

第3章 遺伝資源として CSSL を用いた QTL の応用可能性

近年の遺伝解析の進展により、様々な有用形質遺伝子座が明らかになってきた。特に、商業利益に直接繋がる、玄米の外観形質などの品質(李等, 2003, Li et al., 2004a, b)や、米飯の物理性などに関する QTL 解析(Bao et al., 2000, 2003)は、これまで数多く行われてきた。

コシヒカリ/Kasalath 交配由来 CSSL は、わが国において作付面積 30%以上を占める代表的良食味品種で商業上価値のあるコシヒカリの遺伝的背景に Kasalath の染色体断片が置換されており、QTL の特定後、有用 QTL を保持するエリートコシヒカリ NIL の育成が容易である(安東, 2005; Ebitani et al., 2005)。コシヒカリの遺伝的背景に対する、染色体断片置換の影響を様々な角度から評価することは重要であり、例えば近年、良食味系統選抜において、自動食味計を利用した簡便且つ迅速な測定の有効性が報告されている(蛸谷, 1997)。本章第1節では、コシヒカリ/Kasalath 交配由来 39CSSL について、食味計を用いて染色体断片置換の食味関連形質への影響を調査した。

また、近年、生物資源の高度利用に関して様々な検討が行われ(Yates, 2006)、イネにおけるバイオマスの利用についても注目されている。わが国においても、温室効果ガス低減のために輸送用燃料へのバイオマスエネルギーの利用、農業生産現場における未利用バイオマスの利用促進などを骨子とするバイオマス・ニッポン総合戦略が策定された(農林水産省, 2006)。イネのバイオマスに関する形質は、莖重(栄養成長部分の量)と子実収量(経済収量)とで構成され、それらの形質を増加させる方向での遺伝的改良には大きな意義があると考えられるが、バイオマスに関連する形質は種々の QTL の複雑な交互作用や環境による影響を受けるため、遺伝的機構を正確に理解することは容易ではなく、これまでイネのバイオマスに関して、バイオマスを2つの構成要素に分けて評価した QTL 解析の例はほとんどない(Liu et al., 2006)。Liu et al. (2006)は、IR64/Azusena 交配由来倍加半数体を用いて、同年次2作期においてバイオマス関連形質 QTL 解析を行い、環境交互作用の影響を同時に見積もったところ、QTL の相加効

果を 22 検出したのに加えて、相加効果 × 環境交互作用を 10、エピスタシス効果を 15 およびエピスタシス × 環境交互作用を 7 検出し、複雑な遺伝効果および環境交互作用の存在を明らかにした。

コシヒカリの遺伝的背景に Kasalath の染色体断片がほぼ 1 染色体上の 1 部分にのみ移入された染色体断片置換系統群(CSSL)は、遺伝子間の交互作用が少なく、全く同じ遺伝子型を複数年供試できるため、年次間変動を考慮した形質の評価が容易にできる。第 2 節では、イネのバイオマスに関する形質について、複数年の結果を考慮した QTL 解析を行い、イネのバイオマス増加に資する知見を得ようとした。

第1節 食味形質に関する QTL の応用可能性

本節では、コシヒカリ/Kasalath 交配由来 39CSSL を供試して、コシヒカリの遺伝的背景に及ぼす Kasalath 染色体断片置換による食味関連形質への影響および食味関連 QTL 領域について検討した。

材料および方法

2004 年に CSSL39 系統、両親品種および日本晴を供試し、東京大学大学院農学生命科学研究科 付属多摩農場水田において栽培を行った。基肥として複合燐加安($\text{N:P}_2\text{O}_5\text{:K}_2\text{O}=12:16:18$)を $50\text{kg}/10\text{a}$ 施肥した。収穫後約 2 ヶ月間室内で乾燥し、脱芒脱穀機(OMM, 大屋丹蔵製作所, 清洲), 粳摺機(HMF, 木屋製作所, 東京), 精米機(VP-31T, 山本製作所, 天童)を用いて白米(白度約 90% に調整)にした。近赤外透過方式による米粒食味計(RCTA11 Ver.D1.88, サタケ, 東京)を用いて白米モードで 1 回につき 200~300g 投入し、食関連形質を測定した($n=10$)。本研究におけるアミロース含量等は参考値である。また、食味計値には 0 点がないこと、食味計値スコアは連続数ではないこと、食味計値について母集団が正規分布を示さなかったことから、各形質について、Kasalath 染色体断片が同じ染色体内に存在する数系統およびコシヒカリ間でノンパラメトリック Kruskal-Wallis 検定および多重比較検定を行った。その結果得られた、コシヒカリと比較して有意な食味形質の差を示した CSSL における、Kasalath 染色体断片の重なりから判断して、影響する染色体領域の位置を特定した。

結果

第1～3, 第6, 第9～12 染色体において, 食味値の低下, アミロース含有率およびタンパク質含有率の増加を同時に示す, 食味低下関連染色体領域を広範に9箇所特定した(Fig. 3-1). 解析の具体例として, 第6 染色体の結果について詳述すると, 第6 染色体前部にある G200 近傍を含む領域を Kasalath 染色体に置換した3 系統 SL-215～SL-217 では, コシヒカリと比較して有意な食味値の低下およびアミロース含有率の増加を示したが, 一方 G200 以前を含まない領域を Kasalath 染色体に置換した SL-218 においては有意差が認められなかった. これらにより, 第6 染色体 G200 近傍における食味低下関連遺伝子座が特定された(Fig. 3-1, Fig. 3-2).

食味形質の向上に資する染色体領域については, 第8 染色体において 0.1%水準で有意に食味値の増加, アミロース含有率およびタンパク質含有率の低下を同時にもたらす良食味染色体領域が特定された. また, Kasalath 染色体置換領域の重なりからは染色体位置をより狭めるには至らなかったものの, コシヒカリと比較して有意に良食味傾向を示した系統が, 第4, 第5および第7 染色体の一部を Kasalath 染色体に置換したものの中に認められた. 第5 染色体の末端を Kasalath ホモ型に置換した SL-214 ではタンパク質含有率がコシヒカリと比較して有意に増加していたが, それ以外の第4, 第5および第7 染色体に関する系統においては, 有意な, 食味値の低下, アミロース含有率およびタンパク質含有率の増加は認められなかった.

CSSLs	Chromosome number and graphical genotypes												Eating quality value	Amylose concentration	Protein concentration
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12			
SL-201													65.3 ***	20.0 ***	7.3 ***
SL-202													69.4 ***	19.6 **	7.1 ***
SL-203													70.9 ns	19.5 ns	6.8 ns
SL-204													69.3 ***	19.7 ***	7.0 ***
SL-205													75.7 ns	19.1 ns	6.2 ns
SL-206													73.1 **	19.3 **	6.7 ***
SL-207													74.6 ns	19.2 ns	6.4 *
SL-208													69.6 ***	19.7 ***	6.6 ***
SL-209													80.8 ns	18.6 ns	5.5 ns
SL-210													84.2 ***	18.3 ***	4.7 ***
SL-211													74.5 ns	19.2 ns	6.2 ns
SL-212													78.5 **	18.8 **	5.6 ns
SL-213													77.1 ns	19.0 ns	6.0 ns
SL-214													73.8 ns	19.3 ns	6.2 **
SL-215													54.1 **	21.6 ***	8.4 ***
SL-216													63.9 *	20.2 *	7.1 *
SL-217													56.3 ***	21.1 ***	8.1 ***
SL-218													68.4 ns	19.8 ns	6.9 ns
SL-219													70.6 ns	19.5 ns	6.8 ns
SL-220													77.2 ns	18.9 ns	5.9 ns
SL-221													80.2 *	18.6 *	5.8 *
SL-222													81.9 ***	18.5 ***	4.9 ***
SL-223													78.0 ***	18.9 ***	5.7 **
SL-224													76.9 ns	19.0 ns	5.9 ns
SL-225													77.0 ns	19.0 ns	5.5 ***
SL-226													72.1 ***	19.4 ***	6.2 ***
SL-227													72.4 ***	19.4 ***	6.3 ***
SL-228													74.0 ns	19.2 ns	6.0 ns
SL-229													74.8 ns	19.2 ns	6.0 ns
SL-230													72.1 ***	19.4 ***	6.3 **
SL-231													78.9 ns	18.8 ns	5.5 ns
SL-232													74.6 ns	19.2 ns	6.0 ns
SL-233													74.5 ns	19.2 ns	6.0 ns
SL-234													72.9 ***	19.4 ***	6.1 **
SL-235													73.2 ***	19.3 ***	6.2 ***
SL-236													72.4 **	19.4 **	6.3 *
SL-237													71.3 ***	19.5 ***	6.4 ***
SL-238													71.2 ***	19.5 ***	6.3 *
SL-239													73.8 ns	19.3 ns	5.9 ns
-20cM															
Koshihikari													76.1	19.1	5.9
Kasalath													56.8	21.0	8.5
Nipponbare													67.9	19.8	6.8

Fig. 3-1. Graphical genotypes and phenotypic variation of eating quality value, amylose concentration and protein concentration in 39 Koshihikari / Kasalath CSSLs. Twelve chromosomes are layout horizontally and each CSSLs are distributed vertically. White, gray and crossed region indicate Koshihikari homozygous, Kasalath homozygous and heterozygous in the graphical genotypes, respectively. Black regions indicate putative QTL regions for eating quality.

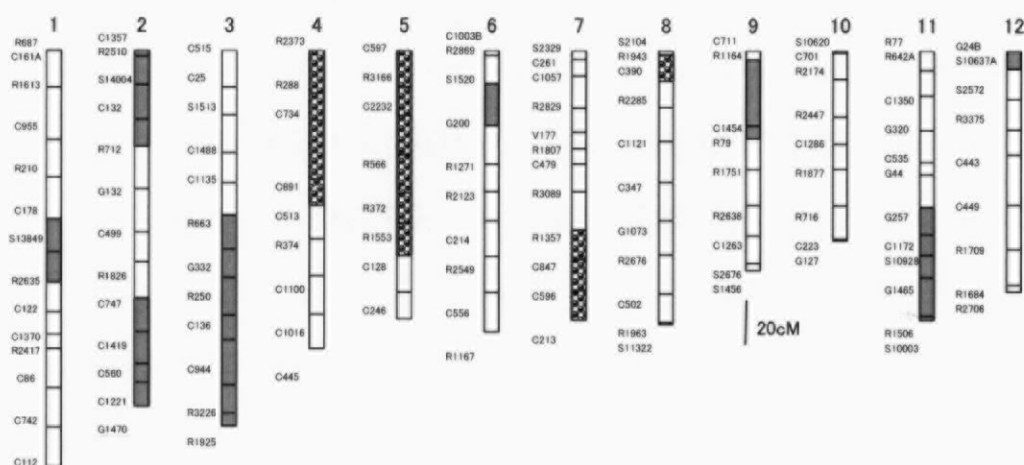


Fig. 3-2. Mapping QTLs for eating quality value. Gray region and dotted region indicate Kasalath allele affected decreasing and increasing eating quality value on QTL, respectively.

第 2 節 バイオマス関連形質に関する QTL の応用可能性

本節では、コシヒカリ/Kasalath 交配由来 39CSSL を供試して、3 年間反復試験を行い、イネのバイオマスを穂重、藁重に分けて調査し、QTL 領域を特定した。

材料および方法

2002～04 年に 39CSSL および両親品種を供試し、東京大学大学院農学生命科学研究科附属多摩農場水田において、 $30 \times 30\text{cm}$ 、1 株 1 本植えて移植栽培を行った。基肥として複合磷加安 ($\text{N:P}_2\text{O}_5:\text{K}_2\text{O} = 12:16:18$) を $50\text{kg}/10\text{a}$ 施肥した。各系統の収穫期に地上部を採集し、 80°C で 3 日間乾燥後に分解し、穂重および藁重を秤量し、バイオマス(=穂重+藁重)を算出した($n=5$)。同染色体上に Kasalath の染色体断片が移入された CSSL およびコシヒカリとの間で、遺伝子型および年次を 1 次主効果とし、遺伝子型 \times 年次交互作用を考慮した二元配置分散分析—多重比較検定(コシヒカリを対照とした Dunnett 検定)を用いて、穂重、藁重およびバイオマスについて QTL 解析を行った。

結果

第 2 染色体上に Kasalath 染色体断片が移入された SL-204, SL-205, SL-206 およびコシヒカリについて、穂重、莖重およびバイオマスのいずれにも有意な遺伝子型 × 年次交互作用は認められなかった (Fig. 3-3). Dunnett検定の結果、第 2 染色体の短腕側に Kasalath 染色体断片が移入された SL-204 では、穂重、莖重およびバイオマスのいずれにおいてもコシヒカリと比較して有意な差異は認められなかった。一方、第 2 染色体の長腕側に Kasalath 染色体断片が移入された SL-206 では、コシヒカリと比較して、穂重は 5%水準で、莖重は 0.1%水準で、バイオマスは 1%水準でそれぞれ有意な増加を示していた。SL-204 および SL-206 との間で重複する領域に Kasalath 染色体断片を持つ SL-205 では、穂重のみがコシヒカリと比較して 5%水準で有意な増加を示した。以上の結果から、穂重を増加させる QTL が第 2 染色体 C499～C747 間において、莖重およびバイオマスを増加させる QTL が第 2 染色体 C747～C1470 間においてそれぞれ特定された。

同様の推定法により、第 8 染色体 R1943～C390 間にもバイオマスを増加させる QTL が特定された (Fig. 3-4). バイオマスを増加させる QTL 領域を保持していた SL-223 は、3 年間を通して穂重および莖重についても有意差はなかったがコシヒカリより常に高い傾向を示した (Fig. 3-5). なお、穂重については有意な遺伝子型 × 年次交互作用は認められなかったが、莖重については有意な量的交互作用が認められた。

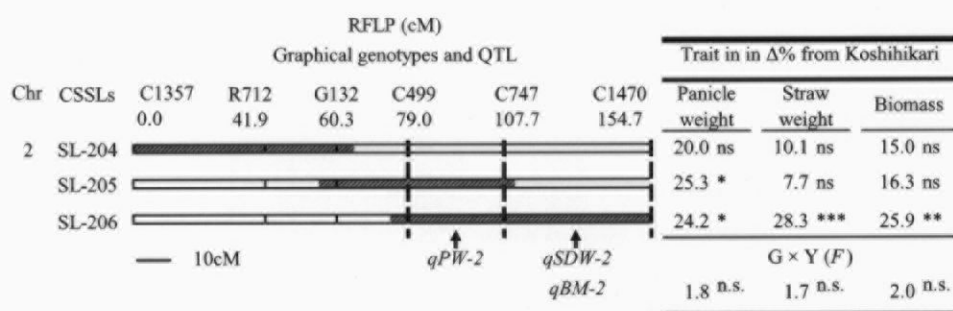


Fig. 3-3. The putative QTL for panicle weight, straw weight and biomass and graphical genotype and phenotypic variation (trait in Δ% from Koshihikari) of each CSSL in each year. See the details in Fig. 1-7. $G \times Y (F)$ indicate genotype \times year interactions.

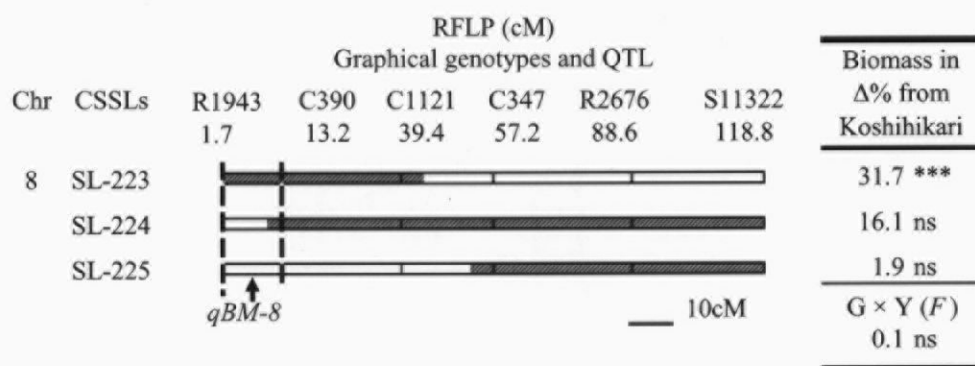


Fig. 3-4. The putative QTL for panicle weight, straw weight and biomass and graphical genotype and phenotypic variation of each CSSL in each year. See the details in Fig. 3-3.

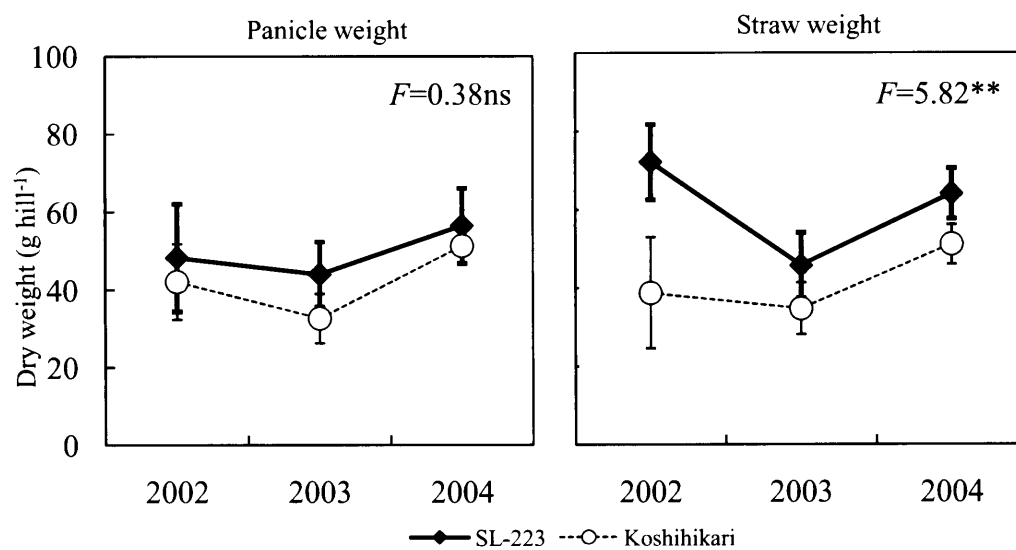


Fig. 3-5. Changes in panicle weight and straw weight of SL-223 and Koshihikari in 3 years.

考察

本研究では、自動食味計を用い、CSSL およびコシヒカリとの間のノンパラメトリック多重比較検定によって、簡便に QTL 領域を 13 箇所特定した。そのうち、第 1, 第 2, 第 3, 第 6, 第 9, 第 10, 第 11 および第 12 染色体上の 9 の QTL において、Kasalath 染色体断片移入の影響による対立遺伝子効果は、コシヒカリと比較した食味計値の減少をもたらす方向性を示していた。一方、第 4, 第 5, 第 7 および第 8 染色体上の QTL においては、Kasalath 対立遺伝子効果は、食味計値の向上をもたらす方向性を示していた。特に食味に大きく影響することが知られている、第 6 染色体上のマーカー G200 近傍の QTL については、これまでのところ、日本晴/Kasalath//日本晴交配由来 BIL を用いたゲルコンシステンシーに関する QTL (Li et al., 2003b) や、窄葉青 8 号/京系 17 号交配由来 RIL を用いた種々のデンプン特性に関する QTL (Bao et al., 2003) について報告されている。本研究においても、第 6 染色体 S1520~G200 間の染色体領域について、Kasalath の対立遺伝子による食味計値低下効果を伴う QTL として特定された (Fig. 3-1, 3-2)。第 1 染色体 C178~R2635 において特定された食味関連 QTL は、コシヒカリ/Kasalath 交配由来 CSSL を用いて Takeuchi et al. (2007) によって検出された食味関連 QTL と重複していた。第 2 染色体上の QTL については、R712 近傍においては、ゲルコンシステンシーに関する既報の QTL と一致していた。 (Li et al., 2003b)。第 3 染色体上においては、Kasalath 置換染色体を保持する CSSL が SL-207 および SL-208 の 2 系統しかなかったため、QTL は広範な領域に推定されたが、これまでこの領域にはアルカリ崩壊性 (Li et al., 2003b) や、アミロース含量 (Takeuchi et al., 2007) といった重要な食味関連 QTL が報告されていた。一方、第 4, 第 7 および第 8 染色体において、Kasalath の対立遺伝子効果により食味計値の向上を伴う QTL 領域が特定され、また、第 11 および第 12 染色体において食味関連形質に関する QTL の存在が示唆されたが、これらについては CSSL の一般的に高いとされる検出力ないしこれまでのマッピング集団とは異なる遺伝構成が既報において検出されなかった新たな QTL の特定を可能にしたと考えられた。第 5 染色体において特定された QTL については、Li et al., (2003b) が C128 近

傍において 2 年間に亘って検出したアミロース含量に関する QTL と重複しており, さらに QTL 上の Kasalath 対立遺伝子効果がアミロース含量を低下させることとも一致していた.

これらのことは, 日本型イネ品種の遺伝的背景にインド型品種染色体断片を移入した際のインド型対立遺伝子効果の影響の普遍性を示唆するものであり, 他の生理的形質を含む有用 QTL を導入したコシヒカリエリート NIL を育成する際に食味に及ぼす影響を予め示唆する, 有用な情報となり得ると考えられた.

バイオマスに関する形質は複雑な交互作用を伴うため, まず, イネのバイオマスを穂重および藁重に分けて考えることが肝要である(Liu et al., 2006). また, 本研究では 3 年間の圃場実験における結果を含み, 且つ有意な年次×遺伝子型交互作用を伴わない結果に基づいた QTL 領域を特定した. 第 2 染色体上 C499~C747 間(21.0~27.1Mbps)に特定された穂重に関する QTL 領域は, これまでの日本晴/Kasalath 交配由来 BIL を用いた Obara et al. (2001)および Yamaya et al.(2002)の報告による穂重に関する QTL(18.2~24.0Mbps)と重複していた. また, この領域には日本晴/Kasalath 交配由来 BIL を用いて, 穂数に関する QTL(18.2~27.1Mbps)(Obara et al., 2001; Yamaya et al., 2002)や, 面積当たり茎数に関する QTL(20.4~24.0 Mbps) (Ishimaru et al., 2001a)が報告されている. これらのことから, この QTL 領域における Kasalath 対立遺伝子効果は多環境で安定的に, 世代・交配を変えても株あたりの穂重を増加させ得る可能性が示唆された. 藁重および総バイオマスに関する QTL を検出した, 第 2 染色体 C747~C1470(27.1~35.4Mbp)間においては, 31.5~34.7Mbps の領域において珍汕 97/明恢 63 交配由来 RIL を用いて, 苗の段階の地上部乾物重および全乾物重に関する QTL が報告されている(Xu et al., 2004). また, 総バイオマスに関する QTL を特定した第 8 染色体 R1943~C390(0.4~1.8Mbp)間においては, Yamamoto et al.(2001)がコシヒカリ/Kasalath 交配由来 BIL を用いて 0.4~0.5Mbps の位置に節間伸長に関する QTL を, Obara et al.(2001)および Yamaya et al.(2002)が日本晴/Kasalath 交配由来 BIL を用いて, 葉の老化に関する QTL(0.42~22.3Mbps)を特定しており, 何らかの生理的影響が示唆された. 第 8 染色体上の総バイオマスに関する QTL 領域に Kasalath 染色体断片をもつ SL-223 では,

穂重は3年間ともコシヒカリと比較して微増するに留まっていたが、藁重は3年のうち1か年では大きく増加しており、量的交互作用が認められた。興味深いことに、バイオマスに関する QTL が特定された2つの領域と、IRAT109/越富交配由来倍加半数体において検出された稈の太さに関する QTL (第2染色体 27.1~28.4Mbps, 第8染色体 0.7Mbps) とが共に重複していた(穆等, 2004)。これらの領域において、インド型の対立遺伝子が一般的にバイオマスの増加に向けて作用する可能性が示された。

以上のように、本研究のような CSSL およびコシヒカリを用いて単純な比較によって QTL を特定しても、一般的な QTL 解析の結果得られた結果とよく一致することが示された。QTL 上の Kasalath 対立遺伝子の効果に起因する、食味への悪影響および食味やバイオマスの向上に関する報告はある程度普遍性があり、実際の育種計画に極めて有用な情報であると結論付けられた。

総合考察

本研究では、染色体断片置換系統群(CSSL)を用いて作物生理学および生態学的形質について量的形質遺伝子座(QTL)解析を行った。CSSLは、従来の分離集団を使ったQTL解析と比較して、高い検出力と遺伝的交互作用の低減化を特徴としている。また、簡明な統計モデルを使って解析を行うことができる。以下、本研究におけるQTL解析から得られた結果について考察し、今後の展望について述べる。

まず、CSSLを用いたQTL解析について考察する。本研究で供試したCSSLは単粒系統法によって育成された同世代の分離集団ではなく、種々の世代を包含している。39 コシヒカリ/Kasalath 交配由来CSSLは、コシヒカリ/Kasalath BC_1F_3 および BC_1F_4 を含み、 BC_1F_3 を基に更に戻し交配した SBC_2F_3 , SBC_2F_4 , SBC_3F_3 を含む(Ebitani et al., 2005)。また、ササニシキ/ハバタキ交配由来 39CSSLは、ササニシキ/ハバタキ BC_2F_5 を基に更に戻し交配した SBC_1F_5 および SF_5 から成る(Ando et al., 2008)。また、これらのCSSLにおいて置換された染色体断片はホモ型であるため、従来のQTL解析は行い得ず、CSSLと反復親との表現型の差異を検定することによってQTLの特定が可能である(Ebitani et al., 2005; Ando et al., 2008)。本研究では、形質毎にデータ型および交互作用を考慮してCSSLと反復親との差を検定してQTLを特定した。草丈および茎数の増加パターンについては、GDDを共変量とした一般線形モデルにおいて平行性検定および共分散分析によって交互作用を検定した(第1章 第1節)。草型形質、RuBisCO含量、NSC濃度および含量、バイオマス関連形質については、交互作用の有意性に従って二元配置ないし一元配置分散分析および、反復親を対照としたDunnett検定を統計手法として、QTLを特定した(第1章 第1節, 第2章, 第3章 第2節)。ノンパラメトリックデータである食味計値については、Kruskal-Wallis検定および多重比較検定を用いた(第3章 第1節)。これらの結果、CSSLを用いたQTL解析において、単純な検定によって新たなQTL特定への端緒となる情報が得られること(第1章 第1節, 第3章 第1節)、その後の戻し交配 F_2 後代において完全な再現性があること(第1章 第2節, 第2章)が

示された。また、形質により、第2染色体上の穂数に関する QTL *qPN-2*(第1章 第1節)、第10染色体上の RuBisCO 含量および NSC 濃度に関する QTL(第2章 第1節)など、CSSL の検出力の高さから新たな QTL の特定が可能であること、草丈(第1章 第1節)や食味関連形質(第3章 第1節)など既報との対応性が高いことが示された。また、本研究では、食味関連形質以外は、CSSL を3環境(3年あるいは3ヶ所)で栽培して、再現性の高い結果を基に QTL を特定している。これらのことから、CSSL は、特に、複数年の解析を行うことで研究材料としても育種素材としても利用価値が高いことが示された。

次に、CSSLに戻し交配した後代 F_2 集団を用いたQTL解析について述べる。Ebitani et al.(2005)の指摘のように、特定されるQTL領域の大きさが置換された供与親の染色体断片の大きさに依存し、比較的大まかになる点がCSSLの難点であるが(第1章 第1節)、この点はQTLを持つCSSLに戻し交配した後代 F_2 集団の育成とそれらを用いたQTL解析によって克服され、より狭い領域にQTLが特定された(第1章 第2節、第2章)。置換された染色体断片が1染色体の1箇所である場合(第1章 第2節、第2章 第1節)、また、断片上のマーカー情報が充実している場合は、これらにおけるマーカー解析の労力も比較的少なかった。また、本研究において、例えば第2章 第1節では、RuBisCO含量およびNSC濃度といった作物生理学的に重要な表現型効果に着目し、SL-231を親とした後代 F_2 を用いて有用なKasalath対立遺伝子効果についても検討し、QTLによって優性度について異なる対立遺伝子効果があることが示された。他方、SL-229を親として第10染色体全体を詳細に分析して、他のCSSL (SL-230 及びSL-232)において示唆された負の対立遺伝子効果を含む詳細な遺伝学的解析を行うことも重要な研究であるが、今回は行っていない。このことは、時間的制約もあったが、CSSLを使用する意義の一つである、有用な供与親由来の対立遺伝子効果を商業上重要な栽培品種である反復親に簡便に付与し得ることを示したい意図と、使用マーカー数を減じまたは同じ労力で狭い領域に多くのマーカーをおいて精緻な解析が出来るという実験実施上の利益を考慮したことによる。更に、QTL上の対立遺伝子効果の推定は、CSSL間のQTL解析のみでは不可能であり、本研究のようにCSSLと戻し交配した後代 F_2 集団を組み合わせたQTL解析が重要であると考えられた。

次に、本研究で解析した各形質および理解の方向性について考察する。本研究では、作物生理学において重要とされる形質について遺伝学的基礎を明らかにする研究の端緒として、CSSLの戻し交配後代 F_2 集団を用いたQTL解析において、QTLの特定とQTL上の対立遺伝子効果について検討し、これらの形質が遺伝的要因として特定でき、育種に応用可能であることを示した。第1章 第1節において、移植時から出穂期までの草丈および茎数の増加パターンに関するQTL領域を特定した。これらの増加パターンは3年間の栄養成長期における変化についてGDDを基準として統合したものである。コシヒカリとの統計的な差異が置換されたKasalath染色体断片の影響に帰することのできるCSSLを用いることによって、このような作物学的形質について品種間差レベル以上の遺伝的解析がはじめて可能になったと考えられた。Suralta et al.(2008)は、54系統の日本晴/Kasalath交配由来CSSLを用いて、土壌水分変動条件に対する根系の反応について評価した。54系統の日本晴/Kasalath交配由来CSSLは、39系統のコシヒカリ/Kasalath交配由来CSSLと比較して、Kasalath染色体断片が複数の染色体に亘って置換されている(イネゲノムリソースセンター, 2003a; 2003b)。この報告において、日本晴と差異を示したCSSL系統名は示されたが、QTL領域の特定に関する言及はなかった。しかしながら、日本晴といくつかのCSSLおよび置換染色体部位との比較から遺伝学的考察は可能であった。これらのことから、CSSLを材料に用いて、成長モデルパラメーターを含めた様々な作物学的形質においても、遺伝学的解析が深まる方向に進むものと考えられる。

多くの作物学的形質は環境による変動が大きく、信頼性を得るためには複数環境下での解析が不可欠である。このことに鑑み、第1章および第2章 第1節ではコシヒカリ/Kasalath交配由来CSSLを用いて東京大学大学院農学生命科学研究科附属農場において複数年次研究を行った。また、第2章 第2節では、ササニシキ/ハバタキ交配由来CSSLを用いて別の遺伝背景に視野を広げ、地理的に規模を拡大して全国3箇所の連絡試験を行った。一方、作物生理学的形質は測定に労力と時間を費やすものが多く、遺伝的解析を行う上で障害となっている。今回、系統数の少ないササニシキ/ハバタキ交配由来CSSLにおいては稈+葉鞘全体のNSC濃度および含量のQTLを特定したが、その後の187系統の戻し交配後代 F_2 集団では、特にこれまで重要性が指摘されてきた第3葉鞘(Watanabe et al., 1997; Hirose et al., 1999;

He et al., 2005)のNSC濃度および含量について解析した。また、イネの収量に決定的な影響を及ぼす、出穂期および出穂14日後ごろの作物学的形質についてQTLなどの遺伝的機作を明らかにすることは収量向上のターゲットを明らかにするために重要であり(大杉, 2003; Ohsugi, 2005), 極めて実用的な意義がある。出穂後14日間のソース能の維持の重要性が指摘されており, 実際に近年のイネの栽培品種のほとんどが出穂14日間における高いソース能を示している(大杉, 2003)。本研究のような条件において, QTLの特定とQTL上の対立遺伝子効果について検討し, これらの形質が遺伝的要因として特定でき, 育種に応用可能であることを示すことができた意義は大きいと考える。結論として, 本研究において検出されたソース機能, 一時的シンク機能に関するQTL上のいくつかの有用な対立遺伝子効果は, 今後の研究においてイネの収量向上に繋がる可能性が示唆された。

最後に, CSSLを用いた研究を通じてQTL情報を基にした実用育種への展望について述べる。近年, 特定の短稈遺伝子や病害虫抵抗遺伝子に関する, マーカー利用育種やSNPsにおけるハプロタイプの利用は広く行われている。コシヒカリつくばSD1号では, IR24に由来する短稈遺伝子をSNPsを用いて選抜し, コシヒカリに付与した(農林水産省, 2005)。関東BPH1号は, イネ近縁野生種 *Oryza officinalis* Wall. ex Watt.に由来する第3染色体上のトピイロウンカ抵抗性遺伝子 *bph11(t)*をヒノヒカリに導入し, わが国最初のトピイロウンカ抵抗性品種として育成された(作物研究所, 2003; 安東, 2005)。他方, 水稻品種コシヒカリ関東HD1号は, 出穂期に関する第6染色体のQTL *qDTH-6*上の早生性Kasalath対立遺伝子をコシヒカリに導入することを目的として, Kasalathにコシヒカリを3回戻し交雑した雑種後代よりCAPSおよびRFLPマーカーを用いて育成された(作物研究所, 2003; 安東, 2005)。この品種の育成は, QTL情報を基にしたDNAマーカー利用育種の端緒であり, その有用性と効率性を実証した好例である。また, 多収性品種ハバタキに由来するQTL上の対立遺伝子効果を集積しての多収性実現へ向けたQTLのピラミディングの可能性も示されている(Ashikari et al., 2005; Ando et al., 2008)。本研究は, CSSLにおけるQTLの特定およびそれに続く戻し交配後代を用いたQTL解析により, QTL領域以外の供与親からの置換染色体断片を一貫して除く方向で研究が行

われており、それに伴って NIL の育成も進行していることになる(第 1 章, Fig. 1-1). 本研究において作出した QTL-NIL(*qRCH-5*)においても、QTL 上のハバタキ対立遺伝子効果により、作物生理学的に重要な形質である出穂期の止葉の RuBisCO 含量の有意な増加が認められた(第 2 章 Fig. 2-5). また、CSSL の戻し交配後代 F_2 における QTL 解析において、育種上有用な相加効果を特定できることは重要な意義を持つと考えられた(第 1 章 第 2 節, 第 2 章). 以上より、CSSL を用いた QTL 解析においては、単純な検定によって草丈や茎数増加パターンといった新たな生育モデル QTL 特定が可能になること、また、形質によっては従来の QTL 解析集団と異なる遺伝構成によって、あるいは従来言われている検出力の高さから新たな QTL の特定に繋がること、戻し交配 F_2 後代において完全な再現性があることが特長として示された。これらによって、出穂期頃に重要視されている RuBisCO 含量、NSC 蓄積といった複雑な作物学的形質の QTL を安定的に特定し、ソース-シンク能向上による収量向上へのターゲットとして捉えることが可能になった。また、既報との対応性が高いこと、CSSL が研究材料としても育種素材としても利用価値があることが示された。CSSL の戻し交配後代を用いた QTL 解析では、QTL 上の対立遺伝子の相加効果を推定し、さらに微細な染色体断片を置換した QTL-NIL を得ることによって、今後はこれまで行い得なかった作物生理学および生態学的形質の向上を意図した実用品種育成への道を容易に拓き得ると考えられた。

摘要

本研究は染色体断片置換系統群(CSSL)を用い、種々の生理、生態学的形質について量的形質遺伝子座(QTL)解析を行い、従来の分離集団を使った QTL 解析と比較して一般に高いとされる検出力と、不稔遺伝子群など不良形質の影響を排した条件で、遺伝的交互作用を低減化し、簡明な統計モデルを用いて新奇な解析を行ったものである。得られた結果の概要は次の通りである。

第 1 章

CSSL を用い、生育や草型に関する QTL について調査した。

1. 39 コシヒカリ/Kasalath 交配由来 CSSL を圃場試験した結果、種々の形質に広範な変異を示した。
2. 3 年間の圃場における草丈および茎数の生育の推移を相対生長度日(GDD)からみた、草丈の生育パターンに関する QTL および茎数の生育パターンに関する QTL を特定した認めた。
3. CSSL における Kasalath 遺伝子型の置換に鑑みて、染色体別に比較群とし ANOVA を行ったところ、稈長、草丈、穂数、クロロフィル含量、比葉重といった草型に関する 8 つの QTL 候補領域が特定された。
4. 穂数、クロロフィル含量および比葉重に関する QTL を保持していた CSSL (SL-204, SL-209 および SL-222) にコシヒカリを戻し交配して作出した後代 F_2 において QTL 解析した結果、穂数に関して第 2 染色体 RM3865～RM6378 間、クロロフィル含量に関して第 4 染色体 RM241～RM255 および RM255～RM349 間、比葉重に関して第 7 染色体 RM2752～RM234 間においてそれぞれ詳細な QTL の位置が特定された。第 7 染色体 RM2752～RM234 では、比葉重と同時に葉面積に関する QTL が特定され、優性度および偏相関分析の結果に鑑みたところ、比葉重の低下が葉面積の増加を導くことが明らかになった。

第2章

CSSL を用い, RuBisCO および NSC に関する生理形質 QTL について調査した.

1. CSSL および戻し交配 F_2 後代を供試し, 作物生理学的形質に関する QTL の特定を試みた. 第 10 染色体 RM8201~RM5708 間において出穂期の RuBisCO 含量および NSC 濃度に関する QTL が同時に検出された. これら QTL の効果は共に相加的で, 周辺形質とも重要な相関も認められなかったことから育種への応用可能性が示された.
2. ササニシキ/多収性品種ハバタキ交配由来 CSSL および戻し交配 F_2 後代を供試し, 多収に繋がる作物生理学的形質に関する QTL の特定を試みた. 第 5 染色体 RM3476~RM7452 間において, RuBisCO 含量, NSC 含量に関する QTL を特定した. この QTL 上のハバタキの対立遺伝子の効果は共に相加的で, 育種上有望であると考えられた. RM1386~RM5642 間では, NSC 含量に関する QTL が 2 時期認められた.

第3章

遺伝資源として CSSL を用いて食味およびバイオマスに関する新奇な QTL について調査した.

1. コシヒカリ/Kasalath39CSSL において, 食味計値に関する 13 の広範な QTL 領域を特定した. そのうち第 1, 第 2, 第 3, 第 6, 第 9, 第 11 および第 12 染色体上の 9 箇所は Kasalath 染色体断片置換の影響により食味計値の低下を招いていたが, 第 4, 第 5, 第 7 および第 8 染色体上の 4 箇所においては Kasalath 染色体断片置換の移入がコシヒカリの食味を増加させる可能性を示していた.
2. コシヒカリ/Kasalath39CSSL を供試し, 穂重, 藁重およびバイオマスに関する QTL を, 第 2 染色体 C499~C747 間および C747~C1470 間, 第 8 染色体 R1943~C390 において計 3 箇所特定し, 近年注目されつつあるバイオエタノール生産に向けたバイオマス増加に向けた情報を得た.

謝辞

本研究は、東京大学大学院農学生命科学研究科生産・環境生物学専攻作物学研究室において行われたものである。本研究の遂行に当たり、終始懇切丁寧な御指導を頂いた、同教授大杉立博士に衷心より謝意を表する。また、同准教授山岸徹博士には懇篤なる御教鞭を賜り、同助教青木直大博士には有益な御助言を頂いた。東京大学大学院農学生命科学研究科附属農場准教授佐々木治人博士には研究上重要な御援助と御教導を賜った。独立行政法人農業生物資源研究所矢野昌裕博士には貴重な理論的御高示を賜り、富山県農業技術センター蛸谷武志博士には材料提供および優渥なる御示教を頂いた。東京大学大学院農学生命科学研究科栽培学研究室教授根本圭介博士、同園芸学研究室助教李温裕博士には遺伝解析上有用な御示唆を頂いた。東京大学大学院農学生命科学研究科附属農場技術部鷲頭登技術主査、同市川健一郎氏、曾我竜一氏には栽培管理に始終御尽力頂き、同久保田浩史氏には気象情報蒐集に御支援頂いた。揚州大学農学院副教授張祖建博士、独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構東北農業研究センター吉永悟志博士、同長田健二博士、独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構作物研究所近藤始彦博士、同三王裕見子博士、同石丸努博士、東京農工大学大学院共生科学技術研究部生命農学部門植物生態生理学分野教授平沢正博士、同准教授大川泰一郎博士、東京農工大学農学部フィールドサイエンスセンター助教本林隆博士、農林水産先端技術研究センター安藤露博士には共同研究において多大な御助力を賜った。独立行政法人農業生物資源研究所イネゲノムリソースセンターおよび農林水産先端技術研究センターからは種粳を御分与頂いた。東京大学大学院農学生命科学研究科附属農場、独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構東北農業研究センター、独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構中央農業総合研究センター谷和原水田圃場、東京農工大学農学部附属広域都市圏フィールドサイエンス教育研究センターFM 本町には実験水田ならびに施設を御提供頂いた。株式会社サタケには食味計を御厚志により貸与頂いた。更に、本研究の実施に伴い、東京大学大学院農

学生命科学研究科作物学研究室の研究員ならびに大学院生諸氏および東京大学農学部作物学研究室学部生諸氏、東京大学大学院農学生命科学研究科栽培学研究室大学院生諸氏には、御協力と御援助を頂いた。本研究の一部は、平成 14 年度～平成 16 年度文部科学省科学研究費補助金（基盤研究(A)（2）研究課題番号 14206004）、平成 17 年度～平成 19 年度文部科学省科学研究費補助金（基盤研究(A) 研究課題番号 17208003）および平成 17 年度～平成 18 年度農林水産省グリーンテクノ計画 DNA マーカープロジェクト（シンク・ソース機能関連形質の簡易評価法の開発と染色体部分置換系統を用いた遺伝解析, DM1121）の御支援による。ここに記して満腔の謝意を表するものである。

引用文献

安東郁男 2005. 稲育種におけるDNAマーカー利用の現状と展望. 研究ジャーナル 28 : 10-15.

Ando, T., Yamamoto, T., Shimizu, T., Ma, X. F., Shomura, A., Takeuchi, Y., Lin, S. Y. and Yano, M. 2008. Genetic dissection and pyramiding of quantitative traits for panicle architecture by using chromosomal segment substitution lines in rice. Theor. Appl. Genet. 116 : 881-890.

Aoki, N., Hirose, T., Scofield, G. N., Whitfeld, P. R. and Furbank, R. T. 2003. The sucrose transporter gene family in rice. Plant Cell Physiol. 44 : 223-232.

浅沼俊輔・二戸奈央子・大川泰一郎・平沢正 2008. 水稻品種ササニシキとハバタキの収量, 乾物生産とこれに関わる生理生態的性質の比較. 日作紀 77 : 474-480.

Ashikari, M., Sakakibara, H., Lin, S. Y., Yamamoto, T., Takashi, T., Nishimura, A., Angeles, E. R. , Qian, Q., Kitano, H. and Matsuoka, M. 2005. Cytokinin oxidase regulates rice grain production. Science 309 : 741-745.

Ashraf, M., Akbar, M. and Salim, M. 1994. Genetic improvement in physiological traits of rice yield. In G. A. Slafer Ed., Genetic improvement of field crops. Marcel Dekker Inc., New York. 413-455.

Baba, T., Nishihara, M., Mizuno, K., Kawasaki, T., Shimada, H., Kobayashi, E., Ohnishi, S., Tanaka, K. and Arai, Y. 1993. Identification, cDNA cloning, and gene expression of soluble starch synthase in rice

(*Oryza sativa* L.) immature seeds. Plant Physiol. 103 : 565–573.

Bao, J. S., Zheng, X. W., Xia, Y. W., He, P., Shu, Q. Y., Lu., Chen, Y. and Zhu, L. H. 2000. QTL mapping for the paste viscosity characteristics in rice (*Oryza sativa* L.). Theor. Appl. Genet. 100 : 280–284.

Bao, J. S., Corke, H., He, P. and Zhu, L. H. 2003. Analysis of quantitative trait loci for starch properties of rice based on an RIL population. Acta Bot. Sin. 45 : 986–994.

Berke, T. G, Naenziger, P. S. and Moris, R. 1992. Chromosomal location of wheat quantitative trait loci affecting stability of six traits using reciprocal chromosome substitutions. Crop Sci. 32 : 628–633.

Bouchez, A., Hospital, F., Causse, M., Gallais, A. and Charcosset, A. 2002. Marker-assisted introgression of favorable alleles at quantitative trait loci between maize elite lines. Genetics 162 : 1945–1959.

Buckler, E. S., Stein, L. and McCouch, S. 2006. Gramene: a bird's eye view of cereal genomes. Nucleic Acids Res. 34 D : 717–723.

Cho, Y. G., Eun, M. Y. McCouch, S. R. and Chae, Y. A. 1994. The semidwarf gene, sd-1, of rice (*Oryza sativa* L.) II. Molecular mapping and marker-assisted selection. Theor. Appl. Genet. 89 : 54–59.

Cold Spring Harbor Laboratory and Cornell University. 2007. GRAMENE Genome Browser. [Online]. Available at www.gramene.org/ (accessed 1 April 2006; verified 21 April 2008). GRAMENE Database,

Ithaca.

Cui, K. H., Peng, S. B., Ying, Y. Z., Yu S. B. and Xu C. G. 2004. Molecular dissection of the relationships among tiller number, plant height and heading date in rice. *Plant Prod. Sci.* 7 : 309–318.

Dong, Y., Ogawa, T., Lin, D., Kamiunten, H., Terao, H. and Matsuo, H. 2005. Detection of quantitative trait loci for leaf chlorophyll content at maximum tillering. *Int. Rice Res. Notes* 30 : 16–17.

蛭谷武志 1997. 味度メーターによる水稻良食味系統早期選抜の効果について. *北陸作物学会報* 32 : 51–53.

Ebitani, T., Takeuchi, Y., Nonoue, Y., Yamamoto, T., Takeuchi, K. and Yano, M. 2005. Construction and evaluation of chromosome segment substitution lines carrying overlapping chromosome segments of indica rice cultivar Kasalath in a genetic background of japonica elite cultivar Koshihikari. *Breed. Sci.* 55 : 65–73.

Evans, J. R. and Terashima, I. 1987. Effects of nitrogen on electron transport components and photosynthesis in spinach. *Aust. J. Plant Physiol.* 14 : 59–68.

Fridman, E., Liu, Y. S., Carmel-Goren, L., Gur, A., Shores, M., Pleban, T., Eshed, Y. and Zamir, D. 2002. Two tightly linked QTLs modify tomato sugar content via different physiological pathways. *Mol. Genet. Genomics* 266 : 821–826.

Fukayama, H., Uchida, N., Azuma, T. and Yasuda, T. 1996. Relationship between photosynthetic activity and the amounts of Rubisco activase and Rubisco in rice leaves from emergence through senescence. Jpn. J. Crop Sci. 65 : 296–302.

Fulton, T. M., Nelson, J. C., and Tanksley, S. D. 1997. Introgression and DNA marker analysis of *Lycopersicon peruvianum*, a wild relative of the cultivated tomato, into *Lycopersicon esculentum*, followed through three successive backcross generations. Theor. Appl. Genet. 95 : 895–902.

Hasegawa, H. 2003. High-yielding rice cultivars perform best even at reduced nitrogen fertilizer rate. Crop Sci. 43: 921–926.

林健一 1972. 水稻品種の日射エネルギー利用効率に関する研究. 農技研報 D23 : 1–67.

He, Y. Q., Yang, J., Xu, C. G., Zhang, Z. G. and Zhang, Q. 1999. Genetic bases of instability of male sterility and fertility reversibility in photoperiod-sensitive genic male-sterile rice. Theor. Appl. Genet. 99 : 683–693.

He, H. Y., Koike, M., Ishimaru, T., Ohsugi, R. and Yamagishi, T. 2005. Temporal and spatial variations of carbohydrate content in rice leaf sheath and their varietal differences. Plant Prod. Sci. 8 : 546–552.

何風華・席章營・曹瑞珍・Akshay Talukdar・張桂權 2005. 利用高代回交和分子標記補助選澤建立水稻單片段代換系. 遺傳學報 32: 825–831.

Hirose, T., Endler, A. and Ohsugi, R. 1999. Gene expression of enzymes for starch and sucrose metabolism and transport in leaf sheaths of rice (*Oryza sativa* L.) during heading period in relation to sink to source transition. Plant Prod. Sci. 2 : 178–183.

Huang, X., Coster, H., Ganai, M. and Röder, M. S. 2003. Advanced backcross QTL analysis for the identification of quantitative trait loci alleles from wild relatives of wheat (*Triticum aestivum* L.). Theor. Appl. Genet. 106 : 1379–1389.

Huang, X., Kempf, H., Ganai, M. W. and Röder, M. S. 2004. Advanced backcross QTL analysis in progenies derived from a cross between a German elite winter wheat variety and a synthetic wheat (*Triticum aestivum* L.). Theor. Appl. Genet. 109 : 933–943

稲葉光國 1991. 葉層構造改善による増収理論 -草型・最適葉面積・最適穂数と出穂期以降の乾物生産(試論)-. 農文協編. 農業技術体系. 作物編. 第2-1巻. イネ(基本技術(1)) 基本技術編. イネ作多収穫論. 農文協,東京. 技104の2-21.

イネゲノムリソースセンター 2003a. Koshihikari / Kasalath Chromosome Segment Substitution Lines (CSSLs) 39 lines. [Online]. Available at www.rgrc.dna.affrc.go.jp/index.html (accessed 1 April 2006). 農業生物資源研究所, つくば.

イネゲノムリソースセンター 2003b. Nipponbare / Kasalath Chromosome Segment Substitution Lines (CSSLs) 54 lines. [Online]. Available at www.rgrc.dna.affrc.go.jp/ineNKCSSL54.html (accessed 1 April 2006). 農業生物資源研究所, つくば.

Ishii, R. 1995. Chapter 3 effects of physiological factors of individual leaves on photosynthesis and respiration 2. leaf senescence. In T. Matsuo, K. Kumazawa, R. Ishii, K. Ishihara and H. Hirata eds., Science of the Rice Plant Vol. 2 physiology. Nobunkyo, Tokyo. 572–577.

Ishikawa, S., Ae, N. and Yano, M. 2005. Chromosomal regions with quantitative trait loci controlling cadmium concentration in brown rice (*Oryza sativa*). New Phytol. 168 : 345–350.

Ishimaru, K., Yano, M., Aoki, N., Ono, K., Hirose, T., Lin, S., Monna, L., Sasaki, T. and Ohsugi, R. 2001a. Toward the mapping of physiological and agronomic characters on a rice function map: QTL analysis and comparison between QTLs and expressed sequence tags. Theor. Appl. Genet. 102 : 793–800.

Ishimaru, K., Kobayashi, N., Ono, K., Yano, M. and Ohsugi, R. 2001b. Are contents of rubisco, soluble protein and nitrogen in flag leaves of rice controlled by the same genetics? J. Exp. Bot. 52 : 1827–1833.

Jaiswal, P., Ni, J. J., Yap, I., Ware, D., Spooner, W., Youens–Clark, K., Ren, L. Y., Liang, C. Z., Zhao, W., Ratnapu, K., Faga, B., Canaran, P., Fogleman, M., Hebbard, C., Avraham, S., Schmidt, S., Casstevens, T. M., Buckler, E. S., Stein, L. and McCouch, S. 2006. Gramene: a bird's eye view of cereal genomes. Nucleic Acids Res. 34 D : 717–723.

Jiang, C. Z., Hirasawa, T. and Ishihara, K. 1988. Physiological and ecological characteristics of high yielding varieties in rice plants II. Leaf photosynthetic rates. Jpn. J. Crop Sci. 57 : 139–145**.

Jiang, G. H., He, Y. Q., Xu, C. G., Li, X. H. and Zhang, Q. 2004. The genetic basis of stay-green in rice analyzed in a population of doubled haploid lines derived from an indica by japonica cross. Theor. Appl. Genet. 108 : 688–698

花木信幸 1994. 非構造的炭水化物の蓄積と耐冷性. 農文協編. 農業技術体系. 作物編. 第2-2巻. イネ=基本技術(2). 気象災害. 冷害. 農文協, 東京. 522 の 29 の 42–50.

柏木孝幸・廣津直樹・円由香・大川泰一郎・石丸健 2007. イネの湾曲型倒伏に対する抵抗性の付与. 日作紀 76 : 1–9.

Kenney-Hunt, J. P., Vaughn, T. T., Pletscher, L. S., Peripato, A., Routman, E., Cothran, K., Durand, D., Norgard, E., Perel, C., and Cheverud, J. M. 2006. Quantitative trait loci for body size components in mice. Mamm. Genome 17 : 526–537.

気象庁. 2002. 過去の気象データ. [Online]. Available at www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/index.php (Accessed 7 April 2007). 気象庁, 東京.

小林陽・古賀義昭・内山田博士・堀内久満・三浦清之・奥野員敏・藤田米一・上原泰樹・石坂昇助・中川原捷洋・山田利昭 1990. 水稻新品種「ハバタキ」の育成. 北陸農試報 32: 65–84.

Kobayashi, S., Fukuta, Y., Morita, S., Sato, T., Osaki, M. and Khush, G. S. 2003. Quantitative trait loci affecting flag leaf development in rice (*Oryza sativa* L.). Breed. Sci. 53 : 255–262.

小谷俊之・黒田晃 2006. 水稻「ゆめみずほ」の茎葉部位に蓄積された非構造的炭水化物およびデンプン含量の関係と品質について. 北陸作物学会報 41 : 39-41.

Kubo, T. and Yoshimura, A. 1999. Complementary genes causing F_2 sterility in Japonica/Indica cross of rice. Rice Genet. Newsl. 16: 68-70.

Kubo, T., Aida, Y., Nakamura, K., Tsunematsu, H., Doi, K. and Yoshimura, A. 2002. Reciprocal chromosome segment substitution series derived from japonica and indica cross of rice. Breed. Sci. 52 : 319-325.

Kubo, T. and Yoshimura, A. 2005. Epistasis underlying female sterility detected in hybrid breakdown in a Japonica-Indica cross of rice (*Oryza sativa* L.). Theor. Appl. Genet. 110: 346-355.

窪田文武・植田精一 1977. チモシー個葉の光合成速度とSLA(比葉面積)との関係. 日草誌 23 : 101-107.

窪田文武 1999. 7. 品種改良の目標と生理生態的形質. 堀江武・吉田智彦・巽二郎・平沢正・今木正・小葉田亨・窪田文武・中野淳一著. 作物学総論. 朝倉書店, 東京. 143-161.

Kurata, N. and Yamazaki, Y. 2006. Oryzabase. An integrated biological and genome information database for rice. Plant Physiol. 140 : 12-17.

楠谷彰人 1988. 水稻の冷温登熟性に関する研究 第3報 登熟に及ぼす出穂後乾物生産の影響. 日作紀 57 : 298-304.

Li, Z. K., Pinson, S. R., Park, W. D., Paterson, A. H. and Stansel, J. W. 1997. Epistasis for three grain yield components in rice (*Oryza sativa* L.). Genetics 145 : 453-465.

Li, Z., Yu, S., Lafitte, H. R., Huang, N., Courtois, B., Hittalmani, S., Vijayakumar, C. H. M., Liu, G., Wang, G., Shashidhar, H. E., Zhuang, J., Zheng, K., Singh, V. P., Sidhu, J. S., Srivantaneeyakul, S. and Khush, G. S. 2003a. QTL × environment interactions in rice. I. Heading date and plant height. Theor. Appl. Genet. 108 : 141-153.

Li, Z. F., Wan, J. M., Xia, J. F and Yano, M. 2003b. Mapping of quantitative trait loci controlling physico-chemical properties of rice grains (*Oryza sativa* L.). Breed. Sci. 53 : 209-215.

李澤福・万建民・夏加癸・翟虎渠 2003. 水稻外觀品質の数量性状基因位点分析. 遺伝学報 30 : 251-259.

Li, Z., Wan, J., Xia, J., Zhai, H. and Ikehishi, H. 2004a. Identification of quantitative trait loci underlying milling quality of rice (*Oryza sativa*) grains. Plant Breeding 123 : 229-234.

Li, J. M., Xiao, J. H., Grandillo, S. , Jiang, L. Y., Wan, Y. Z., Deng, Q. Y., Yuan, L. P. and McCouch, S. R. 2004b. QTL detection for rice grain quality traits using an interspecific backcross population derived

from cultivated Asian (*O. sativa* L.) and African (*O. glaberrima* S.) rice. *Genome* 47 : 697–704.

Lin, H., Yamamoto, T., Sasaki, T. and Yano, M. 2000. Characterization and detection of epistatic interactions of 3 QTLs, Hd1, Hd2, and Hd3, controlling. *Theor. Appl. Genet.* 101: 1021–1028.

Liu, Y. S., Gur, A., Ronen, G., Causse, M., Damidaux, R., Buret, M., Hirschberg, J. and Zamir, D. 2003. There is more to tomato fruit colour than candidate carotenoid genes. *Plant Biotech. J.* 1 : 195–207.

劉冠明·李文濤·曹瑞珍·張桂權 2003. 水稻垂種間單片段代換系的建立. *中國水稻科學* 17: 201–204.

劉冠明·李文濤·曹瑞珍·張澤民·張桂權 2004. 水稻單片段代換系代換片段的QTL鑒定. *遺傳學報* 31: 1395–1400.

Liu, G. F., Yang, J. and Zhu, J. 2006. Mapping QTL for biomass yield and its components in rice (*Oryza sativa* L.) *Acta Genet. Sin.* 33 : 607–616.

Ma, J., Shen, R., Zhao, Z., Wissuwa, M., Takeuchi, Y., Ebitani, T. and Yano, M. 2002. Response of rice to Al stress and identification of quantitative trait loci for Al tolerance. *Plant Cell Physiol.* 43: 652–659.

MacMillan, K., Emrich, K., Piepho, H. P., Mullins, C. E. and Price, A. H. 2006. Assessing the importance of genotype x environment interaction for root traits in rice using a mapping population II: conventional QTL analysis. *Theor. Appl. Genet.* 113 : 953–964.

Makino, A., Mae, T. and Ohira, K. 1984. Changes in photosynthetic capacity in rice leaves from emergence through senescence. Analysis from ribrose-1,5-bisphosphate carboxylase and leaf conductance. *Plant Cell Physiol.* 25 : 511–521.

Makino, A., Mae, T. and Ohira, K. 1986. Colorimetric measurement of protein stained with Coomassie brilliant blue R on sodium dodecyl sulfate–polyacrylamide gel electrophoresis by eluting with formamide. *Agric. Biol. Chem.* 50 : 1911–1912.

Makino, A., Nakano, H. and Mae, T. 1994. Responses of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase, cytochrome f, and sucrose synthesis enzymes in rice leaves to leaf nitrogen and their relationships to photosynthesis. *Plant Physiol.* 105 : 173–179.

Matsushima, S. 1995. III Physiological mechanism of dry matter production. Chapter 8 physiology of high-yielding rice plants from the view point of yield components. In T. Matsuo, K. Kumazawa, R. Ishii, K. Ishihara and H. Hirata Eds., *Science of the rice plant Vol. 2 physiology*. Nobunkyo, Tokyo. 737–766.

McCouch, S. R., Cho, Y. G., Yano, M., Paul, E., Blinstrub, M., Morishima, H. and Kinoshita, T. 1997. Report of the committee on gene symbolization, nomenclature and linkage groups II. Report from coordinators 1) Suggestions for QTL nomenclature for rice. *Rice Genet. Newsl.* 14 : 11–13.

McCouch, S. R., Teytelman, L., Xu, Y., Lobos, K. B., Clare, K., Walton, M., Fu, B., Maghirang, R., Li, Z., Xing, Y., Zhang, Q., Kono, I., Yano, M., Fjellstorm, R., DeClerck, G., Schneider, D., Cartinhour, S., Ware, D.

and Stein, L. 2002. Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.)
DNA Res. 9 : 199–207.

Miura, K., Lin, S., Yano, M. and Nagamine, T. 2001. Mapping quantitative trait loci controlling low
temperature germinability in rice (*Oryza sativa* L.). Breed. Sci. 51: 293–299.

三本弘乗 2008. 2. イネと稲作の歴史. 大門弘幸編著. 見てわかる農学シリーズ 3 作物学概論. 朝倉
書店, 東京. 13–28.

穆平・李自超・李春平・張洪亮・王象坤 2004. 水、旱条件下水稻茎稈主要抗倒伏性状的QTL分析.
遺伝学報 31 : 717–723.

村田吉男・長田明夫 1959. 水稻の光合成に関する研究 第11報 水稻品種の生育前期における受光
能率と乾物生産との関係. 日作紀 27 : 422–425.

長田健二 1997. タカナリの特性と栽培技術. 農文協編. 農業技術体系. 作物編. 第1巻. イネ(基本
編・基礎編). 農文協, 東京. 本 271–278.

Nagata, K., Fukuta, Y., Shimizu, H., Yagi, T. and Terao, T. 2002a. Quantitative trait loci for sink size and
ripening traits in rice (*Oryza sativa* L.). Breed. Sci. 52 : 259–273.

Nagata, K., Shimizu, H. and Terao, T. 2002b. Quantitative trait loci for nonstructural carbohydrate
accumulation in leaf sheaths and culms of rice (*Oryza sativa* L.) and their effects on grain filling.

Breed. Sci. 52; 275–283.

Nagata, K. 2006. Ecophysiological traits and genetic analysis of yield and ripening in high-yielding semi-dwarf indica rice varieties. Japan Agr. Res. Quart. 40 : 307–316.

Nakagawa, H., Yamagishi, J., Miyamoto, N., Motoyama, M., Yano, M. and Nemoto, K. 2005. Flowering response of rice to photoperiod and temperature: a QTL analysis using a phenological model. Theor. Appl. Genet. 110 : 778–786.

中世古公男 1999. 1.食用作物-穀類 1.2 コムギ. 石井龍一・中世古公男・高崎康夫著. 作物学各論. 朝倉書店, 東京. 22–31.

中沢文男・角田公正・鳥倉弘文 1990. 水稻多収性品種の光合成特性について 第1報 個葉の光合成速度. 日作紀. 59 : 72–79.

National Bioresource Project and National Institute of Genetics. 2000. Trait genes search. [Online]. Available at www.shigen.nig.ac.jp/rice/oryzabase/top/top.jsp (accessed 12 May 2007). Oryzabase, Mishima.

農林水産省 2005. 品種登録情報ページ . [Online]. Available at www.hinsyu.maff.go.jp/ (accessed 8 November 2008). 農林水産省ホームページ, 東京.

農林水産省 2006. バイオマス・ニッポン総合戦略. [Online]. Available at

www.maff.go.jp/j/biomass/index.html (accessed 1 April 2006; verified 21 April 2008).

Nurul Amin, S. M., Uchida, N., Azuma, T., Hatanaka, T. and Yasuda, T. 2002a. Varietal differences between photosynthetic activity and the amounts of rubisco in rice (*Oryza sativa* L.) leaves at different nitrogen supply levels. Jpn. J. Trop. Agr. 46 : 162–165.

Nurul Amin, S. M., Uchida, N., Hatanaka, T., Azuma, T., Yasuda, T. and Tsugawa, H. 2002b. Varietal differences of rice (*Oryza sativa* L.) growth to low nitrogen supply. Environ. Control in Biol. 40 : 195–200.

Nurul Amin, S. M., Uchida, N., Matsumoto, C., Hatanaka, T. and Tsugawa, H. 2002c. Partitioning of absorbed nitrogen to chloroplast, soluble protein and rubisco in rice leaves under low nitrogen supply. Environ. Control in Biol. 40 : 201–206.

Obara, M., Kajiura, M., Fukuta, Y., Yano, M., Hayashi, M., Yamaya, T. and Sato, T. 2001. Mapping of QTLs associated with cytosolic glutamine synthetase and NADH-glutamate synthase in rice (*Oryza sativa* L.). J. Exp. Bot. 52 : 1209–1217.

大杉立 2002. 2.7 作物のバイオテクノロジー. 日本作物学会編. 作物学事典. 朝倉書店, 東京. 73–83.

大杉立 2003. シンク・ソースの分子機構から作物の収量向上を考える. 化学と生物 41 : 347–418.

Ohsugi, R. 2005. Carbon metabolism to improve sink and source function In K. Toriyama, K. L. Heong

and B. Hardy eds., Rice is life: scientific perspectives for the 21st century. Proceedings of the World Rice Research Conference held in Tokyo and Tsukuba, Japan, 4–7 November 2004. [CD-ROM]. International Rice Research Institute, Los Banos and Japan International Research Center for Agricultural Sciences, Tsukuba.

Paran, I. and Zamir, D. 2003. Quantitative traits in plants: beyond the QTL. Trends. Genet. 19 : 303–306.

Pillen, K., Zacharias, A. and Leon, J. 2003. Advanced backcross QTL analysis in barley (*Hordeum vulgare* L.). Theor. Appl. Genet. 107 : 340–352.

Ramsay, L. D., Jennings, D. E., Bohuon, E. J. R., Arthur, A. E., Lydiate, D. J., Kearsey, M. J. and Marshall, D. F. 1996. The construction of a substitution library of recombinant backcross lines in Brassica oleracea for the precision mapping of quantitative trait loci. Genome 39: 558–567.

Rice Genome Research Program. 2007. Generic genome browser version 1.66. [Online]. Available at rgp.dna.affrc.go.jp/whoga/index.html.en (accessed 1 April 2006; verified 21 April 2008). WhoGA Database, Tsukuba.

Rodermel, S., Haley, J., Jiang, C. Z., Tsai, C. and Bogorad, L. 1996. A mechanism for the intergenomic integration: Abundance of ribulose biphosphate carboxylase small-subunit protein influences the translation of the large subunit mRNA. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 93 : 3881–3885.

Sakata, K., Antonio, B. A., Mukai, Y., Nagasaki, H., Sakai, Y., Makino, K. and Sasaki, T. 2000. INE: a rice genome database with an integrated map view. *Nucleic Acids Res.* 28 : 97–101.

作物研究所 2003. イネ品種・特性データベース検索システム. [Online]. Available at ineweb.narcc.affrc.go.jp/index.html (accessed 8 November 2008). 作物研究所, つくば.

鮫島宗明・玖村敦彦 1971. 1. 光合成 2. 個葉の光合成特性 (15) 葉における色素の含量および種類と光合成. 戸蒔義次監修. 作物の光合成と物質生産. 養賢堂, 東京. 85–86.

Sasaki, H., Aoki, N., Sakai, H., Hara, T., Uehara, N., Ishimaru, K. and Kobayashi, K. 2005. Effect of CO₂ enrichment on translocation and partitioning of carbon at the early grain-filling stage in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Prod. Sci.* 8 : 8–15.

Septiningsih, E. M., Trijatmiko, K. R., Moeljopawiro, S. and McCouch, S. R., 2003. Identification of quantitative trait loci for grain quality in an advanced backcross population derived from the *Oryza sativa* variety IR64 and the wild relative *O. rufipogon*. *Theor. Appl. Genet.* 107 : 1433–1441.

Serraj, R., Hash, C. T. , Rizvi, S. M. H., Sharma, A., Yadav R. S. and Bidinger F. R. 2005. Recent advances in marker-assisted selection for drought tolerance in pearl millet. *Plant Prod. Sci.* 8 : 334–337.

Shirano, Y., Shimada, H., Kanamaru, K., Fujiwara, M., Tanaka, K., Takahashi, H., Unno, K., Sato, S., Tabata, S., Hayashi, H., Miyake, C., Yokota, A. and Shibata, D. 2000. Chloroplast development in

Arabidopsis thaliana requires the nuclear-encoded transcription factor Sigma B. FEBS Lett. 485 : 178–182.

Smith, J. H. C. and Benitez, A. 1955. Chlorophylls: analysis in plant materials. In K. Paech and M. V. Tracey Eds., Modern methods of plant analysis. Vol.4. Springer-Verlag, Berlin. 143–196.

Spreitzer, R. J. 1999. Question about the complexity of chloroplast ribrose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase. Photosynth. Res. 60 : 29–41.

角明夫・箱山晋・翁仁憲・縣和一・武田友四郎 1996. 水稻の登熟過程における穂重増加を支配する稲体要因の解析 第2報 穎花の同化産物受容効率に及ぼす出穂期貯蔵炭水化物の役割. 日作紀 65 : 214–221.

Suralta, R. R., Inukai, Y. and Yamauchi, A. 2008. Utilizing chromosome segment substitution lines (CSSLs) for evaluation of root responses to transient moisture stresses in rice. Plant Prod. Sci. 11 : 457–465.

Takai, T., Fukuta, Y., Shiraiwa T. and Horie T. 2005. Time-related mapping of quantitative trait loci controlling grain-filling in rice (*Oryza sativa* L.) J. Exp. Bot. 56 : 2107–2118.

Takano, Y. and Tsunoda, S. 1971. Curvilinear regression of leaf photosynthetic rate on leaf nitrogen content among strains of *Oryza* species. Jpn. J. Breed. 21 : 69–76.

Takeuchi, Y., Nonoue, Y., Ebitani, T., Suzuki, K., Aoki, N., Sato, H., Ideta, O., Hirabayashi, H., Hirayama, M.,

Ohta, H., Nemoto, H., Kato, H., Ando, I., Ohtsubo, K., Yano, M. and Imbe T. 2007. QTL detection for eating quality including glossiness, stickiness, taste and hardness of cooked rice. *Breed. Sci.* 57 : 231–242.

Tanksley, S. D. and Nelson, J. C. 1996. Advanced backcross QTL analysis: a method for the simultaneous discovery and transfer of valuable QTLs from unadapted germplasm into elite breeding lines. *Theor. Appl. Genet.* 92 : 191–203.

Tanksley, S. D., Grandillo, S., Fulton, T. M., Zamir, D., Eshed, Y., Petiard, V., Lopez, J. and Beck-Bunn, T. 1996. Advanced backcross QTL analysis in a cross between an elite processing line of tomato and its wild relative *L. pimpinellifolium*. *Theor. Appl. Genet.* 92: 213–224.

Tian, F., Li, D. J., Fu, Q., Zhu, Z. F., Fu, Y. C., Wang, X. K. and Sun, C. Q. 2006. Construction of introgression lines carrying wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.) segments in cultivated rice (*Oryza sativa* L.) background and characterization of introgressed segments associated with yield-related traits. *Theor. Appl. Genet.* 112 : 570–580.

Tuberosa, R. and Salvi, S. 2004. Markers, genomics and post-genomics approaches – will they assist in selecting for drought tolerance? In: Fischer, T., N. Turner, J. Angus, L. McIntyre, M. Robertson, A. Borrell and D. Lloyd Eds. *New directions for a diverse planet: Proceedings of the 4th International Crop Science Congress in Brisbane, Australia, 26 Sep – 10 Oct 2004.* [CD-ROM]. The Regional Institute Ltd. Gosford, Australia.

Tuinstra, M. R., Ejeta, G. and Goldsbrough, P. B. 1997. Heterogeneous inbred family (HIF) analysis: a method for developing near-isogenic lines that differ at quantitative trait loci. *Theor. Appl. Genet.* 95 : 1005–1011.

内田直次・伊藤亮一・村田吉男 1980. 作物の葉における光合成機能の発達と衰退に関する研究 第1報 イネ葉の発達過程における変化. *日作紀* 49 : 127–134.

内村要介・佐藤大和・尾形武文・松江勇次・吉村淳 2003. 日印交雑種における米のアミロース含有率に関与するDNAマーカーの選定. *九州沖縄農業研究成果情報* 18 : 59–60.

Umemoto, T., Aoki, N., Lin, H. X., Nakamura, Y., Inouchi, N., Sato, Y., Yano, M., Hirabayashi, H. and Maruyama, S. 2004. Natural variation in rice *starch synthase IIa* affects enzyme and starch properties *Func. Plant Biol.* 31 : 671–684.

鵜飼保雄 2000. 11.3 QTLの遺伝育種的利用. 鵜飼保雄著. *ゲノムレベルの遺伝解析. MAPとQTL* 東京大学出版会, 東京. 316–317.

鵜飼保雄 2002. 遺伝子型×環境交互作用. 鵜飼保雄著. *量的形質の遺伝解析*. 医学出版, 東京. 219–278.

Wan, X. Y., Wan, J. M., Weng, J. F., Jiang, L., Bi, J. C., Wang, C. M. and Zhai, H. Q. 2005. Stability of QTLs for rice grain dimension and endosperm chalkiness characteristics across eight environments. *Theor. Appl. Genet.* 110 : 1334–1346.

Wang, H. J. 2005. AB-QTL analysis for two populations of winter barley sharing the donor of *Hordeum vulgare ssp. spontaneum*. Schriftenreihe des Institutes für Pflanzenbau 6 : 1-177.

Wang, H., Qi, M. Q. and Cutler, A. J. 1993. A simple method of preparing plant samples for PCR. Nucleic Acids Res. 21 : 4153-4154.

汪斌・蘭濤・吳爲人・李維明. 2003. 水稻叶緑素含量的QTL定位. 遺伝学報 30 : 1127-1132.

Wang, Z., Gu, Y. J., Hirasawa, T., Ookawam, T. and Yanahara, S. 2004. Comparison of caryopsis development between two rice varieties with remarkable difference in grain weights. Acta Bot. Sin. 46 : 698-710.

Wang, S., Basten, C. J. and Zeng, Z. B. 2006. Windows QTL Cartographer 2.5. [Online]. Available at statgen.ncsu.edu/qtlcart/WQTLCart.htm (accessed 1 April 2007). Department of Statistics, North Carolina State University, Raleigh.

Watanabe, Y., Nakamura, Y. and Ishii, R. 1997. Relationship between starch accumulation and activities of the related enzymes in the leaf sheath as a temporary sink organ in rice (*Oryza sativa*). Aust. J. Plant Physiol. 24 : 563-569.

翁仁憲・武田友四郎・縣和一・箱山晋 1982. 水稻の子実生産に関する物質生産的研究 第1報 出穂期前に貯蔵された炭水化物および出穂後の乾物生産が子実生産に及ぼす影響. 日作紀 51 : 500-509.

Wissuwa, M., Yano, M. and Ae, N. 1998. Mapping of QTLs for phosphorus-deficiency tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). Theor. Appl. Genet. 97 : 777–783.

Wissuwa, M. and Ae, N. 2001. Further characterization of two QTLs that increase phosphorus uptake of rice (*Oryza sativa* L.) under phosphorus deficiency. Plant Soil. 237 : 275–286.

Wissuwa, M., Wegner, J., Ae, N. and Yano, M. 2002. Substitution mapping of Pup1: a major QTL increasing phosphorus uptake of rice from a phosphorus-deficient soil. Theor. Appl. Genet. 105 : 890–897.

Wostrikoff, K. and Stern, F. 2007. Rubisco large-subunit translation is autoregulated in response to its assembly state in tobacco chloroplasts. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 104 : 6466–6471.

吳平・羅安程 1996. 応用分子標記研究氮素脅迫条件下水稻叶片叶绿素含量差异的遗传背景. 遗传学报 23 : 431–438.

Xiao, J. H., Li, J. M., Yuan, L. P. and Tanksley, S. R. 1996. Identification of QTLs affecting traits of agronomic importance in a recombinant inbred population derived from a subspecific rice cross. Theor. Appl. Genet. 92 : 230–244.

徐銀尧・大川泰一郎・石原邦 1997. 多収性水稻品種タカナリの光合成特性の解析. 日作紀 66 : 616–623.

Xu, C. G., Li, X. Q., Xue, Y., Huang, Y. W., Gao, J. and Xing, Y. Z. 2004. Comparison of quantitative trait loci controlling seedling characteristics at two seedling stages using rice recombinant inbred lines. Theor. Appl. Genet. 109 : 640–647.

山口泰弘・塚口直史・井上健一 2006. コシヒカリの稈・葉鞘の非構造性炭水化物(NSC)の動態と穂重増加および品質の関係. 北陸作物学会報 41 : 35–38.

Yamamoto, T., Kuboki, Y., Lin, S., Sasaki, T. and Yano, M. 1998. Fine mapping of quantitative trait loci Hd-1, Hd-2 and Hd-3, controlling heading date of rice, as single Mendelian factors. Theor. Appl. Genet. 97 : 37–44.

Yamamoto, T., Lin, H., Sasaki, T. and Yano, M. 2000. Identification of heading date quantitative trait locus Hd6 and characterization of its epistatic interactions with Hd2 in rice using advanced backcross progeny. Genetics 154 : 885–891.

Yamamoto, T., Taguchi-Shiobara, F., Ukai, Y., Sasaki, T. and Yano, M. 2001. Mapping quantitative trait loci for days-to-heading, and culm, panicle and internode lengths in a BC₁F₃ population using an elite rice variety, Koshihikari, as the recurrent parent. Breed. Sci. 51 : 63–71.

Yamaya, T., Obara, M., Nakajima, H., Sasaki, S., Hayakawa, T. and Sato, T. 2002. Genetic manipulation and quantitative-trait loci mapping for nitrogen recycling in rice. J. Exp. Bot. 53 : 917–925.

Yang, J., Hu, C. C., Hu, H., Yu, R. D., Xia, Z., Ye, X. Z. and Zhu, J. 2008. QTLNetwork: mapping and visualizing genetic architecture of complex traits in experimental populations. *Bioinformatics* 24 : 721–723.

Yano, M. 2001a. Genetic and molecular dissection of naturally occurring variation. *Curr. Opin. Plant Biol.* 4 : 130–135.

Yano, M. 2001b. Naturally occurring allelic variations as a new resource for functional genomics in rice. In: Kush, G. S., D. S. Brar and B. Hardy Eds. *Rice genetics IV. Proceedings of the Fourth International Rice Genetics Symposium, 22–27 October 2000, Los Baños, Philippines. IRRI, Los Baños, Manila.* 227–238.

矢野昌裕 2001. 作物の遺伝子資源-変異の発掘と創出-. *育種学研究* 3 : 275–279.

矢野昌裕・蛭谷武志・上田忠正・山本伸一・井澤毅 2001. イネ染色体部分置換系統群の作出と有用形質の遺伝解析への利用. *主要な研究成果* 13 : 42–43.

Yates, T. 2006. The use of non-food crops in the UK construction industry. *J. Sci. Food Agric.* 86 : 1790–1796.

Yue, B., Xue, W. Y., Luo, L. J. and Xing, Y. Z. 2006. QTL analysis for flag leaf characteristics and their relationships with yield and yield traits in rice. *Acta Genet. Sin.* 33 : 824–832.

Zhuang, J. Y., Lin, H. X., Lu, J., Qian, H. R., Hittalmani, S., Huang, N. and Zheng, K. L. 1997. Analysis of QTL \times environment interaction for yield components and plant height in rice. *Theor. Appl. Genet.* 95 : 799–808.