

<<短 報>>

ピラミディング育種による早期・早植地帯に適した優良系統の育成

大岡直人*・小山浩由**・宗方淳***

Breeding of excellent lines suitable for early and early planting areas by pyramiding breeding

Naoto OOKA, Hiroyoshi KOYAMA, Jun MUNAKATA

「コシヒカリ」は県の水稲生産振興対策の中で基幹品種として位置づけられ、東部、南部地域の早期・早植地帯を中心に生産されており、品種別作付割合は 31.3%と県内で最も栽培されている品種である（生産振興課,2021）。しかし、主要病害であるイネ縞葉枯病やいもち病の抵抗性をもち、さらに、近年、高温障害による一等米比率の低下（2020年産「コシヒカリ」は 36.2%）が問題となるなど、作付けが減少している。

現在、本県ではイネ縞葉枯病（*Stvb-i*）、穂いもち（*Pb1*）、ツマグロヨコバイ（*Grh1*）抵抗性を持ったコシヒカリ NIL（Near Isogenic Line の略）である「むさしの 32 号」の育成を完了している。しかし、高温障害等が常態化するなかで病害虫抵抗性の改良だけでは高品質安定生産を行う上で十分とはいえない環境となっている。

そこで本研究では「むさしの 32 号」を交配母本として利用し、農研機構等が開発した多収性・高温耐性遺伝子 *TGW6*（Ishimaru et al., 2013）を持つ「コシヒカリ *TGW6* 導入系統」を供与親として交雑し、優良形質を集積するピラミディング育種によって、複合病害虫抵抗性・高温耐性（多収）をもつ「コシヒカリ NIL」を開発することを目標とした。

材料および方法

1 DNA マーカーアシスト選抜(MAS)

「むさしの 32 号」と「コシヒカリ *TGW6* 導入系統」の交配後代である F₂ 集団（930 個体）の葉身から、Monna et al. (2002) の方法を参考に DNA を抽出した。また、ポジティブコントロールとして、「*TGW6* コシヒカリ NIL」および「むさしの 32 号」の玄米から GM Quiker2（ニッポンジーン社）を用いて DNA を抽出した。

各遺伝子型の判別のため 7 種類のプライマーセットを供試した。*Stvb-i*（イネ縞葉枯病抵抗性）の判別には ST64（早野・斎藤,2009）、*Pb1*（穂いもち圃場抵抗性）の判別には N3-2（特開 2007-054020; 特許 4775945）、*Grh1*（ツマグロヨコバイ抵抗性）の判別には RM2744 と RM18213（Gramene）、*TGW6* の判別には RM20416（Gramene）とコシヒカリ型 *TGW6* 特異的プライマーセットおよび Kasalath 型 *TGW6* 特異的プライマーセット（農研機構より情報提供）を用いた。また、*TGW6* の近傍に座上する *GW6a*（バイオマス・千粒重増加）の判別には xj16a（Song et al., 2015）を用いた。各マーカーにおける遺伝子型は、アガロースゲル電気泳動による PCR 産物のバンドパターンから判定した。

*水稲育種担当、**遺伝子情報活用担当、***遺伝子情報活用担当（現加須農林振興センター）

2 生育および特性調査

(1) MAS で選定した F₃ 世代の系統

4 遺伝子を集積した 10 系統を供試した。耕種概要は、5 月 14 日植 (1 株 3 本植, 手植え), 栽植密度は 18.5 株/m², 施肥 (窒素成分/a) は, 基肥 0.3kg, 穂肥 0.2kg, 調査は奨励品種決定調査に準じて実施した。穀粒判別器は RGQI-20A, 精米アミロース含量はオートアナライザーⅢ, 玄米粗蛋白質含量は Infratec1241, 味度値は味度メーター (MA-30A) を使用した。

(2) 4 遺伝子集積系統の F₄ 世代の系統

4 遺伝子を集積した 10 系統から玄米品質等により「埼 596」, 「埼 597」, 「埼 598」の 3 系統を選抜し, 特性調査に供試した (供試系統は「埼 596」, 「埼 597」, 「埼 598」, 「コシヒカリ」, 「むさしの 32 号」, 「*TGW6* コシヒカリ NIL」)。耕種概要は, 5 月 13 日植 (1 株 3 本植, 手植え)。栽植密度は 18.5 株/m²。施肥 (窒素成分/a) は基肥 0.5kg, 穂肥 0.3kg, 調査は奨励品種決定調査に準じて実施した。

結果

1 DNA マーカーアシスト選抜 (MAS)

MAS の結果, F₂ 集団 930 個体のうち, 10 個体が *Stvb-i*, *Pb1* および *Grh1* を抵抗性 (むさしの 32 号型ホモ) で保有し, *TGW6* を *Kasalath* 型ホモで保有していた。これら 10 個体を選抜し翌年度に 4 遺伝子集積系統とした。

2 生育および特性調査

(1) MAS により選定した F₃ 世代の系統

「コシヒカリ」に比べ, 4 遺伝子を集積した 10 系統は, 出穂および成熟期は同等~2 日程度遅く,

稈長は有意に長く倒伏が発生し, 登熟が阻害されたことから青未熟粒が多く, 精玄米重は同等~やや低収であった。整粒比は概ね高く, 玄米の粒長は長い粒幅がやや短く, 千粒重は同等であった。味度値はやや高く, 精米アミロース含量はやや低い傾向が見られた (データ省略)。

選抜した 10 系統のうち, 「コシヒカリ」に比べ, 稈長は有意に長く倒伏程度は大きい整粒比が高い「ア 34」, 「ク 53」, 「コシヒカリ」との差異が少なく整粒比が高い「キ 23」の 3 系統を有望系統として選抜した。選抜した「ア 34」, 「キ 23」, 「ク 53」には, それぞれ「埼 596」, 「埼 597」, 「埼 598」を新たに系統番号として付与した (表 1)。

(2) 4 遺伝子から選抜した F₄ 世代の系統

「コシヒカリ」に比べ, 3 系統とも稈長は有意に長く, 粒長はやや長い粒幅, 粒厚がやや短いことから千粒重は増加しなかった (表 2, 3)。食味官能試験は, 「埼 597」の総合は同等であるが, 香り, 味, 粘りが有意に劣った。また, 「埼 596」, 「埼 598」は総合が有意に劣った。高温登熟性検定の結果, 3 系統の耐性は「やや弱」で, 「コシヒカリ」より 1 ランク低いことが明らかとなった (表 5)。また, 交配親である「むさしの 32 号」は 1 ランク弱く「やや弱」, 遺伝子の供与親として利用した「*TGW6* コシヒカリ NIL」は「コシヒカリ」と同ランクの「中」と判定された (表 4)。

以上の結果, 育成した系統に *TGW6* の粒長を伸長させるおよび蓄積 NSC (Non-structural carbohydrate, 非構造性炭水化物) 含量を増加することによる整粒比率の向上という導入効果は確認されなかった。

表 1 F₃ 世代の系統の生育・収量・玄米品質調査結果 (2020 年)

| 品種 系統名 | 出穂期 (月/日) | 成熟期 (月/日) | 倒 伏 程 度 | 稈 長 (cm) | 穂 長 (cm) | 穂 数 (本/m ²) | 精 玄 米 重 (kg/a) | 同 左 比 率 (%) | 玄 米 千 粒 重 (g) | 整 粒 比 (%) | 白 未 熟 粒 比 (%) | 粒 長 (mm) | 粒 幅 (mm) | 粒 厚 (mm) | 総 合 品 質 | 玄 米 粗 蛋 白 質 含 量 (%) | 味 度 値 | 精 米 ア ミ ロ ー ス 含 量 (%) |
|-----------|--------------|--------------|------------------|----------------|----------------|-------------------------------|----------------------------|-------------------------|------------------------------|--------------------|------------------------------|----------------|----------------|----------------|------------------|---|-------------|--|
| ア34 | 8/2 | 9/8 | 3.0 | 102 a | 21.3 b | 347 b | 59.6 | 103 | 19.6 | 36.8 | 30.3 | 5.06 | 2.70 | 1.92 | 6.0 | 7.0 | 74 | 14.7 |
| キ23 | 8/3 | 9/8 | 3.5 | 99 b | 21.9 a | 367 a | 55.6 | 97 | 19.3 | 29.1 | 40.8 | 5.05 | 2.67 | 1.92 | 7.0 | 7.0 | 73 | 14.3 |
| ク53 | 8/2 | 9/7 | 4.5 | 104 a | 21.2 b | 371 a | 51.8 | 90 | 19.2 | 30.5 | 29.3 | 5.06 | 2.69 | 1.89 | 7.0 | 7.3 | 76 | 14.2 |
| コシヒカリ | 8/2 | 9/6 | 1.5 | 96 b | 20.7 b | 400 a | 57.6 | 100 | 19.8 | 25.7 | 35.5 | 4.77 | 2.76 | 1.94 | 7.0 | 7.2 | 68 | 14.9 |

注) 倒伏程度は無: 1~甚: 5。精玄米重は 1.80mm 篩上の値。Tukey 法により異符号間に 5%水準で有意差を示す

大岡ら：ピラミディング育種による早期・早植地帯に適した優良系統の育成

表 2 F₄世代の系統の生育・収量調査結果 (2021 年)

| 品種系統名 | 出穂期 (月/日) | 成熟期 (月/日) | 倒伏 程度 | 縞葉枯 病発生 株率(%) | 稈長 (cm) | 穂長 (cm) | 穂数 (本/m ²) | 精玄 米重 (kg/a) | 同左 比率 (%) | 屑米 歩合 (%) | 千粒 重 (g) |
|-------|--------------|--------------|----------|---------------------|------------|------------|---------------------------|--------------------|-----------------|-----------------|----------------|
| 埼596 | 7/29 | (9/12) | 4.5 | 0.0 | 96 b | 21.9 ab | 441 a | 61.1 | 107 | 11.9 | 20.9 |
| 埼597 | 7/31 | (9/10) | 3.5 | 0.0 | 97 b | 22.6 a | 439 a | 54.1 | 94 | 17.7 | 20.3 |
| 埼598 | 7/30 | (9/11) | 4.0 | 0.0 | 100 a | 22.1 a | 443 a | 65.6 | 115 | 10.2 | 20.5 |
| コシヒカリ | 7/29 | 9/9 | 1.0 | 2.5 | 89 c | 21.0 b | 436 a | 57.3 | 100 | 9.2 | 21.3 |

注) 倒伏のため成熟期は想定値. 倒伏は 0 : 無~5 : 甚. Tukey 法により異符号間に 5%水準で有意差を示す

表 3 F₄世代の系統の品質・食味調査結果 (2021 年)

| 品種系統名 | 玄米 品質 | 穀粒判別器(%) | | | | 粒長 (mm) | 粒幅 (mm) | 粒厚 (mm) | 玄米粗 蛋白質 含量(%) | 味 度 値 | 穂発 芽性 | 白葉枯 病 |
|-------|----------|----------|---------|-----------|-----------|------------|------------|------------|---------------------|-------------|----------|----------|
| | | 整粒 | 乳白 粒 | 基部未 熟粒 | 腹白未 熟粒 | | | | | | | |
| 埼596 | 5.5 | 64.4 | 5.5 | 5.9 | 0.9 | 4.96 | 2.69 | 1.90 | 6.4 | 85 | 難 | やや弱 |
| 埼597 | 5.0 | 68.7 | 3.2 | 4.6 | 0.5 | 4.99 | 2.65 | 1.89 | 6.5 | 87 | 難 | やや弱 |
| 埼598 | 5.0 | 67.3 | 2.3 | 4.5 | 0.7 | 4.94 | 2.67 | 1.90 | 6.4 | 89 | 難 | やや弱 |
| コシヒカリ | 5.5 | 62.8 | 7.2 | 3.2 | 2.2 | 4.90 | 2.71 | 1.93 | 7.0 | 78 | やや難 | 中 |

注) 玄米品質は 1 : 上上~9 : 下下の 9 段階評価

表 4 F₄世代の系統の食味官能試験結果 (2021 年)

| 品種系統名 | 総合 | 外観 | 香り | 味 | 粘り | 硬さ |
|-------|---------|---------|---------|---------|---------|-------|
| 埼596 | -0.38 * | -0.33 * | -0.04 | -0.54 * | -0.25 | -0.08 |
| 埼597 | -0.25 | 0.04 | -0.42 * | -0.38 * | -0.38 * | 0.17 |
| 埼598 | -0.33 * | -0.21 | -0.08 | -0.08 | 0.25 | -0.21 |

注) 基準品種は「コシヒカリ」. 多重相対比較法により*は 5%水準で有意差を示す

表 5 F₄世代の系統の高温登熟性検定試験結果 (2021 年)

| 品種系統名 | 白未熟粒比 (%) | 判定 |
|--------------|--------------|-----|
| 埼596 | 23.5 | やや弱 |
| 埼597 | 21.7 | やや弱 |
| 埼598 | 23.0 | やや弱 |
| コシヒカリ | 9.7 | 中 |
| むさしの32号 | 17.9 | やや弱 |
| TGW6コシヒカリNIL | 9.5 | 中 |

注) 自然条件. 高温登熟性は 5 月上旬植で玄米 2000 粒を穀粒判別器 (RGQI-20A)

で測定. 白未熟粒比は基部未熟粒. 乳白粒. 腹白粒の合計

考察

F₂集団 930 個体の DNA マーカー検定の結果, 10 個体が目的の遺伝子型を示した. これらのマーカーは導入を目的とした遺伝子領域および近傍のマーカーであり, MAS により選抜した系統は, *Stvb-i*, *Pb1*, *Grh1*, *TGW6* の 4 遺伝子が集積したものと考える. そこから選抜した「埼 596」, 「埼 597」, 「埼 598」の 3 系統について, いもち病真性抵抗性遺伝子型を調査した結果, 「コシヒカリ」

と同様のバンドパターンを示した. また, 「むさしの 32 号」と「*TGW6* コシヒカリ NIL」は共に「コシヒカリ NIL」である. さらに, 野々上ら (2018) は「コシヒカリ」のいもち病真性抵抗性遺伝子型は「+ (抵抗性遺伝子なし)」であると報告している. これらのことから, その後代である「埼 596」, 「埼 597」, 「埼 598」のいもち病真性抵抗性遺伝子型は「コシヒカリ」と同様の「+」であると推察される.

TGW6 は, 粒長を伸長させる機能とより多くの

NSC を葉鞘や茎に貯蔵する。これを穂に転流することで白未熟粒の発生を軽減し、整粒比率が高くなる効果が報告されている (竹永ら, 2021)。本研究では *TGW6* を含めた有用な遺伝子を利用し、「コシヒカリ」を遺伝的背景とした準同質遺伝子系統として集積した結果、「コシヒカリ」に比べて、粒長の伸長効果は確認されたものの、粒幅、粒厚はやや短くなり、千粒重の増大、収量の増加には至らなかった。「埼玉 596」、「埼玉 597」、「埼玉 598」は Kasalath 型の *TGW6* を保有しているが、「コシヒカリ」よりも総じて稈長が長く、出穂期後 16 日目あたりから倒伏が発生した。この成熟期中盤からの倒伏により、NSC を穂へ転流する機能を阻害されたことが原因の一つと考えられる。

また、特性検定では高温登熟性の向上は確認されなかったが、ほ場の観察調査では、イネ縞葉枯病の未発生や穂いもちの発生もやや少ない傾向が見られている (データ省略)。しかし、*Pb1* を保有する育成品種は、遺伝的背景の違いにより発病程度が異なることも確認されている。

目的とする遺伝子の集積は達成できたが、対象となる病害虫の特性検定は未実施である。また、耐倒伏性の弱体化や食味の低下も確認されている。これらを解決するためには、特性検定のほか、有用な遺伝子の集積をさらに進めるとともに、「コシヒカリ」との同質性を向上させた NIL を育成する必要がある。

引用文献

- 早野由里子・斎藤浩二. (2009). 縞葉枯病抵抗性イネ個体を検出する高精度 DNA マーカー. <https://www.naro.go.jp/project/results/laboratory/harc/2009/cryo09-08.html> (2022 年 11 月)
- 石丸健・氏家和広. (2014). イネの粒形制御に関わる遺伝子の単利とその作用. 日作紀, 83 (4), 299-304.
- Ishimaru, K., Hirotsu, N., Madoka, Y., Murakami, N., Hara, N., Onodera, H., Kashiwagi, T., Ujiie, K., Shimizu, B., Onishi, A., Miyagawa, H., and Katoh, (2013) E. Loss of function of the IAA-glucose hydrolase gene *TGW6* enhances rice grain weight and increases yield. *Nature Genetics* 45 (6), 707-711.
- Monna, L., Kitazawa, N., Yoshino, R., Suzuki, J., Masuda, H., Maehara, Y., Tanji, M., Sato, M., Nasu, S., and Minobe, Y. (2002). Positional cloning of rice semidwarfing gene, *sd-1*: rice “green revolution gene” encodes a mutant enzyme involved in gibberellin synthesis. *DNA research*, 9 (1), 11-17.
- 野々上慈徳・佐藤宏之・石井卓朗. (2018). イネいもち病真性抵抗性遺伝子座 *Pia, Pii* および *Pik* の遺伝子型を推定する DNA マーカーの検証. 育種学研究, 20, 16-22.
- 農研機構. (2007). *Pb1* 遺伝子と連鎖する分子マーカーを指標にイネの穂いもち抵抗性を識別する方法. 公開特許公報. 特開 2007-054020; 特許 4775945.
- Okuyama, Y., Kanzaki, H., Abe, A., Yoshida, K., Tamiru, M., Saitoh, H., Fjibe, T., Matsumura, H., Shenton, M., Galam, C. D., Undan, J., Ito, A., Sone, T., and Terauchi, R. (2011). A multifaceted genomics approach allows the isolation of the rice *Pia* - blast resistance gene consisting of two adjacent NBS - LRR protein genes. *The Plant Journal*, 66 (3), 467-479.
- 太田裕貴・野々上慈徳. (2015). DNA マーカーを利用したイネいもち病真性抵抗性遺伝子型推定. 東北農業研究, 68, 53-54.
- 竹永和真・氏家和広・森帆菜美・足立文彦・小林和広・石丸健. (2021). NIL-*TGW6* を用いた白未熟粒発生機構の解析. 日本作物学会第 252 回講演会, 17.
- Takagi, H., Uemura, A., Yaegashi, H., Tamiru, M., Abe, A., Mitsuoka, C., Utsushi, H., Natsume, S., Kanzaki, H., Matsumura, H., Saitoh, H., Yoshida, K., Cano, N., L., Kamoun, S., and Terauchi, R. (2013). MutMap - Gap: whole - genome resequencing of mutant F2 progeny bulk combined with de novo assembly of gap regions identifies the rice blast resistance gene *Pii*. *New Phytologist*, 200 (1), 276-283.