

新規澱粉米品種の育成に向けて

BC₂F₃ 種子および BC₂F₂ 植物の解析

藤田直子¹, 立木芳¹, 追留那緒子¹, 阿部美里¹, クロフツ尚子¹,
川本朋彦², 小玉郁子², 加藤和直², 佐藤健介^{2,3}, 高橋竜一², 伏見力⁴

¹ 秋田県立大学生物資源科学部生物生産科学科

² 秋田県農業試験場

³ 秋田県観光文化スポーツ部

⁴ 国際農林水産業研究センター(JIRCAS)熱帯・島嶼研究拠点

秋田県では、‘あきたこまち’に継ぐ良食味米品種の育成が切望されている。一方で、1960年代以降、炊飯米の摂取の敬遠により米の消費量は低下の一途を辿っている。我が国の食料自給率の維持、向上や休耕田の有効利用を考えた場合、通常炊飯米以外の用途の米品種の開発が不可欠である。我々は、秋田県立大学で開発された澱粉生合成関連酵素の欠損変異体がユニークな澱粉性質を示すことを利用し、これらの新需要開発および普及を目指している。そのためには、これら変異体の農業形質を向上させるための育種、即ち、優れた品種と戻し交配することが必要である。本研究では、低粘度高アミロース米である *ss3a* 変異体および球形澱粉粒である *ss3a/ss4b* 変異体にあきたこまちおよび秋田 63 号を 3 回交配した後代(BC₂F₃)の種子、澱粉の性質および BC₂F₂ 植物の農業特性を調べることによって、これら戻し交配系変異体に、品種の優れた性質が導入されつつ、ユニークな澱粉性質が維持されていることを確かめた。

キーワード: 変異体米, 新規需要米, 戻し交配, 米育種, 澱粉

秋田県では、良食味米の有力品種‘あきたこまち’が、30年前に奨励品種となり、全国的にヒットし普及率した。現在、これに次ぐ良食味米の品種育成が切望されている。また、食の多様化や西洋化により、この50年の間に我が国の米の消費は半分以下になっている。さらに最近、糖質ダイエット等が盛んで炊飯米摂取の敬遠により、米の消費は今後ますます低下の一途をたどることは想像しやすい。我が国の食料自給率の向上（維持）や休耕田の有効利用を考えた場合、通常炊飯米以外の用途、例えば、米粉を用いた菓子、麺類、食品添加剤等や工業利用可能な米品種の開発が不可欠である。現在ある全国で開発された品種は、通常炊飯用品種が大多数であるが、これらは多様性が小さく、これらを母本として上記の

ニーズに応えられる品種を育成することは、困難である。秋田県立大学の我々のグループでは、全国の試験場とは全く異なる手法で多様性に富んだ米を開発してきた。即ち、イネを用いた澱粉生合成メカニズムについての基礎研究を行う過程で、澱粉生合成を担ういくつかの酵素の遺伝子が壊れた変異体を多数単離、解析し、それらが通常の米とは全く異なるユニークな澱粉構造、性質を示すことを明らかにしてきた。現在、研究の次のステップとしてそれらの実用化に向けた取り組みを開始している。一方、我々が現在保持している変異体は、多くが‘日本晴’、‘金南風’、‘台中65号’など農業形質がそれほど高くない品種がバックグラウンドとなっている。将来、産業利用可能な品種として育成するためには、

優れた品種と掛け合わせる（戻し交配）ことで開花時期，耐病性，収量等の農業形質を向上させておく必要がある（図1）．育種のプロであり，栽培や交配に長けた秋田県農業試験場等の技術と，秋田県立大学の基礎研究に基づく米の主成分である澱粉の改変技術を組み合わせれば，他県にはまねのできない新規な米品種を育成することが可能である．

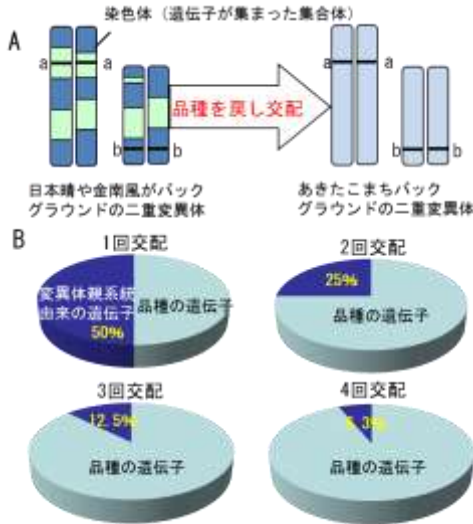


図1 A. 現在の二重変異体は，ユニークな澱粉の性質を示す原因となる変異箇所 (a や b) 以外は日本晴や金南風等の遺伝子が混じっている． a, b 以外の収量，開花時期，耐病性等にかかわる遺伝子をあきたこまち等に替えるためには， a, b 遺伝子を劣性ホモに保ちつつ，あきたこまちと戻し交配を行う必要がある．
B. 変異体系統と品種を1~4回交配した時の品種遺伝子の割合． 4回交配を行えば，約94%の遺伝子は，品種由来となり，農業形質の向上が見込まれる．

本研究の目的は，ユニークな澱粉を生産する変異体と，秋田県農業試験場が育成した品種を戻し交配することで，ユニークな澱粉の性質を持ちつつ，秋田で栽培しやすく，耐病性もあり，良食味の，あるいは超多収の農業形質が向上した米品種の育成を目指すことである．

材料

本研究で対象としている変異体米は，(1)嚥下障害

者向け食品としての利用が期待できる低粘度高アミロース米 *ss3a* (*e1*, 澱粉生合成関連酵素のうち，スターチシンターゼ SSIIIa が欠損した変異体; Fujita et al. (2007); 藤田ら, (2011)), (2)化粧品，工業利用が期待される完全球体澱粉粒米 *ss3a/ss4b* (SSIIIa と SSIVb が同時に欠損した二重変異体; Toyosawa ら, 投稿中) である． これらを以下の本県育成品種 2 品種 (1)農業形質，食味に優れ，全国シェアが第4位を誇る‘あきたこまち’， (2)玄米重が通常米の1.5倍で900kg/反の収穫が見込め，米粉，飼料用米として普及している超多収品種の‘秋田63号’と戻し交配し，農業形質の向上を図った．

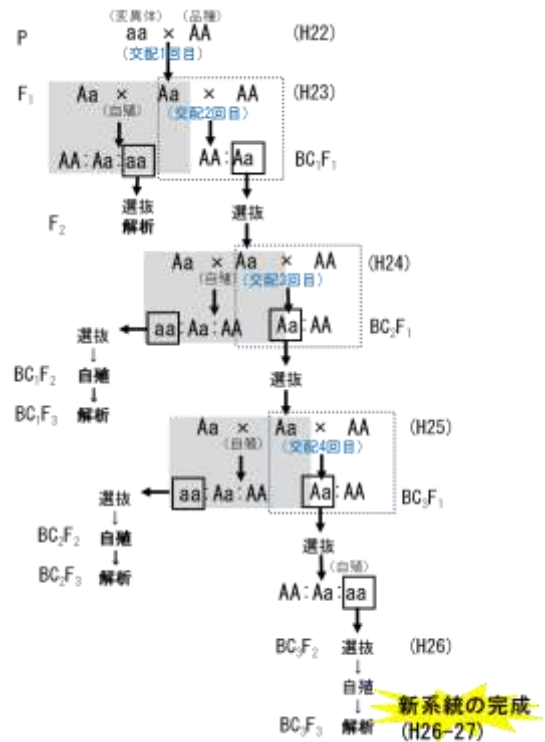


図2 本研究における交配および選抜計画．

Aは変異体の原因遺伝子が優性（正常）の遺伝子型， a は変異体の原因遺伝子が劣性の遺伝子型を示し，劣性ホモ (aa) になるとユニークな澱粉形質が固定される．

方法

秋田県農業試験場および JIRCAS 熱帯・島嶼研究拠点 (石垣島) で上記(1)および(2)の変異体にあきたこまちおよび秋田63号を3回交配した後代種子

(BC₂F₂)を発芽させ、葉身 DNA を用いた PCR 選抜法で変異体の遺伝子型であることを確認した種子を秋田県立大学秋田キャンパス圃場水田および秋田県農業試験場圃場に播種し、各 BC₂F₂ 個体の出穂期、稈長を調査した。また、自殖種子(BC₂F₃)を取得し、玄米一粒重、種子形態、アミロペクチンの鎖長分布解析、種子切片の走査型電子顕微鏡観察を行った。PCR 選抜法は、Fujita et al. (2007)および藤田直子、豊澤佳子、中村保典 (2014)の方法で行った。最終的には4回以上の交配を目指す、本論文では3回交配した種子(BC₂F₃)の分析について、報告する(図2)。玄米1粒重は、それぞれの系統の種子50粒を1粒ずつ重量を測定し、その平均値および標準誤差を求めた。鎖長分布解析は、Fujita, N., Hasegawa, H. & Taira, T. (2001), 種子断片の走査型電子顕微鏡観察は、Fujita et al. (2012)の方法で行った。

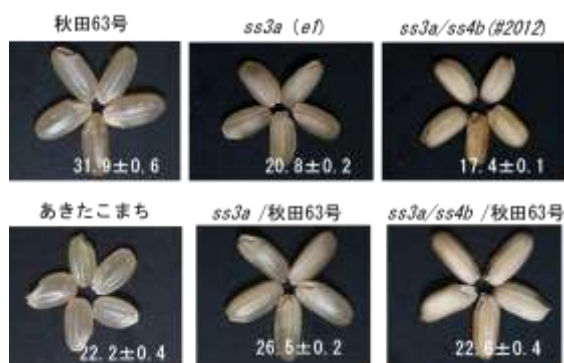


図3 変異体に秋田63号を戻し交配した後代(BC₂F₃種子)の玄米の形態および玄米1粒重。

結果・考察

種子重量および種子形態

多収品種である秋田63号は、玄米一粒重が31.9 mgであり、あきたこまち(22.2 mg)より格段に大きかった。変異体の現品種である日本晴の玄米1粒重はあきたこまちと同等であった(データは示さない)。戻し交配していない *ss3a* の玄米1粒重が20.8 mgであるのに対し、*e1*と秋田63号を3回交配したBC₂F₃種子(26.5 mg)は、玄米一粒重の増大が認められた(図3)。また、戻し交配していない *ss3a/ss4b* は、17.4 mgであったが、秋田63号を戻し交配した *ss3a/ss4b* BC₂F₃種子(22.6 mg)は、一般品種と同等

の玄米一粒重を示した(図3)。種子形態は野生型が半透明であるのに対し、*ss3a* が心白(Fujitaら, 2007), *ss3a/ss4b* が白濁(藤田ら, 2014)であるが、戻し交配した変異体は、それらの性質も維持されていた。

戻し交配した系統(BC₂F₃種子)の澱粉解析

次に、戻し交配した変異体の変異体独特の澱粉構造を維持しているかどうかを確かめるため、キャピラリー電気泳動法によるアミロペクチンの鎖長分布解析を行った。BC₂F₃種子の鎖長分布パターンは、戻し交配していない変異体のパターンと一致していた(図4)。さらに、野生型のイネの澱粉粒は多角形であるのに対し、*ss3a/ss4b* は、澱粉粒が丸くなるという独特の性質を示す(藤田ら, 2014)ため、*ss3a/ss4b* BC₂F₃種子の切片の走査型電子顕微鏡観察を行った。*ss3a/ss4b* BC₂F₃種子の澱粉粒も戻し交配前の *ss3a/ss4b*と同様、球形であった(図5)。以上のことから、3回品種を交配した変異体系統も、戻し交配前の変異体の澱粉性質を維持している可能性が強いと考えられた。

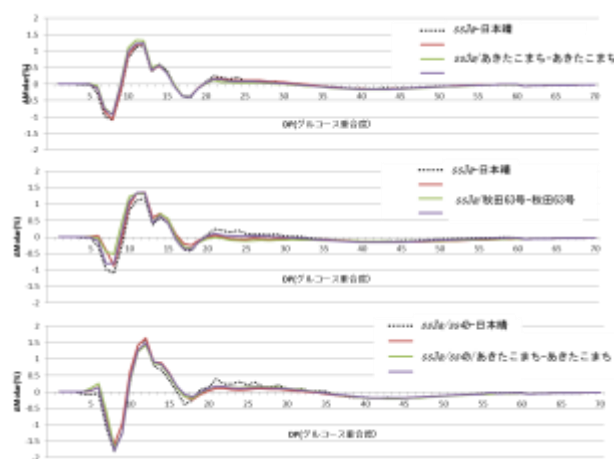


図4 BC₂F₃種子のアミロペクチンの鎖長分布解析。

戻し交配した系統(BC₂F₂個体)の農業特性

*ss3a*は日本晴が原品種であるため、秋田で栽培した場合、出穂期は9月3~7日となる。*ss3a*をあきたこまちと戻し交配したBC₂F₂の出穂期は、8月6日、秋田63号と戻し交配したBC₂F₂は8月11日と、反復親の出穂期に大幅に近づいていた。稈長についてもあきたこまちを戻し交配したBC₂F₂は76 cm、秋田63

号を戻し交配した BC₂F₂ では 70 cm と反復親と同程度であった。

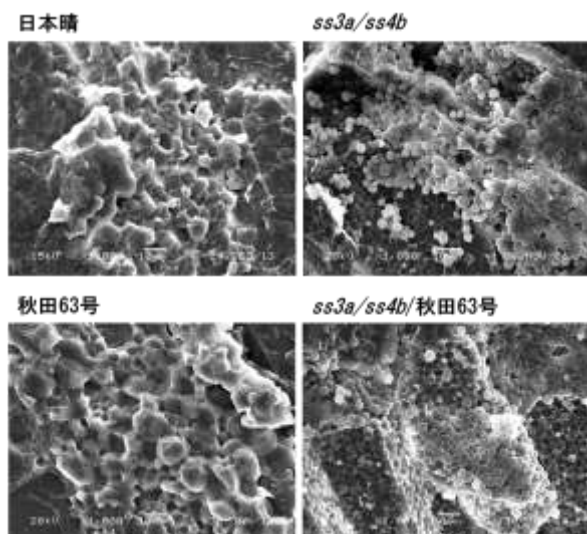


図5 BC₂F₃種子断片の走査型電子顕微鏡観察.

以上のことから、3回品種と交配した変異体系統は、澱粉のユニークな性質は維持しつつ、玄米1粒重や出穂期、稈長等の農業形質は品種の性質が導入されつつあることが明確になった。今後は、品種と4回交配した BC₃F₂ および BC₃F₃ の性質を調べ、さらに詳細な澱粉性質および農業形質を調査し、品種登録に向けて個体選抜を行う予定である。

謝辞

本研究は、秋田県立大学平成25年度産学連携・共同研究推進事業および農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業（発展融合ステージ）によって行われた。また、植物の栽培、収穫作業等にあたり、中泉裕子氏の多大なサポートに感謝する。

文献

Fujita, N., Hanashiro, I., Suzuki, S., Higuchi, T., Toyosawa, Y., Utsumi, Y., Itoh, R., Aihara, S. & Nakamura, Y. (2012). Elongated phytoglycogen chain-length in transgenic rice endosperm expressing active starch synthase IIa affects the altered solubility and crystallinity of the storage α -glucan. *Journal of Experimental*

Botany, 63, 5859-5872.

Fujita, N., Hasegawa, H. & Taira, T. (2001). The isolation and characterization of waxy mutant of diploid wheat (*Triticum monococcum* L.). *Plant Science*, 160, 595-602.

藤田直子, 中村保典, 吉田真由美, 齋藤かほり, 廣近洋彦, 宮尾安藝雄(2011). スターチシンターゼ IIIa 型の機能解明と新規デンプン作出, 特許第 4711762 号 (平成 23 年 4 月 1 日) 出願人: JST, 農水省

藤田直子, 豊澤佳子, 中村保典 (2014). イネ変異体, 澱粉の製造方法, 澱粉, 及びイネ変異体の製造方法, 特許第 5569876 号 (平成 26 年 7 月 4 日) 出願人: 公立大学法人秋田県立大学

Fujita, N., Yoshida, M., Kondo, T., Saito, K., Utsumi, Y., Tokunaga, T., Nishi, A., Satoh, H., Park, J.-H., Jane, J.-L., Miyao, A., Hirochika, H. & Nakamura, Y. (2007). Characterization of SSIIIa-deficient mutants of rice (*Oryza sativa* L.); the function of SSIIIa and pleiotropic effects by SSIIIa deficiency in the rice endosperm. *Plant Physiology*, 144, 2009-2023.

平成 26 年 8 月 9 日受付

平成 26 年 9 月 19 日受理

Towards Cultivation of Novel Starch Rice

The analyses of BC₂F₃ seeds and BC₂F₂ rice plants

Naoko Fujita¹, Kaori Tsuiki¹, Naoko F. Oitome¹, Misato Abe¹, Naoko Crofts¹,
Tomohiko Kawamoto², Ikuko Kodama², Kazunao Kato², Kensuke Sato^{2,3},
Ryuichi Takahashi², Tsutomu Fushimi⁴

¹ *Department of Biological Production, Faculty of Bioresource, Akita Prefectural University*

² *Aguricultural Experiment Station, Akita Prefecture*

³ *Department of Tourism Culture and Sports, Akita Prefecture*

⁴ *Tropical Agriculture Research Front, Japan International Research Center for Aguricultural Sciences*

The generation of next good tasting rice cultivars after ‘Akita-komachi’ has been much awaited in Akita, Japan. In contrast, the consumption of rice in Japan has significantly declined since the 1960s. To improve the self-sufficiency rate and use of resting rice fields, it is necessary to develop novel rice cultivars that are suitable for food other than directly cooked rice as well as for industrial applications. Rice mutants with unique starch properties were generated in the Akita Prefectural University, and its application to several new areas of demand is currently being assessed. However, the original mutant lines possess poor agricultural traits. Therefore, the improvement of agricultural traits by crossing with elite cultivars is mandatory. In this study, the properties of starch and agricultural traits of the backcrossed lines (BC₂F₃ seeds and BC₂F₂ rice plants) of *ss3a* and *ss3a/ss4b* mutant lines were analyzed. The results confirmed that the backcrossed lines possessed superior agricultural traits while maintaining its unique starch properties.

Keywords: Backcrossing, mutant rice lines, novel rice cultivars, rice breeding, starch
