

機関番号：14501

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20580005

研究課題名 (和文) イネの栽培化を促す鍵となった遺伝子とは

研究課題名 (英文) Clarification of key genes for rice domestication

研究代表者

石井 尊生 (ISHII TAKASHIGE)

神戸大学・大学院農学研究科・教授

研究者番号：20260648

研究成果の概要 (和文)：

イネの栽培化を促した遺伝子を明らかにするために、栽培イネが獲得した穂の非開帳性に焦点を当てた。そこでまず、野生イネの遺伝的背景に栽培イネ由来の穂の非開帳性に関する準同質遺伝子系統を育成した。次に、これら系統を用いて種子採集効率と他殖率についての圃場調査を行った。その結果、穂が閉じることによって、種子の脱粒程度が緩和され、種子が集めやすくなること、また他殖が抑えられることによって、自殖性作物へと導かれたことが示唆された。

研究成果の概要 (英文)：

In order to clarify key genes for rice domestication, the agronomical effects of non-spreading panicles of cultivated rice were analyzed. Near-isogenic lines for non-spreading panicles in the genetic background of wild rice were subjected to the field experiments. As a result, plants with closed panicles showed significantly reduced seed-shattering and outcrossing rates. These results suggests that a simple morphological change in panicle shape had a large impact on seed-shattering and pollinating behaviors and a strong influence on rice domestication.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2009年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学・育種学

キーワード：イネ、栽培化、穂の開帳性、種子脱粒性、*Oryza sativa*、*Oryza rufipogon*、連鎖地図

1. 研究開始当初の背景

今日の農業の基礎となっている作物の栽培品種は、もともと野生種から改良されたものである。その始まりは1万年以上前で、人類が主に狩猟・採集により生計を立てていた頃

である。初期の作物の栽培化においては、種子の非脱粒性・非休眠性、種子・果実等の可食部の大きさ、植物形態など、比較的単純ないくつかの形質によって淘汰されてきたと推測される。その後、それぞれの土地に適した形質の選抜が行われ在来品種が作られて

きた。特にここ数十年で作られた優良品種は、在来品種間での交配、その後代での特性調査、優良個体の選抜という過程を経て作られたものがほとんどである。しかし、このような淘汰・選抜による栽培化は、遺伝的多様性を短期間に縮小してきたといえる。それゆえ、野生種には栽培化の過程で無意識のうちに落としてしまった数多くの有用遺伝子が存在していると考えられ、野生種は栽培品種を改良するための新しい遺伝子の供給源であるといえる。そこで、現在の作物が野生植物よりどのような形質によって淘汰されてきたかを明らかにすることは、これら作物の遺伝的多様性の程度を調べる、また野生種等の遺伝資源としての利用を考えるうえで非常に重要である。

イネは世界の人々を支える主要作物の1つである。熱帯・温帯地方で広く栽培されているイネ (*Oryza sativa*) は約1万年前にアジアの野生種である *O. rufipogon* より栽培化されたといわれている。しかし、栽培化が始まった場所の特定にはまだ至っていない。栽培イネ *O. sativa* とその祖先野生種 *O. rufipogon* の間には様々な形態の違いが見られる。これら形態や性質の違いは、栽培化の過程で人類が淘汰・選抜を行ってきた結果生じたものである。栽培化関連遺伝子のうち、一番注目されているのは種子の脱粒性を支配する遺伝子である。野生種が持つ種子脱粒性が失われれば、成熟種子が穂に残り、種子採集効率が格段に上がると考えられるからである。これまで、種子の脱粒性を支配する主要な遺伝子が同定されてきたが、これらは全て栽培イネの遺伝的背景において野生種由来の遺伝子を評価したものである。一方、野生種の遺伝的背景において栽培種由来の種子の脱粒を促進しない遺伝子を導入した場合、これらの系統は野生種と同様の強い脱粒性を持ち、自然状態では完全な種子脱粒が観察されている。そのため、イネの初期の栽培化過程においては、別の遺伝子が関与している可能性が高いと考えられる。

2. 研究の目的

種子の脱粒性を支配する遺伝子以外に、初期の栽培化を促した遺伝子を明らかにしたいということが本研究の出発点である。研究代表者の石井は、これまで熱帯アジアの野生イネの海外学術調査において、自然環境下における *O. rufipogon* の生態を観察してきたが、野生イネに見られる開いた穂の形は成熟種子の拡散に大きく貢献していることに気がついた。野生イネは長い芒を持つが、穂が開いている場合は、芒に様々なものがあたることにより種子脱粒を促す。しかし、穂が閉

じている状態では、芒どうしが触れあうことにより、種子に穂軸方向への力がかかる。さらに、1つの穂内の種子の成熟時期には1週間ほどのばらつきがあるため、成熟した種子の芒は未成熟の種子のものに絡まり、脱粒が一時的に抑えられると考えられた。さらに、穂が閉じている状態では、開花時に長い芒が小穂を覆ってしまうため、外からの花粉がかかりにくい構造を引き起こし、他殖しにくい繁殖様式に変化することが示唆された。なお、この穂の開帳性を支配する遺伝子はすでに *Spr3* という単一の優性遺伝子として報告されており、この遺伝子が栽培種と野生種の遺伝的背景に左右されることなく形質発現することを予備調査で確認している。このように、穂の開帳性の有無は単一の遺伝子の変異で生じ、穂の形態変化を引き起こすだけではなく、野生イネの種子採集効率の向上ならびに自殖化の促進に大きく結びつき、栽培化初期の鍵となった遺伝子であると考えられた。そこで本研究では、まずこれらのことを野外調査で検証し、さらに将来の遺伝子単離に向けた分子マーカーによる高密度連鎖地図の作製を目的とした。

3. 研究の方法

(1) 研究材料

研究材料として、種子脱粒性を持ち穂が開いている野生種系統 *O. rufipogon* W630 および種子が非脱粒で閉じた穂を持つ栽培品種 *O. sativa* Japonica cv. Nipponbare を用いた。そして、*O. sativa* Nipponbare の種子の非脱粒性ならびに穂の非開帳性を支配する遺伝子を野生種系統に導入した準同質遺伝子系統を戻し交雑により育成した。

(2) 種子採集効率の調査

野生種系統 W630 および種子の非脱粒性および穂の非開帳性に関する準同質遺伝子系統について、それぞれ縦横3個体(計9個体)のブロックを作り圃場に移植した。出穂約1週間後に各ブロックより20穂をランダムに刈り取り、種子稔性を調査した。その後、種子成熟期に数日おきに手で穂をたたきながらプラスチックバット等にブロックごとに脱粒種子を回収した。種子成熟が終了した段階で、ブロック内の総穂数を数え、さらにランダムに選んだ50穂の穂あたりの小穂数を調査した。また、回収した種子については総重量と1000粒重を計測した。

以上のデータより、ブロック内の植物体が生産した総稔実種子数は、(総穂数) X (穂あたりの平均小穂数) X (稔実率) により推定した。また、回収した種子数は総重量を1000粒重で割ることで計算した。そして、最終的に種子採集効率を求めた。なお、この調査は

それぞれ6反復をとって行った。

(3) 他殖率の調査

種子の非脱粒性および穂の非開帳性に関する準同質遺伝子系統を圃場に植えた。その際、これらの個体は野生種系統 *O. rufipogon* W630 を 20cm 間隔で少なくとも縦横 5 個体ずつ植えたブロックの中心に位置するように配置した。野生種が一斉に開花する時期を記録し、種子成熟期（種子脱粒が起こる前）に戻し交雑由来系統の鉢上げを行った。そして、野生イネに同調して開花した穂の全ての種子を採取した。準同質遺伝子系統はゲノムの一部に栽培種ホモ型の染色体領域を持つため、その領域内に存在する分子マーカーを検索した。次に、採集した種子の胚より DNA を抽出し、分子マーカー座の遺伝子型を調査した。遺伝子型が栽培種ホモ型であれば自殖種子、ヘテロ型であれば他殖種子であるので、これに基づき自然環境下における他殖率を推定した。

(4) *Spr3*に関する連鎖地図の作製

穂の開帳性遺伝子 *Spr3* は、第 4 染色体長腕末端部に位置していることがすでに報告されている。そこで、この領域をヘテロで持つ交雑植物の自殖種子由来の約 300 個体からなる集団を用いて、*Spr3*に関する分子連鎖地図を作製した。この結果から、*Spr3*を近傍で挟み込むように位置する 1 組のマーカーを選定した。そして、*Spr3*領域付近をヘテロで持つ植物の自殖種子由来の約 2500 個体の幼苗より DNA を抽出し、マーカー間で組換えを起こしたものを選抜した。さらに、これら選抜個体の穂の開帳性の有無を調査するとともに、マーカー内の塩基配列情報より新たに分子マーカーを設計し、*Spr3*に関する高密度連鎖地図を作製した。

4. 研究成果

(1) 材料育成

O. sativa Nipponbare を野生種系統 *O. rufipogon* W630 で戻し交雑して、野生イネの遺伝的背景における種子の非脱粒を支配する遺伝子 (*qSH1* と *sh4*) ならびに穂の非開帳性を支配する遺伝子 (*Spr3*) に関する準同質遺伝子系統を育成した。これらの系統をそれぞれ、NIL(*qSH1*-Npb)、NIL(*sh4*-Npb)、NIL(*Spr3*-Npb)とした。

(2) 種子採集効率の調査

圃場に展開した、野生種系統 W630 および 3 種類の準同質遺伝子系統 NIL(*qSH1*-Npb)、NIL(*sh4*-Npb)、NIL(*Spr3*-Npb)の種子採集効率を調査したところ、野生種系統 W630 と

NIL(*qSH1*-Npb)、NIL(*sh4*-Npb)は 20%前後であったが、NIL(*Spr3*-Npb)は約 30%と有意に高い値が観察された。この結果は、穂の開帳性の有無と種子採集効率には関連があり、単純な穂の形態変化、つまり穂の形が閉じたものになることは、農耕初期の採集に頼っていた人々にとって、野生イネの種子を集める際に都合のよいものであったことを示唆するものであった。

(3) 他殖率の調査

本研究では、野生種系統 W630 の他殖率の推定ができないので、穂が開帳性である準同質遺伝子系統 NIL(*qSH1*-Npb)と NIL(*sh4*-Npb)、および非開帳性である NIL(*Spr3*-Npb)を圃場に展開して、他殖率の調査を行った。その結果、10%を少し超える程度 of 他殖率が NIL(*qSH1*-Npb)と NIL(*sh4*-Npb)で観察される一方、NIL(*Spr3*-Npb)では約 3%と他の 2 つの準同質遺伝子系統よりも有意に低い値が観察された。この結果は、穂の形態の変化がイネの繁殖様式を他殖から自殖へと促す引き金になったことを示唆するものであった。

(4) *Spr3*に関する連鎖地図の作製

穂の開帳性遺伝子 *Spr3* についてのファインマッピングを行った。その結果、*Spr3*が位置する領域を第 4 染色体長腕末端部の約 6.3kb に限定することができた。しかし、この領域内には予測される遺伝子がなかったため、穂の開帳性を支配する遺伝子の調節領域であることが考えられた。

(5) 総合考察

イネの栽培化において、種子の非脱粒性は種子採集効率が格段に上がる効果を持つため、農耕初期の採集に頼っていた人々にとっては、非常に重要な形質である。これまで、種子の脱粒性を支配する主要な遺伝子座 (*qSH1*座および *sh4*座)が同定されてきたが、これらは全て栽培イネの遺伝的背景において野生種由来の遺伝子を評価したものであった。一方、野生種の遺伝的背景において栽培種由来の対立遺伝子をそれぞれ導入した場合、これらの系統は野生種と同様の強い脱粒性を持ち、種子の非脱粒性に全く貢献しないことがわかった。

野生種の穂の開帳性は 1 つの遺伝子座 (*Spr3*座)の変異によって栽培型の非開帳性に変換することが、野生種と栽培種の分離集団を用いて明らかになった。また、その遺伝子は第 4 染色体長腕末端部の約 6.3kb の特定領域に限定することができた。

野生種の穂が非開帳になると、種子の脱粒程度が緩和され、さらに開花時に他殖を抑えることが明らかとなった。よって、穂の非開帳性をコントロールする遺伝子は栽培イネ *O.*

sativa の栽培化を促す鍵となった遺伝子であるとともに、栽培イネを自殖性作物に運命づけたものであると考えられた。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計3件)

- ① Thanh P. T., Phan P. D. T., Mori N., Ishikawa R. and Ishii T., Development of backcross recombinant inbred lines between *Oryza sativa* Nipponbare and *O. rufipogon* and QTL detection on drought tolerance, *Breeding Science*, 査読有、61 巻、2011、76-79
- ② Thanh P. T., Phan P. D. T., Ishikawa R. and Ishii T., QTL analysis for flowering time using backcross population between *Oryza sativa* Nipponbare and *O. rufipogon*, *Genes & Genetic Systems*, 査読有、85 巻、2010、273-279
- ③ Ishikawa R., Thanh P. T., Nimura N., Htun T. M., Yamasaki M and Ishii T., Allelic interaction at seed-shattering loci in the genetic backgrounds of wild and cultivated rice species., *Genes & Genetic Systems*, 査読有、85 巻、2010、265-271

[学会発表] (計5件)

- ① Phan, P. D. T., Thanh, P. T., 森直樹, 石川亮, 石井尊生, QTL analysis for submergence avoidance using backcross recombinant inbred lines between *Oryza sativa* and *O. rufipogon*.、近畿作物・育種研究会、2010年12月4日、大阪府立大学
- ② Htun, T. M., 石川亮, 石井尊生、Evaluation of seed-shattering degree of substitution lines having two non-shattering genes from cultivated rice (*Oryza sativa*) in the genetic background of wild rice (*O. rufipogon*).、近畿作物・育種研究会、2010年12月4日、大阪府立大学
- ③ Phan P. D. T., Kageyama H., Ishikawa R. and Ishii T., Estimation of outcrossing rate of Asian wild rice, *Oryza rufipogon*, under field condition.、日本育種学会、2010年3月27日、京都大学
- ④ Ishii, T.、Evaluation of genetic diversity among wild rice populations of *Oryza rufipogon* in Myanmar and Cambodia. International Symposium on Wild Rice、2009年11月23日、Bangkok, Thailand
- ⑤ Thanh, P. T., Ishikawa, R., Mori, N. and

Ishii, T.、QTL analysis for useful agronomic characters using backcross inbred lines between *Oryza rufipogon* and *O. sativa* Japonica Nipponbare. 6th International Rice Genetic Symposium、2009年11月17日、Manila, Philippines

[図書] (計0件)

なし

[その他]

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石井 尊生 (ISHII TAKASHIGE)
神戸大学・大学院農学研究科・教授
研究者番号：20260648

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし