

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 21 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23580006

研究課題名(和文) イネにおける栽培化関連遺伝子の検証 野生種の遺伝的背景で形質変化は起こるのか

研究課題名(英文) Evaluation of domestication-related genes in rice - Trait examination in the genetic background of wild rice

研究代表者

石井 尊生 (ISHII, TAKASHIGE)

神戸大学・(連合)農学研究科(研究院)・教授

研究者番号：20260648

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円、(間接経費) 1,230,000円

研究成果の概要(和文)：イネの栽培化にどのような遺伝子座が大きく関与したのかを検証するために、栽培イネ品種2種(日本型、インド型)およびアジアの野生イネ系統を交雑し、それぞれの遺伝的背景を持つ4つの戻し交雑自殖集団を用いて、栽培化関連形質に関するQTL解析を行った。その結果、栽培イネおよび野生イネの遺伝的背景をもつ2集団でそれぞれ共通して検出された遺伝子座は、イネの栽培化の初期に関わった遺伝子座であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：In order to investigate important loci for rice domestication, QTL analysis of domestication-related traits was carried out with four backcross recombinant inbred populations derived from the reciprocal crosses between two rice cultivars (Japonica and Indica types) and an Asian wild rice accession. The results suggest that QTLs, commonly detected in the two populations having cultivated or wild genetic backgrounds, may have played important roles in the early phase of rice domestication.

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 野生イネ

## 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、人類によって比較的単純ないくつかの形質に基づき選抜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に関する改良が行われ、在来品種が作られてきた。しかし、このような淘汰・選抜による栽培化および品種改良は、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。この約1万年にわたる栽培化の期間は、栽培イネに様々な形態変化をもたらした。これらの違いは、まさに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り、栽培化関連形質であるといえる。そして、これまで多くの研究者により栽培化関連形質に関する研究が行われ、種子脱粒性を支配する遺伝子や株や穂の開きをコントロールする遺伝子が同定された。また、種子の大きさや稈長などの量的形質についても QTL 解析が行われ、形質に作用する遺伝子座が推定されている。

しかし、これら遺伝子座において、栽培化の過程で出現した栽培種の対立遺伝子が野生種の形質変化にどの程度貢献してきたのかは一概には判断できない。つまり、野生種由来の遺伝子は確かに当該形質をコントロールするものの、その評価は栽培種の遺伝的背景を持つ植物(栽培種で戻し交雑した植物など)または栽培種と野生種の遺伝的背景を半分ずつ持つ集団(F2やRIL集団など)を用いた研究によるものばかりである。実際には、栽培化は野生種を対象に始められてきたため、栽培化関連遺伝子の効果を検証するためには、野生種の遺伝的背景で栽培種の対立遺伝子の評価を行う必要があると考えられる。

このような考えに至ったのは、種子脱粒性を支配する遺伝子の効果を栽培種ならびに野生種の遺伝的背景で評価した実験で、予想外の結果を得たためである。栽培種 *O. sativa* と野生種 *O. rufipogon* の種子の脱粒程度の違いは主に *sh4* 遺伝子座の関与によるものとされてきた。このことは、種子脱粒性を支配する野生種由来の遺伝子を栽培種の遺伝的

背景に導入することによって確認した。しかし逆に、栽培種由来の種子の非脱粒性を促す対立遺伝子を野生種の遺伝的背景に導入した系統を育成したところ、それらは野生種と同様の強度の脱粒性を示し、自然状態では完全な種子脱粒が観察された。このことは、野生種の遺伝的背景には種子脱粒に関して小さい効果を持つ遺伝子が多数存在し、たとえ種子脱粒性に大きな効果を持つ野生種の遺伝子が失活したとしても種子脱粒性に全く影響がないことを示している。よって、他の栽培化関連遺伝子に関しても、野生種の遺伝的背景で同様なことが起こる可能性があると考えられた。

## 2. 研究の目的

作物の栽培化に関する研究はこれまでに多く行われてきた。そして、栽培化に関与したと考えられる形質ならびに遺伝子が数多く推定されている。アジアの主要作物であるイネにおいては、種子の非脱粒性や種子の大きさ等を支配する遺伝子が栽培化関連遺伝子として報告されている。これらは、確かに当該形質をコントロールするものであるが、その評価は栽培種の遺伝的背景で行われたものばかりである。しかし実際には、栽培化は野生種を対象に行われてきたものである。それゆえ、栽培化関連遺伝子を検証するためには、野生種の遺伝的背景で行う必要があると考えられる。そこで本研究では、イネを材料として、野生種の遺伝的背景における栽培化関連遺伝子の効果についても評価し、総合的にイネの栽培化の実態を明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1) 研究材料

本研究では、以下に育成過程を示した4つの戻し交雑自殖集団を用いた。

まず栽培種と野生種を交雑し、そのF1雑種に野生種または栽培種を2回戻し交雑した150-200個体からなるBC2F1集団を作成した。その際、供与親の染色体の小断片がランダムに残るように、多数のBC1F1植物を用いて戻し交雑を行なった。その後、単粒系統法により自殖を繰り返し、BC2F7世代以上の集団を作成する。これらは、理論的には供与親のゲノムを1/8、反復親のゲノムを7/8もつ固定系統であると期待される。なお、野生種には種子を比較的多く生産する1年生の系統の *O. rufipogon* W630(ミャンマー原産)を、栽培種には2つの生態型の日本型とインド型に対応する品種である *O. sativa* Japonica Nipponbare と Indica IR36 を用いた。これらの組み合わせによって、4つの集団: Npb-W(反復親 *O. sativa* Japonica Nipponbare、供与親 *O. rufipogon* W630)、IR-W(反復親 *O. sativa* Indica IR36、供与

親 *O. rufipogon* W630) W-Npb ( 反復親 *O. rufipogon* W630、供与親 *O. sativa* Japonica Nipponbare )、W-IR ( 反復親 *O. rufipogon* W630、供与親 *O. sativa* Indica IR36 ) を作出した。

## (2) 解析形質

栽培イネと野生イネで形態の違いが見られる栽培化関連形質( 種子脱粒性、種子休眠性、種子長、種子幅、有芒性、種皮色、穂の開帳性、株の開帳性、稈長など ) について、4 つの戻し交雑自殖集団を用いて調査を行った。

## (3) QTL 解析

栽培関連形質遺伝子座が全染色体上のどの部分に座乗しているのか明らかにするために、集団内の各系統について、ゲノム領域をほぼカバーするマイクロサテライトマーカー座の遺伝子型を決定した。なお、これらマーカー座の分子連鎖地図は、野生イネ系統 *O. rufipogon* W630 と栽培品種 *O. sativa* Nipponbare の F2 集団を用いて、既に構築済であるので、マーカーの位置情報をもとに、形質データとあわせて QTL 解析を行った。

## 4 . 研究成果

まず、栽培イネの遺伝的背景を持つ Npb-W 集団は 161 系統からなり、これらを圃場に展開し、6 つの種子形質 ( 種子重、種子長、種子幅、玄米長、玄米幅、有芒性 ) および 6 つの形態形質 ( 出穂期、稈長、穂長、穂の開帳性、有効分げつ数、早朝開花性 ) の調査を行った。そして、180 カ所の分子マーカー座の遺伝子型のデータを基にそれぞれの形質に関する QTL 解析を行った。その結果、合計 35 カ所の QTL が推定された。特に、早朝開花性については第 4 および第 5 染色体上の 2 カ所に QTL が検出された。もう 1 つの栽培イネの遺伝的背景を持つ IR-W 集団は 172 系統からなり、これらを圃場に展開し、5 つの種子形質 ( 種子重、種子長、種子幅、玄米長、玄米幅 ) および 5 つの形態形質 ( 出穂期、稈長、穂長、穂形、分げつ数 ) について調査を行い、165 の分子マーカー座の遺伝子型データを基に QTL 解析を行った。その結果、合計 15 カ所の QTL が推定された。2 つの集団で共通して調査した形質に関する QTL 領域を比較したところ、第 1 染色体上の稈長、第 4 染色体上の穂形ならびに第 8 染色体上の出穂期に関する QTL 領域が重複していた。これらのうち、第 1 および第 4 染色体の領域には、これまでに同定されたそれぞれの形質を制御する *SD1* ならびに *SPR3* の遺伝子座が含まれていたため、これらはイネ栽培種 Japonica および Indica の双方の遺伝的背景で効果を持つ遺伝子座であると考えられた。

一方、野生イネの遺伝的背景を持つ W-Npb 集団については 143 系統を圃場に展開し、出穂日、稈長、穂長、株の開帳性、種皮色、穂

の開帳性、葉鞘の色、芒の色の 8 つの形質を調べ、178 の分子マーカー座の遺伝子型データを基に、QTL 解析を行った。その結果、18 か所の QTL が推定された。これら 8 形質は、146 系統からなる W-IR 集団についても調査を行い、157 の分子マーカー座の遺伝子型データを基に、QTL 解析を行った。その結果、18 か所の QTL が推定された。これらの 2 集団で検出された QTL 領域を比較したところ、出穂日、稈長、穂長に関してはそれぞれ 2 つの QTL 領域が、株の開帳性、種子の色、穂の開帳性、葉鞘の色、芒の色に関してはそれぞれ 1 つの QTL 領域が重複していた。なおこれらの共通したいくつかの QTL 領域には、これまでに同定されたそれぞれの形質を支配する遺伝子座が存在していた。つまり、出穂日に関しては *Hd3a* ( 第 6 染色体 )、稈長、穂長に関しては *SD1* ( 第 1 染色体 )、株の開帳性に関しては *PROG1* ( 第 7 染色体 )、種子の色に関しては *Rc* ( 第 7 染色体 )、穂の開帳性に関しては *SPR3* ( 第 4 染色体 ) の遺伝子座がそれぞれ共通 QTL 領域付近に見つかった。このように、W-Npb と W-IR の両方の集団で共通に推定された QTL については、おそらくイネの栽培化の初期に関わった遺伝子座であると推定された。また、どちらか片方の集団で検出された QTL に関してはそれぞれ日本型およびインド型の栽培化に特異的に働いた遺伝子座であると考えられた。

## 5 . 主な発表論文等

( 雑誌論文 ) ( 計 6 件 )

Ishii T, Numaguchi K, Miura K, Yoshida K, Thanh PT, Htun TM, Yamasaki M, Komeda N, Matsumoto T, Terauchi R, Ishikawa R, Ashikari M (2013) *OsLG1* regulates a closed panicle trait in domesticated rice. *Nature Genetics* 45: 462-465. ( 査読有 )

DOI: 10.1038/ng.2567

Phan PDT, Kageyama H, Ishikawa R, Ishii T (2012) Estimation of the outcrossing rate of Asian wild rice, *Oryza rufipogon*, under field conditions. *Breeding Science* 62: 256-262. ( 査読有 )

DOI: 10.1270/jsbbs.62.256

Ishii T, Hiraoka T, Kanzaki T, Akimoto M, Shishido R, Ishikawa R (2011) Evaluation of genetic variation among wild populations and local varieties of rice. *Rice* 4: 170-177. ( 査読有 )

DOI: 10.1007/s12284-011-9067-x

Htun TM, Ishii T, Ishikawa R (2011) Temporal changes of seed shattering degree of substitution lines having non-shattering alleles from cultivated rice (*Oryza sativa*) in the genetic background of wild rice (*O. rufipogon*). *Journal of Crop Research*

56:39-44. (査読有)  
Phan PDT, Thanh PT, Mori N, Ishikawa R, Ishii T (2011) QTL analysis for submergence avoidance using backcross recombinant inbred lines between *Oryza sativa* and *O. rufipogon*. Journal of Crop Research 56:45-49. (査読有)  
Thanh PT, Phan PDT, Mori N, Ishikawa R, Ishii T (2011) Development of backcross recombinant inbred lines between *Oryza sativa* Nipponbare and *O. rufipogon* and QTL detection on drought tolerance. Breeding Science 61: 76-79. (査読有)  
DOI: 10.1270/jsbbs.61.76

〔学会発表〕(計8件)

西村彬則, 岩崎友哉, 山本知佳, 石川亮, 石井尊生: 野生イネ (*Oryza rufipogon*) の遺伝的背景における栽培化関連形質の評価. 日本育種学会第125回講演会, 2014年3月22日, 東北大学  
井上千鶴, Htun TM, 石井尊生, 石川亮: 野生イネ (*Oryza rufipogon*) の遺伝的背景における種子脱粒性遺伝子座間の相互作用. 日本育種学会第125回講演会, 2014年3月22日, 東北大学  
Htun TM, Inoue C, Chhoun O, Ishii T, Ishikawa R: Identification of a quantitative trait locus involved in abscission layer formation for seed shattering in Asian wild rice, *Oryza rufipogon*. 日本育種学会第125回講演会, 2014年3月22日, 東北大学  
Ishii T, Numaguchi K, Miura K, Yoshida K, Thanh PT, Htun TM, Yamasaki M, Matsumoto T, Terauchi R, Ishikawa R, Ashikari M: Closed panicles in rice domestication. 7th International Rice Genetics Symposium. Nov. 6, 2013, Manila, Philippines  
Ishikawa R, Miura K, Yoshida K, Numaguchi K, Htun TM, Thanh PT, Matsumoto T, Yamasaki M, Terauchi R, Ashikari M, Ishii T: A closed panicle trait regulated by *OsLG1* in domesticated rice, *Oryza sativa* L. Symposium. Nov. 6, 2013, Manila, Philippines  
沼口孝司, Htun TM, Thanh PT, 石川亮, 石井尊生: 穂が閉じることによって野生イネはどう変化したか? 日本育種学会第124回講演会, 2013年10月12日, 鹿児島大学  
Ishii T: Evaluation of genetic variation among wild populations and local varieties of rice in Vietnam. Rice Symposium: Trends in Rice Research to Overcome Stresses in a context of Climate Change. Sept. 6,

2012, Hanoi, Vietnam  
Ishii T: Evaluation of genetic variation among wild populations and local varieties in rice. Rice and Language across Asia Symposium, Sept. 24, 2011, Cornell University, USA

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計0件)  
取得状況(計0件)

〔その他〕  
雑誌論文 (Nature Genetics 45: 462-465) のイネの栽培化のきっかけとなった遺伝子の同定に関する研究結果について  
新聞報道  
平成25年3月8日朝日新聞「稲作起源のイネ遺伝子?」  
平成25年4月29日産経新聞「起源は中国珠江流域か 栽培化の引き金も判明」  
神戸大学ホームページ(研究ニュース)  
[http://www.kobe-u.ac.jp/research/news/archive/pp2013\\_02\\_25.html](http://www.kobe-u.ac.jp/research/news/archive/pp2013_02_25.html)  
ライフサイエンス新着論文レビュー  
<http://first.lifesciencedb.jp/archives/6663>

6. 研究組織

- (1) 研究代表者  
石井 尊生 (ISHII, Takashige)  
神戸大学・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