

I 緒 論

世界の稲作地帯の北限に位置する北海道の稲作は気象条件による制約が大きく、過去100年間に平均4年に一度の冷害を経験している。最近では、品種改良と栽培技術の発達により収量水準は著しく向上し、冷害年における減収率は低下してきた。しかし、収量の年次変動は未だ他府県に比べると高いのが現状であり、安定性の確立は、北海道稲作が抱える重要な課題となっている。さらに、米の品質についても、道産米は検査等級と食味の両面において府県産米に比べて劣り、特に、その食味の改善に対する社会的要請は極めて強い。

このような状況の下で、北海道立農業試験場では、米の品質や食味に関する育種を効率的に進めるため、1980年に、道立農試4場（中央、上川、道南、北見農試）による「優良米の早期開発プロジェクト」を発足させ、オートアナライザーをはじめとする機器分析をも用いて、成分育種を開始した。

この結果、しまひかり（北海道奨励品種決定、1981年）、ともひかり（同、1983年）、キタアケ（同、1983年）およびゆきひかり（同、1984年）など食味の良好な品種が相次いで育成され、北海道における品種構成は目まぐるしく変わりつつある。しかし、これらの中で最も良食味とされるしまひかりやゆきひかりでさえも、その食味の水準は、府県の良食味品種として有名なコシヒカリやササニシキに比べるならば明らかに劣るのが実情である。

道産米の食味が不良とされる原因については、これまでに多くの研究がなされ（瀬戸・岡部 1963、竹生ら 1968、小山ら 1971、渡辺ら 1971、南・土居 1971、1973、佐々木ら 1977、稲津 1979）、その結果、道産米と府県産米とでは米の理化学的特性に大きな差異のあることが見出された。特に道産米では胚乳澱粉に占めるアミロース成分の割合（アミロース含量）が府県産米に比べて高いことが明らかにされた（稲津ら 1974）。そこで低アミロース化による食味改善のための育種が方向づけられ（稲津 1979）、今日に至っている。この間、前述の

オートアナライザーを用いてアミロース含量に関する大規模な選抜が実施されてきた。しかし、アミロース含量は登熟温度によって大きく変動し（Resurreccionら 1977）、低温下ではその含量が増加するので（稲津 1979）、登熟温度の低い北海道における低アミロース化の育種は必然的に環境条件の制約を受けることになる。

今後さらに道産米の食味を改善し、登熟温度などの環境条件に対する変動が比較的小さい品種を効率的に育成するためには、米の食味に大きく影響する胚乳澱粉をはじめ、蛋白質など、米粒成分に関する遺伝分析と生合成や貯蔵さらにはその分解といった生化学的な機構に関する遺伝学的な理解が必須となる。

この点に関して、従来トウモロコシで見出された胚乳の貯蔵成分に関する多様な突然変異体がイネでも誘発され（Satoh and Omura 1981）、それらを用いて分子レベルにおける研究が急速に進展しつつある。

イネの胚乳澱粉に関しては、アミロース成分を欠く糯米の他に高アミロース突然変異体（Yanoら 1985）や、低アミロース突然変異体が誘発され（Okuno 1976、天野 1977、Satoh and Omura 1981、菊地ら 1981）、それらのアミロースの生合成における役割も次第に明らかにされつつある。また、胚乳中の貯蔵蛋白質についても解析が進み、その形態や成分ならびに生合成過程が互いに異なる2種類の蛋白質顆粒（protein body）であるPB-IとPB-IIの存在が明らかにされるなど（Tanakaら 1980）、米粒蛋白質の育種にも新たな視点が提供された。

一方、米の食味とその理化学的特性との関係についてのこれまでの遺伝解析では、比較的遺伝変異の小さな材料を用いたものが多い。米の食味の推定をより確実にするためには、上記のような胚乳成分に関する多様な遺伝変異を有する材料を用いて解析することが重要と思われる。特に低アミロース性の突然変異体については、食味改善のた

めの育種素材としても注目され、現在、道産米の食味改善にそれらの突然変異体の利用が進められている(菊地 1982, 菊地ら 1985, 江部ら 1985)。

本研究は、前述した北海道の「優良米の早期開発プロジェクト」の一部(遺伝変異の拡大と突然変異の利用)として実施されたものであり、主に胚乳澱粉のアミロース含量に関する遺伝分析ならびにアミロースの温度反応、低アミロース突然変異体の誘発と食味改善の育種への利用に関して育種学的研究を行った。

本研究の遂行と取りまとめにあたり、北海道大学農学部教授 木下俊郎先生には終始御懇篤な御指導、御激励と論文の御校閲を賜った。ここに深甚の謝意を表す。また、御校閲の労をおとりいただいた同教授 後藤寛治博士ならびに同教授 津田周彌博士の両先生に謹んで感謝申し上げます。北海道大学名誉教授 高橋萬右衛門先生には研究の開始にあたり御懇篤な御指導を賜り、終始御激励を賜った。ここに謹んで感謝申し上げます。また、同助教授 森宏一博士には研究の取りまとめに際して数々の貴重な御助言を賜った。ここに心から感謝申し上げます。

前北海道立上川農業試験場長 長内俊一博士には研究開始以来、終始御懇篤な御指導、御鞭撻を賜った。ここに忠心より感謝の意を表す。

北海道立上川農業試験場長 仲野博之氏には研究の取りまとめに際し、特段の御配慮と御鞭撻を賜った。また、本研究の実施、取りまとめに際しては、同育種科長 佐々木一男氏、特別研究員 国広泰史氏(指定試験地主任)をはじめ、場員各位には特段の御配慮と御援助をいただいた。特に同育種科研究職員 新橋登博士(現北見農試)には、貴重な材料を分与され、研究の遂行と取りまとめに際し多大の御協力を賜り、また、論議をともにしていただいた。育種科研究職員 柳川忠男氏、同相川宗巖氏、同丹野久氏には研究の取りまとめに際

し多大の御協力をいただいた。

北海道立中央農業試験場長 森義雄氏には終始御激励いただいた。また、同、前稲作部長 木沢良吉氏ならびに現部長 佐々木多喜雄博士はじめ同部の職員各位には研究遂行上、特段の御援助をいただいた。特に前育種科長 森村克美博士(現北見農試主任研究員)には研究の実施と取りまとめにあたり格別の御鞭撻をいただいた。また、同育種科長 三分一敬博士には取りまとめに際し貴重な御助言をいただいた。また、試料の分析に際しては、同栽培第1科研究職員 稲津脩博士の特段の御援助をいただいた。また、育種科研究職員 佐々木忠雄氏(現中央農試企画情報室)、同前田博氏(現北見農試普通作物科)、同新井利直氏には研究遂行上、多大の御協力をいただいた。

北海道立遺伝資源センター場長 江部康成氏には研究の遂行にあたり、貴重な御示唆をいただき、また、実験に際して格別の便宜を与えられた。酵素活性の測定に際しては北海道立北見農業試験場小麦科の各位に多大の御協力をいただいた。特に、同研究職員 天野洋一博士には実験にあたり種々御配慮をいただくとともに、研究の取りまとめにあたり貴重な御助言をいただいた。同土屋俊雄氏(現上川農試)には分析手法の御指導をいただいた。また、普通作物科研究職員 楠谷彰人博士(現中央農試)には実験に御協力いただいた。

国立遺伝学研究所助教授 佐野芳雄博士、北海道大学農学部 前川雅彦博士には研究遂行上、貴重な御示唆と多大の御援助をいただいた。北海道大学農学部作物育種学教室の皆様には多大の御援助を受けた。特に、高牟禮逸朗氏には実験遂行上多大の御援助をいただいた。また、室井玲子氏には論文の取りまとめにあたり多大の御協力をいただいた。

ここに記し、深甚の謝意を表す。

II 胚乳のアミロース含量に関する遺伝分析

1. 北海道品種における遺伝変異

緒 言

北海道の栽培品種のアミロース含量に関する遺伝変異については、稲津ら(1974)、佐々木ら(1977)、および新井ら(1980)による報告がある。本節では、北海道大学で長年にわたり保存されている北海道の在来品種、明治、大正、昭和初期の旧栽培品種および連鎖分析用の検定系統などを用いて、胚乳澱粉のアミロース含量(以下アミロース含量と称する)および白米蛋白含量(以下蛋白含量と称する)についての変異を調査した。

材料および方法

供試材料として、北海道大学(作物育種学教室)で保存中の新旧栽培品種59(自然突然変異系統を含む)および検定系統66の計125系統を用いた。

これらは、1982年に札幌市(北海道大学試験圃場)、1984年に岩見沢市(道立中央農試稲作部)でそれぞれ栽培した。耕種方法はそれぞれの慣行法によった。

調査形質は1982年と1984年の両年にわたり、アミロース含量、蛋白含量、玄米の形態および玄米果皮の着色性等であった。

玄米調査や出穂日の調査等は常法により行った。また、米粒成分の分析のための試料は、個体単位に収穫した後に脱穀し、特殊な系統(小粒や粒厚の薄いもの)を除いて、1.8~1.9mmの篩目で精選した玄米を、まず90%程度に搗精した後にブラベンダー社製のテストミルで粉碎し、50%メッシュのナイロン篩を通して得た。

アミロース含量の測定にはテクニコン社製のオートアナライザーを用い、稲津(1982)の方法によった。1回のサンプル量は100mgとし、これに0.05NのNaOHを5ml加え、5~12時間室温に放置後、オートアナライザーにセットした。この後は自動分析が進行し、まず固体処理サンプラー(SPS ホモジェナイザー)で懸濁液とした後に秤

量ポンプで一定量を授取して、分析カートリッジで希釈後さらにアルカリ液(IN-NaOH)と混合し、加熱槽において糊化させた。糊化後、中和してヨウ素液と混合して発色させ、その発色程度をフローセル中で660nmの波長で比色した。呈色度は記録紙上にベースラインからの高さとして表わされるが、アミロース含量への変換には、アミロース含量既知の標準品を同時に分析して得られた検量線を用いた。このようにして測定されたアミロース含量とMcCready法によるそれとの間には $r=0.986^{**}$ なる高い相関が認められている(稲津1982)。なお、この方法が確立される1981年以前には、アミロース含量は、同含量既知の農林20号に対する比率から求められた。

蛋白含量の測定にはテクニコン社製のインフラライザーを用い、新井(1982)の方法によった。インフラライザーは、物質の種類によってその光の吸収性が特異的であることを利用した近赤外光分析を自動的に行う装置であり、本法とケルダール法による蛋白含量との間には $r=0.993^{**}$ なる高い相関が得られている(新井1982)。

なお、1982年は過去10年間(1985年現在)において平年に近い登熟温度であり、1984年は最も高温下に推移した。両年も、出穂遅延や不稔などの障害の発生は認められず、生育は順調であった。

結 果

(1) 1982年調査による系統間変異

Table 1に、栽培品種(C群)と検定系統(T群)の2群について、それぞれの平均値、変異幅、標準偏差および変動係数を示した。いずれの形質についても、C群に比べて下群の変異がより大きかった。

C群のアミロース含量は17.6~24.2%の間に分布し、その変異幅は6.6%であったのに対して、T群では最高値が29.3%と極めて大きかった。本実験における検定系統中、C群の最高値を越える25%以上の含量を示したものは、供試系統の約30%

にも達した。これらの高アミロース系統の来歴を調べたところ、そのほとんどはインド型と日本型のイネ間の交雑によって育成された固定系統であることが明らかとなった。

蛋白含量についても T 群における変異が大きく、C 群の最高値の12.5%以上を示す 3 系統 (H-59, H-93, H-135) が見出された。これらの高蛋白系統の特徴としては、H-59が標識遺伝子の *wx* と *lg* を有し、小粒でやや不稔の発生が多かったこ

と、H-135は *α*₁ を有し、その多面作用により粒が極めて小さかったこと、H-93は外国稲との交雑後代系統であり、粳種であるのにかかわらず玄米の外見がやや白色不透明であったことなどが注目された。

玄米の形態的特性に関しても T 群では多様であり、千粒重が12.3gの極小粒から同30.5gの大粒に至るまでの多様性がみられた。玄米の長さと同幅の比による粒形についても極円粒からインド型

Table 1. Comparisons of amylose and protein contents and five grain characters between Hokkaido cultivars(C) and Hokudai testers(T)

Character	Cultivar or tester	Number of lines	Mean	Range of variation	Standard deviation	Coefficient of variation(%)
Amylose content (%)	C	13	21.6	17.6 - 24.2	2.11	9.8
	T	41	23.7	16.8 - 29.3	2.91	12.3
Protein content (%)	C	17	10.4	8.3 - 12.5	1.23	11.8
	T	49	10.7	8.0 - 14.5	1.50	14.0
1000-grain weight (g)	C	17	21.2	18.0 - 24.5	2.31	10.9
	T	49	20.5	12.3 - 30.5	3.61	17.6
Grain length (mm)	C	17	5.29	4.97 - 5.56	0.20	3.8
	T	49	5.20	3.59 - 6.71	0.55	10.6
Grain width (mm)	C	17	3.10	2.84 - 3.24	0.12	4.0
	T	49	2.96	2.38 - 3.30	0.24	8.0
Grain shape index	C	17	1.71	1.60 - 1.94	0.10	5.7
	T	49	1.77	1.14 - 2.45	0.26	14.9
Grain thickness (mm)	C	17	2.10	1.85 - 2.25	0.09	4.1
	T	49	2.03	1.45 - 2.34	0.13	6.5

1) Grain shape index = Grain length / Grain width.

Table 2 Correlation coefficients related to amylose and protein contents and five grain characters in Hokkaido cultivars and Hokudai genetic testers

Non-waxy ¹⁾ Waxy ²⁾	P	L	W	L/W	T	GW
Amylose content	-0.462**	0.388**	0.163	0.169	0.038	0.407**
Protein content (P)		-0.125	-0.417**	0.167	0.428**	-0.342**
Grain length (L)	-0.084		-0.137	0.802**	-0.031	0.707**
Grain width (W)	-0.024	-0.489		-0.697**	0.624**	0.402**
Grain shape (L/W)	0.076	0.763**	-0.927**		-0.394**	0.261
Grain thickness (T)	-0.160	-0.722**	0.825**	-0.901**		0.566**
1000-grain weight (GW)	-0.284	-0.235	0.840**	-0.715**	0.801**	

** : Significant at the 1% level.

1) Upper diagonal means correlation in non-glutinous cultivars and Hokudai genetic testers, (n = 54).

2) Lower diagonals means correlations in glutinous cultivars and Hokudai genetic testers, (n = 12).

品種に多くみられる長粒までの変異がみられ、その変異幅は極めて大きかった。また、玄米の果皮色の変異にも、着色遺伝子により、白から黄、赤、紫、黒紫色などの多様性がみられた。ただし、実用品種の育成に用いられている品質に関する基準（品位）に依ってこれらを評価するならば、大多数の検定系統は腹白や心白が多く（梗種）、粒形も不整で、粒の充実度の悪いものが多く、外見品質は劣った。

胚乳成分と玄米の形態的特性との関係を調べるため、7形質間の相関係数を糯梗別に算出した（Table 2）。梗種では、アミロース含量が蛋白含量と負の相関（ $r = -0.462^{**}$ ）、また千粒重とは正（ $r = 0.407^{**}$ ）の相関関係にあった。また、蛋白含量は玄米の幅、玄米の厚さ、および千粒重とそれぞれ $r = -0.417^{**}$ 、 $r = 0.428^{**}$ および $r = -0.342^{**}$ なる相関関係を示した。糯種では蛋白含量と玄米の形態的特性との間には有意な相関関係は認められなかった。

Fig.1に、アミロース含量と蛋白含量についての系統散布図を示した。栽培品種が分布する範囲（図中、実線で囲まれた部分、糯種は除く）の外にあるものの多くは外国稲との交雑により育成された

北大検定系統であった。

(2) 1984年調査による系統間変異

Fig.2に、栽培品種（C群）と検定系統（T群）の125系統についてのアミロース含量の頻度分布を示した。参考のため、1984年に実施された奨励品種決定試験において供試された31系統のアミロース含量の頻度分布を同時に示した。

1982年と同様、検定系統におけるアミロース含量の変異幅が極めて大きく、その変異幅は13%から28%に及んだが、自然突然変異系統を含む在来品種や旧品種群からも25%以上の高アミロース系統が見出された。すなわち、北海道の在来種である赤稻（別名津軽早生、明治以前に青森県より移入）などであった。一方、これらC群とT群を比べるならば、1984年奨励品種決定試験に供試した材料に見られる変異より明らかに小さく、在来種に比べて必ずしも低アミロース化した傾向は認められなかった。

T群の中には、アミロース含量が15%以下のものが新たに4系統見出された。これらのうち、2系統（H-80、H-86）は d_1 を有し、他の2系統はそれぞれ gl_1 、 nl_1 、 Ur 、および ri といった穂部の形態形質に関する標識遺伝子を有していた。

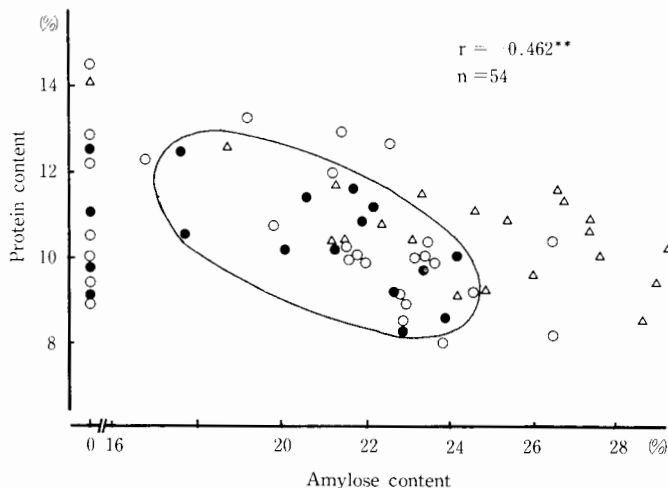


Fig. 1. Relation between amylose and protein contents in Hokkaido cultivars and genetic testers.

- : Hokkaido cultivars (n=17)
- : Genetic testers (n=28)
- △ : Genetic testers (Japanese x foreign variety) (n=21)

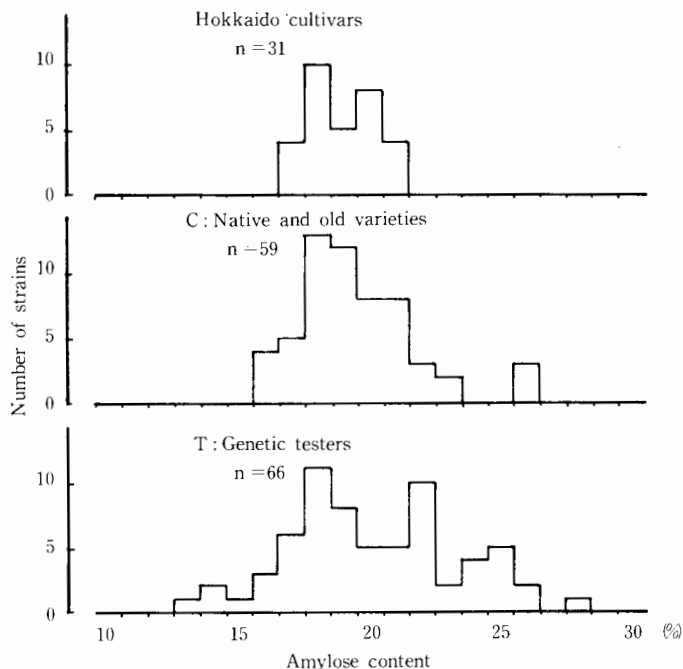


Fig. 2. Variation of amylose content in Hokkaido cultivars and genetic testers preserved in Hokkaido University.

また、T群の中でアミロース含量が25%以上であったものは、すべてインド型イネとの交雑後代における固定系統であった。

考 察

国際イネ研究所 (IRRI) の調査によれば、インド型品種の中にはアミロース含量の高いものが多いが (Juliano and Pascual 1980), これがインド型品種に多くみられる粘りの少ない炊飯特性の原因と考えられる (Julianoら 1965)。一方、日本型品種の大部分はアミロース含量が20%前後であり、品種間差はインド型のそれに比べて小さく (食糧研究所 1969), 北海道品種でさえも本州産米に比べれば3%程度高いものの (稲津ら 1974), 一般に栽培品種間の差異は比較的小さいと考えてよい (佐々木ら 1977)。

本実験では、北海道大学で保存中の在来種や旧品種ならびに外国稲 (主にインド型イネ) との交雑後代から固定された検定系統から多数の高アミロース系統が見出された。これらのアミロース含量は25%以上30%近くまで分布し、また、15%以下の低アミロース系統も見出されており、北海道

における栽培品種の遺伝変異はもとより、日本の栽培品種における遺伝変異をも越えるものであった。

蛋白含量については、栽培品種では極めてまれな14~15%という高い含量を持つ検定系統が見出された。なお、 d_1 (大黒型矮性) の蛋白含量の高いことは平ら (1972) も見出しており、その理由としては、出穂期の稲体の窒素含量の高いことを挙げている。

この他、玄米の形態についても、検定系統は極めて多様な変異を有し、たとえば、長粒種のインド型イネに類するものから、ほぼ円粒に近いものまで見られた。

北海道大学では、多年にわたりイネの遺伝学的研究を進めており、日印間の交雑を古くから実施して多数の固定系統を得ている。しかも、花青素着色遺伝子をはじめとする多くの標識遺伝子を、インド型から遠縁間交雑により選抜・固定させ、検定系統の中に取り入れて来た。

今回、アミロース含量や蛋白含量についても、極めて多様な変異のあることが明らかとなった。すなわち、検定系統の育成過程にあっては、直接

に分析の対象とならなかった遺伝形質についても、それらの変異が導入固定されて保存されて来たと思われる。このように検定系統が潜在的に保有している遺伝変異の実体が明らかにされたことの意義は大きい。

本実験で見出された高アミロース系統の起源については、系譜的に見て、交雑親の外国稲に由来すると推定される。

最近、Sano (1984) は日印間に見られるアミロース含量に関する品種間差異は、第1連鎖群に座乗して胚乳澱粉の糯稈性を支配する *wx* 遺伝子座の差異によって説明できること、インド型品種では高アミロース性の *Wx^a* を有し、日本型品種では低アミロース性の *Wx^b* を有することを明らかにした。本研究においても、外国稲に起源する高アミロース性について、第II章第3節で遺伝子分析を実施して同様の結果を得た。

このように、胚乳成分に関して、多様な変異を有する検定系統に対して、一部の例外を除いて、在来種を含む旧品種や近代品種における変異はむしろ小さく、かつ、旧品種と新品種の差もほとんど認められなかった。佐々木ら (1977) も、旧品種群と比較的最近に育成された品種群とでは、アミロース含量についての差異は認められないことを報告している。北海道において、本格的なイネの育種が開始されて以来100年の歴史の中で、アミロース含量や蛋白含量が品種改良の対象となったのは極く最近のことであり、それ以前には、糯性を除いて胚乳成分は直接選抜の対象とならなかった。ただ、米の食味を通じて、これらの成分に対しても一種の間接選抜が行われたことは否めない。それは近代品種の胚乳成分が、在来種のそれの変異からそれほど大きな変化のみられないことから裏付けられる。

現在、北海道で進められている食味改善の育種は、米の成分を改変し、食味を改良しようとするものであり、実際にアミロース含量に関する選抜が実施されている。そのような基礎として米粒の成分に関わる遺伝的制御機構を明らかにすることは、育種の効率化を図る上で極めて重要である。

北大検定系統は、標識遺伝子を有するのみでなく、胚乳成分についても多様な遺伝的変異を内蔵

していた。したがって、これらは米粒の成分に関する遺伝子分析の材料として育種の基礎的情報の提供に役立つばかりでなく、米の成分育種を進める上での遺伝子資源としても有用である。

2. 米粒成分ならびに形態的特性にかかわる突然変異体の人為誘発

緒 言

イネの胚乳成分に関する変異体としては、アミロースを欠く糯性が最もよく知られているが、近年、トウモロコシと同様に澱粉をはじめとする多糖類の生合成に関する変異体が種々見出された (Sato and Omura 1981)。特に、胚乳澱粉のアミロース成分の含量が顕著に低下する低アミロース性変異体として、玄米 (胚乳) の外観が糯と稈の中間状の半透明となる *dull* 胚乳などや、また、これとは逆に、アミロース含量が稈の正常粒の1.5~2倍も含まれる高アミロース性などが、 γ 線や化学的変異源により人為的に誘発されている (Sato and Omura 1981, Okunoら 1983, Yanoら 1985)。

本節では、育種的に有用な低アミロース性の突然変異を得る目的から、北海道の栽培品種を用いて変異源処理による人為誘発を試みた。

材料および方法

供試品種として、北海道の栽培品種であるしおかり (1961年、奨励品種決定) およびゆきひかり (1984年、同) を用いた。

変異源の処理は、しおかりでは、気乾種子の γ 線急照射 (20KR) による M_3 代種子に対してさらにEMS (ethyl methan sulfonate) 処理を行った。また、ゆきひかりでは、気乾種子に対する γ 線急照射 (20KR) を行った。

しおかりの γ 線照射とEMS処理後の M_1 代の養成は北大で行い、1978年に M_2 集団を岩見沢市の道立中央農試で栽培した。成熟期には極端に奇型的な変異体を除いて1,100個体を選抜し、このうちから563個体についてオートアナライザーによりアミロース含量を測定した。

また、ゆきひかりの場合には、種子の γ 線照射

を農水省放射線育種場に依頼し、1982年に鹿児島市において M_1 と M_2 を養成して世代促進を行った。1983年に M_3 集団 (2,700個体) を岩見沢市で養成し、成熟期に極端な奇型変異体を除いて900個体を選抜し、オートアナライザーでアミロース含量を測定した。

結 果

(1) しおかりの EMS 処理後代からの変異体の選抜

Table 3には、圃場で M_2 代に選ばれた1,065個体の米粒の特性に関して、変異体の種類と出現率を示した。心白や腹白、大粒などの玄米の外観に関する異常は総計39個体となり、 M_2 個体の約4%に何らかの変異がみられたこととなる。

これらの可視的変異体と外見上何らの異常が認められなかった個体の合計563個体について、オートアナライザーによりアミロース含量を測定した (Fig. 3)。

大多数の個体では、原品種しおかりと同様のほぼ正規分布を示したが、アミロース含量比 (ACR, しおかりのアミロース含量を100とする相対比率, %) が90%未満のものが4個体認められた。このうち、3個体は乳白米であったが、ACR80%のものは玄米の外見が正常であった。この変異体に

Table 3. Frequencies of mutants for grain characters found in the M_3 population of Shiokari treated with EMS

Mutant Character	No. of plant	Frequency ¹⁾ (%)
White core	4	0.38
White berry	7	0.66
Chalky (milky-white)	12 ²⁾	1.13
Flat and chalky	3	0.28
Small grain	5	0.47
Big grain	6	0.56
Long grain	2	0.19
Total	39	3.66

- 1) Percentage of the mutants in 1,065 M_3 plants.
- 2) Amylose content of the three lines were low.

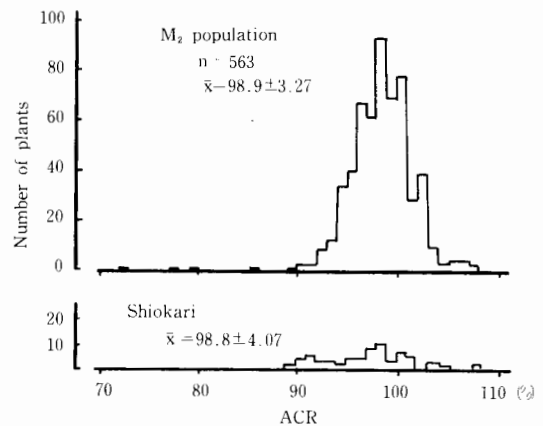


Fig. 3. Frequency distribution of the amylose content in M_2 population of Shiokari treated with EMS. ACR means amylose content ratio (%) to the standard amylose content of Shiokari.

S-20117なる系統番号を与えて試験を継続したところ、その後代も安定して原品種の70~80%のアミロース含量を示した。そこでSM-1と命名して以後の実験に供した。

このほかに得られた変異体についても、後代検定を実施したが、現在系統保存中の材料の一部を Table 4に示した。

SM-1は、アミロース含量が原品種の約76%で、玄米は梗であるが、くびれ米の発生がやや多く、玄米品質はやや劣った。また、原品種に比べて約1週間早生となり、それにとまって短稈、短穂化した。

SM-2は、SM-1に比べてさらに2%程アミロース含量が低下したが、千粒重が16.1gで原品種に比べて約76%に減少し、外見も乳白状を呈した。

粒大に関する変異体としては、千粒重が17.9gの小粒から同27.6gの大粒まで種々の変異体を得られた。

(2) ゆきひかりの γ 線照射後代からの変異体の選抜

Table 5には、 M_3 代の885個体中から見出された玄米に関する変異体の種類とその出現頻度を示した。しおかりの場合と同様に全体の約3%に心白、大粒など計25個体の変異体が見出された。さらに玄米の外見が正常であった477個体についてアミ

Table 4. Mutant lines for endosperm and grain characters induced from Shiokari

Mutant character	Line No. ¹⁾	Heading date (1985)	Amylose content (%)	1000-grain weight (g)	Grade of ²⁾ grain quality
Low amylose	SM- 1	July. 30	15.9	21.0	2
do.	SM- 2	Aug. 7	13.9	16.1	1
Chalky	SM- 3	Aug. 10	20.1	19.1	1
White core	SM- 4	Aug. 7	21.1	20.8	2
do.	SM- 5	Aug. 6	20.5	19.1	2
do.	SM- 6	Aug. 7	20.1	19.0	1
do.	SM-12	Aug. 6	21.7	20.7	2
White berry	SM-11	Aug. 5	21.7	21.2	2
Small grain	SM- 7	Aug. 6	19.7	19.6	3
do.	SM- 8	Aug. 5	18.5	17.9	3
do.	SM- 9	Aug. 2	19.1	19.9	3
do.	SM-10	Aug. 8	18.7	18.4	2
Big grain	SM-13	Aug. 6	20.7	24.0	3
do.	SM-14	Aug. 8	22.7	27.2	2
do.	SM-15	Aug. 4	21.9	27.6	2
Check	Shiokari	Aug. 6	20.8	21.1	3

1) M₃ lines in 1985.

2) Visual observation (high score means good quality).

ロース含量を測定して、その結果を Fig. 4に示した。

調査年次の1983年は冷害年であったため、供試材料の出穂が遅延し、かつ登熟時の温度も低かったため、ゆきひかりのアミロース含量は平年に比べて4%程度高かった。M₃集団のアミロース含量の分布は、ゆきひかりと同様ほぼ正規分布を示したが、変異幅はゆきひかりよりも広く、19%程度のもから28%という高アミロース域にまで分布した。これらについて次年度以降、後代検定を行ったところ、アミロース含量はほぼ正常であった。

ところが、Table 5に示したようにM₃個体において、同一穂内に乳白米を少数分離した個体の次代において、29.1%という極めて高いアミロース含量を有する個体を生じた。その後代は高アミロース性系統としてほぼ固定した。

高アミロース変異体の他に、後代検定により固定した変異体系統を Table 6に示した。顕著な低アミロース変異体は見出されなかったが、大粒や長粒など、玄米の形態に関する突然変異体が得ら

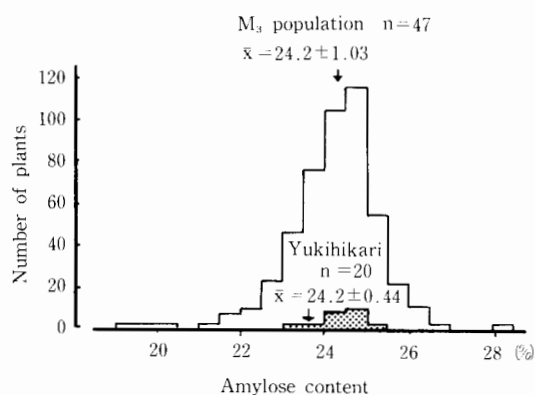


Fig. 4. Frequency distribution of amylose content in M₃ population of Yukihihikari treated with the γ -ray irradiation.

れた。大粒変異体の中には、外見上の品質が低下しないものがあった。

考 察

これまで報告されたアミロース含量に関する変異体のほとんどは、玄米(胚乳)の外見にも異常

が認められており、*dull* 胚乳突然変異体では、糯に近い白色不透明のものから、糯と粳の中間的

半透明のもの、さらには *dull* 性が極めて弱く正常の粳に近いものまでが見出されている (Sato and Omura 1981)。

Table 5. Frequencies of mutants for grain characters in M_3 plants of Yukihihikari treated with γ -ray irradiation

Mutant character	No. of plant	Frequency ¹⁾ (%)
White core or white berry	6	0.67
Chalky segregating ²⁾	3 ³⁾	0.34
Small grain	6	0.67
Big grain	6	0.67
Round grain	4	0.45
Long grain	2	0.23
Total	25	2.82

- 1) Percentage of mutants in 885 M_3 plants.
- 2) Some chalky grains appeared in M_4 seeds.
- 3) One plant showed a segregation on the high amylose plant in M_4 .

一般に、胚乳の透明度はそのアミロース含量に比例しており、上記の *dull* 胚乳突然変異体は玄米の外見より選抜されたものである。

本実験では、玄米の外見が通常の粳米と変わらぬ変異体を得ることを目的としたので、肉眼的には正常と思われる M_2 または M_3 個体についてアミロース含量を測定した。このような実験は、短時間に大量のサンプルの測定が可能なオートアナライザーの導入によって初めて可能となったもので、この結果、しおかりから1個体ではあるが、玄米の外見が正常でアミロース含量が平年でも15~16%を示す低アミロース突然変異体を見出すことができた。

Table 6. Mutant lines for endosperm and grain characters induced from Yukihihikari

Mutant character	Line No. ¹⁾	Heading date (1985)	Amylose content (%)	1000-grain weight (g)	Grade of grain quality
High amylose	YM-123	Aug. 5	32.9	18.6	1
White core	YM-129	Aug. 4	22.3	22.0	3
do.	YM-133	Aug. 4	22.5	22.3	
White berry	YM-117	Aug. 4	19.9	22.0	3
do.	YM-120	Aug. 6	20.1	21.3	3
Small grain	YM-124	Aug. 8	19.7	20.1	5
do.	YM-127	Aug. 7	20.5	20.6	4
do.	YM-130	Aug. 6	20.3	20.3	5
Big grain	YM-119	Aug. 6	20.9	26.5	1
do.	YM-141	Aug. 9	20.5	26.6	3
do.	YM-146	Aug. 11	21.9	28.4	5
do.	YM-145	Aug. 7	21.1	23.1	5
do.	YM-149	Aug. 7	20.5	23.1	4
Round grain	YM-135	Aug. 5	20.3	23.0	4
do.	YM-137	Aug. 7	20.3	22.0	5
do.	YM-138	Aug. 7	20.1	21.8	5
Long grain	YM-131	Aug. 6	20.3	21.7	5
do.	YM-144	Aug. 7	20.3	21.4	5
Yukihihikari		Aug. 6	20.7	22.6	5

- 1) M_5 lines in 1985.
- 2) Visual observation (high score means good quality).

この突然変異体の誘発に成功した当時、北海道におけるアミロース含量の最低レベルはほぼ20%前後とされており、それ以下の低アミロース含量は、登熟温度が制限要因となって困難と思われていた。本突然変異体の誘発により、登熟温度の低い北海道においても、20%以下のアミロース含量の品種育成の可能なことが初めて示された。

なお、SM-1は低アミロース以外にも早生化を示した (Table 4)。

ゆきひかりからはSM-1と同程度の低アミロース変異体は得られなかったが、高アミロース突然変異体が見出された。この玄米は中心部が粉質で、外見は乳白米に類似していた。本変異体は収穫時の玄米水分が正常に比べて2%程度も高く、パーキン・エルマー社製の Grain Amylase Analyzer によって測定された α -アミラーゼの活性値は原品種の5倍を示した。

また、別に、 F_2 種子に対する γ 線照射の次代の M_3 集団からも、アミロース含量が30%以上の高アミロース変異体が見出されている。

粒大に関する多様の変異体も、しおかりとゆきひかりより誘発された。大粒は、イネの多収性育種の素材として利用可能であるが、しおかりの大粒突然変異系統 (SM-14) の収量性について調べた結果、追肥栽培では原品種より多収となった (菊地・木下 1982)。このSM-14の大粒には不完全優性遺伝子が関与しており、大粒種「房吉」の関与遺伝子である $LK-f$ と同一座の遺伝子であることが明らかとなった (菊地ら、未発表)。

前節で明らかにされたように、玄米の形態とアミロース含量との間には相関関係が認められる例が知られている。しおかりから誘発された粒大変異体の中には、SM-2やSM-8のように小粒で低アミロースのものや、大粒でやや高アミロースのもの (SM-14) が見出され、玄米千粒重とアミロース含量との間には正の、千粒重と蛋白含量との間には負の高い相関関係が認められた。これらの現象が粒大に関与する遺伝子の多面作用によるのか、粒大変異から2次的に生じた変異であるのかは明らかではないが、このような粒大突然変異体は、胚乳澱粉の集積機構と胚乳成分の関係を解析する上で興味深い素材と思われる。

また、大粒種では通常腹白や心白が発生しやすく、 $LK-f$ のように大粒遺伝子が腹白発生にも関与することが知られているが (武田・斎藤 1980)、本実験で誘発された大粒突然変異体のほとんどでも、原品種に比べて玄米の見かけの品質が劣っていた。しかし、ゆきひかりの大粒変異体 (YM-146) では、心白や腹白の発生が極めて少なかった。したがって、良質の大粒系統として育種素材となろう。

以上のように、胚乳成分や玄米の形態に関する各種の変異体を得られたことから、遺伝変異の拡大には、突然変異法が極めて有効な手段であるといえよう。北海道では、過去数十年にわたり、府県品種との交雑育種によって、多収性や良質性の導入を計って来たが、そこで問題となったのは、早熟性、耐冷性とそれらの有用形質の結びつけであった。この点、北海道品種中に誘発された変異体は変異形質以外は原品種と同一であることから、晩生で一般に耐冷性の弱い府県品種からの形質を交雑により導入することに比べて育種素材として有利と思われる。

近年、胚乳や胚に関する人為突然変異の誘発方法として NMU (N-methyl-N-nitrosourea) などの化学薬品による受精卵処理法 (Sato and Omura 1979) などが開発されており、今後さらに突然変異育種を積極的に進める必要がある。

3. 胚乳のアミロース含量に関する遺伝子分析

1) 戻し交雑集団における分析

緒言

日本型イネとインド型イネのアミロース含量に関する差異は、 Wx 蛋白の生成量を異にする2種の遺伝子、 Wx^a と Wx^b のちがいがよることが明らかにされたが (Sano 1984)、日本型内で認められるアミロース含量の品種間差異が、このような Wx 遺伝子の分化だけによって説明されるのか、あるいは wx 座と独立の他の遺伝子 (系) によるのかは明らかではない。

本節では、アミロース含量の大きく異なる粳品種を1回親として用い、戻し交雑によって糯品種

の遺伝的背景へ導入された起源を異にする *Wx* 遺伝子についての同質遺伝子系統を作成し、*Wx* 遺伝子による効果とそれ以外のアミロース含量におよぼす遺伝子(系)の関係を分析した。

材料および方法

Table 7には、*Wx* 遺伝子の供与親(一回親)である10種の粳品種と反復親となった3種の糯品種を示した。コシヒカリと北陸110号は府県における典型的な低アミロース性品種であり、特にコシヒカリは日本で最も良食味の品種として有名である。走錦と北海早生1号は北海道の旧品種であり、いずれも低アミロース性である。なお、北海早生1号は陸稲である。Century Patna 231は米国原産の低アミロース品種であり、Arpa Salyはソ連原産で高アミロース性である。上系6487は上川農業試験場で育成された高アミロース系統であるがポルトガルと称する外国稲との交雑後代よりの育成系統である。

SM-1はしおかりから、また NM-391, N8 ES No. 58は、ニホンマサリと農林8号よりそれぞれ

人為的に誘発された低アミロース性突然変異系統であり、N8 ES No. 58については *wx* とは独立の *dull* 胚乳に係る遺伝子を有することが知られている(Okunoら 1983)。SM-1は次節で明らかにされるように、*wx* とは独立の単純劣性遺伝子を保有する。NM-391の低アミロース性にも、*dull* 遺伝子の関与することが次節において明らかにされた。

反復親のおんねもち、道北糯18号および渡育糯213号はいずれも北海道の糯品種または育成系統であり、それぞれ早生、中生、晩生の各熟期における糯の代表系統として選定された。

上記の1回親と反復親の間で、糯品種を雌性親とする連続戻し交雑が数世代にわたり実施された。本実験で用いた材料の系統名と世代を Table 8に示した。アミロース含量の分析には B₄~B₇世代の各 F₂集団について、粳個体群のみを用いた。

供試材料は、1983年には旭川市(上川農試)で養成された。1回親のうち外国稲の晩生種は人工気象箱で養成された。なお、1983年は冷害年であったため、出穂期が遅延し、登熟期間の温度も低

Table 7. List of the strains used in the production of *Wx* isogenic lines in the genetic backgrounds of three glutinous endosperm lines

Strain	Amylose type	Amylose content (%)			Origin
		(22-18) ¹⁾	(28-18) ¹⁾	field	
<i>Wx</i> donor parents					
NM-391	Low	9.9	5.3	—	Mutant induced from Nihonmasari
N8 ES No. 58	do.	—	(9.7) ²⁾	—	Mutant induced from Nomin No. 8
SM-1	do.	16.4	15.1	18.4	Mutant induced from Shiokari
Hashirinishiki	do.	18.3	15.1	22.1	Hokkaido cultivar
Hokkaiwase 1	do.	18.2	15.4	19.9	do.
Koshihikari	do.	20.4	17.1	—	Honshu (Mainland) cultivar
Hokuriku 110	do.	18.5	14.5	—	do.
Century Patna 231	do.	18.1	15.5	—	Cultivar from U. S. A.
Jokei 6487	High	26.5	24.3	26.3	Strain used in Hokkaido
Arpa Saly	do.	26.2	25.2	24.1	Cultivar from U. S. S. R.
Recurrent parents					
Onne-mochi	Glutinous	0	0	0	Hokkaido cultivar
Dohoku-mochi 18	do.	0	0	0	do.
Toiku-mochi 213	do.	0	0	0	do.

1) Day and night temperature in the phytotron (°C).

2) Green house condition.

Table 8. List of *Wx* isogenic lines used in the experiments

Back ground		Onne-mochi			Dohoku-mochi-18			Toiku-mochi-213		
<i>Wx</i> -donor		Line No.	Generation 1983	Generation 1984	Line No.	Generation 1983	Generation 1984	Line No.	Generation 1983	Generation 1984
P 1	Century Patna 231	BC-1	B ₄ F ₂	B ₅ F ₂	BC-11	B ₅ F ₂	B ₆ F ₂	BC-21	B ₅ F ₂	B ₆ F ₂
P 2	Koshihikari	-2	B ₆ F ₂	B ₇ F ₂	-12	B ₆ F ₂	B ₇ F ₂	-22	B ₆ F ₂	B ₇ F ₂
P 3	Hokuriku 110	-3	B ₆ F ₂	B ₇ F ₂	-13	B ₆ F ₂	B ₇ F ₂	-23	B ₆ F ₂	B ₇ F ₂
P 4	Hashirinishiki	-4	B ₆ F ₂	B ₇ F ₂	-14	B ₆ F ₂	B ₇ F ₂	-24	B ₆ F ₂	B ₇ F ₂
P 5	N8 ES No. 58	-5	B ₆ F ₂	B ₇ F ₂	-15	B ₆ F ₂	B ₇ F ₂	-25	B ₆ F ₂	B ₇ F ₂
P 6	Arpa Saly	-6	B ₆ F ₂	B ₇ F ₂	-16	B ₆ F ₂	B ₇ F ₂	-26	B ₆ F ₂	B ₇ F ₂
P 7	Jokei 6487	-7	B ₆ F ₂	B ₇ F ₂	-17	B ₆ F ₂	B ₇ F ₂	-27	B ₆ F ₂	B ₇ F ₂
P 8	Hokkaiwase 1	-8	B ₅ F ₂	B ₆ F ₂	-18	B ₅ F ₂	B ₆ F ₂	-28	B ₅ F ₂	B ₆ F ₂
P 9	NM-391	-9	B ₅ F ₂	B ₆ F ₂	-19	B ₅ F ₂	B ₆ F ₂	-29	B ₅ F ₂	B ₆ F ₂
P10	SM-1	-10	B ₄ F ₂	B ₅ F ₂	-20	B ₄ F ₂	B ₅ F ₂	-30	B ₄ F ₂	B ₅ F ₂

かったが、障害型不稔の発生は認められなかった。

1984年の材料は、岩見沢市（中央農試）で養成された。なお、1984年は高温年であり、登熟時の気温が高く、一般品種のアミロース含量の水準は極めて低かった。

結 果

(1) 異なる *Wx* 遺伝子を有する同質遺伝子系統の育成

Table 9には、戻し交雑で育成した BC-1から BC-30までの30系統について、BnF₂集団の梗個体のアミロース含量の系統内分布を示した。これによると、P6とP7を1回親とする6系統（BC-6, -7, -16, -17, -26, -27）およびP9を1回親とする BC-19を除いた残り23系統のアミロース含量は、それらのほとんどが23~24%に集中する分布を示した。これに対して、P6とP7を1回親とする6系統のアミロース含量は27~28%であり、明らかに他の系統に比べて高アミロース性であった。BC-19では、系統内の個体間変異が大きく、他の個体に比べて著しく低アミロース性の個体を分離したが、同じくP9を1回親とする他の2系統（BC-9, BC-29）では、このような分離を生じなかった。

Table 9には、1回親のアミロース含量を示したが、低アミロース性親からの *Wx* 遺伝子をもつ同質遺伝子系統のアミロース含量は、いずれの系統

もそれらの1回親より高かった。これに対して、高アミロース性の1回親とその *Wx* 遺伝子を保有するとみられる同質遺伝子系統は、いずれもアミロース含量が高く、25~26%の値を示した。

P6とP7を1回親とする6系統のアミロース含量の平均値は27.7%で、その他の24系統の平均値23.9%に比べると3.8%高かった。また、P6とP7を1回親とする系統以外の系統群について遺伝的背景毎にまとめた平均値は、おんねもちが23.8%、道北糯18号が23.5%、渡育糯213号が24.5%であり、おんねもち群と渡育糯213号群の差でさえわずか0.7%に過ぎなかった。

各系統内におけるアミロース含量の個体間変異は、BC-19を除いて、その幅は3%以内であった。早生のおんねもちの遺伝的背景における変動が他の2品種に比べてやや大きい傾向がみられた。

BC-19において分離した低アミロース個体の玄米では、その1回親のNM-391の表現型に類似し、やや不透明であった。

次に1984年の結果をTable 10に示した。1983年とはほぼ同様の結果が得られたが、P6とP7をそれぞれ1回親とする高アミロース群では、アミロース含量の平均値が26.7%で、前年の27.7%に比べると約1%の低下がみられたの対し、他の系統では、1983年の23.9%に対して20.9%となり、3%の低下となった。このため、両群間の差は、1983

Toiku-mochi-213									
Isogenic line (BC-No.)									
21	22	23	24	25	26	27	28	29	30

1				1					
7	12	12	2	9			10	9	8
1									
					3	2			
					6	10			
					3				

9	12	12	2	10	12	12	10	9	8
24.4	24.4	24.5	24.5	24.3	27.4	27.1	24.4	24.5	25.0
0.54	0.17	0.16	0.10	0.30	0.57	0.21	0.20	0.17	0.20

Table 10. Amylose content and heading date of *Wx* isogenic lines in 1984

Recurrent parent	Onne-mochi			Dohoku-mochi-18			Toiku-mochi-213		
	<i>Wx</i> donor parent	Strain No.	Heading date	Amylose content Mean \pm S.D.	Strain No.	Heading date	Amylose content Mean \pm S.D.	Strain No.	Heading date
Century Patna 231	BC-1	July 23	20.4 \pm 0.40	BC-11	July 25	21.0 \pm 0.31	BC-21	Aug. 3	20.9 \pm 1.05
Koshihikari	- 2	22	19.7 \pm 0.31	-12	27	20.5 \pm 0.63	-22	3	21.9 \pm 0.72
Hokuriku 110	- 3	24	19.0 \pm 0.31	-13	28	20.5 \pm 0.62	-23	3	22.3 —
Hashirinishiki	- 4	23	20.8 \pm 0.65	-14	27	20.8 \pm 0.49	-24	3	21.8 \pm 0.53
N8 ES No. 58	- 5	21	18.9 \pm 0.42	-15	22	19.5 \pm 0.90	-25	3	— —
Arpa Saly	- 6	20	26.0 \pm 0.61	-16	27	26.6 \pm 1.42	-26	2	25.6 \pm 0.70
Jokei 6487	- 7	22	27.3 \pm 0.34	-17	27	27.4 \pm 1.10	-27	2	27.3 \pm 0.31
Hokkaiwase 1	- 8	23	19.8 \pm 0.63	-18	28	20.4 \pm 0.72	-28	3	22.7 \pm 0.53
NM-391	- 9	24	20.3 \pm 0.53	-19	28	20.8 \pm 0.28	-29	4	23.4 \pm 0.42
SM-1	-10	23	20.7 \pm 0.78	-20	26	20.8 \pm 0.27	-30	4	23.0 \pm 0.24
Mean ¹⁾		July 22.9	20.0 \pm 0.50		July 26.4	20.5 \pm 0.53		Aug. 3.4	22.3 \pm 0.58
Mean ²⁾		July 21.0	26.7 \pm 0.48		July 27.0	27.0 \pm 1.26		Aug. 2.0	26.5 \pm 0.51

- 1) Mean for low amylose strains.
- 2) Mean for high amylose strains (BC-6, 7 BC-16, 17 and BC-26, 27).

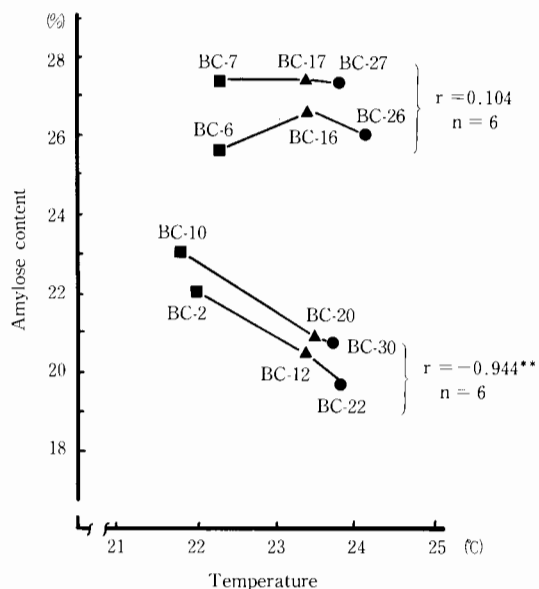


Fig. 5. Relation between the mean temperature during the ripening period (40 days after heading) and amylose content in *Wx* isogenic lines.

Table 11. Variance analysis for amylose content in *Wx* isogenic lines in 1984

Recurrent parent	Source	d. f.	S. S.	M. S.	F
Onne-mochi	Inter-line	7	30.731	4.390	14.917**
	Intra-line	53	15.596	0.294	
	Total	61	46.327		
Dohoku-mochi 18	Inter-line	7	12.942	1.849	5.8065**
	Intra-line	61	19.422	0.318	
	Total	68	32.364		
Toiku-mochi 213	Inter-line	5	30.613	6.123	14.683**
	Intra-line	32	13.335	0.417	
	Total	37	43.948		

** : Significant at the 1% level.

活性な酵素を生成し、その結果としてアミロースが合成されないと考えられている。

最近、イネでもこの *wx* 座の遺伝子産物 (*Wx* 蛋白) に関する解析が進み、糯性では、この *Wx* 蛋白が全く生成されないか、あるいは生成量が極めて少ないこと、また粳性には、*Wx* 蛋白の生成量の多い *Wx^a* 遺伝子と生成量の少ない *Wx^b* の 2 種類があり、*Wx^a* は高アミロース性インド型品種群に、*Wx^b* は低アミロース性の日本型品種群に多く見られることが明らかになった (Sano 1984)。

本実験においては、戻し交雑によって高アミロース性の 2 系統からの *Wx* を入れた同質遺伝子系統が、他の系統に比べて明らかに高アミロース含量を示したことから、これらの *Wx* 遺伝子が高アミロース性の発現に関与していることが強く示唆された。これら 2 種の 1 回親のうち、Arpa Saly はソ連原産の高アミロース品種であり、上系 6487 はポルトガル (原産地不詳) なる外国稲から由来しているので、これらの品種の *Wx* 遺伝子が *Wx^a* と同一である可能性が極めて強い。

これに対して、その他の 1 回親から導入された *Wx* 遺伝子をもつ同質遺伝子系統のアミロース含量はいずれも 1 回親より高含量で、かつ、系統間差が極めて小さく、互いにはほぼ似た値を示した。したがって、本実験に用いられた低アミロース性

系統のもつ *Wx* 遺伝子は、アミロース含量から推定する限り、すべて Sano (1984) の *Wx^b* に相当するとみてよい。ただ、これらの系統間には、極めてわずかではあるが、アミロース含量に差異が認められた。これが、*Wx* 遺伝子の何らかの構造的差異を反映することは否定できない。しかし、観察された系統間差異が、3 品種の遺伝的背景を通じて再現性の認められないこと、また、後述するように、低アミロース性の同質遺伝子系統では登熟温度によるアミロース含量の変動が認められることなどから、これらの系統間差異は環境変動によると考えられる。

イネの低アミロース性突然変異には、前述の *Wx* 座とは独立の *dull* 遺伝子 (*du-1*, *du-2*, *du-3*) と *wx* 座に生じた低アミロース性の突然変異が知られているが (天野 1984, 矢野ら 1984), 本実験の結果から、3 種の低アミロース性突然変異遺伝子がすべて *wx* 座とは独立であることが示された。農林 8 号から誘発された低アミロース突然変異体については、すでに Okuno ら (1983) により、*wx* 座と独立であることが明らかにされているが、本論では *du-b*(t) と仮称する。NM-391 と SM-1 の低アミロース性については、*wx* 座とは独立で、かつ互いに独立な 2 種の低アミロース性遺伝子の関与することが、次節の交雑実験から明らか

となった。

一方、北海道品種と府県品種の間にみられるアミロース含量の差異に関しては、同一の登熟温度条件下では両者のアミロース含量に顕著な差が認められないことから、アミロース含量に関する大きな遺伝的差異は存在しないと考えられている(佐々木ら1980, 江部1982)。本実験の結果も、*Wx* 遺伝子に関して、この考えを支持するものであり、北海道品種の *Wx* 遺伝子は、コシヒカリのような本州の低アミロース品種と同一である可能性が高く、このことは、今後、北海道における低アミロース育種を進める上で重要な知見と言えよう。

2) F₂集団における分析

緒 言

前節において、SM-1, NM-391およびN8ES No. 58の有するそれぞれの低アミロース遺伝子が *wx* 座とは独立であること、また、コシヒカリや北海

早生1号などの有する低アミロース性にも *wx* 座以外の遺伝子(系)の関係することが示された。

本節では、SM-1およびNM-391の低アミロース性や、高アミロース性突然変異に関与する遺伝子分析を行った。また、北海道品種で比較的低アミロース含量の低い農林20号と、比較的高いイシカリとの間で交雑実験を行い、アミロース含量に関する遺伝変異の解析を試みた。

材料および方法

供試系統とその特性を Table 12に示した。前述のように、SM-1はしおかりから誘発された低アミロース性突然変異体の後代系統であり、そのアミロース含量は原品種の約80%にまで減少している。K-583067は農林8号の低アミロース性突然変異系統であるN8ES No. 58にイシカリを交配して育成された低アミロース系統である。永系84268はNM-391と道北36号から同様にして育成された低アミロース系統であり、NM-391に由来する低アミロース遺伝子を保有していると推定され

Table 12. strains used in the experiment

Strain	Amylose type	Origin or marker genes
Low amylose strains		
SM-1	Low	Mutant induced from Shiokari
K-583067	do.	F ₈ line (N8 ES No.58×Ishikari), dull endosperm
E-84268	do.	F ₅ line (NM-391×Kitaake). dull endosperm
High amylose strains		
K-594583	High	M ₁ mutant from T-214×K-114
K-60202	do.	M ₁ mutant from (T-214×K-110) × K-114
Cultivars (Hokkaido)		
Norin 20	Intermediate	
Ishikari	do.	
Shiokari	do.	
Linkage testers		
A-5	Intermediate	C ^{Bp} A Rc Rd I-Bf ⁺
A-58	Glutinous	<i>wx</i> C ^B A Pr Pn Ph
H-59	do.	<i>wx</i> lg d-2
H-69	Intermediate	C ^{Bp} A nl-1 gl-1
H-143	do.	st-2
H-337	High	Cl gl-1
<i>Wx</i> isogenic lines		
BC-16- <i>wx</i>	Glutinous	<i>wx</i>
BC-17	High	High amylose <i>Wx</i>
BC-19	Intermediate	Normal amylose <i>Wx</i>
BC-19- <i>du</i>	Low	Dull endosperm originated from NM-391

Table 13. List of cross combinations used

No.	Cross combination	No. of F ₂ plants	Tested Generation	Year of experiment
1.	Norin 20 × Ishikari	281	F ₂ , F ₃	1981, 1982
2.	Shiokari × SM-1	170	F ₂ -F ₄	1982-1985
3.	SM-1 × A-5	81	F ₂ , F ₃	1983, 1984
4.	H-59 × SM-1	84	F ₂ , F ₃	1983, 1984
5.	H-69 × SM-1	161	F ₂ , F ₃	1983, 1984
6.	H-143 × SM-1	124	F ₂	1985
7.	SM-1 × K-583067	264	F ₂	1985
8.	SM-1 × E-84268	172	F ₂	1985
9.	BC-19-du × BC-19	351	F ₂	1985
10.	BC-19-du × BC-16-wx	428	F ₂	1985
11.	BC-19-du × BC-17	208	F ²	1985
12.	Shiokari × H-337	357	F ₂	1979
13.	K-594583 × A-5	249	F ₂	1985
14.	K-594583 × A-58	270	F ₂	1985
15.	K-594583 × K-60202	203	F ₂	1985

Table 14. Amylose and protein contents and five agronomic characters

Strain or population	Heading date	Culm length (cm)	Panicle length (cm)	No. of panicles	1000-grain weight (g)	Amylose content (%)	Protein content (%)
SM-1	Ang. 1	47.4	14.2	24.0	19.1±1.04	13.9±0.45	12.7±0.26
Shiokari	Ang. 7	60.8	17.1	19.1	19.9±1.26	20.0±0.79	10.7±0.43
F ₁ (SM-1 × Shiokari)	Ang. 1	43.2	12.5	23.6	21.1±1.18	19.6±0.11	12.2±0.34

る。BC-16-*wx* は前節の BC-16 の B₅F₂ 集団の糯個体に由来する糯系統であり、その遺伝的背景は道北糯18号である。

A-5, H-59, H-69, H-143 および H-337 はいずれも北大検定系統である。

遺伝子分析に供した交雑組合わせを Table 13 に示した。F₂ 集団は個体単位に栽植し、成熟期に個体毎に収穫してアミロース含量や蛋白含量の分析に供した。

結 果

(1) しおかり突然変異 (SM-1) の有する低アミロース性および早生化に関する遺伝子分析

Table 14 には、SM-1 とその原品種のしおかり、およびそれらの F₁ 植物の特性とアミロース含量、蛋白含量を示した。SM-1 はしおかりに比べて1週間程度早生化し、稈長、穂長も短かった。玄米

千粒重はほぼ等しいかわずかに小粒で、アミロース含量は原品種の約70%に低下した。蛋白含量は原品種より約19%多く、高蛋白となった。しおかり × SM-1 の F₁ 植物では、出穂は SM-1 と同じになり、原品種よりも早かった。稈長、穂長なども SM-1 に近い値であった。千粒重は両親より 1 ~ 2 g 重かった。アミロース含量はしおかりよりやや低かったが、ほとんど差は認められなかった。蛋白含量はしおかりよりも高く、SM-1 と同程度の値を示した。

Fig. 6 には、しおかり × SM-1 の F₂ におけるアミロース含量の変異を示した。いずれの集団も連続分布を示したが、しおかりより低アミロースのものが分離しており、集団 B では、15~16% と 18~19% の 2 箇所頂点を有する 2 頂分布となり、ほぼ 17% を境に、低アミロース群と正常群の 2 つに分けられた。

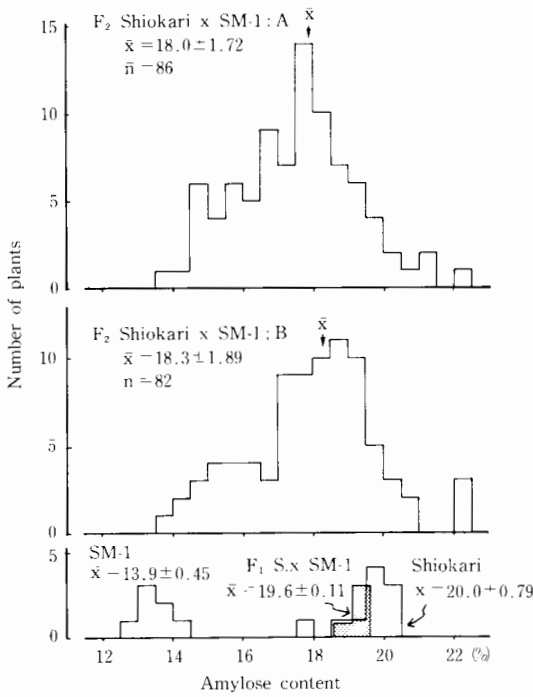


Fig. 6. Frequency distribution of amylose content in the F₁ and F₂ populations of the cross, Shiokari (S) × SM-1.

また、F₂個体の出穂日（主稈の出穂日）については Fig. 7のような分布が得られ、8月6日を境に、早生群と晩生群の2分が可能となった。

出穂日群毎に、アミロース含量について F₂個体の群別を試みた結果を Table 15に示した。出穂日のクラスが(3)~(5)の晩生群ではアミロース含量が17%未満の個体はみられなかったが、A, Bいずれの集団においても、正常アミロース群と低アミロース群の個体数が3 : 1の比率に適合した。そこでSM-1の低アミロース性が単純劣性遺伝子 *lam* (t)によって支配されるとする遺伝子仮説をたてて F₃の後代検定を行った。

一方、F₂の出穂日の分布から、SM-1の早生性には単純優性遺伝子の関与が推定された。この仮説を確かめるためにも、F₃後代検定を行った (Table 16)。F₂全個体 (168個体) について、それぞれ20~24個体からなる F₃系統を養成して、2日毎に出穂調査を行い、F₃系統をその出穂パターンから

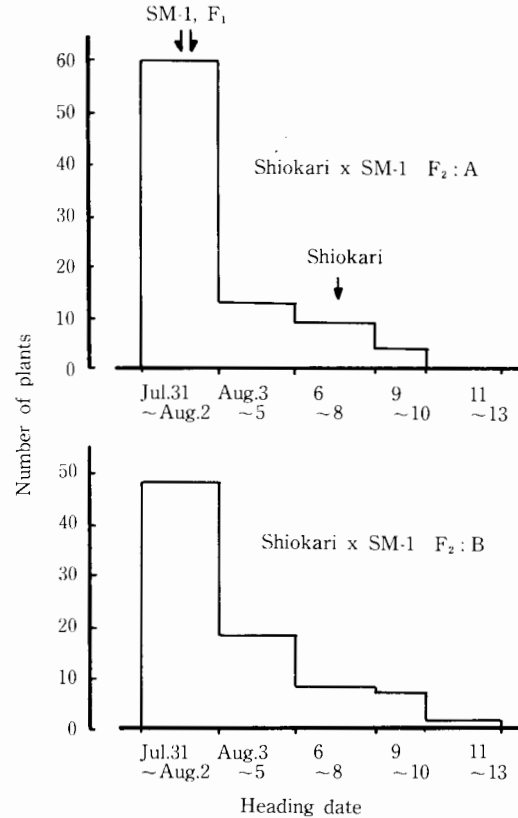


Fig. 7. Frequency distribution of heading date in the F₂ population of the cross, Shiokari × SM-1.

早生固定、早生~晩生分離、および晩生固定の3種類に分類したところ、一対の遺伝子による1 : 2 : 1の比に適合した。したがって、SM-1は優性の早生遺伝子、*Ef* (t)を有することが明らかとなった。F₃検定から、前年の F₂の遺伝子を推定したところ、出穂クラス(1), (2)では *Ef*(t) *Ef*(t) または *Ef* (t) + であり、(3), (4)では ++ であり、F₂で誤判別をした個体は全体でわずか3個体であった。

次に、F₃系統の中から、早生固定、分離および晩生固定の3種を層別に合計20系統を抽出し、それらのアミロース含量を個体単位で測定した。その結果、アミロース含量について低アミロース固定、分離および正常固定の3種に分類できた (Fig. 8)。これらの F₃代について、アミロース型と出穂型の同時分離を調べたところ、Table 17に示した

Table 15. Relation between amylose content and heading date in F₂ of the cross, Shiohari × SM-1

Cross	Heading date in F ₂	Amylose content in F ₂		Total	Goodness of fit (3 : 1)	
		≥17%	<17%		x ²	P.
		+, +, + lam(t)	lam(t) lam(t)			
A	(1)July 31-Aug. 2	41	19	60	0.140	0.7-0.8
	(2)Aug. 3-Aug. 5	9	4	13		
	(3)Aug. 6-Aug. 8	9	0	9		
	(4)Aug. 9-Aug.10	4	0	4		
	Total (A)	63	23	86		
B	(1)July 31-Aug. 2	35	13	48	0.797	0.3-0.5
	(2)Aug. 3-Aug. 5	14	4	18		
	(3)Aug. 6-Aug. 8	8	0	8		
	(4)Aug. 9-Aug.10	7	0	7		
	(5)Aug.11-Aug.13	1	0	1		
Total (B)	65	17	82			
Total (A + B)		Obs. 128	40	168	0.127	0.7-0.8
		Cal. 126.0	42.0	168.0		
		(3 : 1)	Homogeneity x ² =0.809, d.f.=1, P=0.3-0.5			

Table 16. F₃ progeny tests for heading date in the cross of Shiohari × SM-1

Cross	Heading date in F ₂	Estimated genotype in F ₂	Segregation in F ₃ line			Total	Goodness of fit (1 : 2 : 1)		
			Early fixed		Segregation		Late fixed	x ²	P
			Ef(t)	Ef(t)	Ef(t)+		++		
A	(1)July 31-Aug. 2	Ef(t) Ef(t), Ef(t)+	18		40	2	60	3.558	0.1-0.2
	(2)Aug. 3-Aug. 5		2		11	0	13		
	(3)Aug. 6-Aug. 8	+ +	0		0	9	9		
	(4)Aug. 9-Aug.10		0		0	4	4		
	Total(A)		20		51	15	86		
B	(2)July 31-Aug. 2	Ef(t) Ef(t), Ef(t)+	19		29	0	48	2.171	0.3-0.5
	(2)Aug. 3-Aug. 5		4		14	0	18		
	(3)Aug. 5-Aug. 8	+ +	0		0	8	8		
	(3)Aug. 6-Aug.10		0		0	7	7		
	(5)Aug. 9-Aug.13		1		0	0	1		
Total(B)		24		43	15	82			
Total (A+B)		Obs.	44		94	30	168	4.714	0.05-0.1
		Cal.	42.0		84.0	42.0	168.0	Homogeneity x ² =2.892, d.f.=2, P=0.2-0.3	

Table 17. Segregations of amylose content and heading type in the F₃ lines of the cross, Shiokari × SM- 1.

line	Segregation				Total	Goodness of fit			Estimated F ₂ genotype
	Early		Late			Ratio	x ²	P	
	Normal	Low	Normal	Low					
3525	13	10	0	0	23	3 : 1	4.19	0.02-0.05	<i>Ef(t) Ef(t) + lam(t)</i>
3535	17	6	0	0	23	do.	0.01	0.9-0.95	do.
3537	19	4	0	0	23	do.	0.71	0.3-0.5	do.
Total	49	20	0	0	69	do.	0.58	0.3-0.5	
3517	0	24	0	0	24	-			<i>Ef(t) Ef(t) lam(t) lam(t)</i>
3528	0	24	0	0	24	-			do.
3510	15	0	7	0	22	3 : 1	0.55	0.3-0.5	<i>Ef(t) + + +</i>
3522	0	16	0	8	24	3 : 1	0.89	0.3-0.5	<i>Ef(t) + lam(t) lam(t)</i>
3548	0	18	0	6	24	do.	0		do.
3551	0	15	0	9	24	do.	2.00	0.1-0.2	do.
Total	0	49	0	23	72	do.	1.85	0.1-0.2	
3505	15	4	3	1	23	9:3:3:1			<i>Ef(t) + + lam(t)</i>
3507	13	3	2	4	22	do.			do.
3514	14	2	5	2	23	do.			do.
3519	13	4	5	1	23	do.			do.
3520	12	5	5	0	22	do.			do.
3527	10	7	4	3	24	do.			do.
3538	7	7	5	3	22	do.			do.
Total	84	32	29	14	159	do.	2.17	0.5-0.7	
3573	0	0	24	0	24	-			<i>+ + + +</i>
3570	0	0	21	3	24	3 : 1	2.00	0.1-0.2	<i>+ + + lam(t)</i>
3571	0	0	0	22	22	-			<i>+ + lam(t) lam(t)</i>
3576	0	0	0	24	24	-			<i>+ + lam(t) lam(t)</i>

Table 18. Effect of the genes for earliness *Ef(t)* and low amylose endosperm *lam(t)* on the amylose content in the genetic background of Shiokari

Strain	Genotype				Heading date	Temperature(°C)		Amylose content (%)	Relative values		
						T1 ¹⁾	T2 ²⁾				
Shiokari	+	+	+	+	Aug. 8	24.8	21.1	20.8	100	-	-
A-16 ³⁾	+	+	<i>lam(t)</i>	<i>lam(t)</i>	Aug. 7	24.8	21.3	17.3	83	100	-
A-1 ³⁾	<i>Ef(t)</i>	<i>Ef(t)</i>	+	+	Aug. 3	25.0	22.4	18.9	91	-	100
A-8 ³⁾	<i>Ef(t)</i>	<i>Ef(t)</i>	<i>lam(t)</i>	<i>lam(t)</i>	Aug. 3	25.0	22.4	16.1	77	93	85

1), 2) Mean temperature for 20 and 40 days after heading, respectively.

3) Isogenic lines (F₅) derived from the cross, Shiokari × SM-1.

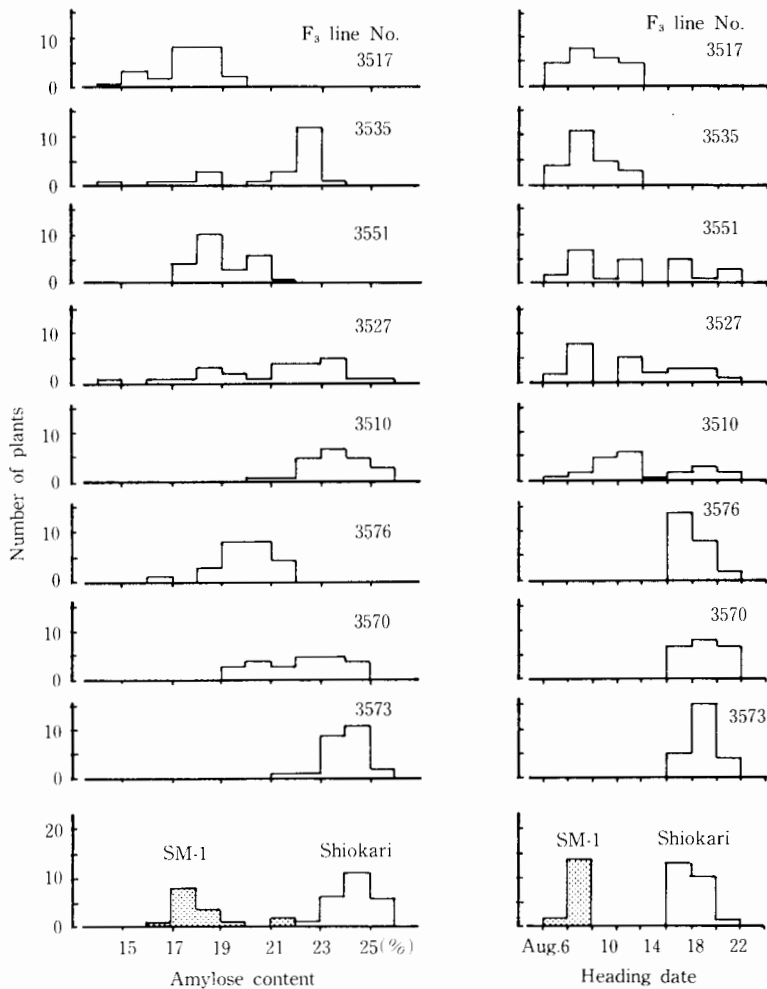


Fig. 8. Frequency distributions of amylose content and heading date in the F_3 lines from the cross, Shiokari \times SM-1.

ように、 $lam(t)$ と $Ef(t)$ なる2種の遺伝子による独立分離にもとづく仮説が満足された。この F_3 検定の結果、 F_2 で正常型と判定されていた2個体はいずれも $lam(t)$ を有していたことが明らかとなった。 $Ef(t)$ と $lam(t)$ の間の組換え型である $lam(t)$ 単独ではアミロース含量を原品種の83~85%に低下させ、また $Ef(t)$ 単独でも91~93%にまで低下させることが明らかとなった(Table 18)。これら両遺伝子の作用は累積的であり、 $Ef(t)lam(t)$ なる遺伝子型では77%にまで減少した。

$lam(t)$ と各連鎖群の標識遺伝子との連鎖関係

を明らかにするため、SM-1と4種の検定系統との間の交雑の F_2 集団について、アミロース含量を調べた。

まず、 wx をもつH-59との交雑では wx に関して、 $++$ 、 $+wx$ 、 $wxwx$ をほぼ1:2:1の比に分離し、 wx^+ ホモ群におけるアミロース含量は、SM-1程度のものが5個体、これより高かったものが17個体あり、ほぼ3:1の比に適合した(Fig. 9)。したがって、 wx と $lam(t)$ は独立の関係のあることが示された。

次に、Table 19に示した8個の標識遺伝子につ

Table 19. Relationship between amylose content and linkage markers in F_2 populations of the crosses involving SM-1,

Cross combination	Marker gene		Number of F_2 plants			Amylose content (Mean \pm S.D.)		Difference A-a	F-test	T-test
			A	a	Total	A	a			
SM-1 \times A-5	<i>Rd</i>	(III) ⁺	43	23	66	23.48 \pm 1.69	23.13 \pm 1.50	0.35	1.27	0.982
do.	<i>I-Bf</i>	(V)	63	18	81	23.00 \pm 1.66	25.02 \pm 1.18	-2.02	1.99	4.807**
do.	<i>Rc</i>	(IV)	66	15	81	23.36 \pm 1.62	23.85 \pm 2.37	-0.49	2.14*	0.963
H-69 \times SM-1	<i>C</i>	(I)	119	42	161	24.06 \pm 1.88	23.68 \pm 1.83	0.38	1.05	1.134
do.	<i>fs-1</i>	(VI+IX)	113	43	156	24.11 \pm 1.69	23.64 \pm 2.31	0.47	1.87**	1.403
do.	<i>nl-1</i>	(VI+IX)	126	35	161	24.40 \pm 1.53	22.39 \pm 2.07	2.01	1.82**	6.332**
H-143 \times SM-1	<i>gh-1</i>	(VI+IX)	97	27	124	24.88 \pm 1.21	25.21 \pm 0.72	-0.33	2.75**	1.348
do.	<i>st-2</i>	(VI+IX)	100	23	123	25.07 \pm 1.03	24.42 \pm 1.41	0.65	1.88*	2.539*

*, ** : Significant at the 5% and 1% levels, respectively.

⁺ : Linkage group.

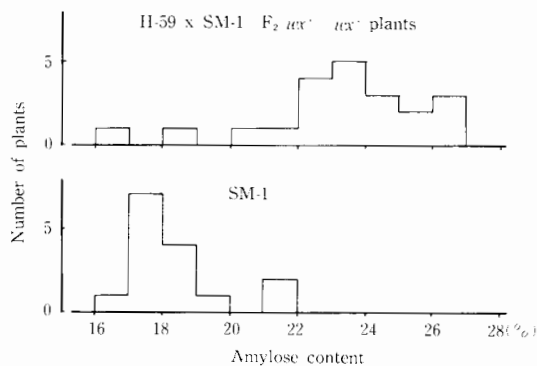


Fig. 9 Frequency distribution of amylose content in glutinous plants of the F_2 population of the cross, H-59 \times SM-1.

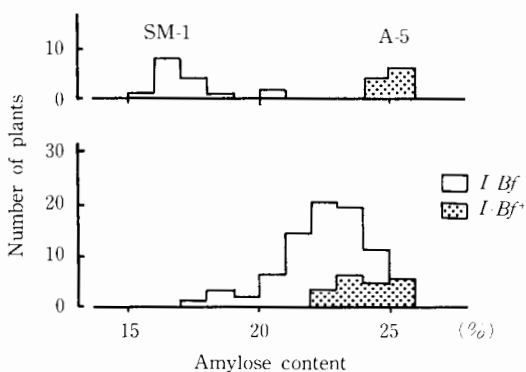


Fig. 10. Frequency distributions of amylose content in F_2 population of the cross, SM-1 \times A-5 (Akamuro).

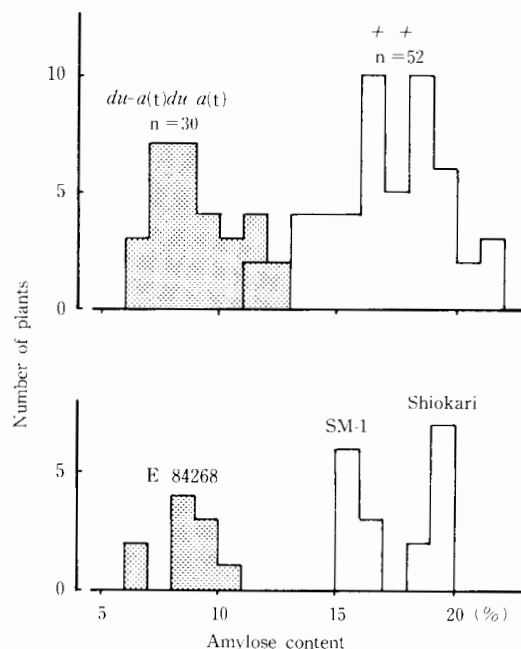


Fig. 11. Frequency distributions of amylose content in $du-a(t) du-a(t)$ and $++$ of F_2 plants of the cross, SM-1 \times E-84268 and the parental strains.

