

ゲノム情報に基づいた富山県の水稲育種事例の紹介

富山県農林水産総合技術センター
農業研究所
村田 和優

はじめに

“イネゲノムプロジェクト—イネゲノムの全塩基配列を決定し、有用な遺伝子情報を読み解く—”

このプロジェクトは1991年に、当時の農業生物資源研究所ゲノム研究チームが主導して開始された。技術革新が進んだ現在においては、次世代シーケンサーを用いて各種生物の全ゲノム配列を極めて短期間に解読できる。しかし現在より30年以上前では、より効率的なゲノム解析手法をまさにマンパワーによる「手探り」で開発する状況であった。当時の遺伝子連鎖解析では、単独で明瞭な変異形質にかかる遺伝子やアイソザイムを標的マーカーとした連鎖群（イネ染色体数の12を超える！）が分類されており、それぞれの変異系統との交配・自殖集団の分離比から、解析目的の遺伝子がどの連鎖群に属するかを確認する状況にあった。

こうして始まったプロジェクトではあったが、基盤情報の蓄積に伴い、1994年からは各農業形質に係る有用遺伝子の分子的な研究がプロジェクト内で開始された。当時大学院に在籍していた筆者もトビイロウンカ抵抗性遺伝子の連鎖解析をテーマとしてプロジェクトに参画し、以来、イネの遺伝子研究に従事している。やがてイネ染色体の物理地図や連鎖地図、連鎖解析に有効なDNAマーカーが徐々に整備され、ついには2004年に主要作物と

して初めてイネの全塩基配列が解読され、同時に約40,000個のイネ遺伝子の存在が明らかになった。既に解読されていたシロイヌナズナのゲノム配列とともに植物の遺伝子のモチーフが顕在化したことで、植物の遺伝子情報の整備が飛躍的に進み、このイネ全塩基配列の解読が極めて重要な成果となった。

その後、多様な生物の各遺伝子の塩基配列やアミノ酸配列がデータベース化され、タンパクの構造解析が進んだ現在においては、各遺伝子の分子的な機能がおおよそ推定できるようになった。しかしながら、多くの遺伝子は単純にON/OFFで変異しているだけでなく、一塩基置換や軽微な欠失/挿入などで多様に変異しており、それらが農業形質にもたらす役割はまだ未解明の点が多い。遺伝子構造の軽微な変異がどのように農業特性に影響するかを検証するには、変異遺伝子を踏

まえた遺伝子の単離が必要不可欠であるが、育種の改良対象となる主要な農業形質の多くは、一遺伝子にのみ支配されているのではなく、複数の遺伝子によって制御される量的形質（QTL）である。したがってゲノム情報を育種に有効に活用するには、機能的な遺伝子解析によって主働するQTLや補足的に働くQTLなど改良効果が高い遺伝子を明らかにしておくことが必要である。

富山県では、品種改良に有用なゲノム情報について農業・食品産業技術研究機構（農研機構）や大学機関等と連携し、また独自に新規遺伝子の単離やQTL解析を進めながら、戻し交配とDNAマーカー選抜を駆使して県の奨励品種等に対する準同質遺伝子系統（NIL）の育成を行っている（図-1）。県の奨励品種をベースとすることは、すなわち、‘現場のニーズに応じた既存品種のピンポイント改良によ

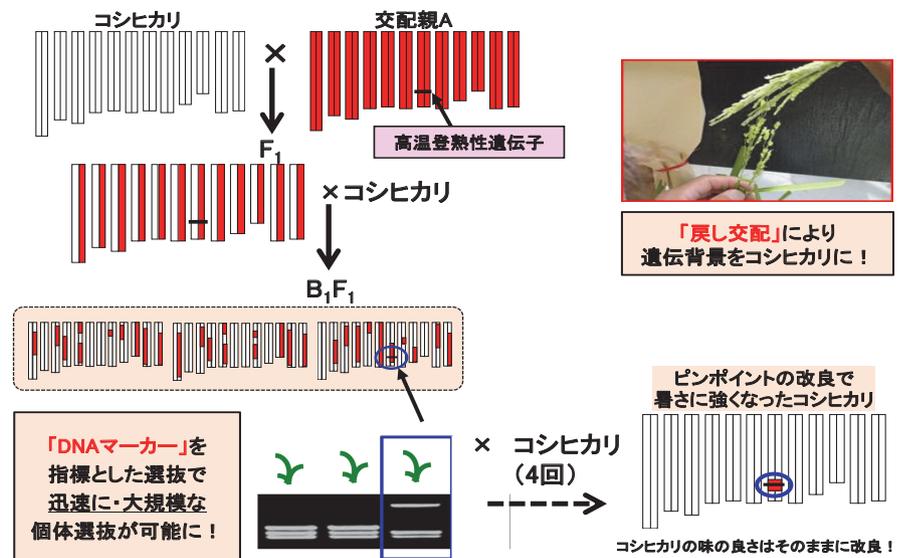


図-1 DNA マーカー選抜によるピンポイント改良

の全面的な切り替えとスムーズな普及’を前提とした育種方針である。とくに2018年に本格デビューを果たした富山県の新しいブランド品種「富富富」は、「コシヒカリ」のピンポイント改良の集合体ともいえる品種であり、2022年度には1,400ha以上で作付けされ、約15億円の市場規模を築いている。また、富山県の早生の基幹品種である「てんたかく」については、出穂期と玄米千粒重のみをピンポイントで改良した「てんたかく81」を育成し、全面切り替えを行って同年度に3,000ha以上で作付けされている。以下、これらの品種開発を主として、標題の事例を紹介する。

1. 「富富富」の開発

富山県における2017年の水稲作付面積は、作期別に早生・中生・晩生がそれぞれ5,450ha (14.5%)、27,860ha (74.1%)、4,290ha (11.4%)で作付けされていたが、このうち中生の「コシヒカリ」の作付面積は、27,750haであった。ほぼすべての中生を「コシヒカリ」が占める状況といえるが、ここには、近年のコメ生産は全国各地でブランド化が進み良食味品種への作付けが集中している背景がある。しかし、栽培面に目を向けると、「コシヒカリ」は、①稈長が長く倒伏しやすい、②いもち病に罹りやすい、③登熟期に高温に遭遇すると白未熟粒（と

くに基白粒や背白粒）が発生しやすい、等の課題がある。ある意味、その‘つくりにくさ’が「コシヒカリ」の市場性を高めているとも言えよう。一方で、近年は世界的な温暖化傾向により記録的な高温や長雨、強大な台風が発生しやすくなっている。本県の早生の基幹品種である「てんたかく」や晩生の基幹品種である「てんこもり」は、ともに「コシヒカリ」よりも短稈で耐倒伏性に優れており、また高温登熟性にも優れていることから安定した生産性を見込むことができるものの、「コシヒカリ」については、気象面からその弱点が顕著に現れやすく、生産性が不安定な状況下にある。

富山県では、これまでに「コシヒカリ」の遺伝的背景に半矮性遺伝子 *sdl* と異なるいもち病真性抵抗性遺伝子を付与することで、短稈化による耐倒伏性といもち病抵抗性を備えた「コシヒカリ富筑SDBL」シリーズ（登録番号20604号～20612号）を育成している。半矮性遺伝子 *sdl* は、植物の伸長に重要な役割を担う植物ホルモン「ジベレリン」を合成するGA20酸化酵素（GA20 oxidase 2）遺伝子 *SDI* の変異遺伝子である。遺伝子型が *sdl* ホモ型になると合成系が不完全となり、機能が低いジベレリンしか生産されないため伸長が抑制される（Sasaki *et al.* 2002）。「コシヒカリ富筑SDBL」にそれぞれ導入されているいもち病真性抵抗性遺伝子の多くはまだ遺伝子が

単離されていないものの、数多くの菌株を用いた試験により、レース特異的な抵抗性反応を確認している。この中で *Pita-2* を持ち抵抗性反応が安定している「コシヒカリ富筑SDBL2号」を「富富富」の開発母本とすることとした。「コシヒカリ富筑SDBL2号」の収量や食味および玄米品質は、「コシヒカリ」と同等であるが、稈長は15cm程度短く耐倒伏性に非常に優れるとともに、導入された *Pita-2* の効果により、葉いもちに極めて強い。

しかしながら、作物の病害対策として特定の抵抗性遺伝子を連用すると、菌の変異によって抵抗性を獲得した耐性菌が現れる、いわゆる「ブレイクダウン」を起こす恐れがある。この危険性を回避する方策として、イネがいもち病に感染しても病斑の拡大を抑制する圃場抵抗性遺伝子 *pi2l* (Fukuoka *et al.* 2009) に着目した。この遺伝子は、プロリンを多く含むアミノ酸配列と金属結合部位を持つ独特な構造のタンパクをコードする。罹病性の対立遺伝子である *Pi2l* の作り出すタンパクは生体防御応答を抑制する機能があるため、正常に機能すると、イネへのいもち菌の侵入後に菌糸が拡がりやすく病斑が拡大してしまう。一方、抵抗性の対立遺伝子である *pi2l* が作り出すタンパクは、菌の侵入は抑制しないが、細胞内での菌糸の進展を抑制することで病斑が拡がりにくくなる。これまでに、「コシヒカリ」の遺伝的背景

※ 「富富富」の名称には、①富山の水、富山の大地、富山の人が育てた富山づくしのお米であること、②食べた後の幸せな気持ち（ふふふ）を表し、③「富」は、豊かさやめでたさにつながる、という想いが込められている。

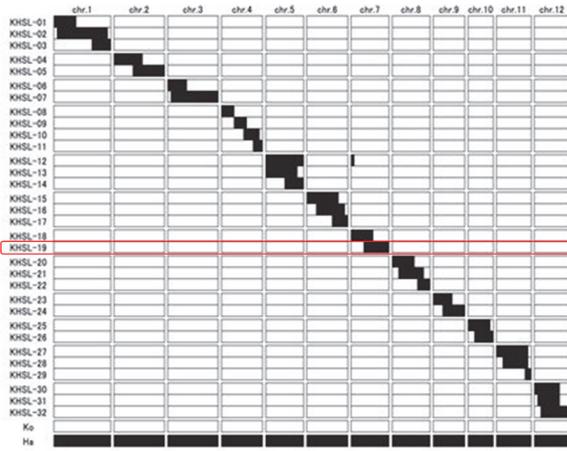


図-2 コシヒカリ / ハバタキ染色体置換系統群 (KHSLSs) を用いた高温登熟性の QTL 解析

(左) KHSLSs のグラフ遺伝子型 □はコシヒカリ (Ko) 型, ■はハバタキ (Hb) 型の染色体を表す。

(右) 各 KHSLS の高温登熟条件下での玄米整粒比率 系統 KHSLS-19 は、不良形質を持たないが背白粒や基白粒の発生が少なく、玄米整粒比率が高い。

に *pi2l* を付与した「ともほなみ」(登録番号 24013 号) が育成されている。

「コシヒカリ」においては、出穂後 20 日間の平均気温が 27°C を超えると白未熟粒が多発する (Murata *et al.* 2014)。白未熟粒の多発は玄米検査等級の低下を招き、米の買い取り価格に影響するが、近年は全国的に夏場の高温化が顕著であり、白未熟粒が発生しやすい状況となっている。我々は、「コシヒカリ」を遺伝的背景とするインド型品種「ハバタキ」の染色体断片置換系統群 (KHSLSs: Koshihikari/Habataki Chromosome Segment Substitution Lines) (図-2) を用いた解析により、「ハバタキ」の第 7 染

色体に高温下で登熟しても「コシヒカリ」の玄米品質を向上させる対立遺伝子 *Apql* (*Appearance quality of brown rice 1*) が存在することを明らかにした (Murata *et al.* 2014)。後に、この高温登熟性遺伝子 *Apql* は、子実器官でのデンプン合成系の初端を担うショ糖合成酵素 (Sucrose Synthase 3) の対立遺伝子であることが明らかになった (Takehara *et al.* 2018)。*Apql* は、高温下でも「コシヒカリ」型の対立遺伝子に比べ強く発現し、デンプン合成能がより強いために外観品質が向上する (Takehara *et al.* 2018)。我々は、*Apql* のコシヒカリ準同質遺伝子系統 (NIL) である「コシヒカリ富山

APQ1 号」を育成し、品種登録出願した (出願番号 30061 号)。「コシヒカリ富山 APQ1 号」は、高温登熟条件下で「コシヒカリ」よりも明らかに高い整粒比率を示し、また収量、食味を含む他の農業形質については、「コシヒカリ」と同等であることから、*Apql* の利用により高温登熟性を向上させる育種が可能となった。

以上のように、本県における中生の基幹品種「コシヒカリ」については、その収量や食味に影響せず、栽培上の諸課題をそれぞれの遺伝子由来する根拠に基づいて改良した NIL が育成されている。我々は、これら NIL のもつ有用な遺伝子を集積して、「コシ

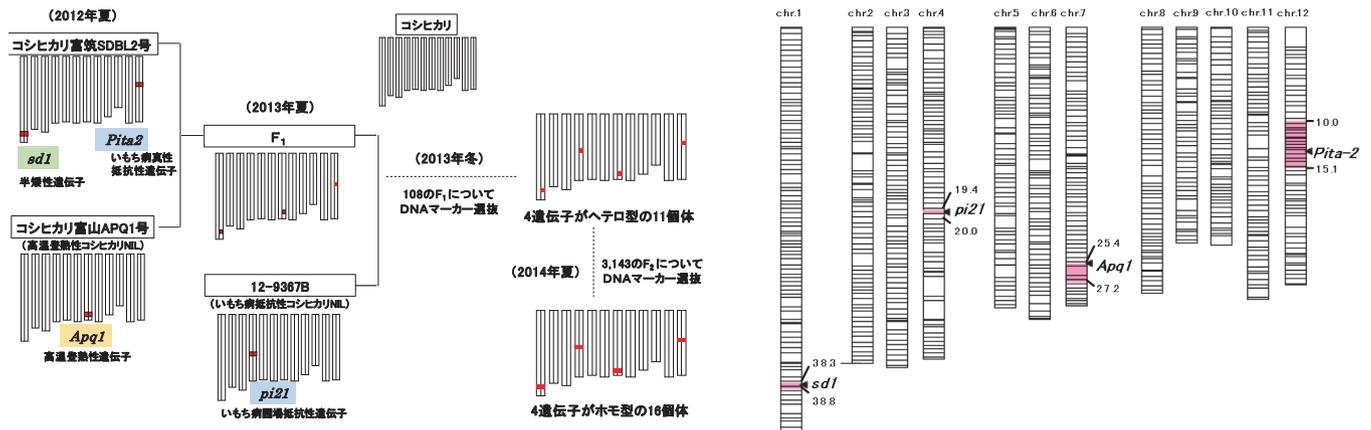


図-3 「富富富」育成における交配経過 (左) とグラフ遺伝子型 (右)

各染色体 (Chr.) の白色部はコシヒカリの染色体、色塗部は交配親の染色体断片を現す。数字は各染色体の物理位置 (Mbp)、▲は遺伝子の位置を示す。



図-4 「富富富」の特性
 (左) 高温下で登熟させた玄米
 コシヒカリでは背白粒、基白粒が多発している。
 (中) いもち病抵抗性
 コシヒカリより15～20cm短く、耐倒伏性に優れる。
 穂いもち、葉いもちとも富富富は発病していない。
 (右) 富富富の稈長

「コシヒカリ」の特長を維持しつつ、高温登熟性、耐倒伏性およびいもち病抵抗性に優れた系統を育成した。まず「コシヒカリ富山APQ 1号」に、短程でいもち病真性抵抗性遺伝子 *Pita-2* を持つ「コシヒカリ富筑SDBL2号」を交配し、さらにいもち病ほ場抵抗性遺伝子 *pi21* を持つ「12-9367 B」を交配した(図-3)。この交配および後代の遺伝子集積個体の選抜には、それぞれの遺伝子に連鎖するDNAマーカーを用いて、わずか2年で完了した。この集積系統の栽培試験を重ね、図-4に示す有用形質を備えたイネを開発した。2017年3月に農研機構と共同で品種登録出願するにあたり、一般公募で名称を「富富富」(登録番号28233号) ※と決定した。「富富富」は2018年に本格デビューするとともに県の奨励品種に設定されている。

2. 「てんたかく 81」の開発

「てんたかく」は、「コシヒカリ」との作期分散を図ることができ、良食味で高温登熟性をもつ本県の早生基幹品種であるが、近年、担い手への農地集積に伴い大規模経営体が増加し、さらなる作期分散を図ることができる極早生品種の要望が高まっていた。また、多くの早生品種が抱える課題として、登熟条件が不良な年には低収となる事例がある。そこで、「てんたかく」の高温登熟性や良食味性などの特長を保ちつつ、2～3日早生化するとともに、充実が良く屑米が少ない「てんたかく」

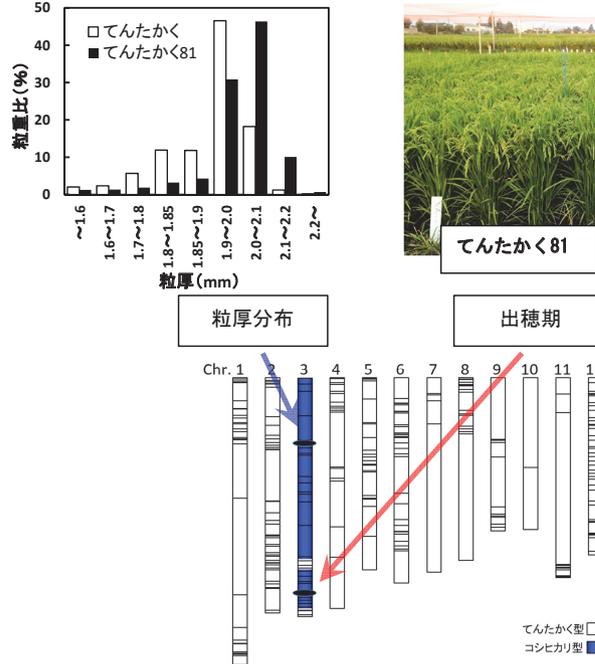


図-5 「てんたかく 81」のグラフ遺伝子型と改良した農業形質の座乗領域
 「てんたかく」の第3染色体が、ほぼ「コシヒカリ」のものに置き換わっている。

の準同質遺伝子系統の開発を試みた。

「てんたかく 81」は、「てんたかく」を母、「コシヒカリ」を父とした交配を行い、さらに「てんたかく」を父とした連続戻し交配を行って育成した。この間、遺伝解析により、コシヒカリ型で「てんたかく」の出穂期を早める領域、及び屑米が少なく収量を高める遺伝子領域を明らかにするとともに(図-5)、これらの領域がコシヒカリ型に固定された個体の選抜を行った。さらに栽培試験を重ね、出穂が早くコメの充実が良く屑米が少ないほかは、収量、食味等の諸形質が「てんたかく」と同等である優良系統を選抜し、最終的に県内外の米卸等の実需者や農産物検査機関から、品質および食味が「てんたかく」と同等であるとの評価を受け、これを「てんたかく 81」として品種

登録申請を行った(出願番号33586号)。2018年には「てんたかく 81」を「てんたかく」群としての産地品種銘柄設定を申請し、普及基盤を整備したうえで、2020年から既存の「てんたかく」を県下全域で「てんたかく 81」に切り替え普及させている。

3. 有色コシヒカリの開発

わが国では高齢化の波を受け食と健康に対する関心は非常に高まっており、健康維持・増進に寄与する機能性を備えた作物の開発が求められている。ここに、富山県に江戸時代から伝わる「くすりのとやま」のイメージも活かしながら、機能性を付与したイネの開発を進めてきた。この中で、米ぬかに含まれる高機能成分「トコト

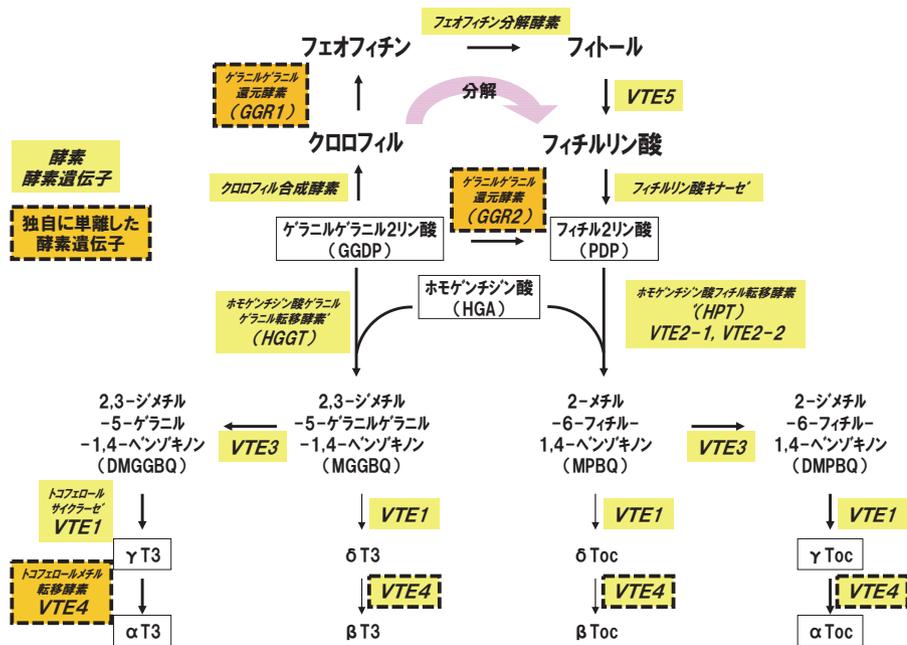


図-6 イネにおけるビタミンE合成経路
多くの植物がもつ *GGR1* の他に、イネは GGDP を PDP に直接変換する *GGR2* を特異的にもつ。

リエノール'については、オオムギやシロイヌナズナ等で特定された既知の遺伝子情報を基にイネで機能する遺伝子を特定し、イネにおける独自のビタミンE生成経路を解明するとともに、その高含量イネや機能性がより高いトコトリエノール異性体に特化したイネ、さらにはトコトリエノールと拮抗して作用するトコフェロールフリーのイネカルス作出に成功した(トコフェロールは葉緑体合成の基質でもあり、欠損すると植物体は生存できない)(図-6)(Sekine *et al.* 2016; Kimura *et al.* 2018)。

また、「コシヒカリ」の良食味を活かしながら、抗酸化性に優れるポリフェノール系色素を米ぬかに含む2種の有色品種を育成した。インド型の赤米品種である「Kasalath(カサラス)」から玄米への赤色着色に必須である2遺伝子 *Rc* および *Rd* と、在来の赤米品種である「阿波赤米」から籾の先にある‘ふ先部’の着色遺伝子 *CAP6(t)* をピンポイントでコシヒカリに付与することで、コシヒカリと同じ栽培特性である「赤むすび(富山赤78号)」(登録番号 22564号)を育成した(図-7)。「ふ先部」の着色は、赤米の籾と白米の籾が外見では区別がつかないことから、識別性として付与したものである。他方、玄米への紫黒色着色には3遺伝子 *Kala1*, *Kala3* および *Kala4* が必要であることを突き止め(Maeda *et al.* 2014), これをコシヒカリに付与した「黒むすび(富山黒75号)」(登録番号 20819号)を育成

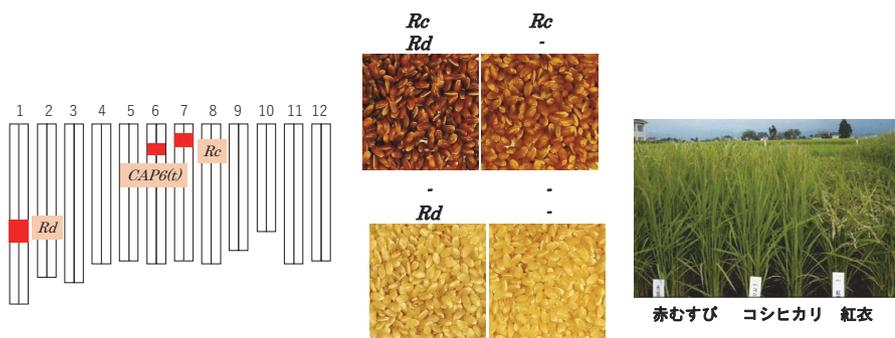


図-7 赤色コシヒカリ「赤むすび」

- (左) グラフ遺伝子型
「コシヒカリ」に「Kasalath」由来の *Rc*, *Rd* および「阿波赤米」由来の *CAP6(t)* が導入されている。
(中) 遺伝子組合せと玄米色
2 遺伝子を併せ持つと高い抗酸化性を備えたプロアントシアニジンが合成され、鮮やかに発色する。
(右) 草姿
草姿は「コシヒカリ」と同様であり、*CAP6(t)* によるふ先色の着色で識別性をもたらしている。



図-8 黒色コシヒカリ「黒むすび」

- (左) 「黒むすび」のグラフ遺伝子型
「コシヒカリ」に「紅血糯」由来の *Kala1*, *Kala3*, *Kala4* が導入されている。
(中) 紫黒色着色にかかる遺伝子の組合せと玄米色
3 遺伝子を併せ持つと高い抗酸化性を備えたアントシアニンが合成され、鮮やかに発色する。
(右) 穂の外観
登熟期当初から籾越しに紫黒色の着色が確認できる。

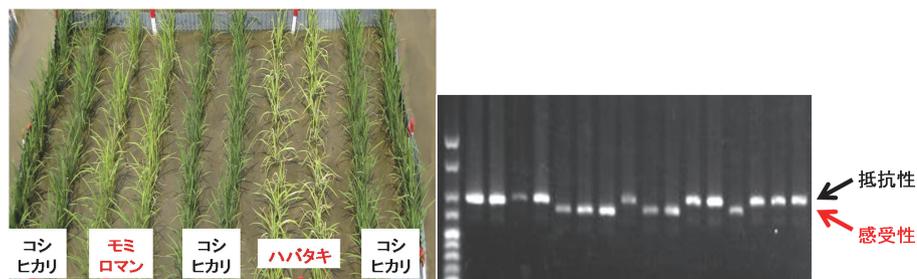


図-9 トリケトン系 4-HPPD 阻害型除草剤感受性

(左) 除草剤施用で白化するイネ

(右) 除草剤感受性を判別する DNA マーカー

28bp の欠失により遺伝子の機能が欠損すると除草剤を代謝できず感受性（白化）になる。

した (図-8)。赤米色素および黒米色素はともにポリフェノール系の成分であり抗酸化性に優れているが、とくに「赤むすび」の色素であるプロアントシアニジンには、動脈硬化予防作用や抗ガン活性などの健康機能性も見いだされていることから、‘メタボリックシンドローム (メタボ)’ の予防に赤米の米ぬかを食素材として活用することを検討した。‘メタボ’とは内臓脂肪蓄積による肥満を基軸として、高血糖、高脂血症、高血圧等が合併した状態のことを指す。そのため内臓脂肪の蓄積抑制が‘メタボ’予防の重要なポイントとなるが、「赤むすび」の米ぬか抽出物は、細胞試験によって脂肪蓄積抑制作用を持つことを確認し、「赤むすび」の米ぬかを食餌させたマウス試験によって、中性脂肪やコレステロール値、血糖値等が有意に低下することを実証した (村田 2012)。

4. 新規遺伝子の同定とその活用

図-2 で紹介した染色体断片置換系統群 KHSLs は、「コシヒカリ」と「ハバタキ」の間で異なる農業特性についての遺伝子解析 (QTL 解析) を行う上で非常に強力な材料である。これを基に全国の研究機関と連携して、様々な遺伝子研究を行っているが、そのうち 2 例を以下に紹介する。

(1) 太稈遺伝子 *Apo1*

「ハバタキ」は「コシヒカリ」よりも稈が太く強稈性を備えているが、関連する第 1 染色体の QTL はとくに稈壁の厚さを厚くする効果が高く、*STRONG CULM 1 (SCM1)*、第 6 染色体の QTL は稈の外径を大きくする効果が高く、*STRONG CULM 2 (SCM2)* と名付けられた。後に、*SCM2* は成長点で発現し穂の分化に関与することが知られている遺伝子 *Apo1* であることがわかり (Ookawa *et al.* 2010)、この遺伝子は成長点で穂につく枝や花、稈の細胞分裂を制御するが、「ハバタキ」ではこの遺伝子が稈を太くし穂を大きくすることが明らかとなった。この遺伝子をコシヒカリに付与することで、「コシヒカリ富農 SCM1 号」(登録番号 22989 号) を東京農工大学ほかと育成した。

(2) 除草剤抵抗性遺伝子 *His1*

ベンゾビシクロンやメソトリオン、テフリルトリオン等のトリケトン系 4-HPPD 阻害型除草剤は多くのイネの生育には全く影響しないが、飼料用等の一部品種に対し、苗を白化させてしまう。「ハバタキ」もこの除草剤に感受性であるが、この原因は第 2 染色体上の遺伝子 *His1* の 28bp 欠失変異によることを明らかにした (図-9)。すなわち、「コシヒカリ」では *His1* が

正常に働くため遺伝子産物の酵素が除草剤を代謝するが、「ハバタキ」の *his1* では酵素が機能しないため除草剤を代謝できずに白化してしまう。*his1* はこの除草剤に対する反応以外には外見上の特性には全く影響しない。*His1* の単離によって、この類似遺伝子群から新たな除草剤抵抗性遺伝子 (*OsHs1l*) が見いだされ、イネ科作物には HSL タンパク質をコードする遺伝子が広く存在することもわかった (Maeda *et al.* 2019)。今後は、多様なイネ科作物ごとに遺伝子の機能解析と利用、さらには選択的除草剤の開発研究が進むと予想される。

5. おわりに

従来の交配育種では、原交配以後の遺伝的な固定化に相当な時間を要し、育成までに通常 10 年以上を要する。また「富富富」のように 3 系統以上の交配を行うとさらに時間を費やすとともに、後代における形質の分離幅が拡大し、選抜対象とすべき集団規模が拡大してしまう。しかしながら、「富富富」の育成にあたっては、遺伝子情報に基づいた DNA マーカー選抜を適用し、速やかに選抜を完了することができた。2014 年に、3,143 個体から目的の 4 つの遺伝領域がホモ型となっている 16 系統が選抜されたが、これは 256 分の 1 (= (1/4)⁴) の確率に沿ったものであった。さらに 2 年後には固定化を確認し系統選抜まで完了したことから、NIL を利用したマー

カー育種が迅速かつ強力な育種手法であることを実証した。背景には有用なコシヒカリ NIL が育成されていたことによるが、新形質の発掘のためにも、染色体断片置換系統群 (KHSLs) のような育種研究の材料を独自に育成しておくことが望ましい。また、NIL の育成においては、遺伝子に基づいた栽培特性を検証するためにも、また中間母本として活用するためにも、目的形質に関与する遺伝子領域以外には同一品種の遺伝的背景に揃え、不良特性をできる限り排除しておくことが望ましい。

以上、富山県では水稲の有用形質に関与する様々な遺伝子や遺伝子領域を特定するとともに、DNA マーカー選抜手法を駆使して、従前の品種に有用な形質をピンポイントで導入し新しい品種を開発した。今後も富山県の基幹品種である早生の「てんたかく」、中生の「コシヒカリ」および「富富富」、また晩生の「てんこもり」等に対して、効率的かつスピーディに遺伝子を付与

し、生産者にも消費者にも喜ばれるような品種改良を継続したい。

謝 辞

長年にわたる研究において、ご指導、ご協力いただいた県内外の研究者の方々、猛暑・極寒の厳しい状況下で圃場作業をしていただいた技術職員・パート職員の方々に対し、心から感謝申し上げます。また、品種の普及に関しては行政、普及、関係機関の方々にも大変なご厚情をいただいた。この場を借りて、深謝の意を表す。

引用文献

Fukuoka, S. *et al.* 2009. Loss of function of a proline-containing protein confers durable disease resistance in rice. *Science* 325, 998-1001.

Kimura, E. *et al.* 2018. Identification of *OsGGR2*, a second geranylgeranyl reductase involved in α -tocopherol synthesis in rice. *Sci. Report* 30, 8: 1870.

Maeda, H. *et al.* 2014. Genetic dissection of black grain rice by the development of a near isogenic line. *Breed. Sci.* 64:

134-141.

Maeda, H. *et al.* 2019. A rice gene that confers broad-spectrum resistance to β -triketone herbicides. *Science* 365: 393-396.

村田和優 2012. 「コシヒカリ」に機能性を付与した新品種の開発. *美味技術学会誌*, 11: 92-97.

Murata, K. *et al.* 2014. Identification of a novel gene (*Apq1*) from the indica rice cultivar 'Habataki' that improves the quality of grains produced under high temperature stress. *Breed. Sci.* 64, 134-141.

Ookawa, T. *et al.* 2010. New approach for rice improvement using a pleiotropic QTL gene for lodging resistance and yield. *Nat. Commun.* 1, 132.

Sasaki, A. *et al.* 2002. Green revolution: a mutant gibberellin-synthesis gene in rice. *Nature*, 416, 701-702.

Sekine, D. *et al.* 2016. Identification of a Genetic Factor Required for High γ -Isoform Concentration in Rice Vitamin E J. *Agric. Food Chem.* 64, 9368-9373.

Takehara, K. *et al.* 2018. Thermo-responsive allele of *sucrose synthase 3 (Sus3)* provides high-temperature tolerance during the ripening stage in rice (*Oryza sativa* L.). *Breed. Sci.* 68, 336-342.