



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	北海道新旧主要イネ品種・系統における遺伝的多様性と耐病・耐冷性に関する遺伝因子の解明
Author(s)	品田, 博史
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	乙第6968号
Issue Date	2015-09-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.r6968
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/62854
Type	doctoral thesis
File Information	Hiroshi_Shinada.pdf



北海道新旧主要イネ品種・系統における遺伝的多様性と
耐病・耐冷性に関与する遺伝因子の解明

品田 博史

目次	1
第 I 章：緒論	2
第 II 章：北海道イネ品種の遺伝的集団構造の解析	
緒言	5
材料および方法	6
結果	8
考察	26
第 III 章：開花期耐冷性に関する遺伝解析	
緒言	29
材料および方法	30
結果	32
考察	47
第 IV 章：いもち病圃場抵抗性に関する遺伝解析	
緒言	49
材料および方法	50
結果	51
考察	68
第 V 章：総合考察	70
摘要	74
付表	76
引用文献	141
謝辞	151

第 I 章 緒論

農業生産における各種問題解決において、植物育種が果たしてきた役割は大きい。アジアの食料危機回避に貢献した緑の革命での短幹品種の育成はその代表例であり (Gurdev 2001)、各作物・地域毎に視点を絞れば、こうした事例について枚挙に暇はない。今後も、現状の、または今後予想される、農業生産上の各種問題の解決手段に品種改良が担う役割は大きいと考えられる (Gurdev 2005、McKersie 2015)。

植物の品種育成は栽培しようとする地域への適応性の付与を基本とする。地域への適応性には気候風土等の地理的要素のみならず、その地域で導入されている栽培技術、また、市場ニーズなどの社会的要素も関わっている。従って、これらを踏まえ品種がもつべき特性は地域ごとに多様化する。また、品種がもつべき特性が経時的に変化することも避けられない。例えば、気象条件の変化 (森田 2008)、新規栽培体系技術や農薬・化学肥料の登場 (Gurdev 2001、村井ら 1983)、あるいは市場ニーズの変化 (萩原 2000、北海道立中央農業試験場 1988) は、各地域・年代で散見され、求められる品種のあり方を変えてきた。ゆえに各地域の育種においては、それぞれの年代に固有の育種目標が設定され、これに合致する品種育成を実現するための独自の選抜手法ならびに遺伝資源を利用し、品種育成が行われてきた。その結果、同じ作物種であっても各地域の育種集団内には、ある程度の多様性が存在するとともにその地域固有の遺伝構造ならびに有用遺伝子群が集積していると予想される (Kaga *et al.* 2012、Yamasaki and Ideta 2013、Yonemaru *et al.* 2012)。このような地域固有の有用遺伝子を明らかにし、その来歴や集積過程を追跡することは、品種育成の過程を遺伝育種学的に紐解くことに他ならない。これまでに行われた品種育成から得られる情報は、将来行われる品種育成に資するところが大きいと考える。例えば、有用遺伝子の来歴解明は効率的な遺伝資源選定に貢献するかもしれない。また、これまで地域適応を果たした遺伝子型の動態を解明できれば、育種における表現型に基づく選抜から DNA マーカー選抜およびゲノミックセレクションなどのゲノムレベルへの選抜への転換をより進めるための足がかりが得られる可能性がある。

栽培イネ (*Oryza sativa* L.) は熱帯原産の作物であり (Huang *et al.* 2012)、世界各地で品種改良が進められ、熱帯地域のみならず温帯～亜熱帯地域 (北緯 50° ～南緯 40°) にも栽培が拡大されている (Juliano 1993)。現在、世界人口の半分以上がコメを主食として消費している状況である (Muthayya *et al.* 2014)。イネの各地域に適応した育成集団内には比較的広い遺伝変異が確認されている。例えば、愛知県では 1933 年からイネのいもち病抵抗性育種を実施し、多様な遺伝資源に由来する多数の品種・系統が育成されている (井澤ら 2001、坂ら 2007・2010)。このように、イネの地域適応集団には長い育成過程の中である程度の遺伝的変異およびそれに伴う形質変異が蓄積されていると期待でき、これら育成集団の育種素材としてのポテンシャルを遺伝解

析で吟味すれば今後の育種目標の達成に役立つと考えられる。その一方、地域ごとに育種事業の規模は異なっており、まずは地域における遺伝的変異の多寡を見極めることも必要である。

北海道は日本の最北に位置し(北緯 41.2° ~45.3°)、イネ栽培の北限地域の一つである。元来、夏期の天候が長日・低温で推移する北海道ではイネの栽培は不適であったが、栽培技術の改良ならびに品種改良により、現在ではわが国有数の大規模稲作地帯となっている(農林水産省/長期累年統計情報)。北海道にイネ栽培が定着した端緒は、1800 年代後半に耐冷性に優れる「赤毛」種が導入されたことによる(北農会 1994)。それ以降、農家や試験研究機関による在来種からの純系分離による優良品種の選定がはじまり、さらに 1913 年から現在に至るまで交雑育種による品種改良が行われている。1950 年半ばより集団育種法が取り入れられ(北農会 1994)、また、近年ではγ線照射や組織培養を利用した突然変異育種により新たな形質を保持した系統の育成も試みられ、成果をあげている(安東ら 2006、荒木ら 1996)。選抜手法についても 1950 年代頃から冷水掛け流しによる耐冷性選抜、さらに 1980 年代には、理化学分析値を指標とした良食味系統の選抜(北海道立中央農業試験場 1988)などさまざまな選抜技術を導入し、育種ニーズに合致する品種育成を行ってきた。このような育種手法の改良や新たな選抜技術を取り入れた結果、近年の北海道のイネ反収レベルは 500kg/10a 以上(平成 15~24 年平均 532.4kg/10a)まで増加し、本州イネ栽培(平成 15~24 年平均 528.4kg/10a)と収量レベルの差は認められなくなってきた(農林水産省/長期累年統計情報)。また、食味レベルも向上し、主要品種の「ななつぼし」や「ゆめぴりか」が(財)日本穀物検定協会の食味評価において複数年連続で最高評価の特 A を獲得するなど(日本穀物検定協会)、現在では、良食味米生産地としての評価も確立しつつある。

このように、北海道のイネ品種は作物の地域適応性向上に関するモデルケースと言って良い。そうであるなら、北海道育成品種のゲノム構造はどのように変遷してきたのだろうか。この問いに対する解答(北海道におけるイネ育種経過に対応したゲノム動態解明)は、地域適応性向上に必要な遺伝的要因を明らかにする手がかりになると考えられ、さらに在来品種に始まり現在の優良品種に至るまでの品種育成の過程をゲノムの変化としてとらえることで、今後の北海道イネ育種の戦略を立てる上で有用な知見となると考えられる。

一方で、将来の北海道のイネ品種が具備すべきと考えられる形質も多い。例えば、生育ステージ毎の耐冷性の向上や良食味と病害抵抗性を兼ね備えた品種の育成など、複数の要望が生産現場から上がってきており、喫緊の育種課題となっている。なかでも病害抵抗性については、いもち病抵抗性の強化が大きな課題である。いもち病は、*Magnaporite oryzae* を病原とするイネの主要病害の一つである(Ou 1985)。高温・多湿条件で発生が増加する病害で、冷涼な気候の北海道では、従来本州に比べて発生は少なく、抵抗性の強化は永らく育種目標の最優先事項とはなっていない。しかしながら、最近の地球温暖化に伴う気象変動と主要品種のいもち病抵抗性が弱いことが影響し、北海道でも近年多発年が認められ(広田ら 2011、木俣 2011)、将来の重要

な育種目標と想定されている(丹野 2012)。また、耐冷性については、生育ステージ全般の耐冷性強化が課題の一つである。イネは熱帯原産であるため、発芽から登熟までの一連の生育期間において低温の影響を強く受ける(Cruz *et al.* 2013)。北海道のイネ育種では、圃場での大規模選抜が可能な冷水掛け流し検定を用いた選抜により、道内育成品種の穂ばらみ期耐冷性を向上させてきた。しかし、他の生育ステージの耐冷性については検定手法がいくつか開発されているものの(丹野ら 2000、佐々木 1968、Baruah *et al.* 2009)、労力やコストの面で大規模選抜が不可能な状況にある。これまでの北海道イネ品種や系統の中に、いもち病抵抗性や、穂ばらみ期以外の生育ステージの耐冷性に対する遺伝変異が存在するかどうかは育種的に重要な問題である。すなわち、これまでに未選抜であった形質に関しても遺伝変異が認められるなら、北海道イネジーンプールは高く評価されてもよく、さらにそれが将来損なわれることがあってはならない。

以上のことから、寒地イネ栽培の適応性拡大に寄与した北海道新旧イネ品種群のゲノム動態を把握し、今後改良が必要な農業形質についてどの程度の遺伝的変異が北海道イネジーンプールに内在されているか検討することは、将来の北海道イネ育種の方向性や戦略を検討する際に非常に有益であると考えられる。また、これら情報を整理するにあたり、表現型の調査や系譜の整理とともにゲノムレベルでの検討を加えることにより、詳細なゲノム動態、有益な QTL および遺伝子といった多くの遺伝的要素の解明が可能となり、より有益な情報を提供すると考えられる。そこで本研究では、第 II 章において、北海道新旧イネ品種群で多型が生じる DNA マーカーを用いて、これまでに北海道で育成された品種の遺伝的多様性を解明し、「品種育成」がどのように行われてきたのかをゲノムレベルで調査した。さらに育成系譜や農業形質を加味し、育種の過程を考察した。第 III 章ならびに第 IV 章において生産現場の新たな要望に応える新品種育成のための新規育種素材を既存の道内品種群に求めることが可能かどうか、開花期耐冷性といもち病圃場抵抗性を例として検討した。第 V 章では、得られた結果を総合し、北海道に適応したイネ品種群が内包する遺伝的なポテンシャルについて論ずる。

第 II 章：北海道イネ品種の遺伝的集団構造の解析

緒言

作物育種においては原則としてあたらしい品種は既存の品種を上回る特性か、当時発生していた問題点を克服するような形質が付与されており、退化はありえない。北海道のイネ品種は赤毛を嚆矢とし、爾来多くの品種がリリースされてきた（北海道立農業試験場 1960、北海道農政部 2014）。この間北海道の気候風土に対する適応性の強化が恒常的に達成されてきたのはいうまでもない。しかしながら、北海道イネ育種の長い歴史の中で加えられる選抜の方向は一定ではなく、例えば、良食味に関する選抜が強く加えられるようになったのは 1980 年代以降である（北海道立中央農業試験場 1988）。また、耐冷性の選抜方法も随時改良が加えられ、1950 年代より冷水掛け流し検定による耐冷性選抜が開始され、近年では同手法を用いた穂ばらみ期の耐冷性選抜が積極的に行われている。さらに、稲作技術の進歩に応じて栽培様式も変化しており、各栽培手法で求められるイネ品種の草型も変化してきた(村井ら 1983)。北海道の品種群とは以上のような複雑な選抜の産物の複合とみることができよう。

個々の品種に加えられた選抜は、主動遺伝子支配の形質のみならず、微動遺伝子のエピスタシスに関わるような複雑な形質を標的にしたと考えられるが、その実態は明らかではない。これらを明らかにすることが育種に重要であるのは論を俟たないが、そうした研究の基盤となる北海道イネ品種の遺伝背景を複雑に入り組んだ系譜情報のみからとらえることは不可能である。これに対し、ゲノム構造解析を通じて、北海道イネ品種群内における集団遺伝学的な構造化の有無を確認できれば、北海道イネ品種群の遺伝的フレームワークを把握できることになり、最終的には在来品種に始まり現在の優良品種に至るまでの品種育成の過程をゲノムの変化として明らかにすることができ、系譜情報を相補できる。これらは、育種を進める際に、または、重要形質に関する遺伝解析を行う際に試験戦略を立てる上で重要な情報を与える。

イネ近交系の遺伝解析については多型マーカーをそろえることが難しく、大きな障壁となっていたが、近年、遺伝子工学的技術の進歩により、多くの単純反復配列マーカー(single sequence repeat マーカー：SSR マーカー)情報の整備に加えて多様な一塩基多型マーカー(single nucleotide polymorphism：SNP マーカー)セットが開発されており、近交系の多型判定が可能となっている(IRGSP 2005、McCouch *et al.* 2002、Nagasaki *et al.* 2010)。これらのツールを利用すれば、北海道イネ品種群の DNA 多型解析が可能である。

以上の研究背景に基づき、本章ではまず北海道のイネ品種群内における遺伝的構造化の解明を行い、構造化の生ずる要因として道外品種からのゲノム領域導入の可能性を検討した。続い

て、明らかになった各遺伝的グループの農業特性を調査して比較解析し、遺伝グループの変遷と品種育成過程について考察した。

材料および方法

1. 供試材料

表 II-1 に示す 68 品種を用いた。このうち 63 種(供試番号 1~63)が道内新旧品種・系統(道内新旧主要品種群)である。これら 63 品種系統のうち 5 品種が在来種であり、58 品種・系統が 1895 年から 2008 年の間に開発された育成品種系統である。さらに道外品種として、日本晴(本州品種)、Cody(アメリカ品種)、中生愛国(本州品種)、銀坊主(本州品種)、および関東 53 号(本州品種)を用いた。供試材料の系譜図を図 II-1 に示す。

2. 各種農業形質の調査

7 種(出穂期、穂ばらみ期耐冷性、成熟期の穂数および一穂粒数、千粒重、およびアミロース含有率)の農業形質を調査した。出穂期、成熟期の穂数、一穂粒数、および千粒重の調査については上川郡比布町の上川農業試験場で行った。4 月下旬に中苗マットに播種を行い、播種後 30 日の苗を条間×株間=30cm×15cm の間隔で水田圃場(窒素施肥 8kg/10a)に移植した。1 品種・系統あたり 15 個体を移植した。出穂期については、播種日から系統内の半数以上の個体が出穂するまでの日数を調査した。各個体の出穂日について主幹の穂先が葉鞘より抽出した日とした。成熟期の穂数、一穂粒数については 1 品種・系統あたり 5 個体を調査して平均化した。成熟期後 1 系統あたり 8 株の刈り取り、乾燥、脱穀を順次行い千粒重および整粒歩合を調査した。整粒歩合については収穫した玄米 500 粒を用い、穀粒判別機 RGQI 10B (サタケ; 広島県 日本)により調査した。穂ばらみ期耐冷性、アミロース含有率については札幌市にある北海道農業研究センターで調査を行った。穂ばらみ期耐冷性の評価は Kuroki *et al.*(2007) の方法に従って圃場での冷水掛け流し検定により行った。アミロース含有率の測定は、Ando *et al.* (2010) の方法に従って行った。

各形質について品種・系統間の有意差判定(Tukey-Kramer 多重比較検定)は統計解析ソフト JMP10(SAS; NC USA)を用いて行った。穂ばらみ期耐冷性検定によって得られた種子稔実率、アミロース含有率および精粒歩合については、データのアークサイン変換を行った後、統計解析に供した。

3. マーカー解析

CTAB 法により葉片より全 DNA を抽出した(Murray and Thompson 1980)。SSR マーカーの

ジェノタイピング方法は、Fujio *et al.* (2004)の手法に準じて行い、各 SSR マーカの増幅断片長については横×長さ=33cm×42cm のアクリルアミドゲル (6%) を用いて決定した。

63 種の SSR マーカは、McCouch *et al.* (2002)および IRGSP (2005)より報告のあったマーカリストより選定した(表 II-2)。多型情報含有値(PIC 値)は以下のように算出した (Anderson *et al.* 1993) :

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 \quad (1)$$

p_i は、ある遺伝子座における i アリルの頻度である。Anderson *et al.* (1993)によれば、式(1)は Botstein *et al.* (1980)の原案を自殖作物向けに修正したものであり、結果的にヘテロ接合体率 (e.g. Nei 1987) と同じである。調査した遺伝子座全てについて各々の PIC 値を計算して、全体の平均値を算出した。

ハプロタイプブロック決定のための遺伝子型調査については、上記の 63 種の SSR マーカの遺伝子型と Nagasaki *et al.* (2010)によって開発された 768 種の SNPs タイピングアレイセット(J-core SNPs セット)の遺伝子型データを用いて行った。J-core SNPs セットについては、コシヒカリ - 日本晴、日本晴 - 栄光、日本晴 - 陸羽 132 号間のゲノムシーケンス情報より SNP を検出し、そのうち 3000 種の SNPs についてのアレイを作成し、日本稲コアコレクションを用いてバリデーションを行った後、1-2 品種のみの多型 (突然変異) でないこと、さらにゲノム上での散らばり具合を考慮して選抜された 768 箇所の SNPs を検出できるアレイセットである。SNPs の検出については Bead Station 500G システム(Illumina ; San Diego CA USA)を用いて行い、実験手法は Illumina 社のプロトコールに準じて行った。

4. クラスタ解析

系統樹の作成はコンピュータプログラム PHYLIP ver 3.69 (Felsenstein 2010)を用いて行った。進化距離 d については、Junkes-Cantor 法により算出を行い、非加重結合法 (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean : UPGMA 法) により得られた計算結果を用いて、コンピュータソフト Njplot ver2.3 により系統樹を作成した。併せてブートストラップ値の計算についても PHYLIP で行った。コンピュータプログラム Structure ver 2.3.4 を用いた解析は Pritchard *et al.* (2000)に従った。ここでは、与えられた遺伝子型データセットについて、 K 個 ($K=1$ から 10) のクラスターに由来すると仮定した場合 (モデル) の事後確率がベイズ推定により計算される。解析には混合モデル (admixture model) を採用し、各クラスターに由来するゲノム領域の割合が、品種・系統別に与えられる (これは由来に関する情報であって、遺伝的な均一性を示しているのではない)。各 K について、最初の慣らし(burn-in)50,000 回の後、1,000,000 回のマルコフ連鎖モンテカルロシミュレーションを独立に 10 回試行した。

結果

1.道内新旧主要品種・系統群のクラスター解析

表 II-1 の供試材料 1 から 63 で示す北海道道内で育成された道内新旧主要品種・系統群の遺伝的クラスタリングを行うために、まず 134 種の SSR マーカー (IRGSP 2005、McCouch *et al.* 2002 のリストより選定) を使って道内育成の 6 品種(「赤毛」、「栄光」、「ユウカラ」「イシカリ」、「きたいぶき」および「ほしのゆめ」)について遺伝子型調査を行い、品種間で遺伝子型多型が認められた 78 種の SSR マーカーを選び出した。続いて、63 品種・系統群の分析を行って極端に多いアリル数 (10 型以上) を示した 15 種の SSR マーカーについては系譜を反映した遺伝子型結果が得られない可能性が考えられたため解析より除いた。以上の各工程を経て、最終的に 63 種の SSR マーカーの遺伝子型多型データを用いてクラスター解析を行った。これら 63 種のマーカーは、染色体当たり 3 個以上配置されている (表 II-2)。

各染色体に位置する 63 種の SSR マーカーの遺伝子型に基づき、UPGMA 法による系統樹の作成を行った(図 II-2)。アウトグループの品種としては「日本晴」を用いた。結果、道内 63 品種・系統群は大きく Group I から V の 5 つのグループに分かれ、Group III をサブグループ IIIa と IIIb に分けるならば 6 つの遺伝的グループに分類された。試験に用いた品種・系統群のうち唯一「彩」はこの 6 グループ内には含まれず、「日本晴」と同一グループに分類された。図 II-1 に示すとおり「彩」は日本晴後代の品種であり、系譜関係が影響していると思われる。

同一の遺伝子型データセットを用いて Structure プログラムによる遺伝的クラスタリングを行った。モデルに対する事後確率を対数変換した $\ln(K)$ 値は K の増加とともに増加し、道内新旧主要品種・系統群に有意な集団遺伝構造が存在することが示唆される(図 II-3)。 $K=6$ と仮定したときの Structure 解析結果は、系統樹作成による遺伝的クラスタリング結果と良く一致した。さらに、以下に示すように、各クラスターは品種の育成系譜にも良く一致する。以上の遺伝的クラスタリング、集団構造結果、および以下に示す育成系譜情報から、本試験に用いた道内新旧主要品種・系統群は、遺伝的に大きく 6 つのグループ(Group I、II、IIIa、IIIb、IV、および V)に分けられると結論付けた。

Group I は「赤毛」他 5 種の在来種とその後代 6 品種で構成されるグループである(図 II-4)。「胆振早生」のゲノム構成は、Group I 由来および II 由来の複合タイプであり、また、「赤毛」と「黒毛」は、Group I 由来および IIIa 由来の複合タイプであった(図 II-2)。

Group II を構成する 8 品種は 1919 年～1968 年の間に育成された。この 8 品種の育成系譜上の祖先品種は、「胆振早生」、「坊主」、「東北 14 号」、「農林 1 号」、および「銀坊主」と多様であり (表 II-1、図 II-4)、後三者は道外品種である。Group II のうち、「農林 20 号」、「新栄」、および「はやゆき」は「胆振早生」の後代であり、「はやゆき」と「坊主 6 号」(いずれも Group

I の品種の後代) のゲノム構成は Group I との複合タイプの遺伝構造を保持していた(図 II-2)。

Group IIIa は 1935～1977 年の間に育成された 13 品種で構成されており、そのうち 11 品種が「早生富国」とその後代品種である(図 II-5)。ここでは、「栄光」をはじめ 6 品種が複合タイプであり、Group I、II、IIIb、IV あるいは V 由来ゲノムを構成要素として持つ(図 II-2)。

Group IIIb は、1962～1989 年の間に育成された 6 品種で構成されており、そのうち 4 品種が「ユーカラ」およびその後代品種である(図 II-5)。ここでは、4 品種が Group II、IIIa、あるいは Group IV を構成要素として持つ複合タイプであった(図 II-2)。

Group IV は、1940～1990 年の間に育成された 11 品種で構成されており、「農林 15 号」及びその後代品種である(図 II-6)。ここでは、「ささほなみ」と「ふくゆき」を除いた 9 品種が複合タイプで(図 II-2)、最も複合タイプの多いグループである。構成要素となっているのは、Group I、II、IIIa、および IIIb 由来ゲノムである。

Group V は、1983 年以降に育成された 13 品種で構成されており、全てが「キタアケ」及びその後代品種である(図 II-6)。ここでは、5 品種が複合タイプで、Group IIIb、あるいは Group IV 由来ゲノムを構成要素として持つ(図 II-2)。

2. グループ間の遺伝的分化に寄与したゲノム領域

各グループはそれぞれが特徴的なゲノム構造を保持しており、それが集団構造をもたらす原因となっていると推測されるが、グループ間の遺伝的分化に寄与しているゲノム領域を推定するために全ての品種のゲノム構造を解析するのは現実的ではない。そのため、系譜的に明確なつながりが認められる Group IIIa、IIIb、IV および V の 4 グループに焦点を絞り、各々についてグループの代表品種となりうる育成系譜上の重要品種(キー品種)を選び出し、そのキー品種のゲノム構造の特徴づけを試みた。Group IIIa は 13 品種中 11 品種が「早生富国」の後代品種であることから、「早生富国」がキー品種と推察される(図 II-5)。Group IIIb は 6 品種中 4 品種が「ユーカラ」の後代であることから「ユーカラ」を(図 II-5)、さらに Group IV および Group V は、グループの全ての品種・系統がそれぞれ「農林 15 号」と「キタアケ」の後代であることから、これら 2 品種をキー品種とした(図 II-6)。

これら 4 種のキー品種は府県品種あるいは外国稲を交配親としており(図 II-4、5、6)、少なからぬゲノム領域が道外品種から導入され、それらがグループ間のゲノム分化に寄与していると推測される。そこで、4 つのキー品種に加え、府県品種と外国稲を含む交配親 9 品種(中生愛国、坊主 6 号、関東 53 号、栄光、銀坊主、走坊主、Cody、そらち、およびふくゆき)を供試してゲノム構造解析を行いキー品種における府県品種と外国稲由来のゲノム領域の推定を行った。

解析にあたって、先述の 63 種の SSR マーカーではマーカー密度が低く目的とするゲノム構造解析には不十分である。そこで SSR の遺伝子型判定と併せ、768 個の SNPs の遺伝子型判定

を行った。これより、平均でゲノム DNA の 500 kbp あたり 1 カ所の遺伝子型を知ることができた。これらジェノタイピングデータを用いて 4 種のキー品種とその交配親についてウインドウサイズ 1Mbp (オフセット 0.51Mbp) のゲノム領域内に含まれる SNPs タイプと SSR マーカー対立遺伝子型を比較し、キー品種に含まれる道外品種由来ゲノム領域を決定した(図 II-7)。

4 つのキー品種において、いずれも複数の道外品種・系統由来染色体領域の導入が確認された(図 II-7)。最も多かったのが、「農林 15 号」で合計 21 箇所、全ゲノム領域の少なくとも 53% が道外品種「銀坊主」由来の領域と推定された。「早生富国」については合計 21 箇所、全ゲノム領域の少なくとも 52% が道外品種「中生愛国」由来の領域であり、「ユウカラ」については少なくとも合計 21 箇所、全ゲノム領域の 35% が道外品種「関東 53 号」由来の領域であると推定された。「キタアケ」については、他の 3 品種に較べて道外品種（ここでは「Cody」）由来の領域は少なく、合計 10 箇所、全ゲノム領域の少なくとも 7% であった。

3. 各遺伝的グループの遺伝的多様性

Group I～V 間の遺伝的多様性を比較するため、各 SSR マーカーのアリル数と多型情報含有値(PIC 値)の比較を行った(表 II-3)。全 63 品種・系統の 63 種の SSR マーカーのアリル数については最大数が 9、最小数が 2、平均数が 4.46 であった。PIC 値については最小値が 0.06、最大値が 0.80、平均値が 0.55 であった。各グループで最も多様性が大きかったのは Group I でアリル数および PIC 値の平均が 2.98 および 0.42 であった。Group II～V については、アリル数および PIC 値の変化について一定の傾向は認められず、ほぼ同等の値であった。

4. 各グループの農業形質の特徴

6 つのグループを育成年次順に並べると、概ね Group I から Group V の順になり(図 II-1)、育種の結果としてグループ間に農業特性の違いがあるものと期待された。そこで、各品種・系統の出穂期、穂ばらみ期耐冷性、一穂粒数、千粒重、穂数、アミロース含有率および精粒歩合の 7 形質を測定し、グループ毎の平均の比較を行った(図 II-8、表 II-4)。その結果、5 形質(穂ばらみ期耐冷性、一穂粒数、穂数、アミロース含有率、および精粒歩合)でグループ間の平均に有意差が認められた。

穂ばらみ期耐冷性の指標は冷水掛け流し検定後の種子稔実率であるが、全品種・系統群の種子稔実率の平均は 32.7% で、最小値は「豊光」の 1.9%、最大値は「ほしのゆめ」の 74.5% と大きな差異が認められた(表 II-5)。グループ毎に種子稔実率の平均を比較すると Group V が 54.7% と最も高く、Group I(23.4%)、II(19.8%)、IIIa(27.4%)、および IV(35.1%) との比較で有意差が認められた($P<0.05$) (図 II-8、表 II-4)。また、Group I～IV については 65% 以上の種子稔実率を示す品種がなかったが、Group V では 13 品種・系統中、6 品種・系統が 65% 以上の種子稔実率

を示す結果となった(表 II-5)。

アミロース含有率については、全品種・系統群の平均が 20.4%で、最小値は「おぼろづき」の 14.3%、最大値は「きたこがね」の 23.1%であった(表 II-5)。「はくちょうもち」は糯品種であるため調査対象から除いた。グループ毎の平均については、Group V が 18.5%で、他の 5 グループより有意に低かった($P<0.05$) (図 II-8、表 II-4)。Group V に属する「北海 287 号」、「おぼろづき」、「ゆめびりか」は、特にアミロース含有率が低く、それぞれ 14.9、14.3、および 16.2%であった。これら 3 系統は低アミロース遺伝子 *Wx1-1* の保持が確認されている (Ando *et al.* 2010)。Group V については、この 3 品種・系統を除いた場合でもアミロース含有率の平均が 19.5%であり、Group I(21.5%)、II(21.3%)、IIIa(21.2%)、あるいは IIIb(22.2%)に較べて有意に低かった($P<0.05$)(表 II-4)。

一株当たり穂数については、全品種・系統群の平均が 25.3 本で、最小値は「黒毛」の 13.3 本、最大値は「ハヤカゼ」の 35.7 であった(表 II-5)。グループ毎の平均については、Group I が 17.9 本で最も低く、他の 5 グループ(25.1~29.2 本) との比較で有意差が認められた($P<0.05$) (図 II-8、表 II-4)。

一穂粒数については、全品種・系統群の平均が 68.8 で、最小値は「ほしまる」の 43.5、最大値は「胆振早生」の 126.5 であった(表 II-5)。グループ毎の平均については、Group V が 53.2 で最も低く、Group I(80.2)、II(75.4)、IIIa(72.5)、および IV(68.2) との比較で有意差が認められた($P<0.05$) (図 II-8、表 II-4)。またグループ内の変異幅は Group I から V と育成年代が進むにつれて減少する傾向にあった。

整粒歩合については、全品種・系統群の平均が 40.5%で、最小値は「水口稻」の 0%、最大値は「ほのか 224」の 80.4%であった(表 II-5)。グループ毎の平均については、Group I から V と育成年代が進むにつれて増加する傾向にあり、Group I が 6.6%で、他の 5 グループより有意に低かった($P<0.05$) (図 II-8、表 II-4)。Group IIIb と V の精粒歩合はそれぞれ 66.6%と 64.0%と高く、Group I のみならず、Group II(29.2%)および IIIa(34.9%)とも有意差が認められた($P<0.05$) (図 II-8、表 II-4)。

出穂期については、全品種・系統群の平均が 90.7 日、最小値は 63 日、最大値 97 日で、グループ間の有意差は認められなかった(図 II-8、表 II-4,5)。千粒重についてもグループ間の有意差は認められず、平均が 20.6g、最小値は 17.9g、最大値 23.6g であった(図 II-8、表 II-4,5)。

表II-1 供試材料リスト

供試 番号	品種・系統名	育成年	交配組合せ	いもち病圃場抵抗性	
				Group*	GWAS供試材料 ^a
1	赤毛	-	在来種	I	○
2	北海早生	-	在来種	I	○
3	黒毛	-	在来種	I	○
4	水口稲	-	在来種	I	○
6	胆振早生	-	在来種	I	○
5	坊主	1895	赤毛純系分離	I	○
7	坊主6号	1919	坊主純系分離	II	○
8	走坊主	1924	魁 / 坊主	I	○
9	富国	1935	中生愛国 / 坊主6号	IIIa	○
10	早生坊主	1936	坊主純系分離	I	○
11	早生富国	1936	中生愛国 / 坊主6号	IIIa	○
12	農林9号	1937	早生チンコ / 走坊主	I	○
13	農林11号	1937	胆振早生 / 早生坊主	I	○
14	農林15号	1940	銀坊主 / 走坊主	IV	○
15	農林19号	1941	走坊主 / 二節	I	○
16	巴錦	1941	農林1号純系分離	II	○
17	大野中稲	1941	畿内早生22号 / 坊主6号	II	○
18	農林20号	1941	農林1号 / 胆振早生	II	○
19	石狩白毛	1941	関山8号 / 早生富国	IIIa	○
20	栄光	1941	鶴亀 / 早生富国	IIIa	○
21	共和	1941	陸羽132号 / 早生富国	IIIa	○
22	農林34号	1941	石狩白毛 / 北海84号	IIIa	○
23	南栄	1951	巴錦 / 農林20号	II	○
24	新栄	1951	巴錦 / 農林20号	II	○
25	北海112号	1951	陸羽132号 / 農林15号	II	○
26	巴まさり	1951	東北14号 / 北海87号	II	○
27	豊光	1953	早生愛国 / 農林15号	II	○
28	北斗	1953	功モチ / 共和	IIIa	○
29	新雪	1954	亀田早生 / 石狩白毛	IIIa	○
30	ふくゆき	1958	北海112号 / 農林34号	IV	○
31	みまさり	1959	巴錦 / 上育142号 // 大野中稲 / 農林34号	IIIa	○
32	ささほなみ	1961	藤坂5号 / 農林15号	IV	○
33	ユーカー	1962	関東53号 / 栄光	IIIb	○
34	しおか	1963	目黒米モチ / 共和 // 共和	IIIa	○
35	そらち	1967	空育12号 / みまさり	IIIa	○
36	はやゆき	1968	新米 / 農林19号	II	○
37	マツマエ	1970	ふ系51号 / 北海183号	IIIb	○
38	イシカリ	1971	北海182号 / 空育4号	IV	○
39	きたこがね	1973	北海182号 / 上育230号	IIIb	○
40	キタヒカリ	1975	しおか / ユーカー	IIIb	○
41	はやこがね	1977	北斗 / 上育272号	IIIa	○
42	ともゆたか	1977	北海222号 / 道北5号	IV	○
43	しまひかり	1981	コシホマレ / そらち	IIIb	○
44	みちこがね	1982	空育99号 / 北海230号	IV	○
45	ともひかり	1983	北海230号 / 巴まさり // 空育99号	IV	○
46	キタアケ	1983	永系7361 / 道北5号	V	○
47	ゆきひかり	1984	北海230号 / 巴まさり // 空育99号	IV	○
48	はやまさり	1986	永系75169 突然変異系統 / 永系76251	V	○
49	きらら397	1988	東北214号 / 道北36号	V	○
50	はくちょうもち	1989	上育モチ381 / おんねもち	IIIb	○
51	ほのか224	1990	東北214号 / 空育110号 // 空育114号	IV	○
52	ハヤカゼ	1990	北育74号 / 道北36号	V	○
53	彩	1991	永系84271 / キタアケ	-	○
54	きたいぶき	1993	上育395号 / 上育397号(きらら397)	V	○
55	あきほ	1996	上育394号 / 空育133号	V	○
56	ほしのゆめ	1996	あきたこまち / 道北48号 // 上育397号(きらら397)	V	○
57	北海287号	1998	きらら397突然変異系統	V	○
58	ななつぼし	2001	ひとめぼれ / 空系90242A // 空育150号	V	○
59	ふっくりんこ	2003	空系90242B / 上育418号(ほしのゆめ)	V	○
60	おほろづき	2003	空育150号 / 北海287号	V	○
61	大地の星	2003	空育151号 / 上育418号(ほしのゆめ)	V	○
62	ほしまる	2005	上育428号 / 空育159号	V	○
63	ゆめびりか	2008	札系96118 / 上育427号	V	○
64	日本晴	1963	幸風 / ヤマビコ	-	○
65	中生愛国	-	愛国突然変異系統	-	○
66	銀坊主	-	愛国突然変異系統	-	○
67	関東53号	1951	農林10号 / 荔枝江	-	○
68	Cody	-	アメリカ合衆国栽培種	-	○

*本研究で見いだした道内品種・系統群の遺伝的グループ。彩はいずれのグループにも属さない。

^a○印はIV章で、いもち病圃場抵抗性に関するGWASに用いた材料。

表II-1

表II-2 供試SSRマーカーのアリル数およびPIC値

マーカー	染色体	マーカーポジション (bp)*	All		Group I		Group II		Group IIIa		Group IIIb		Group IV		Group V	
			アリル数	PIC値	アリル数	PIC値	アリル数	PIC値	アリル数	PIC値	アリル数	PIC値	アリル数	PIC値	アリル数	PIC値
RM1282	1	549,641	3	0.526	3	0.595	3	0.406	2	0.497	2	0.278	2	0.463	1	0.000
RM1320	1	2,177,733	6	0.570	3	0.512	1	0.000	4	0.675	2	0.278	3	0.645	1	0.000
RM1195	1	6,154,019	4	0.509	4	0.678	3	0.594	3	0.272	2	0.278	3	0.579	2	0.142
RM1032	1	9,318,464	4	0.642	3	0.512	2	0.469	4	0.604	2	0.278	2	0.298	1	0.000
RM6740	1	17,281,795	7	0.644	3	0.562	2	0.469	4	0.556	2	0.278	3	0.661	2	0.142
RM3241	1	27,073,689	7	0.755	4	0.694	1	0.000	6	0.757	2	0.278	3	0.562	2	0.426
RM1297	1	28,613,212	3	0.536	3	0.595	1	0.000	2	0.497	2	0.500	3	0.430	2	0.497
RM5501	1	34,548,947	4	0.626	2	0.165	2	0.375	3	0.462	3	0.500	2	0.165	2	0.142
RM6407	1	42,377,077	2	0.455	2	0.463	2	0.500	2	0.473	1	0.000	1	0.000	2	0.497
RM6911	2	9,009,029	6	0.771	6	0.81	4	0.656	5	0.769	3	0.611	3	0.430	1	0.000
RM1358	2	10,185,526	8	0.767	7	0.826	3	0.594	3	0.592	4	0.722	2	0.496	2	0.142
RM6374	2	15,187,984	4	0.584	3	0.43	1	0.000	2	0.142	2	0.444	2	0.165	1	0.000
RM1379	2	20,056,672	8	0.803	5	0.694	2	0.500	5	0.651	3	0.500	3	0.579	3	0.272
RM3874	2	23,842,982	7	0.674	4	0.545	2	0.469	3	0.521	2	0.444	2	0.165	5	0.698
RM1920	2	25,467,312	6	0.655	5	0.562	3	0.594	2	0.473	3	0.611	3	0.645	3	0.556
RM1385	2	26,646,465	9	0.590	7	0.793	3	0.531	4	0.485	3	0.500	2	0.463	3	0.272
RM3774	2	34,444,317	3	0.293	2	0.165	1	0.000	2	0.142	2	0.444	2	0.397	2	0.355
RM4108	3	536,517	9	0.686	7	0.843	3	0.406	2	0.142	2	0.278	2	0.298	3	0.651
RM3372	3	1,457,491	4	0.564	3	0.595	3	0.406	1	0.000	1	0.000	2	0.165	3	0.568
RM3802	3	1,959,825	5	0.544	4	0.694	5	0.688	1	0.000	1	0.000	4	0.694	1	0.000
RM3807	3	3,531,267	4	0.601	4	0.694	3	0.594	3	0.604	2	0.444	2	0.165	2	0.260
RM5442	3	5,529,248	4	0.566	3	0.314	3	0.625	1	0.000	2	0.444	2	0.496	3	0.639
RM3766	3	6,934,586	4	0.706	2	0.463	3	0.531	2	0.260	2	0.444	3	0.562	3	0.568
RM3461	3	8,350,099	3	0.485	2	0.165	1	0.000	2	0.142	1	0.000	2	0.496	3	0.556
RM1334	3	17,422,644	3	0.386	3	0.512	1	0.000	2	0.142	1	0.000	2	0.463	2	0.355
RM5626	3	24,866,271	2	0.061	2	0.298	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000
RM3601	3	25,959,692	3	0.334	2	0.165	1	0.000	1	0.000	2	0.278	2	0.496	2	0.473
RM1038	3	33,660,363	7	0.640	4	0.645	3	0.594	3	0.615	1	0.000	3	0.314	2	0.142
RM7200	4	4,042,524	5	0.608	2	0.298	3	0.406	2	0.355	3	0.611	2	0.397	2	0.260
RM3524	4	22,893,791	7	0.740	4	0.645	2	0.219	3	0.473	2	0.278	4	0.694	3	0.521
RM1018	4	26,967,205	2	0.490	1	0	2	0.469	2	0.473	2	0.500	2	0.165	2	0.142
RM3648	4	33,306,479	3	0.647	3	0.562	2	0.375	3	0.592	3	0.611	2	0.463	2	0.426
RM1248	5	93,969	3	0.648	2	0.496	2	0.500	3	0.272	2	0.444	3	0.628	2	0.142
RM1127	5	16,015,462	2	0.328	2	0.165	1	0.000	1	0.000	2	0.278	2	0.165	2	0.426
RM1386	5	20,057,139	7	0.517	6	0.661	2	0.375	3	0.379	3	0.611	1	0.000	2	0.426
RM1271	5	22,478,305	5	0.688	2	0.397	2	0.219	3	0.592	2	0.278	1	0.000	3	0.544
RM1369	6	1,563,617	6	0.660	3	0.314	3	0.594	2	0.142	2	0.444	4	0.727	2	0.142
RM5754	6	5,234,113	5	0.644	3	0.645	2	0.469	2	0.260	4	0.722	3	0.661	2	0.142
RM1169	6	7,661,599	2	0.455	1	0	1	0.000	2	0.142	1	0.000	2	0.463	1	0.000
RM5752	7	2,567,818	4	0.573	2	0.298	2	0.469	2	0.260	2	0.278	2	0.298	3	0.379
RM1243	7	3,555,641	9	0.722	5	0.645	4	0.719	4	0.556	2	0.500	3	0.512	3	0.379
RM1253	7	6,968,820	3	0.562	2	0.496	2	0.500	3	0.604	2	0.444	2	0.165	2	0.260
RM1048	7	20,165,312	3	0.524	3	0.628	1	0.000	2	0.355	2	0.444	2	0.165	1	0.000
RM1306	7	28,947,956	9	0.643	5	0.694	3	0.594	5	0.722	1	0.000	3	0.562	1	0.000
RM3181	8	7,553,778	2	0.225	2	0.165	1	0.000	1	0.000	2	0.278	1	0.000	2	0.500
RM3481	8	9,136,135	3	0.503	3	0.512	1	0.000	2	0.260	2	0.500	2	0.397	2	0.142
RM5485	8	24,072,904	6	0.765	3	0.645	2	0.375	3	0.462	3	0.611	4	0.562	4	0.391
RM3609	9	1,157,791	5	0.591	3	0.314	2	0.219	3	0.379	1	0.000	3	0.512	3	0.615
RM5526	9	7,314,035	2	0.146	1	0.000	1	0.000	1	0.000	2	0.444	2	0.165	1	0.000
RM1328	9	9,206,385	3	0.485	1	0.000	1	0.000	3	0.473	2	0.278	2	0.397	2	0.142
RM1553	9	21,003,925	4	0.683	2	0.165	3	0.625	4	0.627	1	0.000	3	0.512	4	0.627
RM3283	10	12,383,411	2	0.408	2	0.463	2	0.375	2	0.355	1	0.000	2	0.298	2	0.426
RM6704	10	18,005,491	3	0.656	1	0.000	2	0.469	3	0.592	2	0.444	2	0.496	2	0.444
RM1374	10	21,644,592	9	0.703	4	0.645	3	0.594	4	0.627	1	0.000	3	0.314	3	0.521
RM1124	11	3,855,192	3	0.430	3	0.430	2	0.469	2	0.260	1	0.000	2	0.397	2	0.355
RM3137	11	6,188,794	3	0.451	1	0.000	3	0.594	2	0.497	3	0.500	2	0.298	2	0.497
RM6091	11	13,869,005	2	0.490	2	0.165	1	0.000	2	0.473	2	0.278	2	0.298	2	0.142
RM1355	11	19,816,431	2	0.270	1	0.000	1	0.000	1	0.000	2	0.440	2	0.460	2	0.260
RM5354	11	21,796,072	2	0.090	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	2	0.350
RM7654	11	27,666,335	5	0.617	3	0.314	2	0.469	2	0.497	2	0.444	2	0.397	3	0.462
RM7619	12	4,829,808	4	0.459	2	0.165	1	0.000	1	0.000	3	0.611	2	0.496	3	0.556
RM1036	12	8,797,117	5	0.742	3	0.314	2	0.500	2	0.473	3	0.611	2	0.397	2	0.355
RM1264	12	26,173,358	2	0.472	2	0.397	2	0.500	2	0.142	2	0.444	2	0.298	2	0.260
平均			4.46	0.549	2.98	0.423	2.06	0.33	2.51	0.361	2.02	0.336	2.30	0.382	2.19	0.311

*各マーカーポジションは日本晴ゲノム配列情報(build1.0)に基づく

表II-3 63SSRマーカーの多型情報を用いた各グループの遺伝的多様性の比較

Group	品種 系統数	マーカーアリル数			PIC値		
		平均	最小	最大	平均	最小	最大
All	63	4.46	2	9	0.55	0.06	0.80
Group I	11	2.98	1	7	0.42	0.00	0.84
Group II	8	2.06	1	5	0.33	0.00	0.72
Group IIIa	13	2.51	1	6	0.36	0.00	0.77
Group IIIb	6	2.02	1	4	0.34	0.00	0.72
Group IV	11	2.3	1	4	0.38	0.00	0.73
Group V	13	2.19	1	5	0.31	0.00	0.70

表II-3

表II-4 各種農業形質のグループ毎の平均

品種		穂ばらみ期		アミロース		千粒重(g)		穂数		一穂粒数		整粒歩合	
Group	系統数	出穂期	耐冷性(%)	含有率(%) ^a									
I	11	88.8±4.5	a 23.4±16.4	a	21.5±1.1	a(a)	20.1±1.8	a 17.9±4.7	b	80.2±22.5	a	6.6±8.9	a
II	10	93.9±5.6	a 19.8±18.3	a	21.1±1.3	a(a)	20.0±1.1	a 25.1±3.8	a	75.4±13.0	a	29.2±14.2	b
IIIa	12	91.8±4.0	a 27.4±18.7	a	21.2±0.9	a(a)	20.6±1.5	a 25.9±3.9	a	72.5±11.0	a	34.9±18.4	b
IIIb	6	93.2±3.6	a 30.4±12.2	ab	22.2±1.0	a(a)	20.7±1.0	a 28.4±2.3	a	66.2±3.2	ab	66.6±7.8	c
IV	10	89.6±4.6	a 35.1±17.6	a	21.0±1.7	a(ab)	20.5±1.0	a 25.4±3.9	a	68.2±9.6	ab	52.6±20.5	bc
V	13	80.5±4.9	a 54.7±16.8	b	18.5±2.0(19.5±0.8)	b(b)	21.6±1.1	a 29.2±3.8	a	53.2±5.4	b	64.0±5.8	c
All	63	90.7±4.5	32.7±20.6		20.4±3.1		20.6±1.4	25.3±5.1		68.8±15.3		40.5±24.9	

それぞれ平均値±標準偏差で示している。異なるアルファベットは5%水準で有意差有り(Tukey-Kramer多重検定)。

- 出穂期：播種日～出穂日までの日数
- 穂ばらみ期耐冷性：冷水掛け流し後の種子稔実率(稔実粒数/総実粒数×100)
- アミロース含有率：白米精粉に含まれるアミロースの割合
- 千粒重：玄米1000粒当たりの重さ
- 穂数：1個体当たりの穂数平均
- 一穂粒数：一穂当たりの総粒数平均
- 整粒歩合：玄米500粒当たりに含まれる整粒の割合

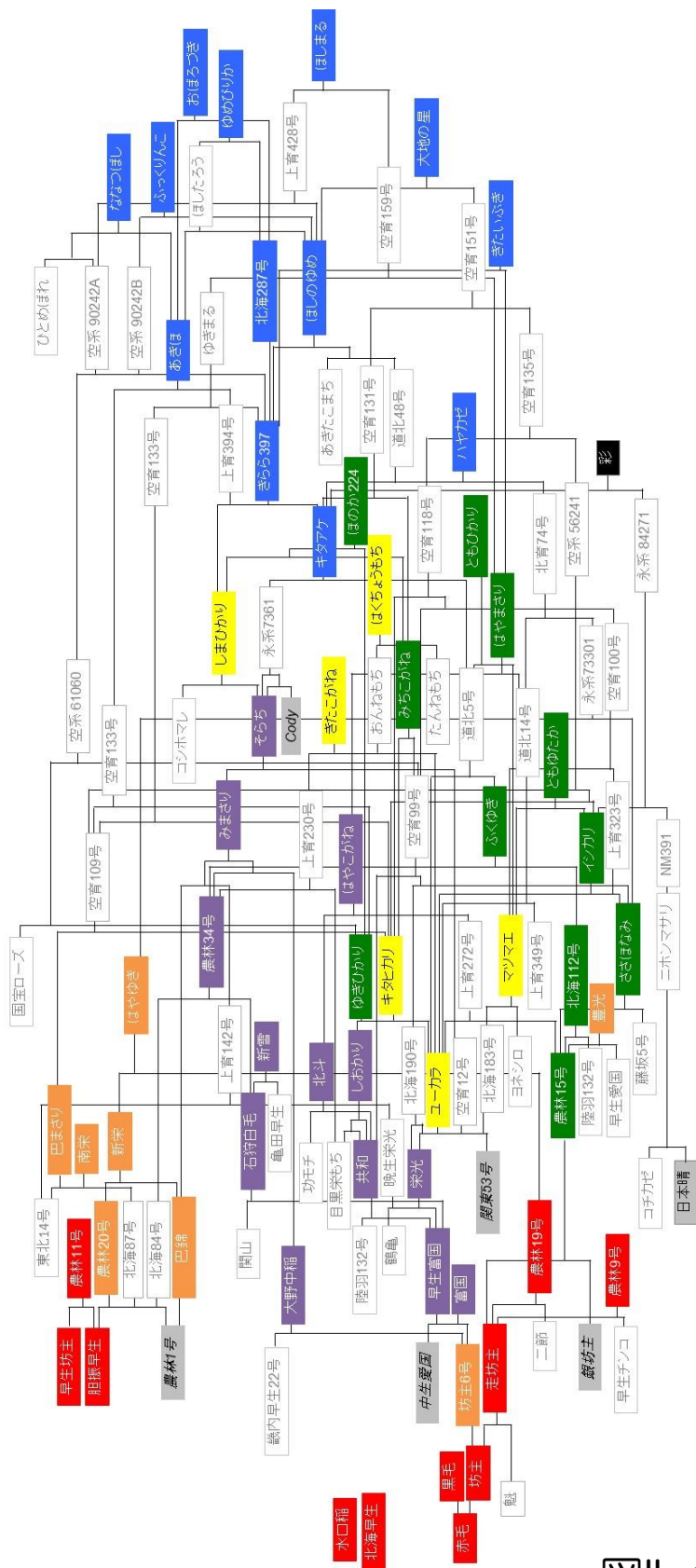
^a Group Vの()内数値はWx1-1保持品種3品種を抜いた値および有意差検定結果。

表II-4

表II-5 道内新旧主要品種・系統の各種農業形質

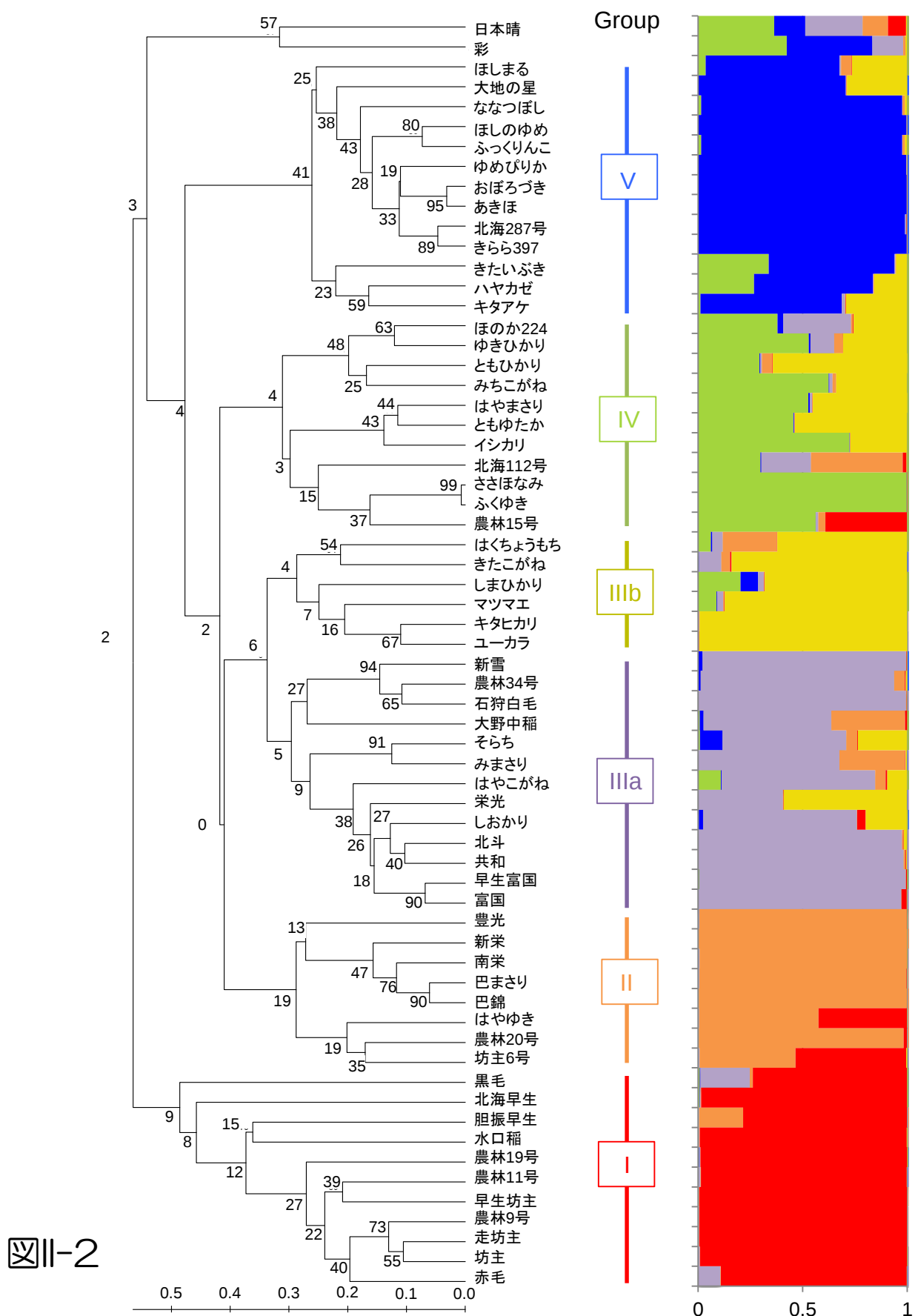
Group	品種	出穂期	穂ばらみ期 耐冷性(%)	アミロース 含有率(%)	千粒重 (g)	穂数 (本/株)	一穂粒数	整粒 歩合(%)
I	赤毛	88	19.5	22.0	18.3	28.0	70.3	0.6
	坊主	89	14.9	21.0	19.4	14.7	60.8	6.0
	走坊主	80	11.9	21.2	17.9	21.7	65.5	13.0
	農林9号	68	7.5	22.0	20.9	25.0	54.5	4.6
	早生坊主	64	47.8	23.1	20.1	18.3	64.0	2.2
	農林11号	63	10.2	22.4	19.5	16.7	78.1	3.4
	農林19号	72	44.2	22.5	19.0	21.7	79.7	3.6
	水口稲	96	40.9	21.3	18.6	16.3	110.7	0.0
	胆振早生	84	4.5	20.9	23.0	16.0	126.5	1.2
	北海早生	80	40.9	18.7	22.0	15.3	95.1	7.2
	黒毛	84	15.4	22.1	22.6	13.3	67.3	31.4
	最小値	63	4.5	18.7	17.9	13.3	54.5	0.0
	最大値	96	47.8	23.1	23.0	28.0	126.5	31.4
	平均値±標準偏差	88.8±4.5	23.4±16.4	21.5±1.1	20.1±1.8	17.9±4.7	80.2±22.5	6.6±8.9
II	坊主6号	83	10.8	22.8	20.0	21.0	104.5	6.2
	農林20号	78	3.4	21.0	20.2	24.3	78.1	40.6
	はやゆき	67	61.0	22.2	21.2	19.7	61.6	10.8
	巴錦	94	7.3	18.5	18.6	31.0	64.6	19.0
	巴まさり	96	26.8	20.6	19.2	29.7	68.9	52.4
	南米	95	27.2	21.5	22.1	24.0	61.2	33.4
	新栄	92	28.3	21.4	20.1	23.3	79.7	27.6
	豊光	91	1.9	22.1	19.9	25.0	72.9	39.0
	最小値	67	1.9	18.5	18.6	19.7	61.2	6.2
	最大値	97	61.0	22.8	22.1	31.0	104.5	52.4
	平均値±標準偏差	93.9±5.6	19.8±18.3	21.1±1.3	20.0±1.1	25.1±3.8	75.4±13.0	29.2±14.2
IIIa	富国	89	18.2	20.9	23.6	20.0	58.8	4.8
	早生富国	86	7.8	20.9	21.7	23.3	84.6	22.8
	栄光	92	18.6	20.3	19.7	23.3	79.6	56.2
	共和	92	41.1	19.6	18.0	26.0	83.6	34.0
	北斗	77	5.2	21.7	19.2	21.7	85.4	7.4
	しおかり	89	15.0	21.4	18.7	30.3	75.7	30.8
	はやこがね	73	61.2	20.6	19.9	27.1	70.0	69.4
	みまさり	89	47.4	22.7	22.0	33.3	60.9	30.0
	そらち	91	47.8	21.2	20.5	31.0	62.5	43.0
	大野中稲	97	27.4	21.3	19.2	23.0	85.0	26.6
	石狩白毛	86	16.5	21.1	21.1	22.7	87.6	37.4
	農林34号	85	11.0	22.8	23.1	26.7	61.6	48.0
	新雪	94	38.6	21.1	20.1	25.0	59.8	35.2
	最小値	77	5.2	19.6	18.0	20.0	58.8	4.8
IIIb	最大値	94	61.2	22.7	23.6	33.3	87.6	69.4
	平均値±標準偏差	91.8±4.0	27.4±18.7	21.2±0.9	20.6±1.5	25.9±3.9	72.5±11.0	34.9±18.4
	コーカラ	94	18.0	22.9	20.3	30.0	63.7	66.2
	キタヒカリ	91	36.9	21.8	21.4	25.7	65.2	71.0
	マツマエ	93	29.0	22.5	21.6	29.0	68.9	77.4
	しまひかり	84	24.3	20.6	19.7	26.0	68.8	58.6
	きたこがね	79	22.6	23.1	21.6	31.7	61.7	59.8
	はくちょうもち	86	51.5	-1.3	19.5	28.0	69.0	-
	最小値	79	18.0	20.6	19.5	26.0	61.7	58.6
	最大値	94	51.5	23.1	21.6	31.7	69.0	77.4
	平均値±標準偏差	93.2±3.6	30.4±12.2	22.2±1.0	20.7±1.0	28.4±2.3	66.2±3.2	66.6±7.8
IV	農林15号	65	5.5	21.2	20.4	23.7	64.4	8.8
	ふくゆき	80	32.5	21.0	19.1	30.0	78.2	36.2
	ささほなみ	78	41.5	21.3	19.4	22.7	78.1	35.8
	北海112号	80	3.5	21.2	19.2	29.7	77.2	37.0
	イシカリ	78	52.0	23.9	22.5	23.7	64.4	60.0
	ともゆたか	80	55.5	23.0	21.4	34.0	55.7	63.8
	はやまさり	67	54.4	20.9	20.2	26.0	52.3	68.8
	みちこがね	89	31.7	19.8	20.7	22.7	80.4	53.4
	ともひかり	84	17.7	21.2	19.9	26.3	74.1	58.0
	ゆきひかり	88	44.9	20.3	20.1	23.3	69.2	61.0
	ほのか224	93	15.7	17.4	21.5	21.3	65.5	80.4
	最小値	65	5.5	17.4	19.1	21.3	52.3	8.8
	最大値	93	55.5	23.9	22.5	30.0	80.4	80.4
	平均値±標準偏差	89.6±4.6	35.1±17.6	21.0±1.7	20.5±1.0	25.4±3.9	68.2±9.6	52.6±20.5
V	キタアケ	81	65.1	21.0	22.2	34.0	53.0	58.8
	ハヤカゼ	69	57.3	20.5	20.3	35.7	47.1	50.0
	きだいふき	79	19.9	19.3	20.1	27.7	49.9	66.6
	きらら397	85	41.2	19.8	21.9	27.3	56.8	65.4
	北海287号	83	29.4	14.9	20.8	30.3	55.2	68.4
	あきほ	77	65.5	20.2	21.6	28.7	54.7	71.8
	おぼろづき	86	66.4	14.3	21.3	27.3	65.3	66.0
	ゆめぴりか	80	45.8	16.2	20.9	32.3	51.6	57.8
	ななつぼし	84	56.7	18.9	21.2	23.7	57.5	64.8
	ほしのゆめ	81	74.5	18.9	21.3	26.7	51.3	70.6
	ふっくりんこ	87	73.1	18.9	22.0	25.3	54.9	61.8
	大地の星	79	67.4	18.4	23.7	26.0	50.2	66.2
	ほしまる	75	49.3	19.1	23.8	34.7	43.5	64.2
	最小値	69	19.9	14.3	20.3	23.7	43.5	57.8
all	最大値	87	74.5	21.0	23.8	35.7	65.3	68.4
	平均値±標準偏差	80.5±4.9	54.7±16.8	18.5±2.0	21.6±1.1	29.2±3.8	53.2±5.4	64.0±5.8
	平均値±標準偏差	90.7±4.5	32.7±20.6	20.4±3.1	20.6±1.4	25.3±5.1	68.8±15.3	40.5±24.9

表II-5



図III-1 供試材料の系譜図
同一背景色は同一グループであることを示す。

- 赤：Group I
- 橙：Group II
- 紫：Group IIIa
- 黄：Group IIIb
- 緑：Group IV
- 青：Group V
- グレー：本研究に用いた道外品種・系統
- 黒：その他（彩のみ）

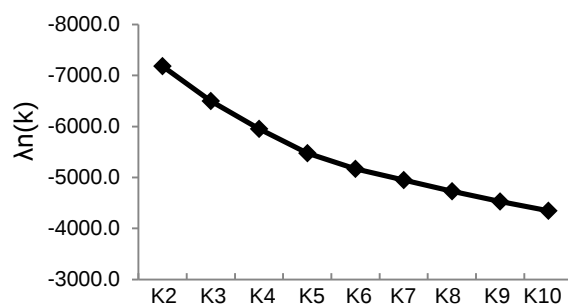


図II-2

図II-2 道内新旧主要品種・系統群のUPGMA法による系統樹ならびにStructure解析結果

右棒グラフはK=6としたときのStructure解析結果。各品種・系統における各Groupの遺伝構造の混ざり具合を示す。

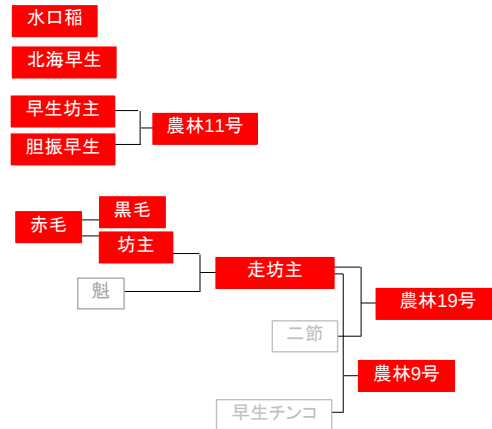
赤：Group I 橙：Group II 紫：Group IIIa 黄：Group IIIb 緑：Group IV 青：Group V。系統樹内
数値はBootstrap値



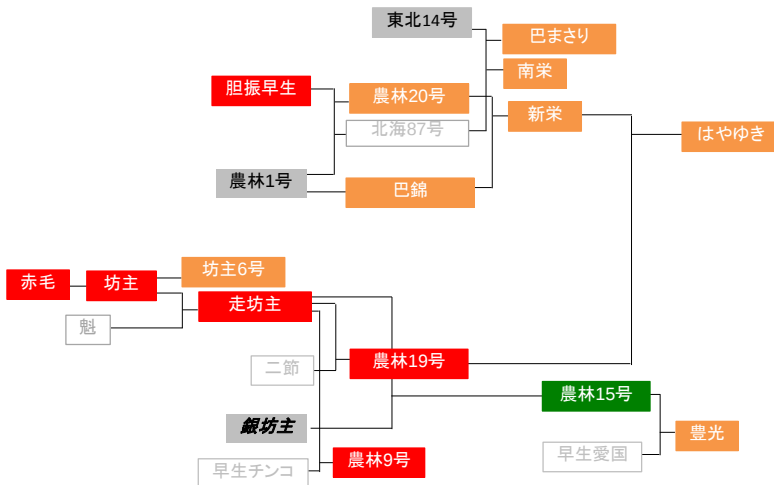
図II-3 Structure解析より得られた $\lambda_n(k)$ 値($k=2\sim10$)

図II-3

Group I



Group II



図II-4 Group IおよびII構成品種・系統の系譜図

同一背景色は同一グループであることを示す。

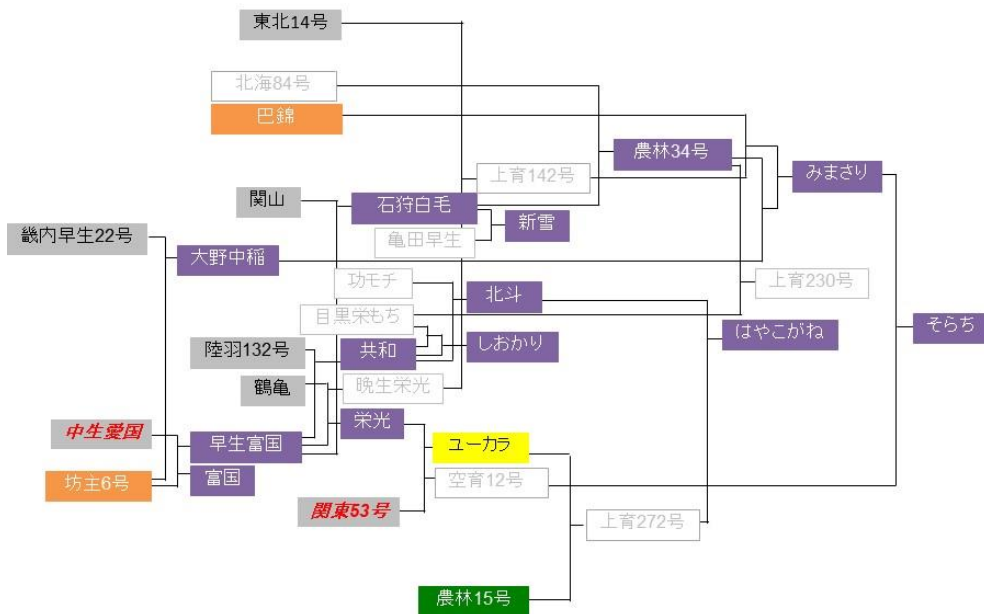
赤：Group I

橙：Group II

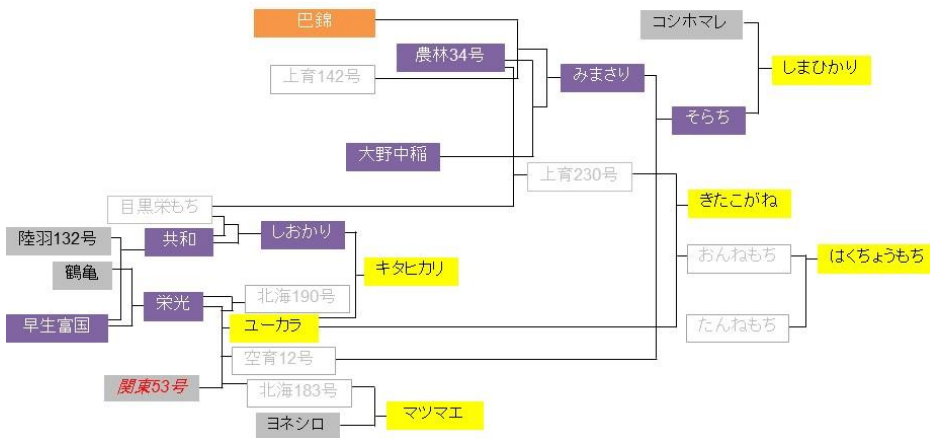
緑：Group IV

グレー：道外品種・系統

Group IIIa



Group IIIb



図II-5 Group IIIaおよびIIIb構成品種・系統の系譜図

同一背景色は同一グループであることを示す。

橙：Group II

紫：Group IIIa

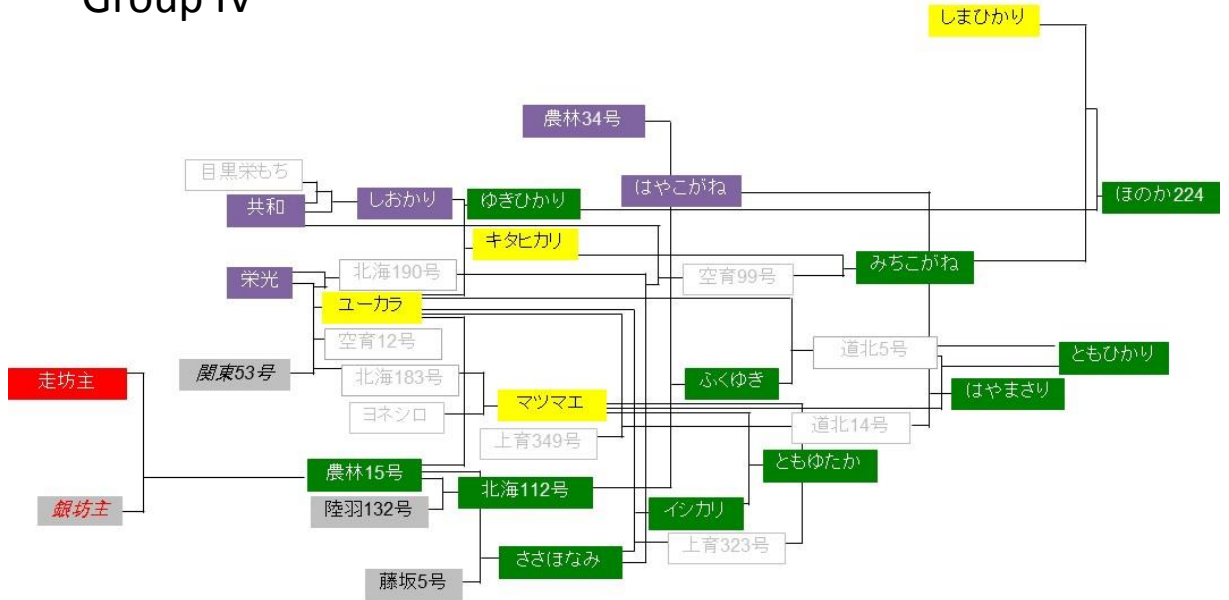
黄：Group IIIb

緑：Group IV

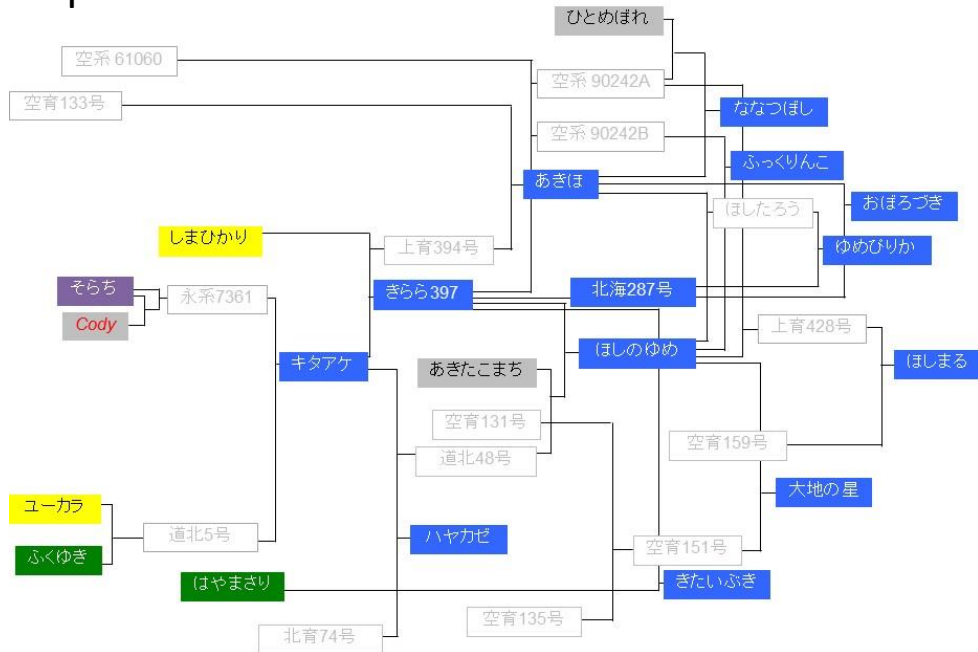
グレー：道外品種・系統

図II-5

Group IV



Group V



図II-6 Group IIIaおよびIIIb構成品種・系統の系譜図

同一背景色は同一グループであることを示す。

赤：Group I

紫：Group IIIa

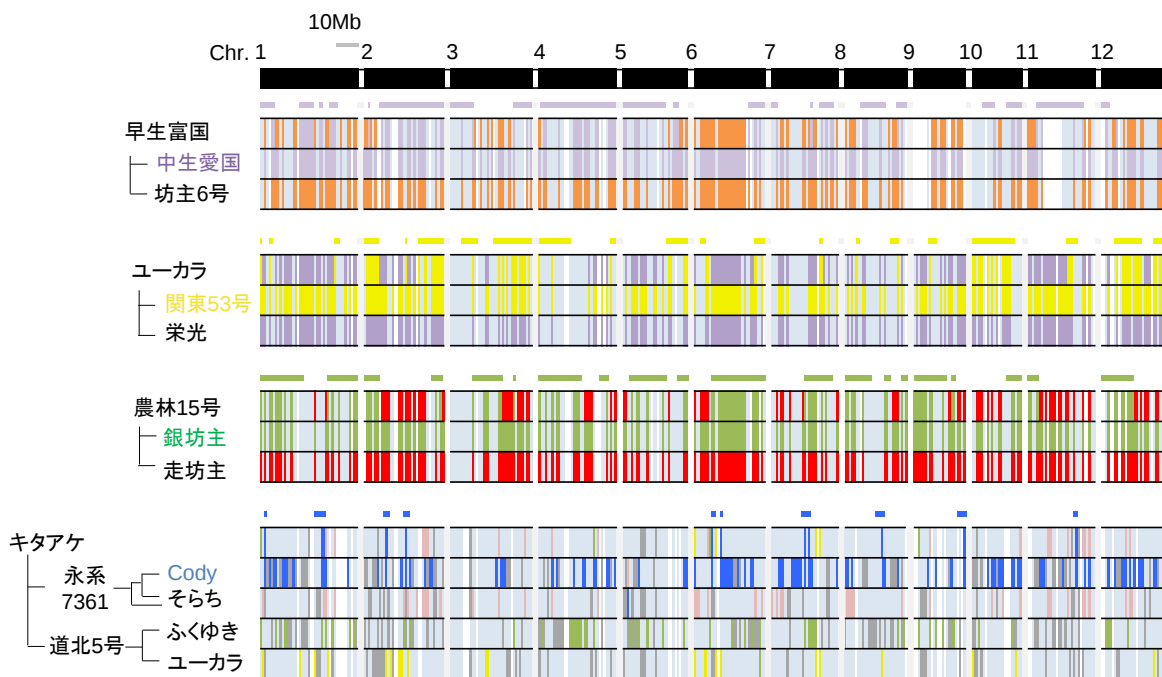
黄：Group IIIb、

緑：Group IV

青：Group V

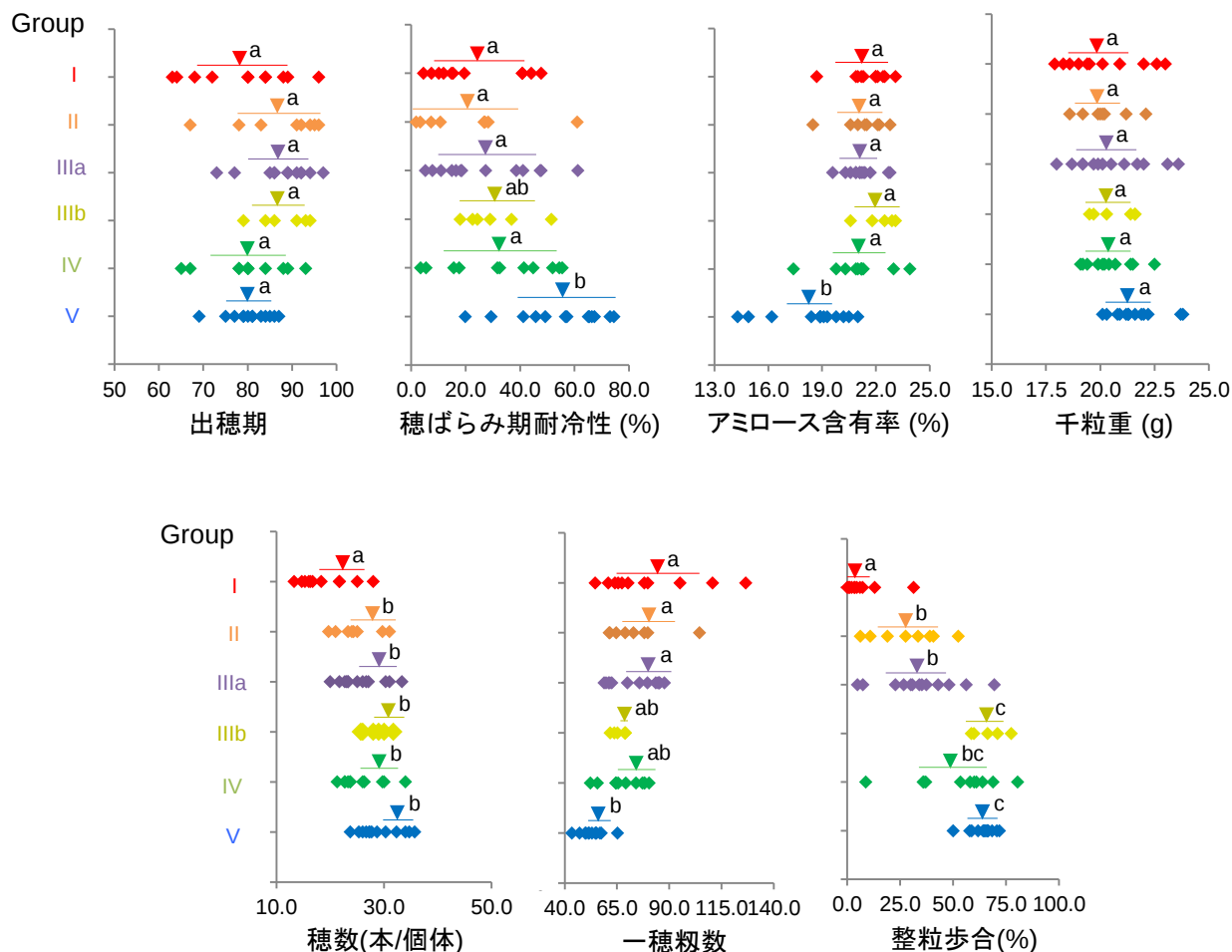
グレー：道外品種・系統

図II-6



図II-7 早生富国、ユーカラ、農林15号およびキタアケの各染色体領域の由来の推定
 図一番上の黒横棒はイネの12染色体を示す。同一色は同一ゲノム構造である。紫、黄、緑、青の横棒は「早生富国」、「ユーカラ」、「農林15号」および「キタアケ」内に含まれる道外品種・系統由来のゲノム領域。「中生愛国」、「関東53号」、「銀坊主」および「Cody」が、各品種育成に用いられた道外品種・系統。

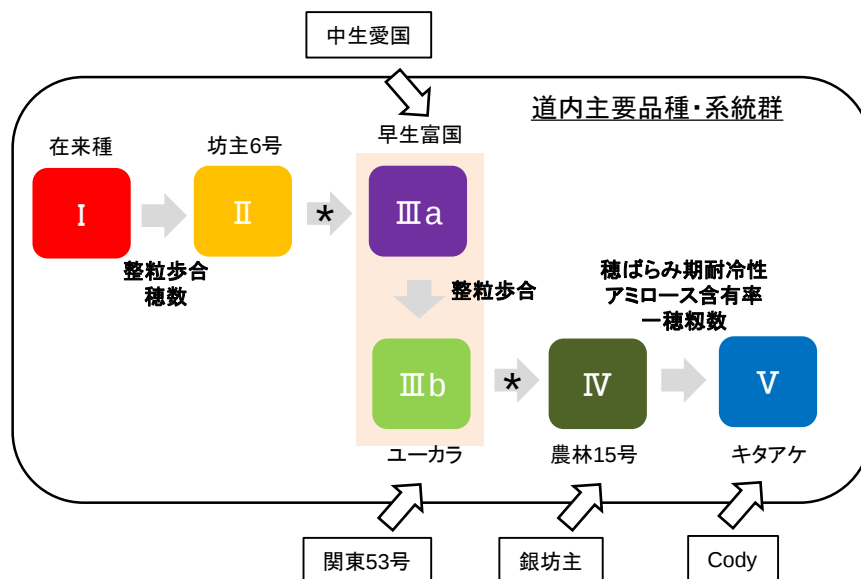
図II-7



図II-8 道内新旧主要品種・系統群グループ毎の各種農業形質

横軸各形質値。縦軸グループ。グラフ内矢頭は各グループ平均値、横線は標準偏差を示す。異なるアルファベットは平均値に5%水準で有意差があることを示す(Tukey-kramerの多重検定)。糯品種である「はくちょうもち」のアミロース含有率および整粒歩合については、データに含めなかった。

- ・ 出穂期横軸：播種日～出穂日までの日数。
- ・ 穂ばらみ期耐冷性横軸：冷水掛け流し後の種子稔実率(稔実粒数/総粒数×100)。
- ・ アミロース含有率：白米精粉に含まれるアミロースの割合。
- ・ 千粒重横軸：玄米1000粒当たりの重さ。
- ・ 穂数横軸：個体当たりの穂数平均。
- ・ 一穂粒数横軸：一穂当たり総粒数の平均。
- ・ 整粒歩合横軸：玄米500粒当たりに整粒が占める割合(%)。



図II-9 道内新旧主要品種群における遺伝的グループ変遷のモデル図

*グループ変遷に伴い、PIC値が増加していたケース。グループの変遷に伴い、有意差が生じた農業形質を矢印近傍に示した。

図II-9

考察

本章では、これまでに北海道で育成された品種の遺伝的多様性を解明し、系譜や農業形質と対応させることで、ゲノムレベルで品種育成過程の遡及を行うための基盤構築を試みた。その結果、対立遺伝子頻度に基づく集団構造モデル、および育種系譜から北海道の新旧品種群は育種系譜に対応した 6 つの遺伝グループに分けられることが明らかになった。

イネにおいては、過去に、本章と同様な手法を用いた解析結果が複数報告されている。Garris *et al.* (2005) や Glaszmann (1987) は世界各地より様々なイネ品種を収集してクラスター解析を行ったところ、*Indica* や *Japonica* といった 5~6 種のイネ品種グループに関連した集団遺伝構造を見出している。同じくアルゼンチン (Giarrocco *et al.* 2007)、タイ (Chakhonkaen *et al.* 2012)、アメリカ合衆国 (Lu *et al.* 2005)、およびヨーロッパ (Courtois *et al.* 2012) 品種におけるクラスター解析でも品種グループに関連した集団遺伝構造が見出された。以上の研究が本章よりも大まかな集団構造の発見にとどまっている理由としては、供試マーカー数や材料の違いが考えられる。

これに対し Yonemaru *et al.* (2012) は、日本のイネ品種群内に集団構造があることを報告している。報告された集団構造は、品種の栽培型（水稻 vs. 陸稲）、育成年次、あるいは育成地に対応していた。彼らが供試した 177 系統・品種の中には本章と共通な北海道品種は 16 しか含まれていない。しかも、解析スケールの違い（陸稲を含めた日本全体 vs. 北海道）を考慮すると、この報告と本章の結果を直接比較することはできないだろう。本章で明らかにしたような、イネにとって過酷と言える環境に適応する品種群に集団構造が存在するという結果は、以下のような育種的に重要な議論につながる点で、新規の重要な知見を与える。

北海道品種群に遺伝グループを生じせしめた要因は、育種系譜より類推できる。Group I は「赤毛」をはじめとする 1800 年代後半に北海道内で栽培されていた在来種とその後代で構成される (図 II-4)。これらは他グループに比べて遺伝的多様性が高いグループである (表 II-3)。Group II は在来種同士もしくは在来種と本州品種との交配後代である (図 II-4)。本研究で Group IIIa のキー品種とした「早生富国」は、Group II の「坊主 6 号」と本州品種「中生愛国」の交配より育成された (図 II-5)。「早生富国」には「中生愛国」のゲノム領域が少なくとも 52% 含まれている。

「ユーカーラ」は本研究で Group IIIb のキー品種としたが、これは Group IIIa の「栄光」と本州品種「関東 53 号」の交配に由来する (図 II-5)。「ユーカーラ」には「関東 53 号」のゲノム領域が少なくとも 35% 含まれている。Group I の「走坊主」と本州品種「銀坊主」の交配より「農林 15 号」(Group IV のキー品種) が育成された (図 II-6)。「農林 15 号」には「銀坊主」のゲノム領域が少なくとも 53% 含まれている。Group V のキー品種とした「キタアケ」は「そらち」(Group IIIa)、「ユーカーラ」(Group IIIb)、「ふくゆき」(Group IV)、および外国稲の「Cody」の交配後代で (図 II-6)、これらの品種のゲノム領域が取り込まれている。このうち、「Cody」のゲノム領域は少なく

とも 7%以上含まれている。これより各年代で交配に多用されるような品種は道外品種を用いて育成され、それが北海道イネ品種・系統群の集団遺伝構造分化に少なからず影響したことが示唆される。この仮説を検証するため各キー品種で導入された道外品種由来のゲノム領域がその他品種・系統にどの程度保存されているか、さらに、道外品種のゲノム領域の導入に伴って導入された遺伝子の意義について検討する必要がある。

本章では、7つの農業形質についてグループ間の比較を行った。その結果、5形質(穂ばらみ期耐冷性、一穂粒数、穂数、アミロース含有率、および整粒歩合)について有意差が確認され、新しく発生したグループほど、草姿や耐冷性等いくつかの形質が栽培上望ましい方向に改良されていた。アミロース含有率については Group V が他のグループと比較して低い結果となった。整粒歩合(玄米外観品質)についてはグループの変遷に伴って継続的な向上が認められる。低アミロース性と外観品質の向上については良食味・高品質米生産を達成するのに重要な形質であり、アミロースについては 1980 年代より積極的な選抜を行ってきた(北海道立中央農業試験場 1988)。Group V は 1983 年以降にリリースされた品種群であり、このことと符合する。

草型については、株当たり穂数が Group I から II への変遷の過程で有意に増加している。Group II~V の過程でも有意差はないもののグループの平均値は増加傾向である。その一方で、一穂粒数は徐々に減少する傾向にある。一穂粒数の増加は、弱勢穎花の増加につながり品質の低下をもたらす(高橋 2007)。収量と品質レベルの増加を同時に果たしていくため、北海道の育種過程においては継続的に、穂数は増やす方向に、一穂粒数は減らす方向に育種選抜圧がかかっているのではないかと予想される。

低温ストレスに対する抵抗性は冷涼な北海道におけるイネ栽培に必須事項である(北農会 1994)。穂ばらみ期耐冷性は、着実に向上しており、Group V は、Group I、II、IIIa もしくは IV との比較において有意差が認められた。

一方、出穂期ならびに千粒重についてはグループ間での有意差および遺伝変異の傾向は認められなかった。北海道イネ品種内における出穂期の早晩は北海道稲作初期の栽培地拡大と関係しており、在来種に内在していた遺伝変異を利用することで、北海道稲作の拡大(栽培地の北進)が達成された(北農会 1994)。本研究でも、Group I で出穂期について多様な遺伝変異が存在することが確認された。Fujino *et al.* (2013)は、Group I の「坊主」に由来する変異型 *qDTH8* が、近年育成された北海道イネ品種・系統内の熟期の多様性に関与していることを明らかにしている。各種農業形質において改良が見られる一方で、出穂期については、Group I における遺伝的多様性が、その後成立したグループにおいても保存されていることは興味深い。

以上のようにいくつかの農業特性についてグループ間で有意差が認められることから、集団遺伝構造の分化との相関が示唆される。集団構造分化の大きな要因の一つが道外品種からのゲノム領域導入とするなら、これらの導入領域に農業特性向上に関わる遺伝子が含まれている可

能性は否定できない。すなわち、外来品種が地域適応性の向上に一定の役割を果たしてきた可能性がある。以上に基づき、北海道新旧品種群の集団構造について図 II-9 のような仮説をたてた。まず在来種群 (Group I) から近代育種黎明期の品種群が作出された (Group II)。両グループは少なくとも穂数および整粒歩合に違いがあり、これは育種の成果であろう。Group IIIa の構造化要因について、「中生愛国」の果たす役割が大きいと考えられる。Group IIIb は、「ユーカラ」を中心とするグループである。「ユーカラ」の交配親の一つは「栄光」で、これは「早生富国」を祖先とする。「ユーカラ」のもう一つの交配親が「関東 53 号」(本州品種)で、ここから導入された 35% に及ぶゲノム領域が構造化の要因となっている可能性がある。Group IV は、「農林 15 号」を中心とするが、その起源は「走坊主」(Group I) と「銀坊主」(本州品種)で、後者からのゲノム領域導入が構造化の要因の一つと考えられる。Group IV は、「農林 15 号」(1940 年リリース) から「ほのか 224」(1990 年リリース) まで、およそ 50 年間の品種が含まれており、系譜的には Group IIIb の後継というよりは、Group II から IIIb と側系統の関係にあるかもしれない(図には示していない)。Group V は、1983 年以降の品種群で構成される。中心となる品種は「キタアケ」であり、構造化の要因の一つは、海外品種「Cody」から導入されたゲノム領域かもしれない。ただし、「キタアケ」祖先系統には、「そらち」(Group IIIa)、「ユーカラ」、および「ふくゆき」(Group IV) が含まれており、他グループからのゲノム領域集積も構造化要因となっている可能性がある。Group V は、穂ばらみ期耐冷性、アミロース含有率および一穂粒数で他グループと異なる。

本研究で示したように北海道イネ品種・系統群においては長年にわたる育種選抜の結果、各種農業形質に多様な遺伝変異が認められる。これは 100 年にわたる北海道イネ育種の成果であるが、各年代で育種目標達成に貢献した重要遺伝因子を一つ一つ明らかにし、それらの由来となった遺伝資源を特定することは容易ではない。これに対して本研究では、北海道新旧イネ品種・系統群における集団遺伝構造を明らかにし、いくつかの品種から集団遺伝構造分化の要因となりうる道外品種由来ゲノム領域を明らかにした。各遺伝グループ間に各種農業形質に差が認められること、および年代が進む毎に向上が認められることは、道外品種由来ゲノム領域の存在と相関があるようにみえる。今後、これら道外品種由来ゲノム領域と各種農業形質との関連を調査することで北海道での地域適応性向上に関わった重要遺伝子を明らかにすることができるかもしれない。

第 III 章：開花期耐冷性に関する遺伝解析

緒言

イネの生殖成長期間は温度感受性が高く、過度の低温や高温は様々な形態・生理的異常を誘発し、種子不稔の原因となる(Satake and Hayase 1970、Satake and Koike 1983)。丹野 (2004) は 1955～2004 年の気象ならびにイネの生育概況を分析し、北海道ではイネの生育期間において低温被害を受ける冷害年が計 14 回発生し、そのうち 10 回が生殖成長期間中の低温によるものと推測している。温暖化が進んでいると言われている近年でも、2003 年や 2009 年に生殖成長期間中の低温による冷害が発生しており(北海道米麦改良協会 2011)、生殖期間の耐冷性強化は依然北海道イネ育種の最重要課題であると言える。

イネの生殖期間には 2 つの低温感受性ステージがあることが明らかになっている。一つは花粉形成期にあたる穂ばらみ期(Satake and Hayase 1970)で、もう一つは開花・受精が起こる開花期である(Satake and Koike 1983)。穂ばらみ期においては、低温の影響による花粉母細胞の減数分裂異常およびタペト層の異常肥大(酒井 1949)、あるいは糖代謝異常(Kawaguchi *et al.*1996)が起こることが明らかになっており、種子不稔との関連が示唆されている。一方、開花期は花粉成熟後から受精までの時期であり、雌性器官に比べて雄性器官が低温の影響を受けやすく、花粉発芽が異常を起こし不稔が生じると考えられている(Satake and Koike 1983)。

開花期耐冷性については人工気象室を用いた検定法が確立され、広い品種間差異があることが明らかである(丹野ら 2000)。しかしながら人工気象室の使用が避けられないことと、穂ばらみ期の低温ストレスの影響を排除するため出穂期を揃えなければならないことが主要なネックとなり、積極的な育種選抜はされておらず、開花期耐冷性品種間差に関わる遺伝要因も全く明らかになっていない。穂ばらみ期耐冷性において明らかな育種の効果が確認される中で、近年育成された北海道イネジーンプール内に開花期耐冷性遺伝変異ならびに関連形質の変異がどの程度内在されているのか検証することは、イネ生育ステージ全般における耐冷性強化を進めていく上で非常に重要である。

以上の背景から、本章では、道内育成材料を試験材料に、未形質選抜であった開花期耐冷性の遺伝変異ならびにそれに関与する QTL の検出を行った。さらに検出した QTL をもとに DNA マーカー選抜(marker assisted selection ; MAS) による耐冷性強化が可能かどうかの検証を行った。

材料および方法

1. 供試材料

北海道内で育成された 19 のイネ品種系統を選定した(表 III-1)。これら品種系統は 1983 年から 2007 年の間に育成され、道内のイネ育種において交配親として重要な役割を果たしている品種・系統である。戻し交雑自殖系統群 (**backcross inbred lines ; BILs**) については、まず「永系 88223」と「彗星」との交配で得られた F_1 個体に「彗星」を交配し、 BC_1F_1 世代 120 個体を得た。単粒系統法(**single seed descent ; SSD**)による世代促進ののち、 BC_1F_3 世代と BC_1F_4 世代を得た。QTL 効果検証実験では、「永系 88223」と「彗星」を交配親に用いた F_2 世代 1754 個体を養成し、SSR マーカーにより 151 個体を選抜し、 F_3 世代を育成した。

2. 開花期耐冷性の評価

開花期耐冷性評価は丹野ら(2000)の方法に準じて行い、個体毎に種子稔実率を測定した。材料養成には縦 15×横 5×高さ 10cm のプラスチック製の有穴方形ポットを用いた。各ポットに、同一品種を直列に 8 株、各 2 粒播きし、播種後約 40 日後に分げつを切除して 1 本立てとし、主幹のみの密植栽培とした。低温処理前の材料は、穂ばらみ期の低温による影響を排除するため、幼穂形成期直前までの約 40 日間は、平均 23.0℃(昼 26.0-夜 20.0℃、昼は朝 9 時から夕方 5 時まで)に設定した自然光型人工気象室で養成した。低温処理は自然光型人工気象室を用い、17.5℃・15 日間で行った。直射日光によるイネ本体の温度上昇を防ぐため人工気象室の天井部を遮光率 50%の遮光幕で覆った。各個体の穂先が止葉葉鞘の先端からわずかに抽出した日を出穂日として、ポットあたり 3 個体以上の個体が出穂した時点で低温処理を開始し、ポット内で低温処理開始日に出穂した個体を試験対象とした。各品種・系統試験対象個体が 5 個体以上になるように処理を行った。さらにコントロール区として、植物体を幼穂形成期より常時平均 23.0℃(昼 26.0-夜 20.0℃、昼は朝 9 時から夕方 5 時まで)に設定した自然光型人工気象室で養成した。低温処理後の植物体は再び平均 23.0℃(昼 26.0-夜 20.0℃、昼は朝 9 時から夕方 5 時まで)に設定した自然光型人工気象室に移動させて成熟期まで養成した。成熟期後に触診による個体毎の種子稔実率調査を行い、種子稔実率平均値を算出した。MAS 選抜個体の耐冷性評価については、500cc の円形プラスチックポット内を用いて個体養成を行い、上記温度条件で、低温処理等を行った。分げつ切除は行わず、各個体 2~3 穂が出穂した時点で低温処理を開始した。低温処理開始時において処理開始前に開花した穎花ならびに未出穂の穂は切除した。温度条件ならびに日数は上記条件と同様である。

3. 花粉充実度調査

低温処理中の未開花穎花より未裂開の葯をサンプリングし、スライドグラス上でカバーガラスをのせ、指圧により葯をつぶし、ヨウ素液(I₂-KI: 0.2% ヨウ素、2%ヨウ化カリウム液)染色の後、光学顕微鏡 IMT-2(オリンパス; 東京都 日本) により観察した。一つの葯当たり 40~80 粒の花粉を観察した。本研究においてはヨウ素液により花粉全体が黒く染色される花粉(図 III-1 A)を‘充実花粉’とした。花粉中央部のみ染色される花粉(図 III-1 B)と赤く染色され形態も異常な花粉(図 III-1 C)、を‘分解花粉’とした。さらに全く染色されない花粉(図 III-1 D)は‘非充実花粉’(未熟花粉)とした。

4. 柱頭上での花粉発芽ならびに花粉管伸長確認試験。

穎花より、開花翌日の雌ずいをサンプリングし、EAA 溶液(エタノール: 酢酸=3: 1)で固定を行った。その後、1N 水酸化カリウム溶液中で、15 分・55℃の軟化処理を行ったのち、滅菌水により洗浄を行った。洗浄後、0.1%(w/v)濃度になるようにアニリンブルーを溶解したリン酸カリウム buffer (pH8.5)を用い、室温 2 時間の染色を行った。その後、再び滅菌水により洗浄を行い。50%グリセロール液上にめしべをのせ、蛍光顕微鏡 BX-63(オリンパス; 東京都 日本) により柱頭上での花粉発芽ならびに花粉管伸長の観察を行った。

5. マーカー解析

DNA 抽出方法ならびに SSR マーカー判定手法については第 II 章に準ずる。McCouch *et al.* (2002)および IRGSP (2005)より報告のあったマーカーリストより 949 種の SSR マーカーを選定し、「永系 88223」と「彗星」間で多型の認められた 87 種を QTL 解析に用いた(図 III-2)。さらに、道内品種・系統の QTL 近傍のハプロタイプパターンを検出するために 19 種の SSR マーカーを用いた(付表 1)

6. 連鎖解析、QTL 解析および統計解析

連鎖解析には、MAPMAKER/EXP ver3.0 を用いた(Lander *et al.* 1987)。マーカー間の組み換え頻度は、Kosambi 関数により遺伝距離に変換した(Kosambi 1944)。QTL 解析は、ソフトウェア QTL CARTOGRAPHER ver2.5 を用いて composite interval mapping 法により行った(Basten *et al.* 1998, Wang *et al.* 2007)。有意性を示す LOD 値(閾値)は、QTL CARTOGRAPHER の permutation テストモード(1,000 回)により算出し、 $p<0.05$ のとき LOD 値 2.74 を閾値とした。各種統計解析については、解析ソフト JMP10(SAS; NC USA)を用いて行った。各個体・系統の種子稔実率についてはアークサイン変換を行ったのち解析に利用した。

結果

1.北海道育成材料の開花期耐冷性品種間差異

北海道内で育成されたイネ品種系統の開花期耐冷性強度の品種間差異を調べるため、開花期耐冷性簡易検定手法(丹野ら 2000)を用いて表 III-1 に示す 19 品種・系統を検定した。まず供試した 19 品種・系統はコントロール区では一様に 95%以上の種子稔実率を示し、品種間差は認められなかった(表 III-1)。その一方で、低温処理区において、種子稔実率に大きな品種間差が認められた。19 品種・系統の低温処理区での種子稔実率の平均は 64.2%で、最も高い種子稔実率を示したのは「ほしまる」で 92.6%、最も低い種子稔実率を示したのは、「彗星」で 7.5%であった。育成年あるいは系譜と、種子稔実率の高低に関連は認められなかった。

2.低温処理条件下における花粉稔性の差異

前項で明らかになった開花期耐冷性の違いは、花粉の形態や機能に現れる可能性が高い。そこで、開花期耐冷性が異なる「永系 88223」(耐冷性“極強”)、「ほしのゆめ」(強)、「あやひめ」(弱)および「彗星」(極弱)の 4 品種・系統を用い、低温処理が及ぼす花粉充実度、花粉発芽ならびに花粉管伸長への影響を調査した(図 III-3、4)。

花粉充実度を葯内容物のヨウ素液染色像に基づく充実花粉率の割合により調べた。花粉低温処理開始直後は、「永系 88223」と「あやひめ」で充実花粉が全く含まれず非充実花粉のみを含む葯が少数(20%以下)認められたのを除き、いずれの品種・系統も葯内の充実花粉の割合が高い結果となった(図 III-3)。低温処理開始 10 日後においても「永系 88223」、「ほしのゆめ」および「あやひめ」については葯内の充実花粉率はほとんどが 70%以上を示し、高いままであった。その一方で、「彗星」においては充実花粉の割合の低下が認められ、調査した半数の葯が 80%以上の分解花粉を含んでいた(図 III-3)。

低温処理中に開花した穎花の柱頭上での発芽・伸長の様子を観察し、花粉発芽ならびに花粉管伸長を確認した。コントロール区においては供試した 4 品種・系統全てにおいて旺盛な花粉発芽と花粉管伸長が観察された(図 III-4)。「永系 88223」と「ほしのゆめ」については、低温処理 5 日目および 9 日目においてもコントロール区と変わらない花粉発芽と花粉管伸長が観察された。その一方、「あやひめ」と「彗星」については低温処理 5 日目、7 日目および 9 日目で旺盛な花粉管伸長を示す花粉はほとんど認められなかった。

3.開花期耐冷性に関する QTL 同定

以上のように、「永系 88223」と「彗星」については低温処理後の種子稔実率に極端な品種間差が認められた。この品種間差を司る QTL を同定するため、「永系 88223」と「彗星」を交配親

に用いた BILs を育成した (BC₁F₃ と BC₁F₄ に相当する)。解析に利用した BILs については通常の圃場条件で、全てが 80%以上の種子稔実率を示すことを確認した。

BILs (BC₁F₄) について開花期耐冷性検定を行ったところ、種子稔実率は両親の値の間で連続的な分布を示したが、全体に低い種子稔実率に偏っており、種子稔実率 20%以下の系統が 5 割を占める(図 III-5)。種子稔実率の平均は 22.0%、最大値が 73.7%、最低値は 1.2%であった。

BILs の連鎖地図を構築するため、全染色体に散在する 949 種の SSR マーカー(マーカー間の平均インターバル約 450kb)より、両親間で多型を示す SSR マーカーのスクリーニングを行った。これらの SSR マーカーの多型率は低く、多型を示したのは 87 種であった(図 III-2、表 III-2)。87 種のマーカーは概ね全ての連鎖群に均等に配置されている (図 III-2)。「永系 88223」と「彗星」はともに道内育成材料であり、近縁関係にある(図 III-6)。よって多型マーカーが見つからなかった領域については同一のゲノム DNA 構造である可能性が高いと推察される。

両親間で多型を示した 87 種の SSR マーカーを用いて、BILs (BC₁F₃) のジェノタイピングを行い、得られた連鎖地図ならびに開花期耐冷性判定結果を用いて QTL 解析を行った。その結果、第 7、8 および 12 染色体の計 3 カ所に QTL が検出された(図 III-7)。3 つの QTL はいずれも「永系 88223」アリルが開花期耐冷性を向上させる。最も作用力が大きいのは第 7 染色体短腕末端の SSR マーカー RM5711 近傍に位置する *qCTF7* で、寄与率が 19.2%であった(表 III-3)。次に寄与率が高かったのが、第 12 染色体長腕末端の SSR マーカー RM28611 近傍に位置する *qCTF12* で、寄与率が 14.8%であった。第 8 染色体 RM22613 近傍に位置する *qCTF8* については寄与率が 7.9%であった。

4. マーカー選抜を用いた開花期耐冷性強化の実証

同定した 3 つの QTL の効果を検証するために、「永系 88223」と「彗星」の交雑後代 F₂ 集団を養成し、そのうち各 QTL 近傍の 3 種の SSR マーカーがいずれもホモで固定していた 151 個体を選抜した。選抜には、各 QTL の Lod ピーク近傍に位置する RM5711 (*qCTF7*)、RM22613 (*qCTF8*)、および RM28611 (*qCTF12*) を用いて各 QTL の保持を推測した。選抜した個体を保持 QTL の違いに基づいて 8 つに class 分けした。それらは以下の通りである。

- ・ class 7+8+12, : *qCTF7*、8、12 がいずれも永系 88223 型ホモ接合
- ・ class 7+12, : *qCTF7*、12 が永系 88223 型ホモ接合
- ・ class 8+12, : *qCTF8*、12 が永系 88223 型ホモ接合
- ・ class 7+8 : *qCTF7*、8 が永系 88223 型ホモ接合
- ・ class 7 : *qCTF7* が永系 88223 型ホモ接合
- ・ class 8 : *qCTF8* が永系 88223 型ホモ接合
- ・ class 12 : *qCTF12* が永系 88223 型ホモ接合

・ class 0 : *qCTF7*, 8, 12 がいずれも彗星型ホモ接合。

以上のうち、記述のない QTL はいずれも彗星型ホモ接合である。これらの個体を自殖して F₃ 世代を得、個体別に耐冷性検定を実施した（各 class の個体数は 14～29 個体）。class 毎での種子稔実率の平均を比較したところ保持 QTL の増加に併せて種子稔実率の増加が認められた(図 III-8)。最も種子稔実率平均が高かった class は、class 7+8+12 で 62.1%、最も低かった class は class 0 で 18.2%であった(図 III-8)。class 7+8+12 の種子稔実率は、「永系 88223」よりも有意に低い ($p<0.05$)。

単一 QTL のみを保持する 3 つの class (class 7、class 8、および class 12)の種子稔実率平均は 32.9～38.9%で class 0 よりも高いものの 4 つの class 間で有意差は認められない。その一方で QTL を 2 つ保持する class のうち、class 7+12、および class 8+12 は、QTL を 1 つ保持する class よりも種子稔実率が高く(class7+12 ; 54.5%, class8+12 ; 53.3%)、class0 とも有意差が認められた ($p<0.05$)。一方で、class 7+8 については、種子年実率が QTL を 1 つ保持する class と同程度であった(図 III-8)。

5.北海道育成系統における各 QTL 分布の推定

前項で同定した QTL と、本実験で明らかにした道内育成材料の耐冷性品種間変異の関連を調査するため、耐冷性検定に供試した 19 品種・系統のうち「永系 88223」と「彗星」を含む 17 品種・系統について QTL 周辺の SSR マーカーの遺伝子型判定を行い、各 QTL の有無を推定した(表 III-4)。解析には「永系 88223」と「彗星」間で多型を示す 19 マーカーを用いた。17 品種・系統中 *qCTF7* 領域が「永系 88223」と同一なのは 7 品種・系統、*qCTF8* 領域が同一なのは 2 品種・系統、*qCTF8* 領域が同一なのは 5 品種・系統であった。3 つの QTL 領域がいずれも「永系 88223」と同一である品種・系統は見つからなかった。ある QTL 周辺の全てのマーカー型が「永系 88223」と一致した場合のみ、その QTL が存在するとした場合、同定した 3 つの QTL の有無で耐冷性の強弱を説明できるような事例は見つからなかった。また、「永系 88223」と同様に高度の耐冷性を示す「北海 302」および「きたいぶき」の各 QTL におけるマーカー型は「永系 88223」と異なっていた。

表III-1 道内育成19品種系統の開花期耐冷性

品種・系統名	育成年	低温処理区			対象区		
		調査 個体	調査 種子数	種子 稔実率(%)*	調査 個体	調査 種子数	種子 稔実率(%)*
ほしまる	2006	11	272	92.6±5.9	16	327	95.5±4.8
北海302号	2005	15	358	88.9±7.6	16	375	98.1±3.8
永系88223	1988	12	364	87.8±7.0	16	417	97.9±3.6
しろくまもち	2007	10	313	82.0±12.5	16	473	97.0±2.5
きたいぶき	1993	10	369	81.2±11.2	16	239	98.4±1.8
北育もち87号	1992	13	340	79.0±13.0	16	432	96.8±4.1
ななつぼし	2001	9	224	78.4±9.9	16	382	97.9±3.6
初雫	1998	11	283	75.3±9.9	16	317	99.4±1.7
ほしのゆめ	1996	15	413	75.3±13.1	16	385	98.1±3.1
キタアケ	1983	10	278	73.0±11.1	16	452	98.4±2.0
はくちょうもち	1988	19	531	68.9±11.3	15	371	95.3±8.2
上育455号	2006	12	292	66.1±9.9	16	377	98.9±2.0
きらら397	1988	15	365	64.8±20.1	16	442	98.9±2.0
AC99084	1999	9	245	62.4±11.2	16	385	98.2±2.6
風の子もち	1995	16	479	48.2±15.0	16	445	98.5±1.7
あやひめ	2001	13	395	44.5±23.1	15	371	95.3±8.2
彩	1992	7	152	32.8±11.9	8	153	97.2±4.8
吟風	2000	14	426	11.6±8.1	15	394	95.9±11.1
彗星	2006	12	317	7.5±7.9	16	355	98.3±2.4
平均				64.2±24.2			97.5±1.2

*個体毎の種子稔実率(個体あたり稔実粒数/個体あたり総粒数×100)。平均±標準偏差。

表III-1

表Ⅲ-2 「永系88223」と「彗星」間の多型マーカー
スクリーニングの結果

染色体	スクリーニング マーカー数	多型 マーカー数	多型率 (%)
1	111	5	4.5
2	93	7	7.5
3	117	9	7.7
4	90	5	5.6
5	54	7	13
6	92	4	4.3
7	65	11	16.9
8	71	16	22.5
9	51	3	5.9
10	89	2	2.2
11	67	7	10.4
12	49	11	22.4
合計	949	87	9.2

表Ⅲ-2

表III-3 QTL解析結果

染色体	マーカー区間	Mb ^a	LOD	寄与率 (%)	相加効果 ^b
7	RM20923-RM5711*	3,142,182	8.1	19.2	6.2
8	RM22613*-RM22755	6,732,348	3.2	7.9	3.7
12	RM5282-RM28661*	25,463,793	6.7	14.8	5

^a 日本晴ゲノム配列情報(build 1.0)に基づくLODピーク再近傍マーカーの物理位置

^b 種子稔実率のアークサイン変換値で示した「永系88223」型の対立遺伝子の効果

*LODピーク再近傍マーカー

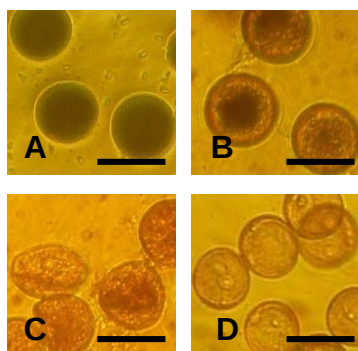
表III-3

表III-4開花期耐冷性が異なる道内17品種系統のQTL近傍SSRマーカーハプロタイプパターン

品種・系統名	種子総実率(%)	染色体 Mb	qCTF7							pCTF8				pCTF12							
			RM20875	RM3196	RM5752	RM20973	RM5711	RM21030	RM21052	RM21076	RM21078	RM22674	RM22679	RM22684	RM22780	RM3331	RM28580	RM28669	RM28678	RM1227	RM28825
永系88223	87.8±7.0 ^a		b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b
ほしまる	92.6±5.9 ^a		b	b	c	b	b	b	c	b	b	a	a	c	b	a	b	b	b	b	b
北海302号	88.9±7.6 ^a		b	b	b	b	f	a	c	d	d	a	a	c	b	a	d	b	b	b	b
きたいぶさ	81.2±11.2 ^{ab}		b	b	a	a	d	c	c	a	b	a	b	a	b	a	e	c	c	b	a
北育もち87号	79.0±13.0 ^{ab}		b	b	a	a	e	c	c	a	b	a	a	c	b	a	c	c	c	b	a
ななつぼし	78.4±9.9 ^{ab}		b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	a	c	b	d	b	b	b	b
初雫	75.3±9.3 ^{ab}		b	b	a	a	d	c	b	a	b	a	a	a	a	b	c	c	c	b	a
ほしのゆめ	75.3±13.1 ^{ab}		b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	a	c	b	b	c	b	b	a
キタアケ	73.0±11.1 ^{bc}		b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	a	c	b	b	c	b	b	b
はくちようもち	68.9±11.3 ^b		a	b	c	a	d	d	b	a	b	a	c	a	b	a	e	b	c	d	b
上育455号	66.1±9.9 ^{bc}		b	b	b	b	b	b	a	b	b	a	a	c	b	b	b	b	b	b	b
きら397	64.8±20.1 ^{bc}		b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	a	c	b	b	b	b	b	b
風の子もち	48.2±15.0 ^c		b	b	c	a	c	a	a	a	a	a	a	a	a	a	e	b	c	b	b
あやひめ	44.5±23.1 ^{bc}		b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	a	c	b	c	c	c	b	a
彩	32.8±11.9 ^{bcd}		b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	a	c	c	c	b	a
吟風	11.6±8.1 ^d		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	a	a	a	a	a
彗星	7.5±7.9 ^d		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a

各SSRマーカーの同一のハプロタイプパターンを同一アルファベットで示した。種子総実率に付した異なるアルファベットは5%水準で有意差有り(Steel Dwas検定)。イタリックのマーカーはQTL LODピーク近傍マーカー。黄色塗りつぶしは各QTL領域で「永系88223」と同一なハプロタイプパターン。グレー塗りつぶしは「彗星」と同じハプロタイプパターン。

表III-4



図Ⅲ-1 低温処理条件下の花粉のヨウ素染色像

染色の異なる4種の花粉が観察され、以下のように分類した。

図内黒横線はScale bar (50 μ m)

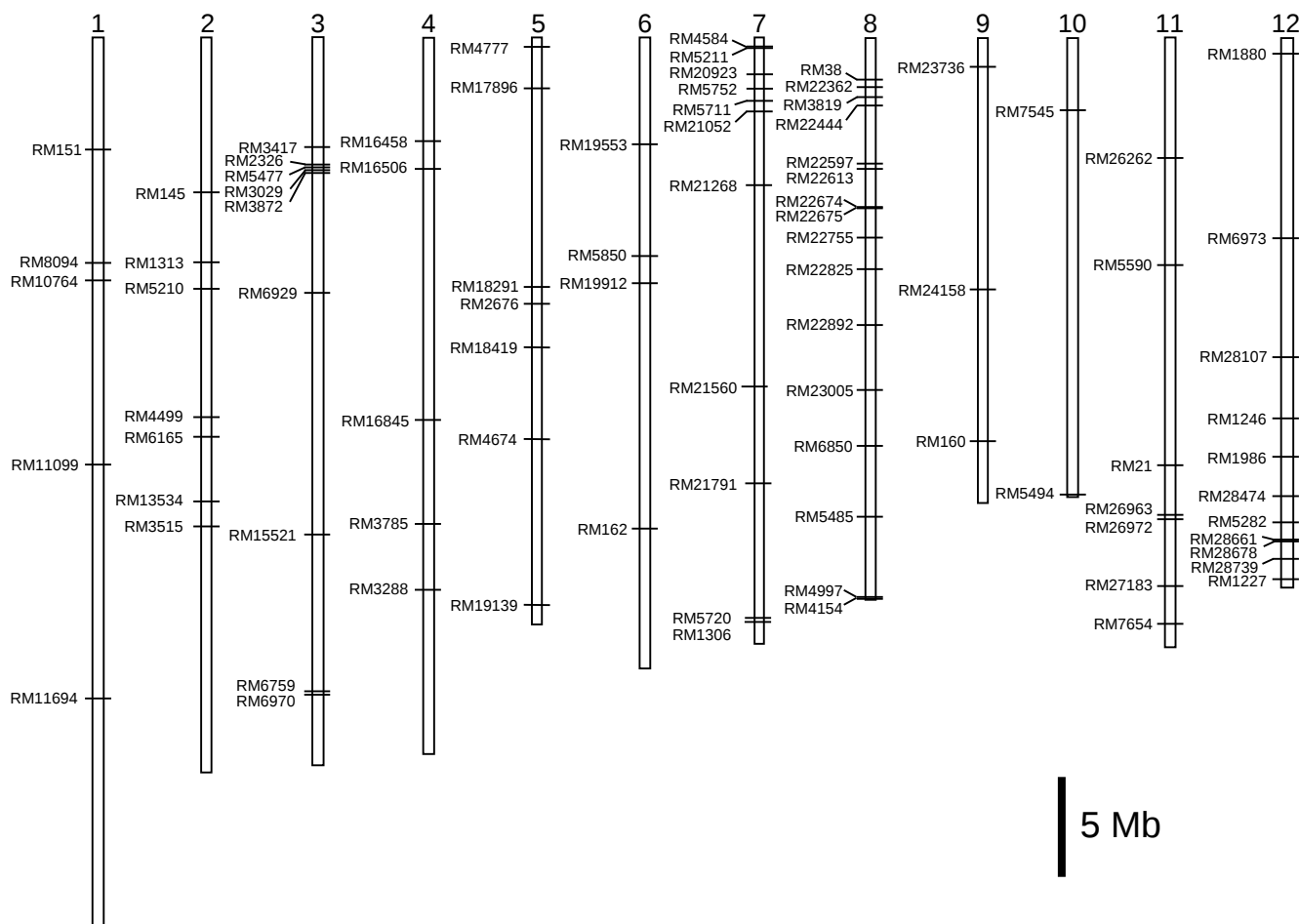
A：充実花粉(全体が黒く染色される花粉)

B：分解花粉(花粉中央部のみが染色される花粉)

C：分解花粉(赤く染色され、形態もいびつな花粉)

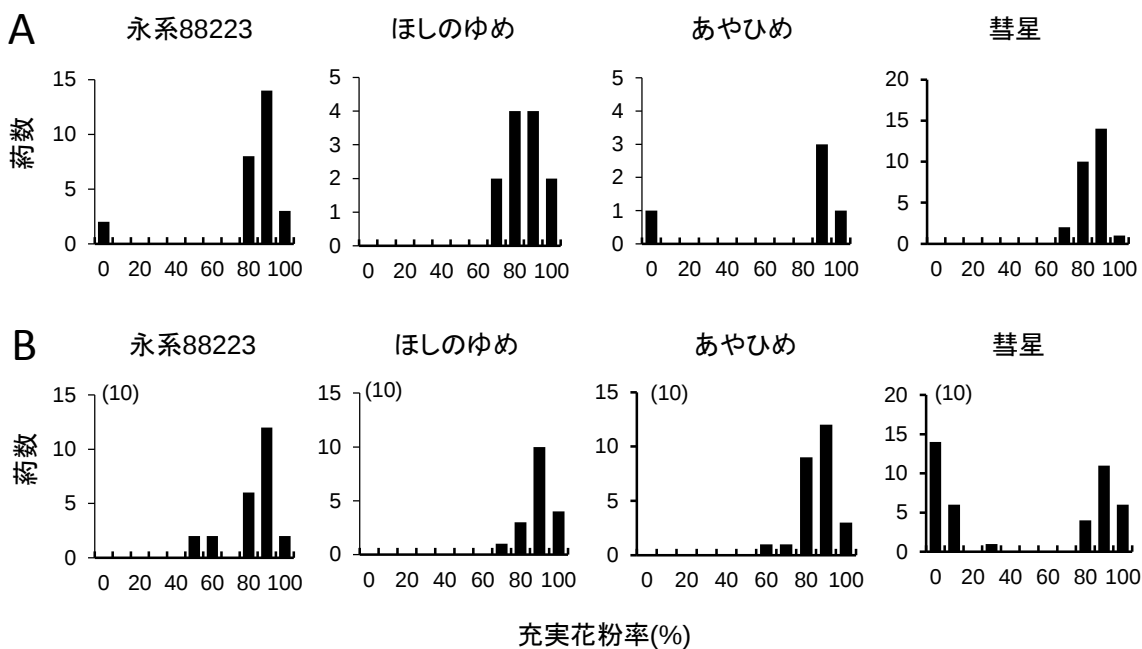
D：非充実花粉(全く染色されない花粉) Scale bar = 50 μ m

図Ⅲ-1



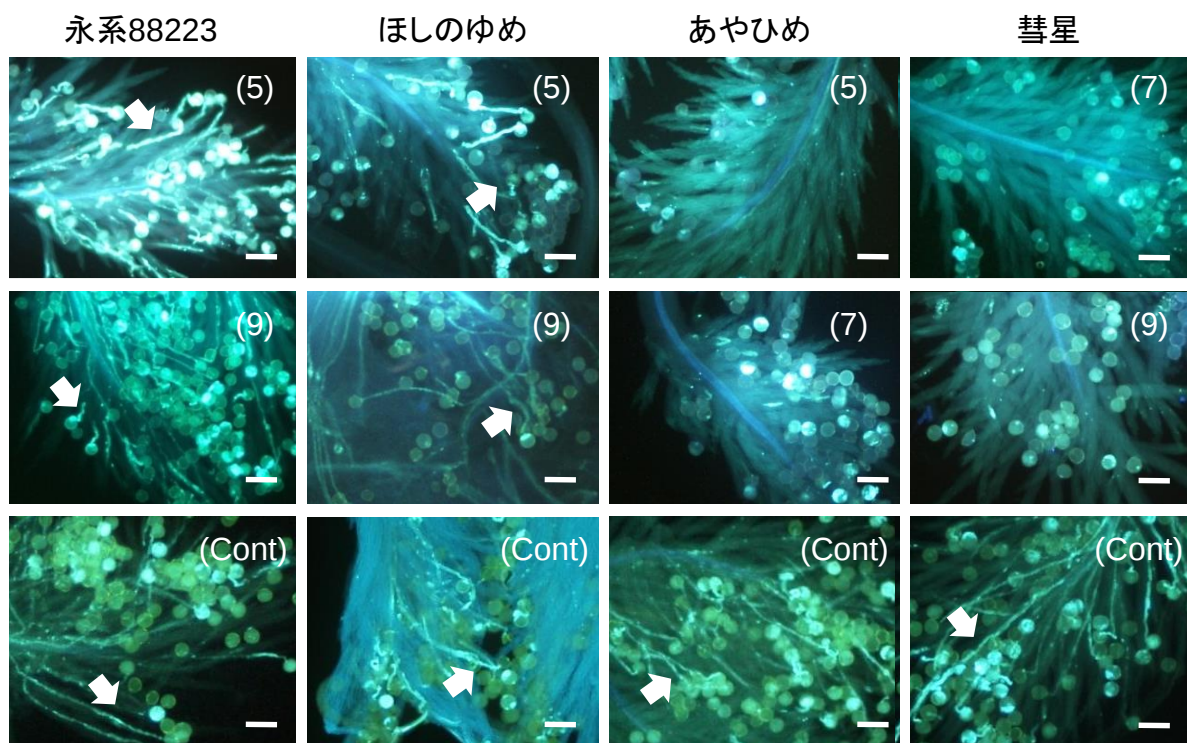
図III-2 QTL解析に用いたSSRマーカーの染色体上の位置
各QTLの物理位置は日本晴ゲノム配列情報(build1.0)に基づく。
のべ87種の多型SSRマーカーを用いて連鎖地図の作成を行った。

図III-2



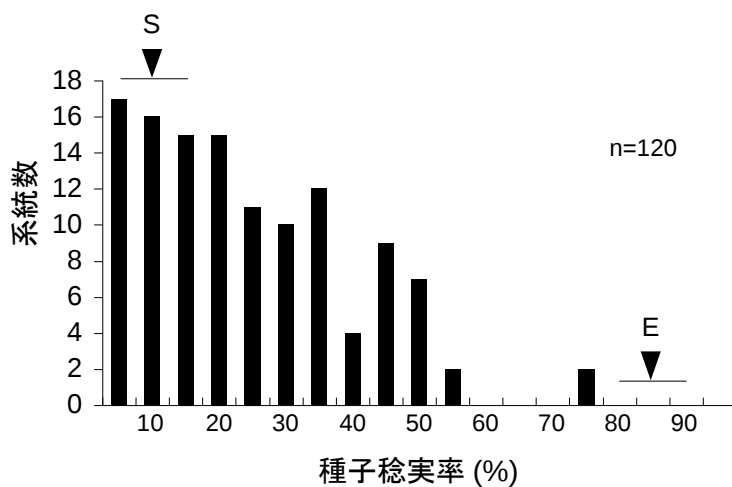
図III-3 開花期耐冷性が異なる4品種・系統の葯内充実花粉率
 縦軸は葯数。横軸は各葯内に含まれる充実花粉の割合。未開花穎花より採種した葯サンプルを試験に用いた。
 A：低温処理開始直後にサンプリングした葯
 B：低温処理10日後にサンプリングした葯

図III-3



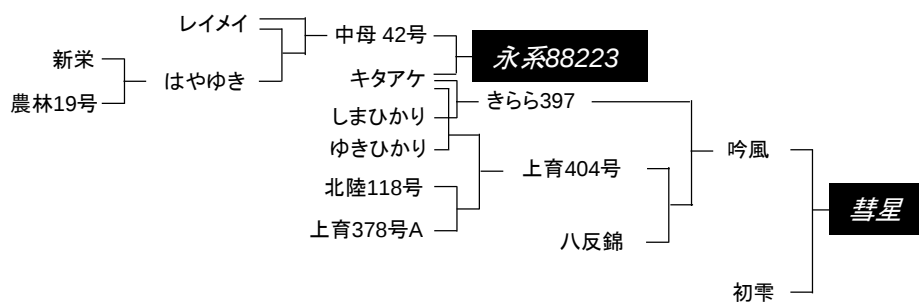
図III-4 低温処理条件下の柱頭における花粉管発芽・伸長の様子
 低温処理5、7もしくは9日後に開花した穎花をサンプリングし、柱頭上での花粉発芽および花粉伸長を調査した。() 内の数値は低温処理日数。(Cont):コントロール区。白線: Scale bar (100 μ m)。「永系88223」および「ほしのゆめ」では低温処理区でも旺盛な花粉管伸長(糸状の発光; 図中矢印)が認められる一方、「あやひめ」および「彗星」では、低温処理区で同様な現象が認められない。

図III-4



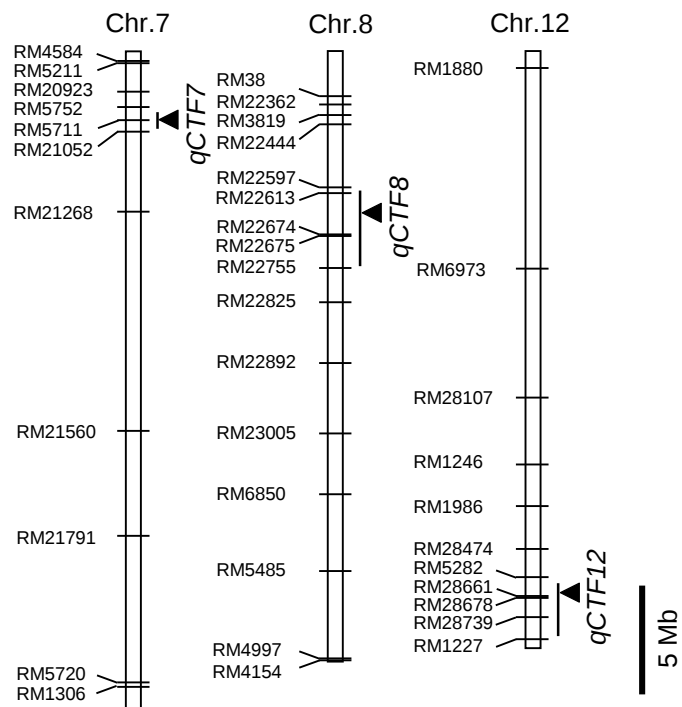
図III-5 マッピング集団における開花期耐冷性の変異
 縦軸：各種子稔実率を示した系統数。横軸：種子稔実率。
 矢印および横線は、それぞれ「永系88223」(E)と「彗星」
 (S)の種子稔実率の平均および標準偏差を示す。

図III-5



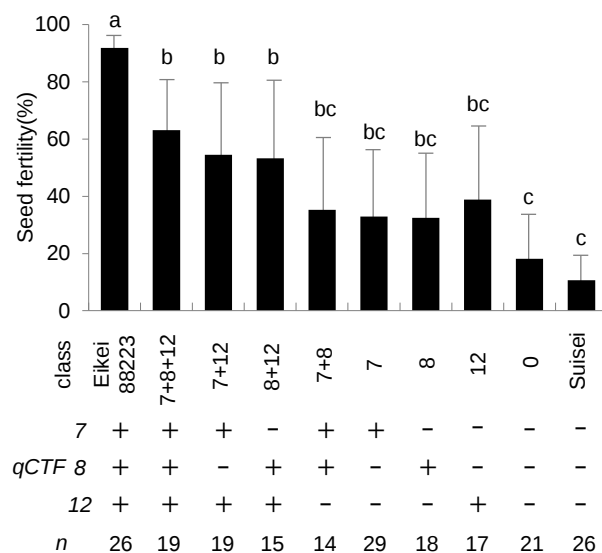
図III-6 「永系88223」と「彗星」の系譜関係

図III-6



図III-7 検出された3つの開花期耐冷性関連QTLの染色体位置
矢印は、各QTLのLODピーク位置を示す。縦線はLODピーク値-1.0以上の領域。

図III-7



図Ⅲ-8 永系88223/彗星F₃集団の開花期耐冷性検定結果
保持QTLにより分類したグループ毎の種子稔実率の平均値と標準偏差を示す。nは各classの個体数。異なるアルファベットは5%水準で有意差有り(Steel Dwas検定)。各QTLの保持については近傍SSRマーカーによって確認した。

図Ⅲ-8

考察

1983 年以降に育成された北海道イネ品種あるいは系統において、どの程度の開花期耐冷性変異が存在するのかは明らかではなかった。そのため本研究により、代表的な道内育成品種間で大きな変異が見つかったことは、開花期耐冷性の遺伝変異が維持されていることを明確に示す結果である。穂ばらみ期耐冷性とは異なり、北海道イネ育種においては開花期耐冷性についての積極的な選抜は実施されていない。遺伝変異維持の維持機構は総合論議で述べる。

開花期耐冷性について大きな変異が北海道イネジーンプールに内在することが確認されたが、その機構を検討するため、関連形質の可能性のある花粉の形態と機能に着目した。その結果、花粉発芽と伸長の抑制程度に違いがあることが確認された。「永系 88223」や「ほしのゆめ」といった開花期耐冷性が強い品種ほどこれらの形質は低温の影響を受けないことから、開花期耐冷性との関連が示唆される。注目すべきは「あやひめ」で、低温条件下において花粉充実度は「永系 88223」や「ほしのゆめ」と遜色がないが、花粉発芽と伸長が著しく劣る。このことは、開花期耐冷性の機構が花粉形成と、花粉発芽・花粉管伸長の、少なくとも二つのステージを含むことを示唆する。発生学的には、花粉形成には孢子体（タペート細胞など）の関与が大きいのに対し、花粉発芽や花粉管伸長は配偶体（花粉）が主体となるから、これらの組織毎に耐冷性程度が異なると考えると、この結果に対する説明が付けられると考えられる。

開花期耐冷性が極強の「永系 88223」と極弱の「彗星」を交配親に用いたマッピング集団より 3 つの QTL を同定した。穂ばらみ期耐冷性については、冷水掛け流し検定や人工気象室を利用した遺伝解析が複数行われ、多くの穂ばらみ期耐冷性関連 QTL が同定されている(Andaya and Mackill 2003、Dai *et al.* 2004、Kuroki *et al.* 2007、Mori *et al.* 2011、Li *et al.* 1997、Oh *et al.* 2004、Saito *et al.* 1995、Shirasawa *et al.* 2012、Suh *et al.* 2010、Takeuchi *et al.* 2001、Xu *et al.* 2008、Zhou *et al.* 2010)。しかしながら本研究で見いだされた 3 つの QTL 領域については、これらの QTL 領域とはいずれも異なっていた。穂ばらみ期耐冷性と開花期耐冷性ともに種子稔実率を指標として耐冷性の強弱を判断するがその作用機作は異なる可能性がある。先述の発生学的な観点では、穂ばらみ期耐冷性は専ら孢子体の耐冷性を問題にしていることになり、開花期耐冷性（孢子体と配偶体）とは異なる。本研究で新規の QTL が同定されたのは、首肯できる結果である。

開花期耐冷性の品種間差異については、低温条件下における花粉発芽・伸長の違いが原因である可能性が示唆された。イネの花粉発芽・花粉管伸長の抑制については高温条件下(38℃)でも生じる。高温耐性の強い品種は、弱い品種に比べて、花粉発芽・花粉管伸長に高温の影響を受けにくいという(Jagadishi *et al.* 2010)。花粉発芽や花粉管伸長の温度感受性について、詳細な調査が必要である。

「永系 88223」と「彗星」を用いた F₃集団を使った解析で、各 QTL の効果を検証できた。その結果、各 QTL 単独の作用は限定的で、種子稔実率の向上は概ね 10～15%に過ぎない。しかしながら、複数 QTL を集積することで明瞭な耐冷性向上が認められた。各 QTL の近傍には分子マーカーが見つかったので MAS による集積が可能である。従って、北海道イネ品種の開花期耐冷性の強化に MAS が有効であることが推測される。その一方で *qCTF7* と *qCTF8* を集積させたケースでは、単独の QTL の効果と違いが認められない。両者にはエピスタシスがあるか、あるいは、*qCTF7* と *qCTF8* は発現ステージが同一なために集積効果が小さいことが理由として考えられる。開花期耐冷性については本研究で明らかにしたように、少なくとも花粉成熟ステージと、花粉管発芽・花粉管伸長ステージを含んでいる。いずれか一つのステージのみ耐冷性が向上しても、もう一つが律速となるのであれば全体の開花期耐冷性はそれほど上がらない可能性がある。今後、各ステージにおける各 QTL の効果を調べることで、各 QTL の相互関係を明らかにすることができると考えられる。

道内育成材料には QTL マッピングの交配親に用いた「永系 88223」の他に、「ほしまる」、「北海 302 号」および「きたいぶき」など複数の高度耐冷性保持品種があるが、本研究で同定した 3 つの QTL 周辺の SSR マーカー遺伝子型は、同一ではなかった。従って、「ほしまる」、「北海 302 号」もしくは「きたいぶき」の開花期耐冷性の起源は、「永系 88223」とは異なる可能性が高い。あくまでも推測であるが、これら品種系統は本研究で同定した QTL とは異なる遺伝因子の作用により高度耐冷性を示している可能性がある。そうであるなら、開花期耐冷性発現の遺伝機構は複数存在することになり、育種戦略もそれを加味していく必要があろう。今後道内育成材料の開花期耐冷性に関して、さらなる遺伝解析が進むことにより、より高度な開花期耐冷性を保持する品種育成につながることが期待される。

第 IV 章：いもち病圃場抵抗性に関する遺伝解析

緒言

イネいもち病の病害防除には品種抵抗性の利用が効果的で、古くから抵抗性育種が進められてきた。遺伝解析も盛んに行われてきており、現在では約 90 種にもおよぶいもち病抵抗性遺伝子の存在が明らかである(Gramene database)。いもち病抵抗性については、1 つの遺伝子が関与し、レース特異的に強力な抵抗性を発揮する真性抵抗性と、複数の遺伝子が関与し、広い範囲のレースにマイルドな効果を安定的に発揮する圃場抵抗性(Ezuka 1972)の 2 種類に区分されている。真性抵抗性については、これまでに多数の関与遺伝子が同定され、品種開発も行われてきた。しかしながら、いもち病菌レースの交代により、開発した品種の抵抗性が普及後数年で崩壊するケースが多く認められている(村井ら 1983、八重樫 1994)。一方、圃場抵抗性については、抵抗性の程度は限定的であるものの、持続的な効果が期待されることから、近年圃場抵抗性を導入したイネ品種開発が積極的に進められている。個々の圃場抵抗性遺伝子の効果は限定的であり、いもち病菌レースにより効果が異なるケースもある(Sato *et al.* 2006)。複数の圃場抵抗性遺伝子を集積することが重要であり、DNA マーカー選抜を用いた遺伝子集積がより効率的である。しかしながら、圃場抵抗性遺伝子については *pi21*、*Pb1* および *Pi35* など陸稲や外国稲に由来する少数について単離同定の報告があるに過ぎない (Fukuoka *et al.* 2009、2014、Hayashi *et al.* 2010)。高度いもち病圃場抵抗性品種の開発には、依然多様な抵抗性遺伝子同定が必要である。

北海道イネ育種では、いもち病抵抗性の強化は、これまで被害がそれほど多くなかったことから育種目標の優先順位が低く、そのため目標とする抵抗性レベルもそれほど高くなかった。しかしながら最近の栽培現場における多発傾向を受けて、選抜を強化する方向で検討が行われている。面白いことに北海道のイネ品種には、いもち病圃場抵抗性に大きな品種間差異が認められており(木下ら 2006)、北海道の地域適応品種がいもち病圃場抵抗性のソースとして利用できる可能性を示唆する。そこで本章では、北海道の品種群の遺伝変異全体をカバーする 60 品種からなるコアパネルを構築し、いもち病圃場抵抗性の評価を行った。あわせて DNA マーカーの遺伝子型データを用いて、いもち病圃場抵抗性にかかわるゲノムワイド関連解析(Genome wide association study : GWAS) を行い。道内育成材料が保持するいもち病圃場抵抗性関連領域の抽出を行い、最も作用力の大きい領域について、詳細な検証を行った。

材料および方法

1. 供試材料

第Ⅱ章で用いた 63 種の道内新旧主要品種のうち 60 種を用いた(表 II-1)。抵抗性関連領域の効果の検証には、表 IV-1 に示す「キタアケ」に関連する 13 品種・系統を供試した。この 13 品種の系譜を図 IV-1 に示す。

いもち病抵抗性 QTL のマッピングには、「上育 462 号」(いもち病圃場抵抗性“強”)と「上系 06214」(いもち病圃場抵抗性“弱”)の交配によって得られた F₁ 個体に由来する倍加半数体系統(doubled haploid line: DHL)を用いた。蒔培養については Niizeki and Oono (1968)の方法に従った。A₂世代 88 系統を試験に供試した。

2. マーカー解析

DNA 抽出、SSR マーカー、SNP マーカーの遺伝子型判定方法については第Ⅱ章に準ずる。実験に用いた SSR マーカーについては、McCouch *et al.* (2002)および IRGSP (2005)より報告のあったマーカーリストより選定した。SNP マーカーについては Nagasaki *et al.* (2010)によって開発された 768SNPs タイピングアレイセット(J-core SNPs セット)を用いた。GWAS に用いたマーカーについては付表 2 に示す。QTL 解析に用いたマーカーについては図 IV-2 に示す。*Pi-cd* 領域の絞り込みについては 7 種の SSR マーカーを用いた(付表 1)。PIC 値の算出については第Ⅱ章の方法に準じた。

3. いもち病圃場抵抗性の判定

各品種・系統のいもち病圃場抵抗性の判定については上川郡比布町の上川農業試験場の圃場で行った。6 月下旬に各系統の乾籾 5g を条間 50cm となるように筋播きし、発病ムラを補正するため圃場抵抗性が‘中’の農林 20 号を 10 系統置きに設置した。試験区周辺に、いもち病の誘発源として抵抗性が弱い「ほしのゆめ」、「北海 112 号」および「彩」の混植区を設けた。7 月上旬にいもち病罹病菌(レース 037 菌接種)を設置し、いもち病を蔓延させるため適宜散水を行った。試験区内で発病が認められた 7 月下旬より 1 週間おきに計 3 回、浅賀 (1981) の方法に従い、11 段階の葉いもち罹病程度を判定した。発病ムラを補正するため近接する「農林 20 号」の 3 回の葉いもち罹病程度合計を 100 としたときの発病指数を計算し、各品種・系統のいもち病抵抗性強度を判断した。GWAS に供試した 60 品種・系統、「Cody」ならびに「キタアケ」後代の 12 品種・系統については 2 反復、マッピング集団については 1 反復で試験を行った。

4.GWAS

コンピュータプログラム Tassel ver.3.0 を用いて行った(Bradbury *et al.* 2007)。Structure 解析から推定される集団構造(K -matrix)に対する補正を行う **General Linear Model** (GLM) と集団構造およびよりミクロな遺伝構造(家系構造、 Q -matrix)を含めた補正を行う **Mixed Linear Model** (MLM)によりゲノムワイド関連解析を行った。Structure 解析については、コンピュータプログラム Structure ver 2.3.4 を用いて行った。第Ⅱ章の結果より、 $K=6$ として、第Ⅱ章の方法に準じて Structure 解析を行い K -matrix の値を得た。家系構造の解析については Tassel ver.3.0 を用いて行った。GWAS 結果の閾値の設定については、 q 値を用いた(Storey and Tibishiran 2003)。各 SNP・SSR マーカーの q 値の計算については、コンピュータプログラム R を用いて行い。 q 値 <0.05 となるマーカーを有意ないもち病抵抗性関連マーカーとした。

5. 連鎖解析および QTL 解析

連鎖解析および QTL 解析は第Ⅲ章の方法に準じた。有意性を示す LOD 値(閾値)は、QTL CARTOGRAPHER の permutation テストモード(1,000 回)により算出し、 $p<0.05$ のとき LOD 値 6.24 を閾値とした。

結果

1.北海道育成材料のいもち病圃場抵抗性品種間差異

第Ⅱ章で用いた品種・系統から選び出した 60 種は、Group I から V までを網羅している。以後、これら 60 品種をコアパネルとする。コアパネルについて、いもち病抵抗性圃場検定を行った。発病指数をまとめて図 IV-3、表 IV-2 に示す。いもち病発病指数に大きな品種間変異が認められた(平均 76.0 29.2~114.1)。グループ毎の平均値は、65.0 (Group IIIa) から 82.0 (Group I、IV) まで幅がある(表 IV-2)。

いもち病発病指数のグループ内変異については、グループ毎に異なる傾向が認められた。まず Group IV では全ての品種・系統のいもち病抵抗性は弱い(発病指数平均 82.0 ; 70.1~95.2)。その一方、育成年の古い品種群(Group I~IIIb)では連続的な抵抗性変異が存在した。また、Group V では抵抗性に優れる品種(3 品種 発病指数平均 35.7 ; 29.2~39.1)と弱い品種・系統(9 品種・系統 発病指数平均 90.7 ; 85.4~100)に 2 極化する傾向が認められた(図 IV-3、表 IV-2)。

2.コアパネルを用いたいもち病圃場抵抗性について GWAS 解析

前項で明らかにしたいもち病圃場抵抗性の原因遺伝子に関連する領域を調べることにした。第Ⅱ章で見たようにコアパネルに含めた品種のゲノム全体にある程度の遺伝的多様性が認めら

れる。そこで、いもち病圃場抵抗性に関する GWAS を試みた。今回用いているような構造化した集団に対して GWAS を行うと擬陽性のおそれがあるが、イネであれば交配実験によって抽出された関連領域の効果を検証することができる。

まず、GWAS に十分な DNA マーカー多型情報を得ることにした。供試した 768SNP マーカーのうち、223 マーカーについてはコアパネル内で多型が認められないか、もしくは 10%以上の品種でシグナル未検出かヘテロとして検出されたため解析より排除した。SSR については、第 II 章の 63 種のマーカー情報に加え、新たに 26 種のマーカーから多型情報を得た。以上より、付表 2 に示す 545 の SNP と 89 の SSR マーカーについてコアパネルの遺伝子型を得た。Yamamoto *et al.* (2010)の報告では、日本の主要品種の連鎖不平衡は約 2Mbp と推定されている。マーカー間の平均距離は 0.58Mbp で、9 ヶ所の領域で 2Mbp 以上のマーカー間のギャップが認められたが、それ以外の領域では、ほぼ均等に多型マーカーを得ることができた (図 IV-4)。各マーカーの PIC 値の平均 0.36 であった(表 IV-3)。

コアパネルの遺伝子型データといもち病発病指数のデータを用いて、いもち病圃場抵抗性に関する GWAS を行った。解析モデルとして GLM を選択した場合では第 3、4、5、10 および 11 染色体上の 5 ヶ所の領域で、いもち病圃場抵抗性とマーカー遺伝子型に有意な関連が認められた(図 IV-5、表 IV-4)。このうち第 11 染色体の短腕末端から 19Mb に位置する RM5349 で最も強い関連が確認された。コアパネル内では RM5349 について 2 つの遺伝子型が認められた。1 つは「キタアケ」とその後代である「ハヤカゼ」および「大地の星」が保持する遺伝子型で、3 品種ともに強い圃場抵抗性を保持する(発病指数平均 35.6 ; 29.2~39.1) (表 IV-4、表 IV-5)。残りの 57 品種・系統(発病指数平均 77.7 ; 38.7~114.1)はいずれももう一つの遺伝子型を示した(表 IV-5)。解析モデルとして MLM を選択した GWAS 解析においては q value <0.05 となるマーカーは認められなかったが、GLM と同様に RM5349 で最も高い関連が認められた(図 IV-5、表 IV-4)。

3. RM5349 領域のいもち病圃場抵抗性の効果の検証

RM5349 領域のいもち病圃場抵抗性の効果を検証するため、いもち病圃場抵抗性が異なる「キタアケ」後代品種・系統と「キタアケ」祖先品種である 4 品種(「ユーカーラ」、「そらち」、「ふくゆき」、および「Cody」; 図 IV-1)について、RM5349 周辺のハプロタイプパターンといもち病発病指数の比較を行った(表 IV-6)。「キタアケ」後代では、ac11000499-aa11004155 間のハプロタイプパターンが「キタアケ」と同一な 9 品種・系統が、低いいもち病発病指数を示し(発病指数 31.6~55.8)、この領域内にいもち病圃場抵抗性遺伝子の存在が示唆された。「キタアケ」祖先品種と「キタアケ」のハプロタイプパターンの比較から、この領域は「Cody」と「そらち」のゲノム構造が組み換えを起こし「キタアケ」に遺伝していると推定される。「キタア

ケ」祖先品種では「Cody」が唯一高度のいもち病抵抗性を保持することから、この領域に存在するいもち病圃場抵抗性遺伝子は「Cody」に由来することが推測された。

4. 「キタアケ」後代を用いたいもち病圃場抵抗性の QTL マッピング

RM5349 領域におけるいもち病圃場抵抗性遺伝子の存在を確認するため、まず ac11000499-aa11004155 間のハプロタイプパターンが「キタアケ」と同一でいもち病抵抗性が強い「上育 462 号」といもち病抵抗性が「弱」の「上系 06214」を交配した。これより DHLs を育成し、A₂ 集団 (88 系統) を用いていもち病抵抗性に関する QTL 解析を行った。

DHLs88 系統についていもち病圃場抵抗性検定を行ったところ、いもち病発病指数は両親間の連続的な分布を示した(平均 66、最小 31、最大 106)(図 IV-6a)。DHLs の連鎖地図を構築するため、GWAS 解析に用いた 768 種の SNPs からなるマーカーセットと 89 の SSR マーカーより、両親間で多型を示すマーカーのスクリーニングを行った。このうち、多型を示したのは 130 個(SNP マーカー125 種、SSR マーカー5 種)であった(図 IV-2)。「上育 462 号」と「上系 06214」はともに道内育成材料であり、近縁関係にある(図 IV-1)。多型マーカーの物理位置については偏りがあり (図 IV-2)、多型マーカーが見つからなかった領域については同一のゲノム DNA 構造である可能性が高いと推察される。

両親間で多型を示した 130 個のマーカーを用いて、DHLs のジェノタイピングを行い、得られた連鎖地図ならびにいもち病発病指数を用いて QTL 解析を行った。その結果、第 11 染色体の RM5349 付近に寄与率の大きい QTL が検出され、これを *Pi-cd* と名付けた(図 IV-6)。検出された QTL は「上育 462 号」アリルがいもち病抵抗性を向上させ、寄与率が 64%であった(表 IV-7)。

Pi-cd の座乗領域を絞り込むため、「キタアケ」後代 8 品種 7 系統の RM5349 周辺の SSR マーカーの遺伝子型といもち病発病指数を比較したところ RM26851、RM5349 および RM26871 のマーカー遺伝子型といもち病発病指数の大小が完全に一致し RM126830-RM12596 間の 714kb の領域に *Pi-cd* が座乗することが示唆された(表 IV-8)。

表IV-1 連関解析に用いた「キタアケ」関連品種・系統

供試 番号	品種・系統名	育成年	交配組合せ・由来	いもち病 発病指数
1	Cody	-	アメリカ合衆国	0
2	吟風	1999	八反錦/上育404号//きらら397	31.6
3	彗星	2006	初雫/吟風	34
4	空育162号	1997	空系90242B/上育414号	36.8
5	空育171号	2005	北海287号/空育160号	90
6	空育172号	2006	ふ系187号/空育162号//ふっくらんこ	32.4
7	空育179号	2009	ななつぼし/大地の星	49.6
8	空育180号	2010	上育455号/大地の星	43.8
9	上育452号	2005	上系98029/上系98264	55.8
10	上育455号	2006	上系99059/AC99084	86.4
11	上育462号	2008	北海302号/上育452号	38
12	上育463号	2009	上系04045/北海302号	35.2
13	上系06214	2008	上系04501/ほしのゆめ//ほしのゆめ///ほしのゆめ	100.1

表IV-1

表IV-2 コアパネルのいもち病発病指数

Group	品種	いもち病 発病指数
I	赤毛	114.1
	坊主	86.8
	走坊主	77.3
	農林9号	93.7
	早生坊主	64.0
	農林11号	68.6
	水口稻	73.3
	胆振早生	64.6
	北海早生	76.4
	黒毛	109.4
	最小値	64.0
	最大値	114.1
	平均値±標準偏差	82.0±16.3
II	坊主6号	79.1
	農林20号	66.5
	はやゆき	52.3
	巴錦	86.6
	巴まさり	77.8
	南栄	79.1
	新栄	73.7
	豊光	79.9
	最小値	52.3
	最大値	86.6
	平均値±標準偏差	74.4±9.9
IIla	富国	51.2
	早生富国	53.7
	栄光	87.7
	共和	60.5
	北斗	47.7
	しおかり	44.7
	はやこがね	88.3
	みまさり	62.6
	そらち	74.4
	大野中稻	80.7
	石狩白毛	78.4
	農林34号	54.7
	新雪	60.8
	最小値	51.2
	最大値	88.3
	平均値±標準偏差	65.0±14.5
IIlb	ユーカーラ	98.5
	キタヒカリ	75.4
	マツマエ	38.7
	しまひかり	91.4
	きたこがね	64.0
	はくちょうもち	66.9
	最小値	38.7
	最大値	91.4
	平均値±標準偏差	72.5±19.5
IV	農林15号	88.2
	ふくゆき	82.2
	ささほなみ	77.7
	北海112号	95.2
	イシカリ	70.1
	ともゆたか	85.6
	はやまさり	89.4
	みちこがね	82.3
	ともひかり	70.6
	ゆきひかり	73.5
	ほのか224	87.2
	最小値	70.1
	最大値	95.2
	平均値±標準偏差	82.0±7.8
V	キタアケ	39.1
	ハヤカゼ	38.9
	きたいぶき	93.6
	きらら397	92.8
	北海287号	88.0
	あきほ	93.9
	おぼろづき	85.4
	ゆめびりか	85.8
	ななつぼし	86.4
	ほしのゆめ	100.0
	ふっくりんこ	91.1
	大地の星	29.2
	最小値	29.2
	最大値	100.0
	平均値±標準偏差	77.9±23.5
all	最小値	29.2
	最大値	114.1
	平均値±標準偏差	76.0±18.0

表IV-3 コアパネルにおける12染色体毎のPIC値の平均

chr.	Mb	マーカー数	PIC値*		
			最小値	最大値	平均
1	45	77	0.03	0.77	0.39
2	36.8	60	0.03	0.79	0.37
3	37.2	57	0.03	0.7	0.31
4	35.8	64	0.03	0.74	0.32
5	30	55	0.03	0.69	0.33
6	32.1	56	0.03	0.65	0.34
7	30.3	44	0.03	0.72	0.29
8	28.5	53	0.06	0.77	0.35
9	23.8	43	0.06	0.73	0.42
10	23.6	40	0.1	0.7	0.42
11	30.8	45	0.09	0.62	0.39
12	27.7	40	0.03	0.75	0.36
total		634	0.04	0.73	0.36

* 最小値、最大値は各染色体毎のPICの最小・最大値を示す。

表IV-3

表IV-4 GWASにより検出されたいもち病圃場抵抗性関連マーカー

Model	マーカー名	Chr.	物理位置 (Mb)	-log10P	Permutation		ランク ^b	遺伝 子型数	発病指数平均*	
					p 値	q 値 ^a			遺伝子型 A	遺伝子型 B
GLM	ac03000493	3	17.3	3.94	0.00011	0.022	3	2	71.2(48)	92.4(12)
	aa04009401	4	32.1	3.55	0.00027	0.026	4	2	60.1(13)	79.7(47)
	ab05000132	5	13	3.07	0.00083	0.026	5	2	71.7(48)	90.4(12)
	aa10000871	10	2.8	3.99	0.0001	0.022	2	2	69.2(39)	87.1(21)
	RM5349	11	19.6	4.56	0.00002	0.015	1	2	35.6 (3)	77.7 (57)
MLM	RM5349	11	19.6	3.81	0.00015	0.099	1	2	35.6 (3)	77.7 (57)

* 括弧内数値は各遺伝子型を示すコアパネル内の品種・系統数

a FDR制御法の指標。 p 値より算出した。

b p 値の大小に基づく各マーカーの連関強度の順位

表IV-4

表IV-5 コアパネルにおけるRM5349周辺マーカーのハプロタイプパターン

Genetic sub-group	品種・系統名	いもち病 発病指数	chr Mb	ac11000499	RM5349	ac11000537	aa11004155
				11 20.3	11 21.7	11 21.5	11 22.1
V	大地の星	29.2		G	B	G	T
IIIb	マツマエ	38.7		G	A	G	T
V	ハヤカゼ	38.9		G	B	G	T
V	キタアケ	39.1		G	B	G	T
IIIa	北斗	44.7		G	A	A	T
IIIa	共和	47.7		G	A	A	T
IIIa	富国	51.2		G	A	A	T
II	はやゆき	52.3		G	A	G	T
IIIa	農林34号	54.7		A	A	G	G
IIIa	栄光	60.5		G	A	A	T
IIIa	新雪	60.8		G	A	G	T
IIIa	みまさり	62.6		G	A	G	T
I	早生坊主	64		G	A	G	T
IIIa	早生富国	64		G	A	A	T
IIIb	きたこがね	64		G	A	G	T
I	胆振早生	64.6		G	A	G	T
II	農林20号	66.5		A	A	G	G
IIIb	はくちょうもち	66.9		A	A	A	T
I	農林11号	68.6		G	A	G	T
IV	イシカリ	70.1		A	A	A	T
IV	ともひかり	70.6		A	A	G	G
I	水口稲	73.3		G	A	G	T
IV	ゆきひかり	73.5		A	A	G	G
II	新栄	73.7		G	A	G	T
IIIa	そらち	74.4		G	A	A	T
IIIb	キタヒカリ	75.4		A	A	A	T
I	北海早生	76.4		G	A	G	T
I	走坊主	77.3		G	A	G	T
IV	ささほなみ	77.7		G	A	G	T
II	巴まさり	77.8		G	A	G	T
IIIa	石狩白毛	78.4		G	A	G	T
II	坊主6号	79.1		G	A	G	T
II	南栄	79.1		A	A	G	G
II	とよひかり	79.9		G	A	G	T
IIIa	大野中稲	80.7		G	A	A	T
IV	ふくゆき	82.2		G	A	G	T
IV	みちこがね	82.3		A	A	A	T
V	おぼろづき	85.4		A	A	G	T
IV	ともゆたか	85.6		G	A	G	T
V	ゆめびりか	85.8		A	A	G	T
V	ななつぼし	86.4		A	A	G	T
II	巴錦	86.6		G	A	G	T
I	坊主	86.8		G	A	G	T
IV	ほのか224	87.2		A	A	G	T
IIIa	しおかり	87.7		G	A	G	T
V	北海287号	88		A	A	G	T
IV	農林15号	88.2		G	A	G	T
IIIa	はやこがね	88.3		G	A	A	T
IV	はやまさり	89.4		A	A	A	T
V	ふっくりんこ	91.1		A	A	G	T
IIIb	しまひかり	91.4		A	A	A	T
V	きらら397	92.8		A	A	G	T
V	きたいぶき	93.6		A	A	G	T
I	農林9号	93.7		G	A	G	T
V	あきほ	93.9		A	A	G	T
IV	北海112号	95.2		G	A	G	T
IIIb	ユーカラ	98.5		A	A	A	T
V	ほしのゆめ	100		A	A	G	T
I	黒毛	109.4		G	A	G	T
I	赤毛	114.1		G	A	G	T

各マーカーの物理位置は日本晴ゲノム配列情報 (build1.0) に基づく。

表IV-5

表IV-6 「キタアケ」関連系統におけるRM5349周辺12マーカーのハプロタイプパターン

マーカー遺伝子型 ^a															
Group	品種・系統名*	いもち病 発病指数	aa11003281	aa11003294	aa11003517	aa11004053	ac11000499	196	ac11000537	aa11004155	aa11004494	aa11004500	aa11004506	aa11005083	aa11005455
IIIb	ユーカー	98.5	C	G	T	C	A	A	A	T	G	G	A	C	G
IV	ぶくゆき	82.2	C	A	C	T	G	A	G	T	G	G	A	C	A
IIIa	そらち	74.4	C	G	C	C	G	A	A	T	G	G	A	A	A
—	Cody	0	T	A	T	C	A	B	G	T	A	A	G	C	A
V	キタアケ	39.1	C	G	C	C	G	B	G	T	A	G	A	A	A
—	空育162号	36.8	C	G	C	C	G	B	G	T	A	G	A	C	A
—	上育452号	55.8	C	G	C	T	G	B	G	T	A	G	A	A	A
—	吟風	31.6	C	G	C	T	G	B	G	T	A	G	A	C	A
—	彗星	34	C	A	C	T	G	B	G	T	A	G	A	C	A
—	上育462号	38	C	G	C	T	G	B	G	T	A	G	A	C	A
—	上育463号	35.2	C	G	T	C	G	B	G	T	G	G	A	A	A
—	空育179号	49.6	C	G	T	C	G	B	G	T	G	G	A	A	A
—	空育180号	43.8	C	G	T	C	G	B	G	T	G	G	A	A	A
—	上育455号	86.4	C	G	C	T	A	A	G	T	A	A	G	A	A
—	空育171号	90	C	G	C	T	A	A	G	T	A	A	G	A	A
—	上系06214	100.1	C	G	C	T	A	A	G	T	A	A	G	A	A

* 赤字は「キタアケ」の祖先品種。青字は「キタアケ」の後代品種系統。

緑塗りつぶしは「Cody」由来と推定されるハプロタイプブロック。青塗りつぶしは「そらち」由来と推定されるハプロタイプブロック

^a各マーカーの物理位置は日本晴ゲノム配列情報 (build1.0) に基づく

表IV-6

表IV-7 いもち病抵抗性に関するQTL解析結果

Chromosome	マーカー区間	Mb ^a	LOD値	寄与率 (%)	相加効果 ^b
11	RM6680-*RM5349	19,650,332	23.3	64.7	6.2

^a マーカーの物理位置は日本晴ゲノム配列情報 (build 1.0 <http://rapdb.dna.affrc.go.jp>)に基づく。

^b 「上育462号」型の対立遺伝子の効果

*LODピークの最近傍

表IV-7

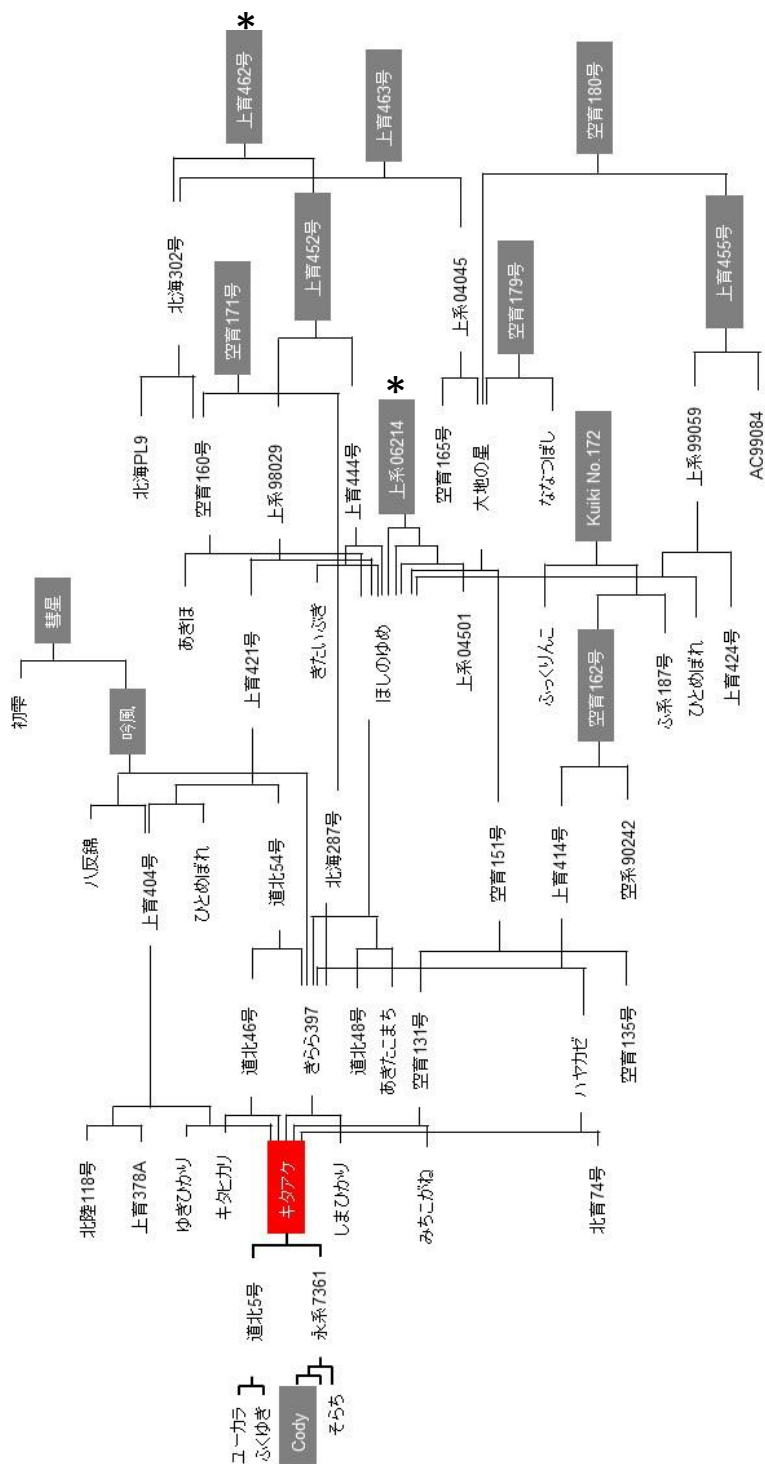
表IV-8 「キタアケ」 関連系統におけるPi-cd領域のハプロタイプパターン

品種・系統名	いもち病 発病指数	RM6680	RM26830	RM26851	RM5349	RM26871	RM2596	RM26890
		19.0	19.2	19.6	19.6	19.7	19.9	20.2
Cody	0	a	a	a	a	a	a	a
キタアケ	39.1	a	a	a	a	a	a	a
ハヤカゼ	38.9	a	a	a	a	a	a	a
大地の星	29.2	a	a	a	a	a	a	a
彗星	31.6	a	a	a	a	a	a	a
吟風	34.9	a	a	a	a	a	b	a
空育162号	36.8	a	a	a	a	a	b	a
空育172号	32.4	b	c	a	a	a	e	a
空育179号	49.6	a	a	a	a	a	a	a
空育180号	43.8	a	a	a	a	a	a	a
上育452号	55.8	a	b	a	a	a	d	a
上育462号	38	a	b	a	a	a	d	a
上育463号	35.2	a	b	a	a	a	c	b
あきほ	93.9	b	d	b	b	b	f	b
ふっくりんこ	91.1	b	d	b	b	b	c	b
ほしのゆめ	100	b	d	b	b	b	c	b
きらら397	92.8	b	g	b	b	b	c	b

黄色塗りつぶしは「キタアケ」と同一のハプロタイプパターン

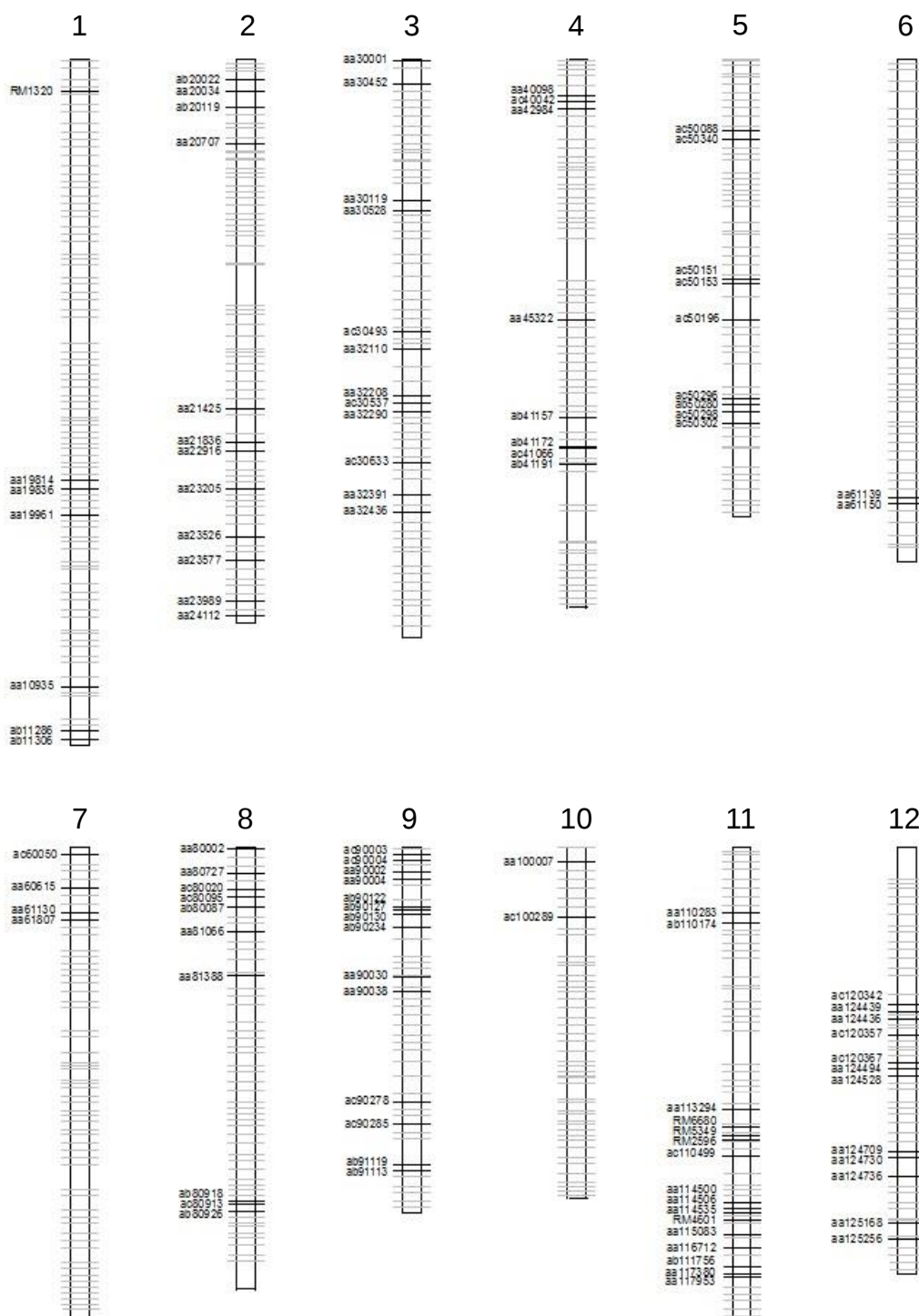
各マーカーの物理位置は日本晴ゲノム配列情報に基づく

表IV-8



図IV-1 連関解析に供試した「キタアケ」関連品種・系統の系譜
グレー塗りつぶしの13系統を供試した。*はQTL解析に用いた
DHLsの交配親。

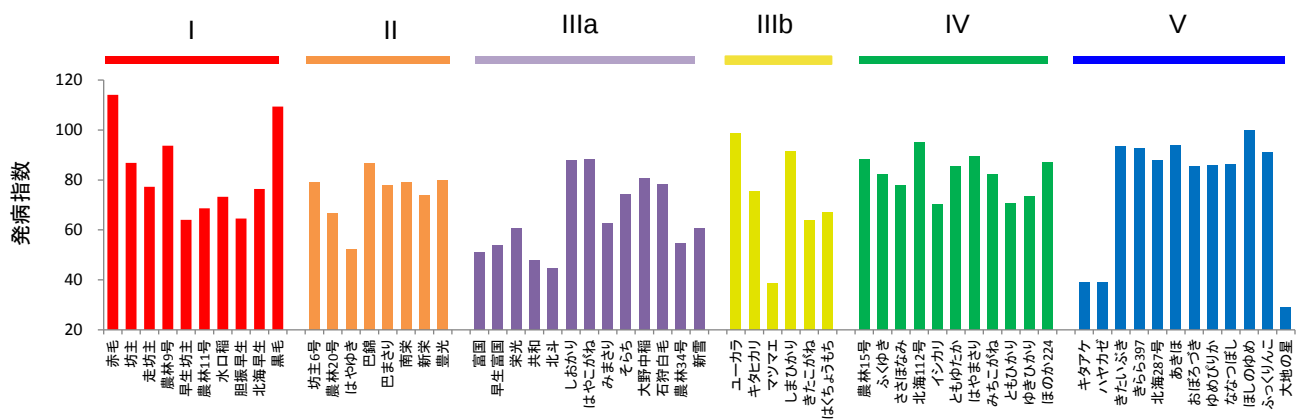
図IV-1



図IV-2 QTL解析に用いたSNP・SSRマーカー

各染色体横線は上育462号、上系06214間の多型マーカースクリーニングに用いた768 SNP および 38 SSR マーカーを示す。このうち多型が認められた130マーカー(125 SNP ・ 5 SSR マーカー)をQTL解析に用いた(図中黒線)。各マーカーの物理位置は日本晴ゲノム配列情報 (build1.0)に基づく。

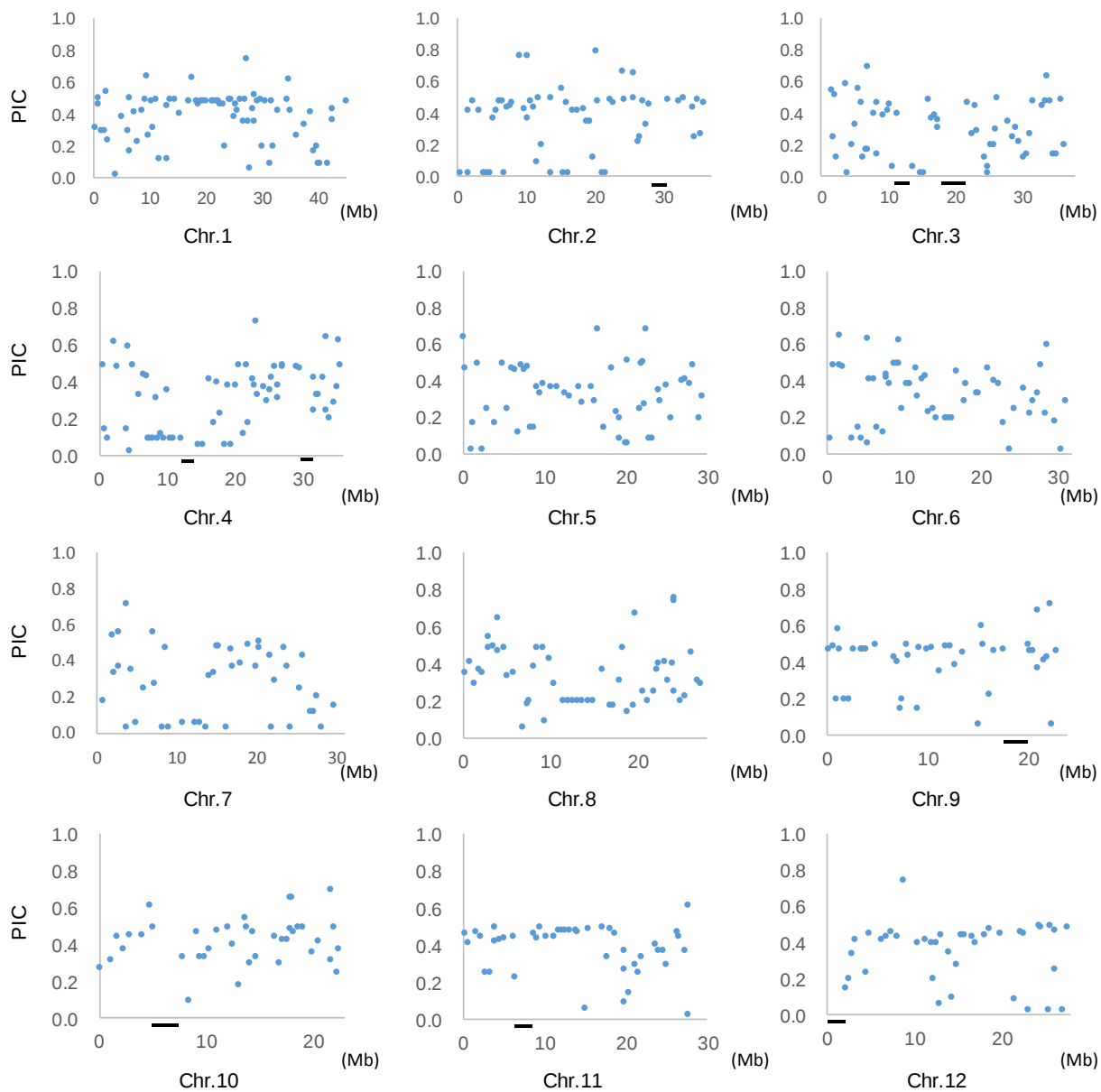
図IV-2



図IV-3 コアパネルのいもち病発病指数

II章のクラスター解析によって分類されたグループ毎で色分けして示す。
発病指数が大きいほどいもち病圃場抵抗性は弱い。

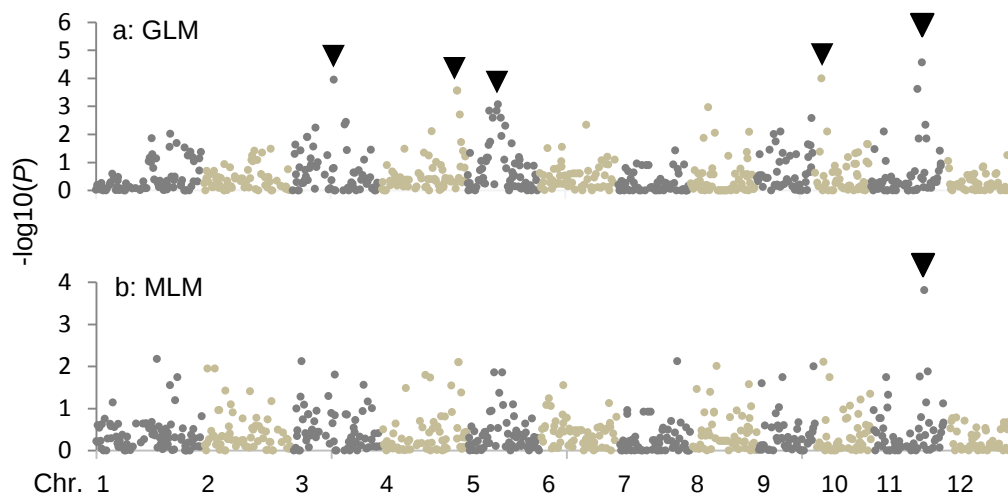
図IV-3



図IV-4 コアパネルにおける各SNP・SSRマーカーのPIC値

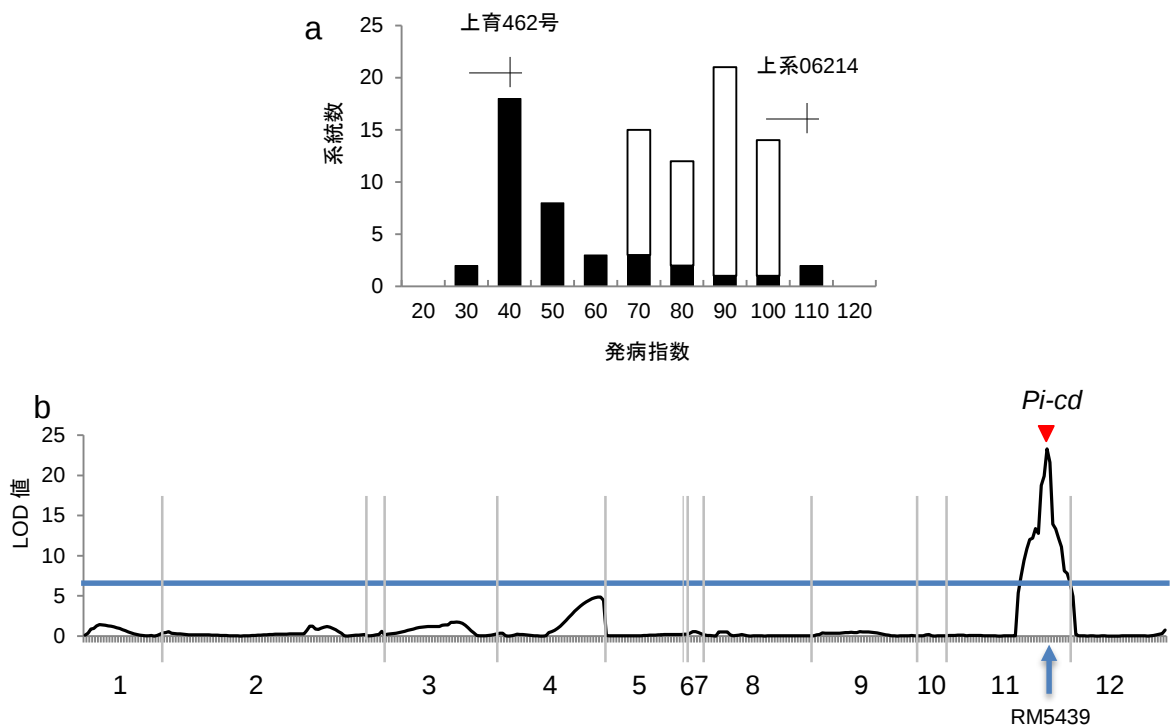
横軸は各マーカーの染色体上の物理位置を示す。縦軸はPIC値を示す。各グラフ下部の横線は2Mb以上のマーカー間ギャップ領域

図IV-4



図IV-5 GWAS解析によって得られた各マーカーのマンハッタンプロット図
a:GLMによるGWAS結果。b:MLMによるGWAS結果。横軸は各マーカーの染色体上の位置を示す。縦軸は $-\log_{10}(P)$ 値。グラフ内の矢印は q value <0.05 (a), <0.1 (b)となったマーカーを示す。

図IV-5



図IV-6 DHLsを用いたいもち病圃場抵抗性に関するQTL解析結果

- (a) 「上育462号」×「上系06214」交配由来DHLsにおけるいもち病発病指数の頻度分布。縦軸が各発病指数を示す系統数。横軸が発病指数。黒塗りの棒グラフはRM5349の遺伝子型が「キタアケ」と同一な系統数を示す。発病指数が大きいほどいもち病抵抗性は弱い。
- (b) QTL解析より得られたLOD曲線。横軸は各マーカーの連鎖地図上での位置。RM5349近傍で高いピークが検出される。グラフ内青横線は閾値を示す(LOD=6.24)。

図IV-6

考察

植物において量的形質を支配する遺伝子の検出は QTL 解析が主流であり、イネにおいてもこのようなアプローチで数々の QTL 検出に成功している(Yamamoto *et al.* 2009)。QTL 解析は系統間の形質差に関与する QTL を検出するので単交配に由来する系統群ならびに染色体置換系統群といった遺伝分離集団を利用する。そのため、本研究で扱うような分離形質を保持する地域適応集団や品種群を直接扱うことはできない。このような場合は、連鎖不平衡に基づく原因遺伝子座の探索（すなわち GWAS）が適切であろう。GWAS は人為的な交雑実験集団の作出が困難なヒトでの遺伝解析手法として考案され、多くの新規疾患感受性遺伝子同定に貢献している(National Human Genome Research Institute)。近年、植物においてもゲノム情報の解読が進んでいるアラビドプシスやイネを中心に同手法を用いた遺伝解析が積極的に行われ、集団内の遺伝変異に関与する遺伝領域の検出に成功している (Brachi *et al.* 2011)。しかしながら、1 地域の育成集団のような遺伝的多様性の乏しい材料を用いた解析事例はほとんどない。今回、GWAS 解析が本研究で扱うような集団から直接遺伝子座を選び出すに有効であることを示すことができた。選び出した遺伝子座の検証が必要なのは、QTL 解析も同様である。

本章では北海道の育成集団とわずか 634 種の DNA マーカー情報を用いて GWAS 解析を行い複数のいもち病抵抗性関連領域を検出することに成功した。自殖性作物であるイネにおいて連鎖不平衡領域は比較的大きく、交配親の有用遺伝子周辺のゲノム領域はその後代においても保存されていくと予測される(Yamamoto *et al.* 2010、Shinada *et al.* 2015)。このことが少数のマーカーによる GWAS を可能にしたと考えられる。実際、本研究で検出した *Pi-cd* 周辺領域についても保持系統で遺伝子座周辺ゲノム構造がよく保存されていることが確認された。

いもち病はイネ栽培における最大の病害であり、いもち病抵抗性品種の育成は安定生産のみならず、減農薬栽培や低コスト化の実現など、イネ栽培における多大なメリットをもたらす。いもち病圃場抵抗性遺伝子については個々の効果は限定的であるが、抵抗性遺伝子を集積させることにより高度の抵抗性を発揮することが可能である(Fukuoka *et al.* 2015)。従っていもち病圃場抵抗性に関する多様な遺伝資源をそろえることが重要である。本章では、まず北海道育成集団にいもち病抵抗性に関する遺伝変異があることを明らかにした。いもち病圃場抵抗性に関する GWAS を行い、育成集団全体で内包されている抵抗性遺伝因子として 5 ヶ所のいもち病圃場抵抗性関連領域を検出した。*Pi-cd* 以外の遺伝子座については詳細な解析が必要である。一方、最も作用力の大きい第 11 番染色体上の抵抗性遺伝子 *Pi-cd* は、遺伝的分離集団においてもその高い抵抗性が実証された。*Pi-cd* 領域近傍には、中部 32 号が保持する *Pi34*(Zenbayashi *et al.* 2007) ならびに陸稲農林 12 号が保持する *qBFR11*(Sato *et al.* 2006)などが存在することが明らかになっている。「キタアケ」とこれら品種のゲノム構造を詳細に比較することで、各遺伝子の異同を明

らかにする必要がある。

系譜情報を用いた連関解析により、*Pi-cd*は外国稲「Cody」より「キタアケ」に導入されたと推定され、「キタアケ」以前の品種・系統は同 QTL を保持していない。ところが「キタアケ」以前の品種群(Group I～IIIb)においてもいもち病圃場抵抗性の変異が認められるので、これは *Pi-cd* と異なる遺伝子が作用していると考えられる。おそらく、GWAS 解析で検出された *Pi-cd* 以外の 4 領域が作用しているのだろう。今後、各々の領域がいもち病圃場抵抗性を付与するかどうか検証するとともに、それらの起源について明らかにする必要がある。

第Ⅴ章：総合論議

イネは日本の気候風土に適応した主食用作物として、全国各地で収量性の向上、コシヒカリ以上の良食味品種の育成が開発され(結城ら 2010、木下 2013)、日本の基幹となる水田農業の活性化に寄与してきた。しかしながら、時代背景とともに育種目標は常に変化している。今後最も重要となる問題は気候変動への対応であり、従来の収量性や良食味性の向上とともに、気候変動により各地域で問題となると予想される病害ならびに環境ストレス耐性の強化が重要になってくる(農林水産省農林水産技術会議 2007、丹野 2012)。こうした複合的な育種目標を達成するにあたり、イネにとっての極限環境に適応した北海道イネ品種群から得られる情報は少なくないだろう。

北海道イネ品種群におけるゲノム動態

北海道のイネ品種群は育種経過に対応する 6 つの遺伝グループに分けられると推定された。本研究では、北海道イネ品種群集団の構造化の主な原因は「中生愛国」、「関東 53 号」、あるいは「銀坊主」といった本州品種や、外国稲「Cody」(総称して外来品種・系統)との交配であることを明らかにした。これら外来品種・系統は、各グループの育成において中心的な役割を果たした品種(「ユウカラ」、「農林 15 号」など)のゲノム構成に大きく寄与している。従って、北海道イネ育種が持続的に発展してきた背景には、外来系統・系統からのゲノム領域の導入が育種集団の多様性維持に貢献してきたことがあげられる。

外来品種系統導入が集団の構造化の主な原因であったとするなら、北海道のイネ育種について以下のようなシナリオも考えられる。まず、限られた生育期間での登熟を可能にする早生(感光性)遺伝子や夏季の低温を克服できる耐冷性遺伝子が北海道のイネ品種に必須である。これらの必須遺伝子を最低限揃えることで Group I が成立したが、Group I が内包する遺伝的ポテンシャルでは Group II までの品種育成が限界であり、Group IIIa 以降は遺伝変異の拡大が不可欠だったのではないだろうか。イネのような自殖性作物で少数のエリート系統を用いた育種を継続すると遺伝変異は低下すると思われるが、PIC 値からはそのような徴候はうかがえない。むしろ、遺伝変異は最も新しい Group V においてもそれまで同様のレベルに保たれている。これまでの過程において、適度に外来遺伝子(領域)が導入され、遺伝変異の大きさを保てたことが、北海道イネ育種が持続的に成功を収めてきた要因の一つのように思える。

今後の課題として北海道への適応に関わるゲノム領域の同定が未解明であることが挙げられる。また、本研究においてグループ間で改良の痕跡が認められた 5 つの形質以外にも、例えば良食味に関わる低蛋白性、炊飯米の外観品質やテクスチャーの変化は最近の品種が新たに獲得した形質である。こうした形質の導入には、どのようなゲノム領域に関わるのかを明らかにする必

要がある。あるいは、各グループ間で継続して維持されているゲノム領域には、北海道への地域適応に必須の遺伝子が含まれている可能性がある。こうした遺伝子の存在は個別の遺伝解析でもとらえることが可能ではあるが、本研究で示したようなゲノムレベルのデータの利用や GWAS を用いた集団の遺伝ポテンシャルの推定を行うと、その補足は容易になるだろう。それがいかなる遺伝子であるのか、またその遺伝子は将来の地域適応性向上に対しても必須であり続けるのか、検討する必要がある。

以上の議論は、あくまでもゲノム構造の視点に基づいた品種分化過程に関する仮説である。北海道品種群のゲノム構造、集団構造、あるいは遺伝的多型には外来品種・系統の果たす役割が大きいと考えるが、個々の北海道品種の表現型全体に対する寄与の程度については、今後の詳細な解析が必要である。

今後の品種改良における北海道イネ品種群の遺伝的ポテンシャルの有用性

開花期耐冷性やいもち病圃場抵抗性はこれまでに北海道では継続して強い選抜をかけてこなかった形質である。それ故、新たに生じた問題を解決するため形質を改良するにあたり地域適応品種の遺伝的ポテンシャルを知るためのモデルケースとみてよい。本研究では、これらの形質に関して北海道イネ品種群に大きな変異があることを明らかにした。これは、第Ⅱ章で明らかにしたゲノムレベルの多様性と矛盾しない。

「キタアケ」より後代系統に遺伝しているいもち病圃場抵抗性遺伝子（すなわち *Pi-cd*）については「Cody」由来であることがわかった。前項では道外品種からのゲノム領域の導入の意義を論じたが、ここでは実際に外来系統が遺伝変異のソースとなることを示すことができた。近年積極的な選抜対象となっていなかったいもち病抵抗性に関する遺伝子が、北海道の系統に残されていた理由は、劣悪形質の連鎖がなかったことで中立的に説明できる可能性がある。これは開花期耐冷性の遺伝変異についても同様である。本研究の試験結果は北海道の品種群が保持するいもち病圃場抵抗性ならびに開花期耐冷性改良についての遺伝的ポテンシャルを推測するのに役立ち、あらたな QTL 検出の機会を与えるとともにイネ育種における効率的ないもち病圃場抵抗性遺伝子ならびに開花期耐冷性遺伝子の集積に非常に有用である。

本研究により、これまで未選抜であった形質に関しても北海道イネ品種群には十分な遺伝変異がある可能性を示すことができた。従って、今後新たに改良が必要となる形質について北海道イネ品種群の遺伝的ポテンシャルにはある程度期待して良いと考えられる。開花期耐冷性やいもち病圃場抵抗性以外の形質についてもさらに調べる必要がある。その一方で、遺伝変異が期待できない形質も見極める必要がある。例えば、北海道イネ品種群で多様性が低いゲノム領域に座乗する遺伝子や、北海道イネ品種に必須な遺伝子に連鎖する遺伝子については遺伝変異が期待できないだろう。まずは、北海道イネ品種群のゲノム情報の精査することが必要である。

北海道イネ育種における「イノベーション」と今後

北海道のイネ育種の歴史はおよそ 100 年であるが、収量・品質ともに本州品種に劣らぬ品種を発表するに至った。その意味で、地域適応性向上に成功しているといえる。本研究で明らかにした 6 つの北海道イネ品種群グループの間には、DNA マーカーから類推した集団構造のみならず、いくつかの形質については不連続な飛躍が認められる。例えば、穂ばらみ期耐冷性、一穂粒数およびアミロース含有率で Group V の値が他グループとは明確に異なる。一方、穂数については Group I と Group II 以降の間で明らかに異なるし、整粒歩合では Group IIIb 以降が飛び抜けて高い。このようなグループ間で認められる形質の飛躍は、グループ内の漸進的な改良とは分けて考えた方が良くかもしれない。

本研究では、グループ間における形質の飛躍が生産性や品質向上などの地域適応性向上のための一種の遺伝的な「イノベーション」であった可能性を提示する。本研究で示したように、地域適応性向上には外来品種のゲノム領域の導入が大きな役割を果たした可能性が高い。そうであるなら、こうしたイノベーションに外来品種のゲノム領域の導入が大きな役割を果たしたのかもしれない。作業仮説として、選抜に供される有用遺伝子の組合せパターンを増やしたことにより、結果としてより高い地域適応性を発揮する遺伝子の組合せを保持した品種の選抜につながったとすることもできるが、これについては今後の検討が必要である。特に、この一連の過程において重要な役割を果たしてきたと考えられる「早生富国」、「ユーカラ」、「農林 15 号」、および「キタアケ」を中心とした解析が必要と考えられる。

一方、各グループ内においても形質の多様性が認められる。例えば、「ゆめぴりか」が「キタアケ」より優れた品種であるのは論を俟たないが、これらはいずれも Group V に属する。このような例は育種の成果として斬新的なグループ内における形質の改良があったことを示している。本研究では、グループ間の形質差に焦点を絞り解析・議論を進めてきたが、グループ内における品種の進歩についても改めて詳細な解析が必要であろう。地域適応性向上に役立った遺伝的要因解明にはグループ間のみならずグループ内の形質多様性も検討する必要がある。

Group V のキー品種である「キタアケ」が育成されてから 30 年近く経過しており、今後さらなる形質向上を行うためには、道外品種などを用いて、再度意図的な遺伝変異拡大をはかり、選抜に供される遺伝子の組合せパターンを増やす必要があると考えられる。しかしながら、集団構造を変えれば必ず形質向上のイノベーションが起こせると言うわけではない。近年、北海道総合研究機構では、イネ育種において複数の新規な本州品種や外国稲を交配親に用いて、北海道向け品種育成を試みてきたが、いずれも満足のいく成果は得られていない（未発表データ）。一つの原因として、目標とする表現型のレベルが先鋭化されているために、これを凌駕するための遺伝子組み合わせをそろえることが難しくなっている可能性が考えられる。先例に倣い、闇雲に外来

品種を交配利用することのみでは、膨大な時間と作業がかかることが見込まれる。従って、多様な遺伝子組み合わせを作出し、それがもたらす形質変化を効率的に調べることが必要である。近年、イネでは多系交配系統群(Multiple-parent advanced generation inter-cross : MAGIC)が作られ、GWASを用いた有用遺伝子の同定や育種利用が想定されている(Bandio *et al.* 2013)。このMAGIC系統群においては複数系統由来のゲノム領域が混合されるので、効率的にイノベーションを可能にする遺伝子組み合わせを探索するのに有効と推定される。こうした新規育種技術の導入も今後の北海道イネ育種には必要になってくると考えられる。

本研究では、北海道イネ品種・系統群におけるゲノム動態ならびに今後の品種改良における北海道イネ品種群の遺伝的ポテンシャルの評価を行った。今後、育種目標が高度化・複雑化すると予想されるイネ育種の現状において、育成中の系統の表現型調査のみではなく、適応性向上に関わったゲノム動態や育成材料内(ジーンプール)における変異の大きさを確認することは各地域の育種を進めるにあたり、非常に重要であると考えられる。本研究の試験結果は、今後の北海道イネ育種の方向性、戦略の検討並びに育種の効率性を高める手段として大いに活用できるとともに、他地域の育成集団を材料に同様な調査を行う際のモデルとなると考えられる。

摘要

・北海道で育成されたイネ品種の遺伝的多様性を解明し、育成系譜や農業形質と対応させることで、ゲノムレベルで品種育成過程の遡及を行うための基盤構築を試みた。その結果、対立遺伝子頻度に基づく集団構造モデル、および育種系譜から北海道の新旧品種群は育種系譜に対応した 6 つの遺伝グループに分けられることを明らかにした。

・本研究では、7 つの農業形質について 6 つの遺伝グループ間で比較を行った。その結果、5 形質(穂ばらみ期耐冷性、一穂粒数、穂数、アミロース含有率、および整粒歩合)について有意差が確認され、新しく発生したグループほど、草姿や耐冷性等いくつかの形質が栽培上望ましい方向に改良されていることを明らかにした。

・北海道の新旧イネ品種群の遺伝的分化に道外ならびに外国稲品種の遺伝領域の導入が重要であることが示唆された。

・1983 年以降に育成された北海道イネ品種・系統において、低温処理後の種子稔実率を指標にした検定により、開花期耐冷性に関する多様な遺伝変異があることを明らかにした。

・開花期耐冷性に関する変異の機構を検討するため、関連形質の可能性のある花粉の形態と機能に着目した。その結果、低温条件下において花粉発芽と伸長の抑制程度に品種・系統間差があることが確認された。「永系 88223」や「ほしのゆめ」といった開花期耐冷性が強い品種ほどこれらの形質は低温の影響を受けないことから、開花期耐冷性との関連が示唆される。

・開花期耐冷性が極強の「永系 88223」と極弱の「彗星」を交配親に用いたマッピング集団より開花期耐冷性に関する 3 つの QTL を同定した。

・「永系 88223」と「彗星」を交配親に用いた F₃ 集団を使った解析で、各 QTL の効果を検証できた。その結果、本研究で同定した各 QTL 単独の作用は限定的で、種子稔実率の向上は概ね 10 ~15% に過ぎないものの、複数の QTL を集積することで明瞭な耐冷性向上が可能であることが確認された。

・道内育成イネ品種・系統について本研究で同定した 3 つの QTL 周辺のマーカー遺伝子型を調査した。QTL マッピングの交配親に用いた「永系 88223」の他に、「ほしまる」、「北海 302 号」

および「きたいぶき」など複数の高度耐冷性保持品種があるが、3つの QTL 周辺の SSR マーカー一遺伝子型は、同一ではなかった。従って、「ほしまる」、「北海 302 号」もしくは「きたいぶき」の開花期耐冷性の起源は、「永系 88223」とは異なる可能性が高いことを示した。

- ・北海道の新旧主要イネ品種・系統において、いもち病圃場抵抗性に多様な遺伝変異があることを明らかにした。

- ・北海道の育成イネ品種・系統群と 634 種の DNA マーカー情報を用いて GWAS 解析を行い、5 か所のいもち病抵抗性関連領域を検出した。そのうち第 11 染色体の関連領域について、QTL マッピングによりいもち病圃場抵抗性遺伝子 *Pi-cd* の存在を確認した。

- ・系譜情報ならびに *Pi-cd* 周辺領域のマーカー遺伝子型より、*Pi-cd* が外国稲品種の Cody より導入されたことを明らかにするとともに、北海道の育成イネ品種・系統群のうちどの品種・系統が *Pi-cd* を保持しているか明らかにした。

- ・北海道イネ品種群内における集団遺伝学的な構造解析結果より、北海道イネ品種群の遺伝的フレームワークが把握することができた。今後さらにイネ育種を進める際にまたは、重要形質に関する遺伝解析を行う際に試験戦略を立てる上で重要な情報を与える結果と考えられる。

- ・開花期耐冷性といもち病圃場抵抗性に関する、遺伝解析結果は今後の北海道イネ育種における耐冷性ならびに耐病性の強化に役立つ。

付表1 QTL領域のハプロタイプパターンの決定に用いたSSRマーカー

番号 ^a	関連 QTL	マーカー名	染色体	Mb ^b
1	<i>qCTF7</i>	RM20875	7	1274594
2	<i>qCTF7</i>	RM3196	7	2044182
3	<i>qCTF7</i>	RM5752	7	2567835
4	<i>qCTF7</i>	RM20973	7	2769872
5	<i>qCTF7</i>	RM5711	7	3142182
6	<i>qCTF7</i>	RM2103C	7	3501838
7	<i>qCTF7</i>	RM21052	7	3770854
8	<i>qCTF7</i>	RM21076	7	4028088
9	<i>qCTF7</i>	RM21078	7	4028504
10	<i>qCTF8</i>	RM22674	8	8497582
11	<i>qCTF8</i>	RM22679	8	8580070
12	<i>qCTF8</i>	RM22684	8	8806132
13	<i>qCTF8</i>	RM2278C	8	10798009
14	<i>qCTF12</i>	RM3331	12	23494367
15	<i>qCTF12</i>	RM2858C	12	24324659
16	<i>qCTF12</i>	RM28669	12	25556762
17	<i>qCTF12</i>	RM28678	12	25736141
18	<i>qCTF12</i>	RM1227	12	27338833
19	<i>qCTF12</i>	RM28825	12	27466157
20	<i>Pi-cd</i>	RM6680	11	19082768
21	<i>Pi-cd</i>	RM2683C	11	19253156
22	<i>Pi-cd</i>	RM26851	11	19624756
23	<i>Pi-cd</i>	RM5349	11	19650332
24	<i>Pi-cd</i>	RM26871	11	19778593
25	<i>Pi-cd</i>	RM2596	11	19967155
26	<i>Pi-cd</i>	RM2689C	11	20262665

^a1～19開花期耐冷性QTL関連マーカー。20～26：*Pi-cd*関連マーカー

^b日本晴ゲノム配列情報に基づく (build1.0)

付表2 GWASに用いたSNP・SSRマーカーリスト

		No.	1	2	3	4	5	6
			aa01000007	RM1282	aa01000048	aa01000201	aa01000889	RM1320
Sub-	染色体		1	1	1	1	1	1
group	品種・系統名	Mb マーカー間距離	35239 35239	549511 514272	600441 50930	1269484 669043	1842582 573098	2177465 334883
I	赤毛		C	A	A	C	A	A
I	坊主		C	A	A	C	A	A
I	走坊主		A	A	T	C	A	A
I	農林9号		C	A	A	C	A	A
I	早生坊主		C	B	A	C	A	A
I	農林11号		C	B	A	C	A	C
I	水口稲		A	A	A	C	A	A
I	胆振早生		C	C	T	T	A	C
I	北海早生		C	A	A	C	A	F
I	黒毛		C	B	A	C	A	A
II	坊主6号		C	A	A	C	A	A
II	農林20号		C	C	T	C	A	A
II	はやゆき		C	B	T	C	A	A
II	巴錦		C	B	T	C	A	A
II	巴まさり		C	B	T	C	A	A
II	南栄		C	B	T	C	A	A
II	新栄		C	B	T	C	A	A
II	豊光		C	B	T	C	A	A
IIIa	富国		C	A	A	C	A	D
IIIa	早生富国		C	A	A	C	A	B
IIIa	栄光		C	A	T	C	T	E
IIIa	共和		C	B	T	C	A	A
IIIa	北斗		C	A	A	C	A	D
IIIa	しおかり		C	B	T	C	A	A
IIIa	はやこがね		A	A	A	T	T	E
IIIa	みまさり		C	A	T	C	T	E
IIIa	そらち		A	A	A	T	A	D
IIIa	大野中稲		C	B	T	C	A	A
IIIa	石狩白毛		C	B	T	C	A	A
IIIa	農林34号		C	B	T	C	A	A
IIIa	新雪		C	B	T	C	A	A
IIIb	ユーカラ		A	A	A	T	T	E
IIIb	キタヒカリ		A	A	A	T	T	E
IIIb	マツマエ		A	A	A	T	T	E
IIIb	しまひかり		C	B	T	C	T	D
IIIb	きたこがね		A	A	A	T	T	E
IIIb	はくちょうもち		A	A	A	T	A	E
IV	農林15号		C	A	A	C	A	D
IV	ふくゆき		C	B	T	C	A	D
IV	ささほなみ		C	B	T	C	A	D
IV	北海112号		C	B	T	C	A	A
IV	イシカリ		A	A	A	T	T	E
IV	ともゆたか		A	A	A	T	T	E
IV	はやまさり		A	A	A	T	T	E
IV	みちこがね		C	B	T	C	A	A
IV	ともひかり		C	B	T	C	A	A
IV	ゆきひかり		C	B	T	C	A	A
IV	ほのか224		C	B	T	C	A	A
V	キタアケ		C	B	T	C	A	A
V	ハヤカゼ		C	B	T	C	A	A
V	きたいぶき		C	B	T	C	A	A
V	きらら397		C	B	T	C	A	A
V	北海287号		C	B	T	C	A	A
V	あきほ		C	B	T	C	A	A
V	おぼろづき		C	B	T	C	A	A
V	ゆみびりか		C	B	T	C	A	A
V	ななつぼし		C	B	T	C	A	A
V	ほしのゆめ		C	B	T	C	A	A
V	ふっくらんこ		C	B	T	C	A	A
V	大地の星		C	B	T	C	A	A
PIC 値			0.320	0.512	0.473	0.299	0.299	0.550

各マーカーの物理位置は日本晴れのゲノム配列(build1.0)に基づく

[illegible]

37	38	39	40	41	42	43	44	45	46
aa01006881	aa01006903	aa01006939	aa01006944	aa01006950	aa01008778	aa01008849	aa01008907	aa01009141	aa01009804
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
21873815	22112410	22360188	22879044	23283769	24023377	24406734	24852511	25252470	25548141
496865	238595	247778	518856	404725	739608	383357	445777	399959	295671
G	G	C	A	T	C	C	A	T	G
G	G	C	A	T	C	C	A	T	G
G	G	C	A	T	C	C	A	T	G
G	G	C	A	C	T	T	A	T	G
G	G	C	A	T	T	C	A	T	G
G	G	C	A	T	C	T	A	C	G
G	G	C	A	T	T	C	A	T	G
G	A	T	A	C	C	C	A	T	G
G	G	C	A	T	C	C	A	C	G
A	A	T	T	C	T	C	A	T	C
A	A	T	T	C	T	C	A	T	C
G	G	C	A	C	T	T	A	T	G
A	A	T	T	T	C	T	G	T	C
A	A	C	T	T	T	C	A	T	C
A	A	T	T	C	T	C	A	T	G
A	A	C	T	T	C	C	G	T	C
G	G	C	A	T	C	C	A	T	G
G	G	C	A	T	C	C	A	T	G
A	A	T	T	T	C	T	G	T	C
A	A	T	T	T	C	T	G	T	C
A	A	T	T	T	C	C	A	C	C
A	A	T	T	T	T	T	G	T	C
A	A	T	T	T	C	T	A	T	C
G	G	C	A	T	T	C	A	C	C
G	A	C	A	T	T	C	A	C	C
A	A	C	A	T	T	C	A	C	C
A	A	T	T	T	C	T	G	T	C
A	A	T	T	T	C	T	G	T	C
A	A	T	T	T	C	T	G	T	C
G	G	C	A	T	C	C	A	T	G
G	G	C	A	T	C	C	A	T	G
G	G	C	A	T	T	C	A	T	G
A	G	C	A	T	C	T	G	T	C
G	G	C	T	T	C	T	A	C	C
G	G	C	T	T	C	T	A	C	C
G	G	C	A	T	T	T	G	T	C
A	A	T	T	T	T	T	A	C	C
A	A	T	T	T	T	T	A	C	C
G	G	C	A	T	T	T	A	C	C
G	G	C	A	T	T	T	A	C	C
G	G	C	A	T	T	T	A	C	C
G	G	C	A	T	T	T	A	C	C
G	G	C	A	T	T	T	A	C	C
G	G	C	A	T	T	T	A	C	C
A	A	T	T	T	T	C	A	C	C
0.486	0.486	0.473	0.464	0.206	0.495	0.495	0.391	0.473	0.433

[illegible]

57	58	59	60	61	62	63	64	65	66
aa01010082	aa01010103	aa01010136	aa01010140	aa01010144	aa01010145	aa01010148	aa01010226	RM5501	aa01010476
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
29623322	29956953	30476860	31322751	31636946	31796154	32690812	34417751	34548947	34951453
577435	333631	519907	845891	314195	159208	894658	1726939	131196	402506
T	C	G	A	G	C	A	T	A	G
T	C	G	A	G	C	A	T	A	G
T	C	G	A	G	C	A	T	A	G
T	C	G	A	G	C	A	T	A	G
T	C	G	A	G	C	A	T	A	G
T	C	G	A	G	C	A	T	C	G
T	C	G	A	G	C	A	T	A	G
C	C	G	A	G	C	A	T	A	G
T	C	A	A	A	C	T	A	B	G
T	C	A	A	A	C	T	A	B	G
T	C	G	A	G	C	A	T	A	G
C	C	A	A	A	C	T	A	B	G
C	C	A	A	A	C	T	A	B	G
C	C	A	A	A	C	T	A	B	G
C	C	A	A	A	C	T	A	B	G
T	C	G	A	G	C	A	T	A	G
T	C	G	A	G	C	A	T	A	G
T	C	A	A	A	C	T	A	D	A
T	C	A	A	A	C	T	-	A	G
T	C	A	A	A	C	T	A	D	A
C	C	G	A	A	C	A	T	A	G
C	C	G	A	G	C	A	T	A	G
C	C	A	A	A	C	T	A	D	A
C	C	G	A	G	C	A	A	B	G
T	C	G	A	G	C	A	T	A	G
T	C	G	A	G	C	A	A	A	G
T	C	A	A	A	T	A	A	D	A
T	C	G	A	G	C	T	A	D	A
C	C	A	A	A	T	A	A	D	A
T	C	A	A	A	T	A	T	A	G
T	C	G	T	G	C	A	-	B	A
C	C	G		G	T	A		D	A
C	C	G	T	G	C	A	A	D	A
C	C	A	A	A	C	T	A	D	A
C	C	A	A	A	T	A	A	B	G
C	C	A	A	A	T	A	A	D	A
C	A	G	A	G	C	A	T	D	G
T	C	A	A	A	C	T	A	D	A
T	C	A	A	A	C	T	A	D	A
T	C	A	A	A	C	T	A	D	A
T	A	G	A	G	C	A	T	D	G
C	C	A	A	A	C	T	A	D	A
C	C	G	A	G	C	A	T	D	G
C	A	G	A	G	C	A	T	D	G
C	A	G	A	G	C	A	T	D	G
C	A	G	A	G	C	A	T	D	G
C	C	G	A	G	C	A	T	D	G
C	C	G	A	G	C	A	T	D	G
C	C	A	A	A	C	A	A	D	G
C	A	G	A	G	C	A	T	D	G
C	A	A	A	G	C	A	A	D	A
C	C	A	A	G	C	A	A	D	A
C	C	A	A	A	C	T	A	D	A
0.500	0.206	0.486	0.097	0.491	0.206	0.433	0.500	0.621	0.433

97	98	99	100	101	102	103	104	105	106
RM1358	aa02000828	aa02000854	ab02000785	ac02000203	ab02000303	ac02000212	ab02000310	RM6374	ac02000216
2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
10185526	10527869	10919777	11414539	11763809	12197694	13521478	13529619	15187984	15330608
65235	342343	391908	494762	349270	433885	1323784	8141	1658365	142624
C	C	C	G	G	G	A	C	A	A
A	C	C	G	A	G	G	C	B	A
A	C	C	G	A	G	A	C	B	A
F	C	G	G	G	G	G	C	B	A
D	C	C	G	A	G	G	C	B	A
D	C	C	G	A	G	A	C	B	A
B	C	C	G	A	G	A	C	B	A
C	C	C	G	A	G	A	C	A	A
H	C	G	G	G	G	G	C	D	A
E	C	C	G	A	G	A	C	B	A
C	C	C	G	A	G	A	C	A	A
A	C	C	G	A	G	A	C	A	A
C	C	C	G	A	G	A	C	A	A
A	T	C	G	A	G	A	C	A	A
B	C	G	A	G	G	A	C	A	A
A	T	C	G	A	G	A	C	A	A
C	C	C	G	A	G	A	C	A	A
C	C	C	G	A	G	A	C	A	A
B	C	G	A	G	G	G	C	A	A
B	C	G	A	G	G	G	C	A	A
A	T	C	G	G	A	G	C	A	A
A	T	C	G	A	G	A	C	A	A
A	T	C	G	G	G	-	C	A	A
B	T	C	G	G	A	G	C	B	A
A	T	C	G	A	G	G	C	A	A
A	T	C	G	A	G	A	C	A	A
B	T	C	G	A	G	A	C	A	A
A	T	C	G	A	G	A	C	A	A
E	C	G	G	G	G	A	C	A	A
A	T	C	G	A	G	A	C	A	A
E	C	G	G	G	G	G	C	A	A
B	T	C	G	G	A	G	C	A	A
G	T	C	G	G	A	G	C	A	A
A	T	C	G	A	G	A	C	A	A
A	T	C	G	G	G	G	T	C	G
B	T	C	G	G	A	G	C	A	A
C	C	G	G	G	G	G	C	C	A
A	C	C	G	A	G	-	C	B	A
A	T	C	G	A	G	G	C	A	A
A	T	C	G	A	G	G	C	A	A
A	C	C	G	G	G	A	C	A	A
B	T	C	G	A	G	G	C	A	A
B	T	C	G	A	G	A	C	A	A
B	T	C	G	A	G	G	C	A	A
B	T	C	G	G	A	G	C	A	A
A	T	C	G	A	G	G	C	A	A
A	T	C	G	A	G	G	C	A	A
D	C	G	G	G	G	A	C	C	A
D	C	G	G	G	G	A	C	C	A
D	C	G	G	G	G	A	C	C	A
D	C	G	G	G	G	A	C	C	A
D	C	G	G	G	G	A	C	C	A
D	C	G	G	G	G	A	C	C	A
A	C	G	G	G	G	A	C	C	A
D	C	G	G	G	G	G	C	C	A
D	C	G	G	G	G	A	C	C	A
D	C	G	G	G	G	G	C	C	A
D	C	G	G	G	G	G	C	C	A
D	C	G	G	G	G	G	C	C	A
0.767	0.486	0.444	0.095	0.499	0.206	0.499	0.033	0.563	0.033

137	138	139	140	141	142	143	144	145	146
aa02004112	RM3372	aa03000452	RM3802	aa03000455	RM3807	aa03000493	aa03000513	ac03000061	RM5442
2	3	3	3	3	3	3	3	3	3
35685508	1457491	1763199	1959825	2196417	3531267	3905791	4468103	5008708	5529248
428858	1457491	305708	196626	236592	1334850	374524	562312	540605	520540
A	A	C	E	C	A	C	G	A	A
A	A	C	A	C	A	C	G	A	A
A	C	C	C	C	C	C	G	A	A
A	A	C	E	C	D	C	G	A	A
A	A	C	A	C	A	C	G	A	C
A	A	C	A	C	C	C	G	A	A
A	A	C	A	C	D	C	G	G	A
A	B	C	C	C	C	C	G	G	A
G	C	C	B	C	A	C	G	A	A
A	B	C	C	C	B	C	G	G	A
A	A	C	A	C	A	C	G	A	A
A	B	C	B	C	C	C	G	G	A
A	C	C	C	C	C	C	G	G	D
A	B	C	D	C	B	C	A	G	D
A	B	C	D	C	B	C	A	G	D
A	B	C	D	C	B	C	A	G	C
A	B	C	E	C	C	C	G	G	D
A	A	C	A	C	A	C	G	A	C
A	A	C	A	C	A	C	G	A	A
A	A	C	A	C	A	C	G	A	A
A	A	C	A	C	A	C	G	A	A
A	A	C	A	C	A	C	G	A	A
A	A	C	A	C	A	C	G	A	A
A	A	C	A	C	A	C	G	A	A
A	A	C	A	C	A	C	G	A	A
G	A	C	A	C	B	C	G	A	A
A	A	C	A	C	C	C	G	A	A
G	A	C	A	C	A	C	G	A	A
A	A	T	A	T	B	C	A	G	A
A	A	C	A	C	B	C	G	A	A
A	A	C	A	C	C	C	G	A	A
A	A	C	A	C	C	C	G	A	A
G	A	C	A	C	B	C	G	A	A
G	A	C	A	T	B	T	A	G	D
A	A	C	A	C	A	C	G	A	A
G	A	T	A	T	B	C	A	G	D
G	A	C	A	C	B	C	G	A	A
A	B	C	D	C	A	C	G	A	A
G	B	C	C	C	A	C	G	A	D
G	B	C	C	C	A	C	G	A	D
A	A	T	A	T	B	C	G	A	A
G	B	C	A	C	A	C	G	A	D
G	B	C	A	C	A	C	G	A	D
G	B	C	A	C	A	C	G	A	D
G	B	C	B	C	A	C	G	A	D
G	B	C	B	C	A	C	G	A	A
G	B	C	B	C	A	C	G	A	A
G	A	C	A	C	A	C	G	A	A
G	A	T	A	C	A	C	G	A	D
A	A	T	A	C	A	C	G	A	D
A	D	T	A	C	A	C	G	A	B
G	B	C	A	C	A	C	G	A	A
G	B	C	A	C	A	C	G	A	B
A	B	T	A	C	A	C	G	A	D
A	B	T	A	C	B	C	G	A	D
A	A	C	A	C	A	C	G	A	D
0.473	0.553	0.255	0.526	0.124	0.593	0.033	0.206	0.339	0.563

177	178	179	180	181	182	183	184	185	186
RM3601	ac03000652	aa03002391	ab03000539	aa03002463	aa03002478	ac03000680	ac03000684	aa03002548	ac03000699
3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
25959692	26244518	27955288	28489070	29085775	29600462	30243421	30758408	31197305	31592905
237257	284826	1710770	533782	596705	514687	642959	514987	438897	395600
A	C	C	G	C	C	C	A	C	G
A	T	C	G	C	C	C	A	C	G
A	T	C	A	C	C	C	A	C	G
A	C	C	A	C	C	C	A	C	G
A	T	C	G	C	C	C	A	C	G
A	C	C	G	C	C	C	A	C	G
C	T	C	A	C	C	C	A	C	G
A	C	C	G	C	C	C	A	C	G
A	C	C	A	C	C	C	C	C	G
A	C	C	G	C	C	C	A	C	G
A	C	C	G	C	C	C	A	C	G
A	T	C	G	C	C	C	A	C	G
A	T	C	G	C	C	C	A	C	G
A	T	C	G	C	C	C	A	C	G
A	T	T	A	C	C	C	A	C	A
A	T	T	A	C	C	C	A	C	A
A	C	C	G	C	C	C	A	C	G
A	T	C	G	C	C	C	A	C	G
A	T	C	A	C	C	C	A	C	G
A	T	C	A	C	C	C	A	C	G
A	C	C	G	C	C	T	C	C	G
A	C	C	G	C	C	C	C	C	G
A	T	C	A	C	C	C	A	C	G
A	C	C	G	C	C	T	A	T	A
A	C	C	G	C	C	C	A	C	A
A	C	C	G	C	C	C	A	C	A
A	C	C	G	C	C	C	C	C	G
A	T	C	G	C	C	C	A	C	G
A	T	C	G	C	C	C	A	C	G
A	T	T	G	T	C	C	A	C	A
A	T	C	G	C	C	T	C	C	G
A	T	C	G	C	A	C	A	T	A
A	C	C	G	C	A	C	A	T	A
A	T	C	G	C	A	C	A	T	A
A	C	C	G	C	C	C	A	T	A
A	C	C	G	C	C	C	A	T	A
A	C	C	G	C	C	C	A	T	A
A	C	C	G	C	C	C	A	T	A
A	T	C	G	T	C	C	A	C	A
A	C	C	G	T	C	C	A	C	A
A	C	T	G	C	C	C	A	C	A
B	T	C	G	T	C	C	A	C	A
B	C	C	G	C	A	C	A	T	A
A	C	C	G	C	A	C	A	T	A
B	C	C	G	C	C	C	A	C	A
A	C	C	G	C	C	C	A	C	A
A	T	T	G	C	C	C	A	C	A
A	C	T	G	C	C	C	A	C	A
A	C	T	G	C	C	C	A	C	A
B	T	T	G	C	C	C	A	C	A
A	C	T	G	C	C	C	A	C	A
A	C	T	G	C	C	C	A	C	A
A	T	C	G	C	C	C	A	C	A
0.305	0.499	0.358	0.255	0.320	0.231	0.124	0.153	0.278	0.486

[illegible]

227	228	229	230	231	232	233	234	235	236
aa04007714	RM5749	aa04007919	ac04001045	ac04001047	ab04001123	ab04001138	RM3524	ab04001157	ac04001062
4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
19967901	20122566	21072150	21526703	21913302	22458546	22802599	22893789	23126372	24113776
586404	154665	949584	454553	386599	545244	344053	91190	232583	987404
C	A	G	T	C	T	C	E	G	C
C	D	G	T	C	T	C	E	G	C
T	D	G	T	C	T	C	C	G	C
C	D	G	T	C	T	C	C	G	C
C	D	G	T	C	T	C	C	G	C
C	C	G	T	C	T	C	A	G	C
C	C	G	T	C	T	C	E	G	C
C	C	G	T	C	T	C	F	G	C
T	B	G	T	C	T	C	C	G	C
C	C	G	T	C	T	C	E	G	C
C	D	G	T	C	T	C	E	G	C
C	C	C	C	C	C	A	A	A	T
C	D	C	C	C	T	C	A	A	T
T	C	G	C	C	C	A	A	G	C
T	C	G	C	C	C	A	A	G	C
T	C	G	C	C	C	A	A	A	T
C	C	C	C	C	C	A	A	A	T
T	C	G	T	C	T	C	E	G	C
T	C	G	C	C	C	A	A	G	C
T	C	G	C	C	C	A	A	G	T
T	C	G	C	C	C	A	A	G	C
T	C	G	T	C	C	A	A	G	C
C	D	G	C	C	C	A	A	G	T
T	C	G	T	C	C	A	A	G	C
T	D	G	C	C	C	A	A	G	T
T	D	G	C	C	C	A	A	G	T
T	C	G	C	C	C	A	D	G	C
T	C	G	C	C	C	A	D	G	C
C	D	G	T	C	T	C	E	G	C
T	C	G	C	C	C	A	A	G	T
T	C	G	C	C	C	A	A	G	T
T	C	G	C	C	C	A	B	G	C
T	C	G	C	C	C	A	A	G	T
T	C	G	C	C	C	A	A	G	T
T	C	G	T	C	T	C	C	G	C
C	C	G	T	G	T	A	B	G	C
C	C	G	T	G	T	A	B	G	C
T	C	G	T	C	T	C	C	G	C
T	C	G	C	C	C	A	A	G	T
T	C	G	C	G	C	A	B	G	C
T	C	G	C	C	C	A	A	G	C
T	C	G	C	C	C	A	A	G	C
T	C	G	C	C	C	A	B	G	C
T	C	G	C	C	C	A	B	G	C
T	C	G	C	C	C	A	D	G	C
T	D	G	C	C	C	A	D	G	C
T	D	G	C	C	C	A	A	G	C
T	D	G	C	C	C	A	A	G	C
T	D	G	T	C	C	A	G	A	C
T	D	G	T	C	C	A	G	A	C
T	D	G	T	C	C	A	G	A	C
T	D	G	T	C	C	A	G	A	C
T	D	G	T	C	C	A	E	A	C
T	D	G	T	C	C	A	G	A	C
T	D	G	T	C	C	A	G	A	C
T	C	G	T	C	C	A	G	A	C
T	D	G	T	C	C	A	G	A	C
T	D	G	T	C	C	A	G	A	C
T	C	G	C	G	C	A	G	G	C
0.391	0.500	0.124	0.495	0.180	0.420	0.391	0.737	0.339	0.375

237	238	239	240	241	242	243	244	245	246
ac04001063	ab04001172	ac04001066	ac04001067	ac04001069	ab04001191	ab04001194	RM1018	ac04001111	ac04001129
4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
24608594	25123848	25164916	25836680	26227955	26262000	26796353	26967205	28917371	29317542
494818	515254	41068	671764	391275	34045	534353	170852	1950166	400171
G	A	T	G	T	G	C	A	C	G
G	A	T	G	T	G	C	A	C	G
G	C	T	G	T	G	C	A	C	G
G	A	T	G	T	G	C	A	C	G
G	A	T	A	T	T	T	A	C	G
G	A	T	A	T	T	T	A	C	G
G	C	T	G	T	G	C	A	C	G
G	C	T	G	T	G	C	A	C	G
G	A	T	G	T	G	C	A	C	G
G	A	T	G	T	G	C	A	C	G
G	C	T	A	C	T	C	A	C	G
G	C	T	A	C	T	C	A	C	G
G	C	T	G	T	G	C	A	C	G
G	C	T	A	T	T	T	B	C	G
G	C	T	A	T	T	T	B	C	G
G	C	T	A	T	T	T	B	C	G
G	C	T	A	C	T	C	A	C	G
G	A	T	G	T	G	C	A	C	G
G	C	T	A	T	T	T	B	C	G
A	C	T	A	C	T	C	A	T	A
G	A	T	G	T	G	-	B	C	G
A	C	T	A	C	T	T	A	T	A
A	C	T	A	T	G	C	A	T	G
A	C	T	A	T	T	T	B	C	A
A	C	T	A	C	T	T	B	C	G
A	C	T	A	T	T	T	B	C	G
A	C	T	A	T	T	T	B	C	G
A	C	T	A	T	T	T	B	C	G
A	C	T	A	C	T	C	A	T	A
A	C	A	G	T	T	T	B	C	G
A	C	T	G	C	T	C	A	C	G
A	A	T	G	T	G	C	A	C	G
A	C	T	A	C	T	C	A	T	A
A	C	T	A	T	G	-	A	C	G
A	C	T	A	T	T	C	A	C	G
A	C	T	A	T	T	C	A	C	G
A	C	T	A	T	G	C	A	C	G
A	C	T	A	C	T	C	A	T	A
A	C	A	G	T	T	T	B	T	A
A	C	A	G	T	T	C	A	T	A
A	C	A	G	T	T	C	A	T	A
A	C	A	G	T	T	-	A	T	A
A	C	T	A	T	T	T	B	T	A
A	C	A	A	T	T	C	A	T	A
A	C	A	G	T	T	T	B	T	A
A	C	A	G	T	T	T	B	T	A
A	C	A	G	T	T	T	B	T	A
A	C	A	G	T	T	T	B	C	G
A	C	A	G	T	T	T	B	T	A
A	C	A	G	T	T	T	B	T	A
A	C	A	G	T	T	T	B	T	A
0.299	0.358	0.433	0.486	0.320	0.391	0.496	0.491	0.486	0.480

257	258	259	260	261	262	263	264	265	266
RM5879	aa04009883	RM1248	aa05000026	ab05000011	ac05000012	ab05000017	aa05000045	ac05000021	aa050000263
4	4	5	5	5	5	5	5	5	5
35112447	35435056	93969	164299	998325	1147723	1782649	2360849	2838818	3890358
120066	322609	93969	70330	834026	149398	634926	578200	477969	1051540
A	C	A	A	T	T	C	G	G	T
A	C	A	A	T	T	C	G	G	T
A	C	B	A	T	T	C	G	G	T
A	C	B	A	T	T	C	G	G	T
A	A	A	A	T	T	C	G	G	T
B	C	B	A	T	T	C	-	G	T
A	A	B	A	T	T	C	G	G	T
A	A	B	A	T	T	C	G	G	T
B	C	A	A	T	T	C	G	G	T
A	C	B	A	T	T	C	G	G	T
A	C	B	A	T	T	C	G	G	T
A	C	C	T	T	T	C	G	G	T
A	C	C	T	T	T	C	G	G	T
A	C	C	T	T	T	C	G	G	T
A	C	B	A	T	T	C	G	G	T
B	A	C	T	T	T	C	G	G	T
B	A	C	T	T	A	C	G	G	T
B	A	C	T	T	A	C	G	G	T
C	A	C	T	T	T	T	G	G	T
B	A	C	T	T	A	T	G	G	T
B	A	A	A	T	T	C	G	G	T
A	C	C	T	T	T	T	G	G	T
B	A	C	T	T	T	T	G	G	T
A	A	C	T	T	T	T	G	G	T
B	A	C	T	T	T	T	G	G	T
A	A	C	T	T	A	C	G	A	T
C	A	C	T	T	A	C	G	A	T
C	A	C	T	T	A	C	G	G	T
B	A	C	T	T	T	C	G	G	T
B	A	B	A	T	T	C	G	G	T
B	A	C	T	T	T	T	G	G	T
B	A	C	T	T	T	T	G	G	T
A	C	C	T	T	T	T	G	G	T
B	A	C	T	T	T	T	G	G	T
C	A	C	T	T	T	T	G	G	T
B	A	C	T	T	T	T	G	G	T
C	A	A	A	T	T	C	G	G	T
A	C	A	A	T	T	T	G	A	G
A	C	B	A	T	T	C	G	G	T
C	A	A	A	T	T	T	G	A	G
C	A	A	A	T	T	T	G	A	G
C	A	B	A	T	T	C	G	G	T
C	A	B	A	T	T	T	G	G	T
C	A	B	A	T	T	T	G	G	T
C	A	B	A	T	T	T	G	G	T
C	A	B	A	T	T	T	G	G	T
C	A	B	A	T	T	T	G	G	T
C	A	B	A	T	T	T	G	G	T
A	C	B	A	A	T	T	G	A	T
A	C	B	A	T	T	T	G	G	T
A	C	B	A	T	T	T	G	G	T
A	C	C	T	T	T	T	G	G	T
0.632	0.495	0.646	0.480	0.033	0.180	0.499	0.033	0.255	0.180

287	288	289	290	291	292	293	294	295	296
RM1127	RM3838	ac05000196	ac05000227	ac05000233	RM8211	ac05000255	ac05000286	RM1386	aa05000835
5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
16015462	16553557	17182797	18197017	18850836	19125724	19201760	19987940	20057139	20182442
314290	538095	629240	1014220	653819	274888	76036	786180	69199	125303
A	A	C	G	C	A	G	G	A	C
A	A	C	G	C	A	G	G	A	C
A	A	C	G	C	A	G	G	A	C
A	F	C	A	C	A	G	G	A	C
A	E	C	G	C	B	C	G	B	C
A	A	C	A	C	A	C	G	G	C
A	C	C	G	C	B	G	G	F	C
A	D	C	A	C	A	C	G	D	C
B	B	C	G	C	A	G	G	E	C
A	A	C	G	C	A	G	G	A	C
A	A	C	G	C	A	G	G	B	C
A	A	C	G	C	A	G	G	B	C
A	G	C	G	C	A	G	G	B	C
A	A	C	G	C	A	G	G	B	C
A	A	C	A	C	A	G	G	A	C
A	A	C	G	C	A	G	G	A	C
A	A	C	G	C	A	G	G	B	C
A	A	C	G	C	A	G	G	B	C
A	A	C	A	C	A	G	G	A	C
A	A	C	A	C	A	G	G	A	C
A	H	C	G	C	B	G	G	A	C
A	A	C	A	C	A	G	G	A	C
A	A	C	A	C	A	G	G	A	C
A	B	T	A	C	A	G	G	A	C
A	B	C	A	C	A	G	G	A	C
A	H	C	A	C	A	G	G	A	C
A	H	C	G	C	B	G	G	A	C
A	A	C	A	C	A	G	G	A	C
A	A	C	A	C	A	G	G	B	C
A	A	C	A	C	A	G	G	B	C
A	A	C	A	C	A	G	G	C	C
A	H	T	G	C	B	G	G	E	C
A	B	C	A	C	A	G	G	A	C
A	H	C	G	C	A	G	A	A	C
B	D	C	A	A	A	G	G	A	C
A	H	C	G	C	B	G	G	E	C
A	B	T	A	C	A	G	G	B	C
A	A	C	A	C	A	G	G	A	C
A	A	C	A	C	A	G	G	A	C
A	A	C	A	C	A	G	G	A	C
A	A	C	A	C	A	G	G	A	C
A	H	C	A	C	A	G	G	A	C
A	H	C	G	C	A	G	A	A	C
A	H	C	A	C	A	G	G	A	C
A	A	C	A	C	A	G	G	A	C
A	A	T	A	C	A	G	G	A	C
B	A	T	A	C	A	G	G	A	C
A	H	C	G	C	B	G	G	B	C
A	H	C	G	C	A	G	G	B	C
B	D	C	A	A	A	G	G	A	C
B	D	C	A	A	A	G	G	A	C
B	D	C	A	A	A	G	G	A	C
B	D	C	A	A	A	G	G	A	C
B	D	C	A	A	A	G	G	A	C
B	D	C	A	A	A	G	G	B	T
B	D	C	A	A	A	G	G	B	T
A	A	C	A	C	A	G	G	A	C
0.299	0.691	0.153	0.473	0.234	0.206	0.095	0.064	0.519	0.064

[illegible]

357	358	359	360	361	362	363	364	365	366
aa06000879	ac06000938	aa06000938	aa06001093	aa06001097	aa06001119	aa06001139	aa06001150	RM1370	aa06001158
6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
23827574	24322701	25520047	26349288	26875901	27389348	27875211	28353197	28533451	29671063
803419	495127	1197346	829241	526613	513447	485863	477986	180254	1137612
G	A	T	C	C	G	G	G	A	A
G	C	T	C	C	G	G	G	A	A
G	C	G	T	C	G	G	G	A	A
G	C	G	T	C	G	G	G	C	A
G	C	T	C	C	G	G	G	A	A
G	C	G	C	C	G	G	G	A	A
G	C	T	C	C	G	G	G	B	A
G	C	G	C	C	G	G	G	A	A
G	C	G	T	C	G	G	G	A	A
G	C	T	C	C	G	G	G	C	A
G	A	T	C	C	G	G	G	C	A
G	A	-	C	C	G	G	G	C	A
G	C	G	T	C	G	G	G	A	A
G	C	G	C	T	A	A	G	D	A
G	C	G	C	T	A	A	G	A	A
G	A	-	C	T	A	A	G	C	A
G	C	G	C	T	A	A	G	D	A
G	C	T	C	C	G	G	G	A	A
G	C	G	C	C	G	A	G	C	C
G	C	G	C	C	G	A	G	A	C
G	C	G	C	C	G	A	G	C	A
G	C	-	C	C	G	A	G	C	A
G	C	G	C	C	G	A	G	C	A
G	C	-	C	C	G	A	G	A	A
G	C	G	C	C	G	G	G	C	A
G	C	G	C	C	G	A	G	A	A
G	A	T	C	T	A	A	A	C	A
G	C	G	C	C	G	A	G	A	A
G	C	G	C	C	G	A	G	C	A
G	C	-	C	C	A	A	A	D	-
G	A	T	T	T	A	A	A	A	C
G	A	T	T	T	A	A	A	A	C
G	C	G	C	C	A	A	A	C	-
G	C	G	C	T	G	G	G	C	A
G	C	G	C	C	G	G	A	A	C
G	C	G	C	C	G	G	G	A	A
G	C	G	C	C	G	G	G	A	A
G	C	G	C	C	G	G	G	D	A
G	C	G	C	C	A	A	A	D	A
G	A	T	T	T	A	A	G	C	A
G	A	-	C	T	A	A	A	A	A
G	C	G	C	C	G	G	G	C	A
G	C	G	C	C	G	G	G	A	A
G	C	G	C	C	G	G	G	A	A
G	C	G	C	C	G	G	G	A	A
G	C	G	C	C	G	G	G	A	A
G	C	G	C	C	G	G	G	A	A
G	C	G	C	C	G	G	G	A	A
G	C	G	C	C	G	G	G	A	A
G	C	G	C	C	G	G	G	E	A
G	C	G	C	C	G	G	G	A	A
G	C	G	C	C	G	G	G	A	A
G	C	G	C	C	G	G	G	A	A
0.033	0.255	0.366	0.231	0.299	0.339	0.495	0.231	0.600	0.185

417	418	419	420	421	422	423	424	425	426
aa08000774	ac08000020	RM5647	ac08000095	RM3572	ab08000087	ab08000123	aa08000792	aa08001066	aa08001319
8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
2229664	2786082	2892794	3335432	3928306	3951991	4669945	5082368	5649689	6721737
431343	556418	106712	442638	592874	23685	717954	412423	567321	1072048
A	T	A	A	A	T	T	G	C	G
A	C	A	A	A	T	T	G	C	G
A	C	A	A	A	T	T	G	C	G
A	T	B	G	B	C	C	G	C	G
A	T	A	A	A	T	T	G	C	G
A	C	A	A	B	C	T	G	C	G
A	T	A	A	B	C	T	G	C	G
A	C	A	A	A	T	T	G	T	G
A	C	A	G	B	T	C	G	C	G
A	T	A	G	A	T	T	G	C	G
A	T	A	-	A	T	T	G	C	G
G	C	A	G	B	C	C	G	C	G
G	T	C	G	B	C	C	G	C	G
G	T	A	G	B	C	C	G	C	G
G	C	A	-	A	T	T	G	C	G
G	C	A	-	B	C	C	G	C	G
A	T	A	G	A	T	T	G	C	G
A	C	A	G	B	T	T	G	C	G
A	C	A	G	B	T	T	G	C	G
A	C	C	G	C	C	C	G	T	G
G	T	C	G	C	C	C	A	T	G
G	C	A	-	B	C	T	G	C	G
A	T	A	A	B	C	C	G	C	G
A	C	A	G	B	C	T	G	C	G
A	T	A	G	A	T	T	G	C	G
A	C	A	G	B	C	C	G	C	G
A	T	A	G	B	C	C	G	C	G
A	-	A	G	A	T	-	G	C	G
G	T	C	G	B	C	C	G	T	A
A	C	B	A	B	C	C	G	C	G
-	C	A	A	C	C	C	A	T	G
A	T	A	G	A	T	T	G	C	G
-	T	C	G	A	T	T	G	C	G
A	C	B	A	B	C	C	G	C	G
A	C	B	A		C	C	G	C	G
A	C	B	A		C	C	G	C	G
G	T	C	-	C	C	C	A	T	G
A	C	B	A	B	C	C	G	C	G
-	C	A	A	C	C	C	A	T	G
-	T	C	G	A	T	T	G	C	G
A	T	A	G	C	C	C	A	T	G
A	T	A	G	A	T	T	G	C	G
A	T	A	-	A	T	T	G	C	G
A	C	B	A	C	C	C	A	T	G
A	C	B	A	C	C	C	A	T	G
G	T	C	G	A	T		G	C	G
A	C	B	A	C	C	C	A	T	G
A	C	B	A	B	C	C	G	C	G
A	C	B	A	C	C	C	G	C	G
A	C	B	A	B	C	C	A	C	G
G	C	A	A	C	C	C	G	C	G
A	C	B	A	C	C	C	A	C	G
A	C	B	A	C	C	C	A	C	G
A	T	A	G	C	C	C	A	T	G
0.357	0.493	0.551	0.499	0.653	0.480	0.490	0.339	0.358	0.064

427	428	429	430	431	432	433	434	435	436
aa08001325	RM3181	aa08001334	aa08001338	RM3481	aa08001638	ac08000264	aa080002627	aa080002710	aa080002774
8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
7384130	7553778	8024296	8443462	9136135	9238167	9796710	10336136	11455523	12020257
662393	169648	470518	419166	692673	102032	558543	539426	1119387	564734
T	A	A	A	A	C	T	T	C	A
T	A	A	A	A	C	T	T	C	A
T	A	A	G	A	C	T	T	C	A
T	A	G	G	C	C	G	G	C	A
T	A	G	G	A	C	T	G	C	A
T	A	A	A	A	C	T	T	C	A
T	A	G	G	A	C	T	G	C	A
T	A	G	G	C	C	G	G	C	A
T	A	G	G	C	C	G	G	C	A
-	A		A	A	C	T	T	C	A
-	A	G	G	A	C	T	G	C	A
T	A	G	G	A	C	G	G	C	A
T	A	G	G	A	C	G	G	C	A
-	A	G	G	A	C	G	G	C	A
T	A	G	G	A	C	G	G	C	A
T	A	G	G	A	C	T	G	C	A
T	A	G	G	A	C	G	G	C	A
T	A	G	G	A	C	G	G	C	A
T	A	G	G	A	C	G	G	C	A
T	A	G	G	A	C	T	G	C	A
T	A	G	A	B	C	T	G	C	A
C	A	A	A	A	C	G	G	C	A
T	A	G	G	A	C	G	G	C	A
T	A	A	A	A	C	T	T	C	A
T	A	G	G	A	C	G	G	C	A
T	A	G	G	A	C	G	G	C	A
T	A	G	A	B	C	T	G	C	A
C	A	G	G	A	C	T	G	C	A
T	A	A	A	B	C	T	G	T	C
T	A	G	A	A	C	T	T	T	C
T	A	G	G	A	C	G	G	C	A
-	A	G	A	A	C	T	T	C	A
T	A	G	G	A	C	T	G	T	C
T	A	G	G	A	C	T	G	T	C
C	A	A	A	A	T	T	T	C	A
T	A	G	A	A	C	T	G	T	C
C	A	A	A	A	C	T	G	T	C
T	A	A	A	A	C	G	G	C	A
C	A	A	A	A	T	T	T	T	C
T	A	A	A	B	C	T	G	C	A
T	A	A	A	B	C	T	G	C	A
T	A	G	A	B	C	T	G	C	A
T	A	G	A	B	C	T	G	C	A
T	A	G	G	A	C	G	G	C	A
T	A	G	A	B	C	T	G	C	A
T	A	G	A	B	C	T	G	C	A
T	B	G	A	B	C	T	G	C	A
T	B	G	A	B	C	T	G	C	A
T	B	G	A	B	C	T	G	C	A
T	B	G	A	B	C	T	G	C	A
T	-	A	A	B	C	T	G	C	A
0.194	0.209	0.395	0.491	0.496	0.095	0.433	0.299	0.206	0.206

457	458	459	460	461	462	463	464	465	466
ab080000926	RM5485	RM5353	ac080000931	ab080000934	ac080000950	ab080000952	ac080000965	aa0800006353	ab0900000016
8	8	8	8	8	8	8	8	8	9
23956693	24072904	24121786	24165868	24839818	25310148	26093044	26735566	27221650	160055
525618	116211	48882	44082	673950	470330	782896	642522	486084	160055
A	A	A	C	T	C	T	A	C	G
A	B	C	C	T	C	T	A	C	C
A	B	C	C	T	C	T	A	C	C
A	B	C	C	T	C	T	A	C	C
A	A	A	C	T	C	T	A	C	C
A	D	A	C	T	C	T	A	C	C
A	A	A	C	T	C	T	A	C	C
A	D	B	C	T	C	T	A	C	C
A	D	A	C	T	C	C	A	C	G
A	B	C	C	T	C	T	A	C	G
A	D	A	C	T	T	C	A	C	G
A	B	C	C	T	C	C	A	C	G
A	D	A	C	T	C	C	A	C	G
A	D	A	C	T	C	C	A	C	G
A	D	A	C	T	C	C	A	C	G
A	A	D	T	C	C	C	A	C	C
A	A	D	T	C	C	C	A	C	C
A	A	D	T	C	C	C	A	C	C
A	A	F	T	C	C	T	G	A	C
A	A	D	T	C	C	C	A	C	C
A	B	C	C	T	C	T	G	A	C
A	B	C	C	T	T	C	A	C	G
G	C	E	C	T	C	C	G	C	C
A	B	C	C	T	T	C	A	C	G
A	A	A	C	T	C	C	A	C	C
A	A	A	C	T	C	C	A	C	C
A	A	A	C	T	C	C	A	C	C
G	C	E	C	T	C	C	A	C	C
G	C	E	C	T	C	C	A	C	C
G	C	E	C	T	C	C	A	C	G
G	F	D	T	T	C	T	A	C	C
A	A	A	C	T	C	C	A	C	C
A	A	D	T	C	C	C	A	A	G
A	E	C	C	T	C	T	A	A	G
A	B	C	C	T	C	T	G	A	G
A	B	C	C	T	C	T	G	A	G
A	D	A	C	T	T	C	A	C	G
A	B	C	C	T	C	T	G	A	G
G	C	E	C	T	C	C	A	C	G
G	B	C	C	T	C	T	G	A	C
A	D	A	C	T	T	C	G	A	G
A	D	A	C	T	C	C	A	C	C
A	D	A	C	T	C	C	A	C	G
G	C	E	C	T	C	C	A	C	G
A	B	C	C	T	C	T	G	A	G
G	C	E	C	T	C	C	A	C	G
G	C	E	C	T	C	C	A	C	G
G	C	E	C	T	C	T	G	C	G
G	C	E	C	T	C	C	A	C	G
G	A	D	T	T	C	T	G	C	G
G	C	E	C	T	C	C	A	C	G
G	C	E	C	T	C	C	A	C	G
A	D	A	C	T	T	C	A	C	G
0.406	0.766	0.742	0.255	0.206	0.231	0.464	0.320	0.299	0.480

497	498	499	500	501	502	503	504	505	506
ab09001035	ac09000285	RM3787	ab09001119	ab09001130	ab09001133	RM1553	aa09000103	aa09000133	RM2144
9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
16581844	17539383	20043590	20160328	20493604	20890011	21003925	21629154	21953459	22209803
466649	957539	2504207	116738	333276	396407	113914	625229	324305	256344
A	C	A	G	T	G	A	T	G	A
A	C	A	G	T	G	A	T	G	A
A	C	A	G	T	G	A	T	G	C
A	C	A	G	T	G	A	T	G	A
A	C	A	G	T	G	A	T	G	A
A	C	A	G	T	G	A	T	G	A
G	T	B	T	T	G	A	T	G	A
A	C	B	T	T	G	C	T	G	A
A	C	A	G	T	G	A	T	G	D
A	C	A	G	T	G	A	T	A	B
A	C	B	T	A	T	D	C	A	B
A	T	A	G	T	G	A	T	G	A
A	T	B	T	A	G	B	C	A	B
A	T	B	T	A	G	B	C	A	A
A	T	B	T	A	T	D	C	A	B
A	T	B	T	A	G	B	C	A	B
A	C	B	T	A	G	B	C	A	D
A	C	A	G	T	G	A	T	G	A
A	C	A	G	T	G	A	T	G	A
A	C	A	G	T	T	D	T	G	E
A	C	A	G	T	G	A	T	G	A
A	C	A	G	T	G	A	C	G	A
A	C	A	G	T	G	A	T	G	A
A	C	A	G	T	T	D	T	G	C
G	C	B	T	T	G	A	T	G	A
A	C	A	G	A	T	D	T	G	A
G	T	B	T	A	G	B	C	A	B
A	T	B	T	A	G	C	T	G	F
A	C	B	T	T	G	A	T	G	A
G	T	B	T	A	G	C	T	G	A
A	C	C	G	T	T	D	T	G	C
A	C	A	G	T	T	D	C	G	E
A	C	A	G	T	T	D	T	G	E
A	C	A	G	T	T	D	T	G	G
G	T	A	G	T	T	D	T	G	E
G	T	A	G	T	G	A	T	G	A
G	T	A	G	T	G	A	T	G	A
A	C	A	G	T	G	A	T	G	B
G	T	A	G	T	G	A	T	G	A
G	T	A	G	T	T	D	C	G	E
G	T	A	G	T	G	A	T	G	E
G	T	A	G	T	G	A	T	G	H
G	T	A	G	T	G	A	T	G	A
A	C	B	T	A	G	B	T	A	B
G	T	A	G	T	G	B	T	A	B
G	C	C	G	A	T	D	T	G	D
G	C	A	G	A	T	D	T	G	D
A	C	B	T	A	G	A	C	A	H
A	C	B	T	A	G	B	C	A	B
G	T	B	T	A	G	B	C	A	B
G	T	B	T	A	G	C	C	A	B
G	T	B	T	A	G	B	C	A	B
G	C	B	T	A	G	B	C	A	B
G	C	B	T	A	G	B	C	A	B
G	T	A	G	A	T	D	T	G	A
0.464	0.480	0.504	0.464	0.464	0.375	0.688	0.420	0.433	0.728

557	558	559	560	561	562	563	564	565	566
aa11000283	ab11000174	RM3137	aa11000329	ab11000762	aa11002722	ab11000829	ab11000851	aa11002846	aa11002920
11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
4404696	5018628	6188794	6363189	8612949	9053289	9378234	10193046	11067782	11594685
485207	613932	1170166	174395	2249760	440340	324945	814812	874736	526903
G	C	A	A	G	G	T	G	A	A
G	C	A	A	G	G	C	G	A	A
G	C	A	A	G	G	T	G	A	A
G	C	A	A	G	G	C	G	A	A
T	T	A	G	C	G	T	G	A	A
G	C	A	A	G	G	T	G	G	A
T	T	A	G	C	G	T	G	A	A
G	C	A	A	G	G	C	G	A	A
T	T	A	G	C	T	T	C	G	T
T	T	A	G	C	T	T	C	G	T
G	T	A	G	C	T	T	C	G	T
G	T	B	A	C	T	T	C	G	T
G	T	B	A	C	T	T	C	G	T
G	T	B	A	C	T	T	C	G	T
G	T	A	G	C	T	T	C	G	T
T	T	C	G	G	G	T	G	G	T
G	C	A	A	G	G	C	G	G	T
G	C	A	A	G	G	C	G	A	A
G	C	A	A	G	G	C	G	G	T
G	T	B	A	C	T	T	C	G	T
G	T	B	A	G	G	C	G	G	A
G	C	B	A	G	G	C	G	G	A
G	C	A	A	C	T	T	C	G	T
G	C	A	A	C	T	T	C	G	T
T	T	B	A	G	G	T	C	G	T
T	T	B	A	C	T	T	C	G	T
G	C	A	A	G	G	C	G	A	A
G	C	A	A	G	G	C	G	G	T
G	C	A	A	G	G	C	G	G	T
G	C	C	G	G	G	T	G	A	A
G	C	A	A	G	G	C	G	G	T
G	T	B	A	G	G	C	G	G	T
G	C	A	A	G	G	C	G	G	T
T	C	A	A	G	G	C	G	A	A
T	C	A	A	G	G	C	G	A	A
T	C	A	A	G	G	C	G	A	A
G	T	B	A	C	T	T	C	A	A
T	C	A	A	G	G	T	G	A	A
T	C	A	A	G	G	T	G	A	A
G	T	B	A	G	G	C	G	G	T
G	C	A	A	G	G	C	G	A	A
T	C	A	A	G	G	C	G	G	T
T	C	A	A	C	T	T	C	G	T
G	T	B	A	G	T	T	C	G	T
G	C	B	A	C	T	T	C	G	T
T	C	A	A	G	G	C	G	G	T
G	C	B	A	C	T	T	C	G	T
T	C	A	A	G	G	C	G	G	T
T	C	A	A	C	T	T	C	G	T
T	C	A	A	G	G	C	G	A	A
G	C	A	A	G	G	C	G	G	T
0.433	0.444	0.452	0.231	0.464	0.444	0.500	0.455	0.455	0.486

[illegible]

577	578	579	580	581	582	583	584	585	586
ac11000499	RM5349	ac11000537	RM1355	aa11004155	aa11004494	aa11004500	aa11004506	aa11005083	aa11005455
11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
18533344	19650322	19673321	19816431	20346745	21059521	21472745	21888015	23613989	23912038
485281	1116978	22999	143110	530314	712776	413224	415270	1725974	298049
G	A	G	A	T	G	G	A	C	A
G	A	G	A	T	G	G	A	C	A
G	A	G	A	T	G	G	A	C	A
G	A	G	A	T	G	G	A	C	A
G	A	G	A	T	G	G	A	C	A
G	A	G	A	T	G	G	A	C	A
G	A	G	A	T	G	G	A	C	A
G	A	G	A	T	G	G	A	C	A
G	A	G	A	T	G	G	A	C	A
A	A	G	A	G	G	G	A	C	A
G	A	G	A	T	G	G	A	C	A
G	A	G	A	T	G	G	A	C	A
A	A	G	A	G	G	G	A	C	A
G	A	G	A	T	G	G	A	C	A
G	A	A	A	T	G	G	A	C	G
G	A	A	A	T	G	G	A	C	G
G	A	A	A	T	G	G	A	C	G
G	A	A	A	T	G	G	A	C	G
G	A	A	A	T	G	G	A	C	G
G	A	A	A	T	G	G	A	C	G
G	A	A	A	T	G	G	A	C	G
G	A	A	A	T	G	G	A	C	G
A	A	G	A	G	G	G	A	C	A
G	A	G	A	T	G	G	A	C	A
A	A	A	B	T	G	G	A	C	G
A	A	A	B	T	G	G	A	C	G
G	A	G	A	T	G	G	A	C	A
A	A	A	B	T	G	G	A	C	G
A	A	G	B	T	G	G	A	C	A
A	A	G	B	T	G	G	A	C	A
G	B	G	A	T	A	G	A	A	A
G	B	G	A	T	A	G	A	C	A
A	A	G	A	T	A	A	G	A	A
A	A	G	A	T	A	A	G	A	A
A	A	G	A	T	A	A	G	A	A
A	A	G	A	T	A	A	G	A	A
A	A	G	A	T	A	A	G	A	A
A	A	G	A	T	A	A	G	A	A
A	A	G	B	T	A	A	G	A	A
G	B	G	B	T	G	G	A	A	A
0.464	0.095	0.375	0.278	0.153	0.299	0.255	0.339	0.406	0.375

587	588	589	590	591	592	593	594	595	596
aa11006712	ab11001573	aa11007380	aa11007953	aa11008015	aa11009173	RM7654	aa11010663	aa12000015	aa12000060
11	11	11	11	11	11	11	11	12	12
24455971	24948752	26199319	26408954	27116589	27603402	27666335	28006122	2092217	2443806
543933	492781	1250567	209635	707635	486813	62933	339787	2092217	351589
C	C	T	T	T	G	A	G	C	C
C	C	T	T	T	G	A	G	C	C
T	C	T	T	T	G	A	G	C	C
C	C	T	T	T	G	A	G	C	C
C	C	T	T	T	G	A	G	C	C
C	C	T	T	T	G	A	T	C	C
C	C	C	C	C	G	B	T	C	C
C	C	T	T	T	G	A	G	C	C
C	C	T	T	T	G	E	G	T	G
C	C	T	T	T	G	A	G	C	C
C	T	C	C	C	G	B	T	C	C
C	T	C	C	C	G	B	T	C	C
C	C	T	T	T	G	A	G	C	C
C	C	T	T	T	G	A	G	C	C
C	C	T	T	T	G	A	G	C	C
C	T	C	C	C	G	B	T	C	C
C	T	C	C	C	G	B	T	C	C
C	C	C	C	C	G	B	T	C	G
C	C	T	T	T	G	A	G	C	C
C	C	T	T	T	G	A	G	C	C
C	C	T	T	T	G	A	G	C	C
C	C	T	T	T	G	A	G	C	C
C	C	T	T	T	G	A	G	C	C
C	C	C	T	C	G	C	G	C	C
T	C	C	C	T	G	C	G	C	C
C	T	T	C	C	G	C	G	C	C
C	C	C	T	T	G	C	G	C	C
C	C	C	T	T	G	C	G	C	C
C	T	T	T	C	G	C	G	C	C
C	C	T	T	T	G	C	G	C	C
C	C	T	T	T	G	C	G	C	C
C	C	T	T	T	G	A	G	C	C
C	C	T	T	T	G	A	G	C	C
C	C	T	T	T	G	A	G	C	C
T	C	T	T	C	G	D	G	T	C
C	C	T	T	C	G	D	G	C	C
C	C	T	T	T	G	A	G	C	C
C	C	T	T	T	G	A	G	C	G
C	C	T	T	T	G	A	G	C	G
C	T	C	C	C	G	C	G	C	C
C	C	T	C	C	G	A	G	C	C
C	C	T	T	T	G	A	G	T	C
C	C	T	T	T	G	A	G	C	C
C	C	T	T	T	G	A	G	C	C
C	T	C	C	T	G	A	G	C	C
C	T	C	C	C	G	C	G	C	C
T	C	C	C	T	G	C	G	C	C
C	C	C	C	T	A	B	T	C	C
T	C	C	C	T	G	C	G	T	C
T	C	C	C	T	G	C	G	C	C
T	C	C	C	T	G	C	G	C	C
T	C	C	C	T	G	C	G	C	C
T	C	C	C	T	G	A	G	T	G
T	C	C	C	T	G	C	G	C	C
T	C	C	C	T	G	C	G	C	C
T	C	T	T	T	G	A	G	C	C
0.375	0.299	0.473	0.448	0.375	0.033	0.618	0.231	0.153	0.206

607	608	609	610	611	612	613	614	615	616
ac12000342	ab12000502	aa12004460	ab12000519	aa12004471	ac12000357	ac12000367	aa12004494	aa12004528	aa12004589
12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
11304697	11928121	12185846	12559952	12937191	13121701	13985685	14328206	14881061	15334038
1027139	623424	257725	374106	377239	184510	863984	342521	552855	452977
G	A	C	C	T	G	T	G	G	C
G	A	C	C	T	G	T	G	G	C
G	A	C	C	T	G	T	G	G	C
G	A	C	C	T	G	T	G	G	C
G	G	C	A	A	T	T	G	G	G
G	G	C	A	A	T	T	G	G	G
G	A	C	C	T	G	T	G	G	C
G	A	C	C	T	G	T	G	G	C
G	G	C	A	T	T	T	-	G	G
G	G	C	A	T	G	T	G	G	C
G	A	C	C	T	G	T	G	G	C
-	A	C	C	T	G	T	G	G	C
G	A	C	C	T	G	T	G	G	C
G	A	C	C	T	G	T	G	G	C
-	G	C	A	T	G	T	G	G	C
G	A	C	A	T	G	T	G	G	C
G	A	C	A	T	G	T	G	G	C
-	G	C	A	T	G	T	G	G	C
G	A	C	A	T	G	T	G	G	C
G	A	C	C	T	G	T	G	G	C
G	A	C	C	T	G	T	G	G	C
-	A	C	C	T	G	T	G	G	C
G	A	C	C	T	G	T	G	G	C
G	A	C	C	T	G	T	G	G	C
C	G	C	A	T	G	G	G	G	G
C	G	C	A	T	G	G	G	G	G
C	G	C	A	T	G	G	G	G	G
-	G	C	A	T	G	G	G	G	G
C	G	C	A	T	G	-	G	G	G
G	G	C	A	T	T	T	G	T	G
G	G	C	A	T	T	T	G	T	G
G	G	C	A	T	T	T	G	T	G
C	G	C	A	T	G	-	G	G	G
C	G	C	A	T	G	G	G	G	G
-	G	T	A	T	T	T	T	T	C
G	G	T	A	T	T	T	G	G	G
G	G	T	A	T	T	T	G	G	G
G	G	C	A	T	T	T	G	G	G
C	G	C	A	T	G	G	G	G	G
C	G	C	A	T	G	G	G	G	G
C	G	C	A	T	G	G	G	G	G
C	G	C	A	T	G	G	G	G	G
-	G	C	A	T	G	T	G	T	G
G	G	C	A	T	T	T	G	G	G
G	G	C	A	T	T	T	G	G	G
G	G	C	A	T	T	T	G	G	G
G	G	C	A	T	T	T	G	G	G
C	G	C	A	T	G	G	G	G	G
G	G	T	A	T	T	T	T	T	G
C	G	C	A	T	G	G	G	G	G
G	G	T	A	T	T	T	T	T	G
G	G	T	A	T	T	T	T	T	G
0.417	0.406	0.206	0.406	0.064	0.444	0.348	0.097	0.278	0.444

[illegible]

引用文献

- Andaya, V.C. and D.J., Mackill (2003) QTLs conferring cold tolerance at the booting stage of rice using recombinant inbred lines from a *japonica* × *indica* cross. Theor Appl Genet 106:1084-1090
- Anderson, J.A., G.A. Churchill, J.E. Sutrique, S.D. Tanksley and M.E. Sorrells (1993) Optimizing parental selection for genetic linkage maps. Genome 36:181-186.
- 安東郁男、荒木均、清水博之、黒木慎、三浦清之、永野邦明、今野一男(2006) 極良食味低アミロース米水筒品種「おぼろづき」. 北海道農業研究センター研究報告 第 186 号
- Ando I., H. Sato, N. Aoki, Y. Suzuki, H. Hirabayashi, M. Kuroki, H. Shimizu, T. Ando, and Y. Takeuchi (2010) Genetic analysis of the low-amylose characteristics of rice cultivars Oborozuki and Hokkai-PL9. Breed Sci 60:187-194
- 荒木均、今野一男、永野邦明、三浦清之、高岩文雄(1996)培養変異から育成された水稻の低アミロース系統. 育種・作物学会北海道談話会報 37 : 32-33
- 浅賀宏一 (1981) イネ品種のいもち病に対する圃場抵抗性の検定方法に関する研究 農事試験場研究報告 35 : 51-138
- Bandillo, N., C. Raghavan, P.A. Muyco, M.A. Sevilla, I.T. Lobina, C.J. Dilla-Ermita, C.W. Tung, S. McCouch, M. Thomson, R. Mauleon, *et al.* (2013) Multiple-parent advanced generation inter-cross (MAGIC) populations in rice :progress and potential for genetics research and breeding. Rice(NY) 6:11
- Baruah, A.R., N. Ishigo-Oka, M. Adachi, Y. Oguma, Y. Tokizono, K. Onishi and Y. Sano (2009) Cold tolerance at the early growth stage in wild and cultivated rice. Euphytica 165: 459-470
- Basten, C.J., B.S. Weir and Z.B. Zeng (1998) QTL CARTOGRAPHER: a reference manual and tutorial for QTL mapping. Department of Statics, North Carolina State University, Raleigh, N.C.
- Botstein, D., R.L. White, M. Skolnick and R.W. Davis (1980) Construction of genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. Am J Hum Genet 32:314-331.

- Brachi, B., G.P. Morris and J. O. Borevitz (2011) Genome-wide association studies in plants: the missing heritability is in the field. *Genome Biol.* 12:232
- Bradbury, P. J., Z. Zhang, D. E. Kroon, T. M. Casstevens, Y. Ramdoss and E. S. Buckler (2007) TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse sample. *Bioinformatics* 23:2633-2635.
- Chakhonkaen S, K. Pitnjam, W. Saisuk, K. Ukoskit and A. Muangprom (2012) Genetic structure of Thai rice and rice accessions obtained from the International Rice Research Institute. *Rice* 5:19
- Courtois B, J. Frouin, R. Greco, G. Bruschi, G. Droc, C. Hamelin, M. Ruiz, G. Clément, J-C Evrard, S. Coppenole *et al.* (2012) Genetic diversity and population structure in a European collection of rice. *Crop Sci* 52:1663-1675
- Cruz, R.P., R.A. Sperotto, D. Cargenelutti, J.M. Adamski, T. FreltasTerra and J.P. Fett (2013) Avoiding damage and achieving cold tolerance in rice plants. *Food and Energy Security* 2:96-119
- Dai, L.Y., X. Lin, C.R. Ye, K. Ise, K. Saito, A. Kato, F.R. Xu, T. Yu and D. Zhang (2004) Identification of quantitative trait loci controlling cold tolerance at the reproductive stage in Yunnan landrace of rice, Kunmingxiaobaigu. *Breed Sci* 54:253-258
- Ezuka, A. (1972) Field resistance of rice varieties to rice blast disease. *Rev Plant Prot Res.* 5: 1–21
- Felsenstein J (2010) PHYLIP (Phylogeny Inference Package), version 3.69. Distributed by the author. Department of Genome Sciences, University of Washington, Seattle.
- Fujino, K., H. Sekiguchi, T. Sato, H. Kiuchi, Y. Nonoue, Y. Takeuchi, T. Ando, S.Y. Lin and M. Yano (2004) Mapping of quantitative trait loci controlling low-temperature germinability in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl Genet* 126:611-618
- Fujino, K., U. Yamanouchi and M. Yano (2013) Roles of the Hd5 gene controlling heading date for adaptation to the northern limits of rice cultivation.. *Theor Appl Genet* 108:794-799

- Fukuoka, S., N. Saka, H. Koga, K. Ono, T. Shimizu, K. Ebana, N. Hayashi, A. Takahashi, H. Hirochika, K. Okuno and M. Yano (2009) Loss of function proline-containing protein confers durable disease resistance in rice. *Science* 325:998-1001
- Fukuoka, S., S. Yamamoto, R. Mizobuchi, U. Yamanouchi, K. Ono, N. Kitazawa, N. Yasuda, Y. Fujita, T. T. Nguyen, S. Koizumi, *et al.* (2014) Multiple functional polymorphisms in a single disease resistance gene in rice enhance durable resistance to blast. *Sci Rep* 4:4550
- Fukuoka, S., N. Saka, Y. Mizukami, H. Koga, U. Yamanouchi, Y. Yoshida, N. Hayashi, K. Ebana, R. Mizobuchi and M. Yano (2015) Gene pyramiding enhances durable disease resistance in rice. *Sci Rep* 5:7773
- Garris A.J., T. H. Tai, J. Coburn, S. Kresovich and S. McCouch (2005) Genetic structure and diversity in *Oryza sativa* L. *Genetics* 169: 1631-1638
- Giarrocco, L.E., M.A. Marassi and G.L. Salerno (2007) Assessment of the genetic diversity in Argentine rice cultivars with SSR markers. *Crop Sci* 47:853-860
- Glaszmann J.C. (1987) Isozymes and classification of Asian rice varieties. *Theor Appl Genet* 74: 21-30
- Gramene database: <http://www.gramene.org/> (2015 年 4 月 10 日閲覧)
- Gurdev, S.K. (2001) Green revolution : the way forward. *Nature Reviews Genetics* 2: 815-822
- Gurdev, S.K. (2005) What it will take to Feed 5.0 Billion Rice consumers in 2030. *Plant Mol. Bio.* 59:1-6
- 萩原俊嗣(2000)農業技術体系 第4巻 野菜偏 一般社団法人 農山漁村文化協会
- Hayashi, N., H. Inoue, T. Kato, T. Funao, M. Shirota, T. Shimizu, H. Kanamori, H. Yamane, Y. Hayano-Saito, T. Matsumoto, *et al.* (2010) Durable panicle blast-resistance gene Pb1 encodes an atypical CC-NBS-LRR protein and was generated by acquiring a promoter through local genome duplication. *Plant J* 64:498-510

広田知良、古賀伸久、岩田幸良、井上聡、根本学、濱寄孝弘 (2011) 北海道における 2010 年の
気象と農作物への影響要因. 北海道農業研究センター研究資料 第 69 号

北海道米麦改良協会 (2011) 北海道の米作り 2011 年版

北海道農政部 (2014) 米に関する資料 平成 26 年 5 月版 3. 品種

北海道立農業試験場 (1960) 農作物優良品種の開発. 北海道立農業試験場資料第 3 号

北海道立中央農業試験場 (1988) 優良米早期開発プロジェクトチーム第 I 期(昭和 55~61 年度)の
試験研究成果. 北海道立農業試験場資料第 19 号

北農会 (1994) 北海道の稲作 第 3 章 第 2 節 '水稻の育種'

Hunag, X., N. Kurata, X. Wei, Z. Wang, A. Whong, Q. Zhao, Y. Zhao, K. Lin., H. Lu, W. Li, et.
al. (2012) A map of rice genome variation reveals the origin of cultivated rice. *Nature* 490:
497-501

IRGSP (2005) The map-based sequence of the rice genome. *Nature* 436:793-800

井澤敏彦、朱宮昭男、工藤悟、坂紀邦、加藤恭宏、杉浦直樹、藤井潔、遠山孝通、中嶋泰則、辻
孝子ら(2001)イネ縞葉枯病・穂いもち抵抗性を導入した水稻準同質遺伝子系統「あいちのか
おり SBL」. 愛知農総試研報 33 : 33-40

Jagadish, S.V.K., Muthurajan, R., Oane, R., Wheeler, T.R., Heuer, S., Bennet, J. and P. Q., Craufurd (2010)
Physiological and proteomic approaches to address heat tolerance during anthesis in rice (*Oryza sativa*
L.). *J Exp Bot* 61:143-156

Juliano, B. O (1993) in Rice in human nutrition. International Rice Research Institute and Food and
Agriculture Organization of the United Nations, Los Ban~os. 1-15

Kaga, A., T. Shimizu, S. Watanabe, Y. Tsubokura, Y. Katayose, K. Harada, D.A. Vaughan and N. Tomooka
(2012) Evaluation of soybean germplasm conserved in NIAS genebank and development of mini core

collection. Breed Sci 61:566-592

Kawaguchi, K., N. Shibuya and T. Ishii (1996) A novel tetrasaccharide, with a structure similar to the terminal sequence of an arabinogalactan-protein, accumulates in rice anthers in a stage-specific manner. Plant J 9:777-785

木下雅文、沼尾吉則、木内均、前川利彦、相川宗嚴、吉村徹、平山裕治、菊池治己、田中一生、丹野久ら(2006) 水稻新品種「大地の星」の育成. 北海道立農試集報 90:1-11

木下 雅文 (2013) 北海道における新旧水稻品種の食味官能評価と理化学特性. 北農第 80 : 10-19

Kosambi, D. D. (1944) The estimation of map distance from recombination values. Annuaire of Eugenetics 12: 172-175

木俣 栄 (2011)平成 22 年のいもち病多発要因と本年の対策について. 農家の友 4 : 40-41

Kuroki, M., K. Saito, S. Matsuba, N. Yokogami, H. Shimizu, I. Ando and Y. Sato (2007) A quantitative trait locus for cold tolerance at the booting stage on rice chromosome 8. Theor Appl Genet 115:593-600.

Lander, E.S., P. Green, J. Abrahamson, A. Barlow, M.J. Daly, S.E. Lincoln and L. Newburg (1987) MAPMAKER: an interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations. Genomics 1:174-181

Li, H.B., Wang, J., Liu, A.M., Zhang, Q. and J.S., Zou (1997) Genetic bases of low-temperature-sensitive sterility in indica-japonica hybrids of rice determined by RFLP analysis. Theor Appl Genet 95:1092-1097

Lu, H., M.A. Redus, J.R. Coburn, J.N. Rutger, S. McCouch and T.H. Thomas (2005) Population structure and breeding patterns of 145 U. S. rice cultivars based on SSR marker analysis. Crop Sci 45:66-76

McCouch, S.R., L. Teytelman, Y. Xu, K.B. Lobos, K. Clare, M. Walton, B. Fu, R. Maghirang, Z. Li, Y. Xing, *et al.* (2002) Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.).

DNA Res 9:199-207

McKersie B. (2015) Planning for food security in a changing climate. J Exp Bot *First published on line* : doi: 10.1093/jxb/eru547 (2015 年 4 月 10 日時点)

森田 敏(2008)イネの高温登熟障害の克服にむけて. 日作記 77: 1-12

村井 正之, 木下 俊朗, 石村 桜 (1983) 北海道の水稻新旧品種における草型ならびに収量性. 北海道大学農学部邦文紀要 14(1):64-75

Murray M.G. and W.F. Thompson (1980) Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. Nucleic Acid Res 8:4321-4326.

Muthayya S., J.D. Sugimoto, S. Montgomery and G.F. Maberly (2014) An overview of global rice production, supply, trade, and consumption. Ann N Y Acad Sci 1324:7-14

Mori, M., K. Onishi, Y. Tokizono, H. Shinada, T. Yoshimura, Y. Numao, H. Miura and T. Sato (2011) Detection of novel quantitative trait locus for cold tolerance at the booting stage derived from a *tropical japonica* rice variety Silewah. Breed Sci 61:61-68

Nagasaki H, K. Ebana, T. Shibaya, J. Yonemaru and M. Yano (2010) Core single-nucleotide polymorphisms-a tool for genetic analysis of the Japanese rice population. Breed Sci 60:648-655

National Human Genome Research Institute, A Catalog of Published Genome-Wide Association Studies : <https://www.genome.gov/26525384> (2015 年 4 月 10 日閲覧)

Nei, M. (1987) Molecular Evolutionary Genetics. Columbia University Press, New York, NY

日本穀物検定協会 <http://www.kokken.or.jp/inspect.html> (2015 年 4 月 10 日閲覧)

Niizeki, H. and K. Oono (1968) Induction of haploid rice plant from anther culture. Proc Japan Acad 554-557

農 林 水 産 省 / 長 期 累 年 統 計 情 報 <http://www.e-stat.go.jp/SG1/estat/List.do?bid=000001024932&cycode=0> (2015 年 4 月 10 日閲覧)

農林水産省農林水産技術会議 (2007) 地球温暖化が農林水産行に与える影響と対策. 農林水産研究開発レポート 23

Oh, C.S., Y.H. Choi, S.J. Lee, D.B. Yoon, H.P. Moon and S.N. Ahn (2004) Mapping quantitative trait loci for cold tolerance in weedy rice. *Breed Sci* 54:373-380

Ou, S. H. (1985) *Rice Diseases*, 2nd edn. (Commonwealth Agricultural Bureaux, 1985)

Pitchard, J.K., M. Stephens and P. Donnelly (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945-959

Saito, K., Miura, K., Nagano, K., Hayano-Saito, Y., Saito, A., Araki, H. and K., Kato (1995) Chromosomal location of quantitative trait loci for cool tolerance at the booting stage in rice variety 'Norin-PL8'. *Breed Sci* 45:337-340

坂 紀邦, 寺島 竹彦, 工藤 悟, 加藤 恭宏, 杉浦 和彦, 遠藤 征馬, 城田 雅毅, 井上 正勝, 大竹 敏也 (2007) いもち病高度圃場抵抗性を有する水稻新品種「みねはるか」の育成. 愛知農総試研報 39:95-109

坂 紀邦, 福岡 修一, 工藤 悟, 城田 雅毅, 安東 郁男, 杉浦 和彦, 佐藤 宏之, 前田 英郎, 遠藤 征馬, 加藤 博美ら (2010) いもち病高度圃場抵抗性と極良食味特性を併せ持つ水稻新品種「中部 125 号」の育成. 愛知農総試研報 42:171-183

酒井 寛一(1949)冷害におけるイネ不稔性の細胞組織学的並に育種学的研究特に低温によるタペート肥大に関する実験的研究.北農試研報 43:1-46

Sato, H., Y. Takeuchi, H. Hirabayashi, H. Nemoto, M. Hirayama, H. Kato, T. Imbe and I. Ando (2006) Mapping QTLs for field resistance to rice blast in Japanese upland rice variety Norin 12. *Breed Sci.* 56:415-418

佐々木 多喜雄(1968) 水稻品種の低温発芽性と初期生育との関係. 北海道立農業試験場集報 17: 34-45

Satake, T. and H. Hayase (1970) Male sterility caused by cooling treatment at the young microspore stage in rice plant. V. Estimation of pollen development stage and the most sensitive stage to coolness. Proc Crop Soc Jpn 39:468-473

Satake, T. and S. Koike (1983) Sterility caused by cooling treatment at the flowering stage in rice plants. Japan J Crop Sci 52:207-214

Shinada, H., T. Yamamoto, E. Yamamoto, K. Hori, Y. Hirayama T. Maekawa H. Kiuchi H. Sato and T. Sato (2015) Quantitative trait loci for whiteness of cooked rice detected in improved rice cultivars in Hokkaido. Breed Sci in press.

Shirasawa, S., T. Endo, K. Nakagomi, M. Yamaguchi and T. Nishio (2012) Delimitation of a QTL region controlling cold tolerance at booting stage of a cultivar, 'Lijiangxintuanheigu', in rice, *Oryza sativa* L. Theor Appl Genet 124:937-46

Storey, J.D. and R. Tibshiran (2003) Statistical significance for genomewide studies. Proc Natl Acad Sci USA 100:9440-9445.

Suh, J.P., J.U. Jeung, J.L. Lee, Y.H. Choi, J.D. Yea, P.S. Virk, D.J. Mackill and K.K. Jena (2010) Identification and analysis of QTLs controlling cold tolerance at the reproductive stage and validation of effective QTLs in cold-tolerance genotypes of rice (*Oryza sativa* L.) Theor Appl Genet 120:985-995

高橋 渉 2007.高温による白未熟粒の発生と登熟期間の葉色の影響.高温登熟に強いイネ.日本作物学会北陸支部・北陸育種談話会編.養賢堂.東京.p47-58.

Takeuchi, Y., H. Hayasaka, B. Chiba, I. Tanaka, T. Shimono, M. Yamagishi, K. Nagano, T. Sasaki and M. Yano (2001) Mapping quantitative trait loci controlling cool-temperature tolerance at booting stage in temperate *Japonica* rice. Breed Sci 51:191-197

丹野久, 木内 均, 平山 裕治, 菊地 治己 (2000) 人工気象室を用いた水稻開花期耐冷性の簡易
検定法の開発. 日作紀 69:43-48

丹野 久 (2004) 水稻における開花期耐冷性の簡易検定法の確立と遺伝資源の評価 北海道立
農業試験場報告第 104 号

丹野 久 (2012) 水稻における影響予測. 地球温暖化が道内主要作物に及ぼす影響とその対応方
向(2013 年代の予測). 北農 79 : 72-81

八重樫 博志(1994) 抵抗性品種利用と水稻病害の防除. 農及園 69:150-154

Xu, L.M., L. Zhou, W. Zeng, F.M. Wang, H.L. Zhang, S.Q. Shen and Z.C. Li (2008) Identification and
mapping of quantitative trait loci for cold tolerance at the booting stage in a japonica rice near-isogenic
line. Plant Sci 174:340-347

Yamamoto T., J Yonemaru and M Yano (2009) Towards the understanding of complex traits in rice:
Substantially or superficially? DNA Research 16:141-154

Yamamoto T, Nagasaki H, Yonemaru J, Ebana K, Nakajima M, Shibaya T, Yano M (2010) Fine definition
of the pedigree haplotypes of closely related rice cultivars by means of genome-wide discovery of
single-nucleotide polymorphisms. BMC Genomics 11:267

Yamazaki, M. and O. Ideta (2013) Population structure in Japanese rice population. Breed Sci 63:49-57

Yonemaru J, Yamamoto T, Ebana K, Yamamoto E, Nagasaki H, Shibaya T, Yano M (2012) Genome-wide
haplotype changed produced by artificial selection during modern rice breeding in Japan. Pros One 7-
3:e32982.

結城 和博, 佐藤 久実, 中場 勝他, 櫻田 博, 佐野 智義, 本間 猛俊, 渡部 幸一郎, 水
戸部 昌樹, 宮野 斉ら(2010) 水稻新品種「つや姫」(山形 97 号)の育成. 山形県農業研究報
告 2 : 19-40

Wang, S., Basten C.J. and Zeng Z.B. (2007) Windows QTL cartographer 2.5 Department of Statistics, North

Carolina State University, Raleigh, NC, 2007

Zenbayashi-Sawata K., S. Fukuoka, S. Katagiri, M. Fujisawa, T. Matsumoto, T. Ashizawa and S. Koizumi (2007) Genetic and physical mapping of the partial resistance gene, Pi34, to blast in rice. *Phytopathology* 97:598-602.

Zeng, Z.B. (1993) Theoretical basis of separation of multiple linked gene effects on mapping quantitative trait loci. *Proc Natl Acad Sci USA* 90: 10972-10976.

Zhou, L., Zeng, Y., Zheng, W., Tang, B., Yang, S., Zhang, H., Li, J. and Z., Li (2010) Fine mapping a QTL *qCTB7* for cold tolerance at the booting stage on rice chromosome 7 using near-isogenic line. *Theor Appl Genet* 121:895-905

謝 辞

本論文をまとめるにあたり、終始暖かい激励とご指導、ご鞭撻をいただきました北海道大学大学院農学研究科応用生命科学専攻准教授 久保友彦博士ならびに北海道立総合研究機構十勝農業試験場場長 柳沢朗氏に心より感謝申し上げます。また、学位論文審査において、貴重なご指導とご助言をいただきました同教授 貴島祐治博士ならびに同教授 阿部純博士に心よりお礼申し上げます。

本研究において、独立行政法人北海道農業研究センター藤野賢治博士には、実験計画の立案からデータのまとめまで、細部にわたり、数多くの温かいご指導とご助言を賜りました。また、独立行政法人農業生物資源研究所での長期研修時に、同研究所山本敏央博士、米丸惇一博士、堀清純博士、山本英司博士より実験手法ならびに遺伝解析の基礎に関して数多くのご指導とご助言を賜りました。心より感謝申し上げます。

本研究の実験実施において、ホクレン農業総合研究所 岩田夏子氏、北海道農業研究センター 松葉修二氏、北海道立総合研究機構中央農業試験場 佐藤博一氏の熱心なご協力をいただきました。また、本研究の環境を整備し、数多くのご助言と激励をいただきました北海道立総合研究機構上川農業試験場 佐藤毅博士、前川利彦氏、平山裕治氏、木内均氏、北海道立総合研究機構中央農業試験場 木下雅文氏ほか、北海道立総合研究機構上川農業試験場および十勝農業試験場の皆さまに心より感謝申し上げます。

上川農業試験場水稻グループならびに農業生物資源研究所イネゲノム育種研究ユニットの契約職員の皆さまのご協力なくしては、本研究の実施は不可能であったことを記すとともに厚くお礼申し上げます。