

地球規模課題対応国際科学技術協力

(生物資源研究分野「生物資源の持続可能な生産・利用に資する研究」領域)

ベトナム北部中山間地域に適応した作物品種開発

(ベトナム)

平成 24 年度実施報告書

代表者：吉村 淳

九州大学大学院農学研究院・教授

<平成 22 年度採択>

1. プロジェクト全体の実施の概要

我が国のイネ科学は基幹作物の育成と実験植物としての利用に貢献してきたが、学術的な成果が必ずしも国際的な実用場面に活かされていない。本課題では、多様な社会・自然環境を有するベトナム北部中山間地域(食糧自給率は60%に過ぎず、単位面積当たりイネ収量は、3.4-4.3 t/haと低く、将来的には、単収を15-20%増加することにより、同地域の食糧自給率90%を実現する必要がある)を対象地域として、効率的育種法の確立と早生・高収量・病虫害抵抗性イネ有望系統群の開発を行い、これらの適応性と生産力の検定等を実施して、当該地域の栽培技術体系の確立と食糧自給率向上に資するとともに、先端育種技術のベトナムへの波及を目指した国際共同研究を行なう。

本課題では、九州大学と名古屋大学が提供する有用遺伝子とそのDNAマーカー情報をもとに、有用農業形質を保有する有望イネ系統を迅速に育成し、ピラミディング育種により有用遺伝子を集積した短期生育・高収量・病虫害抵抗性イネ有望系統群を開発することを主たる目的としている。本課題はH22年度に採択され、2010(H22)年10月27日にはRDの締結、同年12月3日にはJCCの開催を行い、2011年1月には、JICA業務調整員がベトナムに赴任し、本プロジェクトは本格的実施に至った。

本課題は以下の3つの主要活動項目からなる。

【項目1】 大容量・高速ジェノタイピングによる効率的なイネ育種法の開発

【項目2】 対象地域の環境に適した短期生育・高収量・病虫害抵抗性イネ新品種育種のための有望系統群の開発

【項目3】 イネ有望系統群の生理生態学的特性の解明

項目1では、H23年度は、日本側研究機関において、ビーズアレイを用いた大容量・高速ジェノタイピングによるイネ全ゲノムマーカー選抜育種法を開発の準備を進めるとともに、受容親(IR24ならびにKD18)と有用遺伝子供与系統との間のSSRマーカーの探索および開発を行ない、一部についてはマーカー選抜を実施した。また、南ベトナムのソクチャンに世代促進のためイネ試験支場を設置した。H24年度はSNPの同定とDNAマーカーデザインについてはほぼ終了し、イルミナビーズアレイ用のパネルの設計も終了した。

項目2では、有用遺伝子を受容親に導入するため、2011年春作(ハノイ農大)、2011年夏秋作(ハノイ農大)、2012年冬作(ソクチャン支場)、2012年夏秋作(ハノイ農大)、2012年冬作(ソクチャン支場)の計5回の作付けを行い、戻し交雑育種とピラミディングのための交配を順調に進めた。

項目3では、プロジェクト期間全体を通じて、現地適応型品種IR24とKD18を遺伝的背景とするイネ有望系統群の生理生態学的特性を解明して、有望系統の作出と栽培法の適正化に資することになる。H23、24年度の結果から、短期生育型系統として選ばれた2系統の生育特性を明らかにした。また、北部ベトナム中山間地域(Thai Nguyen、Lao Cai)において、短期生育型系統は生育期間が短く、収量関連形質もKD18と同等であった。

2. 研究グループ別の実施内容

本研究では、九州大学と名古屋大学が提供する有用遺伝子とそのDNAマーカー情報をもとに、有用農業形質を保有する有望イネ系統を迅速に育成し、ピラミディング育種により有用遺伝子を集積した短期生育・高収量・病虫害抵抗性イネ有望系統群を開発することを目的としている。本課題は、九州大学グループ、名古屋大学グループ、ハノイ農業大学グループで構成され、有機的に連携しながら、3つの主要活動項目を実施する。また、現地では、遺伝資源チーム、イネ育種チーム、植物生産生理チームが組織化され、活動している。以下、グループごとに研究活動のねらいを記す。

九州大学グループ

① 研究のねらい

1. 大容量・高速ジェノタイピングによる効率的なイネ育種法の開発

有用遺伝子資源の探索、大容量・高速ジェノタイピングのためのDNAマーカーデザイン、世代促進法の適用を行い、効率的な育種法を確立する。特に、九州大学グループは短期生育関連遺伝子(早生遺伝子)、トビイロウンカ(Brown Plant Hopper: BPH) 抵抗性遺伝子、イネ白葉枯病(Bacterial Leaf Blight: BLB) 抵抗性遺伝子に着目して、有用遺伝子資源の探索とDNAマーカーデザインを行う。世代促進法に関しては、ソクチャン実験圃場を現地側と協力して立ち上げ、世代促進を実施する。

2. 対象地域の環境に適した短期生育・高収量・病虫害抵抗性イネ新品種育種のための有望系統群の開発

ベトナム北部中山間地域に適したイネ有望系統群を開発する。特に九州大学グループは、早生遺伝子、BLB抵抗性遺伝子、BPH抵抗性遺伝子をIR24ならびにKD18の遺伝的背景に導入し、マーカー選抜と世代促進法を駆使した効率的なイネ育種法により有望系統を選抜する。さらに、名古屋大学グループと共同して、有望系統間の交雑による遺伝子集積と大容量・高速ジェノタイピングによる効率的イネ育種法により、IR24ならびにKD18を遺伝的背景とするベトナム北部中山間地域に適した有用遺伝子集積型有望系統群を開発する。

② 研究実施方法

1. 大容量・高速ジェノタイピングによる効率的なイネ育種法の開発

1-1 有用遺伝子源の探索・同定(2010年度～2015年度)

- QTL解析やイントログレション系統群(Introgression Lines: ILs)等の遺伝分析手法を活用して、BLB抵抗性遺伝子、BPH抵抗性遺伝子等に関する有用遺伝子資源の探索と同定を行う。

1-2 DNAマーカー選抜の最適化(2010年度～2011年度)

- 名古屋大学と協力して、マーカー情報の共有とマーカー選抜の共同作業態勢を整備して、大容量・高速ジェノタイピングによるイネ全ゲノムマーカー選抜育種法の基盤を構築する。
- 通常のDNAマーカー(SSRマーカー等)取扱いの規模拡大を図り、受容親(IR24ならびにKD18)と有用遺伝子供与系統との間の多型マーカーの探索および開発を行なって、DNAマーカー選抜育種のための基盤を構築する。

1-3 メコンデルタの高温環境を利用した効率的世代促進(2011年度～2015年度)

- 2012年春作を目処にベトナム南部のソクチャン実験圃場を対象に世代促進サイトの整備を進める。

2. 対象地域の環境に適した短期生育・高収量・病虫害抵抗性イネ新品種育種のための有望系統群の開発

2-1 短期生育・病虫害抵抗性に関与する遺伝子を有する有望系統群の開発(2012年度～2015年度)

- ベトナム北部中山間地域に適した受容親有望系統(IR24とKD18)と有用遺伝子保有系統の交雑を行い、引き続き、戻し交雑と有用遺伝子選抜を繰り返して、単一の有望遺伝子を有する準同質遺伝子系統(near-isogenic lines; NILs)の作出を行う。プロジェクト半ばからは、項目1で得られる高速・大容量ジェノタイピングをDNAマーカー選抜に適用し、世代促進も2012年冬作(ソクチャン支場)から開始する。初期の対象遺伝子は、白葉枯病抵抗性遺伝子XA21、XA7、トビイロウンカ抵抗性遺伝子BPH25、BPH26である。

2-2 有望系統群を利用したピラミディング育種(2013年度～2015年度)

- 2-1で得られるNILs(名古屋大学グループ作出を含む)や作出過程の材料を用いて、有用遺伝子保有個体間の交配と戻し交配ならびにDNAマーカー選抜(項目1の成果)を行い、2遺伝子、3遺伝子…を集積したピラミディング系統(pyramiding lines: PYLs)を作出する。プロジェクト半ばからは、項目1で得られる高速・

大容量ジェノタイピングをDNAマーカー選抜に適用し、世代促進も2012年冬作(ソクチャン支場)から開始する。名古屋大学グループと共同で実施する。

2-3 有望系統群の形質調査(2010年度～2015年度)

- 2-1や2-2で得られる系統はDNAマーカー選抜で得られるもので、作出した系統の性能や有用遺伝子の効果を直接評価していないので、BLB抵抗性遺伝子、BPH抵抗性遺伝子等を対象として、ハノイ農大において形質調査を行い、項目3に供試する。

③ 当初の計画(全体計画)に対する現在の進捗状況

1. 大容量・高速ジェノタイピングによる効率的なイネ育種法の開発

1-1 有用遺伝子資源の探索・同定

- 2011年春作(ハノイ農大)の気候は非常に寒冷であったので、日本から導入したIR24を遺伝的背景とする部分置換系統群であるIASおよびRUF-ILsは、幼苗期および移植後の寒さのために、大部分は低温クロロシスを起こし被害を受けたが、中に耐性の系統が、IASにおいて3系統、RUF-ILsにおいて1系統、見出された。これらは幼苗期における低温耐性(cold tolerance)の遺伝子資源として有用であると考えられた(H23年度実施報告)。
- 2012年5月、6月にソクチャン支場で育成した一部の実験材料において、いもち病が発生して育成系統に被害が及んだ。KD18やIR24を遺伝的背景とする育成系統が被害を受ける中、TSC3とIR24の交雑由来系統の中に耐性個体が見出された。これらはいもち病抵抗性の遺伝子資源として有用であると考えられた。

1-2 DNAマーカー選抜の最適化

- H22年度に大容量・高速ジェノタイピングシステムの鍵となるイルミナ社製の高性能ビーズアレイ(附属機器(イルミナ)VC-101-1000J)を九州大学に導入して、H23年度は試運転および研修を行った(名古屋大学には既設)(H23年度実施報告)。H24年度はビーズアレイ(附属機器(イルミナ)VC-101-1000J)を実験に3回供試し、運用可能であることを確認するとともに、技術を習得することができた
- SNPの同定とDNAマーカーデザインについては、H23年度中に確立する予定であったが、遺伝子集積(ピラミディング)の選抜時期に間に合うように整備することとし、一年延長してSNPの同定とDNAマーカーデザインを行うこととした。また、H25年度からは名古屋大学、九州大学、ハノイ農業大学の三者でジェノタイプ情報を共有して、ジェノタイピングの実施を開始するので、JICA短期研修生および九州大学大学院修士学生(本プロジェクトメンバー)に対して、SNPの同定法の研修を行った(H23年度実施報告)。
- 大容量・高速ジェノタイピングシステムの導入に先立って、ピラミディング育種に利用する有望系統の育成には、対象遺伝子領域のみを保有する個体を確実に迅速に選抜することが必要であり、既存のSSRマーカーによるDNAマーカー選抜の基盤強化・加速化が不可欠であった。そこで、H23年度はH22年度同様、これまでに遺伝子単離が完了しているか、あるいは詳細な位置情報が明らかとなっている高収量遺伝子、病害抵抗性遺伝子、耐虫性遺伝子に関して、ベトナム北部中山間地域に適応した受容親(IR24ならびにKD18)と有用遺伝子供与系統との間のSSRマーカーの探索および開発を行ない、これらを用いたDNAマーカー選抜育種を実施した(H23年度実施報告)。
- H23年度の結果をもとに、H24年度はDNAマーカー選抜育種を本格化し、ベトナムで育成した戻し交雑用材料を対象に、ベトナムから日本にイネ生葉を持ち帰り、有用遺伝子保有の有無を確認して、その情報をベトナムに送り、その結果に基づいて戻し交雑を行った。具体的には、これまでに遺伝子単離が完了しているか、

あるいは詳細な位置情報が明らかとなっている高収量遺伝子、病害抵抗性遺伝子、耐虫性遺伝子に関して、受容親 (IR24ならびにKD18) と有用遺伝子供与系統との間のSSRマーカーの探索および開発を行ない、これらを用いたDNAマーカー選抜育種を実施した。

1-3 メコンデルタの高温環境を利用した効率的世代促進

- 効率的育種法の開発には各世代の育種材料を安定的に育成して、戻し交雑を進めることが肝要となる。北ベトナムの春作は低温に見舞われることが多く、冬から春にかけての材料育成には、世代促進を安定的に進めることができる南ベトナム (メコンデルタ) に試験支場が必要であった。本年度は、ハノイ農大の絶大な協力で南ベトナムのソクチャンにイネ試験支場を設置した。すでに、試験支場では、2011年11月から本格的な作付けを行い、世代促進を安定的に進めることができた。なお、ソクチャン試験支場の土地賃借契約はハノイ農大によって進められ、整備費はプロジェクト現地業務費に計上された (H23年度実施報告)。
- H24年度、ソクチャン試験支場では、2012年冬作 (2012年10月播種、2013年1月戻し交雑、2013年2月収穫) を行い、世代促進を安定的に進めた。

2. 対象地域の環境に適した短期生育・高収量・病虫害抵抗性イネ新品種育種のための有望系統群の開発

2-1 短期生育・高収量・病虫害抵抗性に関与する遺伝子を有する有望系統群の開発

- H22年度から、九州大学ならびに名古屋大学においては、ベトナム北部中山間地域に適応した受容親有望系統 (IR24) と有用遺伝子保有系統の交雑を行い、すでに雑種が得られている組合せについては、戻し交雑初期世代における有用遺伝子の選抜を進めた。また、2011春作からRic Angeles (九州大学採用ポスドク) をハノイ農業大学に派遣し、世代促進とマーカー選抜を組み合わせた効率的育種法を進めた。有望系統の対象遺伝子は、高収量性に関する有望遺伝子 *WFP1* (名古屋大学)、白葉枯病抵抗性遺伝子 *XA21*、*XA7*、トビロウカ抵抗性遺伝子 *BPH25*、*BPH26* である。戻し交雑世代は対象遺伝子によりまちまちであるが、2011年春作からこれらをハノイ農大に持ち込み、H23年度5月にさらなる戻し交雑 (準同質遺伝子系統作成のため) と対象遺伝子間の交配 (ピラミディングのため) を開始した。2011年夏秋作 (7月~11月) も同様に、戻し交雑を進めた。2012年冬作はソクチャン支場が整備されたので、世代促進のため主要育種材料を同支場に移し、作付けを行った。主要育種材料の育成は順調に推移し、DNAマーカー選抜の一連の行程は、ソクチャンでサンプリングを行い、日本でDNA分析を行い、情報をソクチャンに送ることより達成し、その情報に基づいて戻し交配を行った。本年度は、3作の作付けを行うことができ、戻し交雑育種とマーカー選抜は軌道に乗った。また、KD18を受容親 (反復親) とする有望系統群の開発は、世代は異なるがIR24と同様の方法で、有用遺伝子保有系統との交雑を開始して戻し交雑を進めた (H23年度実施報告)。
- 前述したように、2012冬作はソクチャン試験支場に主要育種材料を育成し、戻し交雑とマーカー選抜を実施した。マーカー選抜には、イネ葉を日本に輸入して、ジェノタイプングを行った後にその情報を現地プロジェクトに送り、DNAマーカー選抜による効率的戻し交雑を実践した。これらの日本側で行われたジェノタイプングの一部は、短期研修員の技術習得の一環として実施された (H23年度実施報告)。
- H24年度は、昨年度同様、E. Angeles博士 (九州大学採用ポスドク) をハノイ農業大学に派遣し、世代促進とマーカー選抜を組み合わせた効率的育種法を展開した。
- 有望系統作出の対象遺伝子は、高収量性に関する有望遺伝子 *GN1*、*WFP1* (名古屋大学)、白葉枯病抵抗性遺伝子 *XA21*、*XA7*、トビロウカ抵抗性遺伝子 *BPH25*、*BPH26*、ウンカ類殺卵遺伝子 *OVC* ならびに関連QTLs (qOVC1-3、qOVC5) である。

- 2012年夏秋作(2012年5月播種、2012年8月戻し交雑、2012年9月収穫)は、ハノイ農大において、準同質遺伝子系統作成のための戻し交雑世代(主として B_2F_1)の育成と交配を実施した。さらに、2013年冬作(2012年10月播種、2013年1月戻し交雑、2013年2月収穫)は、ソクチャン支場において、準同質遺伝子系統作成のための戻し交雑世代(主として $B3F1$)の育成と交配を実施した。
- 主要育種材料の育成は順調に推移し、DNAマーカー選抜の一連の行程は、ハノイおよびソクチャンで葉のサンプリングを行い、日本でDNA分析を行い、情報をベトナムに送ることより達成し、その情報に基づいて戻し交配を実施した(IR24を反復親とする有望系統:表1参照)(KD18を反復親とする有望系統:表2参照)。このように、2012夏秋作と2013年冬作において、戻し交雑とマーカー選抜を実施した。日本側で行われたジェノタイピングの一部は、短期研修員の技術習得の一環として実施された。

2-2 有望系統群を利用したピラミディング育種

- 本年度は初期の交配を開始した(H23年度実施報告)。
- 2012年夏秋作(2012年5月播種、2012年8月交雑、2012年9月収穫)はハノイ農大において、2013年冬作(2012年10月播種、2013年1月交雑、2013年2月収穫)はソクチャン支場において、有望系統間の F_1 を作出してピラミディング育種を開始した(IR24を反復親とする有望系統間の交配)(KD18を反復親とする有望系統間の交配)。

2-3 有望系統群の形質調査

- 対象遺伝子の一部については各形質の評価を行い、ハノイ農大プロジェクトサイトに導入した(H23年度実施報告)。

ウンカ類抵抗性遺伝子(*BPH25*、*BPH26*、*OVC*)の準同質遺伝子系統(8系統)について、北部ベトナムの昆虫個体群に対する抵抗性評価を実施した。

表1

Progress of backcross breeding of the breeding materials with genetic background of IR24						
Traits and Gene	2011	2011	2012	2012	2012	
	Spring (Feb.- June)	Summer- Autumn (June-Nov.)	Winter (11Nov.- March)	Summer- Autumn (May-Oct.)	Winter (12Oct.- 13Feb.)	
	HUA	HUA	Soc Trang	HUA	Soc Trang	
High Yield (HY)						
<i>Gn1</i> -MOTO 12			: B3F1	: B4F1	6: B5F1	
	Crossing	(2) : F1	3 : B1F1	27: B2F1	13: B3F1	
<i>WFP1</i> -MOTO 6		Crossing ^{a)}	6 : B3F1	11: B4F1	B4F2	
<i>WFP1</i> -MOTO 12	Crossing	(2) : F1	3 : B1F1	27: B2F1	23: B3F1	
<i>GW5</i>						
<i>GS3 (Ik3)</i>						
Bacterial Leaf Blight (BL) resistance						
<i>XA7</i>			—Developed—			
<i>XA21</i>			—Developed—			
Blast resistance						
				Crossing ^{a)}	F1	
Brown Planthopper (BPH) resistance						
<i>BPH3</i> -TSC3	Crossing	1 (1) : F1	1 (1) : B1F1	9 (8) : B2F1		
<i>BPH25</i> -TBPH (1-7)	7 : F1	15 : B1F1	46 : B2F1	84 : B3F1	3: B4F1	
<i>BPH26</i> -TBPH (8-9)	2 : F1	3 : B1F1	7 : B2F1	44 : B3F1	11: B4F1	
Whitebacked Planthopper (WBPH) resistance						
<i>Ovc</i> -IRWBPH (1-2)				: B2F1	6: B3F1	
<i>qOVA1-3</i>				: B2F1	3: B3F1	
<i>qOVA5-1, 5-2</i>				: B2F1	1: B3F1	
Cold Tolerance (CT)						
Unknown						
Short growth duration (SGD)						
Unknown						
Pyramiding (Two genes)						
<i>GN1</i> + <i>XA21</i>					1: B3F1	
<i>WFP1</i> + <i>XA7</i>					crossing	
<i>WFP1</i> + <i>XA21</i>					8: B5F1	
<i>XA7</i> + <i>Ovc</i>					crossing	
<i>XA7</i> + <i>qOVA 1-3 (IRWBPH 3-4)</i>					crossing	
<i>XA7</i> + <i>qOVA 5-1, 5-2 (IRWBPH 9-10)</i>					crossing	
<i>XA21</i> + <i>BPH25</i>				: B3F1	3: B4F1	
<i>XA21</i> + <i>BPH26</i>				: B3F1	6: B4F1	
<i>XA21</i> + <i>Ovc</i>				: B2F1	6: B3F1	
<i>XA21</i> + <i>qOVA 1-3 (IRWBPH 3-4)</i>				: B2F1	3: B3F1	
<i>XA21</i> + <i>qOVA 5-1, 5-2 (IRWBPH 9-10)</i>				: B2F1	1: B3F1	
Pyramiding (Three genes)						
<i>WFP1</i> + <i>XA21</i> + <i>BPH26</i>				: B3F1	3: B4F1	
<i>XA21</i> + <i>BPH25</i> + <i>BPH26</i>				: B2F1	1: B3F1	
<i>XA7</i> + <i>Ovc</i> + <i>qOVA 1-3 (IRWBPH 3-4)</i>					crossing	
<i>XA7</i> + <i>qOVA 1-3</i> + <i>qOVA 5-1, 5-2</i>					crossing	
<i>XA21</i> + <i>Ovc</i> + <i>qOVA 1-3, + 5-1, 5-2 (IRWBPH 13-14)</i>					crossing	
a) Crossing at KYU or NU.						
The number described before each generation is the number of families planted.						

表2

Progress of backcross breeding of the breeding materials with genetic background of Khang Dan18						
Traits and Gene	2011	2011	2012	2012	2012	
	Spring (Feb.- June)	Summer- Autumn (June-Nov.)	Winter (11Nov.- March)	Summer- Autumn (May-Oct.)	Winter (12Oct.- 13Feb.)	
	HUA	HUA	Soc Trang	HUA	Soc Trang	
<i>High Yield (HY)</i>						
GN1-MOTO 6				: B ₂ F ₁	2: B ₃ F ₁	
GN1-MOTO 12	Crossing	(2) : F ₁	3 : B ₁ F ₁	34: B ₂ F ₁	: B ₃ F ₁	
WFP1-MOTO 6		Crossing ^{a)}	6 : B ₃ F ₁	13: B ₄ F ₁	4: B ₃ F ₁ (B ₄ F ₂)	
WFP1-MOTO 12	Crossing	(2) : F ₁	3 : B ₁ F ₁	34: B ₂ F ₁	22: B ₃ F ₁	
GW5						
GS3 (Ik3)						
<i>Bacterial Leaf Blight (BL) resistance</i>						
XA7				11: B ₂ F ₁	5: B ₃ F ₁	
XA21				11: B ₂ F ₁	7: B ₃ F ₁	
<i>Blast resistance</i>						
				Crossing ^{a)}	F ₁	
<i>Brown Planthopper (BPH) resistance</i>						
BPH3-TSC3)	Crossing	1 : F ₁	1 : B ₁ F ₁	16 : B ₂ F ₁		
BPH25 -TBPH (1-7)	Crossing	7 : F ₁	5 : B ₁ F ₁	52 : B ₂ F ₁	5: B ₃ F ₁	
BPH26 -TBPH (8-9)	Crossing	2 : F ₁	2 : B ₁ F ₁	12 : B ₂ F ₁	5: B ₃ F ₁	
<i>Whitebacked Planthopper (WBPH) resistance</i>						
Ovc -IRWBPH (1-2)				6 : B ₂ F ₁	8: B ₃ F ₁	
qOVA1-3					2: B ₃ F ₁	
qOVA5-1, 5-2					2: B ₃ F ₁	
<i>Cold Tolerance (CT)</i>						
Unknown					30 : B ₂ F ₁	
<i>Short growth duration (SGD)</i>						
<i>Pyramiding (Two genes)</i>						
GN1 + WFP1					5: B ₃ F ₁	
WFP1 + XA21					23: B ₃ F ₁	
XA7 + XA21					Crossing	
XA7 + BPH25					Crossing	
XA7 + BPH26					Crossing	
XA21 + BPH25					Crossing	
XA21 + BPH26					Crossing	
XA21 +Ovc				Crossing	F ₁	
BPH25 + BPH26 (TBPH)	Crossing	: F ₁	: B ₁ F ₁	8 : B ₂ F ₁	B ₃ F ₁	
Ovc + qOVA 1-3 (IRWBPH 3-4)		: F ₁	: B ₁ F ₁	13 : B ₂ F ₁	2: B ₃ F ₁	
Ovc + qOVA 5-1, 5-2 (IRWBPH 9-10)		: F ₁	: B ₁ F ₁	5 : B ₂ F ₁	1: B ₃ F ₁	
a) Crossing at KYU or NU.						
The number described before each generation is the number of families planted.						

④ カウンターパートへの技術移転の状況(日本側および相手国側と相互に交換された技術情報を含む)

- 初期の導入対象遺伝子である白葉枯病抵抗性遺伝子 *XA21*、*XA7*、*XA4*、トビイロウンカ抵抗性遺伝子 *BPH25*、*BPH26* 保有系統をハノイ農大プロジェクトサイトに導入した (H22年度)。
- *BPH25*、*BPH26* のマーカーを開発して、その情報をハノイ農大プロジェクトに導入した (H23年度実施報告)。
- 高収量性に関する有望遺伝子 *GN1*、*WFP1*、白葉枯病抵抗性遺伝子 *XA21*、*XA7*、トビイロウンカ抵抗性遺伝子 *BPH25*、*BPH26*、ウンカ類殺卵遺伝子 *OVCO* のマーカー情報を利用した DNA マーカー選抜技術をハノイ農大プロジェクトサイトに導入した。
- 短時間ではあるが、イネ白葉枯病抵抗性検定のデモンストレーションを実施した。

⑤ 当初計画では想定されていなかった新たな展開があった場合、その内容と展開状況(あれば)

大容量・高速ジェノタイピングシステムの鍵となるイルミナ社製の高性能ビーズアレイ(附属機器(イルミナ) VC-101-1000J)が2012年10月に発売中止となり、試薬の提供も2017年までとすることが決定した。このことにより、ビーズアレイが使用可能なのはプロジェクト期間中ぐらいに限られることになった。本プロジェクト申請時の2009年時点における大容量・高速ジェノタイピングシステムの最良のシステムは、イルミナ社製の高性能ビーズアレイのシステムであったので、九州大学およびハノイ農大にこのシステムを導入したが、短命のシステムとなりそうである。現時点では、安価であることから最良と考えられる大容量・高速ジェノタイピングシステムはベンチトップ型次世代シークエンサーの利用である。このことから、九州大学グループは他の経費で、イルミナ社製ベンチトップ型次世代シークエンサー Mizeq を導入した。近い将来、Mizeq 利用による大容量・高速ジェノタイピングのランニングコストが、ビーズアレイ利用によるそれよりも格段に安くなることから、平成26年度頃からは Mizeq 利用による大容量・高速ジェノタイピングに移行する公算が高い。ハノイ農大においては、平成25年度にビーズアレイの本格使用が始まる。平成26年度ぐらいまではビーズアレイを稼働させながら、次世代シークエンサー利用による大容量・高速ジェノタイピングシステムの導入を模索したい。

名古屋大学グループ

① 研究のねらい

1. 大容量・高速ジェノタイピングによる効率的なイネ育種法の開発

有用遺伝子資源の探索、大容量・高速ジェノタイピングのための DNA マーカーデザイン、効率的な育種法を確立する。特に、名古屋大学グループは、高収量性遺伝子に着目して有用遺伝子の探索を行うとともに、大容量・高速ジェノタイピングのための DNA マーカーデザインに関しては、デザインに必須となる本課題で使用する品種／系統の SNP 情報の取得と DNA マーカーの作製を行う。

2. 対象地域の環境に適した短期生育・高収量・病虫害抵抗性イネ新品種育種のための有望系統群の開発

ベトナム北部中山間地域に適したイネ有望系統群を開発する。特に、名古屋大学グループは、高収量性遺伝子を IR24 ならびに KD18 の遺伝的背景に導入し、マーカー選抜と世代促進法を駆使した効率的なイネ育種法により

有望系統を選抜する。さらに、九州大学グループと共同して、有望系統間の交雑による遺伝子集積と大容量・高速ジェノタイピングによる効率的イネ育種法により、IR24ならびにKD18を遺伝的背景とするベトナム北部中山間地域に適した有用遺伝子集積型有望系統群を開発する。

②研究実施方法

1. 大容量・高速ジェノタイピングによる効率的なイネ育種法の開発

1-1 有用遺伝子源の探索・同定(2010年度～2015年度)

- QTL解析やイントログレション系統群(Introgression Lines: ILs)等の遺伝分析手法を活用して、高収量等に着眼して有用遺伝子資源の探索・同定を行う。

1-2 DNAマーカー選抜の最適化(2011年度～2014年度)

- 対象遺伝子近傍とゲノム全体を対象にDNAマーカーデザインを行い、既設高性能ビーズアレイを利用して、大容量・高速ジェノタイピング法の基盤を構築する。
- マーカー情報の共有とマーカー選抜の共同作業態勢を整備して、大容量・高速ジェノタイピングによるイネ全ゲノムマーカー選抜育種法の基盤を構築する。

2. 対象地域の環境に適した短期生育・高収量・病虫害抵抗性イネ新品種育種のための有望系統群の開発

2-1 高収量性に関与する遺伝子を有する有望系統群の開発(2011年度～2015年度)

- ベトナム北部中山間地域に適応した受容親有望系統(IR24とKD18)と有用遺伝子保有系統の交雑を行い、引き続き、戻し交雑と有用遺伝子選抜を繰り返して、単一の有望遺伝子を有する準同質遺伝子系統(near-isogenic lines; NILs)の作出を行う。プロジェクト半ばからは、活動項目1で得られる高速・大容量ジェノタイピングをDNAマーカー選抜に適用し、世代促進も2012年冬作から開始する。初期の対象遺伝子は、高収量性に関する有望遺伝子 *GN1* および *WFP1* である。

2-2 有望系統群を利用したピラミディング育種(2012年度～2015年度)

- 2-1で得られるNILs(九州大学グループ作出を含む)や作出過程の材料を用いて、有用遺伝子保有個体間の交配と戻し交配ならびにDNAマーカー選抜(項目1の成果)を行い、2遺伝子、3遺伝子・・・を集積したピラミディング系統(pyramiding lines: PYLs)を作出する。プロジェクト半ばからは、活動項目1で得られる高速・大容量ジェノタイピングをDNAマーカー選抜に適用し、世代促進も2012年冬作から開始する。九州大学グループと共同で実施する。

2-3 有望系統群の形質調査(2010年度～2015年度)

- 2-1や2-2で得られる系統はDNAマーカー選抜で得られるもので、作出した系統の性能や有用遺伝子の効果を直接評価していないので、ハノイ農大において形質調査を行い、項目3に供試する。

③ 当初の計画(全体計画)に対する現在の進捗状況

1. 大容量・高速ジェノタイピングによる効率的なイネ育種法の開発

1-1 有用遺伝子資源の探索・同定

- 本年度はイネ第6染色体に種子のサイズ及びバイオマスの増大を制御する遺伝子の同定に成功した。現在遺伝子の機能解析を進めている。今後本プロジェクトにおいてこの遺伝子の利用を検討したい(H23年度実施報告)。
- 本年度はイネ第6染色体に種子のサイズ及びバイオマスの増大を制御する遺伝子(*GW6a*)の機能解析をすすめ、ヒストンの修飾を行うエピジェネティック遺伝子であることが明らかになった(論文準備中)。この遺

伝子をシロイヌナズに導入しても種子サイズが大きくなったことから、イネのみならず他作物においても重要遺伝子である可能性が示唆された。また、イネの穂のサイズを制御している遺伝子をイネ第5染色体に見いだした。ポジショナルクローニングを進め現在候補遺伝子を見いだした。さらに、イネ第6染色体に座乗する穂の開閉性を制御する遺伝子(LGI)をポジショナルクローニングにて同定した(Nature Genetics 2013)。

1-2 DNAマーカー選抜の最適化

- 収量向上遺伝子 *GN1* と *WFP1* 遺伝子において、導入する系統IR24およびKD18における両遺伝子を区別する分子マーカーの作出を行い、実際のマーカー選抜に供試し、選抜可能であることを確認した(H23年度実施報告)。
- また、高速ジェノタイピングに向け、本研究に供試する系統(ST12およびST6)のDNAの全ゲノムのSNP情報をアレイを用いて解析を行った。今後全ての供試材料で全ゲノムSNP情報を取得する(H23年度実施報告)。
- SNPの同定とDNAマーカーデザインについては、アフィメトリックス44,000SNPアレイをスクリーニングし、9個の有用遺伝子(3つの収量性遺伝子: *Gn1a*, *Apo1*, *WFP*、1つの病害抵抗性遺伝子: *Xa21*、3つの虫害抵抗性遺伝子: *Grh2*, *Grh4*, *Grh6*) 近傍のSNPパターンを解析し、それぞれの遺伝子の前後に4~5個のSNPマーカーを選抜した。この結果、有用遺伝子を保持する系統とベトナムにて導入を進めているIR24およびKD18系統の両方において、全ての遺伝子パターンが区別できるようになった。また計96個のSNP情報をイルミナ社にデザインを依頼し、高速ジェノタイピングシステム用のカスタムアレイを作成した。完成した高速ジェノタイピングカスタムアレイをベトナムに導入し、ベトナムにて選抜ができるよう技術移転を行う予定である。

2. 対象地域の環境に適した短期生育・高収量・病虫害抵抗性イネ新品種育種のための有望系統群の開発

2-1 短期生育・高収量・病虫害抵抗性に関与する遺伝子を有する有望系統群の開発

- ベトナム北部中山間地域に適応した受容親有望系統(IR24)と高収量性保有系統の交雑を行うとともに、すでに雑種が得られている組み合わせについては、戻し交雑初期世代における *WFP1* と *GN1* 遺伝子の選抜と戻し交雑を進めた(表1、2参照)(H23年度実施報告)。

2-2 有望系統群を利用したピラミディング育種

- 初期材料の育成のための交配を行った(表1、2参照)(H23年度実施報告)。

2-3 有望系統群の形質調査

- 対象有用遺伝子の形質の評価を行った(H23年度実施報告)。

④ カウンターパートへの技術移転の状況(日本側および相手国側と相互に交換された技術情報を含む)

初期の導入対象遺伝子である高収量性遺伝子 *WFP1* および *GN1* の選抜マーカー情報をハノイ農大プロジェクトサイトに導入した(H23年度実施報告)。

⑤ 当初計画では想定されていなかった新たな展開があった場合、その内容と展開状況(あれば)

なし

ハノイ農業大学グループ

① 研究のねらい

3. イネ有望系統群の生理生態学的特性の解明

インド型イネ品種IR24ならびに現地適応型品種を遺伝的背景とするイネ有望系統群の生理生態学的特性を解明する。まず、既存のイネ系統群ならびに開発された有望系統群を用いて、実験室レベルにおける生理的特性検定を実施する。また、ベトナム北部中山間地域をパイロットプロットとして、現地環境適応性試験を実施する。それらを総合して、イネ有望系統群について推奨される栽培方法に関する情報をとりまとめて、ベトナム北部中山間地域におけるイネ有望系統群の栽培技術指針を作成する。

② 研究実施方法

3. イネ有望系統群の生理生態学的特性の解明

3-1 有望系統群の生理的特性検定(2011年度～2015年度)

- 既存のイネ品種・系統ならびに項目2で開発される有望系統群を用いて、ハノイ農大圃場と実験室レベルにおいて生理生態学的特性評価(光合成関連特性、根の特性等)を行う。

3-2 有望系統群の環境適応性試験(2011年度～2015年度)

- 北部ベトナム中山間地域のThai NguyenおよびLao Caiに現地適応試験圃場を設置して、既存のイネ品種・系統ならびに項目2で開発される有望系統群の適応性試験を行う。調査項目は、早晚性および収量性を中心に行う。

3-3 有望系統群に対応した推奨される栽培法に関する情報のとりまとめ(2014年度～2015年度)

- 3-1や3-2で得られた結果を基に、栽培法(施肥法等)のフィージビリティースタディを行い、適切な栽培法を提言する。

③ 当初の計画(全体計画)に対する現在の進捗状況

3. イネ有望系統群の生理生態学的特性の解明

3-1 有望系統群の生理的特性検定

- プロジェクト期間全体を通じて、現地適応型インド型品種IR24ならびにKD18を遺伝的背景とするイネ有望系統群の生理生態学的特性を解明して、有望系統の作出と栽培に資することになるが、本年度はまず、既存のイネ系統群ならびに開発された有望系統群を用いて、実験室レベルにおける生理的特性検定の具体案の策定を行い、実施に移した。具体的には、短期生育型系統として選ばれた数系統を用いて、光合成特性、収量関連特性の調査を行った。合わせて、窒素肥料の肥料試験も実施した(H23年度実施報告)。
- H23年度ハノイ秋作およびH24年度ハノイ春作において、短期生育型系統として選ばれた2系統を供試してポット試験を行い、分げつ期、出穂期、糊熟期に、光合成特性(CO₂交換速度、気孔伝導度、葉面積、SPAD値)と乾物重を調査した。その結果、短期生育型系統2系統は分げつ期成長速度が高く、出穂期から糊熟期にかけての穂の成長速度が高いことを明らかにした。

3-2. 有望系統群(既存及び新たに開発された系統)の環境適応性試験

- 本年度行う環境適応性試験としては、北部ベトナム中山間地域における有望遺伝子資源の評価試験を行なう。具体的には、北部ベトナム中山間地域に2カ所のパイロット調査圃場を設けて、収量性、早晚性を中心とした遺伝資源の探索と同定に着手する。まず、IR24を遺伝的背景とする日本型イネ染色体部分置換系

統群ならびに野生イネ染色体断片部分置換系統群を用いて、生育期間ならびに収量性の調査を実施した。得られた有望系統については種子増殖ならびに受容親優良品種との交雑を行った(H23年度実施報告)。

- H24年度春作においては、北部ベトナム中山間地域に2カ所のパイロット調査圃場(Thai Nguyen, Lao Cai)を設けて、短期生育型系統として選ばれた7系統を供試して、収量性、早晚性を中心とした有望系統の評価を行った。その結果、すべての供試系統はKD18より5~10日生育期間が短く、収量関連形質においてもKD18と同等の性能を示すことが明らかにされ、有望系統として2系統が選出された。

3-3 有望系統群に対応した推奨される栽培法に関する情報のとりまとめ

- 2014年度から開始の予定であるので、本年度の進捗はない(H23年度実施報告)。
- H24年度は、「有望系統群に対応した推奨される栽培法に関する情報のとりまとめ」の試験研究に着手した。短期生育型系統として選ばれた2系統を供試して、ハノイ農大春作において肥料試験および栽植密度試験を行い、栽培法に関する初期情報を得た。

④ カウンターパートへの技術移転の状況(日本側および相手国側と相互に交換された技術情報を含む)

なし

⑤ 当初計画では想定されていなかった新たな展開があった場合、その内容と展開状況(あれば)ハノイ農業大学55周年記念式典に際して、本プロジェクトのワークショップを開催した。日本側からは、緒方、安井が参加し、多くの講演が行われた(詳細は(3-2-2-5)を参照)(H23年度実施報告)。

活動(成果)3: イネ有望系統群の生理生態学的特性が明らかになる											
活動項目		指標	期間全体の目標値	H22 H23	H24	H25	H26	H27	累積数	目標値に対する進捗度	年度計画に対する進捗度
活動 3-1	有望系統群(既存及び新たに開発された系統)の生理的特性を検定する	実施された生理的特性検定の系統数	10系統	2	2				4	40%	A
活動 3-2	有望系統群(既存及び新たに開発された系統)の環境適応性試験を実施する	環境適応性試験が実施された有望系統の数と試験地の数	10系統; 3試験地	2	7				9	90%	S
活動 3-3	有望系統群に対応した推奨される栽培法に関する情報を取りまとめる	有望系統の栽培指針の数	4編の栽培指針書(開発した有望系統を用いて、対象地域2カ所において栽培指針を作成)		栽培試験のみ実施				0	-	-
赤文字はH24年度変更箇所											
実施年度											
数値は年度ごとの達成数											
年度計画に対する進捗度はS(極めて高い)、A(予定通り)、B(概ね予定通り)、C(遅れている)、D(極めて遅れている)の4段階で示した。											

3. 成果発表

(1) 原著論文発表

- ① 本年度発表総数 (国内 0 件、国際 1 件)
- ② 本プロジェクト期間累積件数 (国内 0 件、海外 1 件)
- ③ 論文詳細情報

Takano-Kai, N., K. Doi and A. Yoshimura (2011) *GS3* participates in stigma exertion as well as seed length in rice. *Breed. Sci.* 61(3): 244-250. September 2011 (H23年度実績報告)

Jairin J., T. Kobayashi, Y. Yamagata, S. Sanada-Morimura, K. Mori, K. Tashiro, S. Kuhara, S. Kuwazaki, M. Urio, Y. Suetsugu, K. Yamamoto, M. Matsumura, and H. Yasui (2013) A Simple Sequence Repeat- and Single-Nucleotide Polymorphism-Based Genetic Linkage Map of the Brown Planthopper, *Nilaparvata lugens* *DNA Research* 20(1): 17-30.

Ishii, T., K. Numaguchi, K. Miura, K. Yoshida, P. T. Thanh, T. M. Htun, M. Yamasaki, N. Komeda, T. Matsumoto, R. Terauchi, R. Ishikawa and M. Ashikari (2013) *OsLGI* regulates a closed panicle trait in domesticated rice. *Nature Genetics*, 45 (4): 462-465.

(2) 特許出願

- ① 本年度特許出願内訳 (国内 0件、海外 0件、特許出願した発明数 0件)
- ② 本プロジェクト期間累積件数(国内 0件、海外 0件)

4. プロジェクト実施体制

九州大学グループ(グループリーダー: 吉村)

1. 大容量・高速ジェノタイピングによる効率的なイネ育種法の開発

1-1 有用遺伝子資源の探索・同定

主な担当者: 安井、吉村、Ric Angeles

1-2 DNAマーカー選抜の最適化

主な担当者:山形、吉村、安井

1-3 メコンデルタの高温環境を利用した効率的世代促進

主な担当者:安井、Ric Angeles、Vu Hong Quang

2. 対象地域の環境に適した短期生育・高収量・病虫害抵抗性イネ新品種育種のための有望系統群の開発

グループリーダー:吉村

2-1 短期生育・病虫害抵抗性に関与する遺伝子を有する有望系統群の開発

主な担当者:安井、吉村、Ric Angeles、Vu Thi Hien

2-2 有望系統群を利用したピラミディング育種

主な担当者:安井、芦苺、Ric Angeles、吉村、Vu Thi Hien

2-3 有望系統群の形質調査

主な担当者:安井、吉村、Ric Angeles、Pham Van Cuong、Vu Thi Hien

名古屋大学グループ (グループリーダー: 芦苺)

1. 大容量・高速ジェノタイピングによる効率的なイネ育種法の開発

1-1 有用遺伝子資源の探索・同定

主な担当者:芦苺、北野、土井

1-2 DNAマーカー選抜の最適化

主な担当者:芦苺

2. 対象地域の環境に適した短期生育・高収量・病虫害抵抗性イネ新品種育種のための有望系統群の開発

2-1 短期生育・高収量・病虫害抵抗性に関与する遺伝子を有する有望系統群の開発

主な担当者:芦苺、北野、土井

2-2 有望系統群を利用したピラミディング育種

主な担当者:芦苺、安井、Ric Angeles、吉村、Pham Van Cuong、Vu Thi Hien

2-3 有望系統群の形質調査

主な担当者:芦苺、北野、土井、Pham Van Cuong、Vu Thi Hien

ハノイ農業大学グループ (グループリーダー: Pham Van Cuong)

3. イネ有望系統群の生理生態学的特性の解明

3-1 有望系統群の生理的特性検定

主な担当者:Pham Van Cuong、Tang Thi Hanh、望月、荒木、山川

3-2 有望系統群の環境適応性試験

主な担当者:Pham Van Cuong、Tang Thi Hanh、吉村、安井、Ric Angeles、芦苺、望月、荒木

3-3 有望系統群に対応した推奨される栽培法に関する情報のとりまとめ

主な担当者:緒方、Pham Van Cuong、Tang Thi Hanh、望月、荒木、Vu Thi Hien

以上