

平成 30 年 6 月 18 日現在

機関番号：11101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K07251

研究課題名(和文)全ゲノム情報を利用した胴割れ耐性形質の解析と育種利用

研究課題名(英文) Analysis of cracked grains and application for rice breeding by whole genome sequence data

研究代表者

石川 隆二 (Ishikawa, Ryuji)

弘前大学・農学生命科学部・教授

研究者番号：90202978

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：北日本は霜、降雪、日長から、稲作の季節が限られており、作期をずらして気象条件に対応できない。さらに、“やませ”における冷夏のみならず、登熟期の高温障害が多発している。開花後2週間に25以上の高温が続くことにより、青森県奨励品種群において80%程度の胴割れを発生させた。恋ほのかはBasmati370を交配して青森県の出穂条件に適応した細粒の香り米である。同品種は出穂期が改良され、耐冷性や良食味性を持ちつつ胴割れ耐性を示した。しかし、香り米や粒形を含めて改良することが必要である。そのためこれらの育種を効率的に進めるための分子マーカー開発を行った。

研究成果の概要(英文)：Rice plants are affected by surrounding temperature. It results in injury of pollen fertility, delay of development, seed set, and defective kernels. Countries like Japan extended from north to south have required broad range of heading data by which varieties adapted to different areas. In northern areas, chilling tolerance and blast disease resistance have been also key traits to improve varieties and succeeded to some extent. However, current climate changes results in unpredicted damages to rice cultivation such as chalky grain and cracked grains. Recently relatively higher temperature at ripening stage damaged rice grains and reduced the quality. Cracked grain is a major factor of defective kernels in east Japan. It leads grains to lower grade. Koihonoka has bred as Basmati370 as one parent and shows higher tolerance. We developed molecular markers to enable rice breeders efficiently select progeny tolerant lines.

研究分野：作物育種学

キーワード：イネ育種 温暖化 分子マーカー 耐性

1. 研究開始当初の背景

北日本は霜、降雪、日長から、稲作の季節が限られており、作期をずらして気象条件に対応できない。さらに、“やませ”における冷夏のみならず、登熟期の高温障害が多発している。開花後 2 週間に 25 以上の高温が続くことにより、青森県奨励品種群において 80%程度の胴割れを発生させた。恋ほのかは Basmati 370 に日本晴、ハツコガネ、ヤマウタを交配して青森県の出穂条件に適応した細粒の香り米である。同品種は出穂期が改良され、耐冷性や良食味性を持ちつつ胴割れ耐性を示した。しかし、香り米や粒形を含めて改良することが必要であり、効率的な戻し交雑育種における分子マーカー開発のためには、高温耐性ととも細粒性栽培形質を支配する遺伝子を特定することが必要である。

まっしぐらと恋ほのかの交雑後代、自殖近交系 (RIL) はすでに F9 世代に達しており、複数年度の栽培試験 (新潟) により耐性検定を行った。耐性品種群の選抜も行っており、感受性バルク集団のゲノムデータを NGS により入手している。親系譜の耐性程度から、Basmati 370 が最も主要な耐性付与品種であることが推定されているため、高頻度 SNP 検出領域を恋ほのかにおける Basmati 370 由来領域として特定した。同領域の中で耐性と連鎖するマーカーを見出しており、候補領域におけるバルクサンプル間の SNP 数比較をすでに行った。現在、高精度マッピングをすすめて 60kb に候補領域を絞り込んでいる。

近傍には、CCR 遺伝子 (玄米で発現するセルロース合成経路に関わる遺伝子) もみられ、それらの機能解析が興味深い。いままで、セルロースは葉等の器官での研究が多かったものの、胚乳の細胞骨格で働くものが存在するならば、製粉性改

良や食味にも関わるであろう。関連するデータとして、申請者らの先行研究では胴割れが胚乳細胞の間隙における破損が関係している SEM 画像データも得られている。さらに近傍領域に細粒性に関連する QTL 候補領域も存在しており、この領域の詳細な解析によりこれら遺伝子群が Basmati 370 由来領域にみだされる可能性が高い。

2. 研究の目的

近年、東北においてもイネ開花直後の高温による穀粒被害(胴割れ粒)が発生しており、2012 年には多大な被害を生じた。このように北日本では低温が懸念されつつも、一過的な夏の高温が想定される。青森県良食味米品種には高温耐性がなかったが恋ほのかは青森県において育成され、高度の胴割れ耐性を示すことが明らかとなった。この胴割れ耐性遺伝子を良食味品種であるまっしぐらに効率よく導入するために胴割れ耐性原因遺伝子の特定を行う。また、中間母本系統が育成されているために収量試験とともに、栽培特性を評価し改良品種として確立する。選抜マーカーの確立は戻し交雑による耐性遺伝子のみの導入や他の品種育成に活用できることを目的とした。

3. 研究の方法

近年、東北においてもイネ開花直後の高温による穀粒被害(胴割れ粒)が発生しており 2012 年には多大な被害を生じた。このように北日本では低温が懸念されつつも、一過的な夏の高温が想定される。青森県良食味米品種には高温耐性がなかったが恋ほのかは青森県において育成され、高度の胴割れ耐性を示すことが明らかとなった。この胴割れ耐性遺伝子を良食味品種であるまっしぐらに効率よく導

入するために胴割れ耐性原因遺伝子の特定を行う。また、中間母本系統が育成されているために収量試験とともに、栽培特性を評価し改良品種として確立する。選抜マーカーの確立は戻し交雑による耐性遺伝子のみ導入や他の品種育成に活用できることを目的とした。

本研究では対象とする胴割れ耐性が粒径と連鎖しているため組換え型も分離することが予測された。しかし、耐性 QTL の 1 つはあまりに近接しているため分離を示さず、それ以外の QTL について選抜し、戻し交雑系統を作出した。既に利用しているまっしぐら × 恋ほのかの 180 系統 RIL 以外に戻し交雑後代を実験に供試することで精度を高める。BC2F1 まで育成したが、より実用性の高い非細粒系の選抜後代 20T からゲノム情報を取得して中程度耐性に関する領域推定を行った。その結果、新たに第 2 と第 10 染色体の耐性領域が見出された。RIL で推定していた領域のうち、第 5 染色体は細粒性と組換えが生じなかったが、香り遺伝子と連鎖していた第 8 染色体の下流は組換えを生じたため非香りと耐性を兼ね合わせた系統が得られた。その実用化と分離系統作出のために 20T × まっしぐら (BC1F1 相当) から、耐性ならびにその他の農業形質として多収性・適度な稈長を持った系統を選抜することができた。これらは高い収量と低温耐性を持つ分離個体を選抜できたため、今後のイネ育種材料として活用することとなった。

4. 研究成果

- 温暖化耐性系統を作出して、育種母本として青森県産業技術センター農林総合研究所に寄託した。
- 良食味米品種を開発するための選抜マーカーを開発した。
- 同マーカーを利用して、企業との連携で育種事業を進める共同研究を行うこととした。
- 酒米の背景下においても同マーカー

が利用できることを確認して開発を進めることが可能になった。

5. 主な発表論文等 (研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 6 件)

1. Brozynska, M., D. Copetti, A. Furtado, R. A. Wing, D. Crayn, G. Fox, R. Ishikawa, R. J. Henry (2017) Sequencing of Australian wild rice genomes reveals ancestral relationships with domesticated rice Plant Biot. Jour 15: 765-774. <https://doi.org/10.1111/pbi.12674> (査読有)
2. Muto, C., R. Ishikawa, K.M. Olsen, K. Kawano, C. Bounphanousay, T. Matoh, Y-I. Sato (2016) The origin and diversification of wx allele of glutinous indica rice landraces through the traditional slash and burn system in northern Laos. Breed. Sci. 66:580-590. DOI [10.1270/jsbbs.16032](https://doi.org/10.1270/jsbbs.16032) (査読有)
3. Ishikawa, R., N. Badenoch, K. Miyagi, K. Medoruma, T. Osada, M. Oonishi. (2016) Multi-lineages of of Shiikuwasha (*Citrus depressa* Hayata) evaluated by using whole chloroplast genome sequences and its bio-diversity in Okinawa, Japan. Breed. Sci. 66:490-498. (査読有)
4. Castillo, C., K. Tanaka, Y-I Sato, R. Ishikawa, B. Bellina, C. Higham, N. Chang, R. Mohanty, M. Kajale, D. Fuller (2016) Archaeogenetic study of

prehistoric rice remains from Thailand and India: evidence of early *japonica* in South and Southeast Asia. *Archae. Anthropol. Sci.* 8:523-543. DOI 10.1007/s12520-015-0236-5 (査読有)

5. Hao, Y., M. Akimoto, R. Kaewcheenchai, M. Sotowa, T. Ishii, and R. Ishikawa (2015) Inconsistent diversities between nuclear and plastid genomes of AA genome species in the genus *Oryza*. *Genes & Genetic Systems* 2016 Mar 23;90(5):269-81. doi: 10.1266/ggs.14-00063. Epub 2015 Dec 18. (査読有)

6. Tanaka, K., N Kamijo, H. Tabuchi, K. Hanamori, R. Matsuda, J. Suginomori, Y-I. Sato, T. Udatsu, R. Ishikawa (2015) Morphological and molecular genetics of ancient remains and modern rice confirm diversity in ancient Japan. *Genetic Resources and Crop Evolution* 63:447-464. DOI 10.1007/s10722-015-0262-2 (査読有)

〔学会発表〕(計 24 件)

1. Tadesse Lakew, Ryuji Ishikawa Evaluation of genetic diversity in Ethiopian rice cultivars based on nuclear and cytoplasmic DNA molecular markers 第133回日本育種学会 3月 26日 (九州大学) 2018年

2. Tadesse Lakew, Ryuji Ishikawa Surveying genetic diversity in Ethiopian rice cultivars as inferred by SSR markers. 第13回東北育種研究集

会(秋田県立大学)秋田市 11月25日, 2017年

3. Dinh Thi Lam, Ryuji Ishikawa Screening and characterizing Cytoplasmic Male Sterile (CMS) in perennial wild rice populations (*Oryza rufipogon*). 第13回東北育種研究集会(秋田県立大学)秋田市 11月25日, 2017年

4. 菅原 魁人, 一谷 勝之, 石川 隆二 *O. rufipogon* と *O. meridionalis* が同所的に生息するオーストラリア野生イネ集団における自然交雑の検証. 第13回東北育種研究集会(秋田県立大学)秋田市 11月25日, 2017年

5. 阿部 晃之, 石川 隆二 青森県の酒米への恋ほのか由来胴割れ耐性の付与. 第13回東北育種研究集会(秋田県立大学)秋田市 11月25日, 2017年

6. 笹森 峻雅, 石川 隆二 イネ胴割れ耐性系統 "20T" のSNV解析および形質評価. 第13回東北育種研究集会(秋田県立大学)秋田市 11月25日, 2017年

7. 鶴岡 優希, 石川 隆二 ヒシのゲノムサイズ測定と次世代シーケンサーからの分子マーカー設置と多様性評価への応用. 第13回東北育種研究集会(秋田県立大学)秋田市 11月25日, 2017年

8. 三島木 隆広, 石川 隆二 沖永良部におけるシークワサー様カンキツの特性解析. 第13回東北育種研究集会(秋田県立大学)秋田市 11月25日, 2017年

9. 和田 真宝, 菅原 魁人, 一谷 勝之, 植村 真郷, 石川 隆二 (2017) オーストラリア固有野生イネに特徴的な小穂長形質解析. 第13回東北育種研究集会(秋田県立大学)秋田市 11月25日, 2017年

10. 菅原 魁人, 一谷 勝之, 石川 隆二: *O. rufipogon* と *O. meridionalis* が同所的に生息するオーストラリア野生イ

ネ集団における自然交雑の検証．第 132 回日本育種学会 10 月 8 日 (岩手大学) 2017 年

11. ディン ティ ラム, Chi Buu Bui, 石川 隆二: 次世代シーケンス情報によりベトナム野生イネから AS996 に導入した領域の推定．第 132 回日本育種学会 10 月 8 日 (岩手大学) 2017 年

12. 植村 真郷, 保木 良太, 西帯野 翼, 田浦 悟, 佐藤 雅志, 石川 隆二, 一谷 勝之: アジア栽培イネ *O. sativa* とオーストラリア野生イネ *O. meridionalis* の交雑後代に見出された部分不稔現象の遺伝子分析．第 131 回日本育種学会 3 月 30 日 (名古屋大学) 2017 年

13. 石川隆二: 琉球諸島カンキツ遺伝資源の評価: 次世代シーケンサーによるマーカー開発と在来種の評価．第 131 回日本育種学会 3 月 29 日 (名古屋大学) 2017 年

14. 山森晃一, 田中克典, 石川隆二, 大森伸之介: RIL からの戻し交雑を利用した恋ほのか由来の胴割れ耐性と粒形の QTL 解析．第 11 回東北育種研究集会 11 月 12 日 (山形大学) 2016 年

15. 伊藤健吾, 田中克典, 石川隆二, 大森伸之介: 華想い×恋ほのかの RILs における胴割れ耐性解析第 11 回東北育種研究集会 11 月 12 日 (山形大学) 2016 年

16. 笹森俊雅, 伊藤健吾, 田中克典, 石川隆二, 大森伸之介: 華想い×恋ほのかの自殖近交系における粒形解析. 第 11 回東北育種研究集会 11 月 12 日 (山形大学) 2016 年

17. 阿部晃之, 石川隆二: 青森県の吟醸用品種華想いゲノム多型領域の解析．第 11 回東北育種研究集会 11 月 12 日 (山形大学) 2016 年

18. Dinh, L. T., B.C.Bui, L. T.Nguyen, 石川隆二 ベトナムクーロンデルタ流域の多年生野生イネの集団構造 第 11 回東北育種研究集会 11 月 12 日 (山形大学), 2016 年

19. 石川隆二, 川村陽一, 前田一春, 大森 伸之介, 田淵宏朗, 古家美紅, 田中克典: 恋ほのか由来胴割れ耐性の主要 QTL と東北地域におけるイネ育種への利用. 日本育種学会第 129 回秋季大会 9 月 23 日 (鳥取大学), 2016 年

20. Dinh Thi Lam, 五十嵐 圭介・鳥山 欽哉, 中村 郁郎, 真壁 壮, 田村 紀子・Nguyen Thi Lang・Buu Chi Bui・石川隆二: Male sterile wild rice adapted to the Mekong delta. 日本育種学会第 129 回秋季大会 9 月 23 日 (鳥取大学), 2016.

21. Tamura, N., R. Henry, and R. Ishikawa: Endemic *Oryza* species in Australia as breeding resources to improve grain size. Tropical Agriculture conference 2015, November 16-18 (Brisbane, Australia), 2015.

22. 石川隆二: 日本人が受容したイネ. 日本育種学会市民公開シンポジウム「作物の起源と人が育てた栽培植物 研究と探索からの日本の食と花文化再考」9 月 13 日 (新潟大学), 2015 年

23. 田村紀子, 中村郁郎, 真壁 壮, 鳥山 欽哉, 五十嵐圭介, Ha Thi Thu Pham, Thi Lang Nguyen, Dinh Thi Lam, Buu Bui Chi,

石川隆二：ベトナム・メコン川デルタ
地帯の野生イネ遺伝的多様性に関する研
究．日本育種学会第 128 回秋季大会 9
月 12 日(新潟大学)，2015 年

24. 石川隆二：与論島におけるカンキ
ツ遺伝資源の解析：イシカタ（6 月ミカ
ン）多様性）．日本育種学会第 128 回秋季
大会 9 月 11 日(新潟大学) 2015 年

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等
<http://nature.cc.hirosaki-u.ac.jp/lab/1/plantbrd/genetics.html>

6 . 研究組織

(1)研究代表者

石川隆二

弘前大学・農学生命科学部・教授

研究者番号：90202978

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：

(4)研究協力者

()