

(別紙2) 栽培実験計画書

栽培実験名	複合病害抵抗性イネ ( <i>WRKY45</i> 遺伝子発現イネ、 <i>Oryza sativa</i> L.) の栽培
実施法人・研究所名	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 生物機能利用研究部門
公表年月日	平成28年4月8日
<p>1. 栽培実験の目的、概要</p> <p>(1) 目的</p> <p>国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 (以下、「農研機構」という。) 生物機能利用研究部門は、遺伝子組換え技術を用いてイネの転写因子 <i>WRKY45</i> 遺伝子を発現させることにより、複数の病害に対して抵抗性をもつ複合病害抵抗性イネ (<i>WRKY45</i> 遺伝子発現イネ) (以下、「遺伝子組換えイネ」という。) を開発しました。</p> <p>今回の栽培実験は、作製した遺伝子組換えイネの野外栽培における生育特性、収量特性及び複合病害抵抗性を評価し、多数の系統から最も良好な形質のものを選抜するとともに生物多様性影響評価等のデータを収集するために行います。</p> <p>(2) 概要</p> <p>本栽培実験では、平成28年5月から平成29年3月まで、遺伝子組換えイネの栽培試験を行います。</p>	
<p>2. 栽培実験に使用する第1種使用規程承認作物</p> <p>(1) 作物の名称</p> <ul style="list-style-type: none"><li>・複合病害抵抗性イネ (<i>WRKY45</i> 遺伝子発現イネ、<i>Oryza sativa</i> L. 日本晴 ; NIA-OS001-8)</li><li>・複合病害抵抗性イネ (<i>WRKY45</i> 遺伝子発現イネ、<i>Oryza sativa</i> L. 日本晴 ; NIA-OS002-9)</li><li>・複合病害抵抗性イネ (<i>WRKY45</i> 遺伝子発現イネ、<i>Oryza sativa</i> L. 日本晴 ; NIA-OS003-1)</li><li>・複合病害抵抗性イネ (<i>WRKY45</i> 遺伝子発現イネ、<i>Oryza sativa</i> L. たちすがた ; NIA-OS004-2)</li><li>・複合病害抵抗性イネ (<i>WRKY45</i> 遺伝子発現イネ、<i>Oryza sativa</i> L. たちすがた ; NIA-OS005-3)</li><li>・複合病害抵抗性イネ (<i>WRKY45</i> 遺伝子発現イネ、<i>Oryza sativa</i> L. たちすがた ; NIA-OS006-4)</li><li>・複合病害抵抗性イネ (<i>WRKY45</i> 遺伝子発現イネ、<i>Oryza sativa</i> L. 日本晴 ; NIA-OS007-5)</li><li>・複合病害抵抗性イネ (<i>WRKY45</i> 遺伝子発現イネ、<i>Oryza sativa</i> L. たちすがた ; NIA-OS008-6)</li></ul> <p>(2) 第1種使用規程の承認取得年月日等</p> <p>平成25年6月4日及び平成26年4月15日に第1種使用規程 (隔離ほ場における栽培、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為) の承認を取得しています。</p> <p>(3) 食品安全性承認作物又は飼料安全性承認作物の該当性</p> <p>食品安全性承認作物及び飼料安全性承認作物に該当しません。</p>	

3. 栽培実験の全体実施予定期間、年度毎の栽培開始予定期間及び栽培終了予定期間

(1) 全体実施予定期間

平成28年5月 ～ 平成29年3月

(2) 年度毎の栽培開始予定時期及び栽培終了予定時期等

・水田区画

平成28年5月中旬～6月下旬	隔離ほ場に移植
平成28年8月	モニタリング調査・白葉枯病抵抗性検定等
平成28年10月	草丈等の生育調査及び収量調査
平成28年10月～平成29年3月	残渣処理（栽培終了）

・畑ほ場

(第一作)

平成28年5月下旬～6月上旬	隔離ほ場に播種（直播栽培、畑晩播法 <sup>注1</sup> ）
平成28年7月	いもち病抵抗性検定
平成28年8月上旬	鋤き込み（栽培終了）

(第二作)

平成28年8月中旬～8月下旬	隔離ほ場に播種（直播栽培、畑晩播法 <sup>注1</sup> ）
平成28年9月上旬～10月上旬	いもち病抵抗性検定
平成28年11月まで	鋤き込み（栽培終了）

- ・注1 畑地に肥料を多めに投入し、そこに高密度でイネ籾を直播・栽培すると葉いもち病が出やすくなることを利用した耐病性検定法。本計画ではさらに、予めいもち病菌を接種・感染させた非遺伝子組換えイネの近傍で遺伝子組換えイネを栽培し、高濃度のいもち病菌の胞子に暴露させ、発病程度を観察することで葉いもち病に対する抵抗性を調べる予定です。

4. 栽培実験を実施する区画の面積及び位置（研究所内等の区画配置関係）

(1) 第1種使用規程承認作物の栽培規模

栽培実験区画の面積、規模：

・水田区画

水田区域の面積 計約 520m<sup>2</sup>（約 16m×約 16mが 2ヶ所；図 1、水田区画 A 及び B）。

枠水田の面積 計 75m<sup>2</sup>（10m×1.25mの枠水田が 6ヶ所。各水田区画に 3つずつ設置；

図 2、枠水田の配置図及び写真）

なお、枠水田近傍（防鳥網内部）で、若干数のポットを用いた栽培も行う。

・畑ほ場

畑区域の面積 計 320m<sup>2</sup>（20m×16m；図 3、畑ほ場 2 の写真）。

(2) 栽培実験区画の位置：茨城県つくば市観音台 3-1-3

農研機構観音台第 7 事業場（以下、「観音台第 7 事業場」という。）

（図 4～6 参照）

- ・花粉の飛散を減少させるため、隔離ほ場の周りに防風林を備えています。水田区画には風の勢いを弱めるため、植込みが備えられています。
- ・過去データ等から、本栽培実験区画は、イネの開花期の平均風速が毎秒 3mを超えないことを確認しています。

## 5. 同種栽培作物等との交雑防止措置に関する事項

### ・水田区画

#### (1) 交雑防止措置の内容

本遺伝子組換えイネの栽培実験区画は観音台第7事業場外の最も近い水田から500m以上離れております。また、「第1種使用規程承認組換え作物栽培実験指針」に従って、観音台第7事業場内で試験栽培により開花させる同種栽培作物から30m以上の隔離距離をとります。30m以上の隔離距離を確保できずに開花させて栽培用に採種する場合は、交雑を防止するために袋掛けを行います。また、開花前の低温により交雑の可能性が想定される場合及び開花期に台風等による強風が想定される場合には、防風ネット等で抑風する等交雑防止措置をとります。

#### (2) 食品安全性承認作物又は飼料安全性承認作物でない場合のモニタリング措置の内容

本遺伝子組換えイネは、食品安全性承認作物・飼料安全性承認作物に該当しないため、観音台第7事業場外部との境界近くに、本遺伝子組換えイネの開発に用いた飼料用品種「たちすがた」と茨城県における開花期が同時期であるモチ品種「モチミノリ」を図5に示す敷地内の6カ所で栽培して、観音台第7事業場外に遺伝子組換えイネの花粉が飛散していないことを確認する予定です。「モチミノリ」は移植時期を数段階に分けてポット栽培し、遺伝子組換えイネと出穂期の合った集団を使用します。交雑の確認は、キセニア現象（モチ品種にウルチ品種の花粉が受粉して玄米が半透明になること）を利用して行います。キセニアが見られた場合には、遺伝子組換えイネに導入した遺伝子の有無を検知できるPCR法による解析により、花粉源が遺伝子組換えイネかどうかを判別します。交雑の確認に用いる種子数は合計1万粒以上です。

### ・畑ほ場

#### (1) 交雑防止措置の内容

本遺伝子組換えイネの栽培実験は幼苗期にいもち病（葉いもち）への抵抗性を調べるものであり、開花前に調査を終了し、鋤き込みにより不活化することから、花粉の飛散はありません。

## 6. 研究所等内での収穫物、実験材料への混入防止措置

- ① 遺伝子組換えイネの種子を種子貯蔵庫から育苗施設や隔離ほ場まで搬入する際には、こぼれ落ちないように密閉容器に入れて搬送します。育苗した苗を隔離ほ場に搬入する際には、苗を密閉容器に入れて搬送します。
- ② 中間管理作業、収穫作業に使用した機械、器具、長靴等を栽培実験区画外へ移動する際は、隔離ほ場内の洗い場において入念に清掃、洗浄します。
- ③ 出穂期から収穫期まで、防鳥網を設置し、野鳥等による食害及び種子の拡散を防ぎます。
- ④ 収穫は全て隔離ほ場で行い、脱穀作業は隔離ほ場内または実験室内で行います。収穫作業には専用の機械等を使用するか、あるいは使用後に機械等を隔離ほ場内で入念に洗浄します。
- ⑤ 収穫物はこぼれ落ちないように密閉容器に入れ、分析を行う実験室に保管します。

7. 栽培実験終了後の第1種使用規程承認作物の処理方法等

- ① 収穫した種子は、密閉容器に保管し、特性調査・安全性調査等に使用します。調査終了後の種子はオートクレーブ等により不活化した後、廃棄します。
- ② 水田にて栽培を終了した植物体の地上部は刈り取り、オートクレーブ又は焼却炉を用い確実に不活化します。残りのイネの残渣及び残った株、畑ほ場で栽培したイネ植物体は、隔離ほ場内に埋設又は鋤き込むことにより、確実に不活化します。

8. 栽培実験に係る情報提供に関する事項

- ① 栽培実験を開始する前の情報提供等  
茨城県、つくば市、JA谷田部及びJAつくばへ情報提供を行います。今後も栽培実験の詳細について情報提供を行います。
- ② 説明会等の計画  
平成28年4月 8日 計画書の公表  
平成28年4月27日 栽培実験に係る説明会  
場所：農研機構
- ③ 近隣住民への情報提供  
近隣自治会の自治会長宅へ出向き栽培実験に関して情報提供を行い、各戸には回覧で栽培実験の概要と説明会等についての情報提供を行います。
- ④ その他の情報提供  
栽培実験の実施状況については、農研機構ホームページ(<http://www.naro.affrc.go.jp/>)で情報提供を行います。
- ⑤ 本栽培実験に係る連絡先  
農研機構・生物機能利用研究部門企画管理部 遺伝子組換え研究推進室  
電話番号 029-838-7138

9. その他の必要な事項

特になし

(参考)

今回、栽培試験を行う遺伝子組換え植物は、イネから単離した転写因子 *WRKY45* の遺伝子を導入したイネで、いもち病や白葉枯病に対して抵抗性が付与されたものです。また、選抜マーカーとして、大腸菌由来のハイグロマイシン抵抗性遺伝子又はイネ由来の除草剤抵抗性遺伝子 *ALS* が導入されています。比較のため、食用品種“日本晴”及び飼料用品種“たちすがた”を宿主とし、それぞれの品種で各4種のプロモーターで *WRKY45* を発現させた計8種の遺伝子組換えイネの栽培を予定しており、平成28年度は40系統程度、約1,500個体を水田区画で、約20,000個体を畑ほ場で栽培する予定です。*WRKY45* に関しては、農研機構のホームページ (<http://www.naro.affrc.go.jp/>) にも情報があります。

いもち病；イネの重要病害の1つ。病原体はカビの一種。日本全土で発生し、病気による年間の被害総額は数百億円に上ります。また、防除に使われる農薬は約220億円になります。

白葉枯病；イネの重要病害の1つ。病原体は細菌の一種。日本では西南暖地を中心に発生し、アジアにおいてはもっとも甚大な被害を与える病害として知られています。

転写因子；細胞内で遺伝子のスイッチをオンあるいはオフにする機能を持つタンパク質。

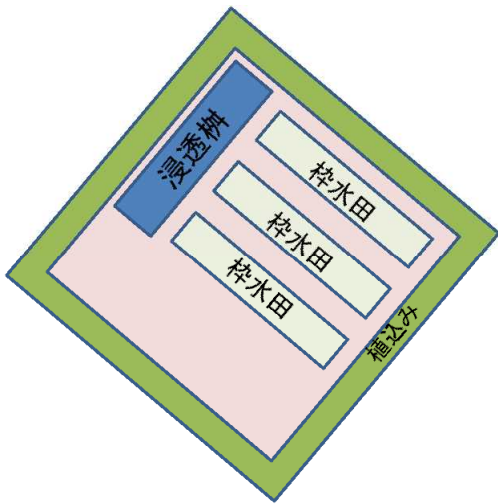


水田区画 A

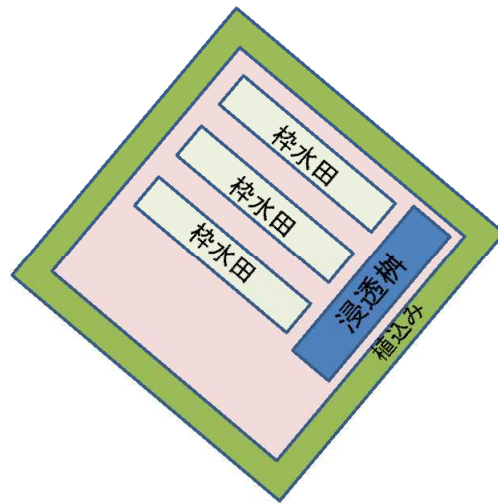


水田区画 B

図1 水田区画A及びB (グーグルマップより)



粹水田配置図 (水田区画 A)



粹水田配置図 (水田区画 B)



粹水田の写真

図2 粹水田の配置図及び写真





図3 畑ほ場2の写真



図4 農研機構（観音台第3事業場、観音台第7事業場）配置図

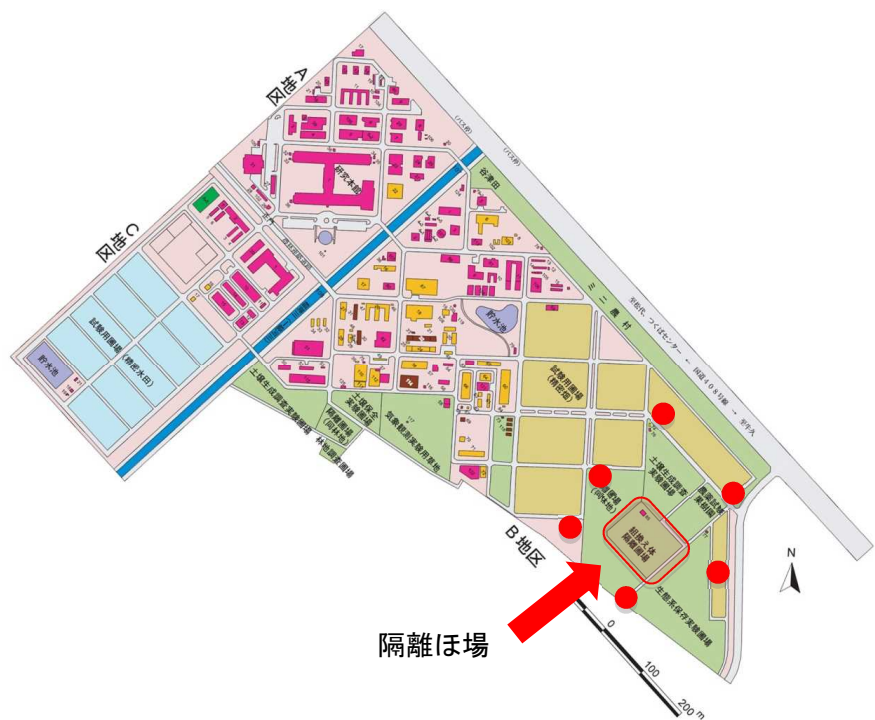


図5 観音台第7事業場の隔離ほ場位置図  
及びモニタリング用ポットの設置場所（赤丸記載）（予定）



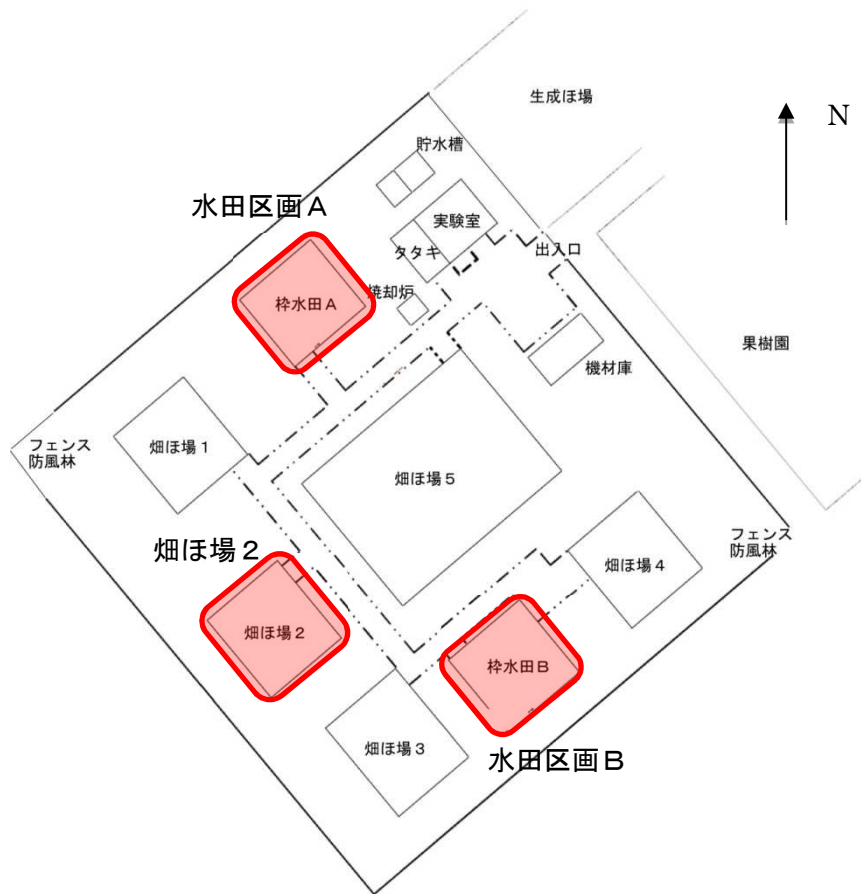


図6 隔離ほ場内配置図