

イネの遺伝資源を活用してカドミウム吸収をコントロールする—実用的なカドミウム高吸収（ファイレメ用）・低吸収（食用）品種の開発を目指して—

（独）農業環境技術研究所 土壤環境研究領域 石川 寛

1. はじめに

植物による重金属等の高吸収能を利用したファイトレメディエーションは、環境に優しい土壤浄化技術として以前から注目されている。特異的なカドミウム（Cd）吸収能を持つ植物は、アブラナ科のグンバイナズナ（*Thlaspi caerulescens*）等に代表されるように雑草が多く、これら雑草を水田や畑の Cd 汚染浄化に利用することは容易ではない。一方、イネの多様な遺伝資源の中から、ファイトレメディエーションに有望な高 Cd 吸収品種が選抜され、その利用が期待されている。これらの品種はインディカ種であるため、脱粒や倒伏等の栽培特性に難があり、このままでは実用性が低い。一方、Cd の吸収が少ないイネ品種による Cd 回避技術も有効な低減技術と言える。低 Cd 吸収品種を日本の良食味米品種等と交配し、その子孫から低 Cd 吸収と高品質の両方を合わせ持つ品種を見つけ出すことが理想的だが、従来の育種方法では大規模な圃場選抜が必要であり、育成にも相当時間がかかる。しかしながら、近年イネのゲノム情報が飛躍的に解明され、目的とする遺伝子周辺の DNA 配列を目印（マーカー）し、短期間で望ましい遺伝形質だけ子孫に残せる育種技術（マーカー育種）が発展した。ここでは、イネの Cd 吸収における品種間差やその吸収機構、Cd 吸収に関与する遺伝子座等、品種育成に必要な基礎的情報を紹介し、後半部分は今取り組みつつある、マーカー育種技術を駆使したファイレメ用品種の育成や低 Cd 吸収品種の開発について述べる。

2. イネの Cd 吸収・集積における品種間変異

イネの Cd 吸収や集積における品種間差異はこれまで多数報告されているが、いずれの報告でも概してジャポニカ品種に比べてインディカ品種で、玄米や稲わらの Cd 濃度が高いことが示されている^{1),2)}。品種間の Cd 吸収差異は環境要因と遺伝要因の両方の効果で説明できるが、ここでは Cd 吸収における遺伝的変異がどの程度多様なのか調査した結果を紹介する。実験材料として、（独）農業生物資源研究所のジーンバンクが配布している世界のイネコアコレクション（World Rice Core Collection、WRC と略称）を利用した。WRC は、少ない品種数（69 品種）で、約 32,000 点のイネ品種が持つ遺伝背景をほぼカバーした集団である。すなわち、この 69 品種を調査することで、約 3 万点のイネ品種における Cd 吸収の遺伝的多様性が解析できることになる。69 品種を非 Cd 汚染圃場（0.1 M HCl 抽出の土壤 Cd 濃度で 0.21mg kg⁻¹）で栽培し、玄米 Cd 濃度を比較した結果、0.01~0.4mg kg⁻¹ の範囲にあり、最大で 40 倍程度の変異があった²⁾（図 1）。日本の代表品種である日本晴（WRC01）は低 Cd の部類であったが、コーデックス基準の 0.4mg kg⁻¹ と同レベルの 2 品種 Jarjan（WRC28）と Anjana Dhan（WRC30）が見つかり、どちらもインディカ品種であった。かなり低レベルの土壤 Cd 濃度であったうえ、中干し以外は湛水管理であったことを考慮すると、この 2 品種の Cd 吸収能力は相当高いことが容易に想像できる。そこで、これら 2 品種の高 Cd 吸収性を確認するために、Cd 汚染土壤

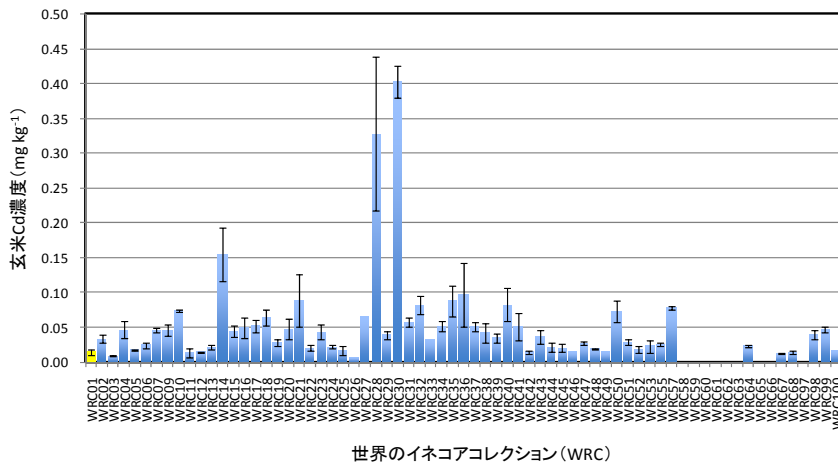


図1 世界のイネコアコレクションの玄米 Cd 濃度

非汚染土壌 (Cd 濃度 : 0.21 mg kg⁻¹) での湛水栽培。WRC01-日本晴、WRC28-Jarjan、WRC30-Anjana Dhan、データの無いものは出穂しなかった。

は約 5 倍程度の濃度差があった (図 2)。このようにイネの品種間では、玄米を含めた地上部の Cd 集積に数倍から数十倍の変異があることがわかる。

3. イネの Cd 吸収・集積メカニズムの生理的解析

土壌中に存在する Cd が玄米に到達するまで、少なくとも 3 つの経路が関与する：1) 根による吸収、2) 導管を経由した根から茎葉部への移行、3) 篩管を経由した茎葉部から玄米への移行。それゆえ、これらのどれか、もしくは全てが玄米 Cd 濃度の品種間差異を決める要因と思われる。図 2 に示したように、根の Cd 濃度を品種間で比較すると、低 Cd 品種の日本晴で根の Cd 濃度が高いことがわかる。根の Cd 吸収における速度論的解析の結果、概してジャポニカ品種の根は、インディカ品種よりも Cd を吸収する能力が高い²⁾。よって、根の Cd 吸収では、玄米 Cd 濃度の品種間差異を説明することはできない。

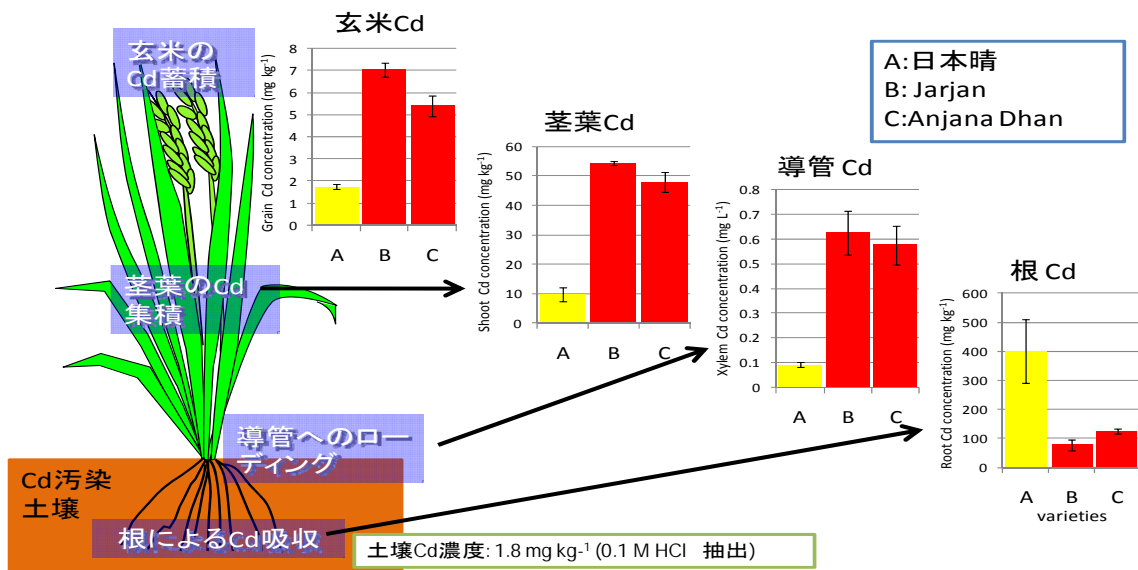


図2 イネ品種間差における Cd 吸収・集積のプロセス
Cd 汚染土壌で節水栽培。根、導管、茎葉の Cd 濃度は幼植物での結果を示す。

(土壌 Cd 濃度 1.8mg kg⁻¹) でポット栽培し、玄米と稲わらの Cd 濃度を日本晴と比較した。Cd 吸収が高まる節水条件下で栽培したため、日本晴の玄米 Cd 濃度は 2mg kg⁻¹ 程度とかなり高いが、インディカ 2 品種の Cd 濃度 (大体 5-7mg kg⁻¹) はそれ以上に高く、稲わらで

一方、導管の Cd 濃度は高 Cd 品種で著しく高く、その違いが稲わらや玄米の Cd 濃度によく反映されている (図 2)。導管に Cd を送り出す (ローディング) 場合、特定の膜輸送タンパク質を経由する。よって、玄米 Cd 濃度の品種間差異は、この輸送タンパク質の能力の違いである可能性が高い²⁾が、詳細はまだ不明である。

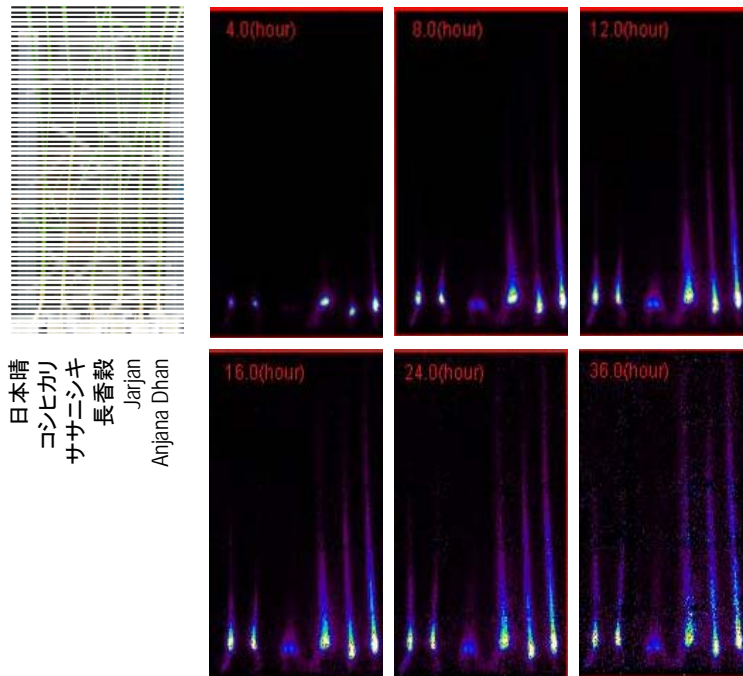


図 3 ポジトロン放射性核種 ^{107}Cd を用いた地上部への Cd 移行 (低 Cd 品種: 日本晴、コシヒカリ、ササニシキ
高 Cd 品種: 長香穀、Jarjan、Anjana Dhan)

最近、ポジトロン放射性の ^{107}Cd を利用して、生体内における Cd の動きを見ることが可能になった³⁾。(独)日本原子力研究機構高崎量子ビーム研究部門との共同研究により、根から茎葉部への導管を介した Cd の動態を品種間で比較している。図 3 に示したように、高 Cd 品種は幼鞘基部の Cd 蓄積が高く、時間と共に茎の上部へと Cd 移動が認められる。このように、Cd が動く速度にも品種間差異が存在するようである⁴⁾。なお、この結果は発表時に動画として紹介する。

4. Cd 吸収・集積関連遺伝子座の特定

遺伝形質は大別すると質的形質と量的形質に分けられる。前者は花の色、種子の形、イネのモチ・ウルチのように、ある程度メンデルの遺伝法則に従う単純な遺伝形質である。それに対し、後者は草丈や収量等、計測によって表せる形質であり、複数遺伝子が関与する複雑な遺伝形質である。Cd の吸収や集積も量的形質と思われる。これまで量的形質に関する遺伝解析は質的形質に比べ遅れていたが、PCR やシーケンサー技術等の発展に伴い、イネゲノムが解読されたことで、イネの遺伝地図の作成が可能になり、今では比較的簡単に行えるようになった。量的形質に関与する遺伝子座を QTL (Quantitative Trait Loci) といい、その解析手法を QTL 解析と呼んでいる。QTL 解析は材料の育成に始まり、連鎖地図の作成と遺伝子型調査が必須であるため、時間のかかる作業だが、イネゲノムリソースセンター (<http://www.rgrc.dna.affrc.go.jp/jp/about.html>) から提供されている解析材料を使えば、それらの手間は省ける。幸い、リソースセンターには玄米 Cd 濃度の低い「ササニシキ」と高い「ハバタキ」の戻し交雑自殖系統群が存在したので、これを玄米 Cd 濃度に関与する QTL 解析に利用した。85 系統からなる解析集団を Cd 汚染圃場で栽培したところ、玄米 Cd 濃度は系統間で大きく異なっていた。各系統の遺伝子型はリソースセンターからダウンロードできるので、それを活用して QTL 解析したところ、第 2 と第 7 染色体上に「ハバタキ」の遺伝子型で玄米

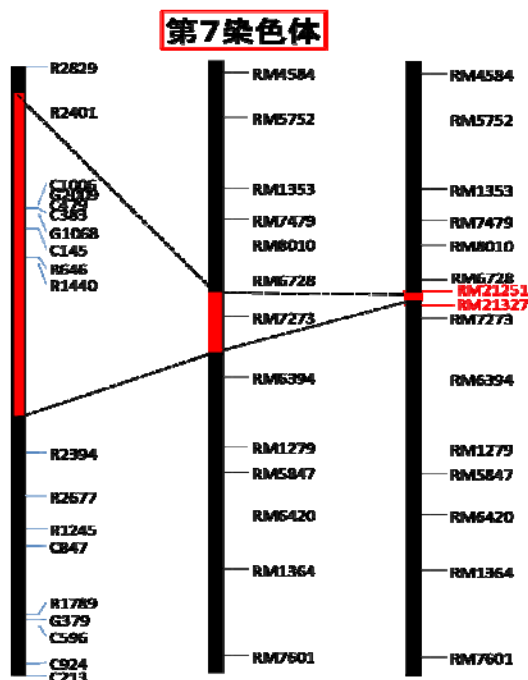


図4 玄米 Cd 濃度に関与する QTL の位置

赤い部分が QTL の位置を示しており、一番右の範囲にまで狭めた。

Cd 濃度を高める QTL が見つかった。特に第 7 染色体に座乗する QTL の効果は高く、これが玄米の Cd 濃度を高める主要な QTL であることがわかった⁵⁾ (図 4)。面白いことにこの QTL は化学的な性質が似ている亜鉛等の重金属吸収には関与せず、Cd に特異的であることがわかった。さらに遺伝子単離に向け、QTL 領域を絞り込む作業 (fine mapping) を行い、現在までのところ 1.65Mb の領域に存在することを確認している (図 4)。

5. 低 Cd 品種の開発

我々が普段食しているコシヒカリやあきたこまち等のジャポニカ品種は、玄米の Cd 濃度が比較的低いことを先に述べたが、それでも土壌の Cd 濃度や栽培管理によっては汚染レベルまで達することがある。それを回避する一つの手段として、現在の日本米よりも Cd 濃度の低い品種を育成することが挙げられる。その品種

育成には、育種の出発材料となる日本米よりも低い品種を見つけなければならない。上記で紹介したように、玄米の Cd 濃度には大きな品種間変異がある。これまで調査した品種群の中で、アフリカ原産の陸稲品種「LAC23」はコシヒカリ等の日本米よりもさらに低いことがわかった^{1),6)}。この品種は熱帯ジャポニカ (ジャバニカともいう) に属し、温帯ジャポニカに属する日本の品種とは、遺伝的にも形態的にもかなり異なる。LAC23 は長稈、極晩生、低収量など、日本での実用的な栽培には向かない。そこで、国内で栽培されている短稈、早生の多収品種「ふくひびき」と交配し、多数の系統を作り、それらを Cd 汚染土壌で栽培した⁷⁾。その中から、玄米 Cd 濃度が「ひとめぼれ」等の一般品種に比べて、約半分濃度で栽培性が向上した 5 系統を選抜し、育成地 (東北農業研究センター) の地方番号「羽系 1118-1122」を付与した (図 5)。これら系統の鉄や亜鉛等のミネラル含量は一般品種と同程度であり、Cd だけ少ない系統を開発できた^{6),7)}。また、LAC23 に比べて、草丈は小さくなり、出穂が早まったため、寒冷地の試験でも登熟に達していた (図 6)。しかし、収量性や玄米形質等を含め、さらに改善する余地が十分にあり、実用的な品種にはまだかなり長い道のりが必要と思われる。

このように、従来 of 育種方法では、低 Cd 吸収を維持したまま高品質や栽培特性の良い品種を育成することはかなり難しく、多くの期間を要するため、完成した頃にはニーズがなくなっていることもあり得る。上述したように、玄米の Cd 濃度に関与する遺伝子は存在するので、その遺伝子近傍の DNA 配列を目印 (マーカー) とすれば、品種育成の期間が短縮され、Cd 吸収以外の不必要なゲノム領域を取り込む心配もなく、高品質な品種を作ることが理論上可能である。この「DNA マーカー育種」によって、これまで水稲では出穂期を改変したコシヒ

カリ、いもち病抵抗性のコシヒカリ等が作出されている⁸⁾。また、イネのみならず、麦、ダイズ、家畜に至るまでその汎用性は広い。現在、我々はLAC23の低Cdに関するQTLの特定を進めており、DNAマーカー育種によって、玄米Cd濃度の低いコシヒカリの作出を目指している。

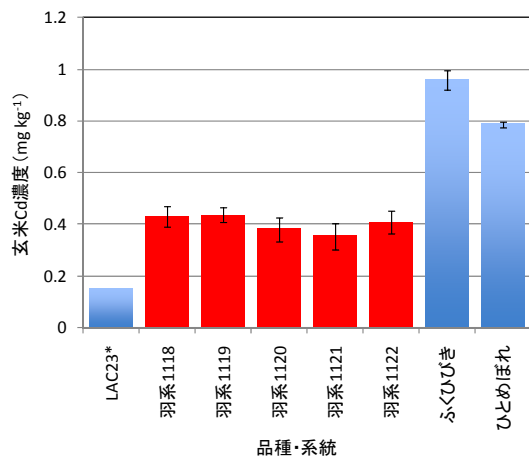


図5 低Cd系統の玄米Cd濃度

汚染土壌での現地栽培（節水栽培）、LAC23は未熟粒のため参考値



羽系1120 LAC23 ふくひびき

図6 低Cd系統の草姿

LAC23に比べて草丈が短くなり、出穂が早まったため登熟が進んでいる。

6. 実用的なファイトレメディエーション品種の開発

高Cd吸収のイネ品種を日本のCd汚染水田の浄化に用いる利点として、1) 稲の栽培管理に関するノウハウがあり、全国どこでも栽培できる、2) 既存の収穫機械が利用できるため、余計なコストはかからない、3) 稲による水田の浄化なので、修復後はすぐに日本の稲が植えられる、等多数挙げられる。(独)農業環境技術研究所を中心に、高Cd吸収イネ品種を使った水田土壌のファイトレメディエーション技術は開発され⁹⁾、現在では実証レベルの段階に達している。また、畑土壌のCd汚染修復においても稲ファイレメの可能性を農水省のプロジェクト研究で行っている¹⁰⁾。高Cd吸収イネ品種として、長香穀やJarjan、Anjana Dhan等が見つかっているが^{2),9)}、これらはすべてインディカ品種であり、脱粒や倒伏が起きやすいため、このままでは実用性が低い。また、Cd吸収量を増大させるためには地上部乾物重を増やす必要もある。そこで我々は、高CdのQTL遺伝子を付与した難脱粒の多収ファイレメ稲を作ることに取り組んでいる。具体的には高Cd品種と難脱粒性の多収品種を交配し、高Cdかつ難脱粒等の優れた農業形質に関わるQTLを持った子孫のみをDNAマーカーで選抜する。そうすることで、すべての子孫を圃場に展開し、目的の形質を一つ一つ調べなくても幼苗の段階で効率的に選抜することが可能となる。我々が目的とするファイレメ稲は、4-5年のうちに開発できると期待を寄せている。

7. おわりに

筆者は植物栄養学が専門なので、Cd がどのように稲に吸収され、玄米に蓄積されるのか、そのメカニズムに非常に興味を持っていた。メカニズムの一端が明らかになるにつれ、ではどのような遺伝子が関与しているのか、さらにその遺伝子を使って、環境浄化やCdを吸わない稲は作れないのか、と思うようになった。そうすると、一個人ではどうすることもできず、育種や分子生物学を専門とする研究者との連携が必要になった。連携を進めるに連れ、ゲノム研究の飛躍的な発展やそれを利用した育種技術のすごさにすっかり魅了されてしまった。自分が中心となって開発した品種がCd汚染土壌の浄化に役立ったり、低Cd米として売り出されたりすることを夢見て、少しでも社会に貢献できるような研究になればと願っている。

8. 謝辞

上記で紹介した研究は、農林水産省の委託プロジェクト研究「農林水産生態系における有害化学物質の総合管理技術の開発」(H15-19年度)、「新農業展開ゲノムプロジェクト」(H20年度-)、生物系特定産業技術研究支援センターの新技术・新分野創出のための基礎研究推進事業(H19年度-)の予算で実施した。ポジトロン放射性によるCdの動態解析は(独)日本原子力研究開発機構の高崎量子研究所と、低Cd品種開発は(独)農業・食品産業技術総合研究機構の東北農業研究センターと、QTL解析やDNAマーカー育種は(独)農業生物資源研究所のQTLゲノム育種センターと、共同研究で行っている。以上の各研究機関に謝意を表す。

9. 文献

- 1) Arao T. and Ae N. (2003) Genotypic variations in cadmium levels of rice grain. *Soil Sci. Plant Nutr.* 49: 473-479.
- 2) Uraguchi S. et al. (2009) Root-to-shoot Cd translocation via the xylem is the major process determining shoot and grain cadmium accumulation in rice. *J. Exp. Bot.* 60: 2677-2688.
- 3) Fujimaki S. et al. (2006) Real-time imaging and kinetic analysis of cadmium transport in an intact plant using the Positron Emitting Tracer Imaging System (PETIS). *Plant Cell Physiol.* 47:S62.
- 4) Ishikawa S. et al. (2009) Analysis of root-to-shoot translocation of Cd in rice cultivars using a positron-emitting tracer imaging system. UC Davis: The Proceedings of the International Plant Nutrition ColloquiumXVI. Retrieved from: <http://escholarship.org/uc/item/0cq8v3nb>
- 5) Ishikawa S. et al. (2010) A major quantitative trait locus for increasing cadmium-specific concentration in rice grain is located on the short arm of chromosome 7. *J. Exp. Bot.* 61:924-934
- 6) 石川覚ら(2009) イネ品種間差を利用して、玄米のカドミウム汚染を低減、農環研研究成果情報、第25集:26-27
- 7) 山口誠之(2006) カドミウム低吸収性、高吸収イネ品種の育成、農林水産技術研究ジャーナル、29:11-14
- 8) 農林水産技術会議(2007) ゲノム情報の品種改良への利用-DNAマーカー育種-、農林水産研究開発レポート No. 21、<http://www.s.affrc.go.jp/docs/report/pdf/no21.pdf>
- 9) Murakami M. et al. (2009) Phytoextraction by rice capable of accumulating Cd at high levels:

reduction of Cd content of rice grain. *Environ. Sci. Tech.* 43: 5878–5883.

- 10) 農林水産省 農林水産技術会議 生産流通・加工工程における体系的な危害要因の特性解明とリスク低減技術の開発、農産物におけるヒ素およびカドミウムのリスク低減技術の開発、http://www.niaes.affrc.go.jp/project/seisan_koutei/ac/index.html