

第7回研究助成

食糧問題軽減を目指したイネの分子育種と特製評価

研究代表者:

芦苜 基行 名古屋大学・生物機能開発利用研究センター

共同研究者:

安井 秀 九州大学大学院農学研究院

Pham Van Cuong Vietnam National University of Agriculture
(ベトナム国家農業大学)



- (1段) 左:名大圃場での田植え、中:育成系統の評価(名大圃場)、右:交配用株上げ(名大圃場中央芦苜)
(2段) 左:イネの交配(名大温室)、中:九大農場(中央手前安井氏)、右:育成系統の評価(ベトナム)
(3段) 左:ベトナム農業大学 Cuong 氏、中:育成系統の農家説明1(ベトナム)、右:育成系統の農家説明2
(ベトナム)

1. 研究の背景と達成目標

飽食の日本に住んでいると、食に困ることはありませんが、世界に目を向けると深刻な食料問題が見えてきます。特に、アジアやアフリカには慢性的で深刻な食料問題があります。この問題の解決には、人口増加の抑制や食料ロス軽減など様々な手法が考えられますが、本課題では、食糧増産に着目し、特にコメに焦点をあてました。アジアではコメが主食であること、また近年アフリカでコメの需要が急激に高まっていることから、科学技術でイネを改良し増産を目指します。具体的には、①イネの多様性を利用して、有用農業形質を制御する遺伝子を見いだすとともに、作用機序を明らかにすること、②イネ有用農業形質遺伝子を集積した系統を作出し、実際の圃場で評価すること(圃場での評価の際には、肥料や栽植密度などのパラメーターを変化させ、最も適した系統と栽培体系を見いだす)。③ベトナム国家農業大学、九州大学、名古屋大学で共同作出した有望系統をベトナム各地で試験評価し普及を目指すこと、④またあわせてアフリカでのコメ増産の道筋を立てることを目標とします。

2. 主な研究成果と社会、学術へのインパクト

・洪水耐性イネの責任遺伝子の同定と機能解析

タイやカンボジアといった東南アジアやバングラデシュなどの南アジアでは雨期に大規模な洪水に見舞われます。この地域では洪水耐性イネが利用されていますが、責任遺伝子は不明でした。この責任遺伝子の1つを同定し、2つの植物ホルモンの合成とリレーによって、洪水耐性が付与されていることを明らかにしました。またこの遺伝子がバングラデシュ近傍の野生イネ由来であることを明らかにするとともに、洪水多発地帯のイネ育種の可能性を示しました(Kuroha et al. Science 2018)。

・有望系統の育成と圃場評価

インディカ品種 IR24 にイネ白葉枯病抵抗性遺伝子を集積した IRB (*Xa4*, *xa5*, *xa13*, *Xa21*) と高収量性遺伝子 (*WFP*) を保持する系統群を作出し、名古屋大学附属農場で評価しました。特に収量構成要素である一株穂数、一穂粒数、100 粒重、稔実率の計測値から単位収量(kg/10a)を算出しました。また一次枝梗数、一株粒重、草丈、稈長そして穂長についても計測を行った結果、単位収量において有望系統を見いだしました。一方、ウンカ類に対する抵抗性遺伝子 (*bph25*, *Bph26*, *OVC*) をインディカ品種 IR24 と Khang Dan 18 (KD18) に導入した系統群について、ベトナムにおける圃場調査を実施し、その抵抗性の程度を評価しました。

・育成品種の普及

ハノイにあるベトナム国家農業大学の圃場において、日本と同様の手法で各系統の収量を調査しました。その結果、ハノイでは育成系統が親系統と比較して単位面積当たりの収量が多いことが示され、特に Line1 と Line4 は高密度区においても高収量性を示しました。これは育成系統の一穂当たりの粒数が多いためであると考えられます。栽植密度の収量への影響については、1 倍区から 3 倍区までは密度に比例して反収が増加する傾向がみられましたが、4 倍区では頭打ちになっていました。育成系統の白葉枯病に対する抵抗性試験では、Line4 と Line5 において親系統の IRBB と同等の強い抵抗性が示されました。これまでに作出した有望系統のベトナムにおける品種化(普及)については、DCG72 が 2017 年にベトナム北部の 13 地域の 415ha で試験されて上々の評価を得て「暫定的国家品種」に認定されています。2018 年にはベトナム中部を中心に 500ha 以上で栽培されるまでになり、2019 年秋に「国家品種」として認定される予定です。もう一つの有望系統である DCG66 については、2017 年に 7ha と小規模ながら試験栽培が始まり、ベトナム北部と南部の一部地域で試験栽培面積を 40ha までに増やし、2018 年に「暫定的国家品種」として認定されました。

・アフリカでのコメ増産への道筋

これまでに収量増加遺伝子を集積したアフリカ向けイネ系統を開発してきました。これらの系統をアフリ

カのケニアで評価したところ、育成系統はオリジナル品種に比べ収量増を示しました。

3. 研究成果

＜洪水耐性イネの責任遺伝子の同定と機能解析＞

植物は、これまで様々な過酷な環境に適応する進化を遂げてきました。植物の生存に水は必須ですが、冠水させるほどの大量の水は生存を脅かします。東南アジアでは、毎年雨期になると水かさ数メートルにもなる洪水が発生し、この過酷な環境が数ヶ月（約4～5ヶ月）続くこともあります。深水といったこの過酷な環境では、ほとんどの植物は生きていきません。バンラデシュをはじめとしたアジアの洪水地帯で栽培される「浮きイネ」は、ユニークな進化を遂げてきました。浮きイネは、完全に水没してしまうような洪水が長期間続いても、急激に草丈（イネの身長）を伸ばして水面から葉を出し生き延びることができます（図1）。この伸長能力は非常に高く、時には草丈が数メートルに至るほどです。しかし、その詳細な仕組みや起源については明らかになっていませんでした。

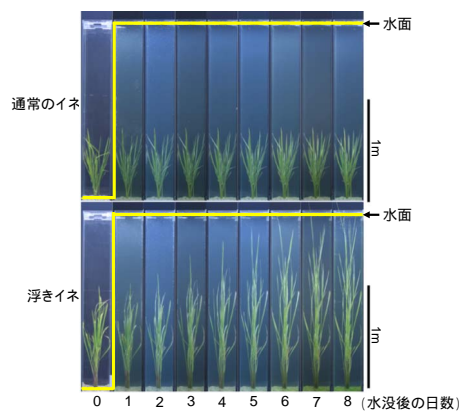


図1 浮きイネの深水依存的草丈伸長

そこで私たちは、ゲノムワイド関連解析および連鎖解析と呼ばれる遺伝学的手法を用いることにより、浮きイネの水没に応答した草丈の伸長に関わる鍵遺伝子として *SD1* (*SEMIDWARF1*) 遺伝子を発見しました（図2）。

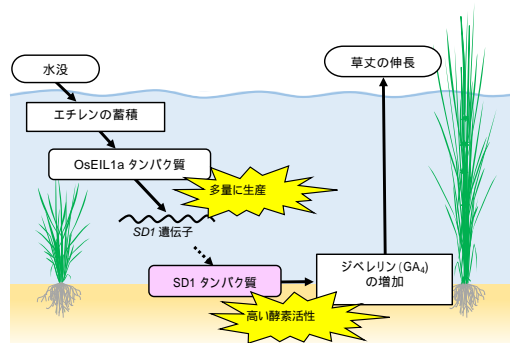


図2 浮きイネの草丈伸長モデル

イネは水没すると、エチレンと呼ばれるガス状の植物ホルモンが発生し体内に蓄積します。続いてエチレン誘導性の *OsEIL1a* タンパク質が *SD1* 遺伝子にはたらきかけて *SD1* タンパク質を多量に生産させることがわかりました。*SD1* タンパク質は、植物の草丈を伸長させる機能を持つ植物ホルモンであるジベレリンを合成する酵素タンパク質です。また、一般的なイネも *SD1* タンパク質を保持していますが、浮きイネの *SD1* タンパク質の酵素活性は一般的なイネのものよりも圧倒的に高いことも判明しました。さらに、一般的なイネが成長するときには主に GA_1 と呼ばれるタイプのジベレリンを生産しますが、浮きイネの *SD1* タンパク質は、 GA_1 よりも GA_4 と呼ばれるタイプのジベレリンを約20倍も多く生産する能力を持つことが明らかになりました。 GA_4 は GA_1 に比べてより強く草丈の伸長を誘導します。以上のような巧妙なメカニズムにより、浮きイネは水没すると GA_4 を効率良く生産し、草丈の急激な伸長を引き起こしていることが明らかになりました。

一方、私たちは、浮きイネの *SD1* 遺伝子を手掛かりにして、様々なイネの遺伝子情報を比較することにより、浮きイネの起源にも迫りました。現在、私たちが栽培しているイネは、野生イネと呼ばれるイネの祖先から約8,000年の年月をかけて栽培化されたと考えられています。私たちは、浮きイネの *SD1* 遺伝子が、南アジアや東南アジアに生息していた一部の野生イネにおいて生じた変異に由来することを明らかにしました。さらに、この変異を持つ浮きイネ *SD1* 遺伝子は、バンラデシュにおける浮きイネの栽培化に利用されたことも判明しました。

SD1 遺伝子は別名「緑の革命遺伝子」とも呼ばれ、この遺伝子の機能を喪失したイネ（半矮性イネ）は、ジベレリンの含量が低下することで草丈が低くなり、台風などの強風や豪雨でも倒れにくくなります（背の高いイネは収穫時に風雨に遭うと倒伏します）（図3）

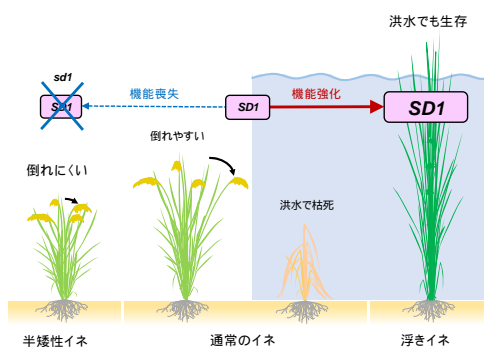


図3 *SD1* 遺伝子の変異と利用

左)。1960年代以降、この機能喪失型の *SD1* 遺伝子 (*sd1*) を保持した系統が数多く作出されました。これらの系統は化学肥料と共に利用され、倒伏せず多収量を導きアジアで広く利用されました(緑の革命)。現在でもアジアで育成される多くのイネ品種が *sd1* を保持していることから、この遺伝子が人類にとってどれだけ重要かがわかります。一方、浮きイネは洪水の時に *SD1* 遺伝子の機能を逆に強化させることで、草丈伸長を強く誘導するジベレリン (GA_4) を生産することにより、急激に草丈を伸ばすシステムを独自に獲得してきたと言えます(図3右)。人類は、同じ遺伝子の異なる変異を用いて、草丈を低くする方向だけでなく、逆に高くする方向への育種にも利用していたことが明らかになりました。

<有望系統の育成と圃場評価>

インディカ品種 IR24 は環境適応性が高く、一時アジアの広範囲で作付けされていましたが、白葉枯病に感受性があるという弱点があったため、IR24 に4つの白葉枯抵抗性遺伝子 (*Xa4*, *xa5*, *xa13*, *Xa21*) を導入した白葉枯抵抗性が付与された IRBB60 が作出されました。そこで、IRBB60 をさらに改良するために、収量性遺伝子と白葉枯抵抗性遺伝子を集積した有望系統の作出を試みました。具体的には、IRBB60 と *WFP* の供与親の ST12 を交配して得られた交雑後代を用いて、その収量性および反復親の表現型でも白葉枯病への抵抗性を評価することを目的としました。また特に東南アジアでは高密度に栽培することで低収量に陥ることがあるため、高密度における収量性についても調査しました(図4~7)。

まず初めに6つの集積系統の初期収量調査を行ったところ、全系統において花粉親 ST12 由来の *WFP* の効果によって一次枝梗数を IRBB60 よりも増産することができ、その結果一穂粒数を IRBB60 よりも多く産生できました。経験上 ST12 由来の *WFP* を保持した系統において穂数の減少が認められているため、収量が増加しない可能性は推測されていましたが、穂数の減少を比較的最小限に抑制していた系統も観察できました。それらの系統の遺伝的背景に穂数の減少を抑制する因子が存在する可能性が考えられたため、穂数の差がみられず包括的に良好な表現型を示した Line1、Line4、Line5 (PYL1、PYL2、PYL3) を選抜し、本収量調査を行いました。収量調査では、3集積系統は全て一次枝梗の増加によって一穂粒数が増加しました。しかしながら PYL3 のみ親系統 IRBB60 よりも高収量性を示したため収量関連形質を比較すると、PYL3 の高収量性に正

の影響を及ぼした形質は穂数と稔実率であると考えられました。穂数においては、全3集積系統で減少傾向がみられましたが、その減少率が PYL3 では他の2系統よりも低く、また稔実率においても PYL3 は IRBB60 よりも低下しましたが、他の2系統と比較して高かったため、PYL3 は高収量性を達成することができたと考えられました。

白葉枯病への抵抗性においては、IRBB60 と同様に全ての菌株において強い抵抗性を示すことができませんでした。GBSの結果から、育種過程において少なくとも2つの関連遺伝子が欠落していたことが示され、特に *xa-13* は同じく第8番染色体に座乗する *WFP* と連鎖して失われたことが示唆されたため、少なくとももう一回戻し交雑をすることで、4つ全ての白葉枯病抵抗性遺伝子および QTL を導入することが可能であると予測されます。

栽植密度を考慮した実験では、不安定なデータとなりました。PYL3 は高密度区においても単位面積当たりの穂数および一穂粒数を増産することで、IRBB60 と比較して高収量性を示していました。しかしながら坪植実験では、総じて増収傾向であったにもかかわらず、PYL3 は IRBB60 よりも低収量を示していました。こ



図4. 開発系統の育成と評価 (6月 名古屋大学圃場)



図5. 開発系統の育成と評価 (7月 名古屋大学圃場)



図6. 開発系統の育成と評価 (8月 名古屋大学圃場)



図7. 開発系統の育成と評価 (10月 名古屋大学圃場)

れら二つの実験では、栽培した箇所が異なり栄養素の偏りがこのような結果を生み出したことが考えられます。

本研究で、WFPと白葉枯病抵抗性遺伝子を保持した集積系統を育成することができました。IRBB60の遺伝背景においてもWFPの効果や粒数、穂数の増加が確認されました。いくつかWFPの負の影響が集積系統においてみられましたが、IRBB60よりも高収量を示した系統を実際に育成することができました。WFP単体の導入のみでは収量の向上に限界がみられますが、WFPの負の影響を抑制する因子と組み合わせることでその問題に対処できるのではないかと考えられます。具体的には、ソース能を上げることでWFPの効果をも十分に発揮して高収量性につながるのではないかと期待できます。またPYL3は少なくとも白葉枯病のベトナム菌株には強い抵抗性を示しますが、ミャンマーやインドにおける白葉枯病に対して抵抗性を付与したいなら、少なくともあと一回戻し交雑をする必要があります。そして高栽植密度における収量性の評価は環境、特に施肥条件に大きく左右されることが示唆されたため、収量調査を行う際は肥料条件をしっかりと管理した圃場で行う必要があると考えられます。

一方、ウンカ類に対する抵抗性遺伝子(*bph25*, *Bph26*, *OVC*)を導入した系統群については、少なくとも*bph25*を保有する系統において、ウンカ類の増殖抑制効果が見られました。

<育成品種の普及>

ハノイにあるベトナム国家農業大学の圃場において、日本と同様の手法でIRBB改良型のLine1、Line4、Line5(PYL1、PYL2、PYL3)の収量を調査しました。その結果、ハノイでは育成系統が親系統と比較して単位面積当たりの収量が多いことが示され、特にLine1とLine4は高密度区においても高収量性を示しました。これは育成系統の一穂当たりの粒数が多いためであると考えられます。栽植密度の収量への影響については、1倍区から3倍区までは密度に比例して反収が増加する傾向がみられましたが、4倍区では頭打ちになっていました。育成系統の白葉枯病に対する抵抗性試験では、Line4とLine5において親系統のIRBBと同等の強い抵抗性が示されました。

これまでに作出した有望系統のベトナムにおける品種化(普及)を進めました。Khang Dan 18(KD18)は比較的良食味でベトナム北部において最大の作付面積を誇る人気系統ですが、収穫までに時間がかかるため早生化が期待されていました。そこで、KD18とTSC3の交雑後代BC2F2から早生系統が選抜されDCG72と命名されました。DCG72はKD18に比べ10-15日も早生であるため、台風シーズンの影響を避けることができます。また5.5-6.5t/haと比較的高い収量性をもっており、アミロース含量が21-23%とインディカとしては低アミロースの品種です。品種認定にむけては、政府関係者や農家を試験栽培圃場に招待するなどし、現場でその特性を紹介してきました。また学会や研究集会にて農業関係者にその特性やメリットを紹介してきました。その結果、2017年にベトナム北部の13地域の415haで試験されて上々の評価を得て「暫定的国家品種」に認定されました。2018年にはベトナム中部を中心に500ha以上で栽培されるまでになり、2019年秋に「国家品種」として認定される予定です。もう一つの有望系統であるDCG66については、IAS66の変異種として選抜された系統であり、6.5-7.5t/haの高収量性を示し、アミロース含量が30-31%の高アミロース品種です。2017年に7haと小規模ながら試験栽培が始まり、ベトナム北部と南部の一部地域で試験栽培面積を40haまでに増やし、2018年



図8. DCG72の育成と評価 (ベトナム)

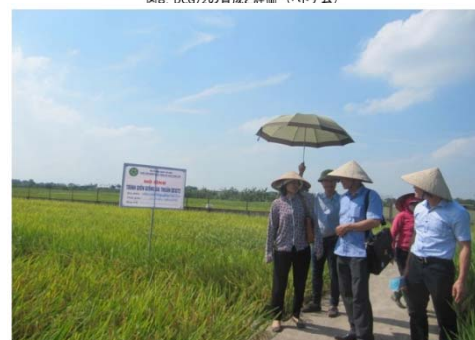


図9. DCG72の普及活動1 (ベトナム)



図10. DCG72の普及活動2 (ベトナム)

に「暫定的国家品種」として認定されました。

＜アフリカでのコメ増産への道筋＞

当初計画には入っていませんでしたが、選考委員からの要望コメントとして「アジアだけにと止まらず、アフリカの稲作振興にも貢献を期待する」とあったため、アフリカでの米増産の可能性を試みました。現在アフリカではコメの需要が高まり、アフリカに適した高収量系統の開発が望まれています。そこで、アフリカイネ (NERICA) に高収量遺伝子を導入した系統をケニアで試験栽培したところ、オリジナルに比べて増収が見られ、イネ改良によるアフリカでのコメ増産の可能性が示されました。

4. 今後の展開

本プロジェクトでは、有用農業形質遺伝子を分子マーカーを併用しながら交配によって導入することで、効率良くイネ系統を育成できることを示しました。また、2つの育成系統においてはベトナムでの国家品種への登録が見えてくるなど、実用化に向けて着実に進んでいます。アフリカにおいても、有望系統が収量増を示したことから、今後品種登録と普及が期待されます。以上の様に、本プロジェクトは今後、植物基礎研究成果が食糧問題軽減の一助になる実例となると期待されます。

5. 発表実績

Bessho-Uehara K. et.al. Loss of function at RAE2, a novel EPFL, is required for awnlessness in cultivated Asian rice. *PNAS*. 113 (32), 8969–8974. (2016)

Furuta T. et.al. Development of chromosome segment substitution lines harboring *Oryza nivara* genomic segments in Koshihikari and evaluation of yield-related traits. *Breeding Science Preview*. 66(5): 845–850. (2016)

Bessho-Uehara K. et.al. Construction of rice chromosome segment substitution lines harboring *Oryza barthii* genome and evaluation of yield-related traits. *Breeding Science*. 67, (4): 408-415. (2017)

Nguyen, G. N. et.al. Duplication and loss of function of genes encoding RNA polymerase III subunit C4 causes hybrid incompatibility in rice. *G3: Genes, Genomes, Genetics*. 7: 2565–2575. (2017)

Hamaoka N. et.al. A hairy-leaf gene, BLANKET LEAF, of wild *Oryza nivara* increases photosynthetic water use efficiency in rice. *Rice*. 10:20. (2017)

Thu T. T. et.al. Allocation of Macronutrients in Roots, Sheaths, and Leaves Determines Salt Tolerance in Rice. *American Journal of Plant Sciences*. 9: 1051-1069. (2018)

Kim S.R. et.al. Introgression of a functional epigenetic OsSPL14WFP allele into elite indica rice genomes greatly improved panicle traits and grain yield. *Sci Rep*. 8(1): 3833. (2018)

Kurokawa Y. et.al. Rice leaf hydrophobicity and gas films are conferred by a wax synthesis gene (LGF1) and contribute to flood tolerance. *New Phytologist*. 218(4):1558-1569. (2018)

Minami A. et.al. Time-course transcriptomics analysis reveals key responses of submerged deepwater rice to flooding. *Plant Physiology*. 76(4):3081-3102. (2018)

Kuroha T. et.al. Ethylene-Gibberellin Signaling Underlies Adaptation of Rice to Periodic Flooding. *Science*. Vol. 361, Issue 6398, 181-186. (2018)