

酒米を中心とした水稲遺伝資源の DNA 多型

吉田晋弥*・橋本善太郎**・川口雅志**・池上 勝***・森 直樹**・中村千春**・塩飽邦子*

DNA polymorphism and genetic diversity on the brewing rice genetic resources

Shinya YOSHIDA, Zentarou HASHIMOTO, Masashi KAWAGUCHI, Masaru IKEGAMI, Naoki MORI,
Chiharu NAKAMURA and Kuniko SHIWAKU

キーワード：酒造原料米，遺伝資源，ゲノム，葉緑体，RAPD，AFLP，SSR

緒 言

兵庫県特に神戸市東部から西宮市の瀬戸内海沿岸部に位置する地区は、「灘五郷」と呼ばれる全国でも有名な清酒生産地である。これに隣接する北播磨地域及び北摂地域は、古くから、酒造原料用米の供給地域として位置づけられてきた。酒造原料用としての米は、元来食用米と明確に区別されてきた訳ではないが、関西を中心とする西日本で広く栽培されていた大粒心白米が酒造原料用米として優れた特性を有するとして、その需要が特化してきたと考えられている。明治期に当時全国に分布する水稲在来種を調査した加藤茂苞¹⁾は、「關西地方ノ理想米ト稱スヘク又醸酒用に賞揚セラル品質良好」とする大粒心白種群を「白玉属」として分類している。現在でも代表的酒米品種として全国的に評価されている「山田錦」も、こうした大粒心白種の在来品種から選抜されてきた「山田穂」と「短稈渡船」の交配により育成されたものである。さらには、新潟県農業試験場で育成され、北陸地域で栽培されている酒米品種の「五百万石」も、系譜上の祖先品種として、前述の「白玉属」に類する「雄町」が用いられている。

近年、清酒が比較的低価格な、いわゆる「経済酒」と吟醸酒等の高級酒に二極分化する中で、各地の酒造メーカーでは、地場産米を用いた特徴ある醸造製品を生産する傾向が強くなっている。それ故に、全国各道府県の農業試験場では、地域に適した酒米品種の育成に取り組むようになってきた。そこで、大粒心白米の元祖を含む現在のわが国における水稲品種の祖先となった在来品種およびその後の近代的な交雑育種によって育成された酒米品種の遺伝的多様性についてイネゲノム上での DNA 多

型情報をデータベース化することは、酒造適性形質や地域における栽培適性に関する遺伝的背景を明らかにするための遺伝解析に役立つと考えられる。

DNA 多型情報は、制限酵素による断片長多型 (RFLP)²⁾ や DNA 合成酵素連鎖反応 (PCR) に基づく増幅 DNA の違いに基づいた情報として得られる。特に後者の技術を用いた手法は、任意増幅 DNA 多型 (RAPD)³⁾ やマイクロサテライト (SSR) 多型⁴⁾ の検出に用いられている。また、RFLP と PCR を組み合わせた方法としての増幅断片長多型 (AFLP) 法は、一回の反応で、多数の多型情報が得られる手法として、ゲノムタイピングや遺伝解析の場面で広く利用されている⁵⁾。そこで、1999年度から2001年度にかけて文部省科学研究費補助金の交付を受け、「酒米遺伝資源のカタログ化と遺伝子タギング系の開発」という課題において現在の酒米品種とその祖先となった水稲品種・系統における DNA 多型を調査・収集し、そのデータベースを収録した CD-ROM を作成した。本資料では、収集された水稲品種・系統における DNA 多型の概観を解説する。なお、データの一部は、Hashimoto et al.⁴⁾ に掲載されたものを含む。

1 調査品種および系統

DNA 多型に基づく遺伝子型の調査は、図 1 に示す酒米 95 品種、食用米 77 品種、掛米 6 品種、その他 6 品種、の合計 184 品種・系統について行った。これらの品種・系統は取り寄せ後、生育特性等の均一性を確認し、分離の認められたものについては、少数の分離株を排除して分析を行った。このうち、在来種または、在来種から純系淘汰された 57 品種が含まれる。そのため、「渡船」「山田穂」、「新山田穂 1 号」、「伊勢錦」、「神力」、「亀の尾」については、取り寄せ機関の異なる同名品種を複数系統を調査した。調査品種・系統の選択に当たっては、池上ら⁵⁾ および宮下と国廣¹²⁾ を参考とした。なお、水稲品種の遺伝

2004年8月31日受理

* 兵庫県立農林水産技術総合センター部長(生物工学担当)

** 神戸大学大学院自然科学研究科

*** 兵庫県立農林水産技術総合センター農業技術センター

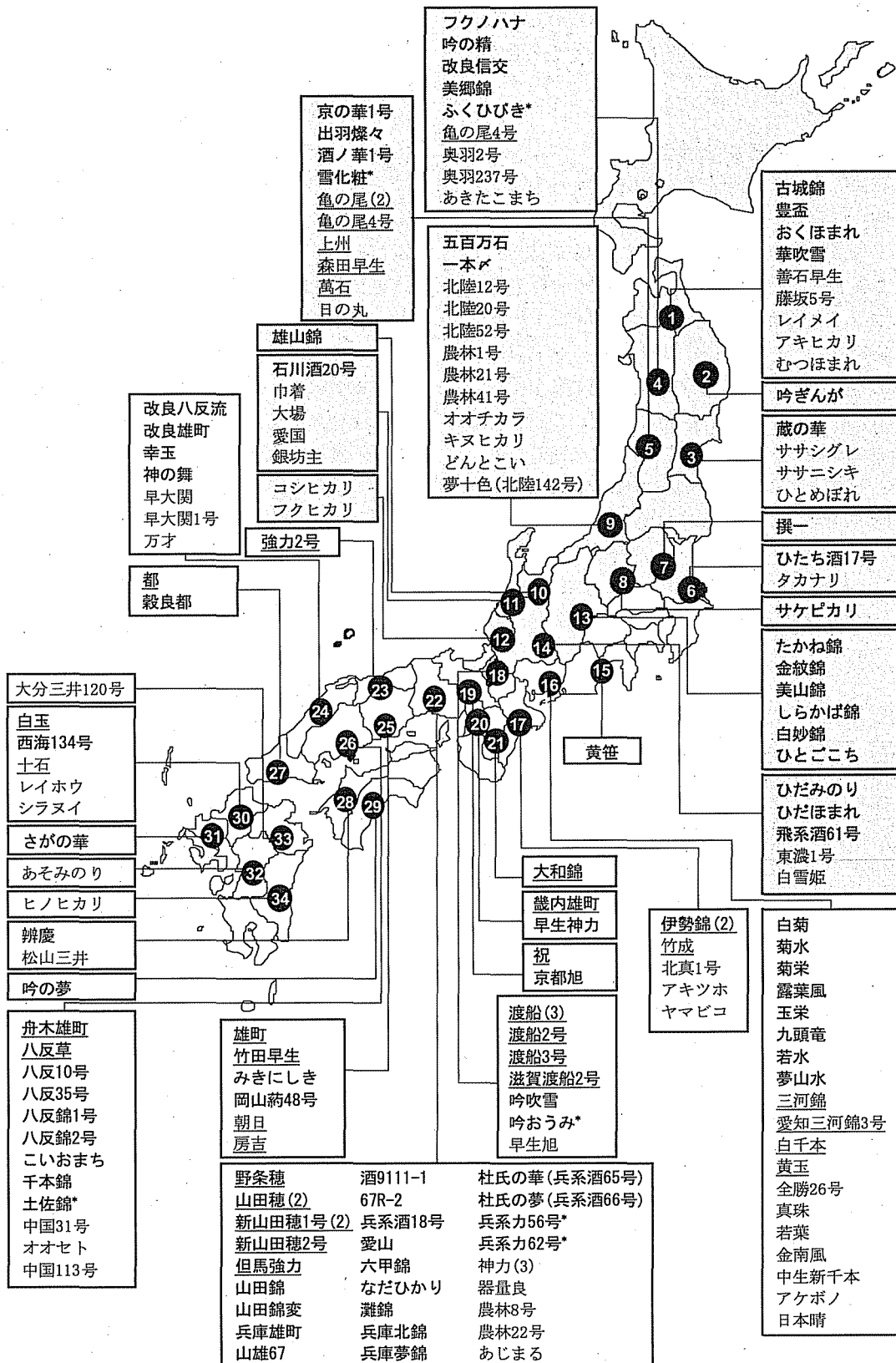


図1 DNA多型解析に用いた水稻品種・系統の育成地または原産地に基づく地理的分布
 ゴシック体で表記したものは、大粒心白米品種または系統を示し、*を付した品種は、掛米専用品種を示す。下線を伏した品種は、在来品種あるいは、その二次選抜系統を示す。また、品種名の後の括弧内の数字は、同名で異なる保存系統の数を示す。なお、嵐¹⁾の分類に基づき、地図上で灰色で塗った地域を寒地型作季地域、白抜きの地域を暖地型作季地域とした。

的多様性に関する数量化Ⅲ類解析における品種の地理的区分については、嵐¹⁾の水稻作季による暖地と寒冷地の区分けに準じた。

2 核ゲノムにおける各種 DNA 多型の検出

RAPD 解析については、合計42種の OPERON 社製のプライマーを用いて解析を行った。調査するプライマーの選定に当たっては、Mackill¹⁰⁾、大坪ら¹¹⁾、Kubo et al.⁹⁾、吉田ら²⁰⁾および Yoshida et al.²¹⁾を参考にした。RAPD 解析に使用したプライマーは表1に示した。多型バンドの総数は180であり、1プライマー当たりの多型バンド数は4.3となった。AFLP 解析では、日本型品種間の多型検出頻度を調べるため、はじめに16品種のみを用いて48プライマー組合せについて、Mano et al.¹¹⁾の方法に準じて解析を行った。その結果、読み取れたバンド総数は合計776本で、そのうち多型バンド数は28本であり、多型率は3.6%であった。次に、この多型バンドを示す11プライマー組合せについて、184品種を用いて同様に AFLP 解析を行った。AFLP 解析に使用したプライマーは表2に示

した。読み取れたバンド総数は合計138本で、そのうち多型バンド数は25本であり、多型率は18.1%であった。SSR 解析では、イネゲノム全体に渡って、比較的均等となるように選定した33の SSR 座について解析を行った。SSR 解析に使用したプライマーは、表3に示した。33の SSR 座のうち、28の SSR 座において日本型品種間で多型が検出された。検出されたアリル数は、SSR 座当たり平均4.1個であった。また各 SSR 座の遺伝的多様性を表す値としての PIC (Polymorphism information content) 値の平均値は0.33であった。この中で最もアリル数が多かったのは、RM206で15であったが、PIC 値が最も高かったのは、RM101で0.81であった。また、SSR 座の中には6種類以上のアリル数を検出できるものが10座存在した。DNA 多型による品種間の識別性については、RAPD は、多型バンド数が180と多いことから、184品種を182グループに分類できたのに対して、AFLP では、184品種を127グループに、SSR 解析では、184品種を168グループに分けることができた。

今回の調査において、操作の簡便性という点では、

表1 RAPD 解析に用いたプライマーの一覧

プライマー	塩基配列	GC(%)	プライマー	塩基配列	GC(%)		
1	OPA02	5'-TGCCGAGCTG-3'	70	22	OPJ 12	5'-GTCCCCTGGT-3'	70
2	OPA03	5'-AGTCAGCCAC-3'	60	23	OPJ 19	5'-GCACACCACT-3'	60
3	OPA08	5'-GTGACGTAGG-3'	60	24	OPK01	5'-CATTCGAGCC-3'	60
4	OPA19	5'-CAAACGTCGG-3'	60	25	OPK13	5'-GGTTGTACCC-3'	60
5	OPB01	5'-GTTTCGCTCC-3'	60	26	OPK14	5'-CCCCTACAC-3'	70
6	OPB10	5'-CTGCTGGGAC-3'	70	27	OPK16	5'-GAGCGTCGAA-3'	60
7	OPB15	5'-GGAGGGTGTT-3'	60	28	OPK19	5'-CACAGGCGGA-3'	70
8	OPB18	5'-CCACAGCAGT-3'	60	29	OPK20	5'-GTGTCGCGAG-3'	70
9	OPC20	5'-ACTTCGCCAC-3'	60	30	OPL07	5'-AGGCGGGAAC-3'	70
10	OPD02	5'-GGACCCAACC-3'	70	31	OPL11	5'-ACGATGAGCC-3'	60
11	OPD03	5'-GTGCGCGTCA-3'	70	32	OPL19	5'-GAGTGGTGAC-3'	60
12	OPD08	5'-GTGTGCCCA-3'	70	33	OPM03	5'-GGGGGATGAG-3'	70
13	OPD10	5'-GGTCTACACC-3'	60	34	OPN18	5'-GGTGAGGTCA-3'	60
14	OPF03	5'-CCTGATCACC-3'	60	35	OPP06	5'-GTGGGCTGAC-3'	70
15	OPF06	5'-GGGAATTCGG-3'	60	36	OPQ14	5'-GGACGCTTCA-3'	60
16	OPF13	5'-GGCTGCAGAA-3'	60	37	OPS13	5'-GTCGTTCTCTG-3'	60
17	OPF16	5'-GGAGTACTGG-3'	60	38	OPT08	5'-AACGGCGACA-3'	60
18	OPG03	5'-GAGCCCTCCA-3'	70	39	OPT16	5'-GGTGAACGCT-3'	60
19	OPG05	5'-CTGAGACGGA-3'	60	40	OPU03	5'-CTATGCCGAC-3'	60
20	OPG13	5'-CTCTCCGCA-3'	70	41	OPW13	5'-CACAGCGACA-3'	60
21	OPI 04	5'-CCGCCTAGTC-3'	70	42	OPX03	5'-TGGCGCAGTG-3'	70

表2 AFLP 解析に用いた選択的プライマーの一覧

No	プライマーセット	選択的配列	No	プライマーセット	選択的配列
1	Me0238	M-AAG/E-TGG	7	Me6326	M-CCT/E-GTG
2	Me1848	M-GAG/E-TCC	8	Me6433	M-CCC/E-TAA
3	Me5801	M-CTG/E-AAA	9	Me6455	M-CCC/E-CGT
4	Me5816	M-CTG/E-ACC	10	Me6457	M-CCC/E-CTA
5	Me5821	M-CTG/E-GGA	11	Me6460	M-CCC/E-CTC
6	Me5907	M-CTT/E-AGT			

注) 選択的配列は、予備 PCR プライマー塩基配列に付加する塩基配列を表示

表3 核ゲノム上の多型解析に用いたSSR座とその解析用プライマー一覧

SSR座	座乗染色体	プライマーの塩基配列 (5'-3')	SSR座	座乗染色体	プライマーの塩基配列 (5'-3')
RM5 ¹⁾	1	F TGCAACTTCTAGCTGCTCGA R GCATCCGATCTTGATGGG	RM253 ²⁾	6	F TCCTTCAAGAGTGCAAAACC R GCATTGTCATGTGCGAAGCC
RM237 ²⁾	1	F CAAATCCCAGCTGCTGTCC R TGGGAAGAGAGCACTACAGC	RM225 ²⁾	6	F TGCCCATATGGTCTGGATG R GAAAGTGGATCAGGAAGGC
RM84 ²⁾	1	F TAAGGGTCCATCCACAAGATG R TTGCAAAATGCAGCTAGAGTAC	RM2 ¹⁾	7	F ACGTGTACCCGCTTCTCTC R ATGTCCGGATCTCATCG
RM212 ²⁾	1	F CCACTTTCAGCTACTACCAG R CACCCATTTGTCTCTCATTATG	RM234 ²⁾	7	F ACAGTATCCAAGGCCCTGG R CACGTGAGACAAAGACGGAG
RM259 ²⁾	1	F TGGAGTTTGAGAGGAGGG R CTTGTTGCATGGTGCCATGT	RM256 ²⁾	8	F GACAGGGAGTGATTGAAGGC R GTTGATTTGCGCAAGGGC
RM315 ³⁾	1	F GAGGTACTTCTCCGTTTCAC R AGTCAGCTCACTGTGCAGTG	RM44 ²⁾	8	F ACGGGCAATCCGAACAACC R TCGGAAAACCTACCCTACC
RM145 ³⁾	2	F CCGGTAGGCGCCTGCAGTTTC R CAAGGACCCCATCTCGGCGTC	RM219 ²⁾	9	F CGTCGGATGATGTAAAGCCT R CATATCGGCATTCGCGCTG
RM262 ²⁾	2	F CATTCCGTCTCGGCTCAACT R CAGAGCAAGGTGGCTTGC	RM257 ²⁾	9	F CAGTTCGAGCAAGAGTACTC R GGATCGGACGTGGCATATG
RM208 ²⁾	2	F TCTGCAAGCCTTGTCTGATG R TAAGTCGATCATTGTGTGGACC	RM216 ²⁾	10	F GCATGGCCGATGGTAAAG R TGTATAAAACCACACGGCCA
RM240 ²⁾	2	F CCTTAATGGGTAGTGTGCAC R TGTAACCATTCCCTCCATCC	RM258 ²⁾	10	F TGCTGTATGTAGCTCGCACC R TGGCCTTAAAGCTGTCCG
RM7 ¹⁾	3	F TTCGCCATGAAGTCTCTCG R CCTCCATCATTTCGTTGTT	RM21 ¹⁾	11	F ACAGTATCCGTTAGGCACGG R GCTCCATGAGGGTGGTAGAG
RM232 ²⁾	3	F CCGGTATCCTTCGATATTGC R CCGACTTTTCTCCTGACG	RM206 ²⁾	11	F CCCATGCGTTAACTATTCT R CGTCCATCGATCCGATGG
RM255 ²⁾	4	F TGTTGCGTGTGGAGATGTG R CGAAACCGCTCAGTTCAAC	RM229 ²⁾	11	F CACTCACACGAACGACTGAC R CGCAGGTTCTGTGAAATGT
RM241 ²⁾	4	F GAGCCAAATAAGATCGCTGA R TGCAAGCAGCAGATTAGTG	RM235 ²⁾	12	F 5'-AGAAGCTAGGGCTAACGAAC R 5'-TCACCTGGTCAGCCTCTTTC
RM252 ²⁾	4	F TTCGCTGACGTGATAGGTTG R ATGACTTGATCCCGAGAACG	RM247 ²⁾	12	F 5'-TAGTGCCGATCGATGTAACG R 5'-CATATGGTTTGTACAAAGCG
RM13 ¹⁾	5	F TCCAACATGGCAAGAGAGAG R GGTGGCATTCCGATCCAG	RM101 ³⁾	12	F GTGAATGGTCAAGTGACTTAGGTGGC R ACACAACATGTTCCCTCCCATGC
RM31 ²⁾	5	F GATCACGATCCACTGGAGCT R AAGTCCATTACTCTCCTCCC			

注1) FおよびRは、反復配列領域を挟む2種類のプライマー

2) 各SSR座のプライマー情報は、それぞれ 1) Panaud et al.¹⁵⁾ 2) Chen et al.³⁾ 3) Temnykh et al.¹⁷⁾ による。

RAPD法が最も優れるが、その多型バンドの中には再現性の低いものが見られる点と、多型が検出できる割合が低い事が他法に比べて不利な点である。AFLP解析の利点として、多数の増幅断片を検出できるという点があるが、近縁な品種間ではその多くが単型的であり、その利点を生かすことができないことや、実験操作の繁雑なことが不利な点と考えられた。一方、SSRマーカーは、多型頻度、実験の簡便さ、イネで現在多数開発され入手できることなどをふまえると、イネ日本型品種間の品種識別には非常に有効であると思われる。

3 DNA多型から見た酒米祖先品種の類縁関係

現在の酒米品種育成に当たって、祖先となった在来の

水稻59品種の類縁関係について、代表的な酒米の育成品種5品種および食用米の育成品種4品種を加えて、上述のDNA多型データを基に、平均距離(UPGMA)法によりクラスタリングを行った(図2)。その結果を概観すると、「山田穂」や「雄町」等の代表的な在来酒米品種(大粒・心白種)に近縁な品種群(I)と神力や旭等の中部、近畿地域で広く栽培されていた在来一般食用米の品種群(II)が大きなクラスターを形成した。酒米育成品種の「山田錦」や「兵庫夢錦」は、クラスター(I)に分類された。次に大きなクラスターを形成した品種群(III)は、北陸地域の在来種を多く含んでいる。育成品種としては、酒米品種では、「八反錦1号」、食用米品種では、「日本晴」や「コシヒカリ」および「コシヒカリ」

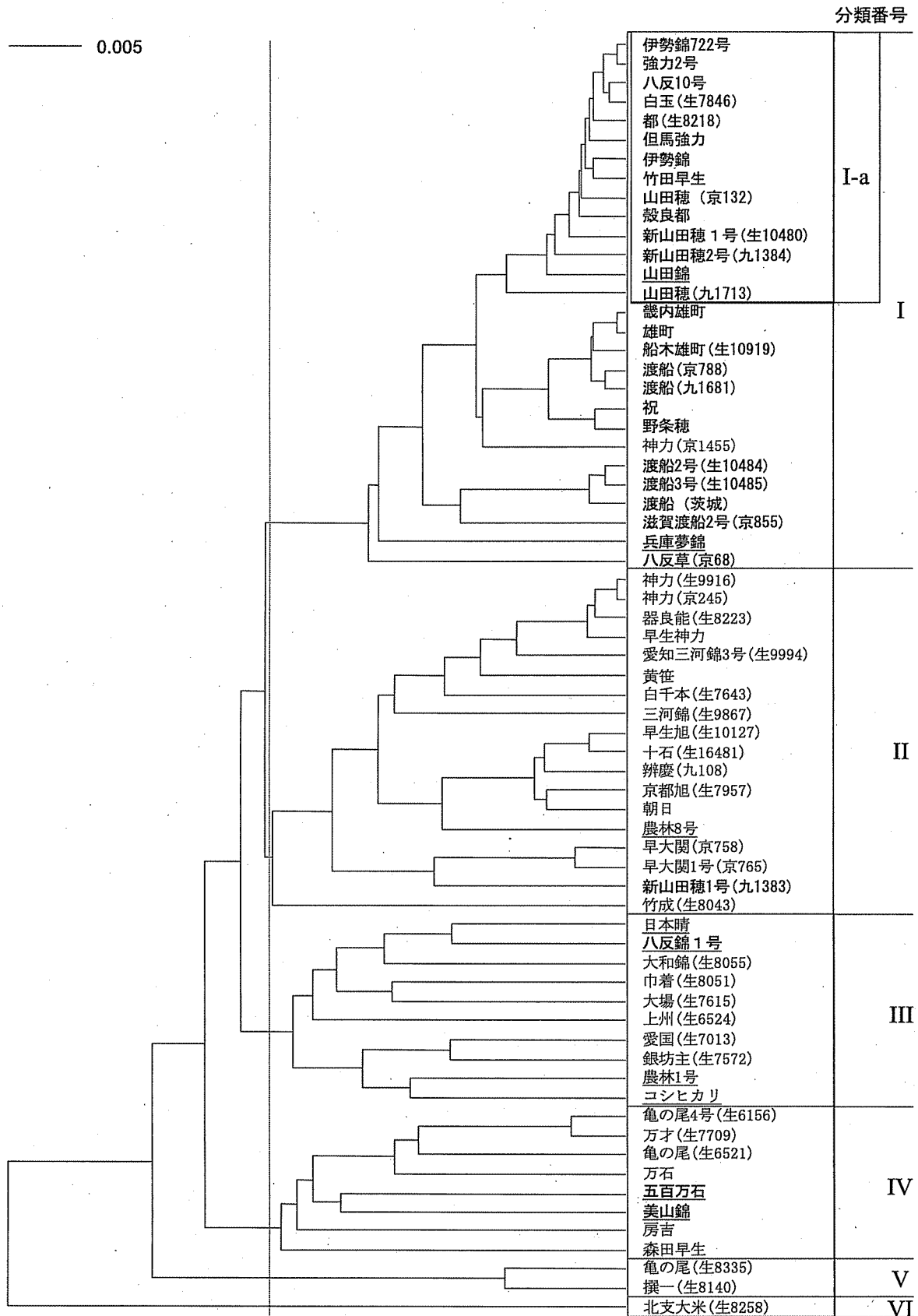


図2 各種 DNA 多型から計算された遺伝距離に基づく水稻品種・系統の系統樹
 ゴシック体で記載した品種は、酒米（大粒心白種）、下線を付した品種は育成品種を示す。
 図左上の横棒と数字は、Nei and Li¹³⁾ による遺伝距離を示す。また、品種名の後に示した括弧内は、
 京都大学（京）、九州大学（九）および農業生物資源研究所（生）における系統番号を示す。

の花粉親である「農林1号」を含んでいる。「八反錦1号」は、系譜上の祖先の一つが「日本晴」であることや、「日本晴」と「コシヒカリ」がともに系譜上、「農林22号」を祖先としていることがこれら育成品種間におけるDNA多型の類似度を高めたと考えられる。一方、「農林1号」の系譜上の祖先として重要な「亀の尾」や「森田早生」は、異なるクラスター（Ⅳ）を形成した。早生の酒米品種である「五百万石」並びに「美山錦」は、このクラスターに含まれた。

次に、在来酒米品種を含むクラスターⅠを細かく見ていくと、「山田穂」、「伊勢錦」、「白玉」、「都」等を含む品種群（Ⅰ-a）は、非常に遺伝的に近い関係にあることがわかる。「山田穂」を雌性親とする「山田錦」もこのクラスター内に分類されている。また、これらの品種群は、形態的には無芒であることが共通している。一方、クラスター（Ⅰ-a）からやや遺伝的に離れた品種としては、「雄町」、「渡船」などが含まれている。渡船は雄町からの二次選抜系統であるとされることは、「渡船（京大788）」や「渡船（九大1681）」が「雄町」と遺伝的に非常に近いことに合致している。これらの品種が有芒種であるのに対して、無芒種の「祝」、「野条穂」および「八反草」もクラスター（Ⅰ-a）から離れた分布を示した。特にクラスター（Ⅰ-a）に属する「八反10号」は、「八反草」からの二次選抜系統であるとされていることと、やや矛盾した結果を示している。このことは、在来種が本来内包していた遺伝的多様性を示していた可能性とともに、明治

以前の時代において西日本における品質評価の高い大粒種が各地に導入される中で、品種名等に錯誤が生じたことが考えられる。これらの可能性については、これら在来種に関して複数の機関における保存種子のさらなる解析を行うことで、解明されるかもしれない。さらに大きく遺伝的に離れた例としては、「伊勢錦」が「大和錦」から二次選抜されたとされるのにも拘わらず、「大和錦」は、クラスター（Ⅱ）に分類された。また、兵庫県においてかつて酒米として栽培されていた「辨慶」もクラスター（Ⅱ）に分類された。これらの系統は、特性調査の結果からは、心白発現率が低い等、本来の品種とは異なるものである可能性が高い。特に、クラスター（Ⅱ）に分類されている「新山田穂1号（九大1383）」やクラスター（Ⅰ）に分類されている「神力（京大1455）」は、明らかに保存上の錯誤により同名異種となったものと思われる。

4 育成品種におけるDNA多型の多様性

近年育成された酒米品種の遺伝的な多様性の変化について知るために、DNA多型データを0と1のカテゴリ変数として数量化Ⅲ類による解析を行った。解析の結果、固有値の高さが上位から2つの成分を基に、酒米品種と食用米品種の分布を図3に示した。その結果、在来大粒・心白種は、第1成分に対して負の値で、かつ第2成分に付いては、ほぼ0の値の領域に集中しているのに対して、温暖地で育成された酒米育成品種は、在来大粒・心白種の分布と重なる部分が多いが第1成分に関して正の値

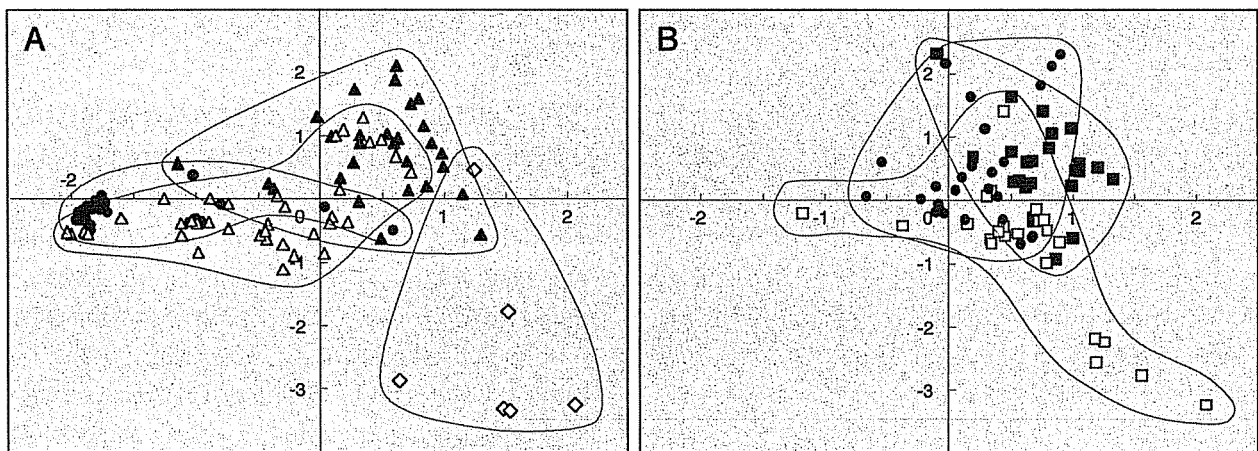


図3 DNA多型データの数量化3類解析により抽出された第1成分（横軸）および第2成分（縦軸）に関する各品種・系統のスコアの分布

A：酒米品種（●：在来品種，△：温暖地育成品種，▲：寒冷地育成品種，◇：掛米品種）
B：食用米品種（●：在来品種，□：温暖地育成品種，■：寒冷地育成品種）

の方向への分布を広げている。寒冷地で育成された酒米品種については、分布そのものが第1成分および第2成分に関して温暖地で育成された酒米育成品種よりさらに正の方向に偏っている。一方、掛米品種に関しては、酒米品種とは、大きく異なった領域に分布している。食用米品種では、在来種と育成品種とでは、その分布範囲が重なった領域に多く含まれているが、温暖地で育成された一部の品種に、第1成分が正、第2成分が負の領域に分布するものが存在した。これらの品種は、前述の掛米品種の分布域と重なっている。

このように、水稻育成品種は、その用途および地域への適応性によってDNA多型の分布に違いがあることが示された。こうしたDNA多型の偏りは、育成地域あるいは、育種目標によって、交配母本として選定された品種・系統が違うことを反映しているものと考えられるが、実用形質との関係、すなわち連鎖不平衡による偏りが予想される。今後、こうした違いがどのような実用形質と結びついているかを明らかにすることにより、交配母本の選定や、選抜マーカーの設定に関する情報を得ることが可能になると期待される。

5 葉緑体ゲノムの SSR 多型の検出

葉緑体ゲノムに存在する10のSSR座について解析を行った(表4)。その結果、6座において多型が検出された。多型が検出されなかったのは、4座のうち3座が翻訳領域であることから、保存性が高いためと考えられる。このSSR座での多型の組合せから、A~Gの7つのタイプの遺伝子型に分類でき、その細胞質遺伝子型の遺伝的関係を段階的変異仮説に基づいた系統樹を図4に示した。この中で、184品種中158品種(86%)がAタイプに属し、わが国のイネ品種における代表的な遺伝子型であった。次いで、15品種がBタイプに属した。このうち、7品種(「八反1号」,「八反2号」,「露葉風」,「吟吹雪」,「岡山薬48号」,「金南風」,「中生新千本」)は、今回調査した母系品種がAタイプに属し、SSR座の変異あるいは、育成系譜の何らかの錯誤によるのかは、断定できない。CタイプおよびDタイプに属する品種は、それぞれ、5品種と1品種であった。これらは、「亀の尾」など主に東北または、北陸地域を原産あるいは、育成地とする品種であった。特に、今回調査した「亀の尾」は、A、CおよびDの3つのタイプに分かれた点が興味深い。一方、Cタイプに分類された「亀の尾4号」,「万才」および「万石」は、核ゲノムの多型解析でも比較的近い関係にあり、葉緑体ゲノムの分類と符合する結果となった。Eタイプに分類される「M7」は、米国で育成された品種である

表4 葉緑体ゲノム上のSSR座とその多型解析に用いたプライマー配列

SSR 座	プライマー配列 (5'-3')
<i>RCt1</i>	F CATCCTTTTCAATCCAAAATCA R TGCCTGATGTAGGGAAAAGC
<i>RCt2</i>	F CTGGGGGGGATTATACCTGT R ATATCTCTCATTTCCGACGCA
<i>RCt3</i>	F TAGGCATAATTCCTCAACCCA R CTTATCCATTTGGAGCATAGGG
<i>RCt4</i>	F ACGGAATTGGAACCTTCTTTGG R AAAAGGAGCCTTGGGAATGGT
<i>RCt5</i>	F ATTTGGAATTTGGACATTTTCG R ACTGATTTCGTAGGCGTGGAC
<i>RCt6</i>	F GAATTTTAGAACTTTGAATTTTTTACCC R AAGCGTACCGAAGACTCGAA
<i>RCt7</i>	F GTGTCATTCTCTAGGCCGAAC R AAATATGACAGAAAAGAAAAATAGG
<i>RCt8</i>	F ATAGTCAAGAAAGAGGATCTAGAAT R ACCGCGATTCAATAAGAGTA
<i>RCt9</i>	F ATAAGGTTATTCCCGCTTACC R AAATTGGGGGAATTCGTACC
<i>RCt10</i>	F TCTTCATTGGAATCTGGGC R CTATTGATGCAAACGCTGTACC

注) FおよびRは、反復配列領域を挟む2種類のプライマーを示し、各SSR座のプライマー情報は、Ishii and McCouch (2000) による。

が、細胞質は、「渡船」を起源にしているとされている。直接の雌性親となった「Calrose76」は、「Calrose」の放射線照射によって育成されており、*RCt9*座においても変異が生じたのかもしれない。Fタイプに分類された、「キヌヒカリ」と「どんとこい」は、系譜から、ともにインド型品種「IR8」の細胞質を受け継いでいる。また、Gタイプに分類された「夢十色」および「タカナリ」は、それぞれ「IR2061-214-3」,「密陽2号」を雌性親に持つ。

おわりに

現在、「山田錦」の有する粒形や心白発現等の形質に関する量的形質遺伝子座(QTL)については、幾つか明らかになっている²¹⁾。しかし、こうしたQTLのDNAマーカーの選抜においては、交配組合せによっては、利用できない場合がある。それ故に、今回調査したRAPDやAFLPのマーカーについては、座乗染色体の種類や位置が不明の物が大多数であることから、すでにゲノム上の座位が明らかなSSRマーカーとの連鎖解析によりその位置関係を特定してゆくとともに、ゲノムライブラリー等を活用して、マーカーのSTS(Sequence Tagged Sites)化等を図ることが今後の課題である。また、河野ら(2000)は、日本型のイネ16品種で各種DNA多型検出の評価を行った結果、連鎖解析には、RFLPとSSRマーカーの併用が有効であり、品種識別や分類に当たっては、検出操

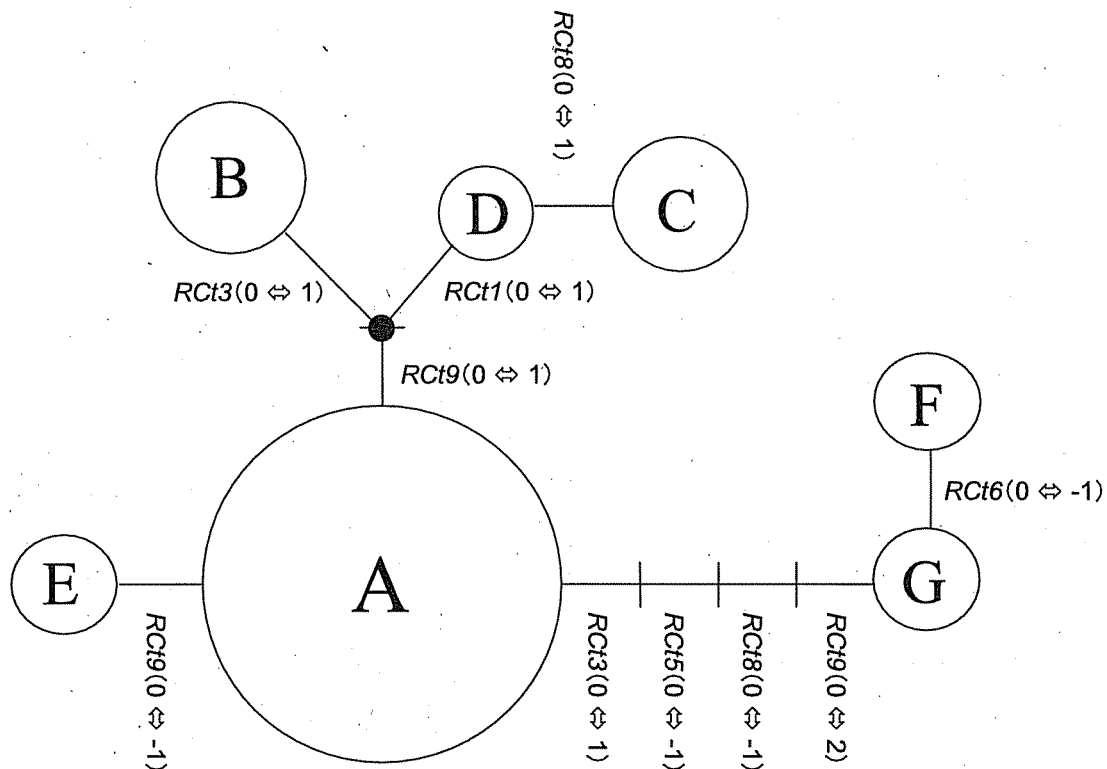


図4 最大節約法により作成した各葉緑体遺伝子型の系統樹

●：今回の調査では、発見されなかった仮定の遺伝子型

作の容易な SSR や RAPD マーカーが有用と結論付けている。これらのことから、SSR による多型データの更なる充実を図ることも重要と考えられる。一方、酒造適性形質についても、従来のような外観形質のみならず、玄米含有成分やそれに基づく発酵化学的特性や物理性についても品種特性として、理解していく必要がある。DNA マーカーによる形質のマッピングは、かなり進展しているが、実際の育種においてマーカー選抜が積極的に利用されている場面は、現段階では少ない。これは、特性の評価がむずかしかったり、複雑な遺伝様式を持つ特性に関する DNA マーカーの開発が遅れていることが一因であると考えられる。酒米品種間での醸造適性形質は、まさにこうした形質であり、今回調査した DNA 多型のデータがこれらの特性の遺伝的解析を行うための一助となることを期待している。

謝 辞

本研究は、実施に当たり文部科学省科学研究補助金(No. 11794003)の支援を受けたことに謝意を表します。また、貴重な保存種子を分譲してくださいました京都大学大学院農学研究科育種学研究室の谷坂隆俊教授、九州大学大学院農学研究院の佐藤光教授および各府県農業試験場の担当者の方々に厚く御礼申し上げます。

引用文献

- (1) 嵐嘉一 (1974) : わが国全体としての水稻作季の地域別動向—近世稲作技術史— (農文協) 261-288
- (2) Botstein, D., R.L. White, M. Sholnick and R.W. Davis (1980) : Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am. J. Hum. Genet.* 32, 314-331.
- (3) Chen, X., S. Temnykh, Y. Xu, Y. G. Cho and S. R. McCouch (1997) : Development of a microsatellite framework map providing genome-wide coverage in rice (*Oryza sativa* L.) *Theor. Appl. Genet.* 95, 553-567
- (4) Hashimoto, Z., N. Mori, M. Kawamura, T. Ishii, S. Yoshida, M. Ikegami, S. Takumi and C. Nakamura (2004) : Genetic diversity and phylogeny of Japanese sake-brewing rice as revealed by AFLP and nuclear and chloroplast SSR markers. *Theor. Appl. Genet.* 109, 1586-1596
- (5) 池上 勝・三好昭宏・吉田晋弥 (2003) : 酒米在来品種の品種特性. *近畿作育研究*, 48, 41-45
- (6) Ishii, T and S. R. McCouch (2000) : Microsatellites and microsynteny in the chloroplast genomes of *Oryza* and eight other Gramineae species. *Theor. Appl. Genet.* 100, 1257-1266

- (7) 加藤茂苞(1908):米ノ品種及其分布調査. 農事試験場特別報告 第25号:1-46
- (8) 河野いづみ・竹内善信・島野公利・佐々木卓治・矢野昌裕(2000):DNA マーカーによるイネ日本型品種間の多型検出頻度の比較. 育種学研究2, 197-203
- (9) Kubo, T., A. Yoshimura and N. Iwata (1998): Trial construction of molecular linkage map of Japonica rice. J. Fac. Agr., Kyushu Univ. 43, 95-101
- (10) Mackill, D. J. (1995): Classifying japonica rice cultivars with RAPD markers. Crop Sci. 35: 889-894
- (11) Mano, Y., S. Kawasaki, F. Takaiwa and T. Komatsuda (2001): Construction of a genetic map of barely (*Hordeum vulgare* L.) cross 'Azumamugi' x 'Kanto Nakate Gold' using a simple and efficient amplified fragment length polymorphism system. Genome 44, 284-292
- (12) 宮下進・国廣康史(1999):農林水産ジーンバンクに保存する日本在来稻の代表アクセッション. 育種学研究1(別1), 196
- (13) Nei, M. and Li W.-H. (1979): Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Pro. Natl. Acad. Sci. USA 76, 5269-5273
- (14) 大坪研一・藤井剛・橋野陽一・豊島英親・岡留博司・中村澄子・川崎信二(1997):RAPD法を用いた国内産精米の品種判別技術. 日食工44(5):386-390
- (15) Panaud, O., X. Chen and S. R. McCouch (1996): Development of microsatellite markers and characterization of simple sequence length polymorphism (SSLP) in rice (*Oryza sativa* L.) Mol. Gen. Genet. 252, 597-607
- (16) Taus, D. (1989): Hypervariability of simple sequences as a general source of polymorphic DNA markers. Nucleic Acids Res. 17: 6463-6471.
- (17) Temnykh, S., W. D. Park, N. Ayres, S. Cartinhour, N. Hauck, L. Lipovich, Y. G. Cho, T. Ishii and S. R. McCouch (2000): Mapping and genome organization of microsatellite sequences in rice (*Oryza sativa* L.) Theor. Appl. Genet. 100, 697-712
- (18) Vos, P., R. Hogers, M. Bleeker, T. van de Lee, M. Hornes, A. Frijters, J. Pot, J. Peleman, M. Kuiper and M. Zabeau (1995): AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. Nucleic Acids Res. 23, 4407-4414
- (19) Williams, J. G. K., A. R. Kuubelik, K. J. Livak, J. A. Rafalski and S. V. Tingey (1990): DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Res. 18, 668-672
- (20) 吉田晋弥・李余良・玉木克知・塩飽邦子(2000):米粒からの簡易なDNA抽出RAPD法による兵庫県奨励品種の識別. 兵庫農技研報(農業)48, 1-6
- (21) Yoshida S., M. Ikegami, J. Kuze, K. Sawada, Z. Hashimoto, T. Ishii, C. Nkamura and O. Kamijima (2002): QTL Analysis for Plant and Grain Characters of Sake-brewing Rice Using a Doubled Haploid Population. Breeding Sci. 52, 309-317