

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料
〔平成31年度（2019年度）研究進捗評価用〕

平成28年度採択分
平成31年3月15日現在

第二の緑の革命をめざす環境保全型超多収イネの作出
Production of Super High-yielding Rice Plants for
Environmental Conservation as the Green Evolution II
課題番号：16H06379

牧野 周 (MAKINO, AMANE)

東北大学・大学院農学研究科・教授



研究の概要（4行以内）

多肥に依存しない超多収イネの作出をめざす。ソース能強化として、光合成炭酸固定酵素 Rubisco の増強を中心に多重組換え体イネを作製。同時にシンク拡大として、秋田 63 号由来の大粒遺伝子を導入した準同質遺伝子系統を作出し、多収性を検証。それらの優良交配種を開放系組換え隔離ほ場試験に供し、ほ場レベルでの収量やバイオマス生産調査等の実証試験を行う。

研究分野：農芸化学、植物栄養学・土壌学

キーワード：イネ、光合成、多収、バイオマス、窒素

1. 研究開始当初の背景

イネは世界で最も重要な穀類作物で、人類は食糧の約 25% を依存している。1960 年代人類は緑の革命と呼ばれた短稈育種によって、飛躍的な増収に成功した。短稈育種の成功は、多肥に依存したソース能強化とシンク拡大であった。多量の窒素施肥は、葉の窒素含量の増加によってソース能である光合成を増大にさせ、同時にシンク面では、穂数や籾数を増加させた。しかし一方で、多量の窒素施肥は大きな環境破壊をもたらし、多肥に依存する作物増産では今後も爆発的に増加する人類の食糧を確保することはできない。

そこで、本課題では、イネのポテンシャルのソースとシンク機能をともに強化させる戦略で、多肥に依存しない環境保全型の超多収イネの作出をめざすこととした。

2. 研究の目的

ソースとシンク機能をともに強化させる戦略で超多収イネの作出をめざす。ソース能強化として、光合成炭酸固定酵素 Rubisco の増強を中心に多重組換え体イネを作製し、同時にシンク拡大として、秋田 63 号由来の大粒遺伝子を導入した準同質遺伝子系統を育成する。それらのソースとシンク機能をともに強化した優良交配種を開放系組換え隔離ほ場試験に供し、収量やバイオマス生産調査等の実証試験を行う。

3. 研究の方法

Rubisco activase (RCA) とカルビン回路鍵酵素 TK (transketolase) と SBPase

(sedoheptulose-1,7-bisphosphatase) の増強したイネ、および電子伝達系強化を目的にヒメツリガネゴケ由来の *FLV* 遺伝子を導入したイネを作出した。そして、それらの優良系統と Rubisco 増減組換えイネの交配種を作製した。同時にシンク能強化として、秋田 63 号由来の大粒 QTL を同定し、その遺伝子を有する準同質遺伝子系統を育成し、その多収性を検証した。Rubisco 過剰生産イネの第 1 種使用承認を取り、隔離圃場にて圃場レベルでの収量・バイオマス調査等を行った。

4. これまでの成果

RCA とカルビン回路鍵酵素 TK と SBPase のそれぞれの単独の増強は、光合成機能の改善には結び付かなかった (Suganami et al. 2018; Suzuki et al. 2018 & 2019)。一方、*FLV* 遺伝子の導入は炭酸固定など他の光合成機能を一切損なうことなく、電子伝達経路の機能が強化に結び付くことがわかった (Wada et al. 2018b)。次に、RCA 増強-Rubisco 過剰生産二重組換え体、TK 増強-Rubisco 過剰生産二重組換え体、および SBPase 増強-Rubisco 過剰生産二重組換え体の作製を試み、それらの作出には成功したが、いずれも Rubisco 過剰生産イネを超える優位な光合成機能の改善は認められなかった (Suzuki et al. 2018 & 2019)。RCA 単独増強イネでは光化学系 I の脆弱さが認められたが、*FLV* 導入による二重組換え体ではその脆弱さの完全回復が確認された。

他方、Rubisco 量を限定的に減少させたイネでは高 CO₂ 濃度環境限定で有利な形質を

発揮していることがわかった (Kanno et al. 2017)。しかしながら、低い CO₂濃度では光呼吸が抑制されるため相対的に光ストレスに感受性が高まるマイナス点も認められた (Wada et al. 2018a)。

秋田 63 号の多収性を決定している主要な遺伝的要因である大粒性 QTL は、籾の大きさを支配する既報の *GS3* 遺伝子であった。その *GS3* 配列を決定したところ、広く自然変異に認められている、籾を長く大きくする塩基置換と同一であった。また、大粒性の効果はジャポニカイネに共通する *qSW5* 遺伝子との相乗効果が大きいとされているが、*GS3* の収量性への直接的な効果をほ場レベルで詳細に調べた例はない。そこで、秋田 63 号の遺伝的背景をもつコシヒカリ *GS3* の準同質遺伝子系統の開発を行ない、「標準粒秋田 63 号」(BC5F2 世代) を育成した。大粒である秋田 63 号を対照に収量試験を行ったところ、精玄米収量にして、約 20%程度の減収が認められた。

Rubisco 機能増強イネの親品種である「能登ひかり」に大粒効果が実証された秋田 63 号 *GS3* を導入するため、秋田 63 号 *GS3* を持つ、能登ひかり準同質遺伝子系統「大粒能登ひかり」(BC3F3 世代) を開発した。この選抜 NIL 系統について、予備的なほ場試験を行ったところ、約 25%程度の増収が確認された。このように大粒 *GS3* 遺伝子がシンク拡大に有力な形質であることが証明された。

Rubisco 過剰生産イネの第 1 種使用規定の承認を得て、開放系隔離ほ場にて収量試験を行った。3 年間の繰り返し試験を通して Rubisco 過剰生産イネの玄米収量は、窒素施肥が 10 gN m⁻²以上の施肥、野生型能登ひかりに比較して窒素吸収量が増加し、20-30%増収となった。その増収効果は吸収窒素量あたりで評価しても、11 gN m⁻²以上の時には同じ吸収窒素量に対しても有意に増収となった。多肥条件とは言え、光合成機能の改善が増収効果に結び付いた世界初の実例である。しかしながら、低窒素施肥区では増収効果はなく、Rubisco の過剰生産単独の機能では、当該研究の本来の目標である多肥に依存しない増収には必ずしも成功していない。低窒素条件では、Rubisco の過剰生産分に窒素が取られてしまうためと考えている。それゆえ、FLV 導入などの多重組換体を作製し、Rubisco の機能効率向上を目指している。

現在、「大粒能登ひかり」準同質遺伝子系統を母胎とし、Rubisco 過剰生産イネと交配を行ない、*RBCS* 遺伝子導入が確認された個体より、F1 個体を得ている。2019 年度のほ場栽培実験を目指す。

5. 今後の計画

FLV-導入 Rubisco 過剰生産イネおよび FLV-導入-RCA 増強-Rubisco 過剰生産イネの

多重組換体の作出を進め、光合成評価を行い、第一種使用承認申請にむけて、文部科学省が定める生物多様性評価試験を行う。

「大粒能登ひかり」準同質遺伝子系統を母胎とし、Rubisco 過剰生産イネと交配 F2 種子を用い、隔離ほ場にて収量とバイオマス生産調査を行う。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)
Suzuki Y, Wada S, Kondo E, Yamori W and Makino A. Effects of co-overproduction of sedoheptulose-1,7-bisphosphatase and Rubisco on photosynthesis in rice. *Soil Sci Plant Nutr* 65: 36-40. (2019)

Wada S, Suzuki Y, Takagi D, Miyake C and Makino A Effects of genetic manipulation of the activity of photorespiration on the redox state of photosystem I and its robustness against excess light stress under CO₂-limited conditions in rice. *Photosynth Res* 137: 431-441 (2018a).

Wada S, Yamamoto H, Suzuki Y, Yamori W, Shikanai T and Makino A Flavodiiron protein substitutes for cyclic electron flow without competing CO₂ assimilation in rice. *Plant Physiol* 176: 1509-1518 (2018b)

Suganami M, Suzuki Y, Sato T and Makino A Relationship between Rubisco activase and Rubisco contents in transgenic rice plants with overproduced or decreased Rubisco content. *Soil Sci Plant Nutr* 64: 352-359 (2018)

Hanawa H, Ishizaki K, Nohira K, Takagi D, Shimakawa G, Sejima T, Shaku K, Makino A and Miyake C Land plants drive photorespiration as higher electron-sink: Comparative study of post-illumination transient O₂-uptake rates from liverworts to angiosperms. *Physiol Plant* 161: 138-149 (2017)

Kanno K, Suzuki Y and Makino A A small decrease in Rubisco content by individual suppression of *RBCS* genes leads to the improvement of photosynthesis and greater biomass production in rice under conditions of elevated CO₂. *Plant Cell Physiol* 58: 635-642 (2017)

Suzuki Y, Kondo E and Makino A Effects of co-overexpression of the genes of Rubisco and transketolase on photosynthesis in rice. *Photosynth Res* 131: 281-289 (2017)

7. ホームページ等

<http://www.agri.tohoku.ac.jp/syokuei/index-j.html>