第１章　緒　言

第１節　コムギの起源と日本および北海道での栽培

コムギはイネ科(*Poaceae*)のなかのコムギ連（*Triticeae*）に属するコムギ属(*Triticum*)に含まれる一連の種を指す．コムギ連にはコムギ属に加え，オオムギ(*Horudeum vulgare L.*)やライムギ（*Secale cereale L.*）など人類にとって重要な作物種が多く含まれる．

コムギはイネ(*Oryza sativa L.*)，トウモロコシ(*Zea mays L.*)とともに世界の三大穀物の一つとして数えられ，西アジアの半乾燥地帯を起源とする作物である．約 1 万年前に栽培化されて以来，世界の乾燥冷涼地域に適応し，多くの人の主食として利用されてきた．なかでも，世界各地で食用として栽培されているコムギの多くは AABBDD ゲノムからなる異質六倍体種の普通系のパンコムギ(*Triticum aestivum subsp. aestivum*)である．これらはパン，めんおよび菓子など様々な用途に適性のある栽培しやすい品種が数多く開発されている（長尾 1995）．

2017 年の FAO 統計によると，パンコムギ(本論文では以下，コムギと呼ぶ)の世界での作付面積は穀物中最大の約 2 億 2 千万 ha で，年間の生産量は約 7.72 億トンにのぼり，その生産は世界の生産上位国 10 カ国で約 7 割を占めている（FAO 統計データベース，FAOSTAT http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E）．わが国のコムギ作付面積は約 21.2 万 ha で，生産量は 764,900 トンである（農林水産省 2018 年 http://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/sakumotu/sakkyou_kome/index.html#r）．

明治時代以降からの統計によると，40 万 ha 前後だった作付面積が 1930 年代半ばから増加し，1950 年前後には 76 万 ha まで達した．その後は高度経済成長により農村労働力が都市部に流れ出したことにより，栽培面積は漸減し，1961 年には約 60 万 ha であり，178 万トンのコムギが生産されていた（農林水産省 http://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/kensaku/bunya2.html）．さらにコムギの作付け減少の大きな原因の一つとなったのは 1963(昭和 38 年)，1964 年に相次いだ異常気象であり，「三八豪雪」という記録的な豪雪による枯死と初夏の多雨による穂発芽被害によりコムギ生産に大きな打撃を受けた．その結果 1970 年代にはピーク時の 1/10 まで減少し(吉田 2001)，麦作の安楽死とまでいわれた．しかし，その後は米の生産過剰に伴う水田利用再編対策による麦作への転換奨励などにより，北海道を中心に栽培が増加し，現在に至っている．コムギは北海道畑作においては，豆類，ジャガイモ，テンサイとともに輪作体系を支える基幹作物，都府県においては，水田作における転作･裏作作物として，それぞれ各産地の作付体系を維持する上で重要な作物となっている(農林水産省政策統括官付穀物課 2019).

しかしながら，国内産コムギは湿害等に起因する低収量などの課題が顕在化している地域もあり，作付面積は横ばい傾向であるなか，収穫期の降雨等の天候の影響により単収の振れが大きく，収穫量は不安定である(農林水産省政策統括官付穀物課 2019). 日本国内の需要量に対して国産コムギの供給量が大きく下回り，依然として需要の多くをアメリカ合衆国，カナダおよびオーストラリアから 5 百万トン近くを輸入しているのが現状であり（農林水産省 http://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/kensaku/bunya2.html），現在のコムギの自給率は約 12%に過ぎない．そのような現状で日本のコムギ総生産量の約 67%が北海道で生産されており，北海道は日本におけるコムギの最大の生産地として位置づけられている．

第２節　日本および北海道でのコムギの育種

日本でコムギの品種改良が本格的に行われるようになったのは 1926 年に国が組織的な育種を開始してからである（安間・神前 1955）．日本は南北に長く，地域によって気象条件が異なるため，育種試験地の拡充,廃止を繰り返しながらも，コムギの主要産地である北海道，北関東，九州を含む全国各地で育種をおこなってきた．その結果，従来品種よりもその地域に適した品種が開発されている(柳沢 2000).

近年では，日本めん用において北海道では「ホクシン」から「きたほなみ」(道総研北見農業試験場育成)への作付転換，都府県においては「農林 61 号」から「さとのそら」（群馬県農業技術センター育成），「きぬあかり」（愛知県農業総合試験場育成）等，新品種への作付転換が進んでいる．また，需要の高いパン・中華麺用においては「ゆめちから」（農研機構北海道農業研究センター育成），「ちくし W2 号」(福岡県農林業総合試験場育成)などにより，国産コムギの消費拡大の機運は高まりつつある．

北海道におけるコムギの品種改良は 1908 年に始まっていたが，試験開始当時は品種選抜試験や系統分離試験から取り組まれ，北海道に適応性の高い品種の選抜が中心であった（天野 1998）．その後，1919 年には交雑育種法による本格的な品種改良が展開され，1926 年には国費助成により育種試験を開始する体制へと移行した．当時は赤さび病と冬損の被害が大きく，その対策に迫られることになった．育種的対応として，秋播きコムギ「赤銹不知 1 号」が 1927 年に育成され，この品種により北海道全域で秋播きコムギの栽培を可能とした．しかし，育種形質の改良はそれにとどまらず，コムギの栽培面積の拡大や多収穫栽培に伴う耐倒伏性の改良，ドリル播き栽培や

コンバイン収穫など機械作業体系に応じた草型等の改良，製めん適性や製パン適性など加工適性の改良等，当時から現在に至るまで行政施策，生産現場や実需者ニーズの変遷に対応しながら新品種の開発を進めてきた．

近年ではわが国に留まらず世界的に気象変動が大きくなり異常気象に伴う気象災害が各地で発生している．北海道立総合研究機構農業試験場では今後の気象変動が2030 年代の北海道内の主要農作物に及ぼす影響予測を実施した．その結果，コムギ生産に関しては春季以降の気温上昇および日射量の低下により，収量の低下が予測されている（谷藤 2011）．同時に，登熟期間の降水量が現在比で大幅な増加が予測されており，倒伏，赤かび病および穂発芽等の病害・障害発生のリスクが高まることも指摘されている（谷藤 2011）．これら形質の耐性向上には耕種的手法のみでは不十分であり，今後も引き続き育種的手法による遺伝的な改良が大きな役割を果たすものと考えられる．

第３節　穂発芽関連形質

第１項　穂発芽

穂発芽とは，収穫する前の穂の中の種子が発芽する現象のことで，主に収穫前の連続的な降雨や低温によって引き起こされる．種子が発芽すると，種子内のα-アミラーゼの合成が開始し，種子内で蓄積されたデンプンを発芽するためのエネルギー源である糖に分解する．さらに，発芽した種子を健全な種子と一緒に製粉・加工すると発芽した種子のα-アミラーゼにより他の種子のデンプンも一緒に分解される．これにより小麦粉の品質が著しく悪化するため，穂発芽したコムギは非常に安価で取引される．このように，穂発芽は収量と品質の低下を招き，大きな経済的損失の原因となることから，古くから世界各地の主要な生産地帯で問題となっている(Derera and Bhatt 1980)．穂発芽の発生には様々な要因が複雑に関わっており，種子休眠性や穂の形態など遺伝的要因に加えて，種子成熟期間中や成熟期における温度など環境条件により大きく影響される(Lunn *et al*. 2002, Nakamura *et al*. 2011，中園ら 2013)．

コムギにおける穂発芽現象は収穫前の降雨や低温条件下で種子への吸水等により起こる発芽現象を指す（中津 2000，中道ら 2010）．穂発芽被害は減収や子実の外観劣化にとどまらず，α-アミラーゼ活性等の酵素活性が高まることで，コムギ胚乳中のデンプン劣化など内部品質を低下させる(中津 2000，一ノ瀬 2008)．デンプンの劣化したコムギは一般には「低アミロコムギ」として扱われ，コムギ粉の加工適性を大きく低下させるため，コムギ生産にとっては重要な問題である．

第２項　日本と北海道における穂発芽被害

穂発芽耐性育種は府県のコムギ育成場において，梅雨入りと収穫期が重なる年次も多かったことから，重要な育種目標とされた．一方で，北海道における収穫期（7～8 月）は比較的降雨も少なく，昭和 40 年代までは穂発芽性の改良よりも耐倒伏性や雪腐病抵抗性の改良に育種改良の重点が置かれていた．しかし，その後夏季の北海道の気象はオホーツク海高気圧の影響を受け，コムギの成熟後期から収穫期頃にかけ，降雨が続くことが多くなったことや，1981 年に道総研北見農試で育成された「チホクコムギ」は当時の国内産コムギとしては製めん適性が優れる品種として高く評価された．一方で，その穂発芽性は“やや易”と抵抗性が劣っていたことがあり，被害の多少はあるものの穂発芽の発生が毎年北海道内各地で続いた．その結果，収量性の大きな変動要因としては雪腐病・赤かび病の発生以上に穂発芽発生に起因する年次が多くなっていたことから，北海道においても穂発芽性の改良は重要な育種目標に据えられた．

穂発芽は一般的に連続的な降雨や低温によって引き起こされる．収穫時期での 15-20mm 以上の連続的な降雨は穂発芽を引き起こすが，成熟期の 10-20 日前における降雨でも穂発芽被害を助長することが報告されている（Mares and Mrva 2014）．したがって，日本におけるコムギ栽培ではいかに収穫時期の降雨を避けるのかが重要とされている．府県では梅雨入りする前，北海道では 7 月から 8 月にかけオホーツク海高気圧の勢力が強まり寒気の南下に伴い低温と長期間の降雨になる前に収穫しなければならない．しかし，日本では気象条件の変動により数年おきに大きな穂発芽被害が発生している．近年では 1982 年，1996 年，2010 年に穂発芽被害が発生し，収穫物の規格外率が上昇した．

第３項　穂発芽性に関連する形質

穂の中で発育中の種子は通常発芽が抑制されている．しかし，発芽能力を失っているわけではなく，発育した胚を取り出し適切な条件の培地上で発芽させることが可能である．すなわち，穂発芽は種子自身の持つ遺伝的要因と発育時期，および環境要因の相互作用によって引き起こされると考えられている(Hagemann and Ciha 1987, Anderson *et al*. 1993, Buddish *et al*. 2007)．穂発芽は，コムギ生産に深刻な被害をもたらすことから，世界の様々な地域で精力的に穂発芽耐性育種が進められてきた．穂発芽耐性は種子休眠性，粒色，出穂期，穂の形態など様々な形質が関わる複合形質である（Himi *et al*. 2011，Mares and Mrva 2014，Cao *et al*. 2016）．

第４節　種子休眠性

第１項　植物ホルモンと種子休眠性

種子休眠とは，発芽に適した環境条件下においても種

子の発芽が抑制されている現象をいう．種子休眠性は穂発芽抵抗性を決定する最も重要な形質と考えられている．一般的に，コムギでは低温条件下で発芽が促進されるが，コムギは，様々な栽培地域での環境に適応することで発芽に対する温度反応に遺伝的変異が存在することが知られている（Mares and Mrva 2014）．コムギは低温により発芽が誘導されるが，高温乾燥地域のコムギは比較的高い温度（20℃前後）でも発芽が誘導される．一方，日本をはじめとする湿潤で穂発芽被害が大きい地域ではより低い温度（10℃）でも発芽誘導が起こりにくい系統の育成が必要とされている．また，穂発芽は発芽時の温度(Nyachiro *et al*. 2002, Lei *et al*. 2013) だけではなく，種子成熟期間中の気温も大きな影響を与えている（Lunn *et al*. 2002, Biddish *et al*. 2007，Nakamura *et al*. 2011，中園ら 2013）．開花から成熟までの期間において，高温登熟するとコムギ種子の休眠が浅く，穂発芽が引き起こされやすいのに対して，低温成熟するとより深い休眠が形成されることが報告されている（Mares *et al*. 1984，Nakamura *et al*. 2011）．

種子発芽は植物ホルモンのアブシジン酸（ABA）とジベレリン（GA）のバランスによって制御されている．ABA は発芽抑制に働くのに対し， GA は発芽促進に作用する．さらに，種子休眠程度は種子内の ABA 量よりも ABA 感受性に影響を受ける（Walker-Simmons 1988）．

Nakamura *et al*. (2007)はシロイヌナズナで単離された種子での ABA シグナル伝達に関わる遺伝子の塩基配列情報をもとに，コムギ側ホモログを in silico 分析により 4 個同定し，それらを 2 倍体の一粒コムギ(*T. monoccocum*)組換え自殖系統集団にマッピングした．その結果，3Am 染色体に座乗する *TmABF* と *TmABI8* はそれぞれ種子休眠性 QTL の LOD ピークと一致したことから，これら二つの ABA 遺伝子がコムギの種子休眠性に関与することが示唆された．その後，同様にシロイヌナズナの種子休眠に関わる ABA8’位水酸化酵素遺伝子のコムギ側ホモログ 2 個(*TmABA8’OH-2*, *TaABA8’OH1*)が種子休眠に関与することが報告されている(Nakamura *et al*. 2010, Chono *et al*. 2013).

GA との関連については，「緑の革命」のもととなった半矮性遺伝子 *Rht-B1, Rht-D1* が注目されたこともあった．この遺伝子は種子でのα-アミラーゼ遺伝子の転写誘導にも関わっていることから，GA 非感受性の対立遺伝子がアミラーゼ合成をブロックすることで穂発芽回避に効果があると期待されたが，それを証明するデータは発表されていない．一方，GA の生合成経路の鍵酵素をコードする *TaGA20ox1* が同祖的に 4AL, 5BL, 5DL にマップされ，発芽種子の胚や種皮などの母体組織で強く発現することが分かっている(Appleford *et al*. 2006)．近年，*TaGA20ox3, TaGA1ox1, TaGA3ox3* および *TaGA2ox7* について発現，転写解析の結果から(Pearce *et al*. 2015)，これら遺伝子はいずれも発育中のコムギ種子で優勢に発現していることが示された．したがって ABA と GA による発芽抑制，促進のメカニズムを応用することで穂発芽の危険性を回避できると期待されるが，詳細は今後の研究に委ねられよう．

第２項　粒色

ムギ類では種子休眠性との関連で，古くから議論されてきた遺伝形質が粒色である(Nillson-Ehle 1914)．粒の外皮(種皮)に赤あるいは赤褐色系の色素をもつ品種が赤粒コムギ，この色素をもたない品種は白粒コムギである．一般に赤粒品種は白粒品種よりも種子休眠性が強いことが知られている（Mares *et al*. 1989, Flintham 2000, Himi *et al.* 2002）．コムギの粒色を決める遺伝子は第 3 同祖群染色体長腕末端に位置し，*R-A1*，*R-B1* および *R-D1* 遺伝子座によって制御されている（McIntosh *et al*. 1998）．すべての R 遺伝子が *R-A1a*，*R-B1a*，*R-D1a* の劣性ホモ型だと白粒になり，一つでも優性の対立遺伝子（*R-A1b*, *R-B1b*, *R-D1b*）をもつと赤粒になる．赤粒種皮を赤くしている色素はフロバフェン（phlobaphene）あるいは縮合タンニン（condensed tannin）である．この色素はポリフェノール複合体の一つで，フラボノイド合成経路で生成される．縮合タンニンはフラボノイド合成経路の途中で，カルコン合成酵素（CHS），カルコン異性化酵素（CHI），フラボノン 3―水酸化酵素（F3H），ジヒドロフラボノール-4-還元酵素（DFR）の 4 種類の酵素によって合成される．したがって，R 遺伝子の候補としてこれら酵素のいずれかをコードする遺伝子，あるいはそれらの転写制御因子である可能性が考えられた. Himi and Noda (2004, 2005)および Himi *et al.* (2005)は上記フラボノイド合成経路に関与する一連の酵素遺伝子群を単離し，発現解析と染色体マッピングを行った．その結果 R 遺伝子がそれら酵素遺伝子の発現制御を支配する myb 系転写制御因子であることが明らかとなり，*Tamyb10* と命名された．3A，3B，3D 染色体長腕に同祖的に座乗する 3 個の *Tamyb10* (*Tamyb10-A1*, *Tamyb10-B1*, *Tamyb10-D1*)遺伝子には，塩基配列に特有の変異があることがわかり，それぞれの配列に特異的な PCR マーカーを作ることが可能となった. その後，Himi *et al*. (2015) は *Tamyb10-D1*/*Tamyb10-B1* の相対的増幅量比を real-time PCR から求めヘテロ接合体を判別できる手法を開発した．さらに，栗原・松中(2019)は 1 検体につき 2 反応のマルチプレックス PCR を行うことにより *Tamyb10-A1*, *Tamyb10-B1*, *Tamyb10-D1* のアレルを簡便に判定できる方法を確立し，公開した．

赤粒品種と白粒品種ともに休眠が強いものから弱いものまで多様な変異が存在し，このことは粒色以外にも休眠の強さを決める遺伝的要因が存在することを示している．実際，白粒で休眠性の強い品種から QTL が検出され(Liu *et al.* 2008)，その QTL(*MFT-3A*；詳しくは後述する)

は先に強休眠性の赤粒品種「ゼンコウジコムギ」で見つかったものと一致する(Osa *et al.* 2003, Mori *et al*. 2005). さらに，休眠性弱の白粒品種に「ゼンコウジコムギ」型の *MFT-3A* アレルを導入することで休眠性が高まることも実証されている(Kottearachchi *et al*. 2006，Kato *et al*. 2017). よって穂発芽抵抗性を向上させる上で種子休眠性と粒色を独立な形質として扱うことが可能である.

第３項　種子休眠性 QTL

穂発芽耐性や種子休眠性に関する遺伝学的な研究は数多く行われており，この 20 年余りでたくさんの QTL が発見され，連鎖する分子マーカーとともに染色体上にマッピングされてきた(Anderson *et al.* 1993，Roy *et al*. 1999, Zanetii *et al.* 2000，Kato *et al.* 2001, Groos *et al*. 2002, Flintham *et al.* 2002，Kulwal *et al*. 2004，Mori *et al*. 2005, Mares *et al.* 2005，Torada *et al*. 2006，Chen *et al*. 2008，Imtiaz *et al*. 2008，Ogbonnaya *et al*. 2008，Mohan *et al.* 2009, Munkvold *et al*. 2009, Somyong *et al*. 2014，Zhang *et al.* 2014, Cao *et al*. 2016, Yang *et al*. 2019). その中の一つが，効果の大きなメジャーQTL として種子休眠性極強の「ゼンコウジコムギ」（星野ら 1989, Osanai and Amano 1993，Miura *et al*. 1997）で発見され，3A 染色体短腕末端にマッピングされた *QPhs.ocs-3A.1* である（Osa *et al*. 2003, Mori *et al*. 2005）. この QTL は米国の白粒品種 Rio Blanco でも寄与率 40%以上の効果の大きな QTL として見つかっている (Liu *et al.* 2008).

Nakamura *et al.* (2011) はコムギの種子休眠性が気温の影響を大きく受けることから，気温によって発現量の変化する遺伝子を探索した．その結果，休眠を深める成熟期の低温(13℃)によって発現量が大きく増加する遺伝子として *MOTHER OF FT AND TFL1* (*MFT-3A=TaMFT-A1*) 遺伝子が同定された，この遺伝子は，ホスファチジルエタノールアミン結合タンパク (phosphatidylethanolamine-binding protein)をコードし，前述した種子休眠性に関わる *QPhs.ocs-3A.1* の原因遺伝子であることが分かった(Nakamura *et al*. 2011, Liu *et al*. 2013).「ゼンコウジコムギ」では *MFT-3A* の発現量を調節するプロモーター領域(-222)に T→C への 1 塩基置換（SNP）があり(Zen 型)，それによって *MFT-3A* の転写レベルが上昇し，深い種子休眠を誘導することが明らかとなった(Nakamura *et al.* 2011). その後，このプロモーター領域の SNP に加え，*MFT-3A* のエキソン領域には，GT→AT 突然変異(+646)と A→T 突然変異(+666)が見つかり，前者は mis-splicing を，後者は premature stop codon を生じることによって，種子休眠性の低下あるいは消失を引き起こすことが判明した (Liu *et al.* 2013). これら 2 つの原因配列の多型は，二倍体種と四倍体種でも見つかっているが (Liu *et al.* 2015)，育種プログラムで種子休眠の弱い系統の排除に活用できるものの，より高いレベルの休眠性選抜には利用できない(Nakamura 2018).

Chono *et al.* (2015)は日本のコムギについて，*MFT-3A* が Zen 型の SNP を持つものと持たないものについて調査した．それによると本州，九州，四国では *MFT-3A* について Zen 型の SNP をもつものが多数見られたのに対し，北海道で育成された品種あるいは在来種計 25 品種系統中に Zen 型の SNP を保有するものは 1 つもなく，未導入であることが分かった．さらに Zen そのもののもつ *MFT-3A* 遺伝子はその後のわが国の品種開発の中で利用されておらず，北海道以外の Zen 型 *MFT-3A* 遺伝子の起原は多岐にわたることが明らかとなった．さらに，Nakamura *et al.* (2015)がプロモーター領域(-222)での T→C への SNP について，世界のコアコレクションを含む 694 品種の分布を調べたところ，CS 型 SNP が祖先型であり，Zen 型 SNP を持つ品種はわが国に局在することが判明した.

もう一つの良く知られているメジャーな QTL が 4A 長腕上にいくつもの異なるマッピング集団で同定されてきた(Kato *et al.* 2001，Mares *et al*. 2005, Torada *et al.* 2005, Chen *et al.* 2008，Ogbonnaya *et al*. 2008，Singh *et al.* 2010, Liu *et al.* 2011). Torada *et al.* (2008)は戻し交雑によって遺伝背景を揃えた状態でこの QTL がメンデル遺伝することを示し，主働遺伝子として *Phs1* と名付けた．この QTL の原因遺伝子として，近年二つの候補遺伝子がクローニングされた．一つは ABA-induced Wheat Plasma Membrane 19 ファミリーに属する *PM19-A1* である(Barrero *et al.* 2015). もう一つは，mitogen-activated protein kinase kinase 3 をコードすることから，*TaMKK3-A* と名付けられた (Torada *et al.* 2016). その後，Shorinola *et al.* (2017)は世界各地の多様な品種，系統について *Phs 1* の表現型と多型の原因となる *PM19-A1* のインデルおよび *TaMKK3-A* の SNP を調査し，対応関係を見た．その結果，*TaMKK3-A* の SNP 多型と表現型は完全に一致するが，*PM19-A1* のインデルと表現型には組み換え型がいくつか見られることを報告している．さらに Nakamura (2018)によるとオオムギの同祖な染色体領域で同定された *TaMKK3-A* のオルソログ(*Qsd2-AK*)も種子休眠に関与することから，*Phs1* の候補遺伝子は *TaMKK3-A* である可能性がより高いと思われる.

第５節　本研究の目的

このように，コムギの穂発芽にはさまざまな環境条件や遺伝形質が複雑にかかわっていることが明らかになった．また,この 25 年余りで多くの QTL が発見され，連鎖する分子マーカーとともに 21 対の染色体上にマッピングされてきた．穂発芽による被害を減らすために，種子休眠性の強い穂発芽耐性をもつコムギを開発する必要がある．しかしながら，種子休眠姓の強い穂発芽耐性をも

つコムギの開発に際し，これら QTL あるいは連鎖する DNA マーカーが十分に効果を発揮しているとは必ずしも言えない． 本研究は，穂発芽，種子休眠性に関与する遺伝的要因と気象条件などの環境的要因を整理し，その基礎的知見を得るために行われたものである．

第 2 章では穂発芽性極難系統「北系 1802」の育成経過と，収量や耐病性などの農業特性の調査および穂発芽耐性に関する要因を検討した．第 3 章では「北系 1802」を含む穂発芽耐性の異なる秋播きコムギにおける登熟期の気象要因と種子休眠性との関係，第 4 章では登熟期の気温に対応した穂発芽性極難系統の選抜法，第 5 章では穂発芽性極難に関わる穂発芽耐性 QTL および種子休眠性 QTL の検出について記載した．

第２章　　穂発芽性極難系統「北系 1802」の育成とその特性評価

第１節　緒　言

コムギの穂発芽耐性には種子胚の休眠性や粒色を支配する R 座のアレル，胚の ABA 感受性の高低など様々な要因が関与している．なかでも，穂発芽耐性は胚の種子休眠性の強弱に支配されていることが知られている．しかしながら，穂発芽耐性が極めて優れる品種を対象に，穂発芽性“極難”に関わる要因や農業特性について論じた報告は数少ない．実際の育種試験では何よりも多収良質で，耐病性，耐倒伏性などの実用形質が具備されているかが配慮され．穂発芽性“極難”だけでは優良品種となりえず，プライオリティーが下がりがちになる．

長内 (2010) は自身の育成した穂発芽性“極難”の春コムギ系統「OS38」についてその収量性を報告している．「ハルユタカ」と比較し，8 ヶ年の平均収量が 60%と極めて低収であった．その一方で，「OS38」の後代系統で穂発芽耐性をさらに改良した「OS89」では収量が 3 ヶ年平均で「春よ恋」の 93%まで向上した． Kashiwakura *et al*. (2016) は「OS38」について，穂発芽性“極難”に関わる要因を解析した．彼らは種子の構造から休眠を胚休眠と種皮休眠に分けたとき，この系統は成熟期には胚休眠と種皮休眠を併せ持っていて，低温下で吸水させたとき ABA の内生量が増加し発芽しないこと，後熟に伴って胚休眠を失った後、種皮休眠も低下することを報告している．

国産コムギの主産地である北海道では，近年収穫期の降雨や低温による穂発芽の危険性が増してきた．その対応として育種現場では，高度な穂発芽耐性のさらなる改善が求められている．このような背景のもと，われわれは将来の国内産コムギの良質・安定生産を早期に達成すべく，高度な穂発芽耐性を有する品種開発を効率的に進めることを目的として，当時の北海道立農業試験場（現北海道立総合研究機構農業研究本部）と北海道グリーンバイオ研究所（現ホクレン農業総合研究所）との共同研究により，穂発芽性“極難”にランクされる「北系 1802」を開発した(西村ら 2004)．この系統は穂発芽耐性に優れる母材であり，強い種子休眠性をもち，かつ成熟期を 1～2 週間過ぎてから収穫しても低アミロ化しにくい特性をもつ（Yanagisawa *et al*. 2005）．本章では穂発芽性“極難”系統「北系 1802」の育成経過と，収量や耐病性などの農業特性の調査および穂発芽耐性に関する要因解析，特に種皮の影響や ABA 感受性について検討した．

第２節　材料および方法

第１項　倍加半数体集団からの“極難”系統の選抜

選抜集団には「北系 1616」/「ニシカゼコムギ」の F_1 から得られた葯培養由来の倍加半数体系統 (DH 系統)を用いた．種子親の「北系 1616」は後の「きたもえ」であり，秋播性程度Ⅵで穂発芽性は“やや難”である(柳沢ら 2002)．花粉親の「ニシカゼコムギ」は，農研機構九州・沖縄農業研究センターで育成された秋播性程度 I の春コムギで，穂発芽性は“難”である(野中ら 1987)．1999 年(以下，収穫年を示す）に得られた DH_2 世代 1923 系統のうち，当時の道立十勝農業試験場（北海道河西郡芽室町，現道総研十勝農試）に 1,000 系統を秋播き標準栽培し，うち冬損等による枯死系統を除く 938 系統を穂発芽検定試験に供試した．その中から以下に述べる穂発芽指数のスコアをもとに系統選抜した．これら系統を翌年の 2000 年 に当時の道立北見農業試験場（北海道常呂郡訓子府町，現道総研北見農試）で秋播き標準栽培し，DH_3 世代系統を絞り込んだ．2001 年に道総研北見農試で選抜された DH_3 世代を圃場栽培し，穂発芽検定および発芽試験に供試した．

穂発芽検定試験では，切り穂を人工降雨処理した後の穂発芽指数にて評価した．成熟期 7 日後に晩刈りした切り穂を各系統の 10～15 穂を用いて，道総研北見農試では 15℃で人工降雨処理を 7 日間，道総研十勝農試では 17.5℃で 5 日間処理した．その後各穂の発芽・発根数を数え，0～5 までのスコアで平均穂発芽指数を求めた．穂内で発芽・発根が全く認められないものをスコア 0 とし，発芽あるいは発根した種子が 10 個以上の穂をスコア 5 とした．種子休眠性は，手もみ脱穀した晩刈り種子を用いて，発芽温度 10℃あるいは 15℃での 10 日間の発芽率で評価した．

さらに選抜された DH_4 世代を 2001 から 2003 年，道総研北見農試，道総研十勝農試，道総研中央農試（北海道夕張郡長沼町）の試験圃場で秋播き標準栽培するとともに，当時の北海道グリーンバイオ研究所（北海道夕張郡長沼町，現ホクレン農業総合研究所）の温室内で標準栽培したそれぞれ異なる登熟環境下での穂発芽と種子休眠性に関する地域適応性試験を行った．加えて生産力試験および特性検定試験を実施した．試験には比較品種として，「ホクシン」，「きたもえ」および「北系 1354」を用いた．

第２項　種子休眠性の要因解析試験

１．相反交雑 F_1 種子の種子休眠性

供試材料として 2004 年に道立北見農試圃場で栽培した「チホクコムギ」（穂発芽性“やや易”），「きたもえ」（穂発芽性“やや難”），「北系 1802」（穂発芽性“極難”）を親系統とした．各系統間の相反交雑により得られた計

4 組合せの交配 F_1 種子「チホクコムギ」/「北系 1802」,「北系 1802」/「チホクコムギ」,「きたもえ」/「北系 1802」,「北系 1802」/「きたもえ」）を親系統とともに発芽試験に供試した．開花後（受粉後）40 日で収穫を行い，自然乾燥後，試験開始まで－20℃で冷凍保存した．発芽試験は，直径 9cm シャーレに濾紙を 1 枚敷き，手もみ脱穀した各材料を 30 粒 2 反復用意し，蒸留水を 6cc 加水後，暗黒下 10℃で行った．発芽の判定は胚部の種皮が破れた時点とし，処理後 4, 5, 6, 7 日目に経時的に発芽率を求めた．

２．吸水速度の品種比較

供試材料として 2005 年 7～8 月に道総研北見農試圃場で収穫した「北系 1802」,「きたもえ」,「ホクシン」および「チホクコムギ」を用いた．収穫は成熟期（成熟期刈り）および成熟期 1 週間後（晩刈り）に行い，収穫直後に通風乾燥機にて 40℃, 24 時間乾燥させ，その後試験開始まで－20℃で冷凍保存した．試験開始時に穂を手もみ脱穀した後，縦目篩 2.0mm 上に残った種子を用いた．品種系統毎に濾紙を 1 枚敷いた直径 9cm シャーレ上に 30 粒置床し，蒸留水を 5cc 加水し，15℃暗黒下のインキュベータ内に静置した．種子の水分含量は加水開始後 8 時間後，24 時間後，48 時間後にそれぞれの試料をインキュベータから取り出し，105℃で 24 時間の乾燥終了後に求めた．試験は 2 反復で実施した．

３. ABA 感受性試験

供試材料として穂発芽性“極難”の「北系 1802」,「OW104」及び「北系 1354」（穂発芽性“難”）,「きたもえ」（穂発芽性“やや難”）および「ホクシン」（穂発芽性“中”）を 2004 年に道総研北見農試圃場で秋播き栽培し，成熟期，成熟期 1 週間後（晩刈り）および 2 週間後（極晩刈り）に 3 回収穫した．材料は試験開始まで-20℃で保存した．各品種系統の半切種子を，1) 蒸留水のみ添加（6cc），2) ABA 溶液（5×10^{-5}M）を 6mm 添加の 2 処理を設け，10℃暗黒下で発芽試験を行った．直径 9cm シャーレに濾紙を 1 枚敷き 30 粒 3 反復で行った．なお種子本来の休眠性を評価するため，対照として，全粒種子を用いた蒸留水での 30 粒 3 反復の発芽試験を加えた．

第３節　結　果

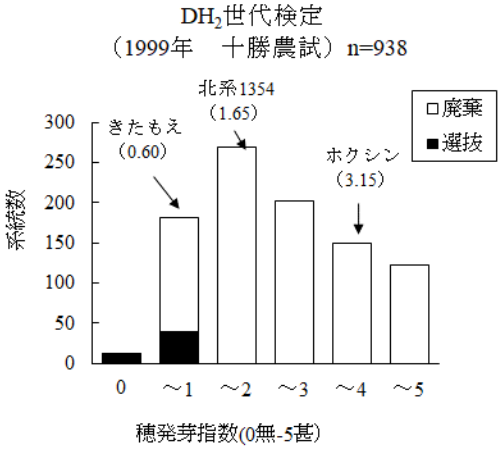
第１項　倍加半数体集団からの選抜系統選抜

１．系統選抜

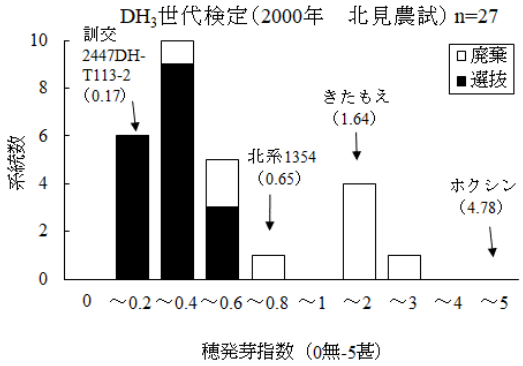
1999 年に圃場選抜された DH_2 世代 938 系統の穂発芽指数は，0.0～5.0 の範囲で連続分布を示した (図 2-1a). 穂発芽性“やや難”の「きたもえ」の穂発芽指数 0.60 を選抜指標として，この値よりも低い 0～0.40 を示した 52 系統を選抜した（図 2-1a）.

2000 年にそれら 52 系統の中から圃場選抜された DH_3 世代 27 系統を，道総研北見農試で栽培し穂発芽検定した結果，大半の系統が穂発芽指数 0.8 以内であった(図 2-1b). また，道総研十勝農試で系統評価および 15℃，10℃での発芽試験の結果を総合して，穂発芽耐性が優れた「訓交 2447DH-T113-2」 (穂発芽指数は 0.17)」を含む 18 系統を選抜した（図 2-1b）.

a)　1999 年　DH_2 世代 (n=938)



b)　2000 年 DH_3 世代(n=27)



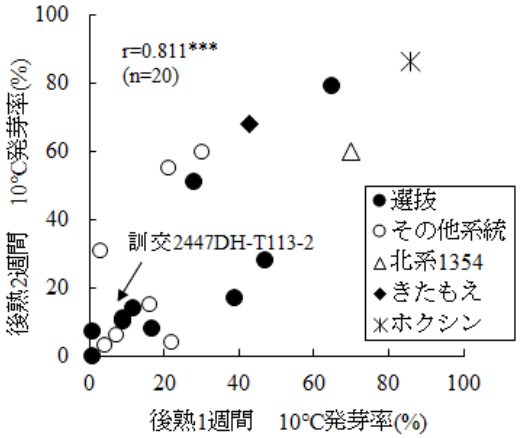
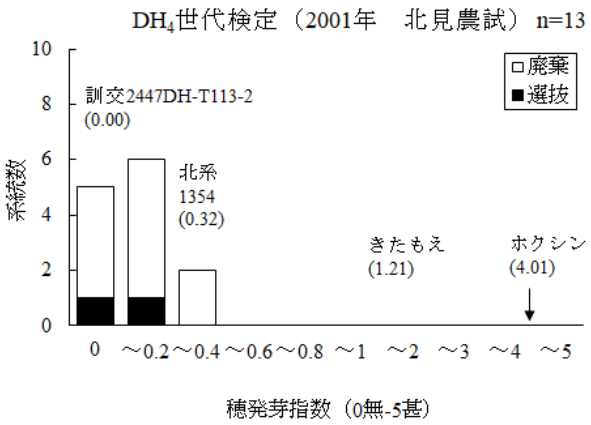


図 2-1.　訓交 2447（「北系 1616」/「ニシカゼコムギ」）の選抜経過（1999～2001）.

c) 2001 年　DH_4 世代



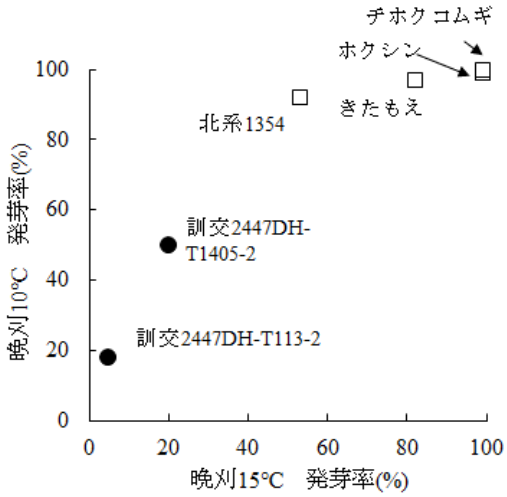


図 2-1(続き). 訓交 2447（「北系 1616」/「ニシカゼコムギ」）の選抜経過（1999～2001）.

表 2-1. 異なる栽培環境下における「北系 1802」の種子休眠性（2001～2003）

系統名	穂発芽		発芽試験　10℃　発芽率（%）			
または	圃場　晩刈		圃場　晩刈			温室 成熟
品種名	北見	十勝	北見	十勝	中央	GB
北系1802	0.0 a	0.3 a	18 a	63 a	26 a	80 a
北系1354	0.5 ab	8.4 a	85 b	83 a	85 bc	100 b
きたもえ	1.9 b	37.5 ab	80 b	93 a	72 bc	99 ab
ホクシン	4.0 c	74.9 bc	85 bc	99 a	79 bc	100 b
チホクコムギ	4.9 c	98.6 c	100 c	100 a	99 c	100 b

1）同一処理区内で異なる英文字間に5%水準で有意差があることを示す（ダンカンの多重検定）.

2)穂発芽（北見）は穂発芽指数（0：無～5：甚）、穂発芽（十勝）は穂発芽小穂率（0-100%）を示す.

3）10℃発芽率（十勝）およびGB(北海道グリーンバイオ研究所）はそれぞれ2001、2003年および2001、2002年の2ヵ年平均の成績を示す.

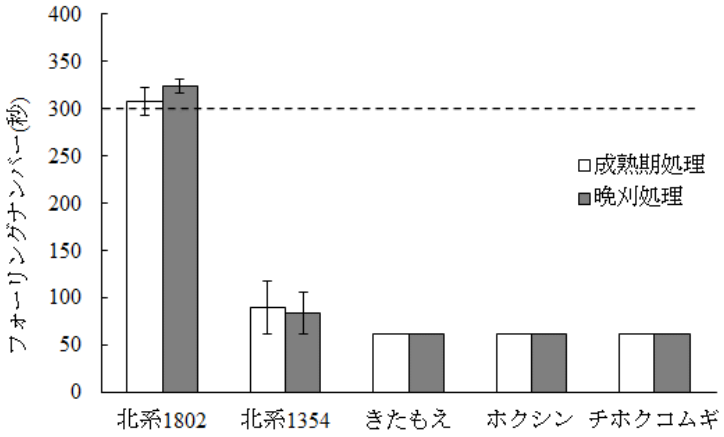


図 2-2. 低温連続降雨処理後のフォーリングナンバー（2002～2003 平均）.

1) 15℃恒温室で 10～12 日間、朝夕人工降雨処理を実施した.

2)「ホクシン」と「チホクコムギ」は 2003 年の単年度成績である.

3) 図中の点線はコムギ粉のデンプン粘度が低アミロ化する境界値であることを示し, 300 秒未満の場合, 低アミロと判定される.

(Yanagisawa *et al.* 2005 から一部抜粋)

さらに 2001 年に，DH_4 世代の 18 選抜系統を道総研北見農試で栽培し，圃場選抜した 13 系統で穂発芽検定をした結果，「訓交 2447DH-T113-2」の穂発芽指数は 0.00 であった．この系統は晩刈り種子の 15℃，10℃での発芽率はいずれも 20%以下で，他の選抜系統より明らかに強い種子休眠性を維持していた(図 2-1c).

そこでこの「訓交 2447DH-T113-2」に「13607」（後の「北系 1802」）の系統名を付し，2001～2003 年にわたって道内の 4 環境下で栽培し，晩刈りした穂と種子を用いて穂発芽指数と 15℃および 10℃での発芽率を求めた. その結果「北系 1802」は両形質とも多くの栽培環境で，穂発芽耐性と種子休眠性が対照品種に比べ優れていることが確認できた（表 2-1）.

さらに，図 2-2 に示したように，圃場栽培し成熟期および成熟期 2 週間後の切り穂サンプルに 15℃で 10～12 日間にわたり人工降雨処理を行っても，「北系 1802」のフォーリングナンバーは 300 秒未満に低下せず，一方比較 4 品種・系統はいずれも 100 秒に達しなかった．したがって「北系 1802」はこれまでの品種・系統では難しかった低アミロ化しない特徴をもつことが分かった.

２.「北系 1802」の農業特性

生産力試験および特性検定試験の結果から，「北系 1802」はやや短稈で耐倒伏性があるものの，収量が「ホクシン」対比 83%と低収であり，種子親の「きたもえ」と比べても 94%であった(表 2-2). その理由として面積あたりの穂数が少ないことと千粒重の低いことがあげられる(表 2-2). また種子の外観品質も比較した 3 品種より劣っていた．さらに 3 ヶ年の特定検定試験から雪腐病抵抗性も「ホクシン」に劣ることが分かった. その一方で，長所としては赤かび病抵抗性が「ホクシン」、「きたもえ」と比較して優り、コムギ縞萎縮病抵抗性が「きたもえ」と同レベルで，「ホクシン」と比較して優ることが分かった(表 2-3).

第２項　種子休眠性の要因解析試験

１．　相反交雑 F_1 種子の種子休眠性

親品種の発芽率は置床 7 日後で「北系 1802」が 25.0%，「きたもえ」が 85.0%，「チホクコムギ」が 100%を示した. 各材料間の相反交雑による F1 種子の発芽率（DAT7）は「北系 1802」/「きたもえ」で 85.0%，「きたもえ」/「北系 1802」で 100%，「北系 1802」/「チホクコムギ」で 85.0%，「チホクコムギ」/「北系 1802」で 98.3%，「きたもえ」/「チホクコムギ」で 98.3%，「チホクコムギ」/「きたもえ」で 100%を示した（図 2-3）.

親品種間で穂発芽耐性が 4 ランク異なる「北系 1802」と「チホクコムギ」間では種皮による不完全優性の可能性が考えられた．一方，親品種間で穂発芽耐性の違いが 2 ランク程度異なる「北系 1802」と「きたもえ」間，および「きたもえ」と「チホクコムギ」間の F_1 種子では，親品種のうち穂発芽耐性が劣る親品種に類似する発芽率を示したことから，種子休眠性の強弱に対する種皮の影響は小さいと判断された．以上から，10℃の低温処理条件における穂発芽耐性の遺伝において，種皮が関与する種子休眠性への影響は不完全優性と推定される一方で，種皮が与える種子休眠性への影響は軽微であり，両親間での穂発芽耐性の差異が小さい場合にはその効果は判然としなかった.

表 2-2.　「北系 1802」の生育および収量調査（2001～2002 平均）.

系統名または品種名	出穂期（月日）	成熟期（月日）	稈長（cm）	穂長（cm）	穂数（本/m²）	倒伏	子実重（kg/a）	千粒重（g）	リットル重（g）	外観品質
北系1802	6/4	7/25	76	7.0	658	無	58.2(83)[1)]	37.9	795	中上
ホクシン	6/4	7/22	82	8.0	710	無	69.7(100)	39.3	785	上下
きたもえ	6/6	7/24	77	7.4	703	無	65.8(94)	39.4	786	上下
北系1354	6/7	7/27	92	7.0	775	中	61.5(88)	41.1	797	上下

1)括弧内は「ホクシン」の子実重を100としたときの比率を示す.

表 2-3．「北系 1802」の特性検定試験(2001～2003 平均).

系統名または品種名	強稈性 (北見)	雪腐病 (上川)	うどんこ病 (北見)	赤さび病 (北見)	赤かび病 (北見)	ｺﾑｷﾞ縞萎縮病 (中央)
北系1802	やや弱	65.7	0.6	28	2.3	やや強
ホクシン	やや弱	47.9	1.0	38	5.7	弱
きたもえ	中	-	0.9	27	6.3	やや強
供試年数	3	2	3	3	2	2

1)雪腐病（発病度）：0無～100甚
2)うどんこ病（発病指数）：0無～5甚
3)赤さび病（発病面積率）：0無～100甚
4)赤かび病（発病指数）：0無～8甚

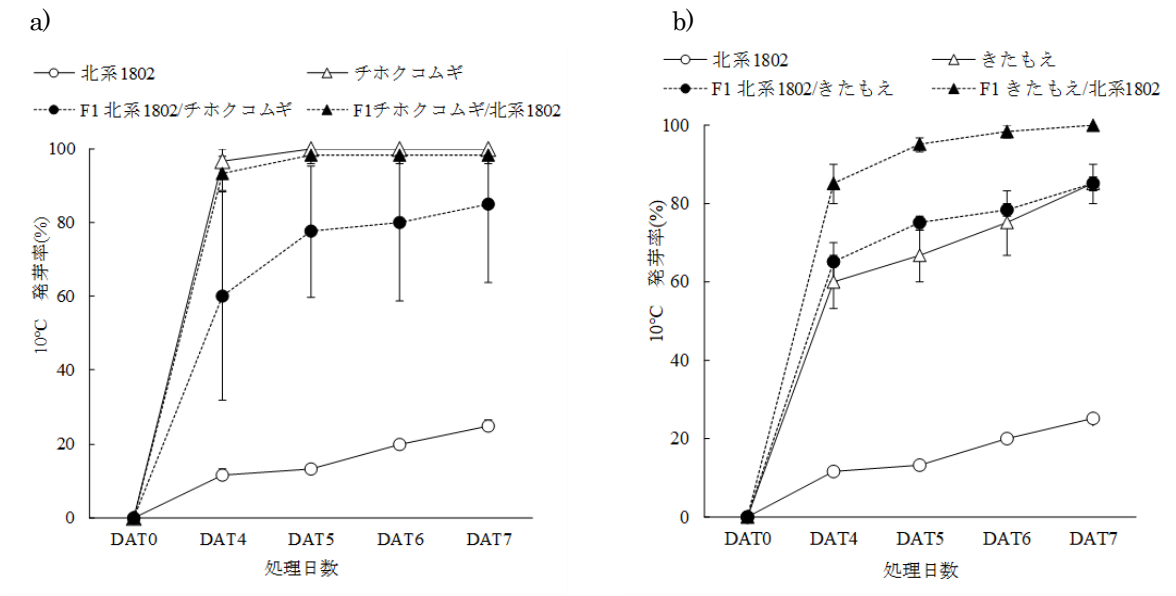


図 2-3.　相反交雑で得られた F_1 種子の発芽率の推移（2004）.
a :「北系 1802」／「チホクコムギ」の相反交雑
b :「北系 1802」／「きたもえ」の相反交雑

２．吸水速度の比較試験

成熟期刈りと晩刈り種子の吸水による子実水分の変を表 2-4 に示した．吸水処理前の子実水分は 4 品種・系統間で成熟期刈り種子では 13.5～14.1%の範囲内，晩刈り種子では 12.9～13.4%の範囲内であった．吸水処理を開始して 8 時間後，24 時間後，48 時間後には成熟期刈り種子でみると，「北系 1802」はそれぞれ 22.0%，30.3%，36.0%を示した．穂発芽耐性が劣る「チホクコムギ」では 23.3%，32.9%，38.8%を示し，「北系 1802」よりも「チホクコムギ」で水分上昇が早く、吸水 24 時間後，　吸水 48 時間後では有意な差が認められた．晩刈り種子でも成熟期刈り種子と同様な傾向が認められ，吸水 48 時間後には「北系 1802」の 35.5%に対し，「きたもえ」が 36.6%，「ホクシン」が 37.2%，「チホクコムギ」が 39.3%と穂発芽性が劣るにつれ，子実水分が高い傾向を示し，「北系 1802」とそれ以外の品種・系統間で有意な差が認められた．

３．ABA 感受性試験

「北系 1802」及び比較 4 品種の収穫時期別の発芽率を図 2-4 に示した．全粒水処理区では「北系 1354」，「きたもえ」，「ホクシン」ともに発芽率が 80～100%の範囲を示したのに対し，「北系 1802」の発芽率は 12～44%，「OW104」では 56～71%と比較品種よりも低かった．半切水処理区ではすべての供試材料で収穫時期にかかわらずほぼ 100%の発芽率を示したことから，半切種子にすることで種子休眠が打破されていることが明らかとなっ

表 2-4. 収穫時期別にみた種子吸水程度の品種系統間差異(2005).

収穫時期	系統名	浸漬前	子実水分（%）			
	品種名	千粒重(g)	浸漬前	8時間後	24時間後	48時間後
成熟期刈り	北系1802	37.2	13.9	22.0	30.3 a	36.0 a
	きたもえ	36.7	14.1	22.8	31.2 b	36.9 ab
	ホクシン	37.9	13.9	22.8	32.1 c	37.0 ab
	チホクコムギ	38.7	13.5	23.3	32.9 d	38.8 b

収穫時期	系統名	浸漬前	子実水分（%）			
	品種名	千粒重(g)	浸漬前	8時間後	24時間後	48時間後
晩刈り	北系1802	37.8	13.1	22.1	29.7	35.5 a
	きたもえ	37.7	13.4	22.5	31.1	36.6 b
	ホクシン	38.3	12.9	22.3	30.4	37.2 b
	チホクコムギ	39.2	12.9	23.4	32.4	39.3 b

1) 英文字が付された値は異文字間に5%水準で有意差あり（Tukey法）.

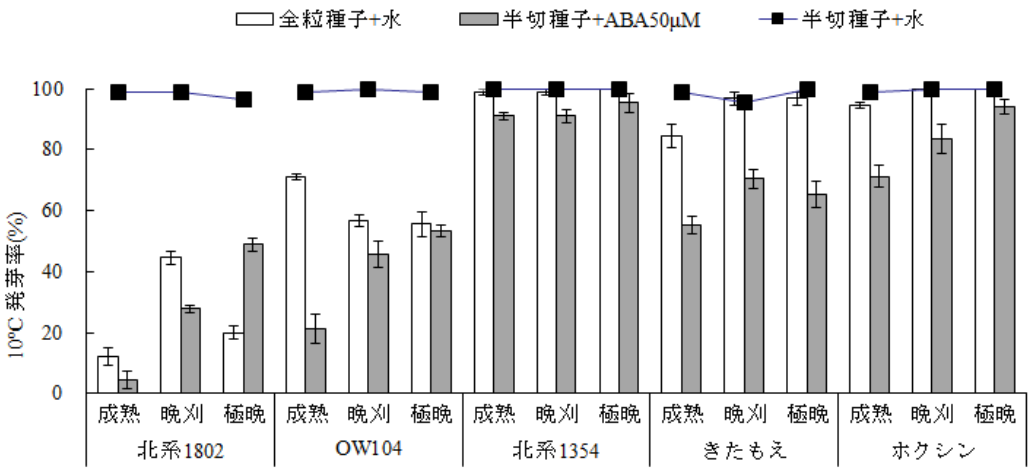


図 2-4.　収穫時期別の ABA 感受性の品種間差異(2005).

た.

半切 ABA 処理区では「きたもえ」の発芽率が 55～70%,「北系 1354」では 91～95%,「ホクシン」では 71～94%を示した．一方,「北系 1802」では 4～49%,「OW104」では 21～53%と比較品種より明らかに低かった．このことから，種子休眠性の強弱には胚の ABA 感受性が関与しており，穂発芽耐性が“極難”にランクされる「北系 1802」と「OW104」では ABA 感受性程度の高いことが判明した.

第４節　考　察

本試験での切り穂の穂発芽検定と種子休眠性について対照品種との比較から「北系 1802」の穂発芽性は“極難”と判断した．農業特性については,「北系 1802」はやや短稈で耐倒伏性があるものの，収量が「ホクシン」対比 83%と低く，種子親の「きたもえ」と比べても 94%であった．理由として面積あたりの穂数が少ないことと千粒重の低いことがあげられる．一方，長所としては赤かび病抵抗性が「ホクシン」、「きたもえ」と比較して優り、コムギ縞萎縮病抵抗性が「きたもえ」と同レベルで,「ホクシン」と比較して優ることが明らかとなった．緒言で述べたように，穂発芽性が極めて優れる特性だけでは優良品種となりえず，プライオリティーが下がりがちになるものの，この系統はいくつかの有用な実用形質を取り込んでいることが判明した.

さらに、成熟期および成熟期 2 週間後の切り穂サンプルに 15℃で 10～12 日間にわたり降雨処理を行っても,「北系 1802」のフォーリングナンバーは 300 秒以上を維持し，これまでの品種・系統では難しかった低アミロ化しない特徴をもつことが明らかとなった.

また，種子休眠性の強い品種は胚の ABA 感受性が高いことが報告されているが(Walker-Simmons 1987, Osanai and Amano 1992, 野田 1993)，図 2-4 で見たように「北系 1802」は「OW104」と同様に胚の ABA 感受性が高いことが強種子休眠性を決定する重要な因子の一つであると考えられた.

相反交雑による F_1 種子の休眠性から,「北系 1802」が胚休眠と種皮休眠を併せ持っているか検討した.「北系 1802」を片親とする 2 組の相反 F_1 種子の発芽率には明瞭な差異はなく，種皮が「北系 1802」由来だからといって，強休眠性を示すことはなかった．したがって，種子休眠性の強弱に対する種皮の影響は小さいと判断された．Miura *et al.* (2002)は，強種子休眠性の「ゼンコウジコムギ」と中庸な「Chinese Spring」の相反 F_1 種子の休眠性を調査した．その結果，相反 F_1 種子はともに「ゼンコウジコムギ」に近い低い発芽率を示したことから，種皮休眠ではなく胚休眠によることを報告している. その後，その主たる遺伝支配は，3A 染色体短腕の QTL すなわち *MFT-3A* 遺伝子の効果によることが明らかにされた(Osa *et al*. 2003, Mori *et al*. 2005, Nakamura *et al*. 2011).

ただし,「北系 1802」について吸水速度の比較試験では(表 2-4),「きたもえ」,「ホクシン」,「チホクコムギ」より子実水分の上昇が遅れる傾向を示したことから種皮の効果が全く否定された訳ではない．前述のとおり，Kashiwakura *et al.* (2016)は穂発芽性“極難”にランクされる「OS38」に関する要因解析を行った．その結果，この系統は成熟期に胚休眠と種皮休眠を併せ持っていて，低温下で吸水させたとき ABA の内生量が増加し発芽しないことを報告している．中津 (2000) は休眠打破された「チホクコムギ」と「ホロシリコムギ」の穂中種子で吸水速度の品種間差を見出しており，種子休眠性とは別の要因として吸水速度の違いが穂発芽発生に影響することを指摘している．本試験においても種子の吸水速度について品種間差が見出されており，種皮の透水性に品種間差があると考えられる．その結果,「北系 1802」種子の

吸水速度が他品種よりも遅くなることで，系統本来の強種子休眠性に加え，物理的に吸水速度が緩慢で休眠打破が遅延することにより，穂発芽発生を防止する副次的な効果があるものと推察された.

選抜対象とした原集団 1,923 系統のうち，道総研十勝農試圃場に供試した秋播き型 938 系統の穂発芽指数は連続分布を示し(図 2-1a)，花粉親の「ニシカゼコムギ」は春播き品種のため比較できなかったが，種子親の「きたもえ」より低い穂発芽指数の系統も存在した．したがって「北系 1802」の穂発芽性“極難”は，超越分離による可能性があり, 複数の遺伝子あるいは QTL の支配が示唆される．この点については「北系 1802」を育種母本に用いた集団を養成しQTL解析を実施したので, 第5章で「北系 1802」の穂発芽耐性に関わる遺伝的要因についての結果を述べる.

第３章　　登熟期の気象要因と種子休眠性との関係

第１節　緒　言

穂発芽とは降雨の影響により，収穫期前後の立毛状態で発芽する現象である．収量低下の直接的な要因となるばかりではなく，子実の外観品質の悪化，α-アミラーゼ等の酵素の影響による内部品質の劣化の要因にもつながり，著しく商品価値が低下する(柳沢 2004)．穂発芽回避のためには梅雨等の雨害回避を目的とした早生化やコムギの成熟後に速やかに収穫，乾燥を行う必要性があるものの，最も有効な対策は育種による遺伝的改良による耐性品種の開発である．

コムギの穂発芽耐性は日本の品種が外国品種より優れることが古くから知られ（秋濱 1936），国内にあっては関東以西の品種が北日本の品種より優れている(桑原・前田 1980)．わが国のコムギ主産地である北海道では，1981 年以降，日本めん適性が優れる「チホクコムギ」の育成とその普及が進んだ．しかし，この品種は穂発芽性が“やや易”であることから，幾度となく穂発芽被害を受けてきた．1995 年に北海道では収穫時期に長雨が続き，生産量のうち43%もの規格外品を出すなど記録的な穂発芽被害を受けた背景もあり(天野 1997)，穂発芽耐性の向上が重要な育種目標として据えられてきた．2011 年以降，北海道内のコムギ作付け面積の 8 割以上を占める穂発芽性“やや難”品種の「きたほなみ」においても，一部地域で断続的な天候不順により穂発芽被害が発生した事例が報告されている．

コムギの穂発芽耐性は種子休眠性に大きく依存しているが，種子休眠性は登熟期後半の気温に大きく影響を受けることが知られ，この期間高温であれば休眠は浅く，低温であれば休眠は深くなる (Reddy *et al*. 1985, Lunn *et al*. 2002, Nakamura *et al*. 2011，中園ら 2013)．

中園ら(2013)の報告では，子実水分 50%から生理的成熟期にあたる時期の平均気温と穂発芽率に正の相関が認められている．また，種子休眠性の変動を登熟温度との関連から検討した過去の研究で，感受性の高い時期として開花後 30-50 日(Buddish *et al*. 2007)，成熟期前 14 日間（Nielsen *et al*. 1984），成熟期前 7 日間(中津ら 2006)あるいは成熟期前 5 日間(Osanai *et al*. 2005)等の報告がある．これらの時期は，地域や品種，栽培条件が異なるため単純な比較はできない．気温以外の日照時間や降雨などの他の気象要因との関連も明らかでない．

かつて北海道における収穫期（7 月中旬～8 月上旬）は比較的降雨も少なく，昭和40年代までは穂発芽性の改良よりも耐倒伏性や雪腐病抵抗性の改良に育種改良の重点が置かれていた．しかし，その後夏季の北海道の気象はオホーツク海高気圧の影響を受け易く，コムギの登熟後期から収穫期頃にかけ，降雨の続くことが多くなった．登熟期後には低温と降雨に遭遇しやすいために種子休眠が打破されやすいものの(Osanai and Amano 1993)，成熟期を過ぎてからの気温との関連は明らかでない．

そこで本章では，北海道の秋播きコムギ品種について，登熟期間中の気象要因が種子休眠性に及ぼす影響を明らかにしようとした．試験には前章で記載した「北系 1802」を含む穂発芽性の異なる 6 品種・系統を用いて，最長で 14 年間成熟期刈りした種子と成熟期から 7 日後に晩刈りした種子の休眠性を調査し，検討した．

第２節　材料および方法

第１項　供試材料

試験には表 3-1 に示す穂発芽性“極難”の「北系 1802」(試験年次 2002～2015 年)，「北系 1838」(2006～2015 年)および「OW104」(2002～2012, 2014～2015 年)，“やや難”の「きたほなみ」(2007～2015 年)と「きたもえ」（2002～2015 年）、“中”の「ホクシン」（2002～2015 年），計 6 品種・系統を用いた．ここでいう“極難”や“やや難”とは全国で統一された評価法によるものではなく，道総研北見農試でのスコアリングの基準で判定している．これらの材料はすべて秋播性程度Ⅵを示す冬コムギであ

表 3-1.　供試材料一覧.

供試材料	秋播性程度	穂発芽性	交配組合せ[6]	育成年次	育成地
北系1802	Ⅵ	極難[1]	**北系1616(きたもえ）/ニシカゼコムギ**	(2004)	北見農試・ホクレン
北系1838	Ⅵ	極難	**W148-59-8(OW104)**/98046//99015	(2006)	北見農試・ホクレン
OW104	Ⅵ	極難[2]	**OS21-5**/61199	-	民間育成（長内氏）
きたほなみ	Ⅵ	やや難[3]	**北見72号（きたもえ）**/北系1660	2006	北見農試
きたもえ	Ⅵ	やや難[4]	59045(ホクシン）/**北系1463**	2001	北見農試
ホクシン	Ⅵ	中[5]	北見35号/北見42号（チホクコムギ）	1995	北見農試

1)西村ら(2004）より引用．2)長内(2010)より引用．3)柳沢ら(2010)より引用．4)柳沢ら(2002)より引用．5)柳沢ら(2000)より引用．6) 交配組合せの太字・下線は穂発芽耐性材料を示す．7）育成年次の（　）は選抜年次を示す．

る.

第２項　圃場栽培

栽培は 2002～2015 年（収穫年次）に道総研北見農試の試験圃場（多湿黒ボク土）で行った．肥培管理は品種，年次間で統一した．播種は各年次とも9月中下旬に行い，1 区面積 0.6 ㎡に対し，300 粒を条播した．区制は標準区法 2 反復とした．施肥は化成肥料麦類用 802 を用いて，全量を基肥として N, P_2O_5, K_2O をそれぞれ 6.4gm^{-2}, 16.0 gm^{-2} , 9.6 gm^{-2} 施用した．追肥は倒伏防止の目的から行わなかった．

成熟期は，茎葉ならびに穂首部分が黄化し，子実にツメ跡がわずかにつく黄熟かつ蝋状となる生理的成熟期 (豊田 2011)（本試験の場合子実水分 40%弱に相当）とした．

収穫は成熟期とその 7 日後に晩刈りを行い，それぞれ試験区ごとに 30～40 穂をランダムに採取した．その後直ちに 40℃, 24 時間通風乾燥を行い，穂の状態で発芽試験開始まで－20℃で冷凍保管した．

第３項　種子休眠性評価と気象要因に関する解析

発芽試験用種子サンプルは手もみ脱穀を行って，縦目篩 2.0mm 網上の整粒種子を用いた．種子休眠性は発芽試験で評価し，プラスチックシャーレ（直径 9cm）に濾紙を 1 枚敷き，50 粒を置床し，2 反復で行った．発芽処理温度を 15℃と 10℃の 2 水準を設け，暗黒条件下でインキュベータ内に静置した．発芽の定義は子実の胚部の種皮が破れた状態とした．発芽率は試験開始 7 日間の累積発芽数から求めた．気象データは道総研北見農試の近傍にある境野アメダス（北海道常呂郡置戸町）の地上気象観測値を使用し，日平均気温，0.5mm 以上の降雨を記録した降雨日数，日照時間を用いた．統計解析には統計解析ソフトエクセル統計 2012 を用いた．

第３節　結　果

第１項　成熟期とその年次変動

試験期間中の供試材料の成熟期とその年次変動を表 3-2 に示した．成熟期は「ホクシン」が 14 年間の平均で 7 月 23 日，「北系 1838」，「OW104」「きたほなみ」が 9～13 年間の平均でいずれも 7 月 25 日，「きたもえ」が 14 年間の平均で 7 月 26 日，「北系 1802」が 14 年間の平均で 7 月 27 日であった．融雪期以降の気象変動の影響を受けため，各品種･系統の成熟期の年次変動は「北系 1838」の 9 日から「北系 1802」の 14 日までの幅があった．年次別では各材料平均で 2010 年は 7 月 19 日に成熟期に達したが，2003 年と 2007 年は 7 月 30 日に成熟期に達しており，過去 14 年間では最大で 11 日間程度の変動が認められた．

第２項　成熟期前の日平均気温と種子休眠性との関係

よって，本試験ではそれぞれの品種・系統について試験年次の成熟期の気象データとして，境野アメダス（北海道常呂郡置戸町）の日平均気温，降雨日数，平均日照時間に関する地上観測値を使用し検証を試みた．ここでは日平均気温の算出を，成熟期前 5 日間，10 日間，15 日間，20 日間と区分し，成熟期刈り種子と晩刈り種子の発芽率との関連を検討した．

その結果，成熟期に収穫した種子では，15℃発芽率との間の相関係数はそれぞれ成熟期前 5 日間で「北系 1838」の r=0.32 から「きたほなみ」の r=0.71 まで品種・系統間で一様でなかった(表 3-3)．同様に成熟期前 10 日間で r=0.27～0.82，成熟期前 15 日間で r=0.20～0.86，成熟期前 20 日間で r=0.07～0.67 であった．10℃発芽率との間の相関係数は成熟期前 5 日間で r=0.35～0.79，成熟期前 10 日間で r=0.41～0.73，成熟期前 15 日間で r=0.57～0.88，成熟期前 20 日間で r=0.30～0.74 であった．

穂発芽性“極難”の「北系 1802」は 15℃と 10℃での

表 3-2.　各品種・系統の成熟期（月/日）とその年次変動.

供試材料	穂発芽性	試験年次ごとの成熟期														品種累年		
		2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	平均	最早	最晩
北系1802	極難	7/26	8/3	7/23	7/28	7/28	8/1	7/30	7/31	7/20	7/29	7/28	7/29	7/21	7/25	7/27	7/20	8/3
北系1838	極難	-	-	-	-	7/27	7/28	7/25	7/28	7/19	7/27	7/26	7/25	7/22	7/22	7/25	7/19	7/28
OW104	極難	7/23	7/27	7/22	7/28	7/28	7/31	7/27	7/28	7/19	7/24	7/26	-	7/22	7/24	7/25	7/19	7/31
きたほなみ	やや難	-	-	-	-	-	7/31	7/26	7/30	7/19	7/26	7/26	7/25	7/21	7/24	7/25	7/19	7/31
きたもえ	やや難	7/22	7/31	7/23	7/28	7/29	7/30	7/26	7/29	7/19	7/26	7/25	7/25	7/21	7/24	7/26	7/19	7/31
ホクシン	中	7/22	7/26	7/20	7/25	7/27	7/27	7/25	7/27	7/16	7/25	7/23	7/23	7/18	7/22	7/23	7/16	7/27
年次平均		7/23	7/30	7/22	7/27	7/28	7/30	7/27	7/29	7/19	7/26	7/26	7/25	7/21	7/24			
最早		7/22	7/26	7/20	7/25	7/27	7/27	7/25	7/27	7/16	7/24	7/23	7/23	7/18	7/22			
最晩		7/26	8/3	7/23	7/28	7/29	8/1	7/30	7/31	7/20	7/29	7/28	7/29	7/22	7/25			

表 3-3.　成熟期刈り種子の 15℃および 10℃での発芽率と登熟時期別の成熟期前の日平均気温との間の相関係数.

供試材料	穂発芽性	前5日間				前10日間		前15日間		前20日間	
		n	15℃	n	10℃	15℃	10℃	15℃	10℃	15℃	10℃
北系1802		14	0.60*	11	0.79*	0.54*	0.61*	0.55*	0.70*	0.67**	0.74**
北系1838	極難	10	0.32	7	0.55	0.32	0.63	0.20	0.57	0.07	0.30
OW104		13	0.57*	10	0.37	0.47	0.47	0.40	0.62	0.28	0.63
きたほなみ	やや難	9	0.71*	6	0.59	0.82*	0.63	0.86**	0.62	0.64	0.64
きたもえ		14	0.48	8	0.35	0.49	0.41	0.53	0.65	0.45	0.63
ホクシン	中	14	0.42	9	0.36	0.27	0.73*	0.45	0.88**	0.39	0.64

*, **はそれぞれ5%, 1%水準で有意.

表 3-4.　晩刈り種子の 15℃および 10℃での発芽率と登熟時期別の成熟期前の日平均気温との間の相関係数.

供試材料	穂発芽性	前5日間				前10日間		前15日間		前20日間	
		n	15℃	n	10℃	15℃	10℃	15℃	10℃	15℃	10℃
北系1802		14	0.49	11	0.84**	0.63*	0.72*	0.52	0.56	0.50	0.57
北系1838	極難	10	0.59	7	0.54	0.74*	0.62	0.62	0.56	0.30	0.29
OW104		13	0.73**	10	0.80**	0.68*	0.66*	0.65*	0.68*	0.42	0.62
きたほなみ	やや難	9	0.67*	6	0.60	0.81**	0.66	0.72*	0.64	0.38	0.51
きたもえ		14	0.75**	8	0.60	0.81**	0.82*	0.72**	0.77*	0.55*	0.73*
ホクシン	中	14	0.57*	9	0.72*	0.57*	0.76*	0.73**	0.75*	0.66*	0.62

*, **はそれぞれ5%, 1%水準で有意.

発芽率がともに成熟期前 20 日以降の日平均気温と常に正の有意な相関を示し,”やや難“の「きたほなみ」も同様の傾向を示した．一方，他の 4 品種・系統では日平均気温との関係が必ずしも明確でなかった.

それに対して，晩刈り種子ではいずれの品種・系統もそれぞれの成熟期前 10 日間の日平均気温と 15℃発芽率との間に，「ホクシン」の r=0.57(P<0.05)から「きたほなみ」と「きたもえ」の r=0.81(P<0.01)まで 6 品種・系統いずれでも有意な正の相関関係があることがわかった(表 3-4). 10℃発芽率との間でも「北系 1802」,「OW104」,「きたもえ」および「ホクシン」では 5%水準で有意な正の相関を示した.「北系 1838」と「きたほなみ」は有意ではないものの，それぞれ r=0.62，r=0.66 と高かった（表 3-4）．成熟期前 5 日間の日平均気温とは品種・系統間で r=0.49～0.84, 成熟期前 15 日間とは r=0.52～0.77, 成熟期前 20 日間の日平均気温とは r=0.29～0.73 であった.

第３項　成熟期前後の気象要因と種子休眠性との関係

次に, 気象要因として成熟期前 10 日間の日平均気温に加え，同期間の降雨日数と日照期間との関連について調査した．さらに北海道の場合,成熟期後，低温と降雨に遭遇しやすいために種子休眠が打破されやすいことが知られている．そのため成熟期から晩刈りまでの 7 日間のそれら気象要因との関連も検討した．表 3-5 に示した結果は，各品種・系統の晩刈りサンプルの発芽試験温度毎に成熟期前後の気象要因別に求めた相関係数である．15℃, 10℃の発芽率と降雨日数や平均日照時間との間には密接な関連は認められなかった．同様に発芽率と成熟期後 7 日間の平均気温，降雨日数，平均日照時間との間でも明らかな相関関係は認められなかった.

さらにその気象要因を説明変数，発芽率を目的変数とする重回帰分析を行った結果を表 3-6 に示した．「北系 1802」の 10℃を除き，いずれの品種・系統，発芽温度の組合せともに標準化偏回帰係数は有意で，成熟期前 10 日間の平均気温が発芽率に影響を及ぼすことが確認された．降雨日数と日照時間の寄与度は低かった．一方，成熟期 7 日後の各気象要因については，供試材料のなかで穂発芽耐性が最も劣る「ホクシン」のみが 10℃での発芽率が降雨日数と日照時間の影響を受けていることが示された．それ以外の品種・系統では日平均気温を含めて気象要因と発芽率との間に明瞭な関係は認められなかった.

第４節　考　察

緒言で述べたように，種子休眠性の変動を登熟温度との関連を検討した過去の研究では，感受性の高い時期として開花後 30-50 日(Buddish *et al.* 2007)，生理的成熟期前 14 日間（Nielsen *et al.*1984），成熟期前 7 日間(中津ら 2006)，成熟期前 5 日間(Osanai *et al.* 2005)等が報告されている.

表 3-5.　晩刈り種子の 15℃および 10℃での発芽率と成熟期前 10 日間および成熟期後 7 日間の気象要因との間の相関係数.

供試材料	晩刈15℃発芽率との相関係数							晩刈10℃発芽率との相関係数						
		成熟期前10日間			成熟期後7日間				成熟期前10日間			成熟期後7日間		
	n	平均気温[2)]	降雨日数	平均日照時間	平均気温	降雨日数	平均日照時間	n	平均気温[2)]	降雨日数	平均日照時間	平均気温	降雨日数	平均日照時間
北系1802	14	0.63*	-0.43	0.63*	0.27	-0.27	0.25	11	0.72*	-0.65*	0.75**	0.19	-0.34	0.21
北系1838	10	0.74*	-0.36	0.39	0.45	0.28	-0.22	7	0.62	-0.40	0.44	0.62	0.37	-0.30
OW104	13	0.68*	-0.43	0.35	0.47	-0.19	0.06	10	0.66*	-0.45	0.41	0.43	-0.15	0.14
きたほなみ	9	0.81**	-0.34	0.46	0.17	0.35	-0.33	6	0.66	-0.65	0.44	0.39	0.15	0.20
きたもえ	14	0.81**	-0.12	0.29	0.14	0.15	-0.16	8	0.82*	-0.01	0.07	0.31	0.05	0.30
ホクシン	14	0.57*	0.24	-0.27	0.56*	0.03	0.27	9	0.76*	0.14	-0.25	0.58	-0.08	0.43

1) *,** はそれぞれ5%、1%水準で有意.
2)成熟期前10日間の平均気温と晩刈15℃発芽率、晩刈10℃発芽率の間のそれぞれの相関係数は表3-4に示したものを再掲した.

表 3-6.　成熟期前後の気象要因を説明変数、発芽率を目的変数とした場合の重回帰分析による気象要因の寄与度(R^2).

供試材料	処理方法	標準化偏回帰係数[1)]						自由度調整済
		成熟期前10日間			成熟期後7日間			
		平均気温	降雨日数	日照時間	平均気温	降雨日数	日照時間	R^2
北系1802	晩刈15℃	0.67(**)	-	-	-	-	0.34	0.42
	晩刈10℃	0.42	-	0.49	-	-	-	0.59
北系1838	晩刈15℃	1.17(*)	-	-0.54	-	-	-	0.55
OW104	晩刈15℃	0.78(**)	-	-	-	-0.38	-	0.52
	晩刈10℃	0.66(*)	-	-	-	-	-	0.36
きたほなみ	晩刈15℃	0.81(**)	-	-	-	-	-	0.60
きたもえ	晩刈15℃	0.81(**)	-	-	-	-	-	0.63
	晩刈10℃	0.82(*)	-	-	-	-	-	0.61
ホクシン	晩刈15℃	0.67(**)	-	-0.57(**)	0.45(*)	-	0.25	0.79
	晩刈10℃	0.74(**)	-	-	-	0.70(**)	1.09(**)	0.96

1) 気象要因を説明変数、発芽率を目的変数として変数増減法による重回帰係数を算出後、標準偏回帰係数に変換.
2)*, **は偏回帰係数の有意性検定によりそれぞれ5%, 1%水準で有意であることを示す.

本試験では成熟期前5日から20日前までの日平均気温と種子休眠性との関係を調査した．その結果，表 3-3 に示したように，成熟期刈りした種子では品種・系統によって登熟期の気温に対する感受性に違いが見られた．例えば“極難”系統の「北系 1802」では 20 日前までのいずれの日平均気温とも発芽率が正の相関を示したのに対し，同じ“極難”系統の「北系 1838」では成熟期の気温が休眠性の強弱と関連していなかった．このように品種・系統による登熟期の気温に対する感受性に違いがあり, 種子休眠性の変動と登熟温度との関連が地域や品種, 栽培条件が異なる原因の一つであると考えられる．ただし, 晩刈り処理を施して種子休眠性を低下させた場合は, 6 品種・系統いずれにおいても成熟前 10 日間の日平均気温と発芽率の関係には高い相関が見られた(表 3-4).

この結果は登熟期間中の高温が種子休眠性を低下させるという従来の知見と一致していた(Reddy *et al.* 1985, Lunn *et al.* 2002, 中園ら 2013).

本試験から北海道の秋播き栽培では，種子休眠性の程度が成熟期前 10 日間の気温に強く影響を受けることが明らかとなった．データには示していないが，この 10 日間は道総研北見農試の栽培環境では子実水分が 50-60%程度から生理的成熟期である 40%に低下する時期である．中園ら(2013)が関東以西の暖地で栽培されている穂発芽性の異なる春コムギの「農林 61 号」と「シロガネコムギ」を用いた分析で，子実水分 50%から生理的成熟期にあたる時期の平均気温と穂発芽率に正の相関があったとする報告とも一致する．したがって，本試験で用いたコムギは秋播性程度Ⅵの寒地適応型の品種・系統であることから，秋播性程度のレベルや品種を問わず, 子実水分 50%から生理的成熟期の期間での日平均気温が種子休眠性に大きく影響すると言える．

成熟期前 10 日間が高温で推移すれば休眠が浅く, 本試験で用いた寒地向けの穂発芽性“極難”の秋播きコムギ系統でさえ穂発芽の危険性が高まる可能性がある．府県

に比べ低温で登熟する北海道でも，今後2030年代には農耕期間(5～9 月)の月平均気温が 1.8℃上昇することが予測されている(中辻ら 2011). したがって現在の穂発芽耐性品種といえども，将来的には北海道の秋播き栽培における登熟期間である6～7月に高温成熟に遭遇し，穂発芽被害が誘引される機会が増えることが予想される．その対策として，品種開発の立場から長内(2010)は，穂発芽性“極難”系統の育種選抜では，低温で登熟して休眠を強化したものよりも，高温で登熟してもなおその後の低温条件で休眠が破られにくいものが望ましいと考察している．本試験結果からみて，“極難”の「北系 1838」と「OW104」が少なくとも成熟期刈りした種子では発芽率と成熟期前の日平均気温との関連が低く(表 3-3)，気温の変動にも関わらず高い休眠性を形成していたことから，長内の指摘に合致する系統と言える．言い換えるとこれら 2 系統は登熟期の気温に対して鈍感なことで穂発芽性“極難”を獲得していると考えられる．しかし，休眠がより覚めやすい晩刈り種子ではこの傾向は必ずしも明瞭でなかった.

天野・長内(2017)は既存品種にはない高度な種子休眠性を有する「OS 系統」に対して従来の穂発芽耐性品種とは異なる遺伝子を有し，新たな遺伝子が集積されて発現されたとの仮説により，遺伝解析を試みている．「OS 系統」は F2, F3 の初期世代から低温処理選抜により高度な穂発芽耐性をもつ系統が作出されていることから，比較的少数の遺伝子に支配されている形質と想定されたが，単純な親品種の耐性の強さに比例する働きではなく，遺伝子数を予測することが困難であった（天野・長内 2017）. 分子生物学的手法により，種子休眠性に対する遺伝子の単離等の研究が進められているが，本研究で明らかとなった登熟期の気温に対して鈍感な穂発芽性“極難”の要因は明らかではなく，今後さらに検討する必要がある.

第４章　登熟期の気温に対応した穂発芽性極難系統の選抜法

第１節　緒　言

道総研北見農試では，北海道の秋播き栽培に適した穂発芽性が“中”を示す「ホクシン」（柳沢ら 2000）の育成以後，穂発芽性ランクが“やや難”へと改良された「きたもえ」（柳沢ら 2002），「きたほなみ」（柳沢ら 2007），「きたさちほ」（神野ら 2015）などの耐性品種を育成してきた．今後も穂発芽耐性の改良は重要な育種目標に変わりなく，“極難”クラスの実用品種が求められている．ここでいう“極難”や“やや難”とは全国で統一された評価法によるものではなく，国内の各コムギ育成場で普及対象地域での登熟期の気温や降雨が与える影響等により，スコアリングの基準を変えて判定している．

穂発芽耐性は種子休眠性に大きく依存しているが，ともに量的遺伝形質であり，生育環境および遺伝子型×環境との相互作用に強く左右される(Hagemann and Ciha 1987, Anderson *et al.* 1993). 前章で記述したように，種子休眠性は成熟期後半の気温に大きく影響を受ける．この期間高温であれば休眠は浅く，低温であれば休眠は深くなる．さらに，成熟期後の低温かつ降雨に遭遇した場合に種子休眠が打破されやすい（Osanai and Amano 1993）．よって，穂発芽性“極難”系統の育種選抜では，低温で登熟して休眠を強化したものよりも，高温で登熟してもなお低温で休眠が破られにくいものが望ましいとされる（長内 2010）．

北海道における穂発芽性“極難”コムギの選抜は，切り穂を用いた人工降雨処理による穂発芽検定と休眠打破を誘導する低温での種子休眠性評価とを組み合わせて実施してきた（柳沢 2004）．その成果として，育種母本として利用価値が非常に高い穂発芽性“極難”ランクの「OW104」（長内 2010）や「北系 1802」（西村ら 2004, Yanagisawa *et al*. 2005）が開発されている．しかし，この選抜法には登熟環境への反応性の遺伝変異が充分に反映されていないため，品種・系統×年次の相互作用により，登熟環境が異なる年には穂発芽耐性の系統間差を的確に評価できないことがある．

前章において，穂発芽耐性の異なる 6 品種・系統を用いて，休眠がより覚めやすい晩刈り種子の休眠性を発芽温度 15℃と 10℃で調査した．その結果，各品種・系統とも 15℃, 10℃での発芽率と成熟期前 10 日間の日平均気温との間で高い有意な正の相関を示した．品種・系統によって登熟期の気温に対する感受性に差異があり，晩刈り種子では子実水分が 50％から生理的成熟期である 40%に達する成熟期前 10 日間の日平均気温が種子休眠性に大きく影響することを明らかにした．

本研究では，前章での結果にもとづき，品種・系統間での登熟期の気温に対する感受性の差異を考慮に入れた穂発芽性“極難”コムギのより効果的な選抜手法を構築することを目的とした．この章は第 3 章での試験で得られた発芽試験のデータと気象データを用いて検討したものである．

第２節　材料および方法

供試材料には穂発芽性“極難”の「北系 1802」，「北系 1838」 および「OW104」，“やや難”の「きたほなみ」と「きたもえ」，“中”の「ホクシン」を用いた．栽培試験と肥培管理は前章に示した．

成熟期刈りおよび晩刈りした種子を用いての発芽試験は，前章と重複するが，種子休眠性は 50 粒 2 反復で行った発芽試験で評価した．発芽温度を 15℃，10℃の 2 水準を設け，暗黒条件下でインキュベータ内に静置した．発芽の定義は子実の胚部の種皮が破れた状態とした．発芽率は試験開始 7 日間の累積発芽数から求めた．気象データは境野アメダス（北海道常呂郡置戸町）の地上気象観測値の日平均気温を用いた．統計解析には統計解析ソフトエクセル統計 2012 を用いた．

第３節　結　果

表 4-1 に供試材料 6 品種・系統の成熟期刈りおよび晩刈りした種子について発芽試験温度 15℃と 10℃別の 2002～2015 年に渡って栽培した時の平均発芽率を示した．試験した年次は品種・系統で 6 年から 14 年の差がある．年次を反復とした多重検定の結果，成熟期刈り 15℃, 10℃ともに「北系 1802」,「北系 1838」,「OW104」の発芽率と「きたもえ」,「ホクシン」の発芽率の間には有意差が認められたが，「きたほなみ」の発芽率は両グループの中間に位置し，有意差は認められなかった．この結果は成熟期刈り種子の発芽率を指標に極難，やや難，中の系統を分別しようとしたとき，品種・系統×年次の相互作用により，正確に評価できない年次が何年か含まれていることを示唆している．

晩刈り種子の発芽率の変異は成熟期刈りのそれより拡大し，発芽温度 15℃処理では品種・系統間で 11～89%, 10℃処理では 30～91％であった．成熟期刈りと同様に多重検定の結果，晩刈り 15℃処理では「北系 1802」,「北系 1838」,「OW104」のグループ，「きたほなみ」,「きたもえ」のグループ，「ホクシン」と 3 グループに類別が可能であり，既知の穂発芽性ランクと一致した．また，10℃処理の発芽率は「きたほなみ」,「きたもえ」グループと「ホクシン」の間に有意差が認められなかったが，「北

表 4-1.　発芽温度および収穫時期別の種子発芽率.

供試材料	穂発芽性	n	15℃発芽率(%) 成熟期刈り	15℃発芽率(%) 晩刈り	n	10℃発芽率(%) 成熟期刈り	10℃発芽率(%) 晩刈り
北系1802	極難	14	11.6 ab	31.5 a	11	12.4 a	36.3 a
北系1838	極難	10	4.5 ab	10.6 a	7	19.1 a	39.1 a
OW104	極難	13	3.4 a	11.4 a	10	20.6 a	30.4 a
きたほなみ	やや難	9	28.2 bc	58.0 b	6	44.3 ab	79.0 b
きたもえ	やや難	14	40.6 c	68.4 b	8	47.8 b	78.6 b
ホクシン	中	14	48.6 c	88.5 c	9	59.1 b	90.7 b

nは試験年数を，表中の異なる英文字間は5%水準で有意差があることをそれぞれ示す．多重検定はTukey-Kramer法を用い、発芽率を逆正弦変換した上で行った．

表 4-2.　供試材料の成熟期直前 10 日間の日平均気温の推移.

供試材料（穂発芽性ランク） 試験年次	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	平均	最大値 (A)	最小値 (B)	Δ(A-B)
北系1802 (極難)	17.7	16.2	19.0	18.8	17.6	18.8	17.5	17.5	19.3	18.6	18.3	20.0	19.8	20.7	18.5	20.7	16.2	4.5
北系1838 (極難)	ー	ー	ー	ー	17.4	18.9	16.9	16.4	18.8	18.0	17.3	19.5	20.1	20.9	18.4	20.9	16.4	4.5
OW104 (極難)	19.5	15.5	18.7	18.8	17.6	19.0	16.9	16.4	18.8	16.7	17.3	ー	20.1	21.0	18.2	21.0	15.5	5.6
きたほなみ (やや難)	ー	ー	ー	ー	ー	19.0	16.8	17.1	18.8	17.4	17.3	19.5	19.8	21.0	18.5	21.0	16.8	4.2
きたもえ (やや難)	19.3	14.9	19.0	18.8	18.0	18.8	16.8	16.8	18.8	17.4	16.7	19.5	19.8	21.0	18.3	21.0	14.9	6.1
ホクシン (中)	19.3	15.1	17.7	19.7	17.4	18.4	16.8	15.7	16.9	17.0	15.5	19.2	17.5	20.9	17.7	20.9	15.1	5.9
最大値（A）	19.5	16.2	19.0	19.7	18.0	19.0	17.5	17.5	19.3	18.6	18.3	20.0	20.1	21.0				
最小値（B）	17.7	14.9	17.7	18.8	17.4	18.4	16.8	15.7	16.9	16.7	15.5	19.2	17.5	20.7				
Δ(A-B)	1.7	1.2	1.3	0.9	0.5	0.6	0.6	1.8	2.4	1.8	2.8	0.8	2.6	0.3				

表中の「ー」は材料未供試のため、データなし.

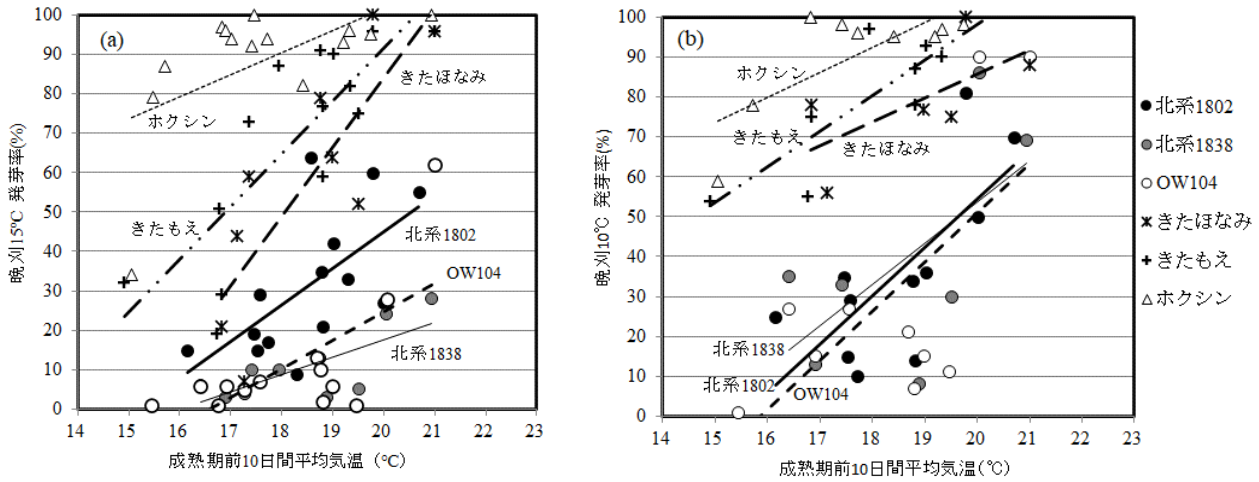


図 4-1.　成熟期前 10 日間の平均気温と種子休眠性（晩刈り種子発芽率%）の品種・系統間差.
(a):発芽温度 15℃，(b):発芽温度 10℃

系 1802」等の極難グループは他のグループより明らかに高い休眠性を示した．したがって，晩刈り種子を用いることによって“極難”と“やや難”の品種・系統を判別できる精度が高まることが明らかとなった．

前章で成熟期前 10 日間の日平均気温と晩刈り種子の発芽率の間に強い関連が確認できたことから，それぞれの供試材料の成熟期に合わせて，成熟期前 10 日間の日平均気温を求め，表 4-2 に示した．「ホクシン」が 14 年間の平均で 17.7℃（レンジ 15.1～20.9℃），「きたもえ」が同じく 18.3℃（14.9～21.0℃），「きたほなみ」が 9 年間の平均で 18.5℃（16.8～21.0℃），「OW104」が 13 年間の平均で 18.2℃（15.5～21.0℃），「北系 1838」が 10 年間

表 4-3.　成熟期前 10 日間の平均気温と種子休眠性（晩刈り種子発芽率%）の関係から得た一次回帰式.

品種・系統名	晩刈り 15℃ n	晩刈り 15℃ 一次回帰式	晩刈り 10℃ n	晩刈り 10℃ 一次回帰式
北系1802	14	y=9.24x-139.77	11	y=12.09x-187.37
北系1838	10	y=4.44x-77.14	7	y=10.33x-152.90
OW104	13	y=7.24x-120.14	10	y=12.38x-196.63
きたほなみ	9	y=17.57x-267.18	6	y=5.97x-33.64
きたもえ	14	y=13.38x-175.79	8	y=8.90x-79.78
ホクシン	14	y=5.60x-10.39	9	y=6.25x-20.11

の平均で 18.4℃（16.4～20.9℃），「北系 1802」が 14 年間の平均で 18.5℃（16.2～20.7℃）であった. 供試材料のなかでは早生である「ホクシン」の日平均気温が他の品種・系統に比べ 0.5～0.7℃低かった. 6 品種・系統の年次間の変動を比較すると，「きたほなみ」の 4.2℃から「きたもえ」の 6.1℃（平均 5.1℃）まで差があった. 日平均気温は 14 年間のうち, 2003 年の 15.4℃が最も低く, 2015 年の 20.9℃が最も高かった.

このように成熟期前 10 日間の日平均気温は品種･系統および年次によって異なっていたことから，6 品種・系統それぞれについて日平均気温と発芽率の関係をプロットし, 15℃での発芽率との関係を図 4-1a に, 同様に 10℃での関係を図 4-1b に示した.

発芽温度 15℃では穂発芽性“中”の「ホクシン」や“極難”の「北系 1802」,「OW104」および「北系 1838」と比べ, “やや難”の「きたもえ」と「きたほなみ」は日平均気温に対して発芽率の変動幅がそれぞれ 19～96%, 7～100%と大きかった. また, “極難”系統群のなかでは,「北系 1802」が日平均気温に対して発芽率が 9～64%と大きく変動したのに対し,「北系 1838」では 3～28%と小さかった(図 4-1a). 各品種･系統について日平均気温が 1℃上昇した場合の発芽率の上昇を回帰係数から推定したところ,「北系 1802」の 9.2%に対し,「OW104」は 7.2%,「北系 1838」では 4.4%と“極難”系統間で日平均気温に対する感受性が異なっていた(表 4-3).

処理条件がより厳しい発芽温度 10℃では, 日平均気温が低い年でも穂発芽性“中”の「ホクシン」, “やや難”の「きたもえ」「きたほなみ」の発芽率が 15℃処理に比べ大きく上昇し, 年次間の変動幅が小さかった. 一方, “極難”の「北系 1802」,「北系 1838」および「OW104」は, 発芽率がそれぞれ 10～81%, 8～86%, 1～90%と大きく変動した（図 4-1b）. 15℃処理と同様に各系統に対して日平均気温と発芽率の上昇の関係をみたところ, 日平均気温が 1℃の上昇に伴い, “極難”の 3 系統とも共通して 10.3～12.1%上昇し, 発芽温度の処理強度が厳しい場合には日平均気温に対する感受性は類似していた.

第４節　考　察

登熟期間の気温がコムギの種子休眠性に及ぼす影響を考慮した, 穂発芽性“極難”系統のより効果的な選抜では, 第 3 章の結果から, 登熟後半で最も感受性が高い成熟期前 10 日間の平均気温を用いることが妥当であると判断された. この時期は子実水分が 50-60%程度から生理的成熟期である 40%に達し,その間の日平均気温が種子休眠性に大きく影響することを示している. そこで, 登熟後半で最も感受性が高い成熟期前 10 日間の平均気温を用いて各品種・系統の種子休眠性との関連を検討したところ, 検定条件の厳しい晩刈り 10℃の発芽率で比較した場合, 穂発芽性“極難”の 3 系統は日平均気温 20℃未満では登熟温度に対する感受性はやや低かったが, 2015 年のように成熟期間の日平均気温が 20℃以上になる高温登熟年には発芽率が 70%以上に上昇し, 休眠が浅いあるいは休眠が打破されやすかった(図 4-1b). しかし, その種子休眠性程度は穂発芽性“やや難”品種の「きたほなみ」と「きたもえ」が 17～19℃程度で経過した登熟年での種子休眠性程度に相当した. その一方で, 成熟期前 10 日間の日平均気温が 15～20℃で成熟した穂発芽性“極難”コムギは“やや難”や“中”品種に比べ晩刈り 10℃処理で発芽率が有意に低く, 登熟温度に対する感受性も低かった. それを反映して“極難”とそれ以外の 2 グループに明瞭に分かれた(図 4-1b). 同様の結果は Osanai *et al.* (2005)と長内(2010)の報告にもあり, 穂発芽性“極難”コムギには登熟温度に不感受性の系統も見出されている. しかし, 穂発芽耐性以外の農業形質や品質特性が劣る系統が多く, 登熟温度に不感受性かつ農業形質や品質特性が改善された実用品種の育成には至っていない.育種選抜の視点からは, 有用な育種母本を交配親に選択すると同時に, 穂発芽性が優れる系統の効果的選抜法をどのように選択するかが重要となる. はじめに述べたように 北海道で穂発芽性“極難”コムギを選抜するには, 1 次スクリーニングとして簡易評価が可能な切り穂を用いた低温条件下での人工降雨処理による穂発芽指数

表 4-4. 成熟期前 10 日間の登熟温度を考慮した穂発芽性極難コムギ選抜のためのスキーム.

選抜対象	評価検定法	調査サンプル	成熟期前10日間の日平均気温	発芽試験温度	サンプル収穫	処理期間	備考
1次スクリーニング・穂発芽性の変異が大きく予想される集団	穂発芽検定	切り穂	-	15℃	晩刈り	7～10日間程度	従来のまま(柳沢 2004)
2次スクリーニング・穂発芽性"難"以上の系統集団	発芽試験	種子	15～20℃	10℃のみ1水準	晩刈り	7日間	
			20℃以上	10℃・15℃の2水準			高温登熟による休眠覚醒のリスクを考慮
	α-ｱﾐﾗｰｾﾞ活性	生麦粉体	-	-	成熟期刈りと晩刈り	-	

により系統選抜を実施し，その後次世代に 2 次スクリーニングとして，発芽試験による種子休眠性評価を行い，10℃という休眠打破しやすい低温発芽条件で選抜を実施してきた（柳沢 2004）．しかしながら，本実験からも明らかなように，成熟期前 10 日間の日平均気温が 20℃以上で経過した穂発芽性“極難”コムギの種子休眠性はその指標となる発芽率が“やや難”品種との差が見出せなくなる年次が認められた．このことは，2 次スクリーニングにおいて穂発芽耐性の高い選抜集団のなかから，“やや難”系統を効率的に除去できないことを意味する．

同様な不確実さは成熟期刈り種子と晩刈り種子の発芽率の比較からも推察された．成熟期刈りした「きたほなみ」の休眠性は 10℃，15℃の発芽試験とも“極難”グループと“中”グループとの間に位置し，有意差が認められなかった（表 4-1）．この結果は成熟期刈り種子の発芽率から，“極難”，“やや難”，“中”の系統を的確に評価することが困難であることを示唆している．一方，晩刈り 15℃処理では「北系 1802」，「北系 1838」，「OW104」の“極難”グループ，「きたほなみ」，「きたもえ」の“やや難”グループ，および“中”品種の「ホクシン」と 3 グループに類別が可能となり，既知の穂発芽耐性ランクと一致した．また，10℃処理の発芽率は「きたほなみ」，「きたもえ」グループと「ホクシン」の間に有意差が認められなかったが，休眠性の高い「北系 1802」等の“極難”グループとは明らかな差が認められた．したがって，晩刈り種子を用いることによって，“極難”，“やや難”，“中”の系統を類別しようとするときの精度は高まることが期待できる．

これらの結果を踏まえて，穂発芽性“極難”コムギを効率的に選抜する手法として，成熟期 10 日間の日平均気温を判断指標に加えることとし，晩刈り種子を用いたスキームを表 4-4 にまとめた．

1 次スクリーニングは従来のまま(柳沢 2004)とし，2 次スクリーニングの段階で“難”以上の系統集団を対象として，

1) 成熟期前 10 日間の日平均気温が 15～20℃の場合には晩刈り 10℃の発芽率のみの評価で選抜する．
2) 日平均気温が 20℃以上の場合には，10℃の発芽率に加え，発芽試験温度がややマイルドな 15℃処理での種子休眠性評価を併用する．
3) α−アミラーゼ活性について，成熟期および晩刈りした種子の粉体もしくは生麦を使用し，デンプンが低アミロ化していないことを確認する．

ただし，この手法は道総研北見農試における試験結果から導き出されたものであり，異なる栽培地域や品種については今後検討を要する．確かに北海道内に限っても成熟期直前の平年の日平均気温はコムギの主産地である十勝地域や水田転作地帯である空知・上川地域で高い．そのため，穂発芽性をより重視した系統選抜を行う場合には，登熟温度がより高いそれら地域で栽培した晩刈りサンプルを用いて穂発芽性の判定を行うことが迅速な品種開発には有利であると考えられる．

本試験結果より，“極難”の「北系 1838」と「OW104」は少なくとも成熟期刈りした種子では発芽率と成熟期前の日平均気温との関連が低く(表 4–4)，気温の変動に関わらず高い休眠性を形成していたことから，上述の長内(2010)の指摘に合致する系統と言える．言い換えればこれら 2 系統は登熟期の気温に対して鈍感なことで穂発芽性“極難”を獲得していると考えられる．現在，その原因となっている遺伝的要因を解析しており，さらに育種に利用できるマーカーの開発を進めている．

北海道の春播きコムギ育種では成熟期を経過して 10 日前後に晩刈りしたサンプルを使用して 15～17℃での発芽試験で種子休眠性“極強”レベルの選抜を行っている（中道ら 2010）．それに比べて，秋播きコムギ育種では春播きコムギの成熟期より 10 日程度早く，成熟期前 10 日間の日平均気温は 1～2℃程度低いことから，種子の休眠形成には有利である．また，休眠覚醒を 10℃で行う処理強度は日本国内でのコムギ穂発芽耐性選抜では最も強い処理であることから，日本国内で最も穂発芽耐性が優れる系統作出の可能性を示唆している．

第５章　穂発芽性極難に関わる穂発芽耐性および種子休眠性 QTL の検出

第１節　緒　言

コムギの穂発芽とは降雨の影響により，収穫期前後の立毛状態で発芽する現象である．収量低下の直接的な要因となるばかりではなく，子実の外観品質の悪化，α-アミラーゼ等の酵素の影響による内部品質の劣化を引き起こし，コムギの商品価値を著しく低下させる．穂発芽の生じやすさは種子休眠性と強く関連している．種子が成熟する前の期間が高温で推移した時は種子の休眠が浅く，さらに，成熟期後に低温や降雨に遭遇することで種子休眠が打破されやすい（Osanai and Amano1993）．

穂発芽回避のためには梅雨等の雨害回避を目的とした早生化やコムギの成熟後に速やかに収穫，乾燥を行う必要性があるものの，最も有効な対策は遺伝的改良による耐性品種の開発である．アジアモンスーンの影響を受けるわが国では古くから雨害に強いコムギが選抜されており，関東以西で栽培されてきた品種は世界的に見て穂発芽耐性に優れるものが多い (Nakamura 2018)．その一方で，北海道のコムギ品種はその来歴や環境，栽培条件から穂発芽耐性が中程度のものが多く(柳沢 2004)，品種開発に際して耐性強化と品質向上が図られてきた．そのアプローチとして穂発芽性“極難”コムギの選抜は，種子休眠性が弱まっている成熟期 1 週間後にサンプルを採取し(晩刈り)，切り穂を用いた人工降雨処理による穂発芽検定と休眠打破を誘導する低温での種子休眠性評価とを組み合わせて実施してきた（柳沢 2004）．この選抜から穂発芽性“極難”にランクされる「北系 1802」が育成された．この系統は穂発芽耐性に優れる母材であり，強い種子休眠性をもち，低アミロ化しにくいという特徴をもつ（西村ら 2004; Yanagisawa *et al*. 2005）．

これまで穂発芽耐性とその主要因である種子休眠性に関する遺伝的知見が数多く蓄積されてきており，21 対の染色体全てに QTL が報告されている(Cabral *et al*. 2014, Mares and Mrva 2014, Kumar *et al.* 2015, Fakthongphan *et al*. 2016)．そのなかで注目されている QTL の一つに，「ゼンコウジコムギ」（Zen）で発見された 3A 染色体短腕の種子休眠性 QTL，*QPhs.ocs-3A.1* がある（Osa *et al*. 2003, Mori *et al*. 2005）．Nakamura *et al*.（2011）は成熟期の温度の違いによって種子での発現量が大きく異なる遺伝子として *MOTHER OF FT AND TFL1*（*MFT-3A*）を見いだし，*QPhs.ocs-3A.1* の原因遺伝子であることを明らかにした．Zen では，*MFT-3A* の発現量を調節するプロモーター領域に 1 塩基の置換（SNP）があり，それによって Zen では *MFT-3A* の転写レベルが上昇し，強い種子休眠性を誘導すると考えられた．

Chono *et al.*（2015）は日本で育成された 183 品種を含む 324 品種について，*MFT-3A* の SNP を調査した．その結果関東以西では，*MFT-3A* について Zen 型のものが多数見られ，系譜から *MFT-3A* 遺伝子の来歴は多岐にわたることが明らかとなった．一方北海道で育成された品種あるいは在来品種計 25 品種・系統中に Zen 型の SNP を保有するものは 1 つもなく，未導入であることが分かった．

このように穂発芽耐性や種子休眠性に関わる遺伝的要因については数多くの知見が蓄積されてきた．しかし，穂発芽性“極難”ランクの解析はほとんどなされていない．そこで本章では穂発芽性“極難”に関わる遺伝的要因を解明することを目的とし，「北系 1802」を片親とする分離集団を北海道内の地域と年次の異なる環境下で栽培し，穂発芽耐性と種子休眠性に対する *MFT-3A* の効果を明らかにするとともに，新たな QTL の探索を行った．

第２節　材料および方法

第１項　供試材料

実験には「北系 1802」，「きたほなみ」および「きたほなみ」／「北系 1802」の交雑から葯培養により育成した倍加半数体 117 系統（以下 DH 系統）を供試した．「北系 1802」は第 3 章と第 4 章での結果からも明らかなように，穂発芽性が“極難”の系統で，道総研北見農試とホクレン農業総合研究所との共同研究事業により育成された（西村ら 2004）．「きたほなみ」は現在の北海道の基幹品種であり，やや早生，良質，多収で耐病性に優れ，穂発芽性“やや難”の特性をもつ（柳沢ら 2007）．

さらに検出された QTL について，穂発芽耐性あるいは強種子休眠性アレルの来歴を知るために，「北系 1802」と「きたほなみ」の系譜上にある以下の品種の DNA を解析した．「北系 1802」については，種子親の「きたもえ」とその親の「ホクシン」と「北系 1354」ならびに花粉親の「ニシカゼコムギ」その親の「シロガネコムギ」と「ウシオコムギ」を供試した．「きたほなみ」については種子親が「北系 1802」と共通な「きたもえ」で，花粉親は「北系 1660」である．

第２項　圃場栽培

親品種と DH 系統を 2014，2015 および 2016 年に帯広畜産大学実験圃場（以後，帯広）で秋播き栽培した．同様に 2014 年には道総研北見農試(北見)および 2015, 2016 年には道総研上川農試(上川)で秋播き栽培した．以降で

は収穫年次で示す．帯広での 3 ヶ年の試験および上川での 2 ヶ年の試験では，比較品種として「北系 1802」と「きたほなみ」の系譜上にある「ホクシン」，「きたもえ」も加えた．

播種日は 9 月中旬で，栽植密度，施肥および病害虫防除は各試験地の慣行法に従って行った．各系統の全茎の 40 ～50 %が出穂，開花した時をそれぞれ出穂期，開花期として記録した．成熟期は子実が黄熟し蝋状の硬さを示した時期（生理的成熟期，おおむね子実水分 40 %程度）とした．2015 年の帯広，北見および 2016 年の上川，2017 年の帯広と上川の試験では，成熟期 10 日後に収穫した（以後，晩刈り）．2016 年の帯広の試験では成熟期の 7 月下旬から降雨が続き，さらに 8 月上旬に台風の通過が予想されたため，晩刈りを成熟期後の 3～5 日目に早めた．

刈り取った穂は，40 ℃の通風乾燥機で 24 時間乾燥させた後，-20 ℃で冷凍保存した．その後，室温で 24 時間解凍した．切り穂のサンプルは穂発芽検定に用い，また手もみ脱穀した種子は休眠性を評価するための発芽試験に用いた．

第３項　穂発芽耐性の評価

穂発芽耐性は，これまでの試験と同様，切り穂を人工降雨処理した後の穂発芽指数で評価した．晩刈りした切り穂を用いて Yanagisawa *et al.*（2005）の方法に従った．人工気象室内にて各系統 1015 穂 (2017 年の上川のサンプルは 7 穂)を用いて，15 ℃の暗黒条件下で朝夕人工降雨処理を 10 日間(2015 年は 7 日間)行った後，各穂の発芽・発根数を数え，0～5 までのスコアで穂発芽指数を求めた．穂内で発芽・発根が全く認められないものをスコア 0 とし，発芽あるいは発根した種子が 10 個以上の穂をスコア 5 とした．

第４項　種子休眠性の評価

直径 90 mm のシャーレにろ紙を敷き 5 mL の蒸留水を入れ，殺菌剤で消毒した種子を置床した．1 シャーレに帯広 50 粒，北見 30 粒，上川 50 粒をそれぞれ 2 反復置床し，これらのシャーレを暗黒下のインキュベーター内に静置した．発芽試験の温度条件は帯広と上川の材料が 10 ℃と 15 ℃の 2 水準，北見は 10 ℃の 1 水準で行った．ただし，2017 年の上川の材料は前年 10 月下旬に根雪始となったため，雪腐病の防除ができず十分な個体数を確保できなかった．そのため，穂発芽検定試験のみ実施した．

胚の果皮が破れたものを発芽とみなし，10 日間の累積発芽種子数を調査し，発芽率（%）を算出した．

第５項　DNA 抽出と *MFT-3A* の SNP 解析

品種系統の DNA 抽出は Cao *et al.* (2016)に従った．前述した Chono *et al.* (2015)の報告から，「きたほなみ」の *MFT-3A* プロモーター領域の SNP は非 Zen 型であることが分かっていたが，「北系 1802」と DH 系統は未解析であった．そのため，これら材料について Nakamura *et al.*（2011）の方法に従って *MFT-3A* プロモーター領域の SNP を解析した．

第６項　連鎖地図の構築と QTL 解析

連鎖地図の作成には Somers *et al.*（2004）と Torada *et al.*（2006）の報告にある SSR マーカー408 種および Xue *et al.*（2007）が開発した STS マーカー4 種について，まず親品種系統間で多型調査を行い，多型の見られたマーカーについて DH 系統の遺伝子型を判別した．

遺伝子型データをもとに，JoinMap® 4（van Ooijen 2006）を利用して連鎖地図を構築した．DH 系統の穂発芽指数と発芽試験データに対して MapQTL® 6（van Ooijen 2002）の Intervel マッピング法および Multiple-QTL models（MQM）マッピング法を用いて QTL 解析を行なった．LOD 値の閾値については各形質で permutation test により算出した．

第３節　結　果

第１項　穂発芽耐性と種子休眠性

１．穂発芽耐性

図 5-1 は 2015 年帯広で成熟期刈りと晩刈りを行い、それぞれ 7 日間人工降雨処理した「きたほなみ」,「北系 1802」および対照品種の「ホクシン」と「きたもえ」の穂の状態である．成熟期刈りでは 4 品種系統の穂発芽指数は 1.8 以下で変異も小さかった．晩刈りしたときの「北系 1802」の穂発芽指数は 0.14 と低かったのに対し，「きたほなみ」は 4.70，他の 2 品種も 4.60～5.00 と大きな差異があった．他の環境条件で栽培した時も「ホクシン」と「きたもえ」は同様の傾向を示した．

親および DH117 系統の晩刈りした穂サンプルにおける穂発芽指数の頻度分布を図 5-2 に示した．帯広で栽培した「北系 1802」の発芽指数は 3 ヶ年とも 0.5 以下で，安定して強い穂発芽耐性を示した．一方「きたほなみ」は 2016 年 0.93 と低かった．この年の「きたほなみ」は上川でも 1.32 と低い穂発芽指数であった．他の 2 ヶ年は帯広で 4.50 以上と高かった．北見，上川でも同様の値であった．DH 系統の穂発芽指数は，2015 年の帯広，北見，2017 年の帯広，上川で 0.0～5.0 まで幅広い分布を示した．これら 4 環境での DH 系統の平均値は 2015 年帯広の 1.64 から 2017 年上川の 3.20 の間であった．それに対して，「きたほなみ」が強い穂発芽耐性を示した 2016 年の帯広と上川では，平均値がそれぞれ 0.60 と 1.00 で，分布の幅は小さく 90%以上の DH 系統が穂発芽指数 1.0 以下であった．特に帯広では DH 系統の分布幅が狭く，穂発芽指数が 2.5 以上の系統はわずか 1 系統であった．上川では「きたほなみ」よりも弱い超越的な DH 系統が見られた．

a)

b)

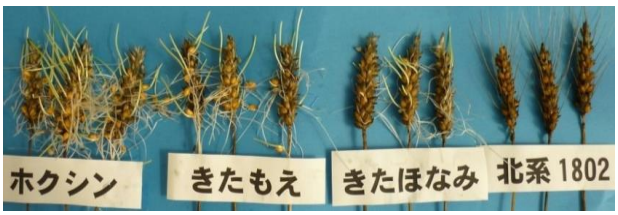


図 5-1.　2015 年の帯広における親品種系統と対照品種「ホクシン」および「きたもえ」の a）成熟期刈りと b）晩刈りでの 15℃・人工降雨処理 7 日後の穂発芽程度.

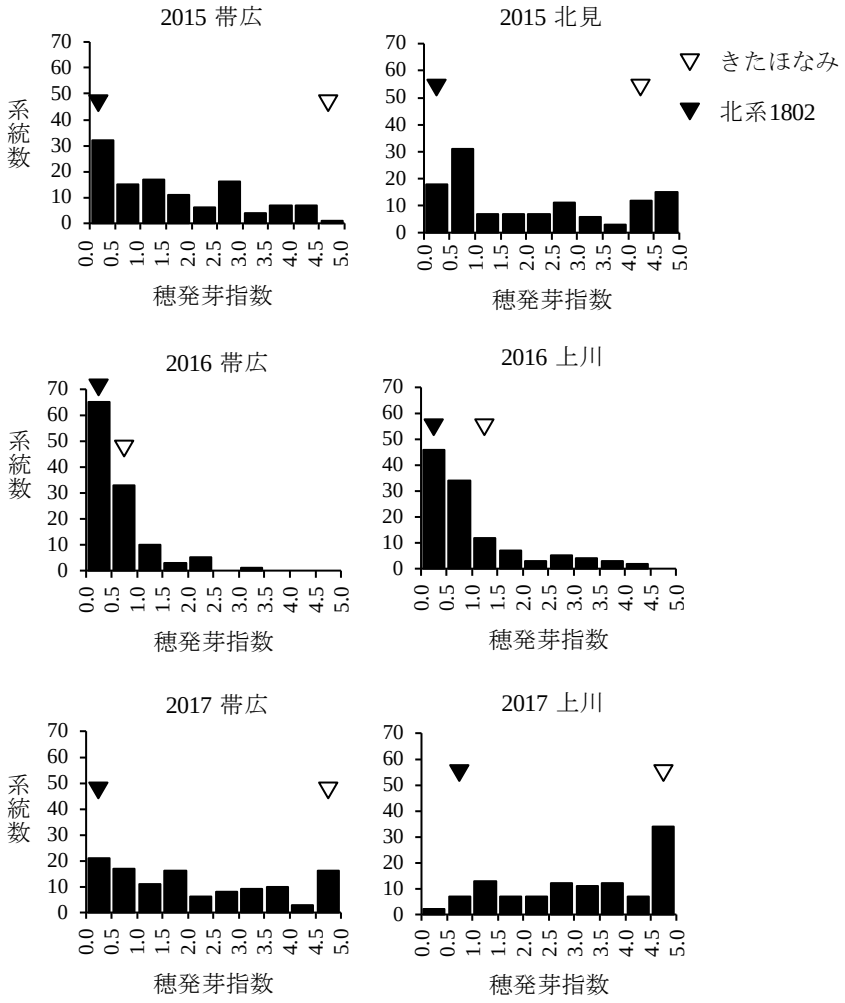


図5-2.　倍加半数体117系統の穂発芽指数の頻度分布.

２．種子休眠性

親品種と DH117 系統の 15℃，10℃での発芽率の頻度分布をそれぞれ図 5-3a, 5-3b に示した. 親の「北系 1802」と「きたほなみ」の発芽率には 2016 年の帯広を除いて明確な差異があり，発芽温度 15℃，10℃ともに常に「北系 1802」が強い休眠性を示した．成熟期の 7 月下旬から連続した降雨のため晩刈りを成熟期 3～5 日後に早めた 2016 年の帯広では，「北系 1802」の発芽率は 15℃，10℃でそれぞれ 63.0%, 71.5%と他の栽培環境を大きく上回っていた．この時の「きたほなみ」の発芽率は 70～80%で，「北系 1802」との間に明瞭な差異はなかった．このことは開花期にあたる 6 月中旬に日照不足で穂内の登熟にばらつきがみられた可能性が示唆された．帯広で栽培した対照品種の「ホクシン」と「きたもえ」は，15℃, 10℃の計 6 条件で「きたほなみ」と同等かそれ以上の高い発芽率であった(データ省略).

DH 系統は 9 条件いずれでも連続した分布を示した. 2016 年の帯広と上川では 15 ℃，10℃でともに 60%以上の高い発芽率を示す系統が半数以上あった．2015 年の北見と 2017 年の帯広では，「きたほなみ」よりも高い発芽率を示す DH 系統が多く見られた. 逆に 2016 年の帯広と上川では「北系 1802」より発芽率の低い超越的な系統が見られた.

３．穂発芽指数と発芽率の相関

図 5-4 に 9 条件での穂発芽指数と種子発芽率との関係を示した．相関係数は全てにおいて 1%水準で有意であった．ただし，2016 年の帯広と上川では相関係数は大きく低下した. これは穂発芽指数が低いにも関わらず, 15℃, 10℃での発芽率が高い DH 系統が多数あったことによる. したがって，穂発芽性は種子休眠性に強く依存しているが，ともに量的遺伝形質であり，生育環境(年次や地域)および遺伝子型×環境との相互作用に強く左右されると考えられた.

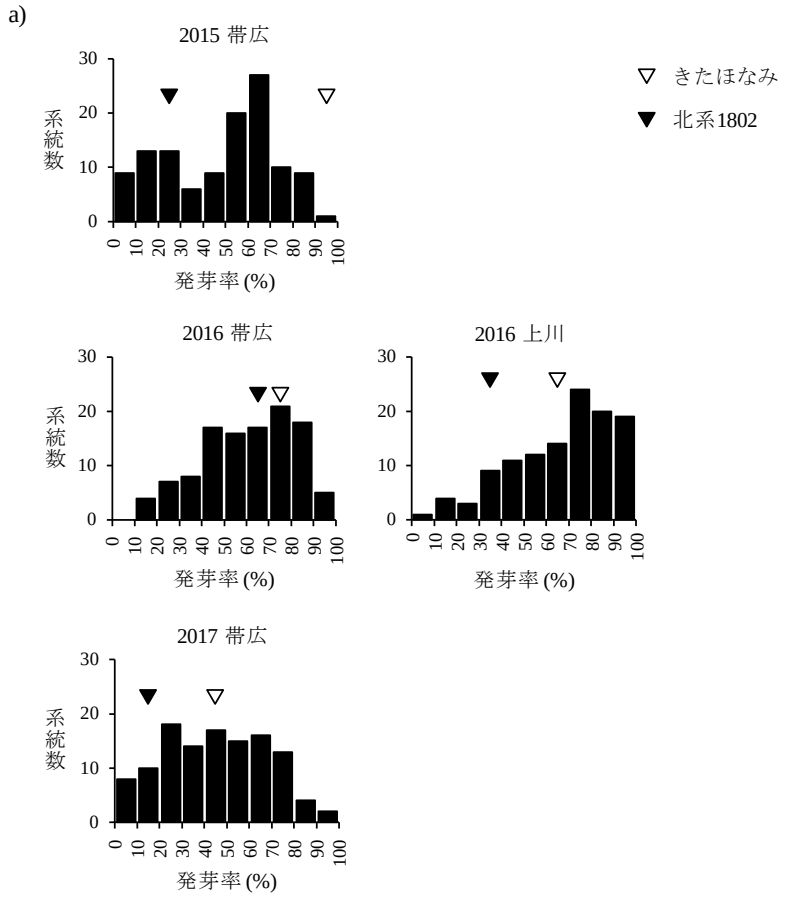


図5-3.　倍加半数体117系統の a) 15℃と b) 10℃の発芽率の頻度分布.

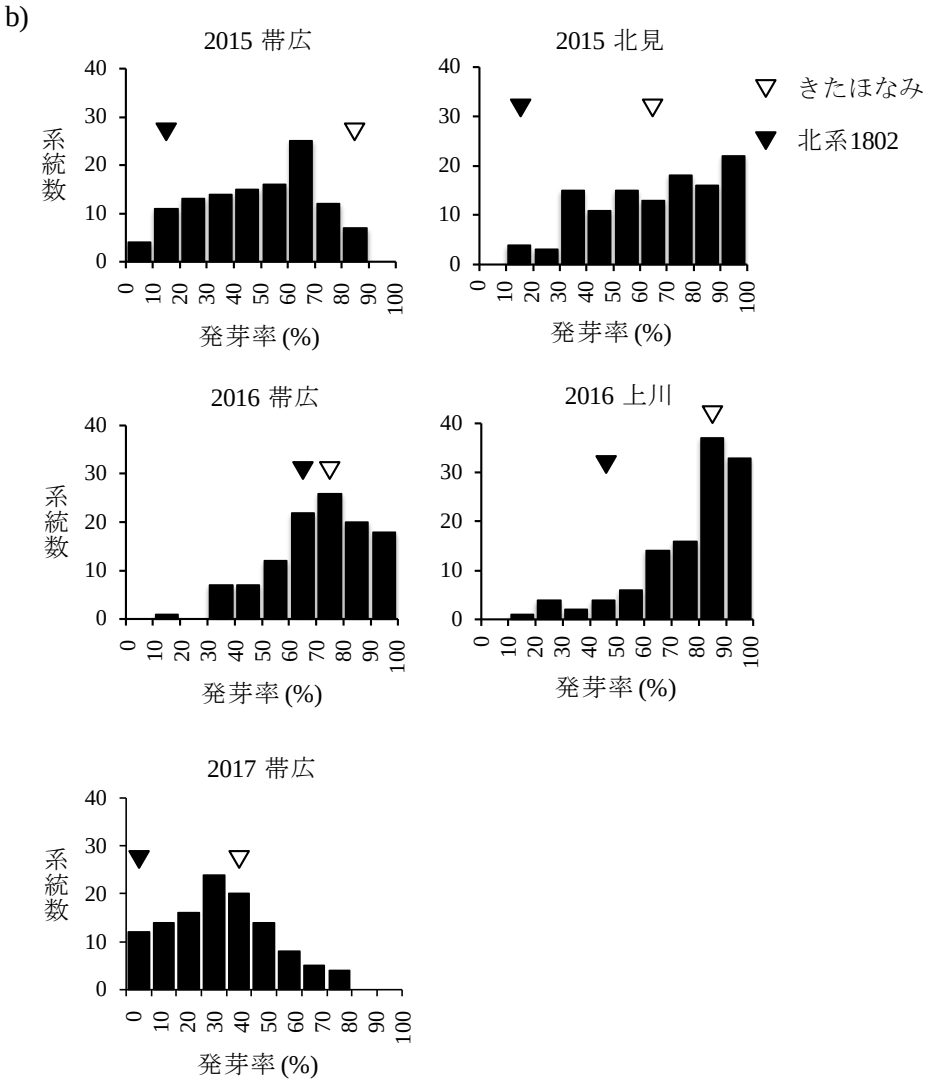


図5-3（続き）．倍加半数体117系統のa）15℃とb）10℃の発芽率の頻度分布

a)

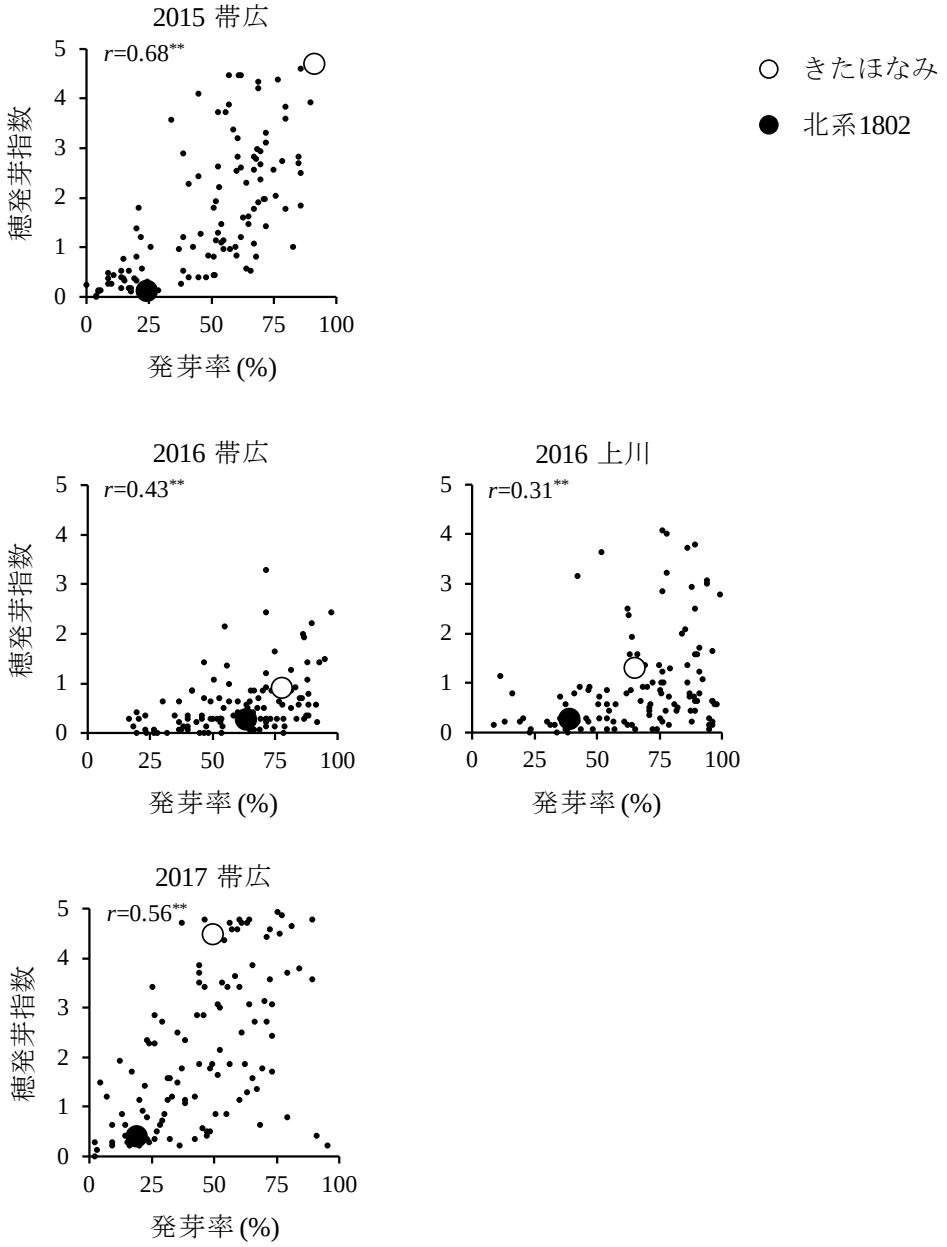


図5-4.　倍加半数体117系統の穂発芽指数と a) 15℃の発芽率と b) 10℃の発芽率との関係. **は1%水準で有意であることを示す.

b)

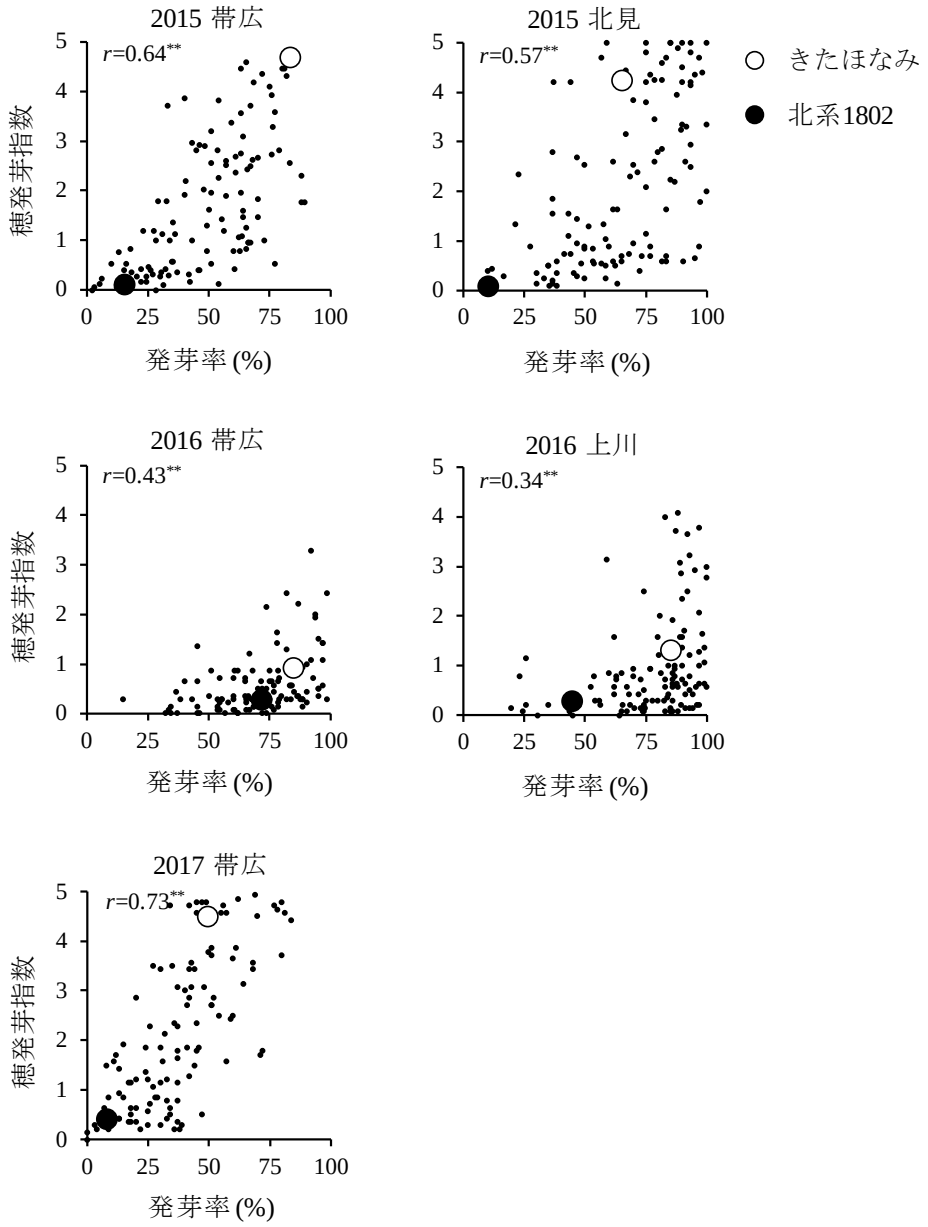


図5-4(続き)．倍加半数体117系統の穂発芽指数と a) 15℃の発芽率と b) 10℃の発芽率との関係．
**は1%水準で有意であることを示す．

第２項　*MFT-3A* と QTL 解析

１. *MFT-3A* の SNP 解析

CAPS マーカーを用いた *MFT-3A* プロモーター領域の SNP 解析を行った．そその結果，「北系 1802」の PCR 産物は制限酵素 ClaI で切断されず，Zen 型であることが分かった(図 5-5). 一方「きたほなみ」は非 Zen 型で，Chono *et al*. (2015)の結果と一致した．DH117 系統は，Zen 型が 46 系統, 残り 71 系統は「きたほなみ」と同じ非 Zen 型に分類された.

２．連鎖地図の構築

親間で多型のあったマーカー数は全体で 125 種あった（表 5-1）．その数は染色体によって一様でなく，最大が 6A 染色体の 21 種，最小が 1D, 3A, 7D 染色体の 2 種であった．このうち, 近接するマーカーについて DH 系統の遺伝子型を決定し，連鎖地図を構築した．コムギの 21 本の染色体のうち，1D，5D，6D，7D 染色体を除く 17 本の染色体で連鎖地図が構築できた (図 5-6).

３．穂発芽耐性に対する QTL

穂発芽指数のデータから検出された QTL を表 5-2 にまとめた．穂発芽耐性を示す穂発芽指数に対しては 6 環境条件で合計 4 個の QTL が検出できた．そのうち 2D 染色体長腕の SSR マーカー座 *Xgwm539* 近傍領域の QTL(以下 *QPhs-2D*)の効果は，6 環境条件全てで認められた．LOD 値は 3.29～6.89 で寄与率は 10.4%～23.7%であった．「北系 1802」由来のアレルが常に穂発芽を抑える効果をもっていた．このアレルは，2017 年帯広での効果が最大で，相加効果の値 (0.78) からみて「きたほなみ」のアレルに比較し，穂発芽指数を 1.56 低下させることが判明した．

MFT-3A の効果は 2015 年，2017 年の帯広と 2017 年上川の 3 環境で認められ，2015 年帯広で最も高く LOD 値は 5.49, 寄与率 16.7%であった. *QPhs-2D* 同様「北系 1802」由来のアレルが穂発芽指数を低下させていた. 残り 2 個の QTL は 2015 年の北見で 7B 染色体と 2016 年に帯広で 1A 染色体に検出された. それぞれ 1 環境でのみ検出されたことや LOD 値と寄与率から見て, *QPhs−2D* や *MFT-3A* に比べマイナーな効果をもつ QTL であった．ともに「北系 1802」由来のアレルが穂発芽指数を抑えていた.

４．種子休眠性に対する QTL

発芽率で検出された QTL を同じく表 5-2 にまとめた．発芽試験温度によって検出された QTL に大きな違いがあった.

15℃での発芽試験では，4 栽培環境全てで *MFT-3A* の効果のみ検出された．LOD 値は 2016 年の帯広で 5.6 とやや低かったが，他の 3 環境では 10 以上で，寄与率も 34.2～39.6%と大きな効果を示した．「北系 1802」のアレルが発芽率を抑えていた.

一方，10℃では，2017 年の上川を除く 5 環境中，2015 年の帯広と 2016 年の上川の 2 環境で *MFT-3A* の効果が認められた．しかし，LOD 値と寄与率ともに 15℃の時より大きく減少していた. ほかには 1A, 1B, 4B, 5A, 6A 染色体に 1 個ずつ，7A 染色体に 2 個検出された．これら 7 個の QTL は，5 環境中いずれか 1 環境でのみ効果を示した．このうち LOD 値が閾値を超える有意な効果は 6A 染色体の QTL では置床後 7 日間，4B, 5A, 7A の QTL では置床後 14 日間の発芽試験で認められた．1B, 4B と 5A 染色体の 3QTL は「きたほなみ」のアレルが発芽率を低下させたのに対し，他の 4QTL では「北系 1802」のアレルが低下させていた.

穂発芽性で検出された QTL, *QPhs-2D* はいずれの条件でも種子休眠性に対しては明らかな効果を示さなかった．それに対して 2016 年の帯広で 1A 染色体の *Xgwm99*/*Xwmc716* 領域に見つかった QTL は, 同じ環境で種子休眠性に対しても効果を及ぼしており,「北系 1802」のアレルが発芽率と穂発芽を抑えていた.

５．*MFT-3A* と *QPhs−2D* の組合せによる穂発芽耐性への効果

MFT-3A 座と *QPhs−2D* 座のアレルの違いによって DH 系統を 4 組合せに分類し，それらの平均穂発芽指数を表 5-3 に示した．6 環境条件いずれもこれら 2 座に「北系 1802」アレルをもつと, 他の 3 組合せより平均穂発芽指数は低下しており, 統計的には 2 環境条件で有意であった．逆に「きたほなみ」アレルの組合せは 4 組合せの中で平均穂発芽指数が最も高く,「北系 1802」アレルの組合せとの間で常に有意差があった．親品種と比較すると「北系 1802」アレルの組合せは「北系 1802」より穂発芽指数は高い傾向にあり，一方「きたほなみ」アレルの組合せは「きたほなみ」より低い傾向にあった.

第３項 系譜から見た QTL の来歴

穂発芽耐性あるいは強種子休眠性アレルが「北系 1802」,「きたほなみ」のいずれの系譜から遺伝したかを近傍マーカーの遺伝子型から推定した．図 5-7a,b に示した結果から，穂発芽耐性を高める *QPhs-2D* 座の「北系 1802」アレルは「シロガネコムギ」から「ニシカゼコムギ」を経て遺伝したと推定された．*MFT-3A* および 1A 染色体 QTL および 7B 染色体 QTL の「北系 1802」アレルも「ニシカゼコムギ」由来であった(表 5-4).

種子休眠性については，1A, 6A, 7A 長腕末端(*Xwmc525* 近傍)の 3 個の QTL で「北系 1802」の強休眠性アレルは「ニシカゼコムギ」由来であった．一方 7A 染色体 *Xbarc108*/*Xbarc174* 領域の QTL では強休眠性アレルが「北系 1354」から「きたもえ」を経て「北系 1802」に遺伝したと考えられた.「きたほなみ」のアレルが休眠性を高めていた 3QTL のうち，4B 染色体 QTL は「北系 1660」由来，5A 染色体の QTL は「ホクシン」と「北系 1354」で *Xgwm291* に多型はなかったことから，どちらか一方から

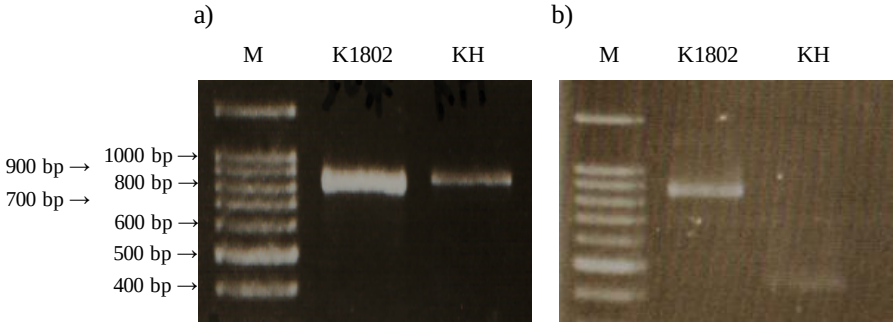


図5-5. *MFT-3A*におけるa）SNPを検出するためのプライマーを使用したPCR産物と b）PCR産物を制限酵素*Cla* Iで消化後の産物の泳動図

1%アガロースゲルで電気泳動. M：100bp ladder サイズマーカー, K1802：北系1802, KH：きたほなみ

表5-1. 両親間の多型解析に使用した染色体毎のマーカー数と検出した多型数.

染色体	1A	1B	1D	2A	2B	2D	3A	3B	3D	4A	4B	4D	5A	5B	5D	6A	6B	6D	7A	7B	7D	合計
マーカー数	10	16	19	11	21	37	16	20	22	17	14	11	23	19	25	43	18	13	16	21	20	412
多型数	7	4	2	6	4	5	2	13	6	5	4	3	9	4	3	21	6	3	9	7	2	125

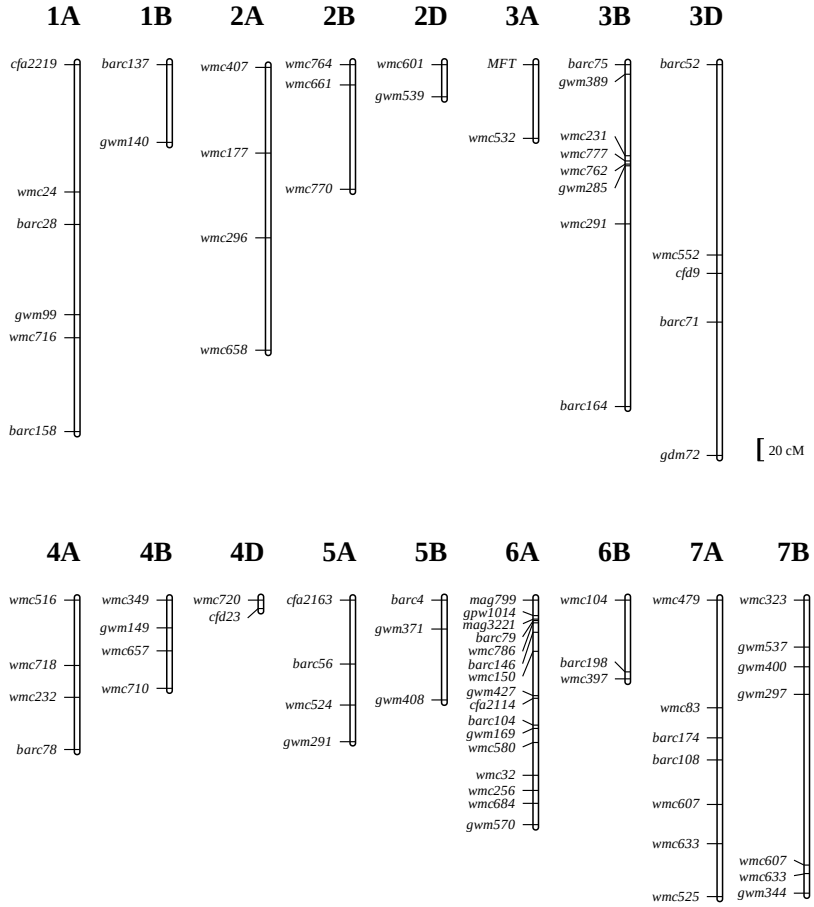


図 5-6. 倍加半数体 117 系統を用いて作製した連鎖地図.

表5-2　MQMマッピング法により検出された穂発芽耐性QTLと種子休眠性QTLの位置とその効果

形質	年	栽培地	染色体	マーカーあるいは遺伝子	LOD 値	寄与率(%)	相加効果[1)]
穂発芽耐性	2015	帯広	3A	*MFT-3A*	5.49	16.7	0.55
			2D	*gwm539*	4.41	13.1	0.50
		北見	2D	*gwm539*	5.47	15.0	0.67
			7B	*gwm297*	3.54	9.3	0.53
	2016	帯広	2D	*gwm539*	3.29	10.4	0.20
			1A	*gwm99*	2.80	8.7	0.18
		上川	2D	*gwm539*	4.48	16.3	0.42
	2017	帯広	2D	*gwm539*	6.89	23.7	0.78
			3A	*MFT-3A*	2.74	7.7	0.44
		上川	2D	*gwm539*	5.90	18.7	0.66
			3A	*MFT-3A*	3.42	10.3	0.48
種子休眠性 15 °C	2015	帯広	3A	*MFT-3A*	12.82	39.6	15.6
	2016	帯広	3A	*MFT-3A*	5.55	18.1	9.1
		上川	3A	*MFT-3A*	10.63	34.2	13.8
	2017	帯広	3A	*MFT-3A*	12.20	38.2	14.3
種子休眠性 10 °C	2015	帯広	6A	*gwm570*	3.18	11.8	7.2
			3A	*MFT-3A*	2.82	9.4	7.1
		北見	7A	*barc108*	3.43	11.4	8.2
			7A	*wmc525*	2.90	9.5	6.9
	2016	帯広	1A	*gwm99*	3.08	11.8	6.3
			4B	*wmc657*	2.91	9.9	-5.3
		上川	3A	*MFT-3A*	4.79	17.2	8.0
			5A	*gwm291*	3.00	9.2	-5.6
	2017	帯広	1B	*gwm140*	2.60	9.6	-7.2

1)「北系1802」のアレルにより各形質値を低下させる効果を示す．穂発芽耐性は穂発芽指数（0～5），種子休眠性は発芽率（%）による．

表5-3.　DH系統の平均穂発芽指数におよぼす*QPhs －2D*と*MFT-3A*との組合わせ効果.

遺伝子型		系統数	2015		2016		2017	
gwm539	*MFT-3A*		帯広	北見	帯広	上川	帯広	上川
A	A	19	0.35 a	0.75 a	0.20 a	0.39 a	0.72 a	1.71 a
A	B	27	1.47 b	1.54 ab	0.48 ab	0.52 a	1.50 ab	2.85 b
B	A	23	1.24 b	2.37 bc	0.61 ab	1.02 ab	2.09 b	3.17 b
B	B	38	2.61 c	3.04 c	0.81 b	1.54 b	3.24 c	4.12 c
親品種・	北系1802		0.14	0.10	0.29	0.29	0.43	0.93
系統	きたほなみ		4.70 **	4.25	0.93 +	1.32 +	4.50 *	4.50 **

遺伝子型のA，Bはそれぞれ「北系1802」，「きたほなみ」のアレルを示す．英文字が付された値はTukey-Kramerの有意差検定において，4組合わせの異文字間に5%水準で有意差があることを示す．+，*，**はt検定でそれぞれ10%，5%，1%水準で親間に有意差があることを示す．

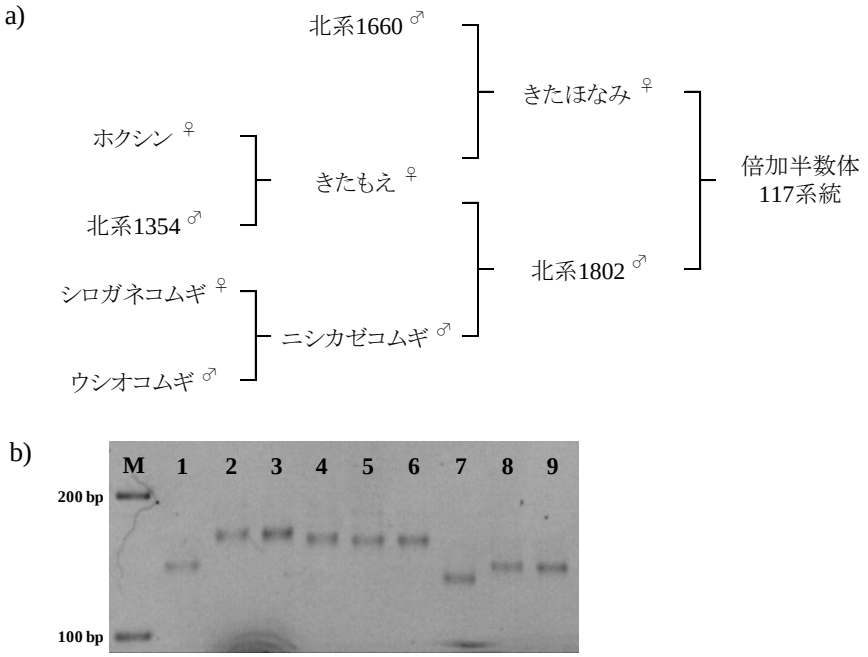


図5-7. 「北系1802」および「きたほなみ」のa）系譜図とb）*QPhs-2D*座に連鎖するSSRマーカー*gwm539*の電気泳動図.

a）図中の♀と♂はそれぞれ種子親と花粉親を示す. b）6%のアクリルアミドゲルで電気泳動. M：100bp ladder サイズマーカー, 1：ホクシン, 2：北系1354, 3：きたもえ, 4：北系1802, 5：ニシカゼコムギ, 6：シロガネコムギ, 7：ウシオコムギ, 8：きたほなみ, 9：北系1660

表5-4. 近傍マーカーから推定した種子休眠性QTLおよび穂発芽性QTLの系譜.

形質	染色体	近傍マーカー					
穂発芽耐性	7B	*gwm297*	ウシオコムギ シロガネコムギ	→	ニシカゼコムギ	→	北系1802
	1A	*gwm99*	ウシオコムギ	→	ニシカゼコムギ	→	北系1802
	2D	*gwm539*	シロガネコムギ	→	ニシカゼコムギ	→	北系1802
種子休眠性	6A	*gwm570*	シロガネコムギ	→	ニシカゼコムギ	→	北系1802
	7A	*barc108*	北系1354	→	きたもえ	→	北系1802
	7A	*wmc525*	ウシオコムギ シロガネコムギ	→	ニシカゼコムギ	→	北系1802
	1A	*gwm99*	ウシオコムギ	→	ニシカゼコムギ	→	北系1802
	3A	*MFT-3A*	ウシオコムギ シロガネコムギ	→	ニシカゼコムギ	→	北系1802
	4B	*wmc657*			北系1660	→	きたほなみ
	5A	*gwm291*	ホクシン 北系1354	→	きたもえ	→	きたほなみ

「きたもえ」を通じて伝わったと推定された. 1B 染色体 QTL の由来は不明であった.

穂発芽耐性と種子休眠性ともに効果のあった 1A 染色体 *Xgwm99*/*Xwmc716* 領域の「北系 1802」アレルは「ウシオコムギ」から「ニシカゼコムギ」を経て伝わったと推定された(表 5-4).

第４節　考　察

本研究では，年次と地域の異なる 6 環境条件で DH 系統を栽培し，種子休眠性が弱まっている晩刈りした切り穂を穂発芽検定のサンプルに用いた. 15 ℃の暗黒条件下で朝夕人工降雨処理を 10 日間(2015 年は 7 日間)行って得た穂発芽指数を指標とした時, 合計 4 個の QTL が検出できた．そのうち 2D 染色体長腕の SSR マーカー*gwm539* 近傍領域に *QPhs-2D* の効果が 6 環境条件全てで認められた．この QTL に次いで効果のあったのは *MFT-3A* で，3 環境において検出できた. 加えて 1A 染色体と 7B 染色体にそれぞれ 1 環境でマイナーな効果を持つ QTL が検出できた．これら 4 個の QTL はいずれも「北系 1802」のアレルが常に穂発芽を抑える効果を持っており, すべて「ニシカゼコムギ」に由来することが判明した．したがって，「北系 1802」のもつ高い穂発芽耐性は遺伝的には *QPhs-2D* 座と *MFT-3A* 座の「ニシカゼコムギ」に由来するアレルが大きく貢献していることが明らかになった．さらに環境条件によってはマイナーな QTL の効果も認められた.

本研究では 117 系統の DH 集団を用いて SSR マーカーによる連鎖地図の構築を目指したが，マーカー数が極少数であったり，1D, 5D, 6D, 7D 染色体のように全く検出できなかった染色体もあり，ゲノム全体を網羅した解析にはなっていない．これは両親が共通親として「きたもえ」をもち，また実用品種の開発を目指した交配組合せであったため遺伝的に多様性が低いことが一因と考えられた．したがって，それらの染色体に検出できなかった QTL が残っているかも知れず，今後の課題である．また前章で記述したように，「北系 1802」育成の過程で選抜対象とした原集団 938 系統の穂発芽指数は連続分布を示し， 花粉親の「ニシカゼコムギ」は春播き品種のため比較できなかったものの，種子親の「きたもえ」より低い穂発芽指数の系統が存在した．これらの結果から「北系 1802」の穂発芽性“極難”は，超越分離による可能性があると考えられた．本試験結果からも *MFT-3A* と *QPhs-2D* に加え, 他の複数の遺伝子あるいは QTL の関与が示唆される．長内 (2010)は 0～10℃の低温での発芽試験で選抜を繰り返し，「北系 1802」を凌駕する穂発芽性“極難”の系統をいくつか作出している．それら系統の極難性が *QPhs-2D* 座と *MFT-3A* 座でだけでは説明できず, 未知の QTL による可能性が高い.

2D 染色体に座乗する穂発芽耐性 QTL についてはこれまでいくつか報告があり，その多くが短腕あるいは動原体領域にマップされている(Kulwal *et al*. 2004, Imtiaz *et al*. 2008, Munkvold *et al*. 2009, Kulwal *et al*. 2012). 一方, Mohan *et al*. (2009) は 2D 染色体長腕に 2 個の QTL を検出し，その一つが本試験での *QPhs-2D* と同じ SSR マーカー*Xgwm539* と連鎖していた．そのため *QPhs-2D* と同一の QTL である可能性もあるが, マップ間で近傍領域に共通するマーカーがこれ以外ないため断定はできない. 今後 *QPhs-2D* の育種選抜への活用を図る上で, 利便性や正確さを向上させるためにも, この領域で *QPhs-2D* を正確にマッピングする必要がある.

次に *MFT-3A* についてであるが，府県で育成された品種では，*MFT-3A* の Zen 型アレルが広く分布し，穂発芽耐性の向上に大きく貢献してきた(Chono *et al*. 2015). その一方で，北海道で育成された品種あるいは在来品種に Zen 型の SNP を保有するものはなかった. しかし, 現在, 道総研北見農試や農研機構北海道農業研究センターではこのアレルを取り込んだ北海道向け新品種の開発が進んでいる．本試験の結果から，北海道の栽培環境でも *MFT-3A* の Zen 型アレルは確かに穂発芽耐性と種子休眠性の向上に貢献することが実証できたため，今後北海道品種への導入に期待が持たれる.

穂発芽耐性は環境要因に加え，穂や種子の生理的特性が関与する複雑な形質である．その中でも特に種子の休眠性と密接な関係がある．本研究では，穂発芽検定と並行して種子休眠性も評価し，QTL の検出を行った．その結果，両形質で検出した QTL 間に違いが見られた．穂発芽検定では安定して認められた *QPhs-2D* の効果が，発芽試験温度や栽培環境に関わらず種子休眠性に対しては明確ではなかった．この結果は *QPhs-2D* の効果には種子休眠性以外の要因が関与していることを示唆している．その一方で 15℃の発芽試験では，4 栽培環境共通して *MFT-3A* のみ効果が認められた．しかし，より休眠が打破されやすい 10℃の発芽試験では，表 5-5 に示したように *MFT-3A* の効果は減少し，他の複数の染色体上にマイナーな QTL が検出された．この中には「きたほなみ」のアレルが発芽率を低下させる QTL も含まれていた. 2016 年の帯広と上川での休眠強の超越分離系統が認められた一因として，これら「きたほなみ」アレルの効果が *MFT-3A* の「北系 1802」アレルとともに発現したことが考えられた.

これまで穂発芽耐性と種子休眠性を同時に評価し，QTL 解析を行った結果がいくつも報告されている．それらを要約すると 4A 染色体長腕の種子休眠性遺伝子 *Phs1* (Torada *et al*. 2008)のように，両形質に安定して効果を示す場合(Chen *et al*. 2008, Ogbonnaya *et al*. 2008, Cabral *et al*. 2014, Lin *et al*. 2015)，本試験の *QPhs-2D* と同様に，穂発芽耐性には常に効果を発揮する QTL が種子休眠性には明確な効果を示さない場合(Lin *et al*. 2015), あるいはその逆の場合など様々である．穂発芽耐性は種子休眠性と密

接な関係にあるものの，両形質の遺伝的支配は一義的ではない．穂発芽耐性に関わる種子休眠性以外の要因として，中津（2000）は穂に直接加水したときの穂中種子の吸水速度を調査した結果から，吸水速度が遅いほどアミラーゼ活性が低く穂発芽の発生が抑えられたことを報告し，穎の透水性や穂の構造が影響していると推測している．*QPhs-2D* がこれらに関与しているかは今のところ明らかでない．したがって穂発芽性“極難”は穂発芽耐性と種子休眠性が複合的に影響し合って発現すると推察される．

前述したように，北海道での穂発芽性“極難”系統の選抜は，種子休眠性が弱まっている成熟期 1 週間～10 日後にサンプルを晩刈りし，切り穂を用いた人工降雨処理による穂発芽検定と休眠打破を誘導する低温での種子休眠性評価とを組合わせて実施してきた（柳沢 2004）．前章の結果や本章の実験結果から，穂発芽耐性の選抜と低温発芽試験の選抜では，捉えられる遺伝子あるいは QTL が常に共通とは限らないことが明らかとなり，穂発芽性“極難”系統の開発には両形質に対する選抜を併用することの妥当性が実証された．

第６章　総合論議

コムギの穂発芽にはさまざまな環境条件や遺伝形質が複雑に関与している．穂発芽による生産現場での被害を減らす最善策は、育種的手法による遺伝的改良により，種子休眠性の強い穂発芽耐性をもつコムギを開発することである．今後，気候変動への対応が作物育種で必要となるなか，収量性や品質特性の向上に加え，穂発芽性や病害抵抗性の向上を両立させ新品種を育成することが重要な課題となる．

世界のコムギ産地のなかでも登熟期間に雨害を受けやすい気象条件下で栽培されるわが国，とりわけ夏季のオホーツク海高気圧の影響を受ける北海道でのコムギの安定生産のためには穂発芽耐性の付与が欠かせない．本研究では，はじめに育種により選抜された穂発芽性“極難”系統「北系 1802」とその特性および発芽性に関する要因解析を行った．次に穂発芽耐性の主要因とされる種子休眠性と気象要因との関係を明らかにするとともに，当該年次の気象条件に対応した処理強度による適切な選抜法の設定を検討した．最後に穂発芽耐性の遺伝的要因を明らかにするため，穂発芽性“極難”に関わる穂発芽耐性 QTL および種子休眠性 QTL の検出を試みた．

第１節　穂発芽性極難系統「北系 1802」の育成とその穂発芽性に関する要因解析

穂発芽性“極難”系統「北系 1802」の両親は母に北系 1616（後の「きたもえ」）で穂発芽性は“やや難”，父に「ニシカゼコムギ」（秋播性程度Ｉの穂発芽性が“難”）をそれぞれ用いて育成された．当時の北海道の秋播きコムギ育種では穂発芽性“難”で晩生の「北系 1354」の選抜以降，穂発芽耐性に関わる育種母本が乏しく，1990 年代後半より，府県の穂発芽耐性品種を片親とし，実用形質を有する秋播きコムギ系統との交配を実施し，選抜を開始した．

しかし，秋播性程度Ⅵの北海道品種と秋播性程度がＩないしⅡの府県品種や北海道の春播コムギを母本に用いた場合，その育種集団を秋播き栽培すると，集団内の個体が一定頻度で冬損害により枯死し，残った集団から穂発芽耐性系統を選抜するにも親品種並の耐性系統が得られるのが限界であった．「北系 1802」の場合，葯培養由来の後代系統が 1,923 系統得られ，うち 1999 年に道立十勝農試へ供試した 938 系統のなかから，3 世代にわたり穂発芽検定と発芽試験による種子休眠性評価を繰り返し，両親の穂発芽性よりも優り，超越分離が示唆される穂発芽耐性系統を得た．これは，低温処理による穂発芽検定や種子休眠性選抜を複数年次，複数場所にて様々な環境条件で登熟した集団に繰り返したことで耐性系統を得られたものと推察される．

長内が先達として低温条件による種子休眠性評価を実践し，「OS21-5」や「OW104」などの選抜を実施してきた．これら育成系統は北海道のコムギ育成場のみならず、日本各地のコムギ育成場で直接，または当該系統を系譜にもつ穂発芽耐性系統を通じて活用が図られている．また，本研究で選抜された「北系 1802」の特性については，10～12 日間の低温連続降雨を想定した散水処理によっても低アミロ化しにくい特性が明らかになった．低アミロ化しにくい特性はすなわちコムギの加工適性の安定性に寄与することから，欠くことのできない特性である．一方で，収量性は当時の北海道の基幹品種であった「ホクシン」と比べ 83%に留まり、優良品種とするには十分な特性とはいえず，品種登録までに至らなかった．しかし、その後の道総研北見農試で育成された穂発芽性“極難”系統では「北系 1838」，「北系 1910」など「ホクシン」並からやや優る収量性を持ち、かつ製めん適性が「ホクシン」より優り「きたほなみ」に匹敵する系統が見出されている（神野 2019）．育種事業を考えた場合，特性が概ね揃った育種母本の存在は有用かつより実用形質を有する品種育成の加速化に寄与する．

また，種子休眠性の強い品種は胚の ABA 感受性が高いことが知られている．「北系 1802」は「OW104」と同様に胚の ABA 感受性が高いことが強種子休眠性を決定する重要な因子の一つであると考えられた．一方で，相反交雑により得られた F1 種子の休眠性評価から「北系 1802」が胚休眠と種皮休眠を併せ持つのか検討した．「北系 1802」を片親とする 2 組の相反 F_1 種子の発芽率には明瞭な差異はなかったことから，「北系 1802」においては種子休眠性の強弱に対する種皮の影響は小さいと判断された．

「北系 1802」について子実への吸水速度の品種比較試験の結果から，「きたもえ」，「ホクシン」，「チホクコムギ」より子実水分の上昇が遅れる傾向を示した．このことは種子休眠性とは別の要因で子実への吸水速度に違いを生じさせており，種皮の透水性に品種間差があると考えられる．穂発芽の発生防止には系統本来の胚の種子休眠性に加え、物理的に吸水速度が緩慢で休眠打破が遅延する作用が副次的に加わることが推察された．

第２節　気象要因による種子休眠性の変動と登熟条件に応じた種子休眠性による適切な選抜強度について

種子休眠性の変動を登熟温度との関連を検討した過去の研究では，感受性の高い時期として開花後 30～50 日(Buddish *et al.* 2007)，生理的成熟期前 14 日間（Nielsen *et al.*1984），成熟期前 7 日間(中津ら 2006)，成熟期前 5 日間(Osanai *et al.* 2005)等の報告がある．本試験では成熟期前 10 日間の日平均気温が種子休眠性の強弱と関連していた．しかしながら，穂発芽性が同じ“極難”ランクであっても，成熟期の気温に対する種子休眠性の感受性の違いがあり，種子休眠性の変動と登熟温度との関連が地域や品種、栽培条件が異なる原因の一つと考えられる． また， 2030 年代の気候データ（CCSR/NIES）によれば，月平均気温は現在（1971～2000 年を統計期間とする平年値）から 1.3～2.9℃（平均 2.0℃）上昇すると指摘されている（中辻ら 2011）． 成熟期間中の高温が種子休眠性を低下させるという従来の知見（Reddy *et al.*, 1985, Lunn *et al.*, 2002, 中園ら 2013）を考慮すると，同一品種であっても栽培地域によらず登熟後半に高温に遭遇し，穂発芽が誘引される機会が増えることが予想される． そのため，穂発芽被害のリスクを小さくするには，穂発芽耐性品種の育成はもとより，登熟温度に対して種子休眠性の変動が小さい，いわゆる登熟温度に鈍感な穂発芽性“極難”コムギの育成が必要である．Kashiwakura *et al.* (2016) は穂発芽性“極難”の「OS38」について，成熟期には胚休眠と種皮休眠を併せ持っていて，低温下で吸水させたとき ABA の内生量が増加し発芽しないことを明らかにした．このことは穂発芽性“極難”ランクに該当するコムギのなかから，登熟温度に対して種子休眠性の変動が小さいコムギを探索するための検証条件になりうる．

また，穂発芽性“極難”コムギ育成にあたっては，育種母本の選定が重要になるとともに，適切な選抜手法が重要となる．穂発芽性“極難”コムギの選抜には，切り穂を用いての散水保湿処理やシャーレ上に子実を並べ加水条件によりその発芽程度を評価しているが，いずれも低温処理を実施している（柳沢 2004）．穂発芽耐性は種子休眠性に依存し，かつともに量的遺伝形質であり，生育環境および遺伝子型×環境との相互作用に強く左右されている（Hagemann and Ciha 1987, Anderson *et al.* 1993）． そのため，穂発芽性“極難”コムギの育種選抜では，高温登熟しても低温吸水条件で休眠が破られにくいものが望ましい（長内 2010）． 穂発芽性“極難”コムギの選抜当初は 1 次スクリーニングとして切り穂を用いた低温かつ人工降雨処理による穂発芽指数の違いにより系統選抜を実施し，次世代に 2 次スクリーニングとして発芽試験による種子休眠性評価を行ってきた．しかしながら，2015 年の道総研北見農試のように成熟期前 10 日間の平均気温が 20℃を上回る登熟温度条件の場合、穂発芽性“極難”と“やや難”品種との休眠性の差が見出せなくなる年次が認められた．

この知見は従来の選抜手法を用いて種子休眠性評価を行った場合，穂発芽性“極難”とそれ以外の抵抗性ランクを持つ育種材料の類別が単に困難となるだけではなく，育種材料の選抜効率が低下することを意味する．特に北海道における秋播きコムギ育種は収穫期が 7 月下旬から 8 月上旬にも関わらず，播種期が 9 月であることから，特性評価と選抜のための時間的制約は大きい．穂発芽性選抜について登熟条件に応じた処理強度が求められる．今回，成熟期前 10 日間の平均気温を選抜処理強度の指標とし，その気温が 20℃を境に，平均気温が 15～20℃の場合は晩刈り 10℃処理のみの発芽率を，平均気温が 20℃の場合は晩刈り 10℃および 15℃処理の 2 水準により発芽率を調査する選抜スキームをそれぞれ作成した．このスキームは道総研北見農試での試験結果より導き出されたものであるため、異なる栽培地域や品種については今後検討を要するものの，登熟温度の違いに伴う種子休眠性評価における処理強度の選択については,気象庁のアメダスや農研機構が開発運用しているメッシュ農業気象データシステム（https://amu.rd.naro.go.jp/）を活用し，登熟温度の経過に基づき，適切な処理強度を選択することで，効率的な穂発芽耐性評価を行うことが期待される．

第３節　穂発芽性極難に関わる穂発芽耐性 QTL および種子休眠性 QTL の検出と今後の穂発芽耐性育種の方向性について

これまで穂発芽耐性とその主要因である種子休眠性に関する遺伝的知見が数多く蓄積され，その過程で「ゼンコウジコムギ」(Zen)において 3A 染色体短腕に種子休眠性 QTL, *QPhs.osc-3A.1* が見出された（Osa *et al.*2003, Mori *et al.*2005）．その後, Nakamura *et al.*(2011)は *MFT-3A* を見出し, *QPhs.osc-3A.1* の原因遺伝子であることを明らかにした．さらに, Chono *et al.* (2015)は日本国内で育成されたコムギ品種の *MFT-3A* 座の SNP を調査し，関東以西の品種に *MFT-3A* 座について Zen 型のものが多数見られるのに対し，北海道育成の品種等では *MFT-3A* 座がすべて非 Zen 型であることを明らかにした．この *MFT-3A* については，緒論でも述べたように，Zen 型はプロモーター領域(-222)に T→C への 1 塩基置換（SNP）があり，それによって *MFT-3A* の転写レベルが上昇し、深い種子休眠を誘導する（Nakamura *et al.* 2011）．加えてエキソン領域に GT→AT 突然変異(+646)と A→T 突然変異(+666)も見つかっている(Liu *et al.* 2013)．前者は mis-splicing を，後者は premature stop codon を生じることによって，種子休眠性の低下あるいは消失を引き起こすことが分かった．このことは，Nakamura (2018)が考察しているように，これら二つの突然変異は育種プログラムで種子休眠の弱い系統の排除

に活用できるものの，より高いレベルの休眠性選抜には利用できない．

本研究で育成した「北系 1802」は系譜上にある「シロガネコムギ」から花粉親の「ニシカゼコムギ」を経て *MFT-3A* 座の SNP が Zen 型であることが確認された．また、「北系 1802」以降に育成された穂発芽性“極難”コムギ「北系 1838」は「OW104」を系譜に持ち， その「OW104」の種子親は「OS21-5」で「ゼンコウジコムギ」由来の *MFT-3A* 座の SNP が Zen 型を示しており，北海道のコムギ育種のなかでも *MFT-3A* 座の利用が図られている．「きたほなみ」×「北系 1802」由来の倍加半数体系統群を用いて *MFT-3A* 座の効果を検証したところ，*MFT-3A* 座 SNP が「北系 1802」型のアレルの場合，「きたほなみ」型のアレルに対して，低い穂発芽指数と発芽率を示し，2 つの遺伝子型間で有意差が認められた．このことは，コムギの遺伝的背景が北海道品種・系統であっても，*MFT-3A* 座の効果が関与しているものと考えられる． しかし，個別の後代系統ごとに穂発芽指数や発芽率を比較した場合，試験場所や処理温度により，*MFT-3A* 座が「きたほなみ」型アレルの系統より「北系 1802」型アレルの系統が高い場合も認められた． そこで，新たな穂発芽耐性に関わる QTL を探索したところ，2D 染色体長腕の SSR マーカー *gwm539* 近傍領域 QTL (*QPhs-2D*)を見出した． 3 ヵ年のべ 6 環境条件ともに，「北系 1802」由来のアレルが穂発芽を抑制する効果を持っており，かつ *MFT-3A* 座との組合せ効果も認められた．このことは穂発芽耐性が“極難”を示す遺伝的要因として，穂発芽耐性に関する遺伝子もしくは QTL 領域を複数保持したことが要因として挙げられる．「北系 1802」の場合，その両親は「きたもえ」が穂発芽性“やや難”，「ニシカゼコムギ」が“難”を示しており，超越分離の可能性があると考えられる．事実，登熟温度への感受性が低く「北系 1802」を凌駕する穂発芽性“極難”系統が作出されている（長内 2010）．本研究で効果が認められた *QPhs-2D* 座と *MFT-3A* 座のみで「北系 1802」との穂発芽性の違いを説明することができず，未知の抵抗性 QTL が存在する可能性がある．本試験で用いた解析集団においても， *QPhs-2D* 座と *MFT-3A* 座以外で試験年次および試験場所により，効果が比較的小さいマイナーな QTL 領域を保持していることが明らかとなった．ただし，試験年次および試験場所の違いにより，穂発芽耐性に寄与する効果の小さい QTL 領域が異なることから，今後さらなる研究が必要と思われる．

本研究ではコムギの穂発芽耐性をテーマに，その評価法および育種的手法を用いた耐性系統作出に関する研究を行った．従来、国産コムギの多くが日本めん用コムギの品種および生産が中心であったが，近年にパン・中華めん用途の硬質コムギ品種の開発・普及が北海道をはじめ国内各地で進んでいる．さらに菓子用途に向く国産コムギ品種の開発と普及の要望が強まるなど，用途に応じた国産コムギ品種の多様化が想定される． 特に北海道は国内産コムギの生産量の 60%以上を占め，府県産地と比べ安定した生産ロットと比較的均一な品質を有することが強みである．今後，温暖化，それに起因する雨害増加等の気象変動や新たな病虫害対策のため，コムギの育種目標とする形質のさらなる高度化および複合化が求められる．しかし，そのような状況下でも育種的手法によるコムギの穂発芽性改良の重要性は揺るぎない．現在の育種現場においては，F_2 個体以降，世代ごとに穂発芽指数や発芽率などの表現型による穂発芽耐性の選抜を行うことを基本としながら，目的とする選抜形質の優先順位を考慮しつつ，育種材料全体の穂発芽耐性を高めてきた．今後，*QPhs-2D* 座に対する高精度な DNA マーカーが開発され，*MFT-3A* 座とともに育種プログラムに組み込まれることで，穂発芽耐性育種のさらなる効率化が図られると考えられる．将来的にゲノム全体に高密度で効果の高い DNA マーカーが配置されれば，高度化かつ複雑化する育種目標への対応も比較的容易になることが想定される．育種集団における穂発芽耐性の改良が図られれば，収量性の改良やコムギで克服すべき重要病害である赤かび病，雪腐病，コムギ縞萎縮病をはじめ今後起こりうる新発生病害に対する抵抗性の付与，複数の遺伝的要因が関与する製めん性や製パン性等の加工適性に関する選抜形質に対して多くの労力を優先的に割くことが可能となる．本研究がコムギの穂発芽耐性育種の効率化とニーズに対応した優良品種の開発の加速化，ひいては生産現場における高品質安定生産の礎につながることを期待する．

摘　要

コムギ穂発芽にはさまざまな環境条件や遺伝形質が複雑にかかわっている. 穂発芽による被害を減らすために, 種子休眠性の強い穂発芽耐性をもつコムギを開発する必要がある．本研究はその基礎的知見を得るために，穂発芽性と種子休眠性に関与する遺伝的要因と環境的要因を整理し，まとめたものである．第 2 章では穂発芽性極難系統「北系 1802」の育成経過を, 第 3 章では「北系 1802」を含む穂発芽耐性の異なる秋播きコムギにおける登熟期の気象要因と種子休眠性との関係，第 4 章では登熟期の気温に対応した穂発芽性極難系統の選抜法，第 5 章では穂発芽性極難に関わる穂発芽耐性 QTL および種子休眠性 QTL の検出について記載した.

１．穂発芽性極難系統「北系 1802」の育成

国産コムギの主産地である北海道では，近年収穫期の降雨や低温による穂発芽の危険性が増してきた．その対応として高度な穂発芽耐性を有する品種開発が求められている．我々は,「北系 1616」/「ニシカゼコムギ」の交雑から葯培養によって育成された倍加半数体 1,923 系統を選抜集団として，穂発芽検定と低温での種子休眠性評価により穂発芽性“極難”の「北系 1802」を開発した. この系統は 15℃, 10～12 日間にわたる低温降雨処理によってもフォーリングナンバーは 300 秒を上回り，低アミロ耐性に優れていた.「北系 1802」は 10℃, 15℃ と 20℃の異なる発芽試験温度下でも種子休眠性が安定して高く，胚の高い ABA 感受性が関与することが示唆された.

２．登熟期の気象要因と種子休眠性との関係

コムギの種子休眠性は一般に登熟期後半の気温に大きく影響を受けることが知られている．この期間高温であれば休眠は浅く, 低温であれば休眠は深くなる．この章では穂発芽耐性の異なる北海道の秋播き品種について, 登熟期間中の気象要因が種子休眠性に及ぼす影響を明らかにしようとした. 試験には前章で記載した「北系 1802」を含む 6 品種・系統を用いて， 最長で 14 年間成熟期刈り種子と休眠がより覚めやすい晩刈り種子の休眠性を発芽温度 15℃と 10℃で調査した．それぞれの品種・系統について日平均気温を成熟期前 5 日間, 10 日間, 15 日間, 20 日間に区分し， 発芽率との関連を検討した. 成熟期刈り種子では穂発芽性“極難”の「北系 1802」は両温度とも発芽率は成熟期前 20 日以降の日平均気温と常に正の有意な相関を示し,” やや難“の「きたほなみ」も同様の傾向を示した．一方，他の 4 品種・系統では日平均気温との関係が必ずしも明確でなかった. 晩刈り種子では, 各品種・系統とも 15℃, 10℃での発芽率と成熟期前 10 日間の日平均気温との間で高い有意な正の相関を示した. 日照時間や降雨日数など他の気象要因との間には明確な関連はみられなかった．これらの結果は，品種・系統によって登熟期の気温に対する感受性に差異があり，晩刈り種子では子実水分が 50%から生理的成熟期である 40%に達する成熟期前 10 日間の日平均気温が種子休眠性に大きく影響することを示している.

３．登熟期の気温に対応した穂発芽性極難系統の選抜法

登熟環境が異なる年には遺伝子型と環境との相互作用により穂発芽性の系統間差を的確に評価できないことがある．第 4 章では登熟期間の気温がコムギの種子休眠性に及ぼす影響を考慮し，穂発芽性“極難”コムギのより効果的な選抜手法を構築する目的で, 前章の試験で得られた発芽率のデータを用いて検討した．成熟期前 10 日間の日平均気温が 15～20℃で登熟した穂発芽性“極難”系統は“やや難”品種や“中”品種に比べ, 晩刈 10℃処理で発芽率が年次間で安定して低かった．しかし，日平均気温が 20℃以上で登熟した“極難”コムギの発芽率は 10℃で “やや難”品種並に発芽率が高く，差が見いだせなくなる年次があった. 15℃では 3 グループの類別が明瞭で, 既知の穂発芽性ランクと一致した．これらのことから， 穂発芽性“極難”コムギを効率的に選抜するには, 晩刈り種子を用いて，日平均気温が 15～20℃で登熟した時は晩刈り種子の 10℃での発芽率により，また登熟気温が 20℃以上の場合は, 10℃と 15℃での発芽率を併用して行うのが妥当と考えられた.

４．穂発芽性極難に関わる穂発芽耐性および種子休眠性 QTL の検出

これまでの研究で穂発芽耐性や種子休眠性に関わる遺伝的要因については数多くの知見が蓄積されてきた．しかし, 穂発芽性“極難”ランクの解析はほとんどなされていない．そこでこの章ではコムギの穂発芽性“極難”に関わる遺伝的要因を解明することを目的に,“極難”系統の「北系 1802」を片親とする分離集団を北海道内の地域と年次の異なる 6 環境下で栽培し，穂発芽耐性と種子休眠性に対する QTL の探索を行った．晩刈りした切り穂を用いて人工降雨処理した穂発芽検定と同じく晩刈りした種子を用いて休眠打破を誘導する 10℃と 15℃での発芽試験を実施した．その結果, 穂発芽検定では 4 個の QTL が検出できた．そのうち 2D 染色体長腕の QTL(以下 *QPhs-2D*)効果は, 6 環境条件全てで安定して認められた. 種子休眠性遺伝子 *MFT-3A* の穂発芽耐性に対する効果は 3 環境で認められ，加えて 1A 染色体と 7B 染色体

にもそれぞれ 1 環境で QTL 効果が認められた．これら QTL はいずれも「北系 1802」アレルが耐性を高めていた．種子休眠性は発芽温度によって検出された QTL に違いがあった. 15℃では栽培環境全てで *MFT-3A* にのみ明確な効果が認められ，「北系 1802」アレルが発芽率を抑えていた．一方，10℃では 2 環境で *MFT-3A* の効果が認められ，加えて計 7 個の QTL がいずれか 1 環境でのみ検出された．そのなかで 1B, 4B と 5A 染色体の 3QTL は「きたほなみ」のアレルが発芽率を低下させていた．穂発芽耐性 QTL，*QPhs-2D* はいずれの条件でも種子休眠性に対しては明らかな効果を示さなかった．これらの結果から，穂発芽性“極難”には穂発芽耐性と種子休眠性が複合的に影響し，穂発芽耐性には *QPhs-2D* と *MFT-3A* が，種子休眠性には *MFT-3A* が大きく貢献していることが明らかになった.

Summary

Development of "Kitakei 1802" wheat with excellent resistance to PHS

In Hokkaido, rainfall has recently become more frequent and the temperature often falls below 15℃ in the wheat harvest season. These climatic conditions lead the danger of PHS. Therefore, development of resistant varieties to PHS has been required to a breeding program. We developed a highly dormant breeding line, "Kitakei 1802". This was selected from 1,923 doubled haploid lines raised from a cross between "Kitakei 1616" and "Nishikazekomugi". Selection and evaluation were conducted by two tests; one test was artificial rain treatment of intact spikes and the other was germination test at 10, 15 and 20℃. "Kitakei 1802" hardly sprouted to continuous rainfall treatment and maintained high falling number. A strong grain dormancy was kept under different germination temperature and was suggested to associate with high ABA sensitivity.

Relationship between climatic conditions at ripening period and grain dormancy

It is known that the temperature in the later ripening period affects grain dormancy of wheat. Using six winter wheat varieties with different levels of PHS we examined the effect of climatic conditions on grain dormancy during the ripening period for a maximum of 14 years. The spikes of each cultivar were collected twice, at physiological maturity (PM) and at late maturity (LM) which was sampled seven days after PM. Daily average temperature for each variety was classified into 5, 10, 15 and 20 days before PM, and relation with germination rate at 15℃ and 10℃ was examined. In PM grains, the germination rate of "Kitakei1802" with extremely resistance level had a positive and significant correlation with the daily average temperature after 20 days before PM. "Kitahonami" with moderate resistance also showed a similar trend. In the second sampling at LM, we found a significant positive correlation between the germination rate at 15 ℃, 10 ℃ and the daily mean temperature for 10 days before PM in each variety. There was no relation with other climatic conditions such as daylight hours and rainy days. These results demonstrated that sensitivity to dairy temperature during the ripening period depended on the varieties, and in the case of LM sampling, the daily average temperature for 10 days before PM had large impact on the grain dormancy.

Selection method for wheat with excellent pre-harvest sprouting tolerance as considering temperature at ripening period

In the years when ripening environment is different, interaction between genotype and environment may not be able to evaluate PHS tolerance among varieties. The purpose of this research shows the influence that climatic conditions of ripening period gives to grain dormancy characteristics and the effective selection technique of winter wheat with excellent resistance to PHS. We estimated grain dormancy at 10, 15℃ from 2002 to 2015 using six varieties with different levels of PHS resistance. When mean temperature for 10 days before PM varied from 15℃ to 20℃, germination rate of excellent resistance varieties (ERV) was lower than those of moderate resistance (MRV) and moderate varieties (MV). When the mean temperature at maturity exceeded over 20℃, germination rate of ERV at 10℃ was high, and it of MRV is high. There were few differences in germination rate between germination rate of ERV and that of MRV or MV. There was a clear difference in grain dormancy at 15℃ among three groups of PHS resistance. These results indicate that development of highly PHS resistant wheat must be selected by germination rate at 10℃ when ripened from 15 to 20℃, whereas germination rate should be evaluated not only at 10℃ and but also at 15℃ when ripened at 20℃ or more.

Detection of QTL for pre-harvest sprouting resistance and grain dormancy in highly sprouting-tolerant wheat

To identify quantitative trait loci (QTL) controlling excellent resistance to pre-harvest sprouting (PHS) in wheat, we investigated sprouting of matured spikes and grain dormancy in a population of doubled haploid lines derived from the cross between the breeding line "Kitakei 1802" (excellent resistance to PHS) and the local leading variety "Kitahonami". The doubled haploid population and parental genotypes were grown in six different environments.

As the sprouting resistance and grain dormancy are lost gradually after maturity, spikes were collected 10 days passed physiological maturity. Assessment for PHS resistance was based on sprouting assay that was conducted during 7-10 days artificial rain treatment to intact spikes, while grain dormancy was evaluated in germination tests at 15℃ and 10℃. We detected four QTL in total in the sprouting assay. A QTL on chromosome 2D, designated as *QPhs-2D*, was found to be a stable QTL with a large effect across all of six environments. The effect of *MOTHER OF FT AND TFL1* (*MFT-3A*) gene was significantly detected in three environments. The remaining two QTL with minor effects were identified on chromosomes 1A and 7B in single environments. The resistant allele at these QTL was all derived from "Kitakei 1802". For grain dormancy the effect of *MFT-3A* was most evident in germination tests at 15℃. However, its effect was somewhat reduced in germination tests at 10℃. At that germination temperature, two QTL with minor effect were identified on chromosomes 1A and 7B. The resistant alleles at these QTL were derived from "Kitahonami". The effect of *QPhs-2D* on grain dormancy was unclear. These results demonstrate that incorporating *QPhs-2D* and *MFT-3A* for sprouting tolerance with *MFT-3A* for grain dormancy could markedly contribute to excellent PHS resistance.

謝　辞

本研究のとりまとめにあたり，実験計画，学会誌投稿および本論文の取りまとめに至るまで，懇切なるご指導とご校閲，終始暖かい激励をいただきました帯広畜産大学教授三浦秀穂博士ならびに帯広畜産大学助教森正彦博士には心より深く感謝申し上げます．学位論文審査にあたり，本論文の校閲と貴重なご指導，ご助言をいただきました山形大学農学部准教授笹沼恒男博士，弘前大学農学生命科学部教授千田峰生博士に心より感謝申し上げます．本研究の遂行にあたり，帯広畜産大学教授加藤清明博士，同准教授大西一光博士から数多くのご助言をいただきました．本研究のきっかけを与えていただいた元道総研十勝農試場長柳沢朗氏(元道立北見農試小麦科長)には穂発芽研究はもとより，コムギ育種研究の全般について懇切丁寧なご指導，ご助言をいただき深く感謝申し上げます．

本研究は 2000～2009 年に道立北見農試小麦科（後の麦類科），2014～2019 年に社会人学生として岩手大学大学院連合農学研究科（帯広畜産大学所属）在籍時で実施したそれぞれの実験を中心にまとめたものです． 以下のお世話になった関係各位の所属については試験実施当時の所属を基本に記載しました．

元道立上川農試場長長内俊一博士，元道立中央農試作物開発部長天野洋一博士からは当時は困難とされた穂発芽性“極難”コムギの育成にあたり，コムギ育種の基礎を懇切丁寧にご指導いただくとともに，育種材料の特性把握と選抜法の重要性をご教示いただきました．道立北見農試小麦科（現道総研農業研究本部企画調整部企画課長）吉村康弘氏，同（現道総研中央農試農業環境部栽培環境グループ研究主幹）谷藤健氏のそれぞれからコムギ育種試験の選抜実務と実験結果の解析方法等について懇切丁寧にご指導，ご助言をいただきました．道立北見農試小麦科（現道総研北見農試麦類グループ）田引正氏，荒木和哉氏，中道浩司氏，小林聡氏，池永充伸氏，足利奈奈氏，来嶋正朋氏，神野裕信氏，佐藤三佳子博士，其田達也氏には研究グループの先輩，同僚としてデータの提供，数多くのご指導，ご助言，ご協力をいただきました．ホクレン農業協同組合連合会農業総合研究所の新発田修司博士，乗田淳史博士，道立十勝農試てん菜畑作園芸科（現道総研十勝農試地域技術グループ）土屋俊男氏，沢口敦史氏，同中央農試細胞育種科（現道総研中央農試生物工学グループ）鈴木孝子博士，道総研中央農試農産品質グループ阿部珠代氏にはコムギの穂発芽研究に係る共同研究者として試料分析やデータの提供をいただくとともに，数多くのご指導，ご助言をいただきました．

帯広畜産大学の中根わかな氏，鎌田貴大氏，小嶺壱慶氏には帯広畜産大学試験圃場での試験材料養成や実験遂行にあたり，多大なるご協力をいただきました．

道総研上川農試場長田中英彦博士，同研究部長丹野久博士，同水稲グループ研究主幹佐藤毅博士，同研究主幹藤田正平博士，同主査平山裕治氏，同道満剛平氏，道総研中央農試生産研究部長梶山努氏，同水田農業グループ研究主幹宗形信也氏，同研究主幹後藤英次博士，同主査木下雅文氏，同佐藤博一氏はじめ両場の研究員各位には私が水稲育種に従事しながら，社会人学生としてコムギの穂発芽研究を取りまとめる状況にご理解とご配慮をいただきました．道総研上川農試地域技術グループの井上哲也氏には試験遂行にあたりご協力とご助言をいただきました． 道立北見農試管理科（現道総研北見農試麦類グループ）職員の皆様，多くの臨時職員の皆様のご協力とご指導により本研究を実施し， とりまとめることができました．以上の関係各位に厚くお礼申し上げます．

本研究で用いた「ホクシン」，「きたもえ」，「北系 1354」および「北系 1660」 は道総研北見農業試験場より分譲を受けました．「ニシカゼコムギ」，「シロガネコムギ」および「ウシオコムギ」の 3 品種は農業生物資源研究所遺伝資源センターより分譲を受けました.ここに記して謝意を表します．

最後にこの 10 年間で 3 度の異動に伴う引越と転校を経験しながらも私の仕事を理解してくれた妻と 3 人の子どもたちに感謝します．

引用文献

秋濱浩三 (1936) 小麦種子の後熱に関する品種間差異. 農及園 11：2937− 2942.

天野洋一 (1997) 小麦における耐性育種の現状と今後の方向. 北海道立農試資料 27: 18-27.

天野洋一 (1998) I 育種の歩みと実際. 2.コムギ. 北海道における作物育種,北海道協同組合通信社, pp. 60-99.

天野洋一・長内俊一 (2017) 小麦 OS 系統の種子休眠性とその遺伝. 北農 84:133-144.

Anderson, J.A., M.E. Sorrells and S.D. Tanksley (1993) RFLP analysis of genetic regions associated with resistance to pre-harvest sprouting. Crop Sci. 33: 453-459.

安間正虎・神前芳信 (1955) 麦作の展開. 日本農業発達史. 第 7 巻. 農業発達史調査会, pp. 7-80.

Appleford, N.E., J. D. Evans, J.R. Lenton, P. Gaskin, S.J. Croker, K.M. Devos, A.L. Phillips and P. Hedden (2006) Function and transcript analysis of gibberellin-biosynthetic enzymes in wheat. Planta 223:568-582.

Barrero, J.M., C. Cavanagh, K.L. Verbyla, J.F.G. Tibbits, A.P. Verbyla, B.E. Huang, G.M. Rosewarne, S. Stephen, P. Wang, A. Whan, P. Rigault, M.J. Hayden and F. Gubler (2015) Transcriptomic analysis of wheat near-isogenic lines identifies *PM19-A1* and *A2* as candidates for a major dormancy QTL. Genome Biol. 16: 93.

Buddish, T.B., J.A. Plummer, T.L. Setter and D.J. Mares (2007) Influence of high temperature and terminal moisture stress on dormancy in wheat (*Triticum aestivum L.*). Field Crops Res.103: 139-153.

Cabral, A.L., M.C. Jordan, C.A. McCartney, F.M. You, D.G. Humphreys, R. MacLachlan and C.J. Pozniak (2014) Identification of candidate genes, regions and markers for pre-harvest sprouting resistance in wheat (*Triticum aestivum L.*). BMC Plant Biol. 14:340.

Cao, L., K. Hayashi, M. Tokui, M. Mori, H. Miura and K. Onishi (2016) Detection of QTLs for traits associated with pre-harvest sprouting resistance in bread wheat (*Triticum aestivum L.*). Breed. Sci. 66:260-270.

Chen, C.X., S.B. Cai and G.H. Bai (2008) A major QTL controlling seed dormancy and pre-harvest sprouting resistance on chromosome 4A in a Chinese wheat landrace. Mol. Breed. 21: 351-358.

Chono, M., H. Matsunaka, M. Seki, M. Fujita, C. Kiribuchi-Otobe, S. Oda, H. Kojima, D. Kobayashi and N. Kawakami (2013) Isolation of a wheat (*Triticum aestivum L.*) mutant in ABA 8'-hydroxylase gene: effect of reduced ABA catabolism on germination inhibition under field condition. Breed. Sci. 63: 104-115.

Chono, M., H. Matsunaka, M. Seki, M. Fujita, C. Kiribuchi-Otobe, S. Oda, H. Kojima and S. Nakamura (2015) Molecular and genealogical analysis of grain dormancy in Japanese wheat varieties, with specific focus on *MOTHER OF FT AND TFL1* on chromosome 3A. Breed. Sci. 65: 103-109.

Derera, N.F. and G.M. Bhatt (1980) Germination inhibition of the bracts in relation to pre-harvest sprouting tolerance in wheat. Cereal Res. Commun. 8:199–201.

Fakthongphan, J., G. Bai, P.S. Amand, R.A. Graybosch and P.S. Baenziger (2016) Identification of markers linked to genes for sprouting tolerance (independent of grain color) in hard white winter wheat (HWWW). Theor. Appl. Genet. 129:419-430.

Flintham, J. E. (2000) Different genetic components control coat-imposed and embryo-imposed dormancy in wheat. Seed Sci. Res. 10: 43-50.

Flintham, J. E., R. Adlam, M. Bassoi, M. Holdsworth and M. Gale (2002) Mapping genes for resistance to sprouting damage in wheat. Euphytica 126: 39-45.

Groos C, G. Gay, M.-R. Perretant, L. Gervais, M. Bernard, F. Dedryver and G. Charmet (2002) Study of the relationship between pre-harvest sprouting and grain color by quantitative trait loci analysis in a white × red grain bread-wheat cross. Theor. Appl. Genet. 104: 39–47.

Hagemann, M.G. and A.J. Ciha (1987) Environment x genotype effects on seed dormancy and after-ripening in wheat. Agron. J. 79: 192-196.

Himi, E., D.J. Mares, A. Yanagisawa and K. Noda (2002) Effect of grain colour gene (R) on grain dormancy and sensitivity of the embryo to abscisic acid (ABA) in wheat. J. Exp. Bot. 53:1569-1574.

Himi, E. and K. Noda (2004) Isolation and location of three homoeologous dihydroflavonol-4-reductase (DFR) genes of wheat and their tissue- dependent expression. J. Exp. Bot. 55:365-375.

Himi, E. and K. Noda (2005) Red grain colour gene (R) of wheat is a myb-type transcription factor. Euphytica143: 239-242.

Himi, E., A. Nisar and K. Noda (2005) Colour gene (R and Rc) for grain and coleotile upregulate flavonoid biosynthesis genes in wheat. Genome 48: 747-754.

Himi, E., M. Maekawa, H. Miura and K. Noda (2011) Development of PCR markers for *Tamyb10* related to *R-1*, red grain color gene in wheat. Theor. Appl. Genet. 122:1561-1576.

Himi, E., M. Maekawa, T. Matsuura and S. Taketa (2015) Real-time PCR-mediated diagnosis of hemizygosity at the *Tamyb10-D1* locus controlling grain color in wheat. Mol. Breed. 35: 90.

星野次旺・友岡憲彦・福永公平・瀬古秀文（1989）コムギの穂発芽検定法と難穂発芽性遺伝子源の系譜．育雑 39: 365-372.

一ノ瀬靖則（2008）コムギの穂発芽に係る種子休眠性と二次加工適性劣化要因に関する研究．作物研報 9: 81-120.

Imtiaz, M., F.C. Ogbonnaya, J. Oman and M.V. van Ginkel (2008) Characterization of quantitative trait loci controlling genetic variation for preharvest sprouting in synthetic backcross-derived wheat lines. Genetics 178: 1725-1736.

神野裕信（2019）北海道の秋まき小麦における穂発芽耐性育種②．「穂発芽被害ゼロをめざして」穂発芽研究会 20 周年記念誌, 穂発芽研究会 20 周年記念誌編集委員会編, pp. 89-96.

神野裕信・吉村康弘・西村 努・小林 聡・佐藤三佳子・足利奈奈・来嶋正朋・中道浩司・柳沢 朗・池永充伸・荒木和哉・谷藤 健・樋浦里志・田引 正（2015）秋まきコムギ新品種「きたさちほ」の育成について． 道総研農試集報 99: 35-46.

Kashiwakura, Y., D. Kobayashi, Y. Jikumaru, Y. Takebayashi, E. Nambara, M. Seo, Y. Kamiya, T. Kushiro and N. Kawakami (2016) High sprouting-tolerant wheat grain exhibits extreme dormancy and cold imbibition- resistant accumulation of abscisic acid. Plant Cell Physiol. 57: 715-732.

Kato, K., W. Nakamura, T. Tabiki, H. Miura, and S. Sawada (2001) Detection of loci controlling seed dormancy on group 4 chromosomes of wheat and comparative mapping with rice and barley genomes. Theor. Appl. Genet. 102: 980–985.

Kato, K., W. Maruyama-Funatsuki, M. Yanaka, Y. Ban and K. Takata (2017) Improving preharvest sprouting resistance in durum wheat with bread wheat genes. Breed. Sci. 67: 466-471.

Kottearachchi, N.S., N. Uchino, K. Kato and H. Miura (2006) Increased grain dormancy in white-grained wheat by introgression of preharvest sprouting tolerance QTLs. Euphytica 152: 421-428.

Kulwal, P. L., R. Singh, H. S. Balyan and P. K. Gupta (2004) Genetic basis of pre-harvest sprouting tolerance using single-locus and two-locus QTL analyses in bread wheat. Funct. Integr. Genomics 4: 94-101.

Kulwal, P., G. Ishikawa, D. Benscher, Z. Feng, L.-X. Yu, A. Jadhav, S. Mehetre and M. E. Sorrells (2012) Association mapping for pre-harvest sprouting resistance in white winter wheat. Theor. Appl. Genet. 125: 793–805.

Kumar, S., R.E. Knox, F.R. Clarke, C.J. Pozniak, R.M. DePauw, R.D. Cuthbert and S. Fox (2015) Maximizing the identification of QTL for pre-harvest sprouting resistance using seed dormancy measures in a white-grained hexaploid wheat population. Euphytica 205: 287-309.

栗原志保・松中 仁（2019）マルチプレックス PCR による小麦種皮色遺伝子型判定の簡便法. 農研機構研報 北海道農研 207: 35-49.

桑原達雄・前田浩敬（1979）コムギの穂発芽性に関する研究. 1. 登熟中の温度条件と休眠形成の関係. 育雑 29（別 1）：26-27.

Lei L, X. Zhu, S. Wang, M. Zhu, B.F. Carver and L. Yan (2013) *TaMFT-A1* is associated with seed germination sensitive to temperature in winter wheat. PLoS ONE 8: e73330. doi:10.1371/journal.pone.0073330

Lin, M., S. Cai, S. Wang, S. Liu, G. Zhang and G. Bai (2015) Genotyping-by sequencing (GBS) identified SNP tightly linked to QTL for pre-harvest sprouting resistance. Theor. Appl. Genet. 128: 1385-1395.

Liu, S., S. Cai, R. Graybosch, C. Chen and G. Bai (2008) Quantitative trait loci for resistance to pre-harvest sprouting in US hard white wheat Rio Blanco. Theor. Appl. Genet. 117: 691-699.

Liu, S., S. K. Sehgal, J. Li, M. Lin, H. N. Trick, J. Yu, B. S. Gill and G. Bai (2013) Cloning and characterization of a critical regulator for preharvest sprouting in wheat. Genetics 195: 263-273.

Liu, S., S.K. Sehgal, M. Lin, J. Li, H.N. Trick, B.S. Gill and G. Bai (2015) Independent mis-splicing mutations in *TaPHS1* causing loss of preharvest sprouting (PHS) resistance during wheat domestication. New Phytol. 208: 928-935.

Lunn, G.D., P.S. Kettlewell, B.J. Majour and R.K. Scott (2002) Variation in dormancy duration of the U.K. wheat cultivar Hornet due to environmental conditions during grain development. Euphytica 126: 89-97.

Mares, D.J. (1984) Temperature dependence of germinability of wheat (*Triticum aestivum L.*) grain in relation to pre-harvest sprouting. Aust. J. Agric. Res. 35:115–128.

Mares, D.J. (1989) Preharvest sprouting damage and sprouting tolerance: Assay methods and instrumentation. In: Derera, N.F. (ed.), Preharvest Field Sprouting in Cereals. CRC Press Inc., Boca Raton, pp. 129–170.

Mares, D.J., K. Mrva, J. Cheong, K. Williams, B. Watson, E. Storlie, M. Sutherland and Y. Zou (2005) A QTL located on chromosome 4A associated with dormancy in white- and red-grained wheats of diverse origin. Theor. Appl. Genet. 111: 1357–1364.

Mares, D.J. and K. Mrva (2014) Wheat grain preharvest sprouting and late maturity alpha-amylase. Planta 240: 1167-1178.

McIntosh, R.A., G.E. Hart, K.M. Devos, M.D. Gale and W.J. Rogers (1998) Catalogue of gene symbols for wheat. In: Proceedings of the 9th International Wheat Genetics Symposium, Vol. 5. Univ. of Saskatchewan Extension Press, Canada.

Miura, H., Y. Fukuda and S. Sawada (1997) Expression of seed dormancy in diallel F_1 and F_2 seed of wheat ripened under a controlled environment. J. Genet. Breed. 51:195–200.

Miura, H., N. Sato, K. Kato and Y. Amano (2002) Detection of chromosomes carrying genes for seed dormancy of wheat using the backcross reciprocal monosomic method. Plant Breed. 121: 394-399.

Mohan, A., P. Kulwal, R. Singh, V. Kumar, R.R. Mir, J. Kumar, M. Prasad, H.S. Balyan and P.K. Gupta (2009) Genome-wide QTL analysis for pre-harvest sprouting tolerance in bread wheat. Euphytica 168: 319-329.

Mori, M., N. Uchino, M. Chono, K. Kato and H. Miura (2005) Mapping QTLs for grain dormancy on wheat chromosome 3A and group 4 chromosomes, and their combined effect. Theor. Appl. Genet. 110: 1315-1323.

Munkvold, J.D., J. Tanaka, D. Benscher and M.E. Sorrells (2009) Mapping quantitative trait loci for preharvest sprouting resistance in white wheat. Theor. Appl. Genet. 119: 1223-1235.

中道浩司・足利奈奈・来嶋正朋（2010）春まきコムギ育種における種子休眠性極強遺伝資源の利用．育種学研究 12: 44-53.

Nakamura, S. (2018) Grain dormancy genes responsible for preventing pre-harvest sprouting in barley and wheat. Breed. Sci. 68: 295-304.

Nakamura, S., T. Komatsuda and H. Miura (2007) Mapping diploid wheat homologues of *Arabidopsis* seed ABA signaling genes and QTLs for seed dormancy. Theor. Appl. Genet. 114: 1129–1139.

Nakamura, S., M. Chono, F. Abe and H. Miura (2010) Mapping a diploid wheat abscisic acid 8'-hydroxylase homologue in the seed dormancy QTL region on chromosome $5A^m$. Euphytica 171: 111-120.

Nakamura, S., F. Abe, H. Kawahigashi, K. Nokazono, A. Tagiri, T. Matsumoto, S. Utsugi, T. Ogawa, H. Handa, H. Ishida, M. Mori, K. Kawaura, Y. Ogihara and H. Miura (2011) A wheat homolog of *MOTHER OF FT AND TFL1* acts in the regulation of germination. Plant Cell 23: 3215-3229.

Nakamura, S., M. Chono, Z. Stehno, V. Holubec, H. Murashige, M. Pourkheirandish, H. Kanamori, J. Wu, T. Matsumoto and T. Komatsuda (2015) Diversification of the promoter sequences of wheat *Mother of FT and TFL1* on chromosome 3A. Mol. Breed. 35: 164.

中津智史（2000）北海道における低アミロ小麦の発生とその要因に関する研究．北海道立農試報告 93:1-57.

中津智史・松永 浩・沢口敦史・柴田秀己・道場琢也（2006）コムギ品種ホクシンを対象とした成熟期前後の気象条件　による低アミロコムギの発生予測手法．日作紀 75：90-96.

中辻敏郎・丹野 久・谷藤 健・梶山 努・松永 浩・三好智明・佐藤 仁・寺見 裕・志賀弘行（2011）地球温暖化が道内主要作物に及ぼす影響とその対応方向(2030 年代の予測).（1）2030 年代の気候予測および技術的対応方向(総論)．北農 78: 440-448.

中園 江・大野宏之・吉田ひろえ・中川博視（2013）登熟段階別の気象要因がコムギの穂発芽発生に及ぼす影響. 日作紀 82: 183-191.

長尾精一（1995）小麦の科学，朝倉書店.

Nielsen, M.T., A.J. McCrate, E.G. Heyne and G.M. Paulsen (1984) Effect of weather variables on pre-harvest sprouting of hard white winter wheat. Crop Sci. 24: 779-782.

Nilsson-Ehle H (1914) Zur Kenntnis der mit Keinumgsphysiologie des Weizens in

Zusammenhang stehenden inneren Faktoren. Z Pflanzenzuecht 2:153–157.

西村 努・柳沢 朗・吉村康弘・小林 聡・荒木和哉・中道浩司・天野洋一・谷藤 健・田引 正・三上浩輝・前野眞司・土屋俊雄・沢口敦史・鈴木孝子・平井 泰・奥村理・新発田修治・乗田淳史・橋本智美・楠目俊三・伊槻康成 (2004) 低温降雨条件でも低アミロ化しない秋まき穂発芽性極難小麦系統の作出. 平成 15 年度「新しい研究成果－北海道地域－」, pp. 40-44.

野田和彦 (1993) 穀物種子の休眠と発芽. 育種学最近の進歩 第 35 集：136-139.

野中舜二・吉田美夫・田谷省三・荒木 均・山口勲夫・北原操一・鶴 政夫・牛腸英夫・新本英二 (1987) 小麦新品種「ニシカゼコムギ」について. 九州農試報告 24: 441-457.

農林水産省政策統括官付穀物課 (2019) 麦をめぐる最近の動向について, pp. 1-20.

Nyachiro, J.M., F.R. Clarke, R.M. DePauw, R.E. Knox and K.C. Armstrong (2002) Temperature effects on seed germination and expression of seed dormancy in wheat. Euphytica 126: 123–127.

Ogbonnaya, F.C., M. Imtiaz, G. Ye, P.R. Hearnden, E. Hernandez, R.F. Eastwood, M. van Ginkel, S.C. Shorter and J.M. Winchester (2008) Genetic and QTL analyses of seed dormancy and preharvest sprouting resistance in the wheat germplasm CN10955. Theor. Appl. Genet. 116: 891–902.

Osa, M., K. Kato, M. Mori, C. Shindo, A. Torada and H. Miura (2003) Mapping QTLs for seed dormancy and the *Vp1* homologue on chromosome 3A in wheat. Theor. Appl. Genet. 106: 1491-1496.

長内俊一 (2010) 小麦の低温穂発芽耐性系統の育成. 北農 77: 142-176.

Osanai, S. and Y. Amano (1993) Selection of tolerant lines to low temperature germinability. *In* : Walker-Simmons, M.K. and J.L. Ried (eds.), Pre-Harvest Sprouting in Cereals 1992, AACC, St. Paul, MN, USA, pp.76-83.

Osanai, S., Y. Amano and D.J. Mares (2005) Development of highly sprouting tolerant germplasm with reduced germination at low temperature. Euphytica 143: 301-307.

Pearce, S., A. K. Huttly, Ian M Prosser, Y. Li, S. P. Vaughan, B. Gallova, A. Patil, J. A. Coghill, J. Dubcovsky, P. Hedden and A. L. Phillips (2015) Heterologous expression and transcript analysis of gibberellin biosynthetic genes of grasses reveals novel functionality in the GA3ox family. BMC Plant Biol. 15: 130. doi:10.1186/s12870-015-0520-7

Reddy, L.V., R.J. Metzger and T.M. Ching (1985) Effect of temperature on seed dormancy of wheat. Crop Sci. 25: 455-458.

Roy, J.K., M. Prasad, R.K. Varshney, H.S. Balyan, T.K. Blake, H.S. Dhaliwal, H. Singh, K.J. Edwards and P.K. Gupta (1999) Identification of microsatellite on chromosomes 6B and STS on 7D of bread wheat showing an association with preharvest sprouting tolerance. Theor. Appl. Genet. 99: 336–340.

Shorinola, O., B. Balcarkova, J. Hyles, J.F.G. Tibbits, M.J. Hayden, K. Holusova, M. Valarik, A. Distelfeld, A. Torada, J.M. Barrero and C. Uauy (2017) Haploid analysis of the pre-harvest sprouting resistance locus Phs-A1 reveals a causal role of *TaMKK3-A* in global germplasm. Front. Plant Sci. 8: 1555. Doi: 10.3389/fps.2017.01555.

Singh, R., M. Matus-Ca´diz, M. Baga, P. Hucl and R. N. Chibbar (2010) Identification of genomic regions associated with seed dormancy in white-grained wheat. Euphytica 174: 391–408.

Somers, D.J., P. Isaac and K. Edwards (2004) A high-density microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum L.*). Theor. Appl. Genet. 109: 1105–1114.

Somyong, S., G. Ishikawa, J. D. Munkvold, J. Tanaka, D. Benscher, Y.-G. Cho and M. E. Sorrells (2014) Fine mapping of a preharvest sprouting QTL interval on chromosome 2B in white wheat. Theor. Appl. Genet. 127: 1843–1855.

谷藤 健 (2011) Ⅳ畑作物における影響. 1. 秋まき小麦. 戦略研究「地球温暖化と生産構造の変化に対応できる北海道農林業の構築－気象変動が道内主要作物に及ぼす影響の予測－」成果集. 北海道立総合研究機構農業試験場資料 39：23-31.

Torada, A., S. Ikeguchi and M. Koike (2005) Mapping and validation of PCR-based markers associated with a major QTL for seed dormancy in wheat. Euphytica 143: 251–255.

Torada, A., M. Koike, K. Mochida and Y. Ogihara (2006) SSR-based linkage map with new markers using an intraspecific population of common wheat. Theor. Appl. Genet. 112: 1042-1051.

Torada, A., M. Koike, S. Ikeguchi and I. Tsutsui (2008) Mapping of a major locus controlling seed dormancy using backcrossed progenies in wheat (Triticum aestivum L.). Genome 51: 426-432.

Torada, A., M. Koike, T. Ogawa, Y. Takenouchi, K. Tadamura, J. Wu, T. Matsumoto, K. Kawaura and Y. Ogihara (2016) A causal gene for seed dormancy on

wheat chromosome 4A encodes a MAP kinase kinase. Curr. Biol. 26: 782-787.

豊田正範（2011） コムギの生理生態・形態. In: 小柳敦史・渡邉好昭（eds.), 作物栽培大系 3巻. 麦類の栽培と利用，朝倉書店，pp.28-49.

van Ooijen, J.W. (2002) MapQTL® 6, Software for the mapping of quantitative trait loci in experimental populations of diploid species. Kyazma B.V., Wageningen, The Netherlands.

van Ooijen, J.W. (2006) JoinMap® 4, Software for the calculation of genetic linkage maps in experimental population. Kyazma B.V., Wageningen, The Netherlands.

Walker-Simmons, M. (1987) ABA levels and sensitivity in developing wheat embryos of sprouting resistant and susceptible cultivars. Plant Physiol. 84 : 61-66.

Xue S., Z. Zhang, F. Lin, Z. Kong, Y. Cao, C. Li, H. Yi, M. Mei, H. Zhu, J. Wu, H. Xu, D. Tian, C. Zhang and Z. Ma (2008) A high-density intervarietal map of the wheat genome enriched with markers derived from expressed sequence tags. Theor. Appl. Genet. 118: 181-189.

柳沢 朗（2000）1. 小麦（1）めん用. 麦―高品質化に向けた技術開発－農林水産技術会議事務局編，pp. 2-14.

柳沢 朗（2004）穂発芽耐性評価と穂発芽極難系統の育成. 冬作物研究 4: 13-20.

柳沢 朗・谷藤 健・荒木和哉・天野洋一・前野眞司・田引 正・佐々木 宏・尾関幸男・牧田道夫・土屋俊雄（2000）秋まきコムギ新品種「ホクシン」の育成について. 北海道立農試集報 79: 1-12.

柳沢 朗・谷藤 健・荒木和哉・天野洋一・三上浩輝・田引 正・前野眞司・吉村康弘・中道浩司・佐々木 宏・尾関幸男・牧田道夫・土屋俊雄（2002）秋まきコムギ新品種「きたもえ」の育成について. 北海道立農試集報 82:11-20.

Yanagisawa, A., T. Nishimura, Y. Amano, A. Torada and S. Shibata (2005) Development of winter wheat with excellent resistance to pre-harvest sprouting and rain damage. Euphytica143: 313-318.

柳沢 朗・吉村康弘・天野洋一・小林 聡・西村 努・中道浩司・荒木和哉・谷藤 健・田引 正・三上浩輝・池永充伸・佐藤奈奈（2007）秋まきコムギ新品種「きたほなみ」の育成について. 北海道立農試集報 91: 1-13.

Yang, J., C. Tan, J. Lang, H. Tang M. Hao, Z. Tan, H. Yu, Y. Zhou, Z. Liu, M. Li, Y. Zhou, M. Cheng, L. Zhang, D. Liu and J. Wang (2019) Identification of *qPHS.sicau-1B* and *qPHS.sicau-3D* from synthetic wheat for pre-harvest sprouting resistance wheat improvement. Mol. Breed. 39: 132.

吉田美夫(2001) 麦の日本史. 転作全書 1麦，農文協，pp.15-35.

Zanetti, S., M. Winzeler, M. Keller, B. Keller and M. Messmer (2000) Genetic analysis of pre-harvest sprouting resistance in a wheat × spelt cross. Crop Sci. 40:1406-1417.

Zhang, Y., X. Miao, X. Xia and Z. He (2014) Cloning of seed dormancy genes (*TaSdr*) associated with tolerance to pre-harvest sprouting in common wheat and development of a functional marker. Theor. Appl. Genet. 127: 855-866.