

科学研究費補助金研究成果報告書

平成 24 年 6 月 7 日現在

機関番号：12605

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21380013

研究課題名（和文）高収量・高バイオマスイネ開発のための強稈性遺伝子座の生理機能の解明
研究課題名（英文）The physiological function of the quantitative traits loci for the traits associated with the strong culm to develop the rice cultivars with high grain yield and biomass production.

研究代表者 大川 泰一郎 (OOKAWA TAIICHIRO)

(東京農工大学・大学院農学研究院・准教授)

研究者番号：80213643

研究成果の概要（和文）：

倒伏抵抗性は、収量およびバイオマス生産量の高い品種の備えるべき最も重要な農業形質である。倒伏抵抗性に関わる強稈性関連形質の量的形質遺伝子座（QTL）を特定するため、コシヒカリと倒伏抵抗性の大きい品種との戻し交雑自殖系統群（BILs）、染色体断片置換系統（CSSLs）を用いて解析を行った。その結果、強稈性を高める効果のある2つの主要なQTLを特定し、第6染色体のQTLを *STRONG CULM2* (*SCM2*)、第3染色体のQTLを *STRONG CULM3* (*SCM3*) と名付けた。*SCM2* の原因遺伝子を単離するため、ファインマッピングおよびポジショナルクローニングを行った結果、茎頂分裂組織の細胞増殖に関与し、収量増加に関わる穎花数の増加とともに稈を太くする多面発現性遺伝子 *APO1* を単離した。*SCM2* は *APO1* の機能獲得型の自然変異であり、過剰発現人為突然変異体のような穂数減少、穂の形態異常など収量に対する負の影響はなく、多収、倒伏抵抗性品種の改良に有用なアリルであることがわかった。本研究のようなQTL解析とポジショナルクローニングを結合したアプローチは、今後の倒伏抵抗性の高い多収品種を改良する上で有益なアプローチであることが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：

Lodging resistance is one of the most important agronomical traits for the rice cultivars with high grain yield and biomass production. To locate the chromosome regions controlling the lodging resistance in rice, we conducted to estimate and characterize the quantitative traits loci (QTLs) responsible for culm mechanical strength using QTL analyses, using a set of backcross inbred lines (BILs) and the chromosome segment substitution lines (SLs) developed from a cross between Koshihikari, and a high lodging resistant cultivars. We identified the effective quantitative trait loci (QTLs) for culm strength, which were designated *STRONG CULM2* (*SCM2*) and *STRONG CULM3* (*SCM3*). Positional cloning of the gene revealed that *SCM2* was identical to *APO1*, a gene previously reported to control panicle structure. A near-isogenic line carrying *SCM2* showed enhanced culm strength and increased spikelet number due to the pleiotropic effects of the gene. Although *SCM2* is a gain-of-function mutant of *APO1*, it does not have the negative effects reported for *APO1* over-expression mutants, such as decreased panicle number and abnormal spikelet morphology. The identification of lodging resistance genes by QTL analysis combined with positional cloning is a useful approach for improving lodging resistance and overall productivity in rice.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
平成 21 年度	8,600,000	2,580,000	11,180,000
平成 22 年度	2,800,000	840,000	3,640,000
平成 23 年度	2,600,000	780,000	3,380,000
年度			
年度			
総計	14,000,000	4,200,000	18,200,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：作物学・雑草学

キーワード：イネ、強稈性、バイオマス、遺伝子座

1. 研究開始当初の背景

世界人口の増加に伴う食料生産量の増大のためには、作物の単位面積当たり収量をさらに増加させる必要がある。水稻における収量の向上は、半矮性遺伝子を利用した短稈化により耐倒伏性を高め、収穫指数を増大させることにより行われてきた。単位面積当たり収量の増加は、収穫指数の増加だけでは限界があり、バイオマス生産量の増加により収量増加を達成しなければならない。今後の水稻の品種改良の方向のひとつとして、植物体を長稈化することによりバイオマス生産量が極めて高く、かつ収量の高い品種を育成することが重要となる。長稈品種を利用してバイオマス生産量を増大する場合、長く重い地上部を支えるための倒伏抵抗性を高めることが重要となる。しかしながら、国内外において水稻の長稈品種は倒伏しやすいため、短稈化する方向で育種されてきた。その結果、強稈化する方向での育種は、国内外においてイネではほとんど行われてこなかった。

これまで稈の太さや稈質に関わる突然変異体は見つかっており、細稈遺伝子 (*fine culm, fc1* など) (Yoshimura et al., Japan J. Breed., 1992) や極端な矮性遺伝子により太稈となる遺伝子 (*dwarf, zebra*) は報告されているが、実用的な太稈遺伝子の報告はない。

また、もろい稈の遺伝子 (*brittle culm, bc1* など) は報告されているが (Iwata et al., Japan J. Breed., 1985), 折れにくさ、曲げ強さに関係する遺伝子はみつかっていない。強稈性は複数の遺伝子が関与する量的形質であり (大川ら 1997), 関与する遺伝子の特定が困難であったが、最近では、イネゲノム情報を利用した農業重要形質の量的形質遺伝子座 (QTL) 解析が進み、染色体上の遺伝子座が推定できるようになり、個々の遺伝子座の NIL を作出して生理機能を解析することにより、太稈に関わる形態形成の分子機構、遺伝子の特定が可能な状況となっている。イネの穎花数を増加する遺伝子座とともに、NIL を用いた遺伝子座の生理機能の解析から穎花数を制御する遺伝子が特定されている (Ashikari et al., 2006)。

単一の半矮性遺伝子を利用する短稈化とは異なり、強稈性は多数の遺伝子が関与する量的形質であり、強稈性に関わる個々の性質を明らかにし、その制御機構を分子レベルまで解明することにより、極強稈性の品種改良が可能となると考えた。そこで、まずこれまで遺伝変異の大きい国内外の多数の品種を用いて倒伏抵抗性に関与する性質を比較した結果、わが国の品種はいずれも稈基部の折れにくさをあらわす挫折強度が小さく、しか

も遺伝変異が小さいのに対して、国外の品種の中には、稈の太さを表す断面係数が大きく、リグニン量が多いため折れにくさを表す曲げ応力の大きい稈の材質を備えている品種があることを明らかにした（大川ら，日作紀，1992）。

このような倒伏抵抗性に関与する形質を精度高く評価できる方法を育種に利用し、コシヒカリと断面係数の大きい中国 117 号を交配し、この評価法をもとに選抜を行い、極強稈性長稈品種リーフスターを開発した。これまでにリーフスターの親を含むいくつかの強稈品種の遺伝子座（QTL）解析を行い、強稈性に関わる形質の遺伝子座領域を推定し、コシヒカリを遺伝背景とする染色体断片置換系統（SL）を用いた領域の絞り込みと、遺伝子座の生理機能解明のための準同質遺伝子系統（NIL）の養成を進めてきた。NIL を利用して、染色体上に複数存在する太稈，強稈質の遺伝子座の生理機能を分子レベルまで解析することにより、極強稈性に関わる分子制御機構が解明され、極強稈性の多収性・高バイオマス長稈品種を効率的に開発できる。しかしながら、複数の要因が関与する強稈性の生理的分子機構はほとんど明らかになっていない。

2. 研究の目的

そこで本研究では、強稈性水稻品種および強稈性の遺伝子座を有する準同質遺伝子系統（NIL）を用いて、太稈と関係する稈の構造と形態形成，強稈質に関係するリグニン合成など細胞壁成分制御機構を解析し、それぞれの遺伝子座の生理機能を解明することを目的とし、以下のようにして水稻の強稈性に関与する太稈，強稈質遺伝子座の生理機能の解析を行った。

（1）太稈遺伝子座の生理機能および関連遺伝子の解明

太稈品種を用いた遺伝子座（QTL）解析の研究から、太稈に関係する遺伝子座は第 1, 2, 3, 6 染色体に特定されている。これらの染色体領域を含む NIL を用いて、太稈に関係する稈の組織，細胞の大きさ，細胞数，成長点での細胞分裂をコシヒカリと比較することにより、それぞれの遺伝子座の生理機能を明らかにする。さらに、ゲノム情報を利用し、ファインマッピングにより領域の絞り込みと太稈遺伝子の特定を行った。

（2）強稈質遺伝子座の生理機能および関連遺伝子の解明

強材質に関係する曲げ応力はリグニンと密接に関係し、曲げ応力の QTL 解析から強稈質に関係する遺伝子座は第 2, 10 染色体に推定され、これらの遺伝子座領域内にリグニン合成酵素遺伝子があることがわかっている。これらの染色体領域を有する NIL を用いて、稈の形態形成過程におけるリグニン量，合成酵素の活性，遺伝子発現の解析を行い、その遺伝子座に関与するリグニン合成遺伝子を特定した。

3. 研究の方法

水稻の強稈性に関する遺伝子座の生理機能を NIL を用いて、太稈性と強稈質性の 2 つに分けて解析する。太稈性では、太稈遺伝子座の染色体領域をもつ NIL を用いて太稈の形態的特性、形態形成特性を解析し、太稈遺伝子座の生理機能とその関連遺伝子を解明する。強稈質性では、強稈質と密接に関係する細胞壁成分、とくにリグニンに着目し、強稈質遺伝子座の染色体領域をもつ NIL を用いて、稈の形成過程のリグニンの蓄積、リグニン合成酵素活性および遺伝子発現量の解析を行い、強稈質遺伝子座の生理機構と関連遺伝子を解明する。

4. 研究成果

太稈品種ハバタキの6染色体長腕の断片をもつNILを用いて、太稈に關係する稈の組織、細胞の大きさ、細胞数、成長点での細胞分裂をコシヒカリと比較した結果、この遺伝子座は稈壁の厚さではなく、主に稈の外径を大きくすることに關係し、細胞の大きさではなく細胞数が多く、細胞分裂が盛んに行われることにより稈が太くなることがわかった。強稈性に関する遺伝子座の原因遺伝子を単離するため、コシヒカリと強稈品種中国117号との第3染色体候補領域が分離する組換え固定系統を用いて、ファインマッピングとマップベースクローニングを行った。その結果、ファインマッピングによって第3染色体の原因遺伝子1つに絞りこみ、遺伝子を単離した。この原因遺伝子を含む染色体領域をもつNILを用いて、強稈性を評価した結果、このNILはコシヒカリより基部節間の稈が太くなることを確認した。さらに、成長点での稈の遺伝子の発現を解析した結果、コシヒカリに比べてNILは中国117号と同様に、この遺伝子の発現量が多いことがわかった。

強稈質に關係する曲げ応力の遺伝子座は第2染色体短腕に座乗し、中国117号型で曲げ応力が低下するので、この染色体領域を有するNILを用いて、稈の形態形成過程のリグニン蓄積過程におけるリグニン合成酵素の活性、遺伝子発現の変化をNILとコシヒカリの間で比較した結果、NILはコシヒカリに比べてリグニン含有率が小さく、リグニン合成酵素シナミルアルコールデヒドロゲナーゼ活性が小さいことがわかった。強稈質と密接に關係する形質に着目し、強稈質遺伝子座の染色体領域をもつ置換系統を用いて、曲げ応力、稈の外周部にある皮層繊維組織の構造の解析を行った。その結果、第8,11染色体に曲げ応力を高める遺伝子座を推定し、第11染色体は曲げ応力とともに、皮層繊維組織を厚

くする機能をもつ遺伝子座であることを明らかにした。稈外径を大きくする遺伝子座、皮層繊維組織を厚くする遺伝子座を集積することによって、著しく強稈性を高める品種を効率的に開発することが可能であることを示した。

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9件)

1. Adachi, S., Y. Tsuyu, N. Nito, K. Murata, T. Yamamoto, T. Ebitani, T. Ookawa and T. Hirasawa, Identification and characterization of genomic regions on chromosomes 4 and 8 that control the rate of photosynthesis in rice leaves. *Journal of Experimental Botany*, 査読有, Online, 1–12, 2011.
DOI: 10.1093/jxb/erq387
2. Adachi, S., N. Nito, M. Kondo, T. Yamamoto, Y. Arai-Sanoh, T. Ando, T. Ookawa, M. Yano and T. Hirasawa, Identification of chromosome regions controlling the leaf photosynthetic rate in rice by using a progeny from *japonica* and high-yielding *indica* varieties. *Plant Production Science*, 査読有, 14, (2), 117–126, 2011.
DOI: 10.1626/pp.s.14.118
3. Ookawa, T., T. Hobo, M. Yano, K. Murata, T. Ando, H. Miura, K. Asano, Y. Ochiai, M. Ikeda, R. Nishitani, T. Ebitani, H. Ozaki, E.R. Angeles, T. Hirasawa and M. Matusoka, New approach for rice improvement using a pleiotropic QTL gene for lodging resistance and yield, *Nature Communications*, 査読有, 1, (132), 1–11, 2010.
DOI: 10.1038/ncomms1132
4. Adachi, S., Y. Tsuru, M. Kondo, T. Yamamoto, Y. Arai-Sanoh, T. Ando, T. Ookawa, M. Yano and T. Hirasawa, Characterization of a rice variety with high hydraulic conductance and identification of the chromosome region responsible using chromosome segment substitution lines, *Annals of Botany*, 査読有, 106, (5), 803–811, 2010.
DOI: 10.1093/aob/mcq175
5. Ookawa, T., K. Yasuda, M. Seto, K. Sunaga, H. Kato, M. Sakai, T. Motobayashi, S. Tojo and T. Hirasawa, Biomass production and lodging resistance in 'Leaf Star', a new long-culm rice forage cultivar, *Plant Production Science*, 査読有, 13, (1), 58–

- 66, 2010.
DOI: 10.1626/ppls.13.58
6. Hirasawa, T., S. Ozawa, R.D. Taylaran and T. Ookawa 2010. Varietal differences in photosynthetic rates in rice plants, with special reference to the nitrogen content of leaves. *Plant Production Science*, 査読有, 13(1) : 53-57.
DOI: 10.1626/ppls.13.53
 7. 早田一也・大川泰一郎・本林隆・平沢正 2010. 葉身傾斜角度による水稻の個体群吸光係数の簡易評価法の検討. 日本作物学会紀事, 査読有, 79(2) : 174-183.
DOI: 10.1626/jcs.79.174
 8. Taylaran, R.D., S. Ozawa, N. Miyamoto, T. Ookawa, T. Motobayashi and T. Hirasawa 2009. Performance of a high-yielding modern rice cultivar Takanari and several old and new cultivars grown with and without chemical fertilizer in a submerged paddy field. *Plant Production Science*, 査読有, 12 : 365-380.
DOI: 10.1626/ppls.12.365
 9. Sarhadi, W.A., T. Ookawa, T. Yoshihashi, A.K. Madadi, W. Yosofzai, Y. Oikawa and Y. Hirata, Characterization of aroma and agronomic traits in Afghan Native Rice Cultivars, *Plant Production Science*, 査読有, 12, (1), 63 - 69, 2009.
DOI: 10.1626/ppls.12.63
- [学会発表] (計 15 件)
1. Sugiyama, T., H. Kato, T. Hirasawa and T. Ookawa, Properties of superior lodging resistance in a new *gh* line derived from a cross between rice cultivars, 'Leaf Star' and 'Takanari' developed for forage use, The 7th Asian Crop Science Conference, Bogor, Indonesia, 27-30 September, 2011.
 2. Goto, M., K. Hasebe, T. Yamamoto, T. Hirasawa and T. Ookawa, Characteristics of biomass production and photosynthesis in progeny lines of a cross between rice cultivars 'Akenohoshi' and 'Takanari', The 7th Asian Crop Science Conference, Bogor, Indonesia, 27-30 September, 2011.
 3. 大川泰一郎・中村彬良・尾崎秀宣・蛭谷武志・武士田義人・落合佑介・平沢正, 水稻における倒伏抵抗性に関する強稈性に関する量的形質遺伝子座のマッピングーコシヒカリと中国 117 号の第 2,3 染色体組換固定系統を用いてー, 日本作物学会第 232 回講演会, 2011 年 9 月 2 日.
 4. 平沢正・村田和優・蛭谷武志・大川泰一郎・平沢正, 水稻品種ハバタキの染色体断片をコシヒカリの第 11 染色体に置換した系統の窒素蓄積, 日本作物学会第 230 回講演会, 2010 年 9 月 4 日.
 5. 井上和也・酒井幸・平沢正・大川泰一郎, 水稻品種リーフスターの低リグニン性に関わる生理的, 遺伝的要因の解析, 日本作物学会第 230 回講演会, 2010 年 9 月 4 日.
 6. 後藤舞・長谷部弘毅・山本敏央・平沢正・大川泰一郎, 水稻多収性品種アケノホシ/タカナリ交雑後代系統における光合成および受光態勢の特性, 日本作物学会第 229 回講演会, 2010 年 3 月 30 日.
 7. 武士田義人・尾崎秀宣・落合祐介・蛭谷武志・平沢正・大川泰一郎, 水稻の倒伏抵抗性に関する稈の太さの遺伝子座の解析ーコシヒカリと中国 117 号の第 2,3 染色体の QTL 候補領域の分離集団を用いてー, 日本作物学会第 229 回講演会, 2010 年 3 月 30 日.
 8. 落合祐介・蛭谷武志・平沢正・大川泰一郎, 水稻における倒伏抵抗性に関する太稈形質の遺伝子座の解析ーコシヒカリと中国 117 号の第 3 染色体組換固定系統群を用いてー, 日本作物学会第 228 回講演会, 2009 年 9 月 30 日.
 9. 尾崎秀宣・大川泰一郎・村田和優・宝田研・蛭谷武志, コシヒカリを遺伝背景とし太稈化した準同質遺伝子系統の特性評価, 日本作物学会第 228 回講演会, 2009 年 9 月 30 日.
 10. 鈴木健司・山本敏央・大川泰一郎・岡崎正規・矢野昌裕・平沢正, 水稻の登熟期における葉の緑色程度, 根から地上部への窒素輸送速度および根の水伝導度の QTL 解析ーコシヒカリ/アケノホシ F4 集団を用いてー, 日本作物学会第 228 回講演会, 2009 年 9 月 29 日.
 11. Taylaran, R.D., T. Ookawa, H. Usuda and T. Hirasawa, Comparisons of the rate of photosynthesis between rice cultivars Takanari and Koshihikari with reference to growth stage and leaf nitrogen content, 日本作物学会第 228 回講演会, 2009 年 9 月 29 日.
 12. Tsuru, Y., S. Asanuma, K. Murata, T. Ebitani, T. Ookawa and T. Hirasawa, Estimation and characterization of a quantitative trait locus on chromosome 8 for leaf photosynthesis in paddy rice, *Plant Biology* 2009, American Society of Plant Biologists and the Physiological Society of America, Hawaii, July 22, 2009.
 13. Asanuma, S., Y. Tsuru, T. Sueyoshi, K. Murata, T. Yamamoto, T. Ebitani, T.

Ookawa and H. Hirasawa, Estimation and characterization of a quantitative trait locus on chromosome 4 for leaf photosynthesis in paddy rice, Plant Biology 2009, American Society of Plant Biologists and the Physiological Society of America, Hawaii, July 22, 2009.

14. Ookawa, T., K. Inoue, K. Sunaga, S. Tanaka, S. Tojo and T. Hirasawa, Properties of culm strength, lignin content and cinnamyl-alcohol dehydrogenase in the rice cultivar, Leaf Star with high lodging resistance –Comparison with parents and gold hull and internode mutants, Plant Biology 2009, American Society of Plant Biologists and the Physiological Society of America, Hawaii, July 22, 2009.

15. Tamaki, W., M. Katsuhara, M. Yamaguchi, T. Ookawa, K. Takeda, T. Hirasawa, Varietal differences in rates of root growth and leaf photosynthesis, hydraulic conductivity and expression of aquaporins in barley seedlings under salt stress conditions, Plant Biology 2009, American Society of Plant Biologists and the Physiological Society of America, Hawaii, July 22, 2009.

[その他]

ホームページ等

<http://www.tuat.ac.jp/~crop/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大川 泰一郎 (OOKAWA TAIICHIRO)
東京農工大学・大学院農学研究院・准教授
研究者番号：80213643

(2) 研究分担者

平沢 正 (HIRASAWA TADASHI)
東京農工大学・大学院農学研究院・教授
研究者番号：30015119

横山 正 (YOKOYAMA TADASHI)
東京農工大学・大学院農学研究院・教授
研究者番号：70313286