



Title	イネのアイソザイムに関する遺伝育種学的研究
Author(s)	石川, 隆二; Ishikawa, Ryuji
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	乙第4282号
Issue Date	1993-03-25
DOI	<a href="https://doi.org/10.11501/3093013">https://doi.org/10.11501/3093013</a>
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/49904">https://hdl.handle.net/2115/49904</a>
Type	doctoral thesis
File Information	000000265476.pdf



イネのアイツザイムに関する  
遺伝育種学的研究

石川 隆二

①

目次

イネのアイソザイムに関する  
遺伝育種学的研究

第1章 イネのアイソザイム遺伝子の多型性  
第2章 イネのアイソザイム遺伝子の多型性

石川隆二

Genetical Studies on Isozyme Genes in Rice

第1章 日本の水稲品種におけるアイソザイム遺伝子の多型性  
第2章 日本の陸稲品種におけるアイソザイム遺伝子の多型性

Ryuji ISHIKAWA

第3章 水稲品種間のアイソザイム遺伝子の多型性  
第4章 水稲品種間のアイソザイム遺伝子の多型性

第5章 水稲品種間のアイソザイム遺伝子の多型性  
第6章 水稲品種間のアイソザイム遺伝子の多型性

第7章 水稲品種間のアイソザイム遺伝子の多型性  
第8章 水稲品種間のアイソザイム遺伝子の多型性

第9章 水稲品種間のアイソザイム遺伝子の多型性  
第10章 水稲品種間のアイソザイム遺伝子の多型性

第11章 水稲品種間のアイソザイム遺伝子の多型性  
第12章 水稲品種間のアイソザイム遺伝子の多型性

第13章 水稲品種間のアイソザイム遺伝子の多型性  
第14章 水稲品種間のアイソザイム遺伝子の多型性

第15章 水稲品種間のアイソザイム遺伝子の多型性  
第16章 水稲品種間のアイソザイム遺伝子の多型性

第17章 水稲品種間のアイソザイム遺伝子の多型性  
第18章 水稲品種間のアイソザイム遺伝子の多型性

第19章 水稲品種間のアイソザイム遺伝子の多型性  
第20章 水稲品種間のアイソザイム遺伝子の多型性

第21章 水稲品種間のアイソザイム遺伝子の多型性  
第22章 水稲品種間のアイソザイム遺伝子の多型性

第23章 水稲品種間のアイソザイム遺伝子の多型性  
第24章 水稲品種間のアイソザイム遺伝子の多型性

第25章 水稲品種間のアイソザイム遺伝子の多型性  
第26章 水稲品種間のアイソザイム遺伝子の多型性

第27章 水稲品種間のアイソザイム遺伝子の多型性  
第28章 水稲品種間のアイソザイム遺伝子の多型性

第29章 水稲品種間のアイソザイム遺伝子の多型性  
第30章 水稲品種間のアイソザイム遺伝子の多型性

## 目次

序論	1 頁
第1章 アイソザイムの検出及び発現様式	6 頁
第2章 アイソザイムの遺伝子分析	
第1節 トリソミック分析	25 頁
第2節 連鎖分析	38 頁
第3章 アイソザイム遺伝子の多型に基づく品種群の分類	
第1節 アジアの在来品種における品種群別への アイソザイム遺伝子の利用	54 頁
第2節 日本の水稲品種におけるアイソザイム遺伝子の多型	68 頁
第3節 日本の陸稲品種におけるアイソザイム遺伝子の多型と 日本における系統群の遺伝的分化	81 頁
第4章 アイソザイム遺伝子の育種研究への応用	
第1節 出穂期及び稈毛長とアイソザイム遺伝子の連鎖関係	95 頁
第2節 遠縁交雑におけるアイソザイム遺伝子の異常分離	106 頁
総合論議	120 頁
摘要	124 頁
謝辞	128 頁
引用文献	129 頁
Summary	146 頁

## 序 論

アイソザイムは有効電荷量や分子構造の違いによって電気泳動後に異なるバンドとして可視的に識別できると共に（遠藤 1974, HUNTER and MARKERT 1957, MARKERT and MOLLER 1959), 多型が得易くかつ共優性を示すため遺伝標識としての利用価値も高い(WEISS and GREEN 1967)。

アイソザイムの遺伝標識としての特徴は以下の如くである。

- 1) 遺伝子の直接産物であり, 細胞レベルにおける遺伝標識として利用可能。
- 2) 少量の試料で検出でき, 検出にかかるコストが安価である。
- 3) 対立遺伝子の違いが植物体に与える効果は稀にしか認められなく, 異なるアイソザイムの対立遺伝子が植物体の正常な発育を阻害することは滅多にない。
- 4) 上位性がなく共優性の発現が認められる。
- 5) 環境の影響を受け難く, 遺伝子作用が安定している。

このような性質を利用して, ゲノム解析による系統分化(NISHIKAWA and NOBUHARA 1971), 自然集団の多型を利用した集団遺伝学(SAKAI *et al.* 1971), さらに淘汰と直接に関連する遺伝子との連鎖の検出などに利用できる(小西・松浦 1987, KONISHI *et al.* 1989, MEDINA-FILHO 1980)。

世界の人口を支える最も重要な穀物の1つであるイネ(*Oryza sativa* L.)は, その広域適応能力により赤道地帯から高緯度地帯まで栽培されている。そのため系統分化の研究に価値ある材料として注目されている。さらに, 今後の農業では環境に優しい持続型農業が求められるため, 生態型に特徴的な様々なストレス耐性を各地域の栽培種へ導入することが必要となる(藤巻 1992)。さらに, 世界的に予想される食糧危機の回避のために砂漠地の乾燥や塩害を生じ易い地帯, いもち病の多発地帯, 冷害を生じ易い冷温帯地域での栽培に耐えられるストレス耐性品種を育成することが望まれる。したがって, 野生種や陸稲から各種のストレス耐性を持つ有用遺伝資源を探索することが, 今後ますます重要となろう。アイソザイムはこれまで遺伝標識として各種の遺伝育種学的研究へ利用され, 特に有用遺伝資源の探索への利用が考えられる。

従来, イネ属の種間や種内変異の様相は生殖隔離の程度や形態・生理的形質の変異の研究から明らかにされてきた(加藤・丸山 1928, 加藤ら 1928, 松尾 1952, MORISHIMA *et al.* 1961, 1963, OKA 1958)。その後, 容易に調査できるアイソザイム遺伝子が有効な遺伝標識として用いられるようになった。

野生種では形態や生活史に関する変異を用いて栽培種との類縁関係や生態型の分化が調べられ, *O. sativa* の野生型が *O. rufipogon* であることや異なる生活史

特性を有する一年生と多年生系統がみ出されている(MORISHIMA *et al.* 1961, 1963, OKA and MORISHIMA 1967)。その後、野生種におけるアイソザイムの遺伝変異の探索と遺伝子分析が行われ、各生態型に特異的なパーオキシダーゼの対立遺伝子が明らかにされた(CHU 1967, CHU and OKA 1967, MORISHIMA 1991)。このアイソザイム遺伝子は出穂性などの生活史特性を支配する遺伝子群と連鎖している(MORISHIMA 1991)。さらに、アイソザイム遺伝子はイネ属の栽培及び野生種の類縁関係を遺伝子レベルで明らかにすることにも役立ち、アジアの栽培種である *O. sativa* の野生種が *O. rufipogon* であること、アフリカの栽培種、*O. glaberrima* の野生種が *O. breviligulata* であることが確認された(SECOND 1982, 1985)。

栽培種においてはインド型と日本型の遺伝的距離の推定や、アジアの遺伝子多様性の中心を探る研究にもアイソザイム遺伝子が利用されている。CHU(1967), SHAHI *et al.* (1969), 及び PAI *et al.* (1973) はパーオキシダーゼ, PAI and FU (1977) 及び PAI *et al.* (1975) は酸性フォスファターゼについて両品種群に特異的に存在する対立遺伝子を明らかにした。MORISHIMA and OKA (1981) は 1 1 の形態・生理的形質とアイソザイムの 1 2 座の調査から両品種群の分化には複数の遺伝子が関与していること、さらにアイソザイム遺伝子頻度に基づいて遺伝的近縁度の推定を行い、両品種群の分化の程度を明らかにした。GLASZMANN (1987) は 1 5 座のアイソザイムについての多変量解析により群別されたアジアの主要な 2 品種群が、形態・生理的形質から群別されたインド型と日本型(OKA 1958)に相当することやそれぞれのアイソザイム遺伝子型を有する品種の地理的分布を明らかにした。アフリカの *O. sativa* もインド型と日本型の 2 つの品種群への分化を生じていることが、このような品種群に特異的なアイソザイム遺伝子から明らかにされた(KOCHKO 1987)。一方、NAKAGAHRA (1978) 及び NAKAGAHRA *et al.* (1975) はエステラーゼの 3 座の遺伝子組み合わせから、アジアにおける栽培イネの遺伝子多様性の中心がビルマ、タイ、ラオス及び雲南にまたがる地域にあるとし、その起源との関連性を指摘している。

これらの野生及び栽培種のアイソザイムの多型調査(SECOND 1982, 1985)から、インド型と日本型品種の起源は *O. rufipogon* の異なる個体から 2 元的に派生したと推測されている。この可能性は両品種群間に見出された葉緑体ゲノムの多型性(ISHII *et al.* 1986)や *O. rufipogon* の系統内にみられるアイソザイムの遺伝変異と一致している(森島 1988)。このように両品種群は遺伝的に分化しており、さらに生殖的隔離に係わる形質もある程度分化しているため(加藤ら 1928, MORISHIMA and OKA 1981, SECOND 1982), 本研究ではインド型と日本型を亜種に相当する品種群として位置づけた。

アイソザイムや形態・生理的形質により判別された2品種群の地理的分布 (GLASZMANN 1987, 佐藤 1991) は, 低温抵抗性 (OKA 1958), 幼苗期の低温による枯死 (NAGAMINE and NAKAGAHRA 1990), 低温によるクロロシス (CHUONG and OMURA 1982) に関する品種の地理的分布と重なる。アイソザイムの発現パターンが耐冷性と関連するデータも報告されているが (高橋 1987), 生理機構としてのアイソザイムと耐冷性との関連は未だ明らかでない。また, アイソザイムと適応形質との関連性については報告がなく, 種子の嫌気条件下での発芽とアルコール脱水素酵素の関係が明らかにされているに過ぎない (SCHWARTZ 1969)。したがって, 品種群特異的なアイソザイム遺伝子の組み合わせは, 進化の歴史において適応形質の遺伝子との連鎖により生じたと考えられ, 異なる遺伝子が類似した地理的分布を示すことが説明される。ただし, これら品種群は交雑した後代に胞子体的淘汰が起こらなくても各親の特異的な遺伝子組み合わせが維持されることから, 特定の配偶体が受精に有利となるような内在的な遺伝機構が存在しているとも考えられる (SATO 1991)。配偶体的淘汰は標識遺伝子の異常分離として検出でき, 既に種々の形態・生理的遺伝子やアイソザイム標識について調べられている (GUIDERDONI *et al.* 1989, PHAM and BOUGEROL 1989, SATO *et al.* 1990a)。さらに, SANO and MORISHIMA (1992) によるとアイソザイム遺伝子型からインド型と日本型の組換え型ともいふべきイネ在来種がアッサム, ネパール, シッキムなどの在来種でみ出されており, アジアの栽培種の系統分化の様相も遺伝子レベルにおいて次第に明らかにされつつある。

このようにイネの系統分化に関する研究において, アイソザイム遺伝子は遺伝標識としてこれまで利用されて来た。さらに, 育種利用においては, 感光性遺伝子の1つである *Se-1* がホスホグルコースイソメラーゼ遺伝子と密に連鎖していることを利用して選抜が行われた (OOSUMI *et al.* 1989)。また, アイソザイムはその遺伝子の直接的な産物である酵素であり, 組織特異的な発現に係わるプロモーターやイントロン領域との関係, ならびに細胞内のタンパク輸送の調節制御機構とも関連づけて調べることができる。したがって, アイソザイム遺伝子はその分子特性の研究や, 育種選抜の遺伝標識として今後, 重要となろう。それ故に, まずアイソザイム遺伝子を連鎖地図上に位置づけることが重要である。

イネの連鎖地図は稈先着色と胚乳モチ性の遺伝子間の連鎖の発見 (高橋 1923) に始まり, イネの半数染色体数に相当する12群の連鎖地図が試作された (NAGAO and TAKAHASHI 1963)。その後, 約30年を経た今日ではアイソザイム遺伝子を含めて142座より成る連鎖地図が構築されている (KINOSHITA and TAKAHASHI 1991)。この連鎖地図に座乗する遺伝子には矮性や穂形質の如く形態形成に関する遺伝子 (蓬原 1963, NAGATO *et al.* 1989, 新橋 1982), 葉緑素異常に関する

遺伝子 (岩田・大村 1978), 胚発生に関する遺伝子 (NAGATO *et al.* 1989) や出穂期やいもち病抵抗性等の生理・病的形質に関する遺伝子群があり, それらの遺伝子作用についても詳細な研究がなされている。さらに, 育種的利用に供するためには実用形質の出穂性, 病虫害抵抗性, 半矮性, 穀粒特性などの遺伝子を含めることが極めて重要である (McCOUCH *et al.* 1991, OOSUMI *et al.* 1989, YU *et al.* 1991)。

最近, アイソザイム遺伝子や RFLP マーカーなど生化学的遺伝標識を用いた連鎖地図 (RFLP 地図) がトマトやトウモロコシで作成されている (BERNATZKY and TANKSLEY 1986, HERENTJARIS *et al.* 1986, TANKSLEY and RICK 1980, TANKSLEY *et al.* 1981)。イネでも 2 種の RFLP 地図が作成され (McCOUCH *et al.* 1988, SAITO *et al.* 1991, TANKSLEY *et al.* 1990), 遺伝育種への広汎な利用に供されている (HARADA 1990, KHUSH 1990, TANKSLEY *et al.* 1990)。RFLP マーカーについては個体毎に DNA を抽出・精製し, 制限酵素処理を行い, さらに任意のプローブとのサザンハイブリダイゼーションを行うなどの処理が必要なために個体数の比較的少ない分離集団で組換え価を算出している。一方, アイソザイムは試料の抽出が容易で大量の個体を用いた連鎖分析が行えるため, 複数の分離集団を解析することが可能である。本論文ではアイソザイム遺伝子を形態・生理的形質による連鎖地図に位置づけた。他方, 既に TANKSLEY *et al.* (1990) による RFLP 地図に 3 種, また SAITO *et al.* (1991) による RFLP 地図に 5 種のアイソザイム遺伝子が含まれている。このように異なる遺伝標識による複数の地図へ同一のアイソザイム遺伝子が位置づけられるならば, 各種の連鎖地図の方向性や遺伝子の相対的位置の同定に役立つと考えられる (RICK and YODER 1988)。

本研究ではアイソザイム遺伝子の特性を遺伝育種学的研究に役立てるため, その検出法の確立と共に各遺伝子の発現様式を特定した。さらに, 遺伝子分析を行って, 従来の連鎖地図上へ各遺伝子座を位置づけた。次いで系統分化の指標となるアイソザイム遺伝子と品種群特異的な形質を支配する遺伝子の密な連鎖関係を見出し, アイソザイム遺伝子を育種的に利用することを試みた。第 1 章ではアイソザイムの検出のための電気泳動法を確立し, 各組織におけるアイソザイム遺伝子の発現を個体レベルで調査し, 安定したアイソザイムの検出を行える組織を特定した。さらに, カルスにおける遺伝子発現から細胞レベルでの遺伝標識となるアイソザイム遺伝子を特定した。第 2 章ではアイソザイム遺伝子の連鎖分析を行い, 既知の各標識遺伝子とアイソザイム遺伝子の連鎖関係を明らかにした。第 3 章ではアジアと日本の在来種において品種群に特異的なアイソザイム遺伝子を探索した。これら各遺伝子の染色体上の位置から, 品種群に特異的に検出されるアイソザイム遺伝子と適応形質の遺伝子との連鎖もみ出した。第 4 章では, インド



## 第1章 アイソザイムの検出 及び発現様式

従来の遺伝標識は遺伝子の産物が複雑な生理機構を経て視覚的に識別できる形態・生理的形質を表現するものであった。遺伝子の直接産物であるアイソザイムの検出が可能となってからは、その特性からアイソザイム遺伝子が生化学的遺伝標識として有用であることが明らかにされた(HUNTER and MARKERT 1957)。アイソザイムは有効電荷に影響を及ぼすようなアミノ酸の変異を電気泳動の手法で確認するもので、それぞれの遺伝子は同位酵素としての機能を維持している。したがって、複数のアイソザイムに関する変異が1個体に集積しても植物体の生育は悪影響を受けない。また、酵素としての機能を持たないnull遺伝子は、塩基置換によるストップコドンの挿入や代謝過程に重要な役割を果たすアミノ酸の変異で生じる(DOLFERUS *et al.* 1990)。しかし、null遺伝子により植物の機能が直接影響を受ける例はあまり知られていない(SCHWARTZ 1969)。このように自然淘汰もしくは人為淘汰の対象とならないアイソザイムは、亜種レベルに分化したインド型・日本型品種間で多型的である(MORISHIMA and OKA 1981)。これらアイソザイムには組織特異的発現を示す遺伝子も報告されているが(ENDO 1981, ENDO and MORISHIMA 1983)、遺伝子の直接産物であることからどの組織においてもその発現を確認できることが多く、有用な遺伝標識としての利用が期待される(ENDO and MORISHIMA 1983)。

本章ではアイソザイムを検出するための電気泳動法について述べると共に組織特異的な発現様式を調査した。さらに、従来の遺伝標識では発現することが稀な細胞レベル、特にカルスにおいても利用できるアイソザイム遺伝子を探索して、培養過程で生じるソマクローナル変異(大野 1975)の検出への利用を試みた。

### 材料及び方法

#### 植物材料

日本型の標識系統のH-79、日本型品種のAcc224 (Macan menita, フィリッピン産)及びインド型品種のIR36 (IRRIの改良品種)を30℃に保った恒温器内で催芽させ、5日後に種子根と幼芽をアイソザイムの泳動用試料とした。さらに、ポット栽培した各品種から成葉を採取して泳動用試料とした。これらの供試品種のうち、H-79とIR36ならびにAcc224とIR36を交配して得られたF<sub>1</sub>の幼芽により、へ

テロ型の対立遺伝子の発現を調査した。

#### 培養法

上記3品種の種子を殺菌して、MURASHIGE-SKOOG培地(MURASHIGE and SKOOG 1962)に2,4-D(2 mg/l)を添加した培地(以下、MS培地と略称)へ置床した。1ヵ月後に胚盤から誘導されたカルスを切り出して新鮮な培地に継代し、それ以降1ヵ月毎に新鮮なMS培地へ継代して、1年間培養を行った。継代時にはそれぞれの細胞系統のカルスから20-40 mgの細胞塊を採取して、アイソザイムの泳動用試料とした。また、対立遺伝子の発現を確認するためにH-79×IR36及びAcc224×IR36の各F<sub>1</sub>種子からカルス誘導し、同カルスを培養した。これらのF<sub>1</sub>由来のカルスを親品種由来のカルスと同様に1ヵ月毎に継代し、その際に20-40 mgの細胞塊を10個ずつ採取してアイソザイムの泳動用試料とした。

## 結 果

### 1) アイソザイムの電気泳動法

本実験で調べたアイソザイムの酵素種名とそれぞれの酵素種の遺伝子記号をTable 1に示した。本実験で用いた*Adh-1*以外のADH(アルコール脱水素酵素)のバンドには多型がみ出されていないが、既にクローニングされてマッピングも行われていること(RANJHAN *et al.* 1991, YOUNG and WU 1989)から*Adh-2*とした。

これらアイソザイムの検出法としてはNADP依存型のリンゴ酸脱水素酵素(MDH)以外の電気泳動には2種類の緩衝液系による澱粉ゲル電気泳動法を用いた(Table 2)。連続緩衝液系は0.015M ヒスチジン-1塩酸塩緩衝液(トリスでpH 7.6に調整)をゲル用緩衝液とした。不連続緩衝液系はA液として0.05M トリス緩衝液(クエン酸でpH 8.3に調整)とB液として0.19M ほう酸(水酸化ナトリウムでpH 8.3に調整)を作成し、A及びB液を9:1に混合してゲル作成用の緩衝液とした。それぞれの緩衝液に10%(W/V)のコンノート社製の加水分解澱粉を加えて加熱してゲルを作成した。連続緩衝液系及び不連続緩衝液系の泳動用緩衝液にはそれぞれ0.4M トリス緩衝液(クエン酸でpH 7.6に調整)とB液を用いた。

供試材料はすりつぶし、3(幅)×6(縦)mmの濾紙(WATTMAN社の規格、No. 5)に吸収させて泳動用のゲルに垂直に挿入した。また、その挿入部分を泳動の始点とした。電気泳動の条件として連続緩衝液系では60mAの定電流で5時間、不連続緩衝液系では60mAの定電流で1時間泳動した後180Vの定電圧で

4.5時間泳動した。泳動後は厚さ6mmのゲルを1mmずつ水平に切り分けて、各アイソザイムの染色液に浸した(Table 3)。

リンゴ酸脱水素酵素(MDH)はDAVIS法(1964)によるスラブ式ポリアクリルアミドゲル電気泳動を用いて観察した(Table 2)。催芽後5日目の幼芽を0.2 mlの試料調製液(グリセロール:濃縮ゲル用緩衝液=2:1)内ですりつぶして試料液とし、遠心した試料液の上澄みを電気泳動用ゲルのサンプルウェルに添加した。電気泳動は30 mAで3時間通電した後にゲルを取り出して染色した(Table 3)。

本電気泳動で確認された20座のうち、対立遺伝子の記号化がなされている19座の各対立遺伝子のザイモグラムをFig. 1に示した。*Adh-2*は未だ座内の遺伝子記号が与えられていないが、そのザイモグラムと*Adh-1*との雑種バンドのザイモグラムを示した(Fig. 4参照)。なお、各遺伝子記号については、MORISHIMA and GLASZMANN(1990)により統一化された記号を用いた。また、従来の結果と対応させる必要上から旧遺伝子記号(ENDO and MORISHIMA 1983, ISHIKAWA *et al.* 1989)との対応をTable 4に示した。

## 2) 植物体におけるアイソザイム遺伝子の発現

供試品種でnull遺伝子がみられた*Pox-2*、ならびに成葉からの試料調製が困難であった*Mal-10*の2遺伝子を除いた17遺伝子について種子根、幼芽及び成葉の3種類の組織におけるアイソザイム遺伝子の発現を調査した。種子根及び幼芽に関しては、嫌気条件における発現についても調査した。

*Adh-1*, *Amp-1*, *Est-2*, *Gdh-1*, *Pgd-2*, *Pgi-1*, *Pgi-2*及び*Sdh-1*の7酵素種の8遺伝子では、上述の3種の組織で同一の発現が得られた。しかし、*Adh-1*及び*Gdh-1*は成葉でバンドの濃さが減少する傾向を示した。

*Acp-1*, *Amp-3*及び*Est-5*では発育段階がすすむにつれて遺伝子発現の修飾が認められ、バンドパターンが変化した(Fig. 2)。*Acp-1*に関して、H-79では幼芽において*Acp-1<sup>2</sup>*の支配する1本のバンド(Fig. 2A, レーン1)と成葉において同遺伝子の支配する2本のバンドが認められた(Fig. 2A, レーン3)。一方、IR36では幼芽及び成葉の両組織において*Acp-1<sup>1</sup>*の支配するバンドは1本であった(Fig. 2A, レーン3及び4)。始点のすぐ陽極側のバンドの起源については明らかでない。*Amp-3*は種子根及び幼芽において1本の主要バンドの他に陽極側に付随するバンドを示したが、成葉ではこのバンドが主要バンドと同程度に濃くなった(Fig. 2B)。また、成葉では*Amp-3*のバンドの陰極側にも新たなバンドが出現したが、同遺伝子の支配するバンドであるか否かは明らかでない(Fig. 2B, レーン2及び4)。このように*Acp-1*及び*Amp-3*は発現に修飾を受けるが、それぞれの遺伝子型の識別は可能であった。*Est-5*は幼芽において2本のバンドとして発現した(Fig. 2C,

レーン1及び3)。しかし、発育ステージがすすむにつれて2本のバンドのうち陽極側のバンドの濃度が薄くなり、さらに陰極側に1本のバンドが発現した (Fig. 2C, レーン2及び4)。これらのバンドパターンの変化は一定でないため、*Est-5*では幼芽以外の組織において遺伝子型の判定が不可能であった。

*Amp-2*, *Cat-1*, *Est-9*及び*Pgd-1*では種子根及び幼芽における発現を観察できたが、成葉での発現は認められなかった。*Pgi-3*の発現は幼芽では認められず (Fig. 3, レーン1及び2), 成葉でのみ観察された (Fig. 3, レーン3及び4)。*Adh-2*の発現は成葉と共に幼芽では観察されず (Fig. 4, レーン1), 種子根でのみ観察された (Fig. 4, レーン2)。

以上の結果から、好気条件における9酵素種のアイソザイムについての17遺伝子の発現は、種子根、幼芽及び成葉で同じバンドパターンを示す8遺伝子、各組織で異なるバンドパターンを示す3遺伝子、及び組織特異的にバンドの消失を伴う6遺伝子の3グループに分けられた (Table 5)。

各組織における発現を比較すると、幼芽では*Adh-2*及び*Pgi-3*以外の15遺伝子、種子根では*Pgi-3*以外の16遺伝子の遺伝子型が識別可能であった。成葉では発現しなかった5遺伝子の外に*Est-5*の遺伝子型の確認が行えず、11遺伝子の遺伝子型しか識別できなかった。したがって、アイソザイム遺伝子の検出には、成葉より種子根及び幼芽が適していることが明らかとなった。

上記の調査の種子根、幼芽及び成葉は好気条件で得られた組織であったので、次に幼苗を24時間水中に置いて嫌気条件での遺伝子発現を調査した。幼芽及び種子根について好気条件の17遺伝子の発現と比較すると、*Adh-2*だけが好気条件と異なる発現を示した (Fig. 4)。*Adh-2*は好気条件において幼芽で発現が観察されず、種子根でのみ発現が認められた (Fig. 4, レーン2)。一方、嫌気条件では種子根と同様に幼芽でも観察された (Fig. 4, レーン3)。同じ酵素種の*Adh-1*の発現は好気条件でも嫌気条件でも変化はみられなかった。

### 3) カルスにおけるアイソザイムの発現

カルスにおけるアイソザイムの発現は、カルス誘導から3ヵ月後に生じたので、カルス誘導後3ヵ月までを誘導初期 (Initial stage), それ以降を後期 (Later stage) として遺伝子の発現様式をまとめた (Table 5)。

1年の培養期間を通じて遺伝子発現が認められ、バンドに変化のみられなかったのは、*Adh-1*, *Adh-2*, *Amp-1*, *Amp-2*, *Amp-3*, *Cat-1*, *Est-2*, *Pgd-2*, *Pgi-1*, *Pgi-2*, *Pgi-3*及び*Sdh-1*の12遺伝子であった。そのうち*Adh-1*と*Adh-2*は種子根及び幼芽でみられたバンドより、カルスでみられたバンドの方が濃染した。*Amp-3*ではカルス誘導初期から成葉でみられたと同様に2本のバンドが観察され、培養中

にその変化はみられなかった (Fig. 5)。幼芽から成葉になる間に発現が変化した *Amp-2*, *Cat-1* 及び *Pgi-3* の 3 遺伝子のうち, *Amp-2* 及び *Cat-1* のカルスにおけるバンドは種子根及び幼芽でみられたものと同一であった。また, *Pgi-3* のカルスにおけるバンドは成葉と同じであり, 培養中のカルスにおける変化はみられなかった。

残りの 5 遺伝子のうち *Acp-1*, *Est-5* 及び *Gdh-1* は培養中にそのバンドパターンが変化した。継代初期の *Acp-1* は成葉と同様のバンドを示したが, 後期には複数のバンドが主要バンドの近くに出現して, 継代を重ねるうちに次第にバンドの濃さが減少した。*Est-5* では継代初期から 2 本のバンドのうち陽極側のバンドが消失し, さらに継代後期には主要バンドの陰極側に新たなバンドを生じる傾向があった。このバンドパターンの変化は幼芽から成葉にかけてみられる変化と類似していた (Fig. 5)。*Gdh-1* では継代初期に幼芽と同じ発現を示したが, 継代後期には主要バンドの陽極側に複数のバンドが出現して植物体とは異なる発現様式を示した。さらに, *Gdh-1* ではそれらのバンドより陽極側に新たなバンドが出現した。*Gdh-1* の染色液には ADH を染色するために必要なアルコールが添加されなかったが, ADH の基質となる NAD が含まれていること, また培養中では *Adh-1* の活性が増加することから, そのバンドは *Adh-1* と推測される (Fig. 5)。同じ酵素種の *Adh-2* の発現はみられなかったが, その理由として *Adh-2* の活性が *Adh-1* より低かったためと考えられる。

残りの 2 遺伝子のうち *Est-9* は継代初期に発現したが, 後期にはその発現が消失した (Fig. 5)。これは幼芽から成葉においてみられた *Est-9* の発現の消失と同じ傾向である。*Pgd-1* は幼芽で発現が観察されたが, カルスにおいては継代初期及び後期を通じてその発現が認められず, 同酵素種に属する *Pgd-2* の安定的な発現とは対照的であった (Fig. 5)。

以上の結果からカルスにおける発現様式は, 培養中にバンドパターンが変わらなかった 1 2 遺伝子, バンドパターンが変化した 3 遺伝子, 遺伝子発現が認められないか, もしくはバンドが消失した 2 遺伝子の 3 グループにまとめられた。しかし, これらカルスでの各発現様式を示す遺伝子の構成は, 植物体でみられた各発現様式の遺伝子構成とは必ずしも同一でなかった。したがって, カルスで認められた遺伝子発現はそれぞれ別の植物体の組織における発現と対応しており, 遺伝子毎に異なる調節を受けていると考えられる (Table 5)。

#### 4) $F_1$ の植物体及び胚軸由来カルスにおける対立遺伝子の発現

H-79 × IR36 では, *Acp-1*, *Amp-2*, *Cat-1*, *Est-2*, *Est-9*, *Pgd-1*, *Pgi-1*, *Pgi-2*, *Pgi-3* 及び *Sdh-1* が, Acc224 × IR36 ではこれらの 10 座と *Adh-1* 及び *Amp-3* がそれぞれヘテロであった。 $F_1$  の幼芽でアイソザイムの発現を調査したところ, H-79 ×

IR36では、*Est-2*、*Pgi-2*及び*Pgi-3*、Acc224xIR36では*Pgi-3*においてそれぞれ共優性が認められなかった。これらの遺伝子座ではH-79及びAcc224がnull遺伝子を持っていたため、ヘテロ型はIR36型の発現と同一であった。両交雑組み合わせを合わせると、*Pgi-3*以外では共優性がみられた。

これらF<sub>1</sub>の胚盤由来カルスを用いて培養中におけるアイソザイムの発現について調査した。*Pgd-1*については継代初期から発現がみられず、*Acp-1*及び*Est-9*の発現は継代後期に消失した。したがって、上記3座を除いてF<sub>1</sub>で共優性のみられた8座の発現を調査した。*Amp-3*では成葉で認められたと同様に修飾を受けたバンドパターンがみられたが、明瞭にヘテロ型を識別できた(Fig. 6A)。*Sdh-1*では陰極側に新たなバンドが出現したが共優性を示すことが観察された(Fig. 6B)。他の6座でも対立遺伝子の発現が認められた。したがって、ソマクローナル変異を生じなければ、これら8座の対立遺伝子は基本的に植物体で安定して発現している時期と同じ発現を維持し、細胞レベルにおける遺伝標識として使用できることが明らかとなった。

## 考 察

遺伝子発現の機構や形質発現などに関する研究ではそれらの遺伝子の発現部位や発現様式を十分に検討しなければならない。従来、自然または人為的に誘発した突然変異形質としては、草型、着色形質、葉組織の異常、出穂性、穂形質、粒形質など植物体の各発育段階で識別されるものが多い(GUSTAFSSON 1941a, b, 1947, KAWAI and SATO 1965)。イネではこれらの標識とアイソザイム遺伝子により、既に142座による連鎖地図が構築されている(KINOSHITA and TAKAHASHI 1991)。また、RFLP及びRAPDマーカーの如き分子レベルの遺伝標識も用いられるようになった(BOTSTEIN *et al.* 1980, MICHELMORE *et al.* 1991, WILLIAMS *et al.* 1990, 1991)。これら標識のうち、特にアイソザイム遺伝子は容易に検出でき、複数の連鎖地図に組み入れることが可能であることから、従来の連鎖地図とRFLP地図などを統合するのに役立つ。

本実験ではアイソザイムの検出法を明らかにした。さらに、種子根及び幼芽で最も数多くの遺伝子発現が観察できた。また、幼芽の少量の組織でも十分にその発現が検出できるため、植物体を殺さずに遺伝子型の判定を行うことが可能であった。さらに、カルスにおいても発現する遺伝子が確認された。組織培養では高頻度にソマクローナル変異が誘発される(大野 1975)ため、アイソザイム遺伝子は培養細胞において生じる変異機構を調べる有用な遺伝標識と考えられる。本実

験では、遺伝標識として利用可能なアイソザイム遺伝子を明らかにし、さらにカルスでも共優性発現が認められることを明らかにした。また、本実験に供試した培養系ではソマクローナル変異をみ出すことができなかったが、異なる培養系では特定のアイソザイム遺伝子の欠失変異を検出している（石川ら 1989）。なおカルスでの発現様式は植物体の各発育段階のそれとは異なる場合もあったので、アイソザイム遺伝子を遺伝標識として用いるためには個体と細胞の双方のレベルでの発現を確認する必要があると考えられる。

Table 1. Isozyme loci corresponding to the respective enzyme species

Locus	Enzyme species (Abbreviated term and enzyme code number)
<i>Acp-1</i>	Acid phosphatase (ACP, E. C. 3. 1. 3. 2)
<i>Adh-1</i> <i>Adh-2</i>	Alcohol dehydrogenase (ADH, E. C. 1. 1. 1. 1)
<i>Amp-1</i> <i>Amp-2</i> <i>Amp-3</i>	Aminopeptidase (AMP, E. C. 3. 4. 11. -)
<i>Cat-1</i>	Catalase (CAT, E. C. 1. 11. 1. 6)
<i>Est-2</i> <i>Est-5</i> <i>Est-9</i>	Esterase (EST, E. C. 3. 1. 1. -)
<i>Gdh-1</i>	Glutamate dehydrogenase (GDH, E. C. 1. 4. 1. 2)
<i>Mal-1</i>	Malate dehydrogenase (MDH, E. C. 1. 1. 1. 40)
<i>Pgd-1</i> <i>Pgd-2</i>	Phosphogluconate dehydrogenase (PGD, E. C. 1. 1. 1. 43)
<i>Pgi-1</i> <i>Pgi-2</i> <i>Pgi-3</i>	Phosphoglucose isomerase (PGI, E. C. 5. 3. 1. 9)
<i>Pox-2</i>	Peroxidase (POX, E. C. 1. 11. 1. 7)
<i>Sdh-1</i>	Shikimate dehydrogenase (SDH, E. C. 1. 1. 1. 25)

Note: Gene symbols quoted from MORISHIMA and GLASZMANN (1991).

Table 2. Gel and buffer systems used for the analysis of 19 isozyme loci

Gel system	Buffer System	Enzyme species	Isozyme locus
Starch	Continuous buffer	ADH	<i>Adh-1, Adh-2</i>
		AMP	<i>Amp-1, Amp-2, Amp-3</i>
		EST	<i>Est-2, Est-5, Est-9</i>
		GDH	<i>Gdh-1</i>
		PGD	<i>Pgd-1, Pgd-2</i>
		POX	<i>Pox-2</i>
		SDH	<i>Sdh-1</i>
	Dis-continuous buffer	ACP	<i>Acp-1</i>
		ADH	<i>Adh-1, Adh-2</i>
		CAT	<i>Cat-1</i>
		EST	<i>Est-2, Est-5</i>
		GDH	<i>Gdh-1</i>
		PGI	<i>Pgi-1, Pgi-2, Pgi-3</i>
		POX	<i>Pox-2</i>
Polyacrylamid	Tris-glycine buffer	MDH	<i>Mal-1</i>

Table 3. Staining solutions and buffers for the enzyme species

Enzyme species	Chemical
ACP	75 ml 0.1 M CH <sub>3</sub> COONa-acetic acid buffer pH 5.0 4 ml fast garnet GBC salt (25 mg/ml) 2 ml 1-naphthyl-phosphate disodium salt (18 mg/ml)
ADH	75 ml 0.05 M tris-HCl buffer pH 8.0 5 ml ethanol 1 ml NAD (5 mg/ml) 1 ml MTT (5 mg/ml in methanol) 1 ml PMS (1.5 mg/ml in methanol)
AMP	75 ml 0.1 M tris-maleic acid buffer pH 6.0 1 ml fast black K salt (12.5 mg/ml) 2 ml DL-alanine-2-naphthylamide (25 mg/ml) (for <i>Amp-1</i> , <i>Amp-2</i> ) 1 ml L-leucyl-2-naphthylamide (10 mg/ml) (for <i>Amp-1</i> , <i>Amp-3</i> )
CAT	100 ml deionized water 1 ml 3% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> *Gel has to be incubated in these solution for a few minutes, then it will be rinsed with deionized water before staining. Staining solution: 90 ml deionized water 5 ml FeCl <sub>3</sub> (8% solution) 5 ml K <sub>3</sub> Fe(CN) <sub>6</sub> (8% solution)
GDH	75 ml 0.05 M tris-HCl buffer pH 8.0 1 ml sodium-glutamate (100 mg/ml) 1 ml NAD (5 mg/ml) 1 ml MTT (5 mg/ml in methanol) 1 ml PMS (1.5 mg/ml in methanol)
EST	40 ml deionized water 50 ml 0.2 M NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 10 ml 0.38 M Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 2.5 ml N-propanol 1 ml fast blue RR (50 mg/ml) 1 ml 1-naphthyl-acetate (15 mg/ml in acetone) 1 ml 2-naphthyl-acetate (20 mg/ml in acetone)

Table 3. (continued)

Enzyme species	Chemical
MDH	75 ml 0.05 M tris-HCl buffer pH 8.0 1 ml malic acid (100 mg/ml) 1 ml NADP (5 mg/ml) 1 ml MTT (5 mg/ml in methanol) 1 ml PMS (1.5 mg/ml in methanol) 1 ml MgCl <sub>2</sub> (100 mg/ml)
PGD	75 ml 0.05 M tris-HCl buffer pH 8.0 1 ml 6-phosphogluconic acid trisodium salt (5 mg/ml) 1 ml NADP (5 mg/ml) 1 ml MTT (5 mg/ml in methanol) 1 ml PMS (1.5 mg/ml in methanol)
PGI	75 ml 0.05 M tris-HCl buffer pH 8.0 1 ml D-fructose-6-phosphate(barium salt) (40 mg/ml) 1 ml NADP (5 mg/ml) 1 ml MTT (5 mg/ml in methanol) 1 ml PMS (1.5 mg/ml in methanol) 10 units glucose-6-phosphate dehydrogenase
POX	100 ml 0.05 M CH <sub>3</sub> COOK-acetic acid buffer pH 5.0 10 ml POX solution; acetone 100 ml 3-amino-9-ethylcarbazole 100 mg eugenol 1 ml 2 ml 0.1 M CaCl <sub>2</sub> 1 ml 3% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> and 1% acetic acid
SDH	75 ml 0.1 M tris-HCl buffer pH 8.5 1 ml shikimic acid (5 mg/ml) 1 ml NADP (5 mg/ml) 1 ml MTT (5 mg/ml in methanol) 1 ml PMS (1.5 mg/ml in methanol)

Table 4. Comparison of allelic numbers between old system (used in the former experiments) and new system

Enzyme species	Locus	Allelic systems		Enzyme species	Locus	Allelic systems		
		New	Old			New	Old	
ACP	<i>Acp-1</i>	1	-4	GDH	<i>Gdh-1</i>	1	1	
		2	+9			2	2	
ADH	<i>Adh-1</i>	0	0	MDH	<i>Mal-1</i>	1	1	
		1	2			2	2	
		2	1	PGD	<i>Pgd-1</i>	1	1	
		3	3			2	2	
AMP	<i>Amp-1</i>	1	1	<i>Pgd-2</i>	3	4		
		2	3		1	1		
		3	2		2	2		
	<i>Amp-2</i>	1	1	PGI	<i>Pgi-1</i>	0	0	
		2	2			1	1	
		<i>Amp-3</i>	0			0	2	2
			1			1	<i>Pgi-2</i>	1
	2	2	2	2				
	3	4	4	4				
	CAT	<i>Cat-1</i>	1	1	<i>Pgi-3</i>	0	0	
2			2	1		1		
EST	<i>Est-2</i>	0	0	POX	<i>Pox-2</i>	0	0	
		1	1			1	4C	
		2	2	SDH	<i>Sdh-1</i>	1	1	
	<i>Est-5</i>	1	2			2	2	
		2	1			4	4	
	<i>Est-9</i>	1	1					
2		2						

Note: Allelic systems quoted from MORISHIMA and GLASZMANN (1991).

Table 5. Expression of 17 isozyme genes in radicle, plumule, mature leaf of a whole plant, and an initial and later (three months after callus induction) stages of subcultured calli

Locus	Plant tissue			Callus	
	Radicle	Plumule	Mature leaf	Initial	Later
<i>Acp-1</i>	+	+	+ <sup>m</sup>	+	+ <sup>m</sup>
<i>Adh-1</i>	+	+	+	+	+
<i>Adh-2</i>	+	-	-	+	+
<i>Amp-1</i>	+	+	+	+	+
<i>Amp-2</i>	+	+	-	+	+
<i>Amp-3</i>	+	+	+ <sup>m</sup>	+ <sup>m</sup>	+ <sup>m</sup>
<i>Cat-1</i>	+	+	-	+	+
<i>Est-2</i>	+	+	+	+	+
<i>Est-5</i>	+	+	+ <sup>m</sup>	+	+ <sup>m</sup>
<i>Est-9</i>	+	+	-	+	-
<i>Gdh-1</i>	+	+	+	+	+ <sup>m</sup>
<i>Pgd-1</i>	+	+	-	-	-
<i>Pgd-2</i>	+	+	+	+	+
<i>Pgi-1</i>	+	+	+	+	+
<i>Pgi-2</i>	+	+	+	+	+
<i>Pgi-3</i>	-	-	+	+	+
<i>Sdh-1</i>	+	+	+	+	+

Note: + : Expressed.  
 +<sup>m</sup> : Expression being modified.  
 - : Not expressed.

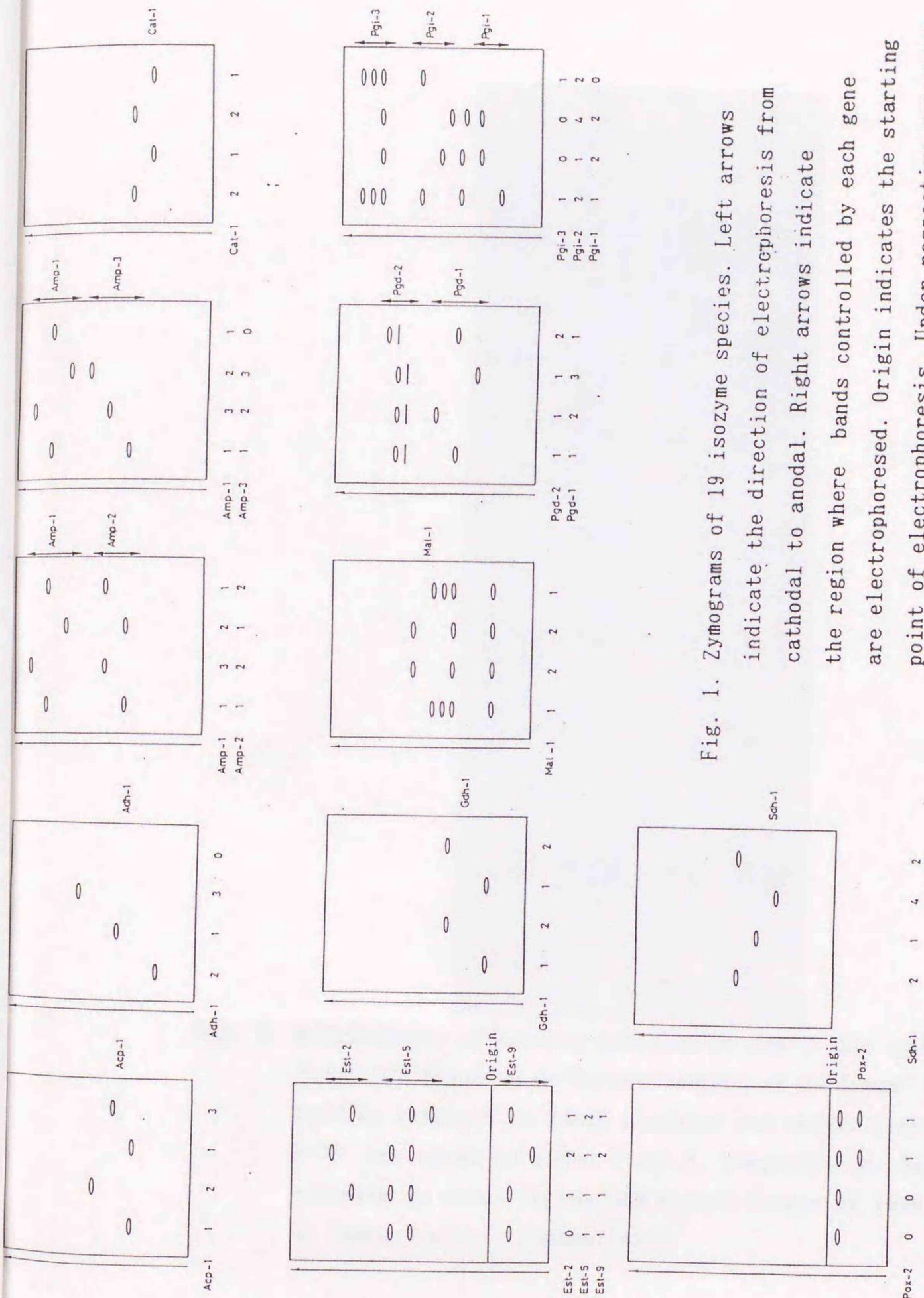


Fig. 1. Zymograms of 19 isozyme species. Left arrows indicate the direction of electrophoresis from cathodal to anodal. Right arrows indicate the region where bands controlled by each gene are electrophoresed. Origin indicates the starting point of electrophoresis. Under respective zymograms, allelic numbers are indicated.

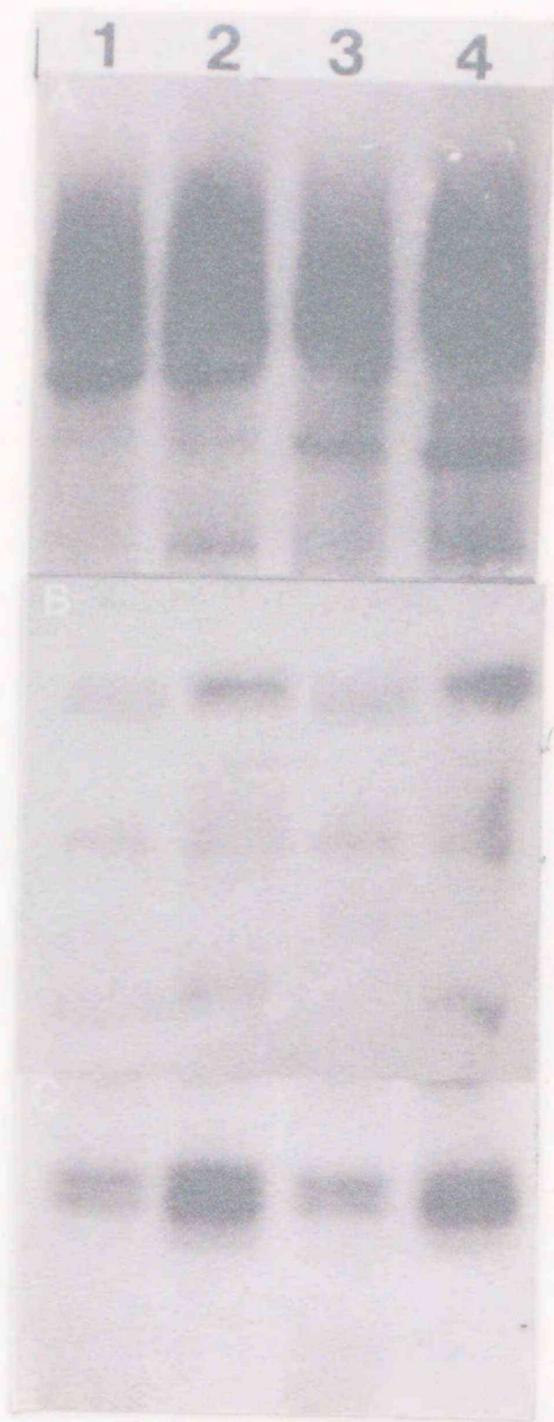


Fig. 2. Modification of banding patterns of *Acp-1* (A), *Amp-3* (B) and *Est-5* (C) found in different tissues of H-79 and IR36. Banding patterns in young plumules and mature leaves of H-79 are shown in lanes 1 and 2, respectively. Banding patterns in young leaves and mature leaves of IR36 are shown in lanes 3 and 4, respectively.

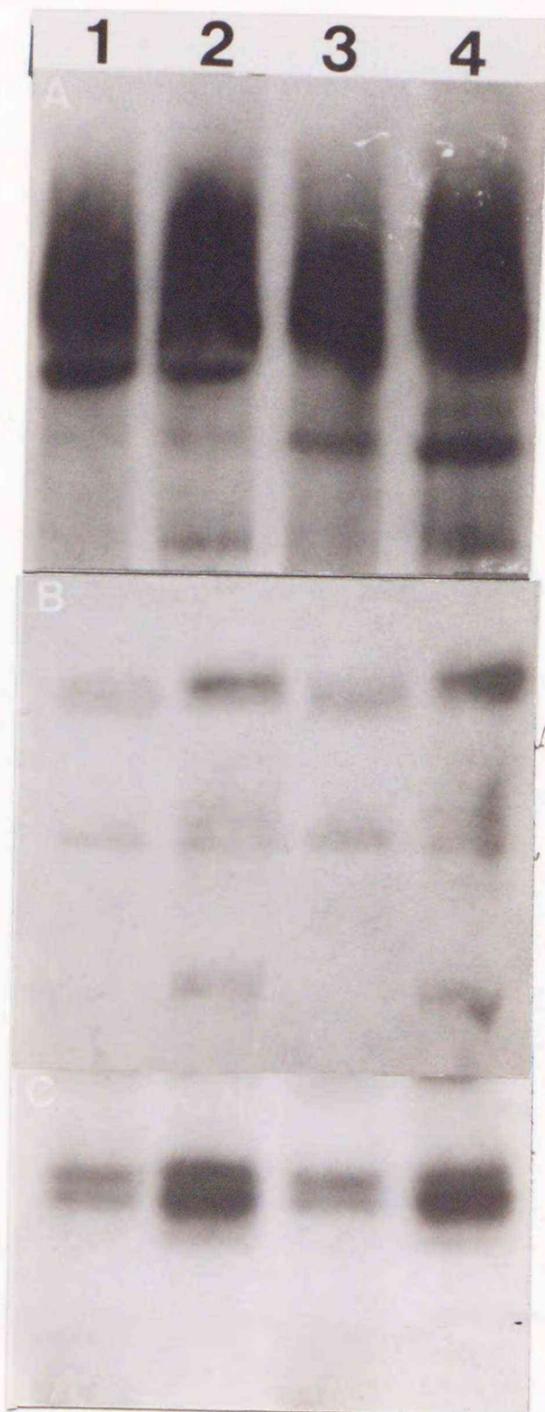


Fig. 2. Modification of banding patterns of *Acp-1* (A), *Amp-3* (B) and *Est-5* (C) found in different tissues of H-79 and IR36. Banding patterns in young plumules and mature leaves of H-79 are shown in lanes 1 and 2, respectively. Banding patterns in young leaves and mature leaves of IR36 are shown in lanes 3 and 4, respectively.

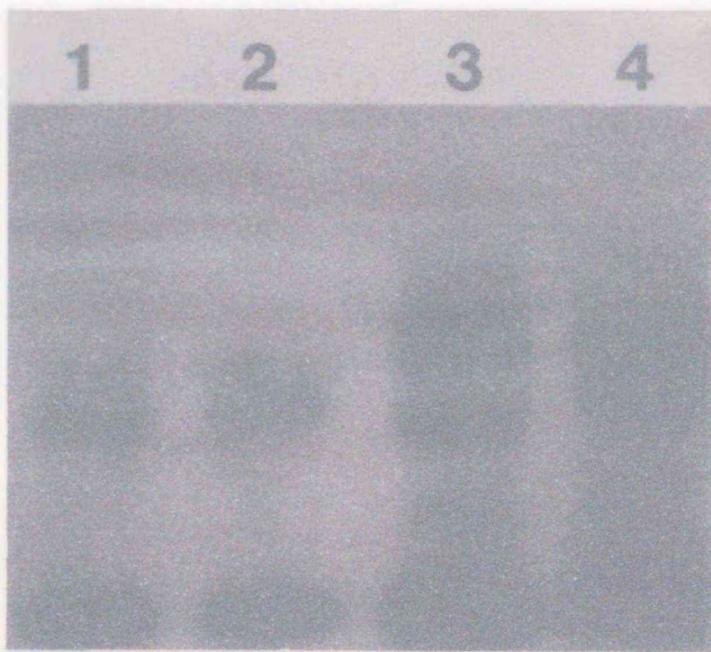


Fig. 3. Banding patterns of *Pgi-3* in plumules (lanes 1 and 2) and mature leaves (lanes 3 and 4) of IR36.

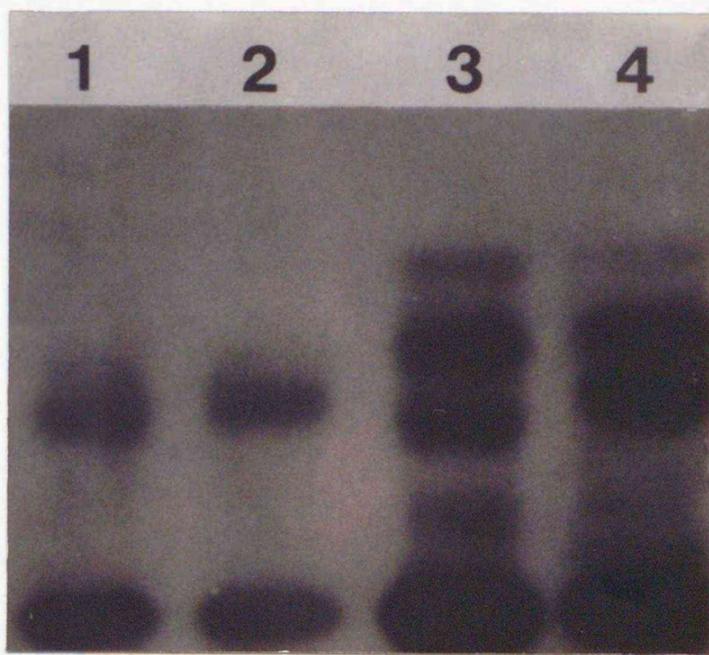


Fig. 3. Banding patterns of *Pgi-3* in plumules (lanes 1 and 2) and mature leaves (lanes 3 and 4) of IR36.

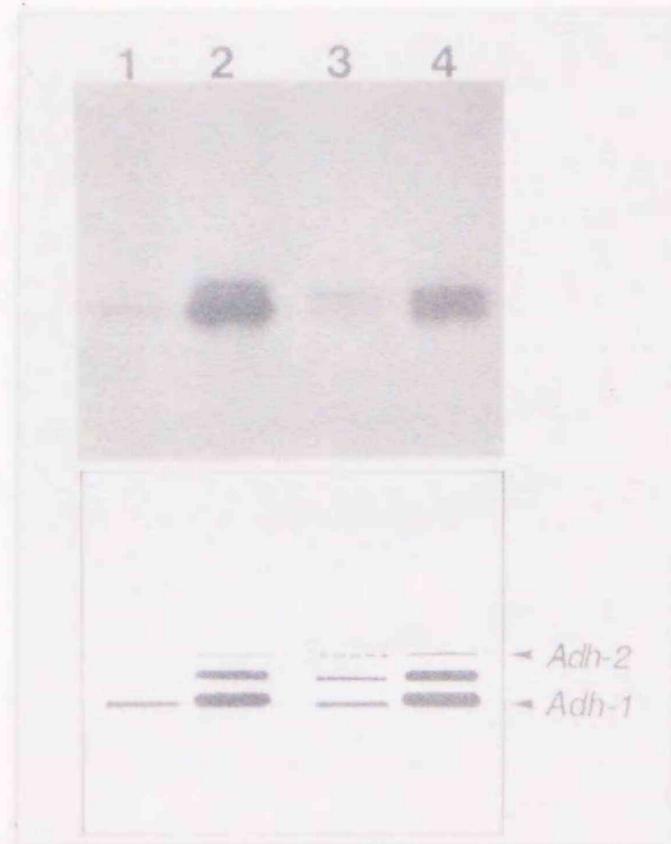


Fig. 4. Banding patterns of *Adh-1* and *Adh-2* in plumules and radicles of H-79 under aerobic and anaerobic conditions. Lanes 1 and 3 show banding patterns in plumules under aerobic and anaerobic conditions, respectively. Lanes 2 and 4 show banding patterns in radicles under aerobic and anaerobic conditions, respectively. Middle bands are hybrid bands between *Adh-1* and *Adh-2*.

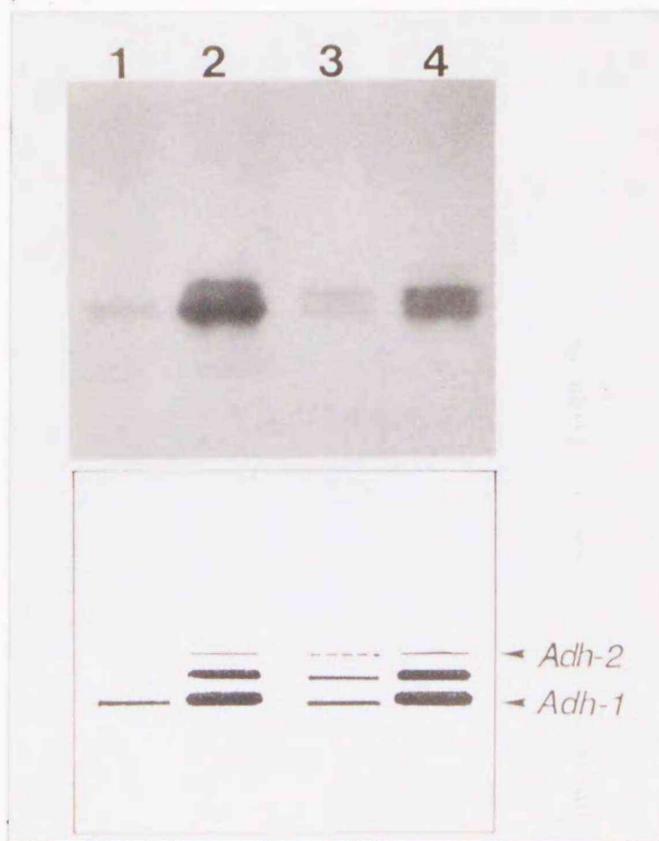


Fig. 4. Banding patterns of *Adh-1* and *Adh-2* in plumules and radicles of H-79 under aerobic and anaerobic conditions. Lanes 1 and 3 show banding patterns in plumules under aerobic and anaerobic conditions, respectively. Lanes 2 and 4 show banding patterns in radicles under aerobic and anaerobic conditions, respectively. Middle bands are hybrid bands between *Adh-1* and *Adh-2*.

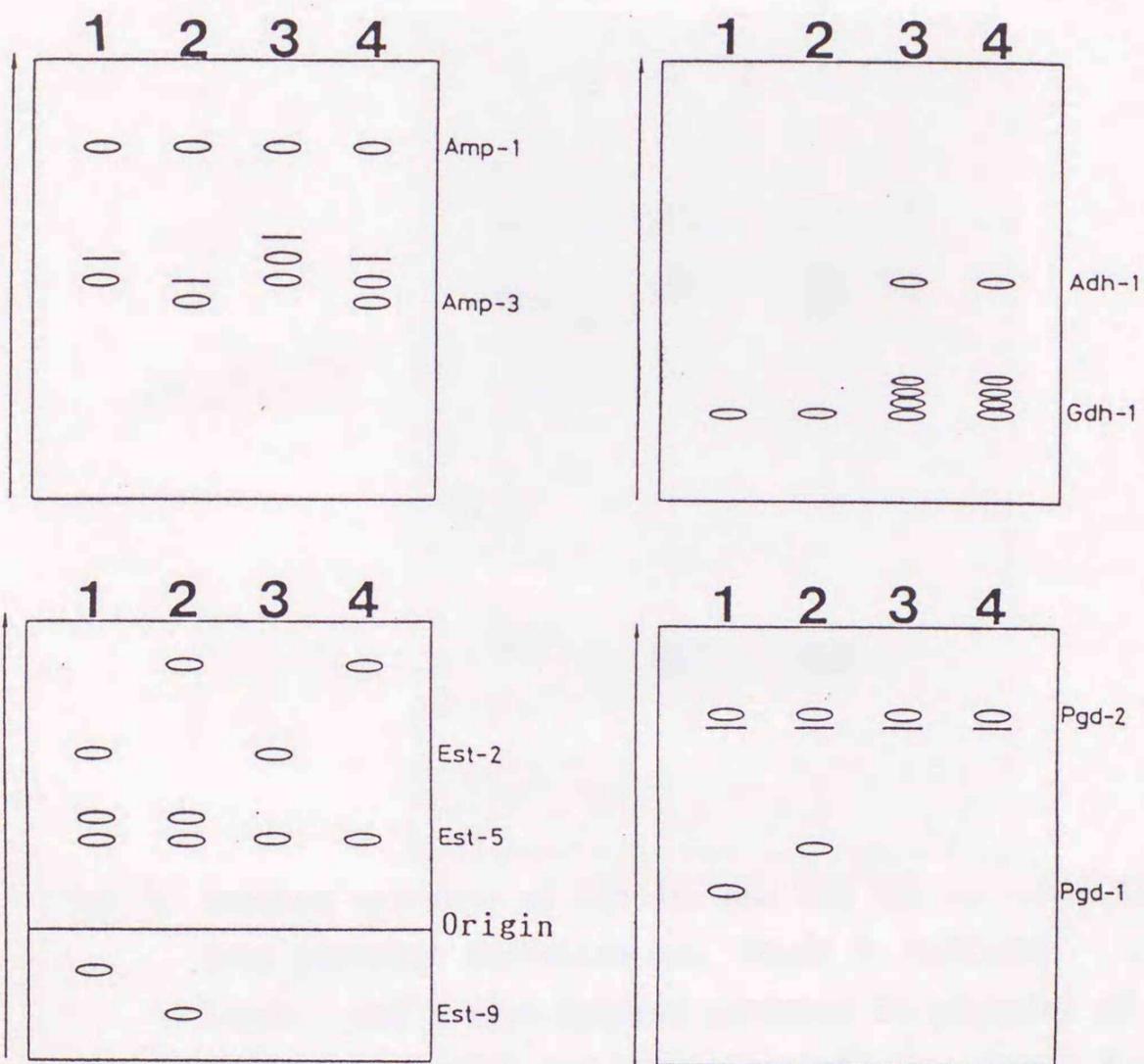


Fig. 5. Comparison of banding patterns of four enzyme species including nine genes found in plumules and calli. Lanes 1 and 2 show expression in plumules of Acc224 and IR36, respectively. Lanes 3 and 4 show expression in calli of Acc224 and IR36, respectively. Left arrows indicate the direction of electrophoresis from cathodal to anodal. Origin indicates the starting point of electrophoresis.

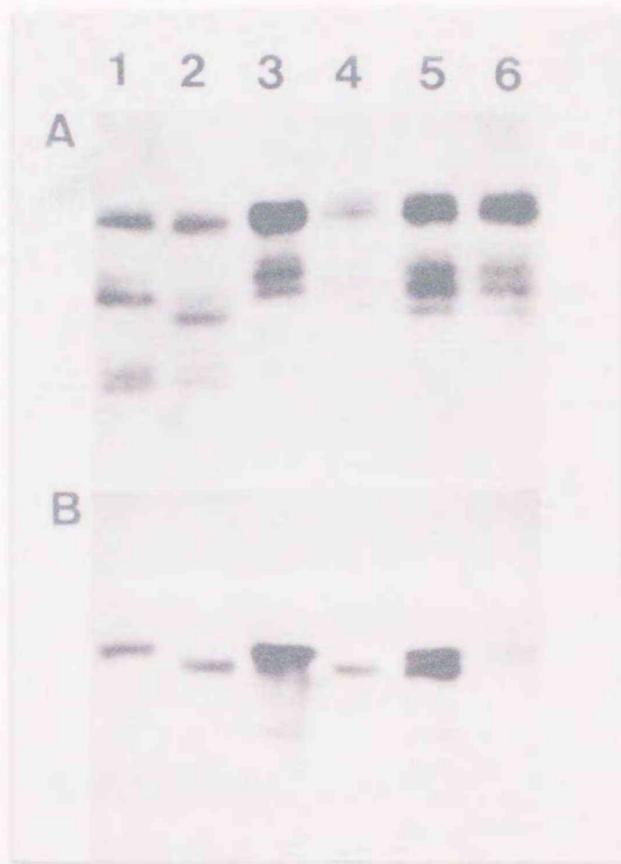


Fig. 6. Banding patterns of AMP (A) and SDH (B) in calli derived from parental varieties and their  $F_1$  hybrids.

Lanes 1 and 2 show banding patterns in plumules of parental varieties, Acc224 and IR36, respectively. Lanes 3 and 4 show banding patterns in calli derived from Acc224 and IR36, respectively. Lanes 5 and 6 show banding patterns in seed calli derived from an  $F_1$  plant of Acc224  $\times$  IR36.

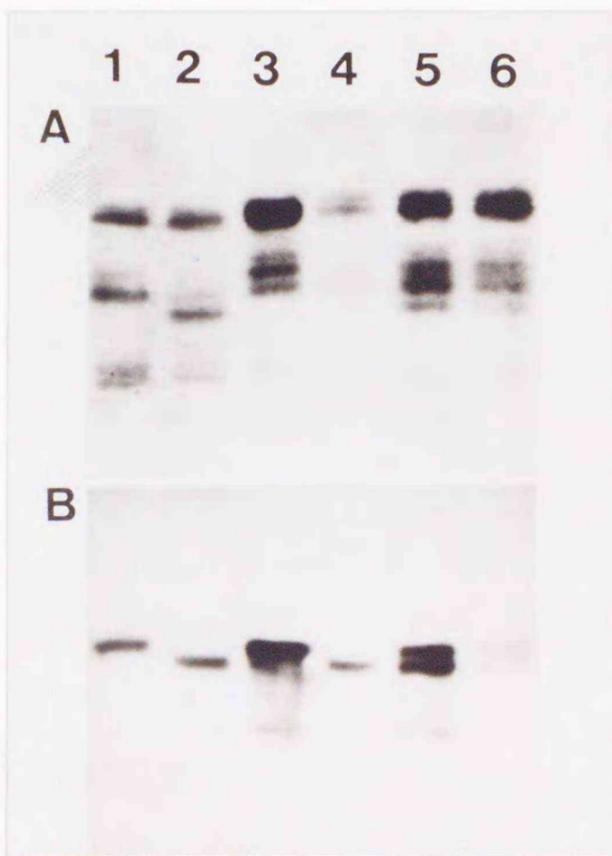


Fig. 6. Banding patterns of AMP (A) and SDH (B) in calli derived from parental varieties and their  $F_1$  hybrids.

Lanes 1 and 2 show banding patterns in plumules of parental varieties, Acc224 and IR36, respectively. Lanes 3 and 4 show banding patterns in calli derived from Acc224 and IR36, respectively. Lanes 5 and 6 show banding patterns in seed calli derived from an  $F_1$  plant of Acc224  $\times$  IR36.

## 第2章 アイソザイムの遺伝子分析

### 第1節 トリソミック分析

アイソザイムの遺伝子分析では、最初に所属する染色体（連鎖群）を決定し、次に各連鎖群上における既知の標識遺伝子との連鎖を調べて連鎖地図上の位置を決定する。このようにして座位の明らかとなった標識遺伝子は、動植物のゲノム構成や様々な遺伝現象の解析に役立つであろう。

高等植物の染色体変異系統としてはナリソミック、トリソミック及び相互転座の系統などがある。イネは2倍体植物であるため、今のところは1次トリソミックのシリーズのみ供試可能である。このシリーズにはインド型品種のIR36と日本型品種の日本晴及び金南風を遺伝的背景とするシリーズがあり、座乗染色体の決定に広く用いられている(IWATA 1990)。

本実験では9種のアイソザイム遺伝子について座乗染色体を推定した。日本型品種間の交雑後代では、アイソザイム多型はわずかしき得られず、インド型×日本型の交雑のような遠縁品種間交雑では、複数の遺伝子について多型性を得ることができる(第3章第1節)。しかし、このような交雑では、雑種不稔や、重複稔実遺伝子並びに配偶体遺伝子による分離の歪みを生じることがある(加藤ら 1928, 岡1953b, c, d, NAKAGAHRA 1972)。そのため、転座分析では半不稔性を検出することが困難となる。さらに、インド型のトリソミック系統を母本としたトリソミック分析ではトリソミック分離と異常分離との識別が困難となる場合も予測される。本実験では日本型のトリソミック系統を母本に用いて、インド型品種を花粉親とする交雑後代によりトリソミック分析を行った。また、インド型品種と日本型品種との $F_2$ で出現する異常分離を回避するために、インド型の代わりに野生イネを用いてトリソミック分析を行った。

### 材料及び方法

本実験では九州大学農学部育種学研究室から分譲された日本晴由来のトリソミック系統を供試した(Table 6)。花粉親としては国立遺伝学研究所の保存系統であるインド型在来種(ベトナム産)のAcc001及び野生イネ(*O. rufipogon*)の2系統, W628及びW1653を供試した。それぞれの交雑組み合わせにおいて複数の $F_1$ 個体について、花粉稔性、種子の長幅比及び草丈などのトリソミック系統の特徴(IWATA *et al.* 1970)を参照し、さらに染色体数によりトリソミックの $F_1$ 個体を選

抜した。なお染色体標本はKURATA法(KURATA and OMURA 1978)に基づき作成した。

Acc001へ8種類の1次トリソミックス, Triplo 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12をそれぞれ交配して $F_1$ を作り, W628にはTriplo 10及び11を交配し, さらにW1653とTriplo 10, 11, 12を交配して13種類の $F_1$ を得た。これらのトリソミックの $F_1$ 個体は静岡県三島市の国立遺伝学研究所で育成し, 開花促進のため短日(8時間日長)処理を行った。さらに,  $F_1$ が野生イネより他家受精や種子の脱粒性を受け継いだため, 開花前に袋がけを行って自殖させた。 $F_2$ 種子は50℃の高温条件で休眠性を打破した後に30℃に保った恒温器で催芽させ, 4-5日後の幼芽をアイソザイムの泳動用試料とした。アイソザイムの電気泳動法ならびに染色法は第1章に準じた。トリソミック分析に用いた親品種の遺伝子型をTable 6に示した。

## 結 果

### 1) インド型品種との交配によるトリソミック分析

Acc001は調査した11座のうち7座において日本晴と異なる遺伝子を有していた。Acc001とトリソミックシリーズを交配した $F_1$ のトリソミック個体を自殖させて作った $F_2$ 集団でアイソザイムの分離を調べた(Table 7)。*Est-2*及び*Pox-2*ではトリソミック系統がnull遺伝子を示したため, 1:3の期待比との検定を行った。それら以外の5座では共優性を示したので, 1:2:1の分離比が期待された。*Est-2*及び*Pox-2*では8交雑組み合わせ, *Acp-1*では7交雑組み合わせ, ならびに*Pgi-2*では5交雑組み合わせで観察値は期待値から有意に異なっていた。*Acp-1*ではAcc001由来のホモ型個体の出現頻度が高く, Triplo 12×Acc001でのみトリソミック親由来のホモ型個体の出現頻度が高かった。*Pox-2*ではTriplo 12×Acc001でのみ劣性個体が期待頻度より多く出現し, それ以外の組み合わせでは優性個体の出現頻度が高かった。*Est-2*では優性個体の出現頻度が高く, *Pgi-2*ではAcc001由来のホモ型個体が増加して分離比が歪んだ。

Triplo 8×Acc001の交雑組み合わせにのみ異常分離が認められた*Amp-2*では, トリソミック親由来のホモ型個体の出現頻度が高かった。*Cat-1*では2つの交雑組み合わせにおいて異常分離が認められ, そのうちTriplo 6×Acc001ではトリソミック親由来のホモ型個体, Triplo 8×Acc001ではAcc001由来のホモ型個体の出現頻度がそれぞれ高かった。*Pgi-1*ではどの交雑組み合わせにおいても異常分離がみられず, 全ての交雑組み合わせにおいて1:2:1の期待比に適合した。

以上の結果から, *Acp-1*, *Amp-2*, *Cat-1*及び*Pox-2*は特定のトリソミック親由来のホモ型個体の出現頻度が期待値より高いことがわかり, これらの観察値と期待

値との適合性を検定した。理論比を算出するにあたっては、雌性側から過剰染色体( $n=13$ )を持つ配偶子と半数性の染色体( $n=12$ )を持つ配偶子が均等に受精すると仮定して、雄性側では過剰染色体を持つ配偶子( $n=13$ )が受精にまったく参加しない場合(T-1及びT-3)、ならびに $n=12$ と $n=13$ の花粉が均等に受精に参加する場合(T-2及びT-4)を考えた。さらに、遺伝子座が動原体と完全連鎖する染色体分離(T-1及びT-2)と、動原体と遺伝子の間でキアズマを生じる場合の最高均等分離によるトリソミック分離(T-3及びT-4)の理論比をそれぞれ上限及び下限とした(Table 9)。

*Pox-2*ではT-1と最も高い適合度が得られたため、過剰染色体を持つ花粉が受精に参加しない場合の染色体分離に近いと推測した。一方、*Acp-1*ではT-3に近い適合度が得られたため、全ての花粉が受精に参加する場合の染色体分離に近いと推測した。残りの分離では期待されるトリソミック分離とならず、むしろダイソミック分離と高い適合度が得られた。したがって、*Cat-1*はTriplo 6の過剰染色体である第6染色体(連鎖群)に、*Amp-2*はTriplo 8に対応する第8染色体(連鎖群)に、*Acp-1*及び*Pox-2*はTriplo 12に対応する第12染色体(連鎖群)に座乗すると推定された。

トリソミック分離の上限と下限の間に入らなかった場合には、遠縁交雑により生じる異常分離が影響したためか、その他の原因によると推測される。一方、*Est-2*及び*Pgi-2*は既に第6染色体(連鎖群)に座乗することが明らかにされている(NAKAGAHRA 1977, SANO and BARBIER 1985)。Triplo 6との組み合わせでトリソミック分離比に適合しなかったのは、Acc001由来のホモ型個体の出現頻度が期待値より高くなる異常分離の影響と推測される。

## 2) 野生イネとの交配によるトリソミック分析

W628及びW1653はいずれも高い他殖率を持つ多年生の野生イネであり、調査したうちW628では9遺伝子、W1653では3遺伝子についてヘテロの遺伝子型を識別できた。したがって、トリソミックの $F_1$ 個体のうち日本晴由来の対立遺伝子と野生イネ系統由来の対立遺伝子を併せ持つヘテロ型の個体を選抜して、それ以降の実験に供試した。

W628との交雑組み合わせではTriplo 10×W628及びTriplo 11×W628の2種の交雑組み合わせからトリソミックの $F_1$ 個体を選抜して、 $F_2$ における*Pgd-1*の分離を調査した(Table 8)。さらに、W1653との交雑組み合わせでは、Triplo 10×W1653、Triplo 11×W1653、Triplo 12×W1653の3交雑組み合わせからトリソミックの $F_1$ 個体を選抜して、*Sdh-1*の $F_2$ 分離を調査した(Table 8)。

*Pgd-1*に関する分離ではTriplo 11×W628、*Sdh-1*に関する分離ではTriplo 12×

W1653でトリソミックの親由来のホモ型の出現頻度が期待値より高かったので、トリソミック分離の各理論比との適合度を検定した(Table 9)。両分離ともT-2と適合度が高かったため、過剰染色体を持つ花粉が受精に参加しない場合の均等分離と推測された。したがって、*Pgd-1*はTriplo 11の過剰染色体である第11染色体(連鎖群)に、*Sdh-1*はTriplo 12に対応する第12染色体(連鎖群)にそれぞれ座乗すると推定された。

### 3) 遺伝子の供与量効果

先のトリソミック分析から、Triplo 11×W628のダイソミックのF<sub>1</sub>個体の*Pgd-1*座には両親系統からの対立遺伝子がそれぞれ1遺伝子伝達され、トリソミックのF<sub>1</sub>個体では雌性親であるTriplo 11から*Pgd-1*<sup>1</sup>が2遺伝子ならびに花粉親であるW628から*Pgd-1*<sup>2</sup>が1遺伝子伝達されたと推定される。したがって、*Pgd-1*が第11染色体に座乗するならば、Triplo 11を雌性親としたF<sub>1</sub>のうちダイソミックの個体とトリソミックの個体では*Pgd-1*の遺伝子供与量に由来する差異が期待される。

両個体の幼芽における*Pgd-1*の発現を調査したところ、ダイソミックの個体では両対立遺伝子の発現が同等であり、トリソミックの個体では*Pgd-1*<sup>2</sup>より*Pgd-1*<sup>1</sup>が濃いバンドを示した(Fig. 7)。この現象は*Pgd-1*がTriplo 11の有する過剰染色体である第11染色体に属することを示した。

### 4) 3本の相同染色体に座乗する対立遺伝子の発現

*Sdh-1*がTriplo 12に対応する第12染色体に所属することを確認するために、トリソミック個体における3本の相同染色体上への3種類の対立遺伝子の集積を試みた。先に行ったトリソミック分析により、Triplo 12×W1653からのトリソミックのF<sub>1</sub>個体はトリソミックの親系統由来の2供与量の*Sdh-1*<sup>2</sup>、野生イネの親系統由来の1供与量の*Sdh-1*<sup>4</sup>を持っていることが推定される。このトリソミックのF<sub>1</sub>個体に*Sdh-1*<sup>1</sup>を持つインド型品種のAcc414を交配した。

上記の交配から得られた20個体のB<sub>1</sub>F<sub>1</sub>のうち、2個体で3種類の対立遺伝子の発現が観察された(Fig. 8)。したがって、これら2個体には3種の異なる親系統からそれぞれ由来した3種類の対立遺伝子が集積したと考えられる。以上の結果から、*Sdh-1*は第12染色体に所属することが明らかとなった。

## 考 察

インド型と日本型品種の交雑組み合わせのF<sub>2</sub>集団では5種のアイソザイム遺伝

子が、トリソミック以外の原因による顕著な異常分離を生じた。一方、野生イネを用いた交雑後代の $F_2$ ではこのような異常分離を起こすことが少なく、アイソザイム遺伝子の分離は期待値とよく適合した。そのため、アイソザイム遺伝子のトリソミック分析のためには、インド型よりも野生イネを用いる方が望ましいと考えられる。しかし、野生イネを用いた実験では栽培イネの場合とは異なる様々な困難を伴う。その一つは野生イネの持つ強い感光性である。実験を行った静岡県三島市ではAcc001との交雑後代でも $F_2$ 種子を得るために短日処理が必要となり、野生イネとの交雑後代ではより強い短日処理を必要とした。さらに日本型のトリソミック系統と野生イネとの交雑後代では不稔性が緩和される傾向にあったが、野生イネの1穂粒数が少ないことから $F_2$ 種子の生産量が少なく、後代の調査個体数が限定されるなどの欠点を生じた。

インド型品種と野生イネは共通して種子の長幅比、草丈などの形質が日本型品種とかなり異なり、形態的特徴によるトリソミックの判定が困難であった。その結果、トリソミックの $F_1$ 個体の選抜には染色体調査を必要としたが、 $F_2$ 集団では染色体数を確認せずにダイソミック及びトリソミックの個体を併せて $F_2$ 分離を調査した。一方、インド型と日本型の交雑後代で生じた異常分離はインド型由来の対立遺伝子を増加させる傾向にあった。このような異常分離はむしろトリソミック分離の歪みとは反対方向へ作用していると考えられるので、トリソミック分離とダイソミック分離とを識別することには障害とならなかった。以上のようにそれぞれに短所があったが、日本型のトリソミックの個体との交配親としてインド型と野生イネを供試した。

本実験では目的のアイソザイム遺伝子が所属する染色体を推定するためトリソミック分析以外の方法も試みた。その一つはトリソミックの $F_1$ 個体において遺伝子の供与量効果を調べることであり、共優性を有するアイソザイム遺伝子に対しては有効であった。その外に戻し交雑法を利用して座乗染色体を推定した。これはトリソミック親由来の対立遺伝子以外に異なる2種の対立遺伝子を1個体に集積して、目的の遺伝子がトリソミック染色体に所属することを確認する手法であり、複対立遺伝子を有するアイソザイム遺伝子には有効であった。

しかし、以上のトリソミック分析はあくまで所属染色体を推定することだけで、遺伝子の連鎖地図上の位置を決めるためには引続き次節に述べる分析を行った。

Table 6. Allelic constitutions of three varieties and two wild strains used in the trisomic analysis

Locus	Allelic constitution				
	Nipponbare	Acc001	Acc414	W628	W1653
<i>Acp-1</i>	2	1	1	1/2	2
<i>Amp-2</i>	1	2	2	1/2	1/2
<i>Amp-3</i>	1	1	1	1/2	1/2
<i>Cat-1</i>	2	1	1	1/2	2
<i>Est-2</i>	0	2	0	1/0	0
<i>Est-9</i>	1	1	2	2	2
<i>Pgd-1</i>	1	1	2	1/2	1
<i>Pgi-1</i>	2	1	1	1/2	2
<i>Pgi-2</i>	1	2	2	1/2	1
<i>Pox-2</i>	0	1	0	1/0	1/0
<i>Sdh-1</i>	2	2	3	4	1

Note: W628 and W1653 were heterozygous at nine and three loci, respectively. The heterozygous genotypes were shown with slash.

Table 7. F<sub>2</sub> segregations of isozyme genes in eight cross combinations between different trisomics and Acc001

Chromosome	<i>Acp-1</i>			$\chi^2$ for 1:2:1 (p)	<i>Amp-2</i>			$\chi^2$ for 1:2:1 (p)	<i>Cat-1</i>			$\chi^2$ for 1:2:1 (p)
	JJ	IJ	II <sup>1)</sup>		JJ	IJ	IJ		JJ	IJ	II	
4	6	33	32	19.39 ( <0.01)	16	37	25	2.28 (0.3-0.5)	13	47	15	4.92 (0.05-0.1)
6	11	77	35	17.18 ( <0.01)	26	75	31	2.83 (0.2-0.3)	46	67	17	13.06 ( <0.01)
7	12	29	37	21.15 ( <0.01)	13	40	27	4.90 (0.05-0.1)	15	37	23	1.72 (0.3-0.5)
8	38	82	60	6.80 (0.01-0.05)	69	77	8	48.32 ( <0.01)	21	72	56	16.60 ( <0.01)
9	7	22	13	1.81 (0.3-0.5)	13	20	11	0.55 (0.7-0.8)	6	26	11	3.05 (0.2-0.3)
10	10	22	24	9.57 ( <0.01)	17	40	15	1.00 (0.5-0.7)	13	48	17	4.56 (0.1-0.2)
11	20	76	54	15.44 ( <0.01)	32	70	49	4.63 (0.05-0.1)	34	82	34	1.31 (0.5-0.7)
12	48	119	4 <sup>2)</sup>	48.89 ( <0.01)	9	27	12	1.13 (0.5-0.7)	33	50	26	1.64 (0.3-0.5)

Chromosome	<i>Est-2</i>		$\chi^2$ for 1 : 3 (p)	<i>Pgi-1</i>			$\chi^2$ for 1:2:1 (p)
	JJ	IJ+II		JJ	IJ	II	
4	8	64	7.41 ( <0.01)	21	43	15	1.53 (0.3-0.5)
6	21	118	7.25 ( <0.01)	16	48	32	5.33 (0.05-0.1)
7	10	70	6.67 ( <0.01)	18	46	16	1.90 (0.3-0.5)
8	23	158	14.59 ( <0.01)	36	103	36	5.49 (0.05-0.1)
9	1	42	11.79 ( <0.01)	7	20	16	3.98 (0.1-0.2)
10	8	64	7.41 ( <0.01)	26	39	16	2.58 (0.2-0.3)
11	20	112	6.83 ( <0.01)	36	61	45	3.96 (0.1-0.2)
12	4	44	7.11 ( <0.01)	10	24	24	8.48 (0.01-0.02)

Table 7. (continued)

Chromosome	<i>Pgi-2</i>			$\chi^2$ for	<i>Pox-2</i>		$\chi^2$ for		
	JJ	IJ	II	1:2:1	( <i>p</i> )	JJ	IJ+II	1 : 3	( <i>p</i> )
4	9	28	41	32.46	(<0.01)	10	71	6.92	(<0.01)
6	14	69	13	18.40	(<0.01)	16	123	13.49	(<0.01)
7	11	45	21	4.79	(0.05-0.1)	11	69	5.40	(<0.01)
8	37	94	50	2.14	(0.3-0.5)	28	153	8.77	(<0.01)
9	6	26	11	3.45	(0.2-0.3)	3	40	7.45	(<0.01)
10	23	25	33	14.30	(<0.01)	8	64	7.41	(<0.01)
11	23	80	49	9.32	(<0.01)	24	128	6.88	(<0.01)
12	7	23	21	8.18	(0.01-0.02)	58	117	6.19	(0.02-0.05)

<sup>1)</sup> J and I indicate alleles derived from Japonica trisomic strains and Indica disomic variety, Acc001, respectively. Order of chromosomes corresponds with that of linkage groups.

<sup>2)</sup> Shaded parts indicated different patterns of segregation from others for respective genes.

Table 8. F<sub>2</sub> segregations of *Pgd-1* in the crosses between trisomics and W628 and those of *Sdh-1* in the crosses between trisomics and W1653

Chromosome	<i>Pgd-1</i>			$\chi^2$ for 1:2:1 ( $p$ )	<i>Sdh-1</i>			$\chi^2$ for 1:2:1 ( $p$ )
	JJ	JW	WW <sup>1)</sup>		JJ	JW	WW	
10	14	20	9	1.37(0.5-0.7)	9	21	13	0.77(0.5-0.7)
11	37	50	4 <sup>2)</sup>	24.80(<0.01)	21	52	19	1.65(0.3-0.5)
12	-	-	- <sup>3)</sup>		12	10	3	7.48(0.02-0.05)

<sup>1)</sup> J and W indicate alleles derived from Japonica trisomics and disomic strains (W120, *O. rufipogon*), respectively.

<sup>2)</sup> Shaded parts indicated different patterns from others for respective genes.

<sup>3)</sup> Not examined.

Table 9. Fitness for theoretical segregations expected in the progenies of trisomic F<sub>1</sub> plants

Type of segregation <sup>1)</sup>	<i>Acp-1</i>					<i>Amp-2</i>				
	JJ	IJ	II <sup>2)</sup>	$\chi^2$	( $\rho$ )	JJ	IJ	II	$\chi^2$	( $\rho$ )
Obs.	48	119	4			96	77	8		
D(1:2:1)	42.8	85.5	42.8	48.9	(<0.01)	45.3	90.5	45.3	89.5	(<0.01)
T-1(6:11:1)	57.0	104.5	9.5	6.6	(0.02-0.05)	60.3	110.6	10.1	31.8	(<0.01)
T-2(26:41:5)	61.8	97.4	11.9	13.1	(<0.01)	65.4	103.1	12.6	22.6	(<0.01)
T-3(9:26:1)	42.8	123.5	4.8	0.9	(0.5-0.7)	45.3	130.7	5.0	80.6	(<0.01)
T-4(169:382:25)	50.2	113.4	7.4	1.9	(0.3-0.5)	53.1	120.0	7.9	50.1	(<0.01)

Type of segregation	<i>Cat-1</i>					Type of segregation	<i>Pox-2</i>			
	JJ	IJ	II	$\chi^2$	( $\rho$ )		JJ	IJ+II	$\chi^2$	( $\rho$ )
Obs.	46	67	17			Obs.	58	117		
D(1:2:1)	32.5	65	32.5	13.1	(<0.01)	D(1:3)	43.8	131.3	6.2	(0.01-0.02)
T-1(6:11:1)	43.3	79.4	7.2	15.4	(<0.01)	T-1(6:12)	58.3	116.7	0.0	(0.9< )
T-2(26:41:5)	46.9	74.0	9.0	7.8	(0.02-0.05)	T-2(26:46)	63.2	11.8	0.7	(0.3-0.5)
T-3(9:26:1)	32.5	93.9	3.6	63.2	(<0.01)	T-3(9:27)	43.8	131.3	6.2	(0.02-0.05)
T-4(169:382:25)	38.1	86.2	5.6	29.1	(<0.01)	T-4(169:407)	51.4	123.7	1.2	(0.5-0.7)

Table 9. (continued)

Type of segregation	<i>Pgd-1</i>					<i>Sdh-1</i>				
	JJ	JW	WW	$\chi^2$	( $p$ )	JJ	JW	WW	$\chi^2$	( $p$ )
Obs.	37	50	4			12	10	3		
D(1:2:1)	22.8	45.5	22.8	24.8	(<0.01)	6.3	12.5	6.3	7.5	(0.02-0.05)
T-1(6:11:1)	30.3	55.6	2.3	3.3	(0.1-0.2)	8.3	15.3	1.4	5.3	(0.05-0.1)
T-2(26:41:5)	32.9	51.8	6.3	1.4	(0.3-0.5)	9.0	14.2	1.7	3.2	(0.2-0.3)
T-3(9:26:1)	22.8	65.7	2.5	13.5	(<0.01)	6.3	18.1	0.7	16.3	(<0.01)
T-4(169:382:25)	26.7	60.4	4.0	5.8	(0.05-0.1)	7.3	16.6	1.1	8.9	(0.01-0.02)

<sup>1)</sup> Obs. : Observed numbers, D: Theoretical numbers expected from the disomic segregation, 1:2:1. T-1 and T-3: Theoretical numbers expected from the chromosome segregation including both disomic and trisomic plants. T-2 and T-4: Theoretical numbers expected from the maximum equational segregation including both disomic and trisomic plants. In all cases, 50 % transmission of female gametes having the extra chromosome is postulated. In T-1 and T-3, no transmission of male gametes having the extra chromosome is postulated. In T-2 and T-4, 50 % transmission of male gametes having the extra chromosome is postulated. When genotypic classes could not be distinguished such as the case of *Pox-2*, two genotypic classes were considered into one phenotypic class.

<sup>2)</sup> J, I and W indicate alleles derived from trisomic Japonica, disomic Indica, and disomic wild strains, respectively.



Fig. 7. Dosage effects found in trisomic  $F_1$  plants having two doses of  $Pgd-1^1$  and one dose of  $Pgd-1^2$ . Lanes 1, 2, 5 and 6 indicate banding patterns of  $Pgd-1$  in disomic  $F_1$  plants. Lanes 3 and 4 indicate those in trisomic  $F_1$  plants.

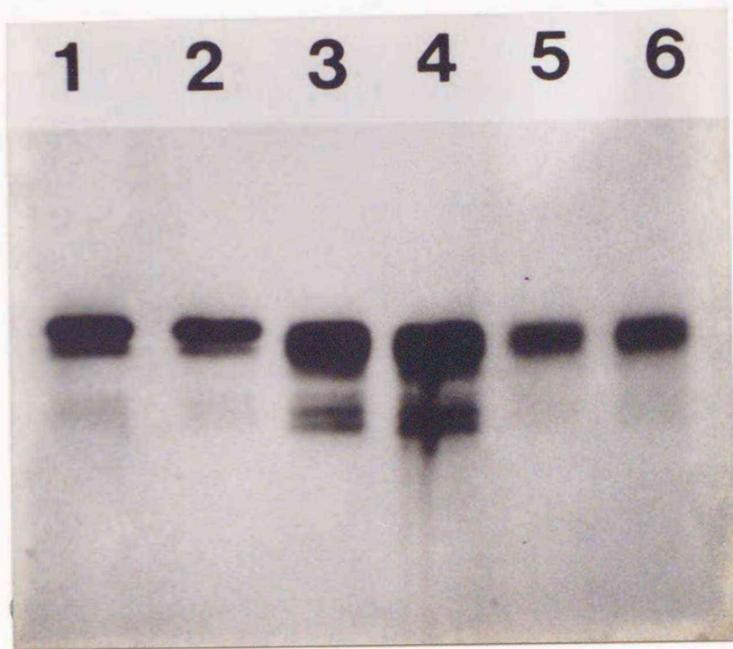


Fig. 7. Dosage effects found in trisomic  $F_1$  plants having two doses of  $Pgd-1^1$  and one dose of  $Pgd-1^2$ . Lanes 1, 2, 5 and 6 indicate banding patterns of  $Pgd-1$  in disomic  $F_1$  plants. Lanes 3 and 4 indicate those in trisomic  $F_1$  plants.

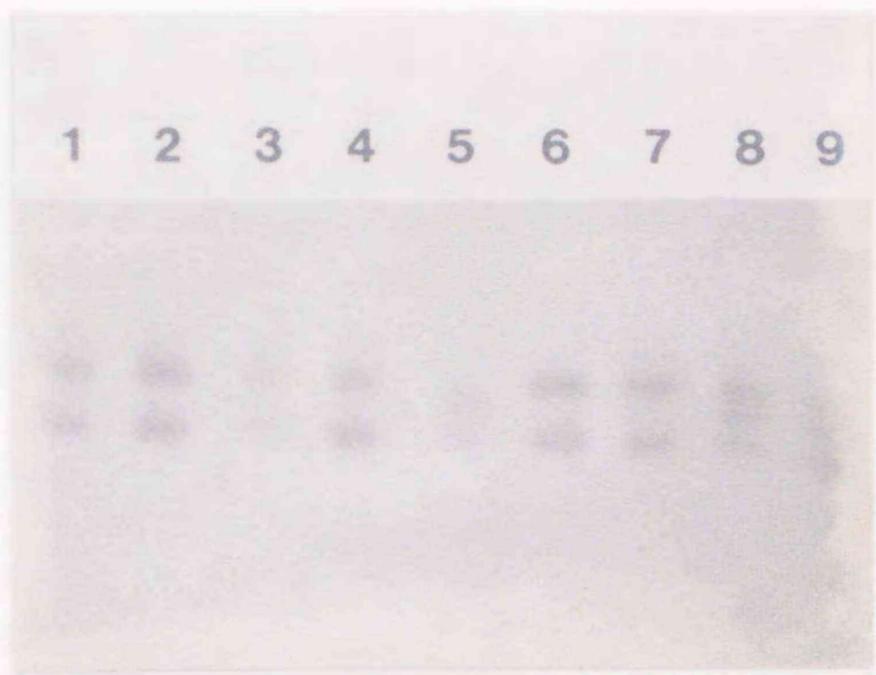


Fig. 8. Triallelic expressions of *Sdh-1* in a backcrossed population of (Triplo 12 × W1653) × Acc414. Lanes 1, 2, 3, 4, 6 and 7 show expressions of *Sdh-1<sup>2</sup>* and *Sdh-1<sup>4</sup>*. Lane 5 shows expressions of *Sdh-1<sup>1</sup>* and *Sdh-1<sup>4</sup>*. Lanes 8 and 9 show triallelic expressions of *Sdh-1<sup>1</sup>*, *Sdh-1<sup>2</sup>* and *Sdh-1<sup>4</sup>*.

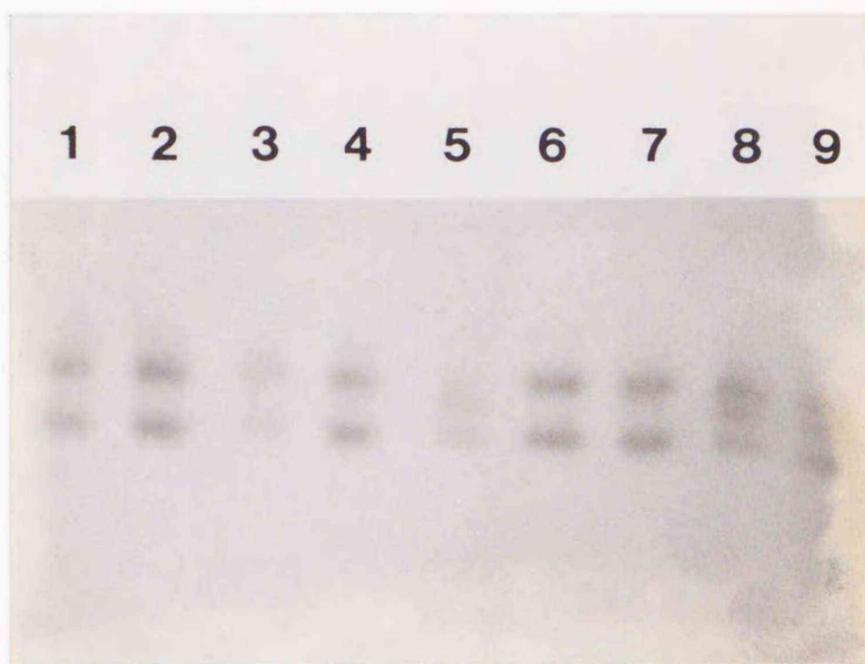


Fig. 8. Triallic expressions of *Sdh-1* in a backcrossed population of (Triplo 12 × W1653) × Acc414. Lanes 1, 2, 3, 4, 6 and 7 show expressions of *Sdh-1*<sup>2</sup> and *Sdh-1*<sup>4</sup>. Lane 5 shows expressions of *Sdh-1*<sup>1</sup> and *Sdh-1*<sup>4</sup>. Lanes 8 and 9 show triallic expressions of *Sdh-1*<sup>1</sup>, *Sdh-1*<sup>2</sup> and *Sdh-1*<sup>4</sup>.

## 第2節 連鎖分析

イネの連鎖地図には半矮性遺伝子(*sd-1*), 感光性遺伝子(*Se-1*), 病虫害抵抗性遺伝子(*Bph, Glh, gm, Pi, Xa*), 穀粒特性に関する遺伝子(*Esp, ge, sug, wx*)など育種的に有用な遺伝子が数多く載せられており, 育種利用への意義も大きい。さらに, 動原体や染色体の末端部位など細胞の増殖や, 染色体の分配の機構に重要な役割を持つ染色体部位の解析も今後の課題となっている。

最近, アイソザイム遺伝子やRFLPマーカーから成る連鎖地図(RFLP地図と略称)が短期間で作成されている(McCOUCH *et al.* 1988, SAITO *et al.* 1991, WU *et al.* 1988)。RFLP地図は従来の連鎖地図と独立に作成されているが, アイソザイム遺伝子を両地図に位置づけることで, 染色体の方向や遺伝子の相対的位置関係の同定が可能となる。さらに, アイソザイム遺伝子はこれまで系統分化の研究にも利用されており(GLASZMANN 1987, MORISHIMA and OKA 1981, SECOND 1982), これら座位の決定は今後の進化に関する研究にも役立つと考えられる。

本研究では前節で連鎖群の推定されたアイソザイム遺伝子間, 及びアイソザイム遺伝子と他の標識遺伝子との連鎖関係を調べた。さらに, アイソザイム遺伝子と密に連鎖する有用遺伝子との関係を検討した。なお, 本論文で連鎖地図と称するのは旧来の手法により作成された地図のことであり, RFLP地図を含めない。

## 材料及び方法

アイソザイム遺伝子との連鎖分析を行うために九州大学育種学研究室の6種の標識系統, 北海道大学からの1標識系統, 及び国立遺伝学研究所で保存している12品種を供試した(Table 10及び11)。また, 栽培品種内では単型的である*Est-5*や*Pgd-2*について多型を得るために栽培品種(Acc504, Taichung 65)と多年生の野生イネ(*O. rufipogon*)の交雑後代の2系統,  $F_4-1$ ,  $F_5-1$ を供試した。これらの品種及び系統を交雑して15種類の $F_1$ 個体を作成した。 $F_1$ 個体は短日処理(8時間日長)を行って $F_2$ 種子を採種し,  $50^\circ\text{C}$ の高温条件に1週間置いて休眠打破を行った後に暗黒下の $30^\circ\text{C}$ に保った恒温器内で催芽させた。

形態・生理的形質は水田, もしくは温室内でそれぞれの形質の適期に調査した。アイソザイム遺伝子型は幼芽, もしくは成葉で調査して, その他の形質と共に記録した。アイソザイムの電気泳動ならびに染色は第1章と同じ方法を用いた。組換え価はALLARD(1956)の最尤法に基づいて算出した。

## 結 果

### 1) 第1連鎖群

*Est-5*はWU *et al.* (1988)のトリソミック分析により第1連鎖群に座乗することが報告されている。同遺伝子は野生種だけでなく栽培種においても多型性が稀にしか認められない(第3章第1節)。インド型品種のAcc721と多年生の野生イネのW120が*Est-5<sup>2</sup>*を示したので以降の実験に供試した。W120は強い感光性と脱粒性並びに短穂性を有していたため、直接に交配親に用いるのは不適當であった。そこで日本型のAcc504と野生イネW120の交雑後代のF<sub>5</sub>系統において*Est-5<sup>2</sup>*を持つF<sub>5</sub>-1を*lax*(疎穂)を有するH-482と交配した。

H-482×Acc721では*Est-5<sup>1</sup>*のホモ個体、ヘテロ個体及び*Est-5<sup>2</sup>*のホモ個体の出現頻度がそれぞれ29:27:13となり、H-482由来の遺伝子が過剰に生じた。したがって、期待比の1:2:1とは適合しなかった(Table 12)。しかし、*lax*の分離は正常型と疎穂型の出現頻度が55:14となり期待比の3:1によく適合した(Table 12)。H-482×F<sub>5</sub>-1では*Est-5<sup>1</sup>*のホモ個体、ヘテロ個体及び*Est-5<sup>2</sup>*のホモ個体の出現頻度が18:23:15となった。一方、*lax*の分離は正常型:疎穂型が44:12となり、期待される3:1の分離比に適合した(Table 12)。

両F<sub>2</sub>集団において*Est-5*と*lax*間の組換え価を算出したところ、H-482×Acc721では30.0±6.4%及びH-482×F<sub>5</sub>-1では15.1±5.1%と異なる値が得られた。前者のF<sub>2</sub>では*Est-5*の分離に歪みを生じていたので15.1%の方がより正確な組換え価と考えられる。

第1連鎖群には*lax*より組換え価で13%離れた位置に*eg*(過剰穎)と*ga-8*(配偶体遺伝子-8)が存在する(KINOSHITA 1987, 中川原 1981)。インド型と日本型の品種間交雑後代の*eg*の分離は*ga-8*の影響を受けて異常分離が生じ易く、*lax*と15.1%の組換え価を持つ*Est-5*がH-482×Acc721で異常分離を生じたことより、F<sub>5</sub>-1はAcc721と異なりH-482と同じ*ga-8*を持っており、*eg*の近傍に*Est-5*が座乗していると推測される。

### 2) 第3連鎖群

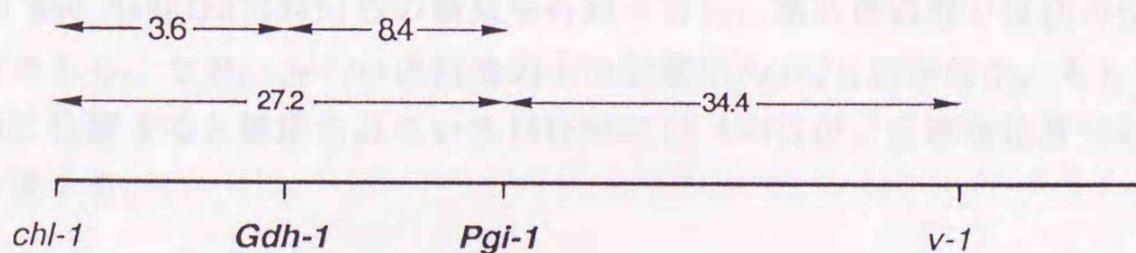
グルタミン酸脱水素酵素(Glutamate dehydrogenase; GDH)の多型性は稀にしかみられず、フィリッピンの在来品種のAcc259でのみ他の品種の1型と異なり陽極側に泳動される2型のバンドが観察された。1型を示すインド型品種、Acc001を雌性親としてAcc259を交配したF<sub>1</sub>は両親のバンドの中間に位置する幅広いバンドを示した(Fig. 9)。F<sub>2</sub>個体の幼芽を用いてGDHを調査したところ、バンドの出現頻

度はそれぞれ1型:F<sub>1</sub>型:2型=39:91:39となり、期待比である1:2:1に適合した(Table 12)。したがって、このアイソザイム遺伝子を*Gdh-1*と名付けた。また、F<sub>1</sub>及びF<sub>2</sub>のヘテロ個体が雑種バンドを示したことから、GDHは多量体酵素であると推定された。

Acc001×Acc259のF<sub>2</sub>集団では*Gdh-1*の他にアイソザイムの9遺伝子の分離が認められた。*Gdh-1*と*Pgi-1*間では8.4±1.6%の組換え価が算出され、それ以外の8遺伝子とは独立であり、*Gdh-1*は*Pgi-1*と共に第3連鎖群にあることが確認された。

さらに、第3連鎖群の他の標識遺伝子との連鎖分析により*Gdh-1*及び*Pgi-1*の位置を決めた。Acc259と*chl-1*(黄緑葉-1)を持つFL58を交配して、F<sub>2</sub>集団における*chl-1*と*Gdh-1*との連鎖関係を調査した。*chl-1*に関する分離と*Gdh-1*の分離はそれぞれ1:3, 1:2:1の期待比に適合し、これら2遺伝子間の組換え価は3.6±2.4%であった(Table 12及び13)。*chl-1*を持つFL330及び*v-1*(t)(緑変白葉-1)を持つKL514とIR36のF<sub>2</sub>集団で*chl-1*, *v-1*(t)及び*Pgi-1*について連鎖分析を行ったところ、KL514×IR36のF<sub>2</sub>集団における*Pgi-1*の分離比は期待比と適合しなかったが、残りの遺伝子分離は期待比と適合した(Table 12)。これら2つのF<sub>2</sub>集団から*Pgi-1*と*chl-1*及び*v-1*(t)の両標識遺伝子との組換え価を算出したところ、*Pgi-1*と*chl-1*及び*Pgi-1*と*v-1*(t)について、それぞれ27.2±3.2%及び34.4±4.4%の組換え価が得られた。KINOSHITA(1987)による連鎖地図では、*chl-1*及び*v-1*(t)の地図上の位置がそれぞれ0及び58であるので、*Pgi-1*は*chl-1*及び*v-1*(t)のほぼ中間に位置しており、*Gdh-1*は*chl-1*と*Pgi-1*の中間に位置すると考えられる。これらの関係をまとめると4遺伝子の配列は以下のようになる。

### Chromosome 3



ただし、*Pgi-1*と*chl-1*の組換え価が27.2%であるのに、*Gdh-1*と*chl-1*及び*Pgi-1*との組換え価の合計が12%しかないことから、Acc259に何らかの組換え制限の要因が含まれている可能性もある。

### 3) 第6連鎖群

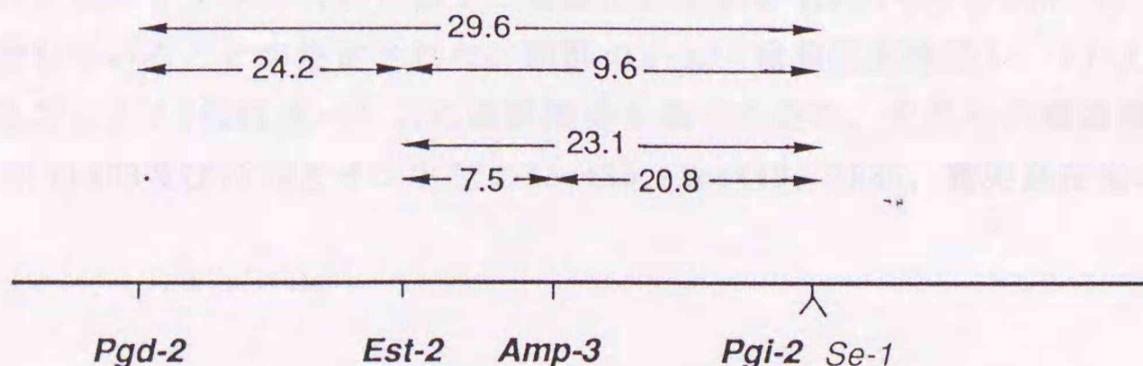
*Pgd-1*より陽極側に現れるPGDのバンドの多型は*Gdh-1*と同様に栽培品種内では極めて稀にしか認められず、その変異も明瞭に識別できなかった。したがって、遺伝子型が明らかに異なる多年生の野生イネW120をPGDの陽極側の遺伝子分析に用いた。*Est-5*と*lax*の連鎖の場合と同様にAcc504とW120の交雑後代からF<sub>4</sub>-1を選抜してIR36と交配した。F<sub>1</sub>個体では両親由来の2本のバンドとそれらの間に濃い1本のバンドの計3本のバンドがみられた。F<sub>2</sub>集団では3種類のバンドの出現頻度がAcc504型:F<sub>1</sub>型:W120型=18:34:25となった(Table 12)。この分離比は共優性を示す場合の1:2:1と適合した。したがって、この遺伝子を*Pgd-2*と命名した。また、F<sub>1</sub>及びF<sub>2</sub>のヘテロ個体における雑種バンドの存在から、*Pgd-2*は2量体酵素であることが明らかになった。

このF<sub>2</sub>集団では*Pgd-2*以外にも9遺伝子の分離がみられたので、これらの遺伝子間で連鎖分析を行ったところ、*Pgd-2*、*Est-2*及び*Pgi-2*の間で連鎖関係がみ出された。*Pgd-2*—*Est-2*の遺伝子間では24.2±4.1%、*Pgd-2*—*Pgi-2*間及び*Est-2*—*Pgi-2*間では、それぞれ29.6±4.1%及び9.6±2.6%の組換え価が得られた(Table 13)。

Acc563及びAcc853の日本型×インド型の交雑後代では、*Amp-3*、*Est-2*及び*Pgi-2*において異常分離が生じなかったので(Table 12)、これら3遺伝子間の連鎖分析を行った。*Amp-3*—*Est-2*間では7.5±2.8%、*Amp-3*—*Pgi-2*間では20.8±3.4%、及び*Est-2*—*Pgi-2*間では23.1±4.9%の組換え価がそれぞれ算出された(Table 13)。したがって、*Est-2*と*Pgi-2*の間に*Amp-3*の存在することが明らかとなった。

F<sub>4</sub>-1×IR36とAcc563×Acc853の両F<sub>2</sub>集団から算出された*Est-2*と*Pgi-2*間の両組換え価にはかなりの差が生じたが、これはおそらく野生イネの遺伝的要素を持つF<sub>4</sub>-1がなんらかの組換え制限を持っていたためと推定される。これらの結果とSANO and BARBIER(1985)らの結果を合わせると、第6連鎖群では次の位置関係が推定される。なお、*Se-1*の連鎖地図上の位置は*Pgi-2*と同座位か、もしくは極めて近傍に位置すると推定されている(KINOSHITA 1987)が、正確な位置づけには再検討を要する。

#### Chromosome 6



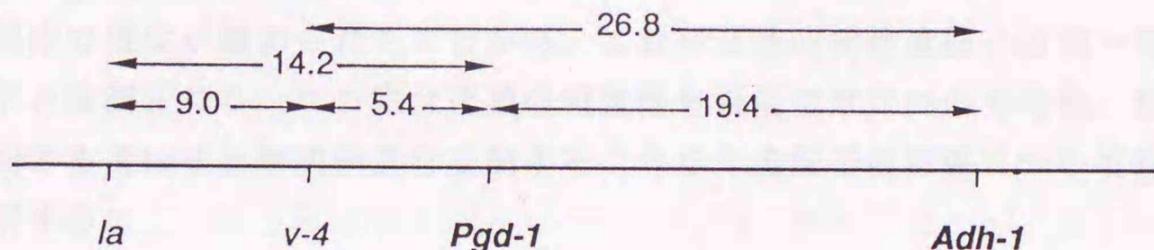
#### 4) 第11連鎖群

前節のトリソミック分析で *Pgd-1* が第11連鎖群に属すると推測されたのでこの群に属する標識遺伝子と連鎖分析を行った。インド型のトリソミック分析から *Adh-1* が同連鎖群に座乗していることが報告されている (RANJHAN *et al.* 1988) ため、*Adh-1* と *Pgd-1* との連鎖関係についても調査した。

*la* (もつれ) 及び *v-4* (緑変白葉-4) を持つ FL280 と IR36 を交配して、その後代である  $F_2$  集団の分離を調査した。3種の標識遺伝子 (*la*, *v-4* 及び *Pgd-1*) の分離はそれぞれ期待比の 1 : 2 : 1 に適合した (Table 12)。*la* — *v-4* 間では  $9.0 \pm 4.0\%$ , *la* — *Pgd-1* 間では  $14.2 \pm 4.9\%$ , *v-4* — *Pgd-1* 間では  $5.4 \pm 3.0\%$  の組換え価がそれぞれ得られた。

*Adh-1* と *Pgd-1* 間の連鎖分析では、両遺伝子に多型性が認められる熱帯日本型品種間の交雑である Acc224 × Acc647 を用いた (第3章第1節)。 $F_2$  集団における両遺伝子の  $F_2$  分離では期待比の 1 : 2 : 1 に適合し、*Adh-1* — *Pgd-1* 間では  $19.4 \pm 3.3\%$  の組換え価が算出された (Table 12 及び 13)。さらに、インド型品種の Acc437 を FL280 と交配して *Adh-1* と *v-4* 間の組換え価を算出したところ、 $26.8 \pm 5.3\%$  の組換え価が得られた (Table 13)。したがって、第11連鎖群における遺伝子配列は次のように推定される。

#### Chromosome 11



なお従来の連鎖地図上では *Adh-1* が 90 の位置をしめることになり、その座位は同群の 91 に位置するいもち病抵抗性遺伝子 *Pi-a* の近傍であることが明らかとなった。

#### 5) 第12連鎖群

前節のトリソミック分析から第12連鎖群には *Acp-1*, *Pox-2* 及び *Sdh-1* の3遺伝子が座乗していることが推定された。同群の *d-33* (盆栽稲型矮性), *r1-3* (捲葉-3) 及び *spl-1* (褐斑葉-1) との連鎖関係を調べるため、それらの標識遺伝子を持つ FL27, KL403 及び FL58 とインド型の Acc435, Acc419, IR36, 鹿児島在来の7種

の系統・品種間の交雑を行った (Table 10及び11)。

FL27とAcc435の交雑後代では *Acp-1* は共優性を示し、期待比の 1 : 2 : 1 に適合した (Table 12)。分離のみられた 3 遺伝子間のうち、*Acp-1* — *Pox-2* 間では  $23.9 \pm 3.6\%$ 、*Acp-1* — *d-33* 間では  $29.2 \pm 3.9\%$ 、*Pox-2* — *d-33* 間では  $7.6 \pm 2.1\%$  の組換価がそれぞれ算出された (Table 13)。

FL58とAcc435との  $F_2$  集団では *Acp-1* の分離比は期待比の 1 : 2 : 1 に適合しなかったが、*Pox-2* 及び *spl-1* の分離比は期待比とよく適合した (Table 12)。これら 3 遺伝子間のうち、*Acp-1* — *Pox-2* 間では  $22.1 \pm 4.6\%$ 、*Acp-1* — *spl-1* 間では  $42.3 \pm 6.0\%$  及び *Pox-2* — *spl-1* 間では  $21.8 \pm 9.4\%$  の組換価がそれぞれ算出された (Table 13)。

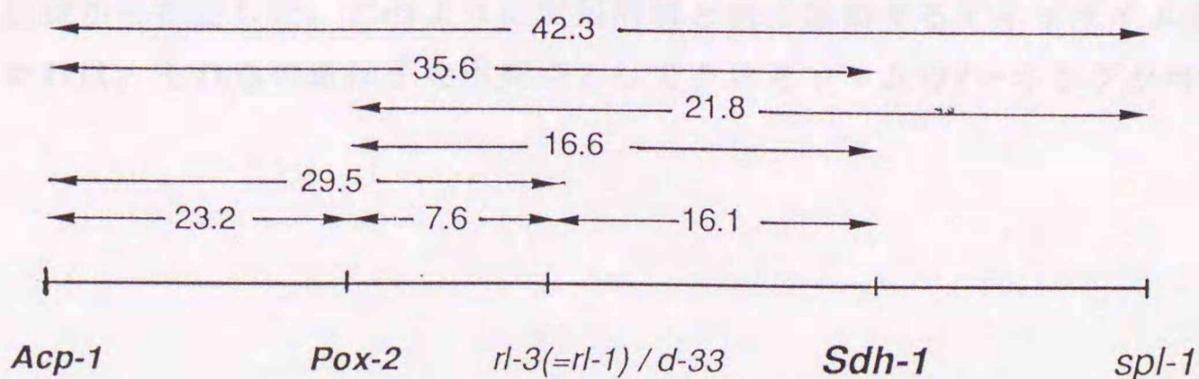
KL403 × Acc419 の  $F_2$  集団では、*Acp-1*、*Sdh-1* 及び *rl-3* の各遺伝子の分離比はいずれも期待比に適合した (Table 12)。これら 3 遺伝子間のうち、*Acp-1* — *rl-3* 間では  $30.1 \pm 5.8\%$ 、*Acp-1* — *Sdh-1* 間では  $35.6 \pm 4.9\%$ 、*Sdh-1* — *rl-3* 間では  $16.1 \pm 4.3\%$  の組換価がそれぞれ得られた。したがって、*rl-3* は *Acp-1* と *Sdh-1* の間に位置していることが明らかとなった。

さらに *d-33* と *rl-3* の関係を調査するために *d-33* を持つ FL27 に *rl-3* を持つ KL403 を交配した。 $F_1$  個体は FL27 よりも草丈が高く、KL403 と同程度の草丈を示し成葉は捲葉となった。 $F_2$  集団では KL403 型と FL27 型が分離したが、葉に関して正常型の個体は全くみられず、KL403 型 : FL27 型 = 169 : 54 で単遺伝子による期待比の 3 : 1 によく適合した (Table 12)。

$F_1$  個体で捲葉が認められたことから、これら 2 種の劣性遺伝子は同一座の対立遺伝子と推測される。なお完全連鎖の可能性も否定できないので今後、葉の形態を支配する遺伝子と節間伸長を支配するこれらの遺伝子の関係について詳しい検討を要する。

*Sdh-1* と *spl-1* の位置関係を明らかにするため、IR36 × 鹿児島在来の  $F_2$  集団で *Sdh-1* と *Pox-2* 間の組換価を算出して、既知の *spl-1* と *Pox-2* 間の組換価と比較した。*spl-1* — *Pox-2* 間及び *Sdh-1* — *Pox-2* 間ではそれぞれ  $21.8 \pm 4.8\%$ 、 $16.6 \pm 3.8\%$  の組換価が得られた。したがって、*spl-1* が *Sdh-1* より外側に位置すると推測される。また、*Acp-1* — *spl-1* 間及び *Acp-1* — *Sdh-1* 間ではそれぞれ  $42.3 \pm 6.0\%$  及び  $35.6 \pm 4.9\%$  の組換価が得られ、やはり *spl-1* が *Sdh-1* よりも外側に位置することを示すデータが得られた。重複するデータに関して加重平均して組換価を求め、以下に示した。

### Chromosome 12



*spl-1*と*Sdh-1*の連鎖関係については、比較に用いた組換え価が異なるF<sub>2</sub>集団から算出されていること、それぞれの標準誤差が大きいことなどから今後、再検討を要する。

本実験では以上の如く、*Est-5*の連鎖地図上の位置を推定すると共に、新たに8遺伝子の連鎖地図上の座位を明らかにした。さらに、各アイソザイム遺伝子の近傍に存在する遺伝子をKINOSHITA(1987)の地図から探索したところ、第6連鎖群のマーカの位置関係からKINOSHITA(1987)及びOOSUMI *et al.* (1989)の指摘した通りに感光性の*Se-1*の近傍に*Pgi-2*が存在すると推定される。また*Adh-1*の座位がいもち病抵抗性遺伝子*Pi-a*の近傍にあることがKINOSHITA(1987)のまとめた連鎖地図上における*la*, *v-4*及び*Pi-a*の座位から推定された。

## 考 察

日本型品種間ではアイソザイムの多型が稀にしかみられないため、複数の遺伝子座の多型を得るためにインド型と日本型の品種を交配する必要があった。しかし、このような遠縁品種間交雑ではF<sub>2</sub>で標識遺伝子の異常分離を生じる。第1, 4, 6, 7連鎖群では、*ga*遺伝子の影響により異常分離を頻繁に生じる報告例がある(SATO *et al.* 1987)。本実験では、第12群のアイソザイム遺伝子についても異常分離が観察されたため、第4章第2節で明らかにしたようにインドの在来品種と日本型の標識遺伝子系統の交雑を用いて、第12連鎖群の標識遺伝子における異常分離を回避することを試みた。これらの交雑組み合わせでは*Acp-1*の分離比に異常が認められたが、その他の遺伝子の分離比は期待比に適合したため連鎖分析を行うことができた。

アイソザイム遺伝子では所属連鎖群の判明しているのは20酵素種49遺伝子に及ぶ(MORISHIMA and GLASZMANN 1990)。しかし、従来の連鎖地図上に位置づけられた遺伝子は少ない。本実験により初めて第3, 第11, 第12連鎖群に7種のアイソザイム遺伝子の座が決定できた。これらを利用して実用形質についての連鎖分析が行われれば、アイソザイム遺伝子が実際の選抜や遺伝子タッキングに役立つと考えられる。

本実験では、新たに*Adh-1*といもち病抵抗性遺伝子*Pi-a*との連鎖関係を連鎖地図上の位置から推定した。このように実用形質と密に連鎖するアイソザイム遺伝子がわかれば、それらの遺伝子を出発点としてクロモソームウォーキングが可能とな

る(AARTS *et al.* 1991)。さらに, EST, PGD, PGIなど同一アイソザイムでありながら異なる染色体に散在している場合もあった。 $\alpha$ -amylaseやADHなど(RANJHAN *et al.* 1991)と共にこれらの重複遺伝子の存在や連鎖地図上の位置が明らかになったことは, 系統分化上にも意義があると考えられる。

今後, 連鎖地図上に位置づけられたアイソザイム遺伝子が標識遺伝子として実際の育種へ活用されることが期待される。

Table 1. Genotypes and phenotypes of various strains.

Strain	Genotype	Phenotype
1001	1001	1001
1002	1002	1002
1003	1003	1003
1004	1004	1004
1005	1005	1005
1006	1006	1006
1007	1007	1007
1008	1008	1008
1009	1009	1009
1010	1010	1010
1011	1011	1011
1012	1012	1012
1013	1013	1013
1014	1014	1014
1015	1015	1015

Table 1. Genotypes and phenotypes of various strains. (From the Rice Breeding Institute, Sakai University, the Rice Breeding Institute, Kyoto University, and the National Institute of Genetics, Shizuoka Institute of Technology, etc.)

Table 10. Morphological and physiological markers involved in nine strains

Strain	Marker gene	Source <sup>1)</sup>
FL27	<i>d-33</i>	KY
FL58	<i>chl-1, spl-1</i>	KY
FL280	<i>la, v-4</i>	KY
FL330	<i>chl-1</i>	KY
H-482	<i>lax</i>	HK
KL403	<i>r/-3(=r/-1)</i> <sup>2)</sup>	KY
KL514	<i>v-1(t)</i>	KY
F <sub>4</sub> -1	<i>Est-5<sup>1</sup>, Pgd-2<sup>3</sup></i>	NIG
F <sub>5</sub> -1	<i>Est-5<sup>1</sup>, Pgd-2<sup>3</sup></i>	NIG

<sup>1)</sup> HK, KY and NIG indicate the strains obtained from the Plant Breeding Institute, Hokkaido University, the Plant Breeding laboratory, Kyushu University, and the Agricultural Genetics Laboratory, National Institute of Genetics, respectively.

<sup>2)</sup> *r/-3* is equivalent to *r/-1* which was formerly named by IWATA and OMURA (1975).

Table 11. Twelve varieties used as parents

Parental varieties	Classification of Indica-Japonica	Origin
IR36	Indica	Philippines
Kagoshima-zairai	Indica	Japan
Acc001	Indica	Vietnam
Acc224	Japonica	Philippines
Acc259	Japonica	Philippines
Acc419	Indica	India
Acc435	Indica	India
Acc437	Indica	India
Acc563	Japonica	Japan
Acc647	Japonica	Indonesia
Acc721	Indica	China
Acc853	Indica	Taiwan

Table 12. F<sub>2</sub> segregations

Linkage group 1									
Cross combination	<i>Est-5</i>			$\chi^2$ for 1:2:1 ( $\rho$ )	lax panicle		$\chi^2$ for 1:3 ( $\rho$ )		
	A1A1	A1A2	A2A2		<i>lax</i>	Normal			
H-482 × Acc721	29	27	13	10.68	<0.01	14	55	0.82	(0.3-0.5)
H-482 × F <sub>5</sub> -1	18	23	15	2.11	(0.3-0.5)	12	44	0.38	(0.5-0.7)

Linkage group 3										
Cross combination	<i>Gdh-1</i>			$\chi^2$ for 1:2:1 ( $\rho$ )	<i>Pgi-1</i>			$\chi^2$ for 1:2:1 ( $\rho$ )		
	A1A1	A1A2	A2A2		A1A1	A1A2	A2A2			
Acc001 × Acc259	39	91	39	1.00	(0.5-0.7)	40	86	43	0.16	(0.9< )
FL58 × Acc259	11	33	16	1.43	(0.3-0.5)					
FL330 × IR36						67	108	72	4.09	(0.1-0.2)
KL514 × IR36						41	70	56	7.06	(0.02-0.05)

Linkage group 3									
Cross combination	chlorina		$\chi^2$ for 1:3 ( $\rho$ )	virescent		$\chi^2$ for 1:3 ( $\rho$ )			
	<i>chl-1</i>	Normal		<i>v-1(t)</i>	Normal				
FL58 × Acc259	13	47	0.36	(0.5-0.7)					
FL330 × IR36	68	179	0.84	(0.3-0.5)					
KL514 × IR36					34	133	1.92	(0.1-0.2)	

Linkage group 6											
Cross combination	<i>Amp-3</i>			$\chi^2$ for 1:2:1 ( $\rho$ )	<i>Est-2</i>			$\chi^2$ for 1:2:1 ( $\rho$ )	<i>Est-2</i>		$\chi^2$ for 1:3 ( $\rho$ )
	A1A1	A1A2	A2A2		A1A1	A1A2	A2A2		A1A1	A1A2+A1A2	
F <sub>4</sub> -1 × IR36					15	37	25	2.71	(0.2-0.3)		
Acc563 × Acc853	21	52	20	1.32	(0.5-0.7)			24	69	0.03	(0.8-0.9)

Table 12. (continued)

Linkage group 6									
Cross combination	<i>Pgd-2</i>			$\chi^2$ for 1:2:1 ( $\rho$ )	<i>Pgi-2</i>			$\chi^2$ for 1:2:1 ( $\rho$ )	
	A1A1	A1A2	A2A2		A1A1	A1A2	A2A2		
F <sub>4</sub> -1 × IR36	18	34	25	2.32(0.3-0.5)	13	41	23	2.92(0.2-0.3)	
Acc563 × Acc853					18	54	21	2.61(0.2-0.3)	

Linkage group 11									
Cross combination	<i>Adh-1</i>			$\chi^2$ for 1:2:1 ( $\rho$ )	<i>Pgd-1</i>			$\chi^2$ for 1:2:1 ( $\rho$ )	
	A1A1	A1A2	A2A2		A1A1	A1A2	A2A2		
Acc224 × Acc647	31	40	21	3.74(0.1-0.2)	31	39	22	3.89(0.1-0.2)	
FL280 × IR36					15	28	15	0.69(0.7-0.8)	
FL280 × Acc437	18	44	30	3.30(0.1-0.2)					

Linkage group 11									
Cross combination	lazy growth habit			$\chi^2$ for 1 : 3 ( $\rho$ )	virescent			$\chi^2$ for 1 : 3 ( $\rho$ )	
	<i>la</i>	Normal			<i>v-4</i>	Normal			
FL280 × IR36	15	43		0.02(0.8-0.9)	14	44		0.02(0.8-0.9)	
FL280 × Acc437					26	66		0.52(0.3-0.5)	

Linkage group 12									
Cross combination	<i>Acp-1</i>			$\chi^2$ for 1:2:1 ( $\rho$ )	<i>Pox-2</i>			$\chi^2$ for 1 : 3 ( $\rho$ )	
	A1A1	A1A2	A2A2		A1A1	A1A2+AA2			
FL27 × Acc435	40	90	49	0.91(0.5-0.7)	36	143		2.28(0.1-0.2)	
FL58 × Acc435	17	47	36	7.58(0.02-0.05)	18	82		2.61(0.1-0.2)	
KL403 × Acc419	23	45	16	1.60(0.3-0.5)					
IR36 × Kagoshima-zairai					32	83		0.49(0.3-0.5)	

Table 12. (continued)

Linkage group 12

Cross combination	<i>Sdh-1</i>			$\chi^2$ for 1:2:1 ( <i>p</i> )	dwarfness		$\chi^2$ for 1:3 ( <i>p</i> )
	A1A1	A1A2	A2A2		<i>d-33</i>	Normal	
FL27 × Acc435					34	145	3.44(0.05-0.1)
KL403 × Acc419	22	42	20	0.10(0.9< )			
IR36 × Kagoshima-zairai	34	49	32	2.58(0.2-0.3)			

Linkage group 12

Cross combination	rolled leaf		$\chi^2$ for 1:3 ( <i>p</i> )	spotted leaf		$\chi^2$ for 1:3 ( <i>p</i> )
	<i>r/-3</i>	Normal		<i>sp/-1</i>	Normal	
FL58 × Acc435				24	76	0.05(0.8-0.9)
KL403 × Acc419	21	63	0.00(0.9< )			

Note: A1 and A2 indicate two kinds of alleles derived from female and male parents, respectively.

Table 13. Linkage relations detected between isozyme and other loci

Linkage group 1												
Cross combination	Gene combination (A:B)	R. C. V. (%)	F <sub>2</sub> segregation							χ <sup>2</sup> for		
			A-BB	A-Bb	A-bb	aaBB	aaBb	aabb <sup>1)</sup>	R. C. V. <sup>2)</sup>	(p)		
H-482 × Acc721	<i>fax:Est-5</i>	30.0 ± 6.4	12	26	17	1	1	12	15.64 ( <0.01)			
H-482 × F <sub>5</sub> -1	<i>fax:Est-5</i>	15.1 ± 5.1	15	22	7	0	1	11	5.08 (0.3-0.5)			

Linkage group 3													
Cross combination	Gene combination (A:B)	R. C. V. (%)	F <sub>2</sub> segregation									χ <sup>2</sup> for	
			AABB	AABb	AAbb	AaBB	AaBb	Aabb	aaBB	aaBb	aabb	R. C. V.	(p)
Acc001 × Acc259	<i>Gdh-1:Pgi-1</i>	8.4 ± 1.6	33	7	0	5	76	5	1	8	34	3.54 (0.8-0.9)	
			(A-BB A-Bb A-bb aaBB aaBb aabb)										
FL58 × Acc259	<i>chl-1:Gdh-1</i>	3.6 ± 2.4	16	31	0	0	2	11	2.80 (0.7-0.8)				
FL330 × IR36	<i>chl-1:Pgi-1</i>	27.2 ± 3.2	64	87	28	8	21	39	6.58 (0.2-0.3)				
KL514 × IR36	<i>v-1(t):Pgi-1</i>	34.4 ± 4.4	51	56	26	5	14	15	8.57 (0.1-0.2)				

Linkage group 6													
Cross combination	Gene combination (A:B)	R. C. V. (%)	F <sub>2</sub> segregation									χ <sup>2</sup> for	
			AABB	AABb	AAbb	AaBB	AaBb	Aabb	aaBB	aaBb	aabb	R. C. V.	(p)
F <sub>4</sub> -1 × IR36	<i>Pgd-2:Pgi-2</i>	29.6 ± 4.6	6	9	3	6	22	6	1	10	14	6.79 (0.5-0.7)	
	<i>Pgd-2:Est-2</i>	24.2 ± 4.1	7	9	2	6	23	5	2	5	18	10.54 (0.2-0.3)	
	<i>Est-2:Pgi-2</i>	9.6 ± 2.6	11	4	0	2	32	3	0	5	20	4.46 (0.8-0.9)	
Acc563 × Acc853	<i>Amp-3:Pgi-2</i>	20.8 ± 3.4	13	7	0	8	36	8	0	11	10	5.91 (0.5-0.7)	
			(A-BB A-Bb A-bb aaBB aaBb aabb)										
	<i>Est-2:Amp-3</i>	7.5 ± 2.8	20	47	2	0	5	19	2.44 (0.7-0.8)				
	<i>Est-2:Pgi-2</i>	23.1 ± 4.9	21	41	7	0	13	11	5.41 (0.3-0.5)				

Table 13 (continued)

Linkage group 11													
Cross combination	Gene combination (A:B)	R. C. V. (%)	F <sub>2</sub> segregation									χ <sup>2</sup> for	
			AABB	AABb	AAbb	AaBB	AaBb	Aabb	aaBB	aaBb	aabb	R. C. V.	(p)
Acc224 × Acc647	<i>Adh-1: Pgd-1</i>	19.4 ± 3.3	21	9	1	9	25	5	1	6	15	5.66	(0.5-0.7)
			(A-BB A-Bb A-bb aaBB aaBb aabb)										
FL280 × IR36	<i>la: Pgd-1</i>	14.2 ± 4.9	13	27	3	2	1	12				12.33	(0.02-0.05)
	<i>v-4: Pgd-1</i>	5.4 ± 3.0	15	27	2	0	1	13				0.38	(0.9 < )
FL280 × Acc437	<i>v-4: Adh-1</i>	26.8 ± 5.3	27	33	6	3	11	12				5.51	(0.3-0.5)
			(A-B- A-bb aaB- aabb)										
FL280 × IR36	<i>la: v-4</i>	9.0 ± 4.0	41	2	3	12						0.20	(0.9 < )

Linkage group 12													
Cross combination	Gene combination (A:B)	R. C. V. (%)	F <sub>2</sub> segregation									χ <sup>2</sup> for	
			AABB	AABb	AAbb	AaBB	AaBb	Aabb	aaBB	aaBb	aabb	R. C. V.	(p)
KL403 × Acc419	<i>Sdh-1: Acp-1</i>	35.6 ± 4.9	6	10	4	11	23	8	1	10	11	3.66	(0.8-0.9)
			(A-BB A-Bb A-bb aaBB aaBb aabb)										
FL27 × Acc435	<i>Pox-2: Acp-1</i>	23.9 ± 3.6	46	78	19	3	12	21				2.79	(0.7-0.8)
	<i>d-33: Acp-1</i>	29.2 ± 3.9	47	74	24	2	16	16				4.19	(0.5-0.7)
FL58 × Acc435	<i>Pox-2: Acp-1</i>	22.1 ± 4.6	34	41	7	2	6	10				8.26	(0.1-0.2)
	<i>sp1-1: Acp-1</i>	42.3 ± 6.0	28	38	10	8	9	7				9.23	(0.1-0.2)
KL403 × Acc419	<i>r1-3: Acp-1</i>	30.1 ± 5.8	16	34	13	0	11	10				3.44	(0.5-0.7)
	<i>r1-3: Sdh-1</i>	16.1 ± 4.3	20	37	6	2	3	16				5.28	(0.3-0.5)
IR36 × Kagoshima-zairai	<i>Pox-2: Sdh-1</i>	16.6 ± 3.8	29	45	9	3	4	25				9.84	(0.05-0.1)
			(A-B- A-bb aaB- aabb)										
FL27 × Acc435	<i>d-33: Pox-2</i>	7.6 ± 2.1	138	7	5	29						3.44	(0.3-0.5)
FL58 × Acc435	<i>Pox-2: sp1-1</i>	21.8 ± 4.8	70	12	6	12						3.01	(0.3-0.5)

<sup>1)</sup> A and a show two kinds of alleles at the A locus. B and b show two kinds of alleles at the B locus.

<sup>2)</sup> R. C. V. indicates recombination value in percent.

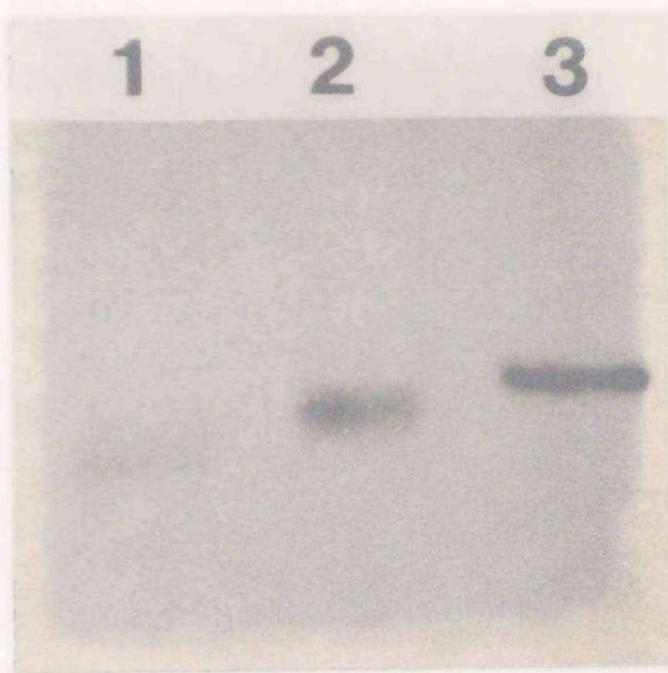


Fig. 9. Banding patterns of *Gdh-1*. Lanes 1 and 3 show banding patterns in parental varieties, Acc001 and Acc259, respectively. Lane 2 shows that in an  $F_1$  plant of Acc001  $\times$  Acc259.

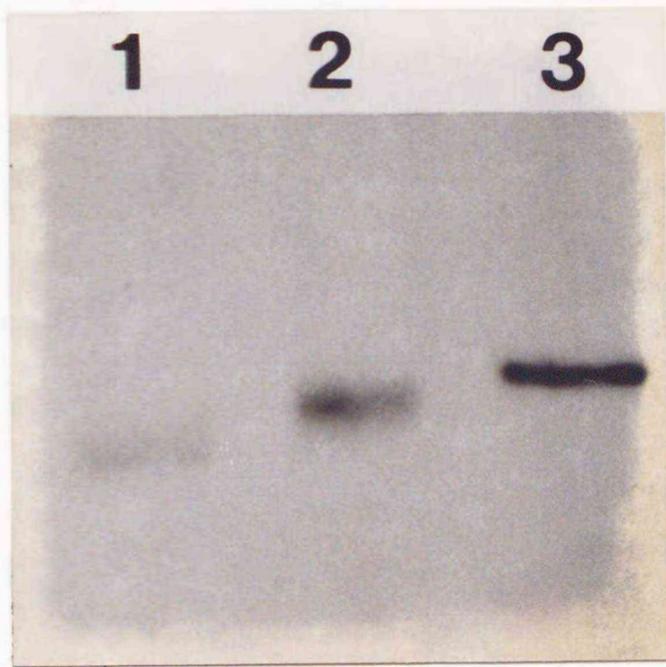


Fig. 9. Banding patterns of *Gdh-1*. Lanes 1 and 3 show banding patterns in parental varieties, Acc001 and Acc259, respectively. Lane 2 shows that in an  $F_1$  plant of Acc001  $\times$  Acc259.

### 第3章 アイソザイム遺伝子の多型 に基づく品種群の分類

#### 第1節 アジアの在来品種における 品種群別へのアイソザイム 遺伝子の利用

アジアのイネ品種の分類は雑種不稔性や血清学的方法（加藤・丸山 1928, 加藤ら 1928）により、インド型及び日本型に2大別された。その後、岡(1953a)は複数の形態・生理的形質を用いた判別関数によって大陸型（インド型）と島型（日本型）を分類し、さらに日本型品種を熱帯日本型と温帯日本型へ細分した。松尾(1952)は籾型を含む複数の形質から3群に分けたが、加藤ら(1928)及び岡(1953a)によるインド型・日本型の分類とは必ずしも一致しておらず、これらの分類の相違はイネの遺伝変異の複雑な様相を反映したものと考えられる（佐藤 1991）。

CHU (1967), PAI *et al.* (1973, 1975), SHAHI *et al.* (1969)は、インド型及び日本型品種のそれぞれにパーオキシダーゼや酸性フォスファターゼの異なる対立遺伝子が対応すること、MORISHIMA and OKA(1981)は12種のアイソザイム遺伝子がインド型と日本型の各品種群を識別する標識になることを示した。また、GLASZMANN (1987)も複数のアイソザイム遺伝子が両品種群の識別に役立つことを報告している。このように複数のアイソザイム遺伝子と系統分化の関連が示唆されるが、アイソザイムの作用は淘汰に中立的であることから、系統分化にはアイソザイムの有する生理的機能ではなく、同遺伝子座と連鎖する別の要因が直接的な役割を果たして来たと推測される。

本実験ではインド型・日本型品種群に特異的なアイソザイム遺伝子を探索し、それらを用いてイネの分類法の確立を試みた。

#### 材料及び方法

インド型・日本型品種群に特有なアイソザイム遺伝子を明らかにするために、岡(1953a)が複数の形態・生理的形質に基づいて分類したアジア各地の在来品種から、インド型を30品種、熱帯日本型を21品種及び温帯日本型を9品種を任意に選んだ(Table 14)。日本の在来品種は2品種しか含まれていなかったため、日本の在来品種の多型については次節で詳細に調査した。種子は30℃に保った恒

温器内で催芽させた。Table 3に示したアイソザイム遺伝子のうち *Adh-2*を除く 18 遺伝子について、催芽後 4-5 日目の幼芽を用いて調査した。アイソザイムの電気泳動法並びに染色法は第 1 章と同じ方法を用いた。遺伝子座内の分化の程度を表すためには、遺伝子多様度 (Gene diversity;  $h$ ) を次の式

$$h_j = 1 - \sum x_{ij}^2$$

により算出した (NEI 1975)。 $h_j$  は  $j$  座の遺伝子多様度、 $\sum x_{ij}^2$  は  $j$  遺伝子座に存在する  $i$  対立遺伝子の頻度の自乗を合計したものである。

インド型・日本型の判別には各アイソザイムの遺伝子頻度から次の式で判別値 ( $D$  値) を算出して用いた。

$$D_i = F_{iI} / (F_{iI} + F_{iJ})$$

$F_{iI}$  及び  $F_{iJ}$  はそれぞれ複数形質の組合せ様式から判別したインド型品種群 (I) 及び日本型品種群 (J) における  $i$  対立遺伝子の出現頻度である (森島 1988)。これら  $D$  値の平均値である  $\bar{D}$  値により、各品種をインド型と日本型へ群別した。

## 結 果

アジアの 60 品種においてはアイソザイム遺伝子の 18 座でそれぞれ 1-4 種の対立遺伝子の存在が認められた。*Acp-1*, *Amp-2*, *Cat-1*, *Est-2*, *Mal-1*, *Pgd-1*, *Pgi-1*, *Pgi-2*, *Pgi-3*, *Pox-2*, *Sdh-1* の 11 座のうち *Est-2*, *Pgd-1* 及び *Sdh-1* では 3 種の対立遺伝子、他の座では 2 種の対立遺伝子がみられた。これらの 11 座では遺伝子多様度が 0.283-0.601 と多型で、両品種群間の遺伝子頻度は有意に異なっていた (Table 15)。残りの 4 座のうち *Adh-1* では 4 種の対立遺伝子、*Amp-1*, *Amp-3*, *Est-9* では 3 種の対立遺伝子がみ出された。これらの 4 座では遺伝子多様度が 0.184-0.438 であり、両品種群の遺伝子頻度には有意差が認められなかった。さらに Acc624 は出現の稀な *Adh-1* の null 遺伝子を有していた。その他の 3 座では両品種群で大部分の品種が同じ対立遺伝子を有していたが、Acc721 及び Acc259 の 2 座ではそれぞれ出現頻度の稀な *Est-5*<sup>2</sup> と *Gdh-1*<sup>2</sup> が存在し、これらの遺伝子多様度は 0.033 と低かった。さらに、*Pgd-1* では Acc347 及び Acc624 のみが *Pgd-2*<sup>2</sup> を有しており、この座の遺伝子多様度も 0.064 と低かった。

熱帯日本型 (Tr) と温帯日本型 (Tm) の品種群間の遺伝子頻度を比較したところ、

*Amp-3*及び*Pgd-1*の遺伝子頻度が有意に異なっていた(Table 16)。これは熱帯日本型のうち43%の品種が*Amp-3<sup>2</sup>*を、38%の品種が*Pgd-1<sup>2</sup>*を有していたためと考えられる。*Adh-1*及び*Est-2*の2座においても熱帯日本型のうち5%が*Adh-1<sup>2</sup>*、24%の品種が*Est-2<sup>1</sup>*とそれぞれ温帯日本型にみられない特異な対立遺伝子を有していた。また、熱帯及び温帯日本型の70%以上の品種が共通する遺伝子として*Adh-1<sup>1</sup>*及び*Est-2<sup>0</sup>*を有していたため、この2座では両日本型品種群間の遺伝子頻度に統計的な有意性が認められなかった。

熱帯及び温帯日本型品種群間では異なる出現頻度を示す遺伝子座は少なく、両品種に共通して高頻度で出現する対立遺伝子が存在していたため、両日本型品種を分類する判別値の算出を行わなかった。一方、インド型・日本型品種群間で対立遺伝子の出現頻度が有意に異なっていた11座について判別値(D値)を算出した(Table 17)。*Acp-1*、*Amp-2*、*Cat-1*、*Est-2*、*Pgi-1*、*Pgi-2*及び*Pox-2*のD値は、森島(1988)の算出した値と類似しており、インド型・日本型品種群にそれぞれ特異的な遺伝子を有する座であると判明した。さらに、本研究において新しくD値を算出した*Mal-1*と*Pgi-3*の2座では、それぞれ0と1に近いD値が得られたことから、これらは上記の7座に加えて両品種群に特異的な遺伝子を持つ座であることが明らかとなった。

*Est-2*では、*Est-2<sup>0</sup>*及び*Est-2<sup>2</sup>*についてそれぞれ0と1に近いD値が得られたが、もう1つの対立遺伝子の*Est-2<sup>1</sup>*では0.64と中間的な値が得られた。これはインド型・日本型品種群内で*Est-2<sup>1</sup>*を持つ品種が、それぞれ30%及び17%と同じ程度に低い出現頻度を示したためであり、このように中間的なD値を示す遺伝子座を用いるとインド型及び日本型の判別が困難になると考えられた。さらに、*Pgd-1<sup>1</sup>*、*Pgd-1<sup>2</sup>*及び*Sdh-1<sup>2</sup>*においても、それぞれのD値が0.39、0.47及び0.40と中間的な値が得られたが、同座の*Pgd-1<sup>3</sup>*、*Sdh-1<sup>1</sup>*及び*Sdh-1<sup>4</sup>*ではD値が1となりインド型品種に特異的な対立遺伝子と考えられた。しかし、これらの遺伝子を持つ品種の出現頻度は低く、*Pgd-1<sup>3</sup>*、*Sdh-1<sup>1</sup>*及び*Sdh-1<sup>4</sup>*の頻度は、それぞれインド型で9品種(30%)、9品種(30%)、ならびに1品種(3%)であり、これらの遺伝子はむしろ品種群の判別を低めることが予想される。

品種群判別の指標としてD値が算出されたが、1座のみのD値を用いると特定の遺伝子座において日本型品種に多くみ出される遺伝子を持っているインド型品種を日本型として判定を誤る危険性が高い。そのため簡便な判別が行える範囲内で、できる限り多くの遺伝子座のデータから品種群判別を行うことが望ましい。本実験では、D値を算出した11座と、その中から判別効率を低めると予想される遺伝子座を除いたD値のそれぞれの平均である $\bar{D}$ 値により品種群の判別の効率を比較した。ただし、森島(1988)、SANO and MORISHIMA(1992)やNAKAGAHRA(1978)

が *Est-2* を品種判別に用いているため、判別効率を低めることが予想された遺伝子座のうち、*Pgd-1* 及び *Sdh-1* のデータを除外した 9 座の  $\bar{D}$  値の算出を行った。60 品種について算出した 2 種類の  $\bar{D}$  値の頻度分布は、それぞれ不連続であった。さらに、2 つの不連続集団を構成する品種は両判別法において完全に一致した (Table 18)。それぞれの  $\bar{D}$  値の頻度分布で不連続になった 2 集団の  $\bar{D}$  値を平均して差を求めたところ、9 座の  $\bar{D}$  値により分けられた 2 集団の差 (0.667) が 11 座による 2 集団の差 (0.581) より大きかった。したがって、11 座より 9 座の  $\bar{D}$  値を用いた方がより明瞭な分類が可能であると考えられる。

次に 9 座の  $\bar{D}$  値による品種分類が形態・生理的形質による分類 (OKA 1958) とどの程度一致するかを比較した (Table 19)。Acc321 (インドネシア在来種) は形態・生理的形質からは日本型と判別されたが、*Acp-1*, *Mal-1*, *Pgi-1* 以外のアイソザイムの 6 座ではインド型に特異的な遺伝子を持つため  $\bar{D}$  値が 0.64 となり、インド型と判別された。それ以外の 59 品種では形態・生理的形質による分類とアイソザイムの  $\bar{D}$  値による分類の判定が対応しており、形態・生理的形質によって分類された日本型品種は 1 品種を除いて 0.0 - 0.4 の  $\bar{D}$  値を、インド型と分類された品種は全て 0.6 - 1.0 の  $\bar{D}$  値を示した。

以上の結果から、0.0 - 0.4 までの  $\bar{D}$  値を示す品種を日本型、0.6 - 1.0 までの  $\bar{D}$  値を示す品種をインド型と分類した。この分類ではおよそ 98% の確率で形態・生理的形質による分類 (岡 1953a) と一致した。さらに、本実験で新たにインド型・日本型の品種群判別の指標となった *Mal-1* 及び *Pgi-3* の 2 座は、今後これら両品種群の分化機構を探索するための重要な遺伝標識になると考えられる。

## 考 察

アイソザイム遺伝子の多型は栽培種内の品種群の分化の探索に利用されて来た (GLASZMANN 1987, MORISHIMA and OKA 1981)。その結果、品種群に特異的に存在する対立遺伝子が明らかにされ、それらを用いた品種群の遺伝的距離の推定が行われた (MORISHIMA and OKA 1981)。しかし、アイソザイムはそれ自体が淘汰に対して中立的であると考えられ、アイソザイム遺伝子自体が直接的に系統分化に参与したとは考えられない。一方、野生種の生態型である一年生と多年生に特異的なアイソザイム遺伝子は、出穂期などの生活史特性を支配する遺伝子と連鎖していることが明らかにされている (MORISHIMA 1991)。栽培種の多型調査からも各品種群に特異的なアイソザイム遺伝子の存在が明らかになって来た。今後、この

ようなアイソザイム遺伝子を用いて適応形質との連鎖分析が行われることにより、密な連鎖関係が明らかとなる可能性がある。本実験では栽培種の分化とアイソザイム遺伝子の多型性の分化の関連を明らかにすることを試みた。

アジアの栽培種には2つの品種群が存在している。その分類の指標としては、従来、形態及び生理的形質や生殖的隔離の機構に係わる遺伝子が用いられており（加藤・丸山 1928, 加藤ら 1928, 岡 1953a, OKA 1958）, いまでも重要な判別形質として系統分化に利用されている（GLASZMANN 1987, MORISHIMA and OKA 1981, 佐藤 1991, 佐藤ら 1990）。それらの指標により分類されるインド型は東南アジア, 日本型は中国北部及び日本にみられることが多い。これら両品種群の栽培地域が重なっているタイ北部, インドネシア及びインドシナからヒマラヤ山麓の地域では, 日本型は高地の水稻か低地の陸稻としてみ出される

（GLASZMANN 1987, SANO and MORISHIMA 1992, 佐藤 1991）。このように日本型品種はインド型品種と生態的に異なる場所に栽培されており（丁 1957, MORISHIMA *et al.* 1984, SATO *et al.* 1986）, 両品種群は環境に対する適応能力の差異を有すると考えられる。ただし, これら2つの品種間交雑の $F_1$ 個体では不稔性,  $F_2$ 後代では遺伝子の異常分離を高頻度に生じるため, インド型・日本型品種群は生態型よりも高度の分化を生じていると考えられる。

これら両品種群のアイソザイム多型調査から, それぞれがアイソザイムの9座において異なる対立遺伝子を有していることがわかり, アイソザイム遺伝子レベルでの遺伝的分化も明らかとなった。さらに, これら9座の $\bar{D}$ 値が0.0-0.4の品種は日本型に, 0.6-1.0の品種はインド型に対応した。0.4-0.6の $\bar{D}$ 値をとる品種は本実験の供試材料には存在せず, アジアの大部分の品種はアイソザイム遺伝子について2極化していた。しかし, アッサム, シッキム及びネパールなどの地域にはアイソザイム遺伝子の多型調査から, インド型と日本型の中間的な特徴を示す品種が存在する（SANO and MORISHIMA 1992）。本実験の供試材料では, インドネシアに形態・生理的形質からは日本型でありながら, アイソザイム遺伝子からはインド型と判定される品種が存在していた。このように単独の遺伝子座についてのデータだけでは品種の群別を誤る可能性があり（MORISHIMA and OKA 1981）, 両品種群の分化は単純な機構で説明できるものではない。さらに, 前節の連鎖分析の結果からは, 品種群に特異的なアイソザイム遺伝子は必ずしも互いに連鎖しているわけではなかった。すなわち, 品種群に特異的なアイソザイム遺伝子のうち, *Acp-1*及び*Pox-2*が第12連鎖群, *Amp-2*が第8連鎖群, *Cat-1*, *Est-2*及び*Pgi-2*が第6連鎖群, *Pgi-1*が第11連鎖群に, それぞれ所属していた。同じように両品種群のそれぞれに特異的な形態・生理的形質の組み合わせ（岡 1953a）についても同様の傾向がみられる。これらの遺伝子群は必ずしも連鎖して

いないため、これらの品種群別の指標となる形質は適応形質や生殖的隔離に働く複数の要因と連鎖すると推定される。

本論文では第4章において、適応形質や品種群に特異的な形質とアイソザイム遺伝子の連鎖関係を調査し、さらにインド型・日本型品種間の交雑後代で生じる異常分離をアイソザイム遺伝子を利用して調査した。

Accession	Origin	Origin
Acc101	China	China
Acc102	China	China
Acc103	China	China
Acc104	China	China
Acc105	China	China
Acc106	China	China
Acc107	China	China
Acc108	China	China
Acc109	China	China
Acc110	China	China
Acc111	China	China
Acc112	China	China
Acc113	China	China
Acc114	China	China
Acc115	China	China
Acc116	China	China
Acc117	China	China
Acc118	China	China
Acc119	China	China
Acc120	China	China
Acc121	China	China
Acc122	China	China
Acc123	China	China
Acc124	China	China
Acc125	China	China
Acc126	China	China
Acc127	China	China
Acc128	China	China
Acc129	China	China
Acc130	China	China
Acc131	China	China
Acc132	China	China
Acc133	China	China
Acc134	China	China
Acc135	China	China
Acc136	China	China
Acc137	China	China
Acc138	China	China
Acc139	China	China
Acc140	China	China
Acc141	China	China
Acc142	China	China
Acc143	China	China
Acc144	China	China
Acc145	China	China
Acc146	China	China
Acc147	China	China
Acc148	China	China
Acc149	China	China
Acc150	China	China
Acc151	China	China
Acc152	China	China
Acc153	China	China
Acc154	China	China
Acc155	China	China
Acc156	China	China
Acc157	China	China
Acc158	China	China
Acc159	China	China
Acc160	China	China
Acc161	China	China
Acc162	China	China
Acc163	China	China
Acc164	China	China
Acc165	China	China
Acc166	China	China
Acc167	China	China
Acc168	China	China
Acc169	China	China
Acc170	China	China
Acc171	China	China
Acc172	China	China
Acc173	China	China
Acc174	China	China
Acc175	China	China
Acc176	China	China
Acc177	China	China
Acc178	China	China
Acc179	China	China
Acc180	China	China
Acc181	China	China
Acc182	China	China
Acc183	China	China
Acc184	China	China
Acc185	China	China
Acc186	China	China
Acc187	China	China
Acc188	China	China
Acc189	China	China
Acc190	China	China
Acc191	China	China
Acc192	China	China
Acc193	China	China
Acc194	China	China
Acc195	China	China
Acc196	China	China
Acc197	China	China
Acc198	China	China
Acc199	China	China
Acc200	China	China

Table 14. Asian native varieties

Accession number	Name of original varieties	Origin
Indica		
Acc001	70 <sup>a</sup> som cau	Vietnam
Acc101	U-kuh-tsing-you	Taiwan
Acc108	Pei-kuh	Taiwan
Acc130	Tuan-kuang-hwa-lo	Taiwan
Acc143	Liu-tou-tu	Taiwan
Acc144	O-luen-chung	Taiwan
Acc153	U-kuh-tsing-you	Taiwan
Acc160	Hong-ka-chiu	Taiwan
Acc414	P. T. B. 10	India
Acc415	A. D. T. 4	India
Acc417	A. D. T. 14	India
Acc419	P. T. B. 7	India
Acc420	M. T. U. 9	India
Acc421	P. T. B. 8	India
Acc435	Paduhai perumal	India
Acc437	Pweabinni mymensingh	India
Acc440	Magi of bogra	India
Acc625	Seratoes hari	Indonesia
Acc706	He-nan-tsao	China
Acc710	Mao-tu-tao	China
Acc715	Chiang-si-wan	China
Acc717	Nan-shang-wan	China
Acc719	Chin-sen	China
Acc721	Hsiang-shan-sha-shan	China
Acc724	Kun-min-tsieh-huan	China
Acc729	Ming-hou-tsiu-tsao	China
Acc731	Fu-chou-ta-tsao	China
Acc761	Siao-Chung-kuh	China
Acc853	Habun	Taiwan
Acc868	Patpaku	Taiwan

Table 14 (continued)

Accession number	Tr/Tm	Name of original varieties	Origin
Japonica			
Acc201	Tm	Davao	Philippines
Acc206	Tr	Macan coranglan	Philippines
Acc220	Tr	Sinanpablo	Philippines
Acc221	Tr	Inakupa	Philippines
Acc224	Tr	Macan menita	Philippines
Acc226	Tr	Ketan koetoe	Philippines
Acc242	Tr	Malagkit- pirurutong	Philippines
Acc259	Tr	Pirurutong	Philippines
Acc272	Tr	Kasungsong	Philippines
Acc318	Tr	Boegi inda	Indonesia
Acc321	Tr	Gadi	Indonesia
Acc325	Tr	Kaninranga	Indonesia
Acc347	Tr	Naaeroek I	Indonesia
Acc446	Tr	Poung ngeun	Thailand
Acc504	Tm	Taichung 65	Taiwan
Acc521	Tm	Kisshin	Japan
Acc563	Tm	Kinoshitamochi	Japan
Acc624	Tr	Gendjah ratji	Indonesia
Acc642	Tr	Padi kasalle	Indonesia
Acc644	Tr	Padi paelae- beong	Indonesia
Acc647	Tr	Padi ase banda	Indonesia
Acc657	Tr	Padi ladang ase- poeloe komok	Indonesia
Acc703	Tm	Ta-mao-tao	China
Acc708	Tm	Ta-pei-mang	China
Acc709	Tm	Tsao-siao-pei- tao	China
Acc712	Tm	Yie-wan-tao	China
Acc718	Tr	Hsu-chou-san- pei	China
Acc757	Tr	Koddi	China
Acc848	Tm	Bohai	Taiwan
Acc871	Tr	Nabeshi	Taiwan

Note: Tr and Tm indicate Tropical and Temperate Japonica types, respectively (OKA 1953a).

Table 15. Allelic frequencies for 18 isozyme loci in Indica and Japonica varieties and gene diversities for the respective loci

Locus	Allele	No. of varieties (%)			Gene diversity
		Indica	Japonica	Total	
<i>Acp-1</i>	1	30 (100)	0 ( 0)	30 ( 50)	0.5
	2	0 ( 0)	30 (100)	30 ( 50)	
<i>Adh-1</i>	0	0 ( 0)	1 ( 3)	1 ( 2)	0.185
	1	29 ( 97)	25 ( 83)	54 ( 90)	
	2	0 ( 0)	4 ( 13)	4 ( 7)	
	3	1 ( 3)	0 ( 0)	1 ( 2)	
<i>Amp-1</i>	1	25 ( 83)	29 ( 97)	54 ( 90)	0.184
	2	4 ( 13)	0 ( 0)	4 ( 7)	
	3	1 ( 3)	1 ( 3)	2 ( 3)	
<i>Amp-2</i>	1	2 ( 7)	28 ( 93)	30 ( 50)	0.500
	2	28 ( 93)	2 ( 7)	30 ( 50)	
<i>Amp-3</i>	1	20 ( 67)	21 ( 70)	41 ( 68)	0.438
	2	9 ( 30)	9 ( 30)	18 ( 30)	
	3	1 ( 3)	0 ( 0)	1 ( 2)	
<i>Cat-1</i>	1	29 ( 97)	1 ( 3)	30 ( 50)	0.500
	2	1 ( 3)	29 ( 97)	30 ( 50)	
<i>Est-2</i>	0	9 ( 30)	24 ( 80)	33 ( 55)	0.601
	1	9 ( 30)	5 ( 17)	14 ( 23)	
	2	12 ( 40)	1 ( 3)	13 ( 22)	
<i>Est-5</i>	1	29 ( 97)	30 (100)	59 ( 98)	0.033
	2	1 ( 3)	0 ( 0)	1 ( 2)	

Table 15. (continued)

Locus	Allele	No. of varieties (%)			Gene diversity
		Indica	Japonica	Total	
<i>Est-9</i>	1	24 ( 80)	28 ( 93)	52 ( 87)	0.231
	2	6 ( 20)	2 ( 7)	8 ( 13)	
<i>Gdh-1</i>	1	30 (100)	29 ( 97)	59 ( 98)	0.033
	2	0 ( 0)	1 ( 3)	1 ( 2)	
<i>Mal-1</i>	1	0 ( 0)	25 ( 83)	25 ( 42)	0.486
	2	30 (100)	5 ( 17)	35 ( 58)	
<i>Pgd-1</i>	1	14 ( 47)	22 ( 73)	36 ( 60)	0.555
	2	7 ( 23)	8 ( 27)	15 ( 25)	
	3	9 ( 30)	0 ( 0)	9 ( 15)	
<i>Pgd-2</i>	1	30 (100)	28 ( 93)	58 ( 97)	0.064
	2	0 ( 0)	2 ( 7)	2 ( 3)	
<i>Pgi-1</i>	1	26 ( 87)	0 ( 0)	26 ( 43)	0.491
	2	4 ( 13)	30 (100)	34 ( 57)	
<i>Pgi-2</i>	1	10 ( 33)	29 ( 97)	39 ( 65)	0.455
	2	20 ( 67)	1 ( 3)	21 ( 35)	
<i>Pgi-3</i>	0	2 ( 7)	26 ( 87)	28 ( 47)	0.498
	1	28 ( 93)	4 ( 13)	32 ( 53)	
<i>Pox-2</i>	0	8 ( 27)	29 ( 97)	37 ( 62)	0.473
	1	22 ( 73)	1 ( 3)	23 ( 38)	
<i>Sdh-1</i>	1	9 ( 30)	0 ( 0)	9 ( 15)	0.283
	2	20 ( 67)	30 (100)	50 ( 83)	
	4	1 ( 3)	0 ( 0)	1 ( 2)	

Note: NEI's gene diversity (h) was used (NEI 1975).

Table 16. Allelic frequencies for 18 isozyme loci  
in Tropical (Tr) and Temperate (Tm)  
Japonica varieties

Locus	Allele	No. of varieties (%)	
		Tr Japonica	Tm Japonica
<i>Acp-1</i>	1	21 (100)	9 (100)
	2	0 ( 0)	0 ( 0)
<i>Adh-1</i>	0	1 ( 5)	0 ( 0)
	1	16 ( 76)	9 (100)
	2	4 ( 19)	0 ( 0)
<i>Amp-1</i>	1	20 ( 95)	9 (100)
	3	1 ( 5)	0 ( 0)
<i>Amp-2</i>	1	20 ( 95)	8 ( 89)
	2	1 ( 5)	1 ( 11)
<i>Amp-3</i>	1	12 ( 57)	9 (100)
	2	9 ( 43)	0 ( 0)
<i>Cat-1</i>	1	1 ( 5)	0 ( 0)
	2	20 ( 95)	9 (100)
<i>Est-2</i>	0	15 ( 71)	9 (100)
	1	5 ( 24)	0 ( 0)
	2	1 ( 5)	0 ( 0)
<i>Est-5</i>	1	0 ( 0)	0 ( 0)
	2	21 (100)	9 (100)

Table 16. (continued)

Locus	Allele	No. of varieties (%)	
		Tr Japonica	Tm Japonica
<i>Est-9</i>	1	20 ( 95)	8 ( 89)
	2	1 ( 5)	1 ( 11)
<i>Gdh-1</i>	1	1 ( 5)	0 ( 0)
	2	20 ( 95)	9 (100)
<i>Mal-1</i>	1	18 ( 86)	7 ( 78)
	2	3 ( 14)	2 ( 22)
<i>Pgd-1</i>	1	13 ( 62)	9 (100)
	2	8 ( 38)	0 ( 0)
<i>Pgd-2</i>	1	19 ( 90)	9 (100)
	2	2 ( 10)	0 ( 0)
<i>Pgi-1</i>	2	21 (100)	9 (100)
<i>Pgi-2</i>	1	20 ( 95)	9 (100)
	2	1 ( 5)	0 ( 0)
<i>Pgi-3</i>	0	18 ( 86)	8 ( 89)
	1	3 ( 14)	1 ( 11)
<i>Pox-2</i>	0	20 ( 95)	9 (100)
	1	1 ( 5)	0 ( 0)
<i>Sdh-1</i>	2	21 (100)	9 (100)

Table 17. D scores of alleles  
at 11 isozyme loci

Locus	Allele	D score
<i>Acp-1</i>	2	.00
	1	1.00
<i>Amp-2</i>	1	.07
	2	.93
<i>Cat-1</i>	1	.97
	2	.03
<i>Est-2</i>	0	.27
	1	.64
	2	.93
<i>Mal-1</i>	1	.00
	2	.86
<i>Pgd-1</i>	1	.39
	2	.47
	3	1.00
<i>Pgi-1</i>	1	1.00
	2	.12
<i>Pgi-2</i>	1	.26
	2	.95
<i>Pgi-3</i>	0	.07
	1	.88
<i>Pox-2</i>	0	.22
	1	.96
<i>Sdh-1</i>	1	1.00
	2	.40
	4	1.00

Table 18. Distribution of varieties for  $\bar{D}$  scores averaged over 9 and 11 isozyme loci, respectively

Total loci averaged	$\bar{D}$ score				
	0.0-0.2	0.2-0.4	0.4-0.6	0.6-0.8	0.8-1.0
9	21	8	0	12	19
11	17	12	0	20	11

Table 19. Distribution of varieties classified into Indica and Japonica types for  $\bar{D}$  scores averaged over nine isozyme loci

Classification	$\bar{D}$ score				
	0.0-0.2	0.2-0.4	0.4-0.6	0.6-0.8	0.8-1.0
Indica	0	0	0	11	19
Japonica	21	8	0	1	0

Note: Indica-Japonica classification with the diagnostic morphological and physiological characters (OKA 1953a).

## 第2節 日本の水稲品種における アイソザイム遺伝子の多型

イネは紀元前2-3世紀頃に日本に渡来したとされている(渡部 1987)が、正確な年代やその渡来経路には未だに定説がなく、中国江南から由来したとする説(松尾 1952)、複数起源説(渡部 1987)がある。日本のイネの起源を明らかにするためには、アジアと日本の考古学的な資料に基づく伝播経路の推定の外に化石調査や現存する栽培品種の遺伝変異を比較する必要がある。

現存する日本の水稲品種の出穂日の変異は大きい(和田 1952)が、その他の形態・生理的形質の変異はかなり均一である(松尾 1952)。本研究では日本の水稲品種におけるアイソザイム遺伝子の多型を明らかにすることを目的とした。

### 材料及び方法

日本の水稲在来品種のアイソザイム遺伝子の多型を調査するため、青森県農業試験場、国立遺伝学研究所、農林水産省生物資源研究所、北海道大学並びに弘前大学に保存中の水稲450品種を供試した(Table 20)。同名品種は異なる経路で収集された品種である。これらの品種を30℃の恒温器内で催芽させ、4-5日後の幼芽をアイソザイムの泳動用試料として、17種のアイソザイム遺伝子、すなわち *Acp-1*, *Adh-1*, *Amp-1*, *Amp-2*, *Amp-3*, *Cat-1*, *Est-2*, *Est-5*, *Est-9*, *Mal-1*, *Pgd-1*, *Pgd-2*, *Pgi-1*, *Pgi-2*, *Pgi-3*, *Pox-2*及び *Sdh-1*について遺伝子型を調査した。アイソザイムの電気泳動法ならびに染色法は第1章と同じ方法を用いた。これらの遺伝子型から算出したD値が0.0-0.4ならば日本型、0.6-1.0ならばインド型とした(第3章第1節)。また、それぞれの座内の多様性を遺伝子多様度として比較した。さらに、平均の遺伝子多様度を用いて、日本の2品種を含むアジアの60品種の遺伝的多様性と比較した。

### 結果

日本の水稲450品種における17種のアイソザイム遺伝子のうち、*Adh-1*, *Pgd-2*及び *Sdh-1*の3座では多型がみられなかった。一方、*Acp-1*, *Amp-1*, *Cat-1*, *Est-5*, *Est-9*, *Mal-1*, *Pgd-1*, *Pgi-2*, *Pgi-3*及び *Pox-2*の10座では2種の対立遺

伝子, *Amp-2*, *Amp-3*, *Est-2*及び*Pgi-1*の4座では3種の対立遺伝子がみられた (Table 21)。この中で, 最も多型的であった*Mal-1*の遺伝子多様度は0.214であり, 全体の87.8%の品種が*Mal-1<sup>1</sup>*, 残りの12.2%が*Mal-1<sup>2</sup>*を有していた。残りの13座の遺伝子多様度は, 0.004-0.097と低かった。

前節で調査したアジアの60品種と比べて, 日本のお米品種の17座の各遺伝子多様度は低かった。さらに, 日本のお米品種とアジアの在来品種集団の遺伝的多様性の平均値はそれぞれ0.032及び0.381となり, 日本品種はアイソザイム遺伝子に関してかなり均一な集団であった (Table 21)。

アイソザイム遺伝子の多型から, 日本のお米450品種は19遺伝子組み合わせから成っていることが明らかとなった (Table 22)。I型は363品種 (80.7%) が対応する最も出現頻度の高い遺伝子組み合わせであった。I型と比較して, II-XIV型の82品種はそれぞれ1座についての多型を示した。この中で最も出現頻度の高かったのはIX型の49品種 (10.8%) であり, I型とは*Mal-1*の遺伝子型で異なっていた。次に出現頻度の高かったIII型は16品種 (3.6%) であり, *Amp-2*の遺伝子型でI型と異なっていた。残りは1-4品種から成る出現頻度の稀な型であった。XII, XIII及びXIV型は2座で異なり, それぞれ1品種から成っていた。XV-XIX型は7-11座についてI型と異なっており, それぞれ1品種のみが対応する型であった。I型以外の85品種をTable 23にまとめた。XIX型の‘唐法師’ (Karahoushi)はその名称から大唐米 (嵐 1964) と推定される。

同一の遺伝子組み合わせを有する同名品種はI及びIX型に存在した (Table 24)。I型には22品種名に関する53の同名品種が, IX型には6品種名に関する13の同名品種が認められた。これらはその品種の特徴から同名となったか, 同じ品種が異なる採種地から取り寄せられ遺伝資源として保存されたと推定される。しかし, これらの品種数を考慮しても, I及びIX型の出現頻度は81.6%及び9.4%であり, I型が最も出現頻度の高い遺伝子組み合わせであり, IX型が次に高かった (Table 22)。

上記のアイソザイム遺伝子のうち, *Acp-1*, *Amp-2*, *Cat-1*, *Est-2*, *Mal-1*, *Pgi-1*, *Pgi-2*, *Pgi-3*及び*Pox-2*の9座のD値を用いて, 日本のお米品種をインド型と日本型へ群別した。I型の品種は0.12, II-XIV型の品種は0.12-0.31, XV-XIX型の品種は0.66-0.94の値を示した (Table 25及び26)。したがって, 水稲A群のI型及び水稲B群のII-XIV型の445品種を日本型, 水稲C群のXV-XIX型の5品種をインド型と判別した。

各品種の収集された地域とアイソザイム遺伝子との関係を見ると, インド型と判別された5品種のうち4品種は九州地方, 残りの1品種のJ393は沖縄在

来品種であった。本州，四国，北海道ではI型の品種以外に1-2座において多型的な遺伝子組み合わせを示す品種もみられたものの，これらの品種はすべて日本型と群別された(Table 27)。

以上の結果から，日本の在来品種を類型化すると日本型で最も典型的な遺伝子組み合わせであるI型を示す水稻A群，日本型でI型に対して多型を示すII-XIV型的水稻B群，インド型であるXV-XIX型的水稻C群に分けられた。

## 考 察

アイソザイムは幼芽で検出でき，さらに複数の遺伝子の発現を観察できるため，本実験では日本の在来品種の遺伝的多型の調査に利用した。水稻の在来品種は8割が同一の遺伝子組み合わせ(I型)を示し，遺伝子レベルでのかなりの均一性が確認された。このI型と比較して，1-2座で多型を示した品種も認められた。これらの多型を示した品種は日本型のアイソザイム多型供給親として，日本の水稻品種の遺伝解析などに用いることができよう。

さらに，日本においても，少数であったが明瞭にインド型と判別される品種が認められた。これらはいずれも*Pgd-1<sup>s</sup>*を有していることから，同一地域から日本に伝播した品種と推定される。かつて九州地方で多く栽培されていた大唐米はインド型であり，その種子色，粒形質，農業形質等のために明治以降の全国的な米増産対策から人為的に淘汰されたと考えられている(嵐 1964, 浜田 1986, 宮川 1987)。本研究で確認されたインド型5品種は大唐米由来の品種名を持つものを含んでいること，ならびに5品種全てが九州以南の地域から由来していることから，これらのインド型品種は淘汰を免れた大唐米と考えられる。

このように日本の水稻には，日本型的水稻A及びB群ならびにインド型的水稻C群が存在した。そのうち，水稻B群は日本型のアイソザイム多型供給親として有用であるが，水稻A群との遺伝的分化の程度は明らかでなかった。したがって，日本には遺伝的に分化した日本型品種群(水稻A及びB群)とインド型品種群(水稻C群)が存在していることが明らかとなった。

Table 20. List of 450 Japanese lowland varieties examined for genotypes at 17 isozyme loci.

Name of varieties	Name of varieties	Name of varieties	Name of varieties
Ahagarashimai	Akamochi	Beninishiki	Hiderishirazu
Aikame	Akamochi	Beniyashiro	Hidedachitou
Aikame	Akamochi	Benkei	Hiemochi
Aikoku	Akamochi	Bikkuri	Hieri
Aikoku	Akamochi	Bikkurimochi	Hieri
Aikoku	Akamochi	Bikkurimochi	Hierimochi
Aikoku	Akamochi	Birumamochi	Hieshirazu
Aikoku	Akamochi	Bouzu	Hieshirazu
Aikoku-suiyoutou	Akamochi	Bouzu 5	Hiezu
Airyoushaku	Akamochi	Bouzu 6	Hiyakemochi
Aka	Akamochi	Bouzu(Hokudai)	Hiyamizu
Akabouzu	Akamochi	Bungetuwaitou	Hiyamizu
Akada	Akamochi	Chaho	Hiyamizu(Choukan)
Akadaikoku	Akamochi	Chidori	Hokkai 75
Akafuku	Akamochi	Chougoeitou	Hokkai 77
Akage	Akamochi	Choueimochitou	Hokkaiakage
Akage(Hokudai)	Akamochi	Choueitou	Hokkaimochi 1
Akahibari 45	Akamochi	Choueitou	Hokkaiwase
Akaho	Akamochi	Choueitou	Hosogara
Akaho-kouyabouzu	Akamochi	Choueitou	Hosogara(Hokudai)
Akahoho	Akamochi (Himejuouro)	Choujaho	Hounenwase
Akahoho-nimaikawa	Akamochi (Majiri)	Choukai	Hourei
Akaine	Akamochi (Majiri)	Chousen	Housaku
Akaine	Akamochi (Majiri)	Chousenmochi	Ikoshiwase
Akakushimidashi	Akamochi (Majiri)	Daikoku	Ishikariwase
Akamai	Akamochi (Majiri)	Daikoku	J5
Akamai	Akamochi (Shouzumochi)	Deroko(Nioimai)	J11
Akamai	Akamoro	Derokowase	J16
Akamai	Akamuro	Fujisaka 5	J17
Akamai (Majiri)	Akanemochi	Fuji 598	J20
Akamai (Uruchi)	Akanumashiro	Fujiminori	J23
Akamaikounou 29	Akashinriki	Fukei 128	J24
Akamainakatu 1	Akaunchiku	Fukei 171	J32
Akamaiserita 2	Akawase	Fukoku	J33
Akamaishinonoe 1	Akawase	Fukuminori	J37
Akamaiyashiro 1	Akawase	Fukunishiki	J44
Akamidashiishi 1	Akawase(Majiri)	Fukushimamochi	J53
Akamochi	Akawase(Majiri)	Fukusuke	J68
Akamochi	Akawase(Majiri)	Furenbouzu	J73
Akamochi	Akawase(Majiri)	Futaba	J75
Akamochi	Akawase(Majiri)	Futaketori	J77
Akamochi	Akibare	Fuyou	J81
Akamochi	Akihikari	Ginmasari	J83
Akamochi	Akiminori	Hagareshirazu	J86
Akamochi	Akunemochi (Akamochi)	Harabouzu	J87
Akamochi	Azusa	Hashiribouzu	J91
Akamochi	Bansei-eikou	Hatukine	J93
Akamochi	Benihikari	Hatuminori	J96
Akamochi	Benimochi	Hatumurasaki	J98
Akamochi	Benimochi	Hayayuki	J103

Table 20. (continued)

Name of varieties	Name of varieties	Name of varieties	Name of varieties
J107	J385	Kurobouzu	Nipponbare
J123	J387	Kuroge	Nourin 1
J126	J393	Kurokara	Nourin 9
J129	J394	Kuromochi	Nourin 11
J132	J397	Kuromochi	Nourin 13
J139	J399	Kuromochi	Nourin 14
J147	J400	Kuromochi	Nourin 15
J154	J405	Kuromochi	Nourin 16
J159	Jakou(Ibaraki)	Kuromochi	Nourin 19
J165	Jakou(Niigata)	Kuromochi	Nourin 20
J170	Jakouine	Kuromochi	Nourin 33
J172	Jakouine	Kuromochi	Nourin 34
J177	Jakouwase	Kuroshio	Nourin 50
J185	Kagoshima-zairai	Kurouruchi	Oibe
J188	Kai	Kurumiwase	Oirase
J190	Kamenoo	Kusabue	Okumasari
J195	Kaorimai	Kyouwa	Ooage
J197	Kaorimai-sterile	Mangetumochi	Ootemochi
J199	Kaorimai(Ibaraki)	Manryou	Otomemochi
J201	Kaoriine	Mantarou	Ooitakoutou 2
J203	Kaoriine	Matudawase	Ooitakoutou 4
J204	Kaoriine	Meotobouzu(Kobore)	Ooitakoutou 5
J214	Kaorisou	Mikasabouzu	Reimei
J218	Kaoriwase	Minaguchiine	Rikutou-kairyuu 13
J222	Kaoriwase	Minehikari	Rikuu 132
J226	Karahoushi	Mitutari	Sairaiinemochi
J232	Karasumochi	Miyoshi	Sakaemochi
J235	Kazusa	Mizukuchiine	Sakatamochi
J243	Kazusakobore	Mizukuchimochi	Sapporoshiroge
J254	Kazusakobore	Mizukuchimochi	Sasaki
J259	Kazusakobore	Mizunokuromochi	Sasakimochi
J261	Kearare	Momikaredatu	Sasanishiki
J267	Kihadamochi	Moturewase	Sasashigure
J272	Kiho	Murasaki	Sekiminori
J278	Kijikouine	Mutuhomare	Senhi
J282	Kiko	Mutukaori	Shimadamochi
J287	Kinhou	Mutukomachi	Shimaine
J290	Kinoshitamochi	Muyouzetu	Shimokita
J292	Kisshin	Myoujou	Shinei
J301	Kitahikari(Honjou)	Nagoakaho	Shiokari
J309	Kitahikari(Kamikawa)	Nakate-eikou	Shirabouzu
J310	Kitaku 7	Nioiaka	Shirage
J322	Kitamurawase	Nioimai	Shiratama
J327	Kitamurawase 2	Nioimochi	Shiratama
J328	Kiyosumi	Nioimochi	Shiratamamochi
J358	Kokushokutouno 2	Nioimochi	Shiratsuyu
J359	Koshihikari	Nioisakae 5	Shirayuki
J360	Kurikaramochi	Nioiwase	Shiro
J373	Kuro	Nioiwase	Shirodoukai
J375	Kurobe 1	Nioiyoshi	Shirogane

Table 20. (continued)

Name of varieties	Name of varieties	Name of varieties	Name of varieties
Shirogihei	Tokachiwase	Wakasa	Yezomochi
Shirohige	Tomoemasari	Waseakage	Yokichiwase
Shiroine(Kemomi)	Tonewase	Wasebouzu	Yomohikari
Shiromochi	Toutuu-zairaimochi	Wasefukoku	Yomomasari
Shiromochi	Towada	Wasenishiki	Yoneshiro
Shizunai	Toyochikara	Yachikogane	Yotuhiramachi
Shoukuhi 2	Toyohikari	Yamakogane	Yukimochi
Somewake	Toyoyuki(a)	Yamasenishiki	Yuubae
Taihou	Tugarubouzu	Yamaseshirazu	Yuukara
Tanpaku	Tugaruwase	Yamateodori	Yuukyuu
Tenmazairai	Tunturumochi	Yamazakimochi	Zenkokuwase
Tokachiakage	Tutuine	Yezo	
Tokachikuroge	Wakakusa	Yezo(Hokunoushi)	

Table 21. Allelic frequencies and the gene diversities for 17 isozyme loci in 450 Japanese lowland varieties

Locus	Allele <sup>1)</sup>				Gene diversity <sup>2)</sup>	
	0	1	2	3	Japanese lowland varieties	Asian native varieties
<i>Acp-1</i>	-	0.009	0.991	-	0.018	0.5
<i>Adh-1</i>	-	1.0	-	-	0.0	0.185
<i>Amp-1</i>	-	0.991	0.009	-	0.018	0.184
<i>Amp-2</i>	-	0.949	0.047	0.004	0.097	0.500
<i>Amp-3</i>	-	0.991	0.02	0.007	0.018	0.438
<i>Cat-1</i>	-	0.013	0.987	-	0.026	0.500
<i>Est-2</i>	0.994	0.002	0.004	-	0.012	0.601
<i>Est-5</i>	-	0.998	0.002	-	0.004	0.033
<i>Est-9</i>	-	0.991	0.009	-	0.018	0.231
<i>Mal-1</i>	-	0.878	0.122	-	0.214	0.486
<i>Pgd-1</i>	-	0.989	-	0.011	0.022	0.555
<i>Pgd-2</i>	-	1.0	-	-	0.0	0.064
<i>Pgi-1</i>	0.009	0.004	0.987	-	0.026	0.491
<i>Pgi-2</i>	-	0.989	0.011	-	0.022	0.455
<i>Pgi-3</i>	0.984	0.016	-	-	0.031	0.498
<i>Pox-2</i>	0.993	0.007	-	-	0.014	0.473
<i>Sdh-1</i>	-	-	1.0	-	0.0	0.283
Av. gene diversity <sup>3)</sup>					0.032	0.381

<sup>1)</sup> Number of alleles is designated.

<sup>2)</sup> Gene diversities of Asian native varieties for 17 isozyme loci are referred to Chapter 3-1.

<sup>3)</sup> Average gene diversity (NEI 1975) among 17 isozyme loci.

Table 22. Classification of gene combinations (types) for 17 isozyme loci in 450 Japanese lowland varieties

Locus	Type													
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
<i>Acp-1</i>	2 <sup>1)</sup>	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
<i>Adh-1</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>Amp-1</i>	1	3 <sup>2)</sup>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>Amp-2</i>	1	1	2	3	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1
<i>Amp-3</i>	1	1	1	1	3	1	1	1	1	1	1	1	2	1
<i>Cat-1</i>	2	2	2	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2
<i>Est-2</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>Est-5</i>	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1
<i>Est-9</i>	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1
<i>Mal-1</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	2	1	2
<i>Pgd-1</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>Pgd-2</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>Pgi-1</i>	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	2	2	2	2
<i>Pgi-2</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>Pgi-3</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
<i>Pox-2</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Sdh-1</i>	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
No. of varieties	363	4	16	2	2	1	1	1	49	1	2	1	1	1
	(53) <sup>3)</sup>								(13)					

Table 22. (continued)

Locus	Type				
	X V	X VI	X VII	X VIII	X IX
<i>Acp-1</i>	1	2	1	1	1
<i>Adh-1</i>	1	1	1	1	1
<i>Amp-1</i>	1	1	1	1	1
<i>Amp-2</i>	2	2	2	2	2
<i>Amp-3</i>	1	1	1	3	1
<i>Cat-1</i>	1	1	1	1	1
<i>Est-2</i>	2	0	0	0	2
<i>Est-5</i>	1	1	1	1	1
<i>Est-9</i>	2	1	2	1	2
<i>Mal-1</i>	2	2	2	1	2
<i>Pgd-1</i>	3	3	3	3	3
<i>Pgd-2</i>	1	1	1	1	1
<i>Pgi-1</i>	1	1	0	1	1
<i>Pgi-2</i>	2	2	2	2	2
<i>Pgi-3</i>	0	1	1	1	1
<i>Pox-2</i>	1	0	1	0	1
<i>Sdh-1</i>	2	2	2	2	2
No. of varieties	1	1	1	1	1

<sup>1</sup>) Number of alleles is designated.

<sup>2</sup>) Shaded parts indicate different alleles from those in Type I.

<sup>3</sup>) No. of varieties exhibiting the same name.

Table 23. List of varieties belonging to Types II to XIX

Type	Name of varieties
II	Aka(Majiri), Mitutari, J172, Shiromochi
III	Aigame, Akafuku, Akayashiro, Akamochi, Beniyashiro, Hiezu, Kitahikari(Honjou), J129, J147, J222, Ootemochi, Shiro, Shirogane, Shoukuhi 2, Yachikogane, Yukyu
IV	Birumamochi, J177
V	Akamai, Meotobouzu
VI	Fukunishiki
VII	Murasaki
VIII	Akamochi
IX	Aikoku, Aikoku, Akahibari 45, Akamai, Akamai, Akamai(Majiri), Akamidashiishi 1, Akamochi, Akamochi, Akamochi, Akamochi, Akamochi, Akamochi, Akamochi, Akamochi, Akamochi(Himejyurou), Akamochi(Majiri), Akamochi(Majiri), Akawase, Akawase(Majiri), Benimochi, Bikkurimochi, Chousenmochi, J23, J24, J33, J37, J44, J53, J83, J107, J232, J259, J261, J301, J327, J399, J405, Jakouine, Kaoriine, Kaoriine, Kaorimai, Karasumochi, Kazusa, Kihadamochi, Kuromochi, Kuromochi, Kuromochi, Shiratamamochi
X	Nioimochi
X I	Akada, Choueitou
X II	Akakushimidashi
X III	Hiemochi
X IV	Nioiwase
X V	Kagoshimazairai
X VI	J278
X VII	J328
X VIII	J393
X IX	Karahoushi

Table 24. Number of varieties exhibiting the same name  
in each gene combination (type)

Name of varieties	Type									Total
	I	II	III	V	VIII	IX	X	X I	X IV	
Aikame	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Aikoku	3	0	0	0	0	2	0	0	0	5
Akage	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Akaine	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Akamai	1	0	0	1	0	2	0	0	0	4
Akamochi	23	0	1	0	1	8	0	0	0	33
Akamochi(Majiri)	3	0	0	0	0	2	0	0	0	5
Akawase	2	0	0	0	0	1	0	0	0	3
Akawase(Majiri)	4	0	0	0	0	1	0	0	0	5
Benimochi	1	0	0	0	0	1	0	0	0	2
Bikkurimochi	1	0	0	0	0	1	0	0	0	2
Choueitou	3	0	0	0	0	0	0	1	0	4
Daikoku	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Hieri	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Hieshirazu	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Hiyamizu	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Hosogara	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Jakou	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Jakouine	1	0	0	0	0	1	0	0	0	2
Kaoriine	1	0	0	0	0	2	0	0	0	3
Kaoriwase	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Kazusakobore	3	0	0	0	0	0	0	0	0	3
Kitahikari	1	0	1	0	0	0	0	0	0	2
Kuromochi	6	0	0	0	0	3	0	0	0	9
Mizukuchimochi	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Nioimochi	2	0	0	0	0	0	1	0	0	3
Nioiwase	1	0	0	0	0	0	0	0	1	2
Shiratama	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Shiromochi	1	1	0	0	0	0	0	0	0	2
Yezo	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Total	83	1	2	1	1	24	1	1	1	115

Table 25.  $\bar{D}$  scores of 19 kinds of gene combinations (types) found in 450 Japanese lowland varieties

	Type								
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
$\bar{D}$ score	0.12	0.12	0.21	0.12	0.12	0.22	0.12	0.12	0.21

	Type									
	X	XI	XII	XIII	XIV	XV	XVI	XVII	XVIII	XIX
$\bar{D}$ score	0.12	0.21	0.31	0.16	0.30	0.75	0.65	0.85	0.66	0.94

Table 26. Number of varieties classified into Japonica and Indica types by using  $\bar{D}$  scores averaged over nine isozyme loci

No. of varieties	$\bar{D}$ score				
	< — Japonica — >		Intermediate	< — Indica — >	
	0.0-0.2	0.2-0.4	0.4-0.6	0.6-0.8	0.8-1.0
	440	5	0	3	2

第3節 日本各地の稲作に於ける  
 アイソザイム遺伝的多型と  
 日本各地の稲作の地理的分布

Table 27. Geographical distributions of 450 Japanese lowland varieties belonging to 19 kinds of gene combinations (types)

District	Japonica		Indica	Total
	Type I	Types II to XIV	Types XV to XIX	
Hokkaido	102	3	0	105
Honshu	194	58	0	252
Shikoku	16	6	0	22
Kyushu	31	10	4	45
Amami-Okinawa	10	0	1	11
Unknown	10	5	0	15
Total	363	82	5	450

### 第3節 日本の陸稲品種における アイソザイム遺伝子の多型と 日本における系統群の 遺伝的分化

生態型とは同一の種に属しながら異なる環境下で変異を生じ、淘汰と適応を経て固定した遺伝子型を持つ集団と考えられ、生態種というのは1つまたはそれ以上の生態型からなり正統分類に対しては亜種レベルに分化した集団と考えられる(高橋 1990, CLAUSEN 1967, TURESSON 1922, 1925)。アジアのイネ品種は形態・生理的形質、生殖隔離の程度、もしくはアイソザイム遺伝子などによりインド型と日本型へ分けられるので、それぞれが生態種に対応する分化を生じた品種群とも考えられる(高橋 1990, 佐藤 1991)。さらに、それぞれの品種群は栽培様式から水稲及び陸稲の2群に大きく分けられる。水稲は水田の比較的安定した環境で育成され、陸稲は一般に畑作条件で栽培される。しかし、陸稲を水田で栽培することも可能であり、生産性はむしろ高くなる。水稲も陸稲と同じように畑作条件でも栽培が可能であることが多く、それぞれ幅広い適応能力を有していることが明らかである。しかし、陸稲は高度いもち病耐性をはじめ様々なストレス耐性を持つこと(岩槻 1942)から、水稲とは遺伝的分化を生じた生態型として位置づけられると推定される。

日本の水稲及び陸稲の遺伝変異に関する研究は1920年代から始まった。加藤ら(1928)は、これら水稲と陸稲にはインド型と日本型のような稔性程度の差異がなく、同一の品種群に属すると考えた。一方、角田(1953, 1954)は日本の陸稲が、形態的形質の変異により水稲からの転用品種、中国渡来の籼系統(インド型)由来の品種、ならびに陸稲型の品種の3品種群から構成されるとした。山口・木村(1958)及び山口(1963)も雑種不稔性及び形態・生理的形質などから、日本の陸稲品種に上記の3品種群を確認している。

本実験ではアイソザイム遺伝子における日本の陸稲の遺伝的構成を明らかにすることにより、日本の水稲及び陸稲の遺伝的分化の解明を試みた。さらに、水稲の日本型品種や水・陸稲のインド型品種との形態・生理的形質の組み合わせから、それぞれの品種群の分化の程度を推定した。

## 材料及び方法

農林水産省農業生物資源研究所の遺伝資源リストから陸稲と記載されている在来品種をランダムに66品種選び出し、実験に供試した(Table 28)。形態・生理的形質を水稻及び陸稲間で比較するため、日本型品種を水稻A及びB群からランダムに選んだ100品種、ならびに水稻C群のインド型の5品種を用いた。陸稲品種のアイソザイム遺伝子の多型は、前節と同じく17座について調査した。各遺伝子座の多様性の指標には遺伝子多様度を用い、陸稲品種の集団としての多様性は17座の遺伝子多様度を平均してアジアの在来品種及び日本の水稻品種と比較した。またインド型と日本型の判定にはD値を用いた(第3章第1節及び第2節)。形態・生理的形質に関しては、種子色、糊のフェノール反応、稃毛長及び種子の長幅比(糊型)を調査した。フェノール反応は糊を1.5%のフェノール液に3時間浸して、3日間乾燥した後に糊色が黒く変色すれば+、変化が認められなければ-とした。稃毛長は万能投影機(NIKON6C)で10倍に拡大して測定し、糊先端の10本の平均値を品種の稃毛長とした。糊形の指標としては、10個の稔実糊の長さ(L)及び幅(W)を計測し、その比率(L/W)を用いた。

## 結 果

### 1) 陸稲のアイソザイム遺伝子型変異

陸稲品種の*Adh-1*, *Amp-1*, *Est-5*, *Pgd-2*, *Pox-2*及び*Sdh-1*の6座は1種の対立遺伝子しかみられず単型であった(Table 29)。複数種の対立遺伝子が認められた遺伝子座のうち、*Acp-1*, *Amp-2*, *Amp-3*, *Est-2*, *Est-9*, *Pgi-1*, *Pgi-2*及び*Pgi-3*では遺伝子多様度が0.03-0.182と低かったが、*Cat-1*, *Mal-1*及び*Pgd-1*ではそれぞれ0.322, 0.410及び0.326と比較的高い値を示した。

陸稲品種の遺伝子多様度を水稻品種の場合と比較したところ、*Adh-1*, *Amp-2*, *Est-5*, *Pgd-2*, *Pox-2*及び*Sdh-1*以外は多様性に富んでいた(Table 29)。次に17座の遺伝子多様度の平均値を陸稲集団の遺伝子多様度として、日本の水稻品種及びアジアの在来品種と比較したところ、それぞれ0.102, 0.032及び0.381となった。したがって、アイソザイム遺伝子については水稻品種よりも陸稲品種の方が多型的で、さらにアジアの在来品種がより多様であった。

陸稲品種66のアイソザイム遺伝子の組み合わせは11種類に分けられた(Table 30)。I型は水稻A群の遺伝子組み合わせと同じであり(本章第2節), 11品種(16.7%)がこの型へ属していた。I型には水稻A群の品種と同名

(赤毛)の品種も認められた。II型はI型と異なる対立遺伝子の*Pgd-1*<sup>2</sup>で特徴づけられた。このII型品種は最も出現頻度が高く、22品種(33.3%)であった。III及びIV型はそれぞれ*Mal-1*と*Pgd-1*, ならびに*Cat-1*と*Pgd-1*の各座でI型と異なり、それぞれの型に14及び10品種が所属した。III型にはいもち病抵抗性を有し、日清戦争時に中国から持ち込まれた戦捷が含まれていた。またV型は*Cat-1*, *Mal-1*及び*Pgd-1*, VI型は*Cat-1*, *Est-9*及び*Pgd-1*, VII型は*Amp-3*, *Est-2*及び*Pgd-1*の各3座でI型と異なり、それぞれに1-2品種が属していた。VIII型は*Amp-3*, *Est-2*, *Mal-1*及び*Pgd-1*の4座でI型と異なり、2品種が属していた。IX型は*Amp-2*, *Amp-3*, *Est-2*及び*Pgd-1*の4座でI型と異なり、1品種が属していた。このようにIII-X型(III-XI型)の品種は共通して*Pgd-1*<sup>2</sup>を有し、さらに1-3座でI型と異なる遺伝子を有していた。X及びXI型のそれぞれ1品種は8座においてI型と異なる遺伝子を有していた。さらに、これらの品種はそれぞれI-X型と異なる*Pgd-1*<sup>3</sup>を有していた。各型の採種地の分布を農業生物資源研究所の資料に基づき調べたが、特定の傾向はみ出せなかった(Table 31)。鹿児島と東北に由来する”葉広”の2品種が同じ遺伝子組み合わせ(II型)を示したことから、品種の採種地が種子増殖の行われた地域を示し、品種育成の選抜が行われた本来の自生地でなかったことが推定される。

上記の66品種をインド型と日本型に分類するためD値を算出した(Table 32)。I型の11品種のD値は0.12, II-X型の53品種のD値は0.12-0.31を示し、これら64品種は日本型と判別された(Table 33)。残りのX型の品種、赤米(関東)及び東北に由来するXI型の品種、赤米のD値はそれぞれ0.89及び0.75でありインド型と判別された。陸稲においても0.4-0.6のD値をとる品種はみられなかった。このように陸稲品種では日本型が主流であった。

I-X型の陸稲品種と第3章第2節で調査した水稻品種のアイソザイム型を比較すると、水稻に存在しなかった*Pgd-1*<sup>2</sup>がII-X型にみ出された。さらにX及びXI型の品種はI-X型とは異なる複数の遺伝子を持ち、さらに*Pgd-1*<sup>3</sup>で先の2群と区別できた(Fig. 10)。*Pgd-1*座の遺伝子とD値により群別された陸稲3群の特徴は以下のとおりである。

陸稲A群(I型)：典型的な水稻品種と同じ遺伝子組合せを持つ日本型。*Pgd-1*<sup>1</sup>を有していた。

陸稲B群(II-X型)：A群以外の日本型で、*Pgd-1*<sup>2</sup>を有していた。

陸稲C群(X及びXI型)：インド型のみで構成され、*Pgd-1*<sup>3</sup>を有していた。出

現は稀である。

陸稲 A, B 及び C の 3 群にはそれぞれ, 11, 53 及び 2 品種が含まれ, 陸稲 B 群が主流を占めた。またこの群は水稲には存在しない  $Pgd-1^2$  を有していたことから, 日本の水稲品種と陸稲の主流品種は遺伝的に分化していると考えられる。

## 2) 形態・生理的形質の分化とアイソザイム遺伝子型

日本型の水稲 A 及び B 群, ならびに陸稲 A 群は  $Pgd-1^1$ , 主流品種群である陸稲 B 群は  $Pgd-1^2$ , さらにインド型の水稲 C 群及び陸稲 C 群は  $Pgd-1^3$  で特徴づけられた (Table 34)。これら日本型の水稲, 陸稲 B 群, ならびにインド型品種の遺伝的分化を明らかにするために, 各品種群間での形態・生理的形質を調査した。

インド型の 7 品種 (水稲 5 品種及び陸稲 2 品種) は, 果皮色が赤色のいわゆる赤米であった。フェノール反応は J 278 を除く 6 品種で + を示した (Table 35)。また稃毛は 0.23 - 0.55 mm と短く, 粳の長幅比は 2.62 - 3.07 と日本型の粳の長幅比の平均 2.08 より大きかった。以上の結果をまとめると, 赤米で, フェノール反応 + の品種, 短稃毛, さらに細長い粳形がインド型品種の特徴となる (Fig. 11)。

日本型の水稲 100 品種中, 1 品種が赤米でフェノール反応 - を示し, 残りの 99 品種は白米でその内 2 品種がフェノール反応 + を示した (Table 36)。稃毛長の平均は 0.79 mm で, インド型品種の稃毛長と有意に異なり ( $t = 9.07$ ,  $0.001 < p$ ), 日本型の水稲品種は長稃毛を有していた。しかし, その変異は大きく, 長いものは 1.05 mm, 短いものは 0.35 mm と日本のインド型品種と同程度の短稃毛を示す品種も認められた (Fig. 11, Table 36)。粳の長幅比も 2.57 及び 2.63 でインド型品種と同程度の比率を示すものもあったが, 長幅比の平均は 2.08 であり, インド型品種群と日本型の水稲品種群との長幅比は有意に異なり ( $t = 13.13$ ,  $0.001 < p$ ), 日本型の水稲品種群はインド型品種群に比較して粳形が丸かった。さらに, 形質の組み合わせでは日本型の水稲品種群にインド型品種のような短稃毛と細長い粳形を兼ね備えた品種は認められず, 大部分の品種は白米でフェノール反応 -, 長稃毛を持ち, インド型品種より丸い粳を有していた (Fig. 11)。

陸稲 B 群に属する 53 品種のうち 41 品種 (77%) はフェノール反応 + を示した。稃毛に関して無毛のものが 3 品種みられ, これらを除いた平均稃毛長は 0.46 mm で日本型の水稲品種群との差は有意であり ( $t = 2.60$ ,  $0.01 < p < 0.02$ ), 陸稲 B 群は明らかに短稃毛を有していた (Table 36)。インド型品

種群の稈毛長との差は有意でなく ( $t = 0.18$ ,  $0.8 < p < 0.9$ ), 同程度の長稈毛であった。糊の長幅比では, 2.6以上が5品種あり, インド型品種群における最高値と同じ3.07を示した品種も認められた (Fig. 11)。陸稲B群と日本型の水稲品種群, 及び陸稲B群とインド型品種群との  $t$  検定では, それぞれ  $t = 8.92$  ( $0.001 < p$ ) 及び  $t = 6.97$  ( $0.001 < p$ ) であり, 陸稲B群は他の2群と有意に異なる中間的な糊形を有していた。果皮色については, これら53品種の陸稲は白米でインド型品種のように赤米は認められなかった。したがって, 陸稲B群は白米で, フェノール反応+, 日本のインド型品種と同程度の短稈毛, さらに日本型の水稲品種よりやや細長い糊で, インド型品種よりは丸みを帯びる特徴を有していることが明らかとなった。

以上の結果から, 日本のインド型品種は類似した形態・生理的形質を持ち, 陸稲主流品種群である陸稲B群は日本型の水稲品種群, ならびに水・陸稲の両インド型品種群とは異なる形態・生理的形質を有していたことが明らかとなった。これらの品種群はアジアの在来品種がインド型と日本型に分化しているように各種の形質において遺伝的分化を生じ, それぞれの品種群に特異的な形質組合せを持つようになったと推定される。

## 考 察

日本の陸稲は水稲に比べてアイソザイム遺伝子型が多型的であった。さらに, 陸稲品種は  $Pgd-1$  座の対立遺伝子により, 大きく3群に分けられた。  $Pgd-1^1$  を有する陸稲A群の品種は日本型の水稲品種群のうち最も出現頻度の高いI型と同じ遺伝子組み合わせを持っていたことから, 角田(1953, 1954)のいう水稲からの転用品種であると推定された。陸稲B群の品種は出現頻度が高く, 陸稲の主流であり, 水稲品種にみられない  $Pgd-1^2$  で特徴づけられた。この群の陸稲品種は形態・生理的形質からも水稲品種とは遺伝的に分化していた。また, 出現頻度の低い  $Pgd-1^3$  を有する陸稲C群の品種はインド型と判定され, 角田(1953, 1954)のいう籼系統由来の品種群に対応する。陸稲B群でみ出された  $Pgd-1^2$ , 水稲C群及び陸稲C群でみ出された  $Pgd-1^3$  は, それぞれ熱帯日本型品種, 及び台湾や中国の品種にみ出された (本章第1節)。今後, これらの地域を含めたアジアの在来品種の遺伝資源を調査することにより, 陸稲主流品種群やインド型品種の由来を明らかにできると推測される。

水稲C群に群別されたインド型は,  $Pgd-1^3$  と共に形態・生理的形質についても陸稲C群に類似していたため, 日本のインド型は水稲で認められた唐法師を含め

て大唐米と呼ばれる系統に近縁と推測される。大唐米は痩せ地や畑作条件にも強いと報告されており (TAKAHASHI 1978, 宮川 1987), 水環境の悪い水田だけでなく常時干ばつの危険性を持つ畑作条件でも生存できるため, 水稲だけでなく陸稲としても定着したものと考えられる。水稲のインド型品種は過去に大唐米の多かった地方に由来しているが, 陸稲のインド型品種は関東及び東北から由来していた。その理由として, 明治以降の稲作の整備に伴って生産性の悪い大唐米は強い淘汰を受け, かつて比較的頻繁に栽培されていた地域にだけ残っていたと考えられる (宮川 1987)。一方, 陸稲にはそのような強い淘汰が加えられなかったため, 関東及び東北の品種中にもインド型品種があったと考えられる。日本の陸稲品種は, 水稲と比較して特異的なアイソザイム遺伝子や糊のフェノール反応遺伝子 (*Ph*)などを有する (山口・木村 1958)。丸山ら (1983)は戦捷を用いて, *Ph*といもち病抵抗性遺伝子の連鎖を明らかにした。また, GOTO (1970)及び後藤・バルチ (1983)は同じく戦捷及び戦捷系品種を用いて, いもち病抵抗性遺伝子 (*Pi-se*)が第11連鎖群の *la* (もつれ) と10-15%の組換え価を有すると報告した。また, *Pgd-1*は *la*と14%の組換え価を示す (第2章第2節)。もし, *Pgd-1*が *Pi-se*と同じ方向にあるものとするれば, 両遺伝子は近傍に位置していることになる。陸稲はその栽培環境から高度のいもち病抵抗性を有することが必要条件となる (岩槻 1942, 丸山ら 1983)。そのため, 日本では陸稲の高度のいもち病抵抗性を水稲に導入する試みが行われた。その結果として戦捷から育成されたほまれ錦や銀河などは高度のいもち病抵抗性を有しているが, 戦捷ほど抵抗性が強くなく, *Pi-se*は伝達されていないことが明らかにされた (GOTO 1978)。井上ら (1983)の戦捷系品種の調査から, 高度いもち病抵抗性遺伝子は戦捷に水稲を戻し交配して田戦捷を育成した時点で既に消失していたと推定される。アイソザイム遺伝子型の調査によっても田戦捷は戦捷に特異的であった *Pgd-1*<sup>2</sup>を失っており, 陸稲の特異的遺伝子を失っていた。これらは間接的な連鎖関係を示唆する現象であるが, これらの遺伝子の連鎖関係を明らかにするために直接的な連鎖分析が必要である。

本実験のように同一地域に栽培されるイネ品種における特定のアイソザイム遺伝子や各種の形質分化は, ベンガル地方で異なる季節に栽培される生態型のアウスとアマンの *Pgi-2*座にもみられる。これらは生態型として分化しており, その感光性遺伝子 *Se-1*が生態型の分化の主因となり, *Se-1*座と密に連鎖している *Pgi-2*座の遺伝子を伴ったと考えられる (GLASZMANN 1987)。アイソザイムは系統分化に直接に関与していないため, このように生態型に特異的なアイソザイムがあった場合にそれから適応分化に関与する遺伝子を調べるのが可能である。

Table 28. List of 66 Japanese upland varieties examined for genotypes at 17 isozyme loci

Name of varieties	Name of varieties
Abaremochi	Habiro
Aikoku	Habiro
Akage	Hachimachizairai
Akagiwase	Hatamegumi
Akaine	Hayagaisen
Akamai	Hiderishirazu
Akamai(Kantousan)	Hirayama
Akamai(Tushima)	Hinode
Akamochi	Hinowase
Akayakan	Hokkaiakage
Akimasari	Hokkaiwase
Asahimochi	Kirishima
Atutagaisen	Kouchizairaishu
Awafuki	Kuronoge
Barabara	Matuyama
Barabaramochi	Mikuninohomare
Bouzumochi	Mino
Bouzuyakan	Minomochi
Bunbukumochi	Naganowase
Chibasenshou	Nara
Dangomochi	Noshinriki
Edatarebouzu	Ohatawase
Eikaho	Oiran
Esojima	Okinawarikutou
Fujigane	Pokekaraboshi
Fujimizubansei	Sangoku
Fukokumochi	Senshou
Furuwase	Senshouho
Gaisen	Shikokumochi
Gaisenmochi	Shinriki
Goseyonkoku	Takachiho
Ginsukeyakan	Tosamochi
Gongendouhakanmuri	Yomogiharahakanmuri

Table 29. Allelic frequencies and gene diversities for 17 isozyme loci in 66 Japanese upland varieties

Locus	Allele <sup>1)</sup>				Gene diversity <sup>2)</sup>		
	0	1	2	3	Japanese upland varieties	Japanese lowland varieties	Asian native varieties
<i>Acp-1</i>	-	0.015	0.985	-	0.030	0.018	0.5
<i>Adh-1</i>	-	1.0	-	-	0.0	0.0	0.185
<i>Amp-1</i>	-	1.0	-	-	0.0	0.018	0.184
<i>Amp-2</i>	-	0.955	0.045	-	0.086	0.097	0.500
<i>Amp-3</i>	-	0.909	0.076	0.015	0.182	0.018	0.438
<i>Cat-1</i>	-	0.197	0.803	-	0.322	0.026	0.500
<i>Est-2</i>	0.909	0.076	0.015	-	0.182	0.012	0.601
<i>Est-5</i>	-	1.0	-	-	0.0	0.004	0.033
<i>Est-9</i>	-	0.985	0.015	-	0.030	0.018	0.231
<i>Mal-1</i>	-	0.712	0.288	-	0.410	0.214	0.486
<i>Pgd-1</i>	-	0.167	0.803	0.030	0.326	0.022	0.555
<i>Pgd-2</i>	-	1.0	-	-	0.0	0.0	0.064
<i>Pgi-1</i>	-	0.030	0.970	-	0.058	0.026	0.491
<i>Pgi-2</i>	-	0.970	0.030	-	0.058	0.022	0.455
<i>Pgi-3</i>	0.970	0.030	-	-	0.058	0.031	0.498
<i>Pox-2</i>	1.0	-	-	-	0.0	0.014	0.473
<i>Sdh-1</i>	-	-	1.0	-	0.0	0.0	0.283
Av. gene diversity <sup>3)</sup>					0.102	0.032	0.381

<sup>1)</sup> Number of alleles is designated.

<sup>2)</sup> Gene diversities of Asian native varieties and those of Japanese lowland varieties are referred to Chapter 3-2.

<sup>3)</sup> Average gene diversity (NEI 1975) among 17 isozyme loci.

Table 30. Classification of gene combinations for 17 isozyme loci in 66 Japanese upland varieties

Locus	Type										
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI
<i>Acp-1</i>	2 <sup>1)</sup> 2	2	2	2	2	2	2	2	2	1 <sup>2)</sup> 2	2
<i>Adh-1</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>Amp-1</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>Amp-2</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2
<i>Amp-3</i>	1	1	1	1	1	1	2	2	2	3	1
<i>Cat-1</i>	2	2	2	1	1	1	2	2	2	2	1
<i>Est-2</i>	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	2
<i>Est-5</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>Est-9</i>	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1
<i>Mal-1</i>	1	1	2	1	2	1	1	2	1	2	2
<i>Pgd-1</i>	1	2	2	2	2	2	2	2	2	3	3
<i>Pgd-2</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>Pgi-1</i>	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1
<i>Pgi-2</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2
<i>Pgi-3</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
<i>Pox-2</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Sdh-1</i>	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
No. of varieties	11	22	14	10	1	1	2	2	1	1	1
		(2) <sup>3)</sup>									

<sup>1)</sup> Number of alleles is designated.

<sup>2)</sup> Shaded parts indicate different alleles from those in Type I.

<sup>3)</sup> Number of varieties exhibiting the same name.

Table 31. Geographical distributions of 66 Japanese upland varieties belonging to 11 kinds of gene combinations (types)

District	Type											Total
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	
Hokkaido	3	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	5
Honshu	2	14	5	4	1	1	1	0	1	1	1	31
Shikoku	0	0	3	2	0	0	1	1	0	0	0	7
Kyushu	5	6	4	2	0	0	0	1	0	0	0	18
Okinawa	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
Unknown	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	4

Table 32.  $\bar{D}$  scores of 11 kinds of gene combinations (types) found in 66 Japanese upland varieties

	Type										
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI
$\bar{D}$ score	0.12	0.12	0.21	0.22	0.32	0.22	0.16	0.25	0.14	0.68	0.75

Table 33. Number of varieties classified into Japonica and Indica types by using  $\bar{D}$  scores averaged over nine isozyme loci

No. of varieties	$\bar{D}$ score				
	< — Japonica — >		Intermediate	< — Indica — >	
	0.0-0.2	0.2-0.4	0.4-0.6	0.6-0.8	0.8-1.0
	36	28	0	1	1

Table 34. Allelic frequencies for PGD genotype among three varietal groups

Classification	Alleles		
	<i>Pgd-1<sup>1</sup></i>	<i>Pgd-1<sup>2</sup></i>	<i>Pgd-1<sup>3</sup></i>
Japonica-Lowland A, B	445	0	0
Japonica-Upland A	11	0	0
Japonica-Upland B	0	53	0
Indica-Lowland C	0	0	5
Indica-Upland C	0	0	2

Table 35. Morphological and physiological characters of seven Indica varieties (five lowland and two upland varieties)

Name of varieties	Phenol reaction	L/W ratio	Apiculus hair length(mm)	Color of pericarp
(Lowland C)				
Kagoshimazairai	+	2.68	0.42	Red
Karahoushi	+	2.62	0.23	Red
J278	-	2.73	0.55	Red
J328	+	2.93	0.34	Red
J393	+	3.00	0.33	Red
(Upland C)				
Akamai	+	3.07	0.25	Red
Akamai (Kantou)	+	3.00	0.34	Red

Note: L/W ; Ratio of hull length (L) and width (W).

Table 36. Morphological and physiological characters of three varietal groups

Classification	No. of varieties	Phenol reaction		Apiculus hair length (mm)	L/W ratio
		+	-		
Japonica-Lowland A, B	100	2	98	0.79±0.11	2.08±0.15
Japonica-Upland B	53	41	12	0.43±0.15	2.33±0.19
Indica-Lowland C/Upland C	7	6	1	0.35±0.11	2.86±0.18

Note: L/W ; Ratio of hull length (L) and width (W).

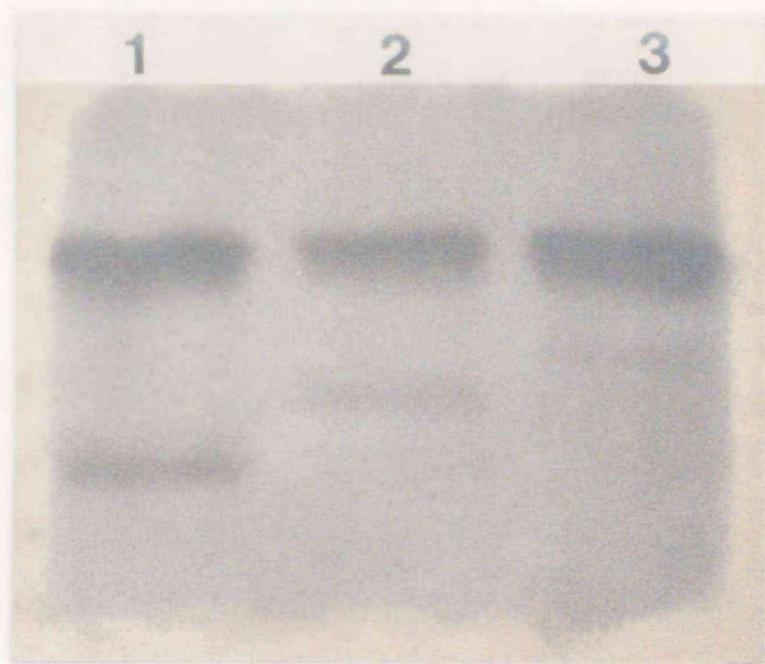


Fig. 10. Multiple alleles of *Pgd-1*. Lanes 1, 2 and 3 show expressions of *Pgd-1*<sup>3</sup>, *Pgd-1*<sup>1</sup> and *Pgd-1*<sup>2</sup>, respectively.

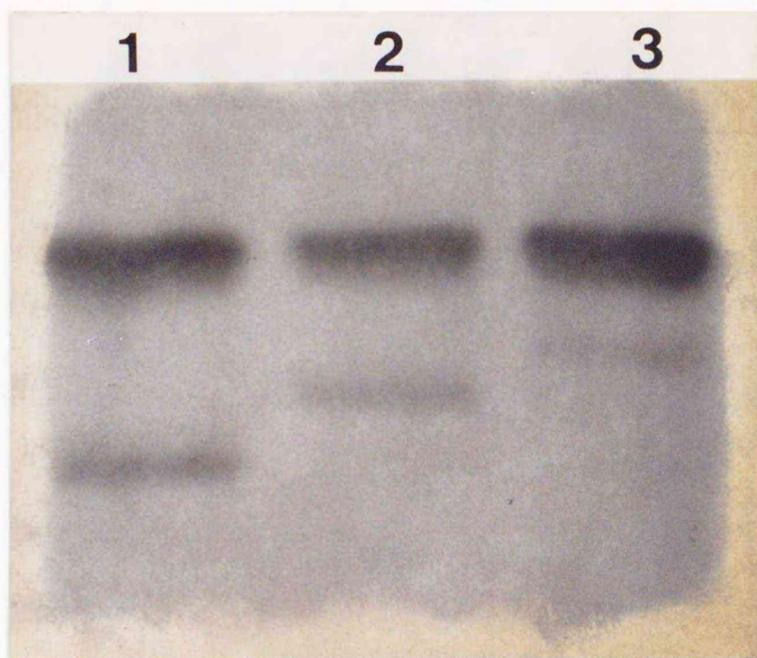


Fig. 10. Multiple alleles of *Pgd-1*. Lanes 1, 2 and 3 show expressions of *Pgd-1<sup>3</sup>*, *Pgd-1<sup>1</sup>* and *Pgd-1<sup>2</sup>*, respectively.

第4章 アイソサイム遺伝子の  
育種研究への応用

第4章 アイソサイム遺伝子の育種研究への応用

第4章 アイソサイム遺伝子の育種研究への応用

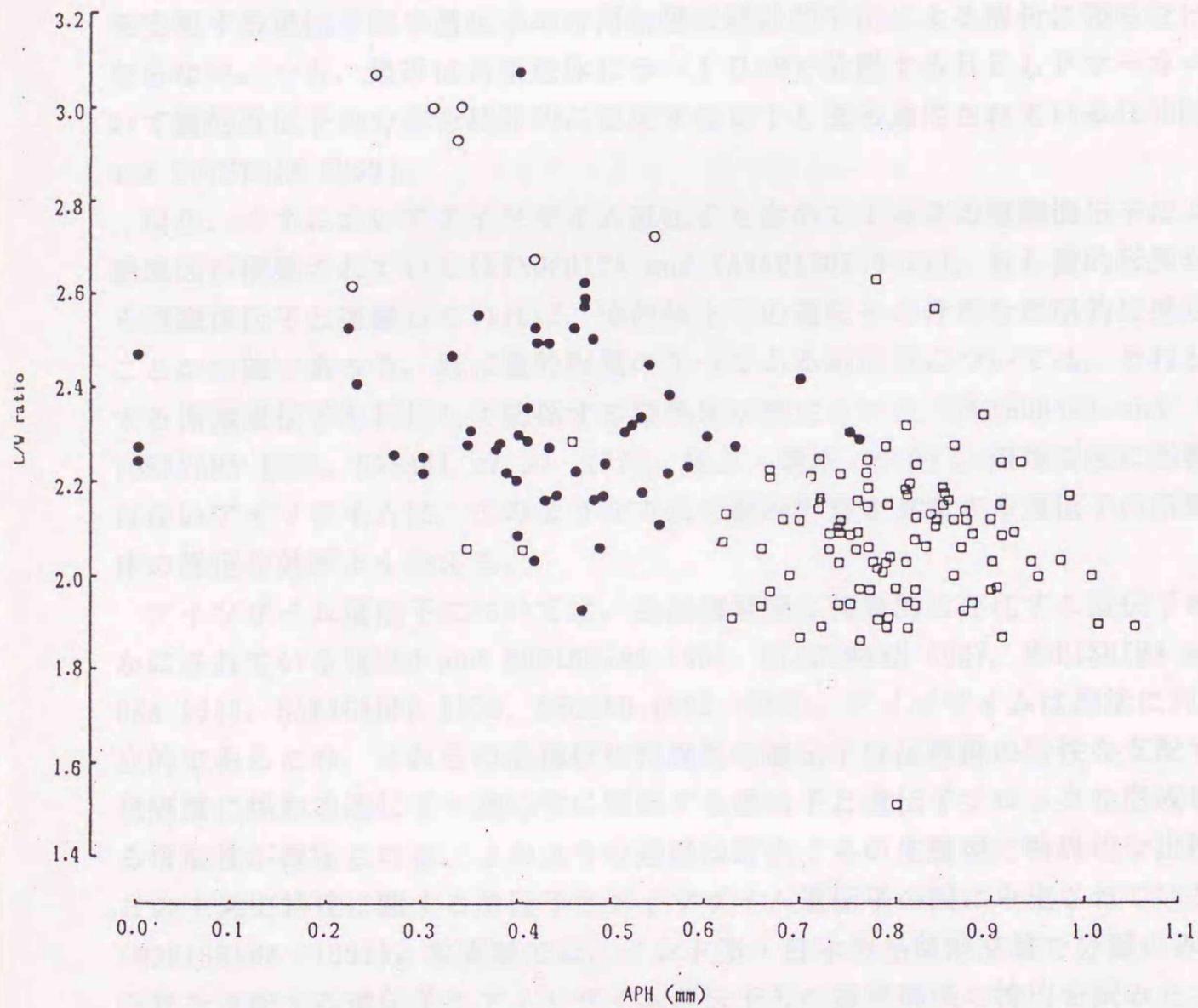


Fig. 11. Relationship between apiculus hair length (APH) and ratio of hull length and width (L/W ratio) in seven Indica (Lowland C/Upland C; open circle), 53 Japanese upland (Upland B; solid circle), and 100 Japanese lowland (Lowland A/B; open square) varieties.

## 第4章 アイソザイム遺伝子の 育種研究への応用

### 第1節 出穂期及び稈毛長と アイソザイム遺伝子の連鎖関係

農業形質は分離世代において連続変異を示すことが多く、環境条件による影響を受けやすいポリジーンにより支配されている (EAST 1916)。このような量的形質を支配する遺伝子数や遺伝子の作用効果は統計的手法による解析に頼らなければならない。一方、最近では各染色体に5-10cMで位置するRFLPマーカーを用いて量的遺伝子の分布を統計的に推定するQTL法も適用されている (LANDER and BOTSTEIN 1989)。

現在、イネにおいてアイソザイム遺伝子を含めて142の標識遺伝子による連鎖地図が構築されている (KINOSHITA and TAKAHASHI 1991)。もし量的形質がこれら標識遺伝子と連鎖していれば、染色体上での遺伝子の分布を概略的に推定することが可能であろう。既に量的形質の1つである耐冷性については、それと連鎖する標識遺伝子を利用して関係する染色体が推定された (FUTSUHARA and TORIYAMA 1966, SASAKI *et al.* 1974, 鳥山・蓬原 1960)。環境要因に影響を受けないアイソザイムは、このような方法で量的形質を支配する遺伝子の所属染色体の推定を効率よく行える。

アイソザイム遺伝子については、各品種群間に特異的に存在する遺伝子が明らかにされている (ENDO and MORISHIMA 1983, GLASZMANN 1987, MORISHIMA and OKA 1981, NAKAGAHRA 1978, SECOND 1982, 1985)。アイソザイムは淘汰に対して中立的であるため、これらの品種群に特異的な遺伝子は品種群の特性を支配する生殖隔離に係わる遺伝子や適応性に関係する遺伝子と遺伝子ブロックを形成している可能性が推定される。このような連鎖は野生イネの生態型に特異的な出穂性などの生活史特性に関する遺伝子とアイソザイム遺伝子の間にみ出されている (MORISHIMA 1991)。本実験では、インド型・日本型品種間交雑で分離のみられた形質を支配する遺伝子とアイソザイム遺伝子との連鎖関係の検出を試みた。また、これらの分離様式は連続変異を示すので、前述の耐冷性の解析で用いた手法 (FUTSUHARA and TORIYAMA 1966, SASAKI *et al.* 1974, 鳥山・蓬原 1960) と同様にアイソザイム遺伝子を標識として、目的の形質と関係する染色体を探索した。

## 材料及び方法

異なる出穂日及び稈毛長を示す日本型品種Acc563（木下糯）とインド型Acc853（Habun）の交雑F<sub>2</sub>集団を供試材料として用いた（Table 37）。これらのF<sub>2</sub> 211個体は1990年5月17日に催芽させ、1ヵ月後に水田に移植した。その中の1個体は完全な不稔のためF<sub>3</sub>種子が得られなかったが、残りの210個体ではF<sub>3</sub>種子が得られた。同F<sub>2</sub>集団において到穂日数（播種から出穂までの日数）及び稈毛長を調査した。稈毛長はF<sub>2</sub>に着粒している籾からランダムに3粒を選んで、各籾上の3本の稈毛の長さを拡大投影装置（NIKON6C）を用いて計測し、その平均値をF<sub>2</sub>の稈毛長とした。

標識遺伝子としてはアイソザイム及び糯性(*wx*)を用いた。*wx*はそれぞれのF<sub>2</sub>に対応するF<sub>3</sub>種子における分離から遺伝子型を調査した。アイソザイムは第6連鎖群に所属する*Amp-3*, *Est-2*, *Cat-1*及び*Pgi-2*, 第8連鎖群に所属する*Amp-2*, 第11連鎖群に所属する*Pgd-1*, ならびに第12連鎖群に所属する*Acp-1*及び*Pox-2*の計8座について、F<sub>3</sub>種子を用いて調査した。

連鎖関係の推定には、それぞれ糯性及びアイソザイム遺伝子のそれぞれ2種のホモ型集団の間で平均値の差の有意性を検定した。平均値に差が認められれば、遺伝的相互関係があるとした。この場合には多面作用と連鎖関係の両方が考えられるが、アイソザイムは量的形質に対して中立的なので連鎖関係による可能性が高いと考えられる。

## 結 果

### 1) F<sub>2</sub>集団における形質の分離

Acc563及びAcc853の到穂日数は三島で72日及び157日であった。F<sub>2</sub>集団の到穂日数の頻度分布は110日目で不連続となる2頂分布を示し、早生集団が123個体及び晩成集団が87個体から構成され、その比率は2因子支配の9:7の分離比に適合した。したがって、補足関係を有する2遺伝子の支配を受けると推測される（Fig. 12）。Acc563及びAcc853の稈毛はそれぞれ0.36 mm, 0.72 mmであり、稈毛長のF<sub>2</sub>集団の頻度分布は連続変異を示したため、稈毛長には複数の遺伝子が関与するか、または環境要因による影響と推測した（Fig. 13）。

F<sub>2</sub>集団では*wx*と4種の連鎖群に所属するアイソザイムの8座において分離が認められた。このうち、*wx*ではAcc563由来の*wx*ホモ型(A1A1), ヘテロ型(A1A2), 及びAcc853由来の+ホモ型(A2A2)の各頻度が、A1A1:A1A2:A2A2=37:92:81

となり、*Pgd-1*ではA1A1:A1A2:A2A2=35:108:67となった。これらの2座では、Acc853由来の対立遺伝子をホモ型に持つ品種が後代に多く現れる傾向があった。他のアイソザイム遺伝子の分離は、1:2:1 (*Est-2*及び*Pox-2*では、1:3)の期待比に適合した(Table 37)。

## 2) 到穂日数及び稈毛長と標識遺伝子との連鎖関係

F<sub>2</sub>集団の100個体では*wx*, *Amp-3*, *Cat-1*, *Pgi-2*, *Amp-2*, *Pgd-1*及び*Acp-1*の2種類のホモ型とヘテロ型とを識別できたため、Acc563及びAcc853の各親由来の対立遺伝子について2種のホモ型個体群間で到穂日数及び稈毛長の平均値を算出した(Table 38)。また、null遺伝子を含む2座 (*Est-2*及び*Pox-2*) では、A1A1とA1A2の遺伝子型を有する個体を併せて1つの個体群として、A2A2の個体群と平均値を比較した。

各座で平均値の差の有意性をt検定により調べたところ、第6連鎖群の*Cat-1*、第8連鎖群の*Amp-2*及び第12連鎖群の*Acp-1*及び*Pox-2*の4座については、到穂日数及び稈毛長の2形質について2種のホモ型の平均値間に差は認められなかった(Table 39)。したがって、これらの2形質と上述のアイソザイム遺伝子とはおそらく独立関係にある。

一方、第6連鎖群の*wx*, *Amp-3*, *Est-2*及び*Pgi-2*の4座について到穂日数及び稈毛長の平均値がそれぞれ有意に異なった(Table 39)。したがって、これらの遺伝子と上記の2形質を支配する遺伝子との間に遺伝的相関関係が推定された。糯性及びアイソザイム遺伝子の多面作用がないとすれば、これらの有意差は連鎖関係に起因する。同連鎖群に属する*Cat-1*は他の4座とは離れた位置にあるために有意差がみられなかった。

さらに、到穂日数及び稈毛長を支配する遺伝子と第6連鎖群の4遺伝子の関係について、全F<sub>2</sub>個体を対象として同様の方法で調べた(Table 40)。到穂日数の差は、*wx*で2.2日、*Amp-3*で12.7日、*Pgi-2*で23.5日となり、*Pgi-2*で最も大きな有意差が検出された。稈毛長の差は*Pgi-2*で0.06mm、*wx*で0.1mm、*Amp-3*で0.13mmとなり、*Amp-3*で最も大きな有意差が検出された。したがって、これらの有意差が連鎖の強弱を反映すると仮定すれば、出穂性に関する遺伝子は*Pgi-2*の近傍に、稈毛長に関する遺伝子は*Amp-3*の近傍に存在する可能性が高い。全F<sub>2</sub>個体の到穂日数の頻度分布に*Pgi-2*の遺伝子型の頻度分布を重ねると明らかに早生群にAcc563由来の*Pgi-2*<sup>1</sup>のホモ型個体が多く、晩生個体群に*Pgi-2*<sup>2</sup>のホモ型個体が多かった(Fig. 12)。稈毛長と*Amp-3*の関係ではAcc563に由来する*Amp-3*<sup>1</sup>のホモ型個体は長稈毛を有し、Acc853に由来する*Amp-3*<sup>2</sup>のホモ型個体は短稈毛を有する傾向が認められた(Fig. 13)。しかし、到穂日数は2因子分離であり、稈毛長はF<sub>2</sub>

個体の頻度分布が連続的であったため単因子分離か否かは明かでない。連鎖分析には少なくともF<sub>3</sub>系統において単因子分離を特定する必要があるが、今回は組換え価を算出しなかった。

Acc563は弱い感光性、Acc853は強い感光性を有する品種である（岡 未発表）。さらに、本実験の結果からAcc563×Acc853のF<sub>2</sub>集団の出穂形質は独立な2遺伝子の補足作用に支配されていると推定された。Pgi-2との連鎖が検出された出穂性遺伝子は既に報告されているSe-1と考えられる（KINOSHITA 1987, OOSUMI *et al.* 1989）。残る1遺伝子の座乗染色体は特定できなかった。

インド型と日本型品種間では稈毛長を支配する1遺伝子(aph)とPgi-2及びEst-2とが連鎖していると報告されている(SATO *et al.* 1990b)。本実験で明らかにされたAmp-3の近くにある稈毛長遺伝子も所属連鎖群が同じであることから、aphであると考えられる。

上記の2形質の遺伝子効果の推定には、それら形質と連鎖するアイソザイム遺伝子を利用した。到穂日数にはPgi-2及び稈毛長にはAmp-3を遺伝標識として用いた。Pgi-2のホモ型個体群の到穂日数の平均は、それぞれ93.8±10.8日及び117.3±14.4日であり、ヘテロ型個体群の平均は104.2±10.8日であった(Fig. 14A)。ヘテロ型個体群は中間的な到穂日数を示したことから、到穂日数を支配する遺伝子は不完全優性と考えられる。稈毛長ではAmp-3のホモ型個体群の稈毛長の平均は、0.72±0.16mm及び0.59±0.14mmで、ヘテロ型個体群では0.60±0.16mmであった(Fig. 14B)。ヘテロ型個体群はAcc853由来の遺伝子をホモに持つ個体群とほぼ同じ短稈毛を示したので、Acc853由来の稈毛長に関する遺伝子は短稈毛が優性と考えられる。

以上の結果から、インド型・日本型品種間交雑で分離のみられた2形質に関与する遺伝子とアイソザイム遺伝子の連鎖関係が明らかとなった。これらのアイソザイム遺伝子を用いることで、それを指標として初期世代における両形質の予備選抜が可能になると考えられる。

## 考 察

本研究ではインド型×日本型の交雑集団でアイソザイムの8遺伝子とwxを用いて、Pgi-2と出穂性及びAmp-3と稈毛長間に連鎖関係がみ出された。

出穂性は赤道直下から高緯度地帯までその分布域を拡大したイネにとっては大きな適応的役割を担ったと考えられる(OKA 1988)。インド型と日本型の交雑後代では複数遺伝子により支配される出穂性の分離が得られている(工藤 1968)。

アイソザイム遺伝子と連鎖を有する出穂性遺伝子としては, SALAM *et al.* (1990)により第6染色体で *Pgi-2*と *PS*が  $23.2 \pm 4.7\%$ のゆるい連鎖を持つことが報告されている。従来の連鎖地図(KINOSHITA 1987)とYOKOO and FUJIMAKI(1971)では第6染色体に *Pgi-2*と密に連鎖する感光性遺伝子(*Se-1*)が明らかとなっている。さらに, 準同質遺伝子系統を用いた研究から, *Pgi-2*と *Pi-z*の遺伝子間に *Se-1*が座乗することが明らかにされている(OOSUMI 1989)。本研究で供試した $F_2$ 集団では出穂性を支配する遺伝子は少なくとも互いに独立な2遺伝子によっているが, そのうちの1つが *Pgi-2*と連鎖していること, その遺伝子効果が不完全優性を示したことから *Se-1*と考えられる(YOKOO and FUJIMAKI 1971, 横尾・菊池 1977, 1978)。一方, 他の遺伝子は *Se-1*とは独立と推測された。

稈毛長は水稲と陸稲間及び日本型とインド型品種間で異なり, 特にインド型と日本型の品種間交雑においては連続変異を示した(SATO *et al.* 1990b)。今までの遺伝子分析では第3連鎖群の *Hg* (極長稈毛), 第5連鎖群の稈毛を欠く *gl-1*, 座乗染色体は不明だが *gl-1*と重複的に作用する *gl-2*が知られている(岡 1953a)。第6連鎖群上の稈毛に関する遺伝子の *aph*については, SATO *et al.* (1990b)が *Est-2*及び *Pgi-2*との連鎖からその存在を推定した。本実験で確認された遺伝子も *Amp-3*との連鎖関係から *aph*座の対立遺伝子と考えられる。その遺伝子効果はSATO (1985)の報告した如く長稈毛を支配する遺伝子が優性ではなく, むしろインド型由来の短稈毛が優性を示した。稈毛長は品種群の特徴となる形質であり(OKA 1958), また長稈毛は播種や収穫作業上, 塵埃の原因となり健康上からも好ましくない(TAKEDA 1985)。本研究で明らかにした *Aph*は短稈毛が優性に働くことから新しい遺伝資源として役立つことが期待される。

このようにアイソザイム遺伝子と適応形質に関する遺伝子の連鎖関係がみ出されれば, 初期世代での予備的な選抜に役立つであろうし, これらアイソザイム遺伝子を用いて有用遺伝子を遠縁品種から日本型品種へ導入することも期待される。今後, 種分化の機構を解明するため, 品種群を識別するアイソザイム遺伝子と適応形質の連鎖関係を調べる予定である。

Table 37. Segregations at eight isozyme and *wx* loci in F<sub>2</sub> population of the cross between Acc563 and Acc853

Locus	F <sub>2</sub> segregation			$\chi^2$ for 1:2:1 or 1:3 ( $\rho$ )
	A1A1	A1A2	A2A2	
<i>Acp-1</i>	57	112	47	1.09 (0.5-0.7)
<i>Amp-2</i>	49	102	59	1.12 (0.5-0.7)
<i>Amp-3</i>	44	109	57	1.91 (0.3-0.5)
<i>Cat-1</i>	53	113	44	1.99 (0.3-0.5)
<i>Pgd-1</i>	35	108	67	9.92 (<0.01)
<i>Pgi-2</i>	54	102	54	0.17 (0.9< )
<i>wx</i>	36	95	79	19.5 (<0.01)
	(A1A1	A1A2+A2A2)		
<i>Est-2</i>	45	65		1.43 (0.2-0.30)
<i>Pox-2</i>	47	163		0.77 (0.3-0.5)

Note: A1 and A2 indicate two kinds of alleles derived from female and male parents, respectively.

Table 38. Genetical associations between nine marker genes and means of days to heading (DH) or apiculus hair length (APH)

Trait	Linkage group 6									
	<i>Amp-3</i>		<i>Cat-1</i>		<i>Est-2</i>		<i>Pgi-2</i>		<i>wx</i>	
	A1A1	A2A2	A1A1	A2A2	A1A1	A1A2+A2A2	A1A1	A2A2	A1A1	A1A2+A2A2
DH	95.4	115.9	106.9	104.7	95.2	107.7	92.1	121.0	102.8	107.3
APH	0.70	0.54	0.60	0.57	0.68	0.57	0.64	0.57	0.64	0.57
No. of F <sub>2</sub> plants	23	23	24	16	24	76	27	24	17	37

Trait	Linkage group 8		Linkage group 11		Linkage group 12			
	<i>Amp-2</i>		<i>Pgd-1</i>		<i>Acp-1</i>		<i>Pox-2</i>	
	A1A1	A2A2	A1A1	A2A2	A1A1	A2A2	A1A1	A1A2+A2A2
DH	101.7	102.5	104.3	105.7	103.2	103.4	104.6	104.7
APH	0.62	0.58	0.58	0.63	0.64	0.66	0.64	0.59
No. of F <sub>2</sub> plants	24	31	13	20	22	25	19	81

Note: A1A1 and A2A2 indicate two kinds of homozygotes for Acc563 and Acc853 derived alleles, respectively, in the F<sub>2</sub> population of Acc563×Acc853. A1A2 indicates heterozygotes.

Table 39. Genetical association between marker genes and the two characters in the F<sub>2</sub> population of Acc563×Acc853

Character	Linkage group 6					Linkage group 8		Linkage group 11		Linkage group 12	
	<i>Amp-3</i>	<i>Cat-1</i>	<i>Est-2</i>	<i>Pgi-2</i>	<i>wx</i>	<i>Amp-2</i>	<i>Pgd-1</i>	<i>Acp-1</i>	<i>Pox-2</i>		
Days to heading	++	-	++	++	-	-	-	-	-	-	-
Apiculus hair length	++	-	++	+	-	-	-	-	-	-	-

Note: +, ++ indicate significant differences between two homozygotes in Table 38 at 5 and 1 % levels, respectively. - indicates non-significant difference.

Table 40. Genetical associations between three marker genes and means of days to heading (DH) or apiculus hair length (APH)

Trait	<i>wx</i>				<i>Amp-3</i>			
	A1A1 <sup>1)</sup>	A2A2	Diff. <sup>2)</sup>	t-value (p)	A1A1	A2A2	Diff.	t-value (p)
DH	108.5	106.3	2.2	0.66 (0.5-0.6)	97.9	110.6	12.7	4.22 ( <0.01)
APH	0.69	0.59	0.10	3.32 ( <0.01)	0.72	0.59	0.13	4.32 ( <0.01)
No. of F <sub>2</sub> plant	36	79			44	57		

Trait	<i>Pgi-2</i>			
	A1A1	A2A2	Diff.	t-value (p)
DH	93.8	117.3	23.5	9.61 ( <0.01)
APH	0.66	0.60	0.06	2.08 (0.05-0.01)
No. of F <sub>2</sub> plant	54	54		

<sup>1)</sup> A1A1 and A2A2 indicate two kinds of homozygotes for Acc563 and Acc853 alleles, respectively, in the F<sub>2</sub> population of Acc563×Acc853. A1A2 indicates heterozygotes.

<sup>2)</sup> Diff.: Difference of two genotypes.

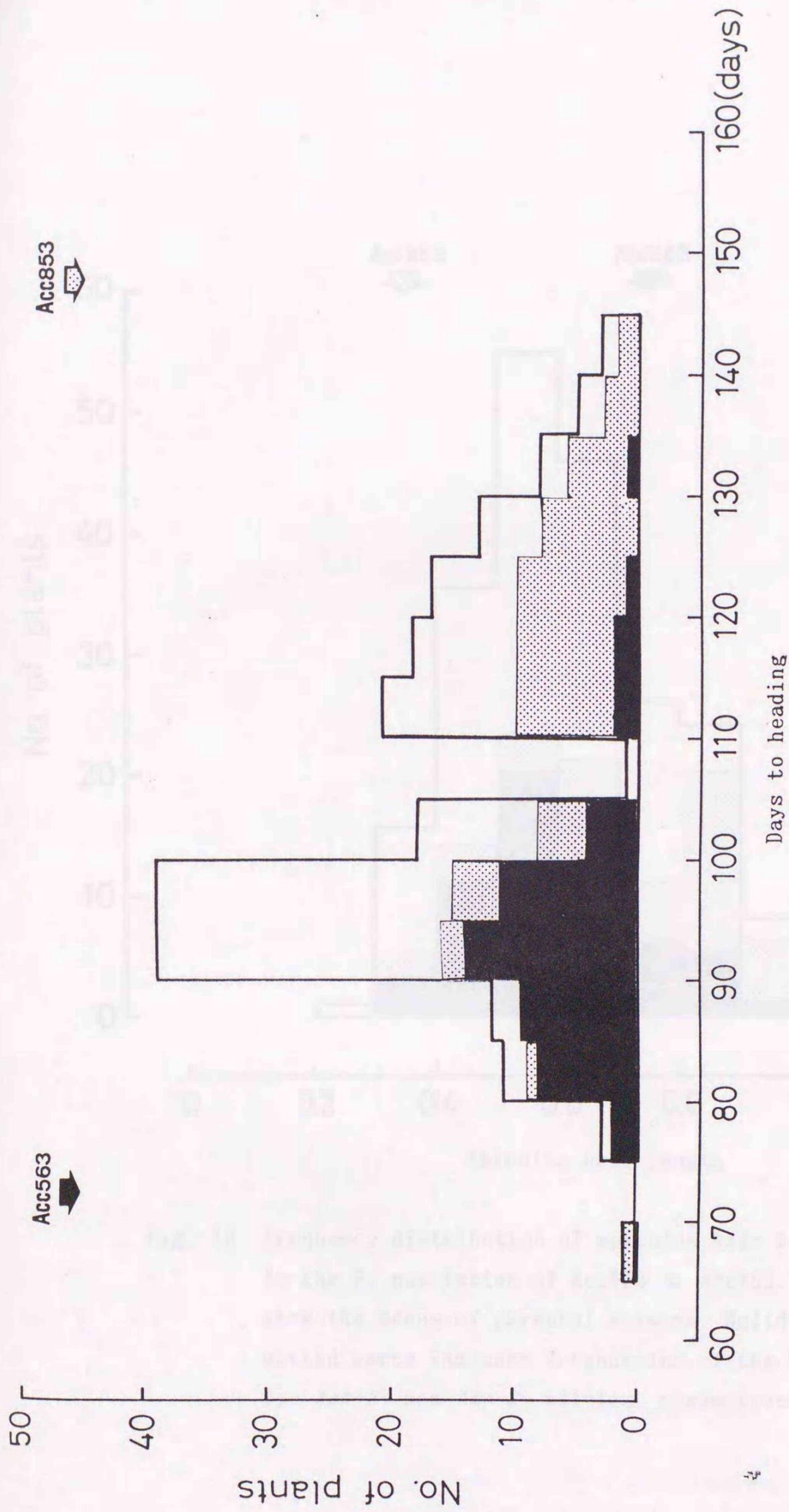


Fig. 12. Frequency distribution of days to heading in the  $F_2$  population of Acc563  $\times$  Acc853. Arrows show the means of parental strains. Solid and dotted parts indicate frequencies of the homozygotes for  $Pgi-2^1$  and  $Pgi-2^2$  alleles, respectively.

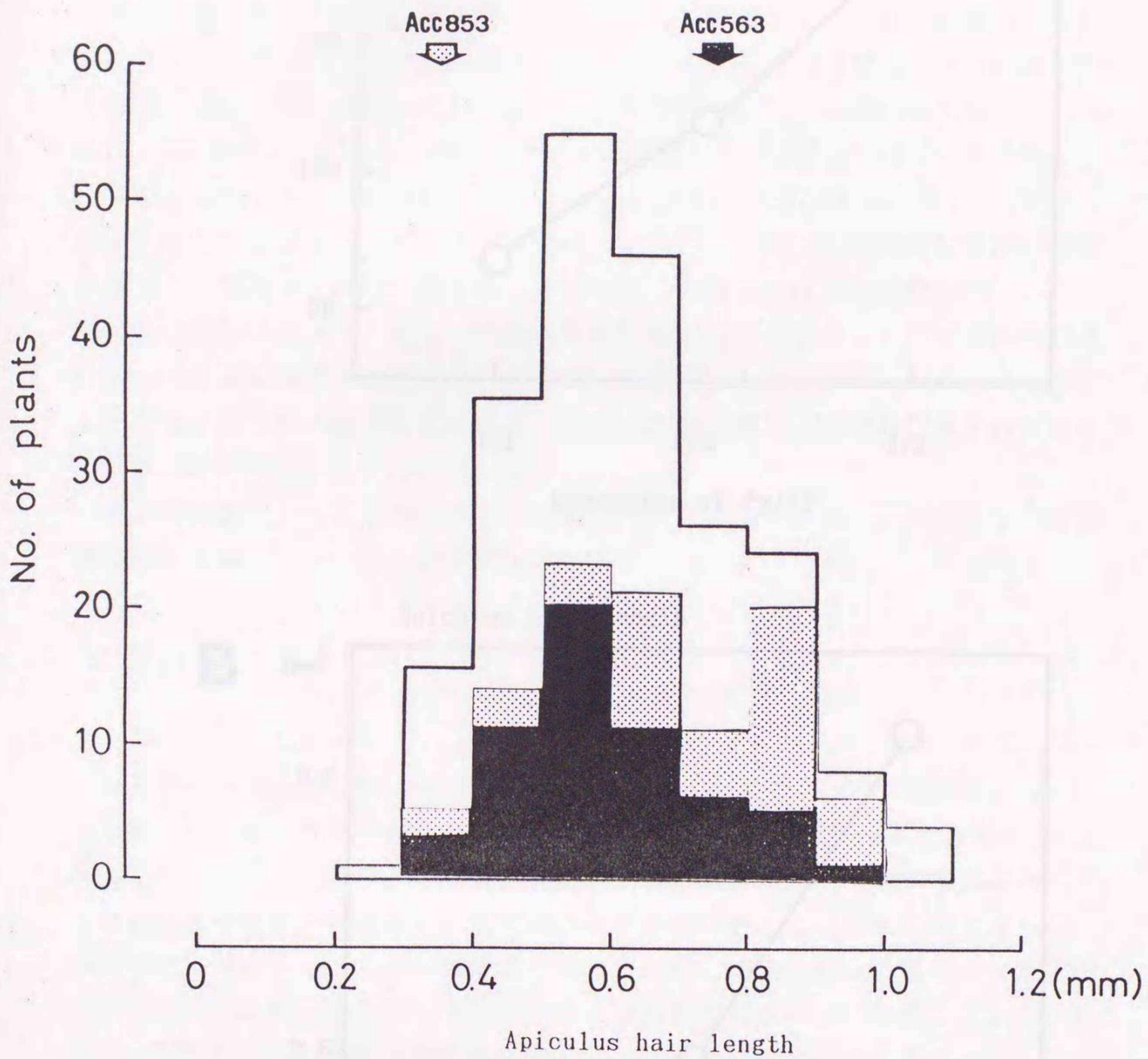


Fig. 13. Frequency distribution of apiculus hair length in the  $F_2$  population of  $Acc563 \times Acc853$ . Arrows show the means of parental strains. Solid and dotted parts indicate frequencies of the homozygotes for  $Amp-3^1$  and  $Amp-3^3$  alleles, respectively.

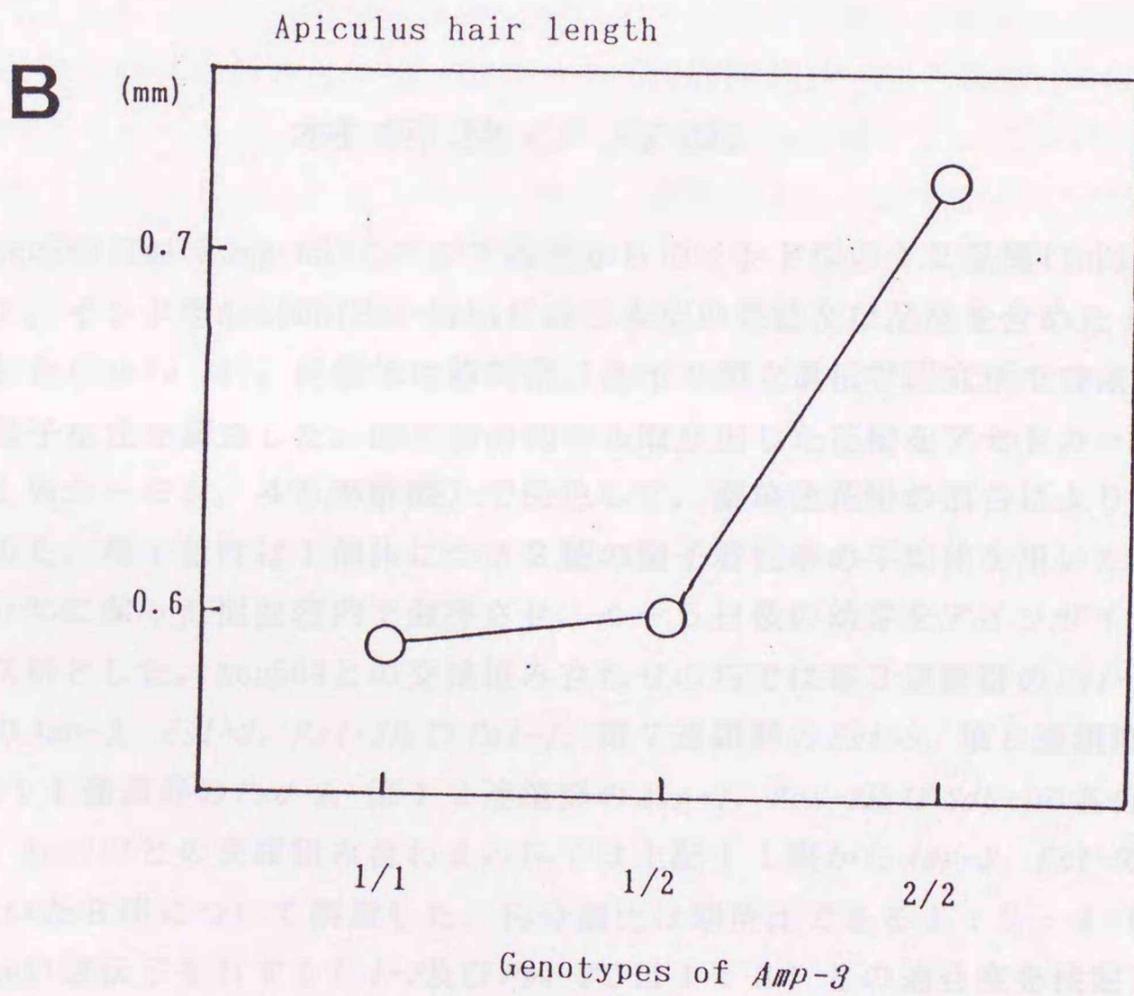
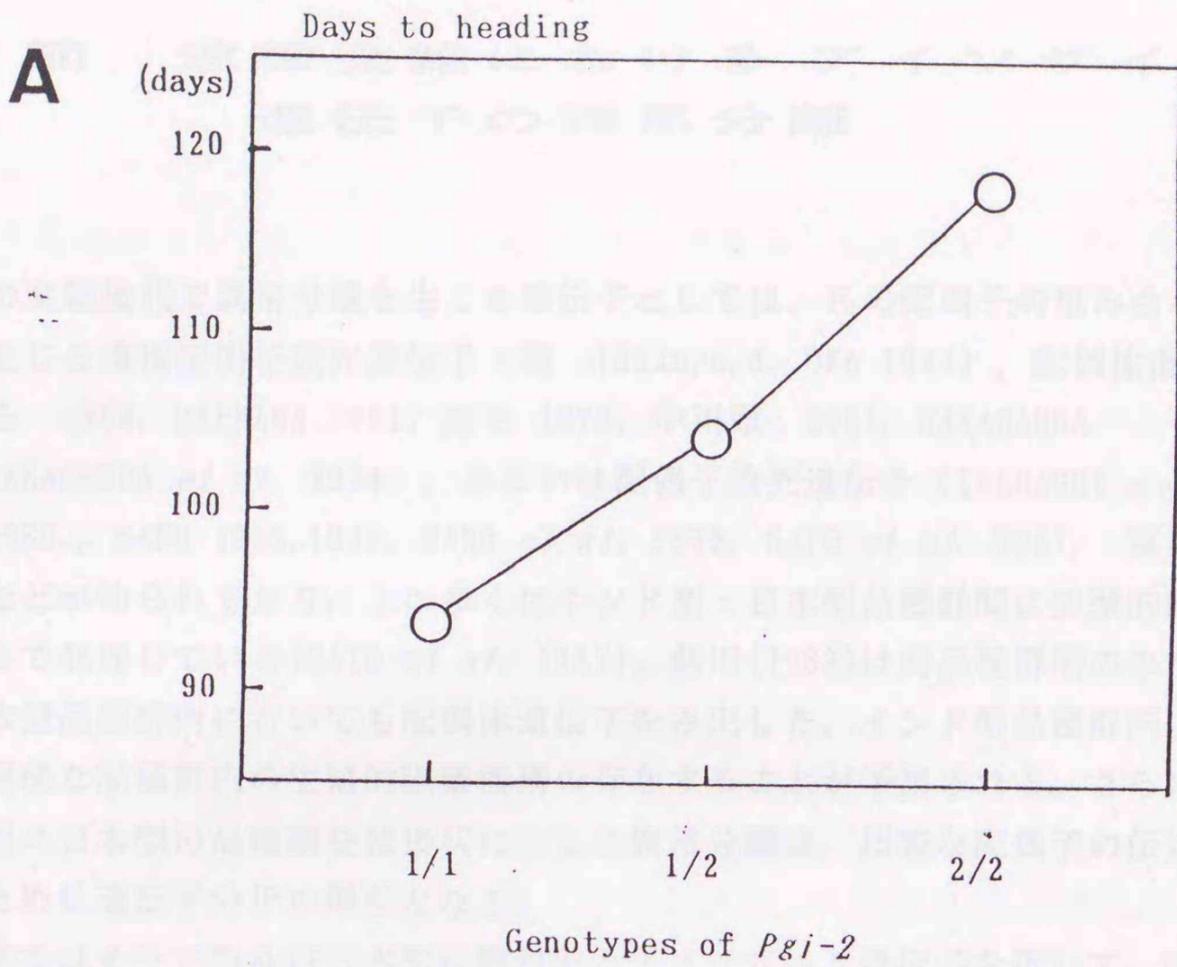


Fig. 14. Relation between isozyme genotypes and days to heading (A), or apiculus hair length (B).

## 第2節 遠縁交雑におけるアイソザイム 遺伝子の異常分離

イネの交雑後代で異常分離を生じる遺伝子としては、 $F_1$ の配偶子の組み合わせにより生じる重複配偶子致死遺伝子(岡 1953b, c, d, OKA 1974), 配偶体遺伝子(岩田ら 1964, MAEKAWA 1981, 森ら 1973, 中川原 1981, NAKAGAHRA 1972, NAKAGAHRA *et al.* 1974), あるいは配偶子致死遺伝子(IKEHASHI and ARAKI 1986., SANO 1983, 1990, SANO *et al.* 1979, SATO *et al.* 1987, 富田ら 1986)などが知られており, その多くはインド型・日本型品種群間に生殖的隔離機構として発達している(SATO *et al.* 1987)。前川(1982)は両品種群間のみならず, 日本型品種群内においても配偶体遺伝子を見出した。インド型品種群内においても同様な品種群内の生殖的隔離機構の存在することが予測される。さらに, インド型×日本型の品種間交雑後代に生じる異常分離は, 均等な配偶子の伝達を妨げるために遺伝子分析の障壁となる。

本実験ではインド型及び日本型に特異的なアイソザイム遺伝子を用いて, 両品種群間の交雑において生じる異常分離を調査した。

### 材料及び方法

日本型Acc504(Taichung 65)にアジア各地からのインド型の12品種(Table 41)を交配して, インド型Acc108(Pei-kuh)には日本型の系統及び品種を含めた12品種を交配した(Table 41)。 $F_1$ 個体は静岡県三島市の国立遺伝学研究所で育成して, 花粉及び種子稔性を調査した。開花前の葯から取り出した花粉をアセトカーミン染色液(1%カーミン, 45%酢酸)で染色して, 濃染色花粉の割合により花粉稔性を求めた。種子稔性は1個体につき2穂の種子着粒率の平均値を用いた。 $F_2$ 種子は30℃に保った恒温器内で催芽させ, 4-5日後の幼芽をアイソザイムの泳動用の試料とした。Acc504との交雑組み合わせの $F_2$ では第3連鎖群の*Pgi-1*, 第6連鎖群の*Amp-3*, *Est-2*, *Pgi-2*及び*Cat-1*, 第7連鎖群の*Est-9*, 第8連鎖群の*Amp-2*, 第11連鎖群の*Pgd-1*, 第12連鎖群の*Acp-1*, *Pox-2*及び*Sdh-1*の各分離を調査した。Acc108との交雑組み合わせの $F_2$ では上記11座から*Amp-3*, *Est-9*及び*Sdh-1*を除いた8座について調査した。 $F_2$ 分離比は期待比である1:2:1(日本型品種がnull遺伝子を有する*Est-2*及び*Pox-2*では1:3)との適合度を検定した。

## 結 果

### 1) 日本型Acc504×インド型品種の交雑組合わせのF<sub>2</sub>におけるアイソザイム遺伝子の異常分離

Acc504とインド型品種とのF<sub>1</sub>個体の花粉稔性は43-88%で、種子稔性は11-88%を示した。花粉と種子稔性の間には明らかな相関関係をみ出せなかった(Table 42)。12種類のF<sub>1</sub>個体から得たF<sub>2</sub>種子の発芽は正常であったので、催芽したF<sub>2</sub>個体を全て実験に供試して、アイソザイム遺伝子の分離を調査した。日本型Acc504に対しては供試インド型品種はすべて*Cat-1*, *Amp-2*及び*Acp-1*について多型性を示したが、残りのアイソザイム遺伝子では分離のみられない場合もあった(Table 43)。

*Cat-1*及び*Pgd-1*では全ての交雑組み合わせで正常分離が認められたが、インド型品種由来のホモ型個体の出現頻度が期待値より有意に高い場合が多く、Acc504×Acc435の*Est-9*の分離のみ日本型品種由来のホモ型個体の出現頻度が期待値より高かった(Table 43)。これらの異常分離をTable 46に示したが、第6連鎖群の*Est-2*と*Pgi-2*, ならびに第12連鎖群の*Acp-1*と*Pox-2*の4座では頻繁に生じた。これらの分離は特定の染色体を持つ配偶子、もしくは接合体致死または不受精に起因すると推測される。一方、異常分離と花粉稔性及び種子稔性との間には明らかな関係が認められなかった(Table 42)。F<sub>1</sub>個体の小穂においては接合体の退化が認められなかったことやF<sub>2</sub>種子の発芽が正常であったことから、上記の異常分離は配偶子の受粉時から受精までに起こり、おそらく配偶体遺伝子(*Ga*)によると考えられる。

第6連鎖群の*Est-2*と*Pgi-2*, ならびに第12連鎖群の*Acp-1*と*Pox-2*はそれぞれ互いに連鎖しており、同一の要因により異常分離を生じたと考えられる。*Acp-1*及び*Pgi-2*について、インド型品種の由来と分離様式との関係を調べた(Fig. 15A, B)。*Pgi-2*で異常分離を示したインド型品種は様々な地域から由来しており、*Acp-1*では台湾の3品種、中国の2品種とベトナムの1品種を用いたときに異常分離を示した。一方、中国の2品種、ベトナムの1品種、さらにインド及びスリランカ由来の3品種を用いるとすべて正常分離を示した。したがって、インド型品種群に*Ga*の分化が生じていたと推定される。

### 2) インド型Acc108×日本型品種との交雑組合わせのF<sub>2</sub>におけるアイソザイム遺伝子の異常分離

Acc108と温帯日本型品種の交雑によるF<sub>1</sub>個体の花粉稔性は43-52%, 種子

稔性は36-56%であった(Table 44)。一方, Acc108と熱帯日本型品種とのF<sub>1</sub>個体の花粉稔性は比較的高く76-87%であった。その種子稔性は31-75%と変異を示し, 必ずしも花粉稔性とは対応していなかった。これらのF<sub>2</sub>種子の発芽は正常であったため, 催芽したF<sub>2</sub>個体を全て実験に供試した。

第8連鎖群の*Amp-2*及び第11連鎖群の*Pgd-1*の分離はすべての交雑組合わせにおいて正常であった(Table 45)。残りの遺伝子では1-1-1交雑組み合わせにおいて異常分離を生じた。特に第6連鎖群の*Est-2*及び*Pgi-2*, 並びに第12連鎖群の*Acp-1*及び*Pox-2*では大部分の組み合わせでAcc108由来の対立遺伝子の増加を伴う異常分離がみられたが, 1交雑組み合わせでのみ*Cat-1*のヘテロ型が多く出現する異常分離もみられた(Table 45及び46)。このようにヘテロ型個体の出現頻度が高くなる異常分離の原因は不明である。

第12連鎖群の*Acp-1*及び*Pox-2*では, Acc108と熱帯日本型品種とのF<sub>1</sub>個体が76-87%の高い花粉稔性を示し, *Pox-2*では正常な分離比, *Acp-1*では異常分離を示す場合が多かった。さらに, 温帯日本型品種との交雑組合わせではF<sub>1</sub>個体は43-52%の低い花粉稔性を示し, *Acp-1*及び*Pox-2*で異常分離を示した。しかし, F<sub>1</sub>の花粉稔性と分離様式の関係は必ずしも対応していなかったため, インド型と温帯日本型品種のF<sub>1</sub>個体の花粉稔性低下が異常分離の直接的な原因とは考え難い。さらに, F<sub>1</sub>個体の小穂においては接合体の退化が認められず, F<sub>2</sub>種子の発芽は正常であった。

以上の結果から, *Acp-1*及び*Pox-2*に関して異なる分離様式を示す日本型品種は一定の地理的変異を示すことが明らかとなった(Fig. 16A)。さらに, 花粉稔性に関する遺伝子も同様な地理的変異を示すと考えられる。しかし, 第6連鎖群の*Pgi-2*の分離では, 異なる分離様式を示す品種の地理的変異に一定の傾向は認められなかった(Fig. 16B)。

## 考 察

アイソザイムの異常分離には様々な原因があるが, 配偶体遺伝子(*Ga*)により生じる場合が多い。インド型×日本型の遠縁品種間交雑において, 標識遺伝子の異常分離は多数報告されている(IKEHASHI and ARAKI 1986, 森ら 1973, 中川原 1981, NAKAGAHRA 1972, NAKAGAHRA *et al.* 1974, 岡 1953b, c, d, OKA 1974)。しかし, 第12連鎖群の*Acp-1*と*Pox-2*の異常分離についてはこれまで報告例がなく, さらに花粉親に異なる日本型品種を供試した場合に分離の歪みの程度が異なった。インド型と温帯日本型品種を交配した場合には異常分離がみられ, 熱帯

日本型品種を交配した場合には正常分離となった。また、インド型検定品種とのF<sub>1</sub>個体の花粉稔性は、これら2種類の日本型のうちどちらを片親に用いるかで異なった。しかし、花粉稔性と分離様式に直接的な関連はみ出せなかったので、2種の日本型品種間には複数種の分化機構が存在していると考えられる。

遺伝子の異常分離は生殖的隔離機構の一つとも考えられる。インド型×日本型の品種間交雑ではF<sub>1</sub>個体の花粉稔性が低くなるが、F<sub>2</sub>種子の発芽能力はほぼ正常であったので、これらの後代でのアイソザイムの異常分離は受精前の配偶子隔離、もしくは受精後に生じた雑種不稔などによると考えられる。同様な機構はインド型品種間にも存在していると推測される。

異常分離を生じると当然、遺伝子間の正確な組換え価の算出が困難となる。通常はインド型品種由来の対立遺伝子が過剰となることが多いが、*Est-5*の連鎖分析でみられたように日本型品種由来の遺伝子頻度が過剰となる場合もあった(第2章第2節)。異常分離を示した品種の地理的分布に基づき、第12染色体の*Acp-1*及び*Pox-2*の連鎖分析のためにインド地方の在来品種を用いたところ、異常分離がみられないか、極くわずかな歪みしか起こらなかった(第2章第2節)。

本実験で異常分離を生じる品種の地理的分布を明らかにしたことは、かかる遺伝子分析の精度を高めるためにも役立つと考えられる。また、異常分離は遠縁品種から有望な遺伝子を導入する場合に影響を及ぼすと予測される。今後、標識遺伝子を用いて*Ga*遺伝子や生殖隔離に係わる遺伝子との関係を明らかにすることが、標識遺伝子の育種的利用のために重要となろう。

Table 41. 25 varieties used in the experiment

Accession number	Name of original varieties	Origin	
Indica			
Acc001	70 <sup>a</sup> som cau	Vietnam	
Acc060	R. T. S. 23	Vietnam	
Acc108	Pei-kuh	Taiwan	
Acc143	Liu-tou-tu	Taiwan	
Acc144	O-luen-chung	Taiwan	
Acc414	P. T. B. 10	India	
Acc435	Paduhai perumal	Sri Lanka	
Acc451	Surjamkhi	India	
Acc717	Nan-shang-wan	China (Central)	
Acc724	Kun-min-tsieh-huan	China (South)	
Acc727	chin-tsao	China (South)	
Acc761	Siao-chung-kuh	China (Hai-nan Tao)	
Acc868	Patpaku	Taiwan	
Japonica			
			(Tr/Tm)
Acc226	Ketan koetok	Philippines	Tr
Acc236	Olay ayan	Philippines	Tr
Acc310	Ketan poetik	Indonesia (Bali island)	Tr
Acc311	Djogading langtang	Indonesia (Bali island)	Tr
Acc624	Gendjah ratji	Indonesia (Celebes island)	Tr
Acc655	Semoeran	Indonesia (Celebes island)	Tr
Acc871	Nabeshi	Taiwan	Tr
Acc504	Taichung 65	Taiwan	Tm
Acc537	Kirishima	Japan	Tm
Acc552	Aikoku	Japan	Tm
FL278		Marker strain in Kyushu univ.	Tm
FL318		Marker strain in Kyushu univ.	Tm

Note: Tr and Tm indicate Tropical and Temperate Japonica types, respectively.

Table 42. Pollen and seed fertilities  
in F<sub>1</sub> plants of the crosses  
between Acc504 and 12 Indica  
varieties

Cross combination	Fertility (%)	
	Pollen	Seed
Acc504 × Acc001	85	48
Acc504 × Acc060	72	34
Acc504 × Acc143	—	—
Acc504 × Acc144	57	51
Acc504 × Acc414	43	11
Acc504 × Acc435	—	—
Acc504 × Acc451	88	—
Acc504 × Acc717	76	86
Acc504 × Acc724	86	55
Acc504 × Acc727	51	35
Acc761 × Acc504	66	33
Acc504 × Acc868	77	88

Note: —; Not examined.

Table 43. F<sub>2</sub> segregations at 11 isozyme loci in twelve F<sub>2</sub> populations

Cross combination	<i>Pgi-1</i>			<i>Amp-3</i>			<i>Cat-1</i>			<i>Est-2</i>	
	A1A1	A1A2	A2A2 <sup>1)</sup>	A1A1	A1A2	A2A2	A1A1	A1A2	A2A2	A1A1	A1A2+A2A2
Acc504×Acc001	25	52	26	—	—	—	13	47	16	10	86**
Acc504×Acc060	—	—	— <sup>2)</sup>	—	—	—	18	40	25	24	104
Acc504×Acc143	12	50	43**	—	—	—	16	42	22	19	69
Acc504×Acc144	49	104	44	—	—	—	27	65	43	21	106*
Acc504×Acc414	47	124	72	—	—	—	53	108	55	—	—
Acc504×Acc435	—	—	—	31	49	27	9	17	15	24	61
Acc504×Acc451	—	—	—	21	73	33	21	45	25	21	89
Acc504×Acc717	31	92	49	—	—	—	31	63	35	—	—
Acc504×Acc724	16	52	23	—	—	—	25	40	22	11	86**
Acc504×Acc727	16	48	28	—	—	—	18	47	21	6	81**
Acc761×Acc504	30	85	67**	—	—	—	61	81	46	32	214**
Acc504×Acc868	25	72	41	11	44	38**	19	45	20	11	83**

Table 43. (continued)

Cross combination	<i>Pgi-2</i>			<i>Est-9</i>			<i>Amp-2</i>			<i>Pgd-1</i>		
	A1A1	A1A2	A2A2									
Acc504×Acc001	14	41	47*	—	—	—	21	49	32	—	—	—
Acc504×Acc060	31	83	41	—	—	—	24	46	16	27	72	32
Acc504×Acc143	17	52	36*	—	—	—	22	43	20	25	56	26
Acc504×Acc144	26	70	55*	—	—	—	23	55	27	—	—	—
Acc504×Acc414	43	99	72*	31	82	72**	53	81	45	—	—	—
Acc504×Acc435	15	16	11	37	53	18*	22	63	19	27	47	34
Acc504×Acc451	16	50	26	36	54	35	30	63	33	28	70	39
Acc504×Acc717	—	—	—	—	—	—	54	96	48	46	92	51
Acc504×Acc724	17	34	40*	—	—	—	24	71	45*	—	—	—
Acc504×Acc727	7	57	28*	—	—	—	19	50	28	—	—	—
Acc761×Acc504	34	95	53	27	80	52*	37	78	43	—	—	—
Acc504×Acc868	21	70	39	22	49	23	20	46	27	23	51	20

Table 43. (continued)

Cross combination	<i>Acp-1</i>			<i>Pox-2</i>		<i>Sdh-1</i>		
	A1A1	A1A2	A2A2	A1A1	A1A2+A2A2	A1A1	A1A2	A2A2
Acc504×Acc001	8	33	29**	14	81*	—	—	—
Acc504×Acc060	19	51	26	—	—	35	67	29
Acc504×Acc143	9	62	33**	14	93*	—	—	—
Acc504×Acc144	12	57	48**	25	151**	—	—	—
Acc504×Acc414	20	50	21	—	—	53	119	48
Acc504×Acc435	23	58	26	22	63	—	—	—
Acc504×Acc451	20	35	15	—	—	12	62	53*
Acc504×Acc717	11	69	31**	—	—	36	109	54
Acc504×Acc724	5	16	4	—	—	—	—	—
Acc504×Acc727	9	54	29**	10	81**	—	—	—
Acc761×Acc504	19	52	21	29	105	—	—	—
Acc504×Acc868	4	26	16**	13	103**	—	—	—

<sup>1)</sup> A1A1 and A2A2 indicate two kinds of homozygotes for Acc504 and Indica alleles, respectively. A1A2 indicates heterozygotes.

<sup>2)</sup> Segregation was not observed.

\* and \*\* indicate significant differences from the expected ratios (1:2:1 and 1:3) at 5 and 1 % levels, respectively.

Table 44. Pollen and seed fertilities in F<sub>1</sub> plants of the crosses between Acc108 and 12 Japonica varieties

Cross combination	Tr/Tm <sup>1)</sup>	Fertility (%)	
		Pollen	Seed
Acc108 × Acc226	Tr	79	43
Acc108 × Acc236	Tr	76	46
Acc108 × Acc310	Tr	81	50
Acc108 × Acc311	Tr	87	31
Acc108 × Acc624	Tr	86	56
Acc108 × Acc655	Tr	77	63
Acc108 × Acc871	Tr	79	75
Acc108 × Acc504	Tm	49	— <sup>2)</sup>
Acc108 × Acc537	Tm	52	46
Acc108 × Acc552	Tm	49	56
Acc108 × FL278	Tm	43	42
Acc108 × FL318	Tm	43	36

<sup>1)</sup> Tr and Tm indicate Tropical and Temperate Japonica types, respectively.

<sup>2)</sup> Not examined.

Table 45. Segregations at eight isozyme loci in twelve F<sub>2</sub> populations

Cross combination	<i>Pgi-1</i>			<i>Cat-1</i>			<i>Est-2</i>		<i>Pgi-2</i>		
	A1A1	A1A2	A2A2	A1A1	A1A2	A2A2	A1A1	A1A2+A2A2	A1A1	A1A2	A2A2
Acc108×Acc226	19	40	35*	15	39	19	7	107**	6	40	48**
Acc108×Acc236	20	44	25	20	47	21	42	142	22	39	28
Acc108×Acc310	22	42	26	17	43	27	11	129**	6	50	34**
Acc108×Acc311	17	30	16	22	78	35	11	143**	0	23	40**
Acc108×Acc624	29	60	22	11	38	17	15	159**	9	44	45
Acc108×Acc655	22	52	21	36	96	62	28	165**	15	44	36**
Acc108×Acc871	29	53	32	19	32	19	24	115*	21	69	24
Acc108×Acc504	24	52	21	26	36	23	8	77**	13	53	28*
Acc108×Acc537	31	53	26	27	39	21	17	92*	23	48	39*
Acc108×Acc552	9	40	12*	47	95	40	36	167*	15	34	12
Acc108×FL278	28	69	42	16	57	22*	3	109**	11	70	58
Acc108×FL318	18	43	20	23	57	19	18	112**	18	32	31*

Cross combination	<i>Amp-2</i>			<i>Pgd-1</i>			<i>Acp-1</i>			<i>Pox-2</i>	
	A1A1	A1A2	A2A2	A1A1	A1A2	A2A2	A1A1	A1A2	A2A2	A1A1	A1A2+A2A2
Acc108×Acc226	31	61	22	24	47	23	21	68	25*	26	88
Acc108×Acc236	15	47	23	18	47	24	33	102	50*	28	157**
Acc108×Acc310	16	46	27	24	49	17	29	84	29*	37	105
Acc108×Acc311	18	41	27	13	50	23	35	85	38	45	113
Acc108×Acc624	22	60	30	27	51	34	22	85	34**	35	129
Acc108×Acc655	25	51	19	29	46	20	24	48	26	17	81
Acc108×Acc871	19	49	24	11	20	11	12	85	45**	12	117**
Acc108×Acc504	23	57	29	8	27	7	11	66	30**	16	92*
Acc108×Acc537	23	58	28	27	47	36	7	52	28**	18	92*
Acc108×Acc552	11	47	22	10	35	16	22	122	59**	23	181**
Acc108×FL278	17	34	15	17	28	20	11	91	55**	13	148**
Acc108×FL318	17	46	18	16	41	24	10	80	40**	14	116**

Note: A1A1 and A2A2 indicate two kinds of homozygotes for Japonica and Acc108 alleles, respectively. A1A2 indicates heterozygotes. \* and \*\* indicate significant differences from the expected ratios (1:2:1 and 1:3) at 5 and 1 % levels, respectively.

Table 46. Number of varieties that showed distorted segregations found in 12 Indica varieties crossed with Acc504, and in 12 Japonica varieties crossed with Acc108

Type	Linkage group										
	3	6			7	8	11	12			
	<i>Pgi-1</i>	<i>Amp-3</i>	<i>Cat-1</i>	<i>Est-2</i>	<i>Pgi-2</i>	<i>Est-9</i>	<i>Amp-2</i>	<i>Pgd-1</i>	<i>Acp-1</i>	<i>Pox-2</i>	<i>Sdh-1</i>
Indica	2	1	0	6	6	3	1	0	6	5	1
Japonica	2	-	1	11	7	0	0	0	10	7	-

-:Not examined.

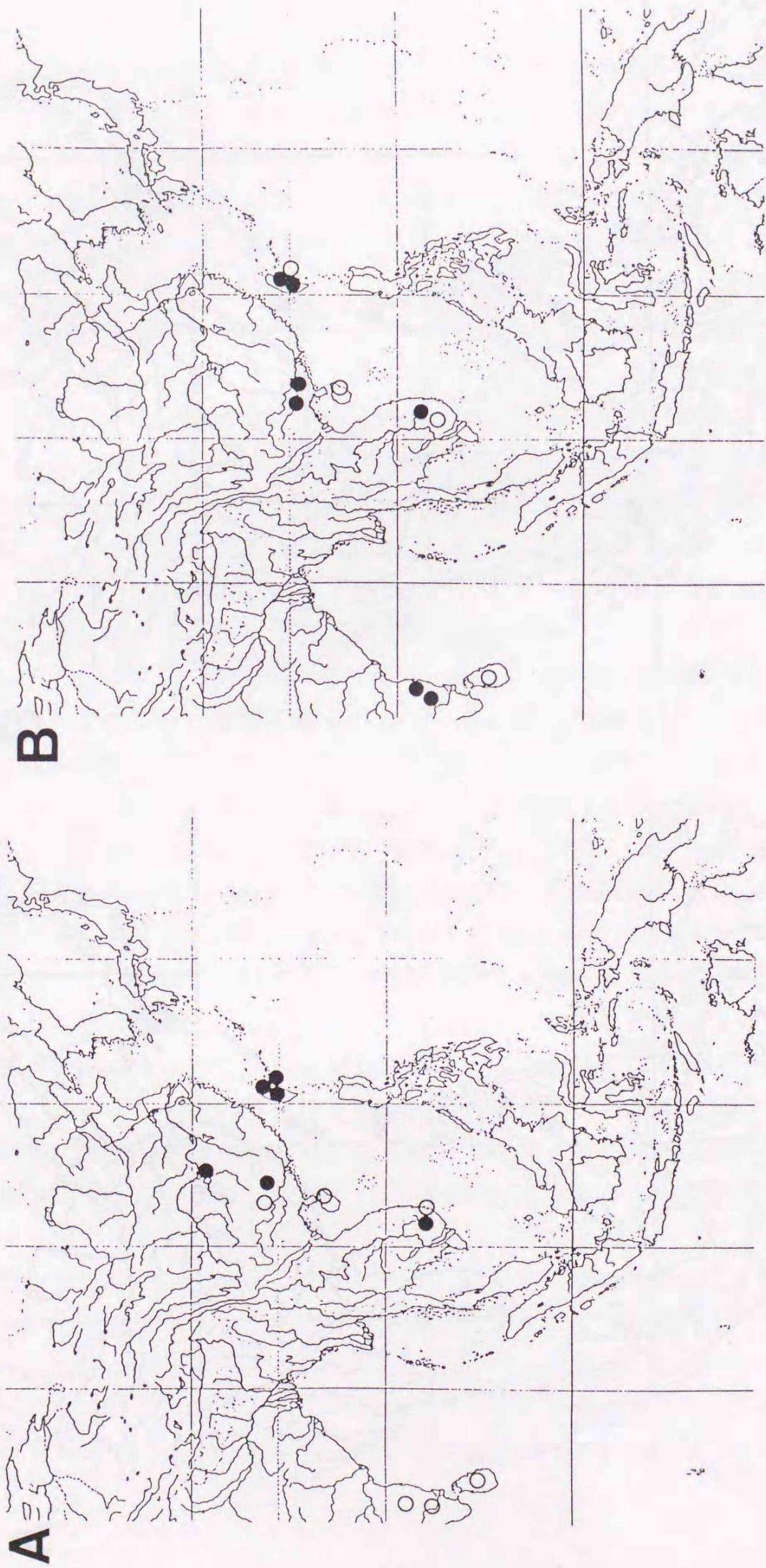


Fig. 15. Geographic distribution of 12 Indica varieties which showed normal (solid circle) and distorted (open circle) segregations for *ACP-1* (A) and *Pgi-2* (B) when crossed with Acc504.

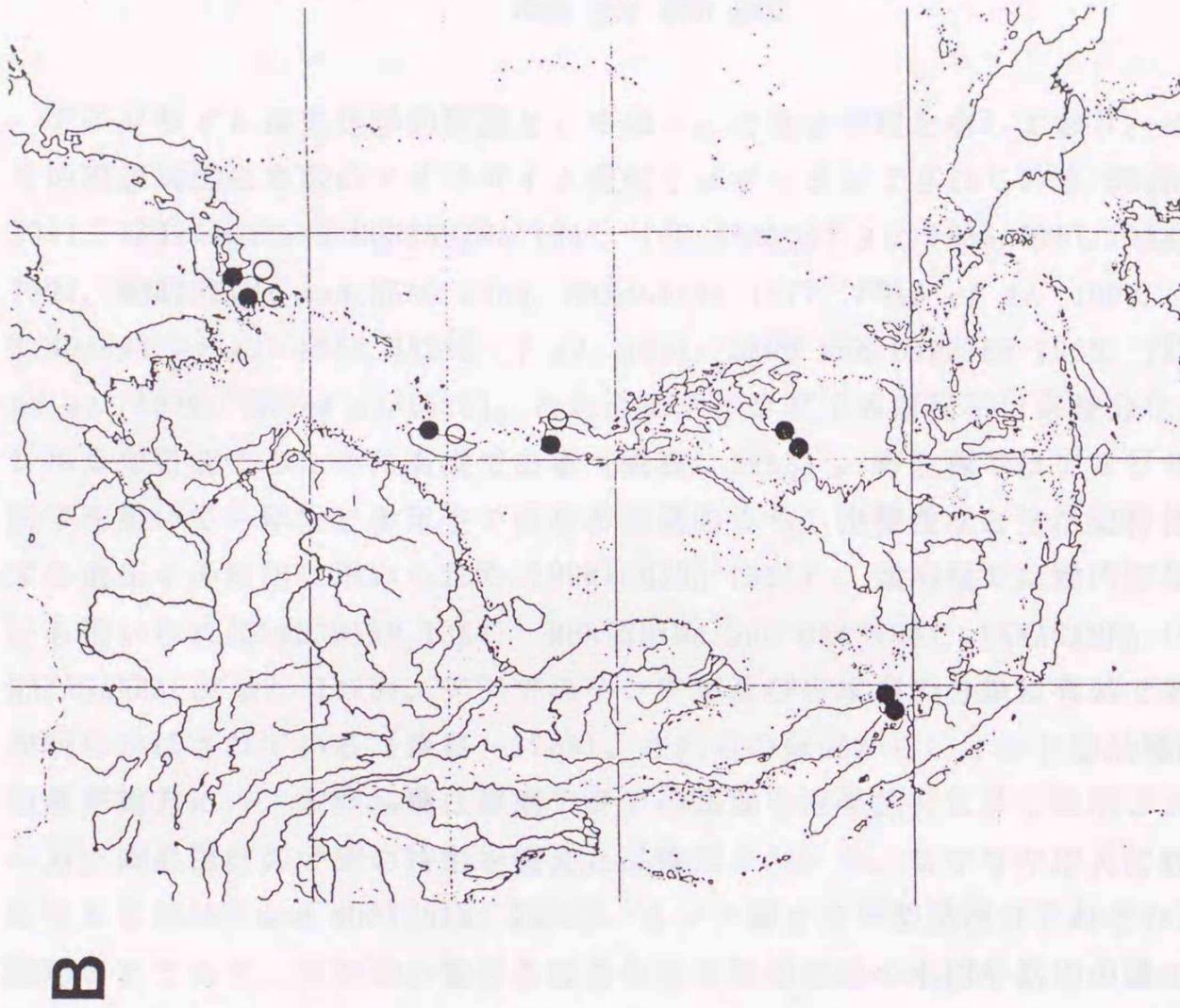
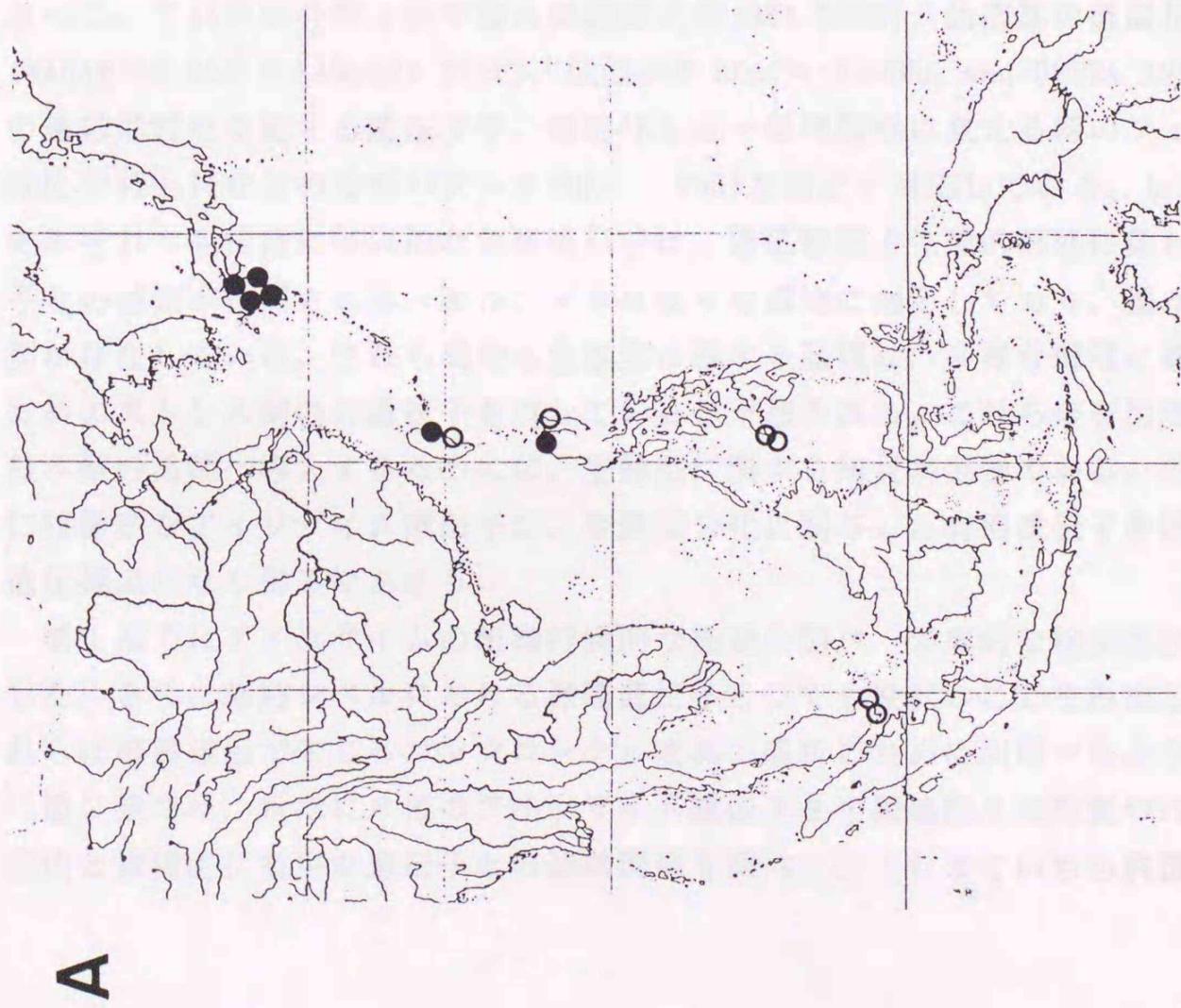


Fig. 16. Geographic distribution of 12 Japonica varieties which showed normal (solid circle) and distorted (open circle) segregations for *Acp-1* (A) and *Pgi-2* (B) when crossed with Acc108.

## 総合論議

アイソザイムは生化学的標識として様々な有効な特性を有しており、イネの種々の連鎖地図に多数のアイソザイム遺伝子がマッピングされている (BRAR *et al.* 1991, ISHIKAWA and MORISHIMA 1987, ISHIKAWA *et al.* 1986, 1987, 1988, 1989, 1991, MORISHIMA and SANO 1984, NAKAGAHRA 1977, PHAM *et al.* 1990, RANHJHAN *et al.* 1988, SAITO *et al.* 1991, SANO and BARBIER 1985, TANKSLEY *et al.* 1990, WU *et al.* 1988)。これらのアイソザイム遺伝子は系統分化を遺伝子レベルで研究するために有用である (森島 1988)。野生種ではアイソザイム遺伝子を用いて一年生と多年生で異なる形質のうち、出穂性など生活史特性を決定する遺伝子の検出に用いられた (MORISHIMA 1991)。栽培種では種内変異の研究にも用いられ (GLASZMANN 1987, MORISHIMA and OKA 1981, NAKAGAHRA 1978, NAKAGAHRA *et al.* 1975)、アジアのインド型及び日本型の分類に有効であることが明らかにされている (森島 1988)。これらの研究から、インド型品種は低地や亜熱帯地方に、日本型品種は東南アジアの高地や温帯地方に多く栽培されている。一方、両品種群の中間の特徴を備えた品種はネパール、ヒマラヤ地方に数多く認められる (SANO and MORISHIMA 1992)。インド型と日本型品種はそれぞれ異所的に栽培されており、分布域の重なる場合も日本型は高地の水田や低地の畑の陸稲として栽培されている (丁 1957, MORISHIMA *et al.* 1984, SATO *et al.* 1986)。さらに、これらの分布は幼芽期の低温抵抗性 (OKA 1958)、幼苗期の低温枯死 (NAGAMINE and NAKAGAHRA 1990)、低温クロロシス (CHUONG and OMURA 1982) などの適応形質を支配する遺伝子や、適応性とは一見無関係に見える籾のフェノール反応や稈毛長などの分布パターン (OKA 1958) ともよく対応している。したがって、それぞれの品種群に特異的な標識遺伝子は、適応形質や生殖的隔離に係わる遺伝子との連鎖が推測される。また、イネは様々な環境に適応しており、種々の生態型が存在している。これら異なる生態型に属する品種は、多様な環境に適応するためのストレス耐性の遺伝子を有していると予想される。これらの有用遺伝子を日本型の品種へ導入するためには、生態型に関する知見が重要である。各生態型に特徴的なアイソザイム遺伝子は、生態型分化に関与した有用遺伝子を解析する遺伝標識になり得るであろう。

第1章ではアイソザイムの組織特異的な発現を調べ、効率的な検出方法を確立した。さらに細胞レベルにおける標識遺伝子としても役立つことをみ出した。これらは培養過程で生じるソマクローナル変異の解析のために利用できよう。

第2章では、新たに8種のアイソザイム遺伝子を連鎖地図上に位置づけ、その座位と育種的に有用な遺伝子との連鎖関係を調べた。これまでのいもち病抵抗性遺

伝子と密に連鎖するアイソザイム遺伝子は明らかにされていないが、*Adh-1*は従来の連鎖地図上の標識遺伝子との連鎖関係から、いもち病抵抗性遺伝子である*Pi-a*と密に連鎖していることが推定された。また、*Pgd-1*は*1a*との連鎖の方向が同じであれば、同じくいもち病抵抗性遺伝子の*Pi-se*と連鎖していると推定される。今の所、直接的に連鎖関係を調べたデータがないので早急に検証が望まれる。アイソザイム遺伝子は

RFLP地図にも既に7座が組み込まれており(BRAR *et al.* 1991, SAITO *et al.* 1991), 従来の連鎖地図とRFLP地図の対応にも役立つであろう。

第3章ではこれらのアイソザイム遺伝子を用いて、アジアの在来種における遺伝子の多型を探索した。アジアの在来種は形態や生理的形質、生殖隔離の現象などからインド型と日本型に分けられる(加藤・丸山 1928, 加藤ら 1928, 松尾 1952, OKA 1958)が、アイソザイム遺伝子にも両品種群に対応する分化がみられた。これらの遺伝子としては既に報告されているアイソザイムの7座(森島 1988, MORISHIMA and OKA 1981, SANO and MORISHIMA 1992)に加えて、さらに新たな2座が品種群判別の標識として有効であった。アイソザイムは適応性に関して中立であり、アイソザイム遺伝子は異なる連鎖群に位置している場合が多く、それら自身が直接的に適応分化に関係しているか同一の遺伝子ブロックに所属しているというよりは、次に挙げるような機構によって各品種群に特異的な遺伝子が生じたと考えられる。

- 1) 特定の遺伝子組み合わせを持つ配偶子が受精に有利となる機構が存在しており、アイソザイム遺伝子がそれらと連鎖しているために生じた(OKA 1988, SATO 1991, SATO *et al.* 1990b)。
- 2) 複数の適応性に関する遺伝子と標識遺伝子が連鎖することにより、品種群に特有の遺伝子や形質組合せを生じた(森島 1988)。
- 3) これら両機構が同時に働いていた。

したがって、これらアイソザイム遺伝子を基にして適応や生殖隔離に係わる遺伝子を明らかにすることができよう。第2章では両品種群に特異的な遺伝子を含む8種のアイソザイム遺伝子をマッピングしたので、今後育種的に利用価値の高い遺伝子の分析に利用可能である。

日本には複雑な経路、様々な年代に日本型のみならず少数のインド型も伝播していることが、形態や生理的形質から推察されている(渡部 1987, 佐藤 1991)。本論文では、日本の在来種のアイソザイム多型からインド型の伝播が確認できた。これらのインド型品種は共通した*Pgd-1<sup>3</sup>*, ならびに類似した形態・生理的形質を有しており、日本のインド型品種が共通の祖先系統に由来する可能性も示唆された。さらに、品種名から大唐米系統に属する品種が認められたことから、日本の

インド型は大唐米系統に属すると推定された。一方、水稻の主流は日本型品種であり、同一の遺伝子組み合わせを有する品種がその大部分を占めていた。これは明治以降の強い人為淘汰がインド型である大唐米に向けられ、少数の有望品種のみ選抜されたことによると考えられる（宮川 1987）。インド型品種の淘汰は、同品種が日本人に好まれなかったためか、日本の栽培環境に適応できず高収量を挙げるができなかったためと推定される（嵐 1964, 宮川 1987）。また、インド型と日本型の間期的特徴を持つ品種がみ出せなかったため、組換え型の個体が生存できないような内在的機構が存在したか、間期的特徴を持つ品種がなんらかの要因で淘汰されたと推測される。

アイソザイム遺伝子の多型から日本の水・陸稲間の遺伝的な分化を調査したところ、陸稲主流品種群に日本の水稻にはみられない *Pgd-1<sup>2</sup>* が存在した。さらに、この陸稲主流品種群には独特な形態及び生理的形質も認められた。これらの遺伝的分化により、日本の水稻と陸稲は生態型として位置づけられるであろう。生態型に特異的なアイソザイム遺伝子は、陸稲の持ついもち病抵抗性遺伝子との連鎖から付随したか、水稻と陸稲の祖先の遺伝子型に由来した可能性が考えられる。今後、*Pgd-1* といもち病抵抗性遺伝子との連鎖を確認することが重要であろう。

第4章ではインド型・日本型品種群のそれぞれに特異的なアイソザイム遺伝子を用いて、出穂性遺伝子の1つが *Pgi-2* と連鎖する *Se-1* であること、稈毛長を支配する遺伝子のうち、少なくとも1つが *Amp-3* 及び *Est-2* と連鎖していることが明らかとなった。*Pgi-2* は出穂性の選抜標識として役立つであろう。また、*gl-1* に代わる短稈毛遺伝子として収穫時の粉塵の軽減に有用である *Aph1* は、*Amp-3* を指標として予備選抜できよう。さらに両品種群間の交雑後代においては、特定のアイソザイム遺伝子で分離の歪みを生じることが明らかにされた。その遺伝的要因は配偶体遺伝子 (*Ga*) であると考えられるが、それと連鎖する遺伝子群の組換え制限要素となったり、組換え価の算出や遠縁品種からの有用遺伝子の導入の妨げになると考えられる。また、これらの歪みは生殖隔離機構とも関係があり、系統分化の道筋を知る上に重要であると考えられる。

本研究では、アイソザイム遺伝子の個体と細胞レベルでの検出を行い、次いで遺伝子分析により連鎖地図上の座位を明らかにした。これら遺伝子は個体レベルでの育種上の初期選抜の遺伝標識として、ならびに細胞レベルにおける遺伝標識として用いられるであろう。さらに、イネの遺伝資源の探索に利用して、インド型-日本型及び水稻-陸稲のように分化した品種群に特徴的なアイソザイム多型を明らかにし、アイソザイム遺伝子と系統分化の機構に関与する遺伝子との連鎖をみ出した。このような連鎖は系統分化の解明のため重要なばかりでなく、耐病性やストレス耐性の遠縁品種からの導入にも役立つと考えられる。今後の育種に

においてアイソザイム遺伝子の利用はますます拡大されるであろう。特に、アイソザイム遺伝子を用いた系統分化の研究と各連鎖地図上の座位に関する知見を統合することは、アイソザイム遺伝子を利用して適応形質を初期選抜するのに大きな意義を有するであろう。

### 参考文献

- 1) 大塚武彦(1971)アイソザイム遺伝子。pp. 71-74。『遺伝学』(1971) 20(1) 20-24。Gakko Shoin, Tokyo.
- 2) 大塚武彦(1972)アイソザイム遺伝子。pp. 1-10。『遺伝学』(1972) 21(1) 1-10。Gakko Shoin, Tokyo.
- 3) 大塚武彦(1973)アイソザイム遺伝子。pp. 1-10。『遺伝学』(1973) 22(1) 1-10。Gakko Shoin, Tokyo.
- 4) 大塚武彦(1974)アイソザイム遺伝子。pp. 1-10。『遺伝学』(1974) 23(1) 1-10。Gakko Shoin, Tokyo.
- 5) 大塚武彦(1975)アイソザイム遺伝子。pp. 1-10。『遺伝学』(1975) 24(1) 1-10。Gakko Shoin, Tokyo.
- 6) 大塚武彦(1976)アイソザイム遺伝子。pp. 1-10。『遺伝学』(1976) 25(1) 1-10。Gakko Shoin, Tokyo.
- 7) 大塚武彦(1977)アイソザイム遺伝子。pp. 1-10。『遺伝学』(1977) 26(1) 1-10。Gakko Shoin, Tokyo.
- 8) 大塚武彦(1978)アイソザイム遺伝子。pp. 1-10。『遺伝学』(1978) 27(1) 1-10。Gakko Shoin, Tokyo.
- 9) 大塚武彦(1979)アイソザイム遺伝子。pp. 1-10。『遺伝学』(1979) 28(1) 1-10。Gakko Shoin, Tokyo.
- 10) 大塚武彦(1980)アイソザイム遺伝子。pp. 1-10。『遺伝学』(1980) 29(1) 1-10。Gakko Shoin, Tokyo.

## 摘 要

本論文ではイネ (*Oryza sativa* L.) のアイソザイム遺伝子の効率的な検出が行える組織と同遺伝子の植物体及びカルスにおける発現様式を明らかにした。次いで14種のアイソザイム遺伝子の座乗染色体を明らかにし、新たに8種のアイソザイム遺伝子を従来の連鎖地図上に組み入れた。また、アイソザイム遺伝子を用いて、インド型-日本型品種群及び水稲-陸稲の系統分化に関連する適応形質の遺伝子や生殖的隔離機構を支配する遺伝子との連鎖関係を調べ、系統分化機構の解明や育種研究へ応用することを試みた。

### 第1章

- 1) アイソザイムの18遺伝子, *Acp-1*, *Adh-1*, *Adh-2*, *Amp-1*, *Amp-2*, *Amp-3*, *Cat-1*, *Est-2*, *Est-5*, *Est-9*, *Gdh-1*, *Pgd-1*, *Pgd-2*, *Pgi-1*, *Pgi-2*, *Pgi-3*, *Pox-2*及び*Sdh-1*の発現を2つの緩衝液系を用いた澱粉ゲルによって、さらに*Mal-1*の発現をポリアクリルアミドゲル電気泳動によって識別した。
- 2) 好気条件におかれた種子根、幼芽及び成葉における17のアイソザイム遺伝子の発現様式を調査し、8遺伝子が種子根、幼芽及び成葉では同じバンドパターンを示し、3遺伝子が各組織で異なるバンドパターンを示し、残る6遺伝子が組織特異的にバンドの消失を伴う3グループに分けられた。さらに、組織特異的にバンドを消失する遺伝子は、種子根だけで発現が認められる*Adh-2*、種子根と幼芽で発現が認められる*Amp-2*, *Cat-1*, *Est-9*及び*Pgd-1*、成葉でのみ発現が認められる*Pgi-3*の3種に分けられた。嫌気条件では*Adh-2*の発現様式の変更がみられた。
- 3) 17遺伝子について組織特異的な発現を調べ、種子根では*Pgi-3*以外の16遺伝子、幼芽では*Adh-2*と*Pgi-3*以外の15遺伝子の発現がみられた。しかし、成葉で遺伝子型が識別できたのは、*Adh-2*, *Amp-2*, *Cat-1*, *Est-5*, *Est-9*及び*Pgd-1*以外の11遺伝子であった。したがって、種子根及び幼芽が複数のアイソザイムを調査するのに適当な組織であると判明した。
- 4) カルスにおける発現は、カルス誘導直後から培養中において同じバンドパターンをみせた12遺伝子、培養中にそのバンドパターンの変化した3遺伝子、及び発現が認められなかった*Pgd-1*と培養中にバンドが消失した*Est-9*の2遺伝子の3グループに分けられた。各グループの遺伝子は、植物体における発現様式について分類された遺伝子とは関連せず、カルスで安定した発現を示しても植物体では発現が変化する例もみられた。しかし、少なくとも培養中に安定して同じ発現がみられた12遺伝子については、カルスにおける遺伝標識として用い得るこ

とが明らかとなった。

5) 11種のアイソザイム遺伝子, *Acp-1*, *Adh-1*, *Amp-2*, *Amp-3*, *Cat-1*, *Est-2*, *Est-9*, *Pgd-1*, *Pgi-1*, *Pgi-2*及び*Sdh-1*はいずれも共優性を示した。F<sub>1</sub>からカルスを誘導して, 1年間の培養中における対立遺伝子の発現の変化を調査したところ, *Adh-1*, *Amp-2*, *Amp-3*, *Cat-1*, *Est-2*, *Pgi-1*, *Pgi-2*及び*Sdh-1*の8座では発現が全く変わらなかった。

## 第2章

1) 日本型の1次トリソミックスシリーズとインド型品種または野生イネとの交雑F<sub>2</sub>においてトリソミック分析を行った結果, *Acp-1*及び*Pox-2*は第12連鎖群, *Amp-2*は第7連鎖群, *Cat-1*は第6連鎖群, *Pgd-1*は第11連鎖群に, *Sdh-1*は第12連鎖群に所属することが明らかになった。*Pgd-1*はトリソミックのF<sub>1</sub>における遺伝子の供与量効果を確認した。*Sdh-1*は3種の対立遺伝子をトリソミックに集積することで, 座乗する連鎖群がそれぞれ第11連鎖群と第12連鎖群であることを確認した。

2) アイソザイム遺伝子座を調べた結果, 第1連鎖群では*Est-5*と*1ax*が15.1%で連鎖していた。第3連鎖群では*chl-1*—*Gdh-1*—*Pgi-1*—*v-1*の順に位置することが明らかとなった。第6連鎖群では*Pgd-2*と*Amp-3*, *Est-2*, *Pgi-2*との位置関係が明らかとなった。第11連鎖群では*1a*—*v-4*—*Pgd-1*—*Adh-1*の順に位置していた。第12連鎖群では*Acp-1*—*Pox-2*—*r1-3/d-33*—*Sdh-1*—*spl-1*の順に連鎖していた。トリソミック分析で*Amp-2*及び*Cat-1*の座乗染色体が確認されたため, 14種のアイソザイム遺伝子は6種の連鎖群に分けられ, 新たに8種のアイソザイム遺伝子が連鎖地図上に組み込まれた。連鎖地図上では*Pgi-2*が感光性*Se-1*と連鎖することが既に判明しており, また*Adh-1*の座位からいもち病抵抗性の*Pi-a*と密に連鎖することが推定された。

## 第3章

1) インド型・日本型品種群間では, アイソザイム遺伝子の7座に加えて新しい4座を含めた遺伝子の出現頻度が有意に異なっていた。これら4座のうち*Mal-1*及び*Pgi-3*の各対立遺伝子はそれぞれの品種群に特異的に存在していた。9座の25遺伝子から判別値(D値)を算出した。このD値の平均を用いてアジアのイネ60品種をインド型と日本型へ分類した結果は, 形態・生理的形質による分類と98%の確率で一致した。

2) 日本のお米のアイソザイム遺伝子組み合わせは19型認められたが集団の多型性は低く、遺伝子型の変異からは3群に分けられた。450品種の内、365品種(80.7%)が同一の遺伝子を有しており、お米A群とした。また、この遺伝子組み合わせと1-2遺伝子で異なる日本型の80品種をお米B群とした。インド型と判定された5品種は九州及び沖縄の品種で、お米C群と分類した。その名称から大唐米系統と推測される品種もこの群に含まれた。お米B群の遺伝変異は遺伝資源として重要であるが、お米A及びB群の遺伝的分化は明らかでなかった。したがって、日本のお米は遺伝的に日本型の品種(お米A及びB群)とインド型の品種で分化していることが明らかであった。

3) 日本のお米はお米より多型であった。さらに、66品種には11種類のアイソザイム遺伝子組み合わせが存在し、日本のお米には存在しない遺伝子を持つ品種が多数存在した。さらに、各品種はインド型と日本型に分けられたことにより、お米は大きく次の3群、日本型のお米からの転用品種と推定され*Pgd-1<sup>1</sup>*を有するお米A群、日本型で*Pgd-1<sup>2</sup>*を有するお米B群、インド型品種で*Pgd-1<sup>3</sup>*を有するお米C群へ分類された。出現頻度からお米B群が日本のお米の主流と考えられた。さらに、*Pgd-1*座はお米に特異的ないもち病抵抗性遺伝子である*Pi-se*の近傍に位置すると推定されるが、なお確認を要する。お米の主流品種群の遺伝的分化と水・お米のインド型品種の相違を確認するために、*Pgd-1*の遺伝子型で分別できるインド型品種群、日本型のお米品種(お米A及びB)群、お米と異なる遺伝子を有する日本型のお米品種(お米B)群の形態・生理的形質を調査した。インド型品種群は赤米、短稈毛、細長い粉、フェノール反応が+を示し、日本型のお米品種群は、白米、長稈毛、丸い粉、フェノール反応が-を示し、日本型のお米品種群は、白米、インド型と同程度の短稈毛、お米よりやや細長くインド型よりも丸い粉、フェノール反応が+を示す傾向を持っていた。以上の結果から、日本のインド型品種群、お米品種(お米A及びB)群及びお米品種(お米B)群は、それぞれ形態・生理的形質においても分化しており、独特の形質組み合わせを有していることが明らかとなった。

#### 第4章

1) *Acc563* × *Acc853*の交雑組み合わせで出穂性及び稈毛長を支配する遺伝子とアイソザイム遺伝子との連鎖関係を推定した。出穂性には少なくとも2遺伝子が関与しており、その遺伝子の1つは第6連鎖群の*Pgi-2*と強く連鎖していた。その遺伝子効果は不完全優性であり、この遺伝子は*Se-1*座の対立遺伝子であると推定された。また、稈毛長に係わる少なくとも1つの遺伝子が第6連鎖群の*Amp-3*と強く

連鎖しており，インド型品種が有する遺伝子は短稈毛で優性であった。

2) 日本型Acc504とインド型の12品種との交雑組み合わせから，第6連鎖群の*Est-2*及び*Pgi-2*，ならびに第12連鎖群の*Acp-1*及び*Pox-2*はいずれも異常分離を示した。インド型のAcc108と日本型の12品種との交雑組み合わせによる同様の調査からも，上記の4座で異常分離がみられた。また，インド型と熱帯日本型品種とのF<sub>1</sub>個体では花粉の稔性が高く*Acp-1*の正常分離を示し，同じインド型と温帯日本型品種とのF<sub>1</sub>個体では花粉の稔性が低く*Acp-1*の異常分離を示した。したがって，これら2種類の日本型品種群間には何らかの分化を生じている可能性が示唆された。

アジアのイネはアイソザイム遺伝子についても他の系統分化に係わる形態・生理的形質と同様に独特な遺伝的分化を生じ，大きくインド型及び日本型の2品種群に分けられる。これらの形質を支配する遺伝子は複数の連鎖群に分散しているので，配偶子淘汰，適応形質を支配する遺伝子との連鎖，もしくはこの両者の組み合わせによって独特の遺伝子組み合わせを生じた可能性が考えられる。今後，アイソザイム遺伝子を用いることにより，生殖的隔離に関する遺伝子や適応形質に関する遺伝子の分化をより詳細に解明できると考えられる。本論文では，複数のアイソザイム遺伝子を連鎖地図に位置づけ，出穂性遺伝子や稈毛長との連鎖関係を明らかにした。さらに，日本の陸稲に特徴的なアイソザイム遺伝子について明らかにした。

## 謝辞

本論文は、北海道大学農学部作物育種学講座、国立遺伝学研究所育種遺伝研究部門、さらに弘前大学農学部育種学研究室における研究に基づいて作成された。この研究の端緒を与えられ、終始懇篤なる指導を賜った北海道大学農学部教授木下俊郎博士に厚く御礼申し上げます。研究の指導を戴いた国立遺伝学研究所教授森島啓子博士、弘前大学教授斎藤健一博士、ならびに同大学教授の新関 稔博士に感謝の意を表す。イネの種分化に関わる様々な現象について有益な助言を戴いた国立遺伝学研究所名誉所員岡 彦一博士、同研究所助教授佐野芳雄博士、同研究所佐藤洋一郎博士、同研究所佐野礼子修士、遺伝実験の手法ならびに適応の理論について多大な助言を戴いた岡山大学教授武田和義博士、東北大学佐藤雅志博士、北海道大学助教授森 宏一博士、ならびに同大学高牟禮逸朗修士に深謝する。また貴重なトリソミック系統と標識遺伝子系統を快く分譲して戴いた九州大学教授岩田伸夫博士、ならびに日本の在来種を分譲して戴いた青森県農業試験場及び農林水産省生物資源研究所関係諸氏に感謝する。国立遺伝学研究所の農場の方々、弘前大学の学生諸氏には実験材料であるイネの育苗・管理に対して多大な協力を戴いたのでここに銘記して深く感謝の意を表す。

本論文の執筆にあたっては、森島啓子博士、佐藤洋一郎博士、佐藤雅志博士の有用な助言を戴き、斎藤健一博士、新関 稔博士には御校閲を賜りました。各位に謹んで感謝の意を表す。

本論文の審査に当たり、周到なる御校閲ならびに細心なる御指導を戴いた恩師、北海道大学農学部教授木下俊郎博士には深く感謝の意を表す。また、御多忙のところ時間を割いて本論文に御校閲の労をとられた北海道大学農学部教授島本義也博士ならびに同教授三上哲夫博士に謹んで感謝の意を表す。

## 引用文献

- AARTS, J. M. M. J. G., J. G. J. HONTELEZ, P. FISCHER, R. VERKERK, A. V. KAMMEN and P. ZABEL 1991. *Acid phosphatase-1<sup>1</sup>*, a tightly linked molecular marker for root-knot nematoda resistance in tomato : from protein to gene, using PCR and degenerate primers containing deoxyinosine. *Plant. Mol. Biol.* 16:647-661.
- ALLARD, R. W. 1956. Formulas and tables to facilitate the calculation of recombination values in heredity. *Hilgardia* 24:235-278.
- 嵐 嘉一 1964. 九州の赤米. “イネの日本史 上”. 盛永俊太郎編, 築摩書房, 東京, 120-133頁.
- 嵐 嘉一 1974. “日本赤米考.” 雄山閣, 東京, 295頁.
- BERNATZKY, R. and S. D. TANKSLEY 1986. Toward a saturated linkage map in tomato based on isozymes and random cDNA sequences. *Genetics* 112:887-898.
- BOTSTEIN, D., R. L. WHITE, M. SKOLNICK and R. W. DAVIS 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Amer. J. Hum. Genet.* 32:314-331.
- BRAR, D. S., de los REYES, O. PANAUD, A. SANCHEZ and G. S. KHUSH 1991. Genetic mapping in rice using isozyme and RFLP markers. *In* “Rice Genetics II”, IRRI, Manila, pp.137-145.
- CHU, Y. E. 1967. Variations in peroxidase isozymes of *Oryza perennis* and *O. sativa*. *Jpn. J. Genet.* 42:233-244.
- CHU, Y. E. and H. I. OKA 1967. Comparison of variations in peroxidase isozyme between *perennis-sativa* and *breviligulata-glaberrima* series of *Oryza*. *Bot. Bull. Acad. Sinica.* 8:261-270.

CHUONG, P.V. and T. OMURA 1982. Studies on the chlorosis expressed under low temperature condition in rice, *Oryza sativa* L.. Bull. Inst. Trop. Agr. Kyushu Univ. 5:1-58.

CLAUSEN, J. 1967. Biosystematic consequences of ecotypic and chromosomal differentiation. Taxon. 16:271-279.

DAVIS, B.J. 1964. Disc electrophoresis - II. Method and application to human serum proteins. Ann. N.Y. Acad. Sci. 121:404-436.

DOLFERUS, R., D.V.D. BOSSCHE and M. JACOBS 1990. Sequence analysis of two null-mutant alleles of the single *Arabidopsis Adh* locus. Mol. Gen. Genet. 224:297-302.

EAST, E.M. 1916. Studies on size inheritance in *Nicotiana*. Genetics 1: 164-176.

遠藤 徹 1974. 突然変異とアイソザイム. 育種学最近の進歩 14:61-70.

ENDO, T. 1981. Developmental modification and hybridization of allelic acid phosphatase isozymes in homo- and heterozygotes for the *Acp-1* locus in rice. Biochem. Genet. 19:373-384.

ENDO, T. and H. MORISHIMA 1983. Rice. *In* "Isozymes in plant genetics and breeding, Part B". S.D. TANKSLEY and T.J. ORTON (eds.), Elsevier Sci. Publ. B.V., Amsterdam, pp.129-146.

藤巻 宏 1992. イネの品種分化と生態育種. 遺伝 46:19-25.

FUKUI, K. 1983. Sequential occurrence of mutations in a growing rice callus. Theor. Appl. Genet. 65:225-230.

蓬原雄三 1963. 突然変異個体の選抜. 育種学最近の進歩 4:88-94.

- FUTSUHARA, Y. and K. TORIYAMA 1966. Genetic studies on cool tolerance in rice. III. Linkage relations between genes controlling cool tolerance and marker genes of NAGAO and TAKAHASHI. Japan. J. Breed. 16:231-242.
- GLASZMANN, J.C. 1987. Isozymes and classification of Asian rice varieties. Theor. Appl. Genet. 74:21-30.
- GOTO, I. 1970. Genetic studies on the resistance of rice plant to the blast fungus. I. Inheritance of resistance in crosses Sensho×H-79 and Imochi-Shirazu×H-79. Ann. Phytopath. Soc. Japan 36:304-312.
- GOTO, I. 1978. Genetic studies on the resistance of rice plant to the blast fungus. III. Decline in the blast resistance of Ginga, a descendant variety of Sensho. Ann. Phytopath. Soc. Japan 44:447-455.
- 後藤岩三郎・バルチ アフメッド アリ 1983. 陸稲農林糯4号, 同26号に導入された戦捷のいもち病抵抗性遺伝子 *Pi-se*. いもち病抵抗性の遺伝 第V報. 山形大学紀要(農学) 9:121-125.
- GUIDERDONI, E., J.C. GLASZMANN and B. COURTOIS 1989. Segregation of 12 isozyme genes among doubled haploid lines derived from a *japonica*×*indica* cross of rice (*Oryza sativa* L.). Euphytica 42:45-53.
- GUSTAFSSON, A. 1941a. Mutation experiments in barley. Hereditas 27:225-242.
- GUSTAFSSON, A. 1941b. Preliminary yield experiments with ten induced mutations in barley. Hereditas 27:337-359.
- GUSTAFSSON, A. 1947. Mutations in agricultural plants. Hereditas 33:1-100.
- 浜田秀夫 1968. 日本稲の系統. “日本文化と南方文化”, 金関博士古希記念委員会編, 平凡社, 東京, 325-374頁.

- HARADA, K 1990. Brief introduction of RFLP mapping studies in Japan. Proc. 2nd Internatl. Workshop on Mol. Biol. of rice, pp.11.
- HERENTJARIS, T., M. SLOCUM, S. WRIGHT, A. SCHAEFER and J. NIENHUIS 1986. Construction of linkage maps in maize and tomato using restriction fragment polymorphisms. *Theor. Appl. Genet.* 72:761-769.
- HUNTER, R.L. and C.L. MARKERT 1957. Histochemical demonstration of enzyme separated by zone electrophoresis in starch gels. *Science* 125: 1294-1295.
- IKEHASHI, H. and A. ARAKI 1986. Genetics of F<sub>1</sub> sterility in remote crosses of rice. *In* "Rice genetics", IRRI, Manila, pp.119-130.
- 井上正勝・森元 武・田辺 潔・朱宮昭男・藤井 潔 1983. イネいもち病抵抗性超越品種育成の実態. *愛知農総試研報* 15:63-69.
- ISHII, T., T. TERACHI and K. TSUNEWAKI 1986. Restriction endonuclease analysis of chloroplast DNA from cultivated rice species. *Oryza sativa* and *O. glaberrima*. *Jpn. J. Genet.* 61:537-541.
- ISHIKAWA, R. and H. MORISHIMA 1989. Linkage analysis for four isozyme loci, *Adh-1*, *Acp-1*, *Pox-2* and *Pgd-2*. *Rice Genet. Newslet.* 6:109-112.
- ISHIKAWA, R., T. KINOSHITA and H. MORISHIMA 1986. A preliminary report on trisomic analysis of gene for isozymes. *Rice Genet. Newslet.* 3:53-55.
- ISHIKAWA, R., T. KINOSHITA and H. MORISHIMA 1987. Trisomic analysis of genes for isozymes: Location of *Cat-1*, *Acp-1* and *Pox-2* on chromosomes. *Rice Genet. Newslet.* 4:75-76.
- ISHIKAWA, R., T. KINOSHITA and H. MORISHIMA 1988. Linkage analysis of the *Pgd-1* locus. *Rice Genet. Newslet.* 5:81-82.

ISHIKAWA, R., H. MORISHIMA, K. MORI and T. KINOSHITA 1989. Chromosomal analysis of isozyme loci and the allelic expression at cellular level in rice - Genetical studies on rice plants, XCVII -. J. Fac. Agr. Hokkaido Univ. 64:85-98.

石川隆二・木原 誠・祭 圭男・新関 稔・斎藤健一 1989. イネ培養細胞におけるアイソザイム対立遺伝子の不発現現象. 育雑 39 (別2) :42-43.

ISHIKAWA, R., H. MORISHIMA, T. KINOSHITA, T. HARADA, M. NIIZEKI and K. SAITO 1991. Linkage analysis of nine isozyme genes on the conventional linkage map in rice. Japan. J. Breed. 41:265-272.

IWATA, N. 1990. E. Report of the committee on genetic stocks. Rice Genet. Newslt. 7:58-64.

岩田伸夫・大村 武 1978. イネの連鎖研究 標識遺伝子と連鎖がみられた若干の albino 遺伝子について. 九大農学芸誌. 33:11-18.

岩田伸夫・永松土巳・大村 武 1964. イネの第I連鎖群に属する配偶体遺伝子によるモチ性および稔先色の異常分離. 育雑 14:31-39.

IWATA, N., T. OMURA and M. NAKAGAHRA 1970. Studies on the trisomics in rice plants (*Oryza sativa* L.) I. Morphological classification of trisomics. Japan. J. Breed. 20:230-236.

岩槻信治 1942. 稲熱病高度耐病性を有する水稻品種育成顛末. 育種研究 1:25-41.

JONES, D. F. 1924. Selective fertilization among the gametes from the same individuals. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 10:218-221.

加藤茂包・丸山吉男 1928. 稲の異なる品種間に於ける類縁関係の血清学的研究. 九大農学芸誌 3:16-29.

加藤茂包・小坂 博・原 史六 1928. 雑種植物の結実度から見たる稲品種の類縁について. 九大農学芸誌 3:132-147.

KAWAI, T. and H. SATO 1965. Studies on artificial induction of mutations in rice by chemicals. I. Chlorophyll mutations by ethylene imine and ethylene oxide treatments. Bull. Natl. Inst. Agr. Sci. D13:133-162.

KHUSH, G. S. 1990. Molecular biology and rice improvement. Proc. 2nd Internatl. Workshop on Mol. Biol. of rice, pp.1-2.

菊池文雄 1979. イネ雑種集団の遺伝構成におよぼす環境の影響. 農技研報 D30:69-179.

KINOSHITA, T. 1987. Report of the committee on gene symbolization, nomenclature, and linkage groups. Rice Genet. Newslt. 4:3-37.

木下俊郎 1992. イネのRFLPsマーカー地図の育種的利用. “平成3年度科学研究費補助金(一般研究B)研究成果報告書”, 120頁.

KINOSHITA, T. and M. TAKAHASHI 1991. The one hundredth report of genetical studies on rice plant - Linkage studies and future prospects -. J. Fac. Agr. Hokkaido Univ. 65:1-61.

KOCHKO, de. A. 1987. Isozymic variability of traditional rice (*Oryza sativa* L.) in Africa. Theor. Appl. Genet. 73:675-682.

小西猛朗・松浦誠司 1987. わが国の二条大麦品種の変遷とエステラーゼ同位酵素の変異. 育雑 37:412-420.

KONISHI, T., N. KAWADA, H. YOSHIDA and K. SOHTOME 1989. Linkage relationship between two loci for the Barley Yellow Mosaic resistance of Mokusekko 3 and esterase isozymes in barley (*Hordeum vulgare* L.). Japan. J. Breed. 39:423-430.

工藤政明 1968. イネの生態群間雑種における生理生態的特性の遺伝育種学的研究.

農技研報 D19:1-84.

- KURATA, N. and T. OMURA 1978. Karyotype analysis in rice. I. A new method for identifying all chromosome pairs. Jpn. J. Genet. 56:251-255.
- LANDER, E. S. and D. BOTSTEIN 1989. Mapping Mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. Genetics 121:185-199.
- 前川雅彦 1982. 遠縁稲間における遺伝的差異に関する研究. 北大農邦文紀 13:146-177.
- MAEKAWA, M., T. KINOSHITA and M. TAKAHASHI 1981. A new gametophyte gene in the second linkage group of rice - Genetical studies on rice plant, LXXVI-. J. Fac. Agr. Hokkaido Univ. 60:107-114.
- MARKERT, C. L. and F. MOLLER 1959. Multiple forms of enzymes: Tissue, ontogenetic, and species specific patterns. Proc. Nat. Acad. Sci. 45:753-763.
- 丸山清明・菊池文雄・横尾政雄 1983. 陸稲農林糯4号の葉いもち圃場抵抗性の遺伝分析ならびに育種的利用. 農技研報 D35:1-31.
- 松尾孝嶺 1952. 栽培稲に関する種生態学的研究. 農技研報 D3:1-111.
- MCCOUCH, S. R., G. KOCHERT, Z. H. YU, Z. Y. WANG, G. S. KHUSH, W. R. COFFMAN and S. D. TANKSLEY 1988. Molecular mapping of rice chromosomes. Theor. Appl. Genet. 76:815-829.
- MCCOUCH, S. R., G. S. KHUSH and S. D. TANKSLEY 1991. Tagging genes for disease and insect resistance via linkage to RFLP markers. /n "Rice genetics II", IRRI, Manila, pp.443-450.
- MEDINA-FILHO, H. P. 1980. Linkage of *Aps-1*, *Mi* and other markers on chromosome 6. Rep. Tomato Genet. Coop. 30:26-28.

MICHELMORE, R. W., I. PARAN and R. V. KESSELI. 1991. Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: A rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:9828-9832.

宮川修一 1987. 大唐米と低湿地開発. “稲のアジア史 第三巻 アジアの中の日本稲作文化—受容と成熟—”. 渡部忠世編, 小学館, 東京, 251-290頁.

森 宏一・木下俊郎・高橋萬右衛門 1973. 遠縁稲間交雑における胚乳の糯稈性に関する分離の歪みとその原因 —稲の交雑に関する研究, 第LVIII報—. 北大農邦文紀 8:74-86.

MORINAGA, T. 1968. Origin and geographical distribution of Japanese rice. JARQ 3:1-5.

MORINAGA and KURIYAMA 1955. Japonica type rice in the subcontinent of Indica and Java. Japan. J. Breed. 5:149-153.

森島啓子 1988. 稲の進化遺伝学的研究におけるアイソザイムの利用. 育種学 最近の進歩 29:71-78.

MORISHIMA, H. 1991. Association between *Pox-1* variation and seed productivity potential in wild rice. /in “Rice genetics II”, IRRI, Manila, pp.1-9.

MORISHIMA, H. and H. I. OKA 1981. Phylogenetic differentiation of cultivated rice, XXII. Numerical evaluation of the Indica-Japonica differentiation. Japan. J. Breed. 31:402-413.

MORISHIMA, H. and R. SANO 1984. Genic analysis for isozymes in rice. Rice Gent. Newslt. 1:117-118.

MORISHIMA, H. and J. C. GLASZMANN 1991. Current status of isozyme gene

symbols. Rice Genet. Newslt. 7:50-57.

MORISHIMA, H., H. I. OKA and W. T. CHANG 1961. Directions of differentiation in populations of wild rice, *Oryza perennis* and *O. sativa* f. *spontanea*. Evolution 15:326-339.

MORISHIMA, H., K. HINATA and H. I. OKA 1963. Comparison of modes of evolution of cultivated forms from two wild rice species, *Oryza breviligulata* and *O. perennis*. Evolution 17:170-181.

MORISHIMA, H., Y. SHIMAMOTO, Y. SANO and Y. I. SATO 1984. Observations on wild and cultivated rices in Thailand for ecological-genetical study. - Report of study tour in 1983. National Institute of Genetics, MISHIMA, 67pp.

MURASHIGE, T. and F. SKOOG 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 15:473-479.

NAGAMINE, T. and M. NAKAGAHRA 1990. Genetic variation of chilling injury at seedling stage in rice, *Oryza sativa* L.. Japan. J. Breed. 40:449-455.

NAGAO, S. and M. TAKAHASHI 1963. Trial construction of twelve linkage groups in Japanese rice - Genetical studies on rice plant, XXVII -. J. Fac. Agr. Hokkaido Univ. 53:72-130.

NAGATO, Y., H. KITANO, O. KAMIJIMA, S. KIKUCHI and H. SATOH 1989. Developmental mutants showing abnormal organ differentiation in rice embryo. Theor. Appl. Genet. 78:11-15.

NAKAGAHRA, M. 1972. Genetic mechanism on the distorted segregation of marker genes belonging to the eleventh linkage group in cultivated rice. Japan. J. Breed. 22:232-238.

NAKAGAHRA, M. 1977. Genic analysis for esterase isoenzymes in rice

cultivars. Japan. J. Breed. 27:141-148.

NAKAGAHRA, M. 1978. The differentiation, classification and center of genetic diversity of cultivated rice (*Oryza sativa* L.) by isozyme analysis. Trop. Agr. Res. Ser. 11:77-82.

中川原捷洋 1981. 栽培イネ遠縁交雑に認めた遺伝子の不均等伝達とその遺伝的機構の解明 - 第3染色体に属する標識遺伝子の異常分離について -. 農技研報 D32:15-44.

NAKAGAHRA, M., T. OMURA and N. IWATA 1974. New certation gene on the first linkage group found by inter-subspecific hybridization of cultivated rice. J. Fac. Agr. Kyushu Univ. 18:157-167.

NAKAGAHRA, M., T. AKIHAMA and K. HAYASHI 1975. Genetic variation and geographic cline of esterase isozyme in native rice varieties. Jpn. J. Genet. 50:323-382.

NEI, M. 1975. Molecular population genetics and evolution. North Holland Publ. Amsterdam, 288pp.

NISHIKAWA, K. and M. NOBUHARA 1971. Genetic studies of  $\alpha$ -amylase isozymes in wheat. I. Location of genes and variation in tetraploid and hexaploid wheat. Jpn. J. Genet. 46:345-353.

岡 彦一 1953a. 栽培稲の系統発生的分化 第1報 イネ品種間の各種形質の変異とその組合せ. 育雑 3:33-43.

岡 彦一 1953b. 栽培稲の系統発生的分化 第6報 栽培稲における品種間雑種不稔性の機構. 育雑 2:217-224.

岡 彦一 1953c. 栽培稲の系統発生的分化 第8報 稲の品種間雑種不稔性の遺伝子分析と配偶子の組合せによる競争受精. 育雑 3:23-30.

岡 彦一 1953d. 栽培稲の系統発生的分化 第9報 稲の品種間雑種不稔性の

- 分離に対する影響. 育雑 3:31-39.
- OKA, H. I. 1958. Intervarietal variation and classification of cultivated rice. *Indian J. Genet. and Plant Breed.* 18:79-89.
- OKA, H. I. 1974. Analysis of genes controlling  $F_1$  sterility in rice by the use of isogenic lines. *Genetics* 77:521-534.
- OKA, H. I. 1988. Origin of cultivated rice. Japan Scientific Societies Press, Tokyo, 254pp.
- OKA, H. I. and H. MORISHIMA 1967. Variations in the breeding systems of a wild rice, *Oryza perennis*. *Evolution* 21:249-258.
- 大野清春 1975. イネの葯培養による半数体の作出とその育種的利用. 農技研報D26:139-222.
- OOSUMI, T., A. MIYAZAKI, H. UCHIMIYA, F. KIKUCHI and M. YOKOO 1989. Analysis of glucose phosphate isomerase in near-isogenic lines, and cultivars of rice (*Oryza sativa* L.). *Bot. Mag. Tokyo* 102:283-289.
- PAI, C. and P. Y. FU 1977. Genetic analysis for peroxidase and acid phosphatase isozymes in cultivated rice. *Argon. Bull. Natl. Chung. Hsing. Univ. Taichung* 2:75-85. (In Chinese with English summary).
- PAI, C., T. ENDO and H. I. OKA 1973. Genic analysis for peroxidase isozymes and their organ specificity in *Oryza perennis* and *O. sativa*. *Can. J. Genet. Cytol.* 15:845-853.
- PAI, C., T. ENDO and H. I. OKA 1975. Genic analysis for acid phosphatase isozymes in *Oryza perennis* and *O. sativa*. *Can. J. Genet. Cytol.* 17:637-650.
- PHAM, J. L. and B. BOUGEROL 1989. Abnormal segregation in crosses between *Oryza sativa* and *O. glaberrima*. *Rice Genet. Newslet.* 6:80-82.

- PHAM, J. L., J. C. GLASZMANN, R. SANO, P. BARBIER, A. GHESQUIRE and G. SECOND 1990. Isozyme markers in rice : genetic analysis and linkage relationships. *Genome* 33:348-359.
- RANJHAN, S., J. C. GLASZMANN, D. A. RAMIREZ and G. S. KHUSH 1988. Chromosomal localization of four isozyme loci by trisomic analysis in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* 75:541-545.
- RANJHAN, S., J. C. LITTS, M. R. FOOLAD and R. L. RODRIGUEZ 1991. Chromosomal localization and genomic organization of  $\alpha$ -amylase genes in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* 82:481-488.
- RICK, C. M. and J. F. FOBES 1974. Association of an allozyme with nematoda resistance. *Rep. Tomato Genet. Coop.* 24:25.
- RICK, C. M. AND J. I. YODER 1988. Classical and molecular genetics of tomato: highlights and perspectives. *Ann. Rev. Genet.* 22:281-300.
- SAITO, A., M. YANO, N. KISHIMOTO, M. NAKAGAHRA, A. YOSHIMURA, K. SAITO, S. KUHARA, Y. UKAI, M. KAWASE, T. NAGAMINE, S. YOSHIMURA, O. IDETA, R. OHSAWA, Y. HAYANO, N. IWATA and M. SUGIURA 1991. Linkage map of restriction fragment length polymorphism loci in rice. *Japan. J. Breed.* 41:665-670.
- SAKAI, K. I., Y. MIYAZAKI and T. MATSUURA 1971. Genetic studies in natural populations of forest trees. I. Genetic variability on the enzymatic level in natural forests of *Thujaopsis dolabrata*. *Silv. Genet.* 20:168-173.
- SALAM, M. A., D. J. MACKILL and J. C. GLASZMANN 1990. Linkage between *Pgi-2* and photoperiodic sensitivity. *Rice Genet. Newslet.* 7:130-132.
- SANO, R. and P. BARBIER 1985. Analysis of five isozyme genes and chromosomal location of *Amp-1*. *Rice Genet. Newslet.* 2:60-62.

SANO, R. and H. MORISHIMA 1992. Indica-Japonica differentiation of rice cultivars viewed from the variations in key characters and isozymes, with special reference to landraces from the Himalayan hilly areas. Theor. Appl. Genet. (*In press*).

SANO, Y. 1983. A new gene controlling sterility in F<sub>1</sub> hybrids of two cultivated rice species. J. Hered. 74:435-439.

SANO, Y. 1990. The genic nature of gamete eliminator in rice. Genetics 125:183-191.

SANO, Y. Y.E. CHU and H. I. OKA 1979. Genetic studies of speciation in cultivated rice, I. Genic analysis for the F<sub>1</sub> sterility between *O. sativa* L. and *O. glaberrima* Steud. Jpn. J. Genet. 54:121-132.

SASAKI, T., T. KINOSHITA and M. TAKAHASHI 1974. Estimation of the number of genes in the germination ability at low temperature in rice - Genetical studies in rice plant, LVII-. J. Fac. Agr. Hokkaido Univ. 57:301-312.

SATO, Y. I. 1985. Genetic control of apiculus hair length. Rice Genet. Newslt. 2:72-74.

SATO, Y. I. 1991. How was rice differentiated into indica and japonica? *In* "Rice genetics II", IRRI, Manila, pp.45-53.

佐藤洋一郎 1991. アジアの栽培イネのインド型-日本型品種群における籽型の差異. 育雑 41:121-134.

SATO, S., T. KINOSHITA and M. TAKAHASHI 1980. Location of centromere and interchange breakpoints in the pachytene chromosome of rice. - Genetical studies on rice plant LXXI -. Japan. J. Breed. 30:387-398.

- SATO, Y. I., S. CHITRAKON and H. MORISHIMA 1986. The Indica-Japonica differentiation of rice cultivars in Thailand and its neighbouring countries. In "New Front. Breed. Res.". B. Napompeth. and S. Subhadrabandhu (eds.), Kasetsat Univ., Thailand, pp.185-191.
- SATO, Y. I., Y. SANO and M. NAKAGAHRA 1987. Gene symbols for gametic effect, sterility and weakness. Rice Genet. Newslet. 4:46-51.
- 佐藤洋一郎・藤原宏志・宇田津徹郎 1990. イネの *indica* および *japonica* の機動細胞にみられるケイ酸体の形状及び密度の差異. 育雑 40:495-504.
- SATO, Y. I., Y. FUJIMURA and A. AIHARA 1990a. Effect of ozone exposure on F<sub>1</sub> gametic series in rice hybrids. Rice Genet. Newslet. 7:98-99.
- SATO, Y. I., R. ISHIKAWA and H. MORISHIMA 1990b. Nonrandom association of genes and characters found in *indica* × *japonica* hybrids of rice. Heredity 65:75-79.
- SCHWARTZ, D. 1969. An example of gene fixation resulting from selective advantage in suboptimal conditions. Amer. Nat. 103:479-481.
- SECOND, G. 1982. Origin of the genic diversity of cultivated rice (*Oryza spp.*) : study of the polymorphism scored at 40 isozyme loci. Jpn. J. Genet. 57:25-57.
- SECOND, G. 1985. Evolutionary relationship in *Oryza* based on isozyme data. Genet. Sel. Evol. 17:89-114.
- SHAHI, B. B., Y. E. CHU and H. I. OKA 1969. Analysis of genes controlling peroxidase isozymes in *Oryza sativa* and *O. perennis*. Jpn. J. Genet. 44:321-328.
- 新橋 登 1982. イネの形態形成に関する遺伝学的研究—特に矮性稲について—北海道立農試報 38:1-55.

高橋成人 1987. イネ品種の耐冷性を支配する遺伝要因の解析・特に特定アイソザイムの同定とその育種への利用. “昭和59年-61年科学研究費補助金(一般研究B)研究成果報告書.” , 69頁.

高橋成人 1990. 環境条件と種内分化. “稻学大成 第3巻 遺伝編.” 松尾孝嶺編, 農文協, 東京, 77-92頁.

TAKAHASHI, N. 1978. Additive importance of mesocotyl and coleoptile growth in rice under different moisture regimes, Aust. J. Plant. Physiol. 5:511-517.

高橋 昇 1923. 稲に於けるリンケージの一例(予報). 遺雑 2:23-30.

TAKEDA, K. 1985. Effect of a glabrous gene *g/-1* on agronomic traits. Rice Genet. Newslt. 2:74-75.

TANKSLEY, S.D. and C.M. RICK 1980. Isozymic gene linkage map of the tomato : applications in genetics and breeding. Theor. Appl. Genet. 57:161-170.

TANKSLEY, S.D., H. MEDINA-FILHO and C.M. RICK 1981. The effect of isozyme selection on metric characters in an interspecific backcross of tomato - basis of an early screening procedure. Theor. Appl. Genet. 60:291-296.

TANKSLEY, S.D., Z.Y. WANG, Z.H. YU, S.R. MCCOUCH, G. SECOND and T. FULTON 1990. Development and application of an RFLP map in rice. Proc. 2nd Internatl. Workshop on Mol. Biol. of rice, pp.9.

丁 穎 1957. 中国栽培稻種の起源及其演变. 農業学報 8:25-39.

富田因則・谷坂隆俊・山縣弘忠 1986. 水稻の半矮性に関する遺伝学的解析 4 コシヒカリの半矮性突然変異系統北陸100号の半矮性遺伝子. 育雑 36 (別1) :350-351.

鳥山國士・蓬原雄三 1960. 水稻における耐冷性の遺伝と選抜に関する研究  
I. 耐冷性の遺伝分析. 育雑 10:143-152.

角田重三郎 1953. 我国の在来陸稻品種の分類 1. 粳品種 (予報).  
育雑 3:56.

角田重三郎 1954. 我国の在来陸稻品種の分類 1. 糯品種 (予報).  
育雑 3:92.

角田重三郎 1975. 日本の陸稻品種の系統分類. 育雑 25:121-131.

TURESSON, G. 1922. The genotypic response of the plant species to the  
habitat. Hereditas 3:211-350.

TURESSON, G. 1925. The plant species in relation to the habitat and  
climate. Hereditas 6:147-236.

渡部忠世 1987. アジアの視野からみた日本稲作. “稲のアジア史 第三卷 ア  
ジアの中の日本稲作文化—受容と成熟—”. 渡部忠世編, 小学館, 東京,  
5-38頁.

和田栄太郎 1952. 稲の感温性及び感光性に関する研究 第1報 日本における  
水稻品種の感温性及び感光性とその地理的分布について. 育雑 2:55-62.

WEISS, M. C. and H. GREEN 1967. Human-mouse hybrid cell lines containing  
partial complements of human chromosomes and functioning human genes.  
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 58:1104-1111.

WILLIAMS, J. G., A. R. KUBELIK, K. J. LIVAK, J. A. RAFALSKI and S. V. TINGEY  
1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as  
genetic markers. Nucleic Acids Research 18:6531-6535.

WILLIAMS, M. N. V., N. PANDE, S. NAIR, M. MOHAN and J. BENNETT 1991.  
Restriction fragment length polymorphism analysis of polymerase chain  
reaction products amplified from mapped loci of rice (*Oryza sativa* L.)

genomic DNA. Theor. Appl. Genet. 82:489-498.

WU, K. S., J. C. GLASZMANN and G. S. KHUSH 1988. Chromosomal locations of ten isozyme loci in rice (*Oryza sativa* L.) through trisomic analysis. Biochem. Genet. 26:303-320.

山口彦之 1963. 雑種不稔による日本陸稲在来種の分類. 育雑 13:217-227.

山口彦之・木村定雄 1958. 日本陸稲在来種の若干形質の品種間変異について. 育雑 7:241-246.

YOKOO, M. and H. FUJIMAKI 1971. Tight linkage of blast-resistance with late maturity observed in different *indica* varieties of rice. Japan. J. Breed. 21:35-39.

横尾政雄・菊池文雄 1977. イネいもち病抵抗性との連鎖を利用して検出した, 出穂性遺伝子座の複対立性. 育雑 27:123-130.

横尾政雄・菊池文雄 1978. 連鎖利用によるイネ品種「コシヒカリ」「シラヌイ」の出穂期の遺伝子分析. 育雑 28:49-55.

YOUNG, X. and R. WU 1989. Rice alcohol dehydrogenase genes : anaerobic induction, organ specific expression and characterization of cDNA clones. Plant Mol. Biol. 13:53-68.

YU, Z. H., D. J. MACKILL, J. M. BONMAN and S. D. TANKSLEY 1991. Tagging genes for blast resistance in rice via linkage to RFLP markers. Theor. Appl. Genet. 81:471-476.

### Summary

TAKAHASHI (1923) was the first to find a linkage relation in rice (*Oryza sativa* L.). Forty years later, 12 linkage groups corresponding to the haploid chromosome number were tentatively constructed by NAGAO and TAKAHASHI (1963). In the current linkage map of rice (KINOSHITA and TAKAHASHI 1991), the locations of 142 markers including several isozyme genes have been determined. The conventional linkage map includes many important genes, such as those for grain quality, semidwarfness, disease and insect resistance, and heading time. The map provides valuable information for various researchers in both conventional genetics and plant breeding.

On the other hand, RFLP (restriction fragment length polymorphism) markers have been developed in human genetics (BOTSTEIN *et al.* 1980). After this innovation, RFLP maps have been constructed for rice with more than 300 RFLP markers (McCOUCH *et al.* 1988, SAITO *et al.* 1991). These RFLP maps are expected to become more detailed, and will be valuable for rice genetics and breeding in the future. These RFLP maps, however, were constructed independently of the conventional linkage map because the cost and labor of RFLP detection is too high for location of genes in various kinds of segregated populations. When isozyme genes are located on the respective maps, their relative positions will be useful for correlation with various types of genetic maps. Such mapping is easy for isozyme genes because of

their following characteristics:

- 1) As isozymes are direct products from their genes, they are considered to be genetic markers at cellular level.
- 2) Isozyme analysis is easy to perform and needs small amounts of tissue. The cost appears to be appropriate for a laboratory work.
- 3) Isozymes are usually generated as a result of base substitutions. Thus they still have their enzymatic specificity. They are considered to give diversity in the plants having different isozymes.
- 4) They usually show codominant expression without epistasis, and no detrimental side effects for economical characters.
- 5) Their expression is constantly distinguished independently from environmental conditions.

As, furthermore, isozyme genes have been used as genetic markers to elucidate varietal-differentiation (ENDO and MORISHIMA 1983, GLASZMANN 1987, MORISHIMA and OKA 1981, NAKAGAHRA 1978, PAI and FU 1977, SECOND 1982,1985), the locations of the isozyme genes on the conventional linkage map constructed with functional genes such as photoperiod sensitive genes, gametophytic genes and other morphological and physiological genes (KINOSHITA and TAKAHASHI 1991) will enable us to clarify the genetical aspects of the evolution in rice.

In this study, isozyme genes were established at both the plant and cellular levels and applied for use as genetic markers. Genotypic variation of these isozyme genes

was examined for Asian native varieties to clarify the nature of Indica-Japonica differentiation. Japanese lowland and upland varieties were also examined to study the Indica-Japonica and the low- and up-land differentiations. Furthermore, the chromosomal locations of genes related to the differentiation of these types were surveyed using linkages including isozyme genes.

#### Chapter 1. Detection of isozyme polymorphism and their organ specific expression

1) Continuous and discontinuous buffer systems were applied for starch gel electrophoresis to examine the expression of 18 isozyme genes, *Acp-1*, *Adh-1*, *Adh-2*, *Amp-1*, *Amp-2*, *Amp-3*, *Cat-1*, *Est-2*, *Est-5*, *Est-9*, *Gdh-1*, *Pgd-1*, *Pgd-2*, *Pgi-1*, *Pgi-2*, *Pgi-3*, *Pox-2* and *Sdh-1*. A Tris-glycine buffer system was applied for polyacrylamide electrophoresis to examine *Mal-1*. In total, expression of the 19 isozyme genes could be distinguished on these gels using the above buffer systems.

2) The pattern of gene expression for the above 17 isozyme genes except for *Mal-1* and *Pox-2*, was examined in radicle, plumule and mature leaf under aerobic condition and classified into three groups. *Adh-1*, *Amp-1*, *Est-2*, *Gdh-1*, *Pgd-2*, *Pgi-1*, *Pgi-2* and *Sdh-1* exhibited the same banding pattern in all the tissues. *Acp-1*, *Amp-3* and *Est-5* exhibited different banding patterns in the respective tissues. The remaining six genes, *Adh-2*, *Amp-2*, *Cat-1*, *Est-9*, *Pgd-1* and *Pgi-3*, showed no bands in specific tissues. Among these six genes,

expression of *Adh-2* was found only in radicle. Those of *Amp-2*, *Cat-1*, *Est-9* and *Pgd-1* were found in both radicle and plumule, but not in mature leaf. On the other hand, expression of *Pgi-3* was found only in mature leaf. Under anaerobic condition, only *Adh-2* exhibited a different banding pattern from that under aerobic condition.

3) Genotypes for 16 genes other than *Pgi-3* were distinguished in the radicle and those for 15 genes other than *Adh-2* and *Pgi-3* in the plumule. However, in the mature leaf, five genes, *Adh-2*, *Amp-2*, *Cat-1*, *Est-9* and *Pgd-1* showed loss of their expressions and the patterns of gene expression of *Est-5* could not be distinguished. As a result, genotypes of only 11 genes were distinguished in the mature leaf. The radicle and the plumule thus seemed to be appropriate tissues in which genotypes could be constantly distinguished. It was concluded that the 17 genes examined were available as markers when the expressions of the respective genes were examined using the appropriate tissues.

4) The patterns of gene expression in calli were examined and classified into three groups. During one year of cell culture, 12 isozyme genes, *Adh-1*, *Adh-2*, *Amp-1*, *Amp-2*, *Amp-3*, *Cat-1*, *Est-2*, *Pgd-2*, *Pgi-1*, *Pgi-2*, *Pgi-3* and *Sdh-1*, exhibited the same banding pattern. *Acp-1*, *Gdh-1* and *Est-5*, exhibited different banding pattern during the culture period. Of the remaining two genes, *Est-9* showed the loss of expression three months after callus induction and no expression of *Pgd-1* was found at any stage during the culture period. It was concluded that the expressions of

the isozyme genes in calli were controlled by different mechanisms from those in plant organs and that 12 of the examined isozyme genes were available for use as markers at the cellular level because of their constant expression patterns.

5) In two kinds of  $F_1$  plants, isozyme expression exhibited codominance at 11 heterozygous loci, *Acp-1*, *Adh-1*, *Amp-2*, *Amp-3*, *Cat-1*, *Est-2*, *Est-9*, *Pgd-1*, *Pgi-1*, *Pgi-2* and *Sdh-1*. Allelic expressions at eight of the 11 codominant loci except for *Acp-1*, *Est-9* and *Pgd-1*, were found during cell culture of the two kinds of callus lines induced from the  $F_1$  plants. At least in the callus lines, their expressions were constantly distinguished. These were concluded to be candidates of genetic markers at the cellular level.

## Chapter 2. Gene analysis of isozyme

1) Chromosomal locations of six isozyme loci were analyzed by trisomic analysis. *Acp-1* and *Pox-2* were assigned to the 12th linkage group, *Amp-2* to the seventh linkage group, and *Cat-1* to the sixth linkage group using crosses between Japonica trisomic strains derived from Nipponbare and the Indica variety, Acc001. In addition, *Pgd-1* was assigned to the 11th linkage group and *Sdh-1* to the 12th linkage group on the basis of crosses between Japonica trisomic strains and wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.). To confirm the locations of *Pgd-1* and *Sdh-1*, further experiments were

performed. Trisomic and disomic  $F_1$  plants resulted from crosses between Triplo 11 and W628 were examined for their *Pgd-1* banding patterns. In disomic  $F_1$  plants, two kinds of bands controlled by the respective alleles at the *Pgd-1* locus were observed at the same intensity. However, the band derived from Triplo 11 was more intense than the other one derived from W628 in trisomic  $F_1$  plants. Therefore, it was confirmed that the trisomic  $F_1$  plants had a double complement of *Pgd-1*<sup>2</sup> alleles derived from Triplo 11 and a single complement of *Pgd-1*<sup>1</sup> allele from W628, and that the locus was located on the 11th linkage group. The trisomic  $F_1$  plant resulting from the cross between Triplo 12 and W1653 was crossed with Indica variety, Acc414 harbouring *Sdh-1*<sup>1</sup>, which was different from the alleles of Triplo 12 and W1653. The 20 backcrossed plants were examined for the expression of *Sdh-1*, and two of them showed triallelic expression of *Sdh-1*<sup>1</sup>, *Sdh-1*<sup>2</sup> and *Sdh-1*<sup>4</sup>. As the two plants should harbour three alleles on their trisomic chromosomes, the location of the *Sdh-1* locus was confirmed to be the 12th linkage group.

2) An attempt was made to integrate 12 isozyme genes into a conventional linkage map constructed using morphological and physiological markers. *Est-5* showed a linkage relationship with *lax* on the first linkage group with a recombination value of 15.1%. On the third linkage group, two isozyme genes were integrated in the order of *chl-1* — *Gdh-1* — *Pgi-1* — *v-1*.

On the sixth linkage group, linkage relationships among

*Pgd-2*, *Est-2*, *Amp-3* and *Pgi-2* were determined. On the 11th linkage group, the order of two isozyme genes and other markers was determined to be

*la*—*v-4*—*Pgd-1*—*Adh-1*.

On the 12th linkage group, a map was constructed with three isozyme genes, two morphological markers and one physiological marker. The order of these genes was determined to be *Acp-1*—*Pox-2*—*r1-3/d-33*—*Sdh-1*—*spl-1*.

Including the allocations of *Amp-2* and *Cat-1* which were estimated from the trisomic analysis, it was concluded that the examined isozyme loci were allocated dispersed into six of 12 linkage groups. Among of them, eight genes were newly localized on the conventional linkage map.

### Chapter 3. Genotypic diversity of isozyme genes and their application to varietal differentiation

1) Allelic frequencies at 11 loci, *Acp-1*, *Amp-2*, *Cat-2*, *Est-2*, *Mal-1*, *Pgd-1*, *Pgi-1*, *Pgi-2*, *Pgi-3*, *Pox-2* and *Sdh-1*, showed significant differences between Indica and Japonica varieties classified by morphological and physiological characteristics. The differences at *Mal-1* and *Pgi-3* were newly found in this study. At these 11 loci, discrimination scores (D scores) were calculated whether respective alleles could be effective for Indica-Japonica classification. As a result, the D scores at nine loci other than *Pgd-1* and *Sdh-1* were found to be effective on the Indica-Japonica

classification. The results of the classification obtained using the D scores corresponded to that with morphological and physiological traits, except that one variety was misclassified. Those varieties having average D scores ranging from 0.0 to 0.4 were assigned to the Japonica type and those having average D scores ranging from 0.6 to 1.0 to the Indica type. No variety was found with an intermediate average D score. As all of these nine loci were not linked with each other, the combinations for the diagnostic nine isozyme genes were gathered by any mechanisms other than a single gene block.

2) Genotypic variation for 17 isozyme genes, *Acp-1*, *Adh-1*, *Amp-1*, *Amp-2*, *Amp-3*, *Cat-1*, *Est-2*, *Est-5*, *Est-9*, *Mal-1*, *Pgd-1*, *Pgd-2*, *Pgi-1*, *Pgi-2*, *Pgi-3*, *Pox-2* and *Sdh-1*, was examined in Japanese lowland varieties. The average gene diversity in Japanese lowland varieties is less polymorphic than that of Asian native varieties. It was found that there were 19 kinds of gene combinations. These varieties were classified into Indica and Japonica types, respectively, and grouped into the following three groups. Lowland A is a group of Japonica varieties in Type I, Lowland B is a group of Japonica ones in Types II to XIV with some different genotypes from those in Type I, and Lowland C is a group of Indica ones in Types XV to XIX. Varieties in Lowland B were available to use polymorphisms donor for isozymes. However, genetic differentiation was not clear between the varieties in Lowland A and those in Lowland B.

3) In Japanese upland varieties, genotypic variation of the

above 17 isozyme genes was also examined. Japanese upland varieties were more polymorphic than Japanese lowland varieties, and 11 kinds of gene combinations were distinguished. Among them, predominated gene combination same as that of Lowland A was infrequent in Japanese upland ones. The varieties having *Pgd-1*<sup>2</sup> appeared to be predominate and those having *Pgd-1*<sup>3</sup> were classified into Indica type. Thus, Japanese upland varieties were classified into the following three groups. Upland A may be a group of varieties converted from Japanese lowland varieties possessing *Pgd-1*<sup>1</sup>, Upland B is a group of predominant upland varieties possessing *Pgd-1*<sup>2</sup> that have never been found among Japanese lowland ones, and Upland C is a group of Indica varieties possessing *Pgd-1*<sup>3</sup>. Then, morphological and physiological characteristics were examined among the following three varietal groups to confirm differentiation among them. The three varietal groups were a group of Japonica lowland varieties randomly chosen from the group of Lowland A and B, a group of predominant Japonica upland varieties (Upland B) and a group of Indica varieties including lowland and upland ones found in Japan (Lowland C and Upland C). The Indica varieties commonly had red pericarp, short apiculus hairs, slender grain and a positive phenol reaction. These Indica varieties appeared to belong to same varietal group. One of them was synonymous to the Daitoumai, which is known as "red-rice", showing Indica-like characteristics. Japonica lowland varieties commonly had white pericarp, long apiculus hairs, round grain and a negative phenol reaction. In

contrast, the predominant Japonica upland varieties had white pericarp, short apiculus hairs, intermediate shaped grain between those in the other two groups, and a positive phenol reaction. In conclusion, Upland B was found to be differentiated from Lowland A,B as ecotypes in isozyme genotype and other traits.

#### Chapter 4. Application of isozyme genes for rice breeding

1) Genetic correlations among quantitative characters and isozyme genes were examined in the Indica-Japonica crosses. One of the heading genes was estimated to be located near the *Pgi-2* locus. The alleles at the heading locus exhibited incomplete dominance. Furthermore, these genes were suggested to be multiple alleles at *Se-1* located on the 6th linkage group. One of the apiculus hair length genes was also estimated to be located near the *Amp-3* locus in the 6th linkage group. The allele controlling short apiculus hair length, which seemed to be useful for rice breeding, was dominant over the other allele controlling long apiculus hair length.

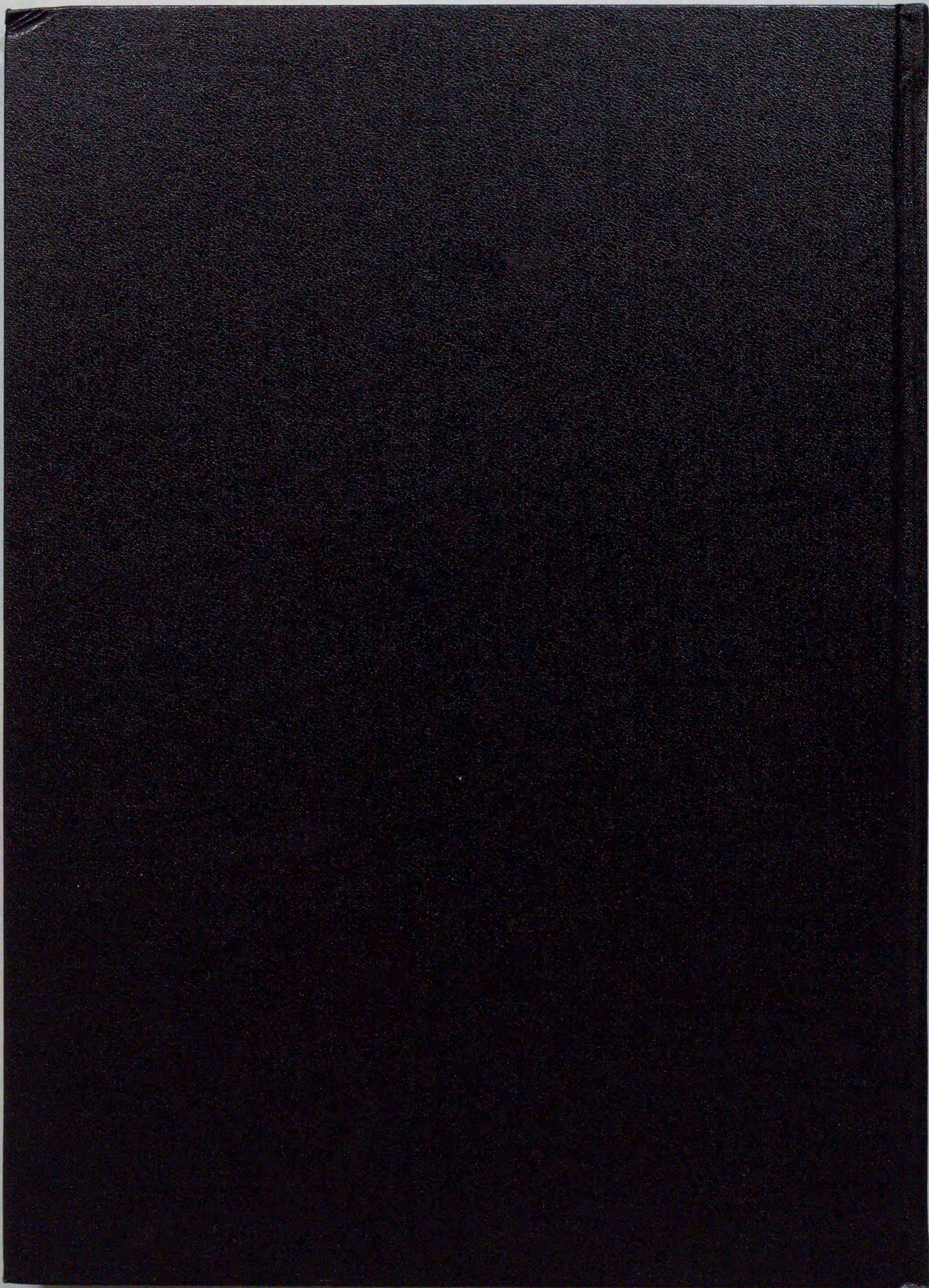
2) Distorted segregations in isozyme genes occurred in Indica-Japonica crosses were examined. In the crosses between Japonica Acc504 and 12 Indica varieties, the segregations at *Acp-1*, *Est-2*, *Pgi-2* and *Pox-2* were frequently distorted and the transmission rates of Indica alleles to progenies were higher than the expected ones. As for the segregation patterns for *Acp-1* and *Pox-2*, distortions were

usually found in the crosses with Taiwanese and Chinese varieties, and normal  $F_2$  segregations were usually found in the crosses with varieties originated from India and Sri Lanka. These India and Sri Lanka varieties should be desirable for the parents showing isozyme polymorphism in the crosses with Japonica strains harboring genetic markers, such as the crosses used in Chapter 2.

In the crosses between Indica Acc108 and 12 Japonica varieties, distorted segregations were also found at *Acp-1*, *Est-2*, *Pgi-2* and *Pox-2*. The crosses with the Tropical Japonica varieties have a tendency to show not only high pollen fertility in the  $F_1$  plants but also the normal segregations of *Acp-1* and *Pox-2* in the  $F_2$  generation. On the contrary, those with the Temperate Japonica varieties have a tendency to show low pollen fertility in the  $F_1$  plants and distorted segregations of the two isozyme genes. Such tendency was not found at the other isozyme genes. This phenomenon suggested that Japonica varieties should be differentiated into two groups.

Asian varieties were classified into the Indica and Japonica types, indicating that specific gene-character combinations may exist. As the diagnostic isozyme genes and the genes for diagnostic character were randomly dispersed into several chromosomes, the gene-character combinations could be explained as non-random association, and not as a single gene block including the diagnostic isozyme genes and the gene for diagnostic characters. This non-random associa-

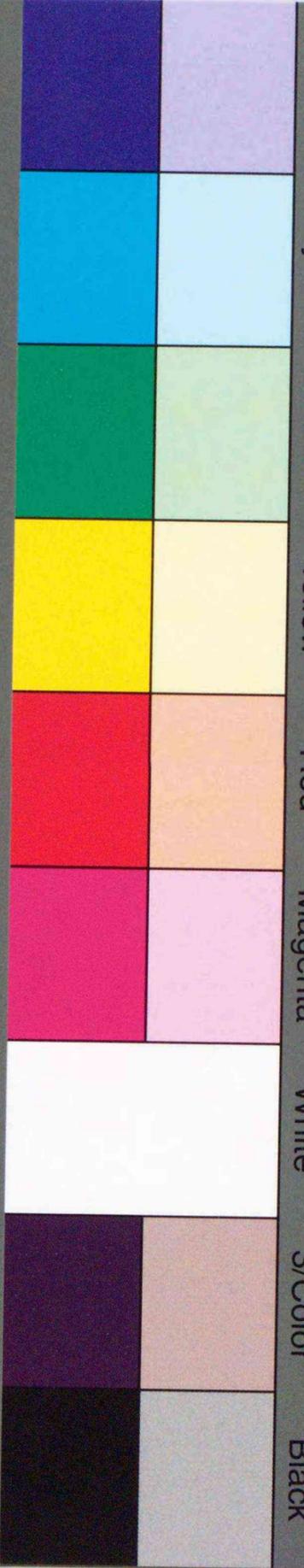
tion may be due to the possible origin of Indica and Japonica varieties from different ancient wild rices, linkage of several genes for reproductive isolation and/or adaptation to some marker genes, or both. Therefore, the chromosomal regions near the diagnostic loci should harbour genes for reproductive isolation and/or adaptability. In this study, 14 isozyme loci were assigned to six chromosomes and eight of the loci were positioned on linkage maps. Then, these isozyme genes were used as genetic markers to survey distortion of segregation and linkage relationships between the isozyme and heading date and apiculus hairs. Thus, the isozyme genes may be useful for genetics and breeding in rice plants.



inches  
cm  
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19

# Kodak Color Control Patches

Blue Cyan Green Yellow Red Magenta White 3/Color Black



# Kodak Gray Scale

A 1 2 3 4 5 6 M 8 9 10 11 12 13 14 15 B 17 18 19



© Kodak, 2007 TM: Kodak