茨　城　農　総　セ
生　工　研　研　報
Bull. Ibaraki
Plant Biotech. Inst.
No. 13 2013

ISSN 1341-2809

BULLETIN
OF THE
PLANT BIOTECHNOLOGY INSTITUTE
IBARAKI AGRICULTURAL CENTER

NO. 13
March 2013

茨城県農業総合センター
生物工学研究所研究報告

第 13 号

平成25年3月

茨城県農業総合センター
生　物　工　学　研　究　所
笠間市安居3165－1
Ago, Kasama, Ibaraki, 319－0292, Japan

目　　次

報　文

半促成メロン（*Cucumis melo* L.）栽培における *Cucumis* 属野生種台木の実用性 ……………………………1
松本雄一・宮城慎

水稲の登熟期の高温条件下における背白米および基白米の発生に関する遺伝解析 ……………………………5
田畑美奈子

茨城農総セ生工研研報 13：1～4 (2013)
Bull. Ibaraki Plant Biotech. Inst. 13: 1 ～4 (2013)

半促成メロン(*Cucumis melo* L.)栽培における*Cucumis*属野生種台木の実用性

松本雄一・宮城慎[1)]

[1)] 茨城県農林水産部産地振興課 〒310-8555 水戸市笠原町 978-6

要　約

メロンつる割病レース 1,2 y に対して真性抵抗性を有する *Cucumis* 属野生種が，ネット系メロンの半促成栽培において，台木として利用可能であるかを確認するため，生育や収量，果実品質への影響についてメロン，カボチャ台木と比較した．その結果，ニシインドコキュウリ（*C. anguria*）およびツノメロン（*C. metuliferus*）台木では，メロンおよびカボチャ台木よりも草丈，葉長，葉幅および展開葉数が低く，到花日数が長くなった．重量およびネット密度は，メロン台木とは差が認められなかった．可溶性固形物含有率（糖度）は，メロンおよびカボチャ台木と比べてニシインドコキュウリ台木では高くなったが，ツノメロンでは低くなった．硬度は，メロンおよびカボチャ台木よりも高くなった．食味は，カボチャ台木と同等で，メロン台木よりも劣った．これらの結果より，ネット系メロンの半促成栽培では，ニシインドコキュウリおよびツノメロンの台木としての利用は困難であると考えられた．

キーワード：メロン，*Cucumis* 属野生種，接木，台木，果実品質

I　緒　言

メロンつる割病は *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* によって引き起こされる土壌病害であり，メロン（*Cucumis melo* L.）栽培における重要病害のひとつである．メロンつる割病菌はレース 0，1，2 および 1,2 の 4 レースが報告されている（Risser *et al.* 1976）．このうちレース 0，1 および 2 に対しては，真性抵抗性の台木品種や自根品種の育成が行なわれている（Oumouloud *et al.* 2008, Tezuka *et al.* 2011）しかし，レース 1，2 に対しては，圃場抵抗性系統を用いた台木品種の育成に留まっている（中住ら 2007）．圃場抵抗性台木品種は，高い菌密度条件下においては罹病するため（八木ら 2004），安定生産のためには真性抵抗性を有する台木品種が必要である．近年，*Cucumis* 属野生種内にはメロンつる割病レース 1,2 に対する真性抵抗性を有する種が報告されており（Matsumoto *et al.* 2011），メロンつる割病抵抗性台木としての利用が期待される．

しかしながら，これまで *Cucumis* 属野生種を台木としたメロン接木栽培におけるメロンの生育，収量，果実品質については，わずかな報告があるのみであり（五十嵐ら 1987，金子ら 2009），市販のメロン台木品種との比較や，茨城県の主力作型である半促成栽培での調査は行われていなかった．

そこで，半促成作型における *Cucumis* 属野生種のメロン台木としての実用性を確認するため，*Cucumis* 属野生種，メロンおよびカボチャを台木としたメロン接木栽培において，生育や収量，果実品質を比較した．

II　材料および方法

1．供試材料

台木として *Cucumis* 属野生種 2 種 3 系統｛ニシイン

ドコキュウリ（*C. anguria* L.）PI 147065 および PI 320052，ツノメロン（*C. metuliferus* E. Mey. ex Naud.）PI 526242｝，メロン台木品種 'FR-2' および 'タイトガード'，メロン栽培品種'オトメ'，カボチャ台木品種 '新土佐'（*Cucurbita maxima* Duch. × *Cucurbita moschata* Duch.）を供試した．穂木にはネット系メロン栽培品種 'オトメ' を供試した．

2．耕種概要

台木種子のうち，ニシインドコキュウリおよびツノメロンについては 2010 年 2 月 17 日に，メロンおよびカボチャについては 2 月 22 日に播種を行った．その後，2 月 24 日に穂木とする栽培品種の播種を行ない，3 月 5 日に呼び接ぎ（Davis *et al.* 2008）により接木を行なった．その後，10.5 cmポットに鉢上げし，3 月 29 日に茨城県農業総合センター生物工学研究所（茨城県笠間市）のアクリルハウス内に畝間 120 cm，株間 35 cmで定植した．施肥については 1.2 kg-N/a，1.8 kg-P_2O_5/a，1.2 kg-K_2O/a を耕起前に全面施用し，白黒ダブルマルチフィルムで被覆した．各系統 10 株ずつ供試し，親づる 1 本仕立て 1 果収穫の立体栽培を行った．

3．生育調査

定植 30 日後に，草丈，葉長，葉幅，展開葉数を測定した．草丈は地際部から茎頂までの長さとし，葉長，葉幅は第 10 節の葉を調査した．第 13 節第 1 雌花の開花日を調査し，定植からの到花日数とした．

4．果実調査

受粉約 60 日後に収穫し，25℃で 5 日間追熟した果実を調査に供試した．供試果実は重量を測定後半分に切断し，果実硬度および糖度を測定した．果実硬度は，直径 12 mmの円錐型プランジャを装着した果実硬度計（ユニバーサル果実硬度計，木屋）を用い，縦方向に切断した果実の果肉中央部の貫入抵抗値を測定した．糖度は果実赤道面の果肉中壁部について果実糖度計（ATC-1 E，アタゴ）を用いて測定した．食味は女性 5 名，男性 1 名の官能評価により 0（悪）から 4（良）の 5 段階で評価し，外観はネットの密度について 0（粗）から 4（密）の 5 段階で評価した．

Ⅲ 結　果

草丈，葉長，葉幅，展開葉数は，ニシインドコキュウリおよびツノメロン台木ではメロンまたはカボチャ台木栽培よりも低い値となった．到花日数は *Cucumis* 属野生種台木では 38.3〜40.5 日と，メロン台木の 33.2〜35.8 日およびカボチャ台木の 36.3 日と比べて長くなった（表 1）．

果実重はニシインドコキュウリおよびツノメロン台木ではカボチャ台木よりも小さくなったが，メロン台木とは差がなかった．ネットはツノメロン台木ではカボチャ台木よりも粗くなったが，ニシインドコキュウリ台木はメロンおよびカボチャ台木とは差がなかった．糖度は，ニシインドコキュウリ台木で 16.0 %および 17.0 %とメロンおよびカボチャ台木よりも高くなったが，ツノメロン台木では 12.2%と低くなった．果実硬度は，ニシインドコキュウリ台木で 1.1 kg およ

表 1　穂木メロンの生育に対する台木系統の影響

台木品種・系統（品目）	草　丈[z] (cm)	葉　長[y] (cm)	葉　幅[y] (cm)	展開葉数[z]	到花日数[x]
PI 147065 （ニシインドコキュウリ）	73.2 d	9.9 b	13.7 b	16.7 c	38.3 b
PI 320052 （ニシインドコキュウリ）	55.5 e	7.2 c	9.6 c	14.1 d	40.5 a
PI 526242 （ツノメロン）	81.6 d	10.5 b	14.2 b	16.7 c	39.2 ab
タイトガード (メロン)	127.0 bc	13.7 a	19.3 a	22.6 ab	33.8 de
FR 2 （メロン）	144.5 a	14.5 a	19.9 a	24.7 a	33.2 e
オトメ （メロン）	118.1 c	14.0 a	19.1 a	21.5 b	35.8 cd
新土佐 （カボチャ）	136.3 ab	15.4 a	21.2 a	21.2 b	36.3 bc

平均値 (n = 10).
同一英文字間には有意差なし（Tukey の HSD 検定による　$P < 0.05$).
z　定植 30 日後に測定.
y　第 10 節目の葉を測定.
x　定植後から第 13 節第 1 雌花の開花までの日数.

び1.2 kgと，メロンおよびカボチャ台木よりも高くなった．食味は，ニシインドコキュウリおよびツノメロン台木では1.8～2.2となり，カボチャ台木とは差がなかったものの，メロン台木の3.4～3.6と比べて低くなった（表2）．なおメロン品種（タイトガード，FR-2，オトメ）を台木に用いた場合は，果実品質においてこれらの品種間に差はなかった（表2）．

Ⅳ 考　察

五十嵐ら（1987）は，*Cucumis*属野生種を台木としたネット系メロンの普通作型および抑制作型においてニシインドコキュウリ台木はカボチャ台木と比較して草勢，果実重，糖度が低下するものの，ツノメロン台木はカボチャ台木と比較して草勢，果実重，糖度が同等ないし上回り，台木として利用可能と報告している．また，金子ら（2009）は，アールス系メロンの抑制作型においてニシインドコキュウリ台木はメロン台木と比較して果実重が低下し，糖度が増加すること，ツノメロン台木ではメロン台木と比較して果実重，糖度ともに低下することを報告している．

本研究では茨城県の主力作型であるネット系メロンの半促成栽培において*Cucumis*属野生種台木の影響を調査し，メロンおよびカボチャ台木と比較を行った．その結果，ニシインドコキュウリ台木の果実重はメロン台木と差がなく，また，糖度は増加したものの（表2），果実硬度が増加し，食味はカボチャ台木と同等で，メロン台木よりも劣っていた（表2）．また，ツノメロン台木は草勢，糖度および食味がカボチャおよびメロン台木よりも下回った（表1，2）．

この結果をこれまでの報告と比較すると，ニシインドコキュウリ台木の糖度では五十嵐ら（1987）の結果と異なり，金子ら（2009）と同様メロン台木よりも増加したが，果実重は五十嵐ら（1987），金子ら（2009）の低下したとする結果と異なり，メロン台木との差はなかった．また，ツノメロン台木の糖度では五十嵐ら（1987）の増加したとする結果と異なり，金子ら（2009）の結果と同様メロン台木よりも低下した．果実重は金子ら（2009）の低下したとする結果と異なり，五十嵐ら（1987）の結果と同様メロン台木と同等であった．これらの研究間では作型や台木および穂木系統が異なること，また施肥体系などの栽培概要も異なっており，そのため果実重や糖度などの形質に差異が見られたと考えられる．実際，本研究においてもニシインドコキュウリの2系統間で生育が異なっていた（表1）．

以上のことから，ネット系メロンの半促成栽培においてニシインドコキュウリおよびツノメロンの本系統をメロン台木として利用することは，果実硬度が高く食感が悪いこと，糖度が示すほど食味が良くないことや，草丈や展開葉数が劣るなどメロンの商用栽培を行うためには難点があり，実用化は困難と判断した．一方，*Cucumis*属野生種にはこれまで供試された種，系統以外にも多くの種や系統が見出されており，今後は他の種や系統を用いた比較栽培や，栽培方法についても台木の吸肥特性等を明らかにした上での肥培管理等の改良が必要であると考えられる．

表2　穂木メロンの果実重及び果実品質に対する台木系統の影響

台木品種・系統（品目）	果実重 (g)	ネット密度[z]	糖　度 (Brix %)	果実硬度[y] (kg)	食　味[x]
PI 147065 （ニシインドコキュウリ）	945.4 b	2.7 ab	16.0 ab	1.1 ab	1.9 b
PI 320052 （ニシインドコキュウリ）	845.6 b	2.8 ab	17.0 a	1.2 a	1.8 b
PI 526242 （ツノメロン）	1052.0 b	2.5 b	12.2 d	0.9 bc	2.2 b
タイトガード（メロン）	942.6 b	2.8 ab	15.4 abc	0.7 cd	3.6 a
FR 2 （メロン）	1034.8 b	2.8 ab	14.4 bcd	0.7 cd	3.4 a
オトメ （メロン）	1127.8 b	3.0 ab	14.5 abc	0.8 cd	3.4 a
新土佐 （カボチャ）	1621.5 a	3.5 a	13.5 cd	0.6 d	2.5 b

平均値 (n = 10).
同一英文字間には有意差なし（TukeyのHSD検定による $P < 0.05$).
z 5段階評価: 0 = 粗, 2 = 中, 4 = 密.
y 果実硬度計, 円錐形Φ12 mm プランジャーの貫入抵抗値.
x 5段階評価: 0 = 不良, 2 = 並, 4 = 良.

引用文献

Davis, A. R., P. Perkins-Veazie, Y. Sakata, S. L´opez-Galarza, J. V. Maroto, S. G. Lee, Y. C. Huh, Z. Sun, A. Miguel, S. R. King, R. Cohen and J. M. Lee (2008) Cucurbit Grafting. Crit. Rev. Plant Sci. 27：50-74

五十嵐勇・菅野紹雄・川出武夫 (1987) *Cucumis* 属近縁野生種数種の病害抵抗性と台木利用，野菜・茶業試験場研究報告 A 1：173-185

金子賢一・小河原孝司・松本雄一・高津康正 (2009) メロン近縁野生種を台木に用いた抑制メロンの生育，収量および果実品質. 園学研 8 (1)：192

Matsumoto, Y., T. Ogawara, M. Miyagi, N. Watanabe and T. Kuboyama (2011) Response of wild *Cucumis* species to inoculation with *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* race 1,2 y. J. Jpn. Soc. Hort. Sci. 80：414-419

中住晴彦・平井　剛・中野雅章 (2007) メロンつる割病菌（*Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*）レース 1,2 y 抵抗性台木品種の育成. 園学研 6：15-19

Oumouloud, A., M. S. Arnedo-Andres, R. Gonzalez-Torres, J. M. Alvarez (2008) Development of molecular markers linked to the *Fom-1* locus for resistance to Fusarium race 2 in melon. Euphytica 164：347-356

Risser, G., Z. Banihashemi and D. W. Davis (1976) A proposed nomenclature of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* races and resistance genes in *Cucumis melo*. Phytopathology 66：1105-1106

Tezuka, T., K. Waki, M. Kuzuya, T. Ishikawa, Y. Takatsu, M. Miyagi (2011) Development of new DNA markers linked to the Fusarium wilt resistance locus *Fom-1* in melon. Plant Breed. 130：261-267

八木亮治・小松　勉・平井　剛・中住晴彦 (2004) 抵抗性台木品種によるメロンつる割病レース 1,2 y 対策. 野菜茶業研究集報 1：55-60

Practicality of the Wild Cucumis spp. as a Rootstock of Melon (*Cucumis melo* L.) in Semi-Forcing Culture

Yuichi Matsumoto and Makoto Miyagi[1)]

Plant Biotechnology Institute, Ibaraki Agricultural Center, Ago, Kasama, Ibaraki, 319-0292, Japan
[1)]Department of Agriculture Forestry and Fisheries, Ibaraki Prefectural Government, Kasahara, Mito, Ibaraki, 310-8555, Japan

Summary

In order to reveal the practicality of wild *Cucumis* species which have true resistance to Fusarium wilt of melon race 1,2 y as the rootstocks for melon grafting cultivation in semi-forcing culture, a melon scion cultivar was grafted to wild *Cucumis* species, *C. anguria* and *C. metuliferus*, and melon rootstock cultivars and pumpkin rootstock cultivar. In the plant height, leaf length, leaf width, and number of the expanded leaf, the melon grafted onto wild *Cucumis* species were lower than the melon grafted onto melon or pumpkin. In the fruit weight and the netting density scale, significant difference was not observed between the melon grafted onto melon and the melon grafted onto wild *Cucumis* species. On the other hand, in the total soluble solids (TSS) content and fruit firmness, significant difference was observed. On the *C. anguria*, although high values were observed in the TSS content, the eating acceptability was bad because fruit firmness was high. Similarly, on the *C. metuliferus*, although fruit firmness was not so high, the eating acceptability of was bad because the TSS content was low. Thus, we concluded that using *C. anguria* and *C. metuliferus* as rootstock for melon grafting cultivation in semi-forcing culture under the present method and conditions is difficult.

Key Words：melon, *Cucumis* spp., grafting, rootstock, fruit quality

茨城農総合セ 生工研研報 13：5～45（2013）
Bull. Ibaraki Plant Bitech. Inst. 13：5～45（2013）

水稲の登熟期の高温条件下における背白米および基白米の発生に関する遺伝解析

田畑　美奈子

茨城県農業総合センター生物工学研究所　〒319-0292　茨城県笠間市安居 3165-1

目　次

第 1 章　緒言
第 2 章　ガラス温室を用いた高温登熟条件下における背白米および基白米発生率の品種間比較
第 3 章　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に関する統計遺伝学的解析
第 4 章　登熟期の高温条件下における背白米発生率に関与する QTL 解析
　第 1 節　高温条件下における背白米発生率に関与する QTL 解析
　第 2 節　登熟期の高温による背白米発生に関与する QTL の効果の検証
　第 3 節　登熟期の高温による背白米発生の耐性に関する系譜図に基づく解析
　第 4 節　ＱＴＬ解析のまとめ
第 5 章　総合考察
摘要
謝辞
引用文献
Summary

第 1 章　緒　言

1．日本の稲作をとりまく現状と地球温暖化による稲作への影響

我が国の主要作物である米は，公正かつ効率的な取引を行うための規格取引の根拠として農産物検査を受ける．生産者が収穫後，乾燥調整，籾摺りして集荷した米は，農産物検査員により白未熟粒，変色米，斑点米の割合，異物混入，水分等が検査され，品質が良好な玄米は一等米，品質が不良な玄米はその程度により二等米以下に各付けされるシステムになっている（農産物検査法，玄米及び精米品質表示基準）．背白米，基白米および乳白米などの白未熟粒の多発による玄米品質の低下は，米の農産物検査において等級格下げに直結し取引価格に反映するため，生産農家の収入に直接影響を与える．

水稲は登熟期に高温に遭遇すると背白米，基白米および乳白米が多発し（図 1-1），玄米の外観品質が著しく低下する（長戸・江幡 1965，Tashiro and Wardlaw

完全米　　背白米　　背・基白米　　基白米　　乳白米

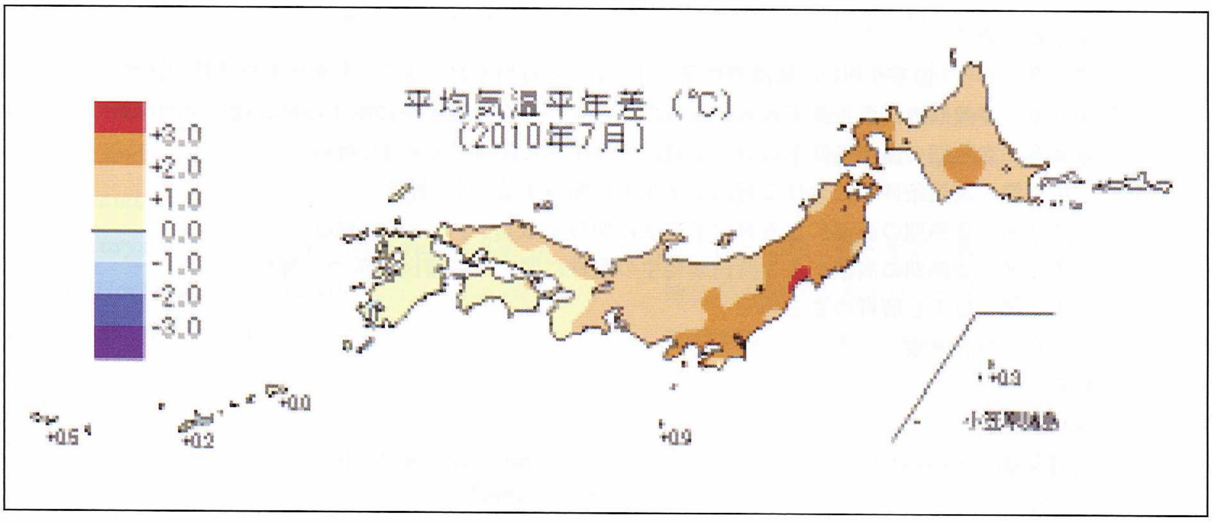
図１－１　完全米および登熟期の高温による不完全米の種類

1991，寺島ら 2001，松村 2005，若松ら 2007）．

近年，夏期の気温の上昇により，水稲玄米にこれらの白未熟粒が多発する高温登熟障害が多くの地域で発生している(農林水産省 2006)．白未熟粒の多発による玄米品質の低下は一等米比率を低下させ，米生産農家の収入に直接影響を与えるだけでなく，産地のイメージ低下を招くことも懸念され，国内の多くの米生産現場において深刻な問題となっている．

特に，2010 年は全国的に夏期が高温となり，気象庁の報告によれば，8 月の平均気温は，多くの地域で平年に比べて 2℃以上高く推移した（図 1-2）．その結果，白未熟粒が多発する高温障害が多くの地域で発生し，農林水産省の報告によれば，2010 年産米の国内の一等米比率は 11 月末時点で 62.4%であった（平成 22 年 12 月 20 日公表）．前年の平成 21 年産米の一等米比率が 85.1 %であったことをみても，2010 年は等級を落とした産地が多くみられ，一等米比率は，北海道で 88.8%，東北地域で 74.0%，関東地域で 75.5%であったが，北陸，中国，

a）2010 年 7 月



b）2010 年 8 月

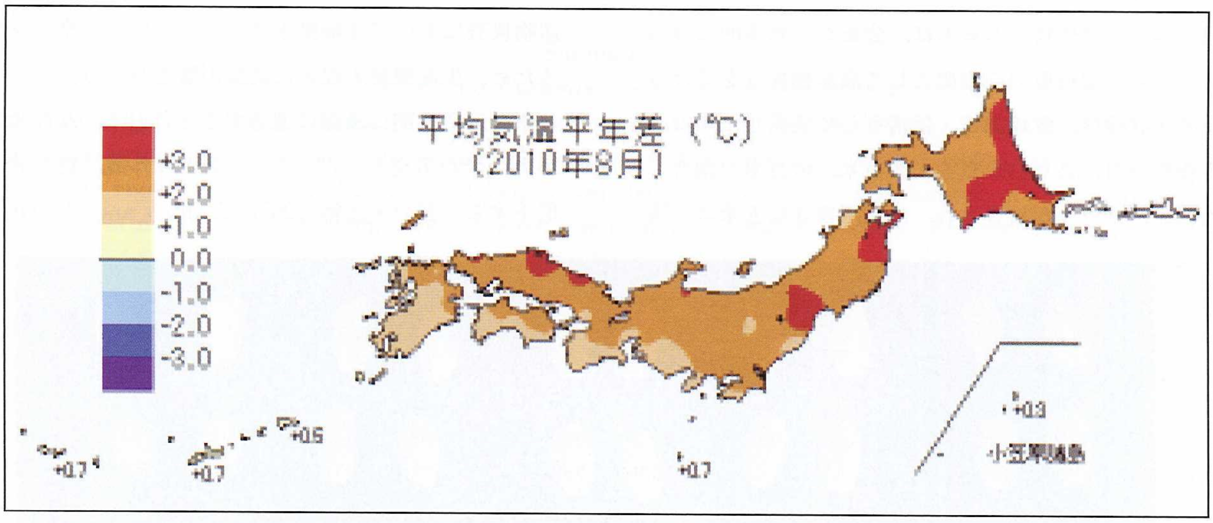


図 1 － 2　2010年全国の平均気温平年差（気象庁）

東海，近畿，九州地域では 50%を下回った(図 1-3)．中でも 15 の県で一等米比率が 30%を下回り，多くの産地が打撃を受けた．また，国内の二等以下に各付けされた理由の 44.3%は白未熟粒の多発であった．

茨城県の 2009 年の農業産出額は 4,082 億円で，北海道に次いで全国第 2 位であり，首都圏への重要な食料供給基地の位置付けにあるが，内訳は米が最も多く 21%を占め，米の作付面積は 77,400 ha で全国第 5 位，生産量は 41.6 万 t で全国第 6 位である．本県では，中生品種の「コシヒカリ」が県内の作付けの約 80%を占め，新潟県に次いで全国第 2 位の生産量であり，次いで，早生品種の「あきたこまち」が県南地域の早場米地帯を中心に 10%程度作付けされ，関東でも早期に収穫・出荷される重要な品種となっている．

茨城県水戸市の夏期の平均気温の推移をみると，1994 年～2010 年の平均は，特に 7 月 1 日～8 月 10 日までの

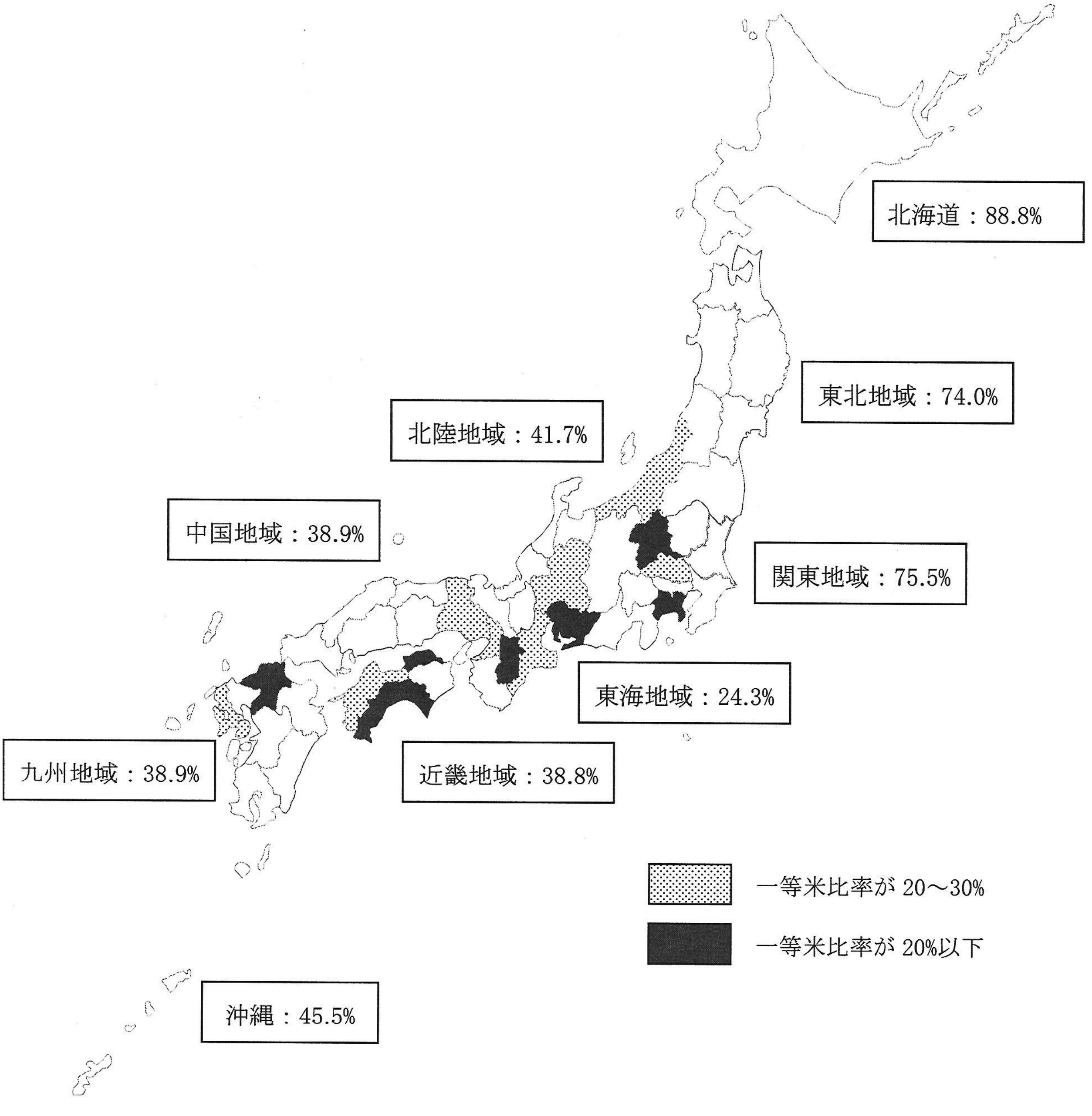


図 1-3　国内の 2010 年産米（水稲うるち米）における一等米比率

（2010 年 12 月 20 日　農林水産省公表）

間が1980年～1990年に比べて1℃～3.9℃高く推移し，夏期の気温が年々上昇傾向にあることが判る（図1-4）．また，茨城県における水稲栽培では，主として田植えが4月下旬～5月上旬に行われるため，主力品種である中生熟期の「コシヒカリ」の出穂期は7月下旬から8月上旬，早生熟期の「あきたこまち」の出穂期は7月中下旬となり，登熟前半が真夏の高温期に遭遇し，高温障害が発生しやすい栽培体系となっている（表1-1，図1-4）．事実，高温年であった1989年と2002年には登熟期の高温による乳白米などの多発で玄米品質が著しく低下し，県産米の一等米比率が大幅に低下した．同じく登熟期が高温で経過した1994年には茨城県で育成中の系統の多くに背白米が多発し，玄米品質の低下を招いた（飯田ら 1997）．

近年の気象の変動を見ると1990年以降は高温年が多く，今後も温暖化は進行すると予想され(IPCC 2007)，その対策として，高温障害を軽減または回避する栽培技術の改良，高温下でも玄米品質が低下しない高温耐性品種の育成による高温障害回避技術および耐性品種の生産現場への普及は喫緊の課題である．

水稲の登熟期の高温による背白米，基白米および乳白米の発生程度には品種間差異があるとされ(長戸ら 1961，長戸・江幡 1965，飯田ら 2002，石崎 2006)，高温下でもこれらの発生が少なく玄米品質が低下しにくい高温耐性品種の育成は可能であると考えられる．

本研究では，水稲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に関する遺伝解析を試み，高温耐性品種の育成について考察した．なお本研究では，日平均気温が27.0℃～28.5℃の温度域における玄米の品質に関

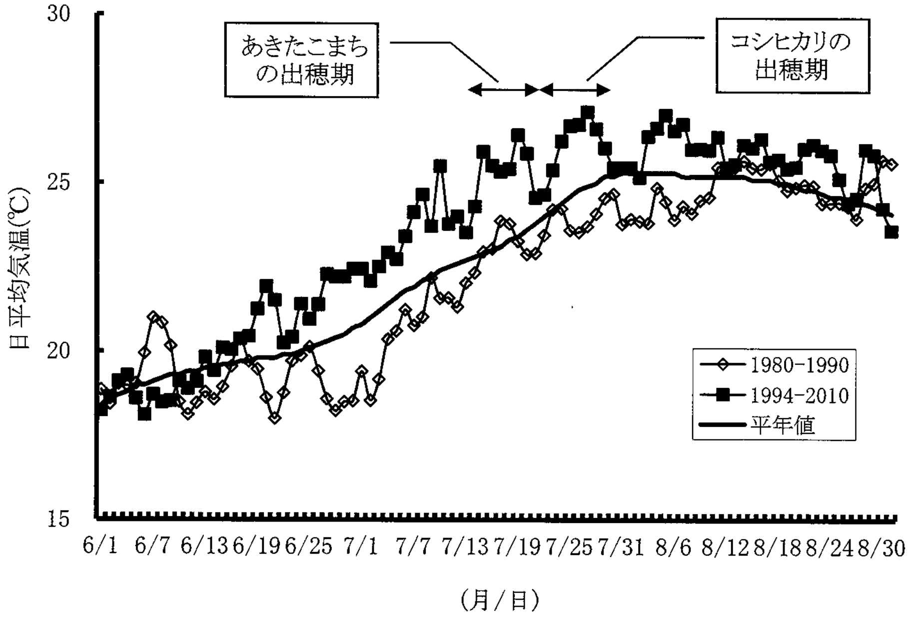


図1－4　茨城県水戸市における夏期の日平均気温の推移

表1－1　茨城県の水稲奨励品種における出穂期

品種名	県北地域		県南地域	
	2000－2004	2004－2008	2000－2004	2004－2008
あきたこまち	7月22日	7月25日	7月16日	7月17日
ひとめぼれ	7月26日	7月28日	7月20日	7月20日
チニヨシキ	7月26日	7月28日	7月20日	7月20日
コシヒカリ	7月31日	8月3日	7月26日	7月27日
キヌヒカリ	7月30日	8月3日	7月27日	7月26日
日本晴	8月9日	8月12日	－	－

（茨城県農業総合センター農業研究所）

する登熟期の高温耐性（以下，高温耐性という）を論じるものとする．

2．水稲の高温障害に関する研究の進捗

登熟期に高温に遭遇しても背白米および基白米が発生しにくい高温耐性品種を効率的に育成するためには，品種・系統がもつ高温条件下でのこれらの発生に対する耐性を正確に評価する必要がある．西村ら（2000）は，日本国内の多数の水稲新旧品種を用いて早期栽培を行うことにより高温環境を設定し，登熟期の高温が玄米の品質に及ぼす影響の品種間差異について検討している．

全国的に夏期の気温は上昇傾向にあり，茨城県においても，高温年では水稲の玄米品質が低下する被害が多発したが，茨城県は平年における登熟期間の平均気温が25℃前後であり，必ず水稲の高温障害が発生する気象条件ではないため（図1-4），水稲に対する高温の影響を安定的に評価できず，育成過程において品種および育成系統の高温耐性を正確に判定し選抜することが困難であった．この問題を解決するため，飯田ら（2002）は，ガラス温室を利用して水稲に高温処理をすることで，高温年の水田圃場における背白米および基白米の発生を安定して促すことを可能とし，さらに，高温下での背白および基白米の発生に対する耐性を評価するための基準品種として，強～弱までの5品種（「越路早生（強）」，「こころまち（やや強）」，「あきたこまち（中）」，「ひとめぼれ（やや弱）」「初星（弱）」）を選定した．この手法ではベッド上に密植栽培するため，少ない面積で多数の供試品種および系統を検定することが可能となるが，ガラス温室内で小規模に栽培する検定においては，高温処理の温度ムラの差異が高温耐性の判定結果に影響を及ぼす可能性がある．

また，水稲における白未熟粒の発生要因は登熟期の高温だけではなく，単位面積当たりの籾数が多いと高温条件下で乳白粒が発生しやすいこと（高橋 2004，Morita et al. 2005），高温条件下での白未熟粒の発生と玄米千粒重には相関があること（Tashiro and Wardlaw 1991）が解明されており，早期落水による根の活力の低下により，高温障害が助長されることも指摘されている（松村 2005）．

高温条件下でも背白米および基白米が発生しにくい品種を効率的に育成するためには，高温下での背白米，基白米の発生率に関する遺伝様式を解明する必要がある．また，近年，高温耐性のような遺伝率の低い量的形質を改良する効果的な育種法としてDNAマーカーを利用した選抜育種法があり(農林水産省農林水産技術会議 2007)，目的とする形質に関するQTL（Quantitative Trait Loci）解析が進められている．これまでにも水稲の高温耐性に関して，Kobayashi *et.al*（2007），蛯谷ら（2008）により背基白粒を増加させるQTLが第2，第5，第6，第8および第10染色体上に検出されており，今後，DNAマーカー選抜による高温耐性品種の育成が期待されるところである．

3．本研究の課題

本研究では，進行する温暖化現象により米の生産現場において問題となっている高温障害の解決策として，水稲の高温耐性品種の育成に寄与することを目的とし，以下の研究を行った．

第2章では，ガラス温室を用いた高温耐性検定法において，高温条件下における背白・基白米の発生に顕著な差異のある6品種を用いてガラス温室内の栽培位置による背白米および基白米の発生程度を検証し，より精度の高い高温耐性検定法に改良することを目指した．第3章では，第2章において高温耐性を評価した結果，登熟期の高温によって背白米および基白米が多発する「チヨニシキ」と，高温下でも背白米および基白米が発生しにくい「越路早生」の交雑後代のF_2，F_3世代を用いて，高温下での背白米および基白米発生に関して統計遺伝学的解析を試み，高温耐性品種を育成するための育種方法について考察した．

第4章では，チヨニシキ／越路早生の組換え自殖系統群（RILs：recombinant inbred lines）のF_6世代を用い，登熟期の高温条件下における背白米の発生に関与するQTL解析を行った（第1節）．さらに，戻し交雑個体を用いて検出したQTLの効果を検証するとともに（第2節），高温下での背白米発生に顕著な差異がある品種に関して，背白米発生関連QTLの近傍マーカーの遺伝子型により系譜図に基づく解析を行った（第3節）．最後に第5章では，得られた研究成果の高温耐性育種への有効利用について，今後の高度高温耐性品種の育種戦略について考察した．

第２章　ガラス温室を用いた高温登熟条件下における背白米および基白米発生率の品種間比較

緒　　言

近年，夏期の気温の上昇により，水稲玄米に背白米および基白米が多発する高温登熟障害が国内の多くの地域で問題となっている．日本の北関東に位置する茨城県においても，1994 年，登熟期の日平均気温が 25℃～30℃の高温で推移し，多くの栽培品種および育成系統に高温登熟障害とみられる背白米および基白米が多発して玄米外観品質が著しく低下した（飯田ら 1997）．また 1999 年，2007 年は全国的に高温年であり，玄米の外観品質が著しく低下する高温登熟障害が多くの地域で発生し（寺島ら 2001），高温下でも背白米や基白米が発生しにくい高温耐性品種の育成は喫緊の育種課題である．

高温耐性品種を効率的に育成するためには，高温に対する耐性を正確に評価する必要があるが，茨城県は平年における登熟期間の平均気温が 25℃前後であり(図 1-4)，必ず水稲の高温障害が発生する気象条件ではないことから，飯田ら（2002）は，ガラス温室を利用して水稲に高温処理をする高温耐性検定法を開発した．この手法によれば，高温年でなくても背白米および基白米の発生を安定して促すことができ，ガラス温室での発生率と高温年の水田圃場における発生率の間には相関係数 0.876（$P<0.001$）の極めて高い相関がみられた．さらに，高温下での背白および基白米の発生に対する耐性を評価するための基準品種として，強～弱までの５品種（表 2-1）を選定した．ガラス温室を用いて水稲を高温処理し，これらの基準品種と比較することにより，品種および育成系統が遺伝的にもつ高温に対する耐性を簡易に評価することが可能となる．

本手法はガラス温室内で小規模に栽培するが，高温耐性検定法については精度の高さが重要であり，ガラス温室内における高温処理の温度ムラの差異が高温耐性の判定結果に影響を及ぼすことがないか確認するため，本研究では，飯田らが選定した基準品種を用いて，ガラス温室内の栽培位置による背白米および基白米の発生程度を検証し，より精度の高い高温耐性検定法に改良することを目的とした．

登熟期の高温による背白・基白米の発生に対する耐性を正確に評価するため，飯田ら（2002）が選定した基準品種(表 2-1)，および高温条件下で背白・基白米が多発する「チヨニシキ」を用いて，ガラス温室内の栽培位置による背白米および基白米の発生程度を検証し，より精度の高い高温耐性検定法への改良を試みた．

材料および方法

１．供試材料

供試材料には，高温条件下において，背白・基白米の発生に顕著な差異がある「越路早生」，「こころまち」，「あきたこまち」，「ひとめぼれ」，「初星」，「チヨニシキ」を用いた．全ての品種は出穂期がほぼ同じであり，「越路早生」を除く５品種は茨城県の早生の奨励品種である．

２．栽培方法

本研究は，茨城県水戸市の茨城県農業総合センター農業研究所内に設置されたガラス温室を用いて行った．図 2-1 にガラス温室内における水稲の高温処理法の概略を

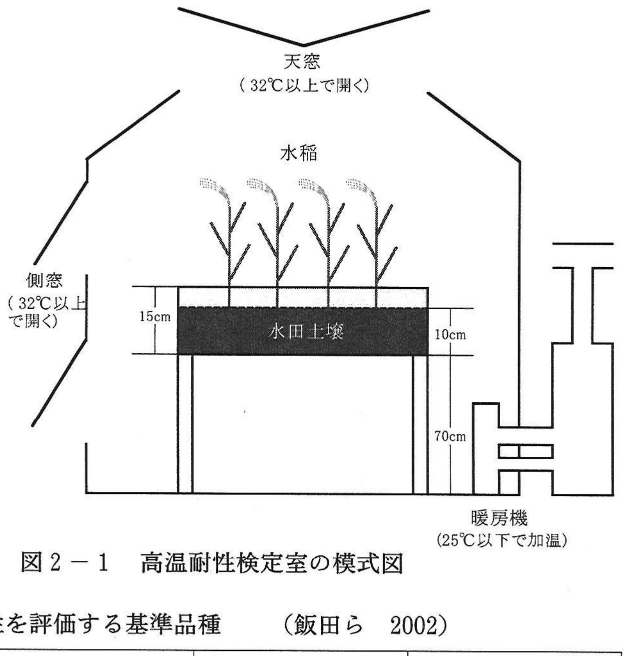


図２－１　高温耐性検定室の模式図

表２－１　茨城県で選定した背白米，基白米発生に対する耐性を評価する基準品種　　（飯田ら　2002）

品 種 名	越路早生	こころまち	あきたこまち	ひとめぼれ	初　星
高温耐性	強	やや強	中	やや弱	弱

示す．床面積 85 ㎡（長辺 13 m，短辺 6.5 m）のガラス温室内に設置したベンチ（高さ 70 cm，長さ 329 cm，幅 129 cm）に，高さ 15 cmの枠を設け，それに厚さ 0.1 mmのビニールシートを敷いてプール状にした中に，水田土壌（表層腐植質多湿黒ボク土）を深さ 10 cmになるように入れた．基肥として窒素(N)，リン酸(P_2O_5)，カリウム(K_2O)をそれぞれ 6 g/㎡ 施用した．追肥は窒素(N)，カリウム(K_2O)をそれぞれ 3 g/㎡ 施用した．

高温耐性検定において，ガラス温室内での植物の位置が背白米および基白米の発生に及ぼす影響を調べるため，基準品種の 6 品種は，ベッド上で換気窓(側窓)から最も遠い側窓から 1.7 m離れた位置（A 地点），換気窓に最も近い側窓から 0.9 m離れた位置（C 地点），A 地点と C 地点の中間にあたる側窓から 1.3 m離れた位置（B 地点）に栽培した（図 2-2）．

2000 年 6 月 5 日に供試品種の種子を畦幅 13 cm，長さ 60 cmで 1 列ずつ条播した．出芽後，株間が 5 cmになるよう間引きして 1 品種当たり 10 個体を残し，その後は湛水状態にした．出穂するまでは加温せず，天窓と側窓を全開にして，日平均気温が屋外に近い 24℃～26℃の条件で栽培した．

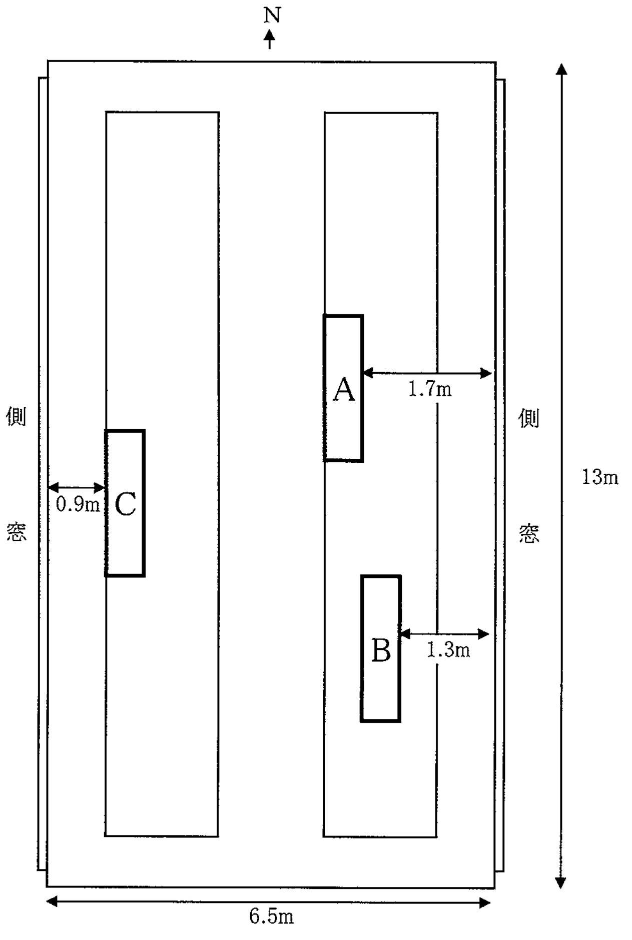


図 2 － 2　ガラス温室内における基準品種の栽培位置

3．高温処理

高温処理はいずれかの品種が出穂してから全ての品種が成熟期に達するまでの間（2000 年 8 月 14 日～9 月 14 日）行った．ガラス温室の中央に高さが穂首付近の位置になるよう温度センサーを設置し，日中は 32℃以上で天窓および側窓を開き，夜間は 25℃以上で加温するようにして，水稲の穂首付近の気温が昼温 30～32℃，夜温 25～27℃になるよう調節した．なお，この処理温度は，高温による玄米の外観品質が顕著に低下した 1994 年の水戸市における登熟気温に基づいて設定した（飯田ら 1997）．

4．調査方法

栽培した各供試品種の 10 個体から成熟期に生育中庸な 8 個体を選び，各個体の主茎から一穂ずつ採取した．風乾後籾すりし，1.7 mm の篩でふるって得られた全玄米について，背白米および基白米の粒数を調べた．判定の基準は，粒の背側維管束部にそって筋状の白色不透明部があるものを背白米とし，粒の基部が白色不透明なものを基白米とした（長戸 1973）．本研究では背側と基部の両方に白色不透明部がみられる玄米も多くみられたため，発生率の算出にあたっては，背白米と基白米，および背側と基部の両方が白色不透明である玄米を合計し，全粒数に対する割合を背白・基白米発生率とした．

なお，ガラス温室内の気温は，水稲の穂首付近の高さで温度記録計（LI-1000 DataLogger，LI-COR 製）により測定した．

結　果

出穂期から成熟期までの穂首付近の日平均気温は 26.5℃～30.7℃（処理期間中の平気 28.7℃）であり，登熟期間中の高温処理を適正に行うことができた．ガラス温室を用いて高温処理した結果，基準品種の背白・基白米発生率には顕著な品種間差がみられ，発生率は「越路早生」が最も低く，次いで「こころまち」，「あきたこ

まち」，「ひとめぼれ」，「チヨニシキ」および「初星」の順に高くなった（図 2-3）．しかし，ガラス温室内の栽培地点により，基準品種の背白・基白米の発生に違いが認められ，換気窓に最も近い，側窓から 0.9 m 離れた C 地点における背白・基白米発生率は，「越路早生」の 11.7%から，「初星」の 60.1%の間に連続的に分布し，他の 2 つの地点に比べて発生率が低い傾向がみられた．一方，換気窓から最も遠い側窓から 1.7 m 離れた A 地点における背白・基白米発生率は，「越路早生」の 12.4%から「チヨニシキ」の 82.9%の間に連続的に分布し，他の 2 つの地点に比べて発生率が高い傾向がみられた．A 地点と C 地点の中間の位置である側窓から 1.3 m 離れた B 地点における背白・基白米発生率は，「越路早生」の 8.4%から「初星」の 71.7%の間に連続的に分布し，A 地点より低いが，C 地点より高い傾向がみられた（図 2-3）．

考　察

高温耐性品種を効率的に育成するためには，品種・系統のもつ高温に対する耐性を正確に評価することが重要である．また，遺伝解析を行うにあたっては，正確で再現性のある表現型の評価は不可欠であり，検定法の精度が求められる．ガラス温室を利用して水稲に高温処理をする高温耐性検定法において，飯田ら（2002）が選定した強～弱までの基準品種 5 品種（表 2-1）および高温条件下で背白・基白米が多発する「チヨニシキ」を用い，ガラス温室内の栽培位置による背白米および基白米の発生程度を検証し，より精度の高い高温耐性検定法に改良することを試みた．

側窓からの距離が異なる 3 地点（図 2-2）に基準品種を栽培した結果，いずれの地点においても背白米および基白米の発生に関する高温耐性の程度（弱～強）と発生率はよく一致したが，ガラス温室内の側窓に近い地点ほど背白・基白米発生率は低い傾向が認められた．今後，これらの 3 地点における高温処理期間中の温度の推移を確認する必要があるが，側窓に近い地点ほど外気や風の流入により処理温度が低くなることが推察され，本手法においては，ガラス温室内に設置したベッド上で，換気窓(側窓)からの距離が概ね同じ位置になるよう検定植物を配置し（A または B または C），それぞれの位置に同時に配置した基準品種を比較に用いることで，正確な高温耐性の判定が可能となることが示唆された(図 2-4).

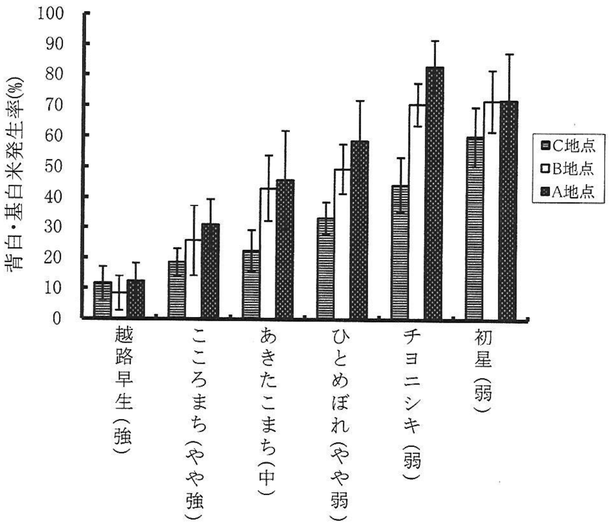


図 2 － 3　基準品種における高温耐性の程度と，異なる栽培位置での背白・基白米発生率

図中のバーは標準偏差を示す.

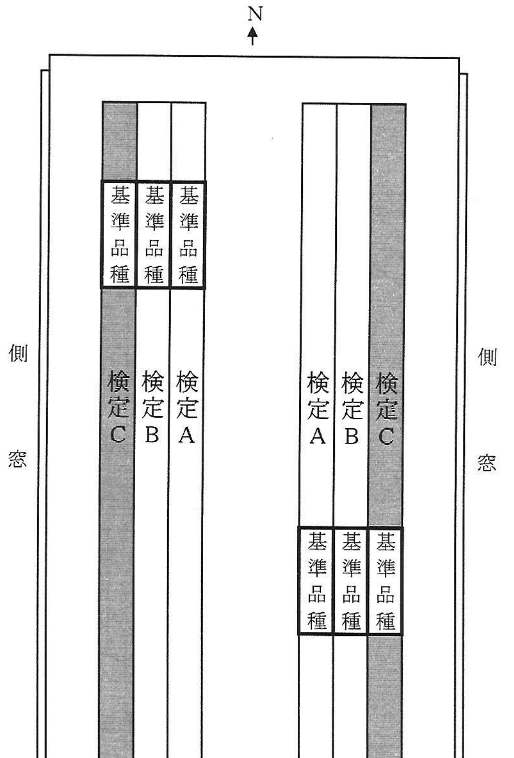


図 2 － 4　ガラス温室内のベッド上における検定植物の配置図

第3章　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に関する統計遺伝学的解析

緒　言

高温下での背白米および基白米の発生率には品種間差異がみられ，遺伝的改良が可能である．これらの形質を効率的に改良するためには，高温下での背白米，基白米の発生率に関する遺伝様式を解明する必要がある．

第2章において，ガラス室を利用して登熟期に高温処理することにより，在来種を含む多数の品種・系統について高温下での背白米および基白米の発生率を調査し，高温条件下におけるこれらの発生の耐性について調査した．本研究では，第2章の結果に基づいて，出穂期がほぼ等しい早生品種のうち，登熟期の高温によって背白米および基白米が多発する「チヨニシキ」と，高温下でも背白米および基白米が発生しにくい「越路早生」の交雑後代を用いて，高温下での背白米および基白米発生に関して統計遺伝学的解析を試みるとともに，背白米，基白米の発生と千粒重，粒長，粒幅など重要な形態的形質との関係について検討し，今後の育種目標に関して考察する．

材料および方法

1．供試品種

背白米および基白米発生の遺伝解析のための両親系統として，出穂期がほぼ等しい早生品種の「チヨニシキ」と「越路早生」とを供試した．これまでの解析により，「チヨニシキ」は高温下で背白米および基白米が多発する品種であり，「越路早生」は高温下でも背白米および基白米の発生が少ない品種である．

2000年に「チヨニシキ」と「越路早生」およびその正逆交雑によるF_1世代，F_2世代，2001年にチヨニシキ／越路早生のF_3世代を第2章のガラス温室を利用した方法によって高温処理し，高温下での背白米および基白米の発生率を調査した．

2．栽培方法

本研究は，茨城県水戸市の茨城県農業総合センター農業研究所内に設置されたガラス温室を用いて試験を行った．2000年に試験をした両親系統およびそれらの正逆交雑のF_1世代（15個体），F_2世代（105個体），2001年に試験をしたF_3世代（105系統，10個体／系統）について，栽培方法はいずれも第2章と同様とし，全ての供試材料は第2章で示すA地点に栽培した．

3．高温処理

高温処理は出穂始めから全個体が成熟期に達するまでの間，天窓と側窓の開閉，夜間の加温により昼温30℃～32℃，夜温25℃～27℃で行った．両親系統およびそれらの正逆交雑のF_1世代，F_2世代（105個体）は2000年6月5日に播種し，高温処理は8月15日から9月17日まで行った．F_3世代（105系統，10個体／系統）は2001年5月31日に播種し，高温処理は8月8日から9月10日まで行った．

4．調査方法

調査は成熟期に各個体から一穂を採取して籾すりし，1.7㎜の篩でふるって得られた全玄米について，背白米，基白米の粒数の割合を調べた．判定の基準（図3-1）および発生率の算出は第2章と同様に行った．

また本解析では，全玄米に対する背白米，基白米の発生率を逆正弦変換した値を対象とした．さらに，玄米千粒重と，無作為に選んだ10粒について粒長と粒幅を調査した．なおF_3世代の解析には系統平均値を用いた．

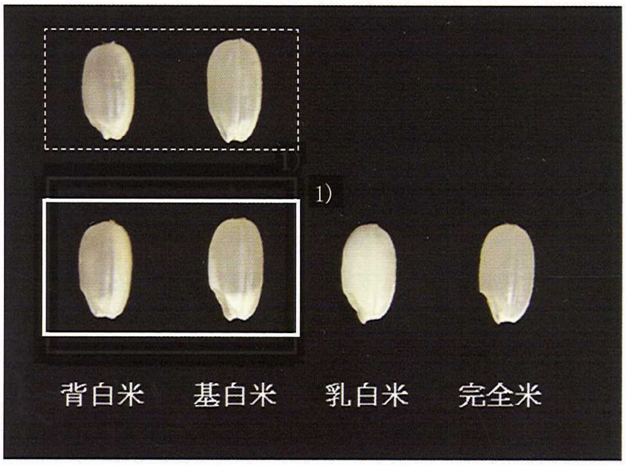


図3－1　完全米と不完全米の判定の基準
[1] 白色不透明な部分の程度が［実線枠］まで進んでいる粒を背白米，基白米として調査した．［破線枠］は，軽度の背白米，基白米の発生を示す．

結　果

1．F_2 世代，F_3 世代での背白米および基白米発生率の分布

2000 年の試験では，出穂期が「越路早生」は 8 月 15 日，「チヨニシキ」は 8 月 18 日，F_1 世代は 8 月 16 日，F_2 世代は 8 月 12 日～18 日であった．2001 年の試験では，出穂期が「越路早生」は 8 月 3 日，「チヨニシキ」は 8 月 12 日，F_3 世代は 8 月 7 日～8 月 13 日であった．

F_2 世代での背白米発生率を図 3-2 および図 3-3 に示す．背白米発生率については，両親の「越路早生」と「チヨニシキ」との間で大きな差がみられた．正逆交雑とも F_1 世代の発生率の平均は両親の中間より低く，多くの個体は「越路早生」に近い低い発生率で，正逆交雑の差に関する t 検定の結果 t=0.184（n.s.）で有意差はなかったことから，背白米の発生が少ない性質は不完全優性と考えられた．F_2 世代では超越分離はみられず，多くの個体は両親の中間より低い発生率で「越路早生」に近い個体の頻度が高かった．F_3 世代も F_2 世代と同様の分布を示した（図 3-4）．

基白米発生率の両親間の差は背白米発生率ほど大きくなかった（図 3-2，図 3-3）．正逆交雑とも F_1 世代の発生率の平均は両親のほぼ中間で，正逆交雑の差に関する t 検定の結果 t=-2.27（n.s.）で有意差はなかった．F_2 世代では両親の中間よりもやや高い発生率で「チヨニシキ」に近い個体の頻度が高かった．F_3 世代の試験をした 2001 年は，両親の基白米発生率が前年に比べて低い傾向にあったが，F_3 世代は，両親の中間に近い発生率の個体の頻度が高かった（図 3-4）．

以上のように，背白米，基白米発生率は正逆交雑でも同様の遺伝様式を示し，また背白米発生率と基白米発生率には，F_2 世代と F_3 世代との間に有意な正の相関がみられた（図 3-5）．

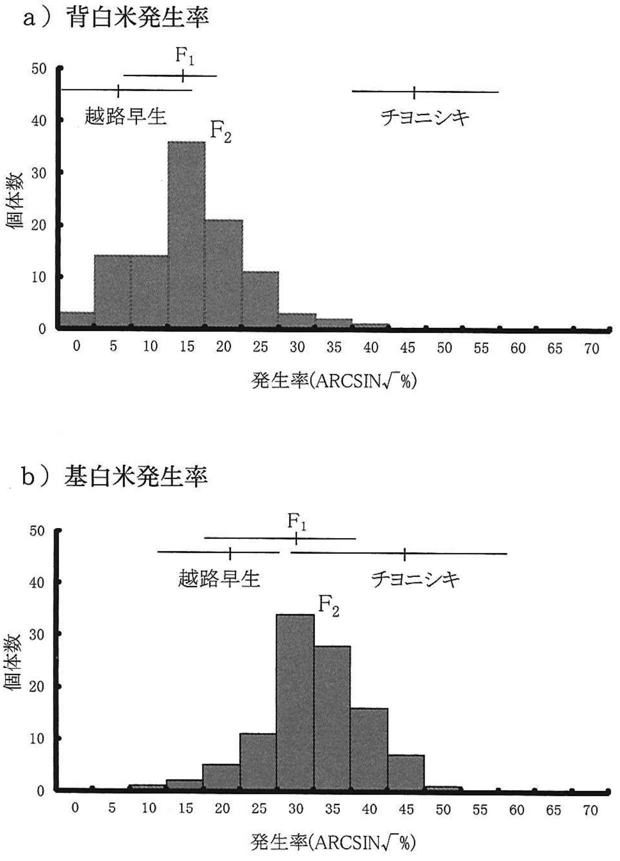


図３－２　チヨニシキ／越路早生の F_1 個体，F_2 集団における背白米および基白米発生率
発生率＝ARCSIN√％

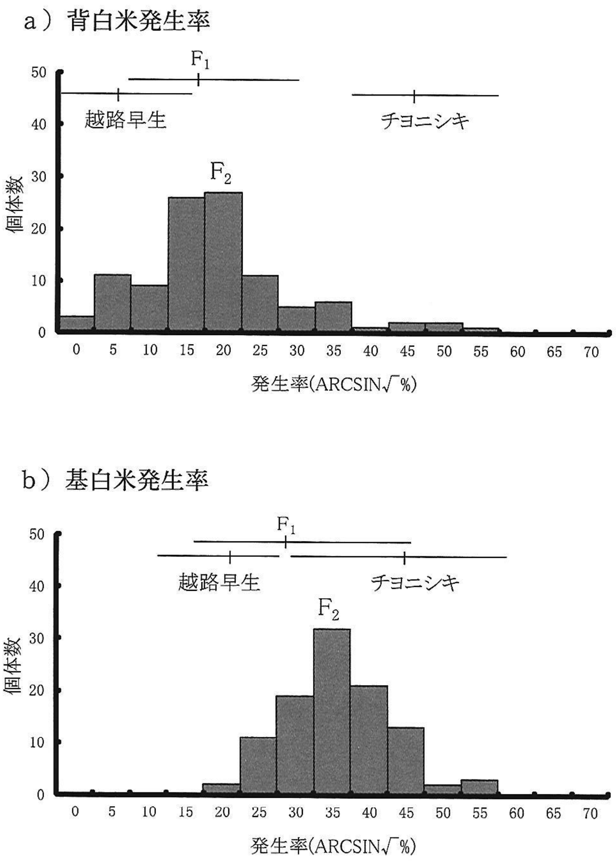


図３－３　越路早生／チヨニシキの F_1 個体，F_2 集団における背白米および基白米発生率
発生率＝ARCSIN√％

2．背白米および基白米発生における統計遺伝学的分析

背白米および基白米発生率について，両親と F_1，F_2 および F_3 世代の分散成分をもとに相加分散成分A，優性分散成分D，環境分散成分Eを推定し遺伝率を求めた（表3-1）．

F_2 世代の表現型分散は，$V_P(F_2)=1/2A+1/4D+E_1$（E_1；親，F_1，F_2 等に共通の個体間分散）

F_3 世代の表現型分散は，$V_P(\bar{F}_3)=1/2A+1/16D+E_2$（$\bar{F}_3$；$F_2$ 個体別 F_3 系統平均　E_2；F_3 系統間における環境分散）

であり，これらから背白米発生率の相加分散成分は $A=39.864$，優性分散成分は $D=10.256$ となった．この分散成分から平均優性度を求めると $\sqrt{D/A}=0.507$ であった．

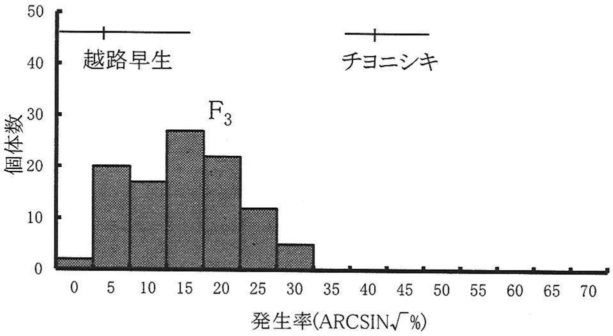
広義の遺伝率を推定すると，

F_2 世代では，$h_B^2\ [F_2]=\dfrac{1/2A+1/4D}{1/2A+1/4D+E_1}=0.395$,

F_3 世代では，$h_B^2\ [\bar{F}_3]=\dfrac{1/2A+1/16D}{1/2A+1/16D+E_2}=0.393$,

であった．

a）背白米発生率



b）基白米発生率

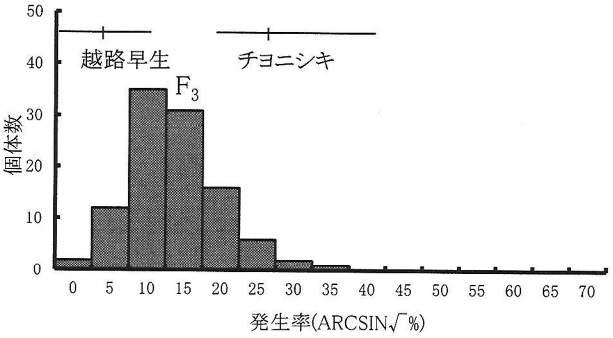


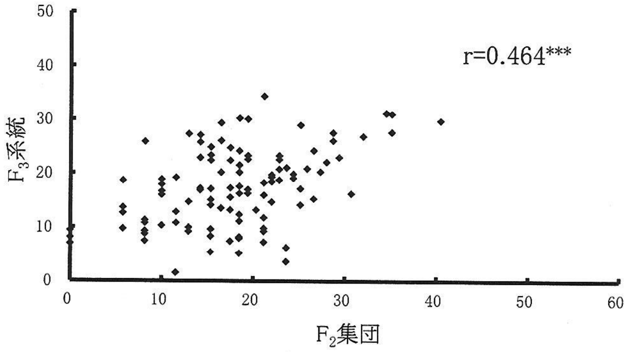
図3－4　チヨニシキ／越路早生の F_3 系統における背白米および基白米発生率
発生率＝ARCSIN√%

これらの95%信頼区間を求めると(橋口 1955)，F_2 世代では，

信頼上限($\bar{p}$)は，$\bar{p}=1-\dfrac{1}{1/F_{n1}^{n2}(0.025)}(1-h_B[F_2])=0.625$,

信頼下限($\underline{p}$)は，$\underline{p}=1-F_{n2}^{n1}(0.025)(1-h_B[F_2])=0.0$,

a）背白米発生率



b）基白米発生率

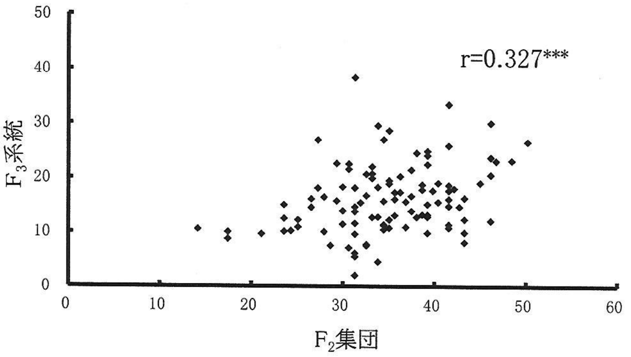


図3－5　チヨニシキ／越路早生の F_2 集団と F_3 系統の背白米および基白米発生率における親子相関
発生率＝ARCSIN√%

表3－1　「チヨニシキ」と「越路早生」の F_2 集団と F_3 系統の分散から推定した背白米および基白米発生率における遺伝パラメーター

			背白米発生率	基白米発生率
相加分散	A		39.86	30.76
優性分散	D		10.26	－[1]
環境分散	E	F_2集団	$E_1=34.44$	$E_1=44.09$
		F_3系統	$E_2=31.78$	$E_2=28.59$
広義の遺伝率	$h_B^2\ [F_t]$	F_2集団	0.395	0.259
		F_3系統	0.393	0.350
狭義の遺伝率	$h_N^2\ [F_t]$	F_2集団	0.350	0.259
		F_3系統	0.381	0.350
F_3系統のF_2個体への回帰による遺伝率	$h_{BN}^2\ [F_2]$		0.373	0.259
固有遺伝率	h_O^2	F_2集団	0.536	0.411

1)：負の値となったため，計算不能

であった．同様にF_3世代の95%信頼区間を求めると0.0−0.641であった．

狭義の遺伝率を推定すると，

F_2世代では，$h_N^2\ [F_2] = \dfrac{1/2A}{1/2A+1/4D+E_1} = 0.350$,

F_3世代では，$h_N^2\ [\overline{F}_3] = \dfrac{1/2A}{1/2A+1/16D+E_2} = 0.381$,

となった．

これらの遺伝率の値は推定した世代によって異なるため，世代と独立に量的形質固有の値として表すため固有遺伝率（h_O^2）を推定した結果（鵜飼 2002），

$$h_O^2 = \frac{A}{A+E_1} = 0.536$$

となった．

また背白米発生率において，F_2世代とF_3世代の間には有意な親子相関がみられたため（図3-5），F_3世代のF_2世代への回帰による遺伝率を推定すると，

$$h_{BN}^2\ [F_2] = \frac{1/2A+1/8D}{1/2A+1/4D+E_1} = 0.373$$

となった．

同様に，基白米発生率の相加分散成分は$A=30.759$であったが，優性分散成分は負の値をとったため$D=0$として遺伝率を推定すると，広義の遺伝率は狭義の遺伝率と等しくなり，F_2世代で$h_B^2\ [F_2] = h_N^2\ [F_2] = 0.259$となり，$F_3$世代では$h_B^2\ [\overline{F}_3] = h_N^2\ [\overline{F}_3] = 0.350$となった．95%信頼区間は，$F_2$世代では0.0−0.541，$F_3$世代では0.0−0.615であった．固有遺伝率は$h_O^2=0.411$となった．$F_3$世代の$F_2$世代への回帰による遺伝率は$h_{BN}^2\ [F_2] = 0.259$となった．

3．背白米発生と基白米発生との相関

F_3世代において背白米発生と基白米発生との間の表現型相関を求めたところ，

$$r_P = \frac{\mathrm{Cov}\,(y_A, y_B)}{\sqrt{V(y_A)\cdot V(y_B)}} = 0.326$$

（y_A，y_B；2形質の表現型分散）

となった．

さらに遺伝相関（r_G）を求めると，

$$r_G = \frac{\mathrm{Cov}\,(y_A, y_B) - \mathrm{Cov}\,(e_A, e_B)}{\sqrt{(\mathrm{Var}(y_A) - \mathrm{Var}(e_A))\cdot(\mathrm{Var}(y_B) - \mathrm{Var}(e_B))}} = 0.572$$

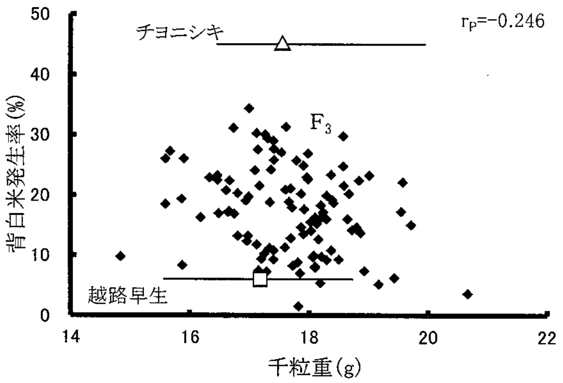
（e_A，e_B；2形質の環境分散）

となった．

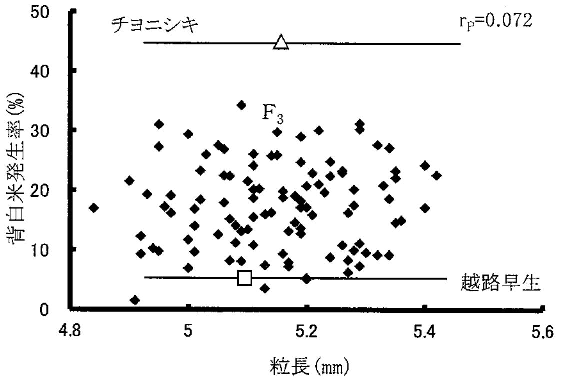
4．千粒重・粒形(粒長，粒幅)と背白米および基白米発生との関係

F_3世代において，千粒重および粒形（粒長，粒幅）が背白米および基白米の発生に及ぼす影響を調査した(図3-6，図3-7)．背白米発生率との表現型相関（r_P）

a）千粒重と背白米発生率



b）粒長と背白米発生率



c）粒幅と背白米発生率

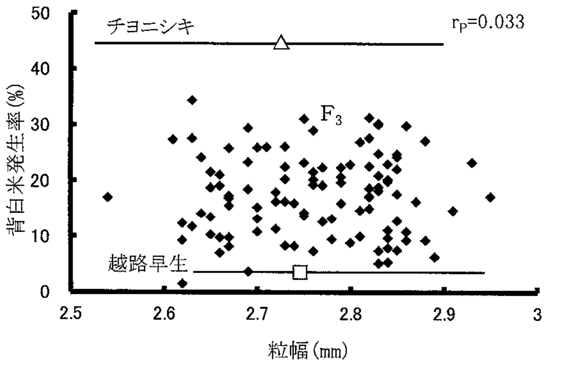
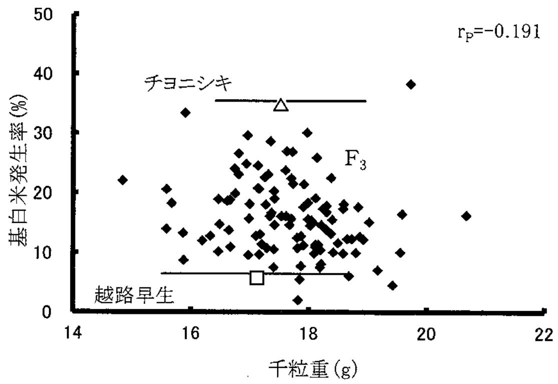


図3−6　チヨニシキ／越路早生のF_3系統における千粒重，粒長，粒幅と背白米発生率の相関
□：越路早生の平均値
△：チヨニシキの平均値

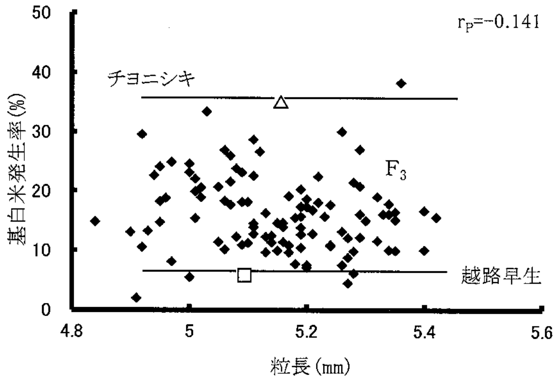
を求めると，千粒重とでは $r_P=-0.246$，粒長とでは $r_P=0.072$，粒幅とでは $r_P=0.033$ であった．

さらに遺伝相関（r_G）を求めると，千粒重とでは $r_G=-0.022$，粒長とでは $r_G=0.192$，粒幅とでは $r_G=-0.194$ であった．また基白米発生率との間でも同様に表現型相関（r_P）を求めると，千粒重とでは $r_P=-0.191$，粒長とでは $r_P=-0.141$，粒幅とでは $r_P=-0.217$ であった．遺伝相関（r_G）を求めると，千粒重とでは（r_G）$=-0.079$，粒長および粒幅とでは $|r_G|>1$ であった(表3-2).

a）千粒重と背白米発生率



b）粒長と背白米発生率



c）粒幅と背白米発生率

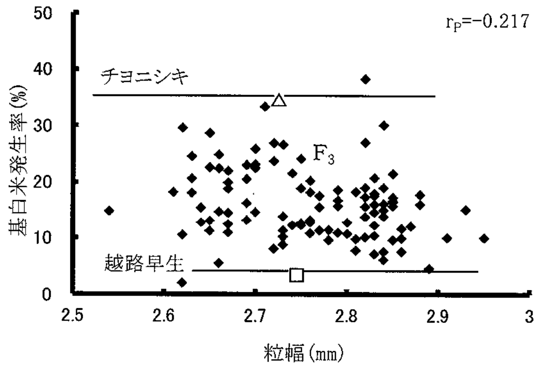


図3－7　チヨニシキ／越路早生の F_3 系統における千粒重，粒長，粒幅と基白米発生率の相関
□：越路早生の平均値
△：チヨニシキの平均値

考　察

近年，夏期の平均気温の上昇に伴い，登熟期の高温による玄米品質の低下が各地で大きな問題になっている．そのため高温耐性に優れた品種を育成する重要性は高く，高温条件下でも背白米，基白米および乳白米が発生しにくい品種の育成が求められている．

登熟期が高温条件となる水稲の早期栽培では背白米，基白米および乳白米の多発により玄米品質が低下する．その程度に品種間差異があることから(長戸ら 1961，長戸・江幡 1965)，これらの形質は遺伝的に改良可能であると考えられる．

そこで本研究では，高温条件下での背白米および基白米発生率に顕著な差がある「チヨニシキ」と「越路早生」の組合せの交雑後代（F_2，F_3）を用いて，高温耐性の遺伝様式の解明を試みた．その結果，両親の表現型分散に F_2 世代と F_3 世代で年次間差があるものの，背白米および基白米発生率の変異の分布は異なること，背白米の発生を抑制する対立遺伝子が優性であることが明らかになった．また正逆交雑間で同様な分布を示し，t検定の結果有意差はなかったことから，これらの発生には細胞質の影響は少ないと推察された．

F_2 世代，F_3 世代の分散成分による統計遺伝学的分析

表3－2　チヨニシキ／越路早生の F_3 系統の背白米および基白米発生率と千粒重，粒長および粒幅の間における表現型相関と遺伝相関

	背白米発生率	基白米発生率
千粒重	−0.246	−0.191
	−0.022	−0.079
粒長	0.072	−0.141
	0.192	>1
粒幅	0.033	−0.217
	−0.194	>1

上段：表現型相関（r_P）　下段：遺伝相関（r_G）

を行った結果，背白米発生率では相加分散成分が優性分散成分より大きかった．背白米発生率の変異分布でF_1世代に発生率の低い個体が多くみられたが，平均優性度は0.507であった．広義の遺伝率は，F_3世代で背白米発生率が0.393，基白米発生率が0.350であり，出穂期，穂数，一穂籾数などイネの他の多くの量的形質の広義の遺伝率（柴田 1964）と比べても，その値は小さく，これらの発生は環境の影響を受けやすいことが示された．さらに狭義の遺伝率はF_2世代では背白米発生が0.350，基白米発生が0.259と低いことから，これらの形質に関して初期世代に個体選抜を行うのは有効ではない．しかし，背白米発生も基白米発生も狭義の遺伝率はF_2世代からF_3世代になると高くなり，固有遺伝率は背白米発生で0.536，基白米発生で0.411であった．これらの形質については，世代を進めることで固有遺伝率の値にまで遺伝率を高められる．従って，この組合せにおいて，背白米および基白米発生が少ない形質については，世代を進めて遺伝率を高めた後期世代で選抜を行うことが有効であると推察された．

また背白米発生と基白米発生の間には正の遺伝相関がみられたことから，背白米および基白米発生の耐性は同時に改良することが可能であると期待される．

長戸（1973）は背白米の発生がみられる場合は，他の玄米も光沢が劣り，糠層が厚く，玄米品質が著しく低下しており，基白米の発生がみられる場合は他の玄米も充実が劣る傾向があると報告している．飯田ら（1997）も背白米の発生によって玄米の総合的な品質が著しく低下すると報告した．本研究の結果から，背白米および基白米の発生が少ない形質を遺伝的に固定できる可能性が示されたことから，登熟期が高温でも玄米の総合的な品質が低下しにくい高温耐性に優れた品種の育成が期待できる．

酒井（1949，1954）は収量のように複雑な形質で，遺伝率の低い形質を改良する場合には，分離集団を集団育種法によってＦ５世代前後まで集団栽培し，その後，個体選抜，系統選抜を行うことを提唱している．背白米および基白米発生耐性を付与した系統の育成には，交配後の初期世代は集団栽培で世代を進め，まず他の遺伝率の高い実用形質について個体選抜を行い，その後，系統栽培し，後期世代で高温下でも背白米および基白米発生の少ない形質について系統選抜を行う集団育種法が有効であるといえる．

「チヨニシキ」と「越路早生」の後代において，千粒重，粒長および粒幅が背白米，基白米の発生に及ぼす影響を調査した．その結果，背白米発生率については，千粒重，粒長および粒幅との間に遺伝相関は認められなかった．森田（2000）は，登熟期の高温によって玄米一粒重および良質米歩合が低下し，その程度には品種間差異があると報告した．長戸・江幡（1965）は，玄米の幅の発育において，高温下で粒幅の背腹比が大きく減少する品種は，登熟期の高温に適応性が低く，それは粒幅の大きい品種で多くみられると報告した．しかし，本試験の結果から，「チヨニシキ」と「越路早生」間にみられる程度の千粒重，粒長および粒幅の違いが背白米発生に及ぼす影響は小さいものと判断できる．

一方，基白米発生率は，粒長および粒幅との間に高い負の遺伝相関が認められ，粒幅・粒長が大きい系統を選抜することによって，基白米発生の耐性も同時に改良される可能性が示された．

今回供試した両親系統は粒幅の平均が「チヨニシキ」2.73 ㎜，「越路早生」2.75 ㎜，粒長の平均が「チヨニシキ」5.17 ㎜，「越路早生」5.12 ㎜であり，その差異はイネ品種において大きいとはいえない．従って，基白米発生と粒大との関係についてはさらに検討を要するが，高温条件下でも玄米品質が低下しにくい大粒品種を育成することは可能であると期待される．

第4章　登熟期の高温条件下における背白米発生率に関与するQTL解析

緒　言

高温条件下における背白米および基白米の発生には品種間差異があり，これらの形質は遺伝的に改良可能であることが明らかであり，高温耐性品種を育成するための育種方法について考察するため，第3章において，高温条件下における背白米，基白米の発生率に顕著な差異がある「チヨニシキ」と「越路早生」の交雑後代のF_2，F_3世代を用い，高温下での背白米，基白米の発生について統計遺伝学的解析を行った結果，高温条件下における背白米発生率の相加分散成分は$A=39.9$，優性分散成分は$D=10.3$となり，背白米の発生を抑制する対立遺伝子が優性であることが明らかになった．また，これらの分散成分を用い，F_3世代における高温条件下の背白米および基白米の発生率について，狭義の遺伝率を推定した結果，背白米発生率はh_N^2 $[\overline{F}_3]=0.38$，基白米発生率はh_N^2 $[\overline{F}_3]=0.35$と低く，背白米のおよび基白米の発生が少ない形質については，世代を進めて遺伝率を高めた後期世代で選抜を行うことが有効であると推察された．さらに，背白米と基白米の発生率の間には，正の遺伝相関が認められ，これらの形質は同時に改良することが可能であると推察された．

近年，高温登熟耐性のような遺伝率の低い量的形質を改良する効果的な育種法としてDNAマーカーを利用した選抜育種法がある．この手法を用いて効率的に品種を作出するためには，目的形質に関与する正確なQTLを検出する必要があり，これまでに，水稲の出穂期（Takeuchi *et al.* 2006），いもち病に対する抵抗性（Fukuoka *et al.* 2009），食味関連形質に関与するQTLが検出され（Kobayashi and Tomita 2008, Takeuchi *et al.* 2008, Wada *et al.* 2008），水稲品種の育成に利用されている．高温条件下における背白米，基白米の発生に関与するQTLについては，これまでに，Kobayashi *et al.* (2007)，蛯谷ら（2008）によりに検出されている．

第3章により，高温条件下における背白米および基白米の発生は遺伝率が低いことが明らかになったが，本研究では，これら形質のうち，相加分散成分および遺伝率が高かった背白米発生に着目し，F_3世代から作成したチヨニシキ／越路早生の組換え自殖系統群（RILs：recombinant inbred lines）のF_6世代107系統を用いて，登熟期の高温条件下における背白米の発生に関与するQTL解析を行った（第1節）．さらに，戻し交雑個体を用いることにより，検出したQTLの効果を検証するとともに（第2節），高温下での背白米発生に顕著な差異がある品種に関して，背白米発生関連QTLの近傍マーカーの遺伝子型を調査し系譜図に基づく解析を行った（第3節）．

第1節　高温条件下における背白米発生率に関与するQTL解析

DNAマーカーを利用した選抜育種法による高温耐性品種の育成に寄与することを目的とし，高温条件下での背白米の発生に関与するQTLを検出するため，第3章において統計遺伝学的解析に用いたチヨニシキ／越路早生のF_3世代から組換え自殖系統群（RILs：recombinant inbred lines）のF_6世代を作成し，QTL解析を行った．

材料および方法

1．供試材料

高温条件下における背白米発生率に関与するQTL解析を行うため，両親品種として早生品種の「チヨニシキ」と「越路早生」，およびチヨニシキ/越路早生の組換え自殖系統群(RILs：recombinant inbred lines)のF_6世代107系統を供試した．RILs F_6は，第4章の試験に供試したチヨニシキ／越路早生のF_3世代107系統からSSD法(Single Seed Descent法)によって作成した．

2．高温処理および背白米発生率の調査

「チヨニシキ」と「越路早生」の高温年（1997年）および平年（2003年）における玄米を図4-1に示す．水田圃場において，登熟期間の日平均気温が平年並みで経過すると，これらの品種間には背白米の発生程度に差異が認められないが，登熟期間が高温で経過すると「チヨニシキ」には背白米が多く発生する．

高温条件下における背白米発生率に関与するQTLを正確に検出するため，本研究では，茨城県水戸市の茨城県農業総合センター農業研究所内において設置されたガ

図４－１　平温年および高温年におけるチヨニシキと越路早生の玄米

ラス温室を用い，第2章で確立した手法により試験を行い，栽培方法，栽培位置および高温処理は第3章と同様とした．両親品種およびRILs F_6（107系統，10個体/系統）は2003年5月20日に播種し，高温処理は8月12日から9月19日まで行った．

調査は，成熟期に各個体から一穂を採取して全籾数を数えたあと籾すりし，1.7㎜の篩でふるって得られた全玄米について，背白米の粒数の割合を調べた．判定の基準および発生率の算出は第2章と同様に行った．また，本研究における解析では，全玄米に対する背白米の発生率を逆正弦変換し，系統平均値を用いた．

3．SSRマーカーを用いた多型解析

両親品種およびRILs F_6（107系統）の幼苗からCTAB法によりDNAを抽出した．PCR反応液は，1.25 units DNA Taqポリメラーゼ（Promega, Madison, WI,USA），0.2 mM dNTPs，1.5 mM $MgCl_2$および20 pmolプライマーを混合し，DNA 20 ngを加えて5μLに調整した.PCRは384-well thermal cycler (PTC-225, Bio-Rad, USA)を用い，反応条件は，DNA変性95℃/20秒，アニーリング55℃/60秒，伸長反応72℃/30秒とし，35サイクルで行った．増幅されたDNAは，3%アガロースゲルによる電気泳動(100 V，90分間)，または7.5%ポリアクリルアミドゲルによる電気泳動(200 V，200分間)を行い，エチジウムブロマイド染色によって遺伝子型を識別した．

1663個のSSRマーカーについて，「チヨニシキ」と「越路早生」の間にみられる多型を調査し，その結果，多型がみられたSSRマーカーを用いてRILs F_6(107系統）の遺伝子型を解析した．

4．連鎖地図の作成

連鎖地図はMapmaker/EXP 3.03（Lander *et al.* 1987）を用いて作成した．マーカー間の連鎖はLOD値3.0を用いて検出し，遺伝距離はKosambi関数（Kosambi 1944）を用いて算出した．また，既報告のイネの連鎖地図上のSSRマーカーの序列に基づいた(McCouch *et al.* 2002).

5．QTL解析

登熟期に高温処理をして得たRILs F_6 (107系統)の背白米発生率，および多型マーカーによる各系統の遺伝子型データをもとに，QTL Cartographer 2.5（Wang *et al.* 2006）を用いてQTL解析を行った．なお，QTL検出の閾値（LOD値）は，1000回のpermutation testによって決定し，P値=0.05であるLOD値2.99以上とした．

結　果

1．ガラス温室内における気温の推移

高温処理期間（8/12～9/19）におけるガラス温室内の日平均気温は25.0℃～30.7℃の範囲（平均28.5℃）であった（図4-2）．一方，高温処理開始前の8月1日～8月11日のガラス温室内の日平均気温は25.0℃～31.3℃の範囲（平均27.7℃）であった．

「チヨニシキ」および「越路早生」の出穂期は8月15日および8月14日であり，チヨニシキ／越路早生のRILs F_6の出穂期は8月12日～8月17日の範囲であった（RILs F_6の出穂期の平均8月14日）．出穂後20日間の高温は水稲玄米の登熟に最も影響を及ぼすとされる（長戸・江幡 1965）．両親品種およびRILs F_6の全てが出穂後20日間を経過する期間（8月13日～9月5日）におけるガラス温室内の日平均気温は25.0℃～30.7℃（平均28.5℃）であった．なお，2003年の水田圃場におけるこの期間の日平均気温は18.9℃～28.3℃（平均22.7℃）であった．

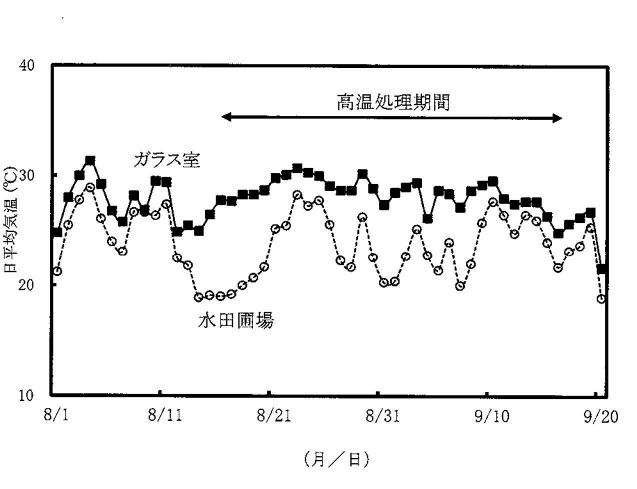


図4－2　ガラス室および水田圃場における日平均気温の推移（2003年）

図4-2 ガラス室および水田圃場における日平均気温の推移(2003年)

2．高温条件下における「チヨニシキ」，「越路早生」および RILs の背白米発生率

ガラス温室で供試品種，系統を栽培し，登熟期間中に高温処理した結果，背白米発生率は「チヨニシキ」が 51.2%～64.4%（平均で 56.0%），「越路早生」が 0%～11.5%（平均で 6.1%）であり，両親間で発生率に大きな差異がみられた．RILs F_6においても，背白米の発生に系統間差異がみられ，供試した 105 系統の背白米発生率は 2.9%～40.2%の範囲であり（平均で 17.7%），超越分離はみられず両親の発生率の範囲内に分布し，多くの系統は両親の中間より低い発生率で，「越路早生」に近い系統の頻度が高かった（図 4-3）．

3．RILs F_6 における連鎖地図

全染色体について，1663 個の SSR マーカーを用いて両親間の多型を調査した結果，「チヨニシキ」と「越路早生」の間に 199 個の SSR マーカーで多型が検出された(多型検出率 11.9%)．このうち 106 個の SSR マーカーを用い，RILs F_6 における連鎖地図を作成した（図 4-4）．各染色体に位置するマーカー数は 3 個（第 10 染色体）から 22 個（第 1 染色体）となり，第 1，第 7，第 11 染色体を除く染色体には，マーカー間のギャップが多くみられた．

4．高温条件下における背白米発生率に関与する QTL

4－1．高温条件下における背白米発生率に関与する QTL の検出

チヨニシキ／越路早生の RILs F_6を用いて QTL 解析を行った結果，高温条件下での背白米発生率に関与する QTL を第 1 染色体上（*qWK 1-1*，*qWK 1-2*），第 2 染色体上（*qWK 2*）および第 8 染色体上（*qWK 8*）に計 4 つ検出した(表 4-1)．第 1 染色体上の *qWK 1-1* は RM 8068 近傍（LOD 値 3.4），*qWK 1-2* は RM 5501 近傍（LOD 値 5.6），第 2 染色体上の *qWK 2* は RM 5916 近傍（LOD 値 3.8），第 8 染色体上の *qWK 8* は RM 2680（LOD 値 3.6）近傍に検出された（図 4-4）．これらの 4 つの QTL のうち，*qWK 1-2*，*qWK 2* および *qWK 8* は，越路早生対立遺伝子が高温条件下での背白米の発生率を低下させ，相加効果および寄与率は，*qWK 1-2* が-3.6（寄与率 15.0%），*qWK 2* が-2.8（寄与率 9.3%）および *qWK 8* が-2.8（寄与率 9.2%）であった．対して，*qWK 1-1* は越路早生対立遺伝子が高温下での背白米の発生率を増加させ，相加効果および寄与率は 2.9（寄与率 8.9%）であった(表 4-1).

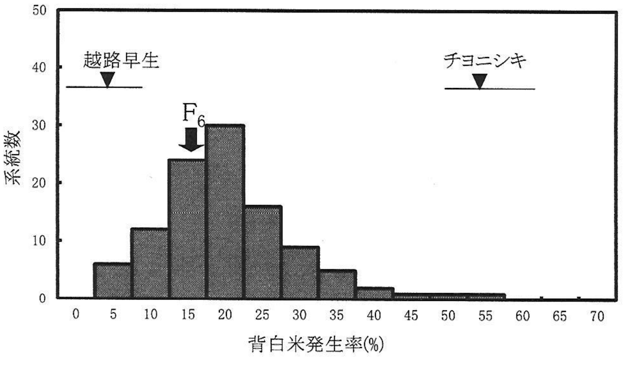
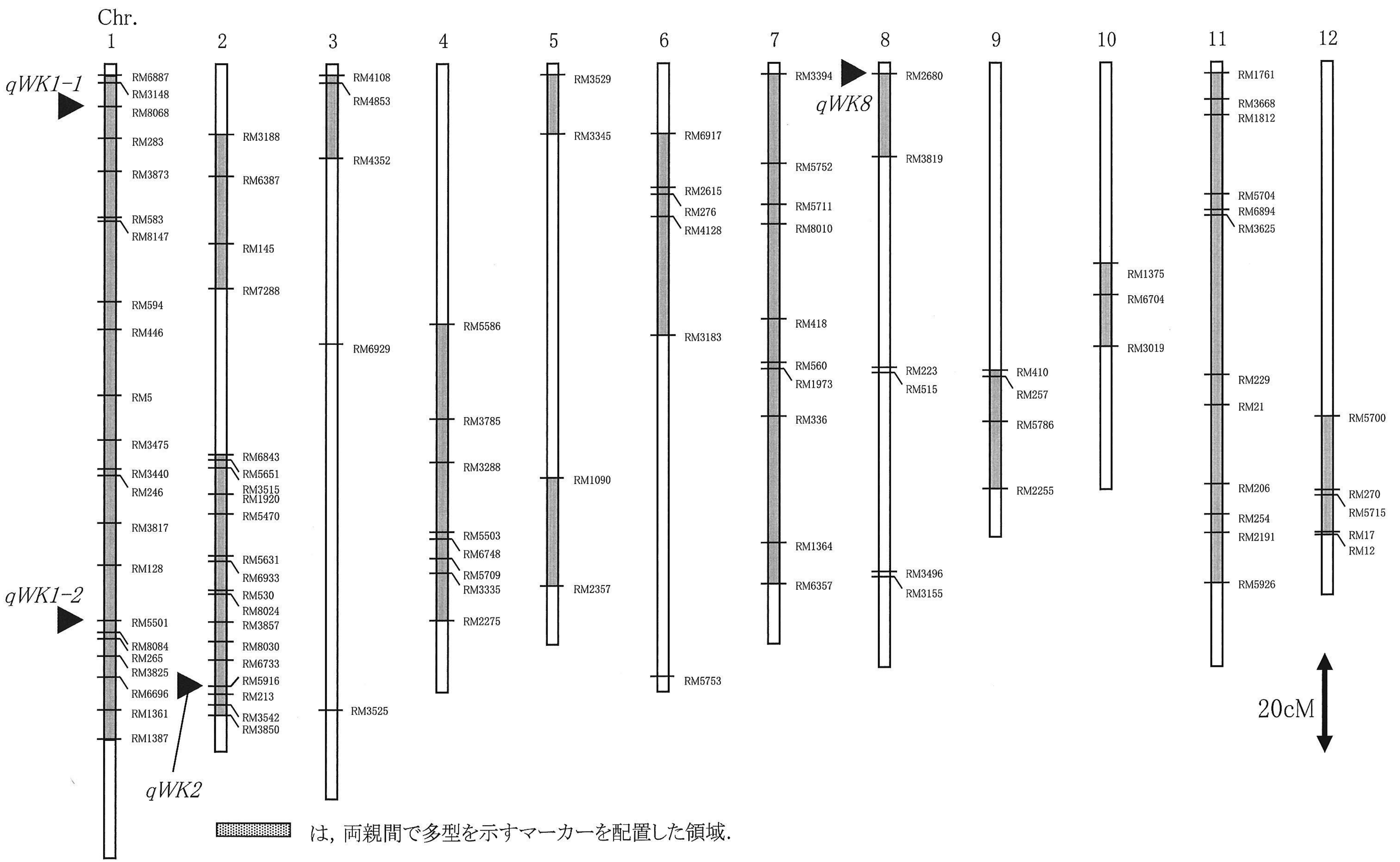


図 4 － 3　チヨニシキ／越路早生の RILs F_6における背白米発生率の頻度分布(ガラス温室)

4－2．高温条件下における背白米発生率に関与する QTL の検証

本研究において検出した背白米発生に関与する 4 つの QTL のうち，*qWK 1-2* は最も効果が高く寄与率は 15.0 %であった．*qWK 1-2* に連鎖する SSR マーカー RM 5501 の遺伝子型に基づき RILs F_6 の 105 系統を分類した結果，越路早生型ホモの系統は 49 系統であり，チヨニシキ型ホモの系統は 52 系統であった．それぞれの背白米発生率を比較すると，越路早生型ホモの系統は発生率が 3.3%～32.0%の範囲で 49 系統の平均値は 14.2%であり，チヨニシキ型ホモの系統は 7.0%～51.7%の範囲で 52 系統の平均値は 21.5%であり，RM 5501 が越路早生型の系統は，チヨニシキ型の系統に比べて背白米発生率が平均で 7.3%低かった（図 4-5）．また，チヨニシキ型系統と越路早生型系統の背白米発生率の差に関する t 検定の結果，t=4.038***であり，2 つの系統の背白米発生には 0.1%水準で有意差がみられた．

本研究では，高温条件下で背白米発生率を低下させる QTL を RM 5501 近傍（*qWK 1-2*），RM 5916 近傍（*qWK 2*）および RM 2680 近傍（*qWK 8*）に 3 つ検出したが，これらの 3 つの SSR マーカーにおける越路早生対立遺伝子の数によって RILs F_6 の 107 系統を分類し，それぞれの背白米発生率を比較した．



は，両親間で多型を示すマーカーを配置した領域.

図４－４　チヨニシキ／越路早生におけるDNAマーカーの連鎖地図（RILs F_6）

背白米発生率を増加させる QTL の *qWK 1-1* の近傍マーカー RM 8068 が越路早生型である場合についてみると，背白米発生率を低下させる 3 つの QTL（*qWK 1-2*，*qWK 2*，*qWK 8* ）の近傍マーカーがいずれも越路早生型でない系統は（7 系統），背白米発生率が平均で 33.0%と高く，3 つのマーカーのうち 1 つが越路早生型である系統は（16 系統），発生率が平均で 18.6%〜28.4%であり，2 つが越路早生型である系統は（13 系統），発生率が平均で 12.2%〜16.5%であり，3 つのマーカーの全てが越路早生型である系統は（3 系統），発生率が平均で 12.7%と低く，QTL の越路早生対立遺伝子の数が多いほど，高温条件下において背白米の発生が抑制される傾向がみられた．さらに，3 つの SSR マーカーのうち，RM 5501 が越路早生型であると背白米発生率はより低くなる傾向を示した（図 4-6）．背白米発生率を増加させる QTL の *qWK 1-1* がチヨニシキ型である場合についても同様の傾向がみられたが，RM 8068 が越路早生型である場合の方が，背白米発生率を低下させる 3 つの QTL の効果は明瞭であった．

考　察

水稲は登熟期に高温に遭遇すると，背白米および基白米が多発し，玄米品質が著しく低下する．複雑形質とされる玄米品質は，遺伝率が低く，また，玄米品質の低下程度は気象条件に左右されやすい．

そこで本研究では，第 3 章の結果から，玄米品質のなかでも相加分散成分および遺伝率が高い値を示す背白米の発生に着目し，チヨニシキ／越路早生の RILs の F_6 世代 107 系統を用いて，登熟期の高温条件下における背白米の発生に関与する QTL 解析を行った．

表 4 − 1　チヨニシキ／越路早生の RILs F_6 の背白米発生率に関与する QTL

QTL	近傍マーカー	染色体	LOD 値	相加効果	寄与率(%)
qWK 1-1	RM 8068	1	3.4	2.9	8.9
qWK 1-2	RM 5501	1	5.6	−3.6	15.0
qWK 2	RM 5916	2	3.8	−2.8	9.3
qWK 8	RM 2680	8	3.6	−2.8	9.2

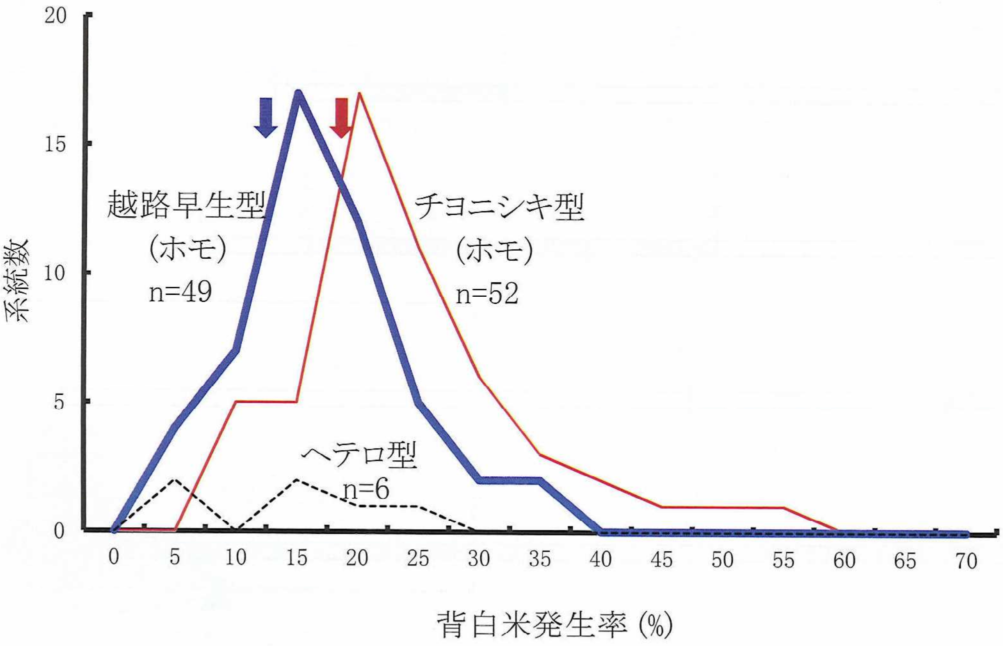


図 4 − 5　チヨニシキ／越路早生における RM 5501 近傍 QTL（*qWK 1-2*）の効果
越路早生型系統の平均値
チヨニシキ型系統の平均値

供試した全ての個体は登熟期間に高温に遭遇した結果，RILs F_6系統の背白米発生率には系統間差異が認められ，また，超越分離はみられず，両親の発生率の範囲内に連続して分布したことから，背白米発生は少数の遺伝子座により制御されていると推察した（図 4-3）．

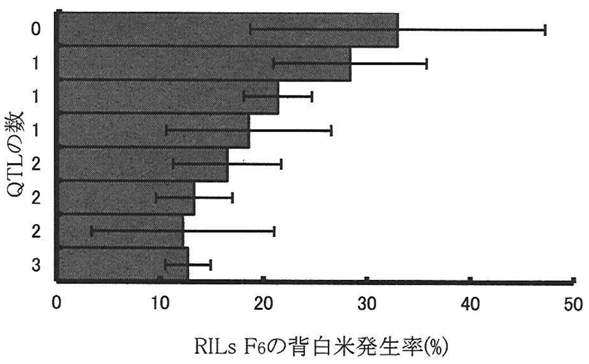
QTL 解析の結果，高温条件下における背白米発生に関与する QTL を *qWK 1-1*，*qWK 1-2*，*qWK 2* および *qWK 8* の計 4 つ検出し，*qWK 1-1* を除く 3 つの QTL は越路早生対立遺伝子が背白米の発生を抑制した．検出した QTL のうち，*qWK 1-2* は最も高い寄与率を示し，*qWK 1-2* に連鎖する SSR マーカー RM 5501 が越路早生型ホモである系統は，チヨニシキ型ホモの系統に比べて背白米発生率が平均で 7.3%低かったことから，*qWK 1-2* は効果の高い QTL であると推察される（図 4-5）．

また，背白米の発生を抑制するQTL(*qWK 1-2*, *qWK 2* および *qWK 8*）の越路早生対立遺伝子の数が多いほど，高温条件下において背白米の発生が抑制される傾向がみられ（図 4-6），これらの 3 つの QTL には組み合わせ効果がある可能性が示唆されたが，今後，*qWK 1-2*, *qWK 2* および *qWK 8* のそれぞれについて戻し交配自殖系統を作成し，効果を検証する必要がある．

「チヨニシキ」と「越路早生」の間に見られる多型は少なく，本研究では，1663 個の SSR マーカーのうち，両親間で多型がみられたマーカーは 199 個であった（多型検出率 11.9%)．このうち 106 個の SSR マーカーを用い，RILs F_6系統における連鎖地図を作成したが，第 1,

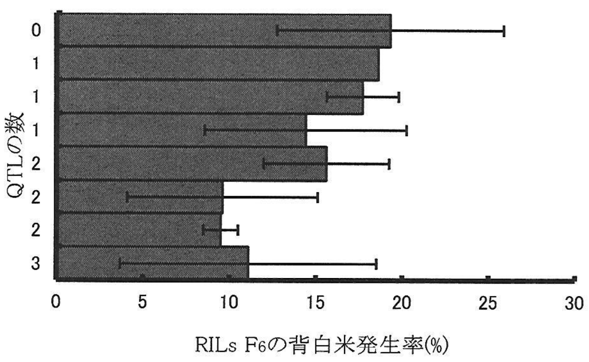
a) *qWK1-1*（背白米の発生を増加させるQTL）が越路早生型

qWK1-1 (RM8068)	*qWK1-2* (RM5501)	*qWK2* (RM5916)	*qWK8* (RM2680)	RILs F_6の背白米発生率(%)
K	C	C	C	33.0
K	C	C	K	28.4
K	C	K	C	21.4
K	K	C	C	18.6
K	C	K	K	16.5
K	K	K	C	13.3
K	K	C	K	12.2
K	K	K	K	12.7



b) *qWK1-1*（背白米の発生を増加させるQTL）がチヨニシキ型

qWK1-1 (RM8068)	*qWK1-2* (RM5501)	*qWK2* (RM5916)	*qWK8* (RM2680)	RILs F_6の背白米発生率(%)
C	C	C	C	19.3
C	C	C	K	18.6
C	C	K	C	17.7
C	K	C	C	14.4
C	C	K	K	15.6
C	K	K	C	9.6
C	K	C	K	9.5
C	K	K	K	11.1



K	越路早生型
C	チヨニシキ型

図 4 － 6　チヨニシキ／越路早生の RILs F_6 における 3 つの QTL (*qWK 1-2*, *qWK 2*, *qWK 8*) の集積効果
左側は分類された系統の遺伝子型を示す．
図中のバーは標準偏差を示す．

第7，第11染色体を除く染色体では，マーカー間のギャップが多くみられており，より正確なQTLを検出するためにも，高精度な連鎖地図を作成する必要がある．

これまでの報告によると，Kobayashi *et.*al（2007），白澤ら（2006）は背白粒発生に関与するQTLを第6染色体上に検出し，寺尾ら（2004）は白未熟粒発生に関与するQTLを第2，第12染色体上に検出し，蛯谷ら（2008）は背基白粒を増加させるQTLを第2，第5，第6，第8および第10染色体上に検出した．本研究において検出した背白粒発生に関与するQTLは，これまでの報告と重複しておらず，「チヨニシキ」と「越路早生」の組み合わせにおいて検出した新たなQTLは高温耐性遺伝子の集積に有効であると思われ，高温耐性品種の育成に寄与すると期待される．

今後，本研究において検出した効果が高いと思われる*qWK 1-2*について，近傍マーカーの数を増やすとともに，戻し交配自殖系統を作成し，後代検定により高温条件下での背白米発生に対する*qWK 1-2*の抑制効果について検証する必要がある．

第2節　登熟期の高温による背白米発生に関与するQTLの効果の検証

高温条件下での背白米の発生率に顕著な差異がみられる「チヨニシキ（感受性）」と「越路早生（耐性）」の交雑後代（RILs F_6系統）をガラス温室で栽培し，高温処理して得た各系統の背白米発生率を基に，DNAマーカーを利用してQTL解析を行った結果，高温条件下における背白米の発生に関与するQTLを4つ検出した（*qWK 1-1*，*qWK 1-2*，*qWK 2*，*qWK 8*）．これらの背白米発生関連QTLのうち，SSRマーカーRM 5501近傍のqWK 1-2は寄与率が15.0%と高く，またRM 5501が越路早生ホモ型の系統は，チヨニシキホモ型の系統に比べて背白米発生率が7.3%低いことから，QTLの効果が高いと推察された．

従って，本研究では，*qWK 1-2*近傍領域の戻し交雑自殖集団を用いて，高温条件下における背白米発生に対する*qWK 1-2*の効果を検証するとともに，候補ゲノム領域を絞り込むため，*qWK 1-2*近傍について高密度でのマーカーの開発を試みた．

なお，表現型データおよびQTL解析結果の再現性を確認するため，高温年にRILs F_6系統を水田圃場で栽培し，また，世代を進めたRILs F_7系統をガラス温室で栽培して高温処理をし，これらのF_6およびF_7世代について，高温条件下における背白米の発生率に関与するQTL解析を行った．

材料および方法

1．高温年の水田圃場で栽培したRILs F_6およびガラス温室で高温処理したRILs F_7を用いた高温条件下での背白米発生に関与するQTL解析

第1節で供試したチヨニシキ/越路早生のRILs F_6 107系統を筑波大学農林技術センター内水田圃場において，2007年5月19日に，1品種当たり中苗25株を畦幅30 cm，株間15 cm，1株1本植えで移植した．基肥は窒素（N），リン酸（P_2O_5），カリウム（K_2O）を各0.7kg/aとした．追肥は窒素（N），カリウム（K_2O）を6月25日に各0.3 kg/a施肥した．成熟期に各個体から1穂を採取して籾すりし，茨城県において，収穫した米の調整に通常使用される規格の1.8 mmの篩でふるって得られた全玄米について，背白米の発生率を調査した．第1節で供試したRILs F_6を自殖して得たRILs F_7 107系統を茨城県水戸市の茨城県農業総合センター農業研究所内に設置されたガラス温室を用いて高温処理した．2005年5月27日に播種し，高温処理はいずれかの系統が出穂してから全ての品種が成熟期に達するまでの間（8月7日～9月20日）行った．栽培位置，生育期間中の栽培管理，高温処理および調査の方法は第1節と同様とした．なお，RILs F_6およびRILs F_7の背白米発生率は逆正弦変換し，系統平均値をQTL解析に用いた．

RILs F_6およびRILs F_7のそれぞれ107系統における背白米発生率と，第1節において解析したRILs F_6の107系統の遺伝子型データを用い，QTL Cartographer 2.5（Wang *et al.*2006）を用いてQTL解析を行った．

2．SSRマーカーを用いた高精度連鎖地図の作成および*qWK 1-2*近傍マーカーの開発

高精度連鎖地図の作成のため，前節とは別のSSRマーカー922個を用いて「チヨニシキ」と「越路早生」の間にみられる多型を全染色体について調査した．

qWK 1-2 近傍マーカーを開発するため，第 1 染色体の QTL 候補領域である RM 5931 から RM 1387 の間においては， SSR マーカーの他に，CAPS マーカーを用いて，「チヨニシキ」と「越路早生」の間にみられる多型を調査した．

SSR マーカーを用いた多型解析では，PCR による DNA の増幅，電気泳動による遺伝子型の識別は第 1 節と同様に行った．CAPS マーカーを用いた多型解析では，第 1 節と同様に PCR により DNA を増幅した後，96 穴プレートに PCR 産物を 10 μL，10×バッファー 1.2 μL，制限酵素 (*Alu* I，*Hae*Ⅲ，*Mbo* I) 2 units をそれぞれ入れ，滅菌水を加えて 1 穴当たり 12 μL に調整した．96 穴プレートは 37℃のインキュベーターに入れ，3 時間反応させ制限酵素処理を行った．電気泳動による遺伝子型の識別は第 1 節と同様に行った．

3．戻し交雑自殖系統を用いた後代検定

3－1．戻し交雑自殖系統の作成

後代検定に供試する戻し交雑自殖系統は，DNA 選抜を行いながら「チヨニシキ」を反復親として戻し交配を繰り返して作成した（図 4-7）．

2004 年に，高温条件下における背白米発生に関与す

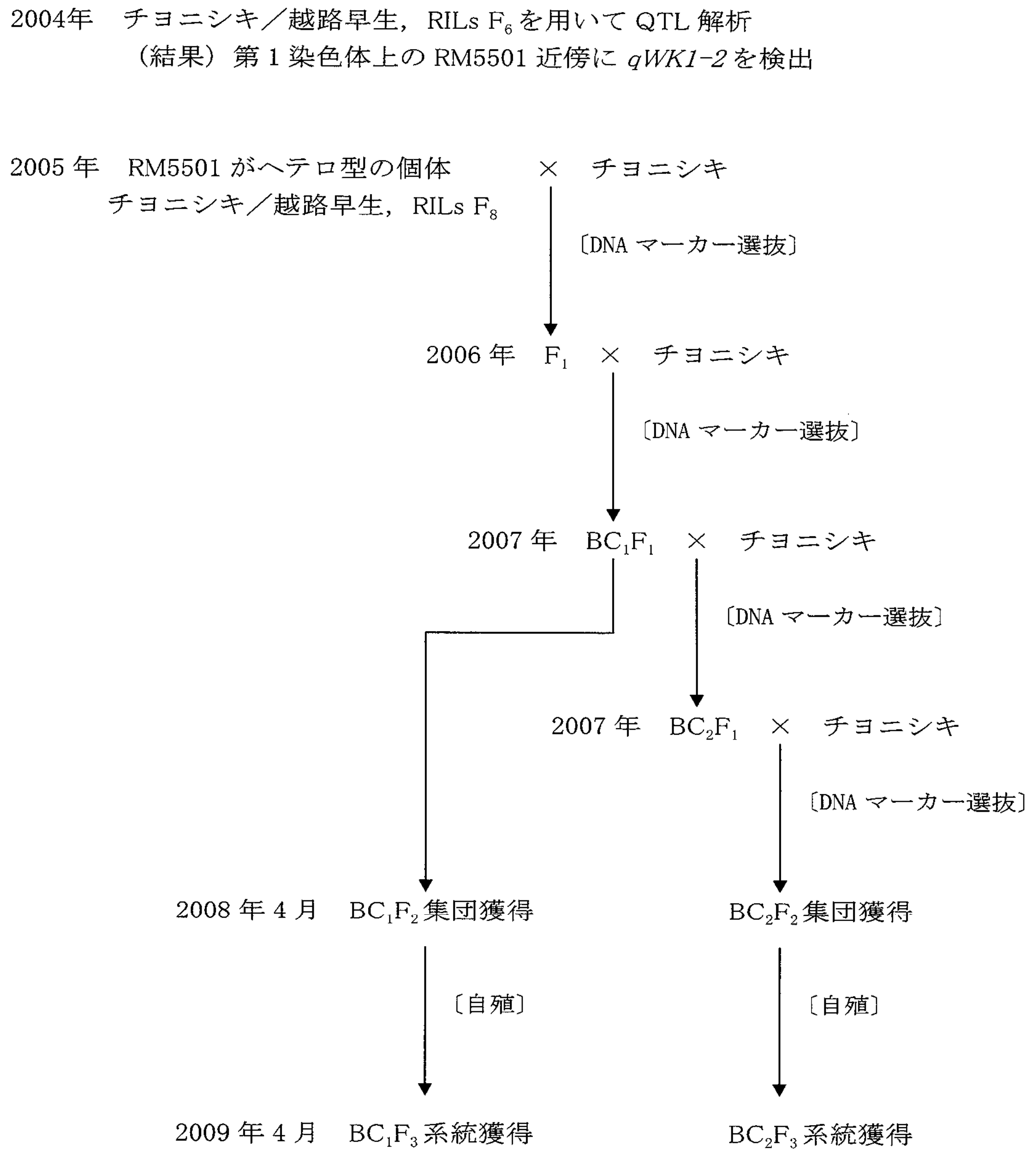


図 4 － 7　後代検定のための材料育成過程

る QTL の *qWK 1-2* を検出した．2005 年 8 月に，チヨニシキ／越路早生の RILs F_8 において，*qWK 1-2* に連鎖する SSR マーカー RM 5501 の遺伝子型がヘテロ型である F_8 系統の個体に「チヨニシキ」を交配して F_1 を作成した．2006 年に，DNA マーカーを用いた幼苗検定により RM 5501 の遺伝子型がヘテロである F_1 個体を選抜し，「チヨニシキ」を交配して BC_1F_1 を作成した．2007 年に，DNA マーカーを用いた幼苗検定により RM 5501 の遺伝子型がヘテロである BC_1F_1 を選抜し，「チヨニシキ」を交配して BC_2F_1 を作成した．

本研究では，*qWK 1-2* の近傍マーカーである SSR マーカー RM 5501 を中心に，短腕側に 2,651,001 kb 離れた RM 11694 と長腕側に 4,532,180 kb 離れた RM 1361 の間を背白米発生に関与する QTL の候補領域とした．BC_2F_1 種子 288 粒を播種し，DNA マーカーを用いた幼苗検定によって，候補領域である RM 11694 と RM 1361 の間がヘテロ型である BC_2F_1 個体を選抜し，世代促進した．2008 年に，BC_2F_1 個体から採取した種子を 2000 粒播種し，DNA マーカーを用いた幼苗検定によって，候補領域である RM 11694 と RM 1361 の間について，RM 11694 から RM 1361 の間が越路早生型(タイプ 1)，RM 128 から RM 6696 の間が越路早生型(タイプ 2)，RM 11694 から RM 3825 の間が越路早生型(タイプ 3)，RM 128 から RM 265 の間が越路早生型(タイプ 4)，RM 128 から RM 5501 の間が越路早生型(タイプ 5)，RM 11694 から RM 5501 の間が越路早生型(タイプ 6)の遺伝子型が 6 つのタイプの組み合わせをもつ BC_2F_2 個体を獲得した．また，BC_2F_2 個体は自殖し，2009 年に BC_2F_3 系統を作成した(表 4-2)．

表 4 － 2　後代検定に供試した BC_1F_2 個体および BC_1F_3，BC_2F_3 系統の候補領域の遺伝子型

染色体上の位置(bp)		30664077	31044359	32495852	33653794	36304795	36953463	38227070	39977839	40836975	41963580
SSRマーカー		RM3817	RM5931	RM128	RM11694	RM5501	RM265	RM3825	RM6696	RM1361	RM1387
BC_1F_2個体		C	C	C	K	K	K	K	K	K	C
BC_1F_3系統およびBC_2F_3系統	タイプ1	C	C	C	K	K	K	K	K	K	C
	タイプ2	C	C	K	K	K	K	K	K	C	C
	タイプ3	C	C	C	K	K	K	K	C	C	C
	タイプ4	C	C	K	K	K	K	C	C	C	C
	タイプ5	C	C	K	K	K	C	C	C	C	C
	タイプ6	C	C	C	K	K	C	C	C	C	C

K	越路早生型
C	チヨニシキ型

3 － 2．高温処理および背白米発生率の調査

本研究では，高温条件下における背白米発生率に関与する QTL の効果を確認するため，QTL 候補領域における戻し交雑自殖系統を供試して後代検定を行った．2008 年に，QTL 候補領域である RM 11694 と RM 1361 の間がチヨニシキ型および越路早生型の BC_1F_2 個体を供試し，2009 年に，QTL 候補領域である RM 11694 と RM 1361 の間の遺伝子型が 6 タイプの BC_1F_3 系統および BC_2F_3 系統を供試した．

高温処理は，茨城県水戸市の茨城県農業総合センター農業研究所内において設置されたガラス温室を用い，第 2 章で確立した手法と同様に行った．栽培方法および高温処理は第 1 節と同様に行った．2008 年 6 月 10 日に，両親品種および候補領域がチヨニシキ型と越路早生型の BC_1F_2 個体の苗を各 10 個体ずつ 2 反復で栽培し，高温処理は 7 月 31 日から 9 月 30 日まで行った．翌年の 2009 年 7 月 1 日には，両親品種および候補領域の遺伝子型が 6 タイプの BC_1F_3 系統および BC_2F_3 系統を播種し（各遺伝子型のタイプにつき 8 個体ずつ 2 反復），高温処理は 8 月 1 日から 9 月 30 日まで行った．

調査は第 1 節と同様に行った．なお，本研究における解析では，統計量を求めるものではなく，背白米発生率に関与する QTL の効果を検証することを目的とするため，全玄米に対する背白米の発生率を逆正弦変換しなかった．

結　果

1．高温年の水田圃場で栽培した RILs F_6 およびガラス温室で高温処理した RILs F_7 を用いた QTL 解析

「チヨニシキ」および「越路早生」の出穂期は 8 月 2 日および 7 月 28 日であり，チヨニシキ／越路早生の RILs F_6 の出穂期は 7 月 23 日～8 月 3 日の範囲であった（RILs F_6 107 系統の出穂期の平均 7 月 28 日）．出穂後 20 日間の高温は水稲玄米の登熟に最も影響を及ぼ

すとされるが（長戸・江幡 1965），両親品種および RILs F_6 の全てが出穂後 20 日間を経過する期間（7 月 24 日～8 月 23 日）における水田圃場での日平均気温は 20.8℃～30.7℃（平均 26.7℃）であり，この期間のつくば市における日平均気温の準平年値の 25.4℃～26.1℃（平均 25.6℃）より高く推移した．特に，8 月 2 日～8 月 17 日の平均気温の高さは顕著であり，準平年の気温に比べて 1.8℃～5.1℃高く推移し，2007 年は水稲玄米に高温障害が発生しやすい条件だったといえる（図 4-8）．

2007 年は供試品種・系統の登熟期間が高温で推移したため，背白米発生率は「チヨニシキ」が 45%，「越路早生」が 1.5%であり，両親間で発生率に大きな差異がみられた．チヨニシキ／越路早生の RILs F_6 における背白米の発生率にも系統間差異がみられ，供試した 107 系統の発生率は 0%～52.4%の範囲であった（平均で 19.4 %）．RILs F_6 の 107 系統における背白米の発生について，ガラス温室での発生率と（2003 年），高温年の水田圃場における発生率（2007 年）とを比較すると，相関係数 0.416**の高い相関がみられた（図 4-9）．

2005 年に，ガラス温室で RILs F_7 の 107 系統を栽培し，登熟期間中に高温処理した結果，背白米発生率は「チヨニシキ」が平均で 42.5%，「越路早生」が平均で 1.7%であり，両親間で発生率に大きな差異がみられた．RILs F_7 においても，背白米の発生に系統間差異がみられ，供試した 107 系統の背白米発生率は 6.1%～41.6%の範囲（平均で 22.1%）に分布した．ガラス温室で栽培した RILs F_6 と RILs F_7 の背白米発生率を比較すると，相関係数 0.500**の高い相関がみられた（図 4-10）．

チヨニシキ／越路早生の RILs F_6 および RILs F_7 の 107 系統の背白米発生率と，RILs F_6 の 107 系統の遺伝子型データを用い，QTL Cartographer 2.5（Wang *et al.* 2006）を用いて QTL 解析を行った．その結果，高温年の水田圃場における RILs F_6 系統およびガラス温室における RILs F_7 系統のいずれにおいても，RM 265 近傍に高温条件下における背白米の発生に関与する QTL が検出された（表 4-3）．

2．SSR マーカーを用いた高精度連鎖地図の作成および *qWK 1-2* 近傍マーカーの開発

第 1 節において，1663 個の SSR マーカーを用いて両親間の多型を調査した結果，「チヨニシキ」と「越路早

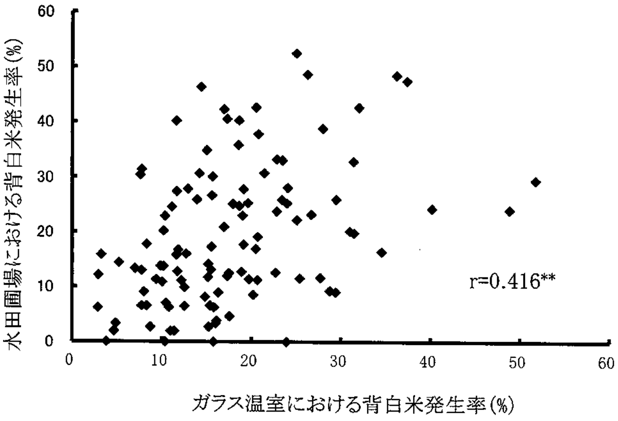
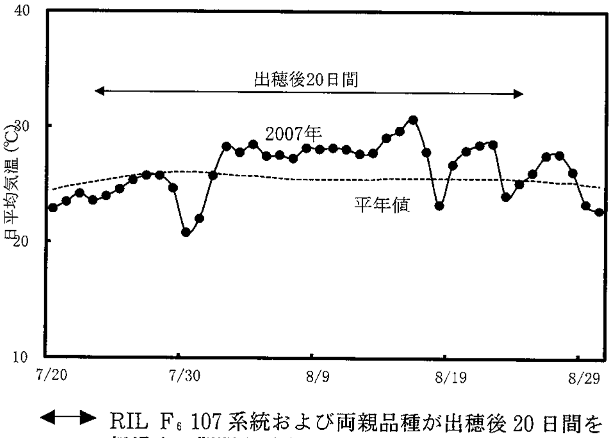


図 4 − 9　チヨニシキ／越路早生の RIL F_6 における高温年の水田圃場(2007 年)での背白米発生率とガラス温室(2003 年)での発生率の比較



←→ RIL F_6 107 系統および両親品種が出穂後 20 日間を経過する期間を示す

図 4 − 8　水田圃場における日平均気温の推移（2007 年，つくば市）

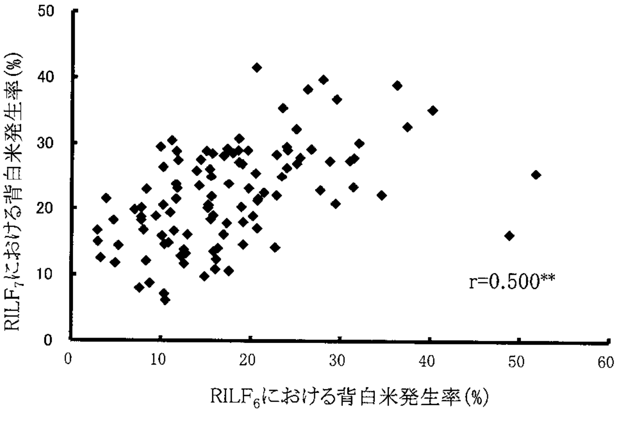


図 4 −10　ガラス温室におけるチヨニシキ／越路早生の RIL F_6 と RIL F_7 の背白米発生率の比較

生」の間に199個のSSRマーカーで多型が検出されたが，新たに922個のSSRマーカーを用いて両親間の多型を調査した結果，46個のSSRマーカーで多型が検出された．本研究において，2585個のSSRマーカーのうち245個のSSRマーカーで「チヨニシキ」と「越路早生」の間に多型が検出され，両親間の多型検出率は9.5%であった．

第1染色体上のQTL候補領域であるRM 5931からRM 1387の間で，SSRマーカーRM 11694および12個のCAPSマーカーで多型が検出された（図4-11）．

新たに検出された46個のSSRマーカーのうち34マーカー，および第1節においてQTL解析に用いた106個のSSRマーカーを合わせ，計140個のマーカーを用いて連鎖地図を構築しQTL解析した．その結果，高温条件下での背白米発生率に関与するQTLを第1染色体上（*qWK 1-1*，*qWK 1-2*），第2染色体上（*qWK 2*）および第8染色体上（*qWK 8*）に計4つ検出し，第1染色体上の*qWK 1-1*はRM 8068近傍（LOD値 3.4），*qWK 1-2*はRM 5501近傍（LOD値 5.6），第2染色体上の*qWK 2*はRM 5916近傍（LOD値 3.8），第8染色体上の*qWK 8*はRM 3702（LOD値 3.7）近傍に検出され，*qWK 8*の近傍マーカーを除き，第1節と同じSSRマーカー近傍にQTLが検出された（表4-4）．

3．戻し交雑自殖系統を用いた*qWK 1-2*の後代検定

2008年に「チヨニシキ」，「越路早生」および*qWK 1-2*の候補領域であるSSRマーカーRM 11694とRM

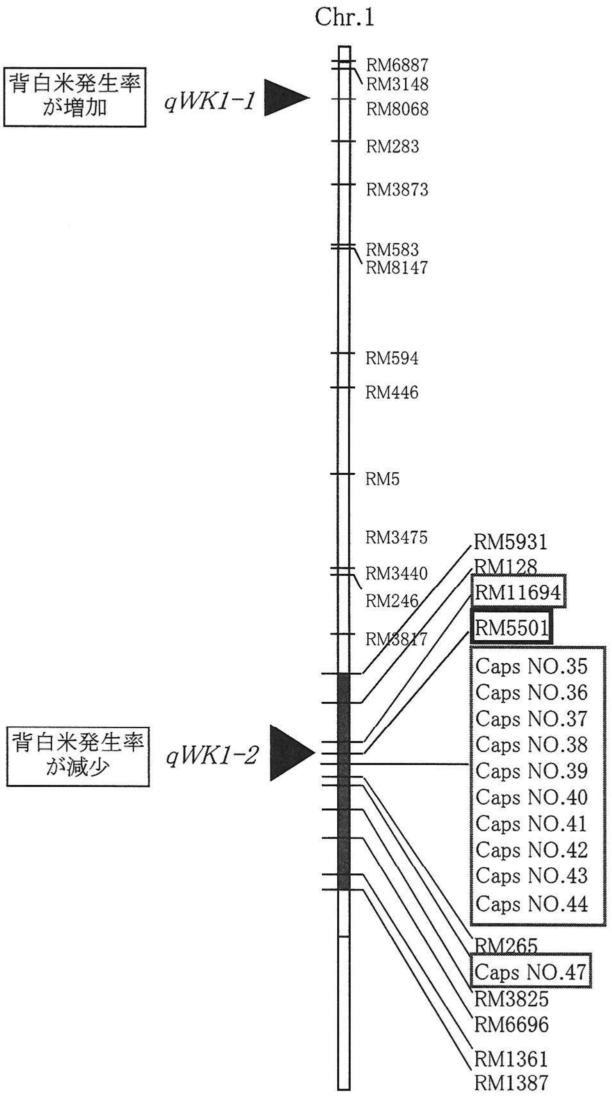


表4－11　*qWK 1-1*および*qWK 1-2*が検出された第1染色体の連鎖地図

■ *qWK1-2*の候補領域
□ ギャップ

表4－3　第1染色体上の背白米発生率に関与するQTL解析結果

供試材料	栽培場所	近傍マーカー	染色体	LOD値	相加効果[1]	寄与率(%)
RILs F_6	ガラス温室	RM 5501	1	5.6	−3.6	15.0
RILs F_7	ガラス温室	RM 265	1	4.4	−2.9	12.6
RILs F_6	水田圃場	RM 265	1	6.4	−5.2	16.6

[1] 越路早生対立遺伝子の相加効果

表4－4　背白米発生率に関与するQTL解析結果

QTL	近傍マーカー	染色体	LOD値	相加効果[1]	寄与率(%)
qWK 1-1	RM 8068	1	3.4	3.0	9.7
qWK 1-2	RM 5501	1	5.6	−3.6	14.8
qWK 2	RM 5916	2	3.8	−2.8	9.2
qWK 8	RM 3702	8	3.7	−3.0	10.2

[1] 越路早生対立遺伝子の相加効果

1361 の間が両親型の BC_1F_2 個体をガラス温室内で栽培し，登熟期に高温処理した結果，両親となった品種である「チヨニシキ」の背白米の発生率は 39.0%と高く，「越路早生」の発生率は 0.4%と低かった．BC_1F_2 個体について，候補領域がチヨニシキ型である BC_1F_2 個体の発生率は 36.9%であり，「チヨニシキ」に近い高い発生率を示した．対して，候補領域が越路早生型である BC_1F_2 個体の発生率は 9.3%であり，「越路早生」に比べて高い発生率であったが，候補領域がチヨニシキ型の個体に比べて低い発生率を示し，両親型の BC_1F_2 個体の発生率の差に関する t 検定の結果，t=5.194***であり 0.1%水準で高い有意差が認められた（表 4-5）．

2008 年 4 月に獲得した，*qWK 1-2* を中心とした 6 タイプの遺伝子型の組み合わせの BC_1F_2 個体および BC_2F_2 個体（それぞれ 7～17 個体ずつ）を自殖し，2009 年に 4 月に，候補領域が *qWK 1-2* を中心とした 6 タイプの遺伝子型の組み合わせの BC_1F_3 系統および BC_2F_3 系統を獲得した．これらの BC_1F_3 系統および BC_2F_3 系統をガラス温室のベッドに各系統 10 個体ずつ栽培し，登熟期に高温処理した結果，両親品種である「チヨニシキ」の背白米の発生率は 24.9%と高く，「越路早生」の発生率は 1.1%と低かった．タイプ 1 からタイプ 6 までの BC_1F_3 および BC_2F_3 系統は，いずれも RM 11694 および RM 5501 が越路早生型であったが，背白米発生率は 1.4%から 14.5%の範囲となり，「チヨニシキ」に比べて低い発生率となった．なかでも RM 11694 から RM 1361 の間が越路早生型であるタイプ 1 の系統の発生率は 1.4%と極めて低く「越路早生」に近い値となった．タイプ 1 からタイプ 6 までの全ての系統と両親の背白米発生率について Tukey 法により多重検定した結果，タイプ 1 および「越路早生」(a)，タイプ 2，3，4，5 および 6 (b)，「チヨニシキ」(c)の 3 つのグループに分類された．タイプ 2 からタイプ 6 までの系統が属するグループ(b)では，「チヨニシキ」(c)とは背白米発生率が有意に異なり，いずれも RM 11694 および RM 5501 が越路早生型であった．「越路早生」と同じグループ(a)に属するタイプ 1 の系統では RM 1361 が越路早生型であるのに対し，その他の系統ではこのマーカーはチヨニシキ型であった（表 4-6）．

表 4 － 5　背白米発生 QTL の候補領域が両親型の BC_1F_2 個体の背白米発生率

染色体上の位置(bp)	31044359	32495852	33653794	36304795	36953463	38227070	39977839	40836975	41963580		
SSRマーカー	RM5931	RM128	RM11694	RM5501	RM265	RM3825	RM6696	RM1361	RM1387	背白米発生率(%)	
										平均値	標準偏差
BC_1F_2個体	C	C	K	K	K	K	K	K	C	9.3	5.5
	C	C	C	C	C	C	C	C	C	36.9	13.1
越路早生	K	K	K	K	K	K	K	K	K	0.4	0.9
チヨニシキ	C	C	C	C	C	C	C	C	C	39.0	12.8

K 越路早生型
C チヨニシキ型

考　察

本研究における表現型データおよび QTL 解析の再現性を確認するため，高温年に RILs F_6 系統を水田圃場で栽培し，また，世代を進めた RILs F_7 系統をガラス温室で栽培して高温処理をし，これらの F_6 および F_7 世代について，高温条件下における背白米の発生率に関与する QTL 解析を行った．RILs F_6 を水田圃場で栽培した 2007 年は夏期の気温が平年より高く推移し，特に，RILs F_6 が出穂後 20 日間を経過する期間は，水田圃場の日平均気温が 20.8℃～30.7℃(平均 26.7℃)となり，この期間のつくば市における日平均気温の平年値の 25.4

表 4 － 6　背白米発生 QTL の候補領域が両親型の BC_1F_3 およびBC_2F_3 系統の背白米発生率

染色体上の位置(bp)	30664077	31044359	32495852	33653794	36304795	36953463	38227070	39977839	40836975	41963580			
SSRマーカー / 候補領域の遺伝子型タイプ	RM3817	RM5931	RM128	RM11694	RM5501	RM265	RM3825	RM6696	RM1361	RM1387	背白米発生率(%)		多重検定(Tukey法)
											平均値	標準偏差	
タイプ1	C	C	C	K	K	K	K	K	K	C	1.4	1.7	a
タイプ2	C	C	K	K	K	K	K	K	C	C	11.6	3.2	b
タイプ3	C	C	C	K	K	K	K	C	C	C	7.0	5.5	b
タイプ4	C	C	K	K	K	K	C	C	C	C	13.1	5.3	b
タイプ5	C	C	K	K	K	C	C	C	C	C	11.4	6.6	b
タイプ6	C	C	C	K	K	C	C	C	C	C	14.5	6.0	b
チヨニシキ	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	24.9	7.4	c
越路早生	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	1.1	3.0	a

K 越路早生型
C チヨニシキ型

℃～26.1℃（平均 25.6℃）と比較しても，2007 年は水稲玄米に背白米が発生しやすい気温であった．従って，ガラス温室での背白米発生率（2003 年：水戸市）と水田圃場での背白米発生率（2007 年：つくば市）の間に高い正の相関がみられた（図 4-9）．また，ガラス温室を利用して RILs F_7 系統を高温処理した結果，ガラス温室での RILs F_6 系統の背白米発生率と RILs F_7 系統の背白米発生率の間にも高い正の相関がみられた（図 4-10）．これらの結果は，第 1 節において QTL 解析に用いた背白米発生率のデータが信頼性の高いものであることを示す．水田圃場における RILs F_6 系統およびガラス温室における RILs F_7 系統の背白米発生率のデータを用いて QTL 解析した結果，第 1 染色体上の RM 5501 から長腕側に 648,668 bp 離れ，連鎖地図上において RM 5501 の一つ下に配置した SSR マーカー RM 265 近傍に，高温条件下での背白米発生に関与する効果の高い QTL が検出された．従って，本研究においては，第 1 染色体上の RM 5501 および RM 265を含むRM5931から RM1387 の間を QTL 候補領域とすることとし，*qWK 1-2* 近傍マーカーの開発を試みた結果，RM 128 と RM 5501 との間に 1 個の SSR マーカー，RM 5501 から RM 265 の間に11個のCAPSマーカー，RM 265 と RM 3825 の間に 1 個の CAPS マーカーを配置した．

また，全染色体について「チヨニシキ」と「越路早生」の多型を調査し，高精度な連鎖地図の作成を試みた結果，新規に 34 個の SSR マーカーを配置したが，各染色体のマーカー間のギャップは大きく解消されず，QTL 解析した結果は第 1 節と同じであった．本研究では「チヨニシキ」と「越路早生」，およびその交雑後代を遺伝解析の材料として用いており，これらは日本産の栽培品種である．本研究では SSR マーカーを中心として多型解析をしており，他のマーカーを用いた多型解析により確認する必要があるが，「チヨニシキ」と「越路早生」には遺伝的背景に差異が認められない領域が存在するものと推察された．

qWK 1-2 について後代検定するため，チヨニシキを反復親とした BC_1F_2 個体を作成し，ガラス温室を利用して高温処理した結果，SSR マーカー RM 11694 から RM 1361 の間がチヨニシキ型である個体は「チヨニシキ」と同程度に背白米の発生率が高く，2 つのマーカー間が越路早生型である個体は「越路早生」に比べて高いが，背白米の発生率は低い値を示したため，RM 128 から RM 1387 の間に高温条件下での背白米の発生を抑制する QTL が存在する可能性が示唆された（表 4-5）．そこで，RM 128 から RM 1387 の間の遺伝子型が 6 タイプの BC_1F_3 系統および BC_2F_3 系統を作成し（表 4-2），ガラス温室を利用して高温処理した結果，全ての系統は「チヨニシキ」より低い発生率であった．Tukey 法により多重検定した結果，これら 6 タイプの系統は，「チヨニシキ」に比べて背白米の発生率が有意に低いグループに分類されたことから，これらが共通して越路早生型をもつ RM 11694 および RM 5501 を挟む RM 128 と RM 265 の間に背白米の発生を抑制する QTL が存在する可能性が示唆された．

タイプ 1 の越路早生ホモ型系統は背白米発生率が 1.4 %であり，他の系統(タイプ 2，3，4，5)に比べて有意に低かった．タイプ 1 のみが他と異なり，越路早生型を持つマーカーは RM 1361 だけであることから，RM 1361 を挟む RM 6696 と RM 1387 の間にも背白米の発生を抑制する QTL が存在する可能性が示唆された（表 4-6）．

本研究において， QTL 候補領域のマーカーの開発を試みた結果，RM 128 から RM 265 の間に 11 個の CAPS マーカーで多型がみられた（図 4-11）．今後，RM 6696 から RM 1387 の間にも多型を示すマーカーを配置するとともに，戻し交雑を繰り返し，遺伝背景を均一にした材料を用いて，目的とする背白米発生関連 QTL の存在領域について詳細に検証する必要がある．

第 3 節　登熟期の高温による背白米発生の耐性に関する系譜図に基づく解析

DNA マーカーを利用したマーカー選抜育種法による高温耐性品種の育成に寄与するため，「チヨニシキ」と「越路早生」の組合せの交雑後代を用いて，登熟期の高温条件下における背白米の発生に関与する QTL 解析を行った結果，第 1 染色体上の SSR マーカー RM 5501 近傍に背白米の発生を抑制する効果の高い QTL（*qWK 1-2*）を検出した．

「越路早生」は背白米の発生に対する耐性遺伝子を有するが，本研究において QTL 解析に用いた両親品種の「越路早生」および「チヨニシキ」は，日本で育成された栽培品種であるため，「越路早生」は在来品種から耐性遺伝子を受け継いでいる可能性がある．そこで本研究

では，「チヨニシキ」と「越路早生」のそれぞれの系譜にかかる品種においてRM 5501の遺伝子型を調査した．

材料および方法

登熟期の高温条件下において背白米が多発する高温耐性が弱の早生品種「チヨニシキ」とその系譜にかかる40品種を調査した．高温条件下においても背白米が発生しにくい高温耐性が強の早生品種「越路早生」とその系譜にかかる14品種を供試した．

各品種の幼苗からCTAB法によりDNAを抽出し，PCR反応に用いた．プライマーはSSRマーカーのRM 5501を用い，PCRによって増幅したDNAは7.5%ポリアクリルアミドゲルによる電気泳動(200 V，200分間)を行った後，臭化エチジウムブロマイド染色によって遺伝子型を識別した．なお，遺伝子型の調査方法は第4章第1節と同様に行った．

結　果

1．「越路早生」の系譜図に基づく解析

高温条件下における背白米発生に対する耐性が強であり，本研究の遺伝解析の供試材料として用いた「越路早生」とこれらの系譜にかかる14品種について，RM 5501の遺伝子型を調査した結果を図4-12に示す．

「越路早生」の系譜にかかる品種のバンドパターンをみると，「越路早生」の母本品種である「農林22号」は越路早生型であったが，父本品種の「農林1号」はチヨニシキ型であった．「農林22号」の系譜にかかる品種のバンドパターンをみると，「農林22号」の親品種である「農林6号」および「農林8号」はいずれも越路早生型であった．「農林6号」の母本品種である「上州」はチヨニシキ型であり．父本品種である「撰一」は，チヨニシキ型および越路早生型とは異なるバンドパターンを示したが，「撰一」の由来となる「器量好」のバンドパターンは越路早生型であった．「農林8号」の系譜にかかる品種のバンドパターンをみると，父本品種の「朝日」，その由来となる「日の出」，および母本品種の「銀坊主」は越路早生型であった．「愛国」には複数の系統があり，これらのRM 5501のバンドパターンにはチヨニシキ型を示すものと越路早生型を示すものがみられた．「銀坊主」の遺伝子型から，越路早生型の「愛国」が由来であると推察される．

越路早生型の品種における背白米の発生率は，第4章の結果から，「農林22号」が2.7%，「農林6号」が1.8%，「農林8号」が3.3%，「銀坊主」が9.4%，「朝日」が2.8%，「愛国」が1.2%および42.2%であった．「日の出」の発生率は未確認であるが，越路早生型の品種の背白米発生率は低い傾向がみられた．

2．「チヨニシキ」の系譜図に基づく解析

高温条件下における背白米発生に対する耐性が弱であり，本研究の遺伝解析の供試材料として用いた「チヨニシキ」の系譜にかかる40品種について，RM 5501の遺伝子型を調査した結果を図4-13に示す．

「チヨニシキ」の系譜にかかる品種のRM 5501のバ

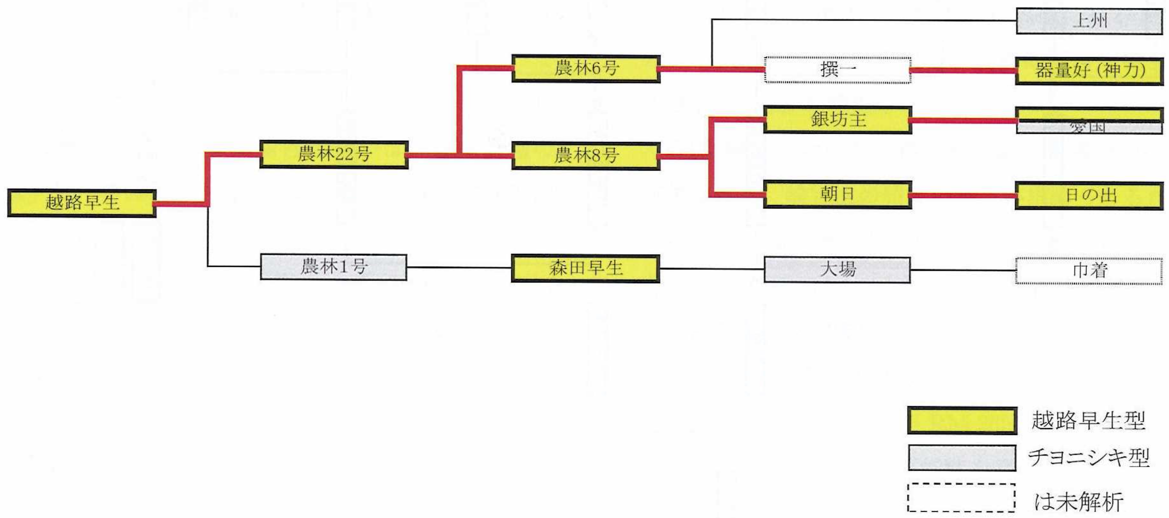


図4－12　SSRマーカーRM 5501の遺伝子型による「越路早生」の系譜的解析

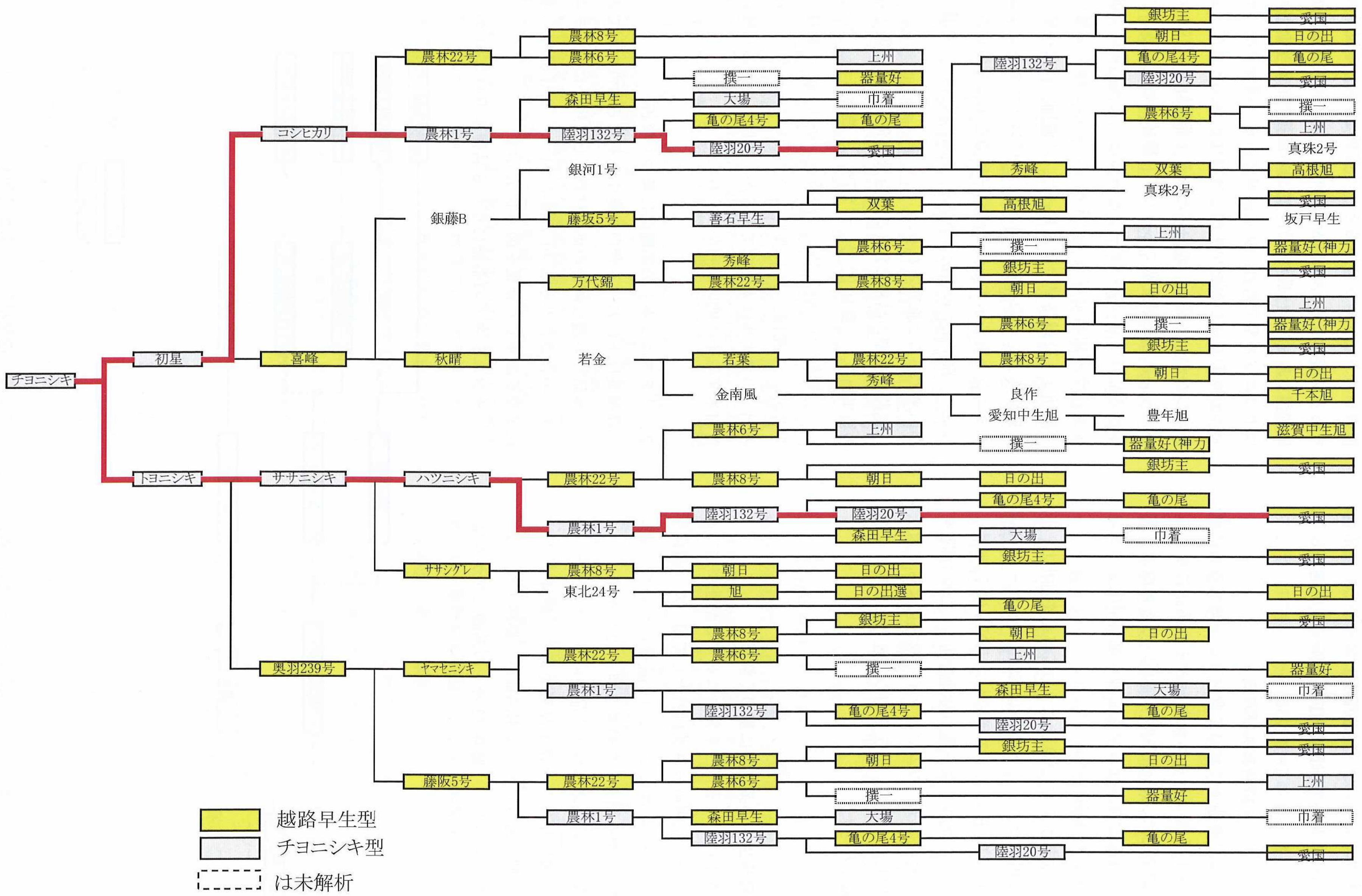


図4－13　SSR マーカー RM 5501 の遺伝子型による「チヨニシキ」の系譜的解析

ンドパターンをみると，「チヨニシキ」の親品種である「初星」および「トヨニシキ」のバンドパターンは，いずれもチヨニシキ型であった．母本品種の「初星」の系譜にかかる品種のバンドパターンをみると，「コシヒカリ」，「農林1号」，「陸羽132号」，「陸羽20号」がチヨニシキ型であった．父本品種の「トヨニシキ」の系譜にかかる品種のバンドパターンをみると，「ササニシキ」，「ハツニシキ」，「農林1号」，「陸羽132号」，「陸羽20号」がチヨニシキ型であった．「陸羽20号」は「愛国」を純系分離して得た品種であるが，RM 5501がチヨニシキ型のバンドパターンを示す「愛国」に由来すると推察された．

チヨニシキ型の品種における背白米の発生率は，第4章の結果から，「ササニシキ」が42.2%，「ハツニシキ」が17.9%，「コシヒカリ」が11.3%，「初星」が37.6%，「農林1号」が4.4%，「陸羽132号」が15.4%，「陸羽20号」が9.6%，「愛国」が1.2%および42.2%であった．「トヨニシキ」の発生率は未確認であるが，チヨニシキ型の品種は背白米発生率が概ね高い傾向がみられたが，発生率には顕著な品種間差異が認められた．

考　察

本研究において，「チヨニシキ」と「越路早生」の組合せの交雑後代を用いて，登熟期の高温条件下における背白米の発生に関与するQTLを第1染色体上のSSRマーカーRM 5501近傍に検出した．背白米の発生に対する耐性遺伝子を有する「越路早生」は栽培品種であるため，在来品種から耐性遺伝子を受け継いでいる可能性がある．「越路早生」の系譜にかかる品種においてRM 5501のバンドパターンを調査した結果，「越路早生」の背白米発生に対する耐性遺伝子は，在来品種の「愛国」，「日の出」，「器量好」に由来する可能性が示された．

在来品種の「愛国」には複数の系統があり，RM 5501のバンドパターンをみると，越路早生型の系統とチヨニシキ型の系統とに分かれ，「チヨニシキ」はチヨニシキ型の「愛国」に由来し，「越路早生」は越路早生型の「愛国」に由来していると推察された．

また，「コシヒカリ」は，親品種を「農林22号」と「農林1号」とする「越路早生」の姉妹系統であるが，本研究の結果から，「コシヒカリ」のバンドパターンはチヨニシキ型であり，背白米発生を抑制する *qWK 1-2* を保持しないことが判明した．日本の主力品種である「コシヒカリ」については，近年，登熟期の高温よる玄米品質の低下が多くの産地で問題となっている．本研究で検出した背白米発生を抑制する *qWK 1-2* は，早生熟期の品種の組み合わせから検出したものであり，今後，出穂期や成熟期の違いによる背白米の発生に対する影響を検証する必要があるが，*qWK 1-2* の導入により「コシヒカリ」の高温耐性を強化する可能性も期待される．

第4節　QTL解析のまとめ

高温条件下における背白米および基白米の発生は，他の多くの量的形質のなかでも遺伝率が低いが，背白米発生率と基白米発生率に関する遺伝パラメーターを比較すると，背白米は基白米に比べて相加分散成分および遺伝率が高く，また，背白米と基白米の発生率の間には正の遺伝相関があり，同時に改良することが可能であることが判明した．そこで本研究では，背白米発生をターゲットとし，DNAマーカー選抜による高温耐性品種の効率的な育成に寄与するため，チヨニシキ／越路早生の組換え自殖系統群（RILs）を用いて，登熟期の高温条件下における背白米の発生に関与するQTL解析を行った．

ガラス温室を利用してRILs F_6系統（2003年）およびRILs F_7系統（2005年）を高温処理し，また，高温年（2007年）にRILs F_6系統を水田圃場で栽培し，得られた背白米発生率の表現型データを用いてQTL解析を行った結果，第1染色体上の長腕側にあるSSRマーカーRM 5501およびRM 265近傍に背白米発生率を低下させるQTLを検出した．

QTL解析において，再現性のある表現型の評価は不可欠であり，検定法の精度の高さが求められるが，ガラス温室で高温処理したRILs F_6系統とRILs F_7系統の背白米発生率には1％水準で有意な相関が認められ，また，高温年の水田圃場で栽培した表現型データも合わせ，計3回のQTL解析結果がほぼ一致したことは，第1染色体上のRM 5501およびRM 265を含む候補領域に高温耐性QTLが存在する可能性を高く示す．

本研究（第3章）における統計遺伝学的解析の結果から，高温条件下における背白米発生率の広義の遺伝率は，

他の多くの量的形質の遺伝率と比べて小さく，高温耐性QTLは作用力が大きくないと推察される．検出した高温耐性QTLの効果を確認するとともに，その存在領域を明らかにするため，戻し交配とDNAマーカー選抜を繰り返し，RM 5501およびRM 265を含むQTL候補領域を越路早生型に置換し，その他の遺伝背景をチヨニシキ型に均一にした戻し交配自殖系統を作成し，ガラス温室を利用して高温処理した．その結果，ターゲットとする高温耐性QTLの効果を確認することができ，第1染色体上のRM 128からRM 265の間とRM 6696とRM 1387の間に2つの高温耐性QTLが存在する可能性が認められ，*qWK 1-2*は複数のQTL遺伝子から成ると推察された．

Kobayashi et.al（2007）は，「ハナエチゼン」と「新潟早生」の組み合わせを用いて，第6染色体上のSSRマーカーRM 2615近傍に背白米の発生を抑制するQTLを検出している．このマーカーについては「チヨニシキ」と「越路早生」の間においても多型がみられ，本研究で作成した連鎖地図上にも配置しているが，QTL解析した結果，第6染色体上に背白米の発生に関与するQTLは検出されず，また，QTL解析に供試したRILs F_6とRILs F_7について，RM 2615の遺伝子型によりチヨニシキホモ型の系統と越路早生ホモ型の系統に分類し，これらの背白米発生率を比較したが2つの系統の発生率には有意な差がみられなかった．従って，「チヨニシキ」と「越路早生」の組み合わせで検出した高温耐性QTLは，「ハナエチゼン」と「新潟早生」の組み合わせで検出したQTLとは異なるものであると判断できる．

QTL解析に供試したRILsの交配親に用いた「チヨニシキ」と「越路早生」の系譜にかかる品種について，*qWK 1-2*近傍のSSRマーカーRM 5501のDNAバンドパターンを調査した結果，RM 5501が越路早生型の品種は高温条件下での背白米発生率が低い傾向がみられた．高温条件下でも背白米発生率が低い「越路早生」の親品種は農林22号と農林1号であり，「越路早生」は「コシヒカリ」の姉妹系統であるが，本研究において検出した高温耐性QTLの近傍マーカーについて，「コシヒカリ」のバンドパターンはチヨニシキ型であり，「コシヒカリ」は検出した高温耐性QTLを保持していない．従って，戻し交配とDNAマーカー選抜の組み合わせによって，遺伝背景を「コシヒカリ」とし，高温耐性QTL領域のみを「越路早生」に置換した同質遺伝子系統の育成により，「コシヒカリ」の高温耐性の強化が期待できる．また，Kobayashi *et.al*（2007）が検出した第6染色体上の高温耐性QTLは本研究において検出した第1染色体染色体上のQTLとは異なることから，これらのQTLを併せ持つ同質遺伝子系統の育成により，高温耐性がより強化される可能性もある．

本研究において，第1染色体上の長腕側に2つの背白米発生関連QTLが存在すると推察された．今後，DNAマーカーを利用した高温耐性育種の実現に向け，後代検定を進めて目的とするQTLの座上領域を特定するとともに，その領域での両親間の塩基配列の差異を詳細に調査しマッピングする必要がある．

第5章　総合考察

1．地球温暖化による我が国の稲作への影響とその解決法

水稲は登熟期に高温に遭遇すると背白米，基白米および乳白米が多発し，玄米外観品質が著しく低下する（長戸・江幡 1965，Tashiro and Wardlaw 1991，寺島ら 2001，松村 2005，若松ら 2007）．水稲における高温障害の発生要因は，夏期の高温化だけではないことも指摘されている（農林水産省 2006）．第1章で示したように，茨城県における水稲の栽培体系は，近年，田植時期が前進化しているため，水稲の出穂期が夏期の高温期に重なり，高温障害が発生しやすい条件になっている．また，食味を重視する栽培法では施肥量を抑制するため，生育後期における稲体登熟能の早期凋落，その他，地力低下や作土層の浅耕化，早期落水による根の活力の低下が原因となり，水稲の高温障害が助長される（松村 2005）．水稲の高温登熟障害を回避または軽減するためには，登熟期間中に健全な稲体と活力ある根を維持させることが重要であり（田畑ら 2008），栽培管理にあたっては，作土深 15 cm を確保し根域を広くすること，中干しにより土壌中に酸素を供給し根の活力を保持すること，生育診断によって穂肥の時期や施肥量を判断し適正な穂肥を施用すること，中干し後は湛水と落水を 2～3 日ごとに交互に繰り返す間断かん水を行い根に酸素と水を供給すること，早期落水は絶対に行わないことが重要である（田畑 2009）．

しかし，我が国の稲作農家を取り巻く状況をみると，これらの栽培技術の取り組みによる高温障害の回避は困難な場合が多い．兼業農家が多く，また一方では，農地を集約し大規模経営を行う担い手が増加する傾向にある水稲作においては，作業の迅速化と効率化は重要であり，田植機やコンバインなどの農業機械は高性能化し大型化してきた．大型コンバインによる収穫では，作業性を高めるために早期落水する必要がある．また，灌漑水の利用期間は地域ごとに決められ，長期間にわたる灌水が困難な場合もある．生育中の管理においても，土地基盤整備によって大区画となった水田では，圃場内部の稲体や水の状態を確認することは困難であろう．

地球温暖化による夏期の平均気温の上昇に伴い，高温障害による水稲の被害は年々増加しているが，我が国の水稲農家が直面する営農的な問題から，栽培管理による高温障害の回避には限界がある．従って，高温耐性に優れた水稲品種を育成する重要性は高く，高温条件下でも背白米，基白米および乳白米が発生しにくい品種の育成は喫緊の課題である．

高温条件下における背白米および基白米の発生の程度には品種間差異があることから（長戸ら 1961，長戸・江幡 1965，岩下ら 1973，飯田ら 2002，石崎 2006），これらの形質は遺伝的に改良可能である．ガラス室で高温処理することで，乳白米の発生にも品種間差異がみられるが（田畑・西村 2006），単位当たりの籾数の増加や（高橋 2004），日射量の不足（坂田ら 2004，近藤ら 2005，小谷ら 2006），同化産物の供給能力の低下（小葉田ら 2004）によっても乳白米は増加することが知られ，その発生要因は複雑である．長戸（1973）は，背白米の発生がみられる場合は，他の米粒も高温による障害のため，光沢が劣り，基白米の発生も多く，糠層が厚く，搗精歩留も低く，従って，背白米が発生するような品種は登熟期の高温に全く適さない品種であるとしている．そこで本研究では，背白米および基白米の発生に着目し，高温耐性品種の育成について検討するため，水稲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に関する遺伝解析を行うとともに，本研究から得られた結果を基に，今後の高温耐性品種の育種戦略および高温耐性の研究方向について考察した．

2．高温耐性検定法の確立と耐性遺伝資源の探索

登熟期に高温に遭遇しても，背白米および基白米が発生しにくい品種を効率的に育成するためには，水稲の品種・系統がもつ高温条件下での背白および基白の発生に対する耐性を正確に評価する必要がある．これまでに，高温による背白米および基白米の発生に対する耐性を評価するため，水田にビニールハウスを設置してハウスの内の外との玄米品質を比較したり（重山ら 1999），人工気象室および温水循環施設を利用し，登熟期間中に高温処理することで，玄米品質を低下させ，品種間差異を明らかにしている（石崎 2006）．

出穂後 20 日間の気温は水稲の玄米品質の低下に影響を与え，この期間の日平均気温が 27～28℃以上になる

と，背白米および基白米が多発するとされている（長戸・江幡 1965，若松ら 2007）．しかし，北関東に位置する茨城県では，これまでにも高温年では水稲の玄米品質が低下する被害が多発したが，平年における日平均気温は25℃前後であり，必ず水稲の高温障害が発生する気象条件ではない．そこで，本研究では，ガラス温室を利用して水稲に高温処理をすることで，高温年の水田圃場における背白米および基白米の発生を再現するとともに，換気窓からの距離など，処理温度が異なると予想される栽培位置に留意することで，より正確な高温耐性の判定を可能とした．この高温耐性検定法はベッド上に密植栽培するため，少ない面積で多数の供試品種および系統を検定することが可能である．今後，高温耐性品種を効率的に育成するため，育種母本のスクリーニング，育成系統の高温耐性の評価および高温耐性の遺伝解析に活用できる．

茨城県では晩生品種を栽培する場合，登熟期が高温ではないため，これまで高温障害が発生していなかった．また，中生品種のコシヒカリについても，県北地域では高温障害の被害は小さい．しかし，温暖化は年々進行しており，近い将来，中生および晩生品種であっても登熟期に高温に遭遇する気象条件になる可能性があるため，中生，晩生熟期についても高温耐性品種を育成する必要があろう．

本研究では，高温耐性品種の育種法について考察するため，高温下での背白米および基白米発生率に顕著な差異がある「チヨニシキ」と「越路早生」の組合せの交雑後代（F_2，F_3）を用いて，高温耐性の遺伝様式の解明を試みた（田畑ら 2005）．その結果，背白米および基白米発生率の変異の分布は異なり，背白米の発生を抑制する対立遺伝子は優性であった．分散成分を求めると，背白米発生率では相加分散成分が優性分散成分より大きく，F_2とF_3の発生率の間には相関があることから，背白米の発生に対する耐性は次代に引き継がれ，遺伝的に固定できることが判明した．また，F_2世代の背白米発生率は正逆交雑間で同様な分布を示し，t検定の結果有意差はなかったことから，背白米の発生の多少に対して，細胞質の影響は少ないと推察され，交配による高温耐性の改良にあたっては，母本および父本の影響を問わないことが示された．さらに，背白米発生率の狭義の遺伝率を算出したところ，F_2世代では背白米発生が 0.350，基白米発生が 0.259 と低いが，F_3世代になると遺伝率は高くなり，固有遺伝率は背白米発生で 0.536，基白米発生で 0.411 であったことから，背白米および基白米の発生が少ない形質については，世代を進めて遺伝率を高めた後期世代での選抜が有効であることが判明した．

収量性，いもち圃場抵抗性，食味等の農業上重要な形質は，複数の遺伝子が作用する量的形質が多く，従来の交配育種によってこれらの形質を改良するには膨大な時間と労力を要する．このような量的形質を効率的に改良する育種法として，DNA マーカー選抜育種が有効であるが，そのためには目的とする形質に関与する QTL を検出する必要がある．統計遺伝学的解析の結果から，高温条件下における背白米発生に関する遺伝率は基白米発生よりも高く，また，背白米と基白米の発生には遺伝相関があり，同時に改良できる可能性が示唆されたため，本研究では高温条件下における背白米の発生を指標とし，マーカー選抜育種法による高温耐性の改良の可能性について検討することを目的に，チヨニシキ／越路早生の組換え自殖系統群（RILs）の F_6世代を用いて，登熟期の高温条件下における背白米の発生に関与する QTL 解析を行った．鵜飼（2002）は，遺伝率の低い量的形質に関して QTL 解析を行う前に，目的形質の統計遺伝学的解析を行い，相関分散，優性分散を求めることを推奨している．これにより，検出し残した QTL がないかを検討することが可能である．

ガラス温室を利用して登熟期間中に RILs F_6を高温処理した結果，RILs F_6系統の背白米発生率には系統間差異が認められ，超越分離はなく，両親の発生率の範囲内に連続して分布したことから，背白米の発生を制御する遺伝子座は複数存在すると推察された．

QTL 解析の結果，高温条件下における背白米発生に関与する QTL を *qWK 1-1*，*qWK 1-2*，*qWK 2* および *qWK 8* の計 4 つ検出し，*qWK 1-1* を除く 3 つの QTL は越路早生対立遺伝子が背白米の発生を抑制した．検出した QTL のうち，*qWK 1-2* は最も高い寄与率を示し，*qWK 1-2* に連鎖する SSR マーカー RM 5501 が越路早生型ホモの系統は，チヨニシキ型ホモの系統に比べて背白米発生率が 7.3%低かったことから，*qWK 1-2* は効果の高い QTL であると推察された(Tabata *et al.* 2007).

また，遺伝背景をチヨニシキとし，*qWK 1-2* の候補領域が越路早生である BC_1F_3 系統および BC_2F_3 系統を作成し，高温条件下における *qWK 1-2* の背白米発生の抑制効果について検証した結果，SSR マーカー座の RM 128 から RM 265 の間と， RM 6696 から RM 1387 の間に高温条件下での背白米の発生を抑制する QTL が存在する可能性が示唆された．DNA マーカー選抜育種による高温耐性品種育成の実現のため，今後，これらの QTL 候補領域に多型を示すマーカーを配置するとともに，戻し交雑を繰り返し，遺伝的背景を均一にした材料を用いて，目的とする背白米発生関連 QTL の存在領域について詳細に検証する必要がある．

3．高温耐性 QTL を利用した感受性品種の改良

本研究において遺伝解析に供試した感受性品種の「チヨニシキ」は，耐倒伏性に優れ，いもち病に強く，茨城県においては業務用米として作付面積が県内全域で早生品種の 2 割を占める重要な品種であるが，高温年では背白米の多発による玄米品質の低下により，等級が落ちることが問題となっていた．

「チヨニシキ」と「越路早生」の組み合わせを用いた第 5 章第 1 節の QTL 解析，第 2 節の後代検定の結果から，第 1 染色体上の RM 128 から RM 265 の間，および RM 6696 から RM 1387 の間に効果の高い高温耐性 QTL が存在する可能性が示され，本研究で検出した *qWK 1-2* は 2 つの QTL 遺伝子から成る可能性が認められた．

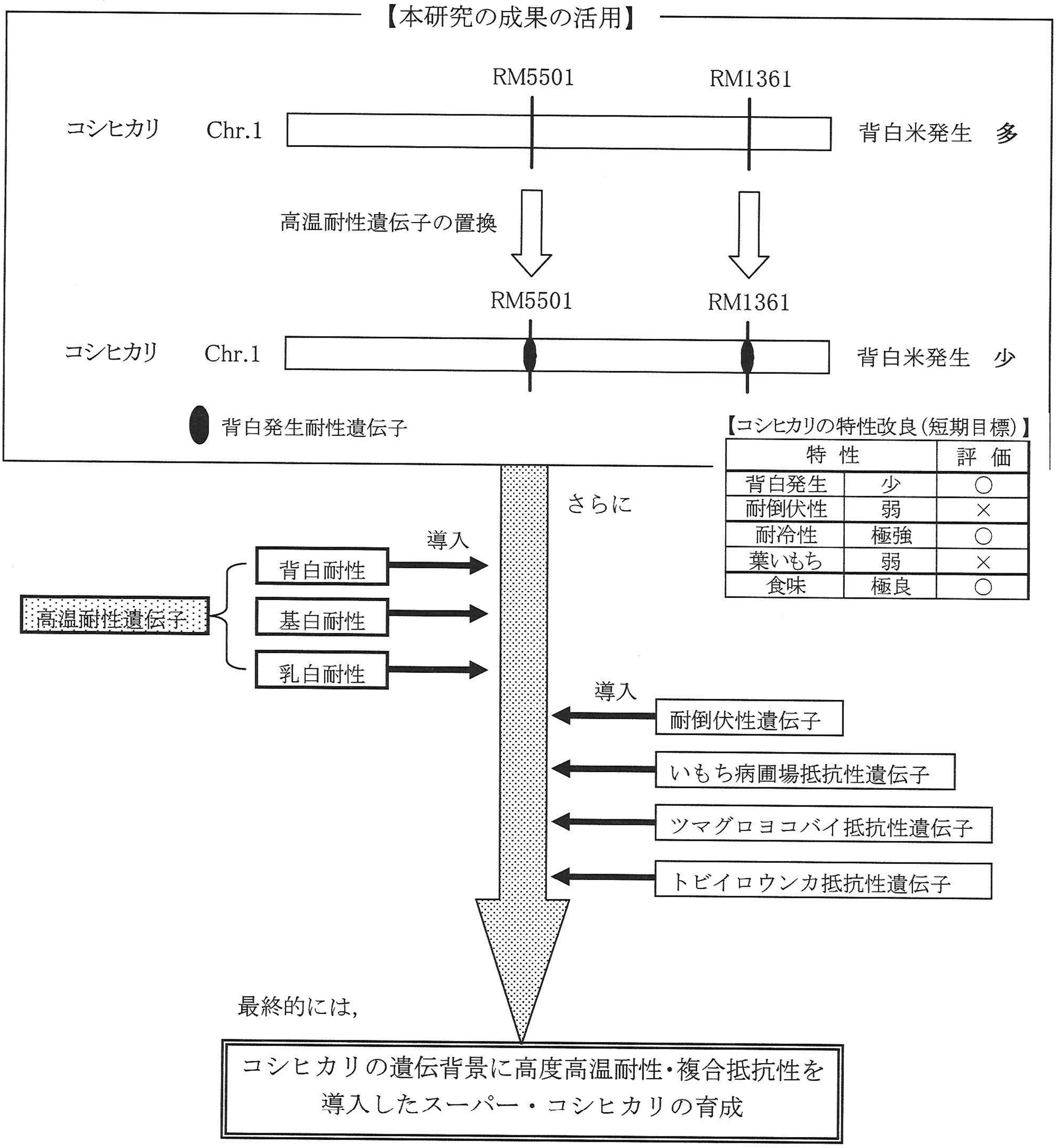
我が国の主力品種である「コシヒカリ」は，特に登熟期の気温の上昇が顕著な近年において，背白米等の多発が問題となっているが，第 4 章第 3 節において，「コシヒカリ」は本研究で検出した高温耐性 QTL（*qWK 1-2*）における耐性対立遺伝子を保持していないことが判明している．後代検定による検証をさらに進めて *qWK 1-2* の座乗領域を特定し，高温下での背白米発生に対する耐性遺伝子の単離を目指すとともに，DNA マーカー選抜と戻し交配により，「チヨニシキ」および「コシヒカリ」を遺伝背景とし，高温耐性 QTL の領域を「越路早生」に置換した同質遺伝子系統を育成することが望まれる．特に我が国の基幹品種である「コシヒカリ」への高温耐性の付与は急務であり，本研究において得た知見を基に「コシヒカリ」の高温耐性が効率的に改良されれば，絶大な経済効果が見込まれるであろう．

4．高温耐性 QTL の集積による高度高温耐性品種の育種戦略

これまでに，水稲の育成地において，高温条件下でも品質が低下しにくい高温耐性品種が開発されており，千葉県農業試験場において「ふさおとめ」，新潟県農業総合研究所において「こしいぶき」，富山県農業技術センターにおいて「てんたかく」，九州沖縄農業研究センターにおいて「にこまる」が育成されている．地球温暖化は今後も進行すると予測され，現存する高温耐性品種の耐性が打破されることも想定される．今後の対策として，強度の高温耐性品種の育成が求められ，そのためには，複数の高温耐性 QTL を導入することが必要であろう．本研究において検出した *qWK 1-2* の他に，これまでにいくつかの高温耐性関連 QTL が検出されている（寺尾ら（2004），白澤ら（2006）， Kobayashi *et al*．(2007)，蛯谷ら（2008））．今後も新規の高温耐性 QTL の検出を進め，「コシヒカリ」や各地域で栽培される有望系統に複数の高温耐性遺伝子を集積することにより，温暖化がさらに進行しても，安定した耐性を保持する高度高温耐性品種を育成する必要があろう（図 5-1）．

夏期の気温の上昇は全国的に広がっているが，温暖化の進行は高温障害をもたらすだけでなく，ツマグロヨコバイやトビイロウンカ等の害虫による被害を国内に拡大させる可能性もある．また，近年の気象の動向をみると，高温年といもち病が発生しやすい低温年が交互に到来している．さらに，我が国の主食であるコメは，玄米の外観品質により等級が格付けされるだけなく，市場流通においては食味も重視される．これまでに，葉いもち圃場抵抗性遺伝子（Fukuoka *et al.* 2009），ツマグロヨコバイ抵抗性遺伝子，トビイロウンカ抵抗性遺伝子（平林 2006）等，これらと連鎖するマーカー遺伝子型を指標に選抜することで，抵抗性品種が効率的に育成されている．今後，高温耐性遺伝子とこれらの複数の形質を組み合わせ，集積することで，高度高温耐性・複合抵抗性を導入した優良品種の育成が期待される（図 5-1）．

高温耐性品種の育成だけでなく，背白米，基白米，乳白米の発生要因の解明も喫緊の課題である．高温条件下



【コシヒカリの特性改良(短期目標)】

特性		評価
背白発生	少	○
耐倒伏性	弱	×
耐冷性	極強	○
葉いもち	弱	×
食味	極良	○

【コシヒカリの特性改良(中長期目標)】

特性		評価
背白，基白，乳白発生	少	○
耐倒伏性	強	○
耐冷性	極強	○
葉いもち	強	○
ヨコバイ，ウンカ	強	○
食味	極良	○

図５－１　コシヒカリにおける有望形質の集積イメージ

における白未熟粒の発生要因は，同化産物の合成・転流能力（ソースおよびシンク能力）の不足，デンプンの合成能力（シンク能力）の低下が考えられるが（森田 2008），背白米，基白米，乳白米の各々について，高温条件下における発生メカニズムの解明が待たれるところである．今後，ファインマッピングにより単離した高温耐性遺伝子を活用することで，水稲の高温障害の発生機構解明のための研究の進展が期待される．

本研究では，現在，多くの米生産現場において発生している高温障害の問題の解決に寄与するため，育種的見地から研究を進め，高温耐性品種育成のための多くの知見を得た．今後も温暖化は進行すると予測され，高温でも玄米品質が低下しにくい栽培法の改良とともに，より耐性の強い高温耐性品種の育成，これらの現場への迅速な普及が望まれる．

摘　要

水稲は登熟期に高温に遭遇すると背白米，基白米および乳白米が多発し，玄米外観品質が著しく低下する．高温条件下における背白米および基白米の発生の程度には品種間差異があることから，これらの形質は遺伝的に改良可能である．本研究では，高温耐性品種の育成について検討するため，水稲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に関する遺伝解析を行った．

登熟期に高温に遭遇しても，背白米および基白米が発生しにくい品種を効率的に育成するためには，水稲の品種・系統がもつ高温条件下での背白および基白の発生に対する耐性を正確に評価する必要がある．そこで本研究では，ガラス温室を利用して水稲に高温処理をすることで，高温年の水田圃場における背白米および基白米の発生を再現するとともに，換気窓からの距離など，処理温度が異なると予想される栽培位置に留意することで，より正確な高温耐性の判定を可能とした．

高温耐性品種の育種法について考察するため，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に顕著な差がある「チヨニシキ」と「越路早生」の組合せの交雑後代（F_2，F_3）を用いて，高温耐性の遺伝様式の解明を試みた．その結果，背白米および基白米発生率の変異の分布は異なり，背白米の発生を抑制する対立遺伝子は優性であった．背白米発生率の相加分散成分は優性分散成分より大きく，F_2とF_3の発生率の間には相関があることから，高温条件下での背白米の発生に対する耐性は遺伝的に固定できることが示された．また，F_2世代の背白米発生率は正逆交雑間で同様な分布を示し，t検定の結果有意差はなかったことから，背白米の発生の多少に対して，細胞質の影響は少ないと推察された．さらに，背白米発生率の狭義の遺伝率は，F_2世代では背白米発生が 0.350，基白米発生が 0.259 と低いが，F_3世代では遺伝率は高くなり，固有遺伝率は背白米発生で 0.536，基白米発生で 0.411 であった．したがって，背白米および基白米の発生が少ない形質については，遺伝率を高めた後期世代での選抜が有効であることが判明した．

遺伝率の低い量的形質を改良するには DNA マーカー選抜育種が有効である．そこで本研究では，背白米の発生に着目し，マーカー選抜育種法による高温耐性の改良の可能性について検討した．チヨニシキ／越路早生の組換え自殖系統群（RILs）のF_6世代を用いて，登熟期の高温条件下における背白米の発生に関与する QTL 解析を行った．本研究の結果から，RILs F_6の背白米発生率には系統間差異が認められ，両親の発生率の範囲内に連続して分布したことから，背白米発生を制御する遺伝子座は複数存在すると推察された．

QTL 解析の結果，高温条件下における背白米発生に関与する QTL を *qWK 1-1*，*qWK 1-2* (第 1 染色体上)，qWK 2（第 2 染色体上）および *qWK 8*（第 8 染色体上）の計 4 つ検出し，*qWK 1-1* を除く 3 つの QTL は越路早生対立遺伝子が背白米の発生を抑制した．検出した QTL のうち，第 1 染色体上の *qWK 1-2* は最も高い寄与率を示し，*qWK 1-2* に連鎖する SSR マーカー RM 5501 が越路早生型ホモの系統は，チヨニシキ型ホモの系統に比べて背白米発生率が 7.3%低かったことから，*qWK 1-2* は効果の高い QTL であると推察された．また，遺伝背景がチヨニシキの BC_1F_3系統および BC_2F_3系統を作成し，高温条件下における *qWK 1-2* の背白米発生の抑制効果について検証した結果，第 1 染色体上の RM 128 から RM 265 の間，および RM 6696 から RM 1387 の間に効果の高い高温耐性 QTL が存在する可能性が示され，*qWK 1-2* 領域には 2 つの QTL が存在すると推察された．

謝　辞

本研究を行うにあたり，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，同教授・大澤良博士には懇切なるご指導を賜わるとともに，本論文のまとめに際しては，綿密なるご校閲を賜った．また，同教授・丸山幸夫博士，筑波大学大学院先端農業技術科学専攻准教授・梅本貴之博士，(独)農業生物資源研究所QTLゲノム育種研究センター主任研究員・福岡修一博士には本論文のご校閲をいただき，懇切なご指摘やご助言を賜った．

茨城県農業総合センター生物工学研究所普通作育種研究室主任研究員・飯田幸彦博士（現茨城県農業総合センター山間特産指導所所長）には，本研究の端緒を与えられ，水稲の高温耐性の研究を進めるにあたり，終始，綿密なご指導と激励を賜った．また，茨城県農業総合センター生物工学研究所普通作育種研究室には本研究の調査において多大なご協力をいただいた．特に，同研究室室長・平山正賢氏（現茨城県農林水産部産地振興課主査）には，高温耐性検定において多大なご支援を賜った．

（独）農業生物資源研究所放射線育種場突然変異遺伝子研究チーム長・西村実博士（現（独）農業生物資源研究所放射線育種場長）には，在来種を含む多数の日本イネ品種の種子を分譲していただき，その高温耐性の解析については多大なるご指導を賜った．

（独）作物研究所多用途稲育種研究室（現（独）農業・食品産業技術総合研究機構作物研究所稲マーカー育種研究チーム）には，遺伝子解析において多大なるご支援を賜り，特に，同研究室主任研究員・平林秀介氏（現（独）農業・食品産業技術総合研究機構作物研究所稲マーカー育種研究チーム主任研究員）には，高温耐性に関するQTL解析の端緒を与えられ，ご支援を賜るとともに，同研究室竹内善信博士（現（独）農業・食品産業技術総合研究機構作物研究所稲マーカー育種研究チーム主任研究員）には，QTL解析に関して多大なるご指導を賜った．

（独）農業生物資源研究所QTLゲノム育種研究センター長・矢野昌裕博士，同主任研究員・福岡修一博士，社団法人農林水産先端技術産業振興センター農林水産先端技術研究所研究第1部主任研究員・安藤露氏には，DNAマーカーの作成からQTL解析に関する指導・助言にいたるまで多大なるご支援を賜った．特に，福岡博士には後代検定を進めるにあたり多くをご教示いただいた．

また，本論文を執筆するにあたり，茨城県農林水産部農産課課長・宇都木久夫氏（現茨城県県央農林事務所長），茨城県農業総合センター常陸太田地域農業改良普及センター次長・山田健雄氏（現定年退職），以下職員一同には激励を賜った．

これら関係各位には，ここに記して深く感謝を申し上げたい．

引用文献

蛯谷武志・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観品質に関与するQTLの検出．育種学研究 10：91－99.

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 Science of Proline-Containing Protein Confers Durable Disease Resistance in Rice. Science 325 (5943)：998-1001.

橋口渉子（1955）広義のHeritabilityの信頼区間について．農業統計研究 3：36.

平林秀介（2006）トビイロウンカ等の耐虫性の遺伝的解析とピラミディング．農業および園芸 81：156-159.

飯田幸彦・桐原俊明・須賀立夫（1997）登熟期の高温による背白米発生の品種間差異．日作紀 66（別1）：94－95.

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．日作紀 71：174－177.

IPCC（2007）第4次評価報告書第1作業部会報告書政策決定者向け要約（翻訳 気象庁）（平成19年8月

27日修正) http://www.data.kishou.go.jp/climate/cpdinfo/ipcc/ar 4/ipcc_ar 4_wg 1.pdf

石崎和彦 (2006) 水稲の高温登熟性に関する検定方法の評価と基準品種の選定. 日作紀 75：502－506.

岩下友記・新屋明・山川恵久・土井修・上原裕美・鳥山国士 (1973)水稲の高温登熟について－品質の変化と品種間差異－.日作紀九州支報 39：48－57.

重山博信・伊藤貴美子・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　水稲の高温水かんがいによる高温登熟性の検定法. 北陸作物学会報 34：21-23.

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 「ゆめみずほ」の収量および品質に及ぼす影響. 石川県農業総合研究センター研究報告 27：1－9.

小葉田亨・植向直哉・稲村達也・加賀田恒 (2004) 子実への同化産物供給不足による高温下の乳白米発生. 日作紀 73：315－322.

Kobayashi, A., B. Genliang, Y. Shenghai and K. Tomita (2007) Detection of quantitative trait loci for white-back and basal-white kernels under high temperature stress in japonica rice varieties. Breed. Sci. 57：107－116.

Kobayashi, A. and K. Tomita (2008) QTL detection for stickiness of cooked rice using recombinant inbred lines derived from crosses between japonica rice cultivars. Breed. Sci. 58：419－426.

近藤始彦・石丸努・三王裕見子・梅本貴之 (2005) イネの高温登熟性研究の今後の方向. 農業技術 60：462－470.

Kosambi, D. D. (1944) The estimation of map distance from recombination values. Ann. Eugenics 12：172－175.

McCouch, S. R., L. Teytelman, Y. Xu, K.B. Lobos, K. Clare, M. Walton, B. Fu, R. Maghirang. Z. Li, Y. Xing, Q. Zhang, I, Kono, M. Yano,R. Fjellstrom, G, DeClerrck, D. Scneider, A. Cartinhour, D. Wate and L. Stein (2002) Development and mapping of 2240 new markers for rice (*Oryza sativa* L.). DNA Res. 9：199-207.

松村修 (2005) 高温登熟による米の品質被害－その背景と対策－. 農業技術 60：437－441.

森田敏 (2000) 高温が水稲の登熟に及ぼす影響－人工気象室における温度処理実験による解析. 日作紀 69：391－399.

森田敏 (2008) イネの高温登熟障害の克服に向けて. 日作紀 77：1－12.

Morita, S., O. Kusuda, J. Yonemaru, A.Fukushima and H.Nakano (2005) Effects of topdressing on grain shape and grain damage under high temperature during ripening of rice. Rice is life：scientific perspectives for the 21 st century (Proceeding of the World Rice Research Conference, Tsukuba, Japan). 560-562.

長戸一雄・江幡守衛・河野恭宏 (1961) 米の品質からみた早期栽培対する適応性の品種間差異.日作紀 29：337－340.

長戸一雄・江幡守衛 (1965) 登熟期の高温が頴果の発育ならびに米質に及ぼす影響.日作紀 34：59－66.

長戸一雄 (1973) 米の品質について. 日作紀 42：449－458.

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.

農産物検査法（昭和26年4月10日制定，最終改正 平成18年6月21日）

農林水産省　玄米及び精米品質表示基準（平成12年3月31日制定，最終改正 平成21年1月19日）

農林水産省（2001）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. 1－115.

農林水産省水稲高温対策連絡会議対策推進チーム（2006）水稲の高温障害の克服に向けて(高温障害対策レポート). URL:http://kanbou.maff.go.jp/www/gichou/kpipn/report.pdf.

農林水産省農林水産技術会議（2007）ゲノム情報の品種改良への利用―DNA マーカー育種―（農林水産研究開発レポート）.

酒井寛一（1949）ラムシュ育種法の理論と方法. 農業及び園芸 24：105-110.

酒井寛一（1954）植物育種法に関する理論的研究. 育雑 4：145－148.

坂田雅正・吉留和洋・山本由徳・吉田徹志 (2004) 登熟期間中の遮光および温度条件が早期水稲の白未熟粒発生に及ぼす影響. 日作紀 73 (別 1)：24－25.

柴田和博 (1964) 自殖性植物の育種における統計遺伝学の応用. 育種学最近の進歩 5：3－13.

白澤健太・佐々木都彦・永野邦明・岸谷幸枝・西尾剛（2006）玄米外観品質に基づく登熟期高温ストレス耐性の QTL 解析. 育種学研究 8（別 1）：155.

田畑美奈子・飯田幸彦・大澤良 (2005) 水稲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.

田畑美奈子・西村実（2006）水稲の登熟期の高温条件下における乳白米発生に関する品種間変異. 日作紀 75 (別 1)：248－249.

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.). Breed. Sci. 57：47－52.

田畑美奈子・飯田幸彦・奥野員敏（2008）根群の一部切除が水稲玄米の外観品質に及ぼす影響. 日作紀 77：198－203.

田畑美奈子（2009）水稲における登熟初期の根の損傷が品質に与える影響. 農業技術体系・作物編　2008年版（追録第30号）イネ＝基本技術(2)：155-160.

高橋渉 (2004) 気候温暖化条件下におけるコシヒカリの白未熟粒発生軽減技術. 農及園 81：1012-1018.

Takeuchi, Y., T. Ebitani, T. Yamamoto, H. Sato, H.Ohta, H. Hirabayashi, H. Kato, I. Ando, H. Nemoto, T. Imbe and M. Yano (2006) Development of Isogenic Lines of Rice Cultivar Koshihikari with Early and Late Heading by Marker-assisted Selection. Breed. Sci. 56：405-413.

Takeuchi, Y., K.Hori, K. Suzuki, Y. Nonoue, Y.Takemoto-Kuno, H. Maeda, H. Sato and H. Hirabayashi (2008) Major QTLs for eating quality of an elite Japanese rice cultivar, Koshihikari, on the short arm of chromosome 3. Breed. Sci. 58：437-445.

Tashiro, T. and I.F. Wardlaw (1991) The effect of high temperature on kernel dimentions and the

type and occurrence of kernel damage in rice. Aust. J. Agric. Res. 42 : 485−496.

寺尾富夫・千葉雅大・廣瀬竜郎・松村修（2004）高温条件下の玄米品質に関与する遺伝子座と環境要因との相互作用．日作紀 73（別 1）：96−97.

鵜飼保雄（2002）遺伝率の相対性，"量的形質の遺伝解析"，医学出版，東京．109−110.

Wada, T., T. Ogata, M. Tsuibone, Y. Uchimura and Y. Matsue (2008) Mapping of QTLs for eating quality and physicochemical properties of the japonica rice 'Koshihikari'. Breed. Sci. 58 : 427−435.

若松謙一・佐々木修・上薗一郎・田中明男（2007）暖地水稲の登熟期間の高温が玄米品質に及ぼす影響．日作紀 76：71−78.

Wang, S., C.J.Basten and Z.B.Zeng (2006) Windows QTL Cartographer 2.5. Department of Statistics, North Carolina University, Raleigh, NC. (http://statgen.ncsu.edu/qtlcart/WQTLCart.html)

Genetic Analysis of Occurrence of White-Back Rice and Basal-White Rice associated with High Temperature during the Ripening Period of Rice

Minako Tabata

Plant Biotechnology Institute Ibaraki Agricultural Center

This study was conducted to elucidate the mode of inheritance of the occurrence of white-back and basal-white kernels associated with high temperature during the ripening period in rice.

F_2 to F_3 generations from a cross between 'Chiyonishiki', which is sensitive to high temperature with a high incidence of the two types of such defective kernels, and 'Koshijiwase', which is resistant to high temperature with a low incidence of defects, were used as materials. The plants were exposed to high temperature in a greenhouse during the period from heading to maturity.

The values of heritability in a narrow sense for the incidence of white-back kernels and basal-white kernels were 0.350 and 0.259, respectively, F_2 generation.The values of heritability in a true sense for the incidence of white-back kernels and basal-white kernels were 0.536 and 0.411, respectively. Selection in later generations is recommended for the breeding of a variety with a low incidence of defective kernels even at high temperature.

A DNA marker selection breeding is effective in improving a quantitative trait with low heritability. To identify the chromosomal regions controlling the occurrence of white-back rice kernels(WBK) under the growth condition at high temperatures, a quantitative trait locus(QTL) was analyzed using F_6 recombinant inbred lines(RILs) derived from the cross between the japonica cultivar 'Chiyonishiki'and 'Koshijiwase'. Four putative QTLs for the occurrence of WBK, *qWK 1-1*, *qWK 1-2*, qWK 2 and *qWK 8*, were detected on chromosomes 1,2,and 8. The Koshijiwase alleles at the *qWK 1-2*, *qWK 2* and *qWK 8*, loci decreased the incidence of WBK with additive effects. The *qWK 1-2* QTL with the largest effect explained 15.0% of the total phenotypic variation.

As a result of a heredity background's creating the BC_1F_3 line of Chiyonishiki, and BC_2F_3 line and verifying about the inhibiting effect of back polished rice generating of *qWK 1-2* under high temperature service, between RM 128 and RM 265 on the chromosome 1, and between RM 6696 and RM 1387.

A possibility that the high temperature tolerance QTL of an effect existed was shown, and it was guessed that two QTL(s) existed in one to *qWK 1-2* domain.

所　　長　本図竹司

編集委員長　高津康正

編集委員　田畑美奈子
松本雄一
鈴木一典
沼田慎一

茨城県農業総合センター生物工学研究所研究報告　第13号
平成25年3月8日発行

発　行
茨城県農業総合センター生物工学研究所
〒319－0292　笠間市安居3165－1
電話　0299－45－8330

Bulletin
of Biotechnology Institute
Ibaraki Agricultural Center
No.13 (2013)

Contents

Original Papers

Practicality of the *Cucumis* spp. as a Rootstock of Melon (*Cucumis melo* L.) ········· 1
in Semi-Forcing Culture.
Yuichi Matsumoto and Makoto Miyagi

Genetic Analysis of Occurrence of White-Back Rice and Basal-White Rice associated ········· 5
with High Temperature during the Ripening Period of Rice.
Minako Tabata

Plant Biotechnology Institute
Ibaraki Agricultural Center
Ago, Kasama, Ibaraki 319-0292, Japan