

博士論文

イネの脱粒性に関する  
遺伝育種学的分析

平成6年3月

福田善通

イネの脱粒性に関する  
遺伝育種学的分析

平成6年3月

福田善通

## 目 次

第1章 緒 論	1
第2章 内外国品種における脱粒性程度の多様性	
第1節 本章の課題	6
第2節 材料および方法	6
第3節 結果および考察	9
第3章 難脱粒性突然変異系統を用いた脱粒性発現機構の研究	
第1節 本章の課題	12
第2節 突然変異系統の誘発	
1. 材料および方法	12
2. 結果および考察	13
第3節 突然変異系統の評価	
1. 材料および方法	
1) 脱粒性程度の測定	15
2) 組織学的評価（離層形成程度）	15
2. 結果	
1) 脱粒性程度の評価	15
2) 離層形成程度	22
3. 考察	24
第4節 突然変異系統の遺伝様式	
1. 材料および方法	26
2. 結果	
1) $F_1$ の脱粒性程度および離層形成程度	27
2) $F_2$ 集団および $F_3$ 系統群における脱粒性程度の分離	30
3. 考察	35
第5節 突然変異遺伝子の対立性検定	
1. 材料および方法	36
2. 結果	
1) $F_1$ の脱粒性程度	36
2) $F_2$ 集団における脱粒性程度の分離	37
3. 考察	40
第6節 RFLPマークターを用いた突然変異遺伝子のマッピング	
1. 材料および方法	41
2. 結果	
1) 脱粒性程度および稈長の分離	43
2) 脱粒性程度と稈長との関係	45

3) 難脱粒性遺伝子のマッピング	46
3. 考察	51
 第4章 DNAマークーを用いた計量形質としての 脱粒性関連遺伝子座の解明	
第1節 本章の課題	54
第2節 材料および方法	55
第3節 結果	
1. $F_2$ 集団における脱粒性程度の分離	56
2. QTL解析による脱粒性関連遺伝子座の推定	58
3. DNAマークーと脱粒性程度の解析	63
第4節 考察	65
 第5章 総 括	67
 謝 辞	76
 引用文献	78
 付 図	84
1. 穀粒脱粒性試験装置 (TR-II) (Fig. 16)	85
2. 南京11号 (Fig. 17)	86
3. 難脱粒性突然変異系統および南京11号の穂 (Fig. 18)	87
4. 難脱粒性突然変異系統SR-1とジャワ型品種Dinalaga (Fig. 19)	88
5. サザンハイブリダイゼーション法によるRFLP 分析 (電気泳導像) (Fig. 20)	89
6. 南京11号の半矮性遺伝子の由来 (Fig. 21)	90

## 第1章 緒 論

脱粒性は、イネ (*Oryza sativa L.*) の栽培化の過程で最初に選抜の対象になった形質の一つであり、かつ現在でも育種上および栽培体系上、重要な農業形質の一つであると考えられる。したがって、多くの研究が行われてきたが、脱粒性の遺伝的発現機構には未解決の部分が少なくない。

内山田ら (1985), 木村ら (1986), 木村ら (1991) は、世界のイネ品種、系統における脱粒性程度の調査を行い、脱粒性易から難までの幅広い変異があることを明らかにし、脱粒性には極めて多様な遺伝的変異が存在することを示している。

脱粒性の発現については、小穂内の護穎基部における離層の形成により生じること（陳、井之上 1982a,b, c, 1992, Hu et al. 1964, Srinivas et al. 1979, ZEE et al. 1979），またその離層形成程度の違いおよび小穂内の構造上の違いにより脱粒性程度が変異すること（Srinivas et al. 1979, ZEE et al. 1979, 陳、井之上 1982a），さらに離層形成には複数の遺伝子が関与することが明らかにされている（陳ら 1982c, 1992, OGI et al. 1992, 顔 1974）。

また脱粒性の遺伝的解析により、*sh-1* (NAGAO and TAKAHASHI 1962), *sh-2* (大場ら, 1990), *Sh-3* (EIGUCHI and SANO 1990) 等、3つの遺伝子座の存在が現在までに報告されている。一方、菊池ら (1985) および小林 (1973) は、脱粒性遺伝子と多収性に関連する有用遺伝子の一つである半矮性遺伝子とが連鎖することを報告している。さらに OGI et al. (1993) および大場ら (1990) は、その半矮性遺伝子を *sd-1* と、脱粒性遺伝子を *sh-2* と設定し、これらの遺伝子が第1染色体上で連鎖していることを明らかにしている。この脱粒性遺伝子と矮性遺伝子との連鎖関係は、育種過程において脱粒性が重要な選抜形質のひとつであることを示している。

OBA and KIKUCHI(1992)は、*sh-2*は脱粒性の発現に密接な関係がある離層形成に関与する遺伝子であることを報告しているが、他の遺伝子座については離層形成および小穂内構造への効果等についての関係は明らかにされていない。またこれらの研究の多くが遺伝的背景の異なる品種間の比較や雜種後代を用いて行われたため、イネの脱粒性に関連した遺伝子の数およびそれらの間の優劣性の関係、さらには遺伝子間の相互作用についても、まだ詳細は明らかになっていない。

したがって脱粒性の詳細な解析を行うためには、遺伝的背景の均一な系統、品種を用いること、あるいは異なる遺伝的背景をもつ品種間でも正確に解析ができる手法を用いることが必要になると考えられる。

菊池ら(1985)、大場ら(1990)、OGI *et al.*(1993)らによる一連の研究では、日本型(*japonica*)品種の農林29号の遺伝的背景に、脱粒性遺伝子(*sh-2*)を導入した同質遺伝子系統を用いて解析を行った。しかし同質遺伝子系統の作出には多くの年月と労力が必要であり、また戻し交配により完全な同質遺伝子系統を作ることは極めて難しい。したがって本研究では、脱粒性極易のインド型(*indica*)品種南京11号の脱粒性を改良する目的で難脱粒性突然変異系統を誘発し、これら突然変異系統の遺伝的背景が比較的均一であることを利用して、脱粒性の遺伝的発現機構の解明を行った。

また一方で、BARNATZKY and TANKSLEY(1986a, b)、ZAMIR and TANKSLEY(1988)らによって、トマトのRFLP(制限酵素断片長多型)マーカーを利用した連鎖地図が作成されて以来、二倍性作物を中心に、レタス(LANDRY *et al.* 1987a, b)、ジャガイモ(BONIRBALE *et al.* 1988)、トウモロコシ(HELENTJARIS 1987)、キャベツ(FIGDORE *et al.* 1988)、ツケナ(SONG *et al.* 1991)、オオムギ(BLAKE *et al.* 1989)、コムギ(CHAO *et al.* 1988, LIU and TUNEWAKI 1991)、ダイズ(APUYA *et al.* 1988)、

カンキツ (DURHAM *et al.* 1992, JARREL *et al.* 1992) , モロコシ (BINELLI *et al.* 1992) などの多くの植物でRFLPマーカーおよびRFLP連鎖地図が作成されている。イネにおいても、McCOUCH *et al.* (1988), SAITO *et al.* (1991) らがRFLP連鎖地図を作成して以来、RGP: Rice Genome Research Program (1993) によって、RAPD (任意増幅DNA多型) マーカーを含め1,000以上のDNAマーカーが、イネの染色体全域にわたって位置づけられ、詳細なRFLP連鎖地図が作られている。これらDNA (RFLPおよびRAPD) マーカーおよび詳細なRFLP連鎖地図を用いることにより、遠縁な品種間雑種後代の系統、品種の評価において、ゲノム全体に渡って染色体構成の推定 (graphical genotype : YOUNG and TANKSLEY 1989a,b) を行うことが可能になった。またgraphical genotypeを用いることにより、全ゲノムを対象とした選抜が可能となり、さらに有用形質に連鎖するDNAマーカーを利用した有用遺伝子の効率的選抜が可能になると考えられている (YOUNG and TANKSLEY 1989a, b) .

さらにイネにおいては、白葉枯病抵抗性に関する遺伝子：*Xa-1*, *Xa-3*, *Xa-4* (YOSHIMURA *et al.* 1992) , *Xa-10* (YOSHIMURA *et al.* 1991) , 細胞質雄性不稔に対する穀性回復遺伝子：*Rf-1*(福田ら, 1992) , 香りに関する遺伝子：*scl(t)* (矢野ら, 1991a) , 胚乳の細胞壁へ蓄積するグルコマンナンに関する遺伝子：*Gmr(t)* (矢野ら, 1991b) 等、多くの遺伝子がRFLP連鎖地図上への位置づけが行なわれてきているが、このような主動遺伝子ばかりでなく、これまで解析が困難であった計量(量的)形質の解析等が可能になると考えられている (原田 1990, 福田ら 1993a) . RFLPマーカーおよび連鎖地図を用いた計量形質に関する遺伝子座 (QTL:quantitative trait loci) の解析については、PATERSON *et al.* (1988) がトマト果実の重量、可溶性固形成分、pHの計量形質座のマッピングをゲノム全域にわたって行っている。このQTL解析では、RFLP連

鎖地図の各マーカーの地点で、集団全体の計量形質の最大尤度をその地点で計量形質遺伝子座が存在しないという条件での最大尤度で割ったものの対数であるlod score (LANDER and BOTSTEIN 1989) を、その地点で計量形質遺伝子座が存在する確からしさの検定基準として用いている。このlod scoreがある一定以上の値をとるとその地点に計量形質遺伝子座が存在すると推定する。またこの方法では、マーカーとマーカー間の中間地点でも検定が可能で、interval mapping (LANDER and BOTSTEIN 1986, 1989) と呼ばれている。

すなわち、DNAマーカーや詳細なRFLP連鎖地図、さらにはinterval mappingを用いた解析により、ゲノム全域について計量形質遺伝子座 (QTL) の存在の有無を推定することが可能となった。

しかしRFLPの出現頻度が植物種によってことなり、トマトでは栽培種と野生種との間 (HELENTJARIS *et al.* 1985, BERNATZKY and TANKSLEY 1986b), トウモロコシでは実用品種間 (HELENTJARIS *et al.* 1985, BURR *et al.* 1988, JOHNS *et al.* 1983, RIVIN *et al.* 1988) の組合せでRFLPが検出されている。イネでは近縁な品種間ではRFLPの出現頻度は低く、日本型とインド型品種間の組合せで効率よく検出することができる (KAWASE *et al.* 1991, FUKUTA *et al.* 1993b)。

本研究では日本型品種とインド型品種の雑種後代において、DNAマーカーおよびRFLP連鎖地図を用いた計量形質（脱粒性）に関する遺伝子座 (QTL) の推定を行った。関連遺伝子座の数およびそれぞれ推定遺伝子座の作用効果等の解析を試みた。

また脱粒性程度の評価法については、従来育種では手で穂を強く握り絞めることにより脱粒性の難易を判定している。しかしこの方法は、測定者の主観や個人差が大きいこと、さらには脱粒性極易もしくは極難などの手による判定の限界性があるので、遺伝的解析には必ずしも適さない。

ICHIKAWA *et al.* (1990) は小穂の枝梗から離れるときの抗張強度 (gf) を測定し、脱粒性程度を評価する穀粒脱粒性試験装置 (TR-II) を開発している。

本論文では、まず抗張強度 (gf) を測定することにより脱粒性程度の評価を再現性ある正確なものとした上で、内外国品種における脱粒性程度の遺伝的多様性を再確認するとともに、地域ごとにおける多様性の偏りを明らかにした。さらに遺伝的にこの多様性を解明するため、遺伝的背景が均一であると考えられる突然変異系統を用いた脱粒性遺伝子の発現機構の分析を行うとともに、DNAマーカーを用いた遠縁交配の雑種集団における計量形質遺伝子座 (QTL) 解析を行い、脱粒性に関する考察を行った。

## 第2章 内外国品種における脱粒性程度の多様性

### 第1節 本章の課題

内山田ら（1985）、木村ら（1986）、木村ら（1991）は、成熟期に達した穂を手で強く握ることにより脱粒性の評価を行い、イネの脱粒性については幅広い変異があることを明らかにしている。しかし手による脱粒性程度の評価では、測定者の主観によることが多いので、測定者が異なるれば必ずしも同じ判定が得られるとは限らない。また脱粒性極易および極難などでは、測定限界があり脱粒性程度の変異幅を正確に評価できない（福田、未発表）。

一方、ICHIKAWA *et al.*(1990)は、脱粒性程度を客観的に測定するため穀粒脱粒性試験装置(TR-II)を開発した。

本研究では、この穀粒脱粒性試験装置を用いて内外国イネ品種の坑張強度(gf)を測定し、より詳細な脱粒性の多様性を明らかにするとともに、世界各国ごとの変異の差異を明らかにした。

### 第2節 材料および方法

日本品種を中心として、内外国計410品種、系統の脱粒性程度を調査した(Table 1)。

用いた日本の品種は、在来および育成品種を含め水稻173品種、陸稻52品種である。また外国については、韓国の26、中国および台湾の計62、インドを中心としてスリランカ、パキスタン、ネパールの計27、インドネシア半島およびフィリピンの22、ヨーロッパの計19、アメリカ合衆国およびブラジルの計12、スマトラの6、その他原産地不明の17、合計237

品種を用いた。

また脱粒性程度の評価については、出穂後35日から40日経過した主稈穂の先端5小穂、3個体について小穂の小枝梗から離れるときの抗張強度(gf)を穀粒脱粒性試験装置(TR-II) (ICHIKAWA *et al.*) を用いて測定し、その平均を各品種、系統の値とした。

Table 1. The number of varieties investigated shattering habit

Place of origin	No. of varieties
Japan	
(lowland)	173
(upland)	52
China	51
Taiwan	11
Korea	26
Philippines	12
Tailand	1
Laos	5
Myanmer	2
Indo-China	2
India	21
Pakistan	3
Nepal	2
Sri Lanka	1
U.S.A.	10
Brazil	2
France	2
Italy	15
Russia	2
Sumatora	6
Others	11
Total	410

### 第3節 結果および考察

イネの脱粒性程度は脱粒性極易から極難まで幅広い変異があることが明らかになった。また世界の地域によって、脱粒性程度の偏りがあることが明らかになった(Fig 1)。

日本の品種では、脱粒性極易から極難までの変異があり、特に難から極難の品種が多いことが明らかになった。ただ陸稻(upland)品種では、抗張強度100(gf)程度の脱粒性易の値を示す品種が最も多かった。これに對して、水稻(lowland)品種では極難の品種が多くなった。また数品種であるが極難の品種のなかに、抗張強度300(gf)に近い極々難の品種も認められた。

韓国产品種においても、脱粒性極易から極難の品種が認められた。特に極易の品種が多く、難の品種は少なかった。また脱粒性程度極易の品種には、抗張強度25(gf)以下の極々易の品種もあった。ただ最近の育成系統の中には極々難の品種もみられた。

中国および台湾、インドシナ半島およびフィリピン、アメリカおよびブラジル品種についても、脱粒性程度が韓国品種と同様な頻度分布を示し、脱粒性極易の品種が多くなった。

インドおよびその周辺諸国の品種については、抗張強度25(gf)以下の脱粒性極々易の品種が最も多く、125(gf)以上の脱粒性難を示す品種は全くなかった。

最後にヨーロッパについては、抗張強度150(gf)程度の品種が最も多く、極易の品種や極難の品種は少なかった。

以上のように、脱粒性程度の多様性の大きさおよび地域による脱粒性程度の偏りは、栽培および収穫など作業体系や気候条件の違いにより生じたものと考えられる。機械化が進んでない発展途上国、反対に大規模な機

械化栽培が行なわれているアメリカ合衆国等では、脱粒性易および極易の品種が利用されている。一方、小規模集約型の機械化が進んだ日本では、脱粒性難や極難の品種が多くみられる。

また特徴的なこととして、インドおよび周辺諸国品種の結果を除いて、各地域とも抗張強度(gf)25以下の脱粒性極々易あるいは250以上の極々難の品種はほとんど認められなかった。このことは脱粒による収穫量の減少あるいは脱粒作業において多くの労力を必要とするため作業体系上利用が極めて難しくなるため、これらの脱粒性程度をもつ系統は選抜の過程で淘汰されてきたものと考えられる。

イネの脱粒性については、これら人為操作の対照になったと思われる程度の脱粒性を持つ品種も含めて極めて幅広い変異があるが、これら多様性の遺伝的機構については、各地域ごとの栽培条件に適した遺伝的背景をもつ品種が利用されているものと考えられる。つまりイネの脱粒性に関与する遺伝的要因は多様であり、その発現機構も単純ではないものと考えられる。

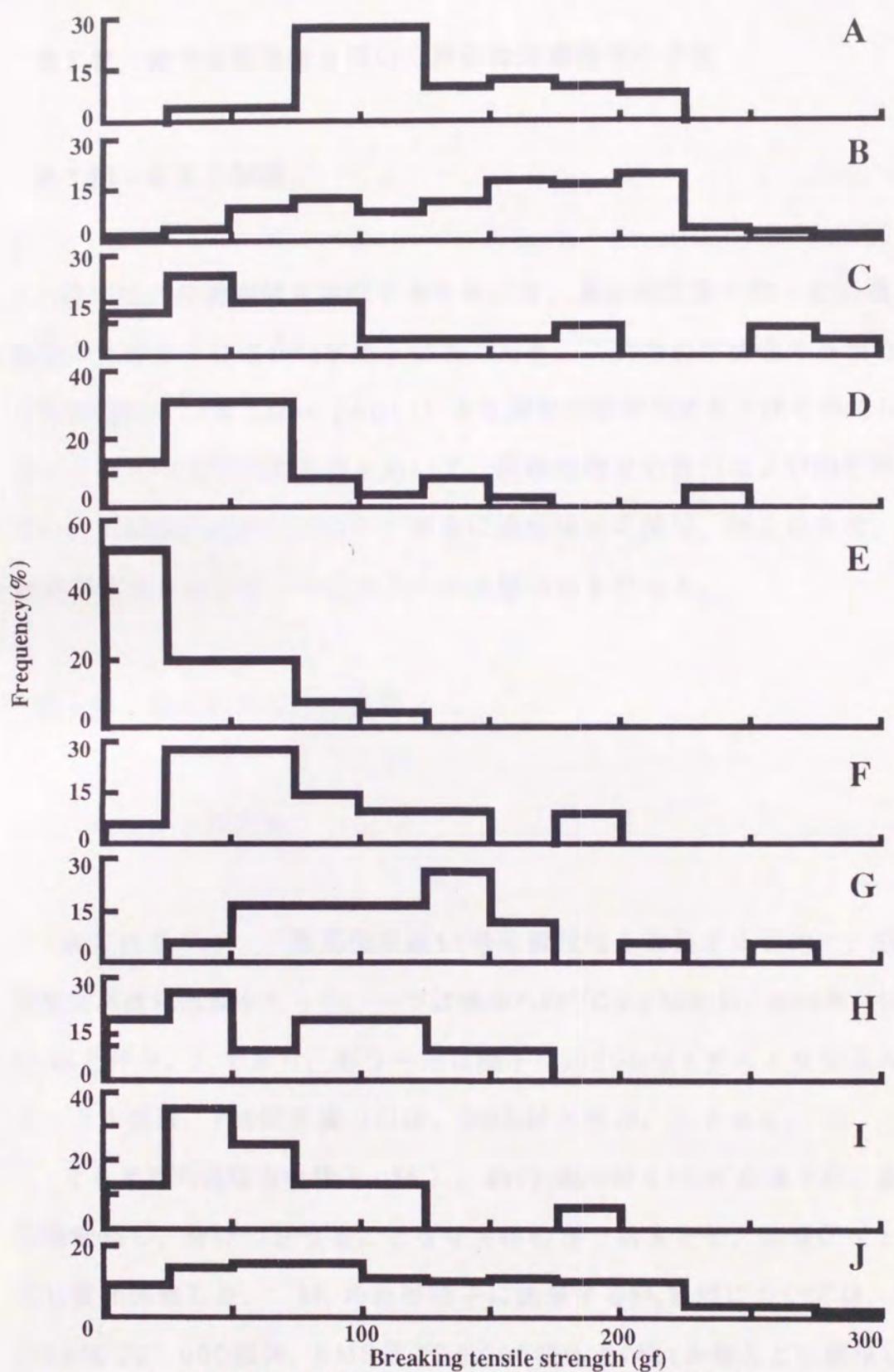


Fig. 1 . Variation of shattering degrees in the world rice

A: Japan(upland), n=52, B: Japan(lowland), n=173, C: Korea, n=26,  
 D: China and Taiwan, n=62, E: India, Sri Lanka, Pakistan and Nepal, n=27  
 F: Thailand, Myanmer, Laos and Philippines, n=22, G: France, Italy and Russia, n=19  
 H: U.S.A. and Brazil, n=12, I: Sumatra and unknown, n=17, J: Total, n=410

## 第3章 突然変異系統を用いた脱粒性発現機構の研究

### 第1節 本章の課題

脱粒性の発現機構を解明するためには、遺伝的背景の均一な品種、系統間の比較および遺伝的解析が必要である。このため半矮性で多収のインド型品種南京11号（Nan-jing11）から難脱粒性突然変異系統を誘発した。次いでこれら突然変異系統を用いて、脱粒性程度の評価および離層形成についての組織学的検討を行い、さらに遺伝様式の解明、対立性検定、難脱粒性突然変異遺伝子の染色体上への位置づけを行った。

### 第2節 突然変異系統の誘発

#### 1. 材料および方法

脱粒性易のインド型品種南京11号の脱粒性を改良する目的で、2種の突然変異誘起処理を行った。一つは種子への $^{60}\text{Co}$ γ線照射、20KR（以後、Co区と呼ぶ。）であり、もう一方は種子への50mMエチルメタンスルホオネート水溶液、7時間浸漬（以後、EMS区と呼ぶ。）である。

それぞれの処理当代種子（M<sub>1</sub>），約17,000粒を20m<sup>2</sup>の灌水床に直播、密植栽培し、分けつさせることなく主稈のみで結実させ、処理区ごとに全刈し集団採取した。M<sub>1</sub>の自殖種子に由来するM<sub>2</sub>集団については、圃場にCo区で21,000個体、EMS区で20,000個体を1株1本植えとし栽培した。

難脱粒性個体の選抜は、M<sub>2</sub>集団において成熟期に達した穂を片手で強く握りしめることにより行った。

## 2. 結果および考察

難脱粒性の突然変異の誘発については、Co区で、21,000個体のM<sub>2</sub>集団から4個体（誘発率、 $1.9 \times 10^{-4}$ ）、EMS区で20,000個体より1個体（誘発率、 $5.0 \times 10^{-5}$ ）をそれぞれ選抜した。Co区での誘発率はEMS区のものより高く、両区合わせた平均誘発率は $1.2 \times 10^{-4}$ となった(Table 2)。誘発した難脱粒性突然変異系統名は、Co区の4系統についてはSR-1, SR-2, SR-4, SR-5（後の北陸143号）、EMS区のものはSR-6とした。

またこれら5種の突然変異系統は、いずれも原品種南京11号同様半矮性の草型をもっており、脱粒性のみが改良されたと考えられた。ただSR-2については、一次枝梗が短くなり、結果として短穂になる傾向を示した。

誘発率については、 $\gamma$ 線照射によるものがエチルメタンスルホオネート処理より高い値を示した。M<sub>1</sub>で集団採取を行ったことや反復試験もないことなどから、両処理区間の差異についてはさらに検討を要するが、SR-2以外については原品種の南京11号と形態上区別できず、他の突然変異を併発することなく効率良く難脱粒性系統を作出できたと考えられる。

Table 2. Mutation rate for hard-shattering mutant induced in an *indica* variety, "Nan-jing 11"

Mutagen	No. of seeds treated	No. of M <sub>2</sub> plants	No. of mutants	Mutation rate
<sup>60</sup> Co (20KR)	17,000	21,000	4	$1.9 \times 10^{-4}$
50mM EMS	17,000	20,000	1	$5.0 \times 10^{-5}$
Total	34,000	41,000	5	( $1.2 \times 10^{-4}$ )

EMS:Ethyl methanesulfonate  
 ( ):Average mutation rate

### 第3節 突然変異系統の評価

#### 1. 材料および方法

##### 1) 脱粒性程度の測定

得られた突然変異5系統および原品種南京11号を、圃場および温室内の異なる2種の栽培条件で成育せしめ、系統間および登熟環境が異なることによる脱粒性程度の違いを調査した。特に温室条件下のものについては、穎花の開花以後における脱粒性程度の経時的な変化を明らかにした。

圃場栽培個体については、出穗後35日から40日経過した主稈穂の先端10小穂が小枝梗から離脱するときの抗張強度(gf)を穀粒脱粒性試験装置(TR-II) (ICHIKAWA *et al.* 1990) を用いて測定した。抗張強度(gf)の平均値を各個体の脱粒性程度とし、各系統について50個体の脱粒性程度を調査した。

また温室内栽培個体については、開花から結実に至るまでの脱粒性程度の経時的变化を、原品種南京11号とSR-1、北陸143号(SR-5), SR-2の計4系統について調査した。

各系統間および系統内における、調査穎花(小穂)の開花日および開花後の環境条件を同一にするため、開花期に達した個体を圃場より株上げし、翌日開花した穎花のみを残して未開花および前日までに開花済みの穎花を切除した。以後温室内で栽培管理し、処理翌日から2から3日ごとに計16回、開花後33日に至るまで、それぞれの系統について20小穂の抗張強度(gf)を測定し、その平均値を求め測定日ごとの各系統の脱粒性程度とした。とくに4日目以後の測定では、子房の発達が確認できる穎花について調査し、不稔穎花は測定から除外した。

## 2) 組織学的評価（離層形成程度）

また脱粒性程度の経時的变化を調査するために用意した穎花の一部について、開花後2から3日ごとに小枝梗をつけた小穂を採取し、小穂の護穎基部に形成される離層の有無およびその程度を調査した。用いた材料は、突然変異系統のSR-1, SR-2, 北陸143号(SR-5)の3系統および原品種南京11号である。

小枝梗の付いた小穂を、FAA溶液（100%エタノール:60, 水:30, 酢酸:5, フォルマリン:5）で固定した後、フッ化水素水による脱珪酸処理を7日間以上行った。水洗の後、サフラニンで予備染色し、アクリトロン樹脂に包埋した後、小穂から小枝梗に至る縦断切片を $8\text{ }\mu\text{m}$ の厚さで作成した。検鏡にあたっては、トルイジンブルーで染色した。

## 2. 結果

### 1) 脱粒性程度の評価

圃場栽培個体については抗張強度(gf)を測定した結果、脱粒性程度により5系統の突然変異は、3グループに分類することができた。それは、脱粒性やや難のSR-2, 難のSR-4, 北陸143号(SR-5), SR-6の3系統、極難のSR-1である(Fig. 2, Table 3)。

すなわち原品種南京11号の抗張強度(gf)は、50個体平均で $90.3 \pm 14.4$ となり脱粒性極易の値を示した。これに対しSR-2は $151.3 \pm 16.5$ でやや難、SR-4, 北陸143号(SR-5), SR-6の3系統はそれぞれ $220.7 \pm 22.9$ ,  $211 \pm 20.1$ ,  $217.1 \pm 14.5$ の難の値を示した。またSR-1については、突然変異系統中最も高い値の $279.1 \pm 22.2$ であり、脱粒性極難を示した。

SR-4, 北陸143号(SR-5), SR-6の3系統間では有意差が認められなかつたが、この3系統とSR-2との間では1%水準で有意差が認められた。またSR-1についても、他の突然変異4系統との間で1%水準で有意差が認められた。

温室栽培個体については、脱粒性程度の経時的变化において、原品種南京11号および難脱粒性突然変異3系統に明瞭な品種間差異が認められた (Fig. 3, Table 3)。

南京11号は、開花5日目までには抗張強度(gf)を240から270まで増すが、開花後5から10日目までに240程度まで減じた。その後抗張強度は、10日目から15日にかけて急速に減少し、最終的には脱粒性極易の60前後の値を示す。この値は、それ以後開花33日目まで維持された。

突然変異系統については、開花後10日目までは抗張強度が全て高くなつた。その後、SR-1を除く突然変異変異系統では10日目から15日目にかけて、南京11号と同様に抗張強度が急速に減じる傾向を示した。まずSR-2は、開花翌日の抗張強度は南京11号より低い200であったが、5日目から7日目にかけて240から250の範囲で増加し、その後抗張強度は減じ、最終的には150から170の範囲で脱粒性やや難のほぼ一定の値を示しながら33日目まで推移した。また北陸143号(SR-5)については、開花翌日の抗張強度は、南京11号とほとんど差がないが、15日目以降、250から270までの脱粒性難の一定の値で推移した。SR-1については、開花翌日より270という高い抗張強度を示し、また開花後10日目にも350という値を示した。その後も300以上の、脱粒性極難の値を33日目まで維持した。

圃場条件と温室条件との結果を比較すると、脱粒性極易の原品種南京11号は温室条件のものが、より低い抗張強度を示した。突然変異系統のうち脱粒性難の北陸143号(SR-5)と極難のSR-1の2系統は、温室条件下でより強い抗張強度の値をとる傾向を示した。つまり温室条件において、

各系統間の脱粒性程度の差異がより顯著であった。しかし各系統間における脱粒性程度の順序関係は、栽培条件に関係なく同一であった。

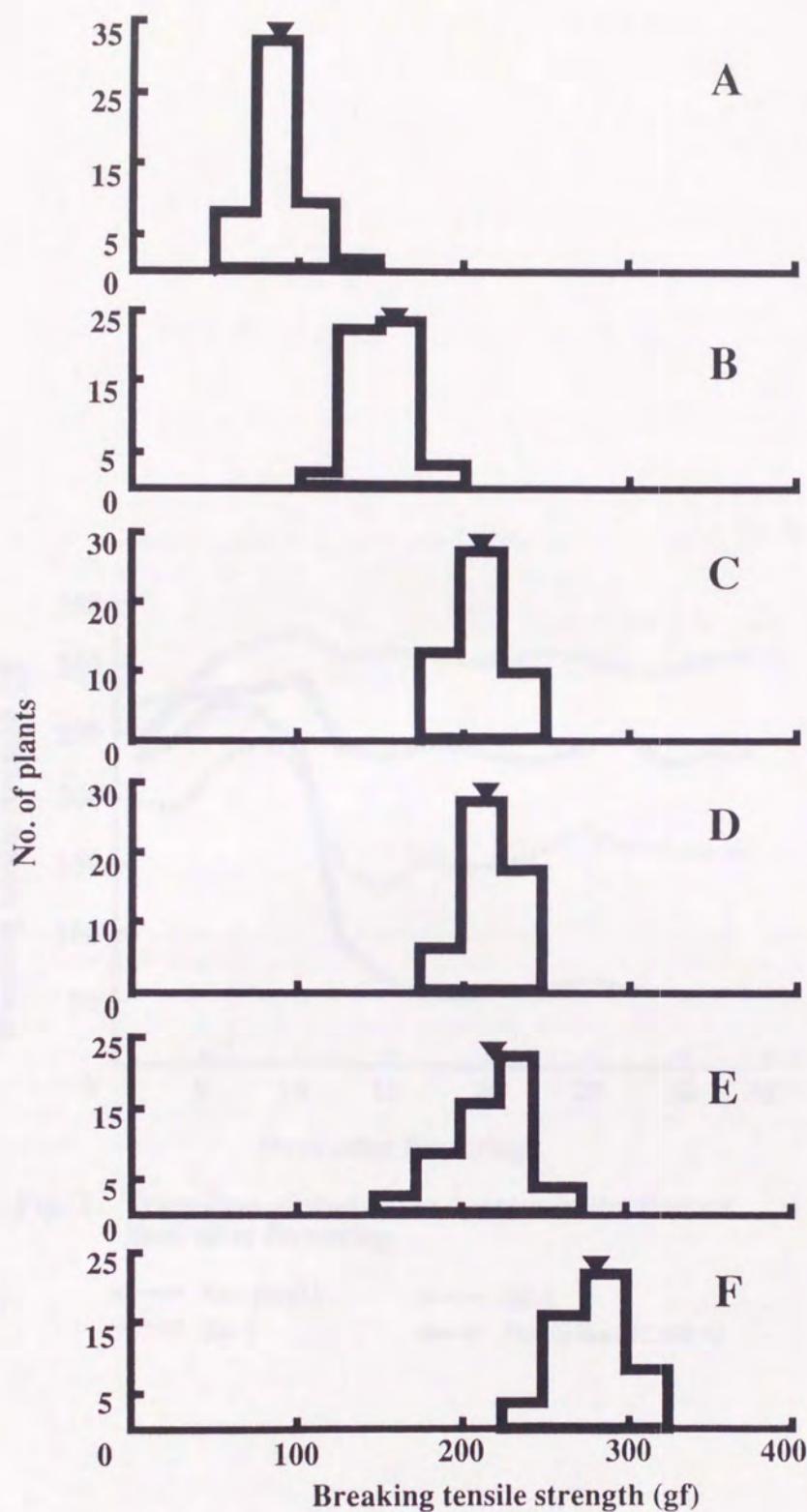


Fig. 2. Degrees of shattering in the mutant lines induced from an *indica* rice variety, "Nan-jing11"

A:Nan-jing11, n=50,      B:SR-2, n=50  
 C:Hokuriku No.143(SR-5), n=50,  
 D:SR-6, n=50,                E:SR-4, n=50  
 F:SR-1, n=50

▼: Average of breaking tensile strength(gf)

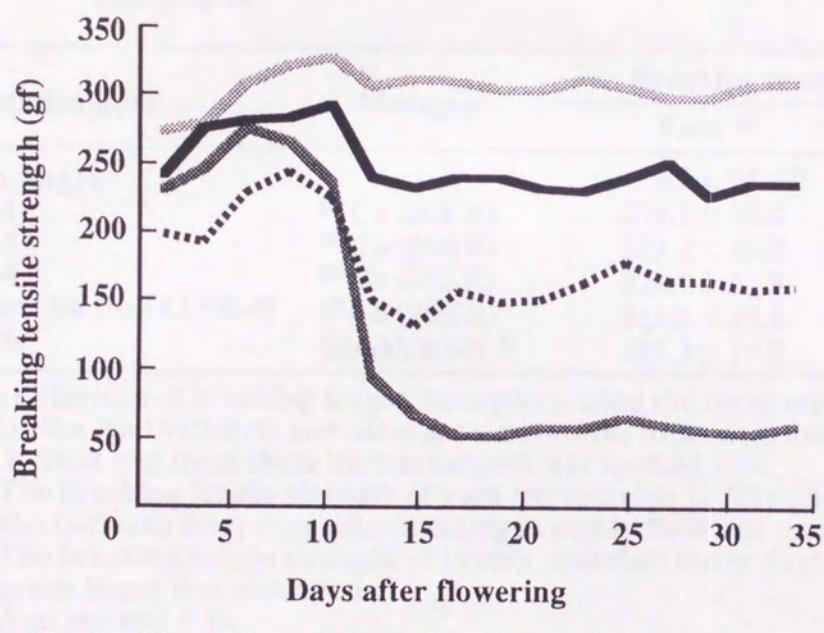


Fig. 3 . Transition of shattering degrees in the mutant lines after flowering

————— Nan-jing11  
 —— SR-1  
 ······ SR-2  
 — Hokuriku143(SR-5)

Table 3 . Degrees of shattering in the hard-mutant lines induced from an *indica* variety "Nan-jing 11"

Mutation lines	Mutagen	Breaking tensile strength (gf)	
		Field <sup>1)</sup>	Green house <sup>2)</sup>
Nan-jing11	-	90.3±14.4 <sup>3)</sup>	56.5±22.9
SR-1	<sup>60</sup> Co (20KR)	279.1±22.2	309.8±46.2
SR-2	<sup>60</sup> Co (20KR)	151.3±16.5	160.0±32.5
SR-4	<sup>60</sup> Co (20KR)	220.7±22.9	-
Hokuriku No.143(SR-5)	<sup>60</sup> Co (20KR)	211.0±20.1	237.5±29.8
SR-6	50mM EMS <sup>4)</sup>	217.3±14.5	-

The differnces of breaking tensile strengths among the three mutant lines, SR-4, Hokuriku No.143(SR-5) and SR-6 are not, but the differences among Nan-jing 11, SR-1, SR-2 and these three lines are significant ( $p<0.01$ ).

- 1): The breaking tensile strength of each ten spikelets in fifty panicles from thirty-five to forty days after heading in paddy field was measured.
- 2): The breaking tensile strength of twenty spikelets thirty days after flowering in green house was measured.
- 3): Average and S.D.
- 4): EMS:Ethyl methanesulfonate

## 2) 離層形成程度

突然変異系統SR-1, SR-2, 北陸143号(SR-5), 原品種南京11号の4系統において、離層形成程度および小穂内部構造に明瞭な系統間差が認められた。原品種南京11号では、開花後2日目にはすでに護穎基部に部分的ではあるが離層が観察される(Fig. 4B). 開花後15日目にはさらに離層は進み、開花30日目にはより明瞭になる(Fig. 4C, 4D). 一方突然変異系統では、脱粒性やや難のSR-2は全期間を通じて明瞭な離層形成は認められないが、開花15日目に護穎基部の組織細胞の密度が粗になり、その組織に部分的に細胞群の崩壊が認められた(Fig. 4F). また離層形成とは別にSR-2では、護穎基部から副護穎にかけての組織が南京11号や他の突然変異系統に比べて細長く、脱粒性だけでなく小穂内部構造自体に関する突然変異をも併発していることを確認した(Fig. 4E). 北陸143号(SR-5)では、細胞群の崩壊がすでに開花後2日目に観察される。その程度はSR-2の15日目における観察結果と同程度であった。また北陸143号の開花後15日目以降では、さらに細胞群の崩壊の進行を認めることができたが、明瞭な離層形成には至らなかった(Fig. 4G). SR-1では、開花後33日目まで、全観察期間を通して細胞群の崩壊および離層形成は全く認められない(Fig. 4H).

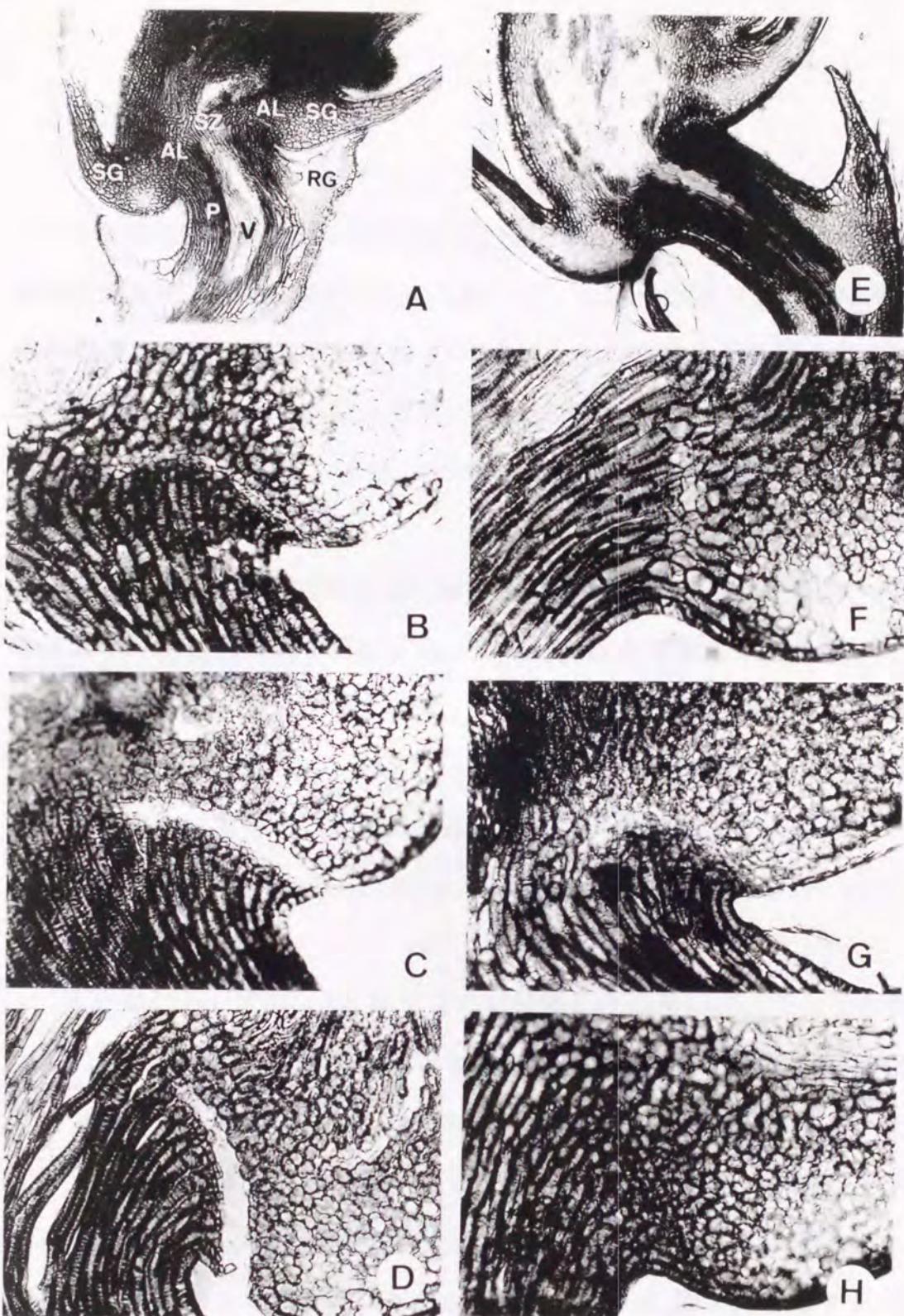


Fig. 4 . Logitudinal sections of the abscission region between pedicel and rachilla of an indica variety "Nan-jing11" and hard-shattering mutant lines derived from Nan-jing11.

A: Nan-jing11

AL: Abscission layer, P:Pedicel, RG: Rudimentary glume, SG: Sterile glume,  
SZ:Supporting zone, V: Vascular tissue

B: Nan-jing11 (two days after flowering)

C: Nan-jing11 (fifteen days after flowering)

D: Nan-jing 11 (thirty days after flowering)

E: SR-2

F: SR-2 (fifteen days after flowering)

G: Hokuriku143 (fifteen days after flowering)

H: SR-1(thirty days after flowering)

### 3. 考察

脱粒性程度の評価および離層形成程度の違いにより、5つの難脱粒性突然変異系統を3つのグループに分類した。脱粒性極難で離層形成あるいは細胞群の崩壊が全く認められないSR-1、脱粒性難で細胞群の部分的崩壊が観察されるのみで明瞭な離層形成は認められないSR-4、北陸143号(SR-5)、SR-6の3系統、脱粒性やや難で部分的細胞群の崩壊のみが認められるSR-2である。

脱粒性と離層形成とは密接な関係があるとされている。つまり小穂の護穎基部で離層細胞群が形成され、その細胞群の崩壊により離層が形成され脱粒すると考えられている(陳、井之上1982 a, b, 陳ら1982, 1992, Hu et al. 1964, SRINIVAS et al. 1979, ZEE et al. 1979)。また細胞群の形成程度や細胞群の崩壊程度の違いにより、脱粒性程度が変異すると考えられている(陳、井之上1982 a, SRINIVAS et al. 1979, ZEE et al. 1979)。

本研究においても、3グループの脱粒性程度の違いは、それぞれ離層細胞の形成あるいは細胞群の崩壊などに関与する、異なる3種の遺伝変異によるものと考えられる。ただSR-2は、細胞群の崩壊が他の系統に比べて少ない系統であるにもかかわらず、最も弱い抗張強度(gf)を示し脱粒性やや難であった。脱粒性程度の違いは、離層の形成とともに離層と中心維管束との間にある厚膜細胞の幅(ZEE et al. 1979)、離層間にある中心維管束(supporting zone)の大きさ(SRINIVAS et al. 1979)，さらに厚膜細胞の幅やsupporting zoneの大きさに加えて護穎と副護穎の間にある小穂接合部分の太さ(陳・井之上, 1982a)など小穂内部構造とも関連することが明らかにされている。SR-2では護穎と副護穎との間が細長くなる変異を併発しており、離層形成過程の遺伝変異に加えて小穂内部構造の変異が

抗張強度を減ずる結果になったと考えられる。

また温室栽培の原品種南京11号および突然変異3系統の経時的脱粒性程度の測定および離層形成程度の観察結果から、離層形成あるいは細胞群の崩壊の進行とともに抗張強度が減少することを確認した。さらに温室条件と圃場条件との間では、脱粒性程度に違いを生じ、温室条件のものがより顕著に各系統間の差を示した。しかし3グループ間の脱粒性程度に関する順位は環境条件に関係なく同一であった。つまり登熟過程の環境条件により脱粒性程度は差異を生じるが、誘発された突然変異系統の難脱粒性は、一定環境条件下では安定して発現する遺伝変異であると考えられる。また脱粒性については、離層形成、小穂内部構造、環境条件等の違いにより、変動し易い形質であることが明らかになった。またこれらの要因が相互に係わることにより、計量（量的）形質のように複雑な発現をするものと考えられる。

## 第4節 突然変異系統の遺伝様式

### 1. 材料および方法

原品種南京11号と5種の突然変異系統 (SR-1, SR-2, SR-4, 北陸143号(SR-5), SR-6) との正逆交配10組合せの  $F_1$  および  $F_2$  集団を圃場で栽培した。栽培は慣行法に従い、縦15cm, 横30cm 間隔の格子に一株一本植えとした。 $F_1$ については出穂後30日から35日経過した10から30個体を、 $F_2$ 集団は出穂後40日以上経過した80から90個体について、各組合わせごとに脱粒性程度およびその分離を調査した。

特にSR-1, SR-2, 北陸143号の3系統と南京11号との正逆交配6組み合わせについては、 $F_2$ 個体別に採種し、各個体から約100個体づつを  $F_3$  系統として系統栽培し脱粒性の分離を確認した。調査は成熟期に達した穂を手で強く握り、各個体における脱粒性の難易を判定した。さらにSR-1, SR-2, 北陸143号 (SR-5)の3系統と南京11号との  $F_1$ について、出穂後30以上経過した穂における離層形成の有無を調査した。

脱粒性程度の測定および離層形成程度の観察は、突然変異の評価（第3章、第3節）の方法に従って行った。

## 2. 結果

### 1) $F_1$ の脱粒性程度および離層形成程度

南京11号と突然変異5系統との正逆交配10組合せの $F_1$ の脱粒性程度は、脱粒性易に偏るもの全て南京11号と突然変異系統との中間値を示した (Table 4) .

離層形成程度については、南京11号では明瞭な離層が形成されるが、突然変異系統のSR-1では全く形成されない (Fig. 5B, C) . これに対して $F_1$ はわずかながら離層形成が認められた (Fig. 5D) . また北陸143号 (SR-5) では不完全であったが、 $F_1$ についてはより明瞭な形成が認められた (Fig. 5E,F) . また北陸143号と同様に不完全な形成を示すSR-2についても、 $F_1$ はSR-2より明瞭になった (Fig. 5G,H) . つまり全ての組合せの $F_1$ に離層形成が認められたが、その程度は南京11号と突然変異系統との中間であった.

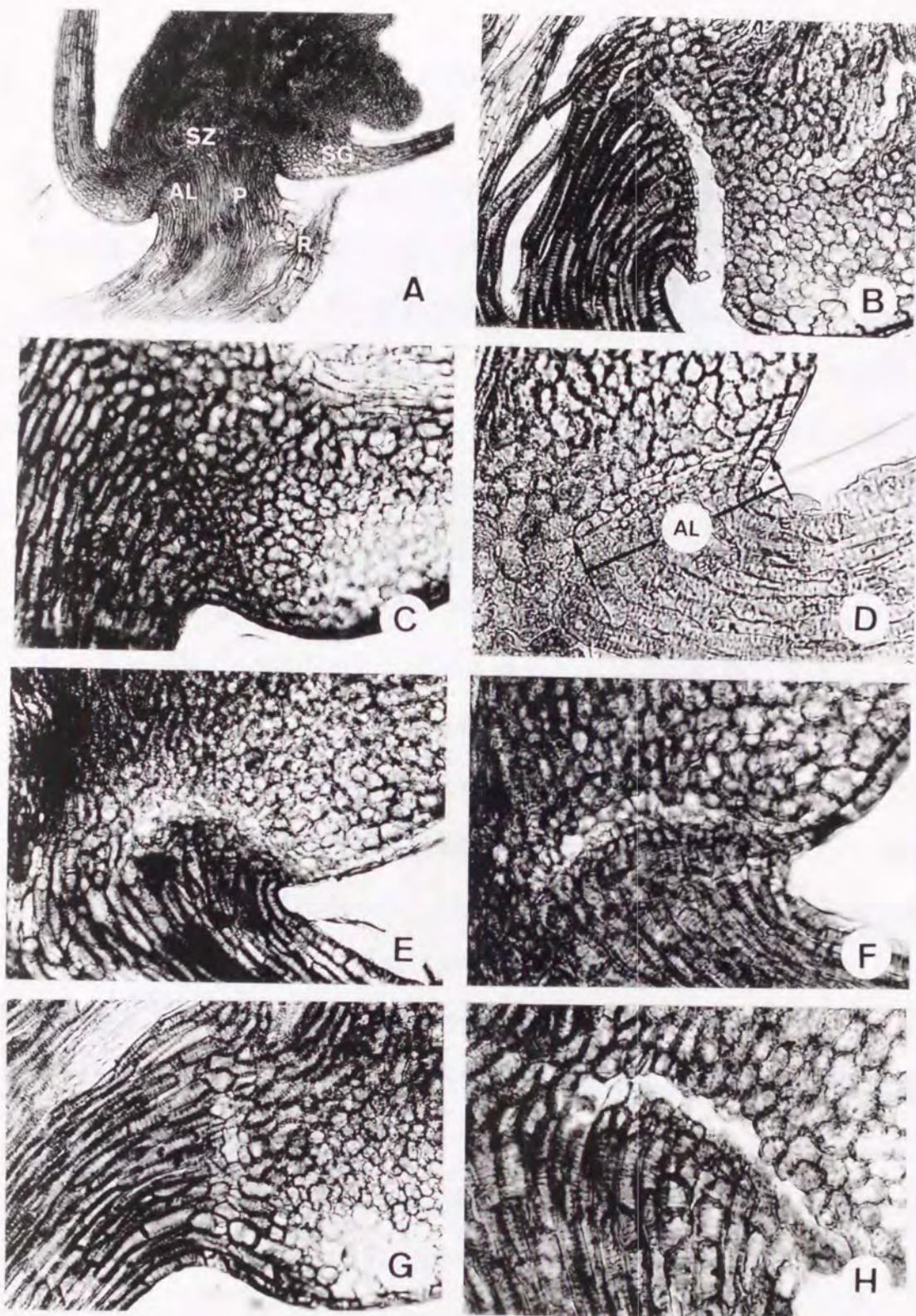
Table 4. Shattering degrees of F1 plants crossed reciprocally among hard-shattering mutant lines and Nan-jing11.

Female \ Male	Nan-jing11	SR-2	SR-4	SR-6	Hokuriku143 (SR-5)	SR-1
Nan-jing11	(124±18)*	146±23	163±13	169±25	175±16	213±25
SR-2	148±11	(157±14)	181±10	197±13	184±14	230±16
SR-4	141±26	183±15	(243±15)	254±22	255±19	228±22
SR-6	148±6	180±10	237±19	(260±19)	251±13	217±19
Hokuriku143 (SR-5)	160±14	175±9	249±10	264±18	(266±18)	237±21
SR-1	195±18	251±19	235±23	235±34	230±23	(332±28)

Shattering degrees are shown as a breaking tensile strength (gf) measured with testing device (TR-II).

\* : Means and standard deviations .

( ) : Values of the self plants



**Fig. 5** Logitudinal sections of the abscission region between pedicel and rachilla of F1 plants between an *indica* variety "Nan-jing11" and its hard-shattering mutant lines

A: Nan-jing11

B: Nan-jing11, C: SR-1, D: F1(SR-1/Nan-jing11)

E: Hokuriku143(SR-5), F: F1(Hokuriku143/Nan-jing11)

G: SR-2, H: F1(SR-2/Nan-jing11)

AL: Abscission layer, P: Pedicel, RG: Rudimentary glume, SG: Sterile glume  
SZ: Supporting zone

## 2) $F_2$ 集団および $F_3$ 系統群における脱粒性程度の分離

SR-1と南京11号との正逆交配2組合わせの $F_2$ 集団における脱粒性程度の分離については、脱粒性易から極難までの個体が分離した。しかし抗張強度225gfを境界として、脱粒性易の個体と脱粒性難の個体とに分けられ、その分離比は3:1に適合した (Fig. 6A, B, Table 5)。また $F_3$ 系統群では、正逆交配2組合わせとも脱粒性易に固定した系統群、脱粒性が分離する系統群、脱粒性難に固定した系統群にそれぞれ分れ、その分離比は1:2:1に適合した (Fig. 7A, B, Table 6)。

SR-4、北陸143号(SR-5)、SR-6の3系統と南京11号との正逆交配6組合わせの $F_2$ についても、175gfを境界として脱粒性易の個体および脱粒性難の個体に分れ、その分離比は3:1に適合した (Fig. 6C-H, Table 5)。また北陸143号(SR-5)との $F_3$ については、SR-1と同様に脱粒性易固定系統群、分離個体群、難固定系統群に分かれ、その分離比は1:2:1に適合した (Fig. 7C, D, Table 6)。しかしSR-2と南京11号との正逆交配2組み合わせについては、 $F_2$ 集団では他の突然変異系統の雑種集団のような脱粒性易あるいは難個体の明瞭な分離は認められなかった (Fig. 6I, J)。しかし $F_3$ 系統群においては脱粒性易固定系統群、分離系統群、難固定系統群に分かれ、その分離比は1:2:1に適合した (Fig. 7E, F, Table 6)。

これらの結果から、突然変異5系統の難脱粒性は、いずれも单一の劣性遺伝子により支配されていることが明らかになった。

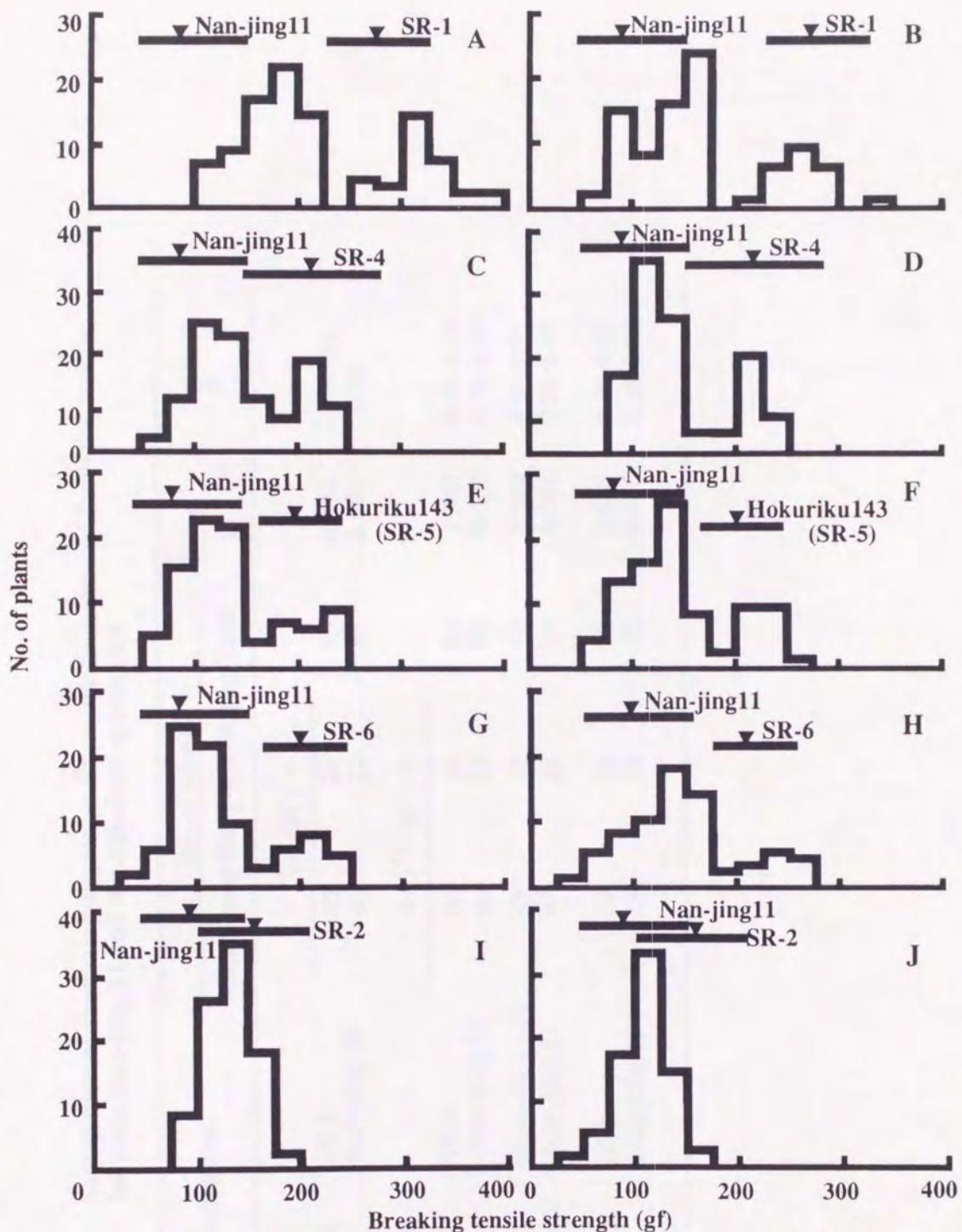


Fig. 6 . Distribution of shattering degrees in F<sub>2</sub> populations derived from the crosses between Nan-jing 11 and hard-shattering mutant lines.

A:(Nan-jing11/SR-1), n=89 , B:(SR-1/Nan-jing11), n=88

C:(Nan-jing11/SR-4), n=82, D:(SR-4/Nan-jing11), n=90

E:(Nan-jing11/Hokuriku143), n=89 F:(Hokuriku143/Nan-jing11), n=88

G:(Nan-jing11/SR-6), n=82 H;(SR-6/Nan-jing11), n=90

I:(Nan-jing11/SR-2), n=80 J:(SR-2/Nan-jing11), n=89

: Mean and distribution of shattering degrees in parents

Table 5 . Segregation of shattering degrees in F<sub>2</sub> populations derived from the crosses between Nan-jing 11 and hard-shattering mutants

Cross combination	No. of plants			$\chi^2$ (3 : 1)	p
	Shattering	Hard-shattering	Total		
< 225 (gf) <					
Nan-jing 11 / SR-1	63	26	89	0.842	0.30-0.50
SR-1 / Nan-jing 11	66	22	88	0.000	0.99
< 175 (gf) <					
Nan-jing 11 / SR-4	56	26	82	1.967	0.10-0.20
SR-4 / Nan-jing 11	66	24	90	0.133	0.70-0.80
Nan-jing 11 / Hokuriku 143	67	22	89	0.004	0.90-0.95
Hokuriku 143 / Nan-jing 11	67	21	88	0.061	0.80-0.90
Nan-jing 11 / SR-6	62	16	78	0.837	0.30-0.50
SR-6 / Nan-jing 11	56	14	70	0.933	0.30-0.50

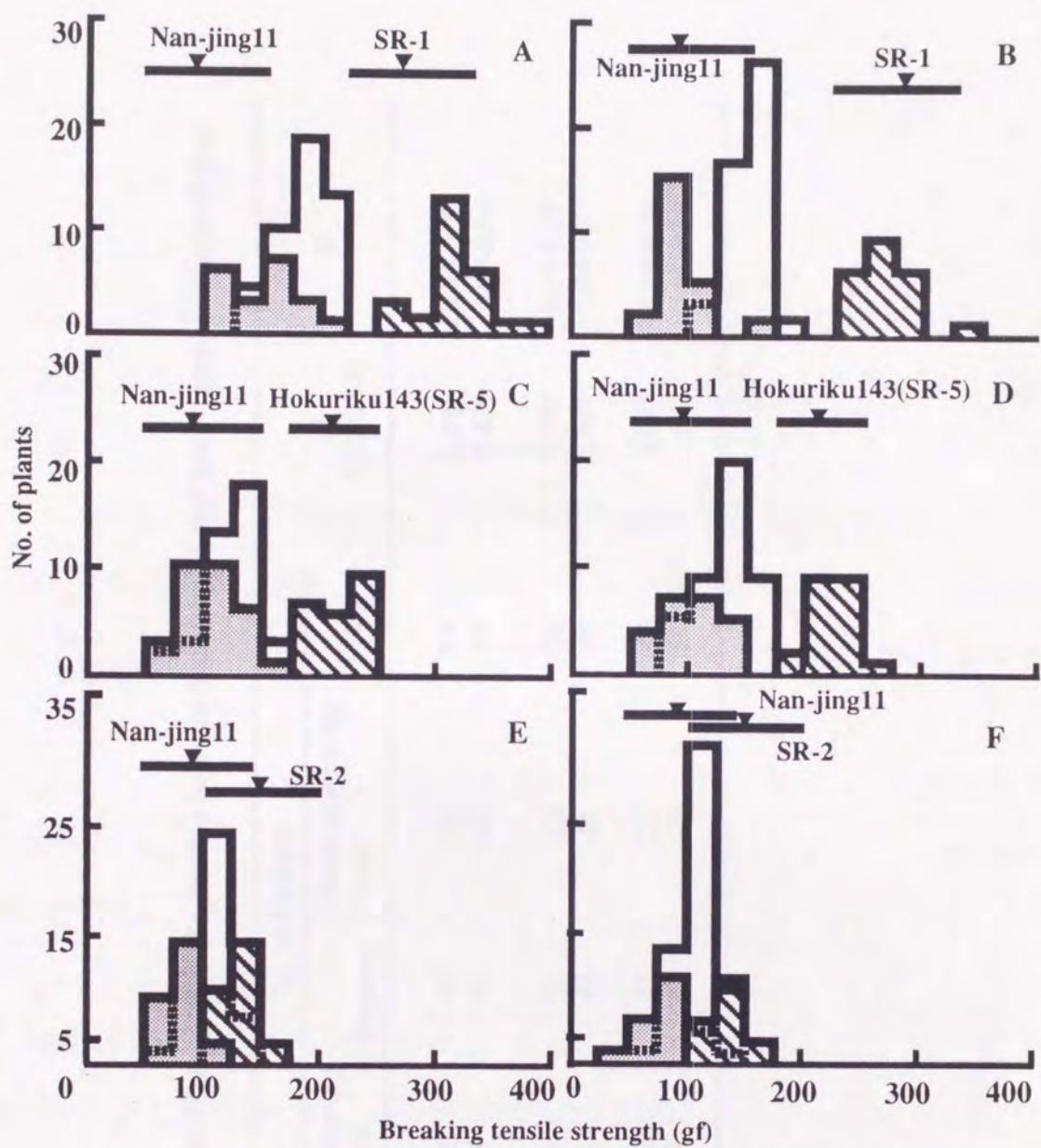


Fig. 7 . Distributions of shattering degrees in F<sub>3</sub> lines derived from the crosses between Nan-jing11 and hard-shattering mutant lines

A:(Nan-jing11/SR-1), n=89    B:(SR-1/Nan-jing11), n=88

C:(Nan-jing11/Hokuriku143), n=89

D:(Hokuriku143/Nan-jing11), n=88

E:(Nan-jing11/SR-2), n=80    F:(SR-2/Nan-jing11), n=89

—▼— : Mean and distribution of shattering degrees in parents.

■ : Homogeneous type for shattering easy

□ : Heterogeneous type for shattering

▨ : Homogeneous type for shattering hard

Table 6. Segregation of F<sub>3</sub> populations derived from the crosses between Nan-jing 11 and hard-shattering mutant lines

Cross combination	No. of F <sub>3</sub> lines				$\chi^2$ (1 : 2 : 1)	p
	Shattering homo.	Hetero.	Hard-shattering homo.	Total		
Nan-jing 11 / SR-1	20	43	26	89	0.910	0.50-0.70
SR-1 / Nan-jing 11	24	42	22	88	0.419	0.80-0.90
Nan-jing 11 / SR-2	17	50	13	80	5.400	0.05-0.10
SR-2 / Nan-jing 11	22	44	23	89	0.034	0.98-0.99
Nan-jing 11 / Hokuriku 143	30	37	22	89	3.967	0.10-0.20
Hokuriku 143 / Nan-jing 11	23	43	22	88	0.068	0.95-0.98

### 3. 考察

本研究で誘発した難脱粒性5系統については、それぞれ離層形成に関する遺伝子座の単一の劣性突然変異により生じたと考えられる。

脱粒性と離層形成との関係については、Hu et al.(1964)はインド型品種由来の難脱粒性突然変系統と脱粒性易の品種との雑種を用いた解析から、突然変異系統における離層消失は1または2個の遺伝子に支配される劣性形質であるが、難脱粒性は優性形質であるとしている。また、顔(1978)は、崩壊性の離層細胞を有するインド型品種の脱粒性易は離層を持たない脱粒性難の系統に対して部分優性で、少なくとも2個以上の遺伝子の関与を示唆している。また陳ら(1982)は離層細胞群の形成および形成細胞群の崩壊に、それぞれ一対の優性遺伝子が関わっていると報告している。さらにOBA and KIKUCHI (1989)はインド型品種の脱粒性遺伝子を日本型品種の遺伝的背景に導入した同質遺伝子系統を用いた解析から、この遺伝子は離層細胞の形成には優性遺伝子として作用すると報告している。

つまり離層細胞群の形成については優性あるいは部分優性の遺伝子の関与が考えられ、また細胞群の形成以後の細胞崩壊から脱粒に至るまでにも別の遺伝子が関与することが推定されている。

本研究における突然変異も、これら細胞形成あるいは崩壊に関与しているものと考えられる。また $F_1$ の表現型でみると、脱粒性程度および離層形成程度はいずれも南京11号と突然変異系統との中間である。このことは南京11号に存在する脱粒性遺伝子の作用は不完全(部分的)優性であることを示している。

## 第5節 突然変異遺伝子の対立性検定

### 1. 材料および方法

単一の劣性遺伝子支配であることが明らかになった難脱粒性突然変異5系統間で相互交雑を行い、正逆交配20組合せの $F_1$ の脱粒性程度および $F_2$ 集団の分離を調査した。栽培は慣行法に従い、縦15cm、横30cm間隔の格子状に一株一本植えとした。

脱粒性程度の測定は、突然変異系統の評価（第3章、第3節）の方法に従い行った。

### 2. 結果

#### 1) $F_1$ の脱粒性程度

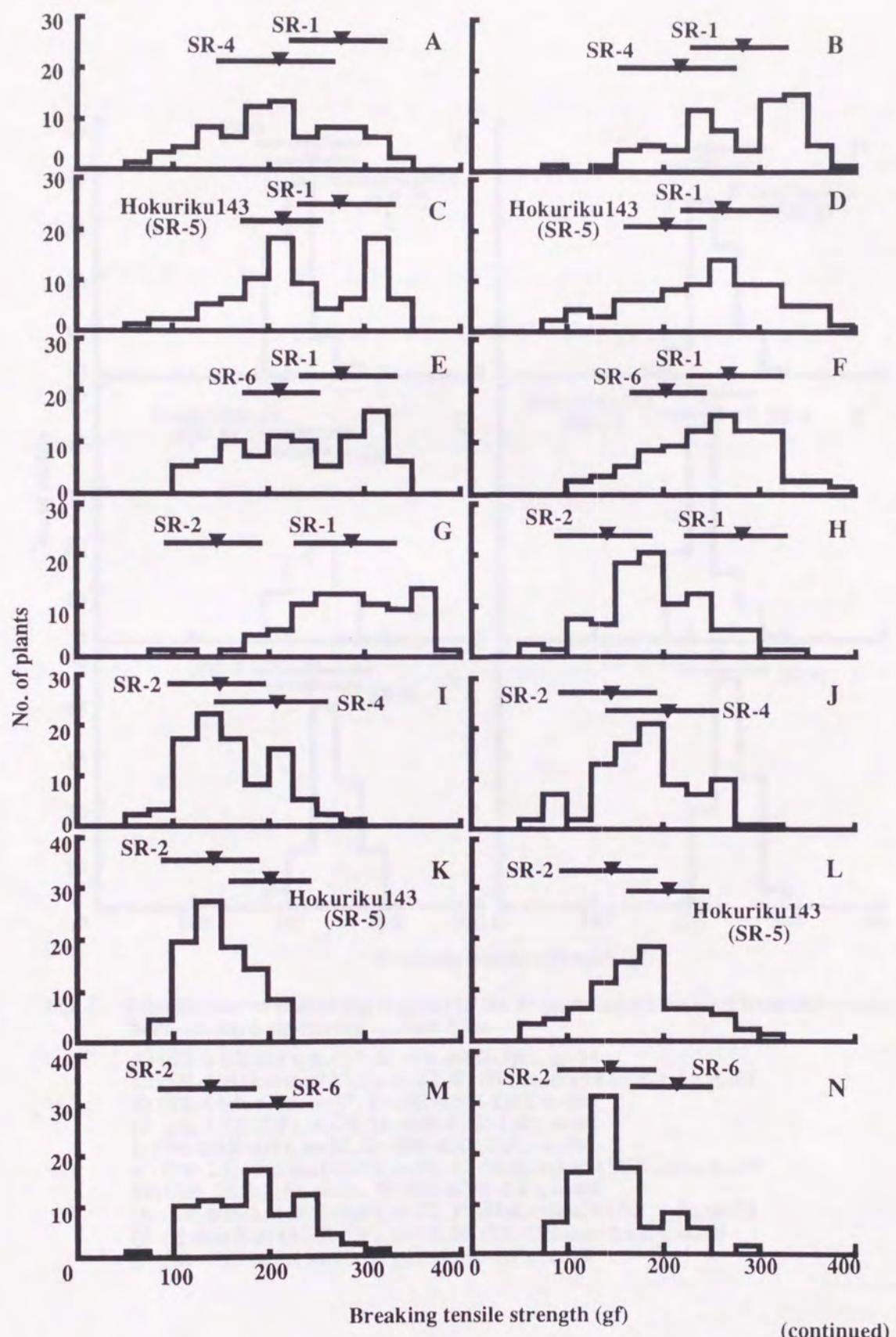
突然変異系統間の相互交配20組合せの $F_1$ のうち、脱粒性程度に差がないSR-4、北陸143号(SR-5)、SR-6の3系統を用いた相互交配6組合せにおける抗張強度(gf)は、全て両親と同程度の脱粒性難の値を示し、両親および $F_1$ の相互間に顕著な差は認められない。

しかしこれ以外の14組合せについては、SR-4、北陸143号(SR-5)、SR-6の3系統と脱粒性極難のSR-1との正逆交配6組合せの $F_1$ は、いずれの抗張強度も両親よりもやや低い値を示し、両親に比べてより脱粒性易に偏る傾向が認められた。またSR-4、北陸143号(SR-5)、SR-6、SR-1の4系統と脱粒性やや難のSR-2との正逆交配8組合せの $F_1$ については、いずれも両親の中間の抗張強度を示した（Table 4）。

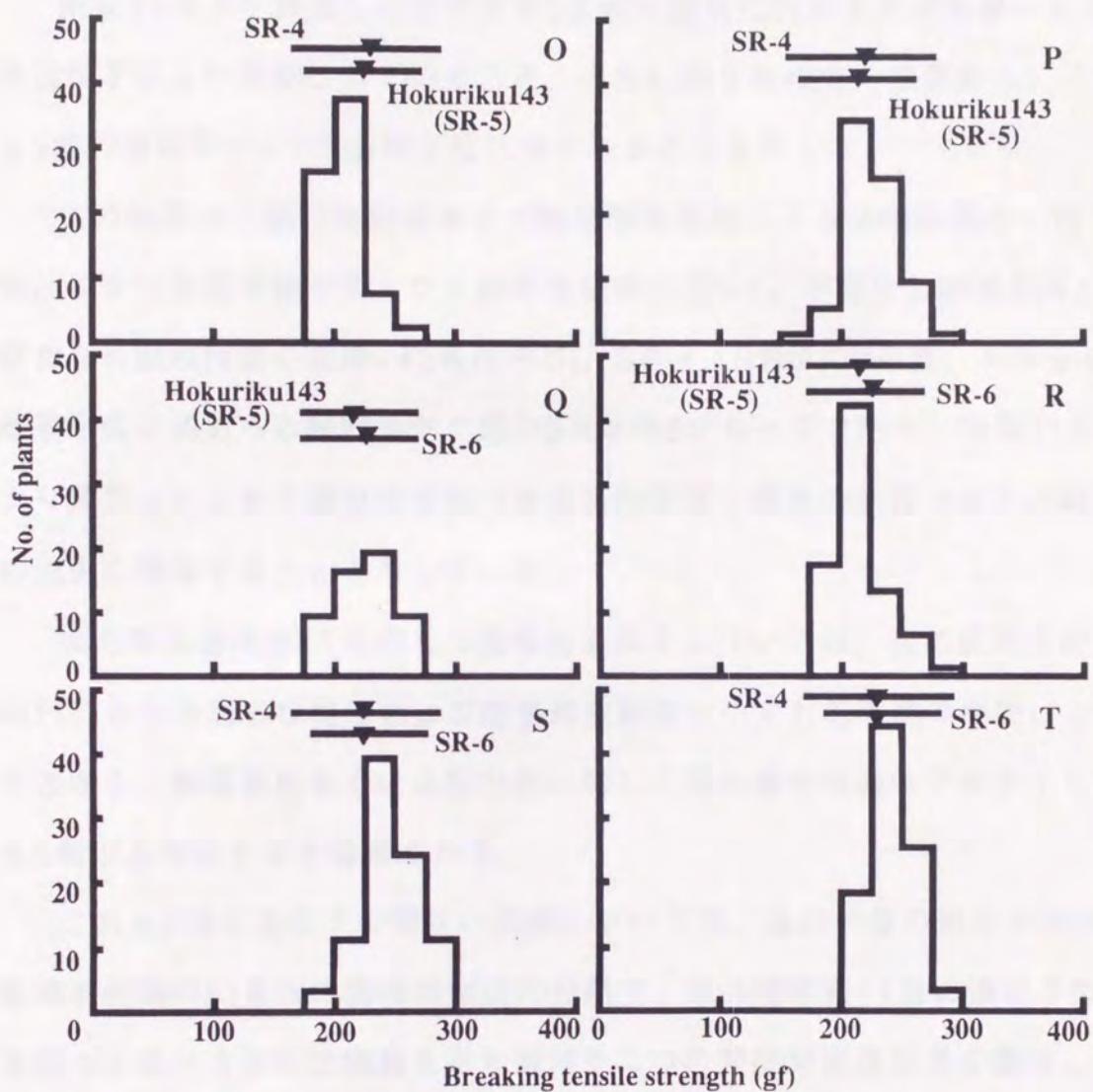
## 2) $F_2$ 集団における脱粒性程度の分離

SR-4, 北陸143号(SR-5), SR-6の3系統間の正逆交配6組合せの $F_2$ 集団については、いずれも両親に認められないような個体の分離はなかった (Fig. 8. O-T) . 一方、脱粒性極難のSR-1と難のSR-4, 北陸143(SR-5), SR-6の3系統間との正逆交配6組み合わせの $F_2$ 集団では、両親の脱粒性程度の分布範囲にはない原品種南京11号の脱粒性程度を示す極易の個体から極難の個体が分離し、連續分布を示した (Fig. 8. A-F). また、SR-2とSR-1との $F_2$ 集団においても、両親にはない南京11号の脱粒性極易を示す超越分離個体を含む脱粒性極易から極難までの連續分布を示した (Fig. 3 D) . SR-2とSR-4, 北陸143(SR-5), SR-6の3系統間との正逆交配6組合せの $F_2$ 集団については、脱粒性極易個体に加えて脱粒性極難を示す超越分離も生じた (Fig. 8. I-N) .

以上の結果からSR-4, 北陸143号 (SR-5) , SR-6の3系統の難脱粒性突然変異遺伝子は、同座であるが、SR-1およびSR-2の遺伝子座とは異なる事が明らかになった。またSR-1とSR-2との突然変異遺伝子も異なる遺伝子座であることが明らかになった。



(continued)



**Fig. 8 .** Distribution of shattering degrees in the F<sub>2</sub> populations derived from the crosses between hard-shattering mutant lines

- A: (SR-1/SR-4)F<sub>2</sub>, n= 77, B: (SR-4/SR-1)F<sub>2</sub>, n=74
- C: (SR-1/Hokuriku143)F<sub>2</sub>, n=87, D: (Hokuriku143/SR-1)F<sub>2</sub>, n=81
- E: (SR-1/SR-6)F<sub>2</sub>, n=87, F: (SR-6/SR-1)F<sub>2</sub>, n=81
- G: (SR-1/SR-2)F<sub>2</sub>, n=79, H: (SR-2/SR-1)F<sub>2</sub>, n=88
- I: (SR-2/SR-4)F<sub>2</sub>, n=92, G: (SR-4/SR-2)F<sub>2</sub>, n=90
- K: (SR-2/Hokuriku143)F<sub>2</sub>, n=90, L: (Hokuriku143/SR-2)F<sub>2</sub>, n=77
- M: (SR-2/SR-6)F<sub>2</sub>, n=76, N: (SR-6/SR-2)F<sub>2</sub>, n=89
- O: (SR-4/Hokuriku143)F<sub>2</sub>, n=72, P: (Hokuriku143/SR-4)F<sub>2</sub>, n=75
- Q: (Hokuriku143/SR-6)F<sub>2</sub>, n=53, R: (SR-6/Hokuriku)F<sub>2</sub>, n=79
- S: (SR-6/SR-4)F<sub>2</sub>, n=90, T: (SR-4/SR-6)F<sub>2</sub>, n=88

### 3) 考察

南京11号より誘発した突然変異5系統の難脱粒性がそれぞれ単一の劣性遺伝子により支配されていること、さらに対立性検定の結果から、これら5種の遺伝子が3つの遺伝子座に分かれることを示した。

この結果は、脱粒性程度および離層形成程度による分類結果と一致する。つまり離層形成が全くなき脱粒性極難のSR-1、不完全な離層形成が認められ脱粒性難の北陸143号(SR-5), SR-4, SR-6の3系統、不完全な離層形成が認められ脱粒性やや難のSR-2の3グループである。南京11号より誘発したこれら難脱粒性突然変異遺伝子は、程度の差異はあるが離層の消失に関与することを示している。

また原品種南京11号のもつ脱粒性遺伝子については、突然変異系統とのF<sub>1</sub>における脱粒性程度および離層形成程度はいずれも両親の中間になることから、離層形成あるいは脱粒性に関して部分優性の遺伝子が少なくとも3個以上存在すると推定される。

これら3個の遺伝子の相互の関係については、遺伝子座の異なる突然変異系統間のF<sub>2</sub>集団の脱粒性程度の分離で、原品種南京11号の遺伝子型を持つと思われる脱粒性極易を示す個体や二つの突然変異遺伝子を重複した遺伝子型を持つと思われる脱粒性極難の個体が超越分離する。これらの超越分離個体は、南京11号のもつ脱粒性遺伝子および突然変異遺伝子の相加的作用によるもの考える。

## 第6節 RFLPマーカーを用いた突然変異遺伝子のマッピング

### 1. 材料および方法

突然変異系統SR-1に関する難脱粒性遺伝子の染色体上への位置づけのため、脱粒性易のジャワ型 (*javanigca*) イネ品種「Dinalaga」との  $F_1$  および  $F_2$  集団、80個体について、脱粒性程度および稈長の形質調査、ならびにRFLP分析を行った。

両親および雑種 ( $F_1$ ,  $F_2$ ) は、温室内で栽培した。播種後40日間は長日条件下（16時間日長）で栽培し、その後出穂の促進および同調化を図るために短日処理（8時間日長）を行い出穂させた。出穂後40日目に収穫し、脱粒性程度および稈長の調査を行った。

脱粒性程度は、主稈穂の先端10小穂の抗張強度 (gf) を測定し、その平均を各個体の値とした。

また脱粒性程度と稈長については、形質間相関の有無を調査した。RFLPマーカー分析は、出穂後、植物体の緑葉を5-10g採取し、CTAB法 (MURRAY and THOMPSON 1980) により全DNAを抽出した。抽出したDNAは、5種の制限酵素 (BgIII, Dral, EcoRV, HindIII, KpnI) で消化した後、0.8%アガロース電気泳導により分画し、ナイロンメンブレンに転写した。転写したDNAは、非放射性検出法 (ECL system:アマシャム社) でラベルされたRFLPプローブ (SAITO et al. 1991, RGP 1993) でサザンハイブリダイゼーションし多型を検出した。サザン分析の結果、雑種集団各個体のRFLPマーカーに対する遺伝子型を明らかにし、RFLP連鎖地図をコンピュータープログラム「MAPMAKER/EXP Ver3.0」を用いて作成した。RFLPプローブには、第一染色体の7個のRFLPマーカー (*C112, ald, C86, XNpb113, XNpb393, gbp, C122*) を用いた。

RFLPマークーとの連鎖分析については、脱粒性程度および稈長の両形質はいずれも主働遺伝子支配であると考えられるが、計量形質遺伝子座（QTL）解析の手法を適用した。

計量形質遺伝子座が存在する検定基準として、RFLP連鎖地図の各マークー一点で集団全体の計量形質の最大尤度（正規分布を前提）を計量形質遺伝子座が存在していない条件下での最大尤度で割ったものの対数である lod score (LANDER and BOTSTEIN 1989) を用いた。またRFLPマークーとマークーの中間領域点においても、2cMごとにinterval mapping (LANDER and BOTSTEIN 1986, 1989) を行いlod scoreを算出し検定した。lod scoreが2.4以上の場合、計量形質遺伝子座が存在するとした。この計量形質遺伝子座の解析のため、コンピュータープログラム「MAPMAKER /QTL Ver1.1」を用いた。

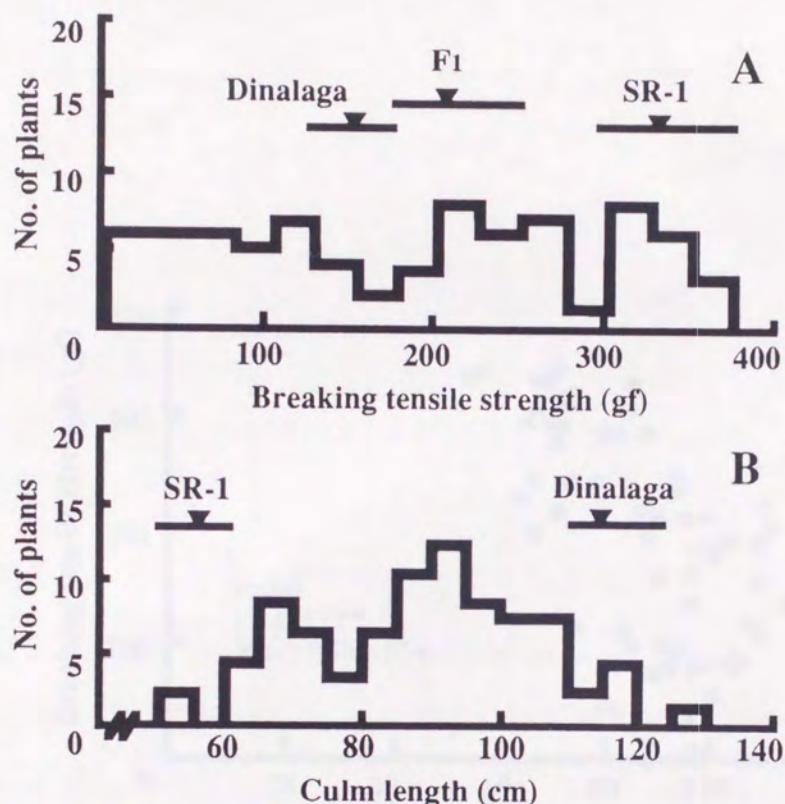
## 2. 結果

### 1) 脱粒性程度および稈長の分離

脱粒性および稈長はいづれも主動遺伝子支配であると考えられるのにもかかわらず、遺伝的背景の異なるDinalagaとの $F_2$ 集団では両形質は複雑な分離を示すことが明らかになった。

脱粒性程度については、 $F_1$ は両親の中間の値を示した。また $F_2$ 集団内における遺伝的分離は、脱粒性極易から極難までの連続分布となった。分離の分布を見ると、SR-1の脱粒性極難、Dinalagaの脱粒性易および極易、 $F_1$ の値を示す脱粒性程度の領域に3つのピークが認められたが、それぞれの個体群の境界は明確ではなかった。また両親に認められない脱粒性極易の超越分離個体が生じた（Fig. 9A）。つまりSR-1の難脱粒性遺伝子は単一の劣性遺伝子に支配されているが、遺伝的背景の異なるDinalagaのもつ脱粒性に関与する別の遺伝子の存在が考えられ、 $F_2$ 集団における脱粒性程度の分離は複雑であった。

また稈長については、SR-1が南京11号由来の半矮性遺伝子をもつと考えられるが、 $F_2$ 集団内では短稈のSR-1から長稈のDinalagaまでの稈長をもつ個体が連続分離した。SR-1の短稈側と両系統の中間を中心とする長稈側との二つの個体群に分離したが、その境界は明瞭ではなかった（Fig. 9B）。



**Fig. 9 . Segregation of shattering degrees and culm length in the F<sub>2</sub> population derived from the cross between hard-shattering mutant line, "SR-1" induced from an *indica* variety , "Nan-jing" and a *javanica* rice variety , "Dinalaga" .**

**A: Segregation of shattering degrees**  
**B: Segregation of culm length**

— :Means and ranges of the parents and F<sub>1</sub>.

## 2) 脱粒性程度と稈長との関係

$F_2$ 集団の脱粒性程度と稈長との形質間の関係をみると、稈長の短い個体ほど脱粒性難になる負の相関 ( $r=-0.57^{**}$ ) が認められた (Fig. 10).

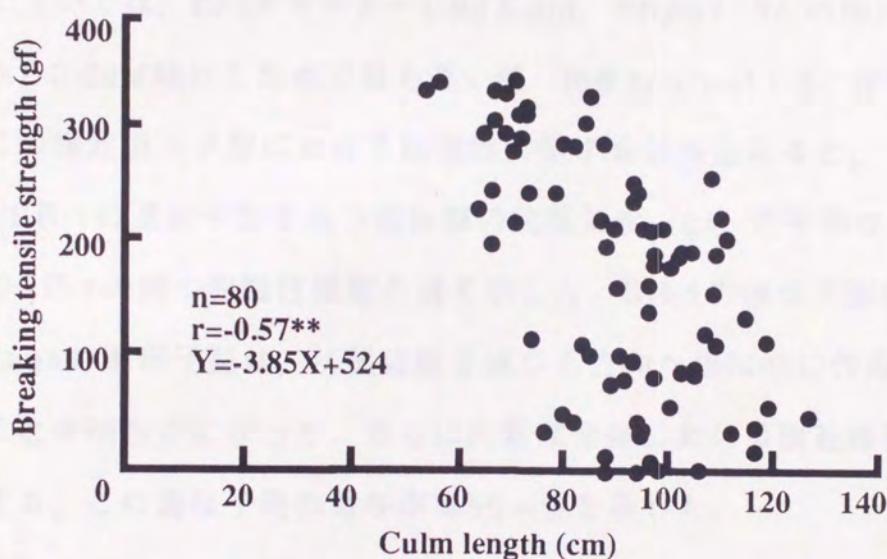


Fig. 10. Relationship between shattering degrees and culm length among the  $F_2$  population derived from the crosses between hard-shattering mutant line, "SR-1" induced from an *indica* variety, "Nan-jing11" and *javanica* variety, "Dinalaga".

### 3) 難脱粒性遺伝子のマッピング

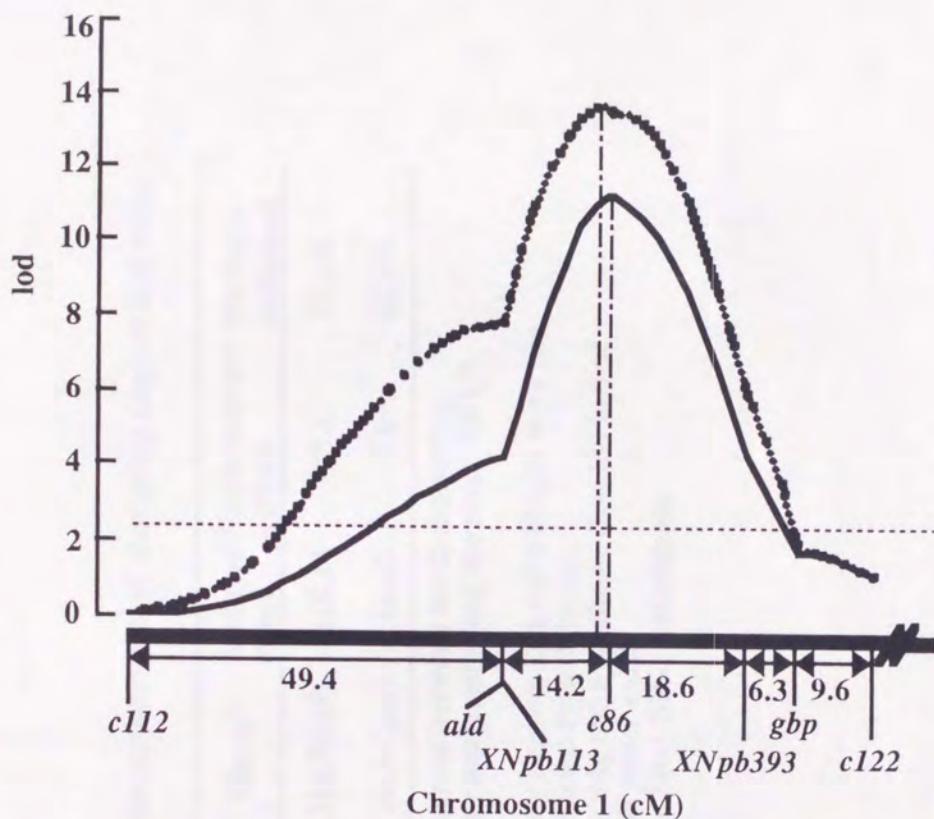
難脱粒性突然変異遺伝子および稈長に係わる遺伝子（半矮性遺伝子）は、第1染色体のRFLPマークー $C86$ の近傍に座乗していることが明らかになった（Fig. 11）。

SR-1とDinalagaとの $F_2$ 集団、80個体を用いて、第1染色体の7個のRFLPマークーからなる連鎖地図を作成した。このRFLP連鎖地図上における脱粒性程度および稈長に対するlod scoreを算出したところ、脱粒性程度については、RFLPマークー $C86$ と $ald$ 、 $XNpb113$ との間に位置し、 $C86$ から0.2cM離れた地点で最も高い値（lod score=11.3）が示された。またこの推定遺伝子座における脱粒性に関する効果をみると、SR-1/SR-1の遺伝子型をもつ個体群の抗張強度（gf）の平均は、316,05と親のSR-1の持つ脱粒性極難の値を示した。SR-1の遺伝子型に対してDinalagaの遺伝子型は、抗張強度を減じる方向へ相加的に作用する力が強いことが明らかになった。さらに $F_2$ 集団全体における脱粒性程度の分離に対する、この遺伝子座の寄与率は50.4%を示した。

稈長についても、RFLPマークー $C86$ と $ald$ 、 $XNpb113$ との間で、 $C86$ から2.2cMの離れた地点で最も高い値（lod score=13.79）示した。この推定遺伝子座での効果については、SR-1/SR-1の遺伝子型をもつ個体群の稈長（cm）の平均は66.34と親のSR-1とほぼ同様の短稈の値を示し、SR-1の遺伝子に対してDinalagaの遺伝子型が稈長を高める方向へ相加的に作用する。また稈長の分離に関する寄与率については、62.1%であった（Table 7）。

またRFLPマークー $C86$ における各遺伝子型の脱粒性程度および稈長の分離をみると、脱粒性についてはDinalagaホモ型の個体が脱粒性易側へ、SR-1ホモ型が脱粒性難側への分布の偏りが認められた（Fig. 12.A-D）。

稈長についても、Dinalagaホモ型個体が長稈へ、SR-1ホモ型が短稈側への分布の偏りが認められた (Fig. 12.E-H) .



**Fig. 11 .** The mapping of hard-shattering gene and semi-dwarf gene in a mutant line, "SR-1" induced in an *indica* rice variety, "Nan-jing11". The likelihood map is indicated by lod scores for shattering degrees (solid line) and culm length (dotted line), throughout the 98.8 cM spanned by the seven RFLP makers. The RFLP linkage map used in the analysis is presented along the abscissa, in Kosambi cM. The maximum likelihood position of two loci, hard-shattering and semi-dwarf, is the highest point in the lod score's curves. The dotted line at lod score = 2.4 indicates the required significance level. Data were analyzed with a computer program, MAPMAKER/QTL.

Table 7 . The effects culculated for the putative loci of shattering degrees and culm length

Trait	Lod score <sup>1)</sup>	Mean <sup>2)</sup>	Additive <sup>3)</sup> effect	Dominance <sup>3)</sup> effect	Variance explained
Shattering degrees	11.30	316.05(gf)	-118.14	-23.62	50.4%
Culm length	13.79	66.34(cm)	18.63	7.05	62.1%

The 80 F<sub>2</sub> plants derived from the cross between hard-shattering mutant line, SR-1 and Dinalaga were analyzed using the seven RFLP markers on Chromosome 1.

The both putative loci for shattering degrees and culm length were the maximum likelihood positions indicated by lod scores.

- 1): The strength of the data supporting the hypotheses that the loci of hard-shattering and semi-dwarf genes exist.
- 2): The mean values of the trait for SR-1/SR-1 individuals.
- 3): The effects of Dinalaga alleles.

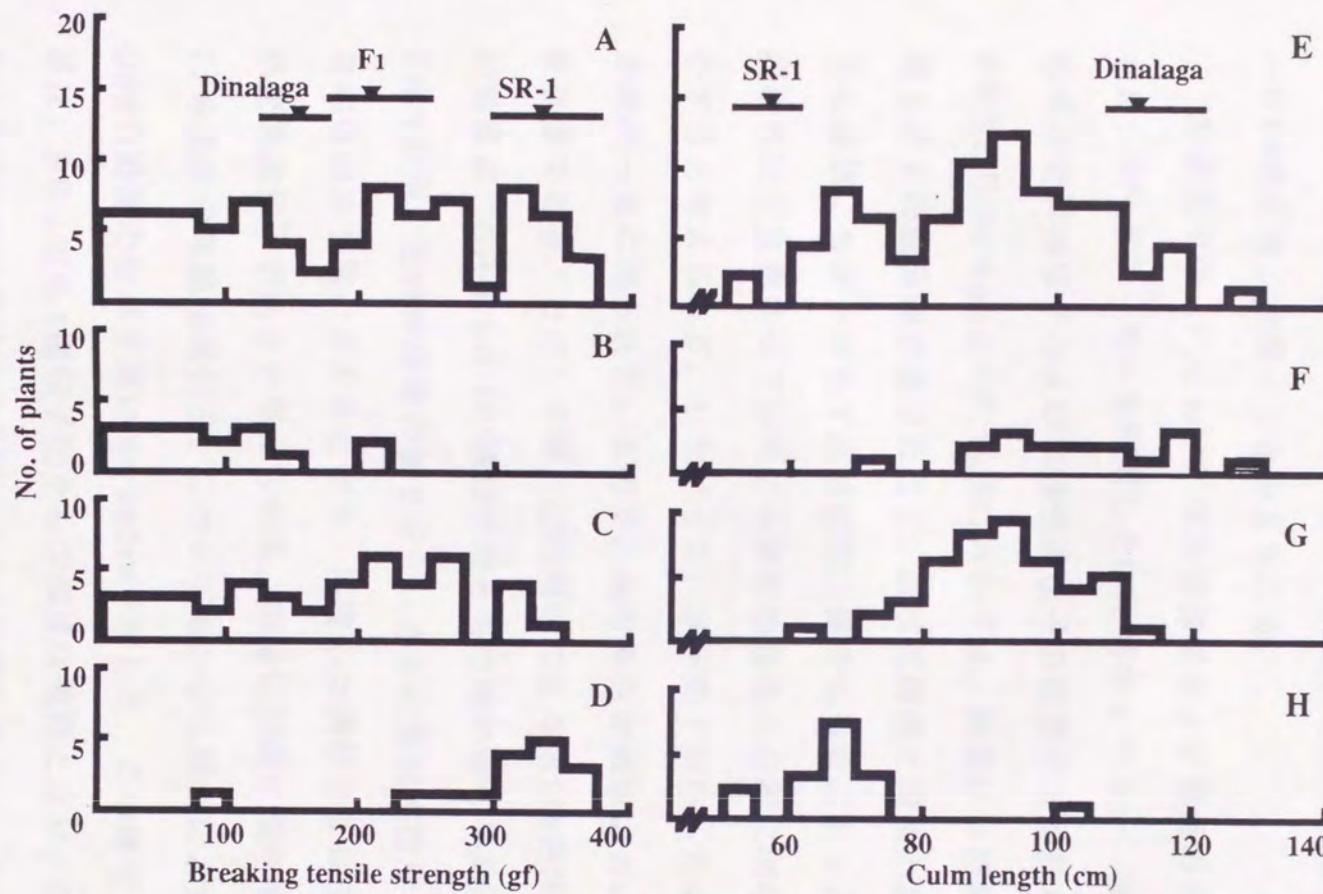


Fig. 12 . The segregation of shattering degrees and culm length in the three genotypes of RFLP marker (*c86*) on chr.1 among the F<sub>2</sub> population of the cross between hard-shattering mutant line, "SR-1" induced from an *indica* rice variety , "Nan-jing11" and a *javanica* variety , "Dinalaga".

A-D: Segregation patterns of the shattering degrees  
 E-H: Segregation patterns of the culm length  
 A, E: The distribution of whole F<sub>2</sub> population,  
 B, F: Homogeneous type for Dinalaga  
 C, G: Heterogeneous type  
 D, H: Homogeneous type for SR-1

— : Means and ranges of the parents and F<sub>1</sub>

### 3. 考察

SR-1の難脱粒性突然変異遺伝子は、第1染色体のRFLPマーカーC86の近傍に座乗すると考えられる。また原品種南京11号より由来し、SR-1の持つ半矮性遺伝子についても、突然変異遺伝子と連鎖し、RFLPマーカーC86の近傍に座乗すると考えられる。

本研究では、 $F_2$ において脱粒性程度および稈長の分離は複雑であったため、RFLPマーカーを利用したQTL解析を行ない、染色体上への難脱粒性突然変異遺伝子および半矮性遺伝子の位置づけを行なった。しかしSR-1とDinalagaとの $F_2$ 集団においては、両親には認められない脱粒性程度を示す超越分離が生じたこと、脱粒性程度と稈長との相関係数が両遺伝子の連鎖にもかかわらず比較的低い値であったことなどにより、SR-1の難脱粒性突然変異遺伝子以外にも脱粒性程度の分離に関する遺伝子座が存在すると考えられる。したがって、本研究で解析した染色体領域は第1染色体の一部に限られているので、他の染色体領域においてもさらなる解析が必要である。ただし今回、QTL解析による第1染色体上の推定遺伝子座の効果は、SR-1/SR-1の遺伝子型をもつ個体群の平均は脱粒性極難のSR-1の示す脱粒性程度の値を示し、さらに脱粒性程度の分離に対する寄与率は極めて高いことなどから、推定した遺伝子座はSR-1の難脱粒性突然変異遺伝子であると考えられる。同様に稈長に関する遺伝子座（南京11号由来の半矮性遺伝子）についても、QTL解析によりRFLPマーカーC86の近傍の地点で高いlod scoreを示した。この推定した遺伝子座の効果は、SR-1/SR-1遺伝子型をもつ個体は短稈となり、Dinalagaの遺伝子型は長稈方向に相加的に作用し、さらに寄与率についても高い値であった。これらのことから、稈長に関する推定遺伝子座はSR-1の半矮性遺伝子であり、第1染色体に座乗すると考えられる。

またSR-1の難脱粒性突然変異遺伝子および半矮性遺伝子の推定遺子座については、これまで報告され第1染色体上に座乗する脱粒性遺伝子 *sh-2* および半矮性遺伝子 *sd-1* の遺伝子座である可能性が高い。

脱粒性遺伝子と半矮性遺伝子との関係について、小林（1973）は、脱粒性遺伝子が半矮性遺伝子と 7.0-15.3% の組換価で連鎖することを報告している。また菊池ら（1984）も脱粒性易になる劣性遺伝子が半矮性遺伝子と連鎖することを報告している。さらに、大場ら（1989）は、その脱粒性遺伝子と半矮性遺伝子 (*sd-1*) が第1染色体上で 13.1% の組換価で連鎖していることを明らかにしている。また OGI *et al.* (1993) は、RFLP マーカーを用いて *sh-2* と *sd-1* の RFLP 連鎖地図上への位置づけを行っている。このように脱粒性遺伝子と半矮性遺伝子との連鎖関係について多くの報告があり、*sh-2* と *sd-1* とが第1染色体に座乗し、かつ連鎖していることが明らかになっている。

本研究においても、SR-1 と Dinalaga との  $F_2$  集団における形質調査の結果、脱粒性程度と稈長との間に負の相関が認められ、SR-1 のもつ難脱粒性突然変異遺伝子と半矮性遺伝子との間の連鎖が示唆された。また RFLP マーカーを用いた QTL 解析により、両遺伝子の RFLP 連鎖地図上での位置を明らかにし、RFLP マーカー *C86* から難脱粒性遺伝子は 0.2cM、半矮性遺伝子は 2.2cM それぞれ離れており、両遺伝子は計算距離で 2cM 程度離れ連鎖していると推定される。この値は、小林（1973）および大場（1989）らの値に比べ小さい。しかしここでの組換価の減少は SR-1 と Dinalaga との  $F_2$  の集団規模が原因と考えられる。

また OGI *et al.* (1993) は、*sh-2* と *sd-1* とは本研究で用いた RFLP マーカー *XNpb113* の近傍に座乗する事を示している。この位置は、SR-1 の難脱粒性遺伝子および半矮性遺伝子の第1染色体の領域に極めて近い。さらに半矮性遺伝子については、南京 11 号のものが中国における遺伝子供

給源となっている品種「矮仔占」に由来する (LIN and MIN, 1992)。矮仔占のもつ遺伝子が *sd-1* 座かどうかは明らかになっていないが、これまで有用な遺伝子として用いられてきた矮性遺伝子は *sd-1* しかなく、南京 11 号のもつ遺伝子もこの遺伝子座のものである可能性が強い。

今後 SR-1 の難脱粒性遺伝子と *sh-2* および南京 11 号のもつ半矮性遺伝子と *sd-1* とのそれぞれの関係を明らかにする必要があるが、いづれにしろ、本研究での脱粒性および半矮性遺伝子座の座乗する第 1 染色体の領域には農業上重要な両遺伝子が連鎖していることが明らかになった。このことは、半矮性遺伝子を利用した草型育種あるいは脱粒性の選抜等に関して重要な情報となりうる。

また *sh-2* 以外の脱粒性の遺伝子座について、NAGAO and TAKAHASHI (1963) は第 11 染色体に *sh-1* が座乗することを報告している。さらに EIGUCHI and SANO (1990) は、野生イネと栽培イネとの F<sub>2</sub> 集団および栽培イネの遺伝的背景を持つ準同質系統の解析から、野生イネの脱粒性には 2 つの優性の遺伝子が関与し、このうちの 1 つ (*Sh-3*) が第 4 染色体に座乗することを明らかにしている。SR-2 および SR-4, 北陸 143 号 (SR-5), SR-6 の 3 系統の 2 種の難脱粒性突然変異遺伝子座について、これら既知の脱粒性遺伝子座との関係を明らかすることにより、さらに脱粒性の発現機構を詳細に解明できるものと考える。

またこれまでの突然変異系統に関する解析結果より、脱粒性の改良に関する人為突然変異による誘発は有効な手段であり、育種に対しても有用な情報と遺伝子素材を提供できたと考える。

## 第4章 DNAマーカーを用いた計量形質としての脱粒性関連遺伝子座の解明

### 第1節 本章の課題

イネにおいては、 McCOUCH *et al.*(1988), SAITO *et al.* (1992) によって始めてRFLP連鎖地図が作成された。その後、 RGP (1993) によつてRFLP (制限酵素断片長多型) マーカーに加えてRAPD (任意増幅DNA多型) マーカーなどの1,000以上のDNAマーカーが位置づけられた詳細なRFLP連鎖地図の作成が行なわれている。これらRFLP連鎖地図およびDNAマーカーを用いることにより、主動遺伝子だけでなく、これまで解析が困難とされてきた計量（量的）形質に関与する遺伝子座（QTL：Quantitative Trait Loci）の解析が可能になった（福田ら 1992, 矢野ら 1993）。

脱粒性に関しては、南京11号から誘発した突然変異系統の解析から複数個の主動遺伝子の関与が想定された。しかし遺伝的背景の異なる品種間の雑種後代では、多くの組合せにおいて脱粒性程度の分離は複雑となるので、従来の形質の分離調査だけに頼る方法では計量形質として現れる脱粒性の解析は困難である。したがってイネにおいて脱粒性に関与する遺伝子座が、いくつ存在するのかを解明することも不可能であった。

本研究は、栽培イネの脱粒性に関与する遺伝子座の推定を目的とし、日本型品種「日本晴」とインド型品種「Kasalath」とのF<sub>2</sub>集団における、DNAマーカーを用いたQTL解析を試みた。

## 第2節 材料および方法

脱粒性難の日本型品種「日本晴」と脱粒性極易でインド型の在来品種「Kasalath」との $F_2$ 集団、186個体を北陸農業試験場の圃場で栽培し、RFLP分析および脱粒性程度の調査を行った。

脱粒性程度の測定については、第3章、第3節の方法に従った。

RFLP分析の結果については、解析に用いた $F_2$ 集団のDNAが、農林水産省農業生物資源研究所のゲノム研究チームおよびSTAFFにおけるRFLP連鎖地図作成（RGP,1993）に用いられている。したがってその解析データを用いたが、分析方法およびRFLP連鎖地図の作成については、難脱粒性突然変異系統SR-1（第3章、第4節）と同様に行った。ただDNAの消化には8種の制限酵素（Apal, BamHI, BgIII, DraI, EcoRI, EcoRV, HindIII, Xhol）を用いた。またRAPDマーカーによる多型分析については、任意な配列をもつ合成オリゴヌクレオチド（10塩基）をプライマーとし、その相補的配列に挟まれたDNA領域を、耐熱性DNAポリメラーゼによる鑄型特異的合成反応を繰り返して増殖させた。増殖したDNA断片はRFLPと同様電気泳導によって分画し多型を検出した。

解析に用いたRFLP連鎖地図上には、609個のRFLPマーカーおよびRAPDマーカーが位置づけられ、12本の染色体の全長は1,741.6cMに達し、ほぼイネの染色体全体にわたった。

このRFLP連鎖地図に基づき、脱粒性程度に対するQTL解析をおこなった。QTL解析は、第3章、第4節と同様に行った。

また推定した遺伝子座の近傍DNAマーカーの各遺伝子型（日本晴ホモ、日本晴/Kasalathヘテロ、Kasalathホモ）ごとの脱粒性程度における分離の頻度分布の確認を行なった。

### 第3節 結果

#### 1) $F_2$ 集団における脱粒性程度の分離

$F_2$ 集団における脱粒性程度の分離は、脱粒性極易から極難までの連續分布を示した (Fig. 13)。その分布は脱粒性極易のKasalath側に偏り、両親の脱粒性程度分布域を超える脱粒性極難や極易の超越分離も出現した。つまりSR-1の難脱粒性は、単一劣性の遺伝子に支配されているにもかかわらず複雑であった。

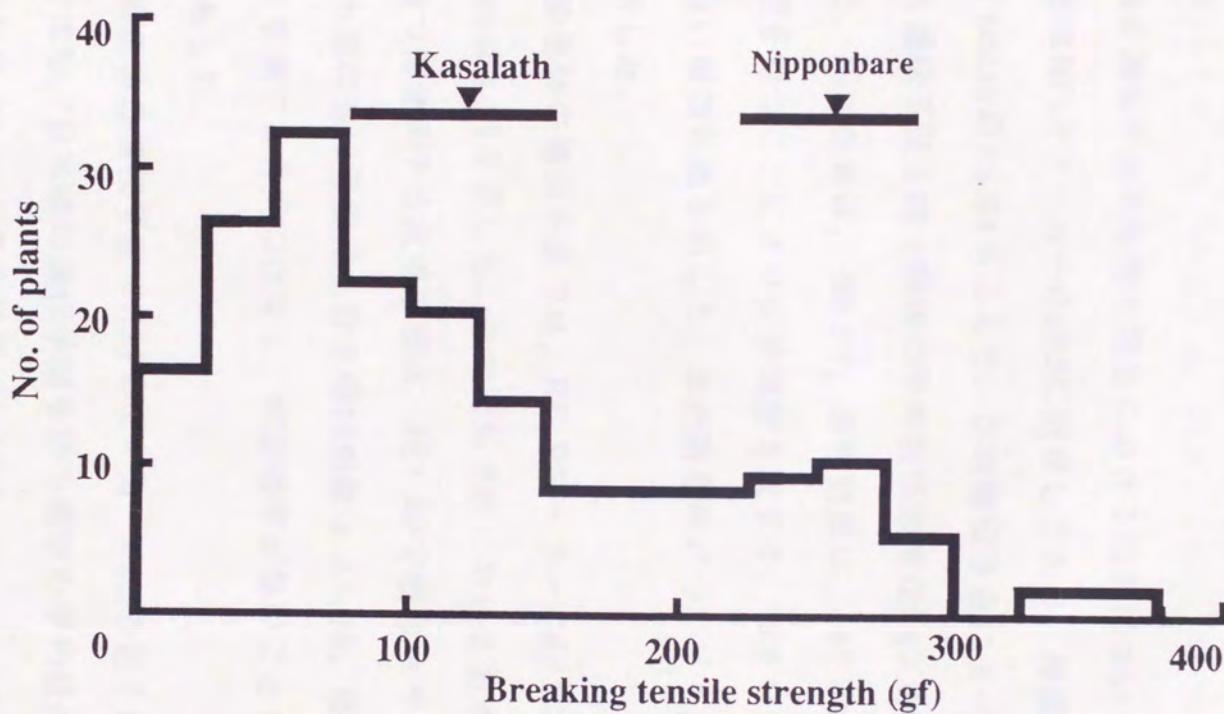


Fig. 13. Segregation of shattering degrees in the F<sub>2</sub> population crossed between *japonica* rice variety, "Nipponbare" and *indica* rice variety, "Kasalath"

—▼— : Means and distribution of shattering degrees in parents

## 2) QTL解析による脱粒性関連遺伝子座の推定

QTL解析の結果、脱粒性に関する遺伝子座が5本の染色体上に認められた。これら遺伝子座の座乗染色体は、判定基準 (*lod score*=2.4) 以上の値を示した地点で、第1, 2, 5, 11, 12染色体であった (Fig. 14, Table 8)。

各推定遺伝子座の脱粒性程度における効果については、第1染色体の遺伝子座はRFLPマーカーC283に近接しており、推定遺伝子座中、最も高い*lod score*の45.54を示した。この遺伝子座において、日本晴／日本晴ホモの遺伝子型を持つ個体の平均抗張強度は242.84の脱粒性極難の値を示した。相加効果は、-96.56、優性効果は、-45.99で、Kasalath型の遺伝子型を持つことにより抗張強度を減ずる。つまり脱粒性易の方向への比較的強い相加効果を示した。また寄与率についても、68.6%と極めて高い値を示した。

第2染色体の遺伝子座では、RFLPマーカーC621に近接しており、*lod score*は3.11を示した。この遺伝子座における日本晴／日本晴の遺伝子型を持つ個体の平均抗張強度は、151.42で脱粒性やや易の値を示した。Kasalath型の遺伝子型における相加効果は-33.36、優性効果は-5.12で、抗張強度を減じる方向に作用し、相加効果が強いことを示した。寄与率は8.6%であった。

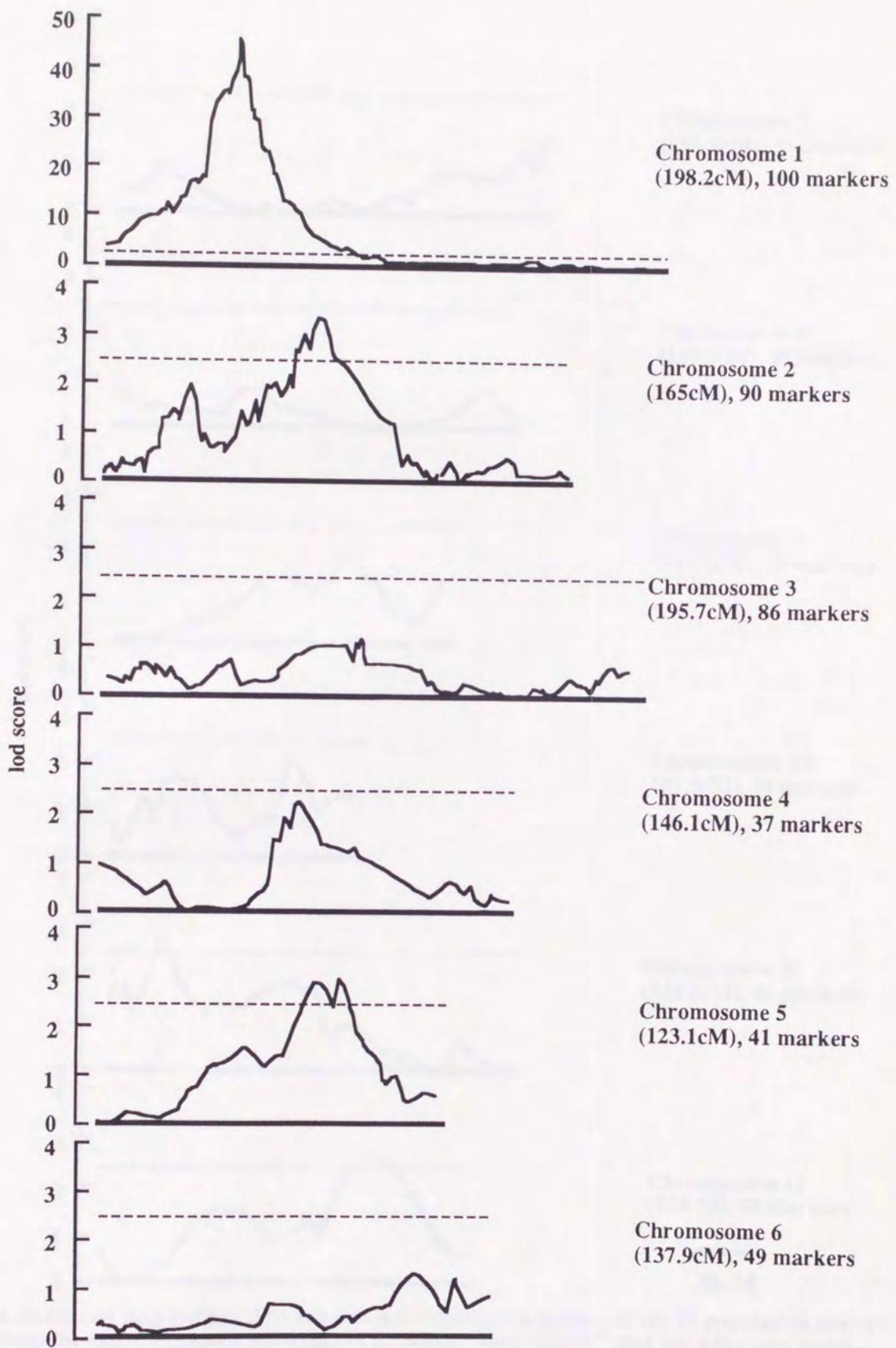
第5染色体の遺伝子座はRAPDマーカーP83の近くに位置づけられており、日本晴／日本晴の遺伝子型を持つ個体の平均抗張強度(gf)は150.29で、相加効果-22.48、優性効果-26.47で、Kasalath型の遺伝子型が抗張強度を減ずる方向への優性効果が強いことを示した。寄与率は6.9%で、最も低い値であった。

第11染色体の遺伝子座については、*lod score*は3.29であり日本晴／

日本晴の遺伝子型を持つ個体の平均抗張強度は108.87と脱粒性易の値を示した。これに対して、相加効果が23.65、優性効果が-32.52であり、Katalath型の遺伝子型が抗張強度を減少させる方向に作用するが、劣性としての効果を示した。また寄与率は8.4%であった。

最後に第12染色体の遺伝子座については、lod scoreは2.98であり、日本晴／日本晴の遺伝子型を持つ個体の平均抗張強度は85.12で、相加効果は31.54、優性効果は1.15で、他の推定遺伝子座とは異なりKasalath型の遺伝子型は抗張強度を増加させる方向に、相加的に作用した。寄与率は、7.6%であった。

またこれら5つの推定遺伝子における、寄与率の合計は100.1%となつた。



(continued)

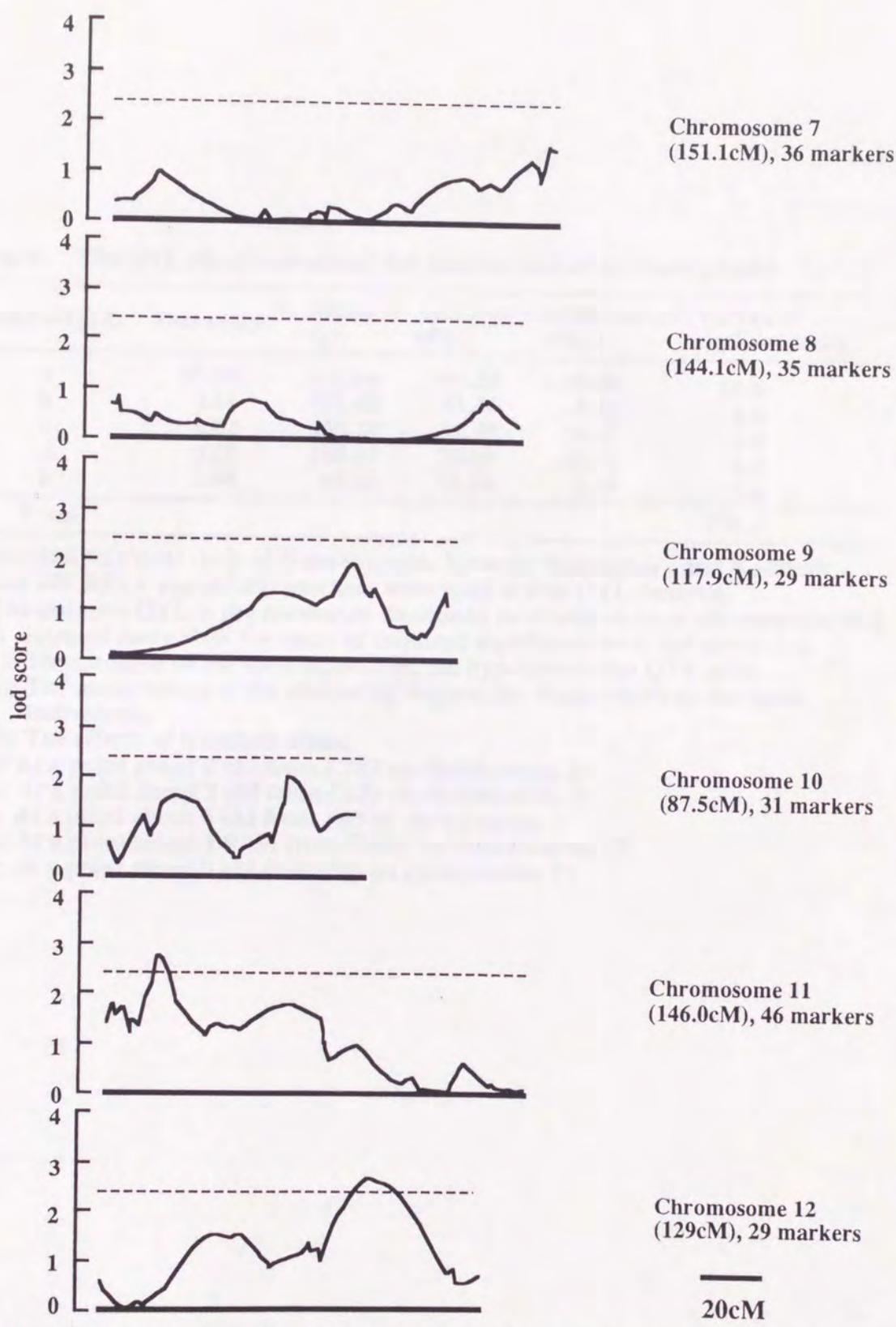


Fig. 14. A likelihood map indicated by lod scores for shattering degrees in the F<sub>2</sub> population derived from the cross between a *japonica* rice variety, "Nipponbare" and an *indica* rice variety, "Kasalath". The RFLP linkage map used in the analysis is presented along the abscissa indicated, in Kosambi cM. The length and No. of markers of each chromosome are indicated at right side. The maximum likelihood position of shattering degrees is the highest point in the lod score's curves. The dotted line, 2.4 at lod score indicates the required significance level. Data were analyzed with a computer program, MAPMAKER/QTL.

Table 8 . The QTL effects calculated for putative loci of shattering habit

Putative QTL	Lod score <sup>1)</sup>	Mean <sup>2)</sup> (gf)	Additive effect	Dominance <sup>3)</sup> effect	Variance explained(%)
a	45.54	242.84	-96.56	-45.99	68.6
b	3.11	151.42	-33.36	-5.12	8.6
c	2.82	150.29	-22.48	-26.47	6.9
d	3.29	108.87	23.65	-32.52	8.4
e	2.98	85.12	31.54	1.15	7.6
Total					100.1

The 186 F<sub>2</sub> plants derived from the cross between Nipponbare and Kasalath, and 609 RFLP and RAPD markers were used in this QTL analysis.

The putative QTL is the maximum likelihood positions on each chromosome that is detected more than the value of required significant level, lod score=2.4.

1): The strength of the data supporting the hypotheses that QTL exist.

2): The mean values of the shattering degrees for Nipponbare homozygote individuals.

3): The effects of Kasalath allele.

a: At a point about 0 cM from C283 on chromosome 1

b: At a point about 2 cM from C621 on chromosome 2

c: At a point about 0 cM from P83 on chromosome 5

d: At a point about 1.9 cM from G4001 on chromosome 11

e: At a point about 0 cM from P36 on chromosome 12

### 3) DNAマーカーと脱粒性程度の解析

推定した5つの遺伝子座における3種の遺伝子型（日本晴ホモ、日本晴/Kasalathヘテロ、Kasalathホモ）それぞれの $F_2$ 集団における脱粒性程度の分離をみると、第1染色体上の推定遺伝子座における近傍のRFLPマークーC283では、日本晴ホモ型は日本晴の脱粒性程度である脱粒性難へ、Kasalathホモ型は脱粒性易方向へ顯著に分離が偏った（Fig. 15.A-C）。

第2、5染色体の推定遺伝子座近傍のRFLPマークーのC621（第2染色体）およびC624（第5染色体）についても、第1染色体の推定遺伝子座と同様な分離の偏りが認められた。しかしその程度は顯著ではなかった（Fig. 15.D-I）。

第11染色体の推定遺伝子座近傍のRFLPマークーL833についても分離の偏りは明瞭ではなかった（Fig. 15.J-L）。

第12染色体の推定遺伝子座近傍のRFLPマークーXNpb124Aの分離では、他のマークーの結果と異なり、日本晴ホモ型は脱粒性易へ、Kasalathホモ型は脱粒性難方向へ偏る傾向を示した。しかしその程度は、顯著ではなかった（Fig. 15.M-O）。

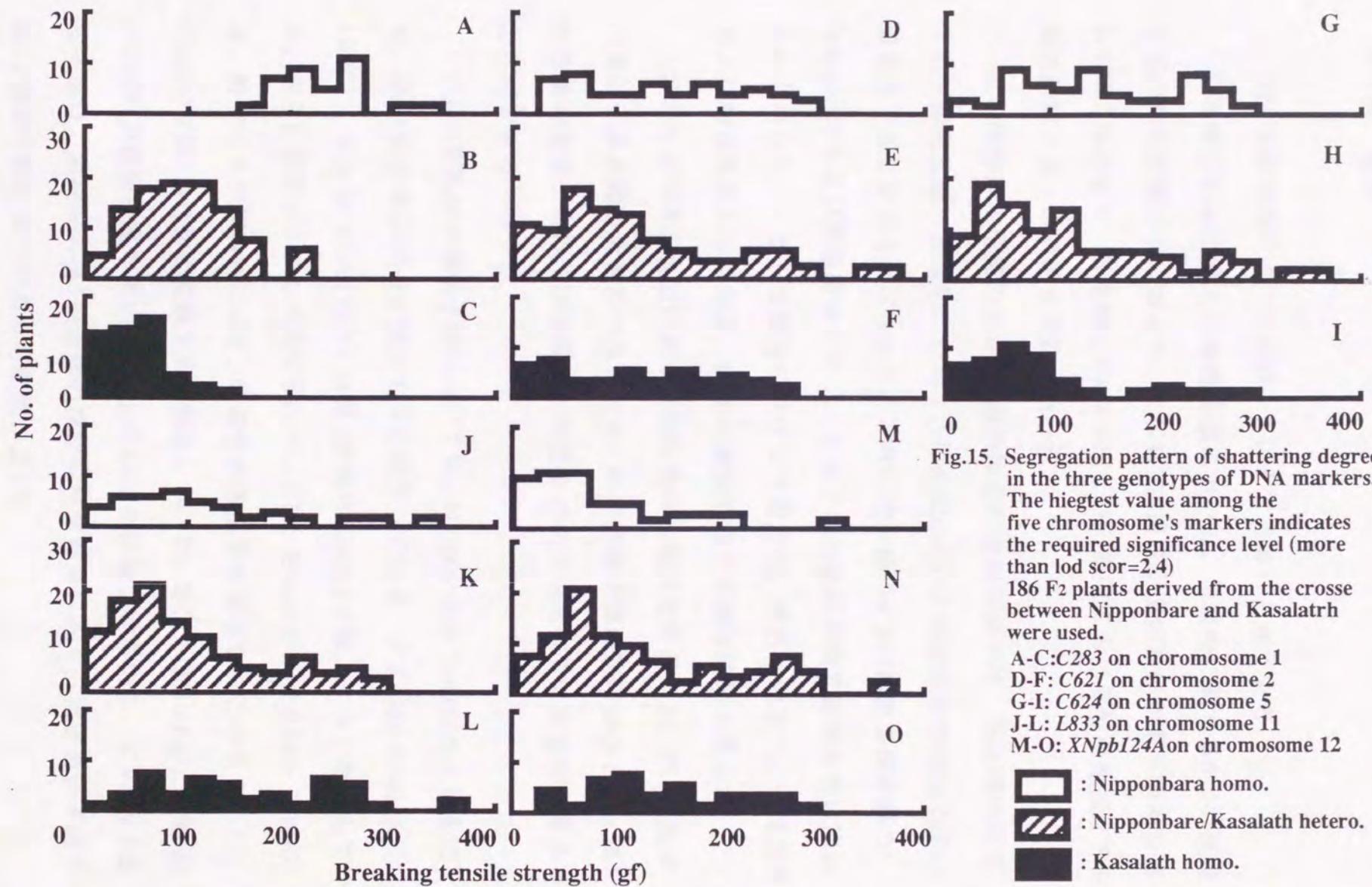


Fig.15. Segregation pattern of shattering degrees

The highest value among the five chromosome's markers indicates the required significance level (more than lod scor=2.4)

186 F<sub>2</sub> plants derived from the cross between Nipponbare and Kasalath were used.

A-C: C283 on chromosome 1

D-F: C621 on chromosome 2

G-I: C624 on chromosome 5

J-L: L833 on chromosome 11

M-O: XNpb124A on chromosome 12

: Nipponbara homo.

: Nipponbare/Kasalath hetero.

: Kasalath homo.

#### 第4節 考察

QTL解析の結果は、下記のようにまとめることができる。

日本晴とKasalathとの雑種集団において、脱粒性に関する5つの遺伝子座の存在が明らかになった。この推定5遺伝子座における寄与率の合計は100.1%となり、日本晴とKasalathとのF<sub>2</sub>集団における脱粒性程度の分離を統計計算上の説明が可能であった。

この推定遺伝子座のうち第1染色体上の遺伝子座では、日本晴の遺伝子型が脱粒性難へ相加的に作用し、lod scoreおよび寄与率が極めて高い値を示すことが明らかになった。これに比べ他の4つの推定遺伝子座のlod scoreおよび寄与率は小さく、それぞれの遺伝子間で顕著な差は認められなかった。しかし表現型における作用方向、優劣性の違い、優性効果および相加効果の差異など、個々の遺伝子座で多様な効果を示した。

つまりこの雑種集団における脱粒性の発現程度をみると、第1染色体の遺伝子座が最も大きな作用をもち、他の遺伝子座の作用は小さく、第1染色体の遺伝子座の作用を調整、変更などの作用をしているものと考えることができる。

イネの脱粒性の遺伝子座については、NAGAO and TAKAHASHI (1963)が、第11染色体にsh-1が座上すると報告している。またOBA *et al.* (1990), OGI *et al.* (1992)は第1染色体にsh-2が座上すると報告している。さらに野生イネのもつ遺伝子については、EIGUCHI and SANO (1990)は、野生イネの脱粒性には2つの優性の遺伝子が関与し、このうちの1つのSh-3が第4染色体に座乗すると報告している。特に、OGI *et al.* (1992)らはRFLP連鎖地図の第1染色体上にsh-2を位置づけている。このsh-2遺伝子座は、本研究の第1染色体の推定染色体領域に近く、推定遺伝子座がsh-2遺伝子座と同一である可能性が高い。

また、南京11号の突然変異系統のSR-1のもつ難脱粒性遺伝子も、第1染色体のこの近傍に位置づけられており、この領域には大きな作用を示す脱粒性の遺伝子が存在すると考えられる。

本研究においては、計量形質遺伝子座(QTL)検出のために、lod scoreの値を2.4以上とした。しかしこれよりも低い値を信頼限界とした場合、今回推定した領域以外にも脱粒性関連遺伝子座の存在が推定される染色体領域が認められる。これらの遺伝子座については、異なった環境条件、異なった遺伝的背景をもつ品種間の組合せの解析では、異なった作用を示したり、新たな遺伝子座が検出される可能性もある。また推定した遺伝子座が南京11号の突然変異系統の解析で明らかになったように、離層形成あるいは小穂内部構造の違いなど、脱粒性発現機構のなかでの関与の在り方については明らかになっていない。

今後、反復試験あるいは $F_3$ 世代等での解析や、異なった遺伝的背景をもつ品種間組合せによる解析を行なうことにより、推定遺伝子座の存在を確認し、環境等の影響による差を明らかにすることが出来ると考える。またDNAマーカーを利用して各推定遺伝子座を取り込んだ同質遺伝子系統を効率よく作出することによって、推定した遺伝子座と既知の遺伝子座との関係および、各遺伝子座の正確な作用を明らかにできるとを考えられる。

## 第5章 総括

本研究では育種学的観点から、イネにおける脱粒性の発現機構解明の一貫として、まず内外国品種における脱粒性程度の多様性を明らかにした。この多様性が生じる要因を解明するため、難脱粒性突然変異系統を用いた遺伝学的および組織学的解析、さらにDNA（RFLPおよびRAPD）マーカーを用いた計量形質としての脱粒性に関与する遺伝子座について推定を行った。

また脱粒性程度の評価法については、従来の方法に代えて、穀粒脱粒性試験装置（TR-II）を用いて小穂の小枝梗から離れる抗張強度（gf）を測定する方法を採用し、客観的かつ再現性あるものとした。

以下に実験結果の概要と今後の研究課題をまとめた。

### I. 内外国品種における脱粒性程度の多様性

日本品種を中心として、内外国の計410品種、系統における脱粒性程度を調査した結果、全体としてはイネの脱粒性程度は脱粒性極易から極難まで幅広い変異があり、かつ地域によって脱粒性程度の変異の分布に偏りがあることが明らかになった。また特徴的なこととして脱粒性極々易あるいは極々難の品種はほとんど認められなかった。

これは脱粒性程度が極々易あるいは極々難の品種が、収穫作業等において実用に向かず、人為淘汰の対象になったためと考えられる。またこのような脱粒性の多様性については、各地域による栽培、収穫条件に適した遺伝的背景をもつ品種が利用されているためと考えられる。

つまりイネの脱粒性に関与する遺伝的要因は多様であり、その発現機構は単純ではないものと考えられる。

## II. 突然変異系統を用いた脱粒性発現機構の解明

### 1. 突然変異系統の誘発

脱粒性の発現機構を解明するため、同質遺伝子系統を開発する目的で半矮性で多収のインド型品種南京11号から難脱粒性突然変異系統を誘発した。

突然変異の誘起方法は、種子への $^{60}\text{Co}$   $\gamma$ 線照射、20KR（以後、Co区と呼ぶ。）および50mMエチルメタンスルホオネート水溶液、7時間浸漬（以後、EMS区と呼ぶ。）の2種の処理を行った。

その結果、Co区で、21,000個体のM<sub>2</sub>集団から4個体（誘発率、 $1.9 \times 10^{-4}$ ）、EMS区で20,000個体より1個体（誘発率、 $5.0 \times 10^{-5}$ ）をそれぞれ選抜し、平均誘発率は $1.2 \times 10^{-4}$ となり、 $\gamma$ 線照射によるものがエチルメタンスルホオネート処理より高い誘発率を示した。

両処理区間差については、M<sub>1</sub>で集団採取を行ったことなどから、さらに反復試験を行い解明する必要があると考えられる。

誘発した難脱粒性突然変異系統名は、Co区の4系統についてはSR-1、SR-2、SR-4、SR-5（後の北陸143号）、EMS区のものはSR-6とした。またこれら5種の突然変異系統は、いずれも原品種南京11号同様半矮性の草型をもっており、脱粒性のみが改良されたと考えられた。ただSR-2については、やや短穂になった。

## 2. 突然変異系統の評価

### 1) 脱粒性程度の測定

選抜した5種の突然変異系統および原品種南京11号を、圃場および温室内の異なる栽培条件下で栽培し、系統間および登熟環境が異なることによる脱粒性程度の違いを調査した。特に温室栽培のものについては、穎花の開花以後における脱粒性程度の経時的な変化を明らかにした。また突然変異系統のSR-1, SR-2, 北陸143号(SR-5)の3系統および原品種南京11号について、小穗の護穎基部に形成される離層の有無およびその程度を経時に調査した。

圃場栽培個体については、5種の突然変異系統を脱粒性程度により3つのグループに分類した。それは、脱粒性やや難のSR-2, 難のSR-4, 北陸143号(SR-5), SR-6の3系統、極難のSR-1であった。

温室栽培個体については、脱粒性程度の経時的变化における、原品種南京11および難脱粒性突然変異3系統の品種間差異は明瞭であり、圃場の結果と同じように分類することができた。南京11号は明瞭な離層を形成するが、SR-1では全く形成されない。一方、北陸143号およびSR-2には部分的離層形成が認められた。またSR-2では護穎と副護穎との間の小穗内部構造が細長くなる変異を併発しており、脱粒性程度がより易になった原因であると考えられる。

圃場条件と温室条件との脱粒性程度を比較すると、脱粒性極易の南京11号は温室条件のものがより弱い抗張強度 (gf) を、突然変異系統のうち脱粒性難の北陸143号(SR-5)と極難のSR-1の2系統は、温室条件のものがより強い抗張強度の値をとる傾向を示した。温室条件下では、各系統間の脱粒性程度の差異がより顕著に現われる。しかし各系統間における脱

粒性程度の順序関係は、栽培条件に関係なく同一であった。

## 2) 突然変異系統の遺伝様式

難脱粒性突然変異系統の遺伝様式は、原品種南京11号と5種の突然変異系統（SR-1, SR-2, SR-4, 北陸143号(SR-5), SR-6）との雑種の解析から明らかになった。

正逆交配10組合せの $F_1$ および $F_2$ 集団を栽培し、脱粒性程度およびその分離を調査した。また特にSR-1, SR-2, 北陸143号の3系統と南京11号との正逆交配6組合せについては、 $F_2$ 個体別に採種し、各個体から約100個体づつを $F_3$ 系統として系統栽培し脱粒性の分離を調査した。さらに $F_1$ については、離層形成程度を出穂後30日以上経過した穂を用いて調査した。

南京11号と突然変異5系統との正逆交配10組合せの $F_1$ の脱粒性程度については、脱粒性易に偏るもの、全て突然変異系統との中間値を示した。

また離層形成程度についても、全ての組合せの $F_1$ で離層形成が認められるが、その程度は南京11号と突然変異系統との中間であった。

突然変異系統と南京11号との $F_2$ 集団および $F_3$ 系統群における脱粒性程度の分離をみると、SR-1と南京11号との組合せでは、脱粒性易から極難までの個体が分離した。しかし抗張強度225gfを境界として、脱粒性易の個体群と脱粒性難の個体群とに分けることができ、その分離比は3:1に適合した。また $F_3$ 系統群では、脱粒性易に固定した系統群、分離系統群、脱粒性難に固定した系統群にそれぞれ分れ、その分離比は1:2:1に適合した。

またSR-4, 北陸143号(SR-5), SR-6の3系統と南京11号との6組合わせの $F_2$ についても、175gfを境界として脱粒性易の個体群および脱粒性難の個体群に分れ、その分離比は3:1に適合した。さらに北陸143号(SR-5)との $F_3$ については、脱粒性易に固定した系統群、分離系統群、難

に固定した系統群に分かれ、その分離比は1:2:1に適合した。

SR-2と南京11号との組み合せの $F_2$ 集団では、脱粒性程度について明瞭な分離は認められなかった。しかし $F_3$ 系統群において脱粒性易固定系統群、分離系統群、難固定系統群に分かれ、その分離比は1:2:1に適合した。

これらの結果から、5種の突然変異系統の難脱粒性は、いずれも単一の劣性遺伝子により支配されていると考えられる。また南京11号と突然変異系統との $F_1$ における脱粒性程度および離層形成程度はいずれも両親の中間になることから、突然変異を起こしたものとの遺伝子は離層形成あるいは脱粒性に関して部分優性であると結論できる。

### 3) 突然変異遺伝子の対立性検定

突然変異5系統の難脱粒性遺伝子の対立性検定は、相互交雑による正逆交配20組み合わせの $F_1$ および $F_2$ 集団を用いて行なった。圃場で栽培し、脱粒性程度およびその分離を調査した。

突然変異系統間の相互交配20組合せの $F_1$ における脱粒性程度は、SR-4、北陸143号(SR-5)、SR-6の3系統間の相互交配6組合せでは、両親および $F_1$ 間で顕著な差は認められなかった。しかし他の14組合せでは、両親と異なる脱粒性程度を示した。

$F_2$ 集団における脱粒性程度の分離については、SR-4、北陸143号(SR-5)、SR-6の3系統間の正逆交配6組合せのでは、いずれも両親の分布域を越える個体の分離は認められなかった。一方、脱粒性極難のSR-1、脱粒性やや難のSR-2、難のSR-4、北陸143(SR-5)、SR-6の3系統間の3グループの組合せでは、脱粒性極易から極難までの分離個体が連続分布を示した。また、両親の脱粒性程度にはない南京11号の脱粒性極易および極々難を示すの超越分離個体も認められた。

以上の結果からSR-4、北陸143号（SR-5）、SR-6の3系統の難脱粒性遺伝子は同座であるが、SR-1およびSR-2とは異なり、またSR-1とSR-2とも異なる遺伝子座であることが明らかになった。

この結果は、脱粒性程度および離層形成程度による分類結果と一致し、これら難脱粒性突然変異遺伝子が、程度の違いはあるが離層の消失に関与すると結論できた。

また南京11号の脱粒性は、少なくとも3個以上の遺伝子に支配されていると推定される。これら少なくとも3個の遺伝子は、 $F_1$ の脱粒性程度および離層形成程度の解析結果から、それぞれ不完全優性であり相加的作用をもつと考えられる。

さらに突然変異間雑種集団および突然変異遺伝子を重複して持つ系統等を育成し、脱粒性程度および組織学的詳細な検討を行うことによって、脱粒性発現機構の詳細な解析が可能になると考えられる。

#### 4) 突然変異遺伝子のマッピング

脱粒性極難の突然変異系統SR-1と、長程で脱粒性易のジャワ型イネ品種「Dinalaga」との $F_1$ および $F_2$ 雑種、80個体について、脱粒性程度および稈長の形質調査、ならびにRFLP分析を行い、RFLP連鎖地図上へ難脱粒性突然変異遺伝子を位置づけた。

雑種後代における脱粒性程度については、 $F_1$ は両親の中間の値を示した。また $F_2$ 集団では、脱粒性極易から極難までの分離個体が連續分布し、複数の遺伝子が脱粒性程度の分離に関与すると考えられた。

また稈長についても、SR-1に劣性の半矮性遺伝子が存在すると考えられるが、 $F_2$ 集団ではSR-1からDinalagaまでの間の稈長を示す分離個体が連續分布した。従って、半矮性遺伝子に対する $F_2$ 個体ごとの遺伝子型を

特定することはできなかった。

また脱粒性程度と稈長との間で、負の相関 ( $r=-0.57$ ) が認められ、SR-1のもつ難脱粒性突然変異遺伝子と半矮性遺伝子とは連鎖していると考えられた。

半矮性遺伝子 (*sd-1*) と脱粒性遺伝子 (*sh-2*) とは、第1染色体上で連鎖していることがすでに明らかにされていることから、RFLPマーカーを用いた連鎖分析を行った。その結果、SR-1のもつ極めて作用力の強い難脱粒性突然変異遺伝子および半矮性遺伝子の両者は、第1染色体のRFLPマーカーC86に近接した位置に座乗していることが明らかになった。

以上のことからSR-1のもつ難脱粒性突然変異遺伝子および半矮性遺伝子は、それぞれ第1染色体上に座乗する *sh-2* および *sd-1* の遺伝子座と同一である可能性が高いと考えられた。

今後SR-1の難脱粒性遺伝子と半矮性遺伝子の既知の遺伝子との関係を明らかにする必要がある。またSR-2およびSR-4、北陸143号 (SR-5)、SR-6の3系統の2種の難脱粒性突然変異遺伝子についても、染色体上への位置づけ、ならびに *sh-2* 以外の既知の脱粒性遺伝子座との関係を明らかにすることによって、さらに詳細な脱粒性の遺伝的発現機構の解明が可能になると考えられる。

また難脱粒性突然変異系統の誘発および遺伝的解析より、脱粒性の改良および発現機構解明に関して人為突然変異の利用は有効な手段の一つであることを明らかにすることが出来た。さらに育種に対して有用な情報と育種素材を提供できたと考える。

### III. DNAマークーを用いた計量形質としての脱粒性関連遺伝子座の解析

栽培イネの脱粒性に関する遺伝子座を推定する目的で、脱粒性極難の日本型品種「日本晴」と脱粒性極易のインド型品種「Kasalath」との  $F_2$  集団において、DNA (RFLP および RAPD) マークーを用いた QTL (計量形質遺伝子座) 解析を試みた。

解析には、609個のRFLPマークーおよびRAPDマークーが位置づけた RFLP連鎖地図を、コンピュータープログラム「MAPMAKER」を用いて作成した。この連鎖地図は、12本の染色体の全長が1,741.6cMに達し、ほぼイネのゲノム染色体全域にわたっているものと考えられた。

$F_2$ 集団の脱粒性程度の分布は、脱粒性極易から極難までの連続分離を示し、両親には認められない超越分離個体も生じ複雑であった。

QTL解析の結果、脱粒性に関与すると考えられる遺伝子座を、5本の染色体 (1, 2, 5, 11, 12) 上に推定した。

それらの推定遺伝子座うち、第1染色体上の遺伝子座は日本晴型の遺伝子が脱粒性難へ相加的に作用し、lod score および寄与率が極めて高い値を示した。しかし他の4つの推定遺伝子座における、lod score および寄与率は小さく、それぞれの遺伝子座間に顕著な差は認められなかった。

しかし日本晴型の遺伝子型を示した遺伝子座が脱粒性難方向へ作用するものばかりでなく、第12染色体の遺伝子座については日本晴型が脱粒性易へ、Kasalath型が脱粒性難方向へ作用するものも認められた。また優劣性の差異、優性効果と相加効果との関係について、個々の遺伝子座で多様な作用を示すことが認められた。つまりこの雑種集団における脱粒性の発現に関しては、第1染色体の遺伝子座が極めて大きな作用を示し、他の遺伝子座は多様な作用を示しつつ、その遺伝子座の作用を調整している

ものと結論付けた。

今後の課題として、QTL解析に関して以下のようなことが考えられる。

計量形質遺伝子座(QTL)の検定基準をlod score2.4以上としたが、これより低い値を信頼限界とした場合、今回推定した領域以外にも遺伝子座が存在する。

品種の組合せ、あるいは環境条件の違いにより、新たな領域や作用の差異が生じる可能性がある。

推定した遺伝子座と、既知の脱粒性に関連した遺伝子座との関係を明らかにする必要がある。

各推定遺伝子座の、正確な作用を明らかにする必要がある。

今後DNAマーカー等を利用して、各推定遺伝子座を取り込んだ同質遺伝子系統を作出することにより、脱粒性の遺伝的発現機構をより詳細に解明することが可能になると考える。

最後に、育種で対象とするほとんどの農業形質は、計量形質である。本論文における脱粒性程度の多様性の解明、突然変異系統利用による解析、DNAマーカー利用によるQTL解析等の結果は、脱粒性のみに限らず計量形質として現われる多くの農業形質の発現機構を解明するうえで一つのモデルケースとして扱うことができ、育種における有用な情報と素材を提供できたと考える。

## 謝 辞

本論文作成にあたって、村松幹夫博士（岡山大学農学部教授）には、御指導を頂くとともに終始激励を賜りましたことを心から感謝する。また、武田和義博士（岡山大学資源生物科学研究所教授）、佐藤勝紀博士（岡山大学農学部教授）、熊野誠一博士（同、教授）、阿部武治博士（岡山大学工学部教授）にも、論文作成にあたり多く御指導と御助言を頂きましたことを感謝する。さらに研究の取りまとめにあたり御助言と多大な便宜をはかっていただいた農林水産省北陸農業試験場育種法研究室長福井希一博士、矢野昌裕博士（同、主任研究官）、近江戸伸子研究員（同）、福田直子研究員（同、地域基盤部越冬生理研究室）に対して厚くお礼申し上げる。また研究材料および一部解析データの供与に関して、特に難脱粒性の突然変異系統については旧北陸農業試験場作物部作物第二研究室の藤巻宏博士（農林水産省農業生物資源研究所長）、吉田久博士（農林水産省農業研究センター作物生理品質部麦品質評価研究室長）、森宏一博士（北海道大学農学部助教授）、松葉捷也博士（農林水産省中国農業試験場作物開発部作物生理研究室長）、木村健治氏（前、北陸農業試験場作物開発部主任研究官）らに、またDNAマーカーを用いた計量形質遺伝子座の解析については、美濃部侑三博士（農林水産省農業生物資源研究所ゲノム研究チーム長）、倉田のり博士（同、主任研究官）、春島嘉章博士（STAFF：農林水産先端技術産業進行センター）、長村吉晃博士（STAFF）に対して厚くお礼申し上げる。また脱粒性の評価法および調査に関して、北陸農業試験場作物開発部稻育種研究室小林陽研究室長、福井清美（同、主任研究官）、太田久穂（同、研究員）には多大な助言とご協力をいただきましたことを厚くお礼申し上げる。さらに調査およびイネ栽培管理に関して御協力いただいた北陸農業試験場作物開発部育種法研究室の江口富美子氏、市村二美子

子氏および企画連絡室業務科の各位に対して深く感謝の意を表する。

ここに記して御厚志に対する謝辞としたい。

## 引用文献

APUYA, N.R., B.L. FRAZIER, P. KEIM, E.J. ROTH and K.G. LARK 1988. Restriction fragment length polymorphisms as genetic markers in soybean, *Glycine max* (L.) merrill. *Theor. Appl. Genet.* 76 : 889-901.

BERNATZKY, R. and S.D., TANKSLEY 1986a. Toward a saturated linkage map in tomato based on isozymes and random cDNA sequences. *Genetics* 112 : 887-898.

\_\_\_\_\_ and \_\_\_\_\_ 1986b. Genetics of actinrelated sequence in tomato. *Theor. Appl. Genet.* 72 : 314-321.

BINELLI, G., L. GIANFRANCESCHI, M.E. PE, G. TARAMINO, C. BUSO, J. STENHOUSE AND E. OTTAVIANO 1992. Similarity of maize and sorghum genomes as revealed by maize RFLP probes. *Theor. Appl. Genet.* 84 : 10-16.

BLAKE, T., J.S. SHIN AND M. SANCHEZ 1989. Development of the barley RFLP map. In: *Development and Application of Molecular Markers to Problems in Plant Genetics*. Ed. T. HELENTJARIS and B. BURR, Cold Spring Harbor Laboratory pp.139-143.

BONIERBALE, M.W., R.L. PLAISTED and S.D. TANKSLEY 1988. RFLP maps based on common set of clones reveal modes of chromosomal evolution in potato and tomato. *Genetics* 120 : 1095-1103.

BURR, B., F.A. BURR, K.H. THOMPSON, M.C. ALBERTSON and C.W. CHARLES 1988. Gene mapping with recombinant inbred in maize. *Genetics* 118 : 519-526.

CHAO, S., P.J. SHARP, A.J. WORLAND, E.J. WARHAM, R.M.D. KOEBNER and M.D. GALE 1989. RFLP-based genetic maps of wheat homoeologous group 7 chromosomes. *Theor. Appl. Genet.* 78 : 495-504.

陳日斗・井之上準 1982a. 韓国の日印交雑水稻品種の脱粒性と離層組織との関係. *日作紀*52:43-50.

- \_\_\_\_\_. 1982b. 韓国の日印交雑水稻における脱粒性の品種間差異と小枝梗の内部形態の関係について. 日作紀 51 : 271-275.
- \_\_\_\_\_. 1982c. 大村武 1982c. 日印交雑品種の脱粒性および離層形成の遺伝. 育雑 32 :290-295.
- \_\_\_\_\_. 佐野芳雄・井之上準 1992. アジア稻およびアフリカ稻と祖先種における小枝梗の離層の類似性について. 日作紀 61 :257-263.
- DURHAM R.E., P.C. LIOU, F.G. GMITTER, JR. AND G.A. MOORE 1992. Linkage of restriction fragment length polymorphisms and isozymes in *Citrus*. Theor. Appl. Genet. 84 : 39-48,
- EIGUCHI, M. and Y. SANO 1990. A gene complex responsible for seed shattering and panicle spreading found in common wild rices. Rice Genetic Newsletter Vol.7 : 105-107.
- FIGDORF, S.S., W.C. KENNARD, K.M. SONG and M.K. SLOCUM 1988. Assessment of the degrees of restriction fragment length polymorphism in *Brassica*. Theor. Appl. Genet. 75 : 833-840.
- 福田善通・矢野昌裕・福井希一 1992. RFLPマークーを用いたイネの稔性回復遺伝子 (Rf-1) に関する連鎖分析. 育雑42 (別1) : 164-165.
- \_\_\_\_\_. 1993a. 個体レベルでの分子生物学－分子マークーの育種的利用－. 育種学最近の進歩 第34集 : 29-36.
- FUKUTA, Y., K. SHINDOH, K. FUKUI and Y. I. SATO 1993b. Phylogenetic relationship of Asian cultivated rice (*Oryza sativa* L.) and wild relatives based on the RFLP analysis. XV International Botanical Congress Abstracts : 525.
- ICHIKAWA T., T. SUGIYAMA, H. TAKAHASHI and S. MIYAHARA 1990. Equipment for quantitative measurement of shattering habit of paddy. JARQ 24 : 37-42.
- 原田久也 1990. RFLPと計量形質. 育種学最近の進歩 第31集 : 90-106.

- HELENTJARIS, T., G. KING, M. SLOCUM, C. SIEDENSTRANG and S. WEGMAN 1985. Restriction fragment polymorphisms as probes for plant diversity and their development as tools for applied plant breeding. *Plant Mol. Biol.* 5 : 109-118.
- \_\_\_\_\_ 1987. A genetic linkage map for maize based on RFLPs. *Trends Genet.* 3 : 217-221.
- HU CHAO-HWA, KAO KOU-NAN and CHANG CHIA-CHENG 1964. Botanical bulletin of academia Sinica 5 : 170-180.
- JARRELL, D.C., M.L. ROOSE, S.N. TRAUGH and R.S. KUPPER 1992. A genetic map of citrus based on the segregation of isozymes and RFLPs in an intergeneric cross. *Theor. Appl. Genet.* 84 : 49-56.
- JOHNS, A., J.N. STROMMER and M. FREELING 1983. Exceptionally high levels of polymorphisms in DNA near the maize Adhl gene. *Genetics* 105 : 733-743.
- 菊池文雄・板倉登・池橋宏・横尾政雄・中根晃・丸山清明 1985. 短稈・多集水稻品種の半矮性に関する遺伝子分析. 農技研報 D 36:125-146.
- KAWASE, M., N. KISHIMOTO, T. TAMAKA, A. YOSHIMURA, S. YOSHIMURA, K. SAITO, A. SAITO, M. YANO, N. TAKEDA, T. NAGAMINE and M. NAKAGAWARA 1991. Intraspecific variation and genetic differentiation based on restriction fragment length polymorphism in Asian cultivated rice, *Oryza sativa* L.. *Rice Genetics* II : 467-473.
- 木村健治・藤巻宏・関島稔・松葉捷也・吉田久・森宏一 1986. 新導入稻遺傳資源の特性解析. 北陸農業研究資料 No.13.
- \_\_\_\_\_・矢野昌裕・福田善通・福井希一・小林陽・関島稔・松葉捷也・藤巻宏・吉田久 1991. イネ遺伝資源の特性解析. 北陸農業研究資料 No.24.
- 小林陽 1973. 水稻の矮性草型および脱粒性の遺伝様式と両形質間の連鎖関係について. 北陸作物学会報. 8 :29-30.

LANDAY, E.S., R. V. KESSELI, H. LEUNG and R.W. MICHELMORE 1987a. Comparison of restriction endonucleases and sources of probes for their efficiency in detecting restriction fragment length polymorphisms in lettuce. (*Lactuca sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* 74 : 646-653.

\_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_, B. FARRARA and R.W. MICHELMORE 1987b. A genetic map of lettuce (*Lactuca sativa* L.) with restriction fragment length polymorphism, isozyme, disease resistance and morphological markers. *Genetics* 116 : 331-337.

LANDER, E.S. and D. BOTSTEIN 1986. Strategies for studying heterogeneous genetic traits in humans by using a linkage map of restriction fragment length polymorphism. *Proc. Matl. Sci. USA* 83 : 7353-7357.

\_\_\_\_\_ and \_\_\_\_\_ 1989. Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics* 121 : 185-199.

LIU, Y.G. and K. TSUNEWAKI 1991. Restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis in wheat. II. Linkage maps of the RFLP sites in common wheat. *Jpn. J. Genet.* 66 : 617-633.

LIN, S.C. and S.K. MIN 1991. Rice varieties and their cenealogy in China. Shanghai Scientific and Technical Publishers : 1-103.

McCOUCH, S.R., G. KOCHERT, Z.H. YU, Z.Y. WANG, G.S. KHUSH, W.R. COFFMAN and S.D. TANKSLEY 1988. Molecular mapping of rice chromosomes. *Theor. Appl. Genet.* 76 : 815-829.

MURRAY, M.G. and W.F. THOMPSON. 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *nucleic Acids Res.* 8 : 4321-4325.

NAGAO S. and M. TAKAHASHI 1963. Trial construction of twelve linkage groups in Japanese rice. *Journ. Facul. Agr., Hokkaido Univ.* 53 :72-130.

OGI, Y., H. KATO, K. MARUYAMA, A. SAITO and F. KIKUCHI 1993. Identification of RFLP markers closely linked to the semi-dwarfing gene at the *sd-1* locus in rice. *Japan J. Breed.* 43:107-112.

OBA, S., F. KIKUCHI 1989. Formation of abscission layer controlled by a shattering gene linked with semidwarfing gene *sd-1* in rice. Rice Genetics. Newsletter Vol.6 : 132-134.

大場伸哉・中村淳・鶴見裕子・菊池文雄 1990. インド型半矮性品種「台中在来1号」と日本型矮性品種「シラヌイ」における半矮性遺伝子の連鎖分析. 热研農業 33: 285-291.

PATERSON, A.H., E.S. LANDER, J.D. HEWITT, S. 1988. Resolution of quantitative traits into Mendelian factors by using a complete linkage map of restriction fragment length polymorphisms. Nature 335 : 721-726.

RICE GEMOME RESEARCH PROGRAM (RGP) 1993. Rice Genome Vol.2.

RIVIN, C.J., A.A. ZIMMER, C.A. CULLIS and V. WALBOT 1983. Evolution of genomic variability at the nucleic acid level. Plant Mol. Biol. Rep. 1:1 : 9-16.

SAITO, A., M. YANO, N. KISHIMOTO, M. NAKAGAHRA, A. YOSHIMURA, K. SAITO, S. KUHARA, Y. UKAI, M. KAWASE, T. NAGAMINE, S. YOSHIMURA, O. IDETA, R. OHSAWA, Y. HAYANO, N. IWATA and M. SUGIURA 1991. Linkage map of restriction fragment length polymorphism loci in rice. Japan J. Breed. 41 : 605-622.

SONG, K.M. T.C. OSBORN and P.H. WILLIAMS 1988. Brassica taxonomy based on nuclear restriction fragment length polymorphisms (RFLPs). Theor. Appl. Genet. 75 : 784-794.

SRINIVAS T., M. K. BHASHYAM and H.S.R. DESIKACHAR 1979. Histological peculiarities at the region of attachment of grains stalk associated with shadding quality of rice. Indian J. Agric. Sci. 49 :78-81.

内山田博士・藤田米一・木村健治・山田利昭・高柳謙治・森宏一 1985. 内外稻品種の特性解析（第1-3報）. 北陸農業研究資料 No.3・4・7合本.

矢野昌裕・下坂悦生・斎藤彰・中川原捷洋 1991a. RFLPマークを利用したインド型イネ品種Surjamkhiの香りに関する遺伝子分析. 育雑 41 (別1) : 338-339.

\_\_\_\_\_ · R. Zamorski · 斎藤彰 · 渋谷直人 1991b. イネ胚乳細胞壁のグルコマンナン含量に関する遺伝子の連鎖分析. 育雑 41 (別2) : 498-499.

YOSHIMURA S., A. YOSHIMURA, N. IWATA, A. SAITO, N. KISHIMOTO, M. KAWASE, M. NAKAGAHRA and M. YANO 1991. Restriction fragment length polymorphism analysis of size of chromosomal segments retained around bacterial blight resistance genes in near-isogenic lines of rice. Rice Genetics II : 14-18.

YOSHIMURA S., A. YOSHIMURA, A. SAITO, N. KISHIMOTO, M. KAWASE, M. YANO, M. NAKAGAHRA, T. OGAWA and N. IWATA 1992. RFLP analysis of introgressed chromosomal segments in three near-isogenic lines of rice for bacterial blight resistance genes, Xa-1, Xa-3, and Xa-4. Jap. J. Genet. 67 :29-37.

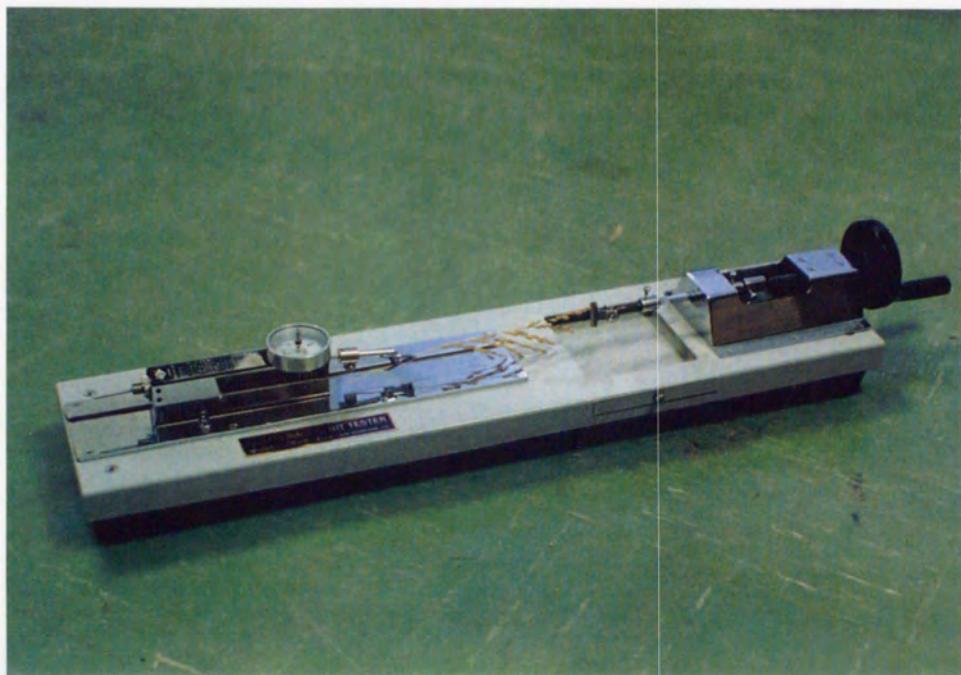
YOUNG, N.D. and S.D. TANKSLEY 1989a. Restriction fragment length polymorphism maps and the concept of graphical genotypes. Theor. Appl. Genetics 120 : 579-585.

\_\_\_\_\_ and \_\_\_\_\_ 1989b. Graphics-based whole genome selection using RFLPs In: Development and Application of Molecular Markers to problems in Plant Genetics. Ed. T. HELENJARIS and B. BURR, Cold Spring Harbor Laboratory pp.123-129.

顔 吉甫 1974. 水稻離層組織与脱粒性遺伝 関係之研究. 科学農業 22: 62-65.

ZAMIR, D. and S.D.TANKSLEY 1988. Tomato genome is comprised largely of fast-evolving, low copy-number sequences. Mol. Gen. Genet. 213 : 254-261.

## 付 図



**Fig. 16. Photograph of testing device, Shattering Habit Tester Model TR-II (ICHIKAWA *et al.* 1990)**



**Fig. 17 .** Photograph of an *indica* rice variety, "Nan-jing11" with semi-dwarfness and high yielding ability



1

2

3

4

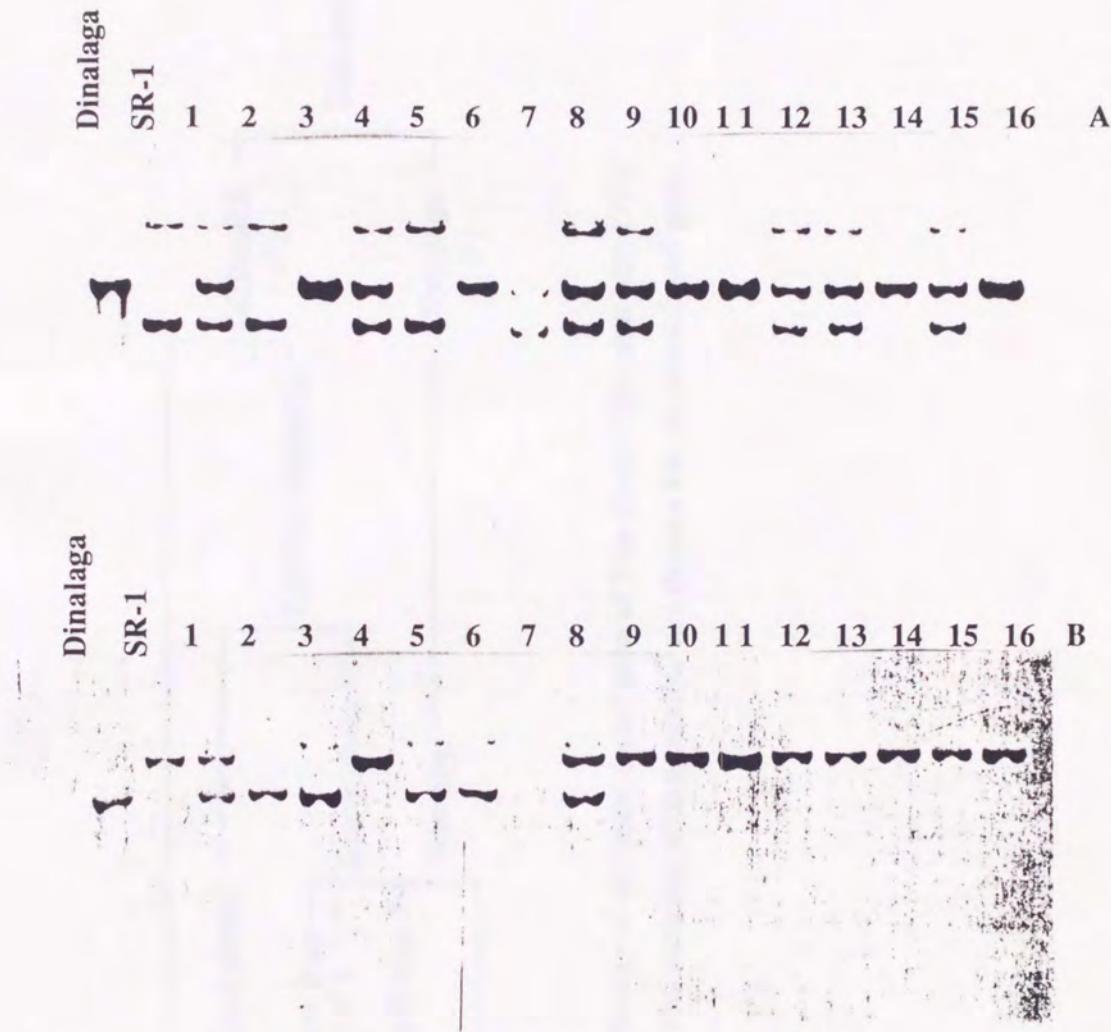
**Fig. 18 . Panicles of the hard-shattering mutant lines and Nan-jing11**

- 1: Nan-jing11
- 2: SR-1
- 3:Hokuriku143(SR-5)
- 4:SR-2



1                   2

**Fig. 19 . Photograph of a hard-shattering mutant line,  
"SR-1", and a *javanica* rice variety, "Dinalaga"**  
**1:SR-1**  
**2: Dinalaga**



**Fig. 20.** Southern blot analysis using RFLP markers as the probes to detect the linkage with the hard-shattering mutant gene  
The F<sub>2</sub> population derived from the cross between a hard-shattering mutant line, "SR-1" induced from an *indica* rice variety, "Nan-jing11" and a *javanica* variety, "Dinalaga", was used.  
RFLP marker, B) *XNpb113* "linkes to mutant gene, but A) *XNpb039* " dose not .  
A: BamHI digest/ Probe:*XNpb039*, B: HindIII digest/ Probe: *XNpb113*  
1-8 : shattering easy F<sub>2</sub> plants, 9-16 : shattering hard F<sub>2</sub> plants

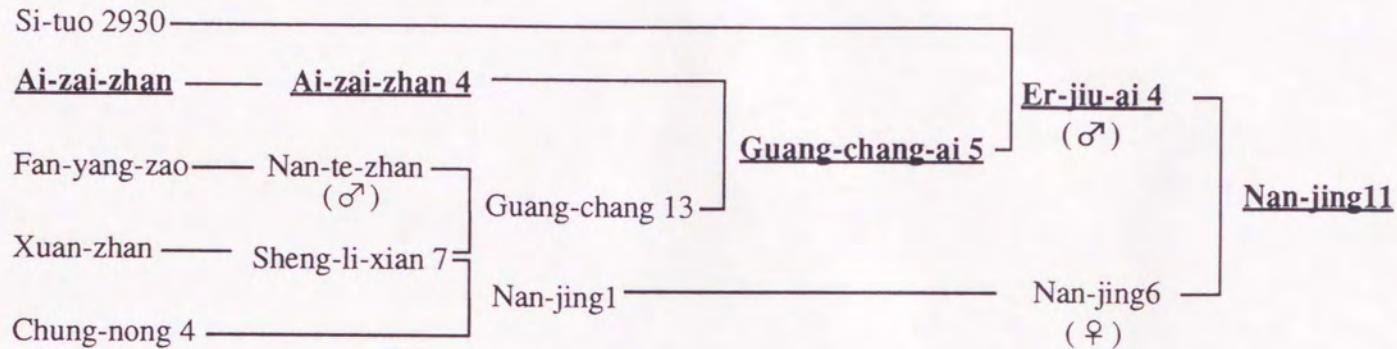


Fig. 21 . Source of the semi-dwarf gene of Nan-jing11 (LIN and MIN 1991)

The varieties with underline are donors for the semi-dwarf gene.

