

1. 穂発芽研究の最新成果と今後の方向

1-1 穂発芽耐性研究の現状

作物研究所・麦類研究部・麦類栽培生理研究室 中 村 信 吾

1. はじめに

2004年度は、Workshop on Molecular Aspects of Germination and Dormancy と 3rd International Symposium on Plant Dormancy がオランダで5月に、また、6月には第10回国際穂発芽シンポジウムがイギリスで開かれるなど、穂発芽や種子の休眠などに関連する大きな国際シンポジウムが相次いで開かれる年となった。シンポジウムではそれぞれシロイヌナズナやコムギを中心とした種子の発芽や休眠に関する最新の研究成果が発表された。この中でようやくモデル植物のシロイヌナズナの種子休眠形質のQTL解析からの遺伝子の単離が報告されるなど、幾つかの種子休眠に関する新たな遺伝子の単離に関する報告がなされて話題になった。そこで、ここでは、それぞれのシンポジウムで発表された最新の種子休眠や穂発芽に対する研究成果の中でも種子休眠に関わる遺伝子の単離に関する幾つかのトピックとコムギ種子休眠形質のQTL解析に関する話題を簡単に紹介したい。

2. シロイヌナズナの発芽遅延に関するQTL解析からの遺伝子単離

モデル植物であるシロイヌナズナの種子休眠形質に関するQTL解析は、オランダのWageningen大学のMaraten Koornneefらが中心となって進めている (Leonie Bentsink and Maarten Koornneef, 2002, Maarten Koornneef et al., 2002)。彼らは最初実験室でよく用いられるシロイヌナズナのエコタイプColumbiaやLansberg erectaを用いて種子休眠のQTL解析を試みたが、それらエコタイプの種子休眠性はあまり強くないため作用力の小さなQTLが多数検出され、漠然とした結果に終わってしまっている (Wybe Van Der Schaar et al., 1997)。そこで、彼らはシロイヌナズナの中でも非常に休眠性の強いエコタイプCape Verde Islands (Cvi)を用いて発芽遅延形質に関するQTL解析を行った。その結果、Cviの発芽遅延に関わるQTLを7カ所を見つけた (Carlos Alonso-Blanco et al., 2003)。オランダのワークショップでは、それらQTLのうち作用力の一番大きなQTLであるDOG1の原因遺伝子DOG1のクローニングに成功したことを報告している (Maarten Koornneef, 2004)。単離された遺伝子は、コムギのある転写因子と極弱い相同性があったものの配列からその遺伝子機能が推定できない機能未知の遺伝子であったことが報告されている。配列の方は、残念ながらただちには公表されず、当面彼らの研究室でDOG1遺伝子機能の研究を進めていく方針のようである。この遺伝子の相同遺伝子が、普遍的に高等植物に存在して、コムギにおいてもシロイヌナズナと同様に発芽遅延や種子休眠性などに係わっているのかどうか、今後の報告に興味を持たれるところである。

3. イネの種子休眠性に関するQTL解析からの遺伝子の単離

双子葉植物のモデル植物であるシロイヌナズナに対して、単子葉植物のモデル植物となったイネにお

いてもすでに幾つかのグループにより種子休眠形質に関する QTL 解析がなされ数十に上る Q T L が同定されている (Lin SY. et al., 1998, H.-W. Cai and Hiroko Morishima 2000, Xing-You Gu et al., 2004)。そのかなでも、農業生物研究所の矢野らは、「カサラス x 日本晴」の組み合わせによる種子休眠形質の QTL 解析を行い、5 つの QTL (Sdr1 ~ 5) を同定し精密マッピングを行っている (Y. Takeuchi, et al., 2003, Yoshinobu Takeuchi and Masahiro Yano, 2004)。さらにそれら QTL の中でももっとも作用力の強い Sdr1 の原因遺伝子 *Sdr1* 遺伝子が、2.5kb のゲノム断片長にまで絞り込まれ、*Sdr4* 遺伝子についてもポジショナルクローニングが進行中であることが報告されている (矢野, 2004, Yoshinobu Takeuchi and Masahiro Yano, 2004)。2.5kb というとはほぼ 1 遺伝子の領域に絞り込まれていると思われ、この遺伝子の単離は時間の問題だと考えられる。同じイネ科のコムギにも相同遺伝子が存在する確立は高く、コムギの対応する遺伝子が明らかになればコムギの種子休眠の解明にも役立つと考えられる、今後のこれら遺伝子の単離の発表が待たれる。

4. アブシジン酸 (ABA) 代謝酵素遺伝子の単離

アブシジン酸は種子休眠に深く関わる植物ホルモンとして知られている。これまでに ABA の生合成に関わる遺伝子に関しては詳しく調べられ、ほとんど全ての生合成関連遺伝子が明らかになっているが、その代謝に関わる遺伝子については明らかにされていなかった (Mitsunori Seo and Tomokazu Koshiba, 2002)。このアブシジン酸の代謝に関わる *ABA 8'-hydroxylase* 遺伝子がシトクローム P450 モノオキシゲナーゼファミリーの中の CYP707A に属す 4 つの遺伝子 (CYP707A1 ~ A 4) であることが、日本の 2 つのグループから相次いで報告された (Tetsuo Kushiro et al., 2004, Shigeki Saito et al., 2004)。シロイヌナズナの乾燥種子中では、この 4 つの遺伝子のうち CYP707A2 のみが強く発現しており、この遺伝子が欠損したシロイヌナズナの突然変異体では、種子の ABA 含量が高まり、発芽が抑制されることが報告されている。こうした知見はコムギにも応用できるかもしれない。しかし、種子発芽に対する A B A による抑制効果と休眠との関係が、シロイヌナズナとコムギでは異なっている可能性があるため、ABA の内生量を増やしただけで、コムギでもシロイヌナズナと同じように発芽抑制がおこるかどうかはわからない。シロイヌナズナの種子の場合は、休眠打破後も種子の ABA 感受性が保持され ABA を与えられれば休眠が破れていても発芽がおこらなくなる性質を持っているが、これに対し、コムギ種子の場合は、休眠が破れた種子は ABA の感受性も失われ A B A を与えても発芽してしまうことが知られている。そのため、ABA 代謝酵素を壊して A B A の内生量がコムギ種子で仮に高まった場合でも、もし、A B A の感受性の方が先に失われてしまうのであれば、コムギではシロイヌナズナと同じ結果が得られない可能性もある。今後、コムギの A B A 代謝酵素の解析が進み、A B A 代謝酵素が欠損した突然変異体や、RNAi 法によりこの代謝酵素遺伝子の発現が抑制された形質転換体を作出することなどによって、コムギでも A B A 代謝酵素がどこまで発芽抑制に関わることができるのかが明確になっていくと考えられる。

また、オーストラリアの CSIRO の Frank Gubler らが、オオムギの吸水後の種子の ABA の内生量に注目して研究を進め、休眠種子でも非休眠種子でも吸水後の胚の ABA の量は漸次減るが、減少した後の ABA 内生量は、休眠種子の方が非休眠種子に比べて約 2 倍高い値になることを第 10 回国際穂発芽シンポジウムにおいて報告している (Frank Gubler et al., 2004)。この過程で、ABA 生合成の律速段階とな

る *NCED* 遺伝子及び上記の *ABA 8'-hydroxylase* 遺伝子の発現量を休眠種子と非休眠種子の間で Real-TimePCR法を用いて調べ、それぞれの発現量の変化がABA量に対応していることを示している。こうしたことから、吸水後の休眠種子の胚ではABAの量がある一定値以上に保たれるよう制御されているのではないかということが示唆される。

5. コムギ粒色遺伝子R遺伝子の単離

白粒が赤粒より一般的に休眠性が弱い傾向にあることが言われてきたが、岡山大の野田らにより赤粒白粒を決定しているR遺伝子がMyb型の転写因子であることが第10回国際穂発芽シンポジウムにおいて報告された (Eiko Himi and Kazuhiko Noda, 2004)。詳しいことは今号の栗原による総説に譲るが、この遺伝子の単離により今後休眠性に対する粒色効果の詳しい解析が進むと考えられる。

6. コムギ種子休眠のQTL解析

コムギの休眠形質についても様々な品種の組み合わせによるQTL解析の結果が多数報告されるようになってきた。今回の国際穂発芽シンポジウムでも、Maresら等幾つかのグループからコムギ種子休眠に関するQTL解析の結果が報告されている (D. Mares et al., 2004)。今回 Mares らは、赤粒白粒を含む12品種を用いた休眠性強と弱の品種間の7つの交配組み合わせを用いてQTL解析を行いどの組み合わせにおいても4ALに種子休眠のQTLが見いだされたということを報告している。そのことから4ALのQTLは、種子休眠性に普遍的に関わっている重要なQTLではないかと推測している。日本においても帯広畜産大の三浦らによる日本の代表的な休眠性強の品種である「ゼンコウジコムギ」に「チャイニーズスプリング」を交配した組換え近交系統のQTL解析や北海道グリーンバイオの帛田らによる「きたもえ」と「Munstertaler」の組換え近交系統のQTL解析などが報告されている (M. Osa et al., 2003, Atsushi Torada et al., 2004)。帛田らは、彼らの見いだした4ALのQTLが、温室では検出できるのに圃場で育てた材料では検出できないことを述べている。種子の休眠性は、登熟環境によって変化することが知られていることから、このQTLの効果も登熟環境により影響を受けるものと考えられる。

コムギにおいてもシロイヌナズナやイネの例と同様に今後こうしたQTL解析の結果を基に、各QTLに対する準同質遺伝子系統を作ってQTL領域を絞り込みポジショナルクローニングという方向に研究の流れが進むものと思われるが、コムギの場合ゲノムサイズが16000Mbとシロイヌナズナの100Mb、イネの400Mbと比べて桁違いに大きいことや、シロイヌナズナやイネは全ゲノム配列の決定が完了しておりポジショナルクローニングも一昔前に比べれば非常に簡単になっているのに対し、コムギのゲノム配列情報は限られている現状を考えるとイネとのシンテニーや膨大なコムギEST情報を用いても遺伝子単離にまでは今しばらく時間がかかりそうではあるが、今後の展開が楽しみである。また、2倍体でゲノムサイズも5000Mbとコムギに比られば小さなゲノムサイズを持つ、同じコムギ族 (Triticeae) に属するオオムギの種子休眠形質のQTL解析もすでに幾つかの報告があるので (D. Prada et al., 2004)、同じように遺伝子単離を目指した研究が今後進んでいくと思われる。

7. まとめ

今回オランダで行われた種子休眠に関するワークショップでようやくモデル植物であるシロイヌナズナの種子休眠形質の QTL からの遺伝子単離の報告がなされた。イネからの遺伝子の単離の報告も間近だと考えられる。すぐに配列等が公表されないのは残念であるが、その遺伝子の特許性や農業上の応用性への重要性を考えてのことだと思われる。今後こうした遺伝子の働きについての研究が進んで行くであろう。

現状でどこまで種子休眠機構に対する研究が進んでいるのかといえ、これまでのところ種子休眠の仕組みについての研究は、コムギはもちろんのこと、モデル植物を含めた植物一般の種子休眠の調節機構に関しても断片的な情報しかなく全体像はよくわかっていないのが実状であると思われる。休眠や発芽に関わる植物ホルモンのアブシジン酸やジベレリンの生合成や代謝、シグナル伝達の仕組みに関する研究はシロイヌナズナを用いた研究により進み、発芽時のアルファアミラーゼによるデンプンの分解の仕組みについては古くからの詳細な研究がある。しかし、ではいったいどのような因子がそれら生合成系や代謝系、情報伝達系などの各因子を動かし種子の発芽制御をおこなっているのかについては未だ手つかずの分野となっている。休眠形質の QTL からの遺伝子単離などこれまでと違ったアプローチを用いた方法により新たな観点から遺伝子の単離が進めば、より根本的な休眠制御のメカニズムに関する研究が進む可能性がある。今後も様々なアプローチにより種子休眠機構の研究は進展していくであろうと思われるが、その中で、コムギの種子休眠性を決定している遺伝子に関しても徐々に解明が進んでいくものと思われる。

参考文献

- Atsushi Torada, Shojiro Ikeguch and Michiya Koike, 2004, Mapping and validation of PCR-based markers associated with a major QTL for seed dormancy in wheat, 10th International Symposium on pre-harvest sprouting in cereals, p33.
- Carlos Alonso-Blanco, Leonie Bentsink, Corrie J. Hanhart, Hetty Blankestijn-de Vries and Maarten Koornneef, 2003, Analysis of natural allelic variation at seed dormancy Loci of *Arabidopsis thaliana*, Genetics, vol. 164, p711-729.
- Eiko Himi and Kazuhiko Noda, 2004, Red grain colour gene (R) of wheat is a Myb-type transcription factor, 10th International Symposium on pre-harvest sprouting in cereals, p10.
- D. Mares, K. Mrva, J. Cheong, k. Williams, B. Cavallaro, E. Storlie, M. Sutherland and Z. Youchun, 2004, Genetic control of dormancy in white-grained wheats of diverse origin, 10th International Symposium on pre-harvest sprouting in cereals, p17.
- D.Prada, S.E.Ullrich, J.L.Molina-cano, L. Cistue, J.A.Clancy and I. Romagosa, 2004, Genetic control of dormancy in a Triumph/Morex cross in barley, Theor. Appl. Genet., vol. 109, p62-70.
- Frank Gubler, Anthony Millar, Fiona Woodger, Fiona Murray, Peter Matthews and John Jacobsen, 2004, Hormonal control of aleurone and embryo function during germination of barley grains, 10th International Symposium on pre-harvest sprouting in cereals, p7.

- H.-W. Cai and Hiroko Morishima, 2000, Genomic regions affecting seed shattering and seed dormancy in rice, *Theor. Appl. Genet.*, vol. 100, p840-846.
- Leonie Bentsink and Maarten Koornneef, 2002, Seed dormancy and germination, *The Arabidopsis Book*, p1-18.
- Lin SY, Sasaki T and Yano M, 1998, Mapping quantitative trait loci controlling seed dormancy and heading date in rice, *Oryza sativa* L., using backcross inbred lines, *Theor. Appl. Genet.*, vol.96, p997-1003.
- Maarten Koornneef, Leonie Bentsink and Henk Hilhorst, 2002, Seed dormancy and germination, *Current Opinion in Plant Biology*, vol.5, p33-36.
- Maarten Koornneef, Leonie Bentsink, Emile Clercx and Carlos Alonso-Blanco, 2004, The genetic analysis of seed dormancy in Arabidopsis, 3rd International Symposium on Plant Dormancy, p43.
- M.Osa, 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.*, vol. 106, p1491-1496.
- Mitsunori Seo and Tomokazu Koshiba, 2002, Complex regulation of ABA biosynthesis in plants, *Trends Plant Sci.*, vol.7, p41-48.
- Shigeki Saito, Nobuhiro Hirai, Chiaki Matsumoto, Hajime Ohigashi, Daisaku Ohta, Kanzo Sakata and Masaharu Mizutani, 2004, Arabidopsis CYP707As encode (+)-Absciscic acid 8'-Hydroxylase, a key enzyme in the oxidative catabolism of Absciscic acid, *Plant Physiol. Vol. 134*, p1439-1449.
- Tetsuo Kushiro, Masanori Okamoto, Kazumi Nakabayashi, Kazutoshi Yamagishi, Sayaka Kitamura, Tadao Asami, Nobuhiro Hirai, Tomokazu Koshiba, Yuji Kamiya and Eiji Nambara, 2004, The Arabidopsis cytochrome P450 CYP707A encodes ABA 8'-hydroxylases: key enzymes in ABA catabolism
- Xing-You Gu, Shahryar F. Kianian and Michael E. Forley, 2004, Multiple loci and epistases control genetic variation for seed dormancy in weedy rice (*Oryza sativa*), vol. 166, p1503-1516.
- Yoshinobu Takeuchi and Masahiro Yano, 2004, Fine mapping and characterization of quantitative trait loci controlling tolerance to pre-harvest sprouting in rice. 10th International Symposium on pre-harvest sprouting in cereals, p28.
- Y. Takeuchi, S.Y.Lin, T. Sasaki and M. Yano, 2003, Fine linkage mapping enables dissection of closely linked quantitative trait loci for seed dormancy and heading in rice, *Theor. Appl. Genet.*, vol.107, p1174-1180.
- W. Gao, J. A. Clancy, F. Han, D. Prada, A. Kleinhofs and S. E. Ullrich, 2003, Molecular dissection of a dormancy QTL region near the chromosome 7 (5H) L telomere in barley, *Theor. Appl. Genet.* vol. 107, p552-559.
- Wybe Van Der Schaar, Carlos Alonso-Blanco, Karen M. Leonkloosterziel, Ritsert C. Jansen, Johan W. Vanooijen and Maarten koornneef, 1997, QTL analysis of seed dormancy in Arabidopsis using recombinant inbred lines and MQM mapping, *Heredity*, vol.79, p190-200
- 矢野, 2004, イネにおける QTL解析とマーカー選抜育種 —現状と問題点—, 第29回作物研セミナー

1-2 種皮色変異系統を用いた、穂発芽関連遺伝子単離の試み

北海道農業研究センター・地域基盤研究部・適応生態研究室 栗原 志保

1. はじめに：種皮色と種子休眠性

小麦の種皮色は、フラボノイド生合成系を経て合成されるフロバフェンという色素による (Miyamoto and Everson 1958)。Kaneko ら (1994) は色素の抽出法を開発し、それは 450nm 付近にショルダーピークを有するスペクトルの色素であると報告している。また、種皮色を決定する因子は、古くから R 遺伝子座であると言われている (表 1)。A・B・D ゲノムに一つずつ座乗し、一つでも赤の因子を持つと表現型は赤粒となる。種皮は母親の組織なので、交配後、次世代が登熟するまで表現型はわからない。このような理由から、遺伝子型の決定は労力を要するが、F₂ 分離を調べ (実際は F₃ 種子の種皮色を見て) 品種の種皮色遺伝子型を決定した報告がある (Baker, 1981; Kaneko et al., 1994)。これまで、R 遺伝子座はその遺伝子単離には至っていなかったが、最近、第 10 回国際穂発芽シンポジウムにおいて、岡山大の野田らのグループによって、R 遺伝子は myb 系転写因子であるという報告がなされた (Himi and Noda, 2004)。

表 1. R 遺伝子座

座乗染色体	対立遺伝子座	
3 D L	R ₁ (R-D 1 b)	r ₁ (R-D 1 a)
3 A L	R ₂ (R-A 1 b)	r ₂ (R-A 1 a)
3 B L	R ₃ (R-B 1 b)	r ₃ (R-B 1 a)

- ・メンデルの遺伝をする。
- ・2 種類の表記法が使われてきた。
- ・種皮色なので、表現型は種子が登熟するまで分らない。

一般に小麦の白粒系品種は、赤粒系品種より種子休眠性や穂発芽耐性が低いことが知られている。色の良好な小麦粉を得るためには白粒系品種が有利と言われているが、湿潤な気候の我が国では、穂発芽耐性の強い品種が求められ、主要品種の殆どは赤粒品種である。

これまでに、種皮色の突然変異系統や準同質遺伝子系統を用いて、種皮色の休眠性や穂発芽耐性への影響を調べた報告例がある (Flintham 2000; Himi et al., 2002)。Flintham は、R 遺伝子座の明らかな赤粒 4 品種に対しイギリスの 4 品種を反復親にして 8 通り全ての R 遺伝子座構成パターンの準同質遺伝子系統を育成している。これらを圃場で栽培し収穫後ミスト処理をして穂発芽粒率を比較した結果、同じ品種をバックグラウンドに持つ系統内では赤粒が白粒よりも有意に低かった。また、分散分析により、品種の違い、種皮色の違い、及び品種と種皮色の違いの交互作用については有意差が見られる一方、赤粒間での R 遺伝子座構成の違いによる有意差は認められなかった。また、Himi らは、突然変異系統と準同質遺伝子系統を雨よけ栽培し、水と ABA 溶液で半切種子の発芽試験を行った。その結果、赤粒系統の方が白粒系統よりも休眠性が全体に少し高く、また、ABA による発芽抑制効果が大きかった。このことから、R 遺伝子座の効果は大きくはないが、ABA 感受性を高めることによって休眠性を高めることに貢

献している、と考察している。また、Flinthamは、温室栽培で準同質遺伝子系統の赤と白を成逆交雑したF₁種子と自殖種子の発芽試験を行った。この結果、胚のヘテロ型・ホモ型に関係なく、母親が赤の種子（種皮色の表現型が赤の種子）は休眠性が高かった。

それでは、どのようなメカニズムで種皮色が種子休眠性や穂発芽耐性に影響するのだろうか。赤い色素が物理的に種皮を硬くして発芽しにくくしていることや、色素が化学的に発芽抑制剤として働くことが考えられる。上記のFlinthamによる成逆交雑F₁種子の試験結果からは、これらのことが推測される。一方、R遺伝子がmyb系の転写因子である（Himi and Noda 2004）ならば、R遺伝子の発現が、種皮色を決定するフラボノイド生合成系の遺伝子群の発現に関連があるだけでなく、休眠性に関連する遺伝子の発現にも転写因子として働くことが推測される。いずれのメカニズムも、まだ証明されていない。

トウモロコシのvp1遺伝子は、胚のABA応答性とアントシアニン合成系の発現に多面的に関わっていることが報告されている（McCarty et al., 1989; Hattori et al., 1992）。vp1突然変異体の自殖穂の写真は、アリューロン層の紫と無色の種子が3：1のメンデル比に分離し、色の無い種子からは胎生発芽していて、非常に興味深い。シロイヌナズナや野生大豆など他の植物種でも休眠性と色の関係を示唆する報告がある（Debeaujon et al., 2000; Keim et al., 1990）。

2. 研究の目的

本研究の目的は、種皮色変異系統を用い、既知の休眠関連遺伝子の発現を解析して種皮色との関連性を調べること、また種皮色の違いに関連する穂発芽耐性関連遺伝子群を単離することである。得られた情報を、穂発芽耐性の高い白粒品種育成に資する。

3. 材料

(1) Cornell 595-W（白粒系統）とその種皮色の自然突然変異系統 Cornell 595-R（赤粒系統）。Cornell大学の Mark Sorrells 氏より分譲いただいた秋播小麦である。

(2) ゼンコウジコムギ（赤粒）とそのEMS処理による種子色突然変異2系統（M-8とM-12、白粒）（図1）。ゼンコウジコムギは長野県育成の春まき小麦で、穂発芽性極難である。M-8とM-12は北農研の incoming 規雄氏から分譲いただいた。ゼンコウジコムギにEMS処理を施し集団採種したM₃種子の中から白粒種子を選抜し、その中で表現型がゼンコウジに近かった系統である。

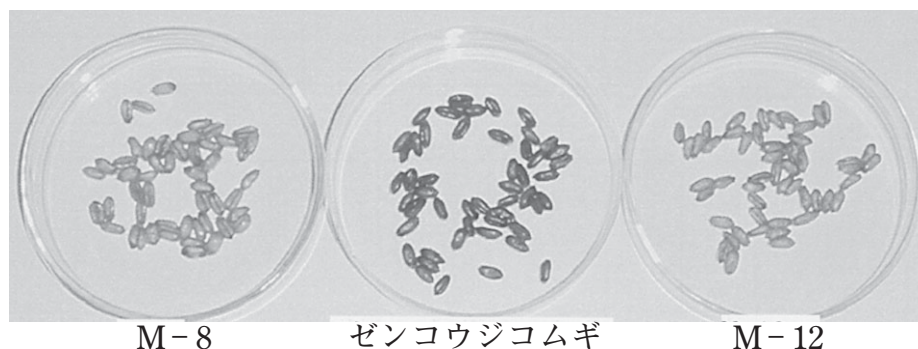


図1. ゼンコウジコムギ、およびそのEMS処理による種皮色変異系統 M-8とM-12（1NのNaOHで浸漬した）

4. 途中経過

(1) 雨よけ栽培試験と3ヶ年の圃場試験を行い、発芽試験、穂発芽粒率調査を行った。図2は、Cornell 595-Wと-Rを雨よけ栽培して収穫した種子を用い、20℃において発芽試験した結果である。最終発芽率はどちらも100%であったが、発芽勢に差が見られ、赤粒系統の方が白粒系統より発芽が遅かった。2003年、2004年にゼンコウジコムギとM-8・M-12を札幌羊ヶ丘圃場で栽培して立毛における穂発芽粒率を調査した。両年とも収穫期前から低温で降雨が多く、穂発芽が発生しやすい気象条件であった。8月中旬、ゼンコウジコムギが殆ど穂発芽しなかったのに対し、白粒変異系統は20～35%の穂発芽粒率であった。図3は、圃場で収穫した種子の12℃における発芽試験の結果である。2002年、2003年両年とも、ゼンコウジコムギが約50%の発芽率であったのに対し、白粒変異系統は100%近く発芽した。2004年の発芽試験は集計中である。猛暑の影響で種子休眠性は全体に低下していたが、白粒変異系統は過去2年の結果と同様に発芽しやすかった。以上の結果より、原品種・系統と種皮色変異系統の間で休眠性や穂発芽耐性に差異が見られ、これらの系統においては、種皮色が関連していると考えられた。

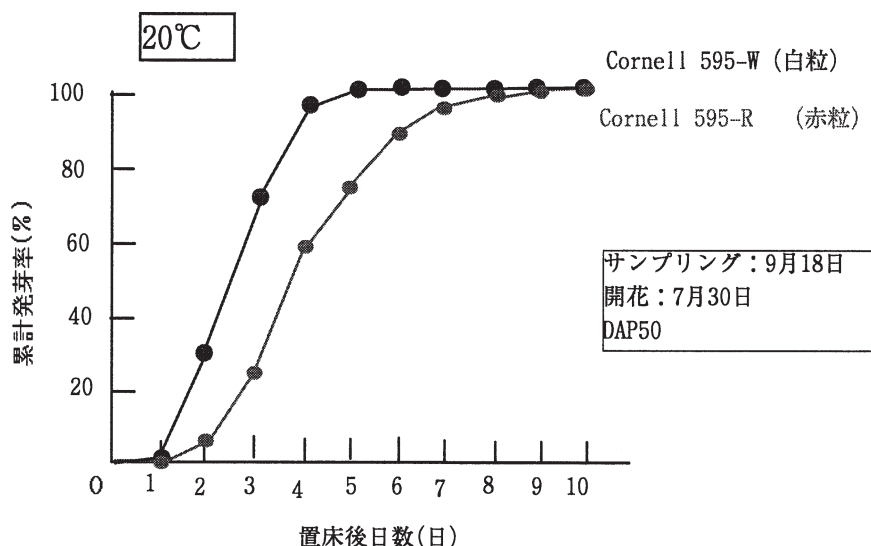


図2. Cornell 595-WとCornell 595-Rの発芽試験 (2002年, 雨よけ栽培)

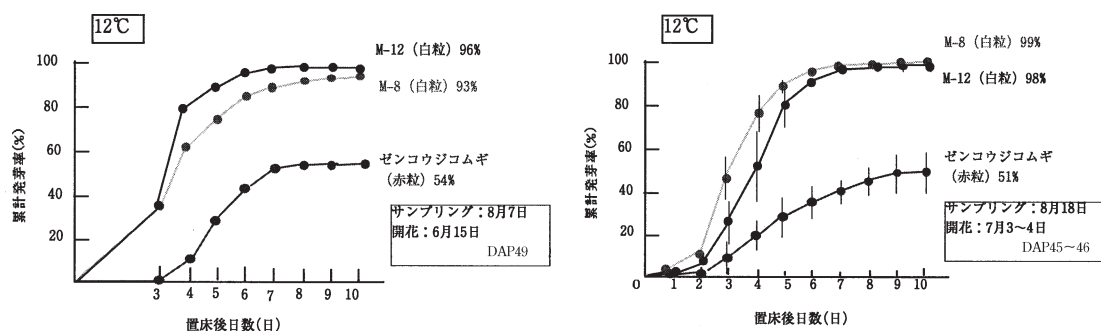


図3. ゼンコウジコムギと種子色変異系統の発芽試験 左が2002年, 右が2003年 圃場栽培

(2) どこに突然変異が起こって種皮色が変わったかを明らかにするために、種皮のフラボノイド生合成系遺伝子群の *CHS*, *CHI*, *F3H*, *DFR* (Himi and Noda, 2004) について、種皮における転写解析を行った。RT-PCR (表2) とノーザン分析 (図4) の結果から、ゼンコウジコムギに比べ白粒変異系統では複数

の遺伝子で転写量が低下していることが分かった。このことから、個々のフラボノイド生合成系遺伝子の変異によるものではない可能性があり、転写因子系の変異が示唆された。

表 2. ゼンコウジコムギと種皮色変異系統の
フラボノイド生合成系遺伝子の発現 (RT-PCR)

	Chinese Spring	Zenkouji- Komugi	M-8	M-12
<i>CHS</i>	+	+	+	+
<i>CHI</i>	+	+	+	+
<i>F3H</i>	+	+	+	+
<i>DFR</i>	+	+	+	+

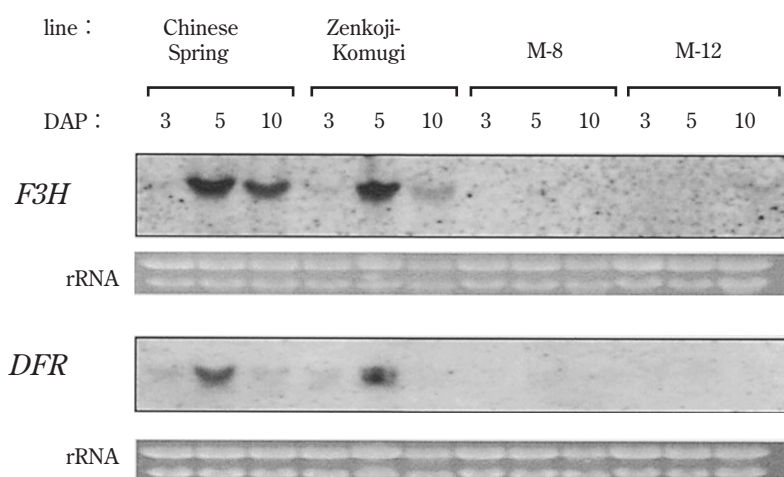


図 4. ゼンコウジコムギと種子色変異系統の
フラボノイド生合成系遺伝子の発見 (Northern 分析)
CHS と CHI はシグナルが検出されなかった。

(3) 休眠関連遺伝子と考えられている *VP1* (Nakamura and Toyama 2001), *PKABA1* (Anderberg and Walker-Simmons, 1992), *Per1* (Stacy et al., 1996) 及び *PE* (川上ら, 1994) 遺伝子の胚におけるノーザン分析を行った。*VP1*の転写物量は、元のゼンコウジコムギに比べ白粒変異系統で少なく、*PKABA1*の転写物量は、やや少なかった (図 5)。一方、*Per1*と *PE* 遺伝子は、種皮色の違いによる発現量の違いは見られなかった。休眠関連遺伝子の中には種皮色に関連するものがあることが示唆された。

(4) ゼンコウジコムギの白粒変異系統は、兄弟系統に種皮色以外にももの形質の変異が見られたこと、また、6組のゲノムを持つ小麦の表現型に変異が起っていることから、種皮色以外にも突然変異が内在する可能性が高い。そこで、今後の遺伝子単離には戻し交配系統を用いることにし、そのために系統の育成を行った。M-12 に対しゼンコウジコムギを反復親にして戻し交配を行い、後代検定を行って白粒種子を選抜した。その過程で種皮色変異は独立 2 因子で劣性に遺伝した (表 3)。これまでにゼンコウジコムギの R 遺伝子座構成は *R-A1a* (白), *R-B1b* (赤), *R-D1b* (赤) であるという報告がある (三浦ら, 1999) ので、この系統の種皮色突然変異は R 遺伝子座の変異による可能性が示唆された。

(5) 得られた戻し交配後代の白粒系統 W₁-6 (BC₁F₂・BC₁F₃) について、原系統・品種との種子休眠性を

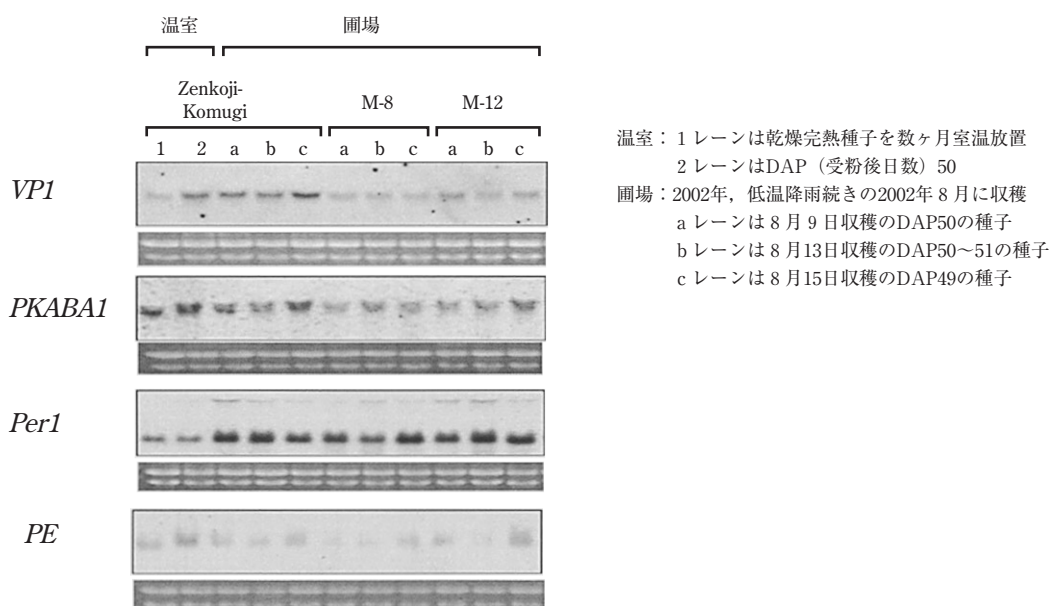


図5．ゼンコウジコムギと種子色変異系統の胚における休眠関連遺伝子の発現（Northern 分析）

表3．ゼンコウジコムギの M-12 への戻し交配後代集団における種子色の分離

世代	当代表現型			自殖後代BC ₁ F ₂ の表現型			
	赤粒 (株数)	白粒 (株数)	期待比 ¹⁾	全て赤粒 (系統数)	赤と白の両方 が出現 (系統数)	期待比 ¹⁾	χ^2
BC ₁ F ₁	18	0	(1 : 0)	14	4	(3 : 1)	0.07ns ²⁾

世代	系統番号	表現型		期待比 ¹⁾	χ^2
		赤粒 (株数)	白粒 (株数)		
	1～5, 7, 9 ～11, 13,				
BC ₁ F ₂	15～18	合計1161	0	(1 : 0)	
BC ₁ F ₂	6	90	8	(15 : 1)	0.61ns ²⁾
BC ₁ F ₂	8	84	6	(15 : 1)	0.03ns
BC ₁ F ₂	12	54	5	(15 : 1)	0.50ns
BC ₁ F ₂	14	51	3	(15 : 1)	0.04ns

1) 変異を起こした白粒因子が2個で独立に劣性遺伝することを仮定した場合の赤粒：白粒の期待される出現比

2) 有意性無し

比較するために，温室栽培で発芽試験を行った。10℃では W₁-6 の種子休眠性はゼンコウジコムギと同等で M-12 より強く，15℃ではゼンコウジコムギよりも弱かった（図6）。このことより，W₁-6 の種子休眠性は両者の中間と考えられた。圃場での穂発芽耐性はゼンコウジコムギより弱かった。

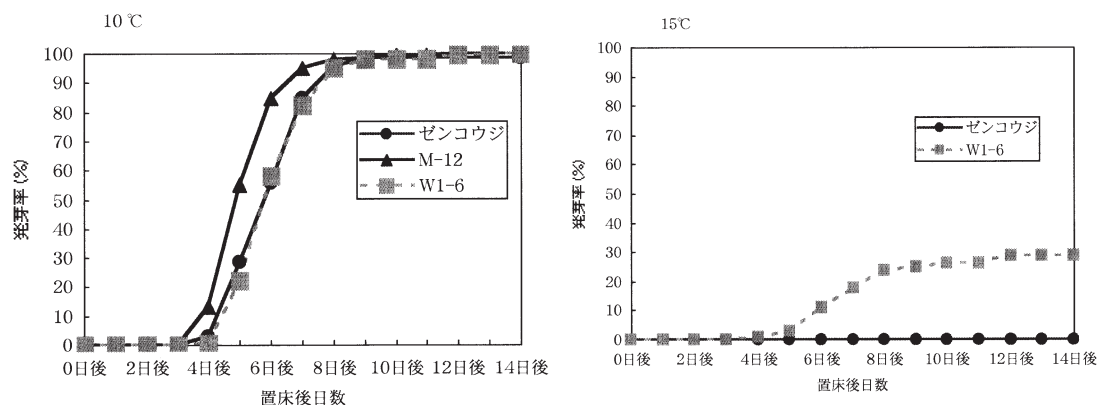


図6. 温室栽培における発芽試験 (2004年4月6日採種, DAP50～55)

5. 今後の計画

圃場で採種したゼンコウジコムギとW1-6の胚からRNAを抽出し、種子色の違いに関連する、穂発芽耐性関連遺伝子群の単離を試みる(サブトラクティブ・ハイブリダイゼーション→ディファレンシャル・スクリーニング)。

6. おわりに

穂発芽耐性は種子の休眠性に関連が深いと言われている。しかし試験を始めて見ると、圃場での試験結果が、温室のそれと食い違うことがある。このことは、種子休眠性は穂発芽耐性を決める一つのファクターに過ぎないことを示していると思う。種皮色に関しては、赤と白の違いによる効果が、温室や雨よけ栽培においてよりも、圃場栽培において、より顕著に顕れるという感じがしている。

また、種皮色がどのように種子休眠性に関連するのかを探るためは、種皮色によって発現量の異なる休眠遺伝子の情報が大切である。しかし、種皮色によって発現量の変化のない休眠遺伝子の情報は、それらの遺伝子を白粒系統に集積することにより白粒でも穂発芽耐性の強い品種の育成に役立てられると考えられる。どちらの情報も、穂発芽耐性の高い白粒品種育成に重要だと思う。

研究遂行にあたり、北農研以外にも大学や他の試験場の多くの方々にご協力をいただいている。ありがとうございます。

本研究は21世紀プロジェクトとブランドニッポンプロジェクトに参画し、指導と助成を受けている。全く新しく研究をスタートし、今年で3年目である。これからも皆様からご助言やご意見をいただきたく、どうぞよろしくお願いいたします。

引用文献

- Anderberg R. J. and Walker-Simmons M. K., 1992. Isolation of a wheat cDNA clone for an abscisic acid-inducible transcript with homology to protein kinases. *Proc.Natl. Acad. Sci. USA* 89: 10183-10187.
- Baker R. J., 1981. Inheritance of seed coat color in eight spring wheat cultivars. *Can. J. Plant Sci.* 61 : 719-721.
- Debeaujon I., Leon-Kloosterziel K. M. and Koornneef M., 2000. Influence of the testa on seed dormancy,

- germination, and longevity in Arabidopsis. *Plant Physiology* 122 : 403-413.
- Flintham J. E., 2000. Deferent genetic components control coat-imposed and embryo-imposed dormancy in wheat. *Seed Science Research* 10 : 43-50.
- Hattori T., Vasil V., Rosenkrans L., Hannah C., McCarty D. R. and Vasil I. K., 1992. The Viviparous-1 gene and abscisic acid activate the C1 regulatory gene for anthocyanin biosynthesis during seed maturation in maize. *Gene & Development* 6 : 609-618.
- Himi E. and Noda K., 2004. Red grain colour gene (R) of wheat is a Myb-type transcription factor. 10th International Symposium on Pre-Harvest Sprouting in Cereals : 10.
- Himi E., Mares D. J., Yanagisawa A. and Noda K., 2002. Effect of grain colour gene (R) on grain dormancy and sensitivity of the embryo to abscisic acid (ABA) in wheat. *Journal of Experimental Botany* 53 : 1569-1574.
- Himi E. and Noda K., 2004. Isolation and location of three homoeologous dihydroflavonol-4-reductase (DFR) genes of wheat and their tissue-dependent expression. *Journal of Experimental Botany* 55: 365-375.
- Kaneko S., Komae K., Nagamine T. and Yamada T., 1994. Development of extraction procedure for wheat red coat pigments and determination of varietal differences for this trait. *Breeding Science* 44 : 263-266.
- 川上直人, 野田和彦, 1994. 休眠を失ったコムギ突然変異種子で発現が失われた遺伝子—cDNAクローニングと発現解析—. *育種学雑誌* 44 (別 2) : 19.
- Keim P., Diers B. W. and Shoemaker R. C., 1990. Genetic Analysis of soybean hard seededness with molecular markers. *Theor. Appl. Genet.* 79 : 465-469.
- McCarty D. R., Carson C. B., Stinard P. S. and Robertson D. S., 1989. Molecular Analysis of viviparous-1: An Abscisic Acid-Insensitive Mutant of Maize. *Plant Cell* 1 : 523-532.
- Miyamoto T and Everson E. H., 1958. Biochemical and physiological studies of wheat seed pigmentation. *Agronomy Journal* 50: 733-734.
- 三浦秀穂, 竹下三紀子, 佐藤直美, 天野洋一 1999. コムギ第3群染色体の粒色遺伝子と独立な種子休眠性変異. *育種学研究* 1 (別 1) : 42.
- Nakamura S. and Toyama T., 2001. Isolation of VP1 homologue from wheat and analysis of its expression in embryos of dormant and non-dormant cultivars. *Journal of Experimental Botany* 52: 875-876.
- Stacy R. A. P., Munthe E., Steinum T., Sharma B. and Aalen R. B., 1996. A peroxiredoxin antioxidant is encoded by a dormancy-related gene, Per1, expressed during late development in the aleurone and embryo of barley grain. *Plant Molecular Biology* 31 : 205-216.

1－3 穂発芽耐性評価と穂発芽性極難系統の育成

北海道立北見農業試験場・作物研究部・小麦科 柳 沢 朗

1. はじめに

北海道における穂発芽被害の発生は3～4年に一回といわれていたが、近年は気象の変動の影響もあり、被害が増加している。平成7年には作況指数が58となる大被害となり、平成8年から15年まで穂発芽被害は、程度の差はあるものの毎年発生している。穂発芽による直接被害と規格外小麦の発生を考えるとその被害は生産量の1～2割にも及ぶと考えられ、粗生産額では60億～120億円に達すると推定される。また、被害が多くなれば、その被害額はそれに応じて増加する。穂発芽とは、降雨の影響により、立毛中に発芽してしまう現象であるが、収量減の直接の要因となるばかりでなく、外観品質の低下、規格外の増加、酵素（ α -アミラーゼ等）の影響による内部品質低下の原因となり、著しく商品価値が低下する。更にアミログラムの最高粘度が300BUより下がる（低アミロ小麦になる）と加工適性は極端に低下する。

穂発芽を回避するためには成熟後早期に収穫、乾燥を行う必要があるが、地域における小麦の収穫は1週間～10日程度掛かるためその間に穂発芽しない耐性を有する小麦品種が必要となる。成熟期前後の気象条件が不良な場合には穂発芽しなくても α -アミラーゼの活性が高く維持される現象も認められており、成熟期及び成熟後に低アミロになりづらい性質（低アミロ耐性）を同時に付与する必要がある。

現在の当面の目標は、穂発芽被害を半減できる良質な品種の育成であり、将来目標は穂発芽の被害をほぼなくすることができる穂発芽耐性品種の育成である。



図1. 北海道における穂発芽耐性育種の目標

2. 穂発芽性検定と穂発芽耐性小麦の選抜

平成13年度作物試験研究推進会議冬作物部会では、重点検討課題として「麦類穂発芽耐性研究と技術開発の展開方向」が検討され、選抜方法、育種素材、穂発芽研究や育種の方角等が論議された（冬作物研究第1号）。アジアモンスーンの影響を受ける日本においては昔より雨害に強い小麦が淘汰されてきており、関東以西で栽培されている多くの品種は世界的にみて穂発芽性に優れるものが多い。しかし

ながら品質の大幅な向上が求められている中、穂発芽性“難”とされる「農林61号」より穂発芽耐性が強く、かつ品質の優れる品種の育成は容易ではない。

北海道の小麦品種はその来歴や今までの環境・栽培条件から穂発芽耐性は中程度のものが多い(図2、3)。高品質な小麦の安定供給を図るためには、雨害耐性の強化と品質の向上を同時に図る必要がある。北見農試で行っている穂発芽耐性改良のアプローチの方法は、二つあり、第一は穂発芽性が“やや難”以上の高品質小麦の育成であり、第二には穂発芽性が最も優れるとされる「ゼンコウジコムギ」並以上の穂発芽性“極難”系統の育成である。これらの材料と選抜法は次に詳しく述べるが、穂発芽性検定では他の病害・障害抵抗性検定と同様に材料のレベルと選抜目標によって検定・選抜強度を変える必要がある。穂発芽性“難”を選抜する場合は、低温・晩刈条件(15℃処理)での穂発芽検定が有効であるし、“極難”を含むそれ以上の材料、目標であれば人工降雨処理による穂発芽程度だけでなく、低温での発芽率調査が有効である。低温・晩刈条件での穂発芽検定では“難”以上の差を見るのは難しく、それ以下の低温では、発芽そのものが遅いため穂発芽が確認しづらく、時間もかかるからである(図4、5)。

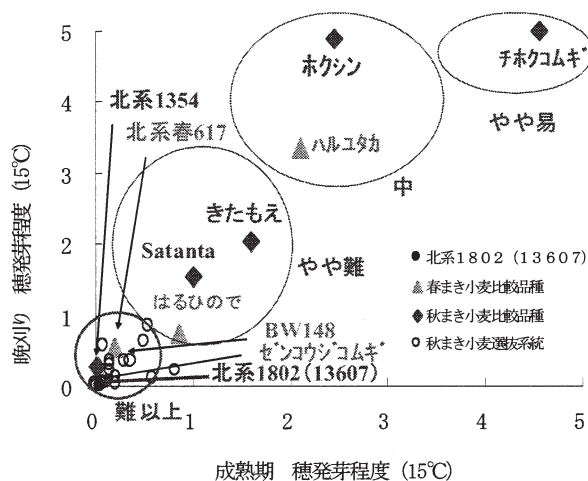


図2. 人工降雨処理による北海道育成品種等の穂発芽性評価(2001年 北見農試)

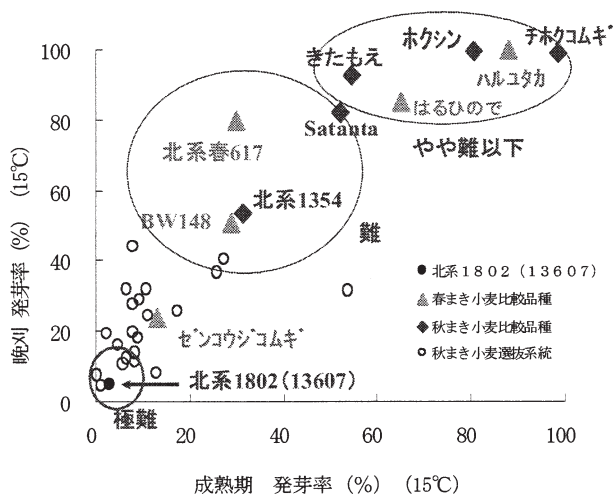


図3. 発芽率による北海道育成品種等の穂発芽性(休眠性)評価(2001年 北見農試)

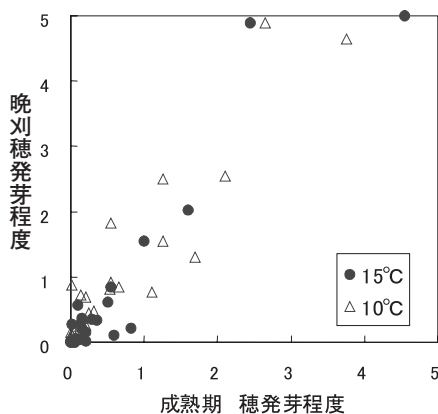


図4. 低温での穂発芽程度の比較
(北見農試 2001年 処理1週間)

注) 供試材料には“やや易”～“難”以上の系統を含む。図4と図5の供試材料は同じ

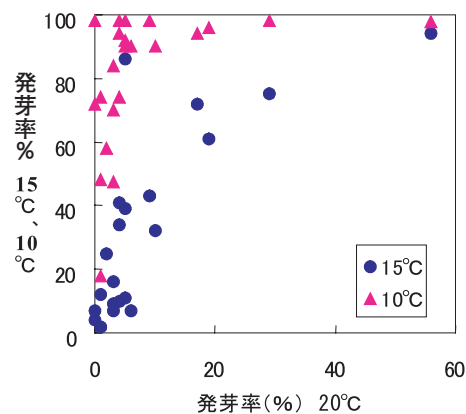


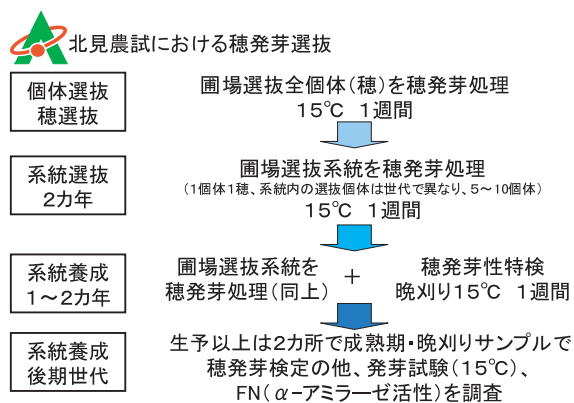
図5. 低温での穂発芽率の比較
(北見農試 2000年)

3. 北見農試における穂発芽性育種

1) 高品質・穂発芽耐性小麦の選抜

穂発芽耐性系統の選抜に当たっては圃場から選抜した全ての個体から穂を切り取り(1個体1穂)、人工降雨処理による低温・連続降雨条件(15°Cの恒温室で雨濡れの状態で1週間)における穂発芽程度で選抜を行っている。また、生産力試験に供試した系統は、穂発芽性特検として、休眠性が弱まっている成熟期1週間後(晩刈り)にサンプルを採取し、15°C1週間の人工降雨処理を行っている(図6、7)。また、品質選抜は系統選抜段階から、収量性、各種病害抵抗性検定は系統養成段階から行っている。

北海道では、天候不順年に成熟期に達しても α -アミラーゼの活性が低下せず、アミロ粘度が300BU未満あるいはフォーリングナンバーが300秒未満となる現象が認められている。このことは品種と気象条件の相互作用によるものと考えられているが、低アミロ耐性の検定では穂発芽耐性の他に酵素活性を調査する必要がある。そのため、後期世代の材料については成熟期及び晩刈りのフォーリングナンバーまたは α -アミラーゼ活性を調査している(図6)。



当面の選抜基準は「きたもえ」(穂発芽性“やや難”)並以上

図6. 北見農試における穂発芽性選抜の方法

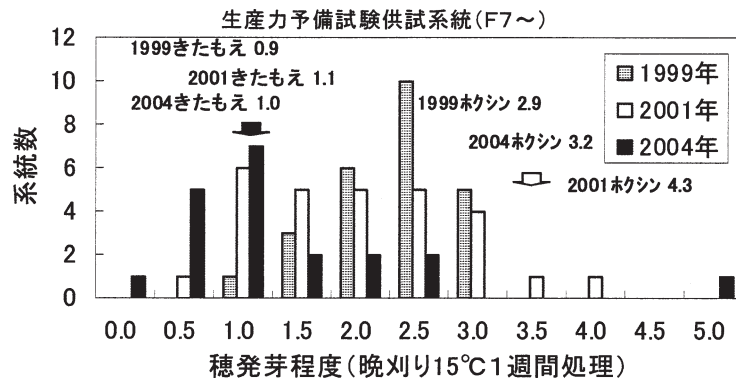


図7. 育成系統の穂発芽性改良（北見農試1999年～2004年穂発芽性特検から）

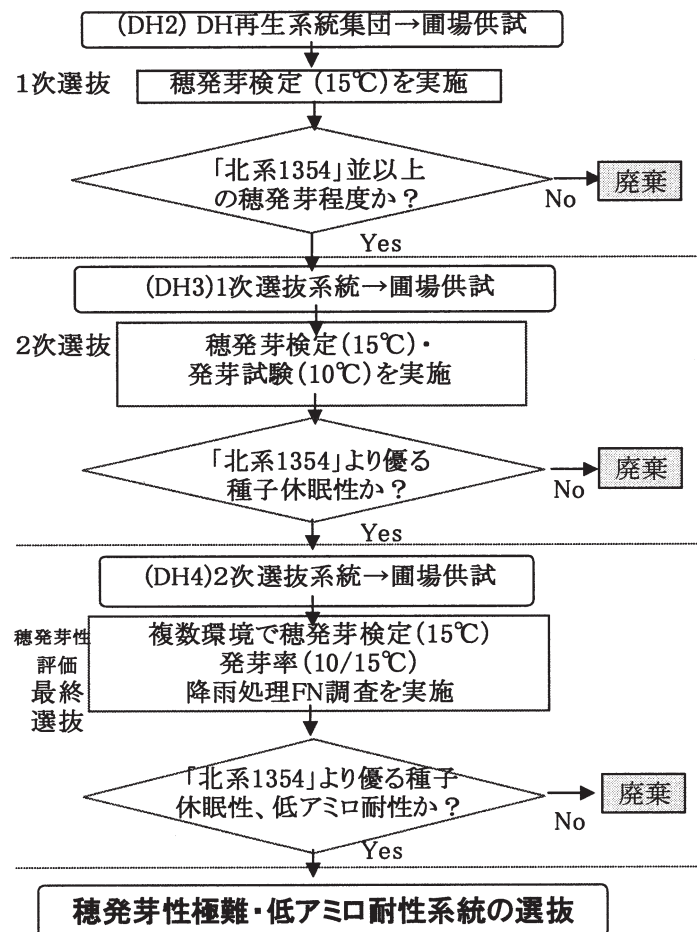
2) 穂発芽性“極難”小麦の育成

低温連続降雨条件でも穂発芽しない小麦を作るためには、従来の穂発芽耐性小麦よりも更に穂発芽に強い小麦を作らなければならない。そのため国内外から穂発芽性の優れた小麦を収集し、北海道の条件で試験を行い、その中で強かった小麦品種・系統を親に用いて北海道内研究機関の共同研究により穂発芽性“極難”小麦を育成した（平成15年度北海道農業試験会議（成績会議）研究参考事項「小麦の穂発芽極難系統の育成」北見農試・十勝農試・中央農試・北海道グリーンバイオ研究所（平成16年1月））。

穂発芽性と密接に関係する休眠性は、降雨条件（粒が濡れた状態）では、低温であればあるほど打破されるので、穂発芽性“極難”小麦の選抜に当たっては穂発芽検定より更に条件を厳しくし、低温（15℃、10℃）で発芽試験を行い、発芽率の低い小麦を選抜した。

供試する材料が穂発芽性（休眠性）に幅のある場合は一次選抜として晩刈りサンプルによる穂発芽程度（15℃ 7～10日間）で選抜した後に発芽試験を行う方が効率的である。また、低アミロ耐性を調べるために穂発芽処理したサンプルのフォーリングナンバーを測定し、粘度が下がっていないことを確認し、最終的に選抜を行う（図8）。

育成された穂発芽性“極難”系統「北系1802」（交配組合せ：北系1616（後の「きたもえ」）/ニシカゼコムギ）は、晩刈り15℃の穂発芽程度は極めて低く、平均すると供試した20穂（10穂×2反復）の中から1粒が穂発芽する程度であった。また、低温での発芽率は、基準とした穂発芽性“難”系統「北系1354」より明らかに低く、両者の差は15℃より10℃において更に明瞭であった（表1）。「北系1802」は、成熟期及びその1週間後にサンプリングした穂を雨濡れ処理した後もフォーリングナンバーが300秒未満にならず、極めて高い低アミロ耐性を有していた（図9）。



※上記試験の他に、農業形質・品質特性から選抜を実施している

図8. 半数体倍加系統を用いた穂発芽性“極難”系統選抜のためのフローチャート
 注)「北系1354」は、北見農試育成の穂発芽性“難”系統
 系統育種法でも基本的に同じであるが、2次選抜はある程度固定した段階で行う。

表1. 「北系1802」の穂発芽性評価 (2001～2003年 北見農試)

品種名 または 系統名	穂発芽程度 (0:無～5:甚)			発芽率 (%)					
	晩刈 15℃			晩刈 15℃			晩刈 10℃		
	01年	02年	03年	01年	02年	03年	01年	02年	03年
北系1802	0.00a	0.03a	0.03a	5a	17a	15a	18a	10a	25a
北系1354	0.27a	0.12a	0.98b	53b	91b	71bc	92b	86b	77ab
きたもえ	2.02b	2.50b	1.15b	82bc	82b	32ab	97b	90b	54ab
ホクシン	4.90c	4.60c	2.38c	99c	96b	34ab	99b	97b	59ab
チホクコムギ	5.00c	4.80c	5.00d	99c	100b	99c	100b	100b	100b
LSD (0.05)	0.60	1.14	0.59	42	23	48	20	18	55

注1) 同一処理区内で異なる英文字間には、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) 発芽率の有意性検定はアークサイン変換により算出した。

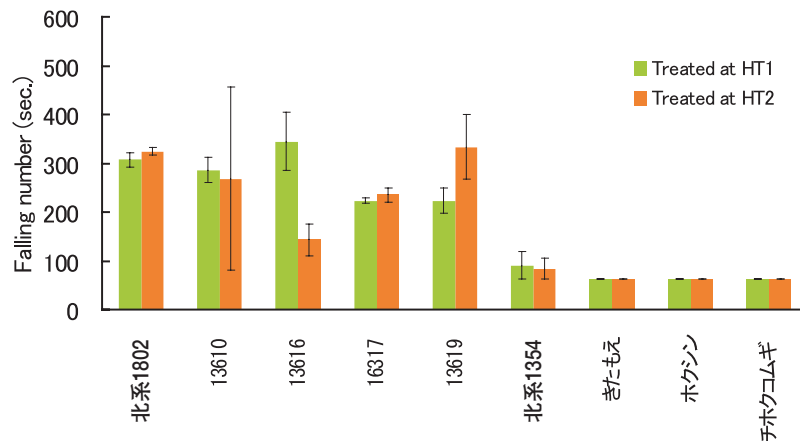


図9. 人工降雨処理後のフォーリングナンバー (秒)

注) 処理温度・期間: 2002年 (15℃10日間)、2003年 (15℃12日間) 平均

HT1: 成熟期収穫, HT2: 晩刈り (成熟1週間後収穫)

4. 考察及び今後の課題

穂発芽耐性に最も関係の深い小麦粒の休眠性は、成熟期以降の雨などにより水分を吸収した状態では低温であればあるほど早期に打破される。今までも休眠性や穂発芽耐性の評価の際に 20℃以下の検定 (土屋 1987、小田ら 1990) や複数温度での検定 (桑原 1993、Oda and Seko 1993) が行われているが、育種では18℃前後での人工降雨処理による穂発芽検定が一般的である。これは短期間に大量な材料を扱うため一部の材料を除けば、条件を変えた試験が難しいことと、多くの系統を供試して穂発芽性“難”程度の系統を選抜するのに、この方法が適しているためと考えられる。北見農試では、人工降雨処理による晩刈りサンプル15℃1週間の穂発芽検定により、穂発芽性“やや難”以上の系統の選抜を行っている。北見農試の秋播小麦系統の穂発芽耐性は、主に「北系1354」に由来しており、粉色、穂発芽性等に優れた「きたもえ」(交配組合せ: 59045 (後の「ホクシン」) / 北系1354) の育成とその利用により、粉色と穂発芽耐性の両方の同時選抜が以前に比べて容易に行えるようになった。しかし、登熟期間である夏でも最低気温が15℃を下回る北海道では連続降雨と低温に遭遇した場合に“やや難”といえども大きな被害を被ることが考えられる。また、日本で最も穂発芽耐性が強い品種である「ゼンコウジコムギ」でも被害を回避することはできないと考えられる。

長内・天野は、Tordo/ゼンコウジコムギの組合せから低温条件下の発芽率によって穂発芽性が極めて優れる春播小麦系統「OS21-5」を育成した (Osanai and Amano 1992)。また、現在も 10℃の発芽試験により春播、秋播両方の低温穂発芽耐性小麦を選抜、育成している (Osanai and Amano 1998、2004)。北見農試における穂発芽性“極難”小麦の選抜法もこれらの方法を参考に確立したものである。長内・天野あるいは北見農試での低温穂発芽耐性や“極難”小麦の育成では、抵抗性の由来の異なる系統・品種を交配親に用いて選抜を行っている。今までに用いた主な材料は表2の通りであり、日本国内で育成された難穂発芽性遺伝資源を系譜に持つ材料 (星野 1989) にその他の地域、国で育成された材料を交配した後代を15℃以下の低温での穂発芽性検定、発芽試験により選抜されている。今までに選抜された長内系統 (OS、OW 系統) 及び「北系1802」等の北見農試育成系統の中には、収量性が「ホクシン」並で一部の耐病性が「ホクシン」より優れる系統も育成されているが、品種化を図るには耐病性、収量性、

品質について、まだまだ改良すべき点が多い。今後は、これらの改善を図るとともに穂発芽性“極難”の遺伝様式の解明と由来の異なる各種材料を用いて、新たな穂発芽耐性の素材を作出することが課題である。

表2 穂発芽性“極難”小麦育成に用いた主な材料

育 成 場 所	系統名・品種名	交 配 組 合 せ
北見農試	北系 1354	訓交 383-4 / Wichita / 北見 30 号 / 北見 19 号
	きたもえ	59045 (ホクシン) / 北系 1354
長内氏	OS21-5	Tordo / ゼンコウジコムギ
	OS38	8019R1 / OS21-5 / OS21-5
	OW104	OS21-5 / 61199
長野県農事試	ゼンコウジコムギ	伊賀筑後オレゴン ⁶⁰ Co 処理 (伊賀筑後:伊賀筑後 / オレゴン)
九州農試	ニシカゼコムギ	西海 120 号 (シロガネコムギ) / ウシオコムギ
佐賀育種地方試験地	農林 61 号	福岡小麦 18 号 / 新中長
カナダ	RL4137	RL2520 / 6*Thatcher / Kenya Farmer

参考文献

1. 藤田雅也 (2001): 穂発芽耐性研究及び育種の展開方向. 冬作物研究第 1 号, 16-23
2. 星野次汪ら (1989): コムギの穂発芽検定法と難穂発芽性遺伝子源の系譜, 育種 39, 365-372
3. 桑原達雄 (1993): コムギにおける耐穂発芽性育種, 育種学最近の進歩第 35 集, 130-135
4. McCaig T. N. and R. M. DePauw (1992): Breeding for preharvest sprouting tolerance in white-seed-coat spring wheat. Crop Sci, 32:19-23
5. 西村 努ら (2000): 秋まき小麦における穂発芽抵抗性の改善Ⅱ. 穂発芽極難素材, 日本育種学会・日本作物学会北海道談話会会報 41, 53-54
6. 西村 努・柳沢 朗 (2001): 秋まき小麦品種における穂発芽抵抗性の改善Ⅲ. 穂発芽抵抗性と低アミロ耐性, 日本育種学会・日本作物学会北海道談話会会報, 42:65-66.
7. 西村 努・柳沢 朗 (2003): 秋まき小麦品種における穂発芽抵抗性の改善Ⅴ. 低温連続降雨条件での低アミロ耐性系統の選抜, 日本育種学会・日本作物学会北海道談話会会報 44: 71-72
8. 西村 努ら (2004): 穂発芽性極難秋播小麦系統の育成 2. 穂発芽性極難系統の特性, 育種学研究 6 (別 1): 637
9. 農林省農業改良局 (1951): 小麦の新品種 (その五), 農業改良技術資料第 12 号
10. 野中ら (1986): 小麦新品種「ニシカゼコムギ」について, 九州農業試験場報告, 第 24 巻第 4 号, 441-457
11. Nyachiro J. M. et al (2002): Temperature effects on seed germination and expression of seed dormancy in wheat. Euphytica 126: 132-127.
12. 小田俊介ほか (1990): コムギ穂発芽抵抗性の温度依存性の品種間差, 育種 40 (別 1), 296-297
13. Oda S. and H. Seko (1993): Evaluation of pre-harvest sprouting resistance in wheat using germina-

- tion tests conducted at two temperatures. In: Pre-harvest Sprouting in Cereals 1992. (Eds.): Walker-Simmons, M. K. and Ried, J. L., American Association of Cereal Chemistry, Minnesota. pp. 69-75.
14. Osanai S. and Y. Amano (1992) : Selection of tolerant lines to low temperature germinability in wheat. In: Pre-Harvest Sprouting in Cereals. M.K.Walker-Simmonds and J.L.Ried Eds. 76-82
 15. Osanai S. and Y. Amano (1998) : Response of winter wheats showing reduced germinability at low temperature to rain during grain development and ripening. In: Eight International Symposium on Pre-Harvest Sprouting in Cereals. D. Weipert Eds. Poster Presentation 57-66
 16. Osanai S. and Y. Amano (2004) : Breeding of highly tolerant wheat lines to low temperature germinability. 10th International Symposium on Pre-Harvest Sprouting in Cereals. Norfolk, England (in press)
 17. 土屋俊雄 (1982) : 耐穂発芽性育種, 道立農試資料第 15 号 北海道における水稲・小麦の良質品種早期開発, 138-145
 18. 柳沢 朗・西村 努 (2000) : 秋まき小麦における穂発芽抵抗性の改善 I. 穂発芽抵抗性の評価, 育種・作物学会北海道談話会会報 41, 51-52
 19. 柳沢 朗 (2001) : 穂発芽耐性育種の現状と問題点. 冬作物研究第 1 号, 7-15
 20. 柳沢 朗・西村 努・中道浩司 (2001) : 秋まき小麦品種における穂発芽抵抗性の改善. IV 秋まき小麦選抜系統と穂発芽耐性春まき小麦との比較. 日本育種学会・日本作物学会北海道談話会会報, 42:67-68.
 21. 柳沢 朗ら (2002) : 秋まきコムギ新品種「きたもえ」の育成. 北海道立農業試験場集報, 82:11-20.
 22. 柳沢 朗ら (2004) : 穂発芽性極難秋播小麦系統の育成 1. 穂発芽性極難系統の選抜. 育種学研究 6 (別 1) : 636
 23. Yanagisawa A. et al (2004) : Development of excellent resistant winter wheat to pre-harvest sprouting and rain damage. 10th International Symposium on Pre-Harvest Sprouting in Cereals. Norfolk, England (in press)

1-4 総合討論

田谷（座長・作物研）：まず中村さんの「穂発芽耐性研究の現状」について、ご意見・ご質問をお願いします。

栗原（北海道農研）：イネの話が出ていましたが、例えば生物研の矢野さん方の QTL から単離を進めている遺伝子が、イネとコムギのシンテニーから考えて、コムギのどの染色体群のどの染色体と相同なものかというのが想像つくのかどうか、またモデル植物の、特にイネ科のものとのシンテニーを利用して、今後コムギに応用できるのかどうかということについて、ご意見をいただければと思います。

中村：*Sdr1*に関しては第3染色体短腕に乗っていて、イネの第3染色体はコムギの第4染色体に対応するので、第4染色体上にあると想像できます。イネの遺伝子が単離されれば、コムギのオーソログの解析が楽しみです。

またコムギの QTL から、原因遺伝子をイネとのシンテニーを利用して単離しようとする場合ですが、ある程度遺伝子の性質が予測できるのなら、イネとのシンテニーを利用して、そのシンテニー領域中に入っている遺伝子の中から関係している遺伝子を見つけることができます。例えばイギリスのシンポジウムで、オーストラリアのグループが、オオムギの第5染色体の QTL に関してシンテニーを使ってイネに対応する領域にどのような遺伝子が乗っているのかを調べると、ジベレリンの生合成関係の遺伝子が乗っているの、それに関係しているのではないかという発表がありました。しかし、今までよくわかっていない形の遺伝子がもしも原因となる遺伝子だったら、例えイネにシンテニーがあって分かったとしても、その遺伝子を広い領域の中から見つけてくるのは、かなり大変な事ではないかなと思っています。

小田（九州沖縄農研）：休眠性と 4A 染色体について、材料に白粒系統を使っても赤粒系統を使っても、どちらの組み合わせから休眠性があるというものを使っても、QTL 分析をすると共通に 4A の所に出るのでしょうか。

中村：そういう形で説明していました。他にもいろいろあるのでしょうか 4A にも乗っている。赤粒だろうが白粒だろうが、第4染色体に出てくることが多いと言っていました。

田谷：次に栗原さんの「種皮色変異系統を用いた、穂発芽関連遺伝子単離の試み」について、ご意見・ご質問をお願いします。

石川（近中四農研）：Flintham らの報告で、R 遺伝子でも休眠性に関する効果には変わりがなかったということですが、R 遺伝子が 1 個の場合、2 個の場合、3 個の場合で、個数による休眠性の違いはありますか。

栗原：それがこの報告の中に無くて、氷見さんの報告もそうなんですが、交配の煩雑さもあるのか、実験し易いように全て1因子を入れたものを使っています。私が自分で扱っているのは2つあったりしてややこしいのですが、Flinthamさんは1因子のものを比較しています。その後発表されているのか最近のことは知りませんが、その報告ではそのようになっています。

石川：R遺伝子を一つしか持っていない色が薄い系統は、どれもこれも穂発芽し易いと経験的に感じているので、それが確かめられたらと思っています。

安井（近中四農研）：三つ質問させてください。一つ目は、Cornell大学の白粒から赤粒にした突然変異体のR遺伝子の数がいくつかということ。二つ目は入来さんの材料で、白粒の突然変異系統を3粒取ったという話でしたが、元の材料を何kgぐらいを検定したかということ。三つ目は、ゼンコウジコムギとその白粒系統の遺伝分析をして、2遺伝子の違いということでしたが、私はゼンコウジコムギのR遺伝子は3個あると思います。それとの食い違いについてどうお考えになるかということをお聞きたいと思っています。

栗原：Cornell大学の材料については、遺伝分析をしたわけではないのですが、自然突然変異系統なので、おそらく1因子ではないかと推測しています。

入来さんの材料については、EMSによる突然変異処理では変異が胚にキメラに起こると考えられるので、突然変異処理をした後それを播いても次の世代では色の変異は出ないのですが、M3の種子が10kg程あって、その中から10数個を見つけられました。その表現型を見てみると、背の高いものなど、種皮色以外が変異していました。M-8とM-12は、種皮色以外の変異も少しあるのですが、表現型がゼンコウジコムギに似ていたということです。

ゼンコウジコムギのR遺伝子は3つあるということについてですが、帯広畜産大学の三浦先生のグループでも2因子だと報告されていたので、私のものとは矛盾していなくて、2因子というのは確かなのではないかと感じています。

石川：話の中で、温室の中で栽培すると休眠性が深くなるということでした。今年の春、栗原さんからいただいた種子を温室の中で作ってみました。収穫した種子は、これが本当に白粒かと思うくらい色が赤っぽかったのです。これは転写因子ということですから、たとえ遺伝子が壊れていても、温室の中で作ると転写されて発現してしまうのではないかという気がしました。栗原さんが温室の中で作っていて、種皮色が真っ白ではなくて、かなり赤味を帯びるというようなことはありませんでしたか。

栗原：温室と外で種皮色が少し違ったり、栽培条件で違ったりしますが、赤っぽいということはありません。色を際立たせるためにアルカリ処理をしています。それを見ると私は白だと思っています。石川さんが採った種子を見せていただければと思います。

石川：種皮色に関連する遺伝子は、このR遺伝子だけではなくて、他にも例えば*DFR*に関する遺伝子などがあるはずです。これまで得られている白粒の品種・系統がすべてR遺伝子によるものであって、なぜ*DFR*などの変異が見つかっていないのか、以前から不思議なのですが、このことについてどうお考えですか。

栗原：今回扱った系統は複数のものが一緒に下がっているから、*DFR*も*F3H*も下がっているということで、制御する側の遺伝子ではないかと思っています。もちろん途中がノックアウトされて変わるというのものもあるはずです。この系統についてはもっとallele分析をしっかりと、因子の分かったものと掛け合わせて分析をしていかなければいけないと思います。また、候補遺伝子が*TaMyb1*だと言われているので、まだ公開されていませんが、その発現量は調べなければならないし、まだまだ分かってないことは一杯あるのではないかと私は感じていますし、他の因子があれば、それはとても面白いことだと思います。

石川：白粒で穂発芽難の品種を作るためには、RNAiが何かでこの*DFR*遺伝子の発現を抑えてやれば良いわけですから、簡単にできるはずだと思います。

栗原：そうですね。転写因子ではない色素合成系の遺伝子を一つノックアウトして、他のものに相互作用の無いものが育成できれば素晴らしいことだと思います。

長嶺（栃木分場）：中村さんの発表の中で第4染色体にQTLがあるという話がありましたが、今の話だとR遺伝子は第3染色体です。休眠に関わることで、*VP1*とか*PKABA1*とか*PE*とか、いくつか仕掛けがあると思いますが、その中で第4染色体に乗っているものはどれなのでしょう。

栗原：国際穂発芽研究会に出られた人の話によると、皆さんが休眠関連は4ALとおっしゃっているみたいです。この種皮色の関連は3のLなので、岡山大の野田先生は、QTLの結果でもわかるように種皮色はあまり大きなファクターではないとおっしゃっていたり、*VP1*は第3染色体という事なので、4Aの効果はすごく大きいのですが、他の所にもあると考えています。

田谷：最後に柳沢さんの「穂発芽耐性評価と穂発芽性極難系統の育成」について、ご意見・ご質問をお願いします。

小田（九州沖縄農研）：穂発芽検定の材料の扱いですが、例えば九州では、収穫してから一旦乾燥させて、-20℃で保存してちょっと経った時に全部まとめて処理をしています。北見の場合はそうでなくて、収穫したら直ぐに人工降雨機に入れて逐次処理をしていると、そういうスケジュールでやっているのですか。

柳沢：収穫直後は、他の作業もあって忙しいので、直ぐには入れられないので、同じように一度乾燥させ-20℃で保管して、ある程度材料が揃ってから入れるようにしています。

堀末（九州沖縄農研）：育種の場合、選抜法というのがすごく重要だという感じています。例えば、今までの特性よりも画期的に強いものを育成しようとする時、遺伝資源を見つけたりバイテクを利用したりすることもあります。選抜を駆使してやっていって成功するというのがすごく多いような気がします。穂発芽性では、やや難～難ですね。そこで極難が生まれるとか、そういうことが良くあります。改めて元に戻ってやる必要があるかなという感じがしています。イネの場合でも耐冷性は5ランクくらい上がっています。だからちょっと前の極強が中くらいに位置付けなければならなくなってきたという状況もあります。いもち病抵抗性についても若干作用性の違う遺伝子を組み合わせると、抵抗性もかなり上がってきます。バイテクも狙っていかなければいけないと思いますが、今のところでやれる技術では、選抜法についてしっかりやっていく必要があると思いました。

柳沢：北海道の品種は、従来より関東以西の物に比べると穂発芽が弱いものが多いです。それで穂発芽性育種も進んできましたが、実態を言えばまだ関東以西のものには追いついていませんので、なるべく早く追いつきたいと思います。また北海道は夏でも15℃を切る低温になることがよくあります。そこに雨が降れば、他の地域よりもっと厳しい条件になるので、できれば穂発芽性極難というところまでいって、最終的には追い抜きたいというのが目標です。

萩尾（生物研）：極難というのは、通常の栽培では少々気象条件が悪くても穂発芽をほとんどしないとやってよろしいでしょうか。

柳沢：今のところでは人工的な環境で10日間でほとんど穂発芽しませんので、実際の気温は変動しますが、北海道の条件で6日くらい雨が続けても穂発芽しなければ、ほとんどの場所では穂発芽しないで済むと考えます。

萩尾：穂発芽の検定方法についてですが、日本全国あるいはその地域毎に統一されたガイドラインとか基準のようなものはあるのでしょうか。

柳沢：全国の検定方法については、3年前に藤田さんがこの場でお話しされましたが、だいたい共通しています。検定温度等については、施設の問題もあるので多少は違います。

萩尾：世界のコムギの遺伝資源についてですが、ある一定の期間であれば、どんなに気象条件が悪くても穂発芽しないというような、穂発芽し難い遺伝資源が世界の中に存在するのでしょうか。

柳沢：私の知る限り無いと思っています。休眠性と穂発芽性は深く関わっていますが、中村さんや栗原

さんの話のように非常に複雑な要因が関わって、かつ環境要因も関わっていますので、今のところは無いと思います。

藤田（作物研）：ここまで穂発芽が強くなってくると、普通に播種した時に発芽が若干悪いとか、発芽が遅いということが起こりませんか。

柳沢：特に北海道の秋播きコムギは、8月に収穫して9月に播種しますので、非常に短くて、実際は穂発芽性やや難の「きたもえ」でも出芽が少し悪くなります。ただ、やや難くらいだと半日とか1日ですので、通常の生育には問題ないと思います。極難までもっていくと、出芽はもっと悪くなります。それが収量性にどう影響するのかを試験していますが、それほどは影響しません。ただ種子の検査規格が発芽率80%となっているので、それは多分通らないと思います。そういう場合は検査の規格を変えていただくか、あるいは1年間種子をおいておくという方法も考えられます。

桑原（北海道農研）：北系1802のレベルでどのくらい発芽が遅れますか。

柳沢：見た目の感じは出芽期で見れば1日とか2日とかです。ただ出芽率を見ると多分8割程度に落ちていると思います。

桑原：2割くらいは全く発芽せずに終わってしまうものがあるということですね。種子を多く播かなければいけないということですか。

柳沢：長い期間を見ればきっと出芽していると思うので、出芽の遅れる割合が多くなるということです。

宮川（東北農研）：穂発芽難というのは、休眠打破に必要な条件が非常に大きいというか、低温要求が長期間というもので成り立っていると考えて良いですか。つまり休眠打破のために低温にさらされる時間を長く必要とするから穂発芽に強いと。従って休眠の程度が深いもの、休眠打破に必要な条件がちょっと厳しくても大丈夫なものを探し出したと考えて良いのですか。そういう観点から言うとうるう事なのでしょうか。

柳沢：休眠の深さと長さのどちらも関係していると思います。なぜ穂発芽に強くなったのかというのをABAの感受性で見ると、難より極難の方がABAの感受性が更に高まっていますので、その程度がより低い温度でも休眠性が打破されていないのではないかと、今のところは考えています。

池田（近中四農研）：DHを使われていますが、穂発芽耐性には何因子ぐらいが関わっているとお考えですか。

柳沢：難しいことですが、大雑把に弱い・中くらい・強いに分けるなら、関与している因子は少ないと思います。難より極難のレベルで比較した場合には、何因子かは分かりません。これらの親を使って次の材料を作っていますが、結構強いものが高い頻度で出てきます。

河田（九州沖縄農研）：親同士で穂発芽に対する特性の違いが出てきますか。例えばジベレリンに対する反応とか、アブシジン酸感受性だとか、違いは元々あるんでしょうか。

柳沢：残念ながら、細かいところまで、色々要因を調べてないので、今のところは分かりません。両者の良いところが合わさった、超越分離ではないかと考えています。

宮川：休眠に入るには高温が必要だと思いますが、北海道の麦類が穂発芽に弱いというのは、高温になる日が8月は少ないとか、あまり高温にさらされないから深い休眠に入れない、そういう事は原因として考えられないでしょうか。

柳沢：これは秋播きコムギの例ですが、収穫して直ぐに播種しなければならないので、ずっと昔は穂発芽性以外の栽培性や品質が良いものを選んでいたので、穂発芽に弱くなったと思われます。春播きコムギも都府県のものより弱いのですが、それは遺伝的に北米の材料がかなり入っていますので、元々あまり強い親が無かったのではと思います。

田谷：平成10年に九州でチクゴイズミがものすごく穂発芽を出したことがあります。その時は、穂発芽に弱くて有名なシロガネコムギよりも1ランクぐらい強いはずのチクゴイズミの方が穂発芽を多くしました。チクゴイズミを成熟期の10日くらい前からサンプリングしてみると、成熟期から1週間くらい前にサンプリングしたものが穂発芽しました。時期的なものはどうでしょうか。

柳沢：条件によっては、チクゴイズミは成熟期のある一時期に弱くなるのかもしれませんが。北海道ではチホクコムギが成熟期前でも穂発芽性が弱くなる時期があります。

田谷：あの時のデータでは、まだ休眠に入っていなかった10日前くらいからサンプリングして、成熟期に向かって発芽率が下がっていたので、どんどん休眠が深くなっていったという感じでした。シロガネコムギは成熟期に向かっても発芽率が落ちず、1週間前だろうが10日前だろうが同じくらいの発芽率だったので弱く見えたのだと思います。

小田：成熟期前に一時期、穂発芽抵抗性が失われる時期があるというのは、たぶん品種の影響だろうと思います。この話は文献を調べると、フジミコムギが同じようなパターンを示す品種だぞという報告があって、かなり遺伝的に決まっている形質ではないかと思っています。その形質を検定するのが難しいのは、その時の材料を保存して、後で検定するということが非常に難しいので、その時に検定しなければなら

ない。育種の現場ではその様な検定をする余裕が無いので、チクゴイズミのような事を避けるにはどうすれば良いかが問題だと思います。

田谷：チクゴイズミの系譜を辿ればフジミコムギに突き当たるのですよね。

石川（東北農研）：最終選抜の時に低アミロ耐性を調べていますが、どの程度のものが低アミロ耐性で廃棄になってしまったのか、もう少し教えてください。

柳沢：最初のDHの数としては毎年2000くらいです。それから穂発芽耐性を2年で選んで、各種特性を見るのは多くても10数系統です。それらを降雨処理してフォーリングナンバーを測るのですが、数としては10前後になります。

石川：測ったものは全て低アミロ耐性だったということですか。

柳沢：降雨処理を10日間もやりますと、300B.U.以下のものは100数系統になります。どこまで強ければ低アミロ耐性と言って良いのか議論の余地はありますが、全部が300B.U.以上ということではありません。

池田：穂発芽耐性と低アミロ耐性というのはイコールではないということですか。

柳沢：全く同じかどうかは分かりませんが、ほぼイコールであると思います。ただ、穂発芽性が難とかやや難のものと、雨濡れさせた時にフォーリングナンバーがどうなるかについては、多少ずれると思います。極難まで強くしてやればほとんど一緒と見て良いと思います。

田谷：ありがとうございました。時間ですのでここで締めたいと思います。