

## 添付 4 放射線育種プロジェクト個別セッションサマリー

### FNCA 2010 放射線育種・バイオ肥料プロジェクト合同ワークショップ 放射線育種プロジェクト個別セッションサマリー

セッションのはじめに、フィリピン大学ロス・バニョス校植物育種研究所副所長である Artemio M. Salazar 氏より歓迎挨拶があった。

#### セッション 3 プロジェクトの成果および課題

参加各国よりそれぞれのサブプロジェクトについて報告が行われた。各国報告についての概要および議論は以下の通りである。

##### I. ラン耐虫性育種サブプロジェクトについてのフォローアップおよび計画

マレーシア (マレーシア原子力庁 Rusli Bin Ibrahim 氏)

サブプロジェクト『ランの耐虫性育種』は、2010年3月に成功裡に終了した。また、ガンマ線およびイオンビームにより種々の線量で照射したところ、イオンビーム照射において有望な結果が得られた。効果的な線量のイオンビームを照射した PLB から試験管内培養により突然変異系統を再生し、試験管内突然変異誘発によって *Dendrobium* の耐虫性品種の作出に成功した。

##### II. パナナ耐病性育種サブプロジェクトのまとめと計画

サブプロジェクト『パナナの耐病性育種』は本年度で終了するため、各国より結果および結論が報告された。マレーシア、フィリピン、ベトナムをはじめとするほとんどの国で、フザリウム萎凋病、パナナバンチートップ病(BBTV)等の病害に耐性を持つ有望系統が多数得られた。さらに、マレーシアおよびフィリピンでは、商業化利用に向けた技術移転にも成功している。また、遅れて参加したバングラデシュでは、スクリーニングに関するプロトコルが確立された。FNCAの全参加国により、本プロジェクトは目的を達成し、有望な成果が得られたと認識され、評価指標は満点の5であるべきとされた。各国報告の概要は以下の通りである。

バングラデシュ(バングラデシュ原子力委員会 Md. Humayun Kabir 氏)

フザリウム感受性パナナ栽培品種 *Sabri* (AAB) について、5.0 mg/l BA + 2% Ads を添加した MS 培地上での試験管内再分化プロトコルを確立した。試験管内放射線感受性(LD<sub>50</sub>) は 35Gy と判明した。フザリウムで汚染された土壌を含むポリ袋に 2,500 本以上の苗を移植したところ、重篤な感染が見られ、2、3ヶ月後に枯死した。また、約 1,000 個体の植物体を hot spot 条件下の圃場に移植したところ、同じくフザリウムの症状を示し、6~8ヶ月以内に枯死した。

マレーシア(マレーシア原子力庁 Rusli Bin Ibrahim 氏)

マレーシアで普及しているパナナの地方品種 Berangan(*Musa spp.* AAA)を材料とし、ガンマ線を用いて突然変異を誘発した。吸枝由来の分裂組織に種々の線量(0、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100Gy)のガンマ線を照射し、1) 草丈(シュート丈)、2) 照射外殖片の生存率、3) 増殖率または成長率の 3 つのパラメータにより放射線感受性を決定した。照射外殖片の生存率に基づき、栽培品種 Berangan の LD<sub>50</sub> および LD<sub>100</sub> 値はそれぞれ 50Gy および 80Gy

であった。効果的な線量である 20、30 および 40Gy を照射した分裂組織に由来する試験管内シュートは、すべて M<sub>1</sub>V<sub>1</sub> から M<sub>1</sub>V<sub>5</sub> へと継代され、発根した。発根した試験管内苗を用いてフザリウム萎凋病耐性・抵抗性に関するスクリーニングを行った。フザリウム萎凋病に対する人工的スクリーニング法として、以下の 4 種類を開発した。1) 試験管内シュートを *Fusarium oxysporium* の孢子懸濁液(10<sup>6</sup> 孢子/ml)に 1~2 時間浸漬後、温室内に設置した滅菌砂培地に移植する、2) ダブルトレイ法：砂培地に移植した試験管内苗に病原菌を接種する、3) 苗床スクリーニング法：発根した試験管内苗を 4~8 週間順化後、予め *Fusarium oxysporium* の孢子懸濁液(10<sup>6</sup> 孢子/ml)を 2 週間接種した培地に移植する、4) 直接圃場スクリーニング法：*Fusarium oxysporium* の孢子懸濁液 ( 10<sup>6</sup> 孢子/ml ) に 1~2 時間浸漬した発根苗を、直接圃場に移植する。圃場での *Fusarium oxysporium* の人工接種により処理個体をスクリーニングした結果、1) 耐性/抵抗性系統、2) 高収量系統および 3) 早咲き系統の 3 つが突然変異候補として同定された。これらの系統については、圃場にてさらなるスクリーニングを行い、地域適応性検定試験を実施する予定である。

フィリピン(フィリピン大学ロス・バニヨス校 Olivia P. Damasco 氏)

高い BBTV 感染率条件下で 3 世代にわたって連続評価を実施した後、有望な BBTV 抵抗性突然変異系統として 10 系統(13-30-2、7-29-1、22-28-2、23-28-7、6-30-2、9-28-2、9-28-3、9-29-1、23-30-2 および 28-30-2) を選抜した。これらの突然変異系統に対するアブラムシの寄主選好性を選択または非選択条件下で評価したところ、選好性の低い系統が 5 系統同定された。さらに、ウイルス媒介者であるアブラムシを用いたウイルス人工接種試験を実施したところ、上記突然変異系統のうち 7 系統の BBTV 罹病率が、Lakatan の対照個体に比べ一貫して低くなっていた。地域適応性検定試験を実施した 4 つの試験地では、現場付近に感染個体や媒介生物が存在していたにも関わらず、BBTV 罹病率が低かった。突然変異系統の背丈、周囲長、総着果数および房数は、LK の対照個体と同等であった。一部の突然変異系統では、開花までの日数が有意に短縮されていた。

ベトナム(ベトナム農業遺伝学研究所 Dang Trong Luong 氏)

バナナは、アジア地域およびベトナム国内の熱帯地域で広く栽培されている作物である。バナナ栽培において最も深刻な病害の一つであるフザリウム萎凋病の病原体である *Fusarium oxysporum f.sp. cubense* (FOC) には、数多くの病原性系統が存在し、系統間で病原性に違いが見られる。本研究では、放射線照射法を利用し、FOC に対する抵抗性を増強させた突然変異系統(ABB)を作出した。ガンマ線照射により、背丈、および芽や葉の色に変異が発生し、その発生頻度は培養培地上で 1.8~12.5%、ガンマ線突然変異誘発処理培地上で 7.5~15.7%であった。実験の結果、適正線量は 15kGy または 20kGy であると判明した。病原体感染の評価は、圃場条件下でバナナ植物体に人工接種することにより実施した。孢子密度は 10<sup>5</sup> 孢子/ml とし、水耕栽培したバナナに 4 つの接種法により病原体を接種したところ、高い罹病率が見られた。圃場条件下で FOC に対する抵抗性が増強した系統が 17 系統得られた(感染率 25%未満)。RAPD 解析により原系統と比較したところ、突然変異系統に遺伝変異が生じていることが判明した。

### III. イネの品質改良育種サブプロジェクト カントリーレポート

参加各国より、サブプロジェクト『イネの品質改良育種』におけるそれぞれの成果が報告された。本プロジェクトの主な目的はイネの品質向上であり、国における重要度や優先度により、アミロース含有量、蛋白質含有量、芳香性などを具体的な目標としている。例えばマレーシアでは、最小要水量への耐性およびいもち病抵抗性を有する有望突然変異品種が作出され、このうちアミロース含有量や芳香性が改良された系統の同定が予定されている。またベトナムでは、アミロース含有量、芳香性、収量および BPH 抵抗性の改良、タイでは、蛋白質、フィチン酸およびアミロースの成分改変、フィリピンでは、蛋白質およびアミロース含有量改変をそれぞれ主要な目標としている。日本では、コシヒカリおよびひとめぼれの突然変異系統のアミロース含有量に関するライブラリ構築を完了した。バングラデシュでは、耐塩性、高芳香性およびアミロースに関する成分改変、インドネシアでは、アミロース含有量改変および早生、中国では、ハイブリッド米のアミロース含有量改変をそれぞれ目指している。多くの参加国が、アミロース含有量、蛋白質含有量、芳香性等の対象特性が改良された有望突然変異系統を確認できていないため、本サブプロジェクトをあと2年は継続するべきであるとの提案があった。各国報告の概要は以下の通りである。

#### **バングラデシュ (バングラデシュ原子力委員会 Protul Kumar Roy 氏)**

耐塩性の地方品種 Ashfal の種子に炭素イオンビームを照射し、これに由来する M<sub>3</sub> 後代について評価した。親品種 Ashfal はまったく開花しなかったのに対し、200Gy あるいは 40Gy を照射した種子由来の M<sub>3</sub> 後代は、突然変異により不感光性となり、早生性を示した。M<sub>3</sub> 後代から回収した種子を用いて、次のアマン季に収量試験を実施する予定である。

BARRI-dhan 29 に炭素イオンビーム(線量: 30、40 および 50Gy)を照射した。30、40 および 50Gy 照射群において1週間以上の早生について選抜したところ、それぞれ3、4 および2個体が選抜された。長細粒芳香性系統 RC-48-1-2-3 については、米粒品質は長細で芳香性があり、生産量が高く、早生であると評価された。

一部の突然変異系統について、温室での水耕栽培下での幼苗期耐塩性を評価したところ、突然変異系統 Ashfal-350 は耐塩性を示し、Moinamoti-350 は中程度の耐塩性を示した。両系統とも水耕栽培下で生殖期にまで成長している。

#### **中国 (中国水稻研究所 Luo Ju 氏)**

2010年に日本原子力研究開発機構(JAEA)の TIARA において、地方優良品種 Z17 の玄米に重イオンビームを7段階の線量(10、20、40、60、80、100、120Gy)で照射した。これらを、未照射の対照苗とともに2010年夏に栽培し、発芽率、生存率、成長率および登熟率を評価した。得られた結果をもとに、Z17に対する重イオンビームの適正線量は30Gyから50Gyであることが示された。

#### **インドネシア (インドネシア原子力庁 Sobrizal 氏)**

ガンマ線照射された KI 237 系統に由来する M<sub>6</sub> 世代において、10個の半矮性系統が有望変異系統として選抜された。遺伝子解析の結果、これらの系統の半矮性形質は単一の劣性遺伝子に支配されていることが判明し、同遺伝子は *sd<sup>237-1</sup>* と命名された。これら変異系統のアミロース含有量は 17.39~25.65%と大きくばらついており、米粒の色については7系統が白色で、3系

統が赤色であった。これらの系統の収量について予備実験を実施したところ、最も収量が高かったのは RKI 198 の 7.15 t/ha であり、次に高かったのが RKI 199 の 7.12 t/ha であった。ちなみに、インドネシアの主要品種 Ciherang の収量は 6.52 ton/ha であり、上位 2 つ以外の変異系統については、Ciherang との間に有意差は見られなかった。今後これらの系統は、さらなる試験と地域適応性検定試験を経て、新品種として公開される予定である。

#### 日本 (農業生物資源研究所 西村実氏)

コシヒカリの低アミロース性 F<sub>4</sub> 準同質遺伝子系統 12 系統に加え、新たに 11 個のコシヒカリ突然変異系統を得た。これら変異体のアミロース含有量は 0.0% ~ 14.0% であった。また、日本で二番目の作付け高を有する品種ひとめぼれにガンマ線およびイオンビーム照射を行い、低アミロース変異系統を 24 個作出した。

#### マレーシア (マレーシア原子力庁 Rusli Bin Ibrahim 氏)

最小要水量下でも優良形質を示す遺伝子型を作出するため、イネ品種 MR219 に対し、300Gy のガンマ線を照射し変異体を誘発した。得られた変異体を、温室および圃場にて人工的に作出した非冠水状態で栽培し、水ストレス耐性に関するスクリーニングを実施した。かんがい地での飽和条件および好気条件での耐性を示し、収量が増大した有望系統として、MR219-4 および MR219-9 と名付けられた 2 つの有望系統が選抜された。

#### フィリピン (フィリピン原子力研究所 Adelaida C. Barrida 氏)

フィリピン原子力研究所(PNRI)では、本プロジェクトを通じ、放射線による突然変異育種を利用したイネ(*Oryza sativa L.*)の米粒品質改良として、望ましい農業形質を有し、食味が良く(低~中アミロース)、高蛋白の突然変異体の開発に取り組んでいる。

ヨード染色法によりアミロース含有量を分析した結果、M<sub>4</sub> 世代において、対照群は中~高程度のアミロース含有量であったのに対し、200Gy および 300Gy で照射した個体群では、低~中程度のアミロース含有量の個体がわずかに得られた。さらに照射した個体群では、対照群に比べて蛋白質含有量がわずかに増大していた。

イオンビーム照射を利用した初期試験の結果から、適正線量は 20Gy、致死線量は 160Gy および 200Gy であると判明した。10Gy および 20Gy で照射された M<sub>1</sub> 個体および対照群において、出穂までの日数の短縮が見られたが、この結果については今後の世代でも確認する必要がある。

#### タイ (タイ米作局 Suniyom Taprab 氏)

2007 年雨季に照射した種子から M<sub>1</sub> が得られ、その M<sub>2</sub> 個体群から、不感光性に関する突然変異体を選抜した。その後、200 の変異系統から回収した M<sub>3</sub> 種子を、系統ごとに個別に収穫した。これら 200 の不感光性突然変異系統を、重要な農業形質について継続的にスクリーニングし、アミロース含有量を分析した。2009 年乾季には、光周性、分げつ力および成熟度について再試験し、アミロース含有量を調査した。選抜された M<sub>5</sub> 変異体は 2010 年乾季に栽培され、2010 年雨季である現在も育成中である。2008 年には、育成系統のアミロース含有量を測定する簡易技術を開発し、各国に提供した。アミロース含有量の分析と同時に、蛋白質分析技術の開発にも取り組み、飯田氏(1993)および田中氏(2004)が報告した蛋白質抽出法を改変してインディカ米の蛋白質分析へのテストを行った。KDML105 およびコシヒカリから抽出されたグロ

ブリン、アルブミン、プロラミン、グルテリンなどの蛋白質を、SDS-PAGE(Laemmli 氏、1970)によって同定した。元来高アミロースの地方品種である KTH17 から、いくつかの低アミロース変異系統が得られ、また、低アミロース品種である KDML105 および RD15 から、種々なアミロース含有量を有する変異系統が得られた。これらの一部は、野生型よりも低いあるいは高いアミロース含有量を有していた。現在は、これらについて蛋白質およびその構成成分を分析しているところである。低フィチン酸変異体に関しては、SPR1 由来の 2 つの変異系統について人工腸における消化実験を実施してバイオアベイラビリティを試験する予定である。また、CNT1 由来の新たな照射集団において、低フィチン酸変異体のスクリーニングを行った。

**ベトナム (ベトナム農業遺伝学研究所 Dao Thi Thanh Bang 氏)**

特定数の種子にイオンビーム照射処理を施し、適正線量を決定した。得られた適正線量をもとに、2009 年 5 月に日本の施設において、Khang dan 品種の種子 6,000 粒に 40Gy および 60Gy のイオンビームを照射した。上記に加え、100、150 および 200Gy のガンマ線を、各線量 3,000 粒ずつの Khang dan および Bacthom 種子に照射した。実験に利用した Khang dan および Bac Thom の 2 品種については、前者が一般に利用される通常のイネ品種であり、後者は精白米として常に高値を付けられる高品質米である。通常、高品質米は収量が低く、一定水準の品質を保ちながら収量を増大させることが課題である。M<sub>1</sub> 世代で、1 個体あたり 5 粒の種子をランダムに収穫して M<sub>2</sub> 世代を作出した。M<sub>2</sub> 世代においては、ガンマ線と同様にイオンビーム照射においても、Khang dan および Bac Thom の草丈、粒重、熟度および不稔性に関して分離が見られた。M<sub>3</sub> 世代では、粒重、早生、短い背丈、耐病性など、収量に関する興味深い特性に関して選抜された。Khang dan に関しては収量が最も重要とされ、次に倒伏性と耐病性である。Bac Thom に関しても最も重要なのは収量で、次に許容水準の品質(芳香性)と耐病性である。これらの特性のほとんどについては、M<sub>4</sub> 世代で評価される。Khang dan のイオンビーム照射実験を通じて、イオンビームが種子の粒重に影響を及ぼすことが判明した。

#### **IV. イネのイオンビーム育種について**

本研究活動は 2009 年 1 月に始まり、使用する材料や実験条件によるが、参加国のほとんどがイオンビーム照射により有望な結果を得ている。バングラデシュやマレーシアなどは、照射後の発芽に苦戦している。ベトナムは発芽に関しては良い結果を得ているが、圃場条件下で有望な結果が得られていない。多くの参加者が、2011 年も引き続き種子のイオンビーム照射を実施し、試験を続けることを提案している。日本原子力研究開発機構(JAEA)の田中淳氏は、照射処理における適切な個体数について、高頻度で突然変異を誘発するためには、最低でも 5,000 個の始原細胞に由来する試料を照射する必要があると提案した。また、照射後の種子選抜のためのプロトコールについても議論され、例として、各 M<sub>1</sub> 個体につき 5 つの穂から 5 粒ずつの種子を収穫するよう提言された。

多くの参加国が、M<sub>2</sub>- M<sub>3</sub> 世代での試験を終了しており、2011 年にはアミロース等の品質形質が改良されている有望変異系統の評価を実施する予定である。最後に、有望な結果を得るためには、本研究活動は少なくともあと 2 年は継続されるべきであると提案された。

#### セッション4 IAEA/RCA との協力の協力について

RCA/IAEA プロジェクト RAS 5045 のプロジェクトリードカンントリーコーディネーターである、中国農業科学院(CAAS)の Luxiang Liu 氏より、地域活動および RCA プロジェクトの主な成果に関する報告があった。報告の概要は以下の通りである。

本プロジェクトには 14 カ国が参加しており、全体としての目標は、品質改良およびストレス耐性に関する変異遺伝子の誘発・同定手法を開発、技術移転すること、また分子マーカー選抜を用いて育種材料を改良、開発することである。2007 年から 2010 年にかけて、RCA では 2 度の地域会合および 3 度の地域トレーニングコースを開催し、トレーニングマニュアルおよび活動文書を発行した。2010 年の主な成果としては、EMAIL 法および TILLING 法を用いた突然変異検出法などの新技術・手法の確立・改良、さらに新規変異個体群および変異系統の開発などが挙げられる。2010 年 9 月末までに、本プロジェクトのもとで 33 の新たな変異品種が公開された。

#### FNCA/RCA の協力について

町氏より、放射線育種における FNCA と RCA の協力について提案があり、以下の点が合意された。

- a. 本プロジェクトでは、イネの品質改良のための突然変異種開発を継続する。これについて、RCA プロジェクト RAS 5045 で進められている分子生物学的技術がこの FNCA のプロジェクトの支援となるであろう。
- b. FNCA プロジェクトで行われているイオンビーム誘発突然変異育種は、その経験と知識を共有することにより、RCA の新規品種改良プロジェクトに役立つことができる。
- c. 近い将来(2,3 年以内)、FNCA と RCA の放射線育種プロジェクトは、両プロジェクトの効果的な協力のため、ワークショップを同時並行で開催し、その展望と情報、また経験を共有すべく、1 日もしくは 2 日の合同セッションを行うべきである。

また、FNCA と RCA は今後も予定通り進めるものの、各国の FNCA と RCA の研究者同士がよく連絡を取り合うことで合意された。

#### セッション5 将来計画および個別セッションサマリー

##### I. イネの放射線育種に関する活動計画：品質、矮性、標的変異体の選抜方法

リードスピーチでは、西村氏より、日本で今後予定されている放射線育種関連の活動が紹介された。イネ品質改良育種サブプロジェクトは、2011 年度に終了する予定であるが、日本は、本プロジェクトの完了にあと 2 年(2011 年度含む)を必要としており、本プロジェクトに遅れて参加したバングラデシュを含む他の参加国も状況は同じであり、2011 年に米粒品質に関する解析を行い、2012 年に最終報告をまとめることとなるだろうとの意見が出された。また、今後もイオンビームや他の変異原(ガンマ線照射など)の施設共用を進めることで合意された。結論として、最終報告をまとめるために本プロジェクトの 2 年の延長が提案された。

##### II. アジアの持続可能な農業のための突然変異育種応用の可能性

日本プロジェクトリーダーである中井弘和氏より、イネの品質改良育種目標および突然変異生成の利用に関する議論点として、以下の 3 点が提案された。

- a. 今後、耐塩性、耐最小要水量、耐乾性、耐病性(白葉枯病、紋枯病など)、耐高/低温性、大きな気候変動への耐性など、いわゆる「環境耐性の品種改良(放射線育種)」を本プロジェクトの主目標とする。
- b. 有機農業(あるいは低投入持続型農業)の栽培条件への適応のための品種改良を目指す。
- c. イオンビームなど、突然変異原の効果を調査し、効果的に利用する。

以上の提案について議論が行われ、概ね了承されるとともに、放射線プロジェクトの今後の計画について、以下のようにまとめられた。

- 1) 現行のイネの品質改良(蛋白質含有量改変等)育種サブプロジェクトは、終了予定年度よりさらに1年継続する。
- 2) 環境耐性に関する放射線育種は、各国の状況に応じて積極的に進められるべきである。
- 3) 変異原の利用に関しては、各国の照射施設を共有するべきである。