂日数を増加させ、コシヒカリの対立遺伝子の相加効果はそれぞれ 6.40 日および 16.91 日、寄与率はそれぞれ 5.9% および 38.7% であった。一方、R2462 近傍に検出された QTL においては、コシヒカリの対立遺伝子が到穂日数を減少させ、コシヒカリの対立遺伝子の相加効果は -12.75 日、寄与率は 23.2% であった。

2 - 2 - 3 NIL のグラフ遺伝子型

(1) NIL の養成過程

NIL の養成過程を Fig. 4 に示した。アキヒカリによる戻し交雑の間、第 2 染色体のターゲット QTL 領域について MAS を行い、コシヒカリ断片を持つ個体または系統を選抜し、6 系統の NIL を養成した。出穂期に基づいた選抜は、BC₄F₃ 世代以降に行った。

(2) NIL の遺伝的背景

NIL の遺伝的背景の同質性を調査するために 89 種の SSR マーカーを用いた。その結果、Fig. 5 に示したように、いくつかのコシヒカリ断片が NIL に残存した。これは、初期の選抜段階でコシヒカリとアキヒカリ間で多型のある RFLP マーカーの数が限られていたためであったと考えられる。NIL-1 には 5 つの小さなコシヒカリ断片が第 4、6、10 染色体に各 1 カ所ずつと第 5 染色体に 2 カ所、残存することが明らかとなった。このような残存断片が、NIL-2 には 3 カ所（第 5、9 および 11 染色体）、NIL-3 には 5 カ所（第 1、3、4、7 および 11 染色体）、NIL-4 には 1 カ所（第 5 染色体）、NIL-5 には 5 カ所（第 3 染色体に 2 カ所、第 4、7 および 10 染色体に各 1 カ所）、および NIL-6 には 5 カ所（第 3、4、5、7 および 11 染色体）あることが明らかとなった。しかし、DHL で検出した、第 1、3、5 および 6 染色体上の粘りおよびアミロース含有率に関する QTL 領域はアキヒカリ型に置換されていること、および第 2 染色体以外で全ての NIL に共通して残存した領域はないことを確認した。

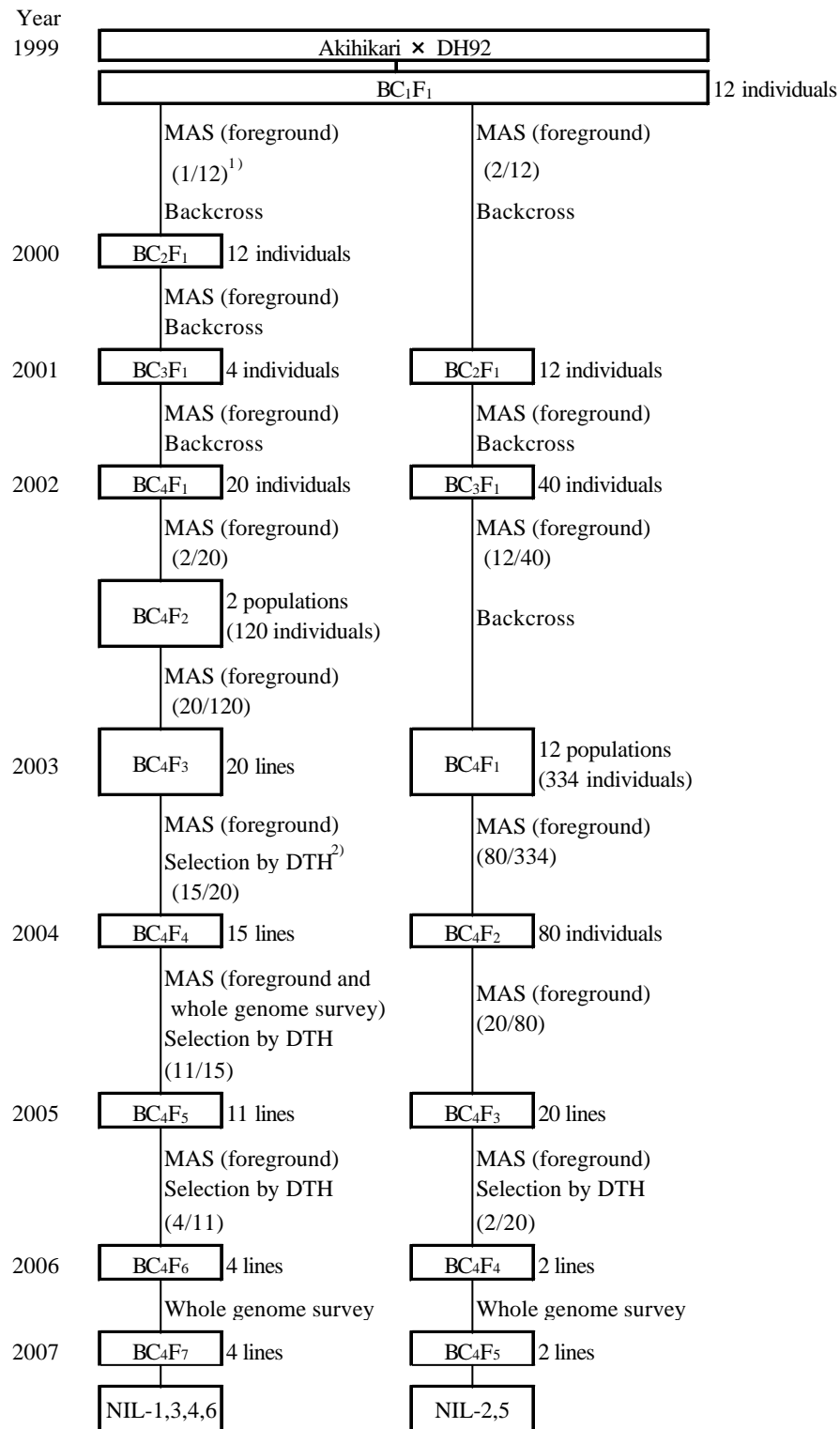


Fig. 4. Breeding procedure of NILs.

¹⁾ The numerator and denominator in parentheses stand for the number of individuals or lines selected, and the number investigated by marker-assisted and days-to-heading selection, respectively.

²⁾ DTH: days-to-heading.

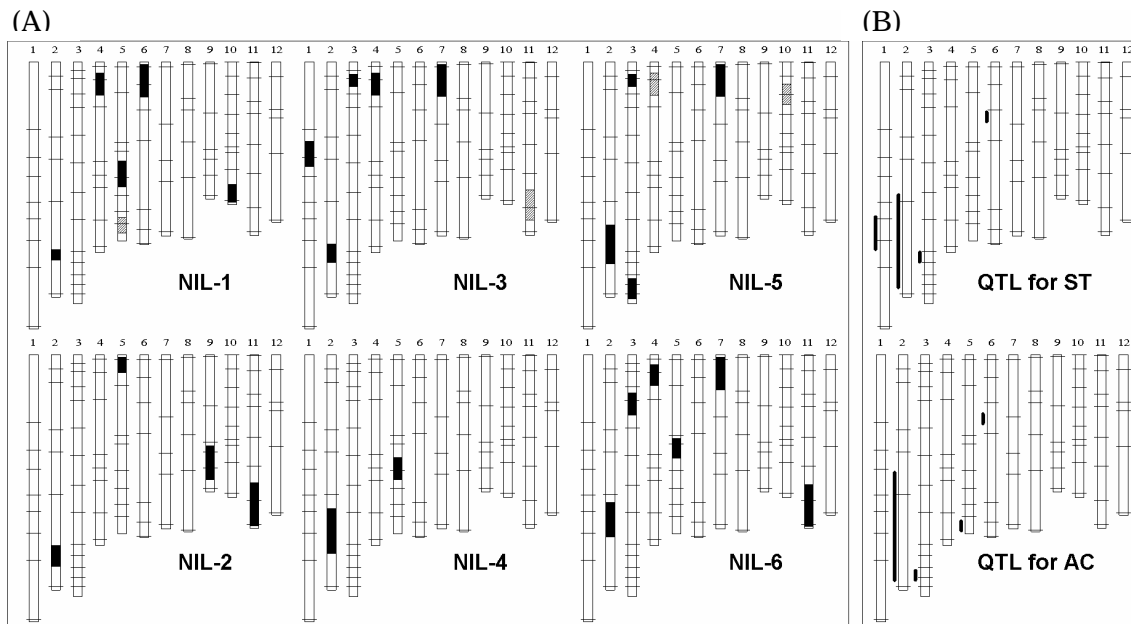


Fig. 5. Graphical genotypes in the whole genome of NILs and QTL regions for stickiness of cooked rice and amylose content detected in the DHL population.

(A) Graphical genotypes in the whole genome of NILs. Blocks represent the chromosomes. The horizontal lines show the positions of SSR markers investigated. To make graphical representation of the genotypes, the recombination point was arbitrarily determined at the mid-point between markers, which showed different genotypes. White, black and gray blocks denote homozygous of Akihikari allele, homozygous of Koshihikari allele and heterogeneous of both alleles, respectively.

(B) Putative QTL regions for stickiness (ST) and amylose content (AC) detected in the DHL population. Blocks represent the chromosomes. Bars next to chromosomes show putative QTL regions.

(3) ターゲット QTL 領域の遺伝子型

養成した NIL のターゲット QTL 領域のグラフ遺伝子型を Fig. 6 に示した。NIL-1 ではターゲット領域のうち RM3316 から RM8029 の領域がコシヒカリからアキヒカリの遺伝的背景に導入された。同様に、NIL-2 では S0651 から RM3535 の領域、NIL-3 では S0299 から KA68 および KA80 から RM8029 の 2 つの領域、NIL-4 では KA35 から RM8029 の領域、NIL-5 では KA68 から RM8029 の領域、および NIL-6 では S0299 から KA80 の領域が導入された。

2 - 2 - 4 NIL の粘り、アミロース含有率およびタンパク質含有率

2006 年および 2007 年に測定した NIL、アキヒカリおよびコシヒカリの粘り評価値の平均値および分散、アミロース含有率の平均値および 2007 年に測定したタンパク質含有率の平均値を Table 5 に示した。また各 NIL およびコシヒカリの形質評価値について、Dunnetts' test によるアキヒカリとの有意差を示した。

(1) 粘り評価値

NIL-1 および 2 の粘り評価値は、両年ともにアキヒカリとの間に有意差はなかったが、NIL-3、4、5、6 およびコシヒカリの粘り評価値は、両年ともにアキヒカリより有意に高かった。しかし、全ての NIL の粘り評価値は、コシヒカリより有意に ($P < 0.01$) 低かった。

(2) アミロース含有率

NIL-1 および 2 のアミロース含有率は、両年ともにアキヒカリとの間に有意差はなかったが、NIL-3、4、5、6 およびコシヒカリのアミロース含有率は、両年ともにアキヒカリより有意に低かった。NIL-3 および 5 のアミロース含有率はコシヒカリとのアミロース含有率との間に有意差はなかったが、NIL-4 および 6 のアミロース含有率は、コシヒカリより有意に ($P < 0.05$) 低かった。

(3) タンパク質含有率

タンパク質含有率は、NIL とアキヒカリの間で有意差はなかった。コシヒカリのタンパク質含有率はアキヒカリより有意に ($P < 0.05$) 低かった。

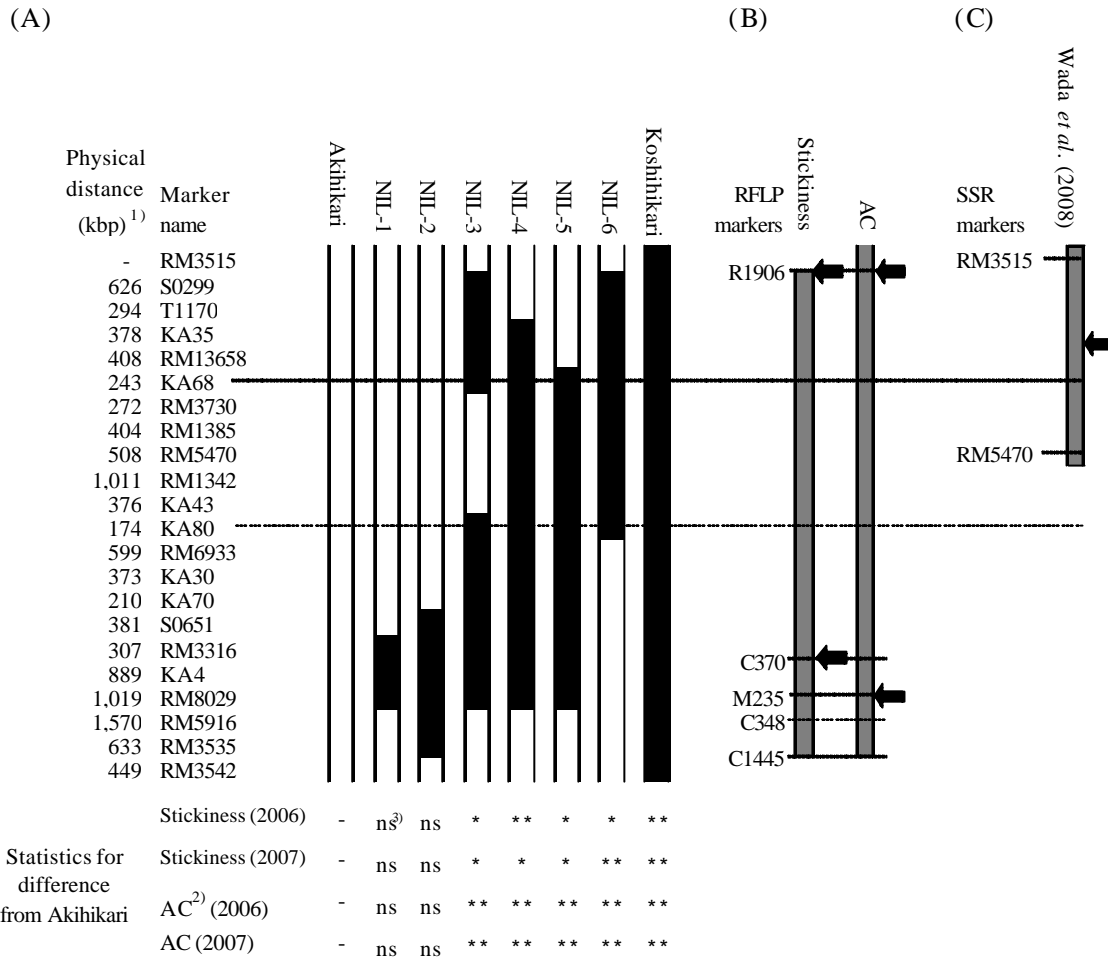


Fig. 6. Graphical genotypes of the long arm of chromosome 2 of NILs and QTL regions for eating quality detected in the DHL population and Wada *et al.* (2008).

(A) Graphical genotypes of the long arm of chromosome 2 of developed NILs with statistics for the difference in stickiness score and amylose content between each NIL and Akihikari. To make graphical representation of the genotypes of NILs, the recombination point was arbitrarily determined at the mid-point between markers, which showed different genotypes. White and black blocks denote homozygous of Akihikari and Koshihikari alleles, respectively. (B) Putative QTL regions for stickiness and amylose content detected in the DHL population. Arrows at the right side of QTL regions denote positions of the LOD peaks. Relative positions of RFLP markers used in the QTL analysis are also shown at left side of QTL regions. (C) Putative QTL region for overall evaluation, glossiness, taste and stickiness detected by Wada *et al.* (2008).

¹⁾ Physical map distance (kbp) in adjacent DNA markers are shown at left side of DNA markers.

²⁾ AC: Amylose content.

³⁾ **: significantly different from Akihikari at 1 % level, *: significantly different from Akihikari at 5 % level, ns: not significant by multiple comparisons, Dunnett's test.

Table 5. Stickiness of cooked rice, amylose content, protein content and agronomic characters of NILs, Akihikari and Koshihikari.

Lines and cultivars	Stickiness score (-1 to +2)				Amylose content (%)					
	2006		2007		2006	2007				
	Ave.	Var. ¹⁾	Ave.	Var.						
Akihikari	0.08	-	0.08	0.28	-	0.21	19.3	-	17.8	-
NIL-1	0.22	ns ²⁾	0.44	0.39	ns	0.25	19.1	ns	18.1	ns
NIL-2	0.17	ns	0.52	0.28	ns	0.26	19.5	ns	18.1	ns
NIL-3	0.42	*	0.27	0.54	*	0.25	16.7	**	16.3	**
NIL-4	0.78	**	0.25	0.56	*	0.26	16.4	**	14.8	**
NIL-5	0.58	*	0.27	0.61	*	0.25	17.5	**	16.1	**
NIL-6	0.50	*	0.35	0.67	**	0.24	16.3	**	15.6	**
Koshihikari	1.83	**	0.17	1.44	**	0.49	17.2	**	16.8	*

Lines and cultivars	Protein content (%)	Agronomic characters ³⁾								
		Days-to-heading	Culm length	Panicle length	Panicle number					
	2007	(days)	(cm)	(cm)	(m ⁻²)					
Akihikari	6.1	-	75	-	84	-	18.4	-	504	-
NIL-1	6.1	ns	75	ns	83	ns	18.7	ns	469	ns
NIL-2	6.1	ns	74	ns	81	*	18.7	ns	473	ns
NIL-3	6.1	ns	74	ns	83	ns	19.2	*	455	*
NIL-4	6.1	ns	74	ns	83	ns	18.9	ns	441	**
NIL-5	6.1	ns	75	ns	85	ns	19.0	ns	512	ns
NIL-6	6.2	ns	75	ns	75	**	18.6	ns	501	ns
Koshihikari	5.9	*	87	**	98	**	19.3	*	492	ns

¹⁾ Unbiased variance.

²⁾ **:significantly different from Akihikari at 1% level, *:significantly different at 5% level, ns: not significant by multiple comparisons, Dunnett's test.

³⁾ Average of 2006 and 2007.

2 - 2 - 5 粘りおよびアミロース含有率に関する QTL の候補ゲノム領域の絞り込み

第 2 染色体上の置換断片の遺伝子型分析および各 NIL の形質評価値より、粘りおよびアミロース含有率を制御する QTL の候補ゲノム領域が絞り込まれた (Fig. 6)。NIL-3、4、5 および 6 の粘り評価値はアキヒカリの粘り評価値より有意に高く、NIL-1 および 2 の粘り評価値はアキヒカリと有意差がなかった。NIL-3、4、5 および 6 では、第 2 染色体以外にも小さなコシヒカリ断片が検出された。しかし、これら 4 系統に共通するコシヒカリ断片は第 2 染色体上のものだけであった。

NIL-3 に導入されたコシヒカリ断片は、RM3730 から KA43 の領域にかけてアキヒカリ断片により分断されていた。従って NIL-3、4、5 および 6 で粘りが増加しアミロース含有率が低くなったのは、第 2 染色体上に導入されたコシヒカリ断片の全ての領域ではなく、Fig. 6 に示した RM13658 から RM3730 にかけての領域 (最大で 515kbp) および KA43 から RM6933 にかけての領域 (最大で 773kbp) の 2 つの小さなコシヒカリ断片のいずれかもしくは両方によることが示唆された。

2 - 2 - 6 NIL の農業形質

Table 5 に NIL、アキヒカリおよびコシヒカリの主要農業形質の特性を示した。全ての NIL の到穂日数はアキヒカリとの間に有意差はなく、コシヒカリよりおよそ 12 日少なかった。NIL-2 および 6 の稈長はアキヒカリより有意に短かった。NIL-3 の穂長はアキヒカリより有意に長く、NIL-3 および 4 の穂数はアキヒカリより有意に少なかった。

2 - 3 考 察

通常、食味の評価は官能試験によって行われ、炊飯米の外観、香り、味、粘り、硬さおよび総合評価といった複数の特性に基づいて評価を行う（福井・小林 1996）。高野（1997）は、米の食味が粘りや硬さといった触覚の反応として表される物理的側面と、味や香りといった嗅覚および味覚の反応として表される化学的側面の2つで評価されること、炊飯米の食味の評価は、物理的側面の比率が化学的側面の比率よりかなり高く、基本的には「物理的なおいしさ」が主体であることを示した。また、大里ら（1998）は、官能試験の信頼性についての評価を行い、総合評価、粘り、外観および味における品種間差の識別性は高く、硬さは品種間差の識別性が他の評価項目に比べて低いことを報告した。さらに、山本・小川（1992）は、112の日本品種および系統の食味官能試験を行い、総合評価と粘りの間には高い正の相関があることならびにコシヒカリの粘り評価値が高いことを示した。本章においても、1999年の解析では外観と粘りの評価精度を向上させるために基準品種を変更したことにより1997年の解析結果とは評価値の幅が異なっているが、粘り評価値の年次間比較では有意な正の相関を示し（ $r=0.40^{**}$ 、Table 3、Fig. 2）、アミロース含有率の年次間の相関係数とほぼ同じであった。以上のことから、本研究では、炊飯米の強い粘りがコシヒカリの良食味性の特徴を最もよく表し、かつ最も再現性が高く厳密な指標であるとした。

本章では、コシヒカリの強い粘りを説明できる遺伝的要因の解明をめざし、粘りおよび食味関連形質に関するQTL解析を行った。その結果、粘りに関して1997年および1999年の解析において第2染色体長腕領域にコシヒカリの対立遺伝子が粘りを増加させるQTLが検出された。このQTLは2カ年で共通して検出されたことから、コシヒカリの強い粘りに関して大きな作用力を持つと考えられた。なお、このQTLでは近接するマーカーは2カ年でC370とOPAJ13と異なったが、NILを用いた解析により、粘りに関する遺伝子はC370とOPAJ13の間に存在することが示唆されたことから、年次間の変動によりこのような差が生じたと考えられる。Wada *et al.* (2008) は第2染色体長腕のRM3515およびRM5470間の領域にコシヒカリの対立遺伝子が粘りを増加させるQTLを検出した（Fig. 6C）。この領域は、本章で検出されたQTL領域と重なるため、今後これら2つのQTLの異同について、詳細なマップベースクローニングにより確認する必要がある。

また、第6染色体のR2171近傍には1999年の解析においてコシヒカリの対立遺伝子が粘りを増加させるQTLが検出された。R2171近傍には到穂日数に関するQTLが検出されており、コシヒカリの対立遺伝子が到穂日数を増加させる作

用が明らかとなっている。到穂日数の増加は登熟気温の変化を通じて炊飯米の粘りに影響を及ぼす可能性があるが、この領域は DNA マーカーの多型頻度が薄く、近接する到穂日数の QTL の影響と粘り QTL の効果を区別するのが困難であるため、NIL 化は進めていない。今後、コシヒカリとアキヒカリの配列解析により新たな DNA マーカーを詳細にマッピングして、これらの QTL の異同について解明する必要がある。なお、第 6 染色体短腕領域には *wx* 座が存在するが、本章で検出された粘りに関する QTL と *wx* 座との対応関係については不明であった。

一方、第 3 染色体の R2462 近傍には 1999 年の解析においてコシヒカリの対立遺伝子が粘りを減少させる QTL が検出された。R2462 近傍にも到穂日数に関する QTL が見いだされており、コシヒカリの対立遺伝子が到穂日数を減少させる作用が明らかとなっている。この領域に見いだされた到穂日数に関する QTL と粘りに関する QTL の関連について、今後、新たな DNA マーカーを詳細にマッピングして解析する必要がある。

アミロース含有率と粘りは密接な関係があり、多くの場合に負の相関が認められている (Juliano 1971、稲津 1988、姫田 1996、Sato *et al.* 2002、Suzuki *et al.* 2003)。本章における DHL の解析ではアミロース含有率と粘りとの間には有意な負の相関は得られなかったが (Table 2)、1997 年および 1999 年の解析においてコシヒカリの対立遺伝子がアミロース含有率を減少させる QTL が、粘りに関する QTL とほぼ同じ第 2 染色体長腕領域に検出されたことから、粘りに関する QTL 領域には、アミロース含有率に関する遺伝子が含まれている可能性がある。低アミロース性をコードする遺伝子としてこれまでに、Yano *et al.* (1988) によって *du1* および *du4* が第 7 染色体および第 4 染色体に座乗すること、また菊池・木下 (1987) により *lam(t)* が第 9 染色体に座乗することが報告されているが、これらの遺伝子は本章で検出されたアミロース含有率に関する QTL とは染色体上の位置が異なるため別のものである。その他に *du2*、*du3* および *du5* が報告されている (Yano *et al.* 1988) が、それぞれの染色体上での位置が明らかでないため、本章で検出された QTL との関連は不明である。これまでに、第 2 染色体長腕領域にはアミロース含有率に関する遺伝子は同定されていないことから、アミロース含有率に関する本 QTL は新規の QTL であると考えられた。

炊飯光沢と粘りとの間には、東北地域での検定において高い相関が得られた (松永ら 1975)。本章での 1997 年および 1999 年の解析においてコシヒカリの対立遺伝子が炊飯光沢を増加させる QTL が、粘りに関する QTL とほぼ同じ第 2 染色体長腕領域に検出された。DHL において炊飯光沢と粘りは有意な正の相関を示したことから (Table 2)、粘りに関する QTL の作用により炊飯光沢も増加したと考えられる。

本章では、第 2 染色体にコシヒカリの強い粘りに大きく作用する遺伝子座が存在する可能性が示唆された。一般に、QTL 解析によって推定される遺伝子座の染色体上での位置や作用の大きさの信頼性は低い。Yano and Sasaki (1997) は、より信頼できる QTL の遺伝子作用を明らかにするために、見いだした QTL 領域の NIL を作出し、その作用の大きさを確認することが有効であると指摘し、Yano *et al.* (2001) は、出穂期関連の QTL について NIL の有効性を実証した。近年、Takeuchi *et al.* (2008) および Wada *et al.* (2008) が日本型品種における粘りをはじめとする食味関連形質に関する QTL を報告し、さらに Takeuchi *et al.* (2008) は第 3 染色体に検出された QTL の作用力を染色体断片置換システムによって確認した。しかし、本章で検出した第 2 染色体の粘りおよびアミロース含有率に関する QTL については NIL を用いた検証はこれまで報告されていない。従って、第 2 染色体の QTL について NIL を作成し、QTL の存在を確認するとともに遺伝子作用を検証することとした。

本章では、第 2 染色体長腕上のターゲット QTL 領域についてコシヒカリの染色体断片をアキヒカリの遺伝的背景に導入した 6 系統の NIL を作成した。各系統のコシヒカリ断片はいずれかの系統の置換断片と少しずつ重なり合って、QTL 領域をカバーしていた。これらの NIL では、稈長や穂長などいくつかの主要農業形質についてアキヒカリとの間に有意な差があった。これは遺伝的背景に残存したコシヒカリ断片の影響によるものと考えられた。しかし、粘りやアミロース含有率に影響を及ぼす可能性がある到穂日数については、NIL とアキヒカリとの間で有意差はなかったことと、DHL で検出した、第 1、3、5 および 6 染色体上の粘りおよびアミロース含有率に関する QTL 領域はアキヒカリ型に置換されていることから、これらの NIL は粘りおよびアミロース含有率の評価に供試できるものと判断した。

NIL の粘りおよびアミロース含有率と NIL に導入されたコシヒカリ断片との比較に基づき、粘りおよびアミロース含有率に関する QTL が第 2 染色体のターゲット QTL 領域に存在することが確認され、QTL の遺伝子作用を検証することができた。さらに、この QTL の候補ゲノム領域を、2 つの小領域、RM13658 から RM3730 にかけての領域 (最大で 515kbp) および KA43 から RM6933 にかけての領域 (最大で 773kbp) に絞り込んだ。粘りおよびアミロース含有率に関する QTL はこれらのいずれかもしくはその両方に存在すること可能性が高い。QTL の候補領域 (515 および 773kbp) に対応する日本晴のゲノム領域内の遺伝子情報は The Rice Annotation Project Database より検索可能であり (Ohyanagi *et al.* 2006、Tanaka *et al.* 2007) この QTL 領域における予測遺伝子を探索した。この 2 つの候補ゲノム領域にはそれぞれ 40 および 67 の遺伝子モデルが同定されて

いたが、現段階のアノテーション情報では胚乳デンプン合成に関わる遺伝子などは予測されていなかった。本 QTL に対する新規の候補遺伝子を同定するためには、候補領域のさらなる絞り込み、あるいはこれらの領域についてのコシヒカリおよびアキヒカリの塩基配列解析が必要である。

なお、NIL-3、4、5 および 6 のアミロース含有率はコシヒカリ並に低かったが、この 4 系統の粘り評価値はコシヒカリの粘り評価値のほぼ半分以下であった。この 4 系統が共通して持つコシヒカリ断片は第 2 染色体のターゲット QTL 領域のみであったが、粘りに関する未検出の QTL やアミロース含有率以外の要因が粘りに影響を及ぼした可能性が考えられた。

DHL の出穂期の分離は約 40 日に渡ったことにより、DHL 間における出穂期から 30 日間の平均気温の差は 1997 年で約 7.2 、1999 年で約 4.3 であった。このような到穂日数の差による登熟気温の変動が環境変動を増加させ、QTL の検出感度を低くした可能性があった。従って、出穂期の分離がより少ない解析集団を用いて粘りに関する未検出の QTL の有無を確認する必要がある。また、NIL とコシヒカリの間には約 12 日間の到穂日数の差があり、この差が粘りに影響を及ぼした可能性も考えられた。2006 年および 2007 年の NIL とコシヒカリの登熟期間の平均気温の差はそれぞれ 0.1 および 0.7 であったことから、到穂日数の差による影響は少なかったと推察されるが、今後、NIL を登熟期間の環境が異なる条件下で栽培し、粘りに対する到穂日数の影響を確認すべきである。

粘りに影響を及ぼすアミロース含有率以外の要因として、デンプンのもう一つの構成要素であるアミロペクチンが挙げられる (Han *et al.* 2004)。通常、出穂が遅くなると登熟気温が低下し、アミロース含有率が増加して粘りが減少する (Asaoka *et al.* 1989) が、アミロペクチンの鎖長分布は短鎖比率が増加する (Umemoto *et al.* 2003)。糯では、低温で登熟して短鎖比率の高い方が餅の硬化は遅くなる (赤間・有坂 1992) ため、粳でも低温で登熟した炊飯米のアミロペクチンは硬くなるのが遅いと考えられるが、炊きたての状態での粘りに対する影響は不明である。アミロペクチンが炊飯米の粘りにどのような影響を及ぼすか、アミロペクチンの変異体を用いることで検証すべきと考える。

2 - 4 まとめ

- 1) 日本型品種コシヒカリとアキヒカリの交雑 F₁ の葯培養に由来する DHL を用いて、炊飯米の粘りおよび食味関連形質に関する QTL 解析を行った。
- 2) コシヒカリの対立遺伝子が粘りを増加させる QTL を 1997 年の解析では第 2 染色体長腕領域に、1999 年の解析では第 2 染色体長腕領域および第 6 染色体短腕領域に検出した。
- 3) コシヒカリの対立遺伝子が粘りを減少させる QTL を第 1 および 3 染色体に検出した。
- 4) コシヒカリの対立遺伝子がアミロース含有率を低下させ、炊飯光沢を増加させる QTL を第 2 染色体長腕領域に検出し、粘りを増加させる QTL との関連が示唆された。
- 5) 以上の結果から、コシヒカリの強い粘りには第 2 染色体に見いだされた一連の QTL が大きな作用力を持つと推察された。
- 6) アキヒカリの遺伝的背景に、第 2 染色体の QTL 領域について異なる断片をコシヒカリから導入し、6 系統の NIL を養成した。
- 7) NIL 間には粘りおよびアミロース含有率について有意な差が検出され、第 2 染色体に導入されたコシヒカリ断片が、NIL において粘りを増加させ、アミロース含有率を下げる事が明示された。
- 8) 導入された断片を比較した結果、第 2 染色体の粘りに関する QTL の候補ゲノム領域は、RM13658 と RM3730 間の 515kbp および KA43 と RM6933 間の 773kbp の 2 つの小領域のいずれかまたはその両方にあることが明らかとなった。
- 9) 以上の結果から、DHL で得られた QTL の存在と作用力を検証できた。
- 10) NIL の粘り評価値はコシヒカリの粘り評価値のほぼ半分以下と低かった。
- 11) 今後、未検出の QTL や到穂日数など、粘りに関する第 2 染色体 QTL 以外の影響を確認する必要がある。

第3章 さきひかり / 日本晴集団を用いた 食味に関する QTL 解析

第2章では、コシヒカリとアキヒカリの DHL を用いて食味に関する QTL 解析を行った。その結果、第2染色体長腕領域に検出した粘りおよびアミロース含有率に関する QTL はコシヒカリの強い粘りに関して大きな作用力を持つことが示唆されたため、コシヒカリ由来の第2染色体 QTL 領域をアキヒカリの遺伝的背景に導入した NIL を作成し、QTL の作用力を検証した。しかし DHL では出穂期の変異が食味関連形質の発現に影響することで、食味関連 QTL の検出感度が低かったと考えられる。従って、第2染色体の QTL 単独ではコシヒカリ並の強い粘りをもつ個体や系統を選抜する MAS には十分ではないことが示唆された。

そこで、第3章では熟期が同じ品種を用いて解析集団を養成し、粘りに関する QTL 解析を行うこととした。用いた集団は、いずれも晩生の日本型品種さきひかりおよび日本晴の交雑に由来するものである。Fig. 7 にさきひかりの系譜図を示した。近年、食味がコシヒカリと比べて同等以上と評価される新品種が誕生してきており、さきひかりもその一つで、コシヒカリの強い粘りを受け継ぐ良食味品種である（堀内ら 2004）。さきひかりとコシヒカリの遺伝的背景の違いを Table 6 に示した。全染色体に渡る 563 種の SSR マーカーを調査した結果、コシヒカリとさきひかりで多型のあるマーカーは 128 種（22.7%）であった。各染色体の多型マーカーの割合は、14.4% ~ 33.3% の範囲に分布した。

さきひかりのアミロース含有率は日本晴より約 5% 低く、コシヒカリより約 1% 低い（堀内ら 2004）。しかし、Han *et al.* (2004) は、粘りはアミロース含有率ばかりでなく、アミロペクチンの特性によっても影響を受けることを示唆した。従って、本章では粘りの評価を補助するために、アミロース含有率の他に、デンプンの糊化特性を測定した。糊化特性の測定法の一つであるアミログラムは、水に懸濁させた米粉を一定速度で攪拌しながら加熱し、その粘度変化を測定したもので、温度の上昇に従い粘度は一度増加した後減少し、冷却に伴って粘度が再度増加する。岡留（1996）は、一般に最高粘度が高くブレイクダウンの大きい米は食味がよく、最終粘度が高くコンシステンシーの大きい米はアミロース含有率が高く糊化デンプンが老化しやすいと述べている。

本章ではさきひかりと日本晴の交雑に由来する RIL を 3 カ年に渡り栽培し、炊飯米の粘り、白米のアミロース含有率、デンプンの糊化特性および到穂日数に関する QTL 解析を行った。

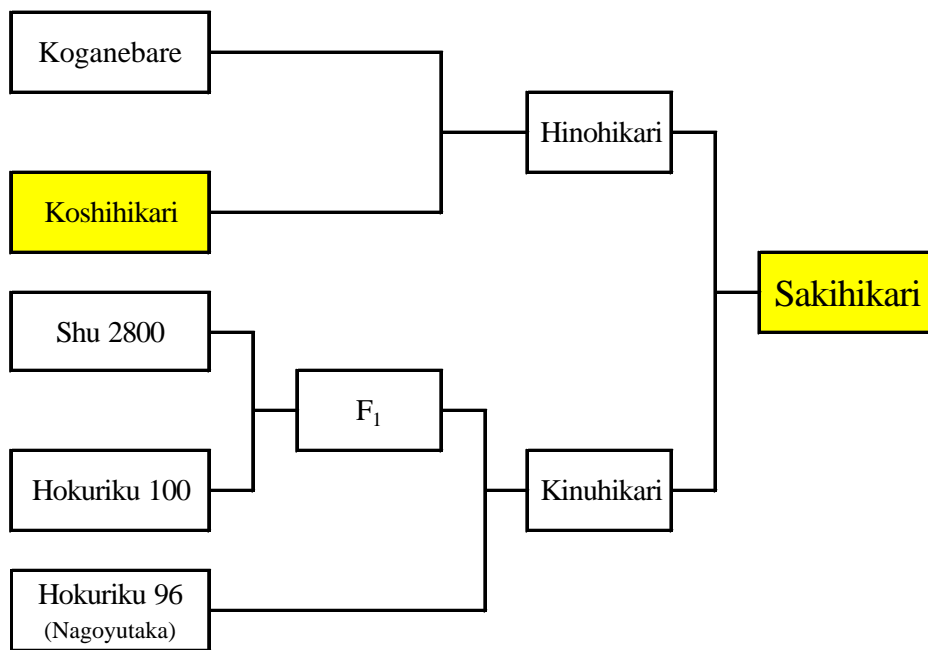


Fig. 7. Genealogy of Sakihikari.

Table 6. Difference in genetic background between Sakihikari and Koshihikari.

Chr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Sum/ Average
Number of polymorphic SSR markers	15	25	14	11	8	14	6	7	5	11	6	6	128
Number of SSR markers surveyed	58	104	43	33	34	97	27	27	34	51	33	22	563
Percentage of polymorphic markers (%)	25.9	24.0	32.6	33.3	23.5	14.4	22.2	25.9	14.7	21.6	18.2	27.3	22.7

3 - 1 材料および方法

3 - 1 - 1 植物材料

(1) 材料の養成

さきひかりと日本晴の正逆交雑に由来する F₁ から単粒系統法により 188 系統の RIL を養成した。

(2) 栽培方法

RIL および両親を 2005、2006 および 2007 年に福井農試（北緯 36°03'）において栽培した。RIL および両親は 4 月上旬に播種し、各系統 1 株 1 本植えて 50 株植えとし、幼苗を 2005 年 5 月 6 日、2006 年 5 月 8 日、および 2007 年 4 月 26 日に各系統 50 株を栽植密度 21.5 株 m⁻² で本田に移植した。基肥施肥（N 成分 7.5 g m⁻²）のみの栽培を行い、到穂日数は移植から出穂までの日数として計算した。成熟期に各系統 32 株を収穫した。用いた RIL の世代は 2005 年 F₅、2006 年 F₈、および 2007 年 F₉ であった。

3 - 1 - 2 食味官能試験による粘りの評価

150 g の白米を洗米器はやとぎ（クレセント、広島、日本）を用いて 2 分間洗米し、500 ml ビーカーに移して 90 分間吸水させた。その後、精米重量に対して 1.26 倍の水とともに電気炊飯器 ERC-9F（ニチワ電器、兵庫、日本）で炊飯した。炊飯後 15 分で 4 時間放冷した後、3 反復で、Table 1 に示した 4 人の評価者（男性 3 名、女性 1 名、年齢は 34 から 48 歳）で官能試験を行った。炊飯米の粘りはコシヒカリを 0 点の基準として、-2 点（コシヒカリよりかなり粘らない）、-1 点（コシヒカリより粘らない）、+1 点（コシヒカリより粘る）の 4 段階で評価した。4 人の評価者の平均値を QTL 解析に用いた。

3 - 1 - 3 アミロース含有率と糊化特性の測定

(1) アミロース含有率の測定

100 g の白米を試験用粉碎器（Blabender, Duisburg, Germany）で粉碎し、0.15 mm の篩で篩い、オートアナライザーII（Bran+Luebbe, Norderstedt, Germany）に

より、各系統 3 反復で測定した。

(2) 糊化特性の調査

100 g の白米を試験用粉碎器 (Blabender, Duisburg, Germany) で粉碎し、0.15 mm の篩で篩った試料を用いた。Kuo *et al.* (2001) の方法に従い、白米 4.0 g に蒸留水 25 ml を加え、ラピッドビスコアライザ (Newport Scientific, NSW, Australia) により最高粘度 (PV: peak viscosity)、最低粘度 (HP: hot-paste viscosity) および最終粘度 (CP: cool-paste viscosity) を測定し、ブレイクダウン (BD: break down、PV と HP の差) およびコンシステンシー (CO: consistency、CP と HP の差) を算出した。各系統 2 反復で測定した。

3 - 1 - 4 遺伝子型分析

(1) DNA 抽出

全 DNA は CTAB 法 (Murray and Thompson 1980) により生葉から抽出した。

(2) PCR

PCR は、10 ng DNA、10 mM Tris-HCl (pH8.0)、50 mM KCl、4 μ M プライマーペア、1.5 mM MgCl₂、2.0 mM dNTPs および 0.25 U AmpliTaq Gold DNA ポリメラーゼ (Applied Biosystems, CA, USA) を含んだ 10 μ l の溶液で行った。溶液混合物は PCR システム iCycler Thermal Cycler System (BIO RAD, USA) を用いて、95 10 分間処理の後、94 30 秒間、55 1 分間、72 2 分間のサイクルを 35 回繰り返した。PCR 産物は、2.0% アガロース / TBE ゲルで分画した。EtBr 溶液で染色し UV イルミネーターで観察して多型を検出した。

(3) wxCT 分析

Wx 遺伝子は食味に影響を与える主要な遺伝子であることは良く知られており (Juliano 1971、Sato *et al.* 2002、Suzuki *et al.* 2003)、イネ品種間について、*Wx* 遺伝子の CT 繰り返し配列領域の対立遺伝子変異が報告された (Bligh *et al.* 1995)。また、Bao *et al.* (2006) は 499 の粳品種を調査し、CT 配列の繰り返し数について、(CT)₈ から (CT)₂₂ までの 10 種類の対立遺伝子を明らかにした。本章で用いたさきひかりと日本晴についても食味が大きく異なることから、*Wx* 遺伝子がアミロース含有率に影響を及ぼし、さらに二次的に炊飯米の粘りに影響を及ぼしている可能性が考えられた。従って親品種および RIL について *Wx* 遺伝子の

CT 変異を調査した。W_x 遺伝子の塩基配列解析データに基づき、CT 繰り返し配列領域を特異的に増幅させるプライマーの組み合わせを Oligo 5.0 (National Bioscience, MN, USA) を用いて設計した。プライマー配列は、wxCT-U (5' - TTG CAG ATG TTC TTC CTG ATG-3') および wxCT-L (5' -CTT TGT CTA TCT CAA GAC AC-3') の 2 つである。各 RIL の全 DNA をこれらのプライマーで PCR 増幅し、PCR 産物を R6G-dUTP および R110-dUTP (Applied Biosystems Division/Perkin-Elmer, CA, USA) で蛍光ラベルした。各 RIL 系統の W_x 遺伝子の CT 配列の繰り返し数は、キャピラリーシケンサー ABI3700 (Applied Biosystems Division/Perkin-Elmer, CA, USA) を用いて決定した。

(4) RIL の連鎖地図の作成

113 種の SSR マーカー (Temnykh *et al.* 2001, McCouch *et al.* 2002) および wxCT により、MAPMAKER/EXP 3.0 (Lander *et al.* 1987) を用いて連鎖解析を行い、連鎖地図を作成した。マーカー間距離を概算する地図関数には Kosambi 関数を用いた。

(5) QTL 解析

QTL 解析は Windows QTL Cartographer 2.5 (Wang *et al.* 2007) を用い、RIL に対する CIM 法により行った。CIM 解析では、遺伝的背景を制御するために、モデル 6 をもとに 5 つのマーカーと 10 cM のウィンドウサイズを用いた。QTL の探索は 2 cM 間隔で行った。同ソフトの 1000 回の並べ替え検定によってゲノムワイドの 5% 有意水準に対応する閾値を各形質に対して求め、得られた LOD 値がこの閾値を超えた場合に QTL が検出されたと判定した。有意な QTL インターバルにおける LOD 値のピークを、連鎖地図上における推定される QTL の位置に相当すると見なした。全表現型分散に対する各 QTL の寄与率および相加効果も同ソフトを用いて計算した。

また、粘りに関する QTL に対する登熟気温の影響を明らかにするために、登熟期間 (出穂後 30 日間) の平均気温が 26.0 ~ 27.0 である RIL のみを用いて、上記の方法で QTL 解析を行った。

3 - 2 結果

3 - 2 - 1 両親と RIL の形質および wxCT 変異

(1) 両親間の形質変異

Table 7 に両親品種および RIL の炊飯米の粘り評価値、アミロース含有率、糊化特性および到穂日数の変異を示した。さきひかりと日本晴の間には 3 年間の試験を通じて粘り評価値、アミロース含有率およびコンシステンシーについて有意な差があった。さきひかりと日本晴の粘り評価値の平均値はそれぞれ 0.08 および -1.44 であった。一方、最高粘度およびブレイクダウンについては両親間で有意な差はなく、到穂日数、最低粘度および最終粘度は 1 年のみで両親間で有意差があった。

さきひかりおよび日本晴の糊化特性の模式図を Fig. 8 に示した。さきひかりの糊化特性は、最低粘度が高く最終粘度が低く、それらの差であるコンシステンシーが小さいという特徴を持つことが明らかとなった。

(2) RIL の形質変異

RIL の粘り、アミロース含有率およびコンシステンシーの頻度分布はほぼ正規分布となり、かつ全ての年で両側に超越分離を示した (Table 7, Fig. 9)。その他の形質についての頻度分布もほぼ正規分布を示した。Fig. 10 に RIL における粘りおよびアミロース含有率の年次間の相関図を示した。粘り評価値およびアミロース含有率はいずれの年次間においても有意な相関を示した。

さきひかりおよび日本晴の出穂期から 30 日間の平均気温は 2005 年、2006 年および 2007 年でそれぞれ 26.5 、 26.8 および 26.0 であった。2005 年、2006 年および 2007 年における RIL 間の到穂日数の変異はそれぞれ 14 日、20 日および 21 日であり、RIL 間の登熟期間の平均気温の差はそれぞれ 1.0 、 3.6 および 2.1 であった (Fig. 11)。

Fig. 10 および Fig. 11 により、各年次の特徴として、2005 年は RIL 間での出穂期の変異が小さく、登熟期間の気温の変異も小さかったこと、2006 年は RIL 間での登熟期間の気温の変異が最も大きかったこと、2007 年は 5 月から 7 月が低温で経過したため RIL の出穂期が 3 カ年の中で最も遅かったことと、8 月中旬以降に出穂した RIL では登熟期間の気温の低下がほとんどなかったことおよび粘りの評価値が大きい方に偏ったことが挙げられる。

Table 7. Phenotypic variations in RILs and parental cultivars, Sakihikari and Nipponbare.

Year	Lines and cultivars	Stickiness (score)	AC (%)	Amylographic characteristics					DH (days)
				PV	HP	BD (RVU)	CP	CO	
2005	RILs Ave.	-0.43	17.3	501	200	301	327	127	92
	Max.	0.75	21.0	558	261	347	424	163	101
	Min.	-1.63	13.2	424	156	234	207	101	87
	Sakihikari	0.28	15.0	500	200	301	307	107	92
	Nipponbare	-1.25	18.2	484	188	297	326	139	93
2006	RILs Ave.	-0.97	18.7	498	212	287	335	124	95
	Max.	0.25	22.9	561	260	360	409	156	103
	Min.	-2.00	13.5	426	163	225	279	102	83
	Sakihikari	-0.18	17.2	497	221	276	326	105	94
	Nipponbare	-1.33	21.4	487	202	286	341	140	96
2007	RILs Ave.	-0.57	18.3	470	209	261	334	125	104
	Max.	0.38	30.5	547	282	334	452	169	118
	Min.	-2.00	11.3	373	174	179	284	95	97
	Sakihikari	0.13	13.4	454	202	252	315	113	104
	Nipponbare	-1.73	20.4	472	187	285	325	138	104
Total ave.	Sakihikari	0.08	15.2	484	208	276	316	108	97
	Nipponbare	-1.44	20.0	481	192	289	331	139	98

¹⁾ AC: Amylose content, PV: Peak viscosity, HP: Hot-paste viscosity, BD: Breakdown viscosity, CP: Cool-paste viscosity, CO: Consistency viscosity, DH: Days-to-heading.

²⁾ Significance: *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$.

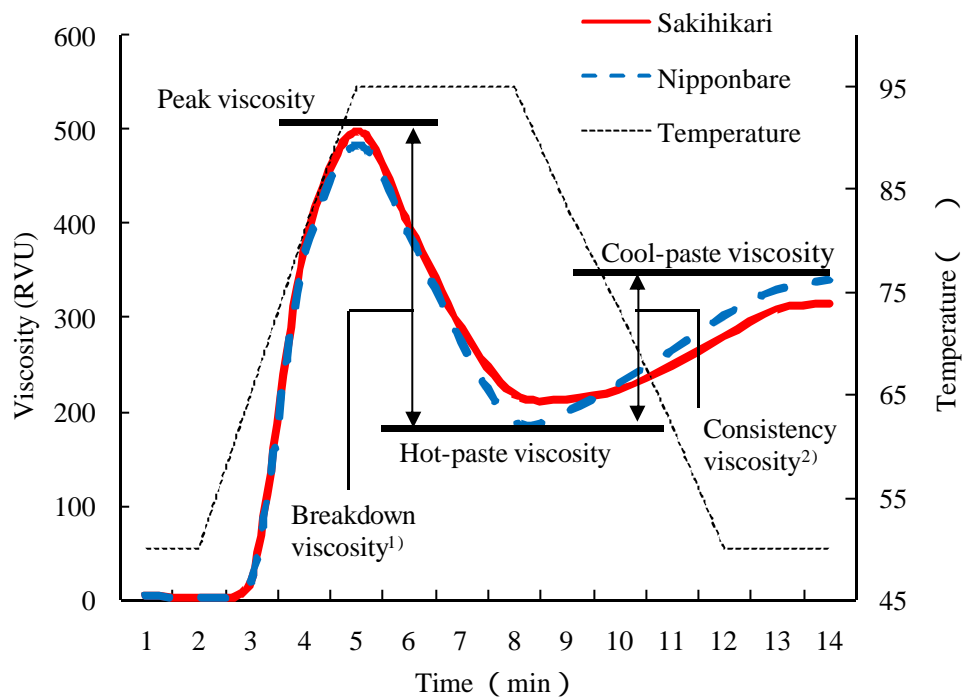


Fig. 8. Schematic diagram of amylographic characteristics of starch of Sakihikari and Nipponbare measured by Rapid Visco Analyzer.

¹⁾ Breakdown viscosity: Peak viscosity – Hot-paste viscosity.

²⁾ Consistency viscosity: Cool-paste viscosity – Hot-paste viscosity.

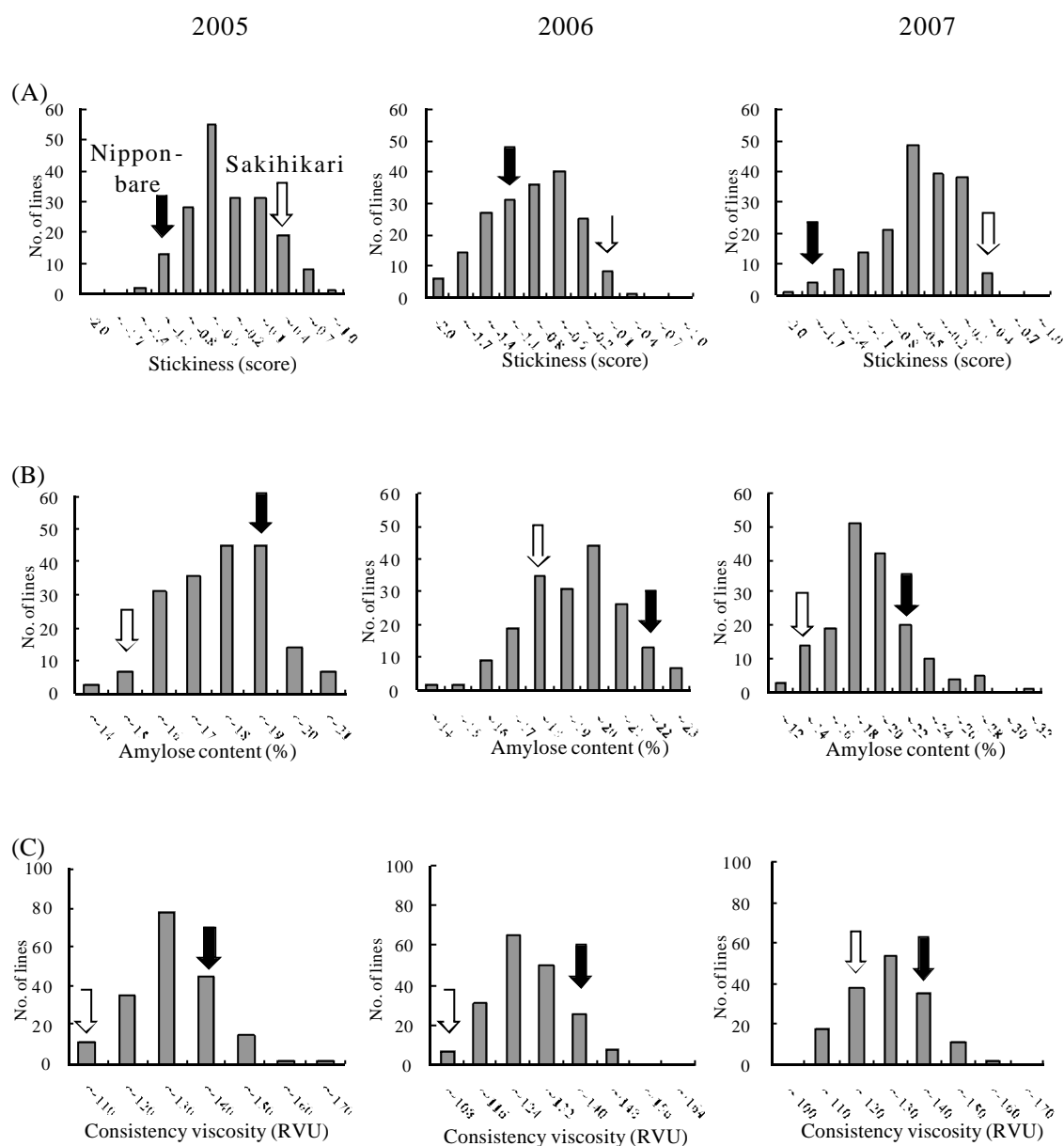


Fig. 9. Frequency distributions of RIL derived from cross between Sakihikari and Nipponbare cultivated in 2005, 2006 and 2007.

(A): Stickiness score. (B): Amylose content. (C): Consistency viscosity. White and black arrows indicate the average value of Sakihikari and Nipponbare, respectively.

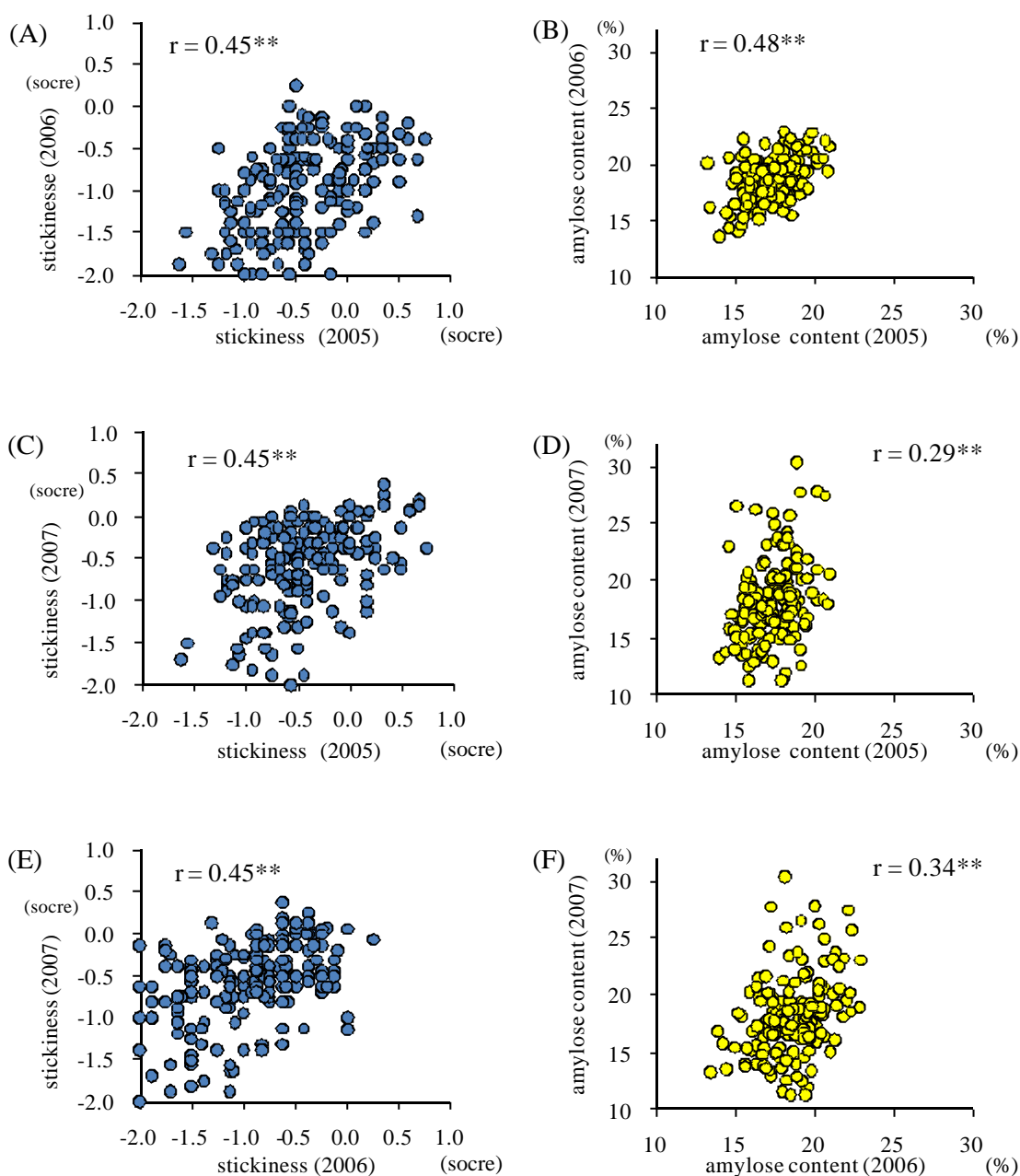


Fig. 10. Correlation between each year for stickiness score and amylose content in RIL.

(A) and (B): Correlation between 2005 and 2006. (C) and (D): Correlation between 2005 and 2007. (E) and (F): Correlation between 2006 and 2007.

(A), (C) and (E): Correlation for stickiness score. (B), (D) and (F): Correlation for amylose content.

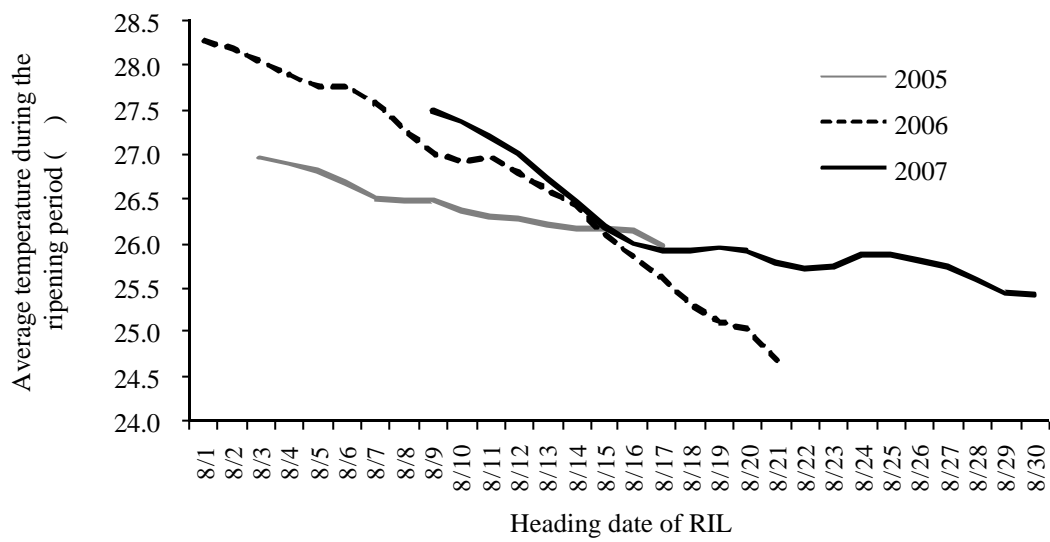


Fig. 11. Heading date and average temperature during the ripening period (30 days after heading) of RIL cultivated in 2005, 2006 and 2007.

(3) wxCT 変異

RIL188 系統のうち、88 系統がさきひかり型の対立遺伝子(CT)₁₇、79 系統が日本晴型の対立遺伝子 (CT)₁₈ および 21 系統が両対立遺伝子をヘテロに持っていた。

3 - 2 - 2 相関分析

各形質の年次間の相関係数および各年次での形質間の相関係数を Table 8 に示した。粘り評価値の年次間の相関係数はいずれも $r=0.45^{**}$ であり、その他の形質も全て年次間では 1% の水準で有意な正の相関を示した。2005 年の粘りは最高粘度と有意な正の相関、最低粘度と有意な負の相関があった。2006 年と 2007 年の粘りは最低粘度、最終粘度およびコンシステンシーと有意な負の相関があり、到穂日数と有意な正の相関があった。全ての年を通じて、粘りとアミロース含有率および粘りとブレイクダウンの間には有意な相関関係はなかった。

Table 8. Correlation coefficients between traits for RIL.

Traits	ST05	ST06	ST07	AC05	AC06	AC07	PV05	PV06	PV07	HP05	HP06	HP07
Stickiness 2005 (ST05)	1.00											
Stickiness 2006 (ST06)	0.45 ¹⁾	1.00										
Stickiness 2007 (ST07)	0.45	0.45	1.00									
Amylose content 2005 (AC05)	-0.06			1.00								
Amylose content 2006 (AC06)		-0.10		0.48	1.00							
Amylose content 2007 (AC07)			0.01	0.29	0.34	1.00						
Peak-viscosity 2005 (PV05)	0.23			0.26	0.20		1.00					
Peak-viscosity 2006 (PV06)		0.02			0.20		0.53	1.00				
Peak-viscosity 2007 (PV07)			-0.14			0.28	0.48	0.72	1.00			
Hot-paste viscosity 2005 (HP05)	0.16			0.10			0.47			1.00		
Hot-paste viscosity 2006 (HP06)		-0.17			-0.08			0.30		0.54	1.00	
Hot-paste viscosity 2007 (HP07)			-0.16			-0.01			0.26	0.53	0.60	1.00
Breakdown 2005 (BD05)	0.11			0.18			0.65			-0.37		
Breakdown 2006 (BD06)		0.14			0.24			0.70			-0.47	
Breakdown 2007 (BD07)			-0.05			0.28			0.83			-0.33
Cool-paste viscosity 2005 (CP05)	0.06			0.24			0.52			0.96		
Cool-paste viscosity 2006 (CP06)		-0.31			0.11			0.32			0.93	
Cool-paste viscosity 2007 (CP07)			-0.32			0.18			0.50			0.90
Consistency 2005 (CO05)	-0.13			0.45			0.50			0.67		
Consistency 2006 (CO06)		-0.47			0.42			0.20			0.40	
Consistency 2007 (CO07)			-0.44			0.38			0.66			0.41
Days-to-heading 2005 (DH05)	-0.07			-0.13			-0.61			-0.44		
Days-to-heading 2006 (DH06)		0.22			-0.03			-0.50			-0.31	
Days-to-heading 2007 (DH07)			0.33			-0.20			-0.58			-0.29
Traits	BD05	BD06	BD07	CP05	CP06	CP07	CO05	CO06	CO07	DH05	DH06	DH07
Breakdown 2005 (BD05)	1.00											
Breakdown 2006 (BD06)	0.58	1.00										
Breakdown 2007 (BD07)	0.61	0.81	1.00									
Cool-paste viscosity 2005 (CP05)	-0.28			1.00								
Cool-paste viscosity 2006 (CP06)		-0.41		0.60	1.00							
Cool-paste viscosity 2007 (CP07)			-0.04	0.55	0.66	1.00						
Consistency 2005 (CO05)	-0.05			0.86			1.00					
Consistency 2006 (CO06)		-0.12			0.71		0.63	1.00				
Consistency 2007 (CO07)			0.40			0.77	0.59	0.72	1.00			
Days-to-heading 2005 (DH05)	-0.27			-0.47		-0.43				1.00		
Days-to-heading 2006 (DH06)		-0.24			-0.31		-0.19			0.67	1.00	
Days-to-heading 2007 (DH07)			-0.40			-0.43		-0.46		0.66	0.79	1.00

¹⁾ Significant coefficients are shown in bold.

3 - 2 - 3 QTL 解析結果

QTL 解析の結果を Table 9 および Fig. 12 に示した。

(1) 粘りに関する QTL

粘りについて 6 つの QTL ($qST1$ 、 $qST3-1$ 、 $qST3-2$ 、 $qST6$ 、 $qST7$ および $qST8$) が第 1、3 (2 カ所)、6、7 および 8 染色体に検出された。全ての QTL で、さきひかりの対立遺伝子が粘りを増加させた。 $qST3-1$ は 3 カ年の試験を通じて検出され、第 3 染色体短腕末端に位置する SSR マーカー RM4108 近傍にマッピングされた。寄与率は 6.2% から 20.9% の範囲であった。その他の第 1、3、6、7 および 8 染色体にマッピングされた粘りに関する QTL は、1 年のみで検出されたもので、寄与率は 7.7% から 16.6% の範囲であった。DHL で粘りに関する QTL を検出した第 2 染色体には、RIL では QTL は検出されなかった。

Fig. 13 に粘りに関する QTL の LOD 曲線を示した。LOD 値の最大値が 1.5 を超えたピークを考慮すると、2007 年のみで検出された $qST1$ について、2005 年および 2006 年の解析では同じ領域に LOD 曲線のピークは検出されなかった (Fig. 13A)。2006 年のみで検出された $qST3-2$ について、2005 年および 2007 年の解析では同じ領域に LOD 曲線のピークが検出された (Fig. 13B)。2007 年のみで検出された $qST6$ について、2006 年の解析では同じ領域に LOD 曲線のピークが検出されたが、2005 年にはピークは検出されなかった (Fig. 13C)。2006 年のみで検出された $qST7$ について、2005 年および 2007 年の解析では同じ領域に LOD 曲線のピークは検出されなかった (Fig. 13D)。2006 年のみで検出された $qST8$ について、2005 年には同じ領域に LOD 曲線のピークが検出されたが、2007 年の解析では LOD 曲線のピークは検出されなかった (Fig. 13E)。

Table 9. Putative QTLs for stickiness of cooked rice, amylose content of unmilled rice, amylographic characteristics of starch, and days-to-heading.

Traits ¹⁾	QTL	Nearest marker	Chr.	2005			2006			2007		
				LOD	AE ²⁾	PVE ³⁾	LOD	AE	PVE	LOD	AE	PVE
Stickiness	<i>qST1</i>	RM1003	1							3.9	0.2	16.6
	<i>qST3-1</i>	RM4108	3	4.6	0.3	20.9	3.1	0.2	6.2	3.9	0.2	8.1
	<i>qST3-2</i>	RM4512	3				3.8	0.2	11.3			
	<i>qST6</i>	wxCT	6							3.8	0.2	7.7
	<i>qST7</i>	RM5847	7				3.3	0.2	8.6			
	<i>qST8</i>	RM3572	8				3.7	0.1	8.9			
AC	<i>qAC1</i>	RM6542	1	3.4	-0.6	9.0	8.2	-0.8	16.6			
	<i>qAC2</i>	RM2770	2				3.8	-0.6	11.5			
PV	<i>qPV1</i>	RM472	1	7.6	-10.1	14.0	8.8	-11.2	19.2	10.5	-16.5	22.9
	<i>qPV6</i>	RM7420	6				4.1	-8.2	9.3	5.2	-8.3	9.8
	<i>qPV7</i>	RM82	7	5.8	-10.1	13.9						
	<i>qPV8</i>	RM4085	8				3.3	8.0	10.6	3.7	10.5	14.6
HP	<i>qHP3</i>	RM4108	3	7.7	10.6	26.5	6.8	6.8	11.8	6.8	7.8	29.3
	<i>qHP6</i>	wxCT	6	4.7	-6.9	11.8	5.0	-6.3	9.9			
BD	<i>qBD1</i>	RM5448	1	8.8	-10.9	18.3	11.7	-12.1	21.3	8.7	-17.5	22.8
	<i>qBD3</i>	RM2326	3	4.6	-11.7	21.2						
	<i>qBD8</i>	RM4085	8				4.3	7.4	12.0			
CP	<i>qCP3</i>	RM4108	3	4.3	10.2	10.7	4.2	6.7	7.1			
	<i>qCP4</i>	RM5473	4	4.7	2.0	9.5						
	<i>qCP6</i>	RM3034	6	4.8	-11.0	12.2	6.9	-9.8	15.0	6.4	-8.3	13.5
	<i>qCP12</i>	RM3455	12				4.5	-7.8	9.5			
CO	<i>qCO1</i>	RM472	1	7.5	-4.2	14.9	13.3	-4.9	24.9	10.9	-5.6	26.1
	<i>qCO3-1</i>	RM4108	3	4.3	2.2	19.7						
	<i>qCO3-2</i>	RM3525	3				3.9	-0.1	6.1			
	<i>qCO6</i>	RM7420	6	4.1	-2.7	18.9	6.1	-3.6	12.9	8.2	-4.2	13.8
	<i>qCO8</i>	RM4085	8				4.9	-2.3	14.1			
	<i>qCO10</i>	RM5147	10				3.9	2.0	12.8			
DH	<i>qDH1</i>	RM8093	1	4.2	-0.2	8.9						
	<i>qDH6</i>	wxCT	6	21.0	2.0	39.8	24.8	2.4	50.8	24.5	2.0	50.0
	<i>qDH8</i>	RM4085	8	7.1	-1.5	21.5	7.9	-1.6	26.4	9.4	-1.3	26.4

¹⁾ Abbreviations of traits are shown in Table 7.

²⁾ Additive effects of the Sakihikari allele.

³⁾ Percentage of total phenotypic variance explained by each QTL.

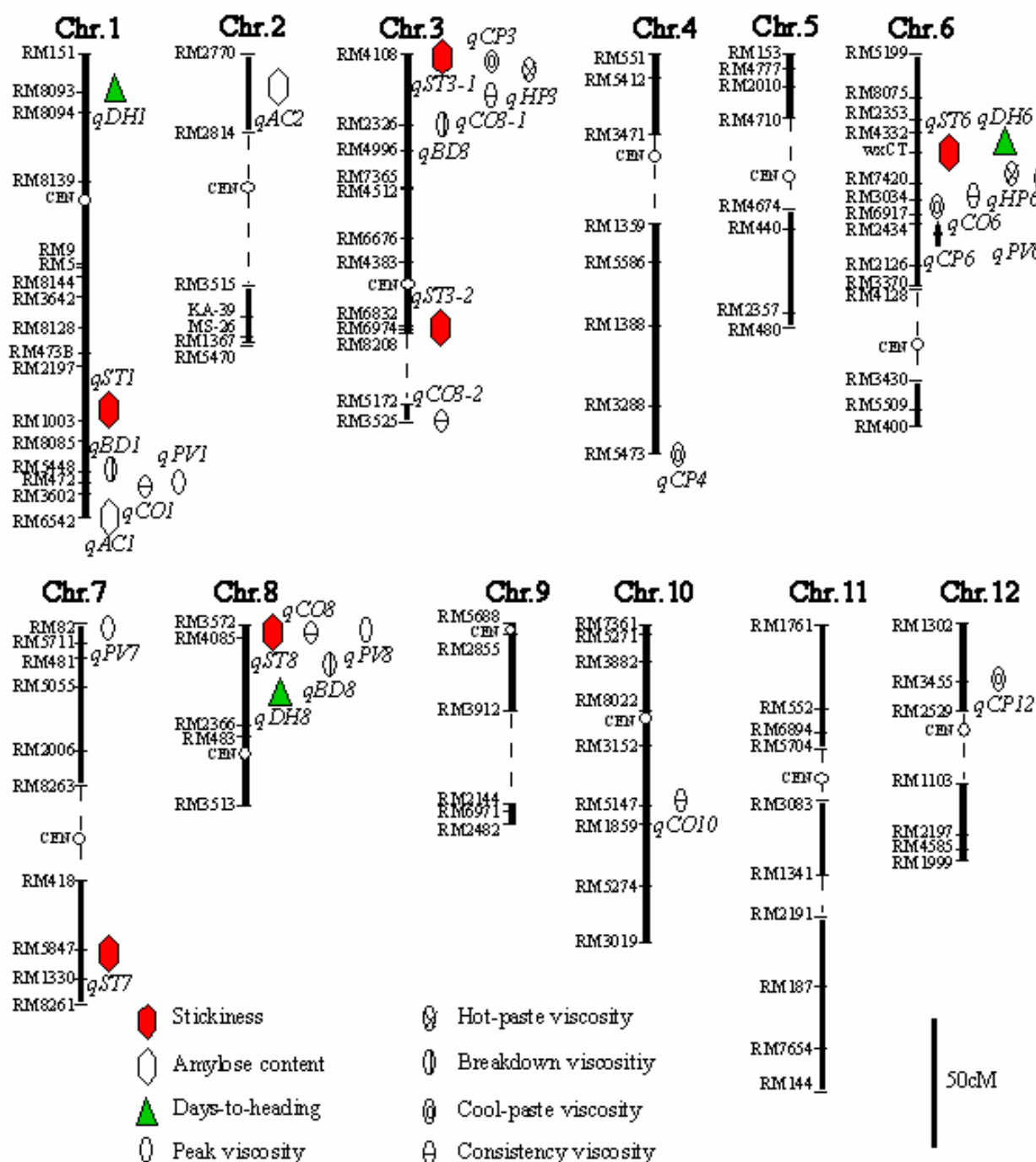


Fig. 12. Sakhikari × Nipponbare linkage map and positions of putative QTLs for stickiness of cooked rice, amylose content of unmilled rice, amylographic characteristics of starch and days-to-heading.

Symbols indicate the peak of LOD. ST: Stickiness. AC: Amylose content. PV: Peak viscosity. HP: Hot-paste viscosity. BD: Breakdown viscosity. CP: Cool-paste viscosity. CO: Consistency viscosity. DH: Days-to-heading. CEN: Approximate position of centromere.

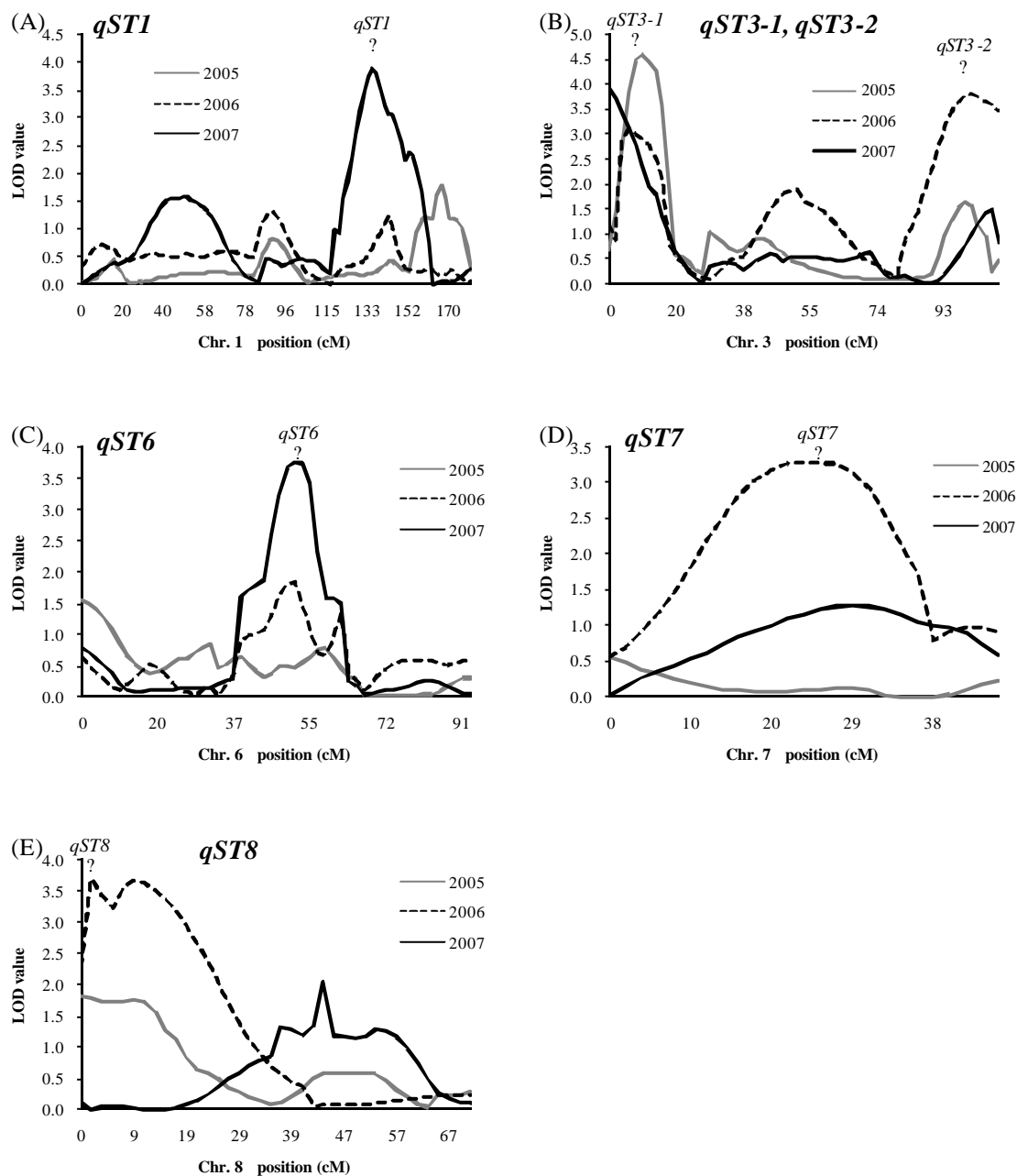


Fig. 13. LOD curves of QTLs for stickiness of cooked rice.

(A): *qST1*, (B): *qST3-1* and *qST3-2*, (C): *qST6*, (D): *qST7*, (E): *qST8*. QTL name is shown at the peak of LOD curve. The significant threshold LOD value ($P < 0.05$) of QTL for stickiness in 2005, 2006 and 2007 was 4.38, 3.09 and 3.65, respectively.

(2) 登熟気温を揃えた RIL のみで検出された粘りに関する QTL

登熟期間の平均気温が 26.0 ~ 27.0 となった RIL は、用いた 188 系統のうち、2005 年は全ての系統、2006 年は 122 系統および 2007 年は 114 系統であった。これらのみで行った QTL 解析で得られた LOD 曲線を Fig. 14 に示した。QTL 解析の結果、2005 年、2006 年および 2007 年で共通して検出された QTL はなかった。*qST1* および *qST3-2* については、全ての系統を用いた解析で得られた QTL とほぼ同じ位置に QTL が検出され、*qST6*、*qST7* および *qST8* については、LOD 曲線のピークは観察されたものの閾値を超えず、QTL は検出されなくなった。

(3) アミロース含有率に関する QTL

アミロース含有率に関して、2 つの QTL (*qAC1* および *qAC2*) が第 1 および 2 染色体に検出された。*qAC1* は 2005 年および 2006 年に検出され、*qAC2* は 2006 年にのみ検出された。これらの QTL ではさきひかりの対立遺伝子がアミロース含有率を減少させ、寄与率は 9.0% から 16.6% の範囲であった。

(4) 糊化特性に関する QTL

糊化特性に関して、19 の QTL が 9 つの染色体領域に検出された。これらの中で、第 1 染色体長腕、第 3 染色体短腕末端および第 6 染色体短腕には、3 カ年の試験を通じて糊化特性に関する QTL が検出された。第 1 染色体長腕には、*qPV1*、*qBD1* および *qCO1* が 3 カ年の試験を通じて検出された。これらの QTL では、さきひかりの対立遺伝子が最高粘度、ブレイクダウンおよびコンシステンシーを減少させた。第 3 染色体短腕の末端領域には、*qHP3* が 3 カ年の試験を通じて検出され、同じ領域に *qCP3* が 2 カ年、*qCO3-1* および *qBD3* が 2005 年に検出された。これらの QTL では、さきひかりの対立遺伝子が最低粘度、最終粘度およびコンシステンシーを増加させ、ブレイクダウンを減少させた。第 6 染色体短腕には、*qCP6* および *qCO6* が 3 カ年で検出され、同じ領域に *qPV6* および *qHP6* が 2 カ年で検出された。これらの QTL では、さきひかりの対立遺伝子が最高粘度、最低粘度、最終粘度およびコンシステンシーを減少させた。

糊化特性に関して検出されたその他の QTL は次の通りであった。最高粘度に関する QTL が第 7 および 8 染色体の 2 カ所に、ブレイクダウンに関する QTL が第 8 染色体の 1 カ所に、最終粘度に関する QTL が第 4 および 12 染色体の 2 カ所に、コンシステンシーに関する QTL が第 3、8 および 10 染色体の 3 カ所に検出された。

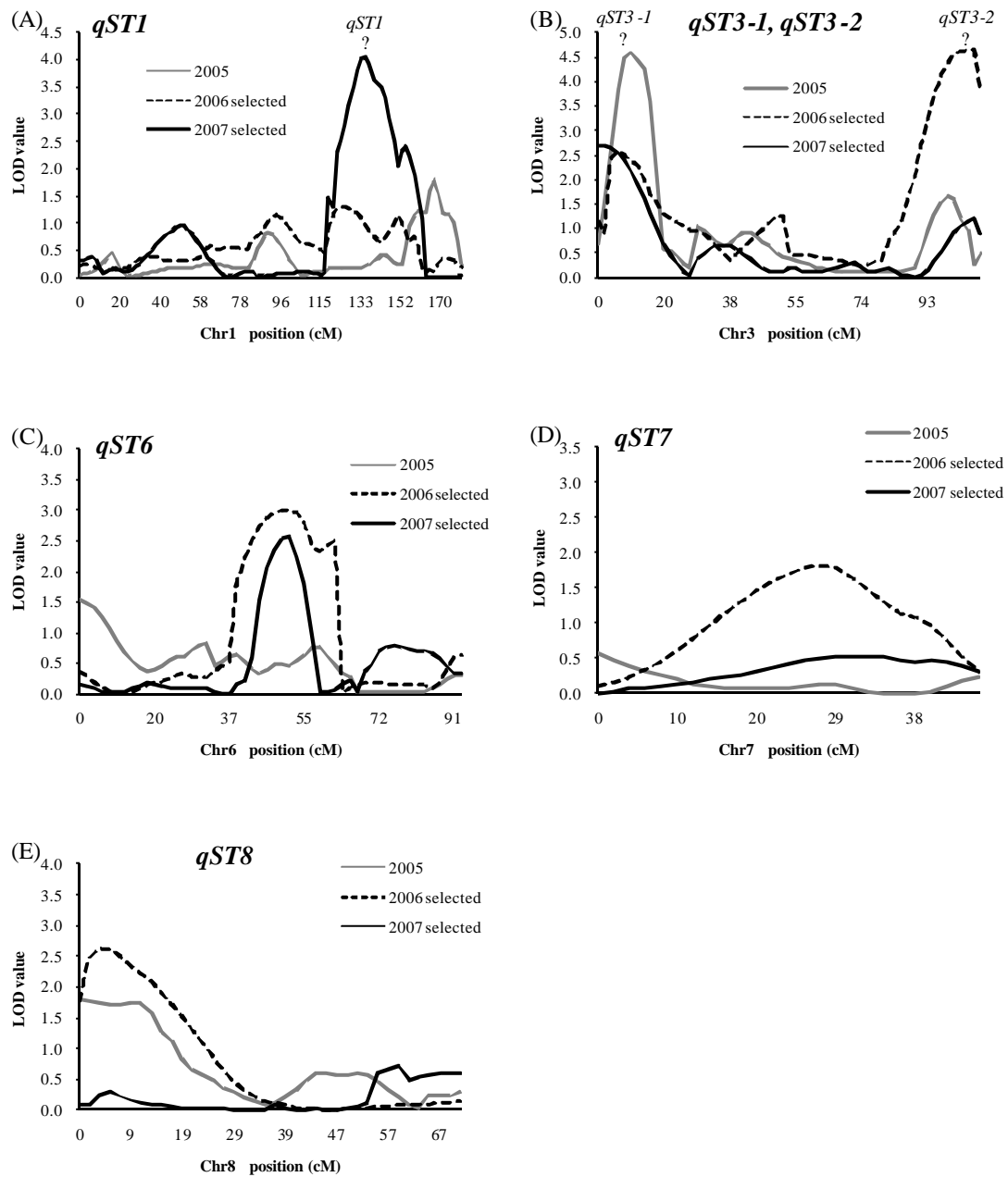


Fig. 14. LOD curves of QTLs for stickiness of cooked rice of the selected RIL which average temperature during the ripening period was between from 26.0 to 27.0 .

(A): *qST1*, (B): *qST3-1* and *qST3-2*, (C): *qST6*, (D): *qST7*, (E): *qST8*. Detected QTL name is shown at the peak of LOD curve.

(5) 到穂日数に関する QTL

到穂日数に関して、3 つの QTL ($qDH1$ 、 $qDH6$ および $qDH8$) が第 1、6 および 8 染色体に検出された。これらの中で $qDH6$ および $qDH8$ の 2 つの QTL は 3 カ年の試験を通じて検出された。第 6 染色体の wxCT 近傍に検出された $qDH6$ は、さきひかりの対立遺伝子が到穂日数を増加させ、寄与率は 39.8% から 50.8% の範囲であった。第 8 染色体の短腕に検出された $qDH8$ は、さきひかりの対立遺伝子が到穂日数を減少させ、寄与率は 21.5% から 26.4% の範囲であった。第 1 染色体の $qDH1$ は 2005 年にのみ検出され、さきひかりの対立遺伝子が到穂日数を減少させた。

3 - 3 考察

本章では、どちらも晩生の熟期である 2 つの日本型品種、さきひかりおよび日本晴の交雑に由来する RIL を用いて、粘りに関する新たな QTL を検出することを目的として QTL 解析を行った。第 2 章で用いた DHL では到穂日数の変異が約 40 日間であり、登熟期間の平均気温の変異は 4.3 ~ 7.2 あったのに対し、本章で用いた RIL では到穂日数の変異が 14 ~ 21 日間であり、登熟期間の平均気温の変異は 1.0 ~ 3.6 であった。従って、本章で行った RIL を用いた QTL 解析では、第 2 章で行った DHL を用いた QTL 解析と比較して、粘りの評価に対する登熟気温の影響がより小さかったといえる。

本章では、粘りに関する新たな 6 つの QTL を検出した。これらの中で $qST3-1$ は 3 カ年の試験を通じて、第 3 染色体短腕末端の RM4108 近傍に検出された。Takeuchi *et al.* (2008) および Wada *et al.* (2008) もそれぞれコシヒカリと日本晴の BIL およびコシヒカリと森田早生の RIL を用いて、RM4108 近傍に食味官能試験における総合評価、外観、味、粘りおよび硬さに関する QTL を検出した。いずれの QTL においてもさきひかりまたはコシヒカリの対立遺伝子が粘りを増加させた。Table 10 に本研究で用いた各品種について、粘りに関する QTL に近接する DNA マーカーの遺伝子型を示した。さきひかりとコシヒカリは RM4108 について同じ対立遺伝子型をもつことから、RM4108 近傍の $qST3-1$ を含む領域は、強い粘りに特徴づけられるコシヒカリの良食味性を制御する遺伝子が座乗する有望な領域と考えられた。

Table 10. Genotypes of QTLs for stickiness of cooked rice of Koshihikari, Akihikari, Sakihikari and Nipponbare.

Traits	QTL name	Chr.	Nearest marker	Koshihikari	Akihikari	Sakihikari	Nipponbare
Stickiness	QTL for stickiness	2	KA68	A ²⁾	B	A	A
	QTL for stickiness	2	KA80	A	B	B	B
	<i>qST1</i>	1	RM1003	A	A	A	B
	<i>qST3-1</i>	3	RM4108	A	A	A	C
	<i>qST3-2</i>	3	RM4512	A	B	C	D
	<i>qST6</i>	6	RM4332 ¹⁾	A	B	A	C
	<i>qST7</i>	7	RM5847	A	B	A	C
	<i>qST8</i>	8	RM3572	A	B	B	A

¹⁾ The nearest marker of *qST6* was wxCT, but genotype data of RM4332 is shown in this Table because genotypes of wxCT of Koshihikari and Akihikari were not analyzed.

²⁾ Alleles those increase stickiness are shown with hatches.

RM4108 におけるさきひかりの対立遺伝子の相加効果は 0.2 から 0.3 の範囲であった。すなわち、この領域が日本晴型ホモ接合体からさきひかり型ホモ接合体に変わると、日本晴とさきひかりの粘り評価値はそれぞれ-1.44 および 0.08 である中で、粘りの評価値が約 0.5 増加することになる²。今後 NIL を用いて *qST3-1* の作用力を確認したうえで、MAS に積極的に利用すべきであると考えられる。

1 年でのみ検出された粘りに関する QTL は *qST1*、*qST3-2*、*qST6*、*qST7* および *qST8* であった。*qST3-2*、*qST6* および *qST8* は、QTL が検出された年以外にも LOD 曲線のピークが観察された (Fig. 13)。これらの QTL については、閾値レベルの関係で 1 年のみの検出となったと考えられた。一方、*qST1* および *qST7* は QTL が検出された年以外では LOD 値のピークは観察されなかった。これらの QTL は環境条件に影響を受ける QTL である可能性、または粘り評価の測定誤差により年次によって QTL が検出されなかった可能性が示唆された。

2005 年に検出された粘りに関する QTL は *qST3-1* のみであった。2005 年に栽培した RIL の世代は F₅ 世代で、全遺伝子型データの 10.9% がヘテロ型で残存しており固定化が進んでおらず、解析に使用できる系統数が限られていたため、QTL の検出感度が低かったと推察された。2006 年および 2007 年に栽培した RIL では、両年で共通して検出されたのは *qST3-1* のみであり、2006 年には *qST3-2*、*qST7* および *qST8* が、2007 年には *qST1* および *qST6* が検出された。2006 年および 2007 年で栽培した RIL の世代はそれぞれ F₈ および F₉ と進み、全遺伝子型データのうちヘテロ型で残存したのは 1.5% のみであったが、両年には登熟気温に大きな差があり、特に到穂日数が平均値より大きい系統について、2006 年では約 4 日の登熟気温の違いが観察されたのに対し、2007 年では約 1 日の登熟気温の低下が観察された (Fig. 11)。登熟期間の気温はアミロース含有率 (Asaoka *et al.* 1985) ばかりでなく、アミロペクチンの構造 (Asaoka *et al.* 1985、Jiang *et al.* 2003、Umemoto *et al.* 2003、Yamakawa *et al.* 2007) にも影響を及ぼすため、このような登熟気温の変動が年次間での粘りの変動要因となって、粘りに関する QTL 検出の年次間差が生じたと考えられた。

そこで、登熟気温が 26.0 ~ 27.0 の範囲となった RIL のみを用いて、粘りに関する QTL 解析を行ったが、2005 年、2006 年および 2007 年で共通して検出された QTL はなく、3 カ年で共通して検出されていた *qST3-1* も 2005 年のみの検出となった (Fig. 14)。このことから、粘りに関する QTL 検出に影響を及ぼしているのは単純な登熟期間の平均気温ではなく、日較差や登熟期間のうちのある一定の時期の気温など、より微細な登熟気温の変動である可能性が示唆された。ど

² さきひかりの対立遺伝子の相加効果が 0.2 から 0.3 である場合、それぞれの対立遺伝子のホモ接合体では粘り評価値が平均 $0.25 \times 2 = 0.5$ 増加する。

のような気温変動が粘りに関する QTL 検出に影響を及ぼすか、今後、本研究で用いた親品種やその NIL について人工気象室を用いて登熟気温を制御した場合の炊飯米の粘り、アミロース含有率および糊化特性を調査することにより検討する必要がある。

qST6 は *wxCT* の近傍に検出された。これまでにこの領域には粘り (Takeuchi *et al.* 2007) およびアミロース含有率 (Tan *et al.* 1999、Li *et al.* 2003a、Fan *et al.* 2005) に関する QTL が同定されており、第 2 章では DHL において粘りおよびアミロース含有率に関する QTL を検出したが、これらと *qST6* の異同および *wx* 座との関連について、今後マップベースクローニングによって明らかにする必要がある。*qST1* は第 1 染色体の長腕領域の RM1003 近傍にマッピングされた。Wada *et al.* (2008) もまた第 1 染色体の RM8133 近傍に粘りに関する QTL を検出した。しかし、物理地図上のマーカーの位置情報から、*qST1* とは一致しない。*qST3-2*、*qST7* および *qST8* はそれぞれ第 3 染色体長腕領域の RM8208、第 7 染色体の RM5847、および第 8 染色体短腕末端領域の RM3572 近傍に検出された。これらの領域の近傍には、これまで粘りに関する QTL は検出されていない。従って、これらの QTL は粘りを制御する新たな遺伝子を含んでいる可能性がある。

第 2 章では粘りに関する QTL を第 1、2、3 および 6 染色体に検出したが、これらの QTL の中で、第 1 および 3 染色体の QTL はコシヒカリの対立遺伝子が粘りを減少させるものであり、コシヒカリの強い粘りに関連するものではないと判断した。一方、第 2 および 6 染色体の QTL は、コシヒカリの対立遺伝子が粘りを増加させるものであった。しかし、DHL で検出された第 2 染色体長腕の QTL 領域には、RIL では QTL は検出されなかった。NIL によって絞り込まれた 2 つの小領域の遺伝子型解析によると、さきひかりと日本晴は上流の KA68 についてはどちらもコシヒカリ型であり、下流の KA80 についてはどちらもアキヒカリ型であった (Table 10)。このように本領域についてはさきひかりと日本晴が同じ遺伝子を持つことが、RIL で QTL が検出されなかった理由であると考えられた。

次に、粘りとアミロース含有率および糊化特性との関係について考察した。本章では、*qST1* の近傍にアミロース含有率および糊化特性の両方に関する QTL を検出した。一方、*qST3-1*、*qST6* および *qST8* は糊化特性に関する QTL と一致したが、アミロース含有率に関する QTL とは一致しなかった。さらに、Table 8 に示したように RIL の粘りは糊化特性と有意な相関があった。これらの結果は、RIL の粘りにはアミロース含有率ばかりでなく、糊化特性として測定されるアミロペクチン構造も重要であることを示唆していた。例えば、*qST3-1* 近傍には *qHP3* が 3 カ年を通じて検出され、さきひかりの対立遺伝子が粘りおよび最低粘度を増加させた。今後、異なる糊化特性を有する多数の品種を用いて、最低粘度

が高いと粘りが強いという関係があるのかどうか、明らかにしていく必要がある。ところで、さきひかりの糊化特性の特徴はコンシステンシーの小ささであったが、*qST3-1* 近傍には逆にさきひかりの対立遺伝子がコンシステンシーを増加させる QTL (*qCO3-1*) も検出された。Table 8 によると最低粘度とコンシステンシーは有意な正の相関関係があり、最低粘度が高くなった影響でコンシステンシーに関する QTL が検出された可能性がある。

2006 年に検出された *qST8* の近傍には、糊化特性に関する QTL (*qPV8*、*qBD8* および *qCO8*) が同じ 2006 年に検出された。これらの QTL では、さきひかりの対立遺伝子が粘りを増加させ、最高粘度およびブレークダウンを増加させ、コンシステンシーを減少させた。また 2006 年の粘りはコンシステンシーと有意な負の相関を示した。岡留 (1996) は、コンシステンシーが小さいことは糊化したデンプンが再冷却された際に老化しにくいことと関連があると述べている。本章では炊飯米の粘りを放冷後に評価していることから、本章で観察された強い粘りはコンシステンシーの小ささと関連づけることが可能である。糯品種では、餅の硬化性の差の原因の一つがアミロペクチンの鎖長分布の差であることが明らかとなっており (赤間・有坂 1992、Okamoto *et al.* 2009) アミロペクチンの構造の差異が炊飯米の粘りに影響を及ぼしている可能性は十分考えられる。コンシステンシーが小さいこととアミロペクチンの構造の関連について、さきひかりと日本晴のアミロペクチン鎖長分布の差を解析して明らかにする必要がある。

qST8 近傍には到穂日数に関する QTL も検出された。さらに、2006 年および 2007 年の粘りは到穂日数と正の相関関係にあった。本章で用いた RIL 集団の到穂日数および登熟期間の気温の変異は、DHL 集団に比べて半減させることができたが、今後各 QTL について到穂日数を揃えた NIL を養成し、粘りに対する到穂日数の影響を解明する必要がある。

3 - 4 まとめ

- 1) 日本型品種さきひかりと日本晴の交雑に由来するRIL、188系統を養成した。
- 2) 上記RILを2005、2006および2007年に栽培し、炊飯米の粘りを官能試験によって評価するとともに、白米のアミロース含有率およびデンプンの糊化特性（最高粘度、最低粘度、最終粘度、ブレークダウンおよびコンシステンシー）を測定しQTL解析を行った。
- 3) 炊飯米の粘りに関する6つのQTLを第1、3（2カ所）、6、7および8染色体に検出し、いずれもさきひかりの対立遺伝子が粘りを増加させた。
- 4) 第3染色体短腕上の $qST3-1$ は、3カ年の試験において共通して検出されたことから、粘りに関する遺伝子を含む有望な領域であると考えられた。
- 5) アミロース含有率に関する2つのQTLを第1および2染色体に検出した。
- 6) 糊化特性に関する19のQTLを第1、3、4、6、7、8、10および12染色体に検出した。
- 7) RILの粘りは糊化特性と有意な相関関係があり、またいくつかの糊化特性に関するQTLは粘りに関するQTLと同じ領域に検出されたことから、RILの粘りはアミロース含有率ばかりでなく、糊化特性とも強い関係があることが示唆された。

第4章 高温登熟耐性に関する QTL 解析

第2章および第3章では食味に関する遺伝解析を行ったが、本章ではもう一つの重要な育種目標である高温登熟耐性に関する遺伝解析を行った。

近年問題となっている登熟期間の高温による玄米外観品質の劣化の特徴は、白未熟粒および充実不足粒の増加である。白未熟粒は、白濁が生じた部位により腹白、心白、乳白、基白、背白に分類される。このうち背白粒および基白粒の発生には、登熟期間の高温の影響が大きいことが明らかとされた（長戸・江幡 1965、若松ら 2007）。長戸・江幡（1965）および飯田ら（2002）は登熟期間の高温ストレスによって生じる白未熟粒のうち、背白粒および基白粒は高温条件下でのみ発生することから、高温登熟耐性についての最も適切な指標であることを示した。また、高温による背白粒および基白粒の発生率に明確な品種間差があることも報告されている（長戸ら 1961、小牧ら 2000、西村ら 2000、飯田ら 2002）。乳白粒も高温条件下で発生するが、その発生率は日射条件（小谷ら 2006）、一穂あたりの炭水化物供給能（中川ら 2006）および土壌窒素条件（若松ら 2008）によっても変動する。腹白および心白については遺伝率が高く初期世代からの選抜が可能であるが（井上 1996）、高温による影響は不明である。これらの知見に基づいて、本研究では登熟期間の高温による背白粒および基白粒の発生しにくさを高温登熟耐性とした。

これまでに以下のような玄米外観品質に関する QTL 解析が行われた。He *et al.* (1999) は「ZYQ8」（インド型品種）と「JX17」（日本型品種）の交雑に由来する DHL を用いて心白粒発生率に関する QTL を第 8 および 12 染色体に検出した。また、これまでに以下のような chalkiness に関する QTL 解析が行われた。chalkiness とは穀粒の白濁した部分の見た目の割合であり遺伝的な制御を受けると共に特に出穂直後の高温といった環境の影響も受ける。Xu *et al.* (2000) は、中国において最も広く栽培されているインド型ハイブリッド稲「Shanyou63」の両親である「Zh97」と「Ming63」の交雑に由来する F₂、F₃ および RIL を用いて第 6 染色体短腕上に chalkiness に関する QTL を検出した。Li *et al.* (2003b) は日本晴/Kasalath//日本晴の交雑に由来する F₂ 集団を用いて第 6 染色体短腕上に chalkiness に関する QTL を検出した。

しかし、これらの日印交雑を利用した解析集団においては出穂期や粒形、粒大などの変異が大きく、白未熟粒の発生と粒形や *wx* 座に支配されるアミロース含有率との関係が強く示唆され、検出された QTL が必ずしも高温登熟耐性のみに関与しているとはいえない。従って、出穂期や粒形、粒大の変異がより小さい日本型品種による解析集団を用いることにより、日本型水稻の育種に有用な QTL

が得られると考えた。

本章では、日本型品種ハナエチゼンと新潟早生の交雑に由来する F_2 および F_3 集団を圃場および温室で栽培した材料を用いて、高温登熟耐性に関する QTL 解析を行った。

4 - 1 材料および方法

4 - 1 - 1 植物材料

(1) 親品種

ハナエチゼンと新潟早生はいずれも早生品種であるが、それらの玄米外観品質は明らかに異なる。ハナエチゼンの玄米外観品質は良好であり(堀内ら 1992、井上 1999)、近年の高温化に対しても高温登熟耐性は“強”から“やや強”であると評価されている(永畠 2007)。またハナエチゼンは高温登熟耐性が強い「てんたかく」(山口ら 2006)や「ふさおとめ」(渡部 1999)の母本ともなっている。一方、新潟早生は背白粒および基白粒の発生が多く、玄米外観品質が劣る(佐々木ら 1983、星ら 2002、永畠・山元 2005)。新潟早生は温水灌漑下のみではなく、通常の圃場での気温条件下でも背白粒および基白粒が発生しやすい(重山ら 1999)。

(2) 交雑後代の養成および栽培

2002 年、ハナエチゼンと新潟早生の人工交配を行った。同年秋、 F_1 を養成し、 F_2 を採種した。2003 年、180 個体の F_2 および両親を 4 月下旬に播種、5 月中旬に栽植密度 20.7 株 m^{-2} で福井農試(北緯 $36^\circ 03'$)の水田に移植し、基肥施肥(N 成分 6.0 g m^{-2})のみの栽培を行った。2004 年、 F_2 集団から由来する 180 系統の F_3 および両親各 20 個体を圃場と温室内に移植し、 F_2 集団と同様に栽培した。温室は水田圃場に建てられた H 鋼ビニルハウスで、出穂期以降天窓および側面を密閉し、温室内の気温が 35°C 以上になると換気することによって温度を調節した。移植日から出穂期までを到穂日数として調査した。

180 個体の F_2 および 180 系統の F_3 各 10 個体から、出穂後 30 日目に収穫し、風乾後、籾すりし、玄米外観品質を調査した。

4 - 1 - 2 玄米品質および他の形質の評価方法

各植物体から 500 粒の玄米を採取し、農林水産省(2001)の基準に従って、背側の不透明な白濁部分が粒長の $2/3$ 以上ある場合、かつ粒幅の $1/4$ 以上ある場合を背白粒とし、基部の不透明な白濁部分が粒大の $1/5$ 以上大きい場合を基白粒として、それらの数を数えた。2004 年に温室内で栽培した F_3 系統の場合、背白と基白が同時に発生することがほとんどであり、それらを区別することが困難であ

った。従って、背白粒と基白粒を合わせて数えて、背基白粒として評価した。高温登熟耐性の形質評価値は背白粒または基白粒の発生率で表した。QTL 解析に用いる際は、形質の頻度分布を確認し正規分布していない形質については、変動を標準化するためアークサイン変換を行った。

長戸・江幡（1965）は登熟期間の高温によってデンプンの集積が阻害され、背白粒および基白粒が発生することを報告した。一般に、穂重や千粒重が大きく多収であることは、より多くのデンプンの集積を必要とするため登熟には不利である。従って本章でも収量性に関わる穂重および千粒重を F₂ 世代時に調査した。穂重は 1 個体当たりの玄米収量として調査した。親品種ハナエチゼンと新潟早生の穂重および千粒重は 10 個体の平均値とした。

4 - 1 - 3 遺伝子型分析

(1) DNA 抽出

全 DNA は、Monna *et al.* (2002) の方法に従って、10 mM EDTA および 1 M KCl を含んだ 100 mM Tris-HCl (pH8.0) 緩衝液によって抽出した。

(2) PCR

PCR は 10 ng DNA、10 mM Tris-HCl (pH8.0)、50 mM KCl、4 μM プライマーペア、1.5 mM MgCl₂、2.0 mM dNTPs および 0.25 U AmpliTaq Gold DNA ポリメラーゼ (Applied Biosystems、CA、USA) を含んだ 10 μl の溶液で行った。溶液混合物は PCR システム iCycler Thermal Cycler System (BIO RAD、USA) を用いて、95 10 分間処理の後、94 30 秒間、55 1 分間、72 2 分間のサイクルを 35 回繰り返した。PCR 産物は、2.0% アガロース / TBE ゲルで分画した。EtBr 溶液で染色し UV イルミネーターで観察して多型を検出した。

(3) 連鎖地図の作成

ハナエチゼンと新潟早生間での多型を検索するために、407 種の SSR マーカーを分析した。その中で多型を示したマーカーを用いて、MAPMAKER/EXP 3.0 (Lander *et al.* 1987) を用いて連鎖解析を行い、連鎖地図を作成した。マーカー間距離を概算する地図関数には Kosambi 関数を用いた。

(4) QTL 解析

QTL 解析は Windows QTL Cartographer 2.5 (Wang *et al.* 2007) を用い、F₂ およ

び F₃ 集団に対する CIM 法により解析を行った。CIM 解析では、遺伝的背景を制御するために、モデル 6 をもとに 5 つのマーカーと 10 cM のウィンドウサイズを用いた。QTL の探索は 2 cM 間隔で行った。同ソフトの 1000 回の並べ替え検定によってゲノムワイドの 5% 有意水準に対応する閾値を各形質に対して求め、得られた LOD 値がこの閾値を超えた場合に QTL が検出されたと判定した。有意な QTL インターバルにおける LOD 値のピークを、連鎖地図上における推定される QTL の位置に相当すると見なした。各 QTL で説明される表現型への寄与率および相加効果も同ソフトを用いて計算した。

さらに、連鎖地図上に座乗しなかったマーカーについては同ソフトの Single marker analysis を用いて分散分析を行った。

4 - 2 結果

4 - 2 - 1 到穂日数と登熟期間の気温

(1) 到穂日数

ハナエチゼンと新潟早生の到穂日数の平均値は、2003 年の圃場でそれぞれ 56 日および 58 日、2004 年の圃場でそれぞれ 59 日および 60 日であった。2004 年の温室栽培ではいずれも 60 日であった。2003 年 F₂ 集団の到穂日数は 54 ~ 61 日、2004 年 F₃ 集団では圃場で 54 ~ 66 日、温室栽培で 57 ~ 64 日であり、いずれも両側に超越分離を示した (Table 11、Fig. 15)。

(2) 登熟期間の気温

親品種の登熟期間 (出穂期から 30 日間) の平均気温は、2003 年は 24.9 、2004 年は圃場で 27.2 、温室で 31.2 であった。2003 年夏の平均気温は、福井県の同時期の平均気温の平年値に比べて約 2 低かった。一方、2004 年夏の平均気温は比較的高かった。さらに、坪根ら (2008) は登熟期間の平均気温が 27 を超えると白未熟粒歩合が大きくなることを示し、森田 (2005) は出穂後 15 ~ 20 日間の平均気温が 26 ~ 28 を超えると白未熟粒の発生率が高まることを示したことから、2004 年の温室での栽培条件は、かなり強い高温ストレス下にあったものと考えられる。

Table 11. Kernel and other traits of Hanaechizen, Niigatawase, F₂ population cultivated in paddy fields in 2003, and F₃ population cultivated in paddy fields and a greenhouse in 2004.

Traits		Condi- tion	2003						2004					
			Hana- echizen ¹⁾	Niigata- wase ¹⁾	F ₂			Hana- echizen	Niigata- wase	F ₃				
					Ave.	Max.	Min.			Ave.	Max.	Min.		
White-back kernels	%	Paddy fields	0.0	4.8 * ²⁾	6	38	0	0.0	15.4 **	11	48	1		
Basal-white kernels	%	Paddy fields	0.7	17.4 ** ²⁾	8	44	0	7.8	34.8 **	20	39	0		
White-back plus basal- white kernels	%	Green- house	-	-	-	-	-	51.6	82.6 **	74	100	32		
Days-to- heading	days	Paddy fields	56	58 ns ²⁾	57	61	54	59	60 ns	60	66	54		
	days	Green- house	-	-	-	-	-	60	60 ns	61	64	57		
Panicle weight	g/plant	Paddy fields	28.7	24.5 **	28.7	39.8	17.1	-	-	-	-	-		
Weight of 1,000 kernels	g/plant	Paddy fields	20.6	18.5 **	19.9	21.8	18.2	-	-	-	-	-		

¹⁾ Value for Hanaechizen and Niigatawase is the average of 10 plants.

²⁾ **, * and ns: t-test significant at 1%, 5% levels and not significant, respectively.

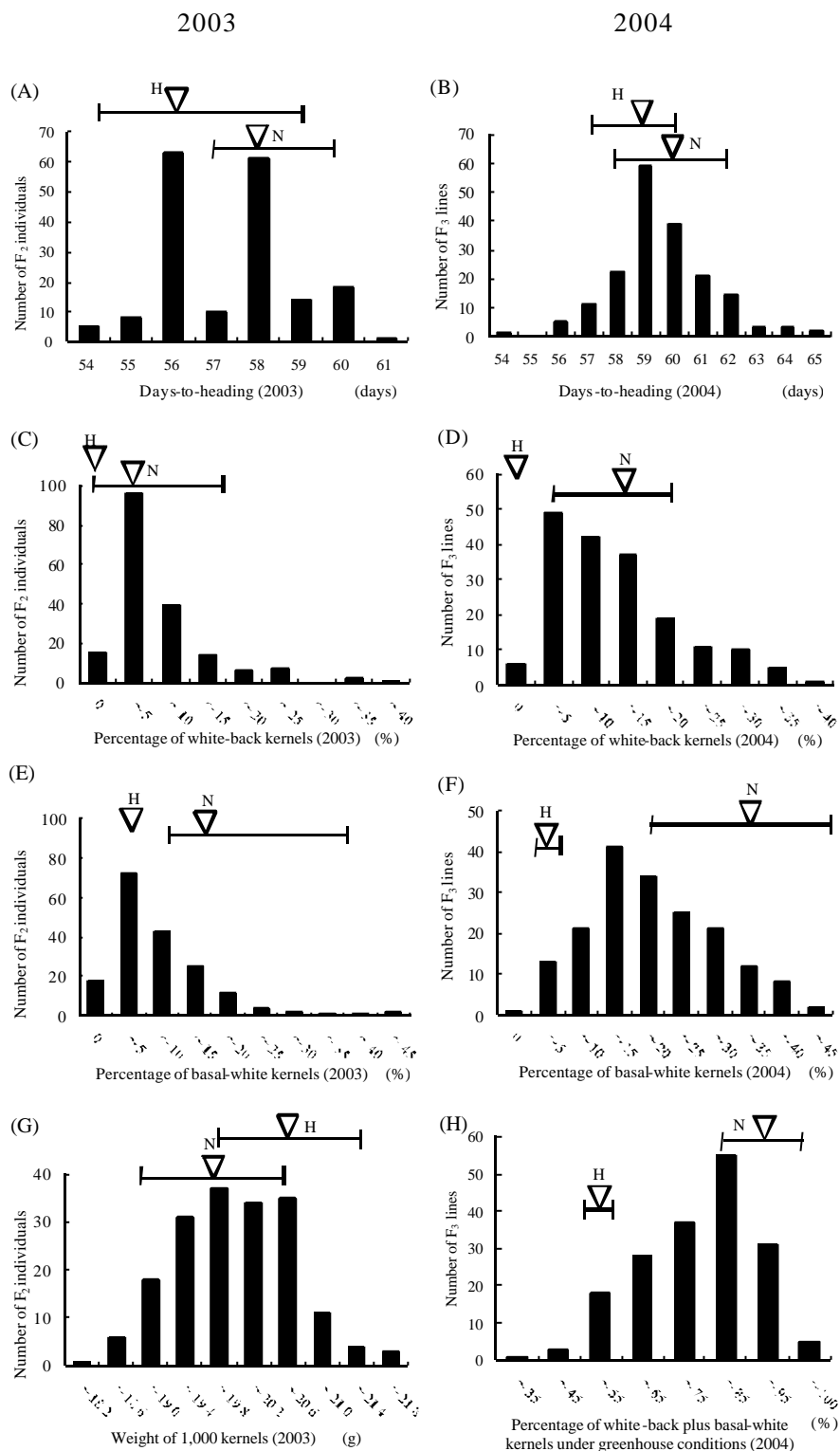


Fig. 15. Frequency distribution of days-to-heading, percentage of the white-back and basal-white kernels and weight of 1,000 kernels in the F_2 and F_3 population cultivated in 2003 and 2004, respectively. (A) and (B): Days-to-heading. (C) and (D): Percentage of white-back kernels. (E) and (F): Percentage of basal-white kernels. (G): Weight of 1,000 kernels. (H): Percentage of white-back plus basal-white kernels under greenhouse conditions. Arrow heads and bars indicate the average value and range of the parent plants, respectively. H and N indicate Hanaechizen and Niigatawase, respectively.

4 - 2 - 2 両親、F₂ および F₃ 集団における背白粒および基白粒発生率の変動

(1) 両親

ハナエチゼンおよび新潟早生の背白粒および基白粒発生率を Table 11 に示した。ハナエチゼンと新潟早生の間の背白粒および基白粒発生率の差は、全ての条件下において有意であり、ハナエチゼンの発生率が低かった。特に、ハナエチゼンは 2003 年および 2004 年とも、圃場条件下では背白粒が全く発生せず、2003 年は冷夏であったこともあり基白粒もほとんど発生しなかった。ハナエチゼンの千粒重および穂重は新潟早生より有意に大きかった。

(2) F₂ および F₃ 集団

F₂ および F₃ 集団の背白粒および基白粒発生率の頻度分布は連続的であった (Fig. 15)。背白粒発生率は、F₂ 個体および F₃ 系統の両方で、新潟早生より高い方に超越分離した (Fig. 15C および D)。一方、基白粒発生率は、ほとんどの F₂ 個体および F₃ 系統は両親の間に分布した (Fig. 15E および F)。温室条件下での背基白粒発生率の分布は、歪度が -2.16 と非対称で、新潟早生の平均値の方に傾いた (Fig. 15H) ため、QTL 解析に用いる際にアークサイン変換を行った。同様に正規分布とならなかった 2003 年の背白粒および基白粒、2004 年の背白粒についてもアークサイン変換を行った。千粒重 (Fig. 15G) および穂重は両側に超越分離を示した。

(3) 相関分析

形質間で相関分析を行った (Table 12)。背白粒発生率と基白粒発生率は、F₂ および F₃ の両世代で有意な正の相関を示した。F₂ 個体と F₃ 系統間の背白粒および基白粒発生率の相関を Fig. 16 に示した。それらの間には有意な正の相関が認められた。Table 12 に示したように、F₂ 世代では到穂日数と背白粒または基白粒発生率との間に有意な相関は見られなかった。しかし、F₃ 世代では、基白粒発生率と到穂日数が有意な正の相関を示した。F₂ 集団では千粒重の値と背白粒または基白粒発生率は正の相関を示したが、穂重との間には有意な相関は見られなかった。

Table 12. Correlation matrix between measured traits of F₂ individuals and F₃ lines.

Traits	Dh F ₂	Dh F ₃	Wb F ₂	Bw F ₂	Wb F ₃	Bw F ₃	Gh	Tw F ₂	Pw F ₂
Days-to-heading of F ₂ (Dh F ₂)	1.00								
Days-to-heading of F ₃ (Dh F ₃)	0.37 ** ²⁾	1.00							
White-back kernels of F ₂ (Wb F ₂)	0.08	-0.07	1.00						
Basal-white kernels of F ₂ (Bw F ₂)	0.08	-0.02	0.60 **	1.00					
White-back kernels of F ₃ (Wb F ₃)	-0.02	-0.13	0.46 **	0.38 **	1.00				
Basal-white kernels of F ₃ (Bw F ₃)	0.17 * ²⁾	0.20 **	0.32 **	0.32 **	0.52 **	1.00			
White-back plus basal-white kernels in Green-house ¹⁾ (Gh)	0.14 *	0.06	0.24 **	0.17 *	0.36 **	0.39 **	1.00		
Weight of 1,000 kernels of F ₂ (Tw F ₂)	-0.29 **	-0.09	0.27 **	0.24 **	0.27 **	0.23 **	0.22 **	1.00	
Panicle weight of F ₂ (Pw F ₂)	-0.11	0.01	0.02	0.07	-0.01	-0.09	-0.33	0.16 *	1.00

¹⁾ White-back plus basal-white kernels occurred under high temperature stress in the F₃ population grown in the greenhouse.

²⁾** and *: significant at 1% and 5% levels, respectively.

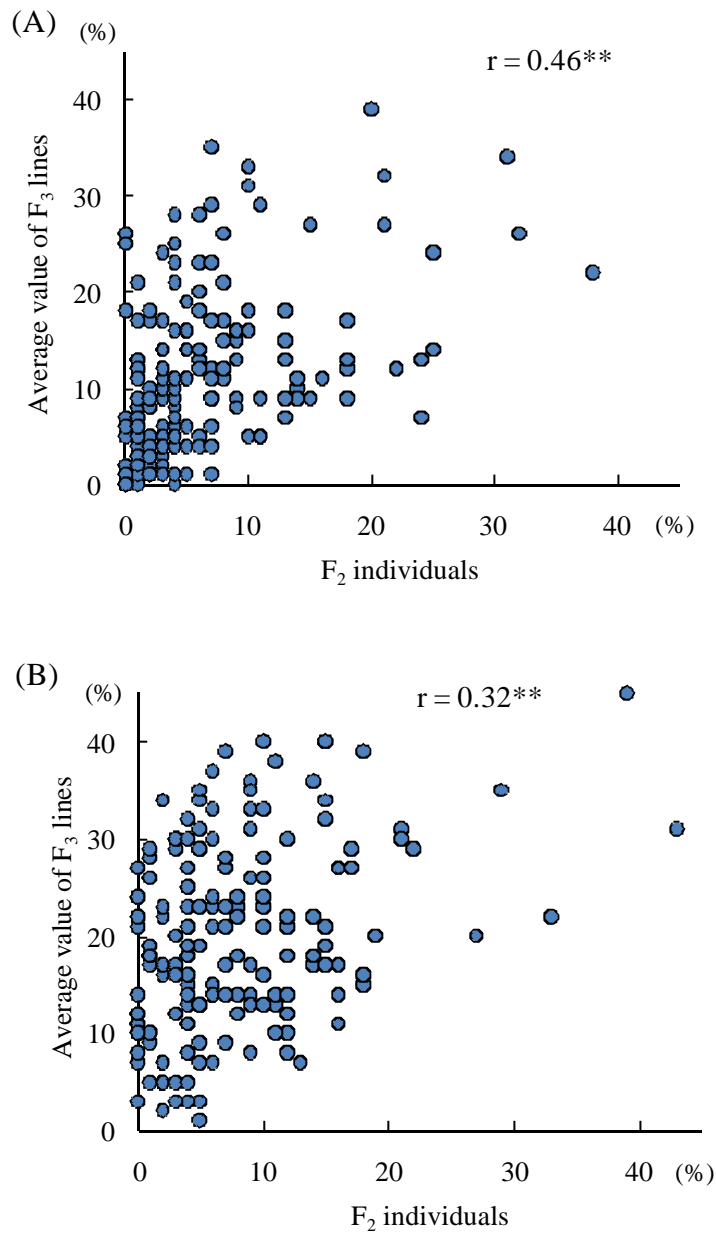


Fig. 16. Correlations between F_2 individual and average of F_3 lines for the percentage of white-back and basal-white kernels.

(A): Percentage of white-back kernels. (B): Percentage of basal-white kernels.

4 - 2 - 3 連鎖地図の作成

検索した 407 種の SSR マーカーのうち、64 種 (15.7%) がハナエチゼンと新潟早生の間で多型を示した。これらのマーカーのうち、56 種のマーカーが連鎖解析により 13 の連鎖群に分けられた。13 の連鎖群は Fig. 17 に示すように、第 1、2、3、4、5、6、7、8、10 および 11 染色体に相当した。8 種のマーカーはいずれの連鎖群にも属さなかった。

4 - 2 - 4 QTL 解析結果

CIM 分析により、背白粒発生率、基白粒発生率および千粒重に関する QTL が検出された (Table 13、Fig. 17)。5%水準で有意な LOD 値の閾値は、3.64~4.38 であった。背白粒発生率、基白粒発生率および背基白粒発生率に関する全ての QTL において、ハナエチゼンの対立遺伝子がそれらを減少させる方向に作用した。Fig. 18 に F₂ および F₃ 集団での背白発生率および温室栽培による背基白発生率に関する QTL の LOD 曲線を示した。Table 14 は single marker analysis による、どの連鎖群にも属さないマーカーと連鎖する QTL を示している。

4 - 2 - 5 圃場における背白粒発生率

(1) F₂ 集団

2003 年圃場で栽培した F₂ 集団の背白粒発生率に関して、5%水準で有意な LOD 値の閾値は 3.93 であった。F₂ 集団では第 3 および 6 染色体に QTL が検出された。それらの QTL に最も近接するマーカーは、第 3 染色体では RM4512、第 6 染色体では RM3034 であり、寄与率はそれぞれ 25.9% および 31.2% であった。

(2) F₃ 集団

2004 年圃場で栽培した F₃ 集団の背白粒発生率に関して 5%水準で有意な LOD 値の閾値は 3.96 であった。F₃ 集団では第 4 および 6 染色体に QTL が検出された。それらの QTL に最も近接するマーカーは第 4 染色体では RM3288、第 6 染色体では RM3034 であり、寄与率はそれぞれ 15.2% および 59.6% であった。

Table 13. Putative QTLs for white-back and basal-white kernels and weight of 1,000 kernels.

Year	Population	Traits	Chr.	Nearest marker	LOD	AE ¹⁾	PVE ²⁾	Threshold value ³⁾
2003	F ₂	White-back kernels	3	RM4512	4.60	<i>-0.73</i>	25.9	3.93
			6	RM3034	6.80	<i>-0.84</i>	31.2	
		Basal-white kernels	6	RM3034	8.08	<i>-1.58</i>	14.1	4.02
		Weight of 1,000 kernels	3	RM4512	4.98	<i>-0.17</i>	12.3	4.09
2004	F ₃	White-back kernels	4	RM3288	4.36	<i>-0.53</i>	15.2	3.96
			6	RM3034	13.39	<i>-1.14</i>	59.6	
		White-back plus basal-white kernels in greenhouse	6	RM3034	7.80	<i>-0.19</i>	75.1	3.64

¹⁾ Additive effects of the Hanaechizen allele. Numbers expressed in italics indicate additive effects based on arc sine transformation of the percentage of white-back or basal-white kernels.

²⁾ Percentage of total phenotypic variance explained by each QTL.

³⁾ Significant threshold LOD value ($P < 0.05$) determined by computing 1,000 permutations.

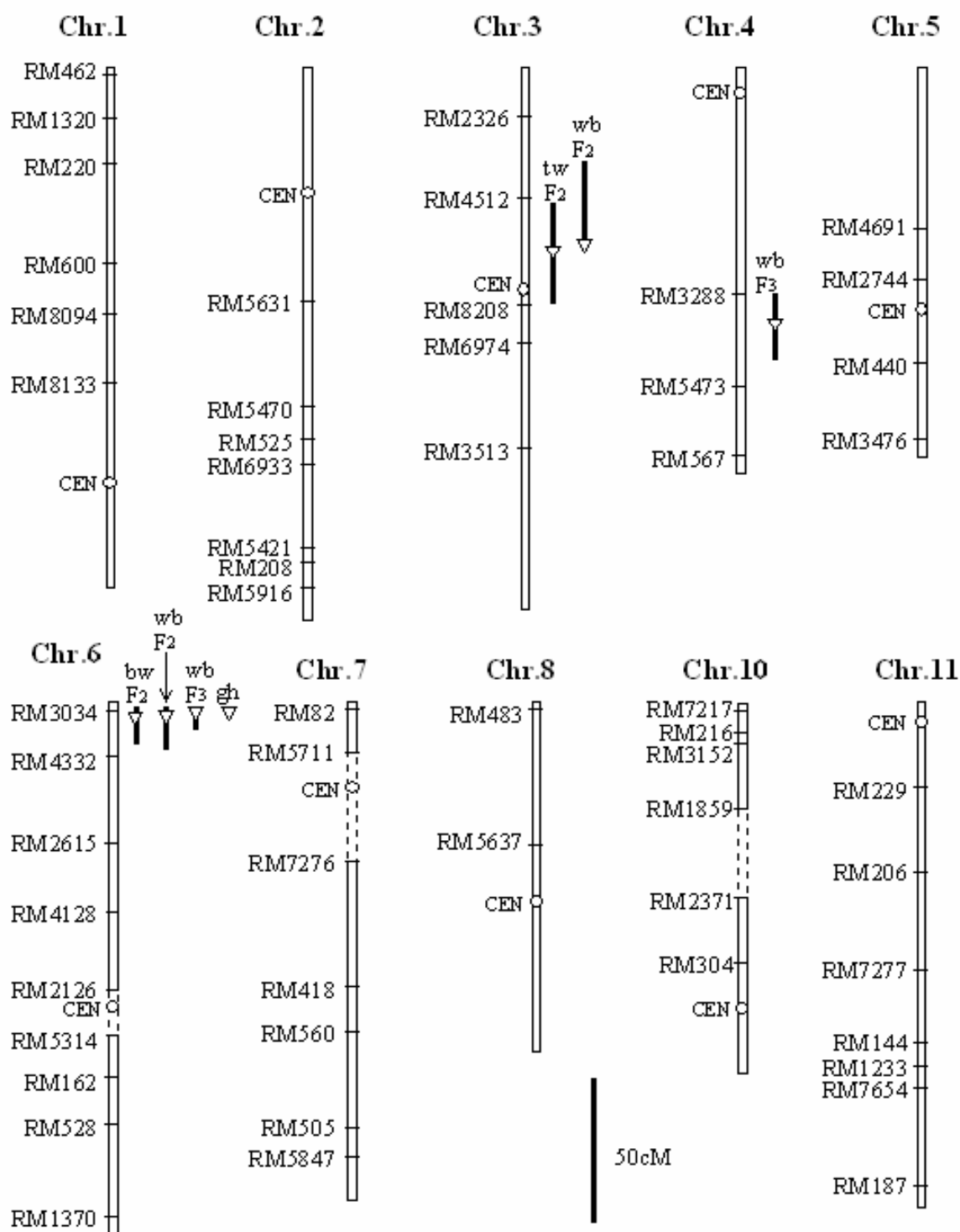


Fig. 17. Linkage map and positions of putative QTLs for white-back kernels, basal-white kernels and weight of 1,000 kernels.

The bars to the left of the chromosomes indicate 1-LOD likelihood intervals, and the triangles indicate the position of the peak LOD in the interval. ∇ indicates that the additive effect of HanaeChizen allele is minus.

wb: White-back kernel. bw: Basal-white kernel. gh: White-back plus basal-white kernels under the greenhouse condition. tw: Weight of 1,000 kernels.

F₂: Properties measured in F₂ generation in 2003. F₃: Properties measured in F₃ generation in 2004. CEN: Approximate position of the centromere.

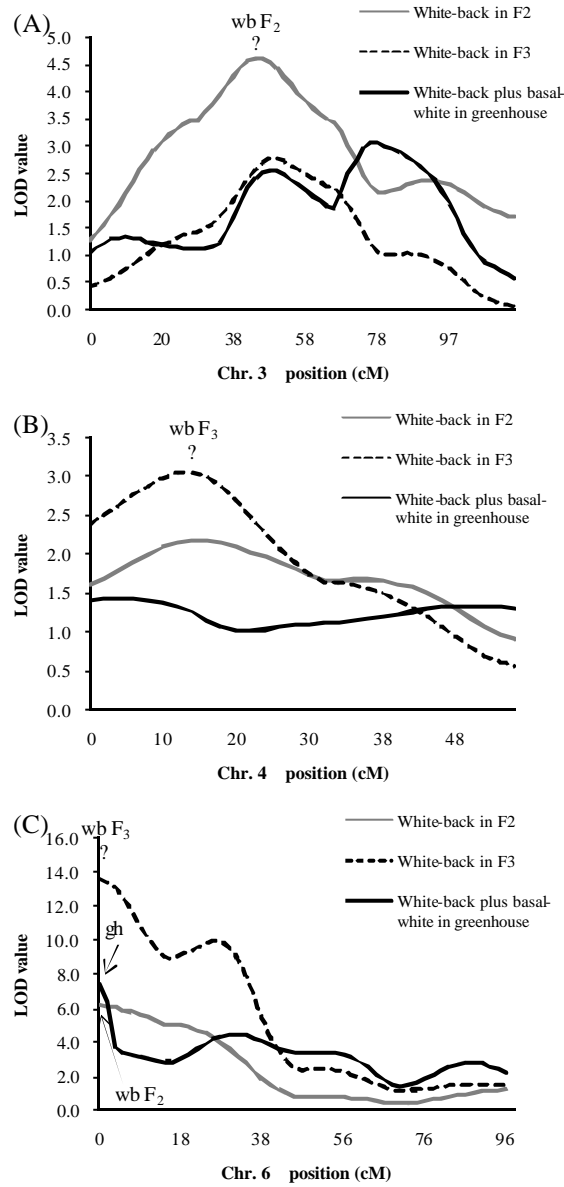


Fig. 18. LOD curves of QTLs for white-back kernels.

(A): Chromosome 3. (B): Chromosome 4. (C): Chromosome 6. QTL Name is shown at the peak of LOD curve. The significant threshold LOD value ($P < 0.05$) of QTL for white-back kernels of F_2 population (2003), F_3 population (2004) and white-back plus basal-white kernels in greenhouse was 3.93, 3.96 and 3.64, respectively.

Table 14. Markers linked to QTLs detected by single marker analysis.

Year	Population	Traits	Chr.	Marker	Significance ¹⁾	AE ²⁾
2003	F ₂	White-back kernels	11	RM552	*	<i>-0.21</i>
		Basal-white kernels	11	RM552	*	<i>-0.19</i>
		Days-to-heading	12	RM2197	*	0.35
2004	F ₃	White-back kernels	1	RM3440	*	<i>0.26</i>
			2	RM5654	*	<i>-0.21</i>
		Basal-white kernels	12	RM2197	**	0.15
		White-back plus basal-white kernels in Greenhouse	12	RM2197	*	<i>0.01</i>
	Days-to-heading	12	RM2197	**	0.40	

¹⁾ Markers linked to QTL at 5% and 1% significant levels are indicated by * and **, respectively.

²⁾ Additive effects of the Hanaechizen allele. Numbers in italics indicate additive effects based on arc sine transformation of the percentage of white-back and basal-white kernels.

4 - 2 - 6 圃場における基白粒発生率

(1) F₂ 集団

2003 年圃場で栽培した F₂ 集団の基白粒発生率に関して 5%水準で有意な LOD 値の閾値は 4.02 であった。F₂ 集団の基白粒発生率に関する QTL は第 6 染色体に検出された。その QTL に最も近接するマーカーは、RM3034 で、寄与率は 14.1%であった。

(2) F₃ 集団

2004 年圃場で栽培した F₃ 集団の基白粒発生率に関して 5%水準で有意な LOD 値の閾値は 3.61 であった。F₃ 集団では基白粒発生率に関する QTL は検出されなかった。

4 - 2 - 7 温室における背基白粒発生率

2004 年温室で栽培した F₃ 集団の背基白粒発生率に関して 5%水準で有意な LOD 値の閾値は 3.64 であった。温室での背基白粒発生率に関する QTL は第 6 染色体に検出された。その QTL に最も近接するマーカーは、RM3034 で、寄与率は 75.1%であった。

4 - 2 - 8 その他の形質

(1) 到穂日数

F₂ 集団 (2003 年) および F₃ 集団 (2004 年) の到穂日数に関して 5%水準で有意な LOD 値の閾値はそれぞれ 3.93 および 4.24 であった。F₂ および F₃ 集団では到穂日数に関する QTL は検出されなかった。

(2) 千粒重および穂重

F₂ 集団における千粒重に関して 5%水準で有意な LOD 値の閾値は 4.09 であった。千粒重に関する QTL は、第 3 染色体 RM4512 近傍に検出され、寄与率は 12.3%であった。

F₂ 集団における穂重に関して、5%水準で有意な LOD 値の閾値は 4.38 であった。穂重に関する QTL は検出されなかった。

4 - 3 考察

本章では 2 つの日本型品種、ハナエチゼンと新潟早生の交雑に由来する F₂ および F₃ 集団を用いて高温登熟耐性に関する QTL 解析を行った。高温登熟耐性は背白粒および基白粒の発生率によって評価した。ハナエチゼンの背白粒および基白粒の発生率は、圃場条件下で 0.0% ~ 7.8% と非常に低かったばかりでなく、温室内で高温ストレスを付与した場合にも新潟早生よりも有意に低く、新潟早生より約 30% 低かった。

本章では高温登熟耐性に関する 3 つの QTL を検出した。第 6 染色体短腕上の RM3034 近傍に検出した QTL は、背白粒発生率、基白粒発生率および温室条件下での背基白粒発生率のいずれの形質に対しても検出されたことから、高温登熟耐性に関して大きな作用力を持つことが示唆された。背白粒発生率に関しては、低温年（2003 年）の圃場で栽培した F₂ 集団、および高温年（2004 年）の圃場で栽培した F₃ 集団の両方で検出された。基白粒発生率に関しては、2003 年の F₂ 集団のみで検出された。これらの RM3034 近傍の QTL は、LOD 値も 6.80 ~ 13.39 と高く、寄与率も 14.1 ~ 75.1% と高かった（Table 13）。近傍には、到穂日数または収量（穂重）に関する QTL は検出されなかったため、これらの高温登熟耐性に関する QTL に到穂日数や収量が及ぼす影響は限定的であると考えられた。第 6 染色体短腕上には、これまで chalkiness に関するいくつかの QTL が検出されている（Xu *et al.* 2000、Li *et al.* 2003b）。chalkiness は出穂直後の高温の影響を受けるとされているが、これらの研究および本章で用いた DNA マーカーには共通のマーカーがないため、これらの QTL が対立遺伝子であるかどうかを決定することはできない。

低温年（2003 年）に圃場で栽培した F₂ 集団では、第 3 染色体上の RM4512 近傍に背白粒発生率に関する QTL が検出された。この QTL は高温年（2004 年）の圃場で栽培した F₃ 集団では LOD 曲線のピークは検出されたものの、その LOD 値は閾値を超えず、温室栽培の背基白粒発生率では異なる位置に LOD 曲線のピークが検出された（Fig. 18A）。従って、この QTL は背白粒発生に対して、高温条件下では大きな作用力を示さないといった環境条件の影響を受けやすい QTL であることが示唆された。Li *et al.*（2003b）も第 3 染色体上に chalkiness に関する QTL を検出したが、共通の DNA マーカーがないため、これらの QTL が対立遺伝子であるかどうかを決定することはできない。第 3 染色体上の RM4512 近傍には、千粒重に関する QTL も検出された。背白粒発生率と千粒重の間には有意な正の相関があったため、この背白粒に関する QTL は千粒重に関する QTL の副次的な影響で検出された可能性がある。本領域の詳細なマップベースクロー

ニングにより、これらの QTL の異同を明らかにすることが課題である。

高温年（2004 年）に圃場で栽培した F₃ 集団では、第 4 染色体上の RM3288 近傍に背白粒発生率に関する QTL が検出された。この QTL は低温年（2003 年）に圃場で栽培した F₂ 集団では LOD 曲線のピークは検出されたものの、その LOD 値は閾値を超えなかった。また温室栽培の背基白発生率ではピークは検出されなかった。従って、この QTL は背白粒発生に対して低温または極端な高温条件下では大きな作用力を示さないといった環境条件の影響を受けやすい QTL であることが示唆された。第 4 染色体上には、SSR マーカーが 3 種しかマッピングできていない。マーカー数を増やし、ギャップのない連鎖地図を作成した上で、複数年での QTL 解析を行って QTL を同定する必要がある。

Single marker analysis により QTL に連鎖するマーカーを検出した。すなわち Table 14 に示したように、第 1 染色体の RM3440、第 2 染色体の RM5654、第 11 染色体の RM552、および第 12 染色体の RM2197 が、背白粒または基白粒発生率と関連づけられた。到穂日数に関する QTL は F₂ および F₃ 集団に共通して第 12 染色体の RM2197 に連鎖していた。これらの領域についてもマーカー数を増やし、ギャップのない連鎖地図を作成した上で、複数年での QTL 解析を行って QTL の有無を確認する必要がある。

本章で作成した連鎖地図はまだ不完全で多くのギャップ領域が存在するため、検出された QTL は存在する QTL のうちの限られたものである。しかし、本章で得られた QTL 情報は高温登熟耐性の MAS に有用であると考えられる。特に 2004 年の圃場条件下における登熟期間の気温は平年値より高く、高温ストレスに相当すると考えられることから、2004 年の圃場で栽培した F₃ 集団で得られた QTL 情報は、高温登熟耐性についての選抜に利用可能である。また 2004 年の温室で栽培した F₃ 集団で得られた QTL 情報は、登熟期間の高温化がより進行した場合に重要であると考えられる。

高温登熟耐性に関する育種において MAS を利用するためには、その耐性を制御する遺伝子に密接に連鎖した DNA マーカーを同定する必要がある。さらに、背白粒または基白粒に関する QTL 領域のみを置換した NIL を養成し、QTL の作用力を確認する必要がある。

4 - 4 まとめ

- 1) 日本型品種ハナエチゼンと新潟早生に由来するF₂およびF₃集団を養成した。
- 2) F₂個体は2003年に圃場で栽培し、F₃系統は2004年に圃場および温室内で栽培した。
- 3) 高温登熟耐性は背白粒または基白粒の発生率を算出して評価した。2004年の温室栽培では背白粒および基白粒の発生が多く、また両者が同時に発生したため、両者を併せて背基白粒として発生率を算出し、QTL解析を行った。
- 4) 2003年圃場栽培のF₂集団では、背白粒に関するQTLが第3および6染色体に検出され、基白粒に関するQTLが第6染色体に検出され、いずれもハナエチゼンの対立遺伝子が発生率を低下させた。
- 5) 2004年圃場栽培のF₃集団では、背白粒に関するQTLが第4および6染色体に検出され、いずれもハナエチゼンの対立遺伝子が発生率を低下させた。
- 6) 2004年温室栽培のF₃集団では、背基白粒に関するQTLが第6染色体に検出されハナエチゼンの対立遺伝子が発生率を低下させた。
- 7) 第6染色体短腕上のRM3034近傍に検出されたQTLは、F₂ およびF₃ 集団両方で検出され、また背白粒、基白粒および温室栽培での背基白粒のいずれでも検出されたことから、高温登熟耐性に対し大きな作用力を持つと考えられた。
- 8) 第3染色体および第4染色体に検出されたQTLも高温登熟耐性に影響したが、F₂またはF₃集団のいずれかのみで検出された。

第5章 総合考察

5 - 1 本研究の意義

5 - 1 - 1 研究の概要と意義

コシヒカリが1956年に誕生して53年、作付面積日本一になってから30年が経過した。コシヒカリは現在も我が国の水稲作付面積の約37%、約60万haで付けられている主要品種である。コシヒカリの最大の特徴はその良食味性であるが、高温登熟耐性は中程度であるため、高温年には一等米比率の低下が経済的損失をもたらしている。一方、1992年に育成されたハナエチゼンは、食味についてはコシヒカリより劣るが高温登熟耐性は強いことが特徴である。そこで、コシヒカリの良食味性とハナエチゼンの高温登熟耐性の結合をめざす育種を開始した。しかし、食味および高温登熟耐性に関する従来の選抜法には、後期世代からしか選抜を開始できないことや、複数年での形質評価が必要なこと、形質評価に多大の時間と労力がかかることなどの問題点があったため、より効率的で効果的なMASシステムの開発が求められてきた。食味や高温登熟耐性は複数の遺伝子により支配され、しかも環境の影響を受けやすい量的形質であるため、MASシステムを確立するには、QTL解析を行って遺伝育種学的基礎を解明する必要がある。しかし、多型検出率が低い日本型品種間での食味や高温登熟耐性に関するQTL解析はこれまでほとんど行われてこなかった。

本研究は、日本型品種の食味および高温登熟耐性についてMASシステムを開発することをめざし、コシヒカリの良食味性およびハナエチゼンの高温登熟耐性に関するQTL解析を行った。その結果、食味に関しては、コシヒカリとアキヒカリのDHLおよびさきひかりと日本晴のRILを用いて、粘りおよび食味関連形質に関するQTLを検出し、そのうちDHLで検出された第2染色体の粘りおよびアミロース含有率に関するQTLについてはNILを用いてQTLの作用力を検証した。高温登熟耐性に関しては、ハナエチゼンと新潟早生のF₂およびF₃集団を用いて、背白粒および基白粒発生率に関するQTLを検出した。このように本研究では従来QTL解析が困難であった日本型品種の食味および高温登熟耐性について、関与するQTLの数や染色体上の座乗位置、形質変動への寄与率、対立遺伝子の作用力などの遺伝育種学的基礎を解明することができた。

5 - 1 - 2 食味および高温登熟耐性に関する MAS システムの開発における本研究の到達点

本研究で解明された遺伝育種学的基礎は、MAS システムの開発に不可欠なものである。Table 15 に、本研究で用いたコシヒカリ、アキヒカリ、さきひかり、日本晴、ハナエチゼンおよび新潟早生について、各 QTL の近接マーカーの遺伝子型を示し、右端には本研究で検出した QTL を用いた MAS によって選抜すべき遺伝子型を示した。いずれの QTL においても近接マーカーと遺伝子との間で組換えがおこっている可能性もあるため、今後詳細なマッピングによって遺伝子との連鎖を確認する必要がある。また、3 種以上の対立遺伝子が確認された *qST3-1*、*qST3-2*、*qST6*、*qST7*、第 3 および 6 染色体上の背白粒に関する QTL については、それぞれの対立遺伝子の作用力を検証する必要もある。

粘りに関する QTL のうち KA68 近傍の QTL、*qST1*、*qST3-1*、*qST6* および *qST7* について、コシヒカリとさきひかりは同じ対立遺伝子型を示した。本研究で検出した QTL を用いて MAS を行う場合、これら 5 つの粘りに関する QTL 領域に関しては、コシヒカリまたはさきひかりから導入する方向が示された。一方、KA80 近傍の QTL、*qST3-2* および *qST8* についてコシヒカリとさきひかりは異なる対立遺伝子型を示した。*qST3-2* ではコシヒカリの対立遺伝子型はさきひかり型でも日本晴型でもなく、*qST8* ではコシヒカリは粘りを減少させる日本晴と同じ対立遺伝子型を示した。これらの QTL 領域をさきひかりからコシヒカリへ MAS によって導入することにより、コシヒカリの食味をさらに改良できる可能性もあるが、その有効性については粘りに関して各対立遺伝子がどのような作用力を持つか、NIL を養成して確認する必要がある。

高温登熟耐性に関して、コシヒカリは第 4 染色体の QTL 領域はハナエチゼンと同一の対立遺伝子型を示すが、第 6 染色体の QTL 領域の対立遺伝子型はハナエチゼン型ではない。従って、第 6 染色体の QTL 領域をハナエチゼンからコシヒカリに MAS によって導入し、コシヒカリの高温登熟耐性改良を検討することは、本研究の一つの実用的出口であると考えられる。

Table 15. Genotypes of QTLs for stickiness of cooked rice and heat-induced quality decline of the cultivars used in this study and the objective genotype to be selected by MAS.

Traits	QTL	Chr.	Nearest marker	Koshi-hikari	Aki-hikari	Saki-hikari	Nippon-bare	Hanaechizen	Niigatawase	Objective genotype ⁴⁾
Eating quality	Stickiness	2	KA68	A ³⁾	B	A	A	A	A	A
	Stickiness	2	KA80	A	B	B	B	B	B	A
	<i>qST1</i>	1	RM1003	A	A	A	B	A	A	A
	<i>qST3-1</i>	3	RM4108	A	A	A	C	A	B	A
	<i>qST3-2</i>	3	RM4512	A	B	C	D	B	E	-
	<i>qST6</i>	6	RM4332 ²⁾	A	B	A	C	A	B	A
	<i>qST7</i>	7	RM5847	A	B	A	C	D	C	A
	<i>qST8</i>	8	RM3572	A	B	B	A	A	A	B
Heat-induced quality decline ¹⁾	White-back	3	RM4512	A	B	C	D	B	E	-
	White-back	4	RM3288	A	B	B	A	A	B	A
	White-back and basal-white	6	RM3034	A	B	B	A	C	B	C

¹⁾ Tolerance to deterioration in the apparent quality of unmilled rice caused by high temperature during the ripening period.

²⁾ The nearest marker of *qST6* was wxCT, but genotype data of RM4332 is shown in this Table because genotypes of wxCT of Koshihikari, Akihikari, Hanaechizen and Niigatawase were not analyzed.

³⁾ Alleles those increase stickiness or decrease occurrence of white-back kernels are shown with hatches.

⁴⁾ The objective genotype to be selected by MAS system.

5 - 2 残された課題

5 - 2 - 1 食味および高温登熟耐性に関する MAS システムの開発における課題

qST3-2 および高温登熟耐性に関する第 3 染色体の QTL の近接マーカーはいずれも RM4512 であった。RM4512 の遺伝子型はハナエチゼンとアキヒカリが同じである以外は、全ての品種で異なる遺伝子型を示し、*qST3-2* が検出されたさきひかりは C 型、高温登熟耐性の QTL が検出されたハナエチゼンは B 型、コシヒカリは A 型であった。それぞれのハプロタイプが粘りおよび高温登熟耐性にどのような作用力を持つのかは、今後明らかにしていかなければならない。本領域について食味または高温登熟耐性の MAS を行う場合、遺伝子により密接に連鎖した DNA マーカーを明らかにする必要がある。

日本のイネ育種事業では、良食味品種を育成するためにコシヒカリやコシヒカリの子孫品種が交配親として頻繁に使われている。その結果、近年の日本の栽培品種の多くはコシヒカリのような良食味性を既に持っていると考えられる。従って、本研究で見出した食味に関する QTL が、日本の栽培品種を用いた育種事業の中で、食味の改良に使えるかどうかは、アソシエーション解析等によって検証されなければならない。しかし、インド型品種や野生稻などより遠縁の系統を用いて、病虫害抵抗性や環境ストレス耐性などの経済価値のある形質を導入しようとする場合、本研究で検出された食味に関する QTL 領域の情報は、コシヒカリと同等の食味を保つための MAS に有用である。これらの遠縁系統と日本の栽培品種との交雑に由来する集団を用いた解析では、*Wx* 遺伝子 (Tan *et al.* 1999、Li *et al.* 2003a、Takeuchi *et al.* 2007) や *alk* 領域 (Li *et al.* 2003a) などの食味に関する主要な遺伝子または QTL がいくつか報告されている。しかし、このような遠縁系統を用いた育種では食味の維持がより困難であると考えられる。従って、本研究で得られた QTL 情報は、それらの主要な QTL とあわせて、食味に関する効率的な MAS に有用であると考えられる。

高温登熟耐性については、ハナエチゼンやハナエチゼンの子孫品種であるてんたかくやふさおとめなどの高温登熟耐性が高いとされる品種を用いた育種が盛んに行われている。しかし、第 4 章で示したように、ハナエチゼンでも温室栽培で高温ストレスをかけた場合には背基白粒発生率が 50% を超えたことから、気候変動に関する政府間パネルが予想するようなより一層の高温化に対しては、ハナエチゼンのもつ高温登熟耐性のみでは不十分である可能性が示唆された。Tabata *et al.* (2007) は越路早生を用いて高温登熟耐性に関する遺伝解析を行ったが、本研究で検出された QTL とは異なる領域に背白粒または基白粒の発生に関する

QTL を検出した。従って、少なくともハナエチゼンと越路早生の高温登熟耐性 QTL は集積が可能であり、現在の栽培品種より高温登熟耐性の強い品種を育成できる可能性が開かれている。また暖地向き品種「にこまる」は高温登熟下でも玄米品質が優れ、その生理的、遺伝的要因の解明が期待されている（坂井ら 2007）。今後、にこまるの高温登熟耐性の利用も検討する必要がある。さらに、蛸谷ら（2008）は、染色体断片置換系統群を利用して Kasalath の対立遺伝子がコシヒカリに対して整粒比率を増加させる QTL を 4 カ所に検出した。一般に、遠縁の品種や系統を交配した場合、出穂期や粒形など高温登熟耐性に影響を及ぼす形質が大きく分離し、遺伝解析材料として扱うのは困難であるが、染色体断片置換系統ならば通常の形質評価が可能である（Ando *et al.* 2008、蛸谷ら 2008）。今後、インド型品種のもつ高温登熟耐性に関する有用アリルについて、染色体断片置換系統を利用した日本型品種への導入を検討していく必要がある。さらに、一層の高温化への対応として、コアコレクションを利用した高温登熟耐性に関する新規遺伝資源の探索も課題である。

5 - 2 - 2 食味形質評価における課題

コシヒカリの良食味性の特徴は粘りにあるため、本研究では食味の構成要素の中で物理的側面である粘りについての QTL 解析を行った。しかし、食味の構成要素には、味、香りなど化学的側面もある。狩野・田島（2001）は、マルトオリゴ糖含有率が食味と関連することを報告した。松崎ら（1992）は溶出アミノ酸総量、グルタミン酸およびアスパラギン酸等の割合が食味と関連することを報告し、Tamaki *et al.*（1989）は良食味品種の米は遊離アミノ酸含量が多いことを報告した。一方、無機成分では、堀野・岡本（1992）は、カリウムおよびマグネシウム含有率が食味官能試験における総合評価と強い関連性を有することを報告した。これらの呈味成分に関する遺伝解析も始まっており、Wada *et al.*（2008）はコシヒカリと森田早生の RIL を用いて、白米のアミノ酸割合に関する QTL を検出した。コシヒカリの良食味性に関する化学的側面についての研究は、今後の課題の一つである。

5 - 3 本研究の応用

5 - 3 - 1 得られた遺伝育種学的知見の育種への応用

本研究で検出・検証した食味および高温登熟耐性に関する QTL の情報は、MAS システムの開発に有用であるばかりではない。本研究により、複雑形質であるこれらの形質についての基礎的な遺伝情報が明らかとなり、これまで育種家の経験や勘によっていた選抜に関して、科学的な裏付けを行うための準備が整ったといえる。コシヒカリを育成した石墨（石墨 1977）が「眼光紙背に徹するような選抜眼や、経験から生まれてくる『勘』」の重要性を示し、「系統名が命名された系統はいずれも雑種初期世代から立毛中の観察概評の評価が高く、このことは、育種家の総合評価の遺伝力がかかなり高いことを示す」と述べたように、選抜を行う上で経験が重要であることは否めない。しかし、イネの全塩基配列が解読され、多くの遺伝子が単離されつつある現在、それらの DNA 情報を用いてより効率的な選抜を行うことにより、従来 of 育種手法では困難であった画期的な品種が育成できるものと考ええる。例えば、不良形質の連鎖の引きずりを解消した品種育成（Fukuoka *et al.* 2009）は、MAS が最も力を発揮しうる場面である。

本研究のテーマである食味と高温登熟耐性について、従来 of 育種手法では、初期世代は無選抜で世代を進め、中期世代で出穂期、草型、収量等で大まかな選抜を加え、遺伝子型がある程度固定した後期世代（ F_6 以降）においてこれらの形質を評価し、選抜を行う。しかし、目的とする熟期で良食味性と高温登熟耐性を合わせ持つ個体の出現率は高くないことが多い。これまでの経験上、早生熟期でハナエチゼン並みの高温登熟耐性を持つ個体はある程度出現するが、そのような個体はコシヒカリ並みの良食味を伴わないことが多く、逆に中生熟期でコシヒカリ並みの良食味を持つ個体はある程度出現するが、そのような個体はハナエチゼン並みの高温登熟耐性を伴わないことが多い。この理由は、連鎖の引きずりであるのかもしくは遺伝子の多面発現であるのか、現在のところ不明である。連鎖の引きずりであれば、集団内の個体数を増やして組換えの機会を増やし、不良形質との連鎖が切れた個体を選抜する必要があるが、連鎖の引きずりの解消には MAS が最も効率的である。多面発現であれば、別の遺伝子を利用するなどして、不利な形質発現をカバーする必要がある。いずれにしても、連鎖の引きずりか多面発現かを明らかにし、その問題を解決するためには、それぞれの形質を制御する遺伝子を単離し、その遺伝子機能を解析する方法が最も有効であると考ええる。コシヒカリの良食味およびハナエチゼンの高温登熟耐性それぞれの遺伝子作用が明らかとなり、MAS システムが確立されることは、日本のイネ育種において大

きなブレークスルーとなるであろう。

5 - 3 - 2 福井県農業試験場における今後の水稻育種の目標

近年福井農試では、コシヒカリの良食味性を保ち、短稈化した中生品種「イクヒカリ」(富田ら 2005a)や晩生品種さきひかり(堀内ら 2004)を育成した。しかし、両者とも高温登熟耐性においてはコシヒカリとほぼ同等であり、際だった改良はなされていない。また、中晩生品種「あきさかり」(富田ら 2009)はコシヒカリと同等の良食味性をもち、高温登熟耐性についてもコシヒカリより改良したが、その高温登熟耐性は“やや強”レベルであり、今後予想される一層の高温化には対応できない可能性がある。

本研究で得られた遺伝育種学的知見をもとに、食味および高温登熟耐性についての MAS システムの確立と選抜の効率化を行って、良食味性と高温登熟耐性を併せ持った新品種の育成が福井農試における今後の重要な育種目標である。

摘 要

コシヒカリは 1956 年に福井県農業試験場（以下福井農試）が育成した水稻品種で、1979 年には作付面積日本一（約 30 万 ha）となった。以来、現在まで作付面積日本一の座を保っており、2008 年には全国の水田作付面積の約 37%、約 60 万 ha で作付けされた。このことはコシヒカリの良食味性が広く日本の市場に受け入れられていることを示すが、近年、登熟期間の高温による玄米外観品質の劣化が全国的に問題となっている中で、コシヒカリの高温登熟耐性は“中”から“やや弱”であることが明らかとなってきた。福井農試が育成したハナエチゼンは高温登熟耐性の高い品種である。そこで、コシヒカリの良食味性とハナエチゼンの高温登熟耐性とを兼ね備えた品種をめざした育種が始まった。しかし、良食味性と高温登熟耐性との両立には大きな困難が伴った。その理由として、どちらの形質も多量の試料が得られる後期世代からしか選抜が加えられないことや、環境条件による影響を受けやすい形質であるため複数年での評価が必要なこと、形質評価に多大の時間と労力がかかることが挙げられる。これらの問題を解決するために、食味および高温登熟耐性に関して DNA マーカーによる間接選抜（MAS）を用いた効率的な選抜技術の開発が求められている。MAS システムの開発には目的形質についての遺伝育種学的知見を得ることが不可欠であるが、日本型品種の解析集団では、これまで DNA マーカーの多型検出率が低かったことから食味や高温登熟耐性についての遺伝解析に関する報告はほとんど行われてこなかった。しかし、2004 年のイネゲノム解読終了により、日本型品種の解析集団でも利用可能な DNA マーカー情報や塩基配列情報が充実し、食味や高温登熟耐性の遺伝的要因について日本型品種間の差異を検出できるようになってきた。そこで本研究では、コシヒカリの良食味性およびハナエチゼンの高温登熟耐性に関する量的形質遺伝子座（QTL）解析を行うとともに、食味に関しては準同質遺伝子系統（NIL）による QTL 作用力の検証を行って、食味および高温登熟耐性に関する遺伝育種学的知見を得ることを目的とした。

1. コシヒカリ / アキヒカリ集団を用いた炊飯米の粘りに関する QTL 解析と準同質遺伝子系統による QTL の検証

本研究では、食味官能試験における炊飯米の粘りがコシヒカリの良食味性の特徴を最もよく表し、かつ再現性が高く厳密な指標であるとした。

粘りの強いコシヒカリと粘りの弱いアキヒカリの交雑 F_1 の葯培養に由来する倍加半数体系統（DHL）212 系統を 1997 年および 1999 年に栽培し、炊飯米の粘りおよび白米のアミロース含有率に関する QTL 解析を行った。DHL の連鎖地図

は 171 種の DNA マーカーによって作成した。その結果、コシヒカリの対立遺伝子が粘りを増加させる QTL を、1997 年の解析では第 2 染色体長腕領域に、1999 年の解析では第 2 染色体長腕領域および第 6 染色体短腕領域に検出した。また、コシヒカリの対立遺伝子がアミロース含有率を低下させる QTL を第 2 染色体長腕領域に検出し、粘りを増加させる QTL との関連が示唆された。第 2 染色体長腕領域の粘りに関する QTL の形質変動への寄与率は 7.4% ~ 12.0% であり、これらは 2 カ年の試験で共通して検出されたことから、コシヒカリの強い粘りに関して大きい作用力をもつと推察された。

そこで、この第 2 染色体に検出した粘りおよびアミロース含有率に関する QTL について、NIL を用いてその作用力を検証することにした。アキヒカリの遺伝的背景に、第 2 染色体の QTL 領域について異なる大きさの断片をコシヒカリから導入した 6 系統の NIL を養成した。これらの NIL を 2006 年および 2007 年に栽培し、食味関連形質を調査した結果、4 系統の NIL において粘りがアキヒカリより有意に増加し、アミロース含有率がアキヒカリより有意に低下した。これら 4 系統の NIL が共通して持つコシヒカリ断片は、第 2 染色体長腕の QTL 領域のみであったことから、DHL で検出した QTL の作用力を検証できた。導入されたコシヒカリ断片を比較することにより、粘りに関する QTL の候補ゲノム領域は、RM13658 と RM3730 間の 515kbp および KA43 と RM6933 間の 773kbp の 2 つの小領域のいずれか一方またはその両方にあることが明らかとなった。

2. さきひかり / 日本晴集団を用いた食味に関する QTL 解析

コシヒカリ / アキヒカリの DHL 集団では、到穂日数の変異が食味関連形質の発現に影響したため、QTL の検出感度が低かったと考えられた。そこで、ともに晩生の熟期であるさきひかりおよび日本晴の交雑に由来する組換え自殖系統 (RIL) 188 系統を養成した。さきひかりはコシヒカリの孫に当たる品種で、強い粘りを特徴とするコシヒカリの良食味性を受け継いでいる。一方、日本晴の炊飯米は粘りが少なく食味が劣る。RIL を 2005 年、2006 年および 2007 年の 3 カ年にわたって栽培したところ、到穂日数の変異および登熟期間の平均気温の差を DHL に比べて半減することができた。RIL の炊飯米の粘り、白米のアミロース含有率およびデンプンの糊化特性を調査し、QTL 解析を行った。RIL の連鎖地図は 113 種の単純反復配列 (SSR) マーカーを用いて作成した。QTL 解析の結果、さきひかりの対立遺伝子が粘りを増加させる QTL を第 1、3 (2 カ所)、6、7 および 8 染色体の 6 カ所に検出した。さきひかりの対立遺伝子がアミロース含有率を低下させる QTL を第 1 および 2 染色体に検出した。糊化特性に関する 19 の QTL を第 1、3、4、6、7、8、10 および 12 染色体に検出した。

粘りに関する QTL の中で、第 3 染色体短腕上の *qST3-1* の形質変動への寄与率は 6.2% ~ 20.9% であり、3 カ年の試験において共通して検出されたことから、粘りに関する遺伝子を含む有望な領域であると推察された。粘りに関する QTL のうち、第 1 染色体に検出された *qST1*、*qST3-1*、第 6 染色体に検出された *qST6* および第 8 染色体に検出された *qST8* の近傍には糊化特性に関する QTL が検出され、また RIL の粘りは糊化特性と有意な相関関係があったことから、RIL の粘りは糊化特性として測定されるアミロペクチンの構造とも強い関係があることが示唆された。

3. ハナエチゼン / 新潟早生集団を用いた高温登熟耐性に関する QTL 解析

本研究では、登熟期間の高温によって発生する障害のうち、玄米の背側および基部が白濁する背白粒および基白粒の発生しにくさを高温登熟耐性とした。

高温登熟耐性が高いハナエチゼンと高温登熟耐性が低い新潟早生の交雑後代 F_2 および F_3 集団を養成した。 F_2 集団 180 個体は 2003 年に圃場で栽培し、 F_3 集団 180 系統は 2004 年に圃場および温室内で栽培し、収穫した玄米の背白粒および基白粒発生率を調査した。2004 年の温室栽培では背白粒および基白粒の発生が非常に多くまた両者が同時に発生したため、両者を併せて背基白粒として発生率を調査し、これらのデータを用いて QTL 解析を行った。 F_2 集団の連鎖地図は 56 種の SSR マーカーを用いて作成した。QTL 解析の結果、2003 年圃場栽培の F_2 集団では、背白粒発生率に関する QTL を第 3 および 6 染色体に検出し、基白粒発生率に関する QTL を第 6 染色体に検出した。2004 年圃場栽培の F_3 集団では、背白粒発生率に関する QTL を第 4 および 6 染色体に検出した。2004 年温室栽培の F_3 集団では、背基白粒発生率に関する QTL を第 6 染色体に検出した。

第 6 染色体に検出した背白粒、基白粒および背基白粒発生率に関する QTL はの形質変動への寄与率は 14.1% ~ 75.1% であり、複数世代で検出されたことから、高温登熟耐性に関して大きな作用力を持つと推察された。また第 3 および 4 染色体に検出した QTL も高温登熟耐性に影響したが、 F_2 または F_3 集団のいずれかのみで検出された。

以上のように、本研究ではコシヒカリの良食味性およびハナエチゼンの高温登熟耐性に関する QTL 解析を行った。その結果、食味に関しては、コシヒカリとアキヒカリの DHL およびさきひかりと日本晴の RIL を用いて、粘りおよび食味関連形質に関する QTL を検出し、そのうち DHL で検出された第 2 染色体の粘りおよびアミロース含有率に関する QTL については NIL を用いて QTL の作用力を検証した。高温登熟耐性に関しては、ハナエチゼンと新潟早生の F_2 および F_3 集

団を用いて、背白粒および基白粒発生率に関する QTL を検出した。このように本研究では、従来遺伝的差異の検出が困難であった日本型品種の食味および高温登熟耐性について、関与する QTL の数や染色体上の座乗位置、形質変動への寄与率、対立遺伝子の作用力などの遺伝育種学的基礎を解明することができた。本研究で得られた知見をもとに、食味および高温登熟耐性についての MAS システムの確立と選抜の効率化を行って、良食味性と高温登熟耐性を併せ持った新品種の育成が福井農試における今後の重要な育種目標である。

Summary

‘Koshihikari’ was bred by Fukui Agricultural Experiment Station in 1956. It is the leading rice cultivar in Japan. Koshihikari is cultivated on about 603,700 ha of paddy fields, accounting for about 37% of the paddy area in Japan in 2008. Koshihikari is of superior eating quality and is widely preferred by Japanese consumers. But Koshihikari has a few undesirable agronomic traits, such as poor lodging resistance and susceptibility to rice blast. Deterioration in the apparent quality of unmilled rice caused by high temperatures during the ripening period (heat-induced quality decline hereafter) has been identified as an increasing problem in rice cropping in Japan. The proportions of white-back and basal-white kernels are especially increased by high temperatures during the ripening period, and Koshihikari’s resistance to heat-induced quality decline ranges from medium to slightly weak. Rice breeders have attempted to breed new cultivars with excellent eating quality and strong resistance to heat-induced quality decline. ‘Hanaechizen’, bred by Fukui Agricultural Experiment Station, is an early maturing cultivar with strong resistance to heat-induced quality decline. However, breeding for both eating quality and resistance to heat-induced quality decline is difficult because both are quantitative traits controlled by multiple genes. These traits have been selected from advanced generations, and sometimes need to be evaluated for a few years because they are affected by environmental conditions. Therefore, selection using DNA markers (marker-assisted selection: MAS) is needed to contribute to the efficiency and effectiveness of rice breeding.

As a contribution towards the development of an MAS system, I genetically analyzed the desirable traits of Koshihikari and Hanaechizen that lead to the former’s excellent eating quality and the latter’s strong resistance to heat-induced quality decline. The study comprised three components.

1. Detection of quantitative trait loci (QTLs) for eating quality using a population derived from a Koshihikari × Akihikari cross and verification of QTLs for stickiness of cooked rice and amylose content of milled rice by developing near isogenic lines (NILs)

I mapped and analyzed QTLs for eating quality by using doubled haploid lines derived from a cross between two *japonica* rice cultivars, Koshihikari and

Akhihikari. Eating quality was evaluated from stickiness of cooked rice determined by sensory tests and amylose content of milled rice. Putative QTLs for stickiness were detected on chromosomes 2 and 6. Koshihikari alleles in these QTLs increased the stickiness value. Putative QTLs for amylose content were detected on chromosome 2. The Koshihikari alleles in these QTLs decreased amylose content. The result suggests that QTLs detected on the long arm of chromosome 2 are closely associated with the strong stickiness of Koshihikari. The percentage of total phenotypic variance explained by the QTL was ranged from 7.4 % to 12.0 %. The effect of the QTL for eating quality on the long arm of chromosome 2 was analyzed using NILs. Six NILs with an Akhihikari genetic background were developed, in which different segments of chromosome 2 were introduced from Koshihikari. Significant differences in the stickiness and amylose content between these NILs were observed. These results clearly showed that a chromosome 2 segment introduced from Koshihikari increased stickiness and decreased amylose content in the NILs, and supported the results obtained using the doubled haploid lines. Comparison of the introduced segments revealed that the candidate genomic region of chromosome 2 associated with stickiness lay between 515 and/or 773 kbp.

2. Detection of QTLs for stickiness of cooked rice using recombinant inbred lines (RILs) derived from a Sakihikari × Nipponbare cross

I mapped and analyzed QTLs for eating quality using 188 RILs derived from a cross between two *japonica* rice cultivars, Sakihikari and Nipponbare. Sakihikari has excellent eating quality with strong stickiness, whereas Nipponbare is less sticky, but both are late maturing cultivars. For RILs grown in 2005, 2006 and 2007, I evaluated the stickiness of cooked rice by sensory tests and measured three properties that may affect stickiness—amylose content of milled rice, amylographic characteristics of starch, and days-to-heading—and used them for QTL analysis. Six QTLs for stickiness were identified, one each on chromosomes 1, 6, 7 and 8 and two on chromosome 3. Of these six QTLs, *qST3-1* on the short arm of chromosome 3 was detected in each of the three years, but the other five were detected in only one year. The percentage of total phenotypic variance explained by *qST3-1* was ranged from 6.2 % to 20.9 %. I also mapped two QTLs for amylose content, 19 QTLs for amylographic characteristics, and three QTLs for days-to-heading. In the RILs, stickiness was significantly correlated with amylographic characteristics and several QTLs for amylographic characteristics were detected in

the same QTL regions in which QTLs for stickiness were found. These results suggest that amylographic characteristics are important contributors to stickiness of RILs.

3. Detection of QTLs for white-back and basal-white kernels caused by heat stress using F₂ and F₃ populations derived from a Hanaechizen × Niigatawase cross

I identified several QTLs associated with resistance to heat-induced quality decline. QTL analysis was carried out using F₂ and F₃ populations derived from a cross between two *japonica* rice cultivars, Hanaechizen and Niigatawase. Resistance to heat-induced quality decline was evaluated based on the percentage of white-back and basal-white kernels. Three putative QTLs associated with white-back kernels were identified, one each on chromosomes 3, 4 and 6. One putative QTL associated with basal-white kernels was identified on chromosome 6. One putative QTL associated with white-back plus basal-white kernels was identified on chromosome 6 in the F₃ population grown in a greenhouse. QTLs on the short arm of chromosome 6 contributed the most to resistance to heat-induced quality decline. The percentage of total phenotypic variance explained by the QTLs on chromosome 6 was ranged from 14.1 % to 75.1 %. The QTLs identified on chromosomes 3 and 4 that also affected resistance to heat-induced quality decline were detected in either the F₂ or F₃ population.

This study revealed the presence, chromosome map positions, and percentage of total phenotypic variance explained by each QTL that make an important contribution to determining the eating quality of cooked rice and the resistance to a decline in the apparent quality of unmilled rice caused by high temperatures during the ripening period. Identification of the genetic basis of these traits should increase the efficiency and effectiveness of breeding strategies for eating and grain quality of rice. An MAS system using these findings should provide a substantial boost to rice breeding programs in the near future.

謝 辞

本論文をまとめるにあたり、終始暖かい激励とご指導、ご鞭撻をいただきました筑波大学大学院生命環境科学研究科生物圏資源科学専攻教授 奥野員敏博士に心より感謝申し上げます。学位論文審査において、貴重なご指導とご助言をいただきました同教授 丸山幸夫博士、同准教授 大澤良博士、情報生物学専攻連係大学院教授 矢野昌裕博士、ならびに先端農業技術科学専攻連係大学院教授 乙部千雅子博士に心より感謝申し上げます。矢野博士には、実験計画段階から論文執筆まで、数多くのご助言と激励を賜りましたことを記すとともに心より感謝申し上げます。

本研究において、独立行政法人農業生物資源研究所での長期研修時に遺伝解析の基礎および論文執筆に関して数多くのご指導とご助言を賜りました(独)農業・食品産業技術総合研究機構作物研究所 長峰司博士、(独)農業生物資源研究所 QTL ゲノム育種研究センター 江花薫子博士、ならびに同 福岡修一博士に心より感謝申し上げます。

本研究の遂行にあたり、貴重なご助言をいただくとともに、植物材料をご提供いただきました(独)農業生物資源研究所理事 佐々木卓治博士、北海道大学農学部准教授 山岸真澄博士、(独)農業・食品産業技術総合研究機構作物研究所 竹内善信博士に心より感謝いたします。

本研究の実験の実施において、浙江省農業科学院 張小明博士、同 鮑根良氏、同 葉勝海氏、ならびに同 俞法明氏の熱心なご協力をいただきましたことを記すとともに心より感謝申し上げます。

福井県農業試験場作物部 田中勲研究員には、食味に関する遺伝解析の基礎を教えていただきました。また、福井県農業試験場育種部 篠山治恵博士には、本論文をとりまとめる際に多くのご助言をいただきました。ここに記すとともに心より感謝申し上げます。

本研究を実施するための環境を整備し、また数多くのご助言と激励をいただきました前福井県農業試験場長 勝田英郎氏、元福井県農業試験場長 堀内久満氏、福井県農業試験場育種部 富田桂主任研究員ほか、福井県農業試験場の皆さまに心より感謝申し上げます。本研究において、福井県農業試験場管理室の皆さまならびに臨時職員の皆さまのご協力なくしては、実験の実施は不可能であったことを記すとともに心より感謝申し上げます。

引用文献

- Ahn, S. N., C. N. Bollich, A. M. McClung and S. D. Tanksley (1993) RFLP analysis of genomic regions associated with cooked-kernel elongation in rice. *Theoretical and Applied Genetics* 87: 27-32.
- 赤間芳洋・有坂将美 (1992) 第 4 章 4. もち米. “日本の稲育種” 櫛淵欽也監修 農業技術協会 東京 p. 203.
- Ando T., T. Yamamoto, T. Shimizu, X. F. Ma, A. Shomura, Y. Takeuchi, S.Y. Lin, and M. Yano (2008) Genetic dissection and pyramiding of quantitative traits for panicle architecture by using chromosomal segment substitution lines in rice. *Theoretical and Applied Genetics* 116: 881-890.
- 有坂通展 (2001) 新潟県における水稻の品質低下の実態と今後の課題. 北陸作物学会報 36: 103-105.
- Asaoka, M., K. Okuno and H. Fuwa (1985) Effect of environmental temperature at the milky stage on amylose content and fine structure of amylopectin of waxy and non waxy endosperm starches of rice (*Oryza sativa* L.). *Agricultural and Biological Chemistry* 49: 373-379.
- Asaoka, M., K. Okuno, K. Hara, M. Oba and H. Fuwa (1989) Effects of environmental temperature at the early developmental stage of seeds on the characteristics of endosperm starches of rice (*Oryza sativa* L.). *Denpun Kagaku* 36: 1-8.
- Bao, J. S., H. Corke and M. Sun (2006) Microsatellites, single nucleotide polymorphisms and a sequence tagged site in starch-synthesizing genes in relation to starch physicochemical properties in nonwaxy rice (*Oryza sativa* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 113: 1185-1196.
- Bligh, H. F. J., R. I. Till and C. A. Jones (1995) A microsatellite sequence closely linked to the *Waxy* gene of *Oryza sativa*. *Euphytica* 86: 83-85.
- 蛭谷武志・山本良孝・矢野昌裕・舟根政治 (2008) 染色体断片置換系統群を利用したイネの玄米外觀品質に関与する QTL の検出. *育種学研究* 10: 91-99.
- Fan, C. C., X. Q. Yu, Y. Z. Xing, C. G. Xu, L. J. Luo and Q. Zhang (2005) The main effects, epistatic effects and environmental interactions of QTLs on the cooking and eating quality of rice in a doubled-haploid line population. *Theoretical and Applied Genetics* 110: 1445-1452.
- 藤井潔・早野由里子・杉浦直樹・林長生・坂紀邦・遠山孝通・井澤敏彦・朱宮昭男 (1999) イネ縞葉枯病抵抗性品種が有する穂いもち抵抗性の遺伝子分析.

- 育種学研究 1: 203-210.
- 藤巻宏 (1995) 第 1 章第 1 節 2. コシヒカリの特徴. “コシヒカリ” 日本作物学会
北陸支部・北陸育種談話会(編) 農山漁村文化協会 東京 p. 2.
- 藤巻宏・櫛淵欽也 (1975) 炊飯米の光沢による食味選抜の可能性. 農業及び園芸
50: 253-257.
- 福井清美・小林陽 (1996) 食味官能検査. “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 p. 74-76.
- 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. *Theoretical and Applied
Genetics* 103: 185-190.
- Fukuoka, S., N. Saka, H. Koga, K. Ono, T. Shimizu, K. Ebana, N. Hayashi, A.
Takahashi, H. Hirochika, K. Okuno and M. Yano (2009) Loss of function of a
proline-containing protein confers durable disease resistance in rice. *Science*
325: 998-1001.
- 濱村邦夫 (1995) 第 2 章第 2 節 3. 早晩性・広域適応性. “コシヒカリ” 日本作
物学会北陸支部・北陸育種談話会(編) 農山漁村文化協会 東京 p. 72-76.
- Han, Y. P., M. L. Xu, C. J. Yan, X. L. Chen and M. H. Gu (2004) Effect of *wx* mutation
on starch physical-chemical properties in rice. *Chinese Journal of Rice Science*
18: 125-129.
- 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 F₂ population. *Genetics*
148: 479-494.
- He, P., S. G. Li, Q. Qian, Y. Q. Ma, J. Z. Li, W. M. Wang, Y. Chen and L. H. Zhu
(1999) Genetic analysis of rice grain quality. *Theoretical and Applied Genetics*
98: 502-508.
- 姫田正美 (1996) 近年における米の食味研究概観〔3〕 .食味と食味に関する理
化学的特性 8. 化学成分. 農業及び園芸 71: 567-570, 669-674.
- 堀野俊郎・岡本正弘 (1992) 玄米の窒素ならびにミネラル含量と米飯の食味との
統計的関連. 中国農業試験場研究報告 10: 1-15.
- 堀内久満・水野進・中川宣興・寺田和弘・富田桂・池田郁美・青木研一・見延敏
幸・田野井真・石川武之甫・福田忠夫 (1992) 水稻新品種八ナエチゼンの
育成経過と特性. 北陸作物学会報 27: 1-4.
- 堀内久満・富田桂・寺田和弘・田中勲・小林麻子・見延敏幸・古田秀雄・山本明

- 志・篠山治恵・池田郁美・田野井真・青木研一・鹿子嶋力・正木伸武・南忠員・杉本明夫 (2004) 水稲新品種「さきひかり」. 福井県農業試験場研究報告 41: 1-14.
- 星豊一・阿部聖一・石崎和彦・重山博信・小林和幸・平尾賢一・松井崇晃・東聡志・樋口恭子・田村隆夫ら (2002) 水稲早生新品種「こしいぶき」. 新潟県農業総合研究所研究報告 5: 21-33.
- 細井徳夫 (1981) 気象要因による水稲生育の変動性に関する研究 . 日本の主要水稲品種の感温性、感光性、基本栄養成長性と出穂日数の制御要因の地域的特徴. 育種学雑誌 31: 239-250.
- 伊田黎之輔・富田因則 (2008) 水稲コシヒカリ同質遺伝子品種ヒカリ新世紀の耐倒伏性. 日本作物学会紀事 77: 505-510.
- 飯田幸彦・横田国夫・桐原俊明・須賀立夫 (2002) 温室と高温年の圃場で栽培した水稲における玄米品質低下程度の比較. 日本作物学会紀事 71: 174-177.
- 今林惣一郎・浜地勇次・古野久美・西山篤・松江勇次・吉野稔・吉田智彦 (1995) 水稲新品種「夢つくし」の育成. 福岡県農業総合試験場研究報告 14: 1-10.
- 稲津脩 (1988) 北海道産米の食味向上による品質改善に関する研究. 北海道立農業試験場報告 66: 3-19.
- 井上健一 (1999) 水稲早生品種の登熟期間の物質生産と品質食味要因の関係の解析 . 粒重増加および窒素吸収と収量、品質食味要因の関係. 北陸作物学会報 34: 27-29.
- 井上正勝 (1996) 玄米外観品質. “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 p. 115-118.
- 石川浩司 (2004) 新潟県におけるイネいもち病防除対策としてのマルチラインの利用. 農業技術 59: 72-76.
- 石間紀男・平宏和・平春枝・御子柴穆・吉川誠次 (1974) 米の食味に及ぼす施肥および精米中のタンパク質含有率の影響. 食品総合研究所報告 9: 9-15.
- 石墨慶一郎 (1977) 北陸地方における水稲の早生・耐病・多収・良質品種育成に関する研究. 福井県農業試験場特別報告 7: 1-116.
- 岩田忠寿 (1995) 第1章第2節 1. コシヒカリの誕生と栽培面積の推移. “コシヒカリ” 日本作物学会北陸支部・北陸育種談話会(編) 農山漁村文化協会 東京 p. 12.
- 井澤敏彦・朱宮昭男・工藤悟・坂紀邦・加藤恭宏・杉浦直樹・藤井潔・遠山孝通・中嶋泰則・辻孝子・小島元・伊藤俊雄・濱田千裕 (2001) イネ縞葉枯病・穂いもち抵抗性を導入した水稲準同質遺伝子系統「あいちのかおり

- SBL」. 愛知県農業総合試験場研究報告 33: 33-40.
- Jiang, H, W. Dian and P. Wu (2003) Effect of high temperature on fine structure of amylopectin in rice endosperm by reducing the activity of the starch branching enzyme. *Phytochemistry* 63: 53-59.
- Juliano, B. O. (1971) A simplified assay for milled-rice amylose. *Cereal Science Today* 16: 334-340.
- 狩野佳代・田島眞 (2001) 各種食味米のマルトオリゴ糖組成. 実践女子大学生生活科学部紀要 38: 50-55.
- 重山博信・伊藤喜美子・阿部聖一・小林和幸・平尾賢一・松井崇晃・星豊一 (1999) 新潟県における水稲品種の品質・食味の向上. 第 16 報 水稲高温水かんがいによる高温登熟性の検定. 北陸作物学会報 34: 21-23.
- 片岡勝美 (1978) 米の蛋白質含有率の遺伝分析. 育種学雑誌 28: 263-268.
- 河津浩二・白石真貴男・佐野雅俊・大西健二 (1997) 大分県南部地域における早期水稲の食味実態. 日本作物学会九州支部会報 63: 18-20.
- 河津俊作・本間香貴・堀江武・白岩立彦 (2007) 近年の日本における稲作気象の変化とその水稲収量・外観品質への影響. 日本作物学会紀事 76: 423-432.
- 菊池治巳・木下俊郎 (1987) イネ胚乳澱粉のアミロース含量に関する遺伝学的研究. - 稲の交雑に関する研究 第 XCVI 報 -. 北海道大学農学部邦文紀要 15: 299-319.
- 小谷俊之・松村洋一・黒田晃 (2006) 出穂前後の遮光処理が水稲品種「ゆめみづほ」の収量および品質に及ぼす影響. 石川県農業試験場研究報告 27: 1-9.
- 古賀義昭・内山田博士・佐本四郎・石坂昇助・藤田米一・奥野員敏・上原泰樹・中川原捷洋・堀内久満・三浦清之・丸山清明・山田利明・八木忠之・森宏一 (1989) 水稲新品種「キヌヒカリ」の育成. 北陸農業試験場報告 30: 1-24.
- 小島洋一郎・蛭谷武志・金田宏・土肥正幸・石橋岳彦・木谷吉則・向野尚幸・山口琢也・表野元保・山本良孝 (2003) 水稲新系統「コシヒカリ富山 BL」の育成と有効活用 I. 「コシヒカリ富山 BL1 号~6 号」の育成. 富山県農業技術センター研究報告 20: 13-31.
- 小牧有三・太田久稔・福井清美・上原泰樹 (2000) 高温登熟条件の違いによる水稲品種の玄米品質の差異. 北陸作物学会報 35: 10-12.
- 今野周・今田孝弘・中山芳明・宮野斉・三浦浩・高取寛・早坂剛 (1991) 登熟期の環境要因及び生育条件が水稲の登熟、収量及び品質に及ぼす影響. 山形県立農業試験場研究報告 25: 7-22.
- 河野いづみ・竹内善信・島野公利・佐々木卓治・矢野昌裕 (2000) DNA マーカーによるイネ日本型品種間の多型検出頻度の比較. 育種学研究 2: 197-203.

- Kumar, I. and G S. Khush (1987) Genetic analysis of different amylose levels in rice. *Crop Science* 27: 1167-1172.
- Kuo, B. J., M. C. Hong and F. S. Thseng (2001) The relationship between the amylographic characteristics and eating quality of *japonica* rice in Taiwan. *Plant Production Science* 4: 112-117.
- Lander, E. S., P. Green, J. Abrahamson, A. Barlow, M. J. Daly, S. E. Lincoln and L. Newburg (1987) MAPMAKER: an interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations. *Genomics* 1: 174-181.
- Li, Z., J. Wan, J. Xia and M. Yano (2003a) Mapping of quantitative trait loci controlling physico-chemical properties of rice grains (*Oryza sativa* L.). *Breeding Science* 53: 209-215.
- Li, Z., J. Wan, J. Xia and H Zhai (2003b) Mapping quantitative trait loci underlying appearance quality of rice grains (*Oryza sativa* L.). *Acta Genetica Sinica* 30: 251-259.
- 松永和久・佐々木武彦・鈴木啓司 (1975) 水稻品種の品質改善に関する育種的研究. *日本作物学会東北支部会報* 17: 18-19.
- 松崎昭夫・高野哲夫・坂本晴一・久保山勉 (1992) 食味と穀粒成分および炊飯米のアミノ酸との関係. *日本作物学会紀事* 61: 561-567.
- McCouch, S. R., L. Teytelman, Y. Xu, K. B. Lobos, K. Clare, M. Walton, B. Fu, R. Maghirang, Z. Li and Y. Xing (2002) Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.) *DNA Research* 9: 199-207.
- Monna, L., N. Kitazawa, R. Yoshino, J. Suzuki, H. Masuda, Y. Maehara, M. Tani, M. Sato, S. Nasu and Y. Minobe (2002) Positional cloning of rice semidwarfing gene, *sd1*: rice “green revolution gene” encodes a mutant enzyme involved in gibberellin synthesis. *DNA Research* 9: 11-17.
- 森田敏 (2000) 高温が水稻の登熟に及ぼす影響 - 作期移動実験と標高の異なる地点へのポット移動実験による解析 - . *日本作物学会紀事* 69: 400-405.
- 森田敏 (2005) 水稻の登熟期の高温によって発生する白未熟粒、充実不足および粒重低下. *農業技術* 60: 442-446.
- 村井正之・遠藤雄士 (2006) ‘コシヒカリ’ に短稈性と早生性を導入した水稻新品種 ‘ヒカリッコ’ . *育種学研究* 8: 183-189.
- Murray, M. G. and W. F. Thompson (1980) Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Research* 8: 4321-4325.
- 永畠秀樹 (2007) 高温耐性品種育成における育種の現状と課題. “高温障害に強い

- イネ” 日本作物学会北陸支部・北陸育種談話会（編）養賢堂 東京 p. 20.
- 永畠秀樹・山元皓二（2005）温度勾配ビニルハウスを用いた水稲の高温登熟性の評価. 育種学研究 7: 95-101.
- 長戸一雄・江幡守衛・河野泰広（1961）米の品質からみた早期栽培に対する適応性の品種間差異. 日本作物学会紀事 29: 337-340.
- 長戸一雄・江幡守衛（1965）登熟期の高温が穎果の発育ならびに米質に及ぼす影響. 日本作物学会紀事 34: 59-66.
- 中川博視・田中大克・田野信博・永畠秀樹（2006）炭水化物供給能がイネの各種白未熟粒の発生に及ぼす影響. 北陸作物学会報 41: 32-34.
- 西村実・山内富士雄・大内邦夫・浜村邦夫（1985）北海道の最近の水稲品種及び系統の食味特性の評価. - 低温年及び高温年産米における理化学的特性と官能試験結果の対応 -. 北海道農業試験場研究報告 144: 77-89.
- 西村実・梶亮太・小川紹文（2000）水稲の玄米品質に関する登熟期高温ストレス耐性の品種間差異. 育種学研究 2: 17-22.
- 野中和弘・高木胖・松雪セツ子・横尾浩明・広田雄二・執行俊子・重富修・岸川英利・中村大四郎・金山拡・天本真登・吉富進（1991）水稲新品種「佐賀 1 号」の育成. 佐賀県農業試験場研究報告 27: 1-19.
- 農林水産省（2001）水稲うるち玄米に係る未熟粒の判定基準. “高温による水稲作への影響と今後の技術対策に関する資料集” <http://www.kanbou.maff.go.jp/www/gichou/>
- 農林水産省（2008）平成 20 年産水稲の品種別収穫量. “農林水産省統計情報” <http://www.maff.go.jp/j/tokei/sokuhou/suitou-hinsyubetu2008/index.html>
- Ohyanagi, H., T. Tanaka, H. Sasaki, Y. Shigemoto, K. Yamaguchi, T. Habara, Y. Fujii, B. A. Antonio, Y. Nagamura, T. Imanishi, K. Ikeo, T. Itoh, T. Gojobori and T. Sasaki (2006) The Rice Annotation Project Database (RAP-DB): hub for *Oryza sativa* ssp. *japonica* genome information. Nucleic Acids Research 34: D741-D744.
- 岡留博司（1996）糊化特性(アミログラフィー). “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 p.88-90.
- Okamoto, K., H. Hirasawa and T. Umemoto (2009) Screening and characterization of cultivar with M-type amylopectin in Japanese upland rice. Breeding Science 59: 179-186.
- Okuno, K., H. Fuwa and M. Yano (1983) A new mutant gene lowering amylose content in endosperm starch of rice, *Oryza sativa* L.. Japanese Journal of Breeding 33: 387-394.

- 表野元保・小島洋一郎・蛭谷武志・山口琢也・向野尚幸・山本良孝 (2003) 2001年の気象経過に基づく基白粒および背白粒の発生要因の解析. 北陸作物学会報 38: 15-17.
- 大里久美・浜地勇次・川村富輝・松江勇次 (1998) 良食味水稻品種における食味試験の精度. 日本作物学会紀事 67: 170-173.
- 斉藤正一・畠山俊彦・眞崎聡・福田兼四郎・加藤武光・佐々木力・山本寅雄 (1989) 水稻新品種「あきたこまち」の育成について. 秋田県農業試験場研究報告 29: 65-87.
- 坂井真・岡本正弘・田村克徳・梶亮太・溝淵律子・平林秀介・深浦壮一・西村実・八木忠之 (2007) 玄米品質に優れる暖地向き良食味水稻品種「にこまる」の育成について. 育種学研究 9: 67-73.
- 佐本四郎・金井大吉 (1975) イネの突然変異育種に関する研究. コシヒカリの強稈突然変異系統について. 育種学雑誌 25: 1-7.
- Sano, Y. (1984) Differential regulation of *waxy* gene expression in rice endosperm. Theoretical and Applied Genetics 68: 467-473.
- 佐々木康之・今井良衛・細川平太郎 (1983) 高温下で登熟する玄米品質の劣化防止技術. 新潟県農業試験場研究報告 33: 45-54.
- 佐々木武彦・阿部眞三・松永和久・岡本栄治・永野邦明・丹野耕一・千葉芳則・狩野篤・植松克彦 (1994) 水稻新品種「ひとめぼれ」について. 宮城県古川農業試験場研究報告 2: 1-17.
- 佐々木武彦・阿部眞三・松永和久・岡本栄治・永野邦明・丹野耕一・千葉芳則・狩野篤・植松克彦・滝沢浩幸・早坂浩志・涌井茂・黒田倫子・薄木茂樹・千葉文弥・宮野法近・佐々木都彦・遠藤貴司 (2002) ササニシキの多系品種「ササニシキ BL」について. 宮城県古川農業試験場研究報告 3: 1-35.
- 佐藤晨一・菊池栄一・櫻田博・中場勝・後藤清三・谷藤雄二・上林儀徳・黒木斌雄・大場伸一・佐野智義・中場理恵子・大淵光一 (1992) 水稻新品種「山形45号」の育成. 山形県立農業試験場研究報告 26: 1-17.
- Sato, H., Y. Suzuki, M. Sakai and T. Imbe (2002) Molecular characterization of *Wx-mq*, a novel mutant gene for low-amylose content in endosperm of rice (*Oryza sativa* L.). Breeding Science 52: 131-135.
- Shirasawa K., Y. Takeuchi, T. Ebitani and Y. Suzuki (2008) Identification of gene for rice (*Oryza sativa*) seed lipoxygenase-3 involved in the generation of stale flavor and development of SNP markers for lipoxygenase-3 deficiency. Breeding Science 58: 169-176.
- Suzuki, Y., Y. Hirano, Y. Sano, U. Matsukura, S. Kawasaki, M. Chono, S. Nakamura

- and H. Sato (2003) Isolation and characterization of a rice mutant with enhanced amylose content in endosperm derived from a low amylose variety "Snow pearl". Rice Genetics Newsletter 20: 65-66.
- 田畑美奈子・飯田幸彦・大澤良 (2005) 水稻の登熟期の高温条件下における背白米および基白米発生率の遺伝解析. 育種学研究 7: 9-15.
- Tabata, M., H. Hirabayashi, Y. Takeuchi, I. Ando, Y. Iida and R. Ohsawa (2007) Mapping of quantitative trait loci for the occurrence of white-back kernels associated with high temperatures during the ripening period of rice (*Oryza sativa* L.). Breeding Science 57: 47-52.
- 高野克己 (1997) 米の粘りとその評価法について. 食品加工技術 17: 218-224.
- Takeuchi Y., H. Hayasaka, B. Chiba, I. Tanaka, T. Shimano, M. Yamagishi, K. Nagano, S. Sasaki and M. Yano (2001) Mapping quantitative trait loci controlling cool-temperature tolerance at booting stage using doubled-haploid lines of temperate *japonica* rice cultivars. Breeding Science 51: 191-197.
- Takeuchi, Y., Y. Nonoue, T. Ebitani, K. Suzuki, N. Aoki, H. Sato, O. Ideta, H. Hirabayashi, M. Hirayama, H. Ohta, H. Nemoto, H. Kato, I. Ando, K. Ohtsubo, M. Yano and T. Imbe (2007) QTL detection for eating quality including glossiness, stickiness, taste and hardness of cooked rice. Breeding Science 57: 231-242.
- Takeuchi, Y., K. Hori, K. Suzuki, Y. Nonoue, Y. Takemoto-Kuno, H. Maeda, H. Sato, H. Hirabayashi, H. Ohta, T. Ishii, H. Kato, H. Nemoto, T. Imbe, K. Ohtsubo, M. Yano and I. Ando (2008) Major QTLs for eating quality of an elite Japanese rice cultivar, Koshihikari, on the short arm of chromosome 3 Breeding Science 58: 437-445.
- Tamaki, M., M. Ebata, T. Tashiro and M. Ishikawa (1989) Physico-ecological studies on quality formation of rice kernel. Japanese Journal of Crop Science 58: 695-703.
- Tan, Y. F., J. X. Li, S. B. Yu, Y. Z. Xing, C. G. Xu and Q. Zhang (1999) The three important traits for cooking and eating quality of rice grains are controlled by a single locus in an elite rice hybrid, Shanyou 63. Theoretical and Applied Genetics 99: 642-648.
- Tanaka, T., B. A. Antonio, S. Kikuchi, T. Matsumoto, Y. Nagamura, H. Numa, H. Sakai, J. Wu, T. Itoh, T. Sasaki, R. Aono, Y. Fujii, T. Habara, E. Harada, M. Kanno, Y. Kawahara, H. Kawashima, H. Kubooka, A. Matsuya, H. Nakaoka, N. Saichi, R. Sanbonmatsu, Y. Sato, Y. Shinso, M. Suzuki, J. Takeda, M. Tanino, F.

- Todokoro, K. Yamaguchi, N. Yamamoto, C. Yamasaki, T. Imanishi, T. Okido, M. Tada, K. Ikeo, Y. Tateno, T. Gojobori, Y. C. Lin, F. J. Wei, Y. Hsing, Q. Zhao, B. Han, M. R. Kramer, R. W. McCombie, D. Lonsdale, C. C. O'Donovan, E. J. Whitfield, R. Apweiler, K. O. Koyanagi, J. P. Khurana, S. Raghuvanshi, N. K. Singh, A. K. Tyagi, G. Haberer, M. Fujisawa, S. Hosokawa, Y. Ito, H. Ikawa, M. Shibata, M. Yamamoto, R. M. Bruskiewich, D. R. Hoen, T. E. Bureau, N. Namiki, H. Ohyanagi, Y. Sakai, S. Nobushima, K. Sakata, R. A. Barrero, Y. Sato, A. Souvorov, B. Smith-White, T. Tatusova, S. An, G. An, S. Oota, G. Fuks, J. Messing, K. R. Christie, D. Lieberherr, H. Kim, A. Zuccolo, R. A. Wing, K. Nobuta, P. J. Green, C. Lu, B. C. Meyers, C. Chaparro, B. Piegu, O. Panaud and M. Echeverria (2007) The Rice Annotation Project Database (RAP-DB): 2008 update. *Nucleic Acids Research* 36: D1028-D1033.
- Temnykh, S., G. DeClerck, A. Lukashova, L. Lipovich, S. Cartinhour and S. McCouch (2001) Computational and experimental analysis of microsatellites in rice (*Oryza sativa* L.): frequency, length variation, transposon associations, and genetic marker potential. *Genome Research* 11: 1441-1452.
- 寺島一男・齋藤祐幸・酒井長雄・渡部富男・尾形武文・秋田重誠 (2001) 1999 年の夏期高温が水稻の登熟と米品質に及ぼした影響. *日本作物学会紀事* 70: 449-458.
- Terashima, T., S. Fukuoka, N. Saka, S. Kudo (2008) Mapping of a blast field resistance gene *Pi39(t)* of elite rice strain Chubu 111. *Plant Breeding* 127: 485-489.
- 富田桂・堀内久満・寺田和弘・田野井真・小林麻子・田中勲・見延敏幸・古田秀雄・山本明志・篠山治恵・池田郁美・青木研一・正木伸武・南忠員・杉本明夫・鹿子嶋力 (2005a) 水稻新品種「イクヒカリ」. *福井県農業試験場研究報告* 42: 1-15.
- 富田桂・堀内久満・寺田和弘・田野井真・小林麻子・田中勲・見延敏幸・古田秀雄・山本明志・鹿子嶋力・正木伸武・南忠員・杉本明夫 (2005b) 水稻新品種「コシヒカリ BL1 号」. *福井県農業試験場研究報告* 42: 16-28.
- 富田桂・堀内久満・小林麻子・田中勲・田野井真・古田秀雄・見延敏幸・寺田和弘・山本明志・神田謹爾・杉本明夫・鹿子嶋力・堀内謙一 (2009) 水稻新品種「あきさかり」. *福井県農業試験場研究報告* 46: 1-21.
- 坪根正雄・尾形武文・和田卓也 (2008) 登熟期間中の温水処理による高温登熟性に優れる水稻品種の選抜方法. *日本作物学会九州支部会報* 74: 21-23.
- 上原泰樹 (1995a) 第 2 章第 2 節 6. 耐冷性. “コシヒカリ” *日本作物学会北陸支部・北陸育種談話会(編) 農山漁村文化協会 東京 p. 80-82.*

- 上原泰樹 (1995b) 第 2 章第 2 節 7. 穂発芽性とその他の障害抵抗性. “コシヒカリ” 日本作物学会北陸支部・北陸育種談話会(編) 農山漁村文化協会 東京 p. 82.
- Umemoto T., N Aoki and T. Ebitani (2003) Naturally occurring variations in starch shynthase isoforms in rice endosperm. *Journal of Applied Glycoscience* 50: 213-216.
- 和田卓也・大里久美・濱地勇次 (2002) 暖地における 1999 年の登熟期間中の高温寡照条件が米の食味と理化学的特性に及ぼした影響. *日本作物学会紀事* 71:349-354.
- 和田卓也・坪根正雄・濱地勇次・尾形武文 (2006) 水稻の極良食味品種選抜のための指標形質となる理化学的特性の検証. *日本作物学会紀事* 75: 38-43.
- Wada, T., T. Ogata, M. Tsubone, Y. Uchimura and Y. Matsue (2008) Mapping of QTLs for eating quality and physicochemical properties of the *japonica* rice ‘Koshihikari’. *Breeding Science* 58: 427-435.
- 若松謙一・佐々木修・上園一郎・田中明男 (2007) 暖地水稻の登熟期間の高温が玄米品質に及ぼす影響. *日本作物学会紀事* 76: 71-78.
- 若松謙一・佐々木修・上園一郎・田中明男 (2008) 水稻登熟期の高温条件下における背白米の発生に及ぼす窒素施肥量の影響. *日本作物学会紀事* 77: 424-433.
- Wan, X. Y., J. M. Wan, C. C. Su, C. M. Wang, W. B. Shen, J. M. Li, H. L. Wang, L. Jiang, S. J. Liu, L. M. Chen, H. Yasui and A. Yoshimura (2004) QTL detection for eating quality of cooked rice in a population of chromosome segment substitution lines. *Theoretical and Applied Genetics* 110: 71-79.
- Wang S., C. J. Basten, and Z. B. Zeng (2004). Windows QTL Cartographer 2.0. Department of Statistics, North Carolina State University, Raleigh, NC. <http://statgen.ncsu.edu/qtlcart/WQTLCart.htm>
- Wang S., C. J. Basten, and Z. B. Zeng (2007). Windows QTL Cartographer 2.5. Department of Statistics, North Carolina State University, Raleigh, NC. <http://statgen.ncsu.edu/qtlcart/WQTLCart.htm>
- 渡部富男 (1999) 水稻品種「ふさおとめ」の育成と栽培・普及について. *日本作物学会関東支部会報* 14: 7-10.
- Xu, C. G., S. B. Yu, Q. Zhang, J. X. Li, Y. Z. Xing and Y. F. Tan (2000) Genetic bases of appearance quality of rice grains in Shanyou 63, an elite rice hybrid. *Theoretical and Applied Genetics* 101: 823-829.
- 八木忠之・西山壽・小八重雅裕・轟篤・日高秀光・黒木雄幸・吉田浩一・愛甲一

- 郎・本部裕朗 (1990) 水稻新品種「ヒノヒカリ」について. 宮崎県総合農業試験場研究報告 25: 1-30.
- Yamagishi, M., M. Yano, Y. Fukuta, K. Fukui, M. Otani and T. Shimada (1996) Distorted segregation of RFLP markers in regenerated plants derived from anther culture of an F₁ hybrid of rice. *Genes & Genetic Systems* 71: 37-41.
- Yamagishi, M., Y. Takeuchi, I. Kono and M. Yano (2002) QTL analysis for panicle characteristics in temperate *japonica* rice. *Euphytica* 128: 219-224.
- 山口琢也・小島洋一郎・蛭谷武志・金田宏・木谷吉則・土肥正幸・石橋岳彦・向野尚幸・表野元保・宝田研・山本良孝 (2006) 高温登熟性に優れた水稻早生新品種「てんたかく」の育成. 富山県農業技術センター研究報告 23: 29-44.
- Yamakawa, H., T. Hirose, M. Kuroda and T. Yamaguchi (2007) Comprehensive expression profiling of rice grain filling-related genes under high temperature using DNA microarray. *Plant Physiology* 144: 258-277.
- Yamamoto, T. and M. Yano (2008) Detection and molecular cloning of genes underlying quantitative phenotypic variations in rice. *In: Hirano H. Y., A. Hirai, Y. Sano and T. Sasaki (eds.) Rice Biology in the Genomics Era, Springer, Heidelberg, pp. 295-308.*
- 山本良孝・小川紹文 (1992) わが国のイネ栽培品種における食味官能試験結果 - 一事例 - . 育種学雑誌 42: 177-183.
- Yano, M. and T. Sasaki (1997) Genetic and molecular dissection of quantitative traits in rice. *Plant Molecular Biology* 35: 145-153.
- Yano, M., K. Okuno, H. Satoh and T. Omura (1988) Chromosomal location of genes conditioning low amylose content of endosperm starches in rice, *Oryza sativa* L. *Theoretical and Applied Genetics* 76: 183-189.
- Yano, M., G. S. Khush, D. S. Brar and B. Hardy (2001) Naturally occurring allelic variations as a new resource for functional genomics in rice. *Rice Genetics IV Proceedings: 227-238.*