



Title	2種のカーバメイト系除草剤に対する耐性の遺伝分析：稲の交雑に関する研究、第XCII報
Author(s)	熊谷, 健夫; KUMAGAI, Takeo; 木下, 俊郎 他
Citation	北海道大学農学部邦文紀要, 14(4), 392-402
Issue Date	1985-12-28
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/12039">https://hdl.handle.net/2115/12039</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	14(4)_p392-402.pdf



## 2種のカーバメイト系除草剤に対する耐性の遺伝分析

— 稲の交雑に関する研究, 第XCII報<sup>1)</sup> —

熊谷 健夫<sup>2)</sup>・木下 俊郎

(北海道大学農学部作物育種学教室)

(昭和60年5月15日受理)

### Inheritance Studies on the Tolerance to the Two Carbamate Herbicides

— Genetical studies on rice plant, XCII —

Takeo KUMAGAI and Toshiro KINOSHITA

(Plant Breeding Institute, Faculty of Agriculture,  
Hokkaido University, Sapporo, 060 Japan)

#### 緒 言

最近、除草剤の多用に伴って、環境汚染を始め、耐性雑草の出現、作物の薬害などと言った種々の問題を生じている。水田の雑草防除においては、主としてイネと雑草の種間選択性を利用している。しかし、赤米の如きイネと同一種の雑草の防除に当っては、さらに種内における高度の選択性が要求されよう<sup>8)</sup>。この点から除草剤に対して強度の耐性を示すようなイネ品種の育成が必要となっている。

本研究では、すでに種内変異の存在することの知られている2種のカーバメイト系除草剤、ベンチオカーブとモリネートについて<sup>8,11)</sup>、耐性に関する遺伝機構を解明する目的でダイアレル交雑やF<sub>2</sub>およびF<sub>3</sub>系統などを用いて遺伝解析を行った。

#### 材料および方法

2種の除草剤、ベンチオカーブ(サターン)とモリネート(商品名オールドラム)を用いた。まず、ベンチオカーブの有効成分はS(4-クロロペンジル)N、N-ジエチルチオールカーバメイトで、植物に対する生理作用としては、発芽後の伸長抑制を示し、伸長に必要なホルモンの働きを弱めることが知られている。一方、モリネートの有効成分はS-エチル-ヘキサヒドロ-1H-アゼピン-1-カルボチ

オエートであり、植物体には幼根部-幼芽部を通じて吸収され、生長を停止させる。葉の狭い雑草はカーバメイト系除草剤には特異的に耐性が弱いが、ノビエに比べてイネでは明らかに耐性がみられ、属間選択活性がある<sup>10)</sup>。

薬剤処理効果の検定に当っては、まず、供試品種(Table 1)の種子を催芽させて、次いで所定濃度の薬剤を加えた水耕溶液4ℓの入ったプラスチック箱の水面に浮かせ、温室内で培養した。ダイアレル分析の供試系統はTable 1中の5系統であり、ベンチオカーブでは0.25 ppmと0.5 ppmの2条件、モリネートでは1 ppmおよび2 ppmの2条件とし、外に無処理条件を加えた。各条件では2反復を設けた。なお、1処理当たり50個体を養成して、薬剤

Table 1. Strains used in the experiment

Strain No.	Name	Origin
A-133	Norin 9 go	Hokkaido (JAPAN)
N-61	Jōkei-waisei	Mutant from the breeding materials in Hokkaido
I-32	Karalath	India
I-33	Surjamukhi	India
I-35	Modan	India
I-61	Bologona	Italy
I-128	Taichung 65 go	Taiwan

1) 北海道大学農学部作物育種学教室業績

2) 現住所、国立衛生試験所 北海道薬用植物栽培試験場、名寄市

耐性の評価法としては、培養2週間後において生育を続けている個体の割合(生存率)と処理区の草丈/無処理区の草丈(相対生長率)を指標に用いた。統計計算ではこれらの%を角度変換( $\arcsin \sqrt{\%}$ )した数値を用いて、HAYMAN<sup>3)</sup>やMATHER and JINKS<sup>5)</sup>の分析方法に従い、分散分析を行った。ダイアレル交雑ではF<sub>1</sub>種子を大量に得ることが困難であったため、F<sub>1</sub>を自殖してF<sub>2</sub>種子を作り、F<sub>1</sub>の代りに用いた。それ故ダイアレル分析には、所定の補正を行った式<sup>1,7)</sup>により計算した。HAYMAN<sup>4)</sup>による仮説を満足しているベンチオカーブ0.25 ppm 処理条件については、さらに遺伝分散成分の分割や有効因子数の推定も行った。

次に耐性の強×弱の交雑実験を行った。耐性強の系統としてはA-133農林9号, 弱系統としてはI-32 Karalathを選んで正逆交雑を行い、F<sub>1</sub>種子の自殖によってF<sub>2</sub>集団を約400個体供試するとともに、無処理のF<sub>2</sub>集団から任意に選んで採種した次代の102~138にのぼるF<sub>3</sub>系統をベンチオカーブ処理実験に用いた。各処理濃度は0.25 ppmと0.5 ppmの2条件で、処理の方法はダイアレル分析の場合と同様である。しかし、処理効果の判定には葉害程度を3段階に分けた。すなわち、指数1としては葉害のほとんどみられぬ正常個体、2としては本葉の葉身展開が不完全な個体、3としては葉害が顕著なため、本葉が葉鞘から抽出せずに生育停止を示した個体の3段階へ分類した。一方、F<sub>2</sub>集団については、成熟時に標識形質として稈先色、黒色穎、黄金色穎を調査しておき、優性型と劣性型に2分して個体別に採種し、翌年、それぞれのF<sub>2</sub>個体からのF<sub>3</sub>系統について、兩型間で耐性値を比較した。

## 結 果

### 1. ダイアレル分析

供試系統としては耐性強に属するI-61とI-128, 弱のI-33ならびに中間の程度を示すN-61, I-35を用いた。ダイアレル交雑のF<sub>2</sub>および親系統の平均生存率および平均相対生長率をTable 2および3に示した。

ダイアレル分析を始める前に、生存率と相対生長率のいずれを用いて分析を行うかについて検討した。いま、両者間で相関関係を求めると、下記の如くとなった。

ベンチオカーブ	0.25 ppm	r=0.7580**
〃	0.5 ppm	r=0.9383**
モリネート	1 ppm	r=0.9554**
〃	2 ppm	r=0.9545**

\*\*.....1%水準で有意.

いずれを指標に用いてもさしつかえないわけであるが、評価の明瞭な点(Plate IおよびII)を考慮して生存率の方を用いることとして、角度変換( $\arcsin \sqrt{\%}$ )を行い、耐性値として用いた。したがって、角度の大きい方が耐性値が高いこととなる。

HAYMANの方法<sup>3)</sup>による分散分析の結果をTable 4と5に示した。分散比(VR)の計算に当っては、それぞれの項と反覆の交互作用を分母に用いる場合とそれらの項をこみにして計算した反覆との交互作用を用いる場合の2種類に分けて算出した。

各項の反覆との交互作用の平均平方の間で異質性をBarlettの方法により検定したところ、ベンチオカーブ

**Table 2.** Mean survival rate (%) of the parents and F<sub>2</sub> populations treated with benthicarb and molinate

Strain or F <sub>2</sub> population	Concentration			
	Benthicarb 0.25 ppm	Benthicarb 0.5 ppm	Molinate 1 ppm	Molinate 2 ppm
N-61	71.1	43.5	62.6	30.9
I-33	47.4	14.0	7.2	4.2
I-35	59.5	60.0	31.8	9.0
I-61	90.5	90.0	86.1	72.6
I-128	88.0	90.0	84.7	70.3
N-61 × I-33	61.3	3.5	0	5.0
reciprocal	57.2	43.6	5.2	0
N-61 × I-35	93.5	60.9	37.5	25.4
reciprocal	75.0	42.2	15.0	0
N-61 × I-61	83.4	9.4	45.7	30.7
reciprocal	73.8	11.8	64.4	12.4
N-61 × I-128	97.0	23.6	51.6	37.0
reciprocal	97.0	88.5	90.9	45.9
I-33 × I-35	78.3	31.9	24.9	11.3
reciprocal	89.5	21.2	9.6	42.1
I-33 × I-61	90.8	6.9	36.0	11.8
reciprocal	100.0	89.0	68.7	42.6
I-33 × I-128	80.9	57.9	24.5	7.8
reciprocal	98.1	79.3	56.9	22.1
I-35 × I-61	92.2	44.0	54.6	18.1
reciprocal	98.9	83.6	58.3	26.0
I-35 × I-128	95.8	76.7	36.6	11.0
reciprocal	100.0	90.2	55.5	59.6
I-61 × I-128	95.3	96.6	68.5	47.6
reciprocal	88.6	90.8	70.0	54.4

**Table 3.** Relative plant height (%) to the checked plants in the parents and F<sub>2</sub> populations treated with benthio carb and molinate

Strain or F <sub>2</sub> population	Concentration			
	Benthio carb 0.25 ppm	Benthio carb 0.5 ppm	Molinate 1 ppm	Molinate 2 ppm
N- 61	69.1	32.3	41.3	16.1
I - 33	36.5	10.2	5.1	3.1
I - 35	49.2	40.5	19.3	3.2
I - 61	73.9	75.8	80.2	58.6
I -128	68.8	64.4	81.5	37.4
N-61× I - 33	48.3	3.0	0	1.9
reciprocal	47.3	20.9	1.7	0
N-61× I - 35	79.7	38.1	15.1	6.0
reciprocal	56.8	22.8	6.7	0
N-61× I - 61	81.2	11.8	38.5	20.3
reciprocal	83.3	7.7	67.6	5.7
N-61× I -128	100.0	24.4	36.7	18.2
reciprocal	70.1	71.7	86.1	19.4
I -33× I - 35	68.8	22.0	12.2	4.0
reciprocal	81.0	16.2	3.7	13.7
I -33× I - 61	74.9	5.1	19.6	3.1
reciprocal	91.9	90.7	82.6	21.8
I -33× I -128	65.0	41.6	13.3	2.8
reciprocal	87.5	74.5	57.5	9.3
I -35× I - 61	80.3	62.5	35.4	4.3
reciprocal	76.2	73.2	58.9	9.2
I -35× I -128	81.7	33.1	30.9	3.4
reciprocal	97.9	77.7	44.3	22.8
I -61× I -128	55.7	84.7	66.9	22.9
reciprocal	63.7	78.7	40.3	21.9

の 0.25 ppm, モリネートの 1 ppm および 2 ppm では異質性が認められなかったが, ベンチオカーブの 0.5 ppm では  $p=0.025\sim 0.050$  で差があると認められた。ここで各処理別における結果を概説する。

a. ベンチオカーブ 0.25 ppm 処理

分散分析の結果を Table 4 a に示した。遺伝子の相加的効果の変動を示す a 項と優性偏差による b 項とは有意であった。b ではさらに b<sub>1</sub> (平均親からの F<sub>2</sub> 雑種の平均的偏差), b<sub>2</sub> (各 F<sub>2</sub> 雑種の平均親からの平均的偏差のアレール間差) および b<sub>3</sub> (各 F<sub>2</sub> 雑種に固有な優性偏差) に分けると, b<sub>1</sub> 項の VR' (こみにして計算した反覆との交

互作用による) においてのみ有意であった。また, それぞれの親の母性効果を検定する c 項と c によらない正逆の差を検出する d 項はともに有意でなかった。この処理結果は HAYMAN の仮説を支持しているために後述の遺伝分散成分の分割に用いた。

**Table 4.** Analysis of variance of a 5×5 diallel for benthio carb tolerance

a. Treatment with 0.25 ppm				
Item	d.f.	Mean square	VR <sup>1)</sup>	VR <sup>2)</sup>
a	4	8847.250	168.020**	80.736**
b	10	344.081	3.178*	3.140**
b <sub>1</sub>	1	1496.800	56.952	13.659**
b <sub>2</sub>	4	164.750	0.931	1.503
b <sub>3</sub>	5	257.002	3.696	2.345
c	4	250.778	1.016	2.288
d	6	74.658	1.278	0.681
Block (B)	1	468.562		
B × a	4	52.656		
B × b	10	108.282		
B × b <sub>1</sub>	1	26.282		
B × b <sub>2</sub>	4	176.880		
B × b <sub>3</sub>	5	69.540		
B × c	4	246.839		
B × d	6	58.415		
Block interaction	24	109.583		

\*, \*\* Significant at the 0.05 and 0.01 levels, respectively.

1) Each item tested against its own block interaction.

2) All items tested against the pooled block interaction.

3) a : genetical variation among the mean of each parental line.

b : dominance effects.

b<sub>1</sub> : mean deviation of the F<sub>2</sub>s from their mid-parental values.

b<sub>2</sub> : further dominance deviation of the F<sub>2</sub>s from their mid-parental values within each array differs over arrays.

b<sub>3</sub> : part of the dominance deviation that is unique to each F<sub>2</sub>.

c : average maternal effects of each parental line.

d : variation in the reciprocal differences not ascribable to c.

Block interaction : the sum of the interaction sums of squares.

## b. Treatment with 0.5 ppm benthocarb

Item	d.f.	Mean square	VR	VR'
a	4	2994.770	83.880**	25.102**
b	10	477.844	2.175	4.005**
b <sub>1</sub>	1	397.094	0.282	3.328
b <sub>2</sub>	4	356.992	4.264	2.992*
b <sub>3</sub>	5	590.674	6.485*	4.951**
c	4	1419.290	59.865**	11.897**
d	6	425.840	5.960*	3.569*
Block (B)	1	105.813		
B × a	4	35.703		
B × b	10	219.655		
B × b <sub>1</sub>	1	1406.700		
B × b <sub>2</sub>	4	83.717		
B × b <sub>3</sub>	5	91.077		
B × c	4	23.708		
B × d	6	71.450		
Block interaction	24	119.303		

\*, \*\* Significant at the 0.05 and 0.01 levels, respectively.

## b. ベンチオカーブ 0.5 ppm 処理

a項では2種のVRが共に有意であり、b項ではVR'のみが有意であった (Table 4b)。bの中ではb<sub>2</sub>のVR'が有意で、特定組合せ能力に相当すると考えられるb<sub>3</sub><sup>2)</sup>では2種のVRがすべて有意であった。またcとdは共に有意となり、母性効果が認められた。Table 2および3より明らかな如く、耐性強のI-61やI-128を母本に用いた交雑組合せのF<sub>2</sub>では逆交雑の場合に比べて高い耐性値を示すことが、I-61×N-61の場合を除いた他の交雑組合せで認められた。

## c. モリネート 1 ppm および 2 ppm 処理

1 ppm と 2 ppm 処理においては同一の傾向を示す結果が得られた (Table 5)。すなわち、aとbの両項は有意で、b<sub>1</sub>とb<sub>3</sub>は有意となる場合があった。さらにc項はVR'の場合に、1 ppm, 2 ppm が共に有意となった。I-61×N-61以外では、耐性強のI-61やI-128を母本とした場合のF<sub>2</sub>において、逆交雑におけるよりも耐性値の高くなることが明らかとなり、全体としてベンチオカーブ 0.5 ppm の場合と類似する結果となった。

## d. アレーの分散 (Vr) に対する共分散 (Wr) の回帰 (ベンチオカーブ 0.25 ppm の場合)

正逆交雑間および反覆間の平均値からアレー内の分散

Table 5. Analysis of variance of a 5×5 diallel for molinate tolerance

Item	d.f.	1 ppm			2 ppm		
		Mean square	VR	VR'	Mean square	VR	VR'
a	4	2982.140	26.961**	33.030**	1724.030	11.621*	18.065**
b	10	298.687	7.779**	3.308**	294.003	4.906*	3.081*
b <sub>1</sub>	1	466.960	9.995	5.172*	374.233	376.114	3.921
b <sub>2</sub>	4	107.002	1.885	1.185	228.677	3.695	2.396
b <sub>3</sub>	5	418.365	18.986**	4.634**	330.218	4.707	3.460*
c	4	390.657	3.535	4.327**	625.877	4.336	6.558**
d	6	133.130	0.889	1.475	176.452	2.035	1.849
Block (B)	1	183.375			576.145		
B × a	4	110.609			148.358		
B × b	10	38.395			59.930		
B × b <sub>1</sub>	1	46.720			0.995		
B × b <sub>2</sub>	4	56.765			61.882		
B × b <sub>3</sub>	5	22.035			70.156		
B × c	4	110.524			144.359		
B × d	6	149.743			86.714		
Block interaction	24	90.287			95.436		

\*, \*\* Significant at the 0.05 and 0.01 levels, respectively.

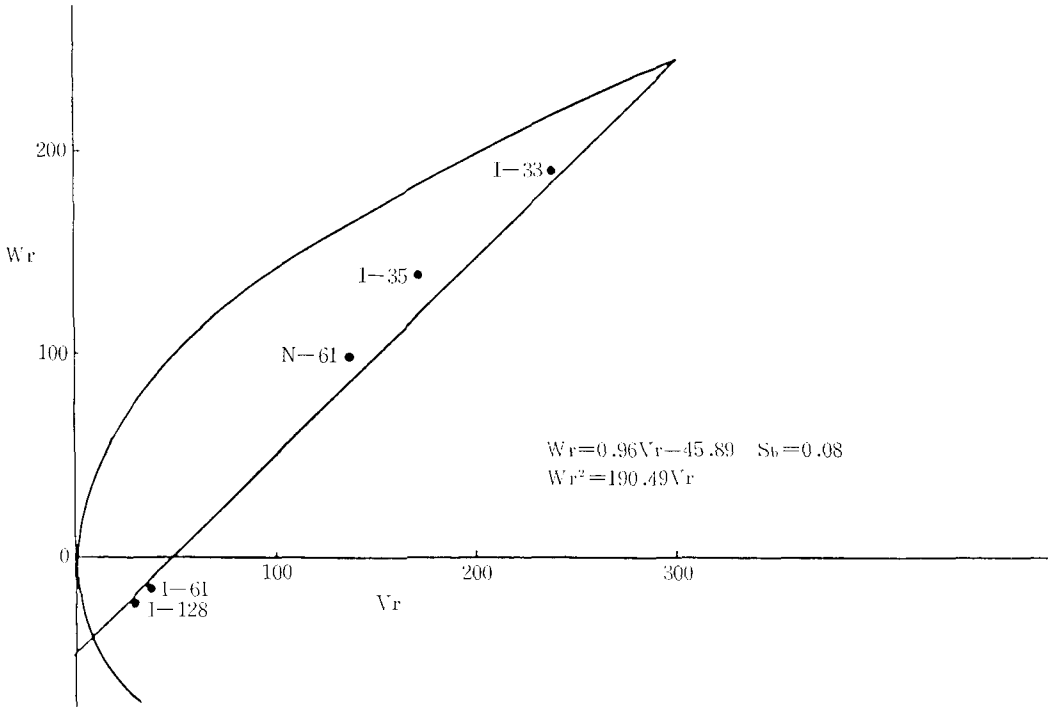


Fig. 1. Regressions of  $W_r$  on  $V_r$  for survival rates at 0.25 ppm benthocarb treatment.

( $V_r$ )を求め、これとアレー内の  $F_2$  と非共通親の共分散 ( $W_r$ )の関係を Fig. 1 に示した。回帰係数は0と有意差を示したが、1との差は有意でなかった。したがって、非対立遺伝子間の相互作用(エピスタシス)は認められなかった。また回帰が有意であったので優性効果の存在が示唆された。回帰直線が完全優性の場合よりも下部にあるので、優性効果が相加的效果より大きいと言える。また耐性値の高い方が優性で、I-61とI-128は優性遺伝子を多くもち、I-33は劣性遺伝子を多くもつと推定される。

$W_r$ と $V_r$ が分析モデルから期待される関係をもっているか否かを検定するため、各アレーの  $W_r - V_r$ ,  $W_r + V_r$ の値の分散分析を行った (Table 6)。その結果  $W_r - V_r$ が有意でなく、このことからエピスタシスのない

Table 6. Analysis of variance of  $W_r - V_r$  and  $W_r + V_r$  in a  $5 \times 5$  diallel for 0.25 ppm benthocarb treatment

	Item	d.f.	MS	VR
$W_r + V_r$	Between arrays	4	89374.9	2.25
	Within arrays	5	39676.5	
$W_r - V_r$	Between arrays	4	376.2	0.03
	Within arrays	5	11699.4	

単純な相加・優性モデルをあてはめることができた。 $W_r + V_r$ の値も有意でなく。非相加的遺伝分散は検出されなかった。また親の平均値と  $W_r + V_r$ との相関係数

Table 7. Estimates of the components in a  $5 \times 5$  diallel for 0.25 ppm benthocarb treatment

D	80.909
$H_1$	434.273
$H_2$	534.899
F	-122.701
E	109.583
$\sqrt{H_1/D}$	2.317
$\bar{uv}$	0.308
$h_B^2$	0.456
$h_N^2$	0.290
K	3.048
$K'$	2.517

$h_B^2$ : heritability in broad sense.

$h_N^2$ : heritability in narrow sense.

$K = \frac{(\text{mean of total} - \text{mean of parents})^2}{H_2/16}$

$K' = \frac{(\text{maximum of parent} - \text{minimum of parent})^2}{4D}$

**Table 8.** Correlations between tolerances to benthocarb and molinate

## a. Survival rate:

Between characters	Correlation coefficient
Benthocarb (0.25 ppm)- Molinate (1 ppm)	0.6052**
Benthocarb (0.25 ppm)- Molinate (2 ppm)	0.6215**
Benthocarb (0.5 ppm)- Molinate (1 ppm)	0.6606**
Benthocarb (0.5 ppm)- Molinate (2 ppm)	0.5803**

## b. Relative growth rate:

Between characters	Correlation coefficient
Benthocarb (0.25 ppm)- Molinate (1 ppm)	0.4068*
Benthocarb (0.25 ppm)- Molinate (2 ppm)	0.3748
Benthocarb (0.5 ppm)- Molinate (1 ppm)	0.7078**
Benthocarb (0.5 ppm)- Molinate (2 ppm)	0.5799**

\*, \*\* Significant at the 0.05 and 0.01 levels, respectively.

は  $r = -0.975$  となり、1% 水準で有意で、優性効果の大部分は耐性の高い方向へ作用することを示唆している。

## e. 遺伝分散成分の推定

種々の遺伝分散の推定値を Table 7 に示した。優性効

果 ( $H_1, H_2$ ) は相加的効果 (D) に比べて大きく、平均優性度 ( $\sqrt{H/D}$ ) は 2.317 であった。また遺伝率は広義、狭義ともにあまり大きくなかった ( $h_B^2 = 0.456, h_N^2 = 0.290$ )。有効因子数を 2 種の方法により算出したが、これらの推定値は MATHER and JINKS<sup>5)</sup> の  $K_1$  に相当する。その推定数は 2~3 対程度であった。これらの推定数は関係遺伝子の最小数に相当すると考えられるが、ベンチオカーブ耐性に関係ある遺伝子数はあまり多くないとみてよいであろう。

## 2. ベンチオカーブとモリネートへの耐性に関する交差性

ダイアレル分析に用いた親系統と  $F_2$  集団の平均値を用いて、ベンチオカーブ耐性とモリネート耐性の間の相関関係を調査した (Table 8)。生存率においては、すべて有意な相関関係がみられ、相対生長率でもベンチオカーブ 0.25 ppm とモリネート 2 ppm 処理間を除いて、その他はすべて有意な相関関係が得られた。

3.  $F_2$  および  $F_3$  系統における遺伝分析

ベンチオカーブの耐性強とみられる系統、A-133 農林 9 号と弱系統の 1 つである I-32 Karalath の間で交雑実験を行った。

親系統と正逆交雑組合せの  $F_2$  集団について、耐性指数を調査した結果を Table 9 に示した。両親系統の間には 0.25 ppm でも 0.5 ppm 処理でも明らかな平均耐性値の差が見出されたが、系統内の個体間変異は極めて大きく、0.25 ppm の処理条件であっても、0.5 ppm 処理であっても耐性強の系統内にも生育を停止する個体を生じたり、耐性弱の系統内にも正常に発育する個体を生じた。このように個体の内的または外的条件により耐性はかな

**Table 9.** Indices of benthocarb tolerance in the parents and  $F_2$  populations

Treatment (Concent.)	Strain or $F_2$ population	Index <sup>1)</sup>			Total	Mean	t
		1	2	3			
0.25 ppm	A-133	82	22	14	118	1.42	0.295
	I-32	24	3	64	91	2.44	
	A-133 × I-32	352	16	43	411	1.25	
	I-32 × A-133	334	8	41	383	1.23	
0.5 ppm	A-133	56	13	33	102	1.77	6.306**
	I-32	6	0	102	108	2.89	
	A-133 × I-32	146	20	236	402	2.22	
	I-32 × A-133	71	22	321	414	2.60	

\*\* Significant at the 0.01 level.

1) Tolerance index; 1 means nearly normal, 2 means an incomplete development of first leaf blade and 3 means retardation of growth.

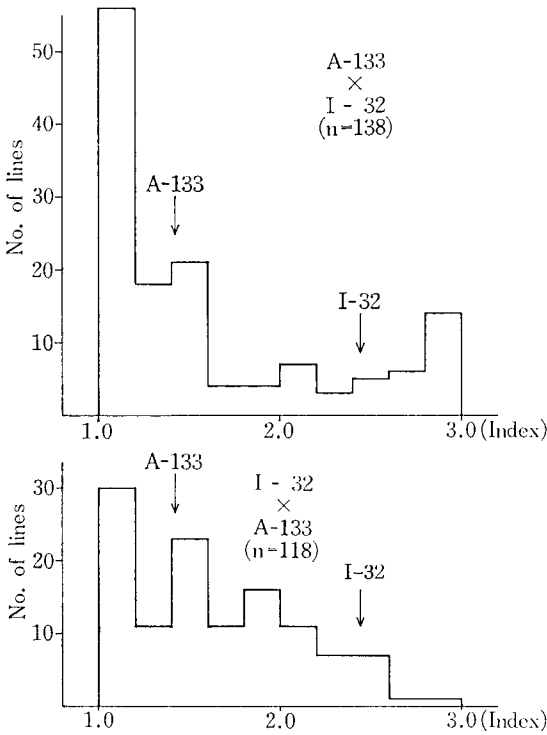


Fig. 2. Frequency distribution of the mean indices of tolerance in F<sub>3</sub> lines at 0.25 ppm benthiocarb treatment.

り変わることがわかれたので、F<sub>2</sub> 集団を個体単位で耐性強と弱に2分することは余り意味がないと考えられた。F<sub>2</sub> では0.25 ppm 処理において正逆交雑の平均耐性値間に有意差がみられなかったが、0.5 ppm 処理の場合

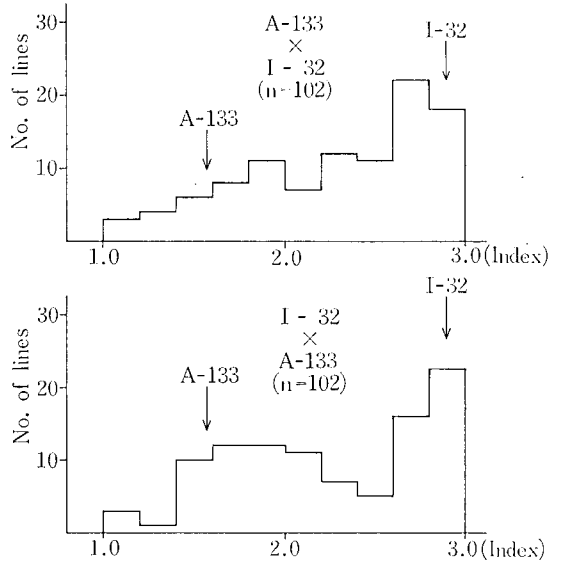


Fig. 3. Frequency distribution of the mean indices of tolerance in F<sub>3</sub> lines at 0.5 ppm benthiocarb treatment.

Table 10. Relationship between benthiocarb tolerance and marker genes in F<sub>3</sub> lines

Cross combi.	Concent. (ppm)	Marker genes	Tolerance index												Total	Mean	t
			1.0	1.2	1.4	1.6	1.8	2.0	2.2	2.4	2.6	2.8	3.0				
A-133 x I-32	0.25	CA	27	8	11	4	2	2	1	3	1	9	68	1.62	0.190		
		+	29	10	10	0	2	5	2	2	5	5	70	1.60			
	0.5	CA	2	3	5	2	5	4	4	9	8	11	53	2.27			
		+	1	1	1	6	6	3	8	2	14	7	49	2.31			
I-32 x A-133	0.25	CA	16	3	12	6	12	4	7	4	1	1	66	1.71	1.847		
		+	14	8	11	5	4	7	0	3			52	1.55			
	0.5	CA	1	0	5	9	8	7	3	2	6	15	56	2.24			
		+	2	1	5	3	4	4	4	3	10	10	46	2.28			
A-133 x I-32	0.25	Bh <sub>1</sub> Bh <sub>2</sub> Bh <sub>3</sub>	26	4	8	2	2	3	0	3	1	6	55	1.58	0.412		
		+	30	14	13	2	2	4	3	2	5	8	83	1.63			
	0.5	Bh <sub>1</sub> Bh <sub>2</sub> Bh <sub>3</sub>	0	1	2	4	3	3	2	5	8	11	39	2.40			
		+	3	3	4	4	8	4	10	6	14	7	63	2.22			
I-32 x A-133	0.25	Bh <sub>1</sub> Bh <sub>2</sub> Bh <sub>3</sub>	12	8	9	4	6	6	4	3			52	1.63	0.216		
		+	18	3	14	7	10	5	3	4	1	1	66	1.65			
	0.5	Bh <sub>1</sub> Bh <sub>2</sub> Bh <sub>3</sub>	1	1	3	5	7	4	3	1	6	15	46	2.31			
		+	2	0	7	7	5	7	4	4	10	10	56	2.21			
A-133 x I-32	0.25	+	47	13	13	3	4	5	2	4	2	10	103	1.56	1.639		
		gh-1	9	5	8	1	0	2	1	1	4	4	35	1.76			
	0.5	+	3	2	4	8	7	4	9	11	15	13	76	2.28			
		gh-1	0	2	2	0	4	3	3	0	7	5	26	2.30			
I-32 x A-133	0.25	+	26	10	16	8	10	9	6	7	1	1	94	1.64	0.047		
		gh-1	4	1	7	3	6	2	1				24	1.63			
	0.5	+	2	1	8	8	10	7	6	4	13	22	81	2.29			
		gh-1	1	0	2	4	2	4	1	1	3	3	21	2.13			

には、明らかに正逆交雑間で平均耐性値が異っていた。

次に  $F_2$  集団を無処理条件により育てて、任意に 102~138 個体を選び出し、 $F_3$  系統として耐性試験を行った。この場合には各系統 40 個体ずつの平均値をとったので、 $F_2$  の遺伝子型による差は  $F_3$  系統平均値にかなり反映されているといえよう。このような  $F_3$  系統平均値についての頻度分布を処理条件と交雑組合せ別に Fig. 2 と Fig. 3 に示した。多くは連続的の変異を示したが、0.25 ppm 処理条件下の A-133×I-32 では、1.8 を境として耐性強と弱にはほぼ 2 分できた。そこでは耐性の強:弱=99:39 という分離を示し、理論比 3:1 との適合度では  $\chi^2=0.783$ ,  $p=0.30-0.50$  で理論比を満足するとみなされた。したがって、耐性強には 1 対の優性遺伝子が関与するとしてよい。しかしその他の分布ではこのような不連続な変異はほとんど認められなかった。正逆交雑間での平均耐性値の差の有意差は  $t$ -検定により、すべて有意性が認められなかったが、0.25 ppm でも 0.5 ppm でも正逆交雑間で分布型がやや相異なるようであった。いずれの処理条件でも親系統よりもさらに耐性値の高いかまたは低い系統が出現しており、超越分離の傾向がみられた。

#### 4. ベンチオカーブ耐性と標識形質の間の関係

本交雑組合せの  $F_2$  では、稈白色、穎色および節間色についての分離を生じた。これらに係わる遺伝子について親系統のもつ遺伝子型は下記の如くである。

$$\begin{array}{l} \text{A-133} \quad C^+ A^+ P \quad Bh_1^+ Bh_2 Bh_3^+ \quad gh-1^+ \\ \text{I-32} \quad C^{Bk} A P^k \quad Bh_1 Bh_2^+ Bh_3 \quad gh-1 \end{array}$$

あらかじめ  $F_2$  集団において分離を調べておき、優性型と劣性型に 2 分して  $F_3$  系統を作った。Table 10 に示す如く、ベンチオカーブの 0.25, 0.5 ppm の処理条件では交雑組合せや形質の如何を問わず、優性型と劣性型の平均耐性値間ではすべて有意差が認められなかった。したがってこれらの形質に係わる標識遺伝子については、耐性遺伝子との間に明らかな遺伝的相関関係は認められなかった。

## 論 議

化学薬剤に対するイネの感受性に関しては殺菌剤 PCBA およびその酸化分解物の抵抗性について品種間差異が見出され、感受性は 1 対の劣性遺伝子支配によることが認められた<sup>9)</sup>。また、除草剤プロパニールの感受性突然変異体についても単遺伝子支配による arylacylamidase の存在が関与していることが示された<sup>6)</sup>。このような薬剤耐性の遺伝機作を明らかにすることは、単に

農薬使用の実用面ばかりでなく作物の代謝機能の化学的調節に関する知見を深めることにも役立つと考えられる。

今回使用した薬剤は、カーバメイト系の除草剤のベンチオカーブ(サターン)とモリネートであり、いずれも発芽後の幼芽や幼根の伸長に影響を与え、高濃度においては発育を停止させる。モリネートへの耐性に関しては、すでに種内変異が認められており<sup>8)</sup>、矮性を含む 72 系統が 2 ppm と 4 ppm の使用によって 4 段階の耐性に分けられている。本研究では、まず耐性程度の異なる 5 系統を用いて、ダイアレル交雑を行い、 $F_1$  を大量に作ることに困難のために、 $F_1$  の自殖による  $F_2$  種子を親系統と共にダイアレル分析に用いた。生物検定に当っては各薬剤につき、2 種の濃度条件を用いた。催芽種子は薬剤を含む培養液で 2 週間培養した後、顕著に発育の差がみられたので、生存率と相対生長率で評価した。両者の相関は極めて高いことから、生存率の角度変換値を耐性値とした。低濃度と高濃度条件とは、作用遺伝子の種類や作用性の相違する可能性を考え、薬剤の種類および濃度別にダイアレル分析を行った。その結果、すべての処理条件に共通して遺伝子の相加的効果と優性効果の有意性が認められた。また、ベンチオカーブの 0.5 ppm, モリネートの 1 ppm および 2 ppm の各条件下では、さらに母性効果も有意となった。一般に耐性値の高い I-61, I-128 を母本に用いた交雑組合せの  $F_2$  では逆交雑組合せの  $F_2$  よりも耐性値が高くなる傾向がみられた。

HAYMAN<sup>4)</sup> はダイアレル交雑の分析において、その前提として 6 種の条件をあげている。そのうちで、2 倍体であることと親系統が同型接合体であることはイネでは一般的に認められている。また正逆雑種で差のないことは、今回ベンチオカーブの 0.25 ppm 処理条件のみで満足された。この条件において、アレーの分散 ( $V_r$ ) に対する共分散 ( $W_r$ ) の回帰をみると、このダイアレル交雑における相加・優性モデルから期待される結果によく適合していた。また、非対立遺伝子間の相互作用は認められず、優性効果は相加的效果より大きいと考えられた。耐性の高い方が優性であり、その優性遺伝子を多く持っているのが I-61 と I-128 であって、劣性遺伝子の多いのが I-33 であった。さらに親の平均値と  $W_r+V_r$  との負の相関関係が有意で、優性遺伝子の大部分は耐性値の高い方向へ作用すると考えられた。

遺伝分散成分の推定値からも優性効果が相加的效果に比べて大きく、平均優性度も 2 を越えていて、超優性を示すようであった。遺伝率は広義・狭義ともにあまり高

くなかった。有効遺伝子数も2~3対で、それほど多くなかった。

このように1種の処理条件のみの結果からではあるが、カーバメイト系除草剤に関する量的な抵抗性についての遺伝的特性が明らかにされた。

すでに多数のイネ系統を扱ったデータから明らかにされているが、ベンチオカーブとモリネート両剤に対する抵抗性には、有意な相関関係 ( $r=0.81$ ) が認められている<sup>1)</sup>。今回のダイアル交雑の結果からも、両剤への交差性を確認できた。

耐性強と耐性弱品種の組合せであるA-133農林9号×I-32 Karalathの交雑F<sub>2</sub>集団およびF<sub>3</sub>系統における耐性値(薬害程度スコア)の変異を調べた結果から、親品種のスコアの変異性が大きく、F<sub>2</sub>集団で遺伝子分析を行い難いことが明らかとなった。そこで、F<sub>3</sub>系統平均値がそれらの由来したF<sub>2</sub>個体の耐性値をかなりよく反映していると考え、F<sub>3</sub>系統平均値の頻度分布を調べて、遺伝子分析をすすめることを計画した。しかし、わずかにベンチオカーブの0.25ppm処理条件のA-133×I-32 F<sub>3</sub>についてのみ、スコア1.8を境として、耐性強:弱に2分できた。ここでは耐性に関して単純優性遺伝子の関与することが示された。しかし、逆交雑の場合とベンチオカーブ0.5ppm処理条件下では変異がまったく連続的となり、おそらく複数の遺伝子が関与していると考えられた。ダイアル分析でも遺伝力の低かったことを考慮に入れると薬剤耐性は一種の量的形質であると考えられる。F<sub>3</sub>系統では強弱両方向へ超越分離を示した。したがって、本交雑の後代にはおそらくA-133よりも耐性値の高い系統が育成されよう。このような高度の耐性系統は、イネ品種に混ざる赤米の防除の如き同一種内でも選択的に作用する除草剤の適用のために重要である。

本交雑組合せのF<sub>2</sub>で分離した稈先色(CA)、黒色穎(Bh<sub>1</sub>Bh<sub>2</sub>Bh<sub>3</sub>)および穎・節間黄金色-1(gh-1)について、優性型と劣性型に分けて、F<sub>3</sub>系統での平均耐性値の変異を比較したが、いずれも有意差はみられず、耐性と標識形質の間には遺伝的相関関係が認められなかった。

### 摘 要

1. カーバメイト系の2種の除草剤、ベンチオカーブ(サターン)とモリネートに対する耐性に関する種内変異の遺伝機構を明らかにするための遺伝分析を行った。

2. 両薬剤について耐性程度の異なる5系統を選び、ダイアル交雑を行い、F<sub>1</sub>の自殖によるF<sub>2</sub>ならびに親系統種子を用いて、ダイアル分析を試みた。薬剤処理

濃度はベンチオカーブについては0.25ppmと0.5ppmの2条件、モリネートについては1ppmと2ppmの2条件を用いた。

3. 生物検定のためには、催芽種子をプラスチック箱の中で所定の薬剤濃度を有する水耕液4ℓの上に浮かせて、温室内で培養した。2週間後に各区の生存率と無処理の平均草丈に対する処理区の平均草丈の割合(相対生長率)を算出した。各処理条件は2回反覆とした。

4. 生存率の角度変換した値を耐性値として、各処理条件別に分散分析を行った。4処理条件を通じて、遺伝子の相対効果と優性効果はいずれも有意となった。またベンチオカーブ0.25ppm処理以外の3条件では、すべて母性効果も有意となり、耐性値の高いI-61やI-128を母本に用いた交雑は逆交雑に比べていずれもF<sub>2</sub>の平均耐性値の高くなる傾向がみられた。

5. HAYMANの仮説を満足するとみられるベンチオカーブの0.25ppm処理条件について、Wr/Vrの回帰分析を行い、非対立遺伝子間の相互作用のみられない単純な相加・優性のモデルをあてはめることができた。耐性強が弱に対して優性となり、I-61やI-128は優性遺伝子を多くもち、I-33は劣性遺伝子を多くもつと考えられた。親の平均値とWr+Vrの相関係数は $r=-0.975$ で、優性遺伝子の大部分が耐性を高める方向に作用していた。

6. 遺伝分散成分を推定した結果、H<sub>1</sub>、H<sub>2</sub>はいずれもDより大きく、平均優性度( $\sqrt{H_1/D}$ )は2.317であった。また遺伝率は広義と狭義がそれぞれ0.456および0.290で、かなり低かった。有効因子数を2種の方法で推定し、3.048ならびに2.517と算出した。

7. ベンチオカーブとモリネートの両剤に対する耐性の間には交差性が確認され、2種の濃度条件のそれぞれの組合せで相関係数を計算すると、ほとんどが有意であった。

8. 耐性強と耐性弱の組合せであるA-133農林9号×I-32 Karalathの正逆交雑を用いて、ベンチオカーブの0.25ppmと0.5ppm処理条件下でF<sub>2</sub>集団やF<sub>3</sub>系統を用いて遺伝子分析を試みた。耐性値(薬剤による発育抑制程度)は、親系統では個体間の変異が大であり、したがってF<sub>2</sub>集団で分離を調べることは無意味と考えられた。そこで無処理区のF<sub>2</sub>集団から任意に選んで自殖したF<sub>3</sub>系統種子について、催芽種子の生物検定を行った。F<sub>3</sub>系統平均値はF<sub>2</sub>個体の耐性能力をかなりよく反映していると考えられた。0.25ppm処理ではA-133×I-32のF<sub>3</sub>系統が耐性型と感受性型に2分され、耐性に

は1対の優性遺伝子の関与するとみなされる結果となった。しかし、逆交雑の0.25 ppm 処理条件、また0.5 ppm での正逆交雑では、F<sub>3</sub>系統平均値の頻度分布は連続変異を示し、複数遺伝子またはポリジーンによる変異とも考えられる。なお、各頻度分布では親系統よりも耐性または感受性の系統が出現する超越分離が示された。

9. ベンチオカーブ耐性は、稈先色 (CA), 黒色穎 (*Bh<sub>1</sub> Bh<sub>2</sub> Bh<sub>3</sub>*) ならびに穎・節間黄金色-1 (*gh-1*) との間にそれぞれ明らかな遺伝的相関関係は見られなかった。

### 謝 辞

本研究に使用した化学薬剤の原液を心よくご恵与戴き、貴重なご意見を賜った宇都宮大学農学部雑草防除研究施設長・教授竹松哲夫博士ならびに同施設教授近内誠登博士に深く感謝の意を表する。また、ダイアレル交雑種子の作成にご協力を賜った日本大学農獣医学部教授広瀬昌平博士にも厚く感謝する。北海道大学農学部高牟禮逸朗氏には実験遂行のためのご協力に御礼を申し上げます。

### 引用文献

1. 東 正昭・楠淵欽也：イネの葉いもち病菌場抵抗性の遺伝分析, 育雑 28 (4): 227-286. 1978
2. GRIFFING, B.: A generalized treatment of the use of diallel crosses in quantitative inheritance. *Heredity* 10: 31-50. 1956
3. HAYMAN, B. I.: The analysis of variance of diallel tables. *Biometrics* 10: 235-244. 1954
4. HAYMAN, B. I.: The theory and analysis of diallel crosses. *Genetics* 39: 789-804. 1954
5. MATHER, K. and J. L. JINKS: Biometrical Genetics. 2nd ed. Chapman and Hall, London. pp. 249-284, pp. 308-331. 1971
6. MATSUNAKA, S.: Genetic background of specific herbicide tolerance in higher plants. In Plant Growth Substances 1973 (Proceed. 8th Internat. Conf. Plant Growth Substance) pp. 1182-1186. Hirokawa Pub. Co., Tokyo, 1984
7. 中山林三郎・斎藤健一：インゲンマメ種子の寿命のダイアレル分析, 弘大農報 34: 47-59. 1980
8. RICHARD, E. P. JR and J. B. BAKER: Response of selected rice (*Oryza sativa*) lines to molinate. *Weed Science* 27 (2): 219-223. 1979
9. 関口義兼・関沢邦雄・鳥山國士・桜井義郎：有機塩素系殺菌剤 Pentachlorobenzyl alcohol およびその酸化分解物の薬害に対するイネの品種間差異, 中国農試報告 E7: 1-18. 1972
10. 竹松哲夫・近内誠登：水田除草の理論と実際, pp. 271-278, pp. 282-286, 博友社, 東京. 1978
11. 海野芳太郎・木下俊郎・高橋萬右衛門：イネの日、印品種間に見出された薬剤耐性の遺伝変異, 育雑 27 別 1: 226-227. 1977

### Summary

This study dealt with the genetic analysis on the response to two kinds of herbicides, benthocarb and molinate, for the purpose of development of highly tolerant cultivars.

Five parental strains showing various degrees of tolerance for the herbicides were used for diallel crossings. For the diallel analysis of tolerance, F<sub>2</sub> seeds which were obtained by selfing of F<sub>1</sub> plants in each cross were used together with the seeds of five strains with two replications. Bioassay of germinated seeds was carried out in a green house using plastic boxes containing the culture solution adjusted at a definite concentration of each herbicide. In the evaluation of tolerance, the survival percentage and the mean plant height percentage to the untreated mean plant height was measured at each plant of the treated plot. The transformation to the angles ( $\arcsin \sqrt{\%}$ ) from the percentages was used for the statistical analysis.

Variance analysis of the survival percentage at two levels of concentration in each herbicide indicated that additive and dominance effects were significant in common and a maternal effect was detected at 0.25 ppm of benthocarb and 1 ppm and 2 ppm of molinate.

As a result, only the data at 0.25 ppm of benthocarb proceeded a further analysis satisfying the propositions advocated by Hayman. The relationship of parent-offspring covariance (*W<sub>r</sub>*) and array variance (*V<sub>r</sub>*) showed that the dominance effects were more prevalent than the additive effects and no epistatic relation was recognized for the tolerance. The two strains, I-61 and I-128 possessed more dominant genes which are responsible for a higher tolerance. Estimated heritabilities in the narrow sense as well as the broad sense were relatively low and the number of effective factors were estimated as 2.517 and 3.048 respectively by two ways of calculation.

As the correlations between the tolerances to benthocarb and molinate were significant in the possible combinations of the concentrations, it is

probable that a similar gene or genes are concerned with the tolerance to the two herbicides.

Besides the diallel analysis,  $F_2$  populations and  $F_3$  strains from the reciprocal crosses, A-133 Norin 9go (tolerant)  $\times$  I-32 Karalath (susceptible) were used for the genic analysis. Since the non-heritable variation was quite large in parental strains on an individual basis, it was difficult to classify, into tolerant and susceptible classes,  $F_2$  populations by the treatment of benthocarb. Therefore, the seeds of  $F_3$  strains were obtained from selfing of  $F_2$  non-treated plants and tolerance of  $F_3$  lines reflected the ability on an individual basis of  $F_2$  populations. In  $F_3$  lines of the cross, A-133  $\times$  I-32 at 0.25 ppm treatment, it was possible to classify into tolerant and susceptible groups by a discontinuous variation and a single dominant gene was

responsible for the tolerance showing a good fitness to the expected ratio, 3:1. However, in the other segregations including the reciprocal cross at 0.25 ppm, a continuous frequency distribution in  $F_3$  lines made it difficult to separate the two categories. Thus, multiple factors and/or polygenic inheritance were assumed for the quantitative tolerance to benthocarb. It was noted that a transgressive segregation occurred in all kinds of  $F_3$  line variations suggesting a possibility to develop a cultivar which may show an increased herbicide tolerance from the tolerant parent, A-133.

In addition, no significant correlation was recognized between the tolerance and the characters caused by marker genes such as anthocyanin coloration of apiculus, black hull and gold hull and internode.

### Explanation of Plates

#### Legend for Plate I

Inhibition of seedling growth by the treatment with 0.5 ppm concentration of benthocarb during two weeks.

- |    |      |                         |
|----|------|-------------------------|
| 1. | N-61 | Jokei-waisei (Japonica) |
| 2. | I-33 | Surjamukhi (Indica)     |
| 3. | I-35 | Modan (Indica)          |
| 4. | I-61 | Bologona (From Italy)   |

#### Legend for Plate II

Inhibition of seedling growth by the treatment with 1 ppm concentration of molinate during two weeks.

- |    |      |                         |
|----|------|-------------------------|
| 5. | N-61 | Jokei-waisei (Japonica) |
| 6. | I-33 | Surjamukhi (Indica)     |
| 7. | I-35 | Modan (Indica)          |
| 8. | I-61 | Bologona (From Italy)   |

#### Legend for Plate III

Growth of seedlings at the two weeks after germination (Control).

- |     |      |                         |
|-----|------|-------------------------|
| 9.  | N-61 | Jokei-waisei (Japonica) |
| 10. | I-33 | Bologona (Italy)        |

Various inhibition of seedling growth observed in  $F_2$  plants of the cross, I-61  $\times$  I-33 treated with the respective herbicide.

- |     |  |
|-----|--|
| 11. | $F_2$ plants treated with 0.5 ppm concentration of benthocarb. |
| 12. | $F_2$ plants treated with 1 ppm concentration of molinate.     |

