

2020年 月  
TG/3/12 2017-04-05 に準拠

# コムギ種

Wheat

(*Triticum aestivum* L.)

案

## コムギ種審査基準

### I. 審査基準の対象(Subject of these Guidelines)

この審査基準は、イネ科 (Poaceae) コムギ属 (*Triticum* L.) のフツウコムギ種 (*T. aestivum* L.) の全ての品種に適用する。

### II. 提出種苗(Material Required)

- i) 種苗の形態 種子
- ii) 提出時期 審査当局が指定する時期
- iii) 数量 3,000 粒

更に当局の要請があった場合は、穂を 120 本以上提出する。提出する種子は、発芽率、純度、含水量等保存に適したものであること。

- iv) 提出する種苗は、重要な病害虫に汚染されていない十分に健全なものであること。
- v) 提出種苗は審査当局が指示した場合を除き薬剤、その他の処理をしていないものであること。もし、処理が行われている場合はその処理の詳細について記載すること。

### III. 試験の実施(Conduct of Tests)

- i) 栽培条件 特性の確認が十分にできる正常な生育が可能な条件下で実施する。
- ii) 最低供試個体数 1,000 個体 (2 区以上に分割)  
穂列試験の場合 100 穂

- iii) 栽培期間 2 生育周期

#### iv) 調査方法

調査個体数 特に指示がない限り、植物体 10 個体又は各個体から採取した部分 10 個とする。

均一性は供試した全ての個体で判定する。

調査時期 特に指示がない限り、特性表の調査方法欄に記載した十進コードの時期に行う。

- v) 特別な試験 特別な条件下でのみ発現する特性があり、出願者が申告し、方法等が十分に提示され、審査当局が合意した場合は特別な栽培試験を実施することがある。

### IV. 判定基準(Standards for decisions)

判定は、登録出願品種審査要領の区別性、均一性及び安定性 (DUS) 審査のための一般基準に基づくものとする。

均一性については、供試個体数が 1000 の場合、許容される異型個体数は 3 である。

また穂列試験における 100 穂の場合、許容される異型個体数は 3 である。

### V. グループ分けに使用する形質(Grouping of Varieties)

- i) 出穂期 (形質 7)
- ii) 護穎の外側の毛の有無 (形質 12)
- iii) 草丈 (形質 13)

- iv) 穂首直下の節間の髓の厚さ (形質 14)
- v) 芒の有無 (形質 17)
- vi) 穂の色 (形質 19)
- vii) まき性 (形質 27)

#### VI. 特性表で使用する記号の説明(Legend)

- G : グループ分けに使用する形質
- (\*) : 品種記載の国際調和のための必須調査形質
- QL : 質的形質
- QN : 量的形質
- PQ : 擬似の質的形質
- (+) : VIII. に特性表の説明図等を示す

MG : 植物体あるいは植物体の一部を集団として測定記録

MS : 植物体あるいは植物体の一部の個々の測定記録

VG : 植物体あるいは植物体の一部を集団として観察記録

VS : 植物体あるいは植物体の一部の個々の観察記録

網掛け (特性表のピンク色の部分) : 願書に添付する説明書 (種苗法施行規則第 7 条、別記様式第 2 号) に出願者が記載する特性及び階級値

#### 状態区分

質的形質及び擬似の質的形質の場合、すべての状態が特性表に記載してある。しかし、5 階級以上の状態がある量的形質の場合、省略した状態が用いられることがある。例えば、9 階級の状態による量的形質の場合、審査基準の状態は、以下のとおりに略されることがある。

状態 (State)		階級 (Note)
(日本語)	(English)	
小	small	3
中	medium	5
大	large	7

しかし、以下の 9 階級の状態を品種の記述として使用できるが、その場合には適切に使用するように留意する。

状態 (State)		階級 (Note)
(日本語)	(English)	
極小	very small	1
かなり小	very small to small	2
小	small	3
やや小	small to medium	4
中	medium	5
やや大	medium to large	6
大	large	7
かなり大	large to very large	8
極大	very large	9

VII. 特性表(Table of Characteristics)

形質番号	UPOV No.	記号	形質 (Characteristics)		定義	調査方法	階級	状態 (State)		標準品種 (Ex. Var.)	備考
			(日本語)	(English)				(日本語)	(English)		
1	1	PQ (+)	種子の色	Seed: color	種子の色	観察 VG 00	1 2 3 4	白 赤 紫 青	white red purple blue	シロガネコムギ*、 農林 61 号*	
2	2	QN (+)	種子のフェノール反応による着色の濃淡	Seed: coloration with phenol	種子のフェノール反応による着色の濃淡	観察 VG 00	1 3 5 7 9	無又は極淡 淡 中 濃 極濃	absent or very light light medium dark very dark		
3	3	QN (+)	しょう葉のアントシアニン着色の強弱	Coleoptile: anthocyanin coloration	本葉が出始めた時のしょう葉のアントシアニン着色の強弱	観察 VG 09-11	1 3 5 7 9	無又は極弱 弱 中 強 極強	absent or very weak weak medium strong very strong	シロガネコムギ*、 農林 61 号*	

形質番号	UPOV No.	記号	形質 (Characteristics)		定義	調査方法	階級	状態 (State)		標準品種 (Ex.Var.)	備考
			(日本語)	(English)				(日本語)	(English)		
4	4	QN (* (+)	草姿	Plant: growth habit	第5～9分けつ期の株の姿	観察 VG 25-29	1 2 3 4 5 6 7 8 9	立 立～半立 半立 半立～中 中 中～半ほふく 半ほふく 半ほふく～ほふく ほふく	erect erect to semi erect semi erect semi erect to intermediate intermediate intermediate to semi prostrate semi prostrate semi prostrate to prostrate prostrate	シロガネコムギ*、 農林 61 号*	
5	5	QN (+)	反曲した止め葉を持つ個体の出現頻度	Plant: frequency of plants with recurved flag leaves	反曲した止め葉を持つ個体の出現頻度	観察 VG 47-51	1 3 5 7 9	無又は極低 低 中 高 極高	absent or very low low medium high very high		
6	6	QN (+)	止め葉の葉耳のアントシアニン着色の強弱	Flag leaf: anthocyanin coloration of auricles	止め葉の葉耳のアントシアニン着色程度	観察 VG 49-60	1 2 3	無又は弱 中 強	absent or weak medium strong		
7	7	QN (* (+) G	出穂期	Time of ear emergence	有効茎数の50%の穂の第1小穂が見えた期日	測定 (日) MG	3 5 7	早 中 晩	early medium late	シロガネコムギ* 農林 61 号*	

形質番号	UPOV No.	記号	形質 (Characteristics)		定義	調査方法	階級	状態 (State)		標準品種 (Ex.Var.)	備考
			(日本語)	(English)				(日本語)	(English)		
8	8	QN (*)	止め葉の葉しょうの白粉の強弱	Flag leaf: glaucosity of sheath	止め葉の葉しょうの白粉の強弱	観察 VG 60-65	1 3 5 7 9	無又は極弱 弱 中 強 極強	absent or very weak weak medium strong very strong		
9	9	QN (+)	止め葉の白粉の強弱	Flag leaf: glaucosity of blade	止め葉の葉身裏面の白粉の強弱	観察 VG 60-65	1 3 5 7 9	無又は極弱 弱 中 強 極強	absent or very weak weak medium strong very strong	シロガネコムギ*、 農林 61 号*	
10	10	QN (*)	穂の白粉の強弱	Ear: glaucosity	穂の白粉の強弱	観察 VG 60-69	1 3 5 7 9	無又は極弱 弱 中 強 極強	absent or very weak weak medium strong very strong		
11	11	QN	穂首の白粉の強弱	Culm: glaucosity of neck	穂首の白粉の強弱	観察 VG 60-69	1 3 5 7 9	無又は極弱 弱 中 強 極強	absent or very weak weak medium strong very strong		
12	12	QL (*) G	護穎の外面の毛の有無	Lower glume: hairiness on external surface	穂中央部の小穂護穎の外面の毛の有無	観察 VG 69-92	1 9	無 有	absent present		

形質番号	UPOV No.	記号	形質 (Characteristics)		定義	調査方法	階級	状態 (State)		標準品種 (Ex.Var.)	備考
			(日本語)	(English)				(日本語)	(English)		
13	13	QN (* G	草丈	Plant: length	植物体の先端までの高さ（長芒、短芒を含まない。）	測定 cm MS 75-92	3 5 7	低 中 高	short medium long		
14	14	QN (* (+) G	穂首節直下の節間の髓の厚さ	Straw: pith in cross section	穂首節直下の節間の中央部の横断面の髓の厚さ	観察 VG 80-92	1 2 3	薄 中 厚又は充満	thin medium thick or filled	シロガネコムギ*、 農林 61 号*	
15	15	QN (* (+)	粒着密度	Ear: density	穂の粒の粗密	観察 VG/ MS 80-92	3 5 7	粗 中 密	lax medium dense	シロガネコムギ*、 農林 61 号*	
16	16	QN	穂の長さ	Ear: length	穂の長さ（長芒、短芒を含まない。）	測定 cm MS 80-92	1 2 3 4 5 6 7 8 9	極短 かなり短 短 やや短 中 やや長 長 かなり長 極長	very short very short to short short short to medium medium medium to long long long to very long very long	シロガネコムギ* 農林 61 号*	
17	17	QL (* (+) G	芒の有無	Ear: scurs or awns	穂の穎の短芒又は長芒の有無	観察 VG 80-92	1 2 3	両方無 短芒有り 長芒有り	both absent scurs present awns present	シロガネコムギ*、 農林 61 号*	



形質番号	UPOV No.	記号	形質 (Characteristics)		定義	調査方法	階級	状態 (State)		標準品種 (Ex.Var.)	備考
			(日本語)	(English)				(日本語)	(English)		
18	18	QN (* (+)	穂の先端の芒の長さ	Ear: length of scurs or awns	穂の先端部に着く粒の短芒又は長芒の長さ	測定 mm MS 80-92	3 5 7	短 中 長	short medium long		
19	19	QL (* (+) G	穂の色	Ear: color	糊熟期～完熟期の穂の色	観察 VG 80-92	1 2	白 着色	white colored	シロガネコムギ* 農林 61 号*	
20	20	PQ (+)	穂の形	Ear: shape in profile	側面から見た穂の形	観察 VG 80-92	1 2 3 4 5	先細 両側平行 やや棍棒状 棍棒状 紡錘状	tapering parallel sided slightly clavate strongly clavate fusiform	シロガネコムギ*、 農林 61 号*	
21	21	QN (+)	穂軸の先端凸部表面の毛	Apical rachis segment: area of hairiness of convex surface	穂軸の先端部表面に着生する毛の面積の大小	観察 VG 80-92	1 3 5 7 9	無又は極小 小 中 大 極大	absent or very small small medium large very large		
22	22	QN (+)	護穎の肩部の幅	Lower glume: shoulder width	穂中央部の小穂護穎の肩部の幅	観察 VG 80-92	1 3 5 7 9	無又は極狭 狭 中 広 極広	absent or very narrow narrow medium broad very broad	ミナミノカオリ* シロガネコムギ*、 ニシノカオリ*	

形質番号	UPOV No.	記号	形質 (Characteristics)		定義	調査方法	階級	状態 (State)		標準品種 (Ex.Var.)	備考
			(日本語)	(English)				(日本語)	(English)		
23	23	QN (+)	護穎の肩部の形	Lower glume: shoulder shape	穂中央部の小穂護穎の 肩部の形	観察 VG 80-92	1 3 5 7 9	強く下がる やや下がる 水平 やや上がる 強く上がる	strongly sloping slightly sloping horizontal slightly elevated strongly elevated	農林 61 号*	
24	24	QN (+)	護穎の嘴の長さ	Lower glume: length of beak	穂中央部の小穂護穎の 先端嘴の長さ	観察 VG 80-92	3 5 7	短 中 長	short medium long	シロガネコムギ* ミナミノカオリ*	
25	25	QN (* (+)	護穎の嘴の形	Lower glume: shape of beak	穂中央部の小穂護穎の 先端嘴の形	観察 VG 80-92	1 3 5 7 9	直 やや曲がる 曲がる 強く曲がる 鋭角に曲がる	straight slightly curved moderately curved strongly curved geniculate		
26	26	QN (+)	護穎の内側の毛	Lower glume: area of hairiness on internal surface	穂中央部の小穂護穎内 面の毛の着生面積の大 小	観察 VG 80-92	1 3 5	極小 中 極大	very small medium very large		
27	27	PQ (* (+ G	まき性	Seasonal type	まき性のタイプ	観察 VG	1 2 3	秋まき型 中間型 春まき型	winter type alternative type spring type	シロガネコムギ*、 農林 61 号*	

形質番号	UPOV No.	記号	形質 (Characteristics)		定義	調査方法	階級	状態 (State)		標準品種 (Ex.Var.)	備考
			(日本語)	(English)				(日本語)	(English)		
電気泳動法を用いる形質 (形質 28~30) Characteristics derived by using Electrophoresis						検定					
28	28	QL (+)	グルテニン組成 : Glu-A1 遺伝子座にある対立遺伝子の発現	Glutenin composition: allele expression at locus Glu-A1	Glu-A1 遺伝子座にある対立遺伝子の発現型によるグルテニン組成		1 2 3	バンド 1 バンド 2 バンド無し	band 1 band 2 no band	農林 61 号* シロガネコムギ*	
29	29	QL (+)	グルテニン組成 : Glu-B1 遺伝子座にある対立遺伝子の発現	Glutenin composition: allele expression at locus Glu-B1	Glu-B1 遺伝子座にある対立遺伝子の発現型によるグルテニン組成		1 2 3 4 5 6 7 8 9	バンド 6+8 バンド 7+8 バンド 7+9 バンド 7(又は形質 30 のバンド 5+10 とともにバンド 7+9) バンド 13+16 バンド 14+15 バンド 17+18 バンド 20 バンド 6.1+22	bands 6+8 bands 7+8 bands 7+9 band 7(or 7+9 in the presence of bands 5+10 of char. Glu-D1) bands 13+16 bands 14+15 bands 17+18 band 20 bands 6.1+22	シロガネコムギ*、 農林 61 号*	
30	30	QL (+)	グルテニン組成 : Glu-D1 遺伝子座にある対立遺伝子の発現	Glutenin composition: allele expression at locus Glu-D1	Glu-D1 遺伝子座にある対立遺伝子の発現型によるグルテニン組成		1 2 3 4 5	バンド 2+12 バンド 3+12 バンド 4+12 バンド 5+10 バンド 2.2+12	bands 2+12 bands 3+12 bands 4+12 bands 5+10 bands 2.2+12	シロガネコムギ*、 農林 61 号*	

形質番号	UPOV No.	記号	形質 (Characteristics)		定義	調査方法	階級	状態 (State)		標準品種 (Ex.Var.)	備考
			(日本語)	(English)				(日本語)	(English)		
31		QN	稈の長さ	Stem: length	最長稈の地際から穂首節までの長さ	測定 cm MS 80-92	1 2 3 4 5 6 7 8 9	極短 かなり短 短 やや短 中 やや長 長 かなり長 極長	very short very short to short short short to medium medium medium to long long long to very long very long	シロガネコムギ*  農林 61 号*	
32		PQ	稈の色	Glume: color	完熟期の稈の色	観察 VG 91-92	1 2 3 4 5 6 7 8 9	淡黄 黄 黄褐 褐 赤褐 赤 赤紫 紫 濃紫	light yellow yellow yellowish brown brown reddish brown red reddish purple purple deep purple	シロガネコムギ*  農林 61 号*	
33		PQ	粒の形	Grain: shape	原麦粒の長さとの幅の比	観察 VG 92	1 2 3 4	極円 円 楕円 狭楕円	round round to oval oval slender	シロガネコムギ*、 農林 61 号*	

形質番号	UPOV No.	記号	形質 (Characteristics)		定義	調査方法	階級	状態 (State)		標準品種 (Ex.Var.)	備考
			(日本語)	(English)				(日本語)	(English)		
34		QN	千粒重	1000 grain weight	原麦粒の千粒の重さ	測定 g MG 92	3 5 7	小 中 大	low medium high	シロガネコムギ*、 農林 61 号*	
35		QL	うるち・もちの別	Grain: endosperm type	胚乳でんぷんのうるち性、もち性の別	観察 VS 92	1 2	うるち もち	non-glutinous glutinous	シロガネコムギ*、 農林 61 号*	
36		QN	成熟期	Time of maturity	全穂数の 80% の穂首部が黄化し、粒の硬さがろう程度になった日	観察 MG	3 5 7	早 中 晩	early medium late	シロガネコムギ* 農林 61 号*	
37		QN	粒質	Grain: glassiness	硝子率による粒質の別（硝子率が 70% 以上の場合を硝子質、30% 以下の場合を粉質とする。）	測定 MG 92	1 2 3	粉質 中間質 硝子質	floury medium glassy	シロガネコムギ*、 農林 61 号*	

\*標準品種欄の「シロガネコムギ」、「農林 61 号」、「ミナミノカオリ」及び「ニシノカオリ」は、暖地・温暖地における標準品種である（標準品種設定に際して調査を実施した調査地：福岡県筑後市、茨城県つくば市、広島県福山市）。

## VIII. 特性表の説明(Explanations on the Table of Characteristics)

### 形質 1 種子の色 Char.1 Seed: color

種子の色は乾いた種子または NaOH 溶液 (5M NaOH 溶液に 60℃で 10 分間または室温で 60 分間浸した種子) を使用して観察する。

### 形質 2 種子のフェノール反応による着色

#### Char.2 Seed: coloration with phenol

フェノールによる種子の着色は、紫あるいは青系の種子では観察できない。

#### フェノール反応の方法

供試粒数	100 粒 (無処理の粒を使用すること)
調整	16-20 時間流水に浸した後、縦溝を下にして蓋付きシャーレに置床
試薬の作成	1% フェノール溶液(試験毎に作成)
試薬の量	粒の 3/4 を浸す
試験場所	実験室
光条件	直射の当たらない自然光下
温度	18-20℃
調査時期	浸漬後 4 時間
階級値	判定の指標として少なくとも 2 以上の標準品種を含めること。 同じ結果が得られる場合は、任意の代替法を使用できる。

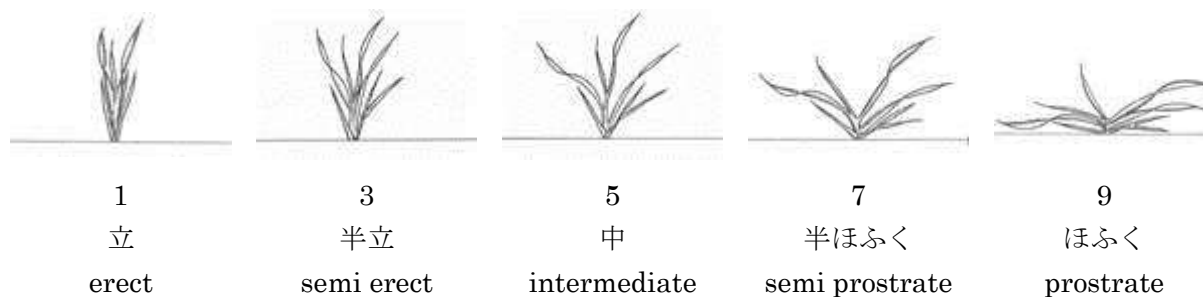
### 形質 3 しょう葉のアントシアニン着色 Char.3 Coleoptile: anthocyanin coloration

#### アントシアニン着色程度の調査方法

供試粒数	100 粒
粒の準備	休眠していない粒をシャーレ内の湿潤ろ紙上に置床し発芽させる。
試験場所	実験室又は温室内
光条件	しょう葉が約 1 cm になるまでは暗黒条件下で、その後、3~4 日 15,000Lux の連続光条件下。
温度	15~20℃
調査時期	しょう葉が十分に生育した時期 (約 1 週間) 生育コード表の 09-11
階級値	区別性の試験には、判定の指標として少なくとも 2 以上の標準品種を含めること。 同じ結果が得られる場合は、任意の代替法を使用できる。

形質4 草姿 Char.4 Plant: growth habit

草姿は葉と分げつの状態の観察による。外側の葉と分げつが仮想の垂直軸と作る角度を用いる。



形質5 反曲した止め葉を持つ個体の出現頻度

Char.5 Plant: frequency of plants with recurved flag leaves

- 1 (無又は極低) : 全ての個体が直立 all or almost all flag leaves are rectilinear
- 3 (低) : 約 1/4 の個体が反曲 about 1/4 of the plants with recurved flag leaves
- 5 (中) : 約 1/2 の個体が反曲 about 1/2 of the plants with recurved flag leaves
- 7 (高) : 約 3/4 の個体が反曲 about 3/4 of the plants with recurved flag leaves
- 9 (極高) : 全ての個体が反曲 all or almost all flag leaves are recurved

形質6 止め葉の葉耳のアントシアニン着色

Char.6 Flag leaf: anthocyanin coloration of auricles

ステージ 49 と 60 の間の適切な評価時期は場所に応じて決定する。全ての品種は同じステージで評価する必要がある。

形質7 出穂期 Char.7 Time of ear emergence

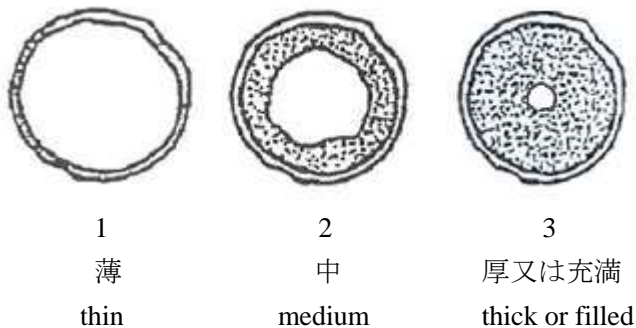
有効茎数の 50% の穂の第 1 小穂が見えた日

形質9 止め葉の白粉 Char.9 Flag leaf: glaucosity of blade

観察は止め葉の裏側で行う。

形質 14 穂首節直下の節間の髓の厚さ Char.10 Straw: pith in cross section

横断面の髓は穂首節と最上節の間で観察する。植物体を代表する茎を複数調べて、最も高い評点を記録する。



形質 15 粒着密度 Char.15 Ear: density

密度は、小穂数/穂長の割合で評価する。

形質 17 芒の有無 Char.17 Ear: scurs or awns

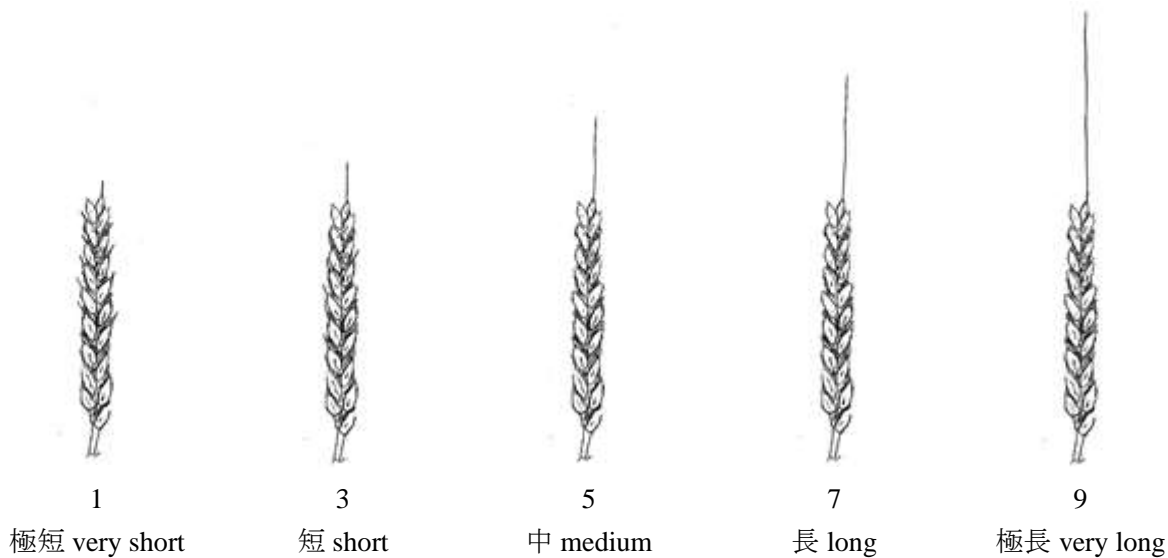
観察は穂の先端で行う。





形質 18 穂の先端の芒の長さ Char.18 Ear: length of scurs or awns

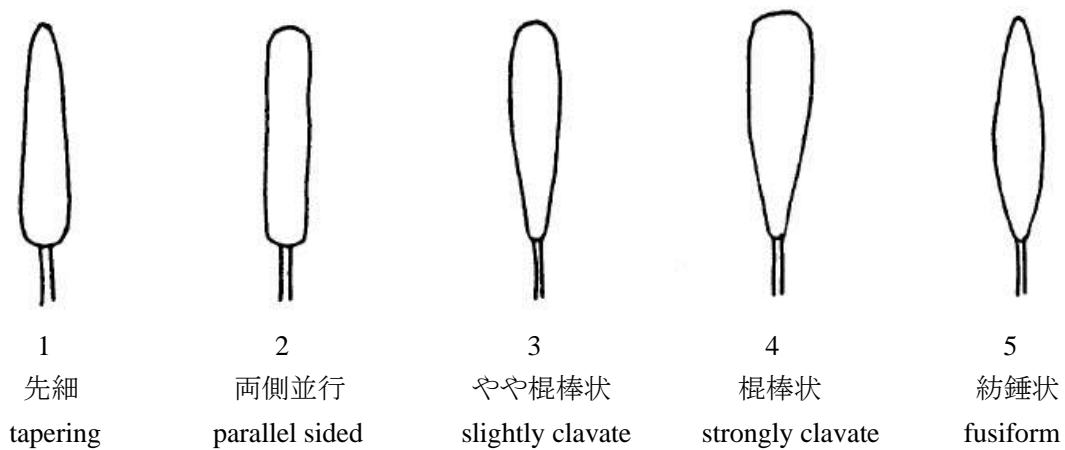
短芒も長芒もない品種では観察できない。観察は穂の先端で行う。



形質 19 穂の色 Char.19 Ear: color

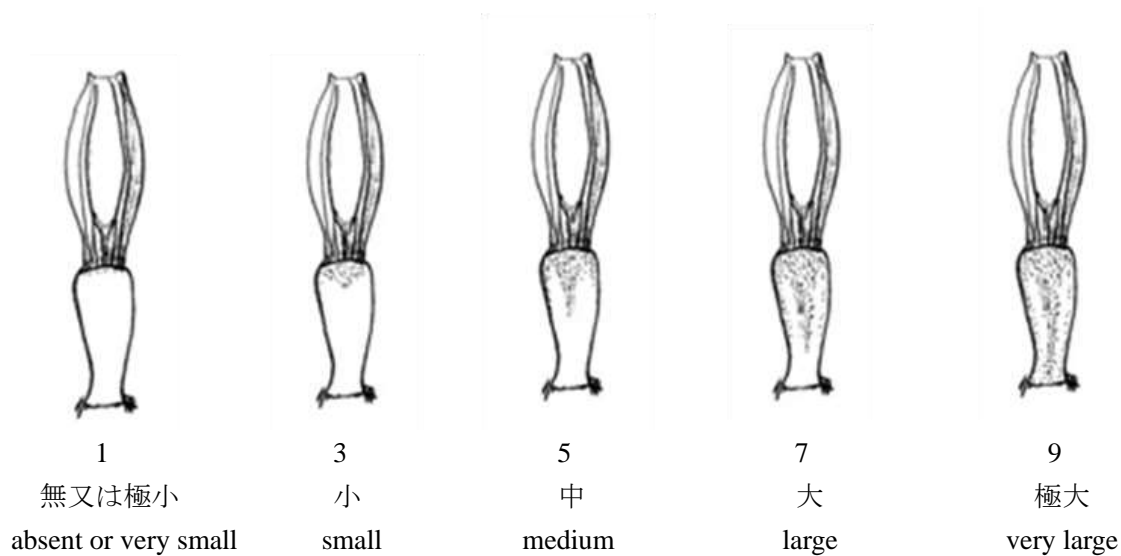
白い穂の品種は、環境条件のためにわずかに色が付いている場合がある。

形質 20 穂の形 Char.20 Ear: shape in profile

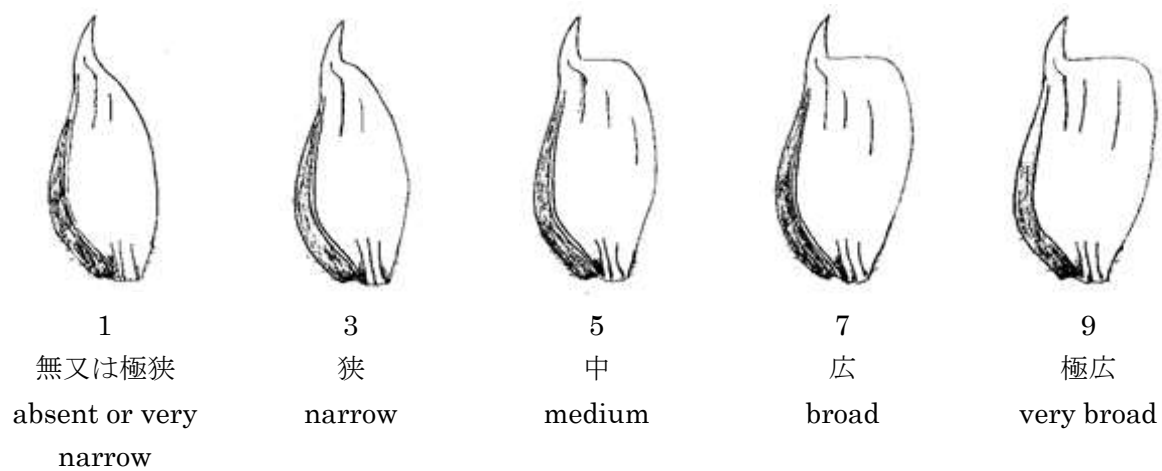


形質 21 穂軸の先端凸部表面の毛

Char.21 Apical rachis segment: area of hairiness of convex surface



形質 22 護穎の肩部の幅 Char.22 Lower glume: shoulder width



形質 23 護穎の肩部の形 Char.23 Lower glume: shoulder shape



1

強く下がる  
strongly sloping



3

やや下がる  
slightly sloping



5

水平  
horizontal



7

やや上がる  
slightly elevated



9

強く上がる  
strongly elevated

形質 24 護穎の嘴の長さ Char.24 Lower glume: length of beak



1

極短  
very short



3

短  
short



5

中  
medium



7

長  
long



9

極長  
very long

形質 25 護穎の嘴の形 Char.25 Lower glume: shape of beak



1

直  
straight



3

やや曲がる  
slightly curved



5

曲がる  
moderately curved



7

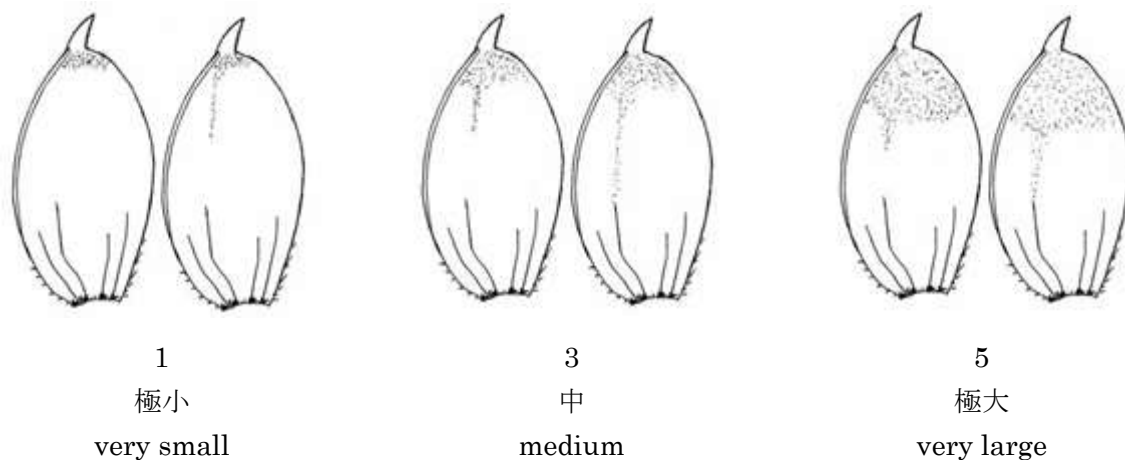
強く曲がる  
strongly curved



9

鋭角に曲がる  
geniculate

形質 26 護穎の内側の毛 Char.26 Lower glume: area of hairiness on internal surface



形質 27 まき性 Char.27 Seasonal type

まき性調査（春化の必要性）は、標準品種を加えて全ての品種を春まきする。

最も遅い春まき品種が完全に成熟した時期（十進コード表のステージ 91/92 に達したとき）に、供試した各品種の状態を調査する。各タイプの状態は以下に示す。

秋まき型	最大で十進コード表のステージ 45 になる。
中間型	十進コード表のステージ 45 を超えて、一般にステージ 75 以上になり、最大でステージ 90 となる。
春まき型	十進コード表のステージ 90 を超える。

形質 28-30 電気泳動法の説明 Char.28-30 Description of the method to be used

#### 1. 器具と設備

ゲルを一定の温度で保つことができる適切な垂直電気泳動システムを使用する。ゲルの厚さは 1.5mm 以下を推奨する。使用する電源は、定電流、定電圧出力の両方ともできるべきである。

#### 2. 試薬

アクリルアミド（電気泳動用に特別に精製したもの）

ビスアクリルアミド（同上）

TRIS（トリスヒドロキシメチルアミノメタン）

SDS（ドデシル硫酸ナトリウム）

APS（過硫酸アンモニウム）

2-メルカプトエタノール

TEMED（テトラメチルサイレンジアミン）

TCA（クエン酸）

塩酸  
氷酢酸  
グリシン  
ブタノール  
ピロニン Y (又は G)  
グリセリン  
メタノールまたはエタノール  
クマシーブリリアントブルー R-250  
クマシーブリリアントブルー G-250

### 3. 溶液

#### 3.1 抽出液

##### 3.1.1 グルテニンの抽出のみ

貯蔵液：

6.25 ml 1M TRIS HCl 緩衝液, PH 6.8 (3.3.2 参照)

12.05 ml 蒸留水

2g SDS

10 mg ピロニン Y (又は G)

10 ml グリセリン

この溶液は 4°C で 2 ヶ月保存できる。

使用直前に抽出液を以下のように調整する。

4.25ml 貯蔵液 (上記) に 0.75ml の 2-メルカプトエタノールに蒸留水を加えて 10ml にする。この溶液は使用直前に準備する必要があり、保存することはできない。

##### 3.1.2 グリアジンの後のグルテニンの抽出

A 液 - 25ml 2-メルカプトエタノール + 50mg ピロニン Y/G に蒸留水を加えて 100ml にする。

B 液 - 27.0g 尿素、3.0ml 2-メルカプトエタノール + 10.0g SDS に蒸留水を加えて 100ml にする。

#### 3.2 電気泳動 (通電) 用緩衝液

保存液

グリシン 141.1g と TRIS 30.0g、SDS 10.0 g に蒸留水を加えて 1 ℓ とする。

使用直前に、保存液を蒸留水で 1 : 10 に希釈する。

保存緩衝液は室温で 2 か月保存が可能である。希釈緩衝液は 1 週間以上おかないこと。緩衝液の pH は 8.3 近くとする。

#### 3.3 ゲル調製液

##### 3.3.1 分解用ゲルの保存緩衝液 (1M TRIS HCl、pH 8.8)

TRIS 121.14g と塩酸 (d=1.19) 20ml に蒸留水を加えて 1 ℓ とする。この緩衝液は 4 °C で 2 か月保存が可能である。

### 3.3.2 スタッキングゲル保存緩衝液 (1M TRIS HCl、pH 6.8)

TRIS 121.14 g と塩酸 78ml に蒸留水を加えて 1ℓとする。この緩衝液は 4℃で 2か月保存が可能である。

### 3.3.3 10%(w/v)ドデシル硫酸ナトリウム液

SDS 10g を蒸留水に溶かして 100ml とする。この保存液は 4℃で 2か月保存が可能である。使用に先立って、SDS が結晶化していたら、攪拌してゆるやかに温めて SDS を溶解させる。

### 3.3.4 1%(w/v)過硫酸アンモニウム液

APS 1g を蒸留水に溶かして 100ml とする。この溶液は使用直前に作る。

### 3.3.5 アクリルアミド保存液

アクリルアミド 40.02g に蒸留水を加えて 100ml とする。

### 3.3.6 ビスアクリルアミド保存液

ビスアクリルアミド 0.5198g に蒸留水を加えて 130ml とする。

## 3.4 染色液

3.4.1 クマシーブリリアントブルー G-250 0.25g とクマシーブルリリアントブルー R-250 0.75g に蒸留水を加えて 100ml とする。

3.4.2 TCA 55g と氷酢酸 65ml、メタノールまたはエタノール 180ml、3.4.1 液 25ml に蒸留水を加えて 1ℓとする。

## 4. 手順

### 4.1 タンパクの抽出

#### 4.1.1 グルテニンのみの抽出

種子をハンマー（他の道具でも可）で粉砕する。粉と、希釈した試料抽出緩衝液 (3.1.1)を、ねじ蓋か密閉蓋のついた 3ml 容量のポリエチレン製血液遠心分離用チューブの中に入れて混ぜる。粉と抽出緩衝液の割合は、50mg/0.75ml とする。試料抽出は室温で 2時間かかる。その間に数回、ボルテックスミキサーにかけて攪拌し、その後、沸騰させた湯煎器で 10 分間温存させて冷却する。チューブを 18,000 g で 5 分間遠心分離する。

#### 4.1.2 グリアジンの後のグルテニンの抽出

グルテニンとグリアジンを同じ麦粒から分析できる。グリアジン抽出のため、はじめに粉砕粉（1粒または半粒）と A液(3.1.2) 0.25ml をマイクロ滴定板かマイクロ遠心管に入れて、室温で一晩培養する。次にグルテニン抽出のために、粉砕粉に B液 (3.1.2) 0.5ml を加えて、室温で一晩培養する。

泳動しようとする抽出物の量はゲルの厚さや泳動槽の大きさによって異なる。一般には、10 $\mu$ l ないし 25 $\mu$ l あれば十分である。

## 4.2 ゲルの準備

用いる装置のデザインに従って、清潔で十分に乾燥したゲルカセットを組み立てる。カセットのシールにテープを用いるときは、テープがなれてよく着くよう、少なくとも使用する1日前に装置を組み立てるとよい。

### 4.2.1 分解用ゲル（10%アクリルアミド、pH 8.8）

二枚垂直型ゲル（180mm $\times$ 160mm $\times$ 1.5mm）を作成するため、アクリルアミド保存液(3.3.5) 20ml、ビスアクリルアミド保存液(3.3.6) 26ml、ゲル保存液(3.3.1) 30mlを室温で混合する。混合液は 100ml の真空フラスコ内で 2~3 分かけてガス抜きをする。これに、APS(3.3.4) 2ml と SDS(3.3.3.) 0.8ml、TEMED 40 $\mu$ l（瓶から直接供試）を加える。次に、空気泡を立てないようにゲルを注意深く注入して、室温に置いて重合させる。

ゲルカセットは満杯にせず、スタッキングゲルのために 3~4cm の空気を残しておく。ゲルの表面にはピペットを用いてブタノール（または蒸留水）で注意深く覆う。30 分ほどで重合が終わるので、ゲル表面を蒸留水で注意深くすすぎ、ろ紙で乾かす。

### 4.2.2 分解用ゲル（7%アクリルアミド、pH 8.8）

サブユニット 2 と 2\* を分解するため、7%濃度のアクリルアミドが必要である。

二枚垂直型ゲル（180mm $\times$ 160mm $\times$ 1.5mm）を作製するため、アクリルアミド保存液(3.3.5) 14ml と蒸留水 6ml、ビスアクリルアミド保存液(3.3.6) 26ml、ゲル保存液(3.3.1) 30ml を室温で混合する。混合液は 100ml の真空フラスコ内で 2~3 分かけてガス抜きする。これに、APS(3.3.4) 2ml と SDS(3.3.3.) 0.8ml、TEMED 40 $\mu$ l（瓶から直接供試）を加える。次に、空気泡を立てないようにゲルを注意深く注入して、室温に置いて重合させる。

ゲルカセットは満杯にせず、スタッキングゲルのために 3~4cm の空気を残しておく。ゲルの表面にはピペットを用いてブタノール（または蒸留水）で注意深く覆う。30 分ほどで重合が終わるので、ゲル表面を蒸留水で注意深くすすぎ、ろ紙で乾かす。

### 4.2.3 スタッキングゲル（3%のアクリルアミド、pH 6.8）

50ml の真空フラスコにアクリルアミド保存液(3.3.5) 1.50ml とビスアクリルアミド保存液(3.3.6) 2.15ml、ゲル緩衝保存液(3.3.2) 2.50ml、の蒸留水 13.15ml を入れて混合する。ガス抜き後、これに APS(3.3.4) 0.75ml との SDS(3.3.3) 0.2ml、TEMED 15 $\mu$ l（瓶から直接供試）を加える。

これを注意深く混合後、すぐに、スタッキングゲルをゲルカセットの上端まで注ぎ入れる。空気泡を立てないようにサンプルコームを挿入して、室温で 2 時間重合

させる。そののちコームをゲルカセットから静かに抜いて、希釈泳動緩衝液(3.2)で泳動槽をすすぐ。

#### 4.3 電気泳動

泳動槽に適量の通電用緩衝液(3.2)を満たし、15°Cに冷却する。試料を投入後、ピロニンY/Gがスタッキングゲルを通り抜けるまで 8mA/cm<sup>2</sup> (断面積) の定常電流で電気泳動を行い、さらにマーカがゲルの下端に達するまで 16mA/cm<sup>2</sup> (最大電圧 300V) で泳動を続ける。温度は常に 15°Cを維持する。

#### 4.4 静置および染色

ゲルカセットを泳動槽から取り出して開き、ゲルを 15%(w/v) TCA 250ml 溶液内で少なくとも 30 分間静置する。ゲルを蒸留水ですすぎ、染色液(3.4.2) 250ml を用いて室温で一晩染色する。脱色は必ずしも必要ないが、ゲルはポリエチレン袋で密閉される前に蒸留水で洗うべきである。

他の染色法も利用できる(例えば、コマシーブリリアントブルーGや同濃度のTCAのみ)。ゲルの調製と染色の最終的な品質調節基準は、ゲルに現れた標準品種を分析して決める。相対電気泳動の移動度(分子量)は明確な判断のために明瞭でなければならない。

### 5. グルテニン対立遺伝子の識別

この表は各遺伝子座からの全てのグルテニンバンドの分子量を説明するために設計されている。

HMW グルテニンのサブユニット：個々のバンドの命名

Band number	Molecular weight (kDa)
1	113
2	108
2*	108
3	107
4	106
5	105
6	100
6.1	99
7	98
8	86
9	83
10	83
12	80
13	94
14	94
15	91
16	90
17	89.5
18	89.5
20	94
22	87



形質 28 Glu-A1 遺伝子座にある対立遺伝子の発現

Char.28 Allele expression at locus Glu-A1

		Note		
		1	2	3
1	(113)---	1---		
2/2*	(108)---		2*---	no band
3	(107)---			
4	(106)---			
5	(105)---			
6	(100)---			
6.1	(99)---			
7	(98)---			
13/14/20	(94)---			
15	(91)---			
16/17/18	(90/89.5)---			
22	(87)---			
8	(86)---			
9/10	(83)---			
12	(80)---			

形質 29 Glu-B1 遺伝子座にある対立遺伝子の発現

Char.29 Allele expression at locus Glu-B1

		Note								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	(113)---									
2/2*	(108)---									
3	(107)---									
4	(106)---									
5	(105)---									
6	(100)---	6---								
6.1	(99)---									6.1---
7	(98)---		7---	7---	7---					
13/14/20	(94)---					13---	14---		20---	
15	(91)---						15---			
16/17/18	(90/89.5)---					16---		17/18---		
22	(87)---									22---
8	(86)---	8---	8---							
9/10	(83)---			9---						
12	(80)---									

形質 30 Glu-D1 遺伝子座にある対立遺伝子の発現

Char.30 Allele expression at locus Glu-D1

		Note			
		1	2	3	4
1	(113)---				
2/2*	(108)---	2---			
3	(107)---		3---		
4	(106)---			4---	
5	(105)---				5---
6	(100)---				
6.1	(99)---				
7	(98)---				
13/14/20	(94)---				
15	(91)---				
16/17/18	(90/89.5)---				
22	(87)---				
8	(86)---				
9/10	(83)---				10---
12	(80)---	12---	12---	12---	

備考：特定のバンド（例えばバンド 9 及び 10）は分子量が類似している。これは、Glu-D1（形質 30）のバンド 5+10 の存在下では、Glu-B1（形質 29）のバンド 7 及びバンド 7+9 が互いに識別することができないことになる。そこで、Glu-D1 のバンド 5+10 の存在下では、Glu-B1 の階級値 4 がバンド 7 又はバンド 7+9 のいずれかであり得る。分子量が類似する他のバンドはそれらの既知の関係から互いに識別できる。Glu-B1 では、バンド 20 は単独であるが、バンド 13 は常にバンド 16 と、バンド 14 は常にバンド 15 と結びついている。

形質 37 粉質 Char.37 Grain: glassiness

以下の計算式により、硝子率を算出する。

硝子率（%）の計算式

$$= (1 \times [\text{硝子質粒の数}] + 0.5 \times [\text{中間質粒の数}] + 0 \times [\text{粉質粒の数}]) / [\text{全調査粒数}] \times 100$$

（硝子質粒を 1、中間質粒を 0.5、粉質粒を 0 とする重み付け平均）

硝子質粒：切断面の 70% 以上が半透明の硝子状になっているもの

中間質粒：切断面の 30%～70% が半透明の硝子状になっているもの

粉質粒：切断面の 30% 以下が半透明の硝子状になっているもの

硝子率が 70% 以上を硝子質、30% 以下を粉質、その中間を中間質とする。

## IX. 生育ステージに関する十進コード

*The descriptions of the growth stages of the Zadoks decimal code for cereals*

<b>Zadoks</b>		<b>Zadoks</b>	
<b>Decimal</b>	<b>一般記述 Description</b>	<b>Decimal</b>	<b>一般記述 Description</b>
<b>code</b>		<b>code</b>	
	<u>発芽 Germination</u>		<u>分けつ期 Tillering</u>
00	乾燥種子 Dry seed	20	主茎のみ Main shoot only
01	吸水開始 Start of imbibition	21	主茎及び第1分けつ Main shoot and 1 tiller
03	吸水完了 Imbibition complete	22	主茎及び第2分けつ Main shoot and 2 tillers
05	穎果から幼根の出現 Radicle emerged from seed	23	主茎及び第3分けつ Main shoot and 3 tillers
07	穎果からしょう葉の出現 Coleoptile emerged from seed	24	主茎及び第4分けつ Main shoot and 4 tillers
09	しょう葉先端に葉がのぞく Leaf just at coleoptile tip	25	主茎及び第5分けつ Main shoot and 5 tillers
	<u>苗の生長 Seedling growth</u>	26	主茎及び第6分けつ Main shoot and 6 tillers
10	しょう葉から第1葉が出る First leaf through coleoptile	27	主茎及び第7分けつ Main shoot and 7 tillers
11	第1葉の展開 First leaf unfolded	28	主茎及び第8分けつ Main shoot and 8 tillers
12	第2葉の展開 2 leaves unfolded	29	主茎及び第9又はそれ以上の分けつ Main shoot and 9 or more tillers
13	第3葉の展開 3 leaves unfolded		<u>茎の伸長 Stem elongation</u>
14	第4葉の展開 4 leaves unfolded	30	偽茎の立ち上がり Pseudo stem erection
15	第5葉の展開 5 leaves unfolded	31	第1節が認められる 1st node detectable
16	第6葉の展開 6 leaves unfolded	32	第2節が認められる 2nd node detectable
17	第7葉の展開 7 leaves unfolded	33	第3節が認められる 3rd node detectable
18	第8葉の展開 8 leaves unfolded	34	第4節が認められる 4th node detectable
19	第9葉又はそれ以上の展開 9 or more leaves unfolded	35	第5節が認められる 5th node detectable

Zadoks Decimal code	説明 Description	Zadoks Decimal code	説明 Description
36	第6節が認められる 6th node detectable		<u>開花期 Anthesis</u>
37	止め葉が認められる Flag leaf just visible	60	開花始め Beginning on anthesis
39	止め葉の葉舌／襟の視認期 Flag leaf ligule/collar just visible	65	開花半分 Anthesis half-way
		69	開花完了 Anthesis completed
	<u>穂ばらみ期 Booting</u>		
41	止め葉の葉しょうの伸展 Flag leaf sheath extending		<u>乳熟期 Milk development</u>
43	穂ばらみ視認期 Boots just visibly swollen	71	穎果に水分が満ちる Kernel watery ripe
45	穂ばらみ期 Boots swollen	73	乳熟初期 Early milk
47	止め葉の葉しょうの開裂 Flag leaf sheath opening	75	乳熟中期 Medium milk
49	最初の芒の視認 First awns visible	77	乳熟後期 Late milk
	<u>出穂期 Inflorescence emergence</u>		<u>糊熟期 Dough development</u>
50	第1小穂（頂花）視認期 First spikelet of inflorescence visible	80	-
51	-	83	糊熟前期 Early dough
53	穂の1/4出穂 1/4 of inflorescence emerged	85	糊熟（中）期 Soft dough
55	穂の1/2出穂 1/2 of inflorescence emerged	87	糊熟後期 Hard dough
57	穂の3/4出穂 3/4 of inflorescence emerged		
59	出穂完了期 Emergence of inflorescence completed		<u>完熟期 Ripening</u>
		91	穎果が硬化（親指の爪で割ることが困難） Kernel hard (difficult to divide with thumbnail)
		92	穎果が硬化（親指の爪で窪みがつかない） Kernel hard (can no longer be dented with thumbnail)

---

**Zadoks****Decimal 説明 Description****code**

---

93	穎が日中緩む Kernel loosening in daytime
94	過熟、茎の枯れ上がり及び倒伏 Overripe, straw dead and collapsing
95	種子の休眠 Seed dormant
96	完熟種子の発芽力が 50%に上がる Viable seed giving 50% germination
97	種子休眠がとける Seed not dormant
98	二次休眠の誘発 Secondary dormancy induced
99	二次休眠の消失 Secondary dormancy lost