日作紀（Jpn. J. Crop Sci.）69(1)：38—42（2000）

品種・遺伝資源

貯蔵水稲種子の生産力とその品種判別へのRAPD法の利用

松江勇次*・内村要介・佐藤大和
（福岡県農業総合試験場）

要旨：貯蔵期間が異なる場合の発芽率が90%以上である貯蔵水稲種子の生産力を検討するとともに，貯蔵種子と当該年産種子とが同一品種であるか否かをRAPD法を用いて判別を行い，貯蔵種子の種子としての適格性を明らかにした．苗の草丈，苗齢および乾物重と貯蔵期間の長短との間には一定の関係は認められず，長期貯蔵種子（9～16年），中期貯蔵種子（6～7年）の苗の形質が当該年産種子に比べて劣ることは認められなかった．一方，苗の乾物重に対しては精籾千粒重が影響を及ぼしており，精籾千粒重が重い生産年の種子は苗の乾物重が重かった．長期貯蔵種子，中期貯蔵種子の出穂期，稈長，穂長，1株穂数，1穂籾数は，当該年産種子に比べて有意な差は認められず，同じ生育特性を示した．収量構成要素，収量および検査等級においても長期貯蔵種子，中期貯蔵種子は当該年産種子に比べて有意な差で劣ることは認められなかった．長期貯蔵種子と当該年産種子のDNAのアガロースゲル電気泳動像は，同じバンドパターンを示し，DNAレベルからみた長期貯蔵種子は当該年産種子と同じであることが確認された．以上のことから，貯蔵種子の発芽率が90%以上であれば種子としての適格性を具備しており，実用上問題はないことが明らかとなった．

キーワード：種子，水稲，生産力，貯蔵種子，品種判別，RAPD分析．

水稲採種事業においては採種計画上，作付面積の制約，品種特性の変化防止または気象災害等により2年もしくは数年間，貯蔵された種子を使用する場合が多々ある．その場合，発芽率が90%以上確保されている種子とはいえ，貯蔵種子を購入する農家または採種農家から‘古い種子’というイメージで敬遠される場合がある．その場合，長く貯蔵した種子に対する生産力の低下が指摘されて，貯蔵種子を使用するに当たってしばしば問題となり，採種事業に支障を来すことがある．

一般に貯蔵水稲種子の種子としての適格性については発芽力と出芽率のみで検討したものが大部分である．生産力まで検討した報告は極めて少なく，中島は（1940）水稲種子の発芽率が良好であれば収量には差が認められないことを述べている．しかし，その根拠となるデータがポット試験栽培による写真の比較によるもので具体的な数値が示されていないため，客観的な判断は下せない．また，環境が変われば遺伝組成に起因する品種特性の変化が起こることが報告されているが（農林省農蚕園芸局農産課 1973），DNAレベルからみて貯蔵種子が当該年産種子と同一品種であるか否かについて検討された報告はない．種子の生産において，登録された品種の遺伝的特性が変わることなく，遺伝的純度の高い種子を提供することは必須条件である．

このように貯蔵水稲種子の種子としての適格性を生育特性，収量性およびDNAレベルで貯蔵種子が当該年産種子と同一品種であるか否かを含めて検討した報告はない．

そこで本論文では農家が抱いている貯蔵水稲種子の生産力に対する疑念を解消し，採種事業を円滑にするために，貯蔵期間が異なる場合の発芽率90%以上の貯蔵水稲種子を用いてその生育特性と生産力を検討するとともに，DNAレベルで貯蔵種子が当該年産種子と同一であるか否かをRAPD法を用いて判別を行い，貯蔵水稲種子の種子としての適格性を明らかにした．

材料と方法

試験は1998年に福岡県農業総合試験場農産研究所の砂壌土水田圃場で行った．供試材料にはコシヒカリ，日本晴，ヒノヒカリ，ニシホマレ，レイホウそれぞれの原々種を用いた．貯蔵期間を長期貯蔵（9～16年），中期貯蔵（6～7年）および当該年産の3つに区分し，それぞれの生産年と貯蔵期間を各品種別に第1表に示した．貯蔵方法は温度5℃，相対湿度40%の低温貯蔵であった．栽培方法は中苗を用いて，条間25 cm×株間20 cmの栽植密度（20.0株/m²）で1株1本の手植とし，コシヒカリ，日本晴は6月24日，ヒノヒカリ，ニシホマレ，レイホウは6月18日に移植した．窒素施肥量（基肥＋第1回穂肥＋第2回穂肥）はコシヒカリ，日本晴は6+2+1.5 g/m²，ヒノヒカリ，ニシホマレ，レイホウは7+3+2 g/m²とした．試験規模は貯蔵区分別にそれぞれ1品種当たり1区10 m²の3区制とした．精籾千粒重は粒厚2.2 mm以上の籾を30 g粒数で換算して求め，3回測定の平均値で示した．苗の苗齢，草丈，乾物重調査は貯蔵区分別1品種当たり20個体測定し，その平均値で示した．稈長，穂長，1株穂数の調査は1区当たり20個体測定し，その平均値で示した．出穂期は1試験区全体の出穂率が50%程度となった日とした．収量構成要素および収量調査は1区当たり

1999年10月18日受理．＊連絡責任者（〒818-8549 筑紫野市福岡県農総試．matsue@farc.pref.fukuoka.jp）．

NII-Electronic Library Service

それぞれ5株，100株を刈り取って行った．貯蔵種子のDNAレベルからみた遺伝的安定性を検討するために，貯蔵種子と当該年産種子の幼苗についてRAPD分析を行った．播種後29日目の幼苗の葉身約2gからCTAB法によりDNAを抽出し，PCR反応はThermal sequener (TSR-300, IWAKI) を用いて94℃1分，36℃1分，72℃2分を1サイクルとして40サイクル行い，終了後72℃で7分間おいた．プライマーは久保らが（1997）福岡県の水稲奨励品種の識別判別で選定した識別性の良い5種類のオペロン社製プライマー（AI11，P01，AN07，AC17，A07）を使用した．PCR増幅産物はミニゲル電気泳動槽 (Mupid) を用い，2.0%アガロースゲルで100V40分間，電気泳動することにより分離した．

第1表　貯蔵区分の生産年と貯蔵期間．

品種名	貯蔵区分	生産年	貯蔵期間(年)
コシヒカリ	長期貯蔵	1982	16
	中期貯蔵	1992	6
	当該年産	1997	1
日本晴	長期貯蔵	1982	16
	中期貯蔵	1991	7
	当該年産	1997	1
ヒノヒカリ	長期貯蔵	1989	9
	中期貯蔵	1991	7
	当該年産	1997	1
ニシホマレ	長期貯蔵	1982	16
	当該年産	1997	1
レイホウ	長期貯蔵	1982	16
	当該年産	1997	1

結果と考察

1. 貯蔵区分別種子の苗の形質

貯蔵区分別種子の苗の形質を第2表に示した．コシヒカリ，日本晴，ヒノヒカリ，ニシホマレ，レイホウの5品種とも貯蔵期間の長短と苗の草丈，苗齢および乾物重との間には一定の関係は認められず，長期貯蔵（9～16年貯蔵），中期貯蔵種子（6～7年貯蔵）の苗の形質が当該年産種子に比べて劣ることは認められなかった．一方，精籾千粒重が重かったコシヒカリ，日本晴，ヒノヒカリの長期貯蔵種子およびニシホマレ，レイホウの当該年産種子の苗乾物重は，それぞれ78.7g，79.9g，59.4g，62.1g，55.8gと精籾千粒重が軽い貯蔵区分に比べて重い傾向にあった．さらに，精籾千粒重と苗の乾物重との関係を統計的にみると，品種を込みにして精籾千粒重と苗の乾物重との間には5%水準で有意な正の相関関係が認められた（$r=0.587$, $n=13$）．このように，苗の乾物重に対しては，精籾千粒重の影響が認められ，精籾千粒重が重い生産年の種子は苗の乾物重が重い傾向を示した．この結果は，重い種籾からは良い苗が育つ（二瓶 1994）とともに，粒重の大きい種子ほどアミラーゼ活性が高く，初期生育に優れる（岩崎 1960）という既知の報告と一致するものである．

2. 貯蔵区分別種子の生育

貯蔵区分別種子の出穂期，稈長，穂長，1株穂数，1穂籾数を第3表に示した．

コシヒカリ，日本晴，ヒノヒカリ，ニシホマレ，レイホウの長期，中期貯蔵種子の出穂期は，それぞれ8月15日，8月21日，8月26日，9月4日，9月5日と当該年産種子と一致し，貯蔵種子における出穂期の変動は認められなか

第2表　貯蔵区分別の苗の形質．

品種名	貯蔵区分	苗の形質 精籾千粒重±標準偏差 (g)	草丈±標準偏差 (cm)	苗齢±標準偏差 (L)	乾物重±標準偏差 (mg/個体)
コシヒカリ	長期貯蔵	27.3c±0.1	22.2b±1.4	5.0b ±0.1	78.7b ±12.8
	中期貯蔵	25.9a±0.0	20.5a±1.4	4.8a ±0.2	58.3a ±12.0
	当該年産	26.3b±0.1	21.4b±1.4	4.9ab±0.2	70.6ab±25.9
日本晴	長期貯蔵	28.0c±0.0	22.7b±0.8	5.0b ±0.1	79.9b ±14.0
	中期貯蔵	25.0a±0.0	20.4a±0.8	4.9b ±0.1	57.2a ±15.6
	当該年産	27.8b±0.1	20.9a±1.4	4.7a ±0.2	70.9b ±17.6
ヒノヒカリ	長期貯蔵	26.4b±0.0	18.7b±0.7	4.5b ±0.2	59.4b ± 8.1
	中期貯蔵	25.6a±0.1	16.0a±1.7	4.2a ±0.2	44.2a ± 7.8
	当該年産	26.7c±0.1	19.1b±1.5	4.2a ±0.2	56.3b ± 6.3
ニシホマレ	長期貯蔵	27.2a±0.0	19.6a±1.5	4.9b ±0.4	55.7a ± 9.9
	当該年産	27.8b±0.1	20.5a±1.8	4.4a ±0.2	62.1a ±16.5
レイホウ	長期貯蔵	26.8a±0.1	19.2a±1.0	4.8b ±0.3	54.6a ±12.2
	当該年産	27.0a±0.2	18.7a±1.4	4.5a ±0.2	55.8a ±12.1

品種別の同一文字の付いた値間には5%水準で有意差がないことを示す．

NII-Electronic Library Service

第3表 貯蔵区分別の出穂期，稈長，穂長，1株穂数，1株籾数．

品種名	貯蔵区分	出穂期±標準偏差 (月・日)	稈長±標準偏差 (cm)	穂長±標準偏差 (cm)	1株±標準穂数偏差 (本)	1穂±標準籾数偏差
コシヒカリ	長期貯蔵	8.15a±0.6	91a± 2	21.5a±0.6	13.0a ±1.0	105.6a±1.5
	中期貯蔵	8.15a±0.6	89a± 1	22.1a±0.3	13.2a ±1.1	104.8a±3.9
	当該年産	8.15a±0.6	91a± 1	21.6a±0.5	13.4a ±1.6	106.2a±5.5
日本晴	長期貯蔵	8.21a±0.6	85a± 2	21.2a±0.2	14.7a ±1.8	95.8a±3.2
	中期貯蔵	8.21a±0.6	85a± 1	21.3a±0.6	14.9a ±0.7	92.8a±5.1
	当該年産	8.21a±0.6	85a± 1	20.7a±0.5	15.6a ±0.7	90.5a±8.3
ヒノヒカリ	長期貯蔵	8.26a±0.6	94b± 1	20.2a±0.2	17.3b ±0.8	104.9a±6.8
	中期貯蔵	8.26a±0.6	94b± 1	20.3a±0.2	15.7ab±0.6	111.6a±4.8
	当該年産	8.26a±0.6	92a± 1	20.4a±0.5	14.3a ±1.5	110.3a±4.0
ニシホマレ	長期貯蔵	9. 4a±0.6	86a± 1	21.6a±0.3	14.2a ±0.8	111.1a±5.7
	当該年産	9. 4a±0.6	88a± 2	21.4a±0.4	14.8a ±0.4	113.4a±3.8
レイホウ	長期貯蔵	9. 5a±0.6	88a± 0	20.3a±0.4	16.7a ±0.6	101.6a±7.2
	当該年産	9. 5a±0.6	87a± 1	20.3a±0.4	18.0a ±0.3	99.6a±6.2

品種別の同一文字の付いた値間には5%水準で有意差がないことを示す．

第4表 貯蔵区分別の収量構成要素，収量，検査等級．

品種名	貯蔵区分	m²当たり±標準籾数偏差 (×100)	登熟±標準歩合偏差 (%)	千粒重±標準偏差 (g)	収量±標準偏差 (g m²)	検査±標準等級偏差
コシヒカリ	長期貯蔵	274a ±21	85.9a±3.2	23.1a±0.2	531a±21	2.0a±0.0
	中期貯蔵	277a ±11	84.1a±2.4	23.0a±0.3	527a±10	2.3a±0.6
	当該年産	282a ±15	82.1a±3.0	22.8a±0.2	511a±44	3.0b±0.0
日本晴	長期貯蔵	281a ±26	86.2a±3.5	22.3a±0.4	540a± 7	2.0a±0.0
	中期貯蔵	277a ±15	86.5a±2.2	22.3a±0.1	541a±31	2.0a±0.0
	当該年産	282a ±26	87.7a±5.1	22.2a±0.2	530a±11	2.0a±0.0
ヒノヒカリ	長期貯蔵	363b ±26	77.2a±7.9	21.8a±0.2	578b±13	2.5a±0.6
	中期貯蔵	349b ± 4	81.8a±0.1	21.6a±0.2	593b±10	2.3a±0.6
	当該年産	314a ±12	82.3a±4.7	21.7a±0.7	554a± 4	2.0a±0.0
ニシホマレ	長期貯蔵	315a ± 2	83.0b±1.1	22.4a±0.2	607a± 9	4.0a±0.0
	当該年産	335b ± 9	79.9a±1.0	22.5a±0.1	609a± 8	4.0a±0.0
レイホウ	長期貯蔵	339a ±24	77.4a±11.0	22.3a±0.1	553a±43	5.0a±0.0
	当該年産	359a ±25	70.9a±6.3	22.2a±0.1	559a±21	5.0a±0.0

検査等級は1（1等ノ上）～9（3等ノ下）の9段階で表示．
品種別の同一文字の付いた値間には5%水準で有意差がないことを示す．

った．

長期，中期貯蔵種子における稈長，穂長，1株穂数，1株籾数は，ヒノヒカリの長期，中期貯蔵種子の稈長，1株穂数を除いて，全品種とも当該年産種子に比べて有意な差はなく，同程度であった．

野菜種子では長期貯蔵による活力の弱まりから抽苔・開花の遅延が認められている（星野 1936）．本試験において貯蔵種子の出穂期の遅延が認められなかったのは，その一要因として，種子の発芽率が90%以上で活力が弱まっていなかったためと考えられる．

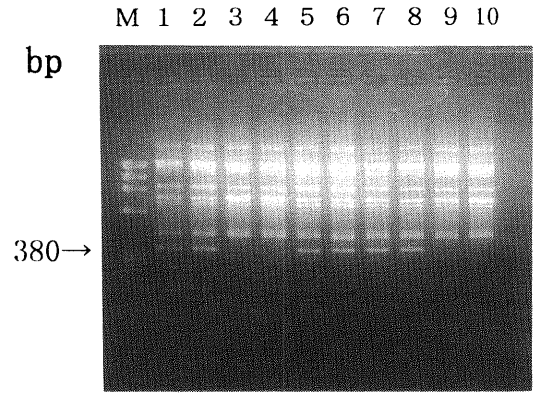
以上のことより，長期，短期貯蔵種子の出穂期，稈長，穂長，1株穂数および1穂籾数は，当該年産種子に比べて有意な差は認められず，貯蔵期間の長短は生育特性に影響を与えないことが判明した．

3. 貯蔵区分別の収量構成要素，収量，検査等級

貯蔵区分別種子の収量構成要素，収量，検査等級を第4表に示した．

コシヒカリ，日本晴，ニシホマレ，レイホウにおける長期，中期貯蔵種子のm²当たり籾数，登熟歩合，千粒重は当該年産種子に比べて有意な差はなく，収量構成要素は当該年産種子と同程度であった．収量においてもコシヒカ

NII-Electronic Library Service



第1図　プライマー（AI11）で増幅した葉身DNAの電気泳動結果.
M；DNA分子量マーカー（ϕX 174/HaeIII），1；1982年産コシヒカリ，2；1997年産コシヒカリ，3；1982年産日本晴，4；1997年産日本晴，5；1989年産ヒノヒカリ，6；1997年産ヒノヒカリ，7；1982年産レイホウ，8；1997年産レイホウ，9；1982年産ニシホマレ，10；1997年産ニシホマレ.

リ，日本晴，ニシホマレ，レイホウの長期，中期貯蔵種子はそれぞれ531 g/m²，527 g/m²，540 g/m²，541 g/m²，607 g/m²，553 g/m²と当該年産種子との間には有意な差は認められず，同程度であった．この結果は，発芽率が良好であれば収量には差が認められないと述べた中島（1940）の報告を支持するものである．なお，ヒノヒカリの当該年産種子の収量は554 g/m²と，1株穂数の減少によるm²当たり籾数の減少により長期，中期貯蔵種子に比べて劣ったが，その原因は不明である．検査等級においても長期，中期貯蔵種子と当該年産種子との間には有意な差は認められず，同程度であった．

以上のように収量構成要素，収量および検査等級において，長期，短期貯蔵種子が当該年産種子に比べて有意な差で劣ることは認められなかった．

4. 貯蔵区分種子の品種判別へのRAPD法の利用

DNAレベルで長期貯蔵種子が当該年産種子と同一品種であるか否かを判別するために，当該年産種子との対比でRAPD分析を行った．存在が明確なバンドについて検討した結果，コシヒカリ，日本晴，ヒノヒカリ，ニシホマレ，レイホウの長期貯蔵種子とそれぞれの当該年産種子のAI11のプライマーから得られたDNAのアガロースゲル電気泳動像は，完全に同じバンドパターンを示した（第1図）．他のP 01，AN 07，AC17およびA 07の4つのプライマーから得られたバンドパターンについても貯蔵期間の影響は認められなかった．これらの結果から，各品種いずれもDNAレベルからみた長期貯蔵種子は当該年産種子と同じであることが判明した．

大坪ら（1997）はRAPD法を用いた精米の品種判別から，遺伝子は品種固有のものであり，産地や貯蔵によって変化しないと考察した．また，一方で種子の老化にともなう遺伝因子の変化が中村（1985）よりとりまとめられ，種子の老化にともない染色体異常の増加やDNA損傷が起こると述べている．したがって，これらの知見と本結果から，16年間の長期貯蔵においても温度5°C，相対湿度40%の低温貯蔵条件で発芽率が90%以上と活力のある種子では，遺伝因子の変化は起こらないことを示しているとともに，圃場レベルでの品種特性に変化は認められないと結論された．

謝辞：RAPD分析にあたっては九州大学農学部教授吉村淳博士および農学部大学院博士課程久保貴彦氏に御指導と御助言を頂いた．ここに記して謝意を表します．

引用文献

岩崎文雄 1960. 種子の粒重が発芽と初期生育に及ぼす影響. 農業技術 15：467—469.
久保貴彦・尾形武文・吉村淳・松江勇次・岩田伸夫 1997. RAPD分析による日本型水稲品種の簡易識別. 育雑 47(別1)：133.
中村俊一郎 1985. 農林種子学総論. 養賢堂, 東京. 218—224.
中島庸三 1940. 長期貯蔵種子の発芽並に発育に就いて. 農及園 15：1451—1458.
二瓶信男 1994. 比重選別モミの苗生育と収量. 農業技術 39：58.
農林省農蚕園芸局農産課 1973. 主要農作物種子対策事業20周年記念誌. 68—69.
大坪研一・藤井剛・橋野陽一・豊島英親・岡留博司・中村澄子・川崎信二 1997. RAPD法を用いた国内産精米の品種判別技術. 日食工誌 44：386—390.
星野勇三 1936. 種子の年齢とその活力及び抽苔開花との関係. 北大農場特別報告 6：1—93.

Comparison of Productivity and Growth Habit between Stored and Newly Harvested Rice Seeds, and Identification of the Cultivars of Stored Rice Seed by RAPD Method

: Yuji MATSUE*, Yosuke UCHIMURA and Hirokazu SATO (*Fukuoka Agr. Res. Cent., Chikushino 818-8549, Japan*)

Abstract: The growth habits and productivity of stored (5°C, 40% relative humidity) rice seeds with a 90% or higher germination percentage were examined in comparison with those of newly harvested seeds (new seeds), and the cultivars of stored seeds were identified by the random amplified polymorphic DNA (RAPD) method. There was no difference in the characters of the seedlings between the new seeds and the seeds stored for 6～16 years. On the other hand, there was a positive correlation between the 1000-unhulled grain weight, which varied with the harvest year, and dry weight of the seedlings. Among the stored seeds and new seed, no significant differences were observed in the mean heading date, culm and ear lengths, the number of spikelets per panicle and the number of ears per hill. The yield components, grain yield and inspection-grade of the

NII-Electronic Library Service

stored (6～7 or 9～16 years) seeds were not significantly different to those of the new seeds. An RAPD analysis showed that the band pattern of stored seeds accurately corresponds to that of new seed in each cultivar. We concluded that stored rice seeds with a germination percentage of higher than 90% are practically useful, showing normal growth habits and productivity.
Key words : Growth habit, Identification, Productivity, RAPD, Rice, Stored seed.

書評

「食卓の上のDNA」 中村桂子著．ハヤカワ・ノンフィクション文庫，1999年，249頁．560円．

最近，遺伝子組み換え食品や環境ホルモンについての議論が高まり，その話題性を反映して関連書物が数多く出版されている．しかし，それらの多くは書き手の思い入れが強く出た独善的なものや，問題認識や理解力の欠如したものあるいはヒステリックに拒絶したもので，読み手が取捨選択しなければならない困った状態である．

本書では広範囲にわたる正確な知識と良識をもって現代人が直面している新しい科学技術と生活との関わりが論じられている．「遺伝子組換え作物」については，大腸菌を用いた組換えDNA技術から始まり，アグロバクテリウム法やパーティクルガン法など技術的な手法とともに，その技術が必要とされる社会的背景，つまり農薬・化学肥料依存型の近代農業が抱える問題についても説明されている．そして，いくつかの遺伝子組換え作物が具体的に紹介され，その安全性だけでなく遺伝子組換え食品の表示問題にまで踏み込んだ検討を加えるなど読者が知りたいと思うであろう事項に，ていねいな解説がなされている．さらに「クローン技術」，「体外受精や出生前診断などの生殖技術」，「遺伝子治療」，「感染症と耐性菌」そして「内分泌かく乱物質（環境ホルモン）」についても，それぞれに章を割り当てて詳細かつ平易な解説がなされている．

1994年6月に第3回アジア無塩発酵大豆会議が秋田で開かれた．この会議と同時開催された一般市民向けの国際大豆食品フェアで著者の講演を聞く機会があった．著者は与えられたテーマについて『生命誌』の視点から講演されたが，わずか3枚のスライドを用いて参加者の反応と時計を見ながらわかりやすくていねいに話を進め，持ち時間ちょうどで講演を締めくくられた．もの静かで謙虚な話振りから本当に研究が好きで優秀な人だという印象を強烈に残した講演だった．この日から私は著者のファンのひとりとなった．

本書はこの時の講演と同じく一般の人たちを対象に，基礎的な知識を確認しながら懇切ていねいに個々の問題について説明がなされている．生きものとしての自分の感覚をよりどころにしてものを考えるという著者の姿勢が顕著に現れた本である．姉妹編である「あなたのなかのDNA」と本書の内容を体得し，実生活で役立ててくれるのであれば生物系の学生には卒業単位を与えても良いと思わせるほどの名著である．

（三重大学　梅崎輝尚）

NII-Electronic Library Service