ノ ー ト

ガンマ線照射による黄色胚乳突然変異を持つイネ新品種「初山吹」の育成

梶 亮太^{1,2)}・岡本正弘¹⁾・坂井 真¹⁾・溝淵律子^{1,3)}・田村克徳¹⁾・平林秀介^{1,4)}・田村泰章¹⁾・
深浦壮一^{1,5)}・富松高治^{1,6)}・中野 洋¹⁾

¹⁾九州沖縄農業研究センター，福岡県筑後市，〒 833-0041

²⁾現：東北農業研究センター，秋田県大仙市，〒 014-0102

³⁾現：農業生物資源研究所，茨城県つくば市，〒 305-8602

⁴⁾現：作物研究所，茨城県つくば市，〒 305-8518

⁵⁾現：熊本県農業研究センター，熊本県八代市，〒 869-4201

⁶⁾現：協友アグリ株式会社，岐阜県岐阜市，〒 460-0003

“Hatsuyamabuki”, A new rice variety with yellow endosperm derived from gamma ray mutation

Ryota Kaji^{1,2)}, Masahiro Okamoto¹⁾, Makoto Sakai¹⁾, Ritsuko Mizobuchi^{1,3)}, Katsunori Tamura¹⁾, Hideyuki Hirabayashi^{1,4)},
Yasuaki Tamura¹⁾, Souichi Fukaura^{1,5)}, Takaharu Tomimatsu^{1,6)} and Hiroshi Nakano¹⁾

¹⁾ National Agricultural Research Center for Kyushu Okinawa Region, Chikugo, Fukuoka 833-0041, Japan

²⁾ Present address: National Agricultural Research Center for Tohoku Region, Daisen, Akita 014-0102, Japan

³⁾ Present address: National Institute of Agrobiological Sciences, Tsukuba, Ibaraki 305-8602, Japan

⁴⁾ Present address: National Institute of Crop Science, Tsukuba, Ibaraki 305-8518, Japan

⁵⁾ Present address: Kumamoto Prefectural Agriculture Research Center, Yatsushiro, Kumamoto 869-4201, Japan

⁶⁾ Present address: Kyoyu Agri Co., Ltd., Nagoya, Aichi 460-0003, Japan

キーワード

イネ, *Oryza sativa* L., 突然変異, 黄色胚乳, oryzamutaic acids A ~ C

1. 育成の背景

日本国内における主食用米の需要が減少を続ける一方で、加工米飯用途あるいは米粉パン等の米粉加工食品の原料としての米については、新たな需要が期待されている。ガンマ線照射あるいは ethyl methane sulfonate (EMS), N-methyl-N-nitrosourea (MNU) 等の化学変異剤処理による胚乳突然変異を持つイネ品種が育成され、これら加工用米の素材として利用されている。これまでに育成された胚乳突然変異に由来する品種として、「ミルキークイーン」(伊勢ら 2001) 等の低アミロース米に代表されるデンプン組成の変異品種、「春陽」(上原ら 2002) 等の低グルテリン米に代表されるタンパク質組成の変異品種、糖質米の「あゆのひかり」(三浦ら 2007) 等が育成されている。一方、玄米糠層が着色する有色素米にも加工原料として一定の需要があり、国内外の有色素米の在来種を改良することによって、「ベニロマン」(八木ら 1998) 等の赤米粳種、「紅染めもち」(溝淵ら 2006) 等の赤米糯種、紫黒米粳種の「おくのむらさき」(滝田ら 2001)、紫黒米

糯種の「朝紫」(東ら 1997) 等が育成され、清酒、和菓子、雑穀米のブレンド等の用途で活用されている。

著者らは、新たな胚乳突然変異の作出を目標として、「キヌヒカリ」種子にガンマ線照射を行った後代から、胚乳内部まで黄色く着色する変異体を見出し、その形質が遺伝的に固定した系統を作出することに成功した。また、その黄色胚乳変異が、これまでに報告されていない新規物質 oryzamutaic acids A ~ C (Nakano *et al.* 2009a, 2009b) によるものであるという点を明らかにするとともに、黄色胚乳を持つ固定系統を「初山吹 (はつやまぶき)」として品種登録出願を行った。以下、「初山吹」の品種特性、粒色、色素の特徴および黄色胚乳の遺伝分析の結果について報告する。

2. 育成の経過

1) 黄色胚乳突然変異の作出と固定

「初山吹」は 1998 年 5 月農業生物資源研究所放射線育種場において、新規形質を備えた水稻品種の育成を目標にガンマ線照射(照射線量: 300 Gy, 線量率: 15 Gy/h, 照射番号: 98-3)を行った「キヌヒカリ」種子から育成された。1998 年 6 月に国際農林水産業研究センター沖縄支所(現 国際農林水産業研究センター熱帯・島嶼研究

拠点)において、 M_1 を苗代において苗箱放置栽培で養成した後、1999年に九州農業試験場(現九州沖縄農業研究センター)の圃場において M_2 400個体を養成し、株毎に M_3 種子を採種した。 M_3 の玄米の外観調査において玄米の粒色が黄色に変異した個体を1個体見出し、その個体の後代について系統育種法により選抜固定を図ってきた。

2)「初山吹」の育成

選抜個体の後代に、2002年 M_5 世代で「泉1275」の系統名を付して、生産力検定試験、特性検定試験に供試した。2005年 M_8 で黄色胚乳をはじめとする主要形質が実用的に固定していると確認されたので、同年より「西海黄256号」の地方名を付した。その後、2009年に胚乳から、黄色素の新規物質 *oryzamutic acid A* が単離・同定されたため、新規性を備えた水稻新品種として「初山吹」の品種名で品種登録出願した(出願公表日2009年2月3日、出願番号23176)(表1)。さらに、同年、胚乳から、黄色素 *oryzamutic acids B* と *C* が単離・同定された。

3.「初山吹」の特性

1) 形態的・生態的特性

「初山吹」の栽培特性を表2に示した。出穂期および成熟期は「キヌヒカリ」と同程度で暖地では“早生の早”

熟期に属する梗種である。「キヌヒカリ」と比較して、稈長は5～6cm程度短く、穂長は同程度で、穂数はやや少ない。草型は“中間型”である。ふ色およびふ先色は“黄白”で、芒は無い。粒着密度は“中”、脱粒性は“難”である。玄米の粒形、粒大は“中”で「キヌヒカリ」並かやや小さい。耐倒伏性は“やや強”で、倒伏は「キヌヒカリ」よりやや少ない。

育成地および特性検定試験地における成績から、いもち病抵抗性遺伝子型は“*Pii*”と推定され、葉いもち圃場抵抗性、穂いもち圃場抵抗性ともに「キヌヒカリ」並の“やや弱”である。白葉枯病抵抗性は「キヌヒカリ」並の“やや弱”である。縞葉枯病には“罹病性”である。穂発芽性は「キヌヒカリ」並の“やや易”である(表3)。

収量は、育成地での5カ年の精玄米重の平均で39.5 kg/aで「キヌヒカリ」より7%程度少収である(表2)。玄米の粒形、粒大、千粒重は、「キヌヒカリ」とほぼ同じで、外観品質も「キヌヒカリ」並である(表4)。

「初山吹」は、原品種の「キヌヒカリ」よりも短稈・低収であるが、「初山吹」を母本とした交配後代から、一般品種並の稈長、収量性を備えた系統が開発されていることから、「初山吹」の稈長の改変および収量性の向上は可能であると思われる。

2) 粒色および色素

「初山吹」の米粒の写真を図1に示した。「初山吹」の

表1.「初山吹」の育成経過

年次 世代	1998 γ線照射		1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	
		M ₁	M ₂	M ₃	M ₄	M ₅	M ₆	M ₇	M ₈	M ₉	M ₁₀	
供試 数	系統群 系 統 個 体				1	1	1	1	1	1	1	
				11	3	5	5	5	5	5	5	
			400	275	150	250	250	250	250	250	250	
選 拔 数	系統群 系 統 個 体	4000 粒	10 g			1	1	1	1	1	1	
					1	1	1	1	1	1	1	1
					3	5	5	5	5	5	5	5
試験区分		集団養成	個体選抜	系統選抜			生検予備		生検			
品種・系統名							泉 1275		西海黄 256 号		初山吹	

表2. 育成地における「初山吹」の生育調査および収量調査成績

品種名	出穂期 (月・日)	成熟期 (月・日)	稈長 (cm)	穂長 (cm)	穂数 (本/m ²)	精玄米重 (kg/a)	標準比 (%)	玄米千粒重 (g)	玄米品質
初山吹	8.13	9.24	68	18.4	313	39.5	93	22.0	5.4
キヌヒカリ	8.13	9.24	73	18.5	329	42.5	(100)	22.6	5.6

2003～2007年の平均。窒素施肥量は0.8 kg/a。玄米品質：1(上上)～9(下下)。

表3.「初山吹」の耐病性および障害耐性

品種名	推定遺伝子	葉いもち	穂いもち	白葉枯病	縞葉枯病	耐倒伏性	穂発芽性
初山吹	<i>Pii</i>	やや弱	中	やや弱	罹病性	やや強	やや易
キヌヒカリ	<i>Pii</i>	やや弱	中	やや弱	罹病性	やや強	やや易

特性検定試験、生産力検定試験における成績による判定。

玄米は「キヌヒカリ」と比較して黄色みが強く、精米では黄色がより明確になる。また、米粒の断面を観察すると、米の表面付近だけでなく、胚乳中心部まで黄色く呈色していることが確認できる。胚乳の黄色は加熱後も失われず、炊飯米も黄色を呈する。「初山吹」の玄米、精米、炊飯米の色を分光測色計で測定した結果を表5に示した。玄米の b^* 値は「キヌヒカリ」よりやや大きい程度だが、精米および炊飯米での b^* 値は「キヌヒカリ」より明らかに大きい。また、「キヌヒカリ」の精米の b^* 値は玄米の b^* 値よりも小さいのに対して、「初山吹」の精米の b^* 値は玄米の b^* 値とほぼ同じである。 b^* 値は値が大きいほど黄色みが強いことを表すので、分光測色計の測定値からも「初山吹」の粒色が黄色いことを示すことができる。

「初山吹」の黄色胚乳の遺伝様式を解明するため、原品種である「キヌヒカリ」と「初山吹」の交配を行い、 F_1 を九州沖縄農業研究センター場内圃場において普通期移植栽培で養成して F_2 種子を採種した。得られた F_2 の玄米はパーレスト (kett 社製) を用いて 100 秒の搗精をして、およそ 90% に精白した後、粒色を達観調査した。その結果、 F_2 において野生型の白色胚乳粒と黄色胚乳粒が分離することが明らかになった。さらに、胚乳色を 1 粒ごと達観調査したところ、野生型の白色胚乳粒は 287 粒、黄色胚乳粒は 92 粒出現した。 χ^2 検定の結果、この観察値は 3:1 の理論比に良く適合した (表6)。このことから、黄色胚乳は、劣性の一遺伝子支配によるものと推定された。

「初山吹」の胚乳に含まれる黄色素 oryzamutaic acids

表4. 「初山吹」の粒形調査成績

品種名	粒長 (mm)	粒幅 (mm)	粒厚 (mm)	粒長 / 粒幅	粒長 × 粒幅
初山吹	5.23	2.99	2.08	1.75	15.64
キヌヒカリ	5.15	3.00	2.09	1.72	15.45

2007 年産玄米各 30 粒について調査。

A ~ C は, Nakano *et al.* (2009a, 2009b) によって単離・同定された。oryzamutaic acids A ~ C はカロテノイドやフラボノイド等の既知の黄色素とは異なり、従来にない含窒素複素環骨格を有する新規物質である (図2)。oryzamutaic acid A は 4 分子のアミノ酸から、oryzamutaic acids B と C は 3 分子のアミノ酸からそれぞれ生合成される。また、oryzamutaic acids B と C は立体異性体であるが、これらの構造は安定している。oryzamutaic acids A ~ C は、「初山吹」の胚乳を有機溶媒水溶液で抽出後、メタノール沈殿および種々のクロマトグラフィーで分離・精製できる。

4. 残された問題点と今後の展望

「初山吹」は、国内で初めて開発された黄色胚乳イネ品種である。黄色胚乳のイネとしては、Shen *et al.* (2008)

表5. 「初山吹」の粒色

品種名		玄米	精米	炊飯米
初山吹	L*	65.05	71.16	69.42
	a*	4.71	-0.53	-1.90
	b*	19.17	19.48	13.34
キヌヒカリ	L*	67.11	74.74	77.73
	a*	3.68	-0.71	-1.95
	b*	17.69	9.61	2.80

精米の搗精歩合は、「初山吹」が 89.8%、「キヌヒカリ」が 89.7%。粒色はミノルタ CM-2500d で測定。L* 値は大きいほど明るい。a* 値は+で赤みが、-で緑が強い。b* 値は+で黄色が強く、-で青みが強い。

表6. 「キヌヒカリ × 初山吹」 F_2 における粒色の分離

組合せ	調査 粒数	粒色		χ^2 値 (3:1)	P 値
		白粒	黄色粒		
キヌヒカリ × 初山吹	379	287	92	0.106	>0.744

図1. 「初山吹」の玄米 (左上), 精米 (左下), 精米の断面 (右上), 炊飯米 (右下) それぞれ、左が「初山吹」、右が「キヌヒカリ」。

図 2. Oryzamutaic acids A ~ C の化学構造

が、フラボノイド含量が 80% 増加していて微量の β カロテンを含む黄色胚乳系統を見出し、その黄色胚乳に関する遺伝子が第 9 染色体に座乗すると報告している。しかし、「初山吹」の黄色素である oryzamutaic acids A ~ C は、フラボノイド等の既知の物質とは異なる新規物質であり、Shen *et al.* の系統とは異なると考えられる。oryzamutaic acids A ~ C は新規物質であるため、「初山吹」を食用として流通させるためには、安全性についての評価を得ることが必要である。そこで、ラット単回投与毒性試験、ラット 28 日間反復投与毒性試験および復帰突然変異試験を、財団法人食品薬品安全センター秦野研究所に依頼した。その結果、ラット単回投与毒性試験、ラット 28 日間反復投与毒性試験のいずれにおいても、「初山吹」を投与したラットの体重は正常に増加し、観察期間中に異常は認められなかった（表 7）。また、検定菌として、ヒスチジン要求性の *Salmonella typhimurium* TA100, TA1535, TA98, TA1537 およびトリプトファン要求性の *Escherichia coli* WP2 *uvrA* を用い、復帰突然変異試験を行った結果、「初山吹」は遺伝子突然変異誘発性を持たないと判定された。これらの結果から、「初山吹」を食用とした際に、毒性を示す可能性は極めて低いと判断した。

oryzamutaic acids A ~ C の機能性は現時点では不明であり、「初山吹」の玄米と「キヌヒカリ」の玄米を比較して、含量の減った成分、生成されなくなった成分も明らかになっていない。生合成過程および黄色胚乳の発現に関わる遺伝子の単離は今後の課題である。遺伝子の単離

表 7. 「初山吹」を 28 日間反復投与したラットの体重変化

投与開始後 経過日数	雄		雌	
	キヌヒカリ	初山吹	キヌヒカリ	初山吹
1	161.0 $\pm$ 4.0	164.6 $\pm$ 6.9	134.3 $\pm$ 4.9	134.0 $\pm$ 6.4
4	189.7 $\pm$ 5.3	191.4 $\pm$ 9.6	149.0 $\pm$ 8.7	148.8 $\pm$ 4.7
8	225.5 $\pm$ 6.9	228.9 $\pm$ 16.6	167.2 $\pm$ 11.5	167.9 $\pm$ 8.0
11	251.7 $\pm$ 8.3	255.1 $\pm$ 21.0	180.7 $\pm$ 11.0	181.3 $\pm$ 10.7
15	282.4 $\pm$ 13.1	287.0 $\pm$ 24.7	192.7 $\pm$ 12.4	195.0 $\pm$ 13.9
18	309.0 $\pm$ 15.6	314.2 $\pm$ 29.6	203.3 $\pm$ 14.2	203.6 $\pm$ 15.5
22	336.8 $\pm$ 18.7	343.2 $\pm$ 35.7	214.8 $\pm$ 18.0	217.9 $\pm$ 20.4
25	357.8 $\pm$ 19.8	363.9 $\pm$ 36.7	219.4 $\pm$ 14.8	228.4 $\pm$ 24.3
28	362.9 $\pm$ 20.9	370.2 $\pm$ 43.2	223.5 $\pm$ 17.0	228.2 $\pm$ 23.2

数値は、平均体重 (g) $\pm$ 標準偏差。雄雌ともに 5 個体の平均値。飼料に、粉碎した「キヌヒカリ」または「初山吹」玄米を 5% 混合して、自由に摂取させた。雌雄それぞれの経過日数ごとに、「キヌヒカリ」と「初山吹」を投与した群の平均体重について、t 検定を行ったが有意差は無かった（有意水準：5%）。

と機能解析によって、胚乳内での oryzamutaic acids A ~ C 生成のメカニズムが明らかになり、そのことが物質の機能性についての知見にもつながるものと考えられる。

「初山吹」の用途としては、清酒、和菓子など加工食品の着色料、雑穀米へのブレンド米、エサ米などの非主食用品種の識別マーカー等への利用が想定される。さらに、oryzamutaic acids A ~ C に新たな機能性が見出されれば、米の新たな用途の開発、需要の拡大に貢献できるものと期待される。

今後、黄色胚乳米を普及させる上では、「初山吹」の収量性を改良することが重要な育種目標となる。「初山吹」の原品種である「キヌヒカリ」は、温暖地を中心に広く普及している広域適応性を持つ品種であり、「どんとこい」(上原ら 1995)「夢つくし」(今林ら 1995)「きぬむすめ」(梶ら 2009)等の多くの品種の交配親に用いられている母本能力の高い品種である(上原ら 1999)。「初山吹」の、出穂期、耐倒伏性等の形質は「キヌヒカリ」と同じであり、北海道、東北を除く日本国内の広い地域で栽培が可能であり、母本としても扱いやすい品種であると考えられる。遺伝分析の結果から黄色胚乳の形質は単因子劣性遺伝であることが明らかになっているので、多収米等の日本型品種への連続戻し交配による黄色胚乳の導入は容易である。さらに、黄色胚乳遺伝子を染色体上にマッピングし、DNA マーカーを開発することによって、連続戻し交配を効率的に行うことができる。

謝 辞

本品種の育成に当たり、ガンマ線照射処理を農業生物資源研究所放射線育種場に行っていただいた。国際農林水産業研究センター沖縄支所および九州沖縄農業研究センターの技術専門職員ならびに非常勤職員各位には、育成試験を支える圃場管理業務にご尽力いただいた。九州沖縄農業研究センター低コスト稲育種研究九州サブチームの片岡知守氏には安全性評価試験の取りまとめを行っていただいた。また、本稿をまとめるに当たり東北農業研究センター低コスト稲育種研究東北サブチームの山口誠之氏に有益なご助言をいただいた。ここに記して謝意を表します。

本品種の育成は、プロジェクト研究「低コストで質の良い加工・業務用農産物の安定供給技術の開発 4 系(稲)」の成果である。

引用文献

- 東 正昭・山口誠之・小山田善三・春原嘉弘・小綿寿志・田村泰章・横上晴郁・佐々木武彦・阿部真三・松永和久・岡本栄治・狩野 篤・池橋 宏・荒木 均(1997)東北農試研報 92: 1-13.
- 今林惣一郎・浜地勇次・古野久美・西山 壽・松江勇次・吉野稔・吉田智彦(1995)福岡農総試研報 14: 1-10.
- 伊勢一男・赤間芳洋・堀末 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)作物研報 2: 39-61.
- 梶 亮太・坂井 真・田村克徳・平林秀介・岡本正弘・八木忠之・溝淵律子・深浦壮一・西村 実・山下 浩・富松高治(2009)九州沖縄農研報告 52: 79-94.
- 三浦清之・上原泰樹・小林 陽・太田久稔・清水博之・笹原英樹・福井清美・小牧有三・後藤明俊・重宗明子・大槻 寛(2007)中央農研研究報告 9: 1-16.
- 溝淵律子・岡本正弘・梶 亮太・田村克徳・富松高治・平林秀介・深浦壮一・八木忠之・西村 実・山下 浩(2006)九州沖縄農研報告 46: 15-38.
- Nakano, H., S. Kosemura, T. Suzuki, K. Hirose, R. Kaji and M. Sakai (2009a) Tetrahedron Letters 50: 2003-2005.
- Nakano, H., S. Kosemura, M. Yoshida, T. Suzuki, R. Iwaura, R. Kaji, M. Sakai and K. Hirose (2009b) Tetrahedron Letters (*in press*).
- Shen, Y., L.L. Liu, S.J. Liu, L. Jiang, C. Yang, Y. Lan and J.M. Wan (2008) Rice Genetics Newsletter 24: 25-27.
- 滝田 正・東 正昭・山口誠之・横上晴郁・片岡知守・田村泰章・小綿寿志・小山田善三・春原嘉弘(2001)東北農試研報 98: 1-10.
- 上原泰樹・小林 陽・古賀義昭・内山田博士・三浦清之・福井清美・清水博之・太田久稔・藤田米一・奥野員敏・石坂昇助・堀内久満・中川原捷洋(1995)北陸農試報 37: 107-131.
- 上原泰樹・小林 陽・太田久稔・清水博之・福井清美・三浦清之・大槻 寛・小牧有三・笹原英樹(2002)中央農研研究報告 1: 1-21.
- 上原泰樹・古賀義昭・内山田博士・佐本四朗・石坂昇助・藤田米一・奥野員敏・中川原捷洋・堀内久満・三浦清之・丸山清明・山田利昭・八木忠之・森 宏一(1999)北陸作物学会報 34: 1-3.
- 八木忠之・深浦壮一・平林秀介・福岡律子・西山 壽・山下 浩・本村弘美・滝田 正・齋藤 薫(1998)九州農業研究 60: 4.