

近中四農研報
Bull.NARO West.
Reg.Agric.Res.Cent.

BULLETIN
OF NARO WESTERN REGION AGRICULTURAL RESEARCH CENTER

No.11 February 2012

近畿中国四国農業研究センター 研究報告

第11号 平成24年2月

独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構
近畿中国四国農業研究センター

NARO WESTERN REGION AGRICULTURAL RESEARCH CENTER

近畿中国四国農業研究センター研究報告 第11号

所 長 長 峰 司

編集委員会

委 員 長	今 川 俊 明		
委 員	児 嶋 清	川 上 秀 和	
	楠 田 宰	澤 村 篤	
	佐 藤 隆 徳	篠 田 満	
	高 橋 英 博	三 浦 一 芸	
	高 橋 飛 鳥	長 崎 裕 司	
	生 駒 泰 基	大 谷 一 郎	
	十 鳥 博	十 鳥 政 信	

BULLETIN

OF NARO WESTERN REGION AGRICULTURAL RESEARCH CENTER

No. 11

Tsukasa NAGAMINE, Director General

EDITORIAL BOARD

Toshiaki IMAGAWA, Chairman

Kiyoshi KOJIMA	Hidekazu KAWAKAMI
Osamu KUSUDA	Atsushi SAWAMURA
Takanori SATO	Mitsuru SHINODA
Hidehiro TAKAHASHI	Kazuki MIURA
Asuka TAKAHASHI	Yuji NAGASAKI
Motoyasu IKOMA	Ichiro OTANI
Hiroshi JUTORI	Masanobu JUTORI

(NARO: National Agriculture and Food Research Organization)

近畿中国四国農業研究センター研究報告

第11号

(平成24年2月)

目 次

茎葉多収で消化性に優れ高糖分含量の飼料用水稲品種「たちすずか」の育成 松下 景・飯田修一・出田 収・春原嘉弘・前田英郎・田村泰章	1
牧乾草の給与が黒毛和種去勢牛の産肉性、枝肉成績および肉質におよぼす影響 (英文) 柴田昌宏・松本和典・曳野泰子・大江美香・尾嶋孝一・中島郁世・室谷 進・ 千国幸一・山本直幸	15
晩播栽培において多収で淡色味噌に好適なダイズ新品種「あきまろ」の育成 高田吉丈・猿田正恭・岡部昭典・菊池彰夫・小野貞芳・矢ヶ崎和弘・坂元秀彦・ 高松光生・山田直弘・高橋信夫・田中進久・元木 悟・西牧 清	27
コムギ品種および加工食品におけるDNA品種識別技術の開発 藤田由美子	41
青立ちが少なく豆腐加工に適したダイズ新品種「はつさやか」の育成 猿田正恭・高田吉丈・岡部昭典・菊池彰夫・小野貞芳・異儀田和典・酒井真次・ 松永亮一・羽鹿牧太・高橋将一・小松邦彦	81

BULLETIN
OF NARO WESTERN REGION
AGRICULTURAL RESEARCH CENTER

No. 11 February 2012

CONTENTS

Tachisuzuka, a New Rice Cultivar with High Straw Yield, High Digestibility
and High Sugar Content for Whole-Crop Silage Use

Kei MATSUSHITA, Shuichi IIDA, Osamu IDETA, Yoshihiro SUNOHARA,
Hideo MAEDA and Yasuaki TAMURA 1

Effect of Grass Hay Feeding on Meat Production, Carcass Characteristics,
and Meat Quality in Japanese Black Steers

Masahiro SHIBATA, Kazunori MATSUMOTO, Yasuko HIKINO, Mika OE,
Koichi OJIMA, Ikuyo NAKAJIMA, Susumu MUROYA, Koichi CHIKUNI
and Naoyuki YAMAMOTO 15

A New Soybean Cultivar, 'Akimaro', with High Yield in Late Sowing Cultivation
and Suitability for Miso (Soybean Paste) Production

Yoshitake TAKADA, Masayasu SARUTA, Akinori OKABE, Akio KIKUCHI,
Sadayoshi ONO, Kazuhiro YAGASAKI, Hidehiko SAKAMOTO,
Mitsuo TAKAMATSU, Naohiro YAMADA, Nobuo TAKAHASHI,
Nobuhisa TANAKA, Satoru MOTOKI and Kiyoshi NISHIMAKI 27

Development of DNA Markers for Identification of Wheat Cultivars
and Wheat Food Products

Yumiko FUJITA 41

A New Soybean Cultivar 'Hatsusayaka', with Tolerance
of Delayed Leaf Senescence and Suitability for Tofu Processing

Masayasu SARUTA, Yoshitake TAKADA, Akinori OKABE, Akio KIKUCHI,
Sadayoshi ONO, Kazunori IGITA, Shinji SAKAI, Ryoichi MATSUNAGA,
Makita HAJIKA, Masakazu TAKAHASHI and Kunihiko KOMATSU 81

茎葉多収で消化性に優れ高糖分含量の 飼料用水稻品種「たちすずか」の育成

松下 景・飯田修一・出田 収・春原嘉弘¹・前田英郎¹・田村泰章^{2, 3}

Key words : rice, cultivar, whole crop silage, digestibility, lodging resistance, sugar content, Tachisuzuka

目 次

I 緒 言	1	7 直播適性	8
II 育成経過	2	8 品質・食味特性	8
III 特 性	3	IV 栽培適地および栽培上の留意点	9
1 一般的特性	3	1 栽培適地	9
2 耐倒伏性	3	2 栽培上の留意点	9
3 収量性	5	V 命名の由来および育成従事者	9
4 飼料成分・給与適性	5	VI 摘 要	9
5 発酵特性	6	引用文献	10
6 病害およびその他の抵抗性	7	Summary	12

I 緒 言

新興国の経済発展や人口増加に伴う穀物需要の増加、また世界的な異常気象の頻発によって、国際的な穀物需給が逼迫しはじめている。2008年に生じた流通飼料価格の高騰とその後の高止まり傾向は、国際飼料価格の影響を受けやすい我が国の畜産経営における大きな不安要因と言わざるを得ない。このような状況の下、2010年に閣議決定された「食糧・農業・農村基本計画」に基づき、水田で栽培できる飼料作物として、稲発酵粗飼料や飼料米に手厚い支援が行われることになった。中でもイネをホールクロップサイレージ(WCS)として利用する稲発酵粗飼料の栽培面積は、従来からの取り組みによって栽培から給与に至る一貫した技術体系が完成していることもあり、その作付面積は2010年には1万5千ヘクタールを越え着実に増加している。しかし天候不

順などにより収穫適期を逃し、倒伏によって収穫が困難となる場面も多いため、耐倒伏性に優れ長期間にわたって収穫が可能となる品種が求められている。また、イネWCSを牛に給与する際には、未消化のまま排泄される糞が多く生じる⁹⁾。特に乳牛では、最大で糞の50%が消化されなかったとする報告も見られており、これによるエネルギーのロスが問題となっている¹³⁾。さらに、WCSの発酵には乳酸菌のエネルギー源となる糖が必要だが、稲発酵粗飼料の場合黄熟期の糖含量が低いことがサイレージ発酵の際に不良発酵を生じる原因のひとつと考えられている^{1, 20)}。

ここで述べた問題点を改善できる品種の育成を目標として育成された「たちすずか」⁷⁾は、耐倒伏性が高く登熟後も倒れにくいことから収穫可能な期間が長い。また茎葉が多収で子実の割合が低く未消化子実の排泄による栄養分のロスを抑制できると考えられる。さらに、サイレージ中の中性デタージェン

(平成23年9月13日受付, 平成23年12月7日受理)
農研機構 近畿中国四国農業研究センター
水田作研究領域 水稻育種研究グループ

¹ 現 農研機構 作物研究所

² 元 国際農林水産業研究センター

³ 現 農研機構 九州沖縄農業研究センター

ト繊維 (NDF) の消化性が高いことから消化率に優れた品種といえる。加えて、サイレージ発酵に必要な茎葉中の糖含量が高いことから普及が期待されるため、2010年3月に種苗法に基づく品種登録出願を行った。そこで、本品種の育成経過および特性の概要について報告する。

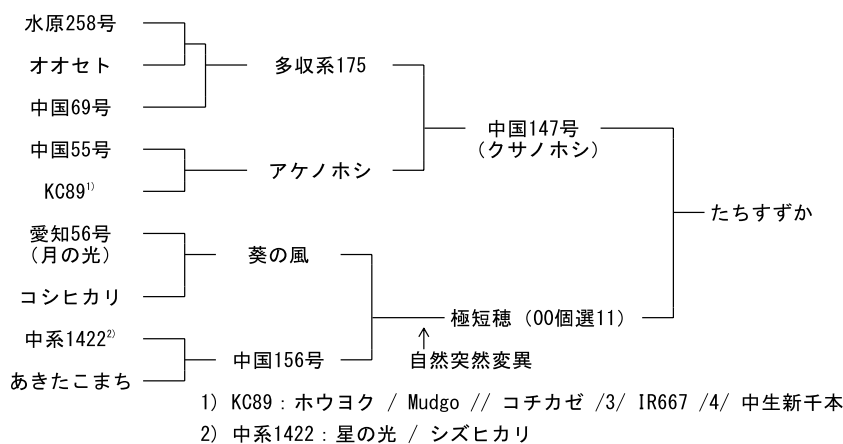
なお、「たちすずか」の育成は農林水産省委託プロジェクト「新鮮でおいしい「ブランド・ニッポン」農産物提供のための総合研究 (3系)」(2003~2005年度) および「粗飼料多給による日本型家畜飼養技術の開発」(2006~2009年度) の予算を得て行った研究の成果である。これらのプロジェクト研究の企画・推進に労をとられた関係者各位に心から感謝の意を表す。また、飼料成分の分析や消化特性の解明においては、広島県立総合技術研究所・畜産技術センターに多大なるご支援をいただき、心から感謝の意を表す。さらに、地域農業確立総合研究「高糖分飼料イネを核とした中山間耕畜連携システムの確立」(2009~2010年度) に参画し地域適性の検討や普及推進の労をとっていただいた各機関に対し心から感謝の意を表す。また、圃場試験の支援業務にご尽力された近畿中国四国農業研究センター業務第1科の各位、各種の特性検定試験の補助を頂いた契約職員の皆様に厚くお礼申し上げる。

II 育成経過

「たちすずか」は「中国147号」(後の「クサノホ

シ」¹⁷⁾) を母, 「極短穂 (00個選11)」を父とする後代より育成した系統である。第1図に「たちすずか」の系譜図を示す。なお「極短穂 (00個選11)」とは「葵の風」と「中国156号」との交配後代から、2000年の個体選抜 (F₄) において見いだされた、下位の枝梗が退化する自然突然変異系統である。対立性検定の結果から、この形質を支配する遺伝子は、染色体11に座乗する短穂遺伝子1 (*sp1*) と同座であると考えられる。

第1表に「たちすずか」の選抜経過と育成系統図を示す。2001年に近畿中国四国農業研究センターにおいて、茎葉型飼料用品種の育成を目標に人工交配を行った。同年から翌年にかけての冬期に温室内でF₁を養成し、2002年にF₂世代を普通期乾田直播栽培で養成した。2003年は冷蔵庫内にて保存し、2004年に国際農林水産業研究センター沖縄支所 (現: 熱帯・島嶼研究拠点) においてF₃~F₄世代を養成した。以後は普通期移植栽培で2005年 (F₅) に個体選抜を、2006年 (F₆) に系統選抜を行い、以後系統育成により選抜・固定を図ってきた。2007年 (F₇) は系統番号「多収系1072」を付して生産力検定本試験・特性検定試験に供試した。その結果、成績が良好であったため2008年 (F₈) より系統名「中国飼198号」を付して関係府県に配布し、地域適性を調査してきた。その結果、多収性、耐倒伏性、飼料適性の面でWCS品種として優れた適性を持つことが認められ、2010年3月に種苗法に基づく品種登録出願が行われ「たちすずか」と命名された。



第1図 「たちすずか」の系譜

第1表 「たちすずか」の育成経過と育成系統図

年次	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009
世代	交配	F ₁	F ₂	F ₃₋₄	F ₅	F ₆	F ₇	F ₈	F ₉
供試									
系統群数									
系統数						45	5	5	30
個体数	(70粒)	5	3000	5000	3000	16	32	64	32
選抜									
系統群数							1	1	1
系統数						1	1	1	1
個体数					45	5	5	30	5

備考 保存 沖縄 個選 多収系1072 中国飼198号
 注) 斜体は1系統あたりの個体数, 下線は選抜系統, 太字は後の「たちすずか」を示す。

Ⅲ 特 性

1 一般的特性

第2表に育成地での普通期移植栽培による「たちすずか」の生育調査成績および特性調査成績を示す。「たちすずか」の出穂期は「クサノホシ」より4日程度遅く、育成地では「極晩生」に属する。出穂期から黄熟期までの期間は32日間であり、「クサノホシ」の37日間よりやや短い。このため、黄熟期は「クサノホシ」より1日程度早い。稈長は「クサノホシ」, 「リーフスター」³⁾ よりも長い。穂長は「クサノホシ」, 「リーフスター」より短い。下位の支梗が退化するため、外観上はより短く見える(写真1,

写真2)。穂数は「クサノホシ」, 「リーフスター」よりも多い。穎色は“黄白”, ふ先色は“白”, 芒の多少は“少”, 長短は“短”である。梗種で、脱粒性は「リーフスター」, 「クサノホシ」と同じ“難”である。稈の細太は「クサノホシ」と同程度の“やや太”, 稈の剛柔は“剛”であり、「クサノホシ」に優る。

2 耐倒伏性

育成地における普通期移植栽培では、WCSの収穫適期である黄熟期において「たちすずか」の倒伏程度は「クサノホシ」より小さかった(第2表)。また、普通期移植栽培においては黄熟期以降2ヵ月間にわたってほとんど倒伏しなかった。稲発酵粗飼

第2表 普通期移植栽培における「たちすずか」の生育調査成績および特性調査成績 (2007-2009)

品種名		たちすずか	クサノホシ	リーフスター
出穂期 (月日)		9.02	8.29	9.04
黄熟期 ¹⁾ (月日)		10.04	10.05	10.08
稈長 (cm)		121	110	112
穂長 (cm)		16.9	22.0	22.4
穂数 ²⁾ (本/m ²)		301	250	223
倒伏程度 ³⁾	黄熟期	0.0	2.2	0.0
	黄熟後1ヵ月 ⁴⁾	0.0	3.3	0.5
	黄熟後2ヵ月 ⁴⁾	0.5	5.0	2.3
紋枯病 ³⁾		0.3	0.3	1.0
下葉枯 ³⁾		2.2	2.8	2.8
コブノメイガ ³⁾		2.7	2.5	3.2
毛茸の有無		有	有	無
穎色		黄白	黄白	茶
ふ先色		白	白	褐
脱粒性		難	難	難
稈の細太	やや太	やや太	太	
	剛柔	剛	やや剛	極剛
芒の多少	少	無	無	
	長短	短	—	—

注1) 2009年の値。

2) 穂数は全穎花が退化し出穂しない稈の数を含めた値。

3) 倒伏程度, 紋枯病, 下葉枯, コブノメイガは0 (無) ~ 5 (甚) の6段階評価。

4) 黄熟後1ヵ月は出穂後63日目, 黄熟後2ヵ月は出穂後99日目の倒伏程度。ともに2008-2009年の値。



写真1 「たちすずか」の草姿 左からたちすずか, クサノホシ, リーフスター

料の収穫は黄熟期が最も適するとされる¹⁴⁾が, 実際には天候不順や機械の作業速度などによって刈り遅れが生じる場面も少なくない。黄熟期以降の長期にわたる耐倒伏性は刈り遅れによる倒伏を回避するために重要である。第3表に第5節間における稈の太さおよび挫折強度の調査結果を示す。「たちすず



写真2 「たちすずか」の穂相 上からたちすずか, クサノホシ, リーフスター

第3表 「たちすずか」の稈質 (2008-2009)

調査部位	第5節間中央部		
	たちすずか	クサノホシ	リーフスター
節間の長径 (mm)	6.0	5.2	6.7
短径 (mm)	5.4	4.8	5.9
挫折強度 ¹⁷⁾ (N/稈)			
黄熟期	12.0	11.4	19.6
黄熟後1ヶ月	14.1	9.1	20.5

注1) 大川ら (1993)¹²⁾の方法に従い, 節間中央部を押し曲げて挫折させた際の最大抵抗値を測定した。生産力検定試験の中庸な4株について, 各株の稈の長い方から3稈 (合計12稈) を調査して平均値を求めた。

か」の稈は「クサノホシ」より太く, 「リーフスター」より細かった。また, 「たちすずか」の稈の挫折強度は「クサノホシ」より高く「リーフスター」より低かった。黄熟後1ヶ月を経過することにより「たちすずか」の稈の挫折強度は向上したのに対し, 「クサノホシ」では低下し, 「リーフスター」ではやや向上した。この理由としては, 「たちすずか」, 「リーフスター」では黄熟期の地上部糖含量が「クサノホシ」より高い (後述) ことが挙げられる。すなわち, 「たちすずか」, 「リーフスター」では茎葉中に糖分を蓄積するため稈の老化が抑制され, これによって耐倒伏性を長期間維持している可能性がある。第4表に育成地および近畿中国四国農業研究センター中山間耕畜連携・水田輪作研究チームにおける転び型倒伏抵抗性検定の結果を示す。「たちすずか」は「クサノホシ」と比較し株あたりの押し倒し抵抗値が大きく, 重心が低いことから倒伏指数が小さく, 転び型倒伏抵抗性が強い。これらの結果から, 「たちすずか」の耐倒伏性は「極強」と判断した。

「たちすずか」は穂が短いため、後述するように籾の重量が「クサノホシ」に比較し極めて少ない。このため重心高が低くなり、耐倒伏性の向上に寄与しているものと考えられる。

3 収量性

第5表に育成地での普通期移植栽培による地際刈りの「たちすずか」の収穫物調査成績を示す。育成地における普通期移植栽培および湛水直播栽培による生産力検定試験での全乾物重は地際刈りでは「クサノホシ」,「リーフスター」よりやや多収である。また「たちすずか」は地際から20cmまでの部分が全体の乾物重に占める割合がやや高く、高刈りによるロスが「クサノホシ」,「リーフスター」よりやや多い(第2図)。このため収穫の際にはできるだけ低い高さで刈り取りを行うことが望ましい。「たちす

第4表 「たちすずか」の転び型倒伏抵抗性検定成績

a) 育成地における試験 (2008-2009)¹⁾

品種名	たちすずか	クサノホシ	リーフスター
出穂期 (月日)	9.04	9.01	9.04
穂数 (本/株)	14.5	11.2	10.6
押倒抵抗値 (N/株)	10.7	8.8	7.7
(N/穂)	0.86	0.82	0.69

b) 中山間耕畜連携・水田輪作研究チームによる試験 (2007)¹⁾

品種名	たちすずか	クサノホシ	リーフスター
出穂期 (月日)	9.03	8.31	9.07
草丈 (cm)	119	112	121
稈長 (cm)	93	84	95
重心高 (cm)	32.0	40.0	40.2
穂数 (本/株)	12.1	9.6	10.2
生重 (g/株)	166	154	162
押倒抵抗値 (N/株)	11.5	10.3	7.9
(N/穂)	0.95	1.07	0.77
倒伏指数 ²⁾	4.62	5.98	8.24

注1) 晩植少肥栽培 (5月下旬播種, 基肥0.56kgN/a) による。移植数日後に株元を地表面まで引き上げ, 出穂後27-35日目 (a) ないし17-25日目 (b) に株を45度まで押倒した際の最大抵抗値を測定した。

2) 倒伏指数 = (重心高 × 生重) / 株あたり押倒抵抗値 / 100

第6表 「たちすずか」地上部の飼料成分 (2007-2009)

調査部位	品種名	水分 ¹⁾ (%)	粗タンパク質 ²⁾ (乾物中%)	粗脂肪 ²⁾ (乾物中%)	灰分 ²⁾ (乾物中%)	中性デター ジェント繊維 ²⁾ (乾物中%)	非繊維性 炭水化物 ²⁾ (乾物中%)	糖 ²⁾³⁾ (乾物中) (%)	糖 ⁴⁾ (新鮮物中) (%)
	たちすずか	69.5	6.7	1.6	12.4	46.1	33.2	11.5	3.5
地上部	クサノホシ	68.4	6.4	1.9	11.8	47.8	32.1	1.7	0.5
	リーフスター	66.0	6.5	1.5	11.3	46.2	34.5	5.3	1.8

注1) 水分は2008-2009年の平均値。

2) 分析は広島県立総合技術研究所畜産技術センターに依頼した。

3) 糖の測定はHPLC法によるショ糖・ブドウ糖・果糖の合計値。

4) 糖 (新鮮物中) は水分と糖 (乾物中) から算出した。

ずか」の籾乾物重は「クサノホシ」の32%, 「リーフスター」の47%と極めて少ない。反面, 茎葉乾物重は「クサノホシ」の164%, 「リーフスター」の129%と高い。このため「たちすずか」の籾重/茎葉重は0.14であり, 「クサノホシ」, 「リーフスター」よりも低い。

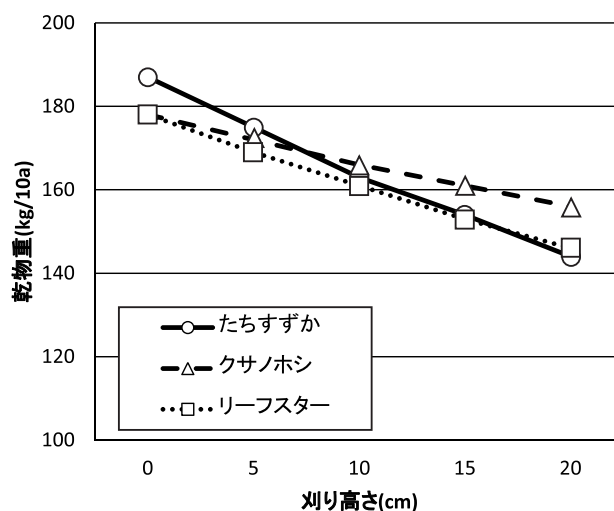
4 飼料成分・給与特性

第6表に「たちすずか」の黄熟期における飼料成分分析結果を示す。「たちすずか」の黄熟期の水分含量は「クサノホシ」, 「リーフスター」と同程度で

第5表 「たちすずか」の収量および収穫物調査成績 (2007-2009)

品種名	たちすずか	クサノホシ	リーフスター
全乾物重 (kg/a)	187	178	178
比較比率 (%)	105	100	100
茎葉乾物重 (kg/a)	164	106	129
籾乾物重 (kg/a)	23.2	72.1	49.1
籾重/茎葉重	0.14	0.68	0.38

注1) 普通期移植栽培のデータである。



第2図 「たちすずか」の刈り高さと乾物重

あった。地上部の粗タンパク質、粗脂肪、灰分と中性デタージェント繊維 (NDF)、非繊維性炭水化物 (NFC) は「クサノホシ」, 「リーフスター」と比較し明瞭な違いはなかった。粉中に蓄積するデンプンは NFC に分画されるが, 「たちすずか」, 「リーフスター」では「クサノホシ」より多くの NFC を茎葉中に蓄積しているため, この3品種の全重に占める粉の割合が大きく異なるにもかかわらず NFC に違いが見られないと考えられる。加藤ら³⁾ は, 粉がやや少ない「リーフスター」と粉が多い品種「クサノホシ」との飼料成分を比較し, 可溶無窒素物などデンプンが分画される分析値に差がないことを示した。その理由としては, 「リーフスター」の茎葉中の非構造性炭水化物が高いことがあげられる⁸⁾。すなわち, 稲発酵粗飼料用品種では消化されにくい粉の部分を減らすことにより, 消化されやすい茎葉中に炭水化物を移動させることができるため, 粉の排泄による実質的な栄養価の低下を回避できることが示唆された。

広島県立総合技術研究所畜産技術センターでは「たちすずか」の給与特性について多面的な検討を行っている。城田ら¹⁶⁾ はホルスタイン種乾乳牛を用いた消化試験において, 「たちすずか」の可消化養分総量 (TDN) が「クサノホシ」より5.3%高いと報告している。さらに, 新出¹⁵⁾ は泌乳中期牛に対して「たちすずか」, 「クサノホシ」サイレージをそれぞれ乾物30%となるように混合した完全混合飼料 (TMR) を泌乳中期牛に対して給与した結果, 「たちすずか」TMR 給与牛では乳量および4%脂肪補正乳量が高く, 増体にも優れる傾向があると報告している。一方, 河野ら⁵⁾ は, メンヨウを用いた消化試験により黄熟期の「たちすずか」と「クサノホシ」のサイレージについて各飼料成分の消化率を比較した。それによると, 「たちすずか」の粗繊維消化率およびNDF消化率はそれぞれ60.6%, 53.1%であり, 「クサノホシ」の50.0%, 45.1%と比較し大幅に高い値を示した。また, このときのTDNは「たちすずか」が「クサノホシ」より3.5%高かった。Oba and Allen¹¹⁾ はNDF消化率の向上は乾物摂取量および乳量の改善に寄与するとしているが, 日本標準飼料成分表²⁾ によれば, イネサイレージの粗繊維消化率は出穂後に低下し黄熟期では53%程度であり, 「たちすずか」の粗繊維消化率は従来品種より

はるかに高い値といえる。前述の泌乳試験¹⁵⁾ においても粉の割合だけでなく粗繊維消化率の違いが結果に影響しているものと考えられる。

5 発酵特性

サイレージの発酵過程においては乳酸菌のエネルギー源となる糖含量が発酵品質を左右する重要な要素の一つとされ, 良好な乳酸発酵のためには材料草の新鮮物中2%以上の糖が必要とされている¹⁰⁾。しかし飼料イネでは, 程が中空構造でロールバール中の空気が多くなりがちなこと, 付着している乳酸菌の数が少ないことと並んで, 黄熟期の糖含量が低いことがサイレージ発酵において不利な条件とされている¹⁾。山田・村田²⁰⁾ は, 飼料イネ中の糖含量とV2-Scoreの間に高い正の相関関係があることを示している。しかし, 品種育成の立場からこの点に着目して改善に取り組んだ例はなかった。第6表に「たちすずか」の糖含量を示す。「たちすずか」の地上部糖含量は「クサノホシ」と比較し明瞭に高く, 良好な乳酸発酵を期待できる数値を示した。河野⁶⁾ は「クサノホシ」では出穂直後に穂の3分の2の枝梗を除去することにより茎葉中の糖含量が増加することを示し, 「たちすずか」がもつ高糖分の特性は粉が少ないことにより二次的にもたらされた特徴である可能性を示唆している。これらの結果は, 通常の品種であれば粉に転流される光合成産物が, 粉が少ないため茎葉部中に残存し, デンプンに変換されずに糖として蓄積されているためであると考えられる。同時に, 稲発酵粗飼料においては粉が少ないことにより糖の含量が向上し, 発酵の際に有利に働く可能性をも示唆している。塚崎ら¹⁹⁾ は黄熟期の「たちすずか」と「クサノホシ」の糖含量と, それぞれのロールラップサイレージのpHおよび発酵産物含量を比較し, 糖含量はそれぞれ15.5%, 5.0%であり, 「たちすずか」の糖含量は「クサノホシ」よりも著しく高かったとしている。また, このときの「たちすずか」のサイレージはpH, 発酵産物含量ともに良好な値を示し, 過剰なエタノールが生成されることはなかった。また山田・村田²⁰⁾ は飼料専用の10品種を比較し, 「たちすずか」の糖含量が最も高いとした。このとき密封パウチ法で発酵させた「たちすずか」のV2-Scoreは99と極めて良好であっ

た。現在では、相次いで実用化された自走式の細断型ロールペーラ¹⁸⁾や乳酸菌添加剤「畜草1号」¹⁾の活用により、飼料イネサイレージの不良発酵が問題になる場面は減少していると思われる。さらに、高い糖含量をもつ「たちすずか」を活用することで、サイレージの長期保存など稲発酵粗飼料の高度な利用への効果が期待される。

6 病害およびその他の抵抗性

中央農業総合研究センターの小泉らによると、「たちすずか」はいもち病抵抗性遺伝子 *Pib*, *Pita* および *Pi20(t)* を持つと推定されている(私信)。同研究チームによる親和性菌を用いた接種検定によると「たちすずか」の葉いもちの圃場抵抗性は“弱”である(第7表)。穂いもちの圃場抵抗性は“不明”である(第8表)。

「たちすずか」と「クサノホシ」は白葉枯病抵抗性検定において発病程度1.0以下の過敏反応的な強い抵抗性を示した。(第9表)。「たちすずか」と「クサノホシ」には「中国69号」を経由し「早生愛国3号」由来の白葉枯病抵抗性遺伝子 *Xa-3* が導入されている可能性がある²¹⁾。「たちすずか」は縞葉

第7表 「たちすずか」の葉いもち圃場抵抗性検定結果

品種名	推定抵抗性遺伝子型	接種菌株に対する発病程度 ¹⁾		判定
		稲R668-19 (303.2)	IS72 (106.4)	
たちすずか	<i>Pita, Pib, Pi20(t)</i>	184.8	114.3	弱
クサノホシ	<i>Pita, Pib, Pi20(t)</i>	183.8	-	弱
農林29号	+	139.5	-	弱
日本晴	+	90.7	-	中
黄金晴	+	40.1	-	強
愛知旭	<i>Pia</i>	-	82.6	弱
ヤマビコ	<i>Pia</i>	-	37.1	強

注1) 中央農業総合研究センター病害抵抗性研究チームにおける接種検定による病斑数。

第8表 「たちすずか」の穂いもち圃場抵抗性検定結果(2009)¹⁾

品種名	推定抵抗性遺伝子型	出穂期	発病 ²⁾	判定
たちすずか	<i>Pita, Pib, Pi20(t)</i>	9.08	0.0	不明
秋晴	<i>Pia</i>	8.10	5.5	中
日本晴	<i>Pia</i>	8.06	5.9	やや弱
農林29号	+	8.05	6.8	弱
きぬむすめ	<i>Pia, Pii</i>	8.13	6.0	やや弱
黄金晴	<i>Pia, Pii</i>	8.05	6.3	やや弱
いなひかり	<i>Pii</i>	8.10	3.5	強
祭り晴	<i>Pii</i>	8.05	3.5	強

注1) 穂いもち検定圃場(広島県世羅郡世羅町)における調査結果。

2) 発病: 0(無発病)~10(全穂首罹病)の11段階評価。

枯病に対しては“罹病性”である(第10表)。

鹿児島県農業開発総合センターにおける試験によると、「たちすずか」の紋枯病抵抗性は“中”である(第11表)。穂発芽性は「クサノホシ」,「リーフスター」より発芽しにくい“難”である(第12表)。

育成地における普通期移植栽培において、コブノメイガの被害は「クサノホシ」,「リーフスター」並に多かった(第2表)。菊地らによる調査の結果では、「たちすずか」は「クサノホシ」と比較しコブノメイガとヒメトビウカカの発生に差は見られなかった(私信)。同時に、「たちすずか」は「クサノホシ」と比較しセジロウカとツマグロヨコバイの発生が多い傾向があるが、ヒメトビウカカの発生に差

第9表 「たちすずか」の白葉枯抵抗性検定結果

品種名	近中四農研 ¹⁾			宮崎総農試 ³⁾	
	発病程度 ²⁾		判定	病斑長 (cm)	判定
	I群菌	II群菌			
たちすずか	1.0	1.0	極強	0.6	極強
クサノホシ	1.0	1.0	極強	-	-
リーフスター	2.0	1.7	強	-	-
あそみのり	1.0	2.0	強	-	-
日本晴	1.8	3.2	やや強	-	-
金南風	5.6	6.6	弱	-	-
ツクシホマレ	-	-	-	1.8	強
ウズシオ	-	-	-	2.3	やや強
ミナミヒカリ	-	-	-	4.7	中
ミナミニシキ	-	-	-	5.8	やや弱
十石	-	-	-	6.9	弱

注1) 近畿中国四国農業研究センターでの剪葉接種法による評価。

2) I群菌(2007)はT7174, II群菌(2007~2008)はT7147に対する反応。0(無発病)~10(全葉枯死)の11段階評価で評価した。

3) 宮崎県総合農業試験場による評価。T7147の剪葉接種による。

第10表 「たちすずか」の縞葉枯病抵抗性検定結果¹⁾

品種名	2008年		2009年		判定
	発病指数	杜穂比 (%)	発病指数	杜穂比 (%)	
たちすずか	24.0	149	56.6	85	罹病性
陸稲農林11号	0.0	0	0.0	0	抵抗性
農林8号	20.6	128	58.0	88	罹病性
StNo.1	0.0	0	3.4	5	抵抗性
杜穂	16.1	100	72.9	110	罹病性
日本晴	17.3	107	65.5	99	罹病性

注1) 近畿中国四国農業研究センターにおける幼苗検定法による評価。

2) 発病程度をA(生育不良で病害の全部または一部が枯死)~D(病徴あるが生育良好)の6段階に判定し、下記の式で発病指数を判定した。

$$\text{発病指数} = \frac{100 \times A + 80 \times B + 60 \times Bt + 40 \times Cr + 20 \times C + 5 \times D}{\text{調査苗数}}$$

第11表 「たちすずか」の紋枯病抵抗性検定結果¹⁾

品種系統名	2008年			2009年			発病度 平均	総合 判定
	出穂期 (月日)	稈長 (cm)	発病度	出穂期 (月日)	稈長 (cm)	発病度		
たちすずか	8.10	85	32	7.31	99	8	20	中
WSS3	7.27	88	3	7.19	94	2	3	強
北陸糯181号	7.28	82	9	7.16	84	3	6	やや強
夢十色	7.23	82	26	7.15	85	15	21	中
初星	7.13	74	53	7.01	71	15	34	やや弱
日本晴	7.23	76	35	7.13	74	18	27	やや弱
多収系772	7.26	57	58	7.19	60	28	43	弱
ミネアサヒ	7.19	74	48	7.07	68	37	43	弱
ヒノヒカリ	8.01	76	45	7.18	77	42	44	弱

注1) 鹿児島県農業開発総合センターによる試験。ふすま粉がら培地で培養した紋枯菌を粉がらと混和して圃場に散布し、発病程度A(株の半数以上の茎が発病し、最上位病斑が止葉から穂首まで達し一部止葉が枯死)からE(発病を認めない、または、第4葉鞘以下の発病)の5段階に判定し、下記の式で発病度を判定した。数値はすべて三反復の平均値。

$$\text{発病度} = \frac{4 \times A + 3 \times B + 2 \times C + D}{4 \times \text{調査株数}}$$

第12表 「たちすずか」の穂発芽性検定結果¹⁾

品種名	発芽程度	判定
たちすずか	3.0	難
クサノホシ	5.6	やや難
リーフスター	8.5	やや易
クサホナミ	5.5	やや難
ホシアオバ	9.4	やや易

注1) 発芽程度は0(無発芽)～10(全粒発芽)の11段階評価。近畿中国四国農業研究センターでの2007年～2009年の試験の平均値。

は見られなかった(私信)。菊地⁴⁾は、斑点米カメムシの一種であるアカヒゲホソミドリカスミカメの増殖程度について、「たちすずか」と「クサノホシ」の間に差異はないとしている。

7 直播適性

第13表に育成地における湛水直播栽培における「たちすずか」の生育調査成績および収量調査成績を示す。「たちすずか」の苗立性は「クサノホシ」「リーフスター」よりやや劣るものの、実用上問題はないと考えられる。また、「たちすずか」の出穂期は「クサノホシ」より4日程度遅く、黄熟期は「クサノホシ」より2日程度早い。全乾物重は「クサノホシ」より多収で、茎葉乾物重が高く、籾乾物重が低い。黄熟期の耐倒伏性は「クサノホシ」に優る。早晩性、収量性、耐倒伏性において普通期移植栽培と同様の結果が得られたことから、「たちすず

第13表 湛水直播栽培における「たちすずか」の生育および収量(2007-2009)

品種名	たちすずか	クサノホシ	リーフスター
出穂期(月日)	9.03	8.30	9.06
黄熟期 ¹⁾ (月日)	10.03	10.05	10.06
稈長(cm)	114	101	107
穂長(cm)	15.2	19.4	20.3
穂数 ²⁾ (本/m ²)	340	261	232
苗立性 ³⁾	6.8	7.8	7.6
倒伏程度 ⁴⁾	0.0	0.7	0.0
紋枯病 ⁴⁾	0.0	0.0	0.0
下葉枯 ⁴⁾	2.3	3.0	2.5
コブノメイガ ⁴⁾	2.3	1.8	3.0
全乾物重(kg/a)	204	185	180
比較比率(%)	110	100	97
茎葉乾物重(kg/a)	188	110	135
籾乾物重(kg/a)	15.1	75.4	45.5
籾重/茎葉重	0.08	0.69	0.34

注1) 2009年の値。

2) 穂数は全穎花が退化し出穂しない稈の数を含めた値。

3) 苗立性は0(極不良)～10(極良)の11段階評価。

4) 倒伏程度、紋枯病、下葉枯、コブノメイガは0(無)～5(甚)の6段階評価。2009年の値。

か」は湛水直播栽培に適性を持つと考えられる。

8 品質・食味特性

玄米の粒形は「や円」、粒大は「中」であり、千粒重は22g程度で「クサノホシ」より小さく、「リーフスター」より大きい(第14表)。玄米の外観品質は「リーフスター」並で、「クサノホシ」より明らかに優る(第14表)。食味は「ヒノヒカリ」より明らかに劣り、「クサノホシ」並である(第15表)。

第14表 「たちすずか」の玄米外観品質（育成地，2007-2009）

品種名	粒長 ¹⁾ (mm)	粒幅 ¹⁾ (mm)	粒厚 ¹⁾ (mm)	粒長/ 粒幅 ¹⁾	粒長× 粒幅 ¹⁾	粒形 ¹⁾	粒大 ¹⁾	玄米 千粒重	品質 ²⁾
たちすずか	5.0	3.08	2.05	1.62	15.3	やや円	中	21.5	4.9
クサノホシ	5.1	3.21	2.24	1.59	16.4	やや円	やや大	24.6	7.4
リーフスター	5.9	2.62	1.94	2.24	15.4	長	中	20.3	5.1

品種名	光沢	色沢	心白	腹白	背白	乳白	茶米	胴割
たちすずか	中	中	少	少	無	極微	少	極微
クサノホシ	やや否	やや淡	中	甚	無	多	少	少
リーフスター	中	濃	極微	無	無	極微	多	極微

注1) 2009年の値.

2) 品質：1（極良）～9（極不良）の9段階評価.

第15表 「たちすずか」の食味試験成績

品種名	外観	香り	粘り	味	柔らかさ	総合	試験日	パネル数
たちすずか	-1.37**	-0.79**	-1.58**	-1.74**	-1.74**	-1.89**	2009年 12月10日	19名
クサノホシ	-1.53**	-0.58**	-1.79**	-1.63**	-1.89**			
リーフスター	-1.00**	-0.32	-1.11**	-1.11**	-0.79**			
ヒノヒカリ（基準）	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00			

注) 各項目-3（かなり不良）～+3（かなり良い）. **：1%水準で基準品種と有意差有り.

第16表 「たちすずか」の育成従事者

年次	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010
世代	交配・F ₁	F ₂		F ₃₋₄	F ₅	F ₆	F ₇	F ₈	F ₉	F ₁₀
松下景	○									○
飯田修一	○									○
出田収						○				○
春原嘉弘	○								○	
前田英郎	○					○			○	
田村泰章				○	○					

メイガの発生がみられた場合には、適期防除に努める。

Ⅳ 栽培適地および栽培上の留意点

1 栽培適地

「たちすずか」はその出穂期から判断して、関東以西の平坦地および中山間地域に適するとみられる。

2 栽培上の留意点

種子生産の効率が低いため、採種栽培の面積が通常品種より多く必要となる。病虫害対策の面では、縞葉枯病に罹病性であるので、常発地帯では作付けしない。また、いもち病に対しては真性抵抗性遺伝子をもつため通常は発病しないが、圃場抵抗性が弱いいため変異菌の出現により発病が見られた際には確実に防除を行う。さらにウンカ、ヨコバイ、コブノ

Ⅴ 命名の由来および育成従事者

「たちすずか」は、まっすぐに立つ草のかたちと、この品種が植えられた水田に吹くさわやかな風（涼風／すずか）をイメージして命名された。「たちすずか」の育成従事者は第16表の通りである。

Ⅵ 摘 要

「たちすずか」は茎葉多収で耐倒伏性の高いWCS専用水稲品種を育成することを目的として、全重多収の「クサノホシ」を母、穂が短く着粒数が少ない「極短穂（00個選11）」を父とする交配後代

より育成した系統である。2001年、近畿中国四国農業研究センターにおいて交配を行い、以降、集団育種法に準じて育成を進め、2005年は系統番号「多収系1072」を付して生産力検定試験、特性検定試験などに供試した。2008年以降は系統名「中国飼198号」を付して地域適応性を調査した。2010年に「たちすずか」として、品種登録出願（出願番号第24752号）を行った。

1. 「たちすずか」の出穂期は「クサノホシ」より4日程度遅く、瀬戸内平坦部では“極晩生”に属する。稈長は121cmで「クサノホシ」よりも長く、穂長は「クサノホシ」より短い。穂数は「クサノホシ」よりも多い。「たちすずか」の耐倒伏性は「クサノホシ」に優り“極強”である。
2. 「たちすずか」の全乾物重は地際刈りでは「クサノホシ」よりやや多収である。「たちすずか」の粉乾物重は「クサノホシ」より少ない。
3. 黄熟期における「たちすずか」の水分含量、一般成分分析値、中性デタージェント繊維および非繊維性炭水化物は「クサノホシ」と比較し明瞭な違いはない。「たちすずか」の茎葉中の糖含量は「クサノホシ」より高い。
4. いもち病抵抗性遺伝子 *Pib*, *Pita* および *Pi20(t)* を持つと推定される。葉いもちの圃場抵抗性は“弱”，穂いもちの圃場抵抗性は“不明”である。白葉枯病抵抗性は“極強”だが圃場抵抗性であるかは不明である。縮葉枯病に対しては“罹病性”，紋枯病抵抗性は“中”である，穂発芽性は“難”である。
5. 出穂期から判断して、「たちすずか」は関東以西の地域に適するとみられる。

引用文献

- 1) 蔡 義民・藤田泰仁・村井 勝・小川増弘・吉田宣夫・北村 亨・三浦俊治 2003. 飼料イネサイレージ調製への乳酸菌 (*Lactobacillus plantarum* 畜草1号) の利用. 日草誌 49: 477-485.
- 2) 独立行政法人農業技術研究機構 2009. 日本標準飼料成分表 (2009年版). 中央畜産会, 東京. 60.
- 3) 加藤 浩・根本 博・坂井 真・安藤郁男・大川泰一郎・平林秀介・出田 収・竹内善信・平山正賢・太田久稔・佐藤宏之・井邊時雄・中川宣興・堀末 登・高館正男・田村和彦・青木法明・石原 邦・石井卓朗・飯田修一・前田英郎 2010. 稲発酵粗飼料向け茎葉多収型水稻品種「リーフスター」の育成. 作物研報 11: 1-15.
- 4) 菊地淳志 2011. 飼料イネ品種「たちすずか」におけるカスミカメムシ類の発育と増殖. 関西病虫研報 53: 143-145.
- 5) 河野幸雄・塚崎由子・高桑将滋・岸本一郎・神田則昭・新出昭吾・松下 景・藤本 寛・亀井雅浩 2009. 高糖分飼料イネ「中国飼198号」・「FN-1」の飼料成分と消化率. 関西畜産学会報 165: 21.
- 6) ——— 2011. 極短穂性飼料イネ品種「たちすずか」と摘穂処理した普通品種イネの類似性. 日草誌 57 (別): 105.
- 7) Matsushita, K., S. Iida, O. Ideta, Y. Sunohara, H. Maeda, Y. Tamura, S. Kouno and M. Takakuwa 2011. 'Tachisuzuka', a new rice cultivar with high straw yield and high sugar content for whole-crop silage use. Breed. Sci. 61: 86-92.
- 8) 松村 修 2007. 飼料利用のための水稻茎葉部 NSC 蓄積の品種特性. 日作紀76 (別1): 50-51.
- 9) 松山裕樹・塩谷 繁・石田元彦・西田武弘・細田謙次・額爾敦巴雅爾・安藤 貞・M.R. Islam・吉田宣夫 2005. 飼料イネサイレージ「はまさり」「夢十色」および「北陸184号」の飼料適性. 日草誌 51: 289-295.
- 10) 野中和久 2006. サイレージ. 扇元敬司・桑原正貴・寺田文典・中井 裕・清家英貴・廣川治編, 新編畜産ハンドブック. 講談社サイエンティフィク, 東京. 164-171.
- 11) Oba, M. and M. S. Allen 1999. Evaluation of the importance of the digestibility of neutral detergent fiber from forage: Effects on dry matter intake and milk yield of dairy cows. J. Dairy Sci 82: 589-596.

- 12) 大川泰一郎・富所康広・石原 邦 1993. 水稻における耐倒伏性に関係する性質の地上部環境条件による変化とその品種間差異. 日作紀 62:525-533.
- 13) 新出昭吾・城田圭子・長尾かおり 2003. 稲発酵粗飼料を用いたTMRにおける粗濃比の違いが乳生産に及ぼす影響 広島畜技セ研報 13:1-11.
- 14) ———・———・——— 2008. 飼料イネホークロップサイレージの刈取時期の違いが子実排せつ量に及ぼす影響 広島畜技セ研報 15:1-8.
- 15) ——— 2011. 飼料イネ新品種「たちすずか」の飼料特性と今後の方向. 広島畜技セ研究成果発表会 12-14.
- 16) 城田圭子・石田友紀・河野幸雄・塚崎由子・高桑将滋・森本和秀・神田則昭・新出昭吾・松下景・藤本 寛・亀井雅浩 2010. 高糖分飼料イネ「たちすずか(中国飼198号)」の刈取ステージ別消化率. 関西畜産学会報 167:15.
- 17) 春原嘉弘・飯田修一・前田英郎・松下 景・根本 博・石井卓朗・吉田泰二・中川宣興・坂井真・星野孝文・岡本正弘・篠田治躬 2003. 飼料用水稲新品種「クサノホシ」の育成. 近中四農研報 2:99-113.
- 18) 橘 保宏・志藤博克・川出哲生・高橋仁康・岡島 弘・北中敬久・正田幹彦・古田東司・和田俊郎・安藤和登 2011. 汎用型飼料収穫機の飼料イネ収穫機能の開発. 日草誌57:21-26.
- 19) 塚崎由子・河野幸雄・高桑将滋・岸本一郎・神田則昭・新出昭吾・松下 景・藤本 寛・亀井雅浩 2009. 高糖分飼料イネ「中国飼198」・「FN-1」の糖含量及びサイレージ発酵産物. 関西畜産学会報 165:21.
- 20) 山田真吾・村田文彦 2010. 稲発酵粗飼料の品質向上・増収技術の開発—飼料用イネの生育特性と熟期ごとの β -カロテン含量および糖含量— 福井畜試研報 23:51-56.
- 21) 山田利昭・堀野 修・佐本四郎 1979. イネ白葉枯病抵抗性に関する遺伝・育種学的研究 第3報 日本在来稲の中に新たに見いだされた早生愛国群品種の抵抗性の遺伝 日植病報 45:321-325.

Tachisuzuka, a New Rice Cultivar with High Straw Yield, High Digestibility and High Sugar Content for Whole-Crop Silage Use

Kei MATSUSHITA, Shuichi IIDA, Osamu IDETA, Yoshihiro SUNOHARA¹,
Hideo MAEDA¹ and Yasuaki TAMURA^{2, 3}

Key words: rice, cultivar, whole crop silage, digestibility, lodging resistance, sugar content, Tachisuzuka

Summary

'Tachisuzuka', a new whole-crop rice cultivar for silage use developed at the NARO Western Region Agricultural Research Center, shows high straw yield, high sugar content and high digestibility of fiber. 'Tachisuzuka' was bred from the progeny of a cross performed in 2001 between 'Gokutansui (00kosen11)' and 'Chugoku 147' (the former name for 'Kusanohoshi') to develop a whole-crop rice cultivar with high straw yield for silage use. The short panicle of 'Gokutansui (00kosen11)' was caused by a spontaneous mutation. The hybrid line was bred using a bulk breeding method. A promising progeny line was named 'Tashukei 1072'; productivity and adaptability tests of strains began in 2007. In 2008, the line was named 'Chugoku-shi 198' and adaptability testing was initiated. In 2010, it registered under the cultivar name 'Tachisuzuka'. The following results were obtained from analyses of this cultivar.

1. The heading date of 'Tachisuzuka' was almost 4 days later than that of 'Kusanohoshi'. Its maturity is classified as 'extremely late' when grown in plains along the Seto Inland Sea. The culm length was 121 cm, which is longer than that of 'Kusanohoshi'. The panicle length was shorter than that of 'Kusanohoshi', and its appearance seems to be even shorter because several rachis branches close to neck node are degenerate as a result of a mutation inherited from 'Gokutansui (00kosen11)'. The panicle number per unit area is much higher than that of 'Kusanohoshi'.
2. Lodging resistance of 'Tachisuzuka' is classified as 'extremely high'. No lodging occurs at the yellow ripening stage, and little lodging was observed in the two-month period following this stage.
3. The whole-crop yield of 'Tachisuzuka' was slightly higher than that of 'Kusanohoshi'. The unhulled rice yield of 'Tachisuzuka' was lower than that of 'Kusanohoshi', and the straw yield of 'Tachisuzuka' was higher than that of 'Kusanohoshi'.
4. No distinct differences in contents of crude protein, crude fat, crude ash, neutral detergent fiber and non-fibrous carbohydrate were observed between 'Tachisuzuka' and 'Kusanohoshi'. The sugar content of 'Tachisuzuka' was distinctly higher than that of 'Kusanohoshi'.

Rice Breeding Group, Lowland Crops Research Division, NARO Western Region Agricultural Research Center

¹ NARO Institute of Crop Science

² Japan International Research Center for Agricultural Science

³ NARO Kyushu Okinawa Agricultural Research Center

5. 'Tachisuzuka' apparently possesses three true resistance genes effective against rice blast-*Pita*, *Pib* and *Pi20(t)*. The field resistance of 'Tachisuzuka' against leaf blast is classified as 'susceptible'. 'Tachisuzuka' showed high resistance to bacterial leaf blight, a response comparable to that of 'Kusanohoshi' and moderate resistance to sheath blight. 'Tachisuzuka' is susceptible to rice stripe virus. The shattering habit of 'Tachisuzuka' is classified as 'resistant', and viviparity is classified as 'resistant'.
6. Based on its growing period, 'Tachisuzuka' is suitable for cultivation in Kanto and west to Kanto regions in Japan.

Effect of Grass Hay Feeding on Meat Production, Carcass Characteristics, and Meat Quality in Japanese Black Steers

Masahiro SHIBATA^{1*}, Kazunori MATSUMOTO¹, Yasuko HIKINO¹, Mika OE², Koichi OJIMA²,
Ikuyo NAKAJIMA², Susumu MUROYA², Koichi CHIKUNI² and Naoyuki YAMAMOTO¹

Key words : beef cattle, grass hay, carcass characteristics, meat quality, fatty acid, water-holding capacity

Contents

I	Introduction	16
II	Materials and Methods	16
1	Animal Management	16
2	Carcass Evaluation and Sample Preparation	17
3	Nutrient Contents in Muscle	17
4	Meat Characteristics	17
5	Statistical Analyses	17
III	Results and Discussion	17
1	Growth Performance and Carcass Characteristics	17
2	Meat Quality and Nutrient Contents in Muscle	19
	Acknowledgments	22
	References	22
	Summary	24
	和文摘要	25

(Received December 7, 2011)

¹ Livestock Production and Wildlife Management Research Division, NARO Western Region Agricultural Research Center

² Animal Products Research Division, NARO Institute of Livestock and Grassland Science

I Introduction

The annual report on food, agriculture, and rural area in Japan¹³⁾ has described that the food self-sufficiency rate in Japan is the lowest among advanced nations. Furthermore, the feed self-sufficiency rate for livestock production in Japan is low among advanced nations because most concentrate diets depend on foreign countries. The national government of Japan estimates that improvement in the feed self-sufficiency rate would lead to an increase in the food self-sufficiency rate. The national and local governments of Japan are promoting the utilization of rice fields, abandoned cultivated land, and grazing for livestock production. But most beef cattle in Japan are reared individually in free stanchion barns and are generally finished indoors on a concentrate-based diet throughout the fattening period until slaughter. The studies of beef cattle production have made use of grazing and roughage in the field. A previous study showed that the final body weight, daily gain, and energy intake of steers reared by restricted feeding of concentrate and roughage *ad libitum* were lower than those of steers reared by feeding of concentrate *ad libitum*¹⁵⁾. Crude protein content and drip loss in meat were higher for grazed cattle than for concentrate-fed cattle in free stanchion barns, and the beef marbling standard (BMS) number and crude fat content in meat were lower in grazed cattle than in concentrate-fed cattle²³⁾. The α -tocopherol and β -carotene contents in the muscle of pasture-fed Japanese Shorthorn steers were higher than those of concentrate-fed steers, and pasture finishing decreased the drip loss of the beef¹⁶⁾. In contrast, the drip loss of the meat was shown to be no different between concentrate-fed steers and grazed steers⁷⁾. Furthermore, pasture-fed cattle undergo greater change in the fatty acid composition of the meat compared with that in indoor concentrate-fed cattle^{12, 16)}.

In terms of the effects of roughage on beef production, although several comparisons between outdoor-grazed and indoor concentrate-fed steers have been reported, there are few comparisons of grass-fed and concentrate-fed steers that are kept indoors. The objective of this study was to investigate the effect of indoor feeding of large amounts of roughage on the characteristics of the beef and meat quality.

II Materials and Methods

1 Animal Management

Management of steers and all procedures in this study were performed according to the Animal Experimental Guidelines of the NARO Western Region Agricultural Research Center (NARO/WARC), Japan. Twelve Japanese Black steers aged 10 months that had been bred at NARO/WARC were randomly divided into two groups: a hay-fed group and a concentrate-fed group. All steers were housed individually in a stall barn and fed grass hay (59% total digestible nutrients [TDN] and 7.2% crude protein [CP] on a dry matter basis) at 1.5 kg/day and concentrate (flaked corn, flaked barley, wheat bran, and soybean meal; 73% TDN and 11% CP) *ad libitum* from 10 to 16 months of age. After this control period, the hay-fed group (n = 6) was switched to an experimental diet that consisted of grass hay *ad libitum* and concentrate at 2.0 kg/day in the stall barn; in contrast, the concentrate-fed group (n = 6) was fed concentrate *ad libitum* and grass hay at 1.5 kg/day in the stall barn. The TDN intakes were calculated from feed intakes and TDN of each diet. The steers were slaughtered at 28 months of age, and skeletal muscle tissue from the *M. semitendinosus* (ST) and *M. longissimus lumborum* (LL) was obtained for analysis.

2 Carcass Evaluation and Sample Preparation

Carcasses were kept in a refrigerator at 0°C for 24 h; they were then evaluated by their dressing percentage and by measurement of the BMS, beef fat color standard (BFS), beef color standard (BCS), rib eye area, rib thickness, and subcutaneous fat thickness of the section between the sixth and seventh ribs according to the Japanese New Beef Carcass Grading Standards¹⁰). Muscles were removed from the carcasses to analyze meat characteristics such as the drip loss, cooking loss, and Warner-Bratzler shear force (WBSF). The muscles were processed into 2.5-cm (thickness) steaks, vacuum-packed, stored in a refrigerator at 2°C for 2 and 30 days after slaughter, and frozen at -80°C until analysis.

3 Nutrient Contents in Muscle

Muscle tissues were minced to determine the crude protein and extractable lipid contents and fatty acid composition. Crude protein was calculated by quantitative analysis of nitrogen using the Kjeldahl method with copper sulfate and potassium sulfate as catalysts¹). Lipid was extracted with diethyl ether for 16 h using a Soxhlet extractor¹). To analyze the fatty acid composition in the muscle tissue, the extracted lipid was converted to fatty acid methyl esters by boron trifluoride methanol complex methanol solution and analyzed using gas chromatography²).

4 Meat Characteristics

Steaks were thawed for 24 h at 4°C and then carefully mopped dry using paper tissue. Drip loss was calculated from the weight difference between before and after storage¹⁶). Following the measurement of drip loss, the samples were broiled on electric grills to an internal temperature of 70°C; they were then wrapped in plastic to prevent desiccation and stored at 4°C for approximately 12 h^{14, 19}). Cooking loss was calculated from the weight difference between before and after cooking^{14, 16}). Six cores (1.3 cm in diameter) were removed from each steak parallel to the longitudinal orientation of the muscle fibers^{14, 19}). All cores were sheared using a WBSF machine, and the peak shear force was recorded. In the present study, only the drip loss and cooking loss were employed as indices of water-holding capacity.

5 Statistical Analyses

All measurements are presented as means \pm SEM. The relationships between the measurements of the hay-fed group and the concentrate-fed group were analyzed using one-way ANOVA and a post hoc Fisher's test. Statistical significance was defined as $p < 0.05$.

III Results and Discussion

1 Growth Performance and Carcass Characteristics

Growth performance and carcass characteristics of hay-fed and concentrate-fed steers are shown in Table 1. Although all steers had a similar body weight (initial and middle body weight) at 10 and 16 months of age, final body weight and daily gain were significantly higher in the concentrate-fed group than in the hay-fed group. There was no significant difference in the TDN intake between the two groups during the control period. In contrast, during the experimental period, the TDN intake from grass hay was significantly higher in the hay-fed group than in the concentrate-fed group. In addition, the TDN intake from concentrate

during the experimental period in the hay-fed group was significantly lower than that in the concentrate-fed group. The total TDN intake of both diets of the concentrate-fed group was significantly greater than that of the hay-fed group during the experimental period. Steers reared by restricted feeding of concentrate and *ad libitum* roughage had significantly lower slaughter body weight, carcass weight, and TDN intake than did steers reared by feeding concentrate *ad libitum*¹⁵⁾. This suggests that the lower final body weight and daily weight gain was more attributable to lower TDN intake in the hay-fed group than in the concentrate-fed group.

The half-dressed carcass weight, rib eye area, and rib thickness were significantly less in the hay-fed group than in the concentrate-fed group, but the dressing percentage, BMS, BFS, BCS, and subcutaneous fat thickness were not significantly different between the groups (Table 1). Several studies found decreased marbling scores and dressing percentages when Japanese Black multiparous cows²³⁾ and Brahman³⁾ and Angus^{18, 22)} steers were fed a large amounts of roughage. In contrast, another study reported that Japanese Black steers fed a combination of roughage *ad libitum* and restricted feeding of concentrate showed no differences in dressing percentage or BMS compared with the concentrate *ad libitum*¹⁵⁾. In these several reports, beef marbling and dressing percentage (*i.e.*, meat quality and quantity) showed inconsistent results among different breeds and sexes. BMS and dressing percentage in this study coincided with those in the

Table 1. Growth performance and carcass characteristics of steers fed grass hay or concentrate

	Grass hay	Concentrate
Body weight (BW), kg		
Initial (10 month)	286±10.5	283±7.1
Middle (16 month)	484±14.3	482±14.5
Final (28 month)	615±19.3	729±28.8*
Daily gain (DG), kg/day (10-28 month)	0.59±0.02	0.79±0.05*
TDN ¹⁾ intake, kg/day		
Control period (10-16 month)		
Grass hay	0.73±0.09	0.63±0.03
Concentrate	4.53±0.13	4.27±0.09
Grass hay + concentrate	5.26±0.20	4.90±0.11
Experimental period (16-28 month)		
Grass hay	3.36±0.13	0.82±0.05*
Concentrate	1.79±0.03	6.37±0.25*
Grass hay + concentrate	5.15±0.11	7.19±0.29*
Carcass characteristics		
Half dressed carcass weight, kg	175±4.7	227±8.6*
Dressing percentage, %	71.1±0.23	71.8±0.44
BMS ²⁾ , No.	3.3±0.4	3.8±0.5
BFS ³⁾ , No.	2.3±0.3	2.3±0.3
BCS ⁴⁾ , No.	4.2±0.2	3.7±0.4
Rib eye area, cm ²	34.6±1.3	44.4±2.4*
Rib thickness, cm	5.1±0.2	7.0±0.2*
Subcutaneous fat thickness, cm	2.1±0.3	2.7±0.3

¹⁾ TDN: total digestible nutrients, ²⁾ BMS: beef marbling standard.

³⁾ BFS: beef fat color standard, ⁴⁾ BCS: beef color standard

Values are expressed as means ± SEM. **p* < 0.05

previous study¹⁵⁾ but did not correspond to those in other studies^{3, 18, 22, 23)}, likely because of different breeds and sexes. The present study suggests that hay-fed steers do not undergo changes in meat quality characteristics such as BMS, BFS, and BCS, but that they undergo decreases in meat quantity because of reductions in daily gain.

In terms of meat productivity, when the cattle were offered either a low- or high-treatment pelleted ration (barley and alfalfa) for 20 weeks, body weight gain (BWG) of the low-treatment cattle was less than that of the high-treatment cattle⁹⁾. However, continuous grazing of these cattle resulted in an increase in BWG of the low-treatment cattle compared with that of the high-treatment cattle. They suggested that this result was caused by compensatory growth. Furthermore, we have suggested that compensatory growth would have started at the end of fattening by changes in myosin heavy chain and myostatin gene expressions when steers were fed a large amount of roughage during the indoor fattening period (the same as the rearing system of the present study)²¹⁾. Although fattening was completed at 28 months of age in the present study, compensatory growth might be caused by continuous rearing of grass hay fed to steers. Further study is necessary to elucidate this phenomenon.

2 Meat Quality and Nutrient Contents in Muscle

Table 2 shows the nutrient contents in the LL and ST muscles of the hay-fed and concentrate-fed steers. A previous study reported that the protein content in muscle was lower in grass-fed cattle than in cattle fed a combination of grass and concentrate²²⁾. In contrast, no difference in protein content was found in the *longissimus* muscle between steers fed both concentrate and a large amount of roughage and steers fed concentrate^{8, 20)}. Consistent with these reports, we found no difference in protein content in the LL muscle samples of the two groups (Table 2). However, crude protein content in the ST muscle was significantly higher in the hay-fed group than in the concentrate-fed group. Extract lipids in the ST and LL muscles were higher in the concentrate-fed group than in the hay-fed group ($p = 0.08$ and 0.06 , respectively), although there was no significant difference between the groups (Table 2). Several previous reports have described a lower intramuscular fat content in grass-fed¹⁵⁾, pasture-fed¹⁶⁾, and forage-fed²⁰⁾ steers compared with that in

Table 2. Nutrient contents, water-holding capacity, and Warner-Bratzler shear force in the *M. longissimus lumborum* (LL) and *M. semitendinosus* (ST) muscles of steers fed grass hay or concentrate

	L L		S T	
	Grass hay	Concentrate	Grass hay	Concentrate
Crude protein, %	19.4±0.65	17.6±0.75	21.0±0.31	20.0±0.26*
Extract lipid, %	15.5±2.6	24.0±3.2 ⁺	6.30±1.2	9.70±1.2 ⁺
Drip loss, %	2.98±0.94	2.17±0.29	2.30±0.33	5.14±0.94*
Cooking loss, %				
2 day	39.1±1.44	38.3±1.19	40.5±1.05	41.1±0.82
30 day	36.8±0.71	39.1±1.23	38.6±0.76	40.9±0.69 ⁺
Share force, kg				
2 day	3.1±0.56	2.1±0.17 ⁺	5.0±0.60	3.3±0.14*
30 day	1.9±0.33	1.6±0.11	3.1±0.22	2.6±0.09 ⁺

Values are expressed as means ± SEM. * $p < 0.05$, ⁺ $p < 0.10$

concentrate-fed steers. In contrast, other studies report that the muscle lipid content was not statistically different between grass-fed and grain-fed steers^{8, 22)}. These results suggest that steers fed a large amount of grass hay leads to an increase in skeletal muscle protein content and a decrease tendency in intramuscular fat accumulation compared with those in concentrate-fed steers.

The water-holding capacity of meat has important influences on the drip loss and cooking loss of meat. Drip loss in the ST muscle was significantly lower in the hay-fed group than in the concentrate-fed group, though that in the LL muscle was not significantly different between the groups (Table 2). Similarly, lower drip loss has been reported for meat from grass-fed⁸⁾ and pasture-fed¹⁶⁾ steers compared with that from concentrate-fed steers. On the other hand, several reports describe no difference in drip loss between concentrate-fed steers and either grazed⁷⁾ or alfalfa silage-fed¹¹⁾ steers. These reports revealed that it may be difficult to obtain a constant result for the drip loss because of slight changes in rearing systems or differences in animal backgrounds. Cooking loss in the ST muscle was not different between groups at 2 days after slaughter; however, it was significantly lower in the hay-fed group than in the concentrate-fed group at 30 days after slaughter (Table 2). In contrast, a previous study reported that cooking loss in muscle is lower in concentrate-fed bulls than in grazed bulls⁷⁾. Furthermore, several reports describe no difference in cooking loss between concentrate-fed steers and alfalfa silage-fed¹¹⁾ or grass-fed⁸⁾ steers. It may also be difficult to obtain a constant result for cooking loss because of slight changes in rearing systems or differences in animal backgrounds. In the present study, although the cooking loss in muscle was not consistent with any previous reports on roughage-fed steers, the results for both drip loss and cooking loss suggest that the water-holding capacity of steers may be improved by indoor feeding of a large amount of grass hay.

The WBSF is used to measure meat tenderness⁴⁾ and is probably the most commonly used globally. The WBSF in the ST muscle was significantly higher in the hay-fed group than in the concentrate-fed group at 2 days after slaughter (Table 2). The shear force of muscle from concentrate-fed steers is lower than that from forage-fed²⁰⁾ and pasture-fed¹⁶⁾ steers. In terms of factors that influence shear force, a previous study reported that shear force is low in muscle with high crude fat content because of the weakening of intermuscular connective tissue by adipose tissue development¹⁷⁾. The present study suggests that the difference in the shear force of the ST muscle between groups before aging probably resulted from the slight difference in extract lipid content in those muscles. Furthermore, the WBSF in the LL muscle at 2 days and ST muscle at 30 days after slaughter tended to be higher in the hay-fed group than in the concentrate-fed group (Table 2), but there were no significant differences between groups. In general, the muscle of steers that have been fed large amounts of roughage has a higher shear force than that of concentrate-fed steers. Although shear force in the ST muscle of the hay-fed group was higher than that of the concentrate-fed group at 2 days after slaughter, there was no significant difference between groups in either muscle at 30 days after slaughter. These results suggest that a 30-day aging process could eliminate the differences in toughness between the treatments.

The fatty acid compositions of the ST and LL muscles of the hay-fed and concentrate-fed groups are shown in Table 3. Fatty acids in the ST and LL muscles exhibited significantly higher proportions of C15:0, C17:0, and C18:0 in the hay-fed group than in the concentrate-fed group, a result similar to that reported by Muramoto et al. (2005)¹⁶⁾ and Srinivasan et al. (1998)²²⁾. On the other hand, there was no significant difference in saturated fatty acids (SFA) and polyunsaturated fatty acids (PUFA) in both muscles between the two groups. Furthermore, fatty acids in the LL muscle had significantly lower proportions of C18:1 and

Table 3. Fatty acid composition (%) of total extractable lipids in the *M. longissimus lumborum* (LL) and *M. semitendinosus* (ST) muscles of steers fed grass hay or concentrate

	L L		S T	
	Grass hay	Concentrate	Grass hay	Concentrate
C14:0	2.73±0.21	3.02±0.10	2.18±0.17	2.55±0.11
C14:1	0.78±0.19	1.05±0.03	0.83±0.10	0.97±0.07
C15:0	0.38±0.03	0.30±0.00*	0.38±0.12	0.30±0.00*
C16:0	26.9±0.27	26.4±0.70	24.9±0.20	26.1±0.67
C16:1	3.90±0.47	4.75±0.22	4.53±0.41	5.08±0.24
C17:0	0.93±0.09	0.67±0.03*	0.87±0.06	0.70±0.03*
C17:1	0.75±0.09	0.77±0.05	0.88±0.05	0.83±0.05
C18:0	12.7±1.3	9.30±0.42*	10.2±0.49	8.27±0.26*
C18:1	44.6±0.96	47.8±0.69*	46.4±0.62	47.5±0.78
C18:2n-6	2.05±0.13	2.58±0.13*	2.93±0.37	3.17±0.14
C18:3n-3	0.20±0.00	ND ¹⁾	0.25±0.02	0.10±0.00*
C20:1	0.23±0.03	0.28±0.03	0.23±0.02	0.25±0.02
C20:3n-6	0.20±0.00	0.10±0.00	0.27±0.06	0.20±0.05
C20:4n-6	0.23±0.05	0.17±0.03	0.60±0.21	0.47±0.11
C22:5n-3	ND ¹⁾	ND ¹⁾	0.25±0.05	ND ¹⁾
Unidentified	3.65±0.14	3.00±0.18	4.47±0.17	3.55±0.16
n-6/n-3	11.9±1.13	-	12.1±0.57	36.0±3.11*
SFA ²⁾	43.6±1.43	39.7±1.18	38.5±0.56	37.9±0.88
MUFA ³⁾	50.2±1.64	54.6±0.94*	52.8±0.94	54.7±0.88
PUFA ⁴⁾	2.58±0.23	2.68±0.13	4.18±0.74	3.88±0.23

¹⁾ ND: not detected, ²⁾ SFA: saturated fatty acid (sum of C14:0, C15:0, C16:0, C17:0, and C18:0),

³⁾ MUFA: monounsaturated fatty acid (sum of C14:1, C16:1, C17:1, C18:1, and C20:1), ⁴⁾ PUFA: polyunsaturated fatty acid (sum of C18:2, C18:3, C20:3, C20:4, and C22:5). Values are expressed as means ± SEM. * $p < 0.05$

monounsaturated fatty acids (MUFA) in the hay-fed group than in the concentrate-fed group. These results are similar to those reported by Muramoto *et al.* (2005)¹⁶⁾ and Srinivasan *et al.* (1998)²²⁾; however, there was no difference in the percentages of C18:1 in muscle between grain-fed and alfalfa silage-fed steers¹¹⁾. While these reports do not indicate constant results from different rearing systems, this result suggests that indoor feeding of a large amount of grass hay to steers would decrease the proportions of C18:1 and MUFA.

C18:3n-3 PUFA was detected in the grass-fed group, but it was not detected in the LL muscle of the concentrate-fed group (Table 3). Furthermore, the ST muscle included a significantly higher content of C18:3n-3 in the hay-fed group than in the concentrate-fed group. Several previous reports have described an increase in C18:3n-3 in alfalfa silage-fed¹¹⁾, grass-silage-fed²⁴⁾, and pasture-fed¹⁶⁾ steers compared with concentrate-fed steers. In the present study, indoor feeding of a large amount of grass hay to steers also resulted in an increase in C18:3n-3. The n-3 PUFAs reduce the risk of cardiovascular disease⁵⁾. The recommended value of the n-6/n-3 ratio, used as an index to maintain human health, is less than 4⁶⁾. The n-6/n-3 ratio in pasture-fed¹⁶⁾ and grass silage-fed²⁴⁾ steers is also less than 4. Although the n-6/n-3 ratio was not less than 4 in this study, it was significantly lower in the hay-fed group than in the concentrate-fed group. These results suggest that the n-6/n-3 ratio improved more in the hay-fed group than in the concentrate-fed group because of the increase in the proportion of C18:3n-3 in the muscle of grass-fed steers.

In conclusion, this study showed that the meat quality of steers was altered by feeding a large amount of

grass hay during the indoor fattening period. In terms of meat quality, this study suggests that the water-holding capacity might be improved in steers fed a large amount of grass hay. Furthermore, the n-6/n-3 ratio decreased in the hay-fed steers compared with that in the concentrate-fed steers. However, there was a reduction in the amount of meat production in the hay-fed steers compared with the concentrate-fed steers.

Acknowledgments

The authors thank the technical staff at WeNARC. This work was supported in part by a Grant-in-Aid from the Ministry of Agriculture, Forestry, and Fisheries of Japan.

References

- 1) AOAC. (1990). Official Methods of Analysis (15th Ed.). Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.
- 2) AOCS. (2005). Official Methods and Recommended Practices of AOCS (5th Ed.). The American Oil Chemists Society, Urbana, IL.
- 3) Bennett, L.L., Hammond, A.C., Williams, M.J., Kunkle, W.E., Johnson, D.D., Preston, R.L., and Miller, M.F. (1995). Performance, Carcass Yield, and Carcass Quality Characteristics of Steers Finished on Rhizoma Peanut (*Arachis glabrata*) - Tropical Grass Pasture or Concentrate. *Journal of Animal Science*, 73, 1881 – 1887.
- 4) Boccard, R., Buchter, L., Casteels, M., Cosentino, E., Dransfield, E., Hood, D.E., Joseph, R.L., MacDougall, D.B., Rhodes, D.N., Schon, I., Tinbergen, B.J., and Touraille, C. (1981). Procedures for measuring meat quality characteristics in beef production experiments. Report of a Working Group in the Commission of the European Communities' (CEC) Beef Production Research Programme. *Livestock Production Science*, 8, 385 – 397.
- 5) Calder, P.C. (2004). n-3 Fatty acids and cardiovascular disease: evidence explained and mechanisms explored. *Clinical Science*, 107, 1 – 11.
- 6) Department of Health. (1994). Report on Health and Social Subjects No. 46. Nutritional aspects of cardiovascular disease. Her Majesty's Stationery Office. London.
- 7) Dufresne, I., Gielen, M., Limbourg, P., Eenaeme, C., and Istasse, L. (1995). Effects of a grazing period on performance of finishing bulls: comparison with an indoor finishing system. *Animal Science*, 60, 75 – 80.
- 8) French, P., O'Riordan, E.G., Monahan, F.J., Caffrey, P.J., Vidal, M., Mooney, M.T., Troy, D.J., and Moloney, A.P. (2000). Meat quality of steers finished on autumn grass, grass silage or concentrate-based diets. *Meat Science*, 56, 173 – 180.
- 9) Horton, G.M.J., and Holmes, W. (1978). Compensatory growth by beef cattle at grassland or on an alfalfa-based diet. *Journal of Animal Science*, 46, 297 – 303.
- 10) JMGA (1988). New Beef Carcass Grading Standards. Japan Meat Grading Association, Tokyo.
- 11) Mandell, I.B., Buchanan-Smith, J.G., and Campbell, C.P. (1998). Effects of forage vs. grain feeding on carcass characteristics, fatty acid composition, and beef quality in Limousin-Cross Steers when time on feed is controlled. *Journal of Animal Science*, 76, 2619 – 2630.
- 12) Marmer, W.N., Maxwell, R.J., and Williams J.E. (1984). Effects of dietary regimen and tissue site on bovine fatty acid profiles. *Journal of Animal Science*, 59, 109 – 121.

- 13) Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries. (2008). Annual Report on Food, Agriculture, and Rural Area in Japan. Tokyo. 37 – 40. (In Japanese)
- 14) Montgomery, J.L., Allen, V.G., Pond, K.R., Miller, M.F., Wester, D.B., Brown, C.P., Evans, R., Bagley, C.P., Ivy, R.L., and Fontenot, J.P. (2001). Tasco-Forage: IV. Influence of a seaweed extract applied to tall fescue pastures on sensory characteristics, shelf-life, and vitamin E status in feedlot-finished steers. *Journal of Animal Science*, 79, 884 – 894.
- 15) Muramoto, T., Aikawa, K., Shibata, M., and Nakanishi, N. (2002). Effect of restricted feeding of concentrate over the entire fattening period on beef productivity of Japanese Black Steers. *Nihon Chikusan Gakkaiho*, 73, 57 – 62. (in Japanese)
- 16) Muramoto, T., Higashiyama, M., and Kondo, T. (2005). Effect of pasture finishing on beef quality of Japanese Shorthorn Steers. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 18, 420 – 426.
- 17) Nishimura, T., Hattori, A., and Takahashi K. (1999). Structural changes in intramuscular connective tissue during the fattening of Japanese Black Cattle: Effect of marbling on beef tenderization. *Journal of Animal Science*, 77, 93 – 104.
- 18) Pavan, E., and Duckett, S.K. (2008). Corn oil or corn grain supplementation to steers grazing endophyte-free tall fescue. I. Effects on in vivo digestibility, performance, and carcass quality. *Journal of Animal Science*, 86, 3215 – 3223.
- 19) Realini, C.E., Duckett, S.K., Hill, N.S., Hoveland, C.S., Lyon, B.G., Sackmann, J.R., and Gillis, M.H. (2005). Effect of endophyte type on carcass traits, meat quality, and fatty acid composition of beef cattle grazing tall fescue. *Journal of Animal Science*, 83, 430 – 439.
- 20) Schroeder, J.W., Cramer, D.A., Bowling, R.A., and Cook, C.W. (1980). Palatability, shelf life and chemical differences between forage- and grain-finished beef. *Journal of Animal Science*, 50, 852 – 859.
- 21) Shibata, M., Matsumoto, K., Hikino, Y., Oe, M., Ojima, K., Nakajima, I., Muroya, S., and Chikuni, K. (2011). Influence of different feeding systems on the growth performance and muscle development of Japanese Black steers. *Meat Science*, 89, 451 – 456.
- 22) Srinivasan S., Xiong Y.L., Blanchard S.P., and Moody, W.G. (1998). Proximate, mineral and fatty acid composition of semimembranosus and cardiac muscles from grass- and grain-fed and zeranol-implanted cattle. *Food Chemistry*, 63, 543 – 547.
- 23) Tanimoto, Y., Senda, M., and Koyama, N. (2004). Meat quality of Japanese Black multiparous cows grazed on abandoned fields and the evaluation of their meat using consumer survey questions. *Bulletin of National Agricultural Research Center for Western Region*, 3, 1 – 14. (in Japanese)
- 24) Warren, H.E., Scollan, N.D., Enser, M., Hughes, S.I., Richardson, R.I., and Wood, J.D. (2008). Effects of breed and a concentrate or grass silage diet on beef quality in cattle of 3 ages. I: Animal performance, carcass quality and muscle fatty acid composition. *Meat Science*, 78, 256 – 269.

Summary

The objective of this study was to investigate the effect of indoor feeding of large amounts of roughage on carcass composition and meat quality in steers. Twelve Japanese Black steers were randomly separated into hay-fed and concentrate-fed groups. The hay-fed steers were fed grass hay *ad libitum* and concentrate at 2.0 kg/day, whereas the concentrate-fed steers were fed concentrate *ad libitum* and grass hay at 1.5 kg/day. The steers were slaughtered at 28 months of age. Final body weight, daily gain, TDN intake, rib eye area, and rib thickness were greater in the concentrate-fed group than in the hay-fed group ($p < 0.05$). Lipid in muscle was higher in the concentrate-fed group ($p < 0.10$), but protein content was higher in the hay-fed group ($p < 0.05$). Drip loss in muscle after aging was lower in the hay-fed group than in the concentrate-fed group ($p < 0.05$). Although cooking loss after aging was lower in the hay-fed group, there was no significant difference between the groups ($p > 0.05$). Warner-Bratzler shear force in muscle was greater in the hay-fed group before aging ($p < 0.05$), but there was no significant difference from after aging ($p > 0.05$). Monounsaturated fatty acids in muscle were lower in the hay-fed group than in the concentrate-fed group, and saturated and polyunsaturated fatty acids showed no significant difference between the groups. Furthermore, n-3 polyunsaturated fatty acids were detected or increased in the hay-fed group compared with the concentrate-fed group. These results demonstrate that meat quality such as water-holding capacity and n-6/n-3 ratio may be improved by indoor feeding of grass hay.

牧乾草の給与が黒毛和種去勢牛の産肉性、枝肉成績および肉質におよぼす影響

柴田昌宏¹・松本和典¹・曳野泰子¹・大江美香²・尾嶋孝一²・中島郁世²・室谷 進²・
千国幸一²・山本直幸¹

摘 要

日本の食料自給率は先進国の中でも最低レベルであり、その向上のためにも飼料自給率の向上が期待されている。飼料自給率向上のためには自給粗飼料の活用が有効であるが、日本の肉用牛の大部分は舎飼で濃厚飼料多給による飼養形態が一般的である。こうした背景の中、舎飼で肉用牛へ牧乾草などの粗飼料を多給した時の肥育・枝肉成績および産肉性について検討された報告は少ない。本研究では、舎飼での牧乾草多給が黒毛和種去勢牛のと体成分および肉質におよぼす影響について明らかにした。

試験区はと畜前1年間、大田研究拠点産の牧乾草を飽食かつ濃厚飼料(2kg/day)を制限給与した粗飼料区ならびに肥育全期間、濃厚飼料飽食で牧乾草(1.5kg/day)を給与した濃厚飼料区を設定し、黒毛和種去勢牛(各区6頭)を舎飼で供試した。28ヵ月齢でと畜後、枝肉成績の測定、半腱様筋および腰最長筋を採取し、栄養成分、ドリップロス、せん断力価およびクッキングロスを分析した。

1. 試験終了時体重、可消化養分総量(TDN)の摂取量および枝肉重量が濃厚飼料区と比較して粗飼料区で有意に少なかった。また、ロース芯面積も濃厚飼料区に対して粗飼料区で有意に小さかった。一方で歩留基準値は試験区間で差は認められなかった。
2. 蛋白質含量は濃厚飼料区に対し粗飼料区の半腱様筋で有意な増加が認められた。また、筋肉内脂肪含量は濃厚飼料区で増加傾向が認められたが、試験区間で有意差は認められなかった。筋肉内脂肪酸組成について、濃厚飼料区の腰最長筋で1価不飽和脂肪酸含量の有意な増加が認められたが、飽和脂肪酸及び多価不飽和脂肪酸含量はいずれの筋肉においても有意差は認められなかった。n-3系多価不飽和脂肪酸は濃厚飼料区と比較して粗飼料区で増加または検出された。
3. 熟成後のドリップロスは濃厚飼料区に対し、粗飼料区の半腱様筋で有意な減少が認められ、さらに、熟成後のクッキングロスは粗飼料区の半腱様筋で減少傾向が認められた。せん断力価について、熟成前では粗飼料区の半腱様筋で有意に高くなったが、熟成後の両筋肉では試験区間で有意差は認められなかった。

¹ 農研機構 近畿中国四国農業研究センター 畜産草地・鳥獣害研究領域

² 農研機構 畜産草地研究所 畜産物研究領域

晩播栽培において多収で淡色味噌に好適な ダイズ新品種「あきまる」の育成

高田吉丈・猿田正恭・岡部昭典¹・菊池彰夫²・小野貞芳³・矢ヶ崎和弘⁴・
坂元秀彦⁴・高松光生⁴・山田直弘⁵・高橋信夫⁶・田中進久⁷・元木 悟⁴・
西牧 清⁶

Key words : ダイズ, 味噌, ダイズモザイクウイルス抵抗性, 中国四国地域向け

目 次

I 緒 言	27	2 栽培適地	37
II 来歴および育成経過	29	3 栽培上の留意点	37
III 特性の概要	30	V 考 察	37
1 形態的特性	30	1 期待される効果	37
2 生態的特性	31	2 今後の課題	37
3 品質特性	33	VI 摘 要	38
IV 適地および栽培上の留意点	35	引用文献	38
1 奨励品種決定調査における試験成績	35	Summary	39

I 緒 言

国内では年間約50万tの味噌が生産されており、その原料大豆の約9割が輸入品である。一方、世界的な大豆需要の増大による国際価格の上昇、消費者の食に対する安全・安心志向や地産地消への意識の高まりから、実需者の国産大豆に対する潜在的ニーズは高い。しかし、取引価格の内外格差、安定供給等の課題から国産大豆の使用は限られている。

近畿中国四国地域では伝統的に白味噌や淡色味噌の生産および消費が多いものの、淡色味噌原料に好適な品種の生産は少ない。また、ダイズモザイクウイルスによる減収¹⁾や品質低下を回避するために

は、本地域で発生するA、BおよびA₂系統に対する抵抗性品種の導入が重要である。このため、淡色味噌に適した温暖地向けの安定生産・高加工適性品種の育成により、味噌への国産大豆使用拡大が期待される。

今回育成した「あきまる」は、成熟期が「フクユタカ」²⁾並みの晩生で最下着莢節位高が高く、倒伏は「フクユタカ」よりやや少ない。生態型は秋大豆型で、収量は晩播栽培において多収である。また、中国四国地域で発生し、「フクユタカ」、「サチユタカ」³⁾が感染するダイズモザイクウイルスA₂系統に抵抗性を有する。子実は球形で裂皮やしわが少なく、外観品質は良好である。味噌加工適性が高く、特に淡色味噌に好適である。そこで、これらの優れた特

(平成23年8月4日受付, 平成23年12月8日受理)
農研機構 近畿中国四国農業研究センター
作物機能開発研究領域

¹ 農研機構 近畿中国四国農業研究センター
水田作研究領域

² 現 農研機構 東北農業研究センター

³ 元 農研機構 近畿中国四国農業研究センター

⁴ 現 長野県野菜花き試験場

⁵ 現 農研機構 作物研究所

⁶ 元 長野県中信農業試験場

⁷ 現 埼玉県春日部農林振興センター

性を有する「あきまる」を品種登録出願（2011年4月）し、中国四国地域において普及を図ることとした。

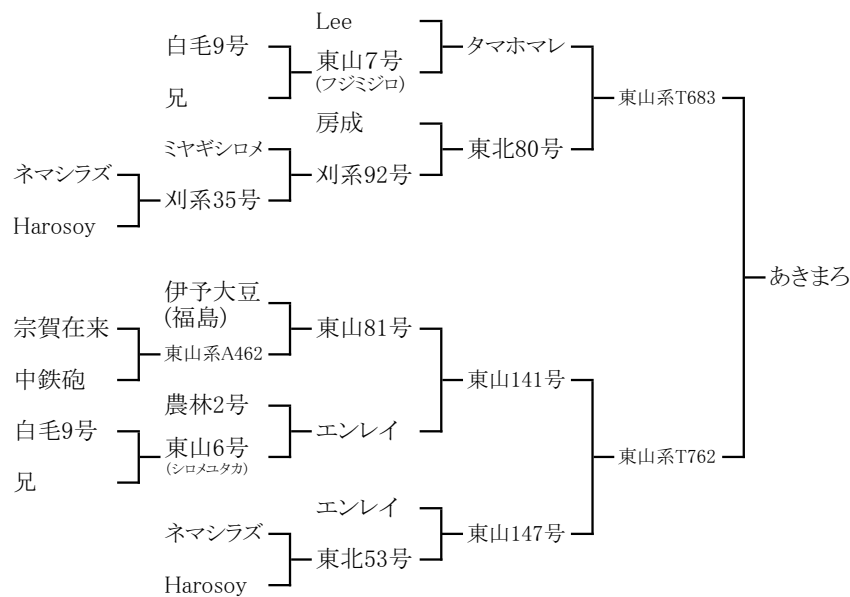
「あきまる」の育成に際し、奨励品種決定調査、系統適応性検定試験ならびに特性検定にあたられた公立農業試験研究機関の担当者各位には多大なご協力をいただいた。また、加工適性試験について国産

大豆協議会品質評価分科会ならびに味噌および豆腐メーカー各社には格段のご協力を賜った。さらに近畿中国四国農業研究センター四国研究センター業務第2科の技術専門職員各位には育種業務の遂行にご尽力いただいた。ここに記して深く感謝する。

第1表 「あきまる」の選抜経過

年次	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001 ¹⁾	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010
世代	交配	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄	F ₅	F ₆	F ₇	F ₈	F ₉	F ₁₀	F ₁₁	F ₁₂	F ₁₃	F ₁₄	F ₁₅
供試	系統群数	55花					1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	系統数	20莢				24	6	5	5	5	5	5	5	10	5	5
	個体数		25	1000	760	630	600	132	110	110	110	110	110	220	110	110
選抜	系統群数						1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	系統数					3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	個体数	42粒	19	1000	630	24	12	5	5	5	5	5	5	10	5	5
育成地における試験	集団選抜 → 集団選抜 → 個体選抜 → 系統選抜 → 系統選抜 → 生産力検定試験 → 予備試験B → 予備試験A → 本試験 → (標播・晩播)															
	備考	東山系X864 → 善系5号 → 四国3号														
試験場所	長野中信農業試験場 (現・長野県野菜花き試験場) → 近畿中国四国農業研究センター															

注1) F₅世代で選抜した3系統のうちの1系統6個体を2001年に近畿中国四国農業研究センターへ移管した。



第1図 「あきまる」の系譜

第2表 形態的特性

系統名 または 品種名	胚軸の アント シアニ ンの着 色	小葉の 形	花色	毛茸 多 少	直 形 色	主 茎 長	主 茎 節 数	分 枝 数	伸 育 型	熟 莢 色	粒			種 皮 の 色	臍の 色		
											大 小	子 葉 色	形			光 沢	
あきまる	有	卵形	紫	中	直	白	中	中	有限	中	やや大	黄	球	中	黄	黄	
フクユタカ	有	卵形	紫	密	扁	白	長*	多*	中	有限	淡	やや大*	黄	球	中	黄白	淡褐
サチユタカ	有	卵形	紫	密	中	白	短	中	有限	中	やや大	黄	球	中	黄白	黄	

注1) 品種登録審査基準（審査基準国際統一委託事業調査報告書，平成16年3月）による原則として育成地での観察・調査に基づいて分類した。

注2) 太文字は当該形質について標準品種になっていることを示す。

注3) *は当該形質について標準品種になっているが，育成地での調査結果を優先して記載したことを示す。

第3表 生態的特性

品種名	開 花 期	成 熟 期	生 態 型	裂莢の 難易	最下 着莢 節位高	倒伏抵 抗性	ダイズモザイクウイルス抵抗性					ダイズウイ ルス病圃 場抵抗性	ダイズシス トセンチュ ウ抵抗性	
							A	B	A ₂	C	D			E
あきまる	やや晩	晩	秋大豆型	易	高	中	強	強	強	弱	弱	弱	やや強	弱
フクユタカ	晩	晩	秋大豆型	中	高	弱*	強	強	弱	弱	弱	弱	中	極弱
サチユタカ	やや晩	やや晩	中間型	易	やや低	強	強	強	弱	弱	弱	弱	中	弱

注1) 品種登録審査基準（審査基準国際統一委託事業調査報告書，平成16年3月）による，原則として育成地での観察・調査に基づいて分類した。

注2) 太文字は当該形質について標準品種になっていることを示す。

注3) *は当該形質について標準品種になっているが，育成地での調査結果を優先して記載したことを示す。

第4表 品質特性

品種名	子実中の含有率		裂皮の 難易	子実の 品質
	粗蛋白質	粗脂肪		
あきまる	中	中	難	中の上
フクユタカ	中	中	易	中の上*
サチユタカ	高	中	易	中

注1) 品種登録審査基準（審査基準国際統一委託事業調査報告書，平成16年3月）による，原則として育成地での観察・調査に基づいて分類した。

注2) 太文字は当該形質について標準品種になっていることを示す。

II 来歴および育成経過

「あきまる」は1995年に長野県中信農業試験場（現・長野県野菜花き試験場，旧農林水産省大豆育種指定試験地）において，難裂莢性で草姿を改良した品種の育成を目標に，難裂莢性でダイズモザイク病に強い「東山系 T683」（後の東山195号）を母，ダイズモザイク病に強く草姿の良い「東山系 T762」を父とした人工交配を行い，以後，選抜・固定を図り育成した（第1図，第1表）。

1996年にF₁個体を養成後，1997～1998年に集団選抜を行い，1999年にF₄集団から個体選抜を行った。2000年にF₅系統の選抜を行い，このうち「東山系 X864」を近畿中国四国農業研究センター大豆育種研究近中四サブチームへ移管し，以後，当サブチームにおいて系統育種法により選抜・固定を進めた。2003年に「善系5号」として生産力検定予備試験，系統適応性検定試験などに供試し，成績が良好であったことから，2004年に「四国3号」の地方番号を

付し，以後，生産力検定試験，奨励品種決定調査および特性検定試験などに供試した。その結果，晩播栽培において多収を示し，最下着莢節位高が高く，ダイズモザイクウイルスA₂系統に対して抵抗性を有すること，子実の外観品質が良く，味噌加工適性に優れることが確認された。そこで本系統の中国四国地域での普及を図るため，2011年4月に「あきまる」の名称で品種登録出願を行った。育成終了の世代はF₁₅である。

なお，「あきまる」（英語表記：Akimaro）の品種

第5表 水田転換畑標準播（6月播）の生育，収穫物および品質調査成績（育成地）

品種名	開花 期 (月・日)	成熟 期 (cm)	主茎 長 (節)	主節 数 (本)	分枝 数 (cm)	最下 着莢 節位 高 (cm)	生育中の障害 ¹⁾			全実 重 (kg/a)	子実 重 (kg/a)	標 準 比 (%)	百 粒 重 (g)	粒の障害 ¹⁾			品 ²⁾		
							倒伏	ウイル	立枯					青	紫	褐		裂し	
あきまる	7.29	11.5	69	16.9	4.6	19.7	中	無	無	中	80.6	33.7	95	31.4	微	無	少	無	中上
フクユタカ(標準)	8.6	11.6	78	18.5	4.6	17.8	多	無	無	少	84.9	35.6	100	31.4	無	無	中	無	中上
サチユタカ(比較)	7.28	10.28	52	14.3	3.9	13.1	微	無	無	少	72.0	33.3	94	30.9	無	無	少	無	中中

注1) 障害の程度は，無（0），微（1），少（2），中（3），多（4），甚（5）の6段階評価。
 注2) 品質は，上上（1），上中（2），上下（3），中上（4），中中（5），中下（6），下（7）の7段階評価。
 注3) 2004年～2010年の7ヶ年平均。

第6表 水田転換畑晩播（7月播）の生育，収穫物および品質調査成績（育成地）

品種名	開花 期 (月・日)	成熟 期 (cm)	主茎 長 (節)	主節 数 (本)	分枝 数 (cm)	最下 着莢 節位 高 (cm)	生育中の障害 ¹⁾			全実 重 (kg/a)	子実 重 (kg/a)	標 準 比 (%)	百 粒 重 (g)	粒の障害 ¹⁾			品 ²⁾		
							倒伏	ウイル	立枯					青	紫	褐		裂し	
あきまる	8.22	11.11	58	14.2	5.4	16.3	微	無	無	微	79.5	39.2	104	30.0	無	無	無	無	上下
フクユタカ(標準)	8.26	11.11	56	14.7	5.1	13.5	少	無	無	微	74.7	37.6	100	30.6	無	無	少	無	中上
サチユタカ(比較)	8.21	11.7	45	13.1	4.6	11.6	微	無	無	少	65.8	33.4	89	31.3	無	無	少	無	中上

注1) 障害の程度は，無（0），微（1），少（2），中（3），多（4），甚（5）の6段階評価。
 注2) 品質は，上上（1），上中（2），上下（3），中上（4），中中（5），中下（6），下（7）の7段階評価。
 注3) 2004年～2010年（2008年除く）の6ヶ年平均。2008年は早魃のため出芽不良となり，調査できなかった。

名は，秋にまるやかで美味しい味噌の原料になる大豆が収穫できることを期待して命名した。

Ⅲ 特性の概要

「あきまる」の形態的特性，生態的特性および品質特性を第2表，第3表および第4表に示す。これら特性の分類は，主に特性検定試験ならびに育成地における生産力検定試験に基づき行った。生産力検定試験は水田転換畑標準播（6月播）（第5表）および水田転換畑晩播（7月播）（第6表）の2条件で実施したが，以下の特性に関する具体的数値は水田転換畑標準播（6月播）における数値を引用した。なお，育成地における生産力検定試験は，畦幅70cm，株間13cm，1株1本立てとし，栽植密度は約1,100株/aとした。2区制で，1区面積は8.4㎡とした。肥料は大豆化成（3-10-10）10kg/a，炭酸カルシウム10kg/a，堆肥200kg/aを施用した。試験年次

は2004～2010年の7ヶ年，標準播の播種期は6月10日頃を目標としたが，年度により6月8日～17日となった。晩播の播種期は7月10日頃としたが，梅雨明け時期により遅れる場合もあり，7月9日～25日に播種した。標準品種を「フクユタカ」，比較品種を「サチユタカ」とした。

1 形態的特性

「あきまる」の主茎長（69cm）は標準品種「フクユタカ」より9cm短く，主茎節数は1.6節少なく，分枝数（4.6本）は同じで，これにより主茎長，主茎節数および分枝数は「中」に分類される（写真1）。また，伸育型は“有限”で，小葉の形は“卵形”，花色は“紫”，毛茸色は“白”，毛茸の多少と形は「フクユタカ」の“密”と“扁”に対してそれぞれ“中”と“直”である。熟莢色は「フクユタカ」の“淡”に対して“中”である。百粒重は31.4gで，粒大は「フクユタカ」と同様に“やや大”である。種

皮と臍の色は「フクユタカ」の“黄白”と“淡褐”に対して、それぞれ“黄”である。「あきまる」の子実の幅／長さおよび厚さ／幅の比は、それぞれ0.94, 0.90であり、粒形は“球”に分類される（第7表、写真2）。

より8日早く、「サチユタカ」とほぼ同じで、成熟期は11月5日で「フクユタカ」とほぼ同じであることから、開花期は“やや晩”，成熟期は“晩”に分類される。生態型は「フクユタカ」と同じ“秋大豆”

2 生態的特性

1) 早晩性および収量性

「あきまる」の開花期は7月29日で「フクユタカ」



あきまる フクユタカ

写真1 草姿の比較

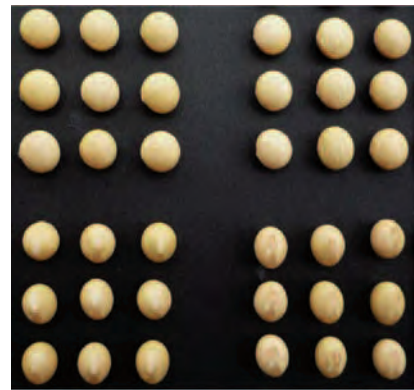
第7表 粒形調査成績（育成地）

品種名	栽培条件	長さ (mm)	幅 (mm)	厚さ (mm)	幅/長さ	厚さ/幅	判定
あきまる	標準播	8.66	8.17	7.36	0.94	0.90	球
	晩播	8.46	8.09	7.13	0.96	0.88	球
フクユタカ	標準播	9.18	8.35	7.33	0.91	0.88	球
	晩播	8.78	8.05	7.06	0.92	0.88	球
サチユタカ	標準播	8.96	7.99	7.02	0.89	0.88	球
	晩播	8.90	8.03	6.97	0.90	0.87	球

注1) 2009年～2010年の2ヶ年平均。

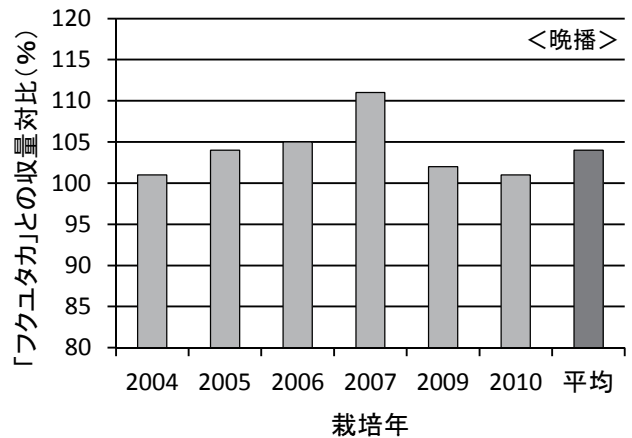
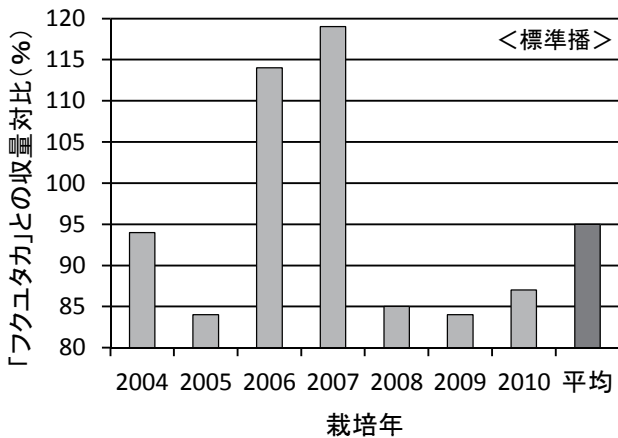
注2) 育成地産の40粒を調査した。

注3) 粒形“球”の分類基準：幅／長さが0.85以上で厚さ／幅が0.85以上。



あきまる フクユタカ

写真2 子実の比較



第2図 標準播（左）および晩播（右）栽培における「あきまる」の「フクユタカ」との収量対比 (%)

2008年晩播栽培は干ばつによる出芽不良のため未調査。

型”である。子実重は標準播において33.7kg/aで「フクユタカ」対比95%とやや低収であるが、他方、晩播において39.2kg/aで「フクユタカ」対比104%とやや多収である。また、晩播栽培では、全ての試験年次において「あきまる」の収量は「フクユタカ」を上回った(第2図)。

2) 病虫害抵抗性

(1) ダイズモザイクウイルス抵抗性

育成地におけるダイズモザイクウイルスの病原系統別接種試験では、A、BおよびA₂系統に対する抵抗性が確認され、「あきまる」の抵抗性は「フクユタカ」や「サチユタカ」より1ランク上の“やや

第8表 ダイズモザイクウイルス病原系統別抵抗性検定試験成績(育成地)

品種名	ダイズモザイクウイルス病原系統					
	A	B	A ₂	C	D	E
あきまる	R(0)	R(0)	R(0)	S(100)	S(100)	S(75)
ヒュウガ	S(100)	S(92)	S(89)	S(100)	S(100)	S(100)
アキヨシ	R(0)	R(0)	S(100)	S(100)	S(100)	S(90)
アキセンゴク	R(0)	R(0)	R(0)	S(90)	S(80)	S(90)
白豆	R(0)	R(8)	R(0)	R(0)	R(0)	S(90)

注1) 試験年次: A, B, A₂, C, D系統は2005年, E系統は2008年。

注2) 検定法: 病原系統別に人工接種し, 個体毎に葉のモザイク症状の有無を調査した。

注3) 括弧内の数字は発病個体率。抵抗性は発病個体率から判定し, 0~10%: R, 11~30%: (R), 31~50%: (S), 51~100%: S。

注4) 「ヒュウガ」, 「アキヨシ」, 「アキセンゴク」, 「白豆」は指標品種。

強”と判定される(第8表)。

(2) ダイズシストセンチュウ抵抗性

長野県中信農業試験場(現・長野県野菜花き試験場)におけるダイズシストセンチュウ抵抗性検定試験では, 3ヶ年(2003年, 2004年, 2007年)ともにシスト着生指数が抵抗性弱の指標品種「ネマシラズ」並みであり, 「あきまる」の抵抗性は“弱”と判定される(第9表)。

(3) 紫斑病抵抗性

福島県農業試験場会津支場(現・福島県農業総合センター会津地域研究所)における紫斑病抵抗性検定試験では, 指標品種の発病粒率と比較した3ヶ年(2003年, 2004年, 2009年)の結果から「あきまる」の抵抗性は“やや強”と判定される(第10表)。

(4) 立枯性病害抵抗性

岩手県農業研究センターにおける立枯性病害抵抗性検定試験では, 同一株内「Harosoy」対比に基づき設定した基準で判定し, 2ヶ年(2003年, 2004年)ともに中であり, 「あきまる」の立枯性病害抵抗性は“中”と判定される(第11表)。

3) 機械化適性

「あきまる」の倒伏抵抗性は, 標準播および晩播での倒伏程度が「フクユタカ」の“多”と“少”に対して, それぞれ“中”と“微”で両栽培条件において1ランク低いが, 「サチユタカ」より倒伏が多いことから, 「あきまる」の倒伏抵抗性は“中”と判定される。最下着莢節位高(19.7cm)は「フクユタカ」より高いことから, 「あきまる」は“高”に

第9表 ダイズシストセンチュウ抵抗性検定試験成績(長野県野菜花き試験場)

品種名	2003年		2004年		2007年		判定
	シスト着生指数	抵抗性	シスト着生指数	抵抗性	シスト着生指数	抵抗性	
あきまる	100	弱	90	弱	100	弱	弱
ネマシラズ	100	弱	83	弱	100	弱	弱
東山154号	50	強	50	強	50	強	強
Peking	0	極強	0	極強	0	極強	極強

注1) 試験はダイズシストセンチュウ汚染土壌をプランターに充填して実施。

注2) 根の雌成虫の着生密度を, 0(無)~4(甚)の階級値で表し, 以下の式により, シスト着生指数を算出した。

$$\text{シスト着生指数} = \frac{\sum (\text{階級値} \times \text{該当個体数}) \times 100}{4 \times \text{個体数}}$$

注3) 抵抗性は標準品種のシスト着生指数との比較により判定した。

注4) 「ネマシラズ」は“弱”, 「東山154号」は“強”, 「Peking」は“極強”の標準品種である。

第10表 紫斑病抵抗性検定試験成績（福島県農業総合センター会津地域研究所）

品種名	2003年		2004年		2009年	
	発病粒率(%)	判定	発病粒率(%)	判定	発病粒率(%)	判定
あきまる	3.8	中	8.9	やや強	2.0	強
赤莢(長野)	0.2	強	0.7	強	0.7	強
タマヒカリ	3.3	やや強	5.2	やや強	7.7	やや強
スズユタカ	5.4	中	12.8	中	6.1	中
エンレイ	5.1	中	20.3	中	11.1	中

注1) 判定は任意に抽出した100gの子実について発病粒率を調査し、指標品種の発病粒率より判定基準を設定した。2003年の判定基準は、0.0~0.1:極強, 0.2~3.2:強, 3.3~5.2:やや強, 5.3~9.9:中, 10.0~19.9:やや弱, 20.0~:弱(単位%)。2004年の判定基準は、0.0~0.7:極強, 0.8~5.1:強, 5.2~16.6:やや強, 16.7~24.9:中, 25.0~39.9:やや弱, 40.0~:弱(単位%)。2009年の判定基準は、0.0~0.7:極強, 0.8~7.6:強, 7.7~11.0:やや強, 11.1~14.9:中, 15.0~39.9:やや弱, 40.0~:弱(単位%)。

注2) 「赤莢(長野)」は“強”, 「タマヒカリ」は“やや強”, 「スズユタカ」と「エンレイ」は“中”の指標品種である。

第11表 立枯性病害抵抗性検定試験成績（岩手県農業研究センター）

品種名	2003年				2004年			
	発病株率(%)	平均発病度	同一株内Harosoy対比	判定	発病株率(%)	平均発病度	同一株内Harosoy対比	判定
あきまる	100	2.40	0.83	中	99	2.20	0.85	中
ナンブシロメ	100	2.65	0.91	弱	100	2.75	1.03	弱
スズカリ	98	2.26	0.79	やや強	98	2.21	0.77	やや強

注1) 1株に供試品種・系統と「Harosoy」を混植し、「Harosoy」が罹病した株だけを調査対象とした。

注2) 発病度は、0:発病無し, 1:地際部に褐変が認められる, 2:褐変が地際部全体を取り巻いている, 3:褐変が地際部を中心に長く伸びている, 4:主根が腐朽, 5:枯死とする階級値を個体毎に与え、次式によって算出した。発病度 = $\{\sum(\text{階級値} \times \text{該当株数}) / (\text{全調査株数} \times 5)\} \times 100$ 。

注3) 同一株内「Harosoy」対比は、同一株内の「Harosoy」の発病度に対する供試系統の発病度として算出し、指標品種の同一株内「Harosoy」対比により判定基準を設定した。2003年の判定は、強:同一株内「Harosoy」対比が0.75未満, やや強:同一株内「Harosoy」対比が0.75以上0.80未満, 中:同一株内「Harosoy」対比が0.80以上0.85未満, やや弱:同一株内「Harosoy」対比が0.85以上0.90未満, 弱:同一株内「Harosoy」対比が0.90以上。2004年の判定は、強:同一株内「Harosoy」対比が0.75未満, やや強:同一株内「Harosoy」対比が0.75以上0.792以下, 中:同一株内「Harosoy」対比が0.793以上0.80未満, やや弱:同一株内「Harosoy」対比が0.80以上0.828未満, 弱:同一株内「Harosoy」対比が0.828以上。

注4) 「ナンブシロメ」は“弱”, 「スズカリ」は“やや強”の指標品種である。

第12表 熱風乾燥処理による裂莢率の調査成績（育成地）

品種名	裂莢率(%)		裂莢性判定
	1時間後	2時間後	
あきまる	65.9	91.8	易
フクユタカ	40.3	76.5	中
サチユタカ	53.8	84.8	易

注1) 2006年~2009年の4ヶ年平均。

注2) 6月播栽培の莢を1区あたり100莢, 2反復調査。

注3) 熱風乾燥処理は60℃で行った。

注4) 「フクユタカ」は“中”の標準品種である。

分類される。裂莢の難易は、熱風乾燥処理⁴⁾による裂莢率の結果から「あきまる」は「サチユタカ」と同じ“易”に分類される(第12表)。

3 品質特性

1) 粒の外観品質, 粒度分布および子実成分

「あきまる」の粒の外観品質は生産力検定試験(標準播)の障害粒発生程度などから「フクユタカ」と同じ“中の上”に分類される。第13表の粒度分布

第13表 粒度分布調査成績 (育成地)

品種名	篩い目の大きさ							百粒重 (g)
	6.0mm 以下	6.1mm ~6.6mm	6.7mm ~7.2mm	7.3mm ~7.8mm	7.9mm ~8.4mm	8.5mm ~9.0mm	9.1mm 以上	
あきまろ	0.0	0.2	1.1	14.8	64.6	19.1	0.3	32.7
フクユタカ	0.1	0.9	2.6	7.2	50.1	38.2	1.0	35.0
サチユタカ	0.1	0.3	1.5	21.2	66.4	10.6	0.0	32.3

注1) 2009年~2010年の2ヶ年平均。「サチユタカ」は2010年。

注2) 調査は水田転換畑標準播(6月播)産について各反復500g, 2反復行った。

注3) 粒度は重量比(%)。

第14表 子実成分調査成績 (育成地)

品種名	粗蛋白質含有率(%)		粗脂肪含有率(%)		全糖含有率(%)	
	標準播 (6月播)	晩播 (7月播)	標準播 (6月播)	晩播 (7月播)	標準播 (6月播)	晩播 (7月播)
あきまろ	42.7	42.9	20.0	19.7	21.6	22.1
フクユタカ	43.9	45.5	20.3	19.2	21.0	21.3
サチユタカ	45.2	47.2	19.5	18.0	21.0	21.6

注1) 標準播, 晩播ともに水田転換畑において栽培した。

注2) 標準播は2004年~2010年の7ヶ年平均, 晩播は2004年~2010年(2008年除く)の6ヶ年平均, 2008年は早魃のため出芽不良となり, 調査できなかった。

注3) 近赤外分光分析法による(乾物あたり%)。窒素-蛋白質変換係数は6.25。

第15表 育成地産「あきまろ」の味噌加工試験成績

品種名	重量増加比 (倍)		蒸煮大豆		蒸煮大豆の色調			官能評価 総合順位	
	浸漬後	蒸煮後	水分(%)	硬さ(g)	Y(%)	x	y	淡色	赤色
あきまろ	2.32	2.10	59.4	667	36.3	0.392	0.383	1	4
トヨコマチ (淡色標準)	2.45	2.24	63.0	607	35.3	0.386	0.382	6	-
エンレイ (赤色標準)	2.40	2.17	64.2	566	37.0	0.390	0.387	-	1

注1) 本試験は国産大豆協議会品質評価分科会において, 2005年に実施した。

注2) 原料大豆は全て2004年産。産地は「トヨコマチ」が北海道産, 「エンレイ」が新潟県産。

注3) 蒸煮試験および味噌加工試験はC味噌研究所の常法により行った。

注4) 色調は, Y: 明度, x: 赤味, y: 黄味の程度を示す。

注5) 官能試験は, パネル30名で「よい」または「悪い」を供試した8サンプル(標準品種1点, 大豆育成系統7点)から2サンプルずつ選択し, 順位付けを行った。

から「あきまろ」は篩い目7.9mm以上に子実の70%以上が残り, 大豆検査規格(農産物規格規程: 平成13年農林水産省告示第244号)の大粒大豆に区分される。粗蛋白質含有率は標準播42.7%および晩播42.9%で“中”に分類されるが, 「フクユタカ」より標準播で1.2%, 晩播で2.6%低い(第14表)。粗脂肪含有率は「フクユタカ」並みで“中”に分類される。全糖含有率は「フクユタカ」より標準播で0.6%, 晩播で0.8%高い。

2) 味噌加工適性

第15表に国産大豆協議会品質評価分科会(C味噌研究所で実施)において行った「あきまろ」の味噌加工適性試験成績を示した。重量増加比と蒸煮大豆の硬さに問題はなく, 蒸煮大豆の色調は明るく良好であった。官能評価では, 淡色味噌で1位, 赤色味噌で4位と評価された。また, 広島県M社において広島県産大豆を原料に使用した淡色味噌加工試験(小仕込み)では, 煮豆の重量増加に問題はなく, 食味は旨味が強く甘みがあり, 食感は良好であった

第16表 広島県産大豆の味噌加工試験成績

	あきまろ		サチユタカ		アキシロメ		
	現地A	現地B	現地A	現地B	現地A	現地B	
煮豆							
重量増加(倍) 吸水後	2.29	2.30	2.25	2.26	2.35	2.33	
蒸煮後	2.38	2.37	2.39	2.41	2.50	2.44	
食味	旨味が強い 甘味あり		ふっくらして 美味しい		やや味が淡泊 水っぽい		
食感	好ましい		好ましい		ややバサつく		
熟成味噌(小仕込み)							
塩分(%)	10.6	11.0	11.1	9.8	11.1	10.9	
水分(%)	51.4	50.9	50.0	50.7	50.6	50.0	
色相	Y%	9.16	9.32	10.76	10.54	10.85	8.72
	x	0.417	0.423	0.426	0.415	0.424	0.417
	y	0.371	0.376	0.378	0.373	0.379	0.371
官能評価	5 味がソフトで旨味あり		4 旨味あり		3 サッパリした味		

注1) 原料大豆は2009年産。試験は2010年に実施した。

注2) 煮豆試験および味噌加工試験は広島県M社の常法により行った。

注3) 熟成中の異常気象(高温)のため過熟成となった。

注4) 色調は、Y：明度、x：赤味、y：黄味の程度を示す。

注5) 官能評価は味噌20gを170mlの沸騰水に溶いて行った。1：好ましくない→5：好ましい。

第17表 豆腐加工試験成績

品種名	豆乳 抽出率 (%)	豆乳 固形分 (%)	豆乳 粗蛋白質 (%)	豆乳 粘度 (mpa・s)	GDL		硫酸カルシウム		塩化マグネシウム	
					破断強度 (g/cm ²)	pH	破断強度 (g/cm ²)	pH	破断強度 (g/cm ²)	pH
あきまろ	78.9	9.84	4.40	16.3	80	5.82	84	5.96	56	6.29
サチユタカ	79.1	9.59	4.83	18.9	111	5.90	129	5.95	88	6.33
フクユタカ	79.4	9.91	4.62	29.2	98	5.91	105	6.01	72	6.35

注1) 本試験は国産大豆協議会品質評価分科会において、2006年に実施した。

注2) 原料大豆は2005年育成地産。

注3) 豆腐加工試験方法はA社の常法による。

注4) 凝固剤濃度は、GDL(グルコノデルタラクトン)：0.25%、硫酸カルシウム：0.40%、塩化マグネシウム(6水和物)：0.25%。

(第16表)。味噌の官能評価は味がソフトで旨味があり、供試3品種の中で評価が最も高かった。これら以外の味噌加工試験では、淡色味噌および赤色味噌ともに標準品種並みあるいはそれ以上と評価された(データ省略)。

3) 豆腐加工適性

「あきまろ」の豆腐加工適性試験は、国産大豆協議会品質評価分科会(A社で実施)において行った(第17表)。豆乳抽出率、豆乳固形分および豆乳粘度に関して問題なかったが、豆乳粗蛋白質はやや低かった。豆腐の硬さはいずれの凝固剤でも「サチユタ

カ」や「フクユタカ」より破断強度が低く柔らかい豆腐となった。官能評価は、柔らかい食感で、クリーミーでコクが感じられるとの評価を受けた。

IV 適地および栽培上の留意点

1 奨励品種決定調査における試験成績

2004年から2010年の7ヶ年に延べ60箇所に供試し、やや有望が13箇所、中(再検討)が31箇所、やや劣るが11箇所、劣るが5箇所であった(第18表)。このうち広島県の場合内試験および現地試験において、「あきまろ」の成熟期は「サチユタカ」より約

第18表 奨励品種決定調査における試験成績概評一覧

県名 試験場所	2004年		2005年		2006年		2007年		2008年		2009年		2010年		標準品種
	収量 比(%)	概 評	収量 比(%)	概 評	収量 比(%)	概 評	収量 比(%)	概 評	収量 比(%)	概 評	収量 比(%)	概 評	収量 比(%)	概 評	
愛知 農総試									63	△					フクユタカ
三重 農研									103	◇	104	◇	116	△	フクユタカ
伊賀									129	◇	111	◇	146	◇	フクユタカ
滋賀 農技セ	109	◇	101	◇	88	×									タマホマレ
湖北	100	△	93	△	96	×									タマホマレ
京都 農総研	119	◇	100	△											タマホマレ
兵庫 農技セ	64	◇	85	△	113	◇	87	△							サチユタカ
鳥取 農試									99	○	99	◇	81	◇	サチユタカ
島根 農技セ	74	◇	113	△											サチユタカ
岡山 北部	103	×													トヨシロメ
広島 農技セ(標準播)	108	◇	101	◇	97	◇	105	○	111	○	104	○	113	○	サチユタカ
農技セ(晩播)									105	○	107	○			サチユタカ
現地・三次市											99	○	136	○	サチユタカ
現地・安芸高田市											99	○	127	○	サチユタカ
山口 農総試セ(晩播)	102	◇	94	◇	113	◇	113	○							サチユタカ
農総試セ(標準播)					94	◇	117	○							サチユタカ
徳佐	94	◇													サチユタカ
徳島 農研	—	◇	71	◇	41	◇	63	×							フクユタカ
香川 農試	88	◇	111	△											フクユタカ
愛媛 農試	114 ¹⁾	◇	93 ¹⁾	◇	79 ¹⁾	△	81 ²⁾	◇							¹⁾ タマホマレ ²⁾ フクユタカ
福岡 豊前					103	×									フクユタカ
佐賀 農研					98	◇	106	◇	85	◇	113	△			フクユタカ

注1) 概評 ◎：有望，○：やや有望，◇：再検討，△：やや劣る，×：劣る。

注2) 数値は標準品種との収量比。「—」はデータ無し。

第19表 広島県の奨励品種決定調査における生育、収穫物および品質調査成績

調査地	広島県農業技術センター				現地・三次市		現地・安芸高田市	
	2004年～2010年		2008年～2009年		2009年～2010年		2009年～2010年	
	6月播		7月播		6月播		7月播	
品種名	あきまろ	サチユタカ(標準)	あきまろ	サチユタカ(標準)	あきまろ	サチユタカ(標準)	あきまろ	サチユタカ(標準)
成熟期(月.日)	11.1	10.22	11.12	11.1	11.7	10下	11.17	11.7
主茎長(cm)	72	53	55	39	54	44	58	40
分枝数(本)	6.8	5.6	5.3	4.2	6.9	4.9	3.7	3.2
最下着莢節位高(cm)	21.6	15.4	13.4	8.8	15.9	11.3	19.2	13.0
子実重(kg/a)	42.0	39.0	38.7	36.6	39.5	35.2	46.0	40.3
標準対比(%)	108	100	106	100	112	100	114	100
百粒重(g)	32.8	34.4	35.5	35.8	33.3	35.7	35.3	34.5
品質	上上	上中	上上	上中	上下	上下	上上	上中
粗蛋白質含有率(%)	42.8	45.6	43.7	47.2	40.5	44.8	43.6	48.1
粗脂肪含有率(%)	20.3	19.3	19.9	18.2	21.0	19.2	19.5	17.2

注1) 品質は、上上、上中、上下、中上、中中、中下、下の7段階評価。

付表 育成従事者

年次(平成)	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
世代	交配	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄	F ₅	F ₆	F ₇	F ₈	F ₉	F ₁₀	F ₁₁	F ₁₂	F ₁₃	F ₁₄	F ₁₅
氏名																
岡部昭典							●									●
高田吉丈														●		●
猿田正恭							●									●
菊池彰夫								●						●		
小野貞芳							●	●								
長野県中信農業試験場(現、長野県野菜花き試験場)																
矢ヶ崎和弘				●												●
坂元秀彦								●								●
高松光生	●															●
山田直弘	●															●
高橋信夫	●															●
田中進久			●		●											
元木 悟	●				●											
西牧 清	●		●													

10日程度遅く、主茎長は10～19cm長く、最下着莢節位高は5～6cm高い(第19表)。子実重は「サチユタカ」対比106～114%と多収である。百粒重は「サチユタカ」と同程度～やや軽い。「あきまる」は裂皮などの障害が少なく外観品質が優れる。子実中の粗蛋白質含有率は「サチユタカ」より2.4～4.5%低く、粗脂肪含有率は1～2.3%高い。

2 栽培適地

成熟期および育成地、公立試験研究機関における奨励品種決定調査などの成績から、「あきまる」の栽培適地は中国四国地域と判断される。

3 栽培上の留意点

「あきまる」はダイズシストセンチュウ抵抗性を有していないので、連作やセンチュウ発生圃場での栽培は避ける必要がある。また、生態型が秋大豆型であり、早播きすると徒長し、倒伏の増大が懸念されるので、早播きは避ける。

V 考 察

1 期待される効果

近年の大豆作付けに係る施策により国産大豆の生産量は増えたものの、現在は約23万t前後で推移しており、国内の食品用大豆の需要(約100万t)を

満たす量を供給できていない。このため、品種改良による収量および品質の高位安定化は、食料自給率向上のためにも、より一層重要になっている。

「あきまる」は晩播栽培において「フクユタカ」や「サチユタカ」より多収で、裂皮などの障害が少なく子実の品質が優れている。また、最下着莢節位高が高いため、コンバイン収穫時の土混入による汚粒を軽減できる。障害粒や汚粒が少ないことは、生産物の選別・調製にかかる労力を軽減する利点がある。これらの特性を有する「あきまる」を品種登録して普及に移すことにより、中国四国地域における大豆生産の高品質・安定生産に貢献することが期待される。

2 今後の課題

中国四国地域では、褐斑粒発生の原因となる数種類のウイルスが分布しているが、これらに対して本地域の主要品種である「サチユタカ」や「フクユタカ」のウイルス病抵抗性は十分でない。「あきまる」はダイズモザイクウイルスA₂系統に抵抗性を有し、「サチユタカ」や「フクユタカ」よりウイルス病抵抗性が強化されているが、PSV(ラッカセイ萎縮ウイルス)やSBMV(インゲンマメ南部モザイクウイルス)などに罹病性であるため、これらウイルス病に対する抵抗性を付与する必要がある。また、加工面で「あきまる」は子実中の粗蛋白質含有率がやや

低いため、豆腐加工適性は「サチユタカ」や「フクユタカ」並みの評価を得られていない。「あきまる」の特徴である味噌加工適性を有し、同時に豆腐加工適性を向上した品種の開発が望まれる。

VI 摘 要

「あきまる」は1995年に長野県中信農業試験場（現・長野県野菜花き試験場，旧農林水産省大豆育種指定試験地）において，難裂莢性で草姿を改良した品種の育成を目標に，「東山系 T683」（後の東山195号）を母，「東山系 T762」を父とした人工交配を行い，2000年にF₅系統の中から選抜された「東山系 X864」を近畿中国四国農業研究センター大豆育種研究近中四サブチームへ移管し，以後，当サブチームにおいて選抜・固定を図り，育成した品種である。

本品種は生態型が秋大豆型で，晩播栽培において「フクユタカ」より多収である。ダイズモザイクウイルスのA，BおよびA₂系統に抵抗性である。最下着莢節位高が高く，コンバイン収穫時の汚粒が軽減できる。子実の種皮色と臍色は“黄”，粒大は

“やや大”で，外観品質が良好である。加工面では淡色味噌に好適である。

2011年4月に「あきまる」の名称で品種登録出願を行った。栽培適地は中国四国地域である。

引用文献

- 1) 越水幸男・飯塚典男 1963. 大豆のウイルス病に関する研究. 東北農試研報 27: 1-130.
- 2) 大庭虎雄・岩田岩保・竹崎 力・工藤洋男・異儀田和典・小代寛正・原 正紀・池田 稔・高柳 繁・下津盛昌・橋本篤一・志賀鑑昭・富田貞光 1982. ダイズ新品種「フクユタカ」について. 九州農試報告 22: 405-432.
- 3) 高橋将一・松永亮一・小松邦彦・中澤芳則・羽鹿牧太・酒井真次・異儀田和典 2004. ダイズ新品種「サチユタカ」の育成とその特性. 九州沖縄農業研究センター報告 45: 15-39.
- 4) 村田吉平・菊池彰夫・酒井真次 1991. 大豆裂皮性簡易検定法（吸水裂皮法）について. 日作東北支部会報 34: 57-58.

A New Soybean Cultivar, 'Akimaro', with High Yield in Late Sowing Cultivation and Suitability for Miso (Soybean Paste) Production

Yoshitake TAKADA, Masayasu SARUTA, Akinori OKABE¹, Akio KIKUCHI², Sadayoshi Ono³, Kazuhiro YAGASAKI⁴, Hidehiko SAKAMOTO⁴, Mitsuo TAKAMATSU⁴, Naohiro YAMADA⁵, Nobuo TAKAHASHI⁶, Nobuhisa TANAKA⁷, Satoru MOTOKI⁴ and Kiyoshi NISHIMAKI⁶

Summary

A new soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) cultivar, 'Akimaro', was developed at the NARO Western Region Agricultural Research Center in 2011. To develop a cultivar with high pod shattering resistance and a suitable plant shape for harvesting by combine harvester, we selected plants from a cross between 'Tosankei T683' and 'Tosankei T762'. The date of maturation of 'Akimaro' is almost the same as that of 'Fukuyutaka' at Zentsuji City, Kagawa Prefecture (34° 13' 37" N, 133° 46' 39" E), placing it in maturity group V. 'Akimaro' has purple flowers, gray pubescence, rounded ovate leaflets, and brown pods at maturity. Growth is determinate. 'Akimaro' plants are medium height, and the lowest stem node with pods is high. In late-sowing cultivation, yields of 'Akimaro' are higher than those of 'Fukuyutaka'. It is resistant to soybean mosaic virus strains A, B, and A₂. The seeds are large with a yellow seed coat and a yellow hilum. 'Akimaro' is suitable for miso (soybean paste) production. It is highly compatible with the climate and soil of Chugoku and Shikoku districts.

Crop Breeding and Food Functional Components Research Division, NARO Western Region Agricultural Research Center

¹ Lowland Crops Research Division, NARO Western Region Agricultural Research Center

² NARO Tohoku Agricultural Research Center

³ Ex-NARO Western Region Agricultural Research Center

⁴ Nagano Vegetable and Ornamental Crops Experiment Station

⁵ NARO Institute of Crop Science

⁶ Ex-Nagano Chushin Agricultural Experiment Station

⁷ Kasukabe Agriculture and Forestry Promotion Center, Saitama Prefecture

コムギ品種および加工食品におけるDNA品種識別技術の開発

藤田由美子

Key words : コムギ, 品種識別, DNAマーカー, SSR, SNP, 加工食品

目 次

I 緒 論	41	2 特定品種の簡易識別法の開発	62
II コムギ加工食品からのDNA抽出と断片化の 評価	43	V SNPを用いた特定コムギ品種の定量技術	66
1 市販食品から抽出したDNAの評価	43	1 リアルタイムPCRを用いた標的遺伝子領 域の検出法の開発	66
2 PCR法の適用と限界増幅長の評価	44	2 品種の相対定量法の開発と検出下限の評 価	70
III SSRマーカーを用いたコムギ品種識別技術	46	VI 総 合 考 察	72
1 EST-SSRマーカーの開発	46	摘 要	74
2 国内品種の品種内多型の評価	53	謝 辞	74
3 国産コムギと輸入コムギの識別	57	引 用 文 献	75
IV SNPマーカーを用いたコムギ品種識別技術	60	Summary	79
1 コムギの遺伝子領域におけるSNPの探索	60		

I 緒 論

品種とは分類学上の種および亜種の下位の分類単位であり、作物や家畜の種類をそれぞれの特徴に基づいて区別した最小単位である⁴⁷⁾。とりわけ農産物において、品種は収穫物などについての表現型のみでは相互に見分けがつかない場合もあるが、その遺伝子型には差異が存在し、品種を特徴づけている。自殖性作物の品種は純系、栄養繁殖作物の品種はクローンであり、双方ともに品種内の遺伝変異はほとんどないが、他殖性作物の品種は遺伝的に固定しておらず、栽培上支障がない程度の遺伝変異を含んだ集団である。いずれの生殖様式であっても、新品種が成立するためには既存品種よりも優れた特性をもち、実用上支障がない程度に均質であることや、後代にわたり維持される特性であることが必要である。

日本において植物新品種は重要な知的財産であり、特許権や商標権と同様に、植物新品種の育成者の権利は種苗法によって「育成者権」として付与・保護されている²²⁾。1978年に種苗法が制定されて以来、本格的な品種保護が始まり、種苗の不正利用による育成者権侵害に対して罰則措置がとられることとなった。さらに2003年の改正によって種苗のみならず、収穫物段階での権利侵害に対しても罰則が適用されることとなり、大規模な侵害に対して十分な抑止力を確保するため、法人による権利侵害への罰金額の上限が1億円に引き上げられた。また、同時期に関税率法の改正が行われ、税関における輸入禁制品に、知的財産権侵害品の一つとして育成者権が加えられることとなった。これにより、育成者権者が税関に対して侵害の証拠資料とともに輸入差止申し立てを行い、税関において侵害物品と認定された場合には没収・廃棄などの措置をとることが可能となり、品種保護への取り組みはますます活性化し

ている。

一方、近年では消費者の食に対する関心が高まりを見せ、「コシヒカリ」に代表されるように米や野菜など、一部の農産物における特定品種のブランド化が加速している。それに伴い、消費者の関心に応えるため、加工食品の原材料品種、原産地について自主的に表示をして販売するケースが増加した。これらの表示は、農林物資の規格化及び品質表示の適正化に関する法律（JAS法）に従い、適正に行うこととされているが、農産物の種類によっては品種や産地間の価格差が大きいために偽装表示がたびたび問題となっている。このような状況から、農林水産省は食品関連団体に対し、原産地表示について積極的な情報提供を行うよう通知を出す一方で³⁵⁾、偽装表示に対する抑止力を強化するため、虚偽の表示を行った販売元に対して罰則を適用することとし、JAS法の一部を改正した³⁶⁾。

このように、品種の育成者権の保護や適正な利用に関する監視のために法的な措置が整備され、大きな抑止力を発揮する体制が整えられた。しかしながら、一方では不正が発生した場合に、それらを立証することが不可欠となり、品種や原産地の識別技術の開発が急務となっている⁴⁾。植物体の場合は外観から品種を同定することも可能であるが、収穫物は一般に植物体の一部のみであるため識別が困難な場合もある。さらに、加工食品ともなると外観からその原材料品種を判断することはほぼ不可能である。そのため、植物体の表現型ではなく、遺伝子型、すなわちDNAを利用した品種識別が注目されるようになってきた。これまで、DNA分析技術はヒトの個人識別などにおいて先進的に活用されてきたが、分析技術の進歩とともに、植物分野にも大きな功績をもたらしている。DNA分析による品種識別技術は、①簡易・迅速である、②植物体への再生が困難な試料でも識別可能である、③生産環境に左右されず結果が客観的で安定している、などの利点があり、「コシヒカリ」をはじめとする米の品種識別において有用性が実証され³⁷⁾、イチゴやイグサなどの様々な農産物でも広く利用されるようになった^{18, 43)}。その手法は、RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) や AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), CAPS (Cleaved Amplified

Polymorphic Sequence), SSR (Simple Sequence Repeat), SNP (Single Nucleotide Polymorphism) など様々な種類があり、対象とする植物のゲノム情報の多少によって適した手法を選択できる。

日本におけるコムギ (*Triticum aestivum* L.) の年間消費量は約600万トンに及び、コムギは日本人にとって米と同様に主要な穀類の一つである。かつてコムギの主な加工用途はめん類であったが、第二次世界大戦後の食の多様化に伴い、パン類やクッキー、ケーキ、ビスケットなどの菓子類が広く普及し、コムギの加工用途は大きく拡大した。そのため、元来、めん用に適した品質を持つ国内品種のみでは需要の拡大に対応できず、その多くを輸入に依存するようになった。近年、小麦粉の生産量は460万トンで、そのうち、二次加工品であるめん類が127万トン、パン類が118万トンに及ぶが、カロリーベース自給率は14%程度に留まる³⁴⁾。しかしながら、1999年から「麦新品种緊急開発プロジェクト」が発足し、多用途に対応するための新品种開発が急がれた結果、めん用のみならずパン用品種の開発が進み、生産現場への導入が進んでいる。コムギはほとんどの都道府県において作付されており、現在、国内において栽培される品種は40近く存在する。北海道における生産が約60%を占め、次いで福岡県や佐賀県など九州地方において生産が盛んである³²⁾。香川県の育成品種「さぬきの夢2000」に代表されるような地域限定のブランド品種もあり、個々の品種の生産量は少ないものの、各地に適した品種が普及し、地域特産品として好まれている。近年の消費者の安全・安心志向の高まりや地産地消の推進などから、国産コムギを使用しためん類やパン類の需要は増加の一途をたどっており、国産コムギを使用した商品の80%以上で原材料品種や産地に関する表示があることから、食品表示の信頼性を確保することが急務となっている。

コムギは製粉し、こねる、加熱するなどの多様な工程を経て食品へと加工される。一般的に輸入コムギは国産コムギと比較して加工時の作業性に優れ、また、コストを低減させることもできるために、近年、輸入コムギを混ぜたにも関わらず、それらを使った商品を国産あるいは特定品種名を記載して「100%使用」と表示するケースが散見される。しか

し、生産現場から流通、加工まで、多くの工程を経るコムギでは、思いがけない原材料の取り違いや意図しない他品種の混入が想定される。とりわけ一部のブランド化した品種では「100%使用」の表示に対して、意図的な混合と非意図的な混入を区別するために、混入の許容範囲を知る必要があり、品種を識別する技術とともに定量技術の開発もまた求められている。コムギの品種識別技術は、県内およびその近隣地域で流通するコムギ品種を対象に、RAPD法を用いたものがいくつか開発されてきた^{17, 55)}。それらは栽培種子のもととなる原種や原原種の純度維持や混種の確認など、種子の管理を目的として開発されており、市場流通品種を網羅していない、植物体から抽出したDNAによる品種の識別を想定しているなどの問題があることから、加工食品へ適用することは困難である。

本研究は、加工食品に適用できるコムギ品種識別技術を開発することを目的として実施した。はじめに、主要なコムギ加工食品からDNA抽出を行い、DNAの状態を確認するとともにDNAマーカーの適用条件を検討した。次に、現在の国内市場流通品種を網羅したコムギ品種識別技術を開発するため、SSRマーカーの開発を行い、市販の加工食品への適用および実用性を評価した。さらに、特定品種に的を絞ったより簡易で迅速な識別技術の開発を目的として、コムギの遺伝子領域におけるSNPを探索し、マーカー化を行った。また、それらのSNP情報を利用し、小麦粉における特定品種の定量技術の開発を試みた。

II コムギ加工食品からのDNA抽出と断片化の評価

1 市販食品から抽出したDNAの評価

DNAを用いた品種識別を行うためには、識別対象からDNAを抽出できることが必要条件である。Tilley⁵³⁾は、パンを対象としてミキシングや発酵、焼成などの加工工程の各段階における生地からDNAを抽出し、工程が進むにつれて断片化が著しく進み、増幅長の長いDNAマーカーでは安定的に増幅できなくなる傾向があることを示した。しかし、コムギはパンをはじめ、めん類や多種多様な菓子類の原材料として利用されており、DNA品種識別を

行うためにそれらの多くに適用できる条件を明らかにする必要がある。加工食品からのDNA抽出法は、餅や炊飯から米の品種を識別するためにCTAB法を利用したものや、 α -Amylase および Proteinase K を用いる酵素法が考案されている³⁷⁾。また、加工食品から遺伝子組換えダイズやトウモロコシなどを検出するため、イオン交換樹脂カラム QIAGEN Genomic-tip (QIAGEN) が基準法として採用されている⁵⁾。本節では、様々な原材料から作られた加工食品に対して適用されている QIAGEN Genomic-tip を利用して、主要なコムギ加工食品からDNAを抽出し、その純度や断片化の状態を確認した。

1) 材料および方法

加工食品はすべて市販品で、クッキー 2 種類 (A, B)、クラッカー、パン、半生うどん (加熱前および加熱後)、パイ、小麦粉を供試した。クッキーについては、製造元が異なる一般的なもの、A (小麦粉以外の植物 (ゴマ) が多く含まれるもの)、B (国産小麦使用、副原料が少ないもの) を選択した。半生うどんおよび小麦粉を除く 5 種類については、それぞれのサンプル毎に個包装に含まれるすべてを遊星型ボールミル (フリッチェ社) で粉碎し、1 g を計量した。半生うどんは一部を採って同様に粉碎し、1 g 計量した (加熱前)。残りのめんを 12 分間ゆで、これらは水分含量が高いと考えられるため、2 g 計量した (加熱後)。小麦粉はそのまま 1 g 計量した。

QIAGEN Genomic-tip 20/G および Genomic DNA Buffer Set (QIAGEN) を用いて添付のマニュアルに従い、DNA を抽出した。分光光度計 DU600 (Beckman Coulter) を用いて 230, 260, 280, 320nm の値を測定した。各食品につき、DNA 抽出と吸光度測定を 2 回行った。抽出した DNA (200ng) は 1% アガロースゲルを用いて電気泳動を行い、エチジウムブロマイドで染色後、UV を照射して泳動像を確認した。

2) 結果および考察

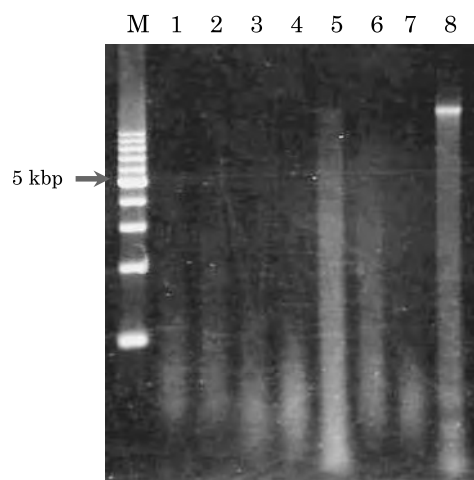
8 種類の食品から抽出した DNA の 260/280nm 値および抽出量を第 1 表に示した。260/280nm 値は 1.6 ~ 1.8 であり、いずれの食品からも PCR 反応に支障の

第1表 コムギの加工食品から抽出したDNAの260/280nm値と抽出量

市販加工食品	260nm/280nm	抽出量 (μg/g)
1 クッキー(A)	1.785	69.89
2 クッキー(B)	1.736	23.88
3 クラッカー	1.808	133.52
4 パン	1.795	68.98
5 半生うどん 加熱前	1.788	85.23
6 半生うどん 加熱後	1.659	9.73
7 パイ	1.795	55.13
8 小麦粉	1.784	127.99

ない純度のDNAが抽出できたと考えられた。抽出量は食品により大きな差異が見られ、多いものはクラッカー (133.52 μg) や小麦粉 (127.99 μg) であり、クッキーB (23.88 μg) や加熱後の半生うどん (9.73 μg) では少量であった。クラッカーや小麦粉は水分含量が少なく、そのためにクラッカーでは微細な粉砕ができたことや、供試量のうち小麦粉の占める割合が他の食品と比較して高いことが要因として考えられる。また、クッキーでは種類によって油脂や砂糖など小麦粉以外の原材料が多く含まれる場合があること、加熱後の半生うどんでは水分含量が多いことなどが抽出量に影響したと考えられる。従って、加工食品からDNAを抽出するにあたっては、その種類に応じて適切な供試量を検討する必要があると考えられた。

各食品から抽出したDNAについて泳動する量を一定に調整してアガロースゲル電気泳動を行ったところ、小麦粉以外の食品では断片化したスメアな状態であることが確認された (第1図)。さらに加熱前の半生うどんを除き、1 kbp以下の低分子の断片が多く含まれる傾向があった。一方、加熱前の半生うどんでは、高分子から低分子にわたる広範囲の断片が含まれていた。パンの製造過程であるミキシングおよび発酵までの工程を行ったそれぞれの生地から抽出したDNAについても加熱前の半生うどんと同様の傾向があるが、その後10分以上の焼成を行った後には数百bp程度に断片化されることが報告されている⁵³⁾。これらのことから、原材料の混合やミキシングなどの物理的な力が加えられる段階でDNAの断片化は生じるものの、その後の加熱が著



第1図 コムギの加工食品から抽出したDNAのアガロースゲル電気泳動図

M: 1kbp ladder marker; 1. クッキー (A); 2. クッキー (B); 3. クラッカー; 4. パン; 5. 半生うどん加熱前; 6. 半生うどん加熱後; 7. パイ; 8. 小麦粉。

しい断片化の要因であると推測された。

2 PCR法の適用と限界増幅長の評価

食品から抽出したDNAは、その加工工程によって断片化の程度が大きく異なる⁵³⁾。そのため、DNAマーカーにより安定的に検出できる限界の増幅長は食品毎に異なることが予想される。様々なコムギ加工食品に対してDNAマーカーを適用し、品種識別を行うため、いずれの食品においても検出できる可能性の高い増幅長を設定することが必要である。本節では、加工工程の異なる食品から抽出したDNAを用いて、増幅長の異なる5組のプライマーによりPCRを行うことで、検出限界となる増幅長を評価した。

1) 材料および方法

コムギの Dihydroflavonol-4-reductase を合成する遺伝子 *TaDFR-A* (Accession. no. AB162138) の塩基配列を基に、増幅長が92bp, 288bp, 489bp, 968bp, 1498bpとなる5組のプライマー対を設計した (第2表)。プライマー配列のBLASTN検索を行い、コムギ以外の作物における Dihydroflavonol-4-reductase などの塩基配列に対する相同性が低いことを確認した。また、5種類の植物 (イネ, オオム

ギ, トウモロコシ, ダイズ, ソバ) から抽出したDNAを用いて増幅産物が得られないことを確認し, コムギゲノムの *TaDFR-A* を特異的に増幅するプライマー対であることを確認した. PCR反応は, 前節2-1において抽出された8種類のコムギ加工食品(クッキー2種類(A, B), クラッカー, パン, 半生うどん(加熱前および加熱後), パイ, 小麦粉)のDNAを用いた. 反応は, 5pmol primer set,

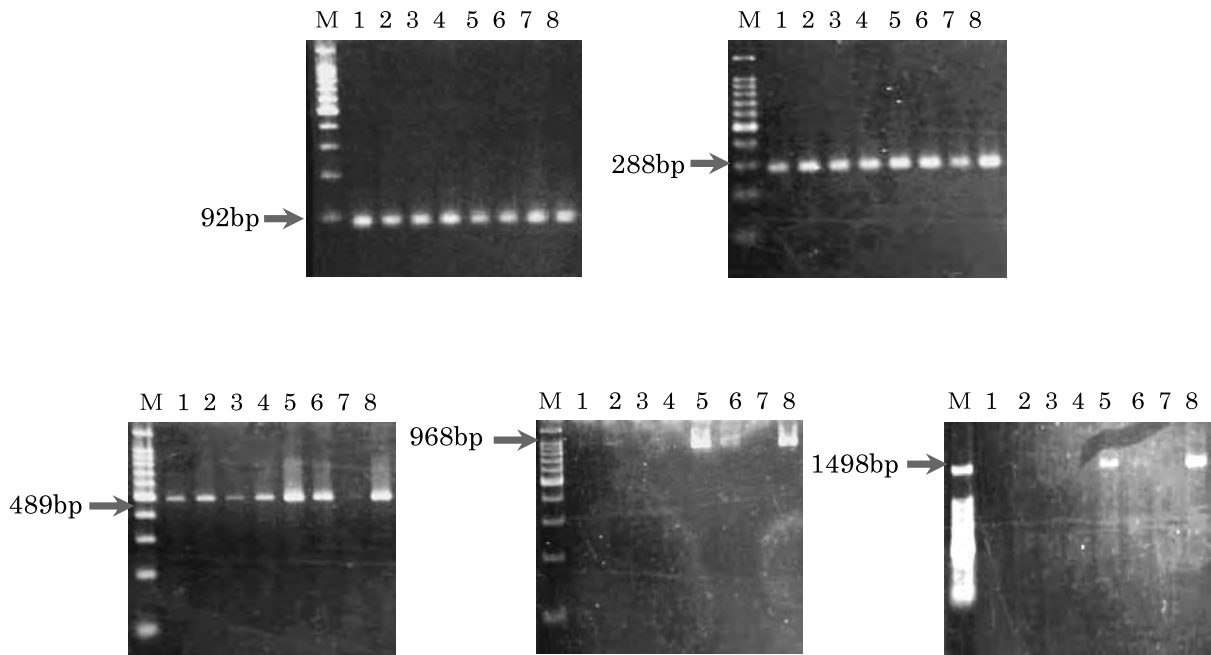
0.2mM dNTPs, 1.5mM MgCl₂, 1×PCR Buffer (15mM Tris-HCl pH8.3, 50mM KCl), 0.5 units AmpliTaq Gold DNA Polymerase (Applied Biosystems, 以下ABI), 25ng鑄型DNAを含む25μlの溶液で行った. PCR反応にはGeneAmp PCR System 9700 (ABI) を用い, 反応条件は94℃ 9分間, (94℃ 30秒間, 60℃ 1分間または2分間, 72℃ 30秒間) × 35サイクル, 72℃ 7分間とした. 1%または3%のアガロースゲルを用いて電気泳動を行い, エチジウムブロマイドで染色してUVを照射し, 増幅産物の有無を確認した.

第2表 *TaDFR-A*を検出する5組のプライマー対

プライマー	増幅長	プライマー配列 (5'-3')
DFR-A8A9L DFR-A9R	92	GGGTGAGCCTCCTTCTCTCT CTTCTCAACGTTGGCTGACA
DFR-A8A9L DFR-A11R	288	GGGTGAGCCTCCTTCTCTCT CAGCAGTATTTCCGTGGCTA
DFR-A12A15L DFR-A9R	489	ACCCCTCCTCCATTGTTCAT CTTCTCAACGTTGGCTGACA
DFR-A12A15L DFR-A14R	968	ACCCCTCCTCCATTGTTCAT GCTGCTTCAGCAAGTAGAGGT
DFR-A12A15L DFR-A15R	1498	ACCCCTCCTCCATTGTTCAT GAGAGGAATGAGGCCCTTCT

2) 結果および考察

増幅長92bpおよび288bpのプライマー対では, 8種類すべての食品において増幅産物が得られた(第2図). パイから抽出したDNAについては, 489bpのプライマー対では安定的に増幅できず, 968bpおよび1498bpを増幅させるプライマー対ではほとんど増幅が見られなかった. また, クッキーAやクラッカー, パンでは, 968bpのプライマー対で安定的な増幅が見られなくなり, 1498bpではまったく増幅が見られなかった. 加熱後の半生うどんもまた,



第2図 コムギの加工食品から抽出したDNAを用いた5組のプライマー対によるPCR産物のアガロースゲル電気泳動図

M: サイズマーカー; 1. クッキー (A); 2. クッキー (B); 3. クラッカー; 4. パン; 5. 半生うどん加熱前; 6. 半生うどん加熱後; 7. パイ; 8. 小麦粉.

968bpまでのプライマー対では増幅可能であったが、1498bpでは安定的に増幅産物を得ることができなくなった。したがって、すべてのプライマー対を適用できたのは、加熱前の半生うどんと小麦粉の2種類のみであった。

限界となった増幅長を比較すると、短いものから、[パイ]、[クッキー (A) ・クラッカー・パン]、[クッキー (B) ・半生うどん (加熱後)]、[半生うどん (加熱前) ・小麦粉] の順であった。パイやクッキー、クラッカー、パンについては通常、加工の最終段階において180~200℃程度の高温で焼成するのに対して、うどんなどのめん類は約100℃の熱湯で調理されるものである。したがって、高温で加熱された食品ほど長い増幅領域を検出することが困難であり、低分子のDNA断片が多く含まれると推測される。このことは、前節において、各食品から抽出したDNAをアガロースゲル電気泳動によって観察した結果から推測された断片化の状態と一致すると考えられる。しかし、各食品によってDNAの断片化の程度は異なるものの、コムギを原材料とする主要な加工食品からDNAを抽出することは可能であり、増幅長を300bp程度までに設定しておくことで高温加熱された食品にもDNAマーカーを適用することが可能であると考えられた。

III SSRマーカーを用いたコムギ品種識別技術

1 EST-SSRマーカーの開発

SSR (Simple sequence repeat) は多型性が高く、信頼度が高いDNAマーカーとして知られ、ヒトの個人識別や親子鑑定において実績のある技術である。また、ナシなどの果実やダイズ、デュラムコムギなどの農産物において品種識別のために広く利用されるようになってきた^{16, 38, 41, 57)}。その開発には手間や労力、コストがかかることが欠点であったが、近年では新手法の開発によって比較的容易にできるようになり、EST (Expressed sequence tag) などの大量の塩基配列情報があれば、SSRの探索やプライマー設計を自動的に短時間で行うことも可能となった^{8, 12, 64)}。本節では、データベースに登録されているコムギのESTを用いてSSRマーカー開発支援プログラム「read2Marker」⁸⁾によりSSRの探索と

プライマー設計を行い、加工食品に適用できる条件を満たすコムギ品種識別技術の開発を行った。

1) 材料および方法

SSRマーカーの設計元として、NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Ftp>) に登録されているUniGene (*Triticum aestivum* L.) を利用した。SSRの探索とプライマー対の設計は、SSRマーカー開発支援プログラム「read2Marker」を用いて行った。SSRは、複数のモチーフが含まれる場合は繰り返し合計4回以上、単一のモチーフの場合は繰り返し3回以上の領域を対象とした。プライマーの条件は、 T_m 値が60~70℃、最適なプライマー長を24bp、増幅領域の長さを100~300bpとして設計した。

PCRによる増幅産物の有無や多型の確認は、「チクゴイズミ」「ふくさやか」「春よ恋」「ハルユタカ」「ホクシン」「ネバリゴシ」「小麦農林61号」「さぬきの夢2000」「シラサギコムギ」「シロガネコムギ」「タマイズミ」「Calingiri」「Eradu」「Zak」の14品種を用いて行った。DNAの抽出は、CTAB法²⁸⁾を改変して行った。それぞれ種子1粒をMicro Smash MS-100R (トミー精工) によって粉碎し、400 μ lの1.5% CTAB溶液 (75 mM Tris-HCl [pH 8.0], 15 mM EDTA [pH 8.0], 1.05 M NaCl) を加え、DNAを抽出した。その後、等量のchloroform : isoamyl alcohol (24 : 1) 溶液を加えて夾雑物を除去し、DNAを含む溶液の1.5倍量の1%CTAB溶液 (50 mM Tris-HCl [pH 8.0], 10 mM EDTA [pH 8.0]) を加えてDNAを析出させた。再びDNAを1M NaCl溶液に完全溶解した後、2-propanolによって析出させた。その後、沈殿物を乾燥させ、50 μ lの1×TE (10 mM Tris-HCl [pH 8.0], 1 mM EDTA [pH 8.0]) に溶解したものをDNA溶液とした。各品種につき、3反復実施した。

PCR反応は、2 pmol primer set, 0.2mM dNTPs, 1.5mM MgCl₂, 1× PCR Buffer, 0.2 units AmpliTaq Gold DNA Polymerase (ABI), 10ng鋳型DNAを含む10 μ lの溶液で行った。PCR反応にはGeneAmp PCR System 9700 (ABI) を用い、反応条件は94℃ 9分間、(94℃30秒間、60℃30秒間、72℃30秒間) ×35サイクル、72℃ 7分間とした。増

第3表 SSRマーカーによる品種識別に供試したコムギ品種

No.	品種	No.	品種	No.	品種	No.	品種
1	アブクマワセ	16	きぬあずま	31	さぬきの夢2000	46	Eradu
2	アヤヒカリ	17	キヌヒメ	32	シラネコムギ	47	Alturas
3	バンドウワセ	18	きぬいろは	33	シラサギコムギ	48	Eden
4	チホクコムギ	19	きぬの波	34	シロガネコムギ	49	Eltan
5	チクゴイズミ	20	キタカミコムギ	35	しゅんよう	50	Hyak
6	ダブル8号	21	きたもえ	36	タイセツコムギ	51	Jagger
7	ダイチノミノリ	22	キタノカオリ	37	タクネコムギ	52	Jubilee
8	ふくほのか	23	コユキコムギ	38	タマイズミ	53	Lewjiain
9	ふくさやか	24	ミナミノカオリ	39	つるびかり	54	Tyee
10	春のかがやき	25	ナンブコムギ	40	ゆきちから	55	White Bird
11	春よ恋	26	ネバリゴシ	41	ユメアサヒ	56	Zak
12	ハルユタカ	27	ニシホナミ	42	Aroona	57	AC Barrie
13	ホクシン	28	ニシノカオリ	43	Arrino	58	CDC Teal
14	ホロシロコムギ	29	小麦農林26号	44	Cadoux		
15	イワイノダイチ	30	小麦農林61号	45	Calingiri		

42~46：オーストラリア品種；47~56：アメリカ品種；57, 58：カナダ品種

幅産物は、3%アガロースゲルを用いて電気泳動を行った後、エチジウムブロマイドで染色し、UV照射して増幅産物を確認した。増幅産物が少量、または確認されなかったプライマー対については、アニーリング温度を50~70℃の間で12段階に設定してグラジエントPCRを行い、最適温度を調査した。

また、各プライマー対のコムギに対する特異性を調べるため、オオムギ「イチバンボシ」、マンネンボシ、「カシマムギ」、「スカイゴールデン」、「ダイシモチ」、「シュンライ」、イネ「コシヒカリ」、「日本晴」、「モチミノリ」、ダイズ「ニシムスメ」、「アキシロメ」、「タマホマレ」、「フクユタカ」、「エンレイ」、「サチユタカ」、トウモロコシ（市販品）、ソバ（市販品）を対象にPCRを行い増幅産物の有無を確認した。

開発したSSRマーカーによる品種識別のために、国内41品種およびアメリカ、カナダ、オーストラリアの17品種を供試した（第3表）。PCR反応は、フォワードプライマーが4色の蛍光色素（FAM, VIC, NED, PET）のいずれかで標識されたプライマー対を用い、上記と同様に行った。増幅産物はキャピラリー型電気泳動装置3130xl Genetic Analyzer（ABI）によって分離・検出し、増幅産物長はGeneScan 500LIZをサイズスタンダードとして遺伝

子解析ソフトウェア GeneMapper（ABI）を用いて解析した。

さらに、加工食品への適用性を評価するため、それぞれ表示がある4種類の市販加工食品；小麦粉（さぬきの夢2000）、クッキー（国産コムギ）、ゆでうどん（チクゴイズミ）、パン（国産コムギ）を供試した。DNAの抽出は各食品1g（ゆでうどんのみ2g）から、QIAGEN Genomic-tip 20/GおよびGenomic DNA Buffer Set（QIAGEN）を用いて、添付のマニュアルに従って行った。ただし、Proteinase Kを推奨量の2倍使用した。PCR反応と増幅産物の解析は上記と同様に行い、加工食品に含まれる原材料品種を推定するためのソフトウェア「MixAssort」⁷⁾を用いて品種を識別した。

2) 結果および考察

「read2Marker」によって検出されたEST-SSRの種類と数、作出されたプライマー数と供試結果を第4表に示した。合計35,263個のEST（2005年9月時点）のうち、3,759個から2塩基モチーフ4,156および3塩基モチーフ2,839のSSRが検出された。同様にESTからSSRを探索した報告では、1塩基から7塩基のモチーフのコムギSSRにおいて、最も多いのは3塩基モチーフで約70%を占めており、2塩基モチ

第4表 UniGeneを用いたread2MarkerによるSSRマーカー開発の結果

パラメーター	EST数	SSRs数	プライマー組数	%
UniGene	35,263			
SSRを含む	3,759			10.7 ^d
1種類	1,104			
2種類以上	2,655			
2種類	2,197			
3種類	362			
4種類	76			
5種類	16			
6種類	1			
7種類	3			
反復配列の型				
2塩基		4,156		
3塩基		2,839		
プライマー設計可	2,710			72.1 ^e
供試			186	
PCR増幅 ^a				
可			138	74.2 ^f
不可			48	25.8 ^f
多型有り ^b			71	38.2 ^f
コムギ特異性有り ^c			24	12.9 ^f

a~c 3%アガロースゲル電気泳動によって検出した結果.

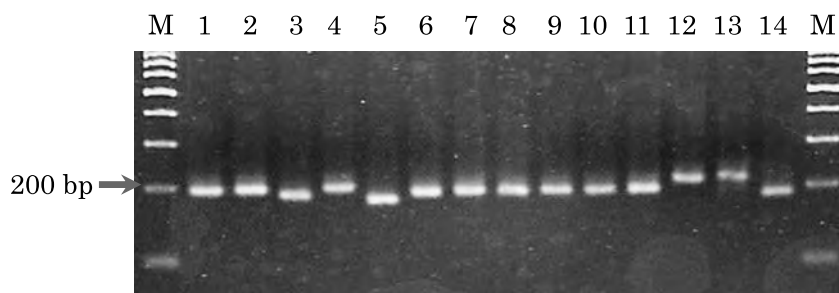
b コムギ14品種間で1品種以上に多型があったもの.

c 多型があったプライマーの中でコムギ特異性があったもの.

d UniGene数に対する割合.

e SSRを含むEST数に対する割合.

f 供試したプライマー数に対する割合.



第3図 EST-SSRマーカーTaSE3による増幅産物のアガロースゲル電気泳動図

M: 100 bp ladder marker; 1. チクゴイヅミ; 2. ふくさやか; 3. 春よ恋; 4. ハルユタカ;
5. ホクシン; 6. ネバリゴシ; 7. 小麦農林61号; 8. さぬきの夢2000; 9. シラサギコムギ;
10. シロガネコムギ; 11. タマイヅミ; 12. Calingiri; 13. Eradu; 14. Zak

ーフは10%程度であることが示されている^{10, 30}). 彼らは少なくとも合計12bpまたは14bpとなる繰り返し数のSSRを検出しているのに対して, 本節では2塩基モチーフにおいて繰り返し数が3回以上であるSSRを対象としているために異なる結果が生じたと考えられ, コムギのESTには繰り返し数6回以下

の2塩基モチーフのSSRが大量に含まれていることが示唆された.

検出されたSSRのうち, 72%についてプライマー設計が可能であったが, 8回以上の反復があるSSR, または2種類以上のSSRを含む場合は合計11回以上の反復を含むSSRであることを条件として186組の

第5表 開発された10組のEST-SSRマーカーの詳細

遺伝子座	プライマー配列 (5'-3')	アニーリング温度 (°C)	UniGene	CloneID	Accession No.	塩基数 (bp)	反復領域	増幅産物長 (bp)
<i>TaSE3</i>	フォワード CACCGATCGATCAACAAGTCAAAA	60	UniGene	CloneID	S12969134S	435	(ag)13	130
	リバース CATCATCATCGGTTCTTGGGA		EST	Accession No.	BJ286520	506	(ag)19	190
<i>TaSE6</i>	フォワード CCTAAGAGAGCTTGGCGTTCGTTCAT	60	UniGene	CloneID	S13163776S	377	(tgt)11	154
	リバース CACAAAGAAAAGAAAGACCCCTCATTTG		EST	Accession No.	CA637867	505	(tgt)15	214
<i>TaSE37</i>	フォワード ATCCGCTACGGAAGAAATACCACA	60	UniGene	CloneID	S12990001S	172	(aca)3, (ac)10	149
	リバース GTTGCTGGCCCTGCCATGTTTA		EST	Accession No.	BQ161628	232	(aca)3, (ac)10	149
<i>TaSE63</i>	フォワード CGTGTGCTCTCGCAGTTTCATAGT	60	UniGene	CloneID	S15880719S	449	(ta)3, (ag)7, (ag)4	224
	リバース CCTCGCCCTTCTAAATTAAGTCCGT		EST	Accession No.	CD454085	569	(ta)3, (ag)7, (ag)4	224
<i>TaSE92</i>	フォワード TCGCCGTACCCCTACCATACCATAC	60	UniGene	CloneID	S17888177S	899	(ct)3, (tct)6, (ta)4	285
	リバース AGCGGTTACAGTACGTCCATGTTG		EST	Accession No.	CK161286	899	(ct)3, (tct)6, (ta)4	285
<i>TaSE96</i>	フォワード TGGGACAAGTCCCTAGGTAAGACG	60	UniGene	CloneID	S12868242S	739	(tc)10, (ca)3, (gt)3	287
	リバース GTAGTCCGCCCCAGCCTCTACTTTT		EST	Accession No.	BF482277	739	(tc)10, (ca)3, (gt)3	287
<i>TaSE117</i>	フォワード CCACATAAAAATGCTGGACGCATA	60	UniGene	CloneID	S17884449S	697	(cca)8, (caa)3	161
	リバース GGGAGAAGCTCCAGAAAGGAAATCTC		EST	Accession No.	CK157595	877	(cca)8, (caa)3	161
<i>TaSE123</i>	フォワード TGTAGGAGTAGGAATCAGGGCTGC	60	UniGene	CloneID	S13140945S	413	(tct)10	188
	リバース GACCACCAGATCTTGGAGCAAACT		EST	Accession No.	CA615035	481	(tct)11	248
<i>TaSE149</i>	フォワード TCAAAGTCTTGCCATCTCTTCCC	60	UniGene	CloneID	S13183712S	443	(tc)8	152
	リバース TATGGCCCTTGCTGTAGCTTCACT		EST	Accession No.	CA657802	512	(tc)20	212
<i>TaSE151</i>	フォワード TGGTACGTTTACAGGTTCAATGG	50	UniGene	CloneID	S16222508S	727	(tg)8	164
	リバース TCTTATCAACCACACGCTTAAA		EST	Accession No.	CD894305	787	(tg)8	164

UniGene : read2Markerによるプライマー設計で使用された塩基配列。対象となる反復領域と増幅産物長を示す。
 EST : UniGeneと相同性のあるEST。UniGeneからread2Markerによって開発されたプライマーにより、ESTの塩基配列上で対象となる反復領域と増幅産物長を示す。

プライマー対を選定し、供試した。アニーリング温度が60°Cで良好な増幅が見られなかったプライマー対が72組あったため、グラジエントPCRに供試したところ、24組のプライマー対では最適なアニーリング温度を設定することで増幅産物を得ることが可能であった。増幅産物が得られた合計138組のプライマー対のうち、71組でコムギ14品種間の多型が検出され、そのうち24組でコムギゲノムへの特異性が確認された。EST-SSRマーカーはゲノムDNAから開発されたSSRマーカーと比較して多型性が乏しいことが指摘されている^{3, 6, 51, 54}。本節においては、供試した186個のEST-SSRのうち38.2%が多型が確認され、Torada *et al.*⁵⁴の結果とほぼ一致した。

再現性が良く、単一の増幅産物を生じるプライマー対を選抜し（第3図、一例）、最終的に、10組のEST-SSRマーカーを選定した（第5表）。また、58品種について調査した増幅産物長を第6表にまとめた。「read2Marker」によってUniGeneをもとに設計されたプライマーにより算出された増幅産物長

（第5表）と58品種から得られた増幅産物長（第6表）を比較すると、大きく異なる遺伝子座がいくつかあった。そこで、設計元のUniGeneと相同性のあるESTをデータベースDDBJによって検索し、実際の増幅産物の塩基配列と比較したところ、ESTの塩基配列と一致しており、目的の領域を増幅していることが確認された。TaSE3, 6, 123, 149ではUniGeneの塩基配列においてSSRの直近60塩基対が欠失しており、増幅産物長の差異の要因であることが確認された。

各品種3粒の遺伝子型を調査した結果、ほとんどの品種で種子間における遺伝子型の差異は見られなかったが、「ダイチノミノリ」および「Tyee」「Zak」ではいくつかの遺伝子座で種子間の分離が検出された（第7表）。そのため、これら3品種についてさらに6粒の調査を行ったところ、「Tyee」および「Zak」ではすべての遺伝子型が一致していたが、「ダイチノミノリ」では遺伝子座 TaSE37において、種子毎に2つの遺伝子型のいずれかが検出された。

第6表 10組のEST-SSRマーカーを用いたコムギ58品種間の遺伝子型数と増幅産物長

EST-SSR マーカー	遺伝子型数	増幅産物長 (bp)										
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	—
TaSE3	11	180	184	187	190	194	196	198	200	214	216	—
TaSE6	5	198	205	214	224	227						
TaSE37	4	143	151	154								—
TaSE63	4	230	261	263	267							
TaSE92	2	293	305									
TaSE96	4	295	313	315	317							
TaSE117	2	166	172									
TaSE123	7	258	267	282	285	288	291	297				
TaSE149	5	204	210	212	214	216						
TaSE151	3	173	175	177								

—；増幅なし

第7表 4組のEST-SSRマーカーによって検出されたコムギ品種内における種子間

No.	品種	TaSE3				TaSE6		TaSE37		TaSE96		遺伝子型数
		180	184	200	—	214	224	151	154	313	315	
7	ダイチノミノリ							b+5	a, c+1			2
54	Tyee	b			a, c+6	b, c+6	a			a, c	b+6	4
56	Zak		b+6	a, c								2

a, b, c は各1粒から抽出したDNAを示し、さらに6粒の追加調査を行った結果を「+数」で示す。

第8表 10組のEST-SSRマーカーを用いたコムギ58品種の遺伝子型カタログ

No.	品種	EST-SSRマーカー										
		TaSE	TaSE	TaSE	TaSE	TaSE	TaSE	TaSE	TaSE	TaSE	TaSE	
		3	6	37	63	92	96	117	123	149	151	
1	アブクマワセ	G	B	C	C	B	C	B	D	C	A	
2	アヤヒカリ	G	D	B	A	B	C	B	D	C	A	**
3	バンドウワセ	G	B	B	A	B	C	B	E	C	A	#
4	チホクコムギ	A	D	B	A	B	B	A	F	C	A	
5	チクゴイズミ	F	D	B	C	B	C	B	D	C	A	*
6	ダブル8号	F	B	—	A	B	C	B	D	B	C	
7	ダイチノミノリ	G	B	B ^{&}	C	B	C	B	D	C	A	\$
8	ふくほのか	F	D	B	C	B	C	B	D	C	A	*
9	ふくさやか	G	D	C	C	B	C	B	D	C	A	\$\$
10	春のかがやき	G	D	B	A	B	C	B	D	C	A	**
11	春よ恋	C	D	A	A	B	B	B	D	C	A	
12	ハルユタカ	H	A	C	A	B	C	B	D	C	A	
13	ホクシン	A	D	B	A	A	B	B	F	D	A	
14	ホロシリコムギ	G	B	C	A	B	B	A	F	C	A	
15	イワイノダイチ	G	B	C	A	B	C	B	D	C	B	
16	きぬあずま	F	D	B	C	B	C	B	D	C	A	*
17	キヌヒメ	G	B	B	C	B	C	B	D	C	A	\$
18	きぬいろは	G	D	B	A	B	C	B	D	C	A	**
19	きぬの波	G	D	B	C	B	C	B	E	C	A	
20	キタカミコムギ	B	D	C	B	B	B	A	E	C	A	
21	きたもえ	G	D	B	A	A	B	B	B	D	A	
22	キタノカオリ	G	B	C	A	B	B	A	G	B	A	
23	コユキコムギ	E	B	—	A	B	C	B	C	C	C	
24	ミナミノカオリ	G	B	A	A	B	C	B	D	C	A	
25	ナンブコムギ	A	B	B	A	B	B	B	F	C	A	
26	ネバリゴシ	E	D	B	A	B	B	B	D	C	A	
27	ニシホナミ	F	D	B	C	B	C	B	D	C	A	*
28	ニシノカオリ	G	B	A	C	B	C	B	D	C	B	
29	小麦農林26号	G	D	C	C	B	C	B	D	C	A	\$\$
30	小麦農林61号	G	B	C	C	B	A	B	D	C	A	
31	さぬきの夢2000	F	D	B	A	B	C	B	E	C	A	
32	シラネコムギ	F	B	—	A	B	C	B	D	C	C	
33	シラサギコムギ	G	D	C	C	B	C	B	D	C	A	\$\$
34	シロガネコムギ	G	B	B	C	B	C	B	D	C	A	\$
35	しゅんよう	G	C	C	B	B	C	B	B	C	B	
36	タイセツコムギ	A	B	C	A	A	B	A	F	C	A	
37	タクネコムギ	A	B	B	A	B	B	B	D	C	C	
38	タマイズミ	G	B	B	A	B	C	B	E	C	A	#
39	つるびかり	F	B	B	A	B	C	B	E	C	A	
40	ゆきちから	A	B	B	A	B	C	B	D	C	C	
41	ユメアサヒ	B	E	A	C	A	B	B	A	C	A	
42	Aroona	B	B	A	A	B	D	B	D	C	A	
43	Arrino	J	E	B	D	B	C	B	D	B	A	
44	Cadoux	H	E	—	A	B	B	B	D	D	C	
45	Calingiri	I	D	A	A	B	B	A	D	D	A	
46	Eradu	J	E	A	D	B	C	B	D	B	A	
47	Alturas	H	C	C	A	B	B	B	G	C	C	
48	Eden	H	B	A	A	B	C	B	D	D	C	
49	Eltan	D	C	A	A	B	B	A	C	E	C	
50	Hyak	A	C	C	A	B	C	A	E	D	A	
51	Jagger	G	A	B	B	B	C	—	A	C	A	
52	Jubilee	H	D	A	A	B	B	B	C	D	A	##
53	Lewjiain	—	C	A	A	B	B	A	C	E	C	
54	Tyee	— ^{&}	C ^{&}	C	B	B	B ^{&}	A	E	D	A	
55	White Bird	H	D	A	A	B	B	B	C	D	A	##
56	Zak	B ^{&}	C	C	A	B	D	B	D	A	A	
57	AC Barrie	J	B	A	A	B	C	A	G	B	A	
58	CDC Teal	G	B	A	B	B	B	B	D	B	A	

& 品種内で多型があったものを示す (第7表参照).

A~Jは、第6表に記載したそれぞれのマーカーの増幅産物長の種類を示す.

表外の同記号のものは同じ遺伝子型を示す.

42~46: オーストラリア品種; 47~56: アメリカ品種; 57, 58: カナダ品種

これらの結果から、供試した3品種の種子については品種内多型が生じていたものと推測された。

10組のEST-SSRマーカーによって決定された国内外58品種の遺伝子型を第6表に示したアルファベットで表し、10個のアルファベットの組合せによって品種を識別した(第8表)。国内品種と国外品種は識別でき、国内41品種では26品種を個別に識別可能で、残りの15品種は5つのグループに識別できた。国内生産量が多い「ホクシン」や「小麦農林61号」、需要の多い「さぬきの夢2000」や「春よ恋」は個別に識別可能であった。TaSE3の遺伝子型C、EおよびFは国内品種に特有の遺伝子型であり、とりわけ遺伝子型Cは主要パン用品種「春よ恋」に特異的であった。また、「小麦農林61号」はTaSE96において特異的な遺伝子型Aを示し、TaSE92の遺伝子型A、TaSE123の遺伝子型B、FおよびTaSE151の遺伝子型Bもまた、国内品種に特有の遺伝子型であった。一方、TaSE3の遺伝子型D、IおよびJは国外5品種のみに見出され、TaSE63の遺伝子型Dはオーストラリア品種に特有であった。また、TaSE149の遺伝子型A、Eはアメリカの3品種のみに示された。これら国外品種特有の遺伝子型は、

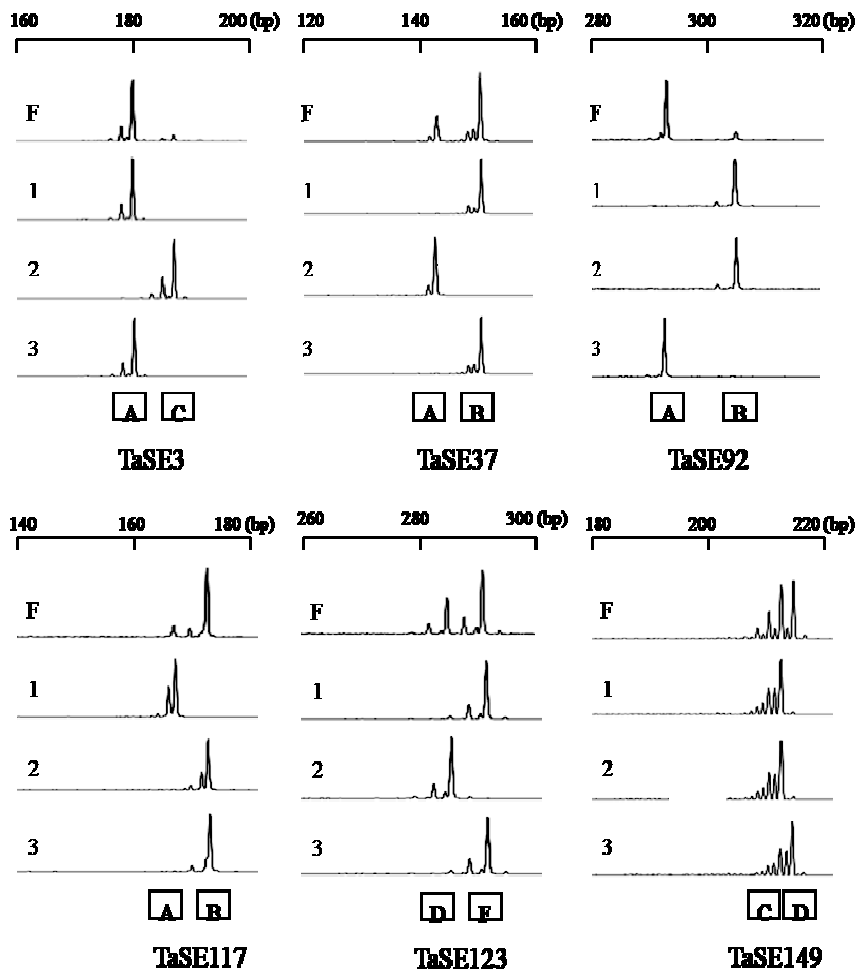
「国産コムギ100%使用」と表示された加工食品の真偽確認に利用できる可能性があると考えられた。

4種類の市販加工食品の原料コムギ品種の識別を行った(第9表)。小麦粉では表示通りに「さぬきの夢2000」の遺伝子型とすべて一致した。国産コムギを使用したクッキーは、「ホクシン」の遺伝子型を示し、ゆでうどんでは表示された「チクゴイズミ」の遺伝子型を示した。国産コムギを使用したパンでは7つの遺伝子座で複数の遺伝子型が検出され、それらの組合せから「チホクコムギ」や「ホクシン」「春よ恋」の遺伝子型が同定された。複数品種が検出されたパンについて、GeneMapperによる解析図から「ホクシン」の増幅産物量は「チホクコムギ」「春よ恋」に比較して多く含まれる傾向が見られた(第4図)。一方、クッキーやゆでうどん、パンでは品種を同定することができない遺伝子型が「MixAssort」により「Unsolved」として検出された。明確な識別結果が得られた小麦粉の原料品種「さぬきの夢2000」は、2003年に品種登録されて以来、香川県内でのみ栽培されていることから、遺伝的に高い純度が保たれてきたと推測される。しかしながら、「チクゴイズミ」や「ホクシン」「春よ恋」

第9表 10組のEST-SSRマーカーおよびMixAssortを用いた市販加工食品におけるコムギ品種の識別

加工食品および品種	EST-SSRマーカー									
	TaSE 3	TaSE 6	TaSE 37	TaSE 63	TaSE 92	TaSE 96	TaSE 117	TaSE 123	TaSE 149	TaSE 151
1 小麦粉 (さぬきの夢2000)	F	D	B	A	B	C	B	E	C	A
さぬきの夢2000	F	D	B	A	B	C	B	E	C	A
2 クッキー (国産コムギ)	A	D	B	A	A	B	A, B	F	D	A
ホクシン	A	D	B	A	A	B	B	F	D	A
Unsolved							A			
3 ゆでうどん (チクゴイズミ)	F	B, D	A, B	A, C	B	C	A, B	D	C	A
きぬあずま	F	D	B	C	B	C	B	D	C	A *
チクゴイズミ	F	D	B	C	B	C	B	D	C	A *
ニシホナミ	F	D	B	C	B	C	B	D	C	A *
ふくほのか	F	D	B	C	B	C	B	D	C	A *
Unsolved		B	A	A			A			
4 パン (国産コムギ)	A, C	A, D	A, B	A	A, B	B	A, B	D, F	C, D	A
チホクコムギ	A	D	B	A	B	B	A	F	C	A
春よ恋	C	D	A	A	B	B	B	D	C	A
ホクシン	A	D	B	A	A	B	B	F	D	A
Unsolved		A								

*を付した品種は同じ遺伝子型を示す。



第4図 6組のEST-SSRマーカを用いたPCR増幅パターン

F. パン (国産コムギ使用)；1. チクゴイズミ (種子)；2. 春よ恋 (種子)；3. ホクシン (種子)

は広域で栽培されていることから栽培地によって遺伝的な分離と固定が生じ、同定され得ない遺伝子型が検出される要因となった可能性がある。開発したマーカーによる品種内多型の有無を調査し、識別能力を明らかにする必要があると考えられた。

2 国内品種の品種内多型の評価

DNA品種識別技術検討会において定められたガイドライン⁴⁾では、「品種を特徴づける塩基配列は、単に品種間で相違があればよいだけでなく、品種内の各個体間で一致することが確認されている領域を品種識別の根拠とすべきである」としており、DNAマーカーによって検出される遺伝子型の均一性は不可欠な要素である。本節では、Ⅲ-1節において開発したEST-SSRマーカーによる品種識別技術の識別能力を調べるため、都道府県において維持管

理されている原種または原原種を用いて品種内多型の有無を調査した。また、SSRマーカーの設計元であるESTについて、データベースを利用して相同性のある塩基配列の検索を行い、他の植物種での同祖的な遺伝子の有無について考察した。

1) 材料および方法

水陸稲・麦類・大豆奨励品種特性表³³⁾に記載されている各都道府県のコムギの奨励品種を参考に、複数の都道府県で奨励されている15品種を対象とした(第10表)。奨励品種として採用している全26府県(青森, 秋田, 岩手, 宮城, 福島, 栃木, 茨城, 群馬, 埼玉, 千葉, 長野, 静岡, 愛知, 岐阜, 三重, 滋賀, 京都, 兵庫, 山口, 徳島, 香川, 福岡, 佐賀, 長崎, 大分, 熊本)から各品種5g以上の近年産の原種(入手困難な場合は原原種)を収集した。

第10表 供試品種およびそれらを奨励品種として採用する府県数 (2007年時点)

品種名	育成年次	育成地	奨励品種採用 府県数
あやひかり	1999	農業研究センター (現 作物研究所)	2
イワイノダイチ	1999	九州農業試験場 (現 九州沖縄農業研究センター)	5
キタカミコムギ	1959	東北農業試験場 (現 東北農業研究センター)	2
きぬの波	2001	群馬県農業技術センター	2
シラネコムギ	1986	長野県農業試験場	2
シロガネコムギ	1974	九州農業試験場 (現 九州沖縄農業研究センター)	5
タマイズミ	2002	作物研究所	3
チクゴイズミ	1993	九州農業試験場 (現 九州沖縄農業研究センター)	7
ナンブコムギ	1951	盛岡農事改良実験所 (現 東北農業研究センター)	2
ニシノカオリ	1999	九州農業試験場 (現 九州沖縄農業研究センター)	6
ネバリゴシ	2000	東北農業試験場 (現 東北農業研究センター)	3
小麦農林61号	1944	佐賀県農業試験場	12
ふくさやか	2002	近畿中国四国農業研究センター	2
ミナミノカオリ	2003	九州沖縄農業研究センター	3
ゆきちから	2003	東北農業研究センター	3

第11表 10組のEST-SSRマーカーによるコムギ15品種の遺伝子型カタログ

品種	TaSE3	TaSE6	TaSE37	TaSE63	TaSE92	TaSE96	TaSE117	TaSE123	TaSE149	TaSE151
あやひかり	G	D	B	A	B	C	B	D	C	A
イワイノダイチ	G	B	C	A	B	C	B	D	C	B
キタカミコムギ	B	D	C	B	B	B	A	E	C	A
きぬの波	G	D	B	C	B	C	B	E	C	A
シラネコムギ	F	B	—	A	B	C	B	D	C	C
シロガネコムギ	G	B	B	C	B	C	B	D	C	A
タマイズミ	G	B	B	A	B	C	B	E	C	A
チクゴイズミ	F	D	B	C	B	C	B	D	C	A
ナンブコムギ	A	B	B	A	B	B	B	F	C	A
ニシノカオリ	G	B	A	C	B	C	B	D	C	B
ネバリゴシ	E	D	B	A	B	B	B	D	C	A
小麦農林61号	G	B	C	C	B	A	B	D	C	A
ふくさやか	G	D	C	C	B	C	B	D	C	A
ミナミノカオリ	G	B	A	A	B	C	B	D	C	A
ゆきちから	A	B	B	A	B	C	B	D	C	C

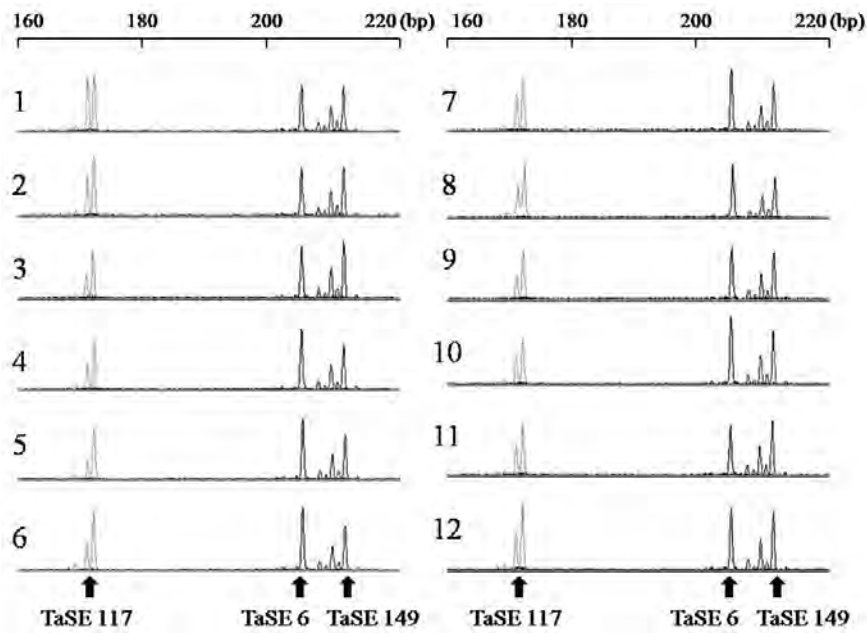
DNAの抽出は、DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN) を一部改変して行った。種子各1粒をMicro Smash MS-100R (トミー精工) を用いて粉砕し、buffer AP1を400ml および RNase A を4 μ l 加えて55°Cで15分間保温した。続いて Proteinase K を4 μ l 加えて55°Cで15分間保温した後、添付のマニュアルに従ってDNAを精製、分離し、TEを用いて100 μ lの溶出液を回収した。各品種・産地につき、3粒のそれぞれから (①, ②, ③), また、別の3粒をまとめてDNAを抽出した (④)。PCR反応およ

び増幅産物の解析は前節と同様に行った。

塩基配列の比較は、EST-SSRマーカーの設計元であるEST配列を質問配列としてBLASTN検索によって行い、期待値が e^{-40} 以下を示した塩基配列を抽出した。

2) 結果および考察

15品種のうち14品種では、供試した種子の遺伝子型はすべて遺伝子型カタログ (第11表) と一致し、品種内多型や種子間の分離は検出されなかった。奨



第5図 小麦農林61号におけるTaSE6, 117, 149のPCR増幅パターン

1. 千葉県産；2. 茨城県産；3. 栃木県産；4. 埼玉県産；5. 群馬県産；6. 愛知県産；
7. 岐阜県産；8. 滋賀県産；9. 京都県産；10. 山口県産；11. 福岡県産；12. 大分県産

励品種としての採用府県が最も多い「小麦農林61号」について、GeneMapperによる増幅パターンの一部を第5図に示した。「小麦農林61号」を含む14品種において、いずれの種子でも同様の増幅パターンを示しており、差異は確認されなかった。1品種については1取り寄せ先に由来する原種のみ、TaSE96の遺伝子型のばらつきが見られ、遺伝子型BまたはCが検出された。そこで、さらに原原種6系統の提供を受け、同様に調査したところ、TaSE96を除く遺伝子型はすべて遺伝子型カタログと一致しており、TaSE96では5系統が遺伝子型Bを示し、遺伝子型Cを示す系統は1系統のみであった(第12表)。

西尾ら³¹⁾は、1944年に育成された「小麦農林61号」を奨励品種とする県から種子の提供を受け、採種地間の形質変異を調査したところ、いくつかの形質では表現型や遺伝子型に有意な差があることを示した。しかし、すべて通常の観察では見出すことが困難な微小な変異であり、原原種、原種の維持管理において周到な配慮がなされ、主働遺伝子による変異は異常個体として排除されてきたものと考えられている。また、小林ら¹⁷⁾はRAPD法を用いて、「小麦農林61号」において採種地間でDNAレベルの変異が生じていることを明らかにし、西尾らによって

第12表 1品種1府県に由来する原種および原原種のTaSE96の遺伝子型

	DNA			
	①	②	③	④
原種	B	C	B	BC
系統 1	B	B	B	B
系統 2	C	C	C	C
原原種 系統 3	B	B	B	B
系統 4	B	B	B	B
系統 5	B	B	B	B
系統 6	B	B	B	B

①, ②, ③はそれぞれ種子1粒から、④は種子3粒をまとめて抽出したDNAである。

確認された変異の存在を実証した。このことから、長期にわたり維持される品種において微小なゲノムの変動は避けられないものとして存在することが示唆される。本節では、26の府県から取り寄せたコムギ15品種の原種または原原種(59組合せ)の中で、1取り寄せ先に由来する1品種を除き、すべて3-1節で作成した遺伝子型カタログと相違ないことが確認された。特に、最も長期にわたり広域で栽培されている「小麦農林61号」において品種内多型が確認されなかったことは、西尾ら³¹⁾によって示され

た各所における適切な種子の維持管理の状況を実証する一方で、これらのマーカーによって検出されるDNA領域の均一性や長期にわたる不変性を証明するものと考えられる。また、1品種に見られたTaSE96の遺伝子型の変異は、原原種の追加調査によって特定の系統に固定された変異であることが示された。原原種はほとんどの場合、各所において複数の系統が維持されている。本調査は、共優性マーカーであるSSRを利用し、59の品種・採種地の組合せすべてについてTaSE96の遺伝子型を調べており、今回判明したTaSE96の遺伝子型の変異は極め

て稀なものであったと推測される。

10組のマーカーの設計元であるEST配列と同一性を示す遺伝子を検索したところ、TaSE3, 92, 117, 123, 151のESTにおいて条件を満たす相同配列があった。すべてのESTでコムギヤイネ、トウモロコシのcDNA配列と高い同一性を示すものが検出されたが、そのうち予想される機能を示した相同配列について第13表に示した。TaSE151を除く4つのESTではすべてZea maysの塩基配列との同一性が検出された。TaSE3では、240~485bpの領域においてVAMP protein SEC22 (EU968778, EU967361)の

第13表 BLASTを用いた10個のEST配列の同一性検索の結果

遺伝子座	Accession No.	塩基数 (bp)	反復領域	bit score	期待値	予測される機能	植物種
TaSE3	BJ286520	506	(ag)19	203	9.00E-49	VAMP protein SEC22	Zea mays
TaSE6	CA637867	505	(tgt)15	—	—	—	—
TaSE37	BQ161628	232	(aca)3, (ac)10	—	—	—	—
TaSE63	CD454085	569	(ta)3, (ag)7, (ag)4	—	—	—	—
TaSE92	CK161286	899	(ct)3, (tct)6, (ta)4	387	7.00E-104	pectate lyase	Zea mays
TaSE96	BF482277	739	(tc)10, (ca)3, (gt)3	—	—	—	—
TaSE117	CK157595	877	(cca)8, (caa)3	464	3.00E-127	beta 1,3 galactosyltransferase	Zea mays
TaSE123	CA615035	481	(tct)11	183	8.00E-43	SAUR25-auxin-responsive SAUR family member	Zea mays
TaSE149	CA657802	512	(tc)20	—	—	—	—
TaSE151	CD894305	787	(tg)8	219	2.00E-53	alpha-1,2-fucosidase	Lilium longiflorum



第6図 EST (BJ286520) におけるTaSE3の検出領域 および他植物との同一性が検出された領域 (EU968778, Zea mays)

塩基配列と相同性があった(第6図)。TaSE92では、13~544bpにおいてpectate lyase (NM_001157251)を生じる塩基配列との高い相同性があった。TaSE117では、351~867bp領域においてbeta 1,3 galactosyltransferase (NM_001157513)、TaSE123では、1~269bp領域においてSAUR25-auxin-responsive SAUR family member (NM_001153763)との相同性があった。TaSE151では、40~541bp領域において*Lilium longiflorum*のalpha-1,2-fucosidaseとしての機能が予測されるLifuc遺伝子(AB326211)と一部、相同性があった。また、品種識別マーカーとして設計されたフォワードおよびリバースプライマーの塩基配列は、コムギ以外の植物では、完全に一致する配列や類似した配列はなかった。

これら5つのESTで見出されたオルソログ候補が、実際にどのような形質に影響しているか、また、実際に多型が形質の品種間差異として現れているかは未知である。しかし、将来的に遺伝子の機能解析が進めば、コムギ品種間で多くの多型が検出されたこれらのDNA領域が品種識別の用途以外においても有用なマーカーとして利用できる可能性がある。また、相同性のある遺伝子が見出されなかった5つのESTについては、これまでにデータベースに登録されているESTの中ではコムギに特異的な塩基配列であることが示された。品種識別マーカーの開発にあたっては、コムギに由来するDNAのみで増幅産物が得られるようにプライマーを選抜してきたた

め、これらのマーカーはオルソログ候補が検出されなかった、あるいは候補があった場合でもプライマーを設計した位置に相同性がなかったと考えられ、加工食品における品種識別に有効であると考えられる。すなわち、コムギ以外に由来するDNAが含まれる食品からの品種識別において、実用的に利用できるマーカーであることが証明された。

3 国産コムギと輸入コムギの識別

輸入コムギは、No. 1 Canada Western Red Spring (1CW) や、Australian Standard White (ASW)、Dark Northern Spring (DNS)、Hard Red Winter (HRW)、Western White (WW) などの名称で呼ばれる銘柄の形で、主にカナダ、アメリカ、オーストラリアから輸入されている。これらは加工用途に応じて品質を最適化するために複数の品種がブレンドされているが、その構成は明らかではなく、年度によって構成品種やブレンド比率が変動することもある。Ⅲ-1節において作成した遺伝子型カタログでは、輸入銘柄(ASW, WW, HRW, 1CW)を構成すると考えられている主要17品種の中に、4組のマーカー(TaSE3, 63, 96, 149)によって国内品種にはない遺伝子型を示すものが確認された(第14表)。構成品種の変動に伴う銘柄において、これらの特徴的な遺伝子型を安定的に検出できる場合、国産コムギを100%使用した加工食品の真偽を確認するための簡易識別法になり得ると考えら

第14表 10組のEST-SSRマーカーを用いたコムギ58品種間の遺伝子型数と増幅産物長

EST-SSR マーカー	遺伝子型数	増幅産物長 (bp)										
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	-
TaSE3	11	180	184	187	190	194	196	198	200	214	216	-
TaSE6	5	198	205	214	224	227						
TaSE37	4	143	151	154								-
TaSE63	4	230	261	263	267							
TaSE92	2	293	305									
TaSE96	4	295	313	315	317							
TaSE117	2	166	172									
TaSE123	7	258	267	282	285	288	291	297				
TaSE149	5	204	210	212	214	216						
TaSE151	3	173	175	177								

- ; 増幅なし

斜字で示した増幅産物長は国外品種特有であることを示す。

れる。本節では、複数年度の5種類の輸入銘柄を対象として遺伝子型の調査を行い、国産コムギと輸入コムギの効率的な識別法について検討した。

1) 材料および方法

輸入銘柄(輸入年度)は、1CW(2006, 2007), ASW(2005, 2006, 2007), DNS(2006, 2007), HRW(2006, 2007), WW(2007)を使用した。各10gの種子をマルチビーズショッカー(安井器械)によって粉碎し、そのうち1gを計量してⅢ-1節に示した改変CTAB法をスケールアップした方法によりDNAを抽出した。

また、ASW(2005, 2006), DNS(2006), HRW(2006), WW(2005, 2006)をビューラーテストミルによって製粉した小麦粉を用いて、各1gからDNAを抽出し供試した。

DNAの抽出は各サンプル3反復行った。

PCR反応は、Ⅲ-1節で開発された10組のEST-SSRマーカーを用い、前節と同様に行った。なお、供試材料はすべて農林水産省総合食料局食糧部から無償で譲渡いただいたものを使用した。

2) 結果および考察

すべての供試材料において、同一サンプルから3反復抽出したDNAの間では再現性のある結果が得られており、複数品種を含む銘柄から各品種の構成

割合に応じてほぼ均一なDNA溶液が得られていると推測された。また、ASW(2006), WW(2005, 2006)を除き、種子由来および小麦粉由来の結果で差異は見られなかったため、サンプリングの方法の違いに基づく結果の変動は小さいと考えられた。ASW(2006)の小麦粉では、種子由来および2005年度の結果と大きく異なっていたことから、保管時および製粉作業時などに生じた何らかの事故により、正確な結果が得られなかったと考えられた。いずれの銘柄においても各マーカーにつき複数の遺伝子型が検出されており、年度の異なるサンプル間で一部異なる遺伝子型を示した(第15表)。HRWではTaSE3やTaSE123の遺伝子型が年度間で大きく異なり、構成品種やブレンド比率の大幅な変更に起因すると考えられた。

TaSE63, 96, 149における国外品種特有の遺伝子型(TaSE63: D, TaSE96: D, TaSE149: A, E)については、複数年度にわたって検出されない場合があった(第15表)。また、複数品種から構成される銘柄の状態では主要な遺伝子型としては検出されず、明確な識別が困難な場合もあったことから、安定的な指標としては利用できないものと考えられた。一方、TaSE3では、国外品種特有の遺伝子型を複数年度にわたり、安定的に検出することが可能であった。ASWでは遺伝子型I, 1CWおよびDNSでは遺伝子型J, また、WWでは58品種間では確認

第15表 5種類の輸入小麦銘柄におけるEST-SSRマーカーの遺伝子型

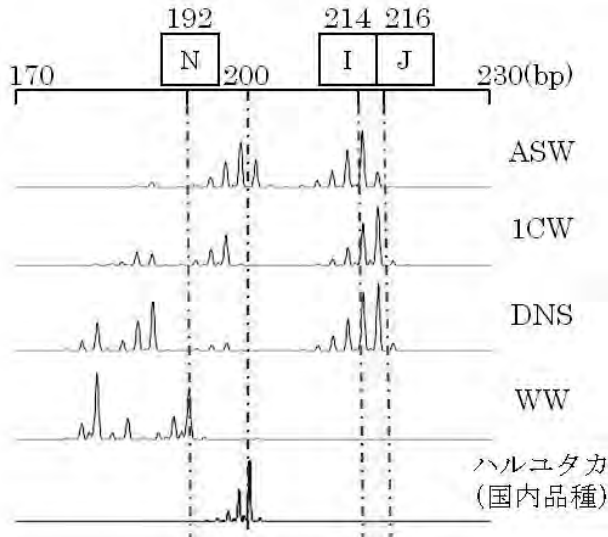
輸入銘柄	輸入年度	EST-SSRマーカー									
		TaSE3	TaSE6	TaSE37	TaSE63	TaSE92	TaSE96	TaSE117	TaSE123	TaSE149	TaSE151
1CW	2006	A B C F J	B D	A B	A D	B	B	A B	D G	B C	A C
	2007	A B C F J	B D	A B	A C D	B	B	A	D G	B C	A C
ASW	2005	C G H I	B D E	A B C	A D	B	B C	A B	D	B C D	A C
	2006	B E G H I	B D E	A B C	A D	B	B C	A B	D	B C D	A C
	2007	C G H I	B D E	A B C	A D	B	B C D	A B	D	B C D	A C
DNS	2006	C E F J	B D	A B C	A C D	A B	B	A B	D G	B C	A C
	2007	A C F J	B C D E	A B C	A C D	A B	B	A	D G	B C D E	A C
HRW	2006	A C	A B C D E	A B C	A B	A B	B	A B	B D E	B C D E	A C
	2007	B C G	A B C D	A B C	A B	A B	B	A B	A N D E	B C D E	A C
WW	2005	A N	A B C D	A B C	A B	B	B	A B	A C D F	C D E	A C
	2006	A N	A B C D	A B C	A B D	B	B	A B	A C D	C D E	A C
	2007	A B N	A B C D	A B C	A B D	B	B	A	A B C D E	C D E	A C

斜字で示した遺伝子型は国外品種特有であることを示す。

A~Jは、第14表に記載したそれぞれのマーカーの増幅産物長の種類を示し、Nは新規の遺伝子型を示す。

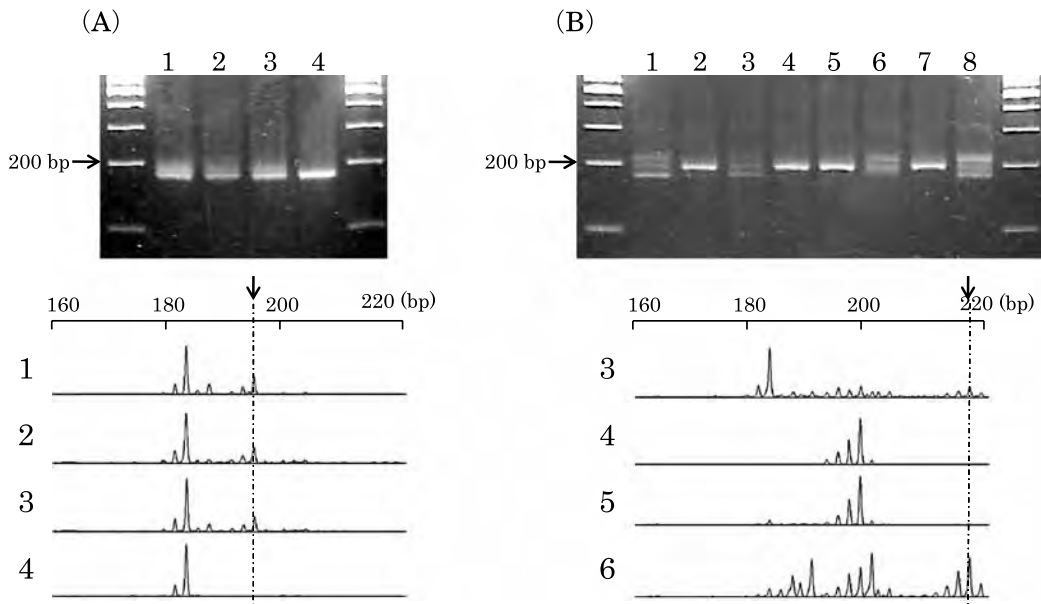
されていない新しい遺伝子型Nがすべての年度において主要な遺伝子型として検出された（第7図）。

複数品種から構成される銘柄では、DNAマーカーを利用してジェノタイピングを行った場合、1組のマーカーで複数の遺伝子型を検出することは容易



第7図 4種類の輸入小麦銘柄および国内品種におけるEST-SSRマーカーTaSE 3の増幅パターン

に予想される。しかし、構成品種やブレンド比率の年度間変動についての情報は不明であるため、検出される遺伝子型の変動は予測できない。本節の結果から、銘柄の状態であっても再現性よく複数の遺伝子型を検出することが可能であることが示された。また、輸入年度によって一部遺伝子型の変動は見られたものの、大幅な変動は少なかったことから、各銘柄の主要品種の遺伝子型を安定的に検出できると考えられた。TaSE3は、1CW、ASW、DNS、WWにおいて検出される各主要品種の遺伝子型が国外品種に特徴的なものであるため、国産コムギを使用した食品に混入しているか否かを簡易に識別するための指標として有効に利用できるものと考えられた。実際に市販の菓子類でのDNAシーケンサーを用いた詳細な解析によって、菓子類の原料として多用されるWWの遺伝子型N（192bp）を検出することが可能であった（第8図A）。また、めん類の原料に用いられるASWの遺伝子型I（214bp）について、市販のめん類から検出することができた（第8図B）。TaSE3において、国内品種で検出される最長の増幅断片は200bpであることから（第7図）、簡易



第8図 市販加工食品のEST-SSRマーカーTaSE 3によるPCR増幅パターン（上図：アガロースゲル電気泳動図；下図：GeneMapperによる解析図）

- (A) 菓子類 1. クッキーA；2. クッキーB；3. クッキーC；4. クッキーD（国産小麦100%）
- (B) めん類 1. ゆでうどんA；2. ゆでうどんB（チクゴイヰミ100%）；3. ゆでうどんC；4. ゆでうどんD（さぬきの夢2000 100%）；5. 乾麺A（さぬきの夢2000 100%）；6. 半生麺；7. 乾麺B（国産小麦100%）；8. そうめん

検出法であるアガロースゲル電気泳動を利用して容易に国産コムギと識別することも可能である。但し、構成品種の変動可能性を考慮して、毎年度、輸入される銘柄の遺伝子型の確認が必要である。

IV SNPマーカーを用いたコムギ品種識別技術

1 コムギの遺伝子領域におけるSNPの探索

SNP (Single nucleotide polymorphism) はDNA上の塩基種の違いのことを表し、広義には挿入欠変異 (Insertion/Deletion: InDel) やSSRを含むと考えられる。これらのDNA上の差異が直接的または間接的に遺伝子の機能に影響を与えていることは近年の研究によって徐々に明らかにされてきており、遺伝子上のSNPの解析は遺伝子の機能解明や有用遺伝子の同定につながることから、重要な情報となり得る。それらは品種育成における選抜マーカーとして利用されることが多いが、一方では近縁品種間にも存在し得るために品種識別に対して大きな効果を持つと考えられる。本節では、特定品種を簡易かつ迅速に識別する技術を開発するための基盤として、現在の主要品種を対象とし、各種遺伝子領域におけるSNPを探索することで、多型情報の蓄積を行った。

1) 材料および方法

SNPの探索には、「Calingiri」, 「チクゴイズミ」, 「ふくさやか」, 「春よ恋」, 「ホクシン」, 「小麦農林61号」, 「さぬきの夢2000」, 「シラサギコムギ」の8品種を供試した。(独)農研機構・近畿中国四国農業研究センターで維持管理されている種子を用い、DNAはⅢ-2節と同様に DNeasy Plant Mini Kit を利用して種子3粒からまとめて抽出した。

DDBJ (<http://arsa.ddbj.nig.ac.jp/top-j.html>) において、*Triticum aestivum* L. (complete cds) について登録されている遺伝子を検索した。その中から任意に選択した遺伝子の塩基配列を利用し、Primer3 (<http://frodo.wi.mit.edu/primer3/>) によってTm値57~63℃、最適プライマー長20bp、増幅領域の長さ400~1400bp または 2500~3000bp に設定してシーケンスのためのプライマーを設計した。対象とした遺伝子領域は、sucrose 1-fructosyltransferase (1-SST), histon H1, histon H2A, histon H2B123, histon H2B153, wMAD2-A1, resistance-related receptor-like kinase (RLK-R1) (accession no. DQ270234) の7つであり、各領域に設計されたプライマー配列を第16表に示した。

PCR反応は、4pmol primer set, 0.4mM dNTPs, 1×PCR Buffer II (2.5mM Mg²⁺), 0.4units LA *Taq* DNA polymerase (Takara Bio), または4pmol

第16表 各遺伝子領域に設計されたプライマー配列

遺伝子名	フォワードプライマー (5'→3')	リバースプライマー (5'→3')
1-SST	1F CCAAGGACCTCATTCCTACTGG	1R GATTGGTGCAATGTGTTTGC
	2F CTTGGGTGGGGTAGATCCTT	2R GAGGCCCTTGGACACATAGA
	3F CAGTCGATTCCGAGGACAGT	3R TCGACGACTACCAAGTCATCAT
histon H1	1F GTGTGACAACCCAAATGCAG	1R ATGGCTCTCGCTGTTTGTTC
histon H2A	1F AGTCGACCACGACCCAAG	1R TTCACTCTTACAGCGCATGA
	2F CGCTCCATTTTCATCTCACA	2R GGTGCTAGATCGGAATGCTC
	3F GCACCCAAGCAAATCAACTT	3R AGCTCCAGCACCTGAGATTC
	4F CGTCGCCGAGAAGTAGTAG	4R CAGCACAGGAAGCAAGGATT
histon H2B123	1F GTCGACCTGTCCACAACAGA	1R TGCTGGGGATTTTTAAGTGG
	2F CCACCGTCCATATCCTAAA	2R TGGTGGCGATCTAATACACG
	3F GCCAAGAAGAGCAACGAGAC	3R AATGAAGAGGGGAAGGAGGA
histon H2B153	1F CGTCGCTAGGTGGTTTATGG	1R GGGATCAAAGCAAGAACTCG
	2F AACAAAGAGCCACCATCAC	2R GCAAAGACACAGAGCGAGTG
	3F AACAGGCGGCTTCAGTTAGA	3R TCTCTTTCAGAAAAGGCCAGA
wMAD2-A1	1F AGAGAGAGCGCGAAGAAGG	1R GGAATTTAGGACTGAATCGGATG
	2F GAAGGATAAGCATTAAAGCAAAGC	2R AACAGTACAGGTTTTGGTAGACG
RLK-R1	1F TTAAGTTCGCATAGCGCTCCT	1R GGTCCACTGCCTTCACATCT

primer set, 0.2mM dNTP, 1mM Mg²⁺, 1 unit PrimeSTAR HS DNA polymerase (Takara Bio) に40ng DNAを加えた20 μ l溶液中で行った。PCR反応にはTaKaRa PCR Thermal Cycler Dice (Takara Bio) を用い、反応条件は94°C 1分間, (94°C30秒間, 57~66°C30秒間, 72°C30~180秒間) \times 30サイクル, 72°C 7分間 (LA Taq DNA polymerase使用時), または, (98°C10秒間, 57°C 5秒間, 72°C30~180秒間) \times 30サイクル (PrimeSTAR HS DNA polymerase使用時) とした。増幅産物は0.8%アガロースゲルを用いて電気泳動を行い、バンドを確認した後、MinElute Gel Extraction Kit (QIAGEN) を用いてゲルから回収、精製した。その後、BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (ABI) を用いてシーケンス反応を行い、3130xl Genetic Analyzer (ABI) によって解析した。DNASIS proソフトウェア (HitachiSoft) を用いて8品種の塩基配列を比較し、SNPの有無を調査した。

2) 結果および考察

7つの遺伝子領域 1-SST, histon H1, histon H2A, histon H2B123, histon H2B153, wMAD2-A1, RLK-R1を対象として8品種の塩基配列を解析し、RLK-R1を除く6遺伝子領域の結果を第17表に示した。計16682bpの塩基配列を対象としたが、解読できた領域は12997bpであった。コムギは異質倍数体 (AABBDD)²⁰⁾ として知られ、wMAD2¹⁵⁾ やWknox1 (KN1 homeobox)²⁵⁾, TaDFR (dihydroflavonol-4-reductase)¹³⁾ のように、3組のゲノム間で同祖遺伝子を持つ場合がある。ダイレクトシーケンスを行った場合に、複数の類似した塩基配列が存在する

ために解読が困難になる領域があり、対象としたすべての塩基配列を明瞭に決定できなかったが、解読できた領域12997bpにおいて合計169bpの塩基対の挿入や欠失、置換を検出することができた。また、RLK-R1では一部、解読することが可能であったが、品種間で塩基配列の差異が非常に多く、広範囲の挿入・欠失領域や高頻度の塩基置換のためにそれらの変異を正確に把握することが困難であった。

histon H2Aでは合計137bpと最も多くの変異が検出されたが、そのほとんどはイントロン領域に存在した。histon H2B123および153, wMAD2-A1においてもエクソン領域と比較してイントロン領域の変異が同量、または多い傾向があった。一方、1-SSTでは、エクソン領域にのみ変異が検出された。histon H1では8品種の塩基配列はすべて同じであった。

2品種間におけるSNP数と多型率を第18表に示した。「ホクシン」は他の品種と異なる塩基配列が多く存在する傾向があり、「Calingiri」や「チクゴイヅミ」、「春よ恋」、「さぬきの夢2000」との間で150bp (多型率1.2%) 以上の相違があった。オーストラリア品種である「Calingiri」は、「ふくさやか」、「ホクシン」、「小麦農林61号」、「シラサギコムギ」との間で1%程度の多型があったものの、国内品種におけるそれぞれの多型率と同程度であったことから、対象とした6種類の遺伝子領域では国内外品種間の大きな差異は見られなかった。また、「ふくさやか」と「シラサギコムギ」では多型が確認されなかったが、「ふくさやか」は「シラサギコムギ」と「シロガネコムギ」が交配親であるため、遺伝的な差異が少ないことを示唆する結果であった。

第17表 6種類の遺伝子領域におけるコムギ8品種間のSNP数

遺伝子	Accession No.	全長 (bp)	解読領域 (bp)	コムギ8品種間におけるSNP数		
				エクソン	イントロン	合計数
1-SST	AB159786	3326	2114	4 (1)	0	4 (1)
histon H1	D87064	3025	2530	0	0	0
histone H2A	L75802	2546	2433	7 (1)	130 (9)	137 (10)
histone H2B123	D37944	2901	2700	2	2 (1)	4 (1)
histone H2B153	D37945	3209	2160	6 (1)	16 (2)	22 (3)
wMAD2-A1	AB166871	1675	1060	1	1	2

() ; 挿入/欠失箇所の数

第18表 6種類の遺伝子領域におけるコムギ8品種の各品種間のSNP数(N)および多型率(R)(%)

品種	Calingiri		チクゴイズミ		ふくさやか		春よ恋		ホクシン		小麦農林61号		さぬきの夢2000	
	N	R	N	R	N	R	N	R	N	R	N	R	N	R
チクゴイズミ	11	0.085												
ふくさやか	135	1.039	127	0.977										
春よ恋	11	0.085	16	0.123	138	1.062								
ホクシン	156	1.200	156	1.200	29	0.223	158	1.216						
小麦農林61号	133	1.023	132	1.016	4	0.031	135	1.039	25	0.192				
さぬきの夢2000	9	0.069	6	0.046	130	1.000	16	0.123	158	1.216	134	1.031		
シラサギコムギ	133	1.023	127	0.977	0	0.000	138	1.062	29	0.223	4	0.031	130	1.000

今回、解読対象としたヒストン遺伝子は、コアヒストンと呼ばれる histon H2A, histon H2B, histon H3, histon H4 および、リンカーヒストン histon H1 に分類される。コアヒストンから作られたタンパク質はDNAが巻きついてヌクレオソームを形成し、ヌクレオソーム間をリンカーDNAが繋いでいる²¹⁾。リンカーヒストンはヌクレオソームに結合したDNAとリンカーDNAの両方に結合することで、ヌクレオソームへDNAを強く巻きつける役割を持つ⁵²⁾。コムギのヒストン遺伝子の中には塩基配列の特徴から2, 3の変異型が存在することが明らかにされているが^{14, 48, 59)}、品種間における多型の存在は知られていない。本研究では、histon H2A および histon H2B においてエクソン領域から品種間における多数のSNPが検出されており、この中には非同義置換となるものも含まれる可能性があるため、品種によってヌクレオソームが異なる形質や機能を示す可能性が示唆された。その一方で、histon H1 においてまったく多型が見出されなかったことは、リンカーヒストン特有の役割の不変性を示すと考えられた。また、MAD2は植物にとって不可欠なタンパク質であり、MAD2遺伝子の塩基配列は種間において高度に保存されていることが指摘されている¹⁵⁾。本研究ではMAD2-A1遺伝子のエクソン領域において1品種に1カ所の塩基置換が検出されたが、同義置換(GAC→GAT)であったことから、形質や機能に変異は生じていないと考えられ、品種間においてもMAD2が高度に保存されていることが示唆された。

近年、SNPの解析は高速かつ自動化された手法や装置の利用によって簡単に行うことが可能となって

きた。それでもなお、倍数体であるコムギでは解析が困難になりがちであり、マーカー開発にも手間がかかる傾向にある。しかしながら、近縁度が高まっている最近の栽培品種において多くのSNPが検出され、遺伝的な多様性が示唆されたことから、DNAによる品種識別に対してSNPが有用なツールになると考えられた。

2 特定品種の簡易識別法の開発

前節において6種類の遺伝子領域から合計169bpのSNPsを検出し、有用な品種識別マーカーとなり得る可能性が示唆された。本節ではSNPをDNAマーカー化し、国内に流通する主要品種・銘柄の遺伝子型を決定することで、簡易かつ迅速な品種識別技術の開発を試みた。

1) 材料および方法

プライマーの設計はPrimer3を用い、増幅領域を100~300bpに設定して、その他の条件はIV-1節と同様に行った。CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence) マーカーを作成するため、DNASIS proソフトウェア (HitachiSoft) を用いて適用できる制限酵素を検索した。

品種の識別のため、国内42品種および輸入銘柄6種類を供試した(第19表)。国内品種については(独)農研機構・近畿中国四国農業研究センターで維持管理されている種子を用い、輸入銘柄は農林水産省総合食料局食糧部から無償で譲渡いただいたものを使用した。また、ビューラーテストミルによって製粉された「さぬきの夢2000」および「さぬきの夢2009」、香川県内の製粉会社で製粉されたASW

(2009年輸入), 市販の加工食品4種類(ゆでうどん, 菓子A, B, C)を, 開発したSNPマーカーを評価するために供試した. DNAは, 国内品種についてはⅢ-2節と同様の方法で3粒からまとめて抽出した. 輸入銘柄は各10gの種子をシェイクマスター(Bio medical science)によって粉碎し, 100mgを計量して同様にDNAを抽出した. 小麦粉は100mgを計量して同様にDNAを抽出した. 加工食品からのDNA抽出は, 村上ら^{26, 27)}の方法に従って行った.

PCR反応は, 2pmol primer set, 0.2mM dNTPs, 1×PCR Buffer (2.5mM Mg²⁺含む), 0.2units LA

Taq DNA polymerase (Takara Bio), 20ng鋳型DNAを含む10μlの溶液中で行った. PCR反応には TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice (Takara Bio)を用い, 反応条件は94℃1分間, (94℃30秒間, 53~60℃30秒間, 72℃30秒間)×30サイクル, 72℃7分間とした. 増幅産物はそれぞれ適した制限酵素約2Uを用いて各バッファーで最適化した15μlの溶液中で反応させた後, GelRed (Biotium)を含む3%アガロースゲルで電気泳動し, バンドパターンを確認した. 供試したプライマーの組合せは33組であり, これらについて, 延べ48種類の制限酵素で試験を行

第19表 SNPマーカーによる品種識別に供試したコムギ品種

No.	品種	No.	品種	No.	品種
1	アブクマワセ	17	シロガネコムギ	33	ハルユタカ
2	あやひかり	18	タイセツコムギ	34	春よ恋
3	イワイノダイチ	19	ダイチノミノリ	35	バンドウワセ
4	キタカミコムギ	20	タクネコムギ	36	ふくさやか
5	キタノカオリ	21	ダブル8号	37	ふくほのか
6	きたほなみ	22	タマイズミ	38	ホクシン
7	きたもえ	23	チクゴイズミ	39	ホロシリコムギ
8	きぬあずま	24	チホクコムギ	40	ミナミノカオリ
9	きぬいろは	25	つるびかり	41	ゆきちから
10	きぬの波	26	ナンブコムギ	42	ユメアサヒ
11	キヌヒメ	27	ニシノカオリ	43	1CW
12	コユキコムギ	28	ニシホナミ	44	ASW
13	さぬきの夢2000	29	ネバリゴシ	45	DNS
14	しゅんよう	30	小麦農林26号	46	HRW
15	シラサギコムギ	31	小麦農林61号	47	PH
16	シラネコムギ	32	春のかがやき	48	WW

43~48は2007年輸入の銘柄を使用. 1CW: No.1 Canada Western Red Spring; ASW: Australian Standard White; DNS: Dark Northern Spring; HRW: Hard Red Winter; PH: Prime Hard; WW: Western White

第20表 「ニシノカオリ」の識別マーカー(Ch2-Bsc4I)および「春よ恋」「ハルユタカ」を識別するマーカーセット(dCh2-HpaII, Cs-SacII)

マーカー名	アニーリング温度(℃)		プライマー配列(5'・3')	増幅産物長(bp)
Ch2-Bsc4I	60	フォワード	TGGATAGATCTTGCCTGAGC	278
		リバース	TCGATCCTTCTTCGTCCATC	
dCh2-HpaII	53	フォワード	CATCCTTATTTTTTCACTCCACCG	137
		リバース	CGGGTATTGGCCATATTCAG	
Cs-SacII	56	フォワード	TGGATCCACTGACTTAATGGTG	344
		リバース	GTTGGCGAGGACAAGGAG	

第21表 3組のCAPSマーカーを用いた国内42品種および6輸入銘柄の遺伝子型カタログ

No.	品種名	マーカー名		
		Ch2-Bsc4I	dCh2-HpaII	Cs-SacII
		+ :200bp - :278bp	+ :115bp - :137bp	+ :306bp - :344bp
1	アブクマワセ	+	-	+
2	あやひかり	+	-	+
3	イワイノダイチ	+	-	+
4	キタカミコムギ	+	-	+
5	キタノカオリ	+	-	+
6	きたほなみ	+	-	+
7	きたもえ	+	-	+
8	きぬあずま	+	-	+
9	きぬいろは	+	-	+
10	きぬの波	+	-	+
11	キヌヒメ	+	-	+
12	コユキコムギ	+	-	+
13	さぬきの夢2000	+	-	+
14	しゅんよう	+	-	+
15	シラサギコムギ	+	-	+
16	シラネコムギ	+	-	+
17	シロガネコムギ	+	-	+
18	タイセツコムギ	+	-	+
19	ダイチノミノリ	+	-	+
20	タクネコムギ	+	-	+
21	ダブル8号	+	-	+
22	タマイズミ	+	-	+
23	チクゴイズミ	+	-	+
24	チホクコムギ	+	-	+
25	つるびかり	+	-	+
26	ナンブコムギ	+	-	+
27	ニシノカオリ	-	-	+-
28	ニシホナミ	+	-	+
29	ネバリゴシ	+	-	+
30	小麦農林26号	+	-	+
31	小麦農林61号	+	-	+
32	春のかがやき	+	-	+
33	ハルユタカ	+	+	+
34	春よ恋	+	+	+-
35	バンドウワセ	+	-	+
36	ふくさやか	+	-	+
37	ふくほのか	+	-	+
38	ホクシン	+	-	+
39	ホロシリコムギ	+	-	+
40	ミナミノカオリ	+	-	+
41	ゆきちから	+	-	+
42	ユメアサヒ	+	-	+
43	1CW	+	+-	+-
44	ASW	+-	+-	+-
45	DNS	+-	+-	+-
46	HRW	+	-	+-
47	PH	+-	+-	+
48	WW	+	-	+

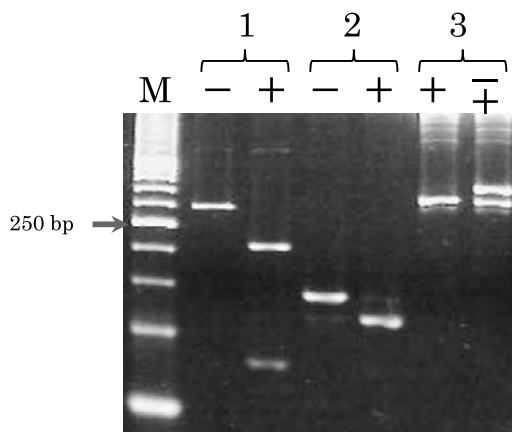
+, -はそれぞれ制限酵素で切断されるものと切断されないものを示し, '+-'は両方の遺伝子型が含まれることを示す。43~48は2007年輸入の銘柄を使用。1CW: No.1 Canada Western Red Spring; ASW: Australian Standard White; DNS: Dark Northern Spring; HRW: Hard Red Winter; PH: Prime Hard; WW: Western White.

った。

また、開発したマーカーのコムギに対する特異性を調べるため、オオムギ「イチバンボシ」, 「マンネンボシ」, 「カシマムギ」, 「スカイゴールド」, 「ダイシモチ」, 「シュンライ」, イネ「コシヒカリ」, 「日本晴」, 「モチミノリ」, ダイズ「ニシムスメ」, 「アキシロメ」, 「タマホマレ」, 「フクユタカ」, 「エンレイ」, 「サチユタカ」, トウモロコシ(市販品), ソバ(市販品)を用いて増幅産物の有無を確認した。

2) 結果および考察

8品種間で1品種に特異的なSNPを重点的に対象としてプライマー設計と制限酵素の検索を行い、国内42品種・6輸入銘柄の遺伝子型を調査した。ほとんどのマーカーは複数の品種で同じ遺伝子型を示し、1品種または少数品種に特異的なマーカーではなかった。しかし、国内42品種間で「ニシノカオリ」に特異的なマーカー、「春よ恋」, 「ハルユタカ」を簡易に識別するマーカーセットを開発することが可能であった(第20, 21表)。「ニシノカオリ」を識別するマーカー Ch2-Bsc4I は、histon H2A で検出された Calingiri に特異的なSNPをマーカー化したもので、国内品種では「ニシノカオリ」のみが異なるパターンを示した。また、「春よ恋」, 「ハルユタカ」を識別するマーカー dCh2-HpaII および Cs-SacII はそれぞれ histon H2A, 1-SST で見出されたSNPを



第9図 3組のCAPSマーカーによる検出パターン

M: 50bp ladder marker; 1. Ch2-Bsc4I; 2. dCh2-HpaII; 3. Cs-SacII. +, -はそれぞれ制限酵素で切断されるものと切断されないものを示し, '+-'は両方の遺伝子型が含まれることを示す。

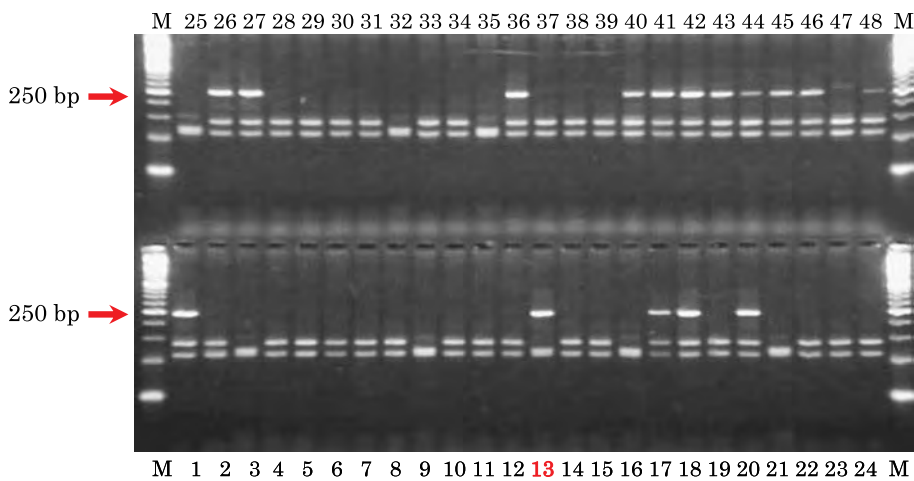
マーカー化したものである。いずれもアガロースゲル電気泳動によって明確にバンドパターンを見分けることが可能であり、簡易な識別法として利用できると考えられた（第9図）。

また、「さぬきの夢2000」を識別するマーカーセットを開発した（第22表）。マーカーRLK Idは、塩基配列の品種間差異が非常に豊富であったRLK-R1において設計されたIn/Delマーカーであり、244bpの産物について品種間で増幅の有無に違いが生じる。MAD2A1428-BseGIは供試した8品種の中では、「さぬきの夢2000」のみに違いが見られたwMAD2-A1のSNPを利用したCAPSマーカーである。2組の

マーカーを用いてマルチプレックスPCRを行い、制限酵素BseGIで処理することで、国内42品種および6輸入銘柄の間で「さぬきの夢2000」のみが異なるバンドパターンとなり、識別することが可能である（第10図）。「さぬきの夢2000」は香川県で育成されためん用品種（2003年品種登録）であり、香川県内においてのみ栽培、流通するブランド品種として知られている。品種名を表示して販売されている小麦粉やうどん、菓子類などの加工食品も多く、それらの流通量が生産量を明らかに上回り、偽装表示が散見される事態となったことから、品種識別技術は重要なツールとして求められていた。「さぬきの夢

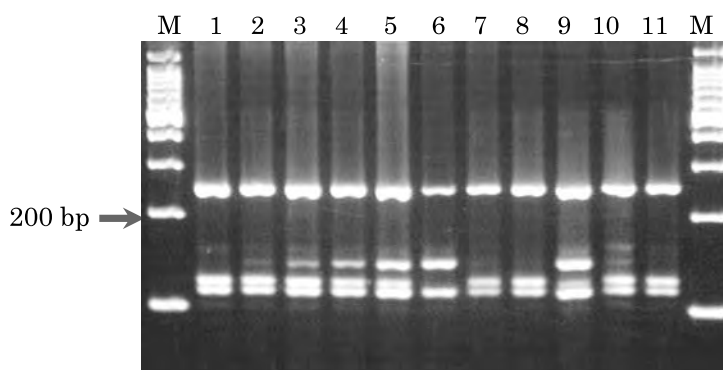
第22表 「さぬきの夢2000」を識別するためのIn/DelマーカーおよびCAPSマーカー

マーカー名	アニーリング温度(°C)	プライマー配列(5'-3')	増幅産物長(bp)
RLK Id	60	フォワード CCTGCCTTAGCAACACAACA	244
		リバーズ GGTCCACTGCCTTCACATCT	
MAD2A1428-BseGI	60	フォワード ATTCACTCATCCTCCGTCCA	275
		リバーズ AACAGTACAGGTTTTGGTAGACG	



第10図 「さぬきの夢2000」(No.13)の識別マーカーセットによる検出パターン

M: 50bp ladder marker; 1. アブクマワセ; 2. あやひかり; 3. イワイノダイチ; 4. キタカミコムギ; 5. キタノカオリ; 6. きたほなみ; 7. きたもえ; 8. きぬあずま; 9. きぬいろは; 10. きぬの波; 11. キヌヒメ; 12. コユキコムギ; 13. さぬきの夢2000; 14. しゅんよう; 15. シラサギコムギ; 16. シラネコムギ; 17. シロガネコムギ; 18. タイセツコムギ; 19. ダイチノミノリ; 20. タクネコムギ; 21. ダブル8号; 22. タマイズミ; 23. チクゴイズミ; 24. チホクコムギ; 25. つるびかり; 26. ナンプコムギ; 27. ニシノカオリ; 28. ニシホナミ; 29. ネバリゴシ; 30. 小麦農林26号; 31. 小麦農林61号; 32. 春のかがやき; 33. ハルユタカ; 34. 春よ恋; 35. バンドウワセ; 36. ふくさやか; 37. ふくほのか; 38. ホクシン; 39. ホロシリコムギ; 40. ミナミノカオリ; 41. ゆきちから; 42. ユメアサヒ; 43. No.1 Canada Western Red Spring; 44. Australian Standard White; 45. Dark Northern Spring; 46. Hard Red Witer; 47. Prime Hard; 48. Western White.



第11図 「さぬきの夢2000 (SY2000)」の識別マーカーセットによる識別例

M: 100bp ladder marker

- | | | |
|---------------------------------|---------------------|----------------|
| 1. 小麦粉 (SY2000) | 6. 小麦粉 (ASW) | |
| 2. 小麦粉 (SY2000 : ASW = 95 : 5) | 7. ゆでうどん | } SY2000使用の市販品 |
| 3. 小麦粉 (SY2000 : ASW = 90 : 10) | 8. 菓子A | |
| 4. 小麦粉 (SY2000 : ASW = 75 : 25) | 9. 菓子B | |
| 5. 小麦粉 (SY2000 : ASW = 50 : 50) | 10. 菓子C | |
| | 11. 小麦粉 (さぬきの夢2009) | |

2000」に意図的に混ぜられる可能性が高いものとしては、めん用の主要な輸入銘柄であるASWがあり、これらを簡易に識別できることが重視される。「さぬきの夢2000」に対してASWを5, 10, 25, 50%の比率でブレンドした小麦粉から抽出したDNAを用い、開発したマーカーセットによって検出したところ、ブレンド比率に比例してASWのパターンが混合した状態で表され、5%程度のブレンド比率であっても検出することが可能であった(第11図, No.1~6)。「さぬきの夢2000」を使用したことが表示された市販の加工食品4種類を供試した場合では、3種類の食品において「さぬきの夢2000」のバンドパターンを検出することができ、その他1種類は表示と異なることが示唆された(第11図, No.7~10)。また、後継品種として今後、「さぬきの夢2009」の遺伝子型を確認したところ、「さぬきの夢2000」と同型であったことから、本マーカーセットは将来的に継続して利用することが可能と考えられた。

前章において開発されたSSRマーカーでは、基本的に10組のマーカーすべてを用いて決定された遺伝子型の組合せから品種を同定する必要がある、詳細な遺伝子型の決定にはDNAシーケンサーを使用するなど、コストや時間がかかることが欠点である。食品表示などの検査では、多数の検体を対象とする

場合も想定され、簡易・迅速に識別することが重要となる。SNPを基に開発されたマーカーでは、アガロースゲル電気泳動法により識別できることや、1~2組のマーカーで識別できるため、容易にマルチプレックスPCRを行うことが可能であるなど、SSRによる識別技術と比較して低コストかつ時間短縮が可能となり、特定品種の簡易識別法として有用であると考えられた。しかし、より多くの遺伝子座を検出し遺伝子型を決定することで、品種識別の精度は高まることから⁵⁶⁾、簡易識別法とSSRによる詳細な品種識別法を適宜、併用することが望ましい。

V SNPを用いた特定コムギ品種の定量技術

1 リアルタイムPCRを用いた標的遺伝子領域の検出法の開発

コムギの加工食品は市場に流通するまでに多様な工程を通過する。その間に、原材料品種の取り違いや製造時の意図しないコンタミネーションが発生する可能性があり、品種の純度を維持するのが困難となる場合が想定される。これらの問題は、香川県のブランド品種「さぬきの夢2000」において、品種の「100%使用」表示に対する許容範囲の設定に際して混乱をもたらす要因となっており、非意図的な混入量を調査するため、品種の定量技術が求められている。本節では、リアルタイムPCRを利用し、前章で

見出されたSNPの定量的検出法の開発を行った。

1) 材料および方法

Primer Express (ABI) を用いて、マニュアルで推奨される標準的な設定に従い、リアルタイムPCRのためのプライマーおよびプローブを設計した。プローブは5'末端に蛍光色素FAMまたはVICを付与し、3'末端に非蛍光性消去剤および Minor Groove Binder (MGB) を付与した TaqMan MGBプローブとした。

リアルタイムPCRによる定量性の確認は、「チクゴイズミ」, 「ふくさやか」, 「ホクシン」, 「イワイノダイチ」, 「さぬきの夢」, 「きたほなみ」, 「きたもえ」, 「小麦農林61号」, 「さぬきの夢2000」, 「シラネコムギ」, 「シロガネコムギ」, 「つるぴかり」, 「ユメセイキ」, ASW (2008年輸入), ASW (2009年輸入) の15品種・銘柄を用いて行った。国内13品種は(独)農研機構・近畿中国四国農業研究センターで維持管理されている種子を用い、Ⅲ-2節と同様の方法で3粒からまとめてDNAを抽出した。銘柄はⅣ-2節に示した方法と同様にしてDNAを抽出した。

リアルタイムPCRは、0.625 μ M primer set, 各0.5 μ M MGBプローブ, 12.5 μ l Premix EX Taq (Takara Bio), 1.5 μ l ROX Reference Dye, 25ng鋳型DNAを含む25 μ lの溶液を調整し、ABI Prism 7000 (ABI) を用いて行った。反応条件は、95°C 1分間, (95°C 5秒間, 60°C 31秒間) \times 40サイクルとした。解析はSequence Detection System (ABI) によって行った。Threshold Lineの設定はKuribara *et al.*¹⁹⁾ を参考として実施した。1反応プレート内において各サンプル3反復反応させ、それらの平均値を算出した。ネガティブコントロールとして超純水を用いた。

設計したプライマーによる増幅産物の塩基配列を確認するため、「チクゴイズミ」, 「ホクシン」, 「イワイノダイチ」, 「さぬきの夢2000」, 「シラネコムギ」, 「タマイズミ」の6品種を供試し、4 pmol primer set, 0.2mM dNTPs, 1.5mM MgCl₂, 1 \times PCR Buffer, 0.4 units AmpliTaq Gold DNA Polymerase (ABI), 40ng鋳型DNAを含む20 μ lの溶液を調整してPCR反応を行った。PCR反応にはTaKaRa PCR Thermal Cycler Dice (Takara Bio) を用い、反応

条件は94°C 9分間, (94°C 30秒間, 60°C 30秒間, 72°C 30秒間) \times 30サイクル, 72°C 7分間とした。増幅産物は3%アガロースゲル電気泳動を行い、エチジウムブロマイドで染色し確認した後にゲルから切り出し、pGEM-T Easy Vector System I (Promega) およびECOS competent *E. Coli* DH5a (ニッポンジーン) を用いてクローニングした。各品種8コロニーを採取して挿入を確認した後、QIAprep Spin Miniprep Kit (QIAGEN) を用いてプラスミドDNAを精製し、Ⅳ-1節と同様にしてシークエンス反応を行い、塩基配列を解析した。

2) 結果および考察

前章において、各種の遺伝子領域でコムギ8品種間におけるSNPの探索を行ったところ、histon H1を対象に解読された2530bpの塩基配列で、多型はまったく検出されなかったことから、コムギ品種に共通の内部標準としてhiston H1を選定した。また、Ⅳ-2節において、「さぬきの夢2000」を識別するためにマーカー化したwMAD2-A1上のSNPを利用し、定量化のための指標とした。Primer Expressを用いて、両遺伝子上にリアルタイムPCR用のプライマーおよびTaqMan MGBプローブを設計することが可能であり、内部標準 (*H1-IPC*) は80bp, 識別指標 (*MAD*) は119bpの領域が対象とされた(第23表)。遺伝子座*MAD*は、「さぬきの夢2000」を含む7品種の遺伝子型 (*MAD-V*型) およびその他31品種および5輸入銘柄の遺伝子型 (*MAD-N*型)(第24表)の2種類に分類されることから、それぞれに対してプローブを設計した。

これらのプライマーおよびプローブを用いて15品種・銘柄を対象にリアルタイムPCRを行ったところ、すべての品種・銘柄で良好な増幅が見られた。Threshold Lineと増幅曲線の交点であるCt値は、サンプル間で若干のばらつきがあったが、*H1-IPC* および*MAD*の両遺伝子座において各品種内で大きなばらつきはなく安定した値であったことから、初期鋳型量の差異に基づくものであり、両遺伝子それぞれにおいてコピー数の品種間差異はないと考えられた(第12図A)。増幅産物をアガロースゲル電気泳動したところ、*H1-IPC*, *MAD*ともに非特異的な増幅は見られず、目的とする長さの産物のみが得られ

第23表 histon H1およびwMAD2-A1において設計されたリアルタイムPCRに用いるプライマー対とプローブ

遺伝子座	プライマーおよびプローブ配列(5'・3')	増幅産物長(bp)	
<i>H1-IPC</i>	フォワード	CGCGCTTCCTTGAATTGAC	80
	リバーズ	CATTCGCATGCAGGTTTCCT	
	TaqMan MGB プローブ	TCTCCCTTTGTCTGTTCGC	
<i>MAD</i>	フォワード	CTGCTCCATGAAACCTAATGCTAA	119
	リバーズ	GGGTCACATCCACAGGTCCT	
	TaqMan MGB プローブ(V型)	GACGACTTGGATGAGC	
	TaqMan MGB プローブ(N型)	GACGACTTGGACGAGC	

第24表 主要国内品種および輸入銘柄のMADにおける遺伝子型の分類

MAD遺伝子型	品種および銘柄		
V型	ダブル8号	きぬいろは	つるびかり
	春のかがやき	さぬきの夢2000	
	イワイノダイチ	シラネコムギ	
N型	アブクマワセ	きたほなみ	シロガネコムギ
	あやひかり	キタカミコムギ	しゅんよう
	チクゴイズミ	きたもえ	タクネコムギ
	ふくほのか	キタノカオリ	タマイズミ
	ふくさやか	コユキコムギ	ゆきちから
	春よ恋	ミナミノカオリ	ユメアサヒ
	ハルユタカ	ナンブコムギ	ユメセイキ
	ホクシン	ネバリゴシ	1CW
	ホロシリコムギ	ニシホナミ	ASW
	きぬあずま	ニシノカオリ	DNS
	キヌヒメ	小麦農林61号	HRW
	きぬの波	シラサギコムギ	WW

V型：「さぬきの夢2000」の遺伝子型

N型：「さぬきの夢2000」と異なる遺伝子型

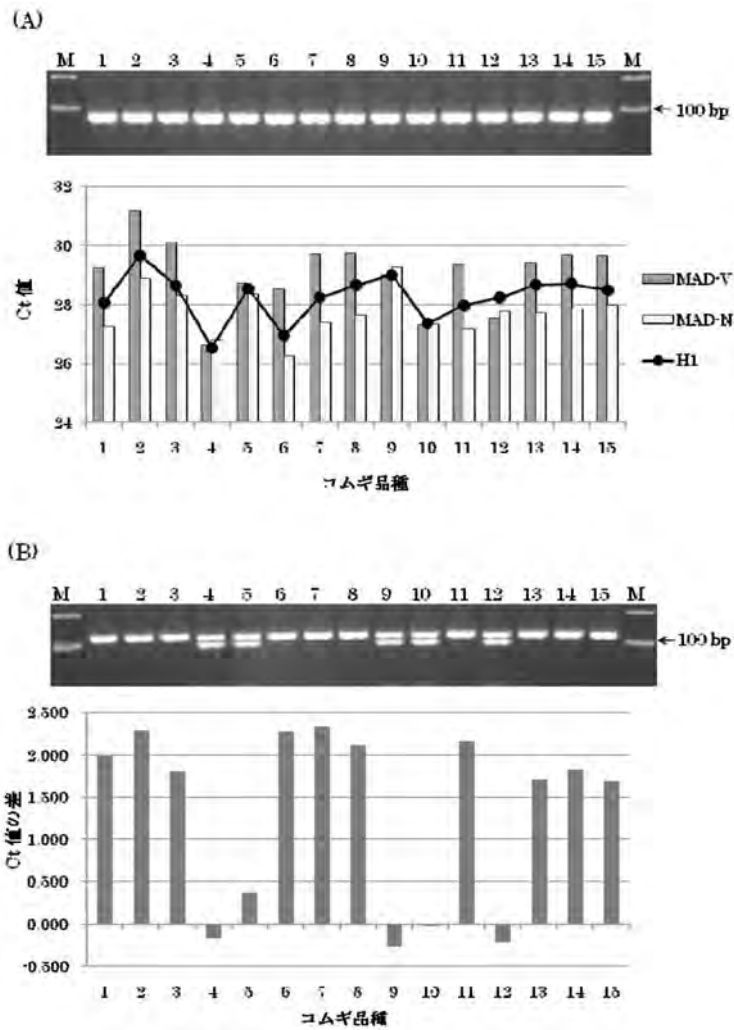
1CW：No.1 Canada Western Red Spring；ASW：Australian Standard White；DNS：Dark Northern Spring；HRW：Hard Red Winter；WW：Western White.

ていた。また、MAD-N型の10品種（No.1, 2, 3, 6, 7, 8, 11, 13, 14, 15）では、MAD-VとMAD-NのCt値に約2サイクルの差があり、MAD-V型の5品種（No.4, 5, 9, 10, 12）ではCt値の差は見られなかった（第12図B）。

MAD2遺伝子はA, B, Dゲノムにそれぞれ同祖遺伝子が存在するため、プライマーの設計場所によっては3遺伝子に由来する増幅産物が得られる。リアルタイムPCR用に設計されたプライマーはA, B, Dゲノムの各遺伝子を増幅させる可能性が高い領域に設計されていたため（第13図）、本プライマーを用いた増幅産物をクローニングし、塩基配列を確認したところ、リバーズプライマーの5'側が一致していないBゲノムの同祖遺伝子は増幅されていなかった。

たが、AゲノムおよびDゲノムの遺伝子に由来する産物が含まれていた。実際にリアルタイムPCRによって得られた増幅産物を制限酵素BseGIによって処理した後にアガロースゲル電気泳動すると、SNPを認識して切断されるAゲノム由来の増幅産物と、切断されないDゲノム由来の増幅産物が含まれるために2種類のバンドが検出された（第12図B）。また、H1-IPCを検出するプライマーによって増幅された産物の塩基配列を解読した結果、目的の領域であることが確認された。

PCR法を用いた定量技術は遺伝子組み換え体(GMO)を検出する手法としてよく利用されてきた^{24, 63)}。リアルタイムPCRは、検出のためのプライマーおよびプローブの設計を綿密に行い、検量線

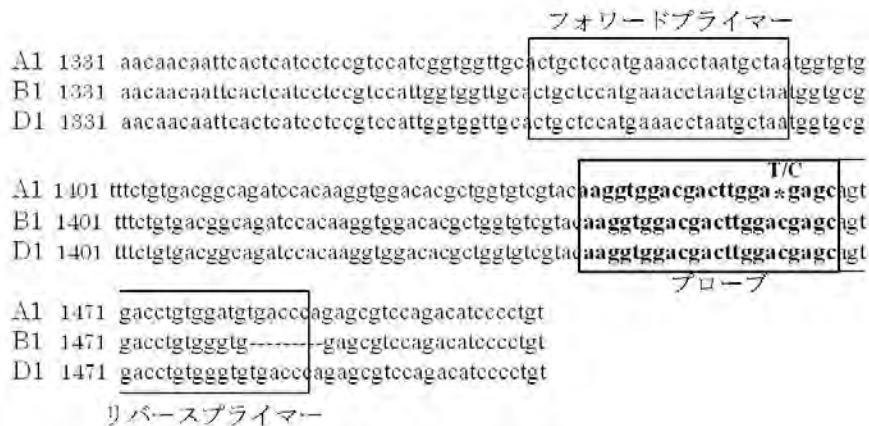


第12図 リアルタイムPCRによるコムギ15品種のCt値および増幅産物のアガロースゲル電気泳動図

(A) H1-IPCおよびMAD-V, MAD-NのCt値とH1-IPCによる増幅産物の電気泳動図

(B) MAD-VとMAD-NのCt値の差およびMADによる増幅産物の電気泳動図 (制限酵素BseGI処理後)

1. チクゴイズミ; 2. ふくさやか; 3. ホクシン; 4. イワイノダイチ; 5. きぬいろは; 6. きたほなみ; 7. きたもえ; 8. 小麦農林61号; 9. さぬきの夢2000; 10. シラネコムギ; 11. シロガネコムギ; 12. つるびかり; 13. ユメセイキ; 14. ASW (2008); 15. ASW (2009)



第13図 MAD2遺伝子において設計されたプライマーおよびTaqMan MGBプローブの位置

作成のための標準試料やPCR反応条件を十分に最適化することで、極めて正確な定量が可能となるため、現在では主要な分析法となっている^{19, 44)}。一方、ヨーロッパではパスタの品質管理のため、製造過程においてデュラムコムギに混入したパンコムギを定量的に検出するための手法としてリアルタイムPCRが利用されている¹⁾。また同様に、アレルギー物質の検出のため、パンコムギやオオムギ、ライムギなどの *Triticum* 属の植物を食品中から検出する手法が開発されており^{49, 50)}、リアルタイムPCRはGMOのみならず、食品中の特定物質を定量的に検出する手法として有用である。

本節においては、内部標準とする「histon H1」ならびに「さぬきの夢2000」の定量指標である wMAD2-A1のSNPに対してリアルタイムPCRのためのプライマー・プローブをうまく設計することができ、両遺伝子座における良好なPCR反応を確認することができた。また、遺伝子座MADにおけるV型品種とN型品種の差を明確に検出することができたため、これらの差を用いて「さぬきの夢2000」を定量的に検出することが可能であると考えられた。

2 品種の相対定量法の開発と検出下限の評価

前節において、リアルタイムPCRを用い、wMAD2-A1遺伝子のSNPを定量的に検出できる可能性が見出された。本節では「さぬきの夢2000」の小麦粉に対して他品種の小麦粉を様々な比率で混合した模擬混入サンプルを用いて品種の相対定量法を開発し、その検出感度を評価した。

1) 材料および方法

ビューラーテストミルによって製粉した「さぬきの夢2000」、「チクゴイズミ」、「小麦農林61号」の小麦粉、および香川県内の製粉会社で製粉されたASW (2009年輸入) を供試した。「さぬきの夢2000」の小麦粉を基本に、その他の2品種・1銘柄が各々全体の0, 20, 50, 80, 100%の比率で含まれるものを調整し、150mgとした小麦粉からIV-2節で示した方法でDNAを抽出した。また、「さぬきの夢2000」の小麦粉を基本に、全体の1, 3, 5, 8, 10, 15, 20%の比率になるように「チクゴイズミ」を混合した小麦粉150mgからそれぞれDNAを抽出

し、供試した。リアルタイムPCRは前節と同様の方法で実施し、Ct値を決定した。検量線の作成には、「さぬきの夢2000」と「チクゴイズミ」を等量混合した小麦粉からDNAを抽出して適宜希釈し、250, 50, 10, 2, 0.4, 0 ngのDNAを供試してPCR反応を行い、それぞれのCt値を決定した。

2) 結果および考察

検量線作成用のDNA 6種類とともに、「さぬきの夢2000」と「チクゴイズミ」の小麦粉および両品種を用いた3種類のブレンド小麦粉を用いて、前節で開発されたプライマー・プローブ (第23表) によりリアルタイムPCRを行った。決定されたCt値から、「さぬきの夢2000」に対して混合された「チクゴイズミ」の比率を相対的に算出する方法を検討した (第25表)。H1-IPC, MAD-VおよびMAD-NのCt値についてそれぞれの検量線からLogの値を求め、定量値 (H, V1, N1) を算出した。その後、V1およびN1を内部標準Hによって除し、初期鋳型量のばらつきを補正した (V2, N2)。前節においてMAD-N型品種とMAD-V型品種の間で差異が確認されたCt値の差をそれぞれ算出し (D1)、「さぬきの夢2000」のみから得られたD1値を基準としてその他のサンプルのD1値の差を算出することで、相対定量値D2とした。混合比率に応じて、D2値が0.305~1.190と段階的に変動しており、含まれる遺伝子型の差を定量的に検出していると考えられた。これらD2値と混合比率の間には高い相関があり ($R^2 > 0.98$)、再現性も良好であった (第14図A)。また、ブレンドする品種を「小麦農林61号」または複数品種が含まれるASWとした場合でも同程度の相関が見られたことから (第14図B)、開発したプライマー・プローブは目的とする遺伝子領域を正確に検出することが可能で、定量性に優れた技術であると考えられた。

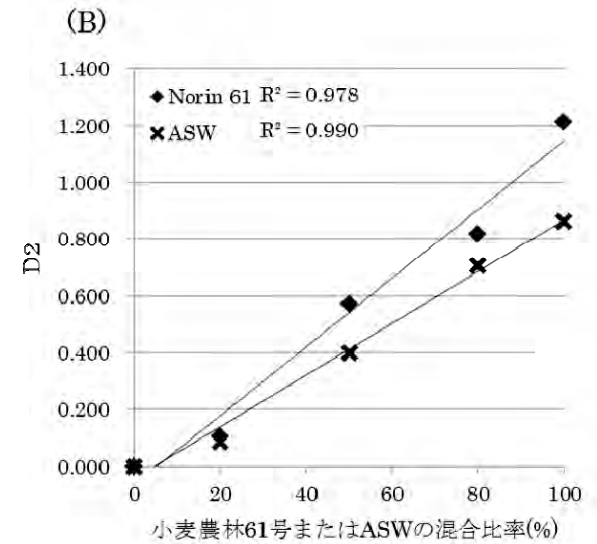
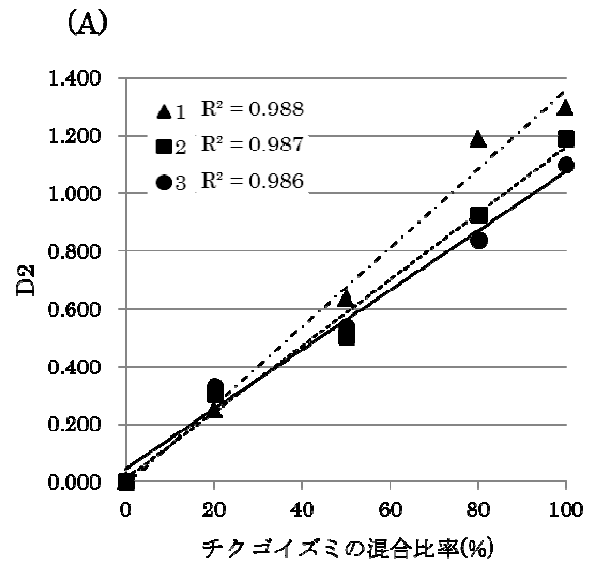
本技術の検出下限を評価するため、低混合比率の小麦粉を用いて定量を行ったところ、同一サンプルであっても5回の実験間で値の変動は大きく、安定しない傾向にあった (第26表)。1%および3%の混合比率の小麦粉では特に変動が大きく、基準とする「さぬきの夢2000」のD1値を下回る場合があり、定量は困難であると考えられた。また、5反復の平

第25表 リアルタイムPCRを用いたブレンド小麦粉における品種の相対定量法

DNA量 (ng)	H1-IPC			MAD-V			MAD-N			MAD-Vと MAD-Nの 差		S(100%)に 対する相対値 D2 (D1*)	
	Log	Ct	定量値 (H)	Log	Ct	定量値 (V1)	Log	Ct	定量値 (N1)	補正值 N2 (N1/H)	D1 (N2-V2)		
100:0		30.03	24.77	28.32	1.528	33.76	1.363	28.43	1.276	18.87	0.762	-0.601*	0.000
80:20		30.22	21.88	28.68	1.432	27.05	1.236	28.30	1.313	20.58	0.941	-0.296	0.305
50:50		29.89	26.99	28.65	1.439	27.48	1.018	28.01	1.396	24.88	0.922	-0.096	0.505
20:80		30.03	24.72	29.20	1.290	19.49	0.789	27.85	1.441	27.58	1.116	0.327	0.928
0:100		29.91	26.70	29.41	1.232	17.07	0.639	27.59	1.516	32.80	1.229	0.589	1.190
250	2.398	26.40		24.95				24.39					
50	1.699	29.01		27.78				26.99					
10	1.000	31.38		30.40				29.49					
2	0.301	33.95		32.97				31.93					
0.4	-0.398	36.46		35.25				34.15					
傾き				-3.584				-3.498					
切片				35.023				32.889					
相関係数				1.000				0.999					

S：さぬきの夢2000；C：チクゴイズミ

** S, Cの等量ブレンド小麦粉から抽出したDNAを使用。



第14図 リアルタイムPCRを用いて算出したD2値と品種混合比率との相関

(A) 「さぬきの夢2000」と「チクゴイズミ」のブレンド小麦粉

▲：1反復目，■：2反復目，●：3反復目

(B) 「さぬきの夢2000」と「小麦農林61号」またはASWのブレンド小麦粉

均値と混合比率の相関係数は約0.92であり，数%程度の差異を正確に見分けることは困難であると考えられた（第15図）。

リアルタイムPCRを用いた遺伝子組み換え体(GMO)の定量分析では，PCR反応に供試する初期鋳型量が定量値に大きな影響を与えることが示唆されており，厳密な定量を行うためには，最適な増幅産物長を設定することや供試するDNA量を十分に

第26表 「さぬきの夢2000」と「チクゴイズミ」のブレンド小麦粉を用いた低混合比率におけるD2値の再現性

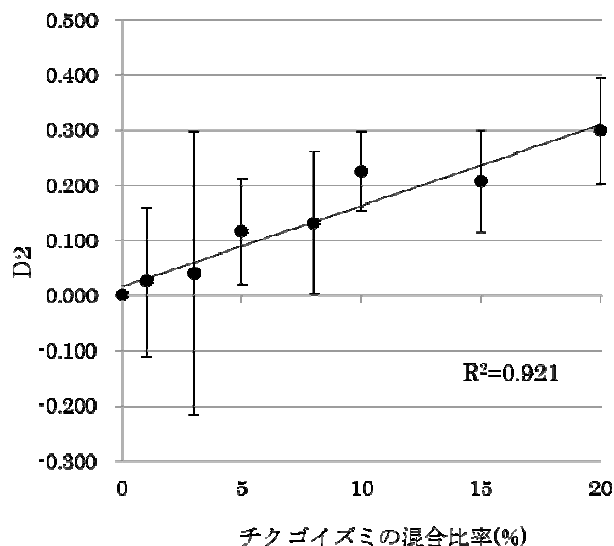
チクゴイズミの混合比率 (%)	D2値の平均 (5反復)	標準偏差	変動係数 (%)
1	0.025	0.134	535.281
3	0.040	0.257	640.902
5	0.116	0.095	81.936
8	0.132	0.130	98.786
10	0.226	0.071	31.441
15	0.207	0.093	44.790
20	0.299	0.096	32.228

VI 総合考察

コムギは米や野菜のように植物体のまま市場に流通することはほとんどなく、その加工食品は多種多様に存在する。本研究は、近年の消費者の食に対する関心の高さを背景とし、食品表示の信頼性の確保に寄与することを目的として実施されたが、コムギ品種の識別にあたり加工食品を対象とすることは新たな知見と工夫の積み重ねを必要とした。

始めに、コムギ加工食品からDNAを抽出し、DNA品種識別の適用可能性を明らかにした。加工食品からのDNA抽出は既存の手法を用いて行うことが可能であった。加工工程の異なる食品ではDNAの断片化の程度が異なり、高温焼成されたものほど著しく断片化していることが確認された。また、DNAマーカーによって増幅可能な長さが食品により異なることが明らかとなり、めん類やパン類、菓子類などの主要なコムギ加工食品に対してDNA品種識別技術を適用するため、DNAマーカーの増幅産物長を300bp程度までに設定することを識別技術の条件とした。一方、加工食品からのDNA抽出法は、現在では、小麦粉、めん類、パン類のみならず、最も多様な菓子類を対象とした場合でも、より簡易かつ迅速に行うことが可能となり、識別技術の適用範囲が大きく拡大することとなった²⁷⁾。

日本におけるコムギの種子生産は、主要農作物種子法に基づく奨励品種制度によって管理されている。各都道府県は新しく開発された品種を奨励品種として採用すると、育成地から育種家種子の配布を受けて、原原種として増殖、維持、管理する。さらに、原原種を用いて原種を生産し、原種から一般栽培用種子を生産する。したがって、奨励品種としての採用が長期にわたるほど、各都道府県における管理の期間が長くなり、品種登録時に遺伝的に完全には固定していなかった遺伝子座、あるいは自然突然変異が生じた座位において、地域ごとに独自の分離と固定が生じ、同じ品種であっても地域間での遺伝的な違いが存在する可能性がある。DNAを用いて正確な品種識別を行うために、それらの前提を踏まえた上で、どのようなDNA領域を指標として利用するかが重要である。



第15図 「さぬきの夢2000」と「チクゴイズミ」のブレンド小麦粉を用いて算出したD2値と混合比率との相関

D2: 5反復の平均値。垂直バーは標準偏差を示す。

検討することが重要である¹¹⁾。本節では、20～30%程度の混合比率の差異があるサンプル間においては、相対定量値 (D2) と混合比率には高い相関が得られており、優れた定量性が確認された。一方、20%以下の混合比率で設定されたサンプル間では定量値のばらつきが大きかったことから、正確な定量を行うためには、より厳密な反応条件の検討が必要であると考えられた。

SSRマーカーは多型性が高く、信頼度の高いDNAマーカーとして、ヒトのDNA鑑定で実用化されており、果樹やダイズ、バレイショなどの農産物の品種識別においても主要な技術となっている^{2, 16, 38, 57}。コムギについてもSSRマーカーは多数開発されているが^{40, 42, 45, 46}、近年ではEST配列から作出されたものも多い^{9, 10, 30, 60}。EST-SSRはゲノム由来のSSRと比較して種内の多型性が低いが、これは前者が翻訳領域であることから保存性が高いものと考えられている^{6, 51}。したがって、種間の識別においてより正確な解析ができることや、実際に遺伝子間の機能的な変異を検出できる可能性があることから、遺伝資源の多様性評価や遺伝子機能の解析に有用なマーカーである^{61, 62}。

そこで、国内コムギ品種の中には60年間にわたって現在でも栽培されている品種もあることから、品種内多型が少ないことが期待されるEST-SSRに着目した。加工食品に適用できる品種識別技術として、増幅産物長を300bp程度とし、コムギゲノムへの特異性が確認できた10組のEST-SSRマーカーを開発した。国内外のコムギ58品種を対象に作成した遺伝子型カタログでは、すべての品種を識別することはできなかったが、国内外品種の識別と、国内の主要品種を個別に識別することが可能となった。また、一部のEST-SSRマーカーを用いて、輸入コムギ銘柄において国外品種特有の遺伝子型を検出することができ、市販加工食品において国産コムギと輸入コムギの識別を容易に行うことが可能となった。日本におけるコムギの消費量のうち、輸入コムギは約85%を占めており、国産コムギを使用したと表示される食品の簡易検査法としての活用が期待される。

一方、開発したEST-SSRマーカーを用いて、26の府県から取り寄せたコムギ15品種の原種または原原種（59組合せ）の遺伝子型を調査した結果、品種内多型はほとんど検出されなかった。そのため、長期間にわたり高度に保存されているDNA領域であることが明らかとなり、品種識別マーカーとして適していることが証明された。ところが、本研究と同様にSSRを用いたカナダのデュラムコムギ品種の識別では、18品種のうち3品種で品種内多型があり、最も古い1936年の登録品種では8つのバイオタイプの存在が報告されている⁴¹。SSRマーカー8組のうち、

EST-SSRは5組含まれていたが、品種内多型が確認されたマーカー3組のうち2組はEST-SSRであった。塩基配列の保存性が高く、比較的安定して遺伝すると考えられるEST-SSRの変異が確認されたことは、当時のカナダでは品種の登録、配布時における遺伝的な固定度が低かったために、種子の維持管理の過程で遺伝的に分離したことが原因と考えられる。そのため、このような外国で育成された品種の遺伝子型の判定にあたっては、開発したEST-SSRマーカーについても注意を要すると考えられた。

また、近縁度が高まっている現在の栽培品種間において、コムギの各種遺伝子領域には多数のSNPが存在することが明らかとなった。これらの遺伝的な多様性はより高精度なDNA品種識別を可能にすると考えられ、蓄積した多型情報は将来的に普及する品種に対しても有用な識別マーカーになり得る可能性がある。本研究では、現在、需要が高い「さぬきの夢2000」を始めとする4品種について、EST-SSRマーカーによる識別と比較して、簡易かつ迅速に利用できる識別技術を開発することができた。また、SNPを利用して、リアルタイムPCR法による「さぬきの夢2000」の定量技術を開発でき、「さぬきの夢2000」の育成者である香川県や、食品検査機関において活用が期待される。SNPはSSRと比較して既存の情報はまだ少ないものの、数の多さや豊富な多型性などDNAマーカーとしての利点を多く備え、その汎用性は品種の識別に大きな効力をもつと考えられる。

品種の定義として、農業形質や外観、品質などの表現型の均一性は大きな要素である。それらに関連していることが明確な遺伝子をマーカーとすることができれば、品種の識別はもちろんのこと、品種開発におけるMAS (Marker assisted selection) としての利便性や、普及後の形質の維持など、様々な場面で有効な手法になると考えられる。したがって、今後のゲノム研究の進展に伴って遺伝子機能の詳細な解明が進めば、実用形質と関連したDNAマーカーを利用した識別技術も期待できると考えられる。一方、実用形質に的を絞ったDNAマーカーのみでは、近縁度が高まるにつれて品種間の相違が検出されなくなる可能性があり、品種識別を目的とした場合にはゲノム上のあらゆる品種間変異を利用するこ

ともまた必要となってくる。近年では、ゲノム中の転移因子であるレトロトランスポゾンを利用した手法によって品種固有のマーカーが開発されており、ブランド品種の保障のためにより強力なツールを開発することも可能となった^{29, 39, 58)}。このように様々なDNAマーカーが利用できる中では、識別技術の使用目的に応じて最適な組合せを選択し、活用することが大切である。しかしながら、DNAを用いた品種識別技術では、検出するDNA領域の数を増やすことによって、同一品種と判断する確率を限りなく100%に近づけることは可能であるが、100%の判断を下すことは理論上、不可能である⁵⁶⁾。DNAマーカーによる品種の同定は絶対的なものではないことを考慮し、それ以外の情報を含めて総合的に判断する必要があることに注意したい。

摘 要

本研究は、国内コムギ品種およびそれらを使用しためんやパン、菓子などの加工食品について、原材料品種や産地に関する表示の信頼性を確保するため、コムギ品種識別技術を開発することを目的として実施した。まず初めに、コムギ加工食品から抽出したDNAの状態の確認とDNAマーカーの適用可能性を明らかにした。次に、EST-SSRマーカーを開発し、国内市場に流通する主要品種を網羅した品種識別技術を開発した。また、各種遺伝子領域からSNPを探索し、特定品種を簡易迅速に識別するDNAマーカーを開発するとともに、リアルタイムPCR法を用いた定量技術を開発した。研究成果を要約すると、以下の通りである。

1. 既存のDNA抽出法を用いて、うどんやパン、クッキーなどのコムギ加工食品からDNAを抽出することが可能であった。
2. 製粉された小麦粉ではDNAの断片化はほとんど確認されなかったが、パイなどの高温で加熱された食品ほどDNAは著しく断片化していた。
3. DNAの断片化の程度が異なる多様なコムギ加工食品に対して、一般的に適用できるDNAマーカーの増幅産物長は、300bp程度であると推測された。
4. 増幅産物長を300bp程度に設定し、イネやオオ

ムギなどのDNAは検出しないコムギ特異性の高い10組のEST-SSRマーカーを開発した。

5. EST-SSRマーカーを用いて、コムギ58品種（国内41，国外17）に関する遺伝子型カタログを作成した。これらを基に、国内外品種を識別でき、「ホクシン」や「小麦農林61号」などの主要国内品種を識別することが可能となった。
6. 原材料品種名などの表示がある市販加工食品において、EST-SSRマーカーによる品種識別が可能であることを確認した。
7. 国内15品種の原種・原原種を用いて、EST-SSRマーカーによる品種内多型の有無を調査し、これらの遺伝子座における品種内多型は極めて少ないことを確認した。
8. 複数の品種で構成される輸入コムギ銘柄5種類についてEST-SSRマーカーによる遺伝子型を調査し、各銘柄におけるパターンの特徴や、輸入年度間の遺伝子型の変動を明らかにした。
9. EST-SSRマーカーTaSE3は、主要な輸入コムギ銘柄において現在の国内品種では検出されない遺伝子型を示すことを確認した。
10. 6種類の遺伝子領域から、8品種間において合計169bpのSNPを見出した。これらの蓄積した多型情報をもとに、将来的に普及する品種に対しても有用な識別マーカーを開発できると考えられた。
11. SNPをDNAマーカー化することにより、パン用品種「ニシノカオリ」、「春よ恋」、「ハルユタカ」を、国内市場に流通する主要品種間において簡易迅速に識別できる技術を開発した。
12. SNPをもとに、めん用品種「さぬきの夢2000」を主要品種と簡易迅速に識別するマーカーセットを開発した。また、リアルタイムPCR法を用いてSNPを定量化し、「さぬきの夢2000」を定量する技術を開発した。

謝 辞

本論文は、岡山大学学位審査論文を基に編集、加筆したものである。学位論文を作成するにあたり、岡山大学教授田原誠博士に懇篤なる校閲を賜りました。同教授一瀬勇規博士、同教授加藤鎌司博士には

貴重なご助言とご校閲を賜りました。ここに謹んで深く感謝の意を表します。

本研究の端緒は近畿中国四国農業研究センターの矢野博博士から賜り、終始懇篤なる指導を賜りました。研究の着手にあたっては、同センターの池田達哉博士、荒木悦子博士に指導と助言をいただきました。研究の遂行にあたっては、同センターの石川直幸氏、高田兼則博士、谷中美貴子氏、香川県農業試験場の村上恭子氏、十鳥秀樹氏、河田和利氏、本田雄一氏に協力と助言をいただきました。また、SSRマーカーの開発にあたっては、野菜茶業研究所の福岡浩之博士に協力と援助をいただきました。コムギ原種および原原種の収集にあたっては多くの府県の担当各位に協力をいただきました。元近畿中国四国農業研究センター所長（現日本大学）鳥越洋一博士には助言と激励をいただきました。ここに各位に対して深甚なる感謝の意を表します。

なお、本研究は2006年度から2010年度にかけて実施された農林水産省委託プロジェクト「食品・農産物の表示の信頼性確保と機能性解析のための基盤技術の開発」の支援により行われた。

引用文献

- 1) Alary, R., A. Serin, M.-P. Duviau, P. Joudrier and M.-F. Gautier 2002. Quantification of Common Wheat Adulteration of Durum Wheat Pasta Using Real-Time Quantitative Polymerase Chain Reaction (PCR). *Cereal Chem.* 79 (4) : 553–558.
- 2) 浅野尚樹・小曾納雅則・野口 健・伴 義之 2008. DNA分析によるバレイショ遺伝子型データベース化. *育種学研究* 10 : 63–69.
- 3) Cho, Y.G., T. Ishii, S. Temnykh, X. Chen, L. Lipovich, S.R. McCouch, W.D. Park, N. Ayres and S. Cartinhour 2000. Diversity of microsatellites derived from genomic libraries and GenBank sequences in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* 100: 713–722.
- 4) DNA品種識別技術検討会 2003. 農林水産省品種登録ホームページ : <http://www.hinsyu.maff.go.jp/>
- 5) 独立行政法人 農林水産消費技術センター 2002. JAS分析試験ハンドブック 遺伝子組換え食品検査分析マニュアル 改訂第2版.
- 6) Eujayl, I., M.E. Sorrells, M. Baum, P. Wolters and W. Powell 2002. Isolation of EST-derived microsatellite markers for genotyping the A and B genomes of wheat. *Theor. Appl. Genet.* 104: 399–407.
- 7) 藤井 浩・山下浩之・藤田由美子・矢野 博・村上恭子・本田雄一・十鳥秀樹 2009. DNAマーカーによるタイピングデータを用いて複数品種が混合されている食品に含まれる原材料品種を判定するソフトウェアの開発と小麦加工品への適用. *DNA多型* 17 : 96–101.
- 8) Fukuoka, H., T. Nunome, Y. Minamiyama, I. Kono, N. Namiki and A. Kojima 2005. read2Marker: a data processing tool for microsatellite marker development from a large data set. *BioTechniques* 39: 472–476.
- 9) Gao, L.F., R.L. Jing, N.X. Huo, Y. Li, X. P. Li, R.H. Zhou, X.P. Chang, J.F. Tang, Z.Y. Ma and J.Z. Jia 2004. One hundred and one new microsatellite loci derived from ESTs (EST-SSRs) in bread wheat. *Theor. Appl. Genet.* 108: 1392–1400.
- 10) Gupta, P.K., S. Rustgi, S. Sharma, R. Singh, N. Kumar and H.S. Balyan 2003. Transferable EST-SSR markers for the study of polymorphism and genetic diversity in bread wheat. *Mol. Gen. Genomics.* 270: 315–323.
- 11) Gryson, N. 2010. Effect of food processing on plant DNA degradation and PCR-based GMO analysis: a review. *Anal. Bioanal. Chem.* 396: 2003–2022.
- 12) Hamilton, M.B., E.L. Pincus, A. Difiore and R. Fleischer 1999. Universal linker and ligation procedures for construction of genomic DNA libraries enriched for microsatellites. *BioTechniques* 27: 500–507.
- 13) 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.
- 14) Huh, G.H., T. Nakayama, T. Meshi and M. Iwabuchi 1997. Structural characteristics of two wheat histone H2A genes encoding distinct types of variants and functional differences in their promoter activity. *Plant Mol. Biol.* 33: 791–802.
- 15) Kimbara, J., T.R. Endo and S. Nasuda 2004. Characterization of the genes encoding for MAD2 homologues in wheat. *Chrom. Res.* 12: 703–714.
- 16) Kimura, T., Y.Z. Shi, M. Shoda, K. Kotobuki, N. Matsuta, T. Hayashi, Y. Ban and T. Yamamoto 2002. Identification of Asian pear varieties by SSR analysis. *Breed. Sci.* 52: 115–121.
- 17) 小林俊一・吉田智彦 2006. RAPD分析による栃木県を中心とした関東周辺地域のムギ類優良品種識別. *日本作物学会紀事* 75: 165–174.
- 18) 國久美由紀・松元 哲 2004. DNA分析によるイチゴ品種の識別. *農業および園芸* 79(1): 180–184.
- 19) Kuribara, H., Y. Shindo, T. Matsuoka, K. Takubo, S. Futo, N. Aoki, T. Hirano, H. Akiyama, Y. Goda, M. Toyoda and A. Hino 2002. Novel reference molecules for quantitation of genetically modified maize and soybean. *J. AOAC Int.* 85: 1077–1089.
- 20) Lilienfeld FA 1951. H Kihara: Genome analysis in *Triticum* and *Aegilops*. X Concluding review. *Cytologia* 16: 001–123.
- 21) Luger, K., Madev A.W. and Richmond R.K. 1997. Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution. *Nature* 389: 251–260.
- 22) 丸山恵史 2003. 植物新品種育成者の権利保護とDNA品種識別技術. *育種学研究* 5: 127–135.
- 23) Matsuoka, T., Y. Kawashima, H. Akiyama, H. Miura, Y. Goda, Y. Kusakabe, K. Isshiki, M. Toyoda and A. Hino 2000. A method of detecting recombinant DNAs from four lines of genetically modified maize. *J. Food. Hyg. Soc. Japan.* 41: 137–143.
- 24) Matsuoka, T., H. Kuribara, H. Akiyama, H. Miura, Y. Goda, Y. Kusakabe, K. Isshiki, M. Toyoda and A. Hino 2001. A multiplex PCR method of detecting recombinant DNAs from five lines of genetically modified maize. *J. Food. Hyg. Soc. Japan.* 42: 24–32.
- 25) Morimoto, R., T. Kosugi, C. Nakamura and S. Takumi 2005. Intragenic diversity and functional conservation of the three homoeologous loci of the KN1-type homeobox gene *Wknox1* in common wheat. *Plant Mol. Biol.* 57: 907–924.
- 26) 村上恭子・河田利和 2008. 市販キットを用いた小麦加工品からの簡便迅速なDNA抽出法. *香川県農業試験場研究報告* 59: 45–49.
- 27) 村上恭子・本田雄一・十鳥秀樹・藤田由美子 2010. 小麦品種判別のための菓子類からの簡便迅速なDNA抽出法. *DNA多型* 18: 89–92.
- 28) Murray M.G. and W.F. Thompson 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Res.* 8: 4321–4325.
- 29) 中川 藍・山下裕樹・田原 誠・大山由美 2009. レトロトランスポゾンDNAマーカーを用いたアズキ品種「しゅまり」の識別. *DNA多型* 17: 85–91.
- 30) Nicot, N., V. Chiquet, B. Gandon, L. Amilhat, F. Legeai, P. Leroy, M. Bernard and P. Sourdille 2004. Study of simple sequence repeat (SSR) markers from wheat expressed sequence tags (ESTs). *Theor. Appl. Genet.* 109: 800–805.
- 31) 西尾小作・中川元興・牛腸英夫・渡辺進二 1973. 採種地を異にする小麦農林61号の主要形質の差異について. *東海近畿農業試験場研究報告* 26: 98–126.
- 32) 農林水産省大臣官房統計部 (平成22年12月10日) 農林水産統計: 平成22年産4麦の収穫量. http://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/sakumotu/sakkyou_kome/index.html#y7
- 33) 農林水産省生産局 (平成20年3月) 水陸稲・麦類・大豆奨励品種特性表.

- 34) 農林水産省総合食料局（平成22年3月31日）麦の需給に関する見通し。 <http://www.maff.go.jp/j/press/soushoku/boueki/100331.html>
- 35) 農林水産省消費・安全局（平成20年3月19日）加工食品に係る原料原産地情報の積極的な提供について（通知）。 http://www.maff.go.jp/j/jas/kansi/gengen_suisho.html
- 36) 農林水産省消費・安全局（平成21年）農林物資の規格化及び品質表示の適正化に関する法律（JAS法）の一部を改正する法律（平成21年法律第31号）について。 http://www.maff.go.jp/j/jas/jas_gaiyou.html
- 37) 大坪研一 2003. 米, 米飯, 餅のDNA鑑定による品種判別技術. *ぶんせき* 2 : 77-82.
- 38) 小曾納雅則・木村鉄也・伴 義之 2003. Sattマーカーを利用したダイズ品種（登録品種および輸入加工品）の品種識別. *育種学研究* 5（別2） : 230.
- 39) 大江夏子・田原 誠・山下裕樹・丸谷 優・蔵之内利和 2004. レトロトランスポゾンを利用したサツマイモ加工品の原料品種判定. *育種学研究* 6 : 169-177.
- 40) Pestsova, E., M.W. Ganal and M.S. Roder 2000. Isolation and mapping of microsatellite markers specific for the D genome of bread wheat. *Genome* 43: 689-697.
- 41) Perry, D.J. 2004. Identification of Canadian durum wheat varieties using a single PCR. *Theor. Appl. Genet.* 109: 55-61.
- 42) Roder, M.S., V. Korzun, K. Wendehake, J. Plaschke, M.-H. Tixier, P. Leroy and M.W. Ganal 1998. A microsatellite map of wheat. *Genetics* 149: 2007-2023.
- 43) 齋藤 彰 2004. DNAマーカーによるイグサ品種の識別. *農業および園芸* 79（1） : 168-174.
- 44) Shindo, Y., H. Kuribara, T. Matsuoka, S. Furui, C. Sawada, J. Shono, H. Akiyama, Y. Goda, M. Toyoda and A. Hino 2002. Validation of real-time PCR analyses for line-specific quantitation of genetically modified maize and soybean using new reference molecules. *J. AOAC Int.* 85: 1119-1126.
- 45) Song, Q.J., E.W. Fickus and P.B. Cregan 2002. Characterization of trinucleotide SSR motifs in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 104: 286-293.
- 46) Song, Q.J., J.R. Shi, S. Singh, E.W. Fickus, J.M. Costa, J. Lewis, B.S. Gill, R. Ward and P.B. Cregan 2005. Development and mapping of microsatellite (SSR) markers in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 110: 550-560.
- 47) 武田和義 1993. *植物遺伝育種学*. 裳華房
- 48) Taoka, K., N. Ohtsubo, Y. Fujimoto, K. Mikami, T. Meshi and M. Iwabuchi 1998. The modular structure and function of the wheat H1 promoter with S phase-specific activity. *Plant Cell Physiol.* 39(3): 294-306.
- 49) Terzi, V., M. Malnati, M. Brbanera, A.M. Stanca and P. Faccioli 2003. Development of analytical systems based on real-time PCR for Triticum species-specific detection and quantitation of bread wheat contamination in semolina and pasta. *J. Cereal Sci.* 38: 87-94.
- 50) Terzi, V., F. Infascelli, R. Tudisco, G. Russo, A. M. Stanca and P. Faccioli 2004. Quantitative detection of Secale cereal by real-time PCR amplification. *Lebensm.-Wiss. U. -Technol.* 37: 239-246.
- 51) Thiel, T., W. Michalek, R.K. Varshney and A. Graner 2003. Exploiting EST databases for the development and characterization of gene-derived SSR-markers in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theor. Appl. Genet.* 106: 411-422.
- 52) Thomas, J.O. 1999. Histon H1: Location and role. *Curr. Opin. Cell. Biol.* 11: 312-317.
- 53) Tilley, M. 2004. PCR amplification of wheat sequences from DNA extracted during milling and baking. *Cereal Chem.* 81: 44-47.
- 54) Torada, A., M. Koike, K. Mochida and Y. Ogiwara 2006. SSR-based linkage map with new markers using an intraspecific population of common wheat. *Theor. Appl. Genet.* 112: 1042-1051.
- 55) 内村要介・佐藤大和・松江勇次 2000. RAPD

- 分析による麦類の品種識別. 育種学研究 別
2 : 113.
- 56) 鶴飼保雄 2004. 植物品種における品種同定理論. 農業および園芸 79 (1) : 194-198.
- 57) Yamamoto, T., T. Kimura, J. Soejima, T. Sanada, Y. Ban and T. Hayashi 2004. Identification of quince varieties using SSR markers developed from pear and apple. Breed. Sci. 54: 239-244.
- 58) 山下裕樹・田原 誠・大山由美 2008. レトロトランスポゾンDNAマーカーを用いたアズキ品種の識別. DNA多型 16 : 82-87.
- 59) Yang, P., K. Taoka, T. Nakayama and M. Iwabuchi 1995. Structural and functional characterization of two wheat histone H2B promoters. Plant Mol. Biol. 28: 155-172.
- 60) Yu, J.-K., T.M. Dake, S. Singh, D. Benscher, W. Li, B. Gill and M.E. Sorrells 2004a. Development and mapping of EST-derived simple sequence repeat markers for hexaploid wheat. Genome 47: 805-818.
- 61) Yu, J.K., M. La Rota, R.V. Kantety and M.E. Sorrells 2004b. EST derived SSR markers for comparative mapping in wheat and rice. Mol. Genet. Genomics 271: 742-751.
- 62) Wang. H.-Y., Y.-M. Wei, Z.-H. Yan and Y.-L. Zheng 2007. EST-SSR DNA polymorphism in durum wheat (*Triticum durum* L.) collections J. Appl. Genet. 48(1): 35-42.
- 63) Wurzel, A., A. Bluth, P. Zeltz, C. Pfeifer and R. Willmund 1999. Quantitative analysis of genetically modified organisms (GMO) in processed food by PCR-based methods. Food Control 10: 385-389.
- 64) Zane, L., L. Bargelloni and T. Patarnello 2002. Strategies for microsatellite isolation: a review. Mol. Ecol. 11: 1-16.

Development of DNA Markers for Identification of Wheat Cultivars and Wheat Food Products

Yumiko FUJITA

Summary

Common wheat (*Triticum aestivum* L.) is an important food crop in Japan. Traditionally, wheat had been used in noodles but when the Japanese diet diversified after World War II, wheat products such as bread, cake, and Chinese noodles became common foods. The original Japanese wheat cultivars were unsuitable for these nontraditional flour products, and now, nearly 90% of the wheat consumed in Japan is imported. To increase self-sufficiency in agricultural production, the Japanese Government promotes wheat cultivation. As wheat production increases, users demand domestic wheat with a grain quality similar to that of imported wheat. Wheat breeding in Japan has been devoted to developing cultivars with grain qualities suited to Japanese noodles, Chinese noodles, bread, and soy sauce. As a result, a number of new cultivars have been released and have replaced the old cultivars.

Plant breeder's rights are granted to the breeder of a new cultivar in Japan under the Plant Variety Protection and Seed Law. Amendment of the law in 2005 has extended breeder's rights to include not only the propagation materials, such as seeds and seedlings, but also the harvested materials and products manufactured from the cultivar. Therefore, a reliable cultivar identification method must be developed for wheat grain and manufactured products to protect breeder's rights from unauthorized product use.

An identification method is also required to ensure proper food labeling and thereby a fair trade in wheat products. All foods distributed in Japan must follow the Government Quality Labeling Standards. The system requires proper food labeling, which includes cultivar names if they appear on the product label. However, deceptive labeling of a product is often discovered and reported because a specific cultivar is popular in the marketplace. The labeling standard system has been revised to reinforce the penalties for violations of the labeling standards and to allow the system enforcement office to disclose the violators.

In this study, we have developed some tools for identification of wheat cultivars. First, DNA was extracted from wheat food products and the condition was investigated to apply DNA markers. DNA can be extracted from wheat food products such as udon, bread and a cookie using a popular method. It was confirmed that DNA from flour was in a normal form, whereas DNA from baked food products was strongly degraded. To identify cultivars from popular wheat food products, it is necessary that the size of DNA markers in the product is less than 300 bp.

Second, EST (Expressed sequence tag) -SSR (Simple sequence repeat) markers were developed for the identification of major wheat cultivars in the Japanese market. Ten SSR markers were developed from the wheat EST database. These markers cannot occur in other crops, and the product size ranged from 143 bp to 317 bp. The genotypes of 41 domestic and 17 imported cultivars were determined using the 10 EST-SSR

markers. These markers can distinguish between domestic and imported cultivars, and can identify major domestic cultivars, e.g. 'Hokushin' and 'Norin 61'. EST-SSR markers can be used to identify cultivars from wheat food products such as noodles and bread. In addition, a polymorphism within cultivars was investigated using the 10 EST-SSR markers about 15 domestic wheat cultivars. It became clear that the polymorphism was rarely generated on these sites, and the markers have a high level of reliability as an identification tool.

The genotype of the 10 EST-SSR sites was investigated for five imported wheat brands. Each brand was characterized by its genotype, and variations among import years were detected. The marker 'TaSE3' could be used to detect the unique genotypes of foreign cultivars from the major imported wheat brands, and then identify which domestic wheat products were adulterated with imported wheat.

Third, SNPs (Single nucleotide polymorphisms) were identified from wheat genes to identify a specific cultivar, and markers were developed. A total of 169 bp of SNPs were found in six genes among the eight wheat cultivars. The polymorphism information seems to be a useful identification tool for new cultivars in the future. SNP markers were developed for the identification of the domestic wheat cultivars 'Nishinokaori', 'Haruyokoi', and 'Haruyutaka'. These cultivars are suitable for bread and Chinese noodles, and are popular in the Japanese market. It is expected that these SNP markers will be a simple and rapid tool to protect the value of these cultivars.

Fourth, an identification tool for the domestic wheat cultivar 'Sanukinoyume 2000' was developed based on SNP data. In addition, a quantitative method was constructed using a real-time PCR, and the level of reliability was estimated. 'Sanukinoyume 2000' is a popular cultivar in Kagawa Prefecture, and has been protected by the original certification system of the prefecture. The qualitative and quantitative methods are useful for verification of products made from the cultivar.

青立ちが少なく豆腐加工に適した ダイズ新品種「はつさやか」の育成

猿田正恭・高田吉丈・岡部昭典¹・菊池彰夫²・小野貞芳³・異儀田和典⁴・
酒井真次⁴・松永亮一⁵・羽鹿牧太⁶・高橋将一⁵・小松邦彦⁷

Key words：ダイズ，新品種，早生，青立ち，豆腐

目 次

I 緒 言	81	1 奨励品種決定調査における試験成績	93
II 来歴および育成経過	82	2 栽培適地	93
III 特性の概要	83	3 栽培上の留意点	93
1 形態的特性	84	V 考 察	96
2 生態的特性	84	VI 摘 要	97
3 品質特性	88	引用文献	97
IV 適地および栽培上の留意点	93	Summary	99

I 緒 言

2010年3月30日に閣議決定された新たな食料・農業・農村基本計画では、2020年度の食料自給率を熱供給量ベースで50%にすることを目標に掲げており、これにともない大豆では現在の生産量26万トンから60万トンへの拡大を目標としている。これを達成するためには、多収で生産安定性の高い新品種の育成が重要と考えられる。

現在、四国地域で主に栽培されている大豆品種「フクユタカ」は晩生で収穫が遅いため、後作の小麦の播種が遅れるなどの支障があり、現場からはより早生の大豆品種が強く望まれている。また、「サチユタカ」は、「フクユタカ」より早生なものの、収穫期になっても茎葉が枯れない、いわゆる青立ち

が発生するためコンバイン収穫に課題があり、さらに裂皮粒が多発するなど品質面でも問題を抱えている。

今回育成した「はつさやか」は、「サチユタカ」、「フクユタカ」より早生で青立ちが少なく早期に収穫可能で、裂皮粒の発生が少なく、豆腐をはじめ、味噌、煮豆、納豆用途にも良い評価を受けている。そこでこれらの優れた特性を有する「はつさやか」を近畿中国四国地域における大豆作拡大や農業振興、さらには国産大豆における生産拡大に資するため、品種登録出願を行った。この機会に本品種の特性などを報告し、普及の参考としたい。

本品種の育成にあたっては、系統適応性検定試験、特性検定試験、奨励品種決定調査および加工適性試験を担当した府県農業研究機関や民間企業に多大なご協力をいただいた。また、九州沖縄農業研究セン

(平成23年8月4日受付，平成24年1月11日受理)
農研機構 近畿中国四国農業研究センター
作物機能開発研究領域

¹ 現 農研機構 近畿中国四国農業研究センター
水田作研究領域

² 現 農研機構 東北農業研究センター

³ 元 農研機構 近畿中国四国農業研究センター

⁴ 元 九州農業試験場

⁵ 現 農研機構 九州沖縄農業研究センター

⁶ 現 農研機構 作物研究所

⁷ 現 農研機構 北海道農業研究センター

第2表 形態的特性

品種名	胚軸 アントシアニンの 着色	小葉の 形	花色	毛茸 多少	形 色	主茎長	主茎節数	分枝数	伸育型	熟莢色	粒			種皮色	臍色		
											大小	子葉色	形 光沢				
はつさやか	有	卵形	紫	中	中	白	中	中	有限	淡	中	黄	球	中	黄白	黄	
サチユタカ	有	卵形	紫	密	中	白	短	中	有限	中	やや大	黄	球	中	黄白	黄	
タマホマレ	有	卵形	紫	中	直	白	中	中	有限	中	中	黄	球	中*	黄	黄	
フクユタカ	有	卵形	紫	密	扁	白	長*	多*	中	有限	淡	やや大*	黄	球	中*	黄白	淡褐

注1) 審査基準国際統一委託事業調査報告書(2004年3月)による。原則として育成地での観察・調査に基づいて分類した。

2) 太文字は当該特性について標準品種になっていることを示す。

3) *は当該特性について標準品種になっているが、育成地での調査結果を優先させた分類区分である。

第3表 生態的特性

品種名	開花期	成熟期	生態型	最下 着莢 節位 高	裂莢の 難易	倒伏抵 抗性	病虫害抵抗性			
							ウイルス病	紫斑病	立枯性 病害	シスト センチュウ
はつさやか	やや晩	中	中間型	中	易	中	中	やや強	中	弱
サチユタカ	やや晩	やや晩	中間型	やや低	易	強	中	強	やや強	弱
タマホマレ	中	やや晩	中間型	中	中	強	中	中	中	極弱
フクユタカ	晩	晩	秋大豆型	高	中	弱*	中	強	強	極弱

注1) 審査基準国際統一委託事業調査報告書(2004年3月)による。ただし、開花期・成熟期については種苗特性分類調査報告書(1995年3月)による。原則として育成地での観察・調査に基づいて分類したが、一部の特性については特性検定試験成績などを参考にした。

2) 太文字は当該形質について標準品種になっていることを示す。

3) *は当該特性について標準品種になっているが、育成地での調査結果を優先させた分類区分である。

域での普及を図るため、2011年4月に「はつさやか」の名称で品種登録出願を行った。育成終了の世代はF16である。育成従事者については、付表の通りである。

なお、「はつさやか」(英語表記:Hatsusayaka)の品種名は、近畿中国四国農業研究センターに大豆育種拠点が設置されてから初めてとなる品種で、青立ちが少なく、成熟期の落葉が斉一できれいなことから命名した。

Ⅲ 特性の概要

「はつさやか」と近畿中国四国地域で栽培されている代表的な比較・標準品種の主要な形態的特性を第2表に、生態的特性を第3表に、品質特性を第4表に示した。いずれの特性も審査基準国際統一委託事業調査報告書(2004)⁴⁾に従い、原則として育成

第4表 品質特性

品種名	粗蛋白質 含有率	粗脂肪 含有率	裂皮の 難易	品質
はつさやか	高	中	難	中の上
サチユタカ	高	中	易	中
タマホマレ	低*	高*	難	中*
フクユタカ	中*	中*	易	中の上*

注1) 子実成分は、審査基準国際統一委託事業調査報告書(2004年3月)による。

原則として育成地での観察・調査に基づいて分類した。

2) 太文字は当該形質について標準品種になっていることを示す。

3) *は当該特性について標準品種になっているが、育成地での調査結果を優先させた分類区分である。

地での調査結果に基づいて分類した。育成地における水田転換畑での生産力検定試験6月播を第5表に、7月播を第6表に示した。

第5表 生産力検定試験成績 (水田転換畑・6月播)

品種名	開成		生育中の障害 ³⁾				主茎長 (cm)	主茎節数 (節)	分枝数 (本)	最下着莢節位 (cm)	全重 (kg/a)	子 ²⁾ 実重 (kg/a)	標準対比 (%)	百粒重 (g)	粒の障害 ³⁾				品質 ⁴⁾	
	花	熟	蔓倒	ウイ	立青	紫									褐	裂	し			
	期	期	化	伏	ス	枯	立	長	数	数	高	重	重	比	重	斑	斑	皮	わ	質
	(月,日)																			
はつさやか	7.28	10.24	無	少	無	無	微	63	15.3	4.8	14.5	69.3	31.7 (32.5)	95 (100)	29.2	微	無	微	無	中上
サチユタカ(標準)	7.28	10.28	無	微	無	無	少	52	14.3	3.9	13.1	72.0	33.3 (32.5)	100 (100)	30.9	無	無	少	無	中中
タマホマレ	7.24	10.31	無	微	無	無	少	54	14.8	4.6	13.3	77.4	36.1 (35.3)	108 (109)	28.0	微	無	少	無	中中
フクユタカ	8.05	11.06	無	多	無	無	少	78	18.5	4.6	17.8	84.9	35.6 (37.0)	107 (114)	31.4	無	無	中	無	中上

注1) 2004~2010年の7ヶ年の平均。

2) 2010年は試験区により早魁の影響が大きく、特に早生群では影響が大きかった。子実重の平均の()内は同年を除く値を示す。

3) 障害の程度は、無(0)、微(1)、少(2)、中(3)、多(4)、甚(5)の6段階評価。

4) 品質は、上上(1)、上中(2)、上下(3)、中上(4)、中中(5)、中下(6)、下(7)の7段階評価。

5) 試験条件は、畦間70cm、株間13cm、1株1本立て、1区面積8.4㎡、2反復で行った。

第6表 生産力検定試験成績 (水田転換畑・7月播)

品種名	開成		生育中の障害 ³⁾				主茎長 (cm)	主茎節数 (節)	分枝数 (本)	最下着莢節位 (cm)	全重 (kg/a)	子 ²⁾ 実重 (kg/a)	標準対比 (%)	百粒重 (g)	粒の障害 ³⁾				品質 ⁴⁾	
	花	熟	蔓倒	ウイ	立青	紫									褐	裂	し			
	期	期	化	伏	ス	枯	立	長	数	数	高	重	重	比	重	斑	斑	皮	わ	質
	(月,日)																			
はつさやか	8.22	11.05	無	微	無	無	少	50	12.8	5.7	11.1	64.2	31.6 (32.1)	95 (99)	30.1	無	無	微	無	上下
サチユタカ(標準)	8.21	11.07	無	微	無	無	少	45	13.1	4.6	11.6	65.8	33.4 (32.2)	100 (100)	31.3	無	無	少	無	中上
タマホマレ	8.21	11.07	無	微	無	無	微	51	14.0	5.3	13.9	71.1	37.2 (35.8)	111 (111)	26.8	無	無	微	無	中上
フクユタカ	8.26	11.11	無	少	無	無	微	56	14.7	5.1	13.5	74.7	37.6 (37.0)	113 (115)	30.6	無	無	少	無	中上

注1) 2004~2010(2008除く)年の6ヶ年の平均。2008年は早魁による著しい出芽不良のため試験を中止した。

2) 2010年は試験区により早魁の影響が大きく、特に早生群では影響が大きかった。子実重の平均の()内は同年を除く値を示す。

3) 障害の程度は、無(0)、微(1)、少(2)、中(3)、多(4)、甚(5)の6段階評価。

4) 品質は、上上(1)、上中(2)、上下(3)、中上(4)、中中(5)、中下(6)、下(7)の7段階評価。

5) 試験条件は、畦間70cm、株間13cm、1株1本立て、1区面積8.4㎡、2反復で行った。

1 形態的特性

胚軸のアントシアニンの着色は“有”，花色は“紫”，小葉の形は“卵形”，毛茸の色は“白”で、その多少は“中”である。主茎長は6月播において63cmで「サチユタカ」より10cm程度長く、「フクユタカ」より15cm程度短いことから“中”，主茎節数は15.3で「サチユタカ」と同程度であることから“中”，分枝数は4.8で「サチユタカ」よりやや多いものの、「サチユタカ」と同じ“中”に区分される。伸育型は“有限”であり、熟莢色は“淡”である。

百粒重は29.2gで、粒の大小は「サチユタカ」より小さい“中”である。子実の幅/長さおよび厚さ/幅の比はそれぞれ0.92, 0.86であり、粒形は“球”である(第7表)。子葉色は“黄”，種皮色は“黄白”，臍色は“黄”，粒の光沢は“中”で、いずれも「サチユタカ」と同様である。

2 生態的特性

1) 早晚性および収量性

「はつさやか」の開花期は6月播において7月28

第7表 粒形調査成績（育成地）

品種名	栽培条件	長さ (mm)	幅 (mm)	厚さ (mm)	幅/長さ	厚さ/幅	判定
はつさやか	6月播	8.81	8.10	6.99	0.92	0.86	球
	7月播	8.49	8.04	7.06	0.95	0.88	球
サチユタカ	6月播	8.95	8.01	6.96	0.89	0.87	球
	7月播	8.90	8.03	6.96	0.90	0.87	球
タマホマレ	6月播	8.41	7.84	6.93	0.93	0.88	球
	7月播	8.11	7.61	6.78	0.94	0.89	球
フクユタカ	6月播	9.19	8.35	7.31	0.91	0.88	球
	7月播	8.79	8.05	7.05	0.92	0.88	球

注1) 2009～2010年の2ヶ年平均。6月播，7月播とも2区各20粒を調査した。

2) 粒形の分類基準は以下のとおりである。

球：幅/長さが0.85以上で，厚さ/幅比が0.85以上

扁球：幅/長さが0.85以上で，厚さ/幅比が0.84以下

楕円体：幅/長さが0.84以下で，厚さ/幅比が0.85以上

扁楕円体：幅/長さが0.84以下で，厚さ/幅比が0.84以下

第8表 ウイルス病抵抗性検定試験成績（山形県農業総合研究センター）

品種名	生育期調査			褐斑粒調査			判定	既往の評価
	発病株率 (%)	発病度	判定	褐斑粒率 (%)	発病度	判定		
はつさやか	50.0	13.8	強	2.3	0.8	強	強	
奥羽3号	100.0	61.3	弱	24.0	13.3	強		中
農林4号	80.0	27.5	中	17.7	7.8	強		弱
ネマシラズ	55.0	16.3	強	3.7	1.5	強		強
ふくせんなり	65.0	17.5	強	0.0	0.0	極強		強
デワムスメ	25.0	6.3	強	2.7	1.7	強		強

注1) 2003年の試験成績。

2) 試験は抵抗性が弱の「ダルマサリ」の褐斑種子を一定間隔で栽培し発病を促した圃場で実施。

3) 生育期調査

発病度はA：無病徴，B：病徴が判然としない，C：軽微なモザイク症状，D：縮葉症状が中程度，E：縮葉症状が甚だしい，F：縮葉症状が著しく生育が抑制，で判定し，発病度 = $(C + 2D + 3E + 4F) / 4 (A + B + C + D + E + F) \times 100$ とした。

ここでA, B, C, D, E, Fは該当する病徴を示した株数

4) 褐斑粒調査

発病度はA：褐斑がまったくみられない，B：僅かに褐斑を有する，C：一見してわかる程度の褐斑を有する，D：臍の大きさ程度の褐斑を有する，E：それ以上，で判定し，発病度 = $(B + 2C + 3D + 4E) / 4 (A + B + C + D + E) \times 100$ とした。

ここでA, B, C, D, E, Fは該当する病徴を示した粒数

5) 判定 発病度 0：極強，0.1～20：強，20.1～50：中，50.1～80：弱，80.1～：極弱。

日で、「サチユタカ」と同程度、「フクユタカ」より1週間程度早く“やや晩”である。成熟期は10月24日で「サチユタカ」より4日程度、「フクユタカ」より2週間程度早く“中”である。以上より生態型は、「サチユタカ」と同じ中間型に分類される。子実の収量は，2004年から2009年の平均で6月播32.5kg/a，7月播32.1kg/aで，標準の「サチユタカ」対比で各々100，99であり，「サチユタカ」と同程度で“中”である。

2) 病害虫抵抗性

(1) ウイルス病抵抗性

山形県農業総合研究センター（以下，山形）および長野県中信農業試験場（現，長野県野菜花き試験場，以下，長野）での圃場におけるダイズウイルス病抵抗性検定試験の結果，「はつさやか」は山形では“強”，長野では“中”と判定される（第8表，第9表）。また，育成地におけるダイズモザイクウイルス病原系統別の人工接種試験の結果，「はつさ

第9表 ウイルス病抵抗性検定試験成績 (長野県中信農業試験場)

品種名	生育期調査		褐斑粒調査			判定	既往の 評価
	発病株率 (%)	単年度 判定	褐斑粒率 (%)	発病度	単年度 判定		
はつさやか	67.9	極弱	49.3	34.9	中	中	
農林2号	28.6	中	78.8	73.2	弱		弱
タチナガハ	11.1	強	49.2	33.2	中		中
ふくせんなり	14.3	強	0.3	0.3	強		強
ギンレイ	0.0	極強	0.5	0.1	強		強

- 注1) 2004年の試験成績。
 2) 試験は褐斑を呈した「エンレイ」の種子を一定間隔で栽培して発病を促した圃場で実施。
 3) 生育期調査
 発病度, 抵抗性判定は第8表に準じる。調査株数は25~28株。判定は発病度による。
 4) 褐斑粒調査
 発病度, 抵抗性判定は第8表に準じる。

第10表 ダイズモザイクウイルス病原系統別抵抗性検定試験成績 (育成地)

品種名	ダイズモザイクウイルス病原系統					
	A ₁	B	A ₂	C	D	E
はつさやか	R	R	S	S	S	S
サチユタカ	R	R	S	S	S	S
エンレイ	R	R	R	S	S	S
タマホマレ	R	R	R	S	S	S
フクユタカ	R	R	S	S	S	S

- 注1) 2005年に実施した病原系統別の人工接種による結果であり, Rは抵抗性, Sは感受性を示す。
 2) 「エンレイ」, 「タマホマレ」は温暖地において, A, B系統に対して抵抗性, C, D, E系統に対して感受性の標準品種である。
 3) 抵抗性判定: 発病個体率 0~10%: R, 11~30%: (R), 31~50%: (S), 51~100%: S

やか」はA₁, B系統に対して抵抗性, A₂, C, D, E系統に対しては感受性である (第10表)。以上の結果を総合的に判断すると, 「はつさやか」のウイルス病抵抗性は“中”である。

(2) ダイズシストセンチュウ抵抗性

長野におけるダイズシストセンチュウ抵抗性検定試験の結果, 「はつさやか」のダイズシストセンチュウ抵抗性は, シスト着生指数が“強”の指標品種「PI88788」より高く, “弱”の比較品種「ネマシラズ」と同程度であることから“弱”である (第11表)。

(3) 紫斑病抵抗性

福島県農業総合センター会津地域研究所における紫斑病抵抗性検定試験の結果, 「はつさやか」の紫斑病抵抗性は, 発病粒率が“やや強”の指標品種

第11表 ダイズシストセンチュウ抵抗性検定試験成績 (長野県中信農業試験場)

品種名	2003年		2004年		判定
	シスト着生指数	抵抗性	シスト着生指数	抵抗性	
はつさやか	100.0	弱	100.0	弱	弱
ネマシラズ(比較品種)	100.0	弱	89.0	弱	弱
PI88788(指標品種)	57.0	強	33.0	強	強
Peking(指標品種)	0.0	極強	0.0	極強	極強

- 注1) 試験はダイズシストセンチュウ汚染土壌をプランターに充填して実施。
 2) 根の雌成虫の着生密度を, 0 (無) ~ 4 (甚) の階級値で表し, 以下の式により, シスト着生指数を算出した。

$$\text{シスト着生指数} = \frac{\sum (\text{階級値} \times \text{該当個体数}) \times 100}{4 \times \text{個体数}}$$

- 3) 抵抗性は指標品種のシスト着生指数との比較により判定した。
 4) 「ネマシラズ」は“弱”, 「PI88788」は“強”, 「Peking」は“極強”の指標品種である。

第12表 紫斑病抵抗性検定試験成績（福島県農業総合センター会津地域研究所）

品種名	2003年		2004年		2009年	
	発病粒率(%)	判定	発病粒率(%)	判定	発病粒率(%)	判定
はつさやか	6.3	中	14.5	やや強	6.7	強
赤茨(長野)	0.2	強	0.7	強	0.7	強
タマヒカリ	3.3	やや強	5.2	やや強	7.7	やや強
スズユタカ	5.4	中	12.8	中	6.1	中
エンレイ	5.1	中	20.3	中	11.1	中

注1) 試験は標播では自然感染，晩播では発病種子の散布と冠水により発病を促した圃場で実施。

2) 判定は任意に抽出した100gの子実について発病粒率を調査し，指標品種の発病粒率より判定の分類基準を設定。表中の発病粒率は標播と晩播の平均値。

2003年の判定の分類基準 0.0～0.1：極強，0.2～3.2：強，3.3～5.2：やや強，5.3～9.9：中，10.0～19.9：やや弱，20.0～：弱（単位％）。

2004年の判定の分類基準 0.0～0.7：極強，0.8～5.1：強，5.2～16.6：やや強，16.7～24.9：中，25.0～39.9：やや弱，40.0～：弱（単位％）。

2009年の判定の分類基準 0.0～0.7：極強，0.8～7.6：強，7.7～11.0：やや強，11.1～14.9：中，15.0～39.9：やや弱，40.0～：弱（単位％）。

3) 「赤茨（長野）」は“強”，「タマヒカリ」は“やや強”，「スズユタカ」と「エンレイ」は“中”の指標品種である。

第13表 立枯性病害抵抗性検定試験成績（岩手県農業研究センター）

品種名	発病株率(%)	平均発病度	同一株内Harosoy比	判定	既往の評価
はつさやか	98.8	2.45	0.805	中	
スズカリ	98.4	2.41	0.786		やや強
ナンブシロメ	100.0	2.76	0.927		弱

注1) 2003, 2004, 2009年の平均

2) 検定は連作により黒根腐病の発生を高めた圃場で実施。

3) 1株に供試品種・系統と「Harosoy」を混植し，「Harosoy」が罹病した株だけを調査対象とした。

4) 発病度は，0：発病無し，1：地際部に褐変が認められる，2：褐変が地際部全体を取り巻いている，3：褐変が地際部を中心に長く伸びている，4：主根が腐朽，5：枯死とする階級値を個体毎に与え，下式によって算出した。

$$\text{発病度} = \{ \sum (\text{階級値} \times \text{該当株数}) / (\text{全調査株数} \times 5) \} \times 100$$

5) 同一株内「Harosoy」対比は，同一株内の「Harosoy」の発病度に対する供試系統の発病度として算出し，この値について指標品種により判定の分類基準を設定。

6) 判定は以下の基準により行った。

2003年の判定基準 強：0.75未満，やや強：0.75以上0.80未満，中：0.80以上0.85未満，やや弱：0.85以上0.90未満，弱：0.90以上

2004年の判定基準 強：0.70未満，やや強：0.70以上0.80未満，中：0.80以上0.90未満，やや弱：0.90以上0.95未満，弱：0.95以上

2009年の判定基準 強：0.75未満，やや強：0.75以上0.785未満，中：0.785以上0.833未満，やや弱：0.833以上0.909未満，弱：0.909以上

7) 「ナンブシロメ」は“弱”，「スズカリ」は“やや強”の指標品種である。

「タマヒカリ」と同程度であることから“やや強”である(第12表)。

(4) 大豆立枯性病害抵抗性

岩手県農業研究センターにおける大豆立枯性病害抵抗性検定試験の結果、「はつさやか」の大豆立枯性病害抵抗性は、“やや強”の指標品種「スズカリ」より発病度の同一株内「Harosoy」比が高く、“弱”の指標品種「ナンブシロメ」より低いことから“中”である(第13表)。

3) 機械化適性

「はつさやか」の最下着莢節位高は、6月播で14.5cm、7月播で11.1cmであり、「サチユタカ」に比較して6月播ではやや高く、7月播では同程度であることから“中”である(第5表、第6表)。

「はつさやか」の裂莢の難易は、熱風乾燥処理(土屋・砂田 1978)⁸⁾による裂莢性検定試験の結果、「サチユタカ」と同程度の裂莢率であることから“易”である(第14表)。

「はつさやか」の耐倒伏性は、“強”の「サチユタカ」より倒伏しやすく、“弱”の「フクユタカ」より倒伏しにくいことから“中”である(第5表)。

「はつさやか」の青立ちの難易は、6月播では「サチユタカ」より青立ちの発生が少ないことから“微”で、7月播では「サチユタカ」並であることから“少”である(第5表、第6表、第15表)。

3 品質特性

1) 粒の外観品質および子実成分

「はつさやか」の粒度分布は、7.3mmの篩上に2009年、2010年の6月播および7月播の各試験で70%以上の子実が残ることから“中粒規格”に分類される(第16表)。

「はつさやか」の裂皮の難易は、2006年から2009年の4ヶ年平均の裂皮粒率で、“易”の「サチユタカ」が10.8%、“難”の指標品種「エンレイ」が7.3%に対して、「はつさやか」が6.8%であることから“難”である(第17表)。

「はつさやか」の粗蛋白質含有率は、6月播44.6%、7月播46.0%で、「サチユタカ」並の“高”で、粗脂肪含有率は、6月播20.1%、7月播18.2%で、「サチユタカ」と同程度の“中”である(第18表)。

第14表 熱風乾燥処理による裂莢率の調査成績(育成地)

品種名	裂莢率(%)		判定	既往の評価
	1時間処理	2時間処理		
はつさやか	59.3	87.0	易	
サチユタカ	53.8	84.6		易
タマホマレ	38.8	73.4		中
フクユタカ	40.3	77.6		中

注1) 2006~2010年の平均。6月播栽培の莢を1区あたり100莢、2反復調査。
 2) 熱風乾燥処理は60℃で行った。
 3) 「タマホマレ」、「フクユタカ」は“中”の標準品種である。

第15表 6月播における青立ち程度(生産力検定試験, 育成地)

品種名	年次	開花期 (月.日)	成熟期 (月.日)	青立ち 程度	判定
はつさやか	2005	7.26	10.20	0.0	
	2006	7.30	10.17	0.0	
	2007	7.27	10.23	0.0	
	2008	7.26	11.01	3.5	
	2009	8.04	10.20	0.0	
	平均	7.29	10.22	0.7	微
サチユタカ	2005	7.23	10.27	0.0	
	2006	7.29	10.20	2.0	
	2007	7.28	10.29	2.0	
	2008	7.25	11.03	4.5	
	2009	8.04	10.25	1.5	
	平均	7.28	10.27	2.0	少
あやこがね	2005	7.18	10.15	3.5	
	2006	7.22	10.14	1.0	
	2007	7.21	10.22	4.5	
	2008	7.18	10.25	5.0	
	2009	7.27	10.11	1.0	
	平均	7.21	10.17	3.0	中
エンレイ	2005	7.18	10.13	4.5	
	2006	7.22	10.17	5.0	
	2007	7.21	10.27	5.0	
	2008	7.18	10.25	5.0	
	2009	7.27	10.12	3.0	
	平均	7.21	10.19	4.5	多~甚
タチナガハ	2005	7.19	10.18	5.0	
	2006	7.23	10.21	5.0	
	2007	7.24	10.25	5.0	
	2008	7.18	11.03	5.0	
	2009	7.28	10.20	4.0	
	平均	7.22	10.24	4.8	甚
オオツル	2005	7.21	10.24	5.0	
	2006	7.27	10.18	3.0	
	2007	7.26	10.27	4.0	
	2008	7.23	11.06	5.0	
	2009	8.02	10.19	1.5	
	平均	7.26	10.25	3.7	多
タマホマレ	2005	7.21	10.30	2.5	
	2006	7.26	10.20	0.0	
	2007	7.25	10.32	3.5	
	2008	7.22	11.09	5.0	
	2009	8.01	10.26	1.0	
	平均	7.25	10.30	2.4	少~中

注1) 青立ち程度は、無(0)、微(1)、少(2)、中(3)、多(4)、甚(5)の6段階評価。
 2) 各年次とも2反復の調査を行った。

第16表 子実の粒度分布（生産力検定試験，6月播および7月播）

品種名	栽培条件	年次	篩い目の大きさ別分布(重量比%)									百粒重(g)
			6.0mm以下	6.1mm~6.6mm	6.7mm~7.2mm	7.3mm~7.9mm	7.9mm~8.4mm	8.5mm~9.0mm	9.1mm以上	7.3mm以上	7.9mm以上	
はつさやか	6月播	2009	0.0	0.0	0.4	18.6	63.8	16.9	0.3	99.6	81.1	30.4
		2010	0.5	1.7	6.2	25.9	54.0	11.8	0.0	91.7	65.8	32.6
		平均	0.3	0.9	3.3	22.2	58.9	14.4	0.1	95.7	73.4	31.5
	7月播	2009	0.0	0.0	0.3	41.5	55.5	2.5	0.1	99.7	58.2	28.7
		2010	0.1	0.3	2.0	16.9	74.0	6.9	0.0	97.8	80.9	34.4
		平均	0.1	0.2	1.2	29.2	64.8	4.7	0.1	98.7	69.5	31.6
総平均			0.2	0.5	2.2	25.7	61.8	9.5	0.1	97.2	71.5	31.5
サチユタカ	6月播	2009	0.0	0.0	1.2	96.5	2.3	0.0	98.8	2.3	29.0	
		2010	0.1	0.3	1.5	21.2	66.4	10.6	0.0	98.2	77.0	32.3
		平均	0.1	0.2	1.4	58.8	34.3	5.3	0.0	98.5	39.7	30.7
	7月播	2009	0.0	0.0	8.5	42.5	46.3	2.7	0.0	91.5	49.0	28.3
		2010	0.0	0.2	0.8	9.6	64.9	24.7	0.0	99.2	89.6	34.8
		平均	0.0	0.1	4.7	26.1	55.6	13.7	0.0	95.3	69.3	31.6
総平均			0.0	0.1	3.0	42.4	45.0	9.5	0.0	96.9	54.5	31.1
タマホマレ	6月播	2009	0.0	0.0	0.0	50.1	48.8	1.2	0.0	100.0	49.9	29.2
		2010	0.1	0.6	5.4	42.5	49.1	2.4	0.0	94.0	51.5	31.4
		平均	0.1	0.3	2.7	46.3	48.9	1.8	0.0	97.0	50.7	30.3
	7月播	2009	0.0	0.0	8.2	65.6	25.6	0.5	0.0	91.8	26.2	26.6
		2010	0.9	0.2	2.0	50.8	47.1	0.1	0.0	98.0	47.2	30.3
		平均	0.5	0.1	5.1	58.2	36.4	0.3	0.0	94.9	36.7	28.5
総平均			0.3	0.2	3.9	52.3	42.7	1.0	0.0	95.9	43.7	29.4
フクユタカ	6月播	2009	0.0	0.0	0.0	1.2	50.9	46.1	1.8	100.0	98.8	34.7
		2010	0.1	1.8	5.2	13.2	49.3	30.3	0.3	93.1	79.9	35.5
		平均	0.1	0.9	2.6	7.2	50.1	38.2	1.0	96.6	89.3	35.1
	7月播	2009	0.0	0.0	6.6	25.7	46.4	21.0	0.3	93.4	67.7	30.7
		2010	0.1	0.2	2.9	18.4	70.3	8.1	0.2	97.0	78.6	33.0
		平均	0.1	0.1	4.8	22.1	58.3	14.5	0.3	95.2	73.1	31.9
総平均			0.1	0.5	3.7	14.6	54.2	26.4	0.7	95.9	81.2	33.5

注1) 6月播，7月播とも2区各500gを調査した。
2) 2009年はダニ被害により全般に小粒化した。

第17表 裂皮検定試験成績（育成地）

品種名	試験年次	裂皮比率(%)	判定	既往の評価
はつさやか	2006	6.5	難	
	2007	16.5		
	2008	0.0		
	2009	4.0		
	平均	6.8		
サチユタカ	2006	10.5	易	
	2007	21.5		
	2008	10.5		
	2009	0.5		
	平均	10.8		
エンレイ	2006	7.0	難	
	2007	16.5		
	2008	0.0		
	2009	5.5		
	平均	7.3		
タマホマレ	2006	8.5	難	
	2007	12.0		
	2008	0.0		
	2009	7.5		
	平均	7.0		
フクユタカ	2006	37.5	易	
	2007	30.0		
	2008	0.5		
	2009	2.5		
	平均	17.6		

注1) 6月播で標準栽培を行った材料を供試し，100粒2反復の調査を行った。
2) 「エンレイ」は「難」の標準品種である。

第18表 子実成分調査成績（育成地）

品種名	粗蛋白質含有率(%)		粗脂肪含有率(%)		全糖含有率(%)	
	6月播	7月播	6月播	7月播	6月播	7月播
はつさやか	44.6	46.0	20.1	18.2	20.6	21.6
サチユタカ	45.2	47.2	19.5	18.0	21.0	21.6
タマホマレ	40.3	41.7	20.6	19.6	23.0	23.1
フクユタカ	43.9	45.5	20.3	19.2	21.0	21.3

注1) 標準播，晩播ともに水田転換畑において栽培した。
2) 標準播は2004年～2010年の7ヶ年平均，晩播は2004年～2010年（2008年除く）の6ヶ年平均，2008年は早魃のため出芽不良となり，調査できなかった。
3) 近赤外分光分析法による（乾物あたり%）。窒素-蛋白質変換係数は6.25。

2) 加工適性

(1) 豆腐加工適性

「はつさやか」の育成地における豆腐破断応力は，「サチユタカ」および「フクユタカ」より高い値を示し，硬くしっかりした豆腐ができると評価された（第19表）。また，国産大豆協議会品質評価分科会におけるA社の豆腐加工適性試験では，「はつさやか」の豆乳は，豆乳固形分，粗蛋白質が高く，豆乳粘度は高かった。また，「はつさやか」の豆腐破断応力

第19表 豆腐加工適性試験成績 (育成地)

品種名	原料大豆								豆腐破断応力 ($\times 10^3$ Pa)	
	百粒重(g)		粗蛋白質含量(%)		粗脂肪含量(%)		全糖含量(%)			
	2005	2006	2005	2006	2005	2006	2005	2006	2005	2006
はつさやか	24.7	28.8	43.3	45.8	21.1	19.0	20.8	21.4	4.62	10.27
サチユタカ	29.4	32.4	43.8	45.1	20.2	19.1	21.5	21.6	3.91	6.33
フクユタカ	-	30.7	-	42.9	-	20.5	-	21.5	-	7.79

注) 両年次とも育成地産の10gの原料大豆を6倍加水に浸漬後、加熱絞りにより豆乳を抽出し、凝固剤は塩化マグネシウム 0.25%を用いて充填豆腐を作成した。

第20表 豆腐加工適性試験成績 (国産大豆協議会品質評価分科会 A社)

ア) 豆乳

品種名	豆乳抽出率 (%)	豆乳固形分 (%)	粗蛋白質 (%)	粘度 (mPa·s)	色調		
					L*	a*	b*
はつさやか	77.5	10.07	4.93	47.0	78.0	-1.7	13.0
フクユタカ	78.3	9.95	5.01	14.7	77.5	-1.5	12.4
サチユタカ	79.8	9.88	4.99	14.0	78.3	-1.8	12.7
A社基準		≥ 9.8	≥ 4.5		≥ 78		

注1) 原料大豆の「フクユタカ」(標準)は2003年福岡県産、その他は2003年育成地産。

2) 豆乳加工試験方法はA社の常法による。

3) 色調は、L* (明るさ、値が大きいほど明るい)、a* (+側ほど赤味が強く、-側ほど緑味が強い)、b* (+側ほど黄味が強く、-側ほど青味が強い)。

イ) 豆腐

品種名	GDL		硫酸カルシウム		塩化マグネシウム	
	破断応力 (g/cm ²)	pH	破断応力 (g/cm ²)	pH	破断応力 (g/cm ²)	pH
はつさやか	80	5.95	107	6.20	71	6.48
サチユタカ	65	6.04	109	6.21	39	6.50
フクユタカ	86	6.02	109	6.18	64	6.43
A社基準	≥ 90		≥ 90		≥ 60	

注1) 原料大豆の「フクユタカ」(標準)は2003年福岡県産、その他は2003年育成地産。

2) 豆腐加工試験方法はA社の常法による。

3) 凝固剤濃度は、GDL (グルコノデルタラクトン):0.25%、硫酸カルシウム (すましこ):0.40%、塩化マグネシウム (6水和物):0.25%

は、凝固剤としてGDLおよび塩化マグネシウムを用いた場合で「サチユタカ」より高く、いずれの凝固剤においても標準品種の「フクユタカ」並み以上であった。官能評価はしっかりとした食感で、甘み、コクが感じられると評価された(第20表)。また、T社における豆腐の官能評価試験では、「はつさやか」は食感、風味とも「サチユタカ」を上回ると評価された(第21表)。

(2) 味噌加工適性

国産大豆協議会品質評価分科会におけるC味噌研

第21表 豆腐加工適性 (官能評価) 試験成績 (T社)

品種名	加工豆腐の官能評価結果
はつさやか	食感(凝固)が良い。コクがあり、美味しい。
サチユタカ	凝固にムラがある。コクはあるが、味はあまりない。

注1) 原料大豆は2003年育成地産。

2) 豆腐加工試験方法はT社の常法による。

研究所の味噌加工適性試験の結果、「はつさやか」は官能評価において、淡色系味噌では特に色が優れ、その他の項目でも標準品種の「トヨコマチ」並以上で、総合評価でも標準品種より優れる評価であった。

第22表 味噌加工適性試験成績（国産大豆協議会品質評価分科会 C味噌研究所）

ア) 蒸煮大豆試験成績

品種名	浸漬後重量増加比(倍)	蒸煮後重量増加比(倍)	蒸煮大豆			蒸煮大豆の色調		
			水分(%)	硬さ(g)	変動係数(%)	L*	a*	b*
はつさやか	2.43	2.17	60.0	582	9.1	35.31	0.388	0.384
トヨコマチ (淡色系標準)	2.42	2.16	60.0	579	14.2	32.06	0.389	0.381
エンレイ (赤色系標準)	2.36	2.17	62.5	596	9.7	34.51	0.392	0.387

注1) 原料大豆の「はつさやか」は育成地の2006年産, 「トヨコマチ」は北海道, 「エンレイ」は新潟県の2006年産。

2) 蒸煮試験はC味噌研究所の常法により行った。

3) 色調は, L*:明度, a*:赤味, b*:黄味の程度を示す。

イ) 味噌官能評価結果

品種名	淡色系味噌					赤色系味噌				
	色	香り	味	組成	総合	色	香り	味	組成	総合
良い(人)	28	13	14	6	24	6	8	5	2	8
同じ(人)	4	18	17	23	7	19	20	23	26	18
悪い(人)	1	2	2	4	2	8	5	5	5	7

注1) 味噌加工試験はC味噌研究所の常法により行った。

2) 蒸煮試験はC味噌研究所の常法により行った。

3) 官能評価方法: 淡色系味噌では「トヨコマチ」, 赤色系味噌では「エンレイ」を標準として「良い」, 「同じ」, 「悪い」の3段階で評価し, 各評価の人数で示した(総数33人)。

第23表 煮豆加工適性試験成績（国産大豆協議会品質評価分科会 K社）

ア) 煮豆

品種名	原料		製造			
	百粒重(g)	不良粒率(%)	原料使用量(g)	仕上がり製品糖度(%)	製品収量(g)	包装前選別除去率(%)
はつさやか	34.2	5.5	400	29.0	842	—
トヨムスメ	37.2	10.0	750	27.0	1505	—

品種名	製品評価							
	色沢(悪1-良5)	光沢(悪1-良5)	香り(悪1-良5)	舌触り(ざらつく1-滑らか5)	豆の硬さ(軟1-硬5)	皮残り(悪1-良5)	味(悪1-良5)	総合(悪1-良5)
はつさやか	3.5	3.0	3.0	2.5	3.0	3.0	3.0	3.0
トヨムスメ	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0

イ) 昆布豆

品種名	原料		製造			
	百粒重(g)	不良粒率(%)	原料使用量(g)	仕上がり製品糖度(%)	製品収量(g)	包装前選別除去率(%)
はつさやか	34.2	5.5	400	37.0	860	—
トヨムスメ	37.2	10.0	750	36.0	1491	—

品種名	製品評価							
	色沢(悪1-良5)	光沢(悪1-良5)	香り(悪1-良5)	舌触り(ざらつく1-滑らか5)	豆の硬さ(軟1-硬5)	皮残り(悪1-良5)	味(悪1-良5)	総合(悪1-良5)
はつさやか	3.5	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
トヨムスメ	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0

注1) 「はつさやか」は2007年育成地産, 「トヨムスメ」は2007年北海道産(標準)。

2) 加工試験方法はK社常法による。

3) 製品評価方法: 標準サンプル(「トヨムスメ」)の評価を3とした5段階評価(1:悪~5:良)。

赤色系味噌では各項目とも標準品種の「エンレイ」並で、総合評価でも標準品種並みの評価であった(第22表)。

(3) 煮豆加工適性

国産大豆協議会品質評価分科会におけるK社の煮豆加工適性試験の結果、「はつさやか」はやや小粒であるが、製品評価の色沢、味などの各項目で標準の「トヨムスメ」と同等であり、煮豆加工に適する

と評価された(第23表)。また、同品質評価分科会におけるF社の煮豆加工適性試験の結果、「はつさやか」は標準品種「トヨムスメ」を上回る製品収量であった。製品の色調は明るめで、色沢、光沢の評価は標準品種並に良好で、風味、テクスチャーなども標準品種並以上と評価された(第24表)。

(4) 納豆加工適性

国産大豆協議会品質評価分科会におけるI県工業

第24表 煮豆加工適性試験成績(国産大豆協議会品質評価分科会 F社)

品種名	原料		製造			
	百粒重 (%)	不良粒率 (%)	原料 使用量 (g)	仕上がり 製品糖度 (%)	製品収量 (g)	包装前選 別除去率 (%)
はつさやか	25.4	1.4	600	30.0	1403	0.2
トヨムスメ	37.3	5.4	600	29.5	1347	2.1

品種名	製品評価							
	色沢 (悪1-良5)	光沢 (悪1-良5)	香り (悪1-良5)	舌触り (ざらつく1-滑らか5)	豆の硬さ (軟1-硬5)	皮残り (悪1-良5)	味 (悪1-良5)	総合 (悪1-良5)
はつさやか	3.3	3.1	3.0	2.9	3.1	3.2	3.0	3.1
トヨムスメ	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0

注1) 「はつさやか」は2004年育成地産, 「トヨムスメ」は2004年北海道産(標準)。

2) 加工試験方法はF社常法による。

3) 製品評価方法: 標準サンプル(「トヨムスメ」)の評価を3とした5段階評価(1:悪~5:良)。

第25表 納豆加工適性試験成績(国産大豆協議会品質評価分科会 I県工業技術センター)

ア) 蒸煮大豆

品種名	浸漬比 (倍)	蒸煮比 (倍)	硬さ(g)				色調		
			平均	最大値	最小値	変動係数	L*	a*	b*
はつさやか	2.30	2.14	167.5	206.5	129.1	10.2	56.9	2.7	13.4
ナカセンナリ	2.27	2.11	174.9	234.4	113.1	12.8	55.4	3.3	13.7

イ) 納豆

品種名	硬さ(g)				色調		
	平均	最大値	最小値	変動係数	L*	a*	b*
はつさやか	137.1	181.9	96.4	15.1	57.5	2.6	13.8
ナカセンナリ	102.2	152.7	72.2	17.8	56.8	3.0	12.7

ウ) 官能評価

品種名	豆の色	香り	硬さ	味	糸引き	総合評価
はつさやか	3.3	3.1	2.3	2.6	2.9	2.8
ナカセンナリ	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0

注1) 「はつさやか」は2003年育成地産, 「ナカセンナリ」は2003年長野県産(標準)。

2) 加工試験方法はI県工業技術センター常法による。

3) 官能評価方法: 標準サンプル(「ナカセンナリ」)の評価を3とした5段階評価(1:悪~5:良)。

技術センターの納豆加工適性試験の結果、「はつさやか」はやや硬いが、歯ごたえがあって良いとの評価もあり、色がきれいで、中粒標準品種の「ナカセンナリ」並で、納豆加工に適すると評価された（第25表）。

IV 栽培適地および栽培上の留意点

1 奨励品種決定調査における試験成績

「はつさやか」は2004年から2008年の間に延べ47カ所の奨励品種決定調査に供試した。各地での試験成績の概評を第26表に、詳細を第27表に示す。

全体としては、「サチユタカ」、「タマホマレ」を標準品種としている地域では、標準対比で90以上の場所が多く、早生であることを考慮すると比較的安定して高い収量性を示した。「エンレイ」を標準品

種としている福井県、岐阜県、滋賀県、鳥取県などでは、倒伏の発生が評価を下げる要因となっている。「フクユタカ」を標準品種としている九州などでは、低い収量性が評価を下げる要因となっている。評価の高かった愛媛県では早生であること、成熟が斉一で青立ちが少ないこと、裂皮が少ないなどの外観品質も優れることなどにより、供試した5年間のうち“有望”が1年，“やや有望”3年の評価を得た。

2 栽培適地

成熟期および公立試験研究機関における奨励品種決定調査などの成績から、「はつさやか」の栽培適地は近畿中国四国地域と判断される。

3 栽培上の留意点

「はつさやか」はダイズモザイクウイルスA₂系

第26表 配付先における試験成績概評一覧

試験年次	2004	2005	2006	2007	2008	標準品種
試験場所						
福井農総		×65				エンレイ
岐阜農技		△30	×102			つやほまれ
岐阜中山間		×113				エンレイ
愛知作研		◇120	◇83	△77		フクユタカ
愛知山間		◇94	◇-			タマホマレ
三重科技セ(標準)		◇98	×87			フクユタカ
同上(無中耕無培土)		◇113				フクユタカ
三重伊賀		△106	×91			フクユタカ
滋賀農試	×65					エンレイ
滋賀湖北	×66					エンレイ
京都農総	◇112	◇90	◇100	×107		タマホマレ
兵庫農技	×71					サチユタカ
奈良農技						サチユタカ
和歌山農試			△99			タマホマレ
鳥取農試	×69					エンレイ
島根農試	◇92	◇76	◇132	×86		サチユタカ
岡山北部	×98					トヨシロメ
広島農技	◇92	△89				サチユタカ
山口農試	◇94	×73				サチユタカ
山口徳佐	◇98					サチユタカ
徳島農試	◇-	×37				フクユタカ
香川農試	◇84	△92				フクユタカ
愛媛農試	○111	○91	◎92	○91	△91	タマホマレ
高知農技(早播)	◇43	×66				サチユタカ
高知農技(標準播)		×74				フクユタカ
福岡豊前				×85		フクユタカ
佐賀農研セ					△75	むらゆたか

注) 概評 ◎：有望，○：やや有望，◇：再検討，△：やや劣る，×：劣る。
数値は標準対比。

第27表 配付先における試験成績 (1)

試験場所	試験条	試験年次	開花期 (月日)	成熟期	生育中障害 ¹⁾		主茎長 (cm)	主茎節数 (節)	分枝数 (本/株)	最下着莢節位 (cm)	子実重 (Kg/a)	標準対比 (%)	百粒重 (g)	粒の障害 ¹⁾			品質 ²⁾	子実成分 ³⁾			
					倒伏	青立								紫斑	褐斑	裂皮		粗蛋白質	粗脂肪		
福井農総	はつさやか	2005	7.27	10.23	甚	無	87	16.8	3.9	11.6	26.7	65	31.8	微	無	無	中上	45.4	20.4		
	エンレイ	2005	7.16	10.01	無	無	62	13.1	3.4	7.4	40.8	100	28.0	無	微	微	上下	45.8	20.5		
岐阜農技	はつさやか	2005	8.10	10.24	無	無	53	13.9	4.9	12.3	8.4	30	32.0	微	微	少	中中	48.7	19.1		
		2006	8.13	10.30	無	微	50	10.2	5.6	12.9	38.3	102	32.9	無	少	無	中中	46.3	19.1		
	平均	8.12	10.27	無	無~微	52	12.1	5.3	12.6	23.4	66	32.5	無~微	微~少	微	中中	47.5	19.1			
	つやほまれ	2005	8.03	11.01	無	中	49	13.1	9.0	8.8	28.5	100	39.6	無	微	無	中中	47.4	18.4		
		2006	8.07	11.02	少	中	61	16.6	6.8	13.8	37.5	100	38.9	無	無	無	上下	45.0	19.1		
		平均	8.05	11.02	微	中	55	14.9	7.9	11.3	33.0	100	39.3	無	無~微	無	中上	46.2	18.8		
岐阜中山間	はつさやか	2005	8.09	10.30	中	微	76	14.4	4.7	19.4	48.1	113	38.6	微	無	無	中上	46.3	19.3		
	エンレイ	2005	7.23	10.09	微	無	48	11.2	4.8	13.4	42.7	100	37.9	微	無	無	中上	47.3	19.4		
愛知作研	はつさやか	2005	8.11	11.05	無	中	52	12.5	10.1	14.2	29.4	120	33.2	無	無	微	中上	46.3	19.2		
		2006	8.10	10.27	微	微	59	13.0	10.5	11.7	36.6	83	34.9	無	微	無	中中	48.5	18.4		
	2007	8.11	11.08	無	微	41	11.9	9.4	8.8	20.3	78	33.5	微	微	微	中中	48.0	19.0			
	平均	8.11	11.03	無~微	少~中	51	12.5	10.0	11.6	28.8	94	33.9	無~微	微	微	中中	47.6	18.9			
はつさやか	2005	8.16	11.17	微	中	65	14.5	8.6	17.9	24.5	100	36.3	無	無	少	中中	45.7	19.0			
	2006	8.17	11.10	中	少	71	15.0	11.5	16.0	44.3	100	38.2	無	無	微	中上	46.6	18.9			
	2007	8.18	11.11	無	無	59	14.4	10.4	11.2	26.2	100	36.7	無	微	少	中上	47.3	19.1			
	平均	8.17	11.13	少	少~中	65	14.6	10.2	15.0	31.7	100	37.1	無	無~微	少	中上	46.5	19.0			
愛知山間	はつさやか	2005	7.24	10.18	微	微	62	15.6	6.1	10.2	25.6	94	30.5	微	微	微	中下	44.5	20.7		
		2006	8.02		少	少	76	15.5	4.7	13.8											
	平均	7.28		微	少	微	少	69	15.6	5.4	12.0										
	タマホマレ	2005	7.21	10.14	微	無	64	15.4	4.9	11.6	27.3	100	27.6	微	微	微	中下	41.2	21.6		
	2006	7.28		微	甚	83	16.5	5.0	9.3												
	平均	7.25		微	少~中	74	16.0	5.0	10.5												
三重科技セ	はつさやか	2005	8.07	10.28	微	無	72	13.5	4.3	-	31.4	98	34.1	無	無	少	中下	46.4	19.9		
		2006	9.01	11.03	無	無	38	10.9	3.4	10.3	18.9	87	28.7	無	無	無	中上	41.1	20.6		
	平均	8.20	10.31	無~微	無	55	12.2	3.9	10.3	25.2	93	32.0						43.8	20.3		
	フクユタカ	2005	8.13	11.05	中	微	94	16.7	5.7	-	32.2	100	30.9	無	微	少	中中	43.1	20.4		
	2006	9.05	11.08	無	無	53	13.5	4.1	16.4	21.8	100	28.8	無	微	微	中中	42.1	20.4			
	平均	8.25	11.07	微	少	無	無	74	15.1	4.9	16.4	27.0	100	30.0	無	微	微	少	中中	42.6	20.4
三重伊賀	はつさやか	2005	8.09	11.03	微	無	61	13.2	5.8	-	29.1	113	32.2	無	無	中	中中	44.6	20.8		
		無培土	2005	8.14	10.31	中	微	89	15.7	5.7	-	25.9	100	31.7	無	微	微	中下	41.7	21.6	
	はつさやか	2005	8.06	10.29	微	微	75	14.4	3.2	15.5	38.9	106	37.4	微	無	少	中中	45.5	19.7		
		2006	8.22	10.26	無	無	45	11.6	4.2	11.2	27.7	91	28.5	無	微	無	上下	39.4	20.9		
	平均	8.14	10.28	無~微	無~微	60	13.0	3.7	13.4	33.3	99	33.0	無~微	無~微	微	中上	42.5	20.3			
フクユタカ	2005	8.12	11.09	多	微	97	17.3	4.1	15.3	37.8	103	36.1	無	無	甚	中中	44.6	20.1			
	2006	8.28	11.04	無	無	51	13.6	4.1	11.7	30.6	100	33.1	無	無	多	中中	41.4	20.5			
	平均	8.20	11.07	少	無~微	74	15.5	4.1	13.5	34.2	102	34.6	無	無	多~甚	中中	43.0	20.3			
滋賀農試	はつさやか	2004	8.02	10.22	無	無	87	15.5	4.0	17.1	19.7	65	27.7	無	無	無	中上	45.2	20.5		
	エンレイ	2004	7.25	10.06	無	無	48	12.2	4.2	9.8	30.2	100	26.0	微	無	無	中上	46.1	19.2		
滋賀湖北	はつさやか	2004	8.06	10.25	無	無	82	15.2	4.4	7.0	24.7	66	28.3	少	微	無	中上	46.4	20.6		
	エンレイ	2004	7.29	10.12	無	無	47	12.0	4.8	4.9	37.4	100	25.8	微	少	微	中上	46.8	19.3		

注1) 障害の程度は、無 (0)、微 (1)、少 (2)、中 (3)、多 (4)、甚 (5) の6段階評価。

2) 品質は、上上 (1)、上中 (2)、上下 (3)、中上 (4)、中中 (5)、中下 (6)、下 (7) の7段階評価。

3) 近赤外分光分析法による。乾物あたり%。窒素-蛋白質変換係数は6.25。

第27表 配付先における試験成績（2）

試験場	試験条	品種名	試験年次	開花期 (月日)	成熟期	生育中 ¹⁾		主茎長 (cm)	主茎節数 (節)	分枝数 (本/株)	最下着莢節位 (cm)	子実重 (Kg/a)	標準対比 (%)	百粒重 (g)	粒の障害 ¹⁾			品質 ²⁾	子実成分 ³⁾	
						倒伏	青立								紫斑	褐斑	裂皮		粗蛋白質	粗脂肪
京都農総	はつさやか	2004	8.05	10.19	無	無	54	15.0	5.2	-	23.7	112	25.8	微	微	無	中下	44.0	21.2	
		2005	8.10	10.20	無	無	56	14.3	5.7	9.8	34.2	90	29.3	微	無	無	上中	44.4	20.5	
		2006	8.06	10.22	無	無	66	15.4	5.4	17.2	37.8	100	31.7	無	微	無	上中	42.0	20.7	
		2007	8.07	10.25	無	無	51	14.8	6.8	11.5	37.9	107	31.5	微	少	微	上中	43.5	21.1	
		平均	8.07	10.22	無	無	57	14.9	5.8	12.8	33.4	102	29.6	微	微	無	中上~ 中中	43.5	20.9	
	タマホマレ	2004	8.02	10.25	無	無	51	15.4	4.9	-	21.2	100	24.5	微	微	無	中中	40.8	21.4	
		2005	8.06	10.24	無	無	42	13.3	4.3	8.3	37.9	100	30.7	無	微	微	上中	41.6	20.9	
		2006	7.31	10.28	無	微	52	15.3	5.3	14.7	37.7	100	34.4	微	微	無	上中	42.6	19.8	
		2007	7.31	10.31	無	微	36	13.1	5.8	7.0	35.3	100	29.7	微	微	微	上中	39.5	21.9	
		平均	8.02	10.27	無	無~微	45	14.3	5.1	10.0	33.03	100	29.8	微	微	無~微	上下	41.1	21.0	
兵庫農技	はつさやか	2004	8.03	10.19	中	無	67	15.4	6.4	16.3	18.2	92	27.0	無	無	無	上中	47.9	19.2	
	サチユタカ	2004	7.31	10.20	中	無	58	15.2	5.7	15.6	19.8	100	29.1	無	無	無	上下	48.4	18.2	
和歌山農試	はつさやか	2006	8.01	10.30	無	無	57	14.5	12.2	10.3	40.8	99	31.8	微	微	微	中上	42.7	20.2	
	タマホマレ	2006	7.24	11.06	無	無	52	14.5	8.3	10.0	41.3	-	31.6	微	微	少	中上	43.9	20.1	
鳥取農試	はつさやか	2004	7.27	10.21	中	微	82	16.7	2.9	26.1	18.2	69	27.7	無	無	微	中上	44.0	21.4	
	エンレイ	2004	7.17	9.29	微	無	45	12.8	4.3	11.2	26.4	100	28.6	微	無	少	中下	44.2	21.1	
島根農試	はつさやか	2004	7.28	10.26	中	微	86	15.9	4.8	17.8	20.5	92	30.3	無	微	微	中中	44.8	20.8	
		2005	7.28	10.22	少	微	75	15.4	5.3	14.3	24.6	76	29.7	無	無	微	中上	45.9	19.9	
		2006	8.02	11.12	無	微	82	14.3	4.1	6.0	23.2	132	36.1	無	微	少	中中	47.1	17.8	
	サチユタカ	2007	8.07	11.09	無	無	54	14.8	6.0	11.5	38.2	86	34.7	微	微	少	中上	46.3	18.5	
		平均	8.01	11.02	微	微	74	15.1	5.1	12.4	26.6	97	32.7	無	微	少	中中	46.0	19.3	
		2004	7.26	10.27	中	微	73	16.7	6.6	19.8	22.4	100	32.0	無	微	微	中上	47.1	19.2	
岡山北部	はつさやか	2004	7.29	11.03	無	無	66	15.0	6.0	6.8	26.0	98	33.4	微	微	少	中下	47.7	19.4	
		トヨシロメ	2004	8.03	11.13	中	無	76	16.9	5.9	6.6	26.6	100	38.0	微	微	少	下	46.4	18.4
	はつさやか	2004	8.03	10.19	中	無	67	15.4	6.4	16.3	18.2	92	27.0	無	無	無	上中	47.9	19.2	
		2005	8.02	10.20	微	無	48	14.9	6.3	11.8	34.5	89	29.1	無	無	無	上上	45.4	20.4	
		平均	8.03	10.20	少	無	58	15.2	6.4	14.1	26.4	91	28.1	無	無	無	上上~ 上中	46.7	19.8	
山口農試	はつさやか	2004	7.31	10.25	少	無	78	16.2	4.5	18.4	14.4	94	28.4	微	無	微	中上	45.9	20.4	
		2005	8.02	10.19	微	無	68	16.6	4.9	16.4	30.2	73	29.8	微	無	微	中中	46.6	20.4	
		平均	8.01	10.22	微~少	無	73	16.4	4.7	17.4	22.3	84	29.1	微	無	微	中上~ 中中	46.3	20.4	
	サチユタカ	2004	7.28	10.30	少	微	58	14.8	5.5	15.6	15.3	100	29.1	微	微	微	中上	48.7	18.6	
		2005	7.30	10.24	少	無	51	15.3	5.6	14.9	41.1	100	34.8	無	無	微	上下	46.4	19.9	
平均	7.29	10.27	少	無~微	55	15.1	5.6	15.3	28.2	100	32.0	無~微	無~微	微	上下~ 中上	47.6	19.3			

注1) 障害の程度は、無(0)、微(1)、少(2)、中(3)、多(4)、甚(5)の6段階評価。

2) 品質は、上上(1)、上中(2)、上下(3)、中上(4)、中中(5)、中下(6)、下(7)の7段階評価。

3) 近赤外分光分析法による。乾物あたり%。窒素-蛋白質変換係数は6.25。

第27表 配付先における試験成績 (3)

試験場	試験条	試験年次	開花期 (月日)	成熟期	生育中 ¹⁾		主茎長 (cm)	主茎節数 (節)	分枝数 (本/株)	最下着莢節位 (cm)	子実重 (Kg/a)	標準対比 (%)	百粒重 (g)	粒の障害 ¹⁾			品質 ²⁾	子実成分 ³⁾		
					倒伏	青立								紫斑	褐斑	裂皮		粗蛋白質	粗脂肪	
徳島農試	はつさやか	2004	8.27		中	少													44.3	20.0
		2007	8.21	11.14	多	少	35	11.2	5.2	5.6	9.1	37	31.2	少	多	微	中上		45.3	18.5
		平均	8.24			中~多	少												44.8	19.3
香川農試	はつさやか	2004	8.15	10.27	中	微	62	14.0	3.1	12.4	28.4	84	27.3	無	無	無	上下		45.1	20.4
		2005	8.21	10.30	無	無	46	12.7	5.8	3.7	40.3	92	30.5	無	微	微	上下		44.1	20.1
		平均	8.18	10.29		微~少	無~微	54	13.4	4.5	8.1	34.4	88	28.9	無	無~微	無~微	上下		44.6
香川農試	フクユタカ	2004	8.19	11.08	多	微	64	15.9	6.2	14.0	33.8	100	28.8	無	微	微	中上		43.7	20.6
		2005	8.23	11.06	無	微	56	14.9	6.5	9.2	43.7	100	32.3	無	微	少	中上		43.2	20.3
		平均	8.21	11.07		少	微	60	15.4	6.4	11.6	38.8	100	30.6	無	微	微~少	中上		43.5
愛媛農試	はつさやか	2004	8.13	10.27	少	微	57	12.9	4.2	7.1	30.9	111	27.7	微	無	無	中下		43.5	21.0
		2005	9.02	11.08	無	微	49	12.0	4.5	10.6	32.1	91	31.6	微	無	微	中上		45.4	18.9
		2006	8.04	10.18	無	無	71	13.1	4.1	11.0	37.2	92	29.7	無	無	微	上下		46.0	19.6
愛媛農試	はつさやか	2007	8.04	10.20	無	無	66	12.4	3.4	11.7	37.0	91	30.0	無	無	少	中上		44.9	21.1
		2008	8.08	10.29	無	微	61	13.0	2.9	7.7	44.6	91	34.1	無	無	少	上下		45.2	19.6
		平均	8.12	10.31		無	微	61	12.7	3.8	9.6	36.4	95	30.6	無	無	微	中上		45.0
愛媛農試	タマホマレ	2004	8.12	11.02	無	中	50	13.5	4.9	7.6	27.9	100	26.0	少	無	無	中中		41.6	21.0
		2005	9.02	11.15	無	微	44	12.7	4.5	8.6	35.4	100	28.9	微	無	少	中上		41.2	20.2
		2006	7.30	10.27	無	微	60	13.2	3.6	11.6	40.5	100	30.9	微	無	多	上下		40.6	20.4
愛媛農試	タマホマレ	2007	7.30	10.29	無	少	50	11.1	3.5	10.0	40.5	100	28.8	微	無	微	中上		41.5	20.6
		2008	8.09	11.02	無	多	53	13.6	4.4	9.4	49.2	100	33.4	無	無	中	中上		41.2	20.2
		平均	8.10	11.02		無	少	51	12.8	4.2	9.4	38.7	100	29.6	微	無	少	中上		41.2
高知農技	はつさやか	2004	7.31	11.04	多	微	59	12.0	3.6	9.2	9.7	43	26.8	微	微	少	中中		44.9	20.5
		2005	7.28	11.08	微	少	61	15.6	9.1	7.3	13.2	74	26.2	無	無	少	下		48.5	19.4
		平均	7.29	11.06		少~中	微~少	60	13.8	6.4	8.3	11.5	59	26.5	無~微	無~微	少	中下		46.7
高知農技	フクユタカ	2004	8.04	11.01	多	無	73	15.4	4.1	13.8	22.8	100	25.1	無	微	微	上下		42.2	22.5
		2005	8.05	10.31	少	少	71	15.4	13.8	13.5	17.7	100	26.1	無	無	少	下		46.9	20.0
		平均	8.05	11.01		中	微	72	15.4	9.0	13.7	20.3	100	25.6	無	無~微	微~少	中中		44.6
佐賀農セ	はつさやか	2008	8.26	10.29	無	無	50	12.3	3.8	15.0	28.9	75	29.5	無	無	無	上中			
	フクユタカ	2008	8.29	11.06	無	無	53	13.5	3.6	14.2	38.3	100	30.9	無	無	少	上下			
福岡豊前	はつさやか	2007	8.23	11.09	無	無	58	13.9	4.0	11.7	28.0	85	32.3	無	無	微	上中			
	フクユタカ	2007	8.27	11.14	少	微	67	15.5	3.1	12.1	32.8	100	31.5	無	無	少	中中			

注1) 障害の程度は、無 (0), 微 (1), 少 (2), 中 (3), 多 (4), 甚 (5) の6段階評価。
 2) 品質は、上上 (1), 上中 (2), 上下 (3), 中上 (4), 中中 (5), 中下 (6), 下 (7) の7段階評価。
 3) 近赤外分光分析法による。乾物あたり%。窒素-蛋白質変換係数は6.25。

統およびダイズシストセンチュウに対して感受性なので、これらの病害虫が蔓延する地域での作付けを避ける。また、やや倒伏しやすいので、培土を励行する。裂莢性が「易」なので、コンバイン収穫が可能な水準に茎水分が低下したら早めに刈り取る。

V 考 察

「はつさやか」の特筆すべき特徴は、早生で青立

ちが少なく、豆腐加工適性に優れている点である。生態的特性については、育成地の6月播で「はつさやか」は「サチユタカ」より4日程度成熟が早いものの、青立ちがほとんど発生せず、「サチユタカ」並の収量性を有する⁵⁾。育成地においては「サチユタカ」より早生の既存品種「エンレイ」, 「タチナガハ」, 「オオツル」では青立ちが発生し正常に成熟しないことが多く、「はつさやか」と同等の成熟期を持ち、正常に成熟する現行栽培品種は存在しない

(第15表)。「はつさやか」は、この早生で青立ちが少ない特徴により、近畿中国四国地域での大豆-麦2毛作体系に導入可能で、本作付け体系の安定化に寄与することが期待される。

栽培上の注意点としては、前述したように近畿中国四国地域の一部で問題となっているダイズモザイクウイルスA₂系統²⁾に対する抵抗性は、「サチユタカ」と同様に感受性であるので⁷⁾、本ウイルス系統の発生地^{3, 6)}での栽培は避ける必要がある。一方で鳥取県や京都府で発生の報告があるラッカセイわい化ウイルス¹⁾に対しては、「サチユタカ」が感受性であるのに対し「はつさやか」は抵抗性であり、「サチユタカ」より1ランク上のウイルス病抵抗性を有している。

品質については、裂皮粒が少なく外観品質は良好で、豆腐用途で「フクユタカ」並の高い評価を受け、また味噌、煮豆、納豆用途についても実需者から良い評価を受けている。このため、小産地の多い同地域の実需者などからの要望である独自ブランド品種による豆腐やその他多様な大豆加工品に適する品種として期待される。

以上のように、「はつさやか」は栽培および加工のいずれの面でも優れた特性を有しており、近畿中国四国地域の大豆生産の振興に貢献することが期待される。

VI 摘 要

大豆新品種「はつさやか」は、1995年に九州農業試験場作物開発部大豆育種研究室において、耐倒伏性で豆腐加工適性の高い品種の育成を目標に、蛋白質含量が高く豆腐加工適性が高い「九州116号」を母、耐倒伏性で多収の「タチナガハ」を父とした人工交配を行い、2001年からは近畿中国四国農業研究センターで選抜、固定を図り、育成した品種である。

「はつさやか」は、成熟期が「サチユタカ」より4日程度、「フクユタカ」より2週間程度早く、青立ちの発生が少ない。外観品質は裂皮が少なく良好で、子実成分は蛋白質含有量が高い。加工適性は、

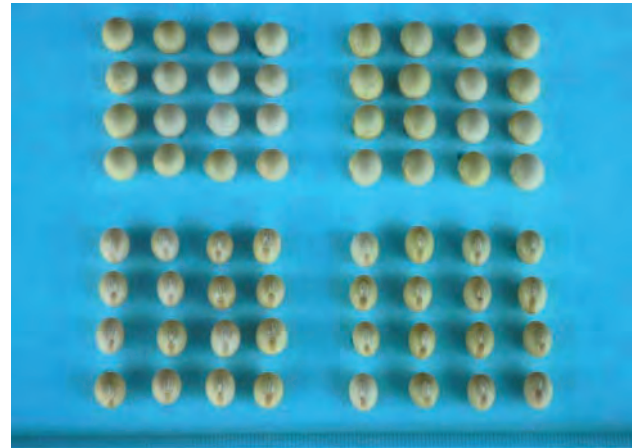
特に豆腐用途で、「サチユタカ」、「フクユタカ」より豆腐の破断応力が高くしっかりした豆腐ができ、官能評価でも食感、風味ともに良い評価を受けている。また、味噌、煮豆、納豆用途にも適している。栽培適地は近畿中国四国地域である。

引用文献

- 1) 小坂能尚 1997. ダイズウイルス病の病原ウイルスと防除法に関する研究. 京都農研報 20: 1-100.
- 2) 中野正明・岩崎真人・新海 昭 1982. 九州におけるダイズモザイクウイルスの2, 3の系統について(続報). 九州病害虫研究会報 28: 24-25.
- 3) 中野正明・伊達寛敬・那須英夫・金田小百合・松永亮一 2002. 岡山県で発生したダイズモザイクウイルス(SMV)-A₂系統. 日植病報 68: 98.
- 4) 農林水産先端技術産業振興センター 2004. 審査基準国際統一委託事業調査報告書. 31.
- 5) 岡部昭典・菊池彰夫・猿田正恭 2008. 大豆有望系統「四国1号」と「サチユタカ」の播種期に対する反応比較. 日本作物学会四国支部会報 45: 66-67.
- 6) Saruta, M., A. Kikuchi, A. Okabe and T. Sasaya 2005. Molecular characterization of A₂ and D strains of Soybean mosaic virus, which caused a recent virus outbreak in soybean cultivar Sachiyutaka in Chugoku and Shikoku regions of Japan. J Gen Plant Pathol. 71: 431-435.
- 7) 高橋将一・松永亮一・小松邦彦・中澤芳則・羽鹿牧太・酒井真次・異議田和典 2004. ダイズ新品種「サチユタカ」の育成とその特性. 九州農研七報告 45: 15-39.
- 8) 土屋武彦・砂田喜与志 1978. 大豆の裂莢性に関する育種学的研究. II 裂莢性の検定法と品種間差異. 北海道道立農試集報 39: 19-26.



はつさやか サチユタカ
 写真1 「はつさやか」の草姿



はつさやか サチユタカ
 写真2 「はつさやか」の子実の形態



はつさやか サチユタカ
 写真3 「はつさやか」と「サチユタカ」の青立ち程度の比較

A New Soybean Cultivar ‘Hatsusayaka’, with Tolerance of Delayed Leaf Senescence and Suitability for Tofu Processing

Masayasu SARUTA, Yoshitake TAKADA, Akinori OKABE¹, Akio KIKUCHI², Sadayoshi ONO³,
Kazunori IGITA⁴, Shinji SAKAI⁴, Ryoichi MATSUNAGA⁵, Makita HAJIKA⁶,
Masakazu TAKAHASHI⁵ and Kunihiko KOMATSU⁷

Key words: soybean, new cultivar, early maturity, delayed leaf senescence, tofu

Summary

A new soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] cultivar ‘Hatsusayaka’ was developed at the NARO Western Region Agricultural Research Center in 2011. To develop a new cultivar with high lodging resistance and suitability for tofu processing, we selected plants from a cross between ‘Kyushu 116’ and ‘Tachinagaha’.

The date of maturity of ‘Hatsusayaka’ is earlier than that of ‘Sachiyutaka’ at Zentsuji, Kagawa (latitude 34° 13’ 37” N, 133° 46’ 39” E). The cultivar was classified into group IV based on the date of maturity. ‘Hatsusayaka’ has purple flowers, gray pubescence, rounded ovate leaflets and light brown pods at maturity. It has a medium-size stem and a determinate growth habit. It is resistant to SMV strains A and B. It has a tolerance to delayed leaf senescence. The seed coat of ‘Hatsusayaka’ is yellowish white, and the hilum is yellow, the seed size is medium. ‘Hatsusayaka’ is suitable for processing of tofu. ‘Hatsusayaka’ is highly compatible with the climate and soil of Kinki, Chugoku and Shikoku districts.

Crop Breeding and Food Functional Components Research Division, NARO Western Region Agricultural Research Center

¹ Lowland Crops Research Division, NARO Western Region Agricultural Research Center

² NARO Tohoku Agricultural Research Center

³ Ex-NARO National Agricultural Research Center for Western Region

⁴ Ex-NARO Kyushu National Agricultural Experiment Station

⁵ NARO Kyushu Okinawa Agricultural Research Center

⁶ NARO National Institute of Crop Science

⁷ NARO Hokkaido Agricultural Research Center

近畿中国四国農業研究センター研究報告 第11号

平成24年 2月28日 印刷

平成24年 2月28日 発行

発行所 独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構
近畿中国四国農業研究センター

〒721-8514 広島県福山市西深津町6-12-1

発行者 長 峰 司

印刷所 株式会社 デルタプリント

〒732-0802 広島市南区大州2丁目12-15

