

## 「彩のかがやき」遺伝的背景を持つ低アミロース性極晩生系統の作出

宗方 淳\*・大岡直人\*\*・大戸敦也\*\*・荒川 誠\*\*\*・福田昌治\*\*\*\*

### Development of Isogenic Lines of ‘Sainokagayaki’ with Low Amylose in the Endosperm and Late Heading.

Jun MUNAKATA, Naoto OOKA, Atsuya OTO, Makoto ARAKAWA and Masaharu FUKUDA

**要約** 近年、埼玉県では主穀作農家の大規模化が進んでいる。さらなる規模拡大を進めるには、制限要因の一つとなっている収穫作業の分散が重要となるため、「彩のかがやき」より熟期が遅い品種の導入が有効であると考えられる。しかし、熟期が遅くなると登熟期間が低温になるため、アミロース含量の増加による食味低下が懸念される。そこで本研究では、「彩のかがやき」「北海 PL9」および「むさしの 29 号」を用いた交配を行い、「彩のかがやき」を遺伝的背景に持ち、低アミロース性 QTL (*qAC9.3*) を導入した極晩生系統を作出した。育成した 12 系統のアミロース含量は「彩のかがやき」よりも 2.6~3.1 ポイント低く、*qAC9.3* の導入効果が確認された。また、ゲノムの 97.2% は「彩のかがやき」型と推定され、イネ縞葉枯病抵抗性遺伝子、穂いもち病抵抗性遺伝子、ツマグロヨコバイ抵抗性遺伝子を保有すると推定された。一方、収量性については「彩のかがやき」より劣っており、実用化のためには更なる改良が必要であると考えられた。本育成系統はアミロース含量を適度に低下させ、「彩のかがやき」由来の病虫害抵抗性遺伝子を付与することのできる交配母本として有用性は高いと考えられる。

埼玉県の水稻品種構成は中生品種「コシヒカリ」が 34%、「彩のきずな」(荒川ら, 2013) が 16%、「キヌヒカリ」が 8%、晩生品種「彩のかがやき」(荒川ら, 2003) が 31%となっている(令和元年度埼玉県庁農林部生産振興課調べ)。また、中生・晩生品種が水稻作付面積の約 9 割を占める状況は 2010 年から現在までほとんど変化していない。

近年、県内大規模農家の経営面積の拡大が進んでいる(2015 農林業センサス)が、さらなる大規模化に対応するためには育苗、移植および収穫作業の省力化や作期拡大による作業分散が不可欠である。育苗と移植については、直播栽培、ロングマット水耕育苗および高密度播種・短期育苗等の様々な省力化技術が開発されている。一方、栽培技術や施肥の調整によって出

穂時期を制御し、収穫期を分散させることは困難であるため、既存品種の作期延長、または、既存品種とは熟期の異なる早生品種や極晩生品種の導入が収穫期分散の有効策となる。作期延長の問題点として、水稻の作付を遅らせると生育期間が短縮して生育量の確保が難しくなるほか、稈長が長くなることによって倒伏の危険性が高まり、通常の作期よりも低収となることが懸念される。また、早生品種の導入は、近年の埼玉県の気象環境に起因する高温登熟障害による品質低下が危惧される。一方、極晩生品種は既存品種と同時期に移植することで生育期間を確保し、登熟期間の高温も回避できるため、作期延長や早生品種導入よりも収量性や品質の面で優れる。このため、本県の品種構成の状況に対しては、極晩生品種の育成・導入が収穫期分

\*遺伝子情報活用担当, \*\*水稻育種担当, \*\*\*企画担当, \*\*\*\*養豚・養鶏担当

散の有効的な手段であると考えられる。

コメの食味は水稻育種における重要なターゲットの一つであり、特に硬さ・粘り等の炊飯米特性は白米のアミロース含量の影響を受ける。一般的に、アミロース含有率の高い品種は炊飯米の粘りが弱くなり、食味が劣る(稲津, 1988)。また、アミロース含量は登熟期の気温により変動することが明らかにされており、高温環境下においてアミロース含量は減少する(Asaoka *et al.* 1984)。一方、低温下では *Wx* タンパク質の増加に伴ってアミロース含量が増加する(Sano *et al.* 1985)ことから、極晩生品種においては、登熟期間の低温によるアミロース含量の増加に起因する食味低下が予想される。これを回避するため、極晩生品種の育成では低アミロース性遺伝子を導入してアミロース含量の増加を抑制し、食味が低下しないようにする必要がある。

低アミロース米品種としてこれまで「彩」(国広ら, 1993)、「おぼろづき」(安東ら, 2007)、「ミルククイーン」(伊勢ら, 2001)等が育成されている。低アミロース性遺伝子として「彩」は *du-a (t)* (菊地, 1988)、「おぼろづき」と「ミルククイーン」は *Wx* 座に座上する *WxI-1* (Ando *et al.* 2010) と *wx-1 (t)* (佐藤ら, 2001) をそれぞれ保有しており、これらの遺伝子は白米のアミロース含量を 10%前後まで低下させる。精白米のアミロース含量が低いほど玄米の白濁値が高まることが知られており(松江ら, 2002)、また、低アミロース米特有のもち臭が発生する。このため、極晩生品種の育成においては、アミロース含量を数ポイントだけ低下させる「北海 PL9」由来の *qAC9.3* (Ando *et al.*) や「空育 162 号」由来の *qAC2* (Takemoto-Kuno *et al.* 2015) 等の QTL を導入することが重要であると考えられる。

近年、埼玉県では高温登熟障害による「彩のかがやき」の品質低下が問題になっており(岡田・石井, 2017)、高温登熟性の優れた品種の開発が求められている。そのような状況の中、埼玉県農業技術研究センターは「彩のかがやき」に高温耐性 QTL *qWB6* (Kobayashi *et al.* 2013) を導入した準同質遺伝子系統「むさしの 29 号」

(大戸ら, 2019) を育成した。「むさしの 29 号」は原品種より熟期が遅いため、極晩生品種を育成するための交配母本として適していると考えられるが、晩生化に関与する遺伝子は解明されていない。そのため、晩生化の候補遺伝子の存在と *qWB6* との関係性が明らかにされれば、育種における出穂期制御のための重要な

情報となり得る。

そこで本研究では、「彩のかがやき」遺伝的背景を持ち、原品種よりアミロース含量が低く、加えて高温登熟性の優れた極晩生系統の作出を目標とし、戻し交配育種法と MAS (Marker Assisted Selection) によって有望系統を作出した。また、育成系統の特性評価を行うとともに、育成途中の分離集団を用いて「むさしの 29 号」が保有する晩生化の候補遺伝子を推定した。

## 材料および方法

### 1 系統の育成経過

「彩のかがやき」に低アミロース性 QTL である *qAC9.3* を導入するため、2014 年に埼玉県農業技術研究センターにおいて「彩のかがやき」を母、「北海 PL9」を父として人工交配を行った(図 1, 表 1)。翌年に「彩のかがやき」を反復親として戻し交配を行い、自殖により BC<sub>1</sub>F<sub>2</sub> 76 個体を得た。DNA マーカーによって遺伝子型が「彩のかがやき」に最も近い 1 個体を選抜し、2016 年に 2 回の戻し交配を実施した。さらに、DNA マーカーにより BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub> を 1 個体選抜した後、世代促進を行った。2017 年に 90 個体の BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub> の中から DNA マーカーにより同様に 2 個体を選抜した。これらに極晩生の特性を付与するために「むさしの 29 号」をかけ合わせ、世代促進を行った後、2018 年に 1,120 個体の F<sub>2</sub> をほ場に展開した。出穂期の比較のため、同ほ場に「彩のかがやき」を移植し、「彩のかがやき」より 7 日程度出穂が遅い 100 個体を選抜した。これらの中から DNA マーカーにより同様に 1 個体を選抜し、後代の F<sub>3</sub> 45 個体から *qAC9.3* の領域が「北海 PL9」型のホモで固定し、その他の遺伝子型が「彩のかがやき」に最も近かった 12 個体を選抜した。これらについて世代促進を行い、2019 年に F<sub>4</sub> 世代 12 系統を生産力検定に供試した。

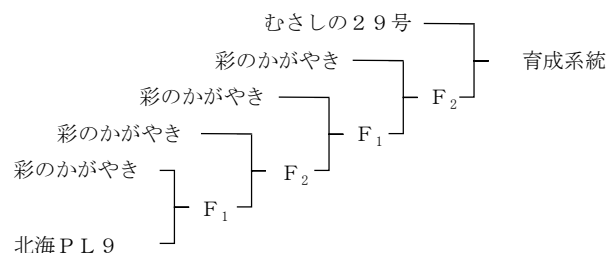


図 1 育成系統の系統図

表 1 系統の育成経過

年次	2014年		2015年		2016年		2017年		2018年		2019年
世代	F <sub>1</sub>	BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub>	BC <sub>1</sub> F <sub>2</sub>	BC <sub>2</sub> F <sub>1</sub>	BC <sub>3</sub> F <sub>1</sub>	BC <sub>3</sub> F <sub>2</sub>	F <sub>1</sub>	F <sub>2</sub>	F <sub>3</sub>	F <sub>4</sub>	
作業	交配	戻し交配	自殖	戻し交配	戻し交配	自殖	交配	自殖	自殖		
個体数		2	76	5	14	90	21	1120	45		
選抜個体数	31粒	1	1	3	1	2	1	1	12		
系統数										12	

## 2 DNA マーカーアシスト選抜

イネ葉身 2~3cm を切り取り、TPS バッファー (100mM Tris-HCl, 10mM EDTA, 1M KCl) 400  $\mu$  L と 5mm ステンレスビーズ 1 個をディープウェルプレートに加え、マルチビーズショッカーMB1200 (安井器械) で粉碎した。破砕液をイソプロパノール沈殿およびエタノール沈殿処理し DNA を抽出した。遺伝子型の解析には、イネゲノムデータベース GRAMENE (<https://www.gramene.org/>) に登録されている単純単複製列 (SSR) マーカー157 種類と岸根・奥西 (2014) が報告した「*mPing*挿入確認に用いたプライマー」の中から 11 種類の合計 168 種類のマーカーを用いた。各 DNA マーカーのイネ染色体上での座位置は「日本晴」全ゲノム参照配列 (IRGSP 1.0) のデータを参照した。*qAC9.3*の選抜にはこの QTL に連鎖する RM23753 と RM23823 を、*qWB6*の選抜には RM19373 と No.127 (岸根・奥西, 2014) をそれぞれ用いた。PCR 反応液の組成は 2  $\mu$  L の鋳型 DNA に 200nM の各プライマーと 5  $\mu$  L の 2xGotaq Master Mix (Promega) を加え 10  $\mu$  L とした。PCR 条件は 94°C 5 分の後、94°C 45 秒・55°C 90 秒を 35 サイクル繰り返し、55°C 7 分の最終伸長を行った。得られた増幅産物を 3%アガロースゲルで泳動し、大きさの違いから各マーカーにおける遺伝子型を判定した。

## 3 育成系統の特性調査

育成系統 (A4, A5, A6, A8, B8, B9, B10, B11, C7, C10, D2, D7) について、生産力検定を実施し特性を調査した。移植は 2019 年 5 月 8 日に行い、栽植密度は株間 18 cm, 畝間 30 cm, 施肥量 (窒素成分/a) は、基肥 0.5kg, 中間肥 0.2kg (移植後 42 日), 穂肥 0.3kg (7 月 22 日) とした。調査方法は奨励品種決定調査に準じた。加えて、DNA マーカー検定によりいもち病真性抵抗性遺伝子の推定を行った。遺伝子型の判定は、*Pia* は Okuyama *et al.* (2011), *Pii* は Takagi *et al.* (2013) および太田・野々上 (2015), *Pik* と *Pik-*

*m* は野々上ら (2018) の報告したプライマーを用いた。

## 4 白米のアミロース含量の測定

生産力検定で得られた玄米を 90%に精米し、MF10 連続式ミル (IKA) で粉碎した。得られた白米粉 100mg に 99.5%エタノールを 0.5mL, 0.5 N の水酸化ナトリウム溶液を 5.0mL, 蒸留水を 4.5mL 加えて糊化させた後、オートアナライザ 3 型 (BLTEC) を用いてアミロース含量を測定した。測定は各系統につき 4 反復実施した。

## 5 *qWB6* と出穂期との関連性調査

2018 年にほ場に展開した F<sub>2</sub> から「彩のかがやき」と同時期に出穂した株と「彩のかがやき」より 7 日程度遅く出穂した株をそれぞれ 100 個体ずつ選抜した。前述と同様の手法により、*qWB6* 領域内に存在する *mPing* 挿入 No.127 と No.127 から約 22Mb 下流の No.145 (岸根・奥西, 2014) の多型を解析し、各マーカーの遺伝子型 (ホモ・ヘテロ) における個体数を調査した。

## 6 出穂期遺伝子 *Hd17* の配列解析

「むさしの 29 号」「彩のかがやき」「日本晴」および「コシヒカリ」について、出穂期遺伝子 *Hd17* の塩基配列を解析した。Mastubara *et al.* (2012) が報告したプライマー (SNP\_4) を用い、*Hd17* の機能に関与する一塩基多型 (SNPs) を含むエクソン領域を PCR により増幅した。増幅産物を BigDye Terminator v3.1 でサイクルシーケンス反応させ、3500 ジェネティックアナライザ (Thermo Fisher Scientific) を用いたダイレクトシーケンス法により塩基配列を解析した。

## 結果

### 1 育成系統のグラフ遺伝子型

DNA マーカーによる検定の結果、育成した 12 系統

は全て同じ遺伝子型を有しており、第6染色体の約2.3Mb (RM19349からRM2434間)が「むさしの29号」型に、第9染色体の約7.0Mb (RM5688からRM23823間)が「北海PL9」型に置換されていた(図2, 図3)。IRGSP 1.0の全塩基長を参照した結果、育成系統ゲノムの97.2%が「彩のかがやき」、1.9%が「北海PL9」、0.9%が「むさしの29号」由来であると推定された。なお、Ando *et al.* (2010)は*qAC9.3*に連鎖するDNAマーカーとしてRM23804を報告しているが、「彩のかがやき」と「北海PL9」間で多型の違いは認められなかった(データ省略)。

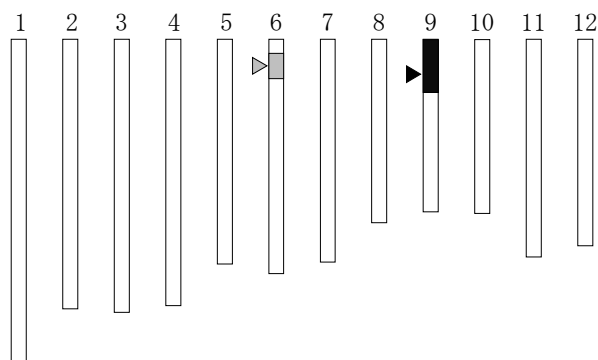


図2 育成系統の全染色体グラフ遺伝子型

図中の黒色の領域は「北海PL9」由来、灰色の領域は「むさしの29号」由来の染色体断片をそれぞれ示す。また、黒色の矢印は*qAC9.3*、灰色の矢印は*qWB6*の座上位置をそれぞれ示す。

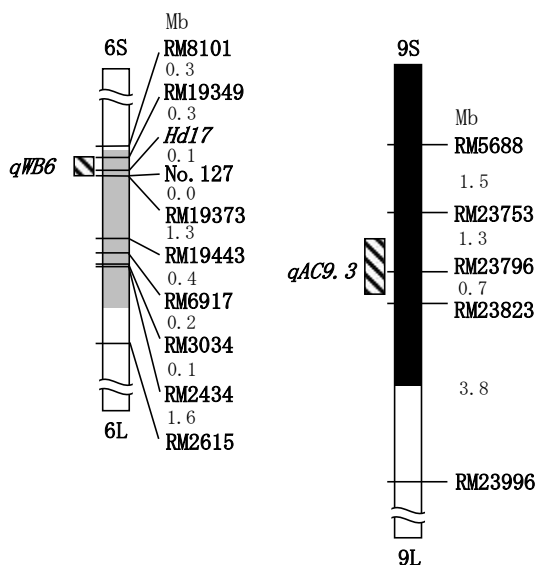


図3 育成系統の第6および第9染色体のグラフ遺伝子型  
図中の数値は遺伝子・DNAマーカー間の物理距離(Mb)を示す。

## 2 生産力検定

育成系統のうちA8, B8, B10の出穂期は「彩のかがやき」より6日遅く、その他の系統は7日遅かった(表2)。成熟期は全ての系統について5日遅かった。稈長はD2, D7が有意に長く、穂長および穂数は同等であった。千粒重は概ね同等であり、収量は「彩のかがやき」の76%から81%と少なかった。白未熟粒は少なく整粒比は高い傾向にあり、「彩のかがやき」より総じて外観品質は優れていた(表3)。穂発芽性は1ランク強いと判定された。

## 3 育成系統のいもち病真性抵抗性遺伝子

DNAマーカーによる検定の結果、育成した12系統のいもち病真性抵抗性遺伝子は、「彩のかがやき」「むさしの29号」と同様に*Pia*, *Pii*の両方を保有すると推定された(表4)。

## 4 育成系統の白米アミロース含量

「彩のかがやき」と「むさしの29号」のアミロース含量はそれぞれ21.7%, 22.1%であった(図4)。育成した12系統のアミロース含量は18.8%~19.2%の範囲にあり、平均で18.9%と「彩のかがやき」より2.6~3.1ポイント低下していた。

## 5 *qWB6*に連鎖するDNAマーカーと出穂期の関連性

No.127によるF<sub>2</sub>の検定の結果では、「彩のかがやき」と出穂期が同時期の個体群については「彩のかがやき」型、ヘテロ型および「むさしの29号」型がそれぞれ87, 12および1個体であった(図5)。一方、7日晩生個体群については、同様に0, 7および93個体であった。No.145による検定の結果では、出穂期が同時期の個体群については同様に24, 53および23個体、また7日晩生個体群については22, 41および37個体であった。

## 6 「彩のかがやき」と「むさしの29号」の出穂期遺伝子*Hd17*の配列解析

3500 ジェネティックアナライザによる解析の結果、「彩のかがやき」における*Hd17*のSNPsは「日本晴」と同様のアデニン(A)であった(図6)。一方、「むさしの29号」では、「コシヒカリ」と同様のグアニン(G)であった。解析した346bpについて、標的となるSNPs以外に「彩のかがやき」と「むさしの29号」との違いは認められなかった。

宗方ら：「彩のかがやき」遺伝的背景を持つ低アミロース性極晩生系統の作出

表2 育成系統の生育・収量

試験グループ	品種系統名	出穂期 (月/日)	成熟期 (月/日)	稈長 (cm)	穂長 (cm)	穂数 (本/m <sup>2</sup> )	玄米 収量 (kg/a)	比較 比率 (%)	屑重 歩合 (%)	玄米 千粒 重(g)
育成系統	A4	8/12	9/25	77	22.5	281	42.6	77	5.3	19.9
	A5	8/12	9/25	77	22.6	294	43.8	79	4.8	20.1
	A6	8/12	9/25	78	22.2	284	43.6	79	4.2	20.5
	A8	8/11	9/25	78	22.5	277	44.0	80	4.0	20.1
	B8	8/11	9/25	78	22.9	284	43.3	78	5.1	20.0
	B9	8/12	9/25	76	22.8	289	42.9	78	5.5	19.5
	B10	8/11	9/25	79	22.6	308	46.5	84	3.3	20.3
	B11	8/12	9/25	79	23.1	284	42.1	76	4.1	20.0
	C7	8/12	9/25	76	22.6	300	43.0	78	4.3	19.8
	C10	8/12	9/25	78	23.1	287	43.6	79	4.3	19.8
	D2	8/12	9/25	80 *	22.9	308	41.8	76	4.5	19.7
D7	8/12	9/25	80 *	22.8	313	44.8	81	4.5	19.7	
対照1	彩のかがやき	8/5	9/20	77	22.3	299	55.3	100	2.3	20.0
対照2	むさしの29号	8/10	9/24	80 *	22.6	370 **	48.6	88	9.8	18.8

Dunnet 検定による結果, \*は5%, \*\*は1%水準で有意差があることを示す。玄米収量・千粒重は水分15%換算の値を示す。

表3 育成系統の玄米品質

試験グループ	品種系統名	玄米 品質	整粒比 (%)	白未熟粒比(%)				長さ (mm)	幅 (mm)	厚み (mm)	玄米粗蛋 白質含量 (%)	穂発芽 性
				乳白	基部未熟	腹白	合計					
育成系統	A4	6.0	55.3	4.5	6.4	1.4	12.2	5.04	2.80	1.95	6.6	2.0
	A5	6.5	51.9	5.7	7.5	2.0	15.1	5.02	2.80	1.97	6.5	2.0
	A6	6.5	56.4	5.0	6.0	1.8	12.8	5.06	2.81	1.98	6.6	2.0
	A8	7.0	50.7	5.7	8.4	2.4	16.4	5.04	2.79	1.97	6.5	2.0
	B8	7.0	48.3	6.2	9.0	2.2	17.4	5.02	2.79	1.96	6.5	2.0
	B9	6.0	52.7	5.0	6.8	1.7	13.5	5.00	2.77	1.94	6.5	2.0
	B10	6.8	47.7	6.7	8.8	2.5	17.9	5.05	2.79	1.96	6.6	2.0
	B11	6.8	49.7	6.9	8.1	1.8	16.7	5.02	2.79	1.96	6.5	2.0
	C7	7.3	45.0	7.2	9.3	2.7	19.1	4.98	2.78	1.96	6.6	2.0
	C10	7.0	47.6	6.6	7.8	2.3	16.6	4.99	2.77	1.95	6.5	2.0
	D2	6.3	52.3	6.0	7.3	2.0	15.2	5.02	2.78	1.96	6.5	2.0
D7	6.3	53.2	5.9	6.7	1.7	14.2	5.04	2.78	1.96	6.7	2.0	
	育成系統平均	6.6	50.9	5.9	7.7	2.0	15.6	5.02	2.79	1.96	6.6	2.0
対照1	彩のかがやき	7.5	42.2	5.7	18.0	2.6	26.3	4.97	2.75	1.98	6.9	3.0
対照2	むさしの29号	6.0	55.6	3.2	5.3	0.5	9.0	5.01	2.64	1.91	7.0	2.0

玄米品質は1上上～9下下の9段階、穂発芽性は1極難～7極易の7段階評価による結果をそれぞれ示す。整粒比～厚みは穀粒判別器 (RGQI20A), 玄米粗蛋白質含量はINFRATEC1241による測定値を示す。

表4 育成系統のいもち病真性抵抗性遺伝子型の推定

品種・系統名	マーカー 遺伝子型	推定 遺伝子型	備考
ツウアケ	<i>Pik-m</i>	<i>Pik-m</i>	
石狩白毛	<i>Pii</i>	<i>Pii</i>	いもち病真性抵抗性基準品種
愛知旭	<i>Pia</i>	<i>Pia</i>	
関東51号	<i>Pik</i>	<i>Pik</i>	
彩のかがやき	<i>Pia, Pii</i>	<i>Pia, Pii</i>	
むさしの29号	<i>Pia, Pii</i>		交配親
北海PL9	<i>Pia, Pii, Pik</i>		
育成系統	<i>Pia, Pii</i>		

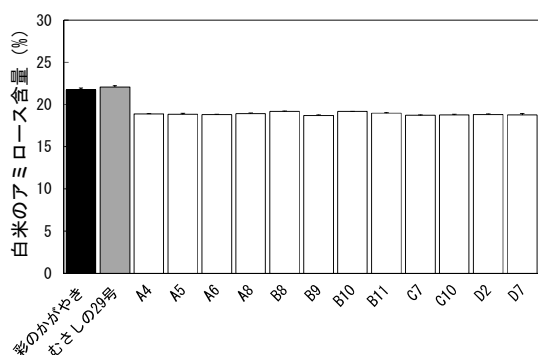


図4 育成系統の白米中アミロース含量  
 白のバーはt検定の結果「彩のかがやき」と比較し、0.1%水準以下で有意に値が低いことを示す。  
 エラーバーは標準誤差を示す。

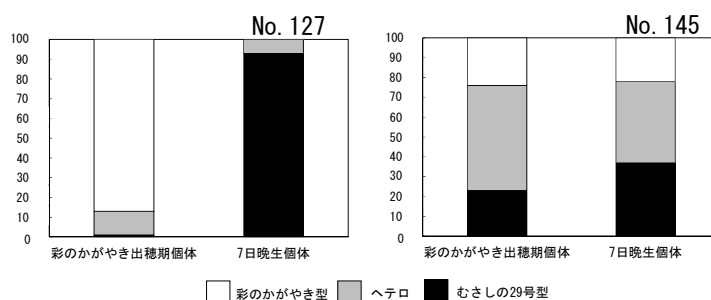


図5 F<sub>2</sub>におけるNo.127とNo.145の遺伝子型別の個体数

彩のかがやき	AGGGCCAGGAGCACCACATATGTTGTGGCTGATGAGGCATAGGAACACCGTATGCCGAGTTCATGAAATCT	70
むさしの29号	AGGGCCAGGAGCACCACATATGTTGTGGCTGATGAGGCATAGGAACACCGTATGCCGAGTTCATGAAATCT	70
日本晴	AGGGCCAGGAGCACCACATATGTTGTGGCTGATGAGGCATAGGAACACCGTATGCCGAGTTCATGAAATCT	70
コシヒカリ	AGGGCCAGGAGCACCACATATGTTGTGGCTGATGAGGCATAGGAACACCGTATGCCGAGTTCATGAAATCT	70
▼		
彩のかがやき	CCAGCTGTTGATGGAAGACTCAAAGGAGTACAGTTGGCATAAAACGGGGCCAATATGCTACCAGCTGGAG	140
むさしの29号	CCAGCTGTTGATGGAAGACTCAAAGGAGTACAGTTGGCATAAAACGGGGCCAATATGCTACCAGCTGGAG	140
日本晴	CCAGCTGTTGATGGAAGACTCAAAGGAGTACAGTTGGCATAAAACGGGGCCAATATGCTACCAGCTGGAG	140
コシヒカリ	CCAGCTGTTGATGGAAGACTCAAAGGAGTACAGTTGGCATAAAACGGGGCCAATATGCTACCAGCTGGAG	140
▼		
彩のかがやき	GGCACGGACCAGAATAAGGCTTATAGACAAGGCCCTTCCAAAGGAGACATGACAGGGACAAGCCATTGATT	210
むさしの29号	GGCACGGACCAGAATAAGGCTTATAGACAAGGCCCTTCCAAAGGAGACATGACAGGGACAAGCCATTGATT	210
日本晴	GGCACGGACCAGAATAAGGCTTATAGACAAGGCCCTTCCAAAGGAGACATGACAGGGACAAGCCATTGATT	210
コシヒカリ	GGCACGGACCAGAATAAGGCTTATAGACAAGGCCCTTCCAAAGGAGACATGACAGGGACAAGCCATTGATT	210
▼		
彩のかがやき	TTGAGGTGGTTGAAGTTGAACGCCCCAGTTATTTTGTGTTATCAGAAGCAACAGGTGTAGCTCGACGAT	280
むさしの29号	TTGAGGTGGTTGAAGTTGAACGCCCCAGTTATTTTGTGTTATCAGAAGCAACAGGTGTAGCTCGACGAT	280
日本晴	TTGAGGTGGTTGAAGTTGAACGCCCCAGTTATTTTGTGTTATCAGAAGCAACAGGTGTAGCTCGACGAT	280
コシヒカリ	TTGAGGTGGTTGAAGTTGAACGCCCCAGTTATTTTGTGTTATCAGAAGCAACAGGTGTAGCTCGACGAT	280
▼		
彩のかがやき	TGCTTTTAGAGACGCCATTTGTTGCAGCTTGATCACGTTGACCACTGCCAAGCCCAGTATCATGA	346
むさしの29号	TGCTTTTAGAGACGCCATTTGTTGCAGCTTGATCACGTTGACCACTGCCAAGCCCAGTATCATGA	346
日本晴	TGCTTTTAGAGACGCCATTTGTTGCAGCTTGATCACGTTGACCACTGCCAAGCCCAGTATCATGA	346
コシヒカリ	TGCTTTTAGAGACGCCATTTGTTGCAGCTTGATCACGTTGACCACTGCCAAGCCCAGTATCATGA	346

図6 SNP\_4 マーカーで増幅した *Hd17* エクソン領域の塩基配列比較  
 黒色の矢印は *Hd17* の機能に関わる塩基を示す。網掛け部分は塩基が異なっていることを示す。

## 考察

### 育成系統の遺伝的特性

DNA マーカーによる検定の結果、育成系統のゲノム構成は 97.2% が「彩のかがやき」由来と推定された (図 2)。残りの 1.9% が「北海 PL9」由来、0.9% が「むさしの 29 号」由来と推定され、これらの領域には導入を想定した *qAC9.3* と *qWB6* がそれぞれ含まれることから、当初の育種目標は達成された。また、イネ縞葉枯抵抗性遺伝子 (*Stvb-i*) と穂いもちほ場抵抗性遺伝子

(*Pb1*) の座上する第 11 染色体長腕およびツマグロヨコバイ抵抗性遺伝子 (*Grh1*) の座上する第 5 染色体動原体近傍領域の DNA マーカーが「彩のかがやき」型の多型を示した。このことから、育成系統は *Stvb-i*、*Pb1* および *Grh1* をそれぞれ保有していると推察される。

### 育成系統の収量特性

大戸ら (2019) は、「むさしの 29 号」は「彩のかがやき」と比べ早植栽培で 7%、普通期栽培で 6% 低収で

あったと報告しているが、本試験では12%減という結果であった(表2)。一方、育成系統の玄米収量は「彩のかがやき」と比較して平均21%少なく、「むさしの29号」よりさらに低かった。このことから、低収の原因となる遺伝子は「むさしの29号」由来の第6染色体断片ではなく、導入された「北海PL9」由来の第9染色体断片に存在する可能性が高いと推測された。特性調査では、育成系統の穂長、穂数および千粒重については「彩のかがやき」との差異が認められなかったため、低収要因の一つとして1穂粒数が少ないことが推察された。1穂粒数をコントロールする遺伝子としては、これまで *Gn1a* (Ashikari *et al.* 2005), *AP01* (Ikeda *et al.* 2007), *DEP1* (Huang *et al.* 2009), *IPA1* (Miura *et al.* 2010), *TAWAWA1* (Yoshida *et al.* 2013), *SPIKE* (Fujita *et al.* 2013) が報告されている。これらの遺伝子の中で *qAC9.3* と同じ第9染色体に座しているものは *DEP1* であるが、育成系統が保有する「北海PL9」の染色体断片内に *DEP1* は座していない。したがって、「北海PL9」が保有する低収に関与する遺伝的要因は、*DEP1* とは異なると考えられる。育成系統における低収の要因解明には、穂相や登熟歩合を対象としたより詳細な解析が必要である。

#### 育成系統における *qAC9.3* の導入効果

*qAC9.3* が導入された育成系統のアミロース含量は、原品種「彩のかがやき」より平均2.9ポイント低い(図4)。これは、Ando *et al.* (2010) の *qAC9.3* を含む「北海PL9」の対立遺伝子がアミロース含量を2.6ポイント低下させたとする報告と一致する。一方、育成過程において、RM23753 と RM23823 が「北海PL9」型に固定しているにも関わらず、「彩のかがやき」よりアミロース含量が有意に低下していない系統が認められた(データ省略)。この理由として、自殖の過程で RM23753 と RM23823 間で組換えが生じた、もしくは、*qAC9.3* の主働遺伝子が RM23753 上流か RM23823 下流に座していることが推察された。*qAC9.3* を対象とした正確性の高いDNAマーカー選抜を行うためには、*qAC9.3* の機能に関わる主働遺伝子の単離と遺伝子の有無を直接検定できるDNAマーカーの開発が求められる。

#### *qAC9.3* と玄米品質との関連性

*qAC9.3* の導入は乳白粒の発生率を高め、玄米品質を

低下させる可能性が指摘されている(木口・品田, 2011)。一方で、*qWB6* は高温障害による背白米の発生を抑制する作用を持つ(Kobayashi *et al.* 2013)。育成系統は「彩のかがやき」と比較して白未熟粒比が低く、整粒比は高かった(表3)。また、「むさしの29号」は「彩のかがやき」に *qWB6* を導入した品種であり、今回の調査において、背白粒以外の白未熟粒(乳白米、基部未熟粒および腹白粒)の発生率が原品種より低かった。これらのことから、「むさしの29号」は *qWB6* 以外にも白未熟粒の発生を抑制する遺伝子を有し、これが育成系統にも遺伝した結果、*qAC9.3* による乳白粒の増加を抑制したのではないかと考えられる。

#### 「むさしの29号」が保有する出穂期遺伝子の推定

*qWB6* に連鎖するDNAマーカーであるNo.127によるF<sub>2</sub>の検定では、出穂時期による遺伝子型が87~93%の高確率で一致していた(図5)。No.127より下流のNo.145による検定では、「彩のかがやき」と同時期に出穂した個体群の遺伝子型が1:2:1の割合に分離しており、出穂期による遺伝子型の偏りは認められなかったことから、*qWB6* の近傍に出穂期に関与する遺伝子が密接に連鎖している可能性が示唆された。一方、第6染色体短腕の *qWB6* の領域内には出穂期遺伝子 *Hd17* (Mastubara *et al.* 2012) が座している。*Hd17* エキソン配列について、「彩のかがやき」は「日本晴」と、「むさしの29号」は「コシヒカリ」と同じであったことから、前者は出穂促進型の対立遺伝子、後者は出穂遅延型の対立遺伝子を持つと推定された。井出ら(2018)は *Hd17* の単独導入で6.2~7.5日の出穂期の改変効果があったことを報告している。また、「むさしの29号」の出穂期は「彩のかがやき」より5日遅い(大戸ら, 2019)。これらのことから、*Hd17* は「むさしの29号」の晩生化に関与する候補遺伝子の一つであると考えられた。また、育成系統の *qWB6* 領域は「むさしの29号」型であることから、「むさしの29号」と同様に遅延型の *Hd17* を保有していると推察される。

#### 育成系統の育種材料としての評価

本研究において作出した12系統は、「彩のかがやき」遺伝背景に *qAC9.3* と *qWB6* を導入し、さらに極晩生という特性を付与した遺伝子集積系統である。育成系統は原品種「彩のかがやき」と比較しアミロース含量

が約 3 ポイント低く、玄米品質に優れ、加えて成熟期が 5 日遅いという特性を備えていることから、目標とする系統の育成には成功した。加えて、育成系統は「彩のかがやき」由来のイネ縞葉枯病抵抗性遺伝子、穂いもち抵抗性遺伝子およびツマグロヨコバイ抵抗性遺伝子を保有した病害虫複合抵抗性系統であると推測される。しかしながら、原品種よりも低収であるという欠点から、現地適応性は低いと判断されるため、今後の普及・定着を図るには検定に用いる DNA マーカーの高密度化とさらなる戻し交配によって収量性を改善し、実用性を向上させる必要がある。一方、近年は高品質で良食味なブランド米へのニーズが高まっているほか、埼玉県はイネ縞葉枯病の常発地であるため、育種においてはアミロース含量を緻密に制御して食味を改良するとともに、各種抵抗遺伝子の付与が不可欠である。*qAC9.3* を保有する遺伝資源は「ゆきさやか」、「ゆきむつみ」(松葉ら, 2017), 「北海 PL9」等の数種の品種・系統に限られており、いずれもイネ縞葉枯病抵抗性を有していない。また、関東を含む温暖地域で栽培される品種・系統に *qAC9.3* が導入された事例はない。このような状況下において、本育成系統はアミロース含量を適度に低下させ、かつ複合病害抵抗性を付与するための交配母本として価値は高いと思われる。今後、本研究で育成された系統を利用して、低アミロース性を導入した有望品種の開発を目指したい。

## 引用文献

- 2015 農林業センサス (2017) : 調査結果の概要。  
<https://www.pref.saitama.lg.jp/a0206/a060/documents/20152kekka.pdf>
- 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 (2007) : 極良食味の低アミロース米水稻品種「おぼろづき」。北海道農研研報 186, 31-46.
- 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.
- 荒川誠・大岡直人・箕田豊尚・齋藤孝一郎・石井博和・上野敏昭・岡田雄二・武井由美子・重松統・矢ヶ崎健治・新井守・新井登・野田聡 (2013) : 水稻新品種「彩のきずな」の育成。埼玉農総研研報 12, 1-9.
- 荒川誠・武井由美子・戸倉一泰・矢ヶ崎健治・小指美奈子・箕田豊尚・石井博和・岡田雄二・関口孝司・大岡直人・渡邊耕造・大塚一雄・新井登 (2003) : 病害虫複合抵抗性水稻新品種「彩のかがやき」、「彩のきらびやか」の育成。埼玉農総研研報 3, 23-41.
- Asaoka, M., K. Okuno, Y. Sugimoto, J. Kawakami and H. Fuwa (1984) : Effect of environmental temperature during development of rice plants on some properties of endosperm starch. *Starch/Stärke* 36, 189-193.
- Ashikari M., H. Sakakibara, S. Lin, T. Yamamoto, T. Takashi, A. Nishimura, E. R. Angeles, Q. Qian, H. Kitano and M. Matsuoka (2005) : Cytokinin oxidase regulates rice grain production. *Science*. 309, 741-745.
- Fujita D., K. R. Trijatmiko, A. G. Tagle, M. V. Sapasap, Y. Koide, K. Sasaki, N. Tsakirpaloglou, R. B. Gannaban, T. Nishimura, S. Yanagihara, Y. Fukuta, T. Koshihira, I. H. Slamet-Loedin, T. Ishimaru and N. Kobayashi (2013) : *NAL1* allele from a rice landrace greatly increase yield in modern indica cultivars. *PNAS*. 110, 20431-20436.
- Huang X., Q. Qian, Z. Liu, H. Sun, S. He, D. Luo, G. Xia, C. Chu, J. Li and X. Fu (2009) : Natural variation at the *DEP1* locus enhances grain yield in rice. *Nat. Genet.* 41, 494-497.
- 井出康人・堀清純・伊藤晃・杉浦和彦・濱頭葵・山内歌子・水林達美・安藤露・正村純彦・加藤満・池田彰弘 (2018) : 「あいちのかおり SBL」の早生化準同質遺伝子系統の開発とその農業形質。愛知県農総試研報 50, 67-70.
- Ikeda K., M. Ito, N. Nagasawa, J. Kyojuka, and Y. Nagato (2007) : Rice *ABERRANT PANICLE ORGANIZATION 1*, encoding an F-box protein, regulates meristem fate. *Plant J.* 51, 1030-1040.
- 伊勢一男・赤間芳洋・掘末登・中根晃・横尾政雄・安東郁男・羽田丈夫・須藤充・沼口賢治・根本博・古舘宏・井辺時雄 (2001) : 低アミロース良食味水稻品種「ミルキークイーン」の育成。作物研報 2, 39-61.
- 稲津脩 (1988) : 北海道産米の食味向上による品質改善に関する研究。北海道立農試報 66, 1-89.
- 木口忠彦・品田博史 (2011) : イネの低アミロース性 QTL である *qAC9.3* と玄米品質の関係。育種・作物



- 学会北海道談話会会報 52, 53-54.
- 菊地治己 (1988) : イネの胚乳成分に関する育種学的研究. 北海道立農試報 68, 1-68.
- 岸根雅宏・奥西智哉 (2014) : 日本のイネ主要品種における *mPing* 挿入多型. 育種学研究 16, 139-146.
- Kobayashi, A., J. Sonoda, K. Sugimoto, M. Kondo, N. Iwasawa, T. Hayashi, K. Tomita, M. Yano and T. Shimizu (2013) : Detection and verification of QTLs associated with heat-induced quality decline of rice (*Oryza sativa* L.) using recombinant inbred lines and near-isogenic lines. Breed. Sci. 63, 339-346.
- 国広泰史・江部康成・新橋登・菊地治己・丹野久・菅原圭一 (1993) : 蒔培養による低アミロース良食味水稻新品種「彩」の育成. 育種 43, 155-163.
- Matsubara K., E. Ogiso-Tanaka, K. Hori, K. Ebana, T. Ando and M. Yano (2012) : Natural variation in *Hd17*, a homolog of *Arabidopsis ELF3* that is involved in rice photoperiodic flowering. Plant Cell Physiol. 53, 709-716.
- 松葉修一・梶亮太・梅本貴之・清水博之・横上春郁・黒木慎・池ヶ谷智仁・保田浩・芦田かなえ・幸谷かおり (2017) : 北海道地域向け低アミロース米新品種「ゆきむつみ」の育成とその加工適性. 北農 84, 159-163.
- 松江勇次・佐藤大和・内村要介・尾形武文 (2002) : 低アミロース米品種における登熟温度が精米のアミロース含有率および玄米の白濁に及ぼす影響. 日作紀 71, 463-468.
- Miura K., M. Ikeda, A. Matsubara, X. J. Song, M. Ito, K. Asano, M. Matsuoka, H. Kitano and M. Ashikari (2010) : *OsSPL14* promotes panicle branching and higher grain productivity in rice. Nat. Genet. 42, 545-549.
- 野々上慈徳・佐藤宏之・石井卓朗 (2018) : イネいもち病真性抵抗性遺伝子座 *Pia*, *Pii* および *Pik* の遺伝子型を推定する DNA マーカーの検証. 育種学研究 20, 16-22.
- 岡田雄二・石井博和 (2017) : 水稻「彩のかがやき」の高温障害軽減技術の開発. 埼玉農技研報 16, 15-32.
- Okuyama Y., H. Kanzaki, A. Abe, K. Yoshida, M. Tamiru, H. Saitoh, T. Fujibe, H. Matsumura, M. Shenton, D. C. Galam, J. Undan, A. Ito, T. Sone and R. Terauchi (2011) : A multifaceted genomics approach allows the isolation of the rice *Pia* - blast resistance gene consisting of two adjacent NBS - LRR protein genes. Plant J. 66, 467-479.
- 太田裕貴・野々上慈徳 (2015) : DNA マーカーを利用したいもち病真性抵抗性遺伝子型推定. 東北農業研究 68, 53-54.
- 大戸敦也・大岡直人・荒川誠・矢ヶ崎健治・宗方淳・齋藤孝一郎・加藤徹 (2019) : 水稻新品種「むさしの 29 号」の育成. 埼玉農技研報 19, 11-23
- Sano Y., M. Maekawa and H. Kikuchi (1985) : Temperature effects on the *Wx* protein level and amylose content in the endosperm of rice. J of Hered 76, 221-222.
- 佐藤宏之・鈴木保宏・奥野員敏・平野博之・井辺時雄 (2001) : イネ品種「ミルキークイーン」の低アミロース性の遺伝子分析. 育種学研究 3, 13-19.
- Takagi H., A. Uemura, H. Yaegashi, M. Tamiru, A. Abe, C. Mitsuoka, H. Utsushi, S. Natsume, H. Kanzaki, H. Matsumura, H. Saitoh, K. Yoshida, L. M. Cano, S. Kamoun and R. Terauchi (2013) : MutMap - Gap: whole - genome resequencing of mutant F2 progeny bulk combined with *de novo* assembly of gap regions identifies the rice blast resistance gene *Pii*. New Phytol. 200, 276-283.
- Takemoto-Kuno Y., H. Mitsueda, K. Suzuki, H. Hirabayashi, O. Ideta, N. Aoki, T. Umemoto, T. Ishii, I. Ando, H. Kato, H. Nemoto, T. Imbe and Y. Takeuchi (2015) : *qAC2*, a novel QTL that interacts with *Wx* and controls the low amylose content in rice (*Oryza sativa* L.) . Theor. Appl. Genet. 128, 563-573.
- Yoshida A., M. Sasao, N. Yasuno, K. Takagi, Y. Daimon, R. Chen, R. Yamazaki, H. Tokunaga, Y. Kitaguchi, Y. Sato, Y. Nagamura, T. Ushijima, T. Kumamaru, S. Iida, M. Maekawa and J. Kyozuka (2013) : *TAWAWA1*, a regulator of rice inflorescence architecture, functions through the suppression of meristem phase transition. PNAS. 110, 767-772.