

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 16 日現在

機関番号：23303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25450026

研究課題名(和文) 水稻の籾シンク強度に関するQTLの探索および生理学的解明

研究課題名(英文) Physiological and genetic studies on grain sink strength of rice plants

研究代表者

塚口 直史 (TSUKAGUCHI, Tadashi)

石川県立大学・生物資源環境学部・准教授

研究者番号：40345492

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は水稻多収に必要な不可欠と考えられる籾のシンク強度に関する遺伝学的解明を目的とする研究である。籾のシンク強度とは籾が同化産物を取り込み蓄積する能力を意味する。そのために籾のシンク強度を簡便に定量する評価法の開発、籾のシンク強度の異なる品種の同定、および籾シンク強度の異なる品種間で作製された解析材料を用いた本評価法による関与する領域の推定を行った。その結果、登熟歩合と充填率との関係から求めたシンク強度に関する評価法が安定的であることがわかり、コシヒカリとKasalathを両親とする染色体断片置換系統群に関与する染色体領域を推定した。

研究成果の概要(英文)：The objective of this study was to genetically and physiologically elucidate sink-strength of rice grain, or the ability to attract and accumulate assimilates in grain, which is one of the indispensable plant traits for high-yielding. In this study, the evaluation method for grain-sink-strength was developed, grain-sink-strength of various cultivars were evaluated and chromosome region associating this sink-strength was investigated using chromosome segment substitute lines (CSSLs) derived from a cross between Koshihikari and Kasalath, contrasting in grain-sink-strength. We found an exponential relation between the proportion of filled spikelets and grain-filling percentage. There was a wide difference in the regression coefficients among cultivars and we considered the regression coefficient as the measure for grain-sink-strength. Based on this parameter, we found several chromosome regions which are considered to be associated with grain-sink-strength.

研究分野：作物学

キーワード：イネ 登熟 評価法 籾シンク強度 QTL

1. 研究開始当初の背景

イネにおいて、収量性向上の取り組みは光合成能の向上や籾数の増大などを通じて進められている。しかし籾数が増大しても必ずしも登熟が向上しないため収量増大には結びついていないのが現状である。イネの登熟は穎果の成長および穎果への光合成産物の蓄積である。登熟性の向上のためには籾への光合成産物の供給が必要条件となる。しかしながら、籾への光合成産物の供給レベルが同程度であっても登熟の良否には品種間差異が存在することが知られており、登熟性 = 籾への炭水化物供給量 × 籾のシンク強度ととらえることができる。多収を目的して籾数を増大することにより、籾当たりの炭水化物供給量は不足する傾向にあり、籾のシンク強度の重要度が増すと考えられる。

このように収量増のために重要な形質ではあるが、籾のシンク強度に関する育種はほとんど行われていない。登熟には籾当たりの光合成産物の供給量が強く影響し、したがって籾数、栄養器官と籾数のバランス、あるいは光合成能等の遺伝的要因と日射量や気温等環境の影響を極めて複雑に受けるが、籾のシンク強度の定量評価のためには、それらの要因の影響を除去する必要があるからである。したがって籾シンク強度の評価は大掛かりなものにならざるを得ず、それに基づく多数の系統や個体を扱う選抜は極めて困難である。そのため、籾シンク強度に關与する分子遺伝学的解明は本形質に関するマーカー選抜を可能とし、籾シンク強度の高い品種育成に大きく寄与すると考えられる。またそのような遺伝学的な解析のためには、籾シンク強度を簡便かつ高精度に定量評価する評価法の確立は必要不可欠である。

2. 研究の目的

(1) 籾シンク強度評価法の開発

籾シンク強度は籾当たりの利用可能炭水化物量が同じ条件での籾への炭水化物の集積量を意味する。同じ遺伝子型の個体を籾当たりの利用可能炭水化物量が異なるような様々な環境で栽培し、籾当たりの利用可能炭水化物量と籾への炭水化物の集積量の関係性を求めることにより、各遺伝子型における本形質の評価を行うことができる。ただしこの評価には、多大な労力および実験のための圃場面積が必要であること、遺伝子型当たりの必要個体数も多く必要となることから、100以上の系統を扱う遺伝解析には使えない。そこで、籾のシンク強度を示す指標の候補として、高密度粒割合、登熟歩合、充填率およびそれらの間の関係から得られる様々なパラメータを検討した。

(2) 染色体断片置換系統群を用いた籾シンク強度に關与する染色体領域の探索

コシヒカリ/Kasalath 染色体断片置換系統群を用いて、籾シンク強度に關与する染色体

領域の推定を行うことを目的とした。またこの評価には、(1)で検討した様々な評価法を試みた。

(3) 籾シンク強度に關する分子遺伝学的解明のための解析材料の作製

(1)の評価法の開発で用いた品種の中で、籾シンク強度が最も大きかったタカナリおよびその最も小さかったモミロマンを両親とした解析材料の作製を目的とした。またこれらの品種は子実のタンパク質集積性に關しても大きな差があることが分かった。

(4) 籾のタンパク質集積性に關する評価法の確立

当初の目的にはなかったが、籾(玄米)のタンパク質集積性に大きな品種間差があることがわかり、本研究課題のテーマとも関連しているので平行して研究を進めた。籾のタンパク質集積性は籾の窒素に關するシンク強度と考えられ、コメのタンパク質含量を通じてコメ品質に影響するだけでなく、登熟期の稲体の窒素動態を通じて収量性にも強く關与すると考えられる。本形質の分子遺伝学的解明の基礎として、その評価法の確立を目的とした。

3. 研究の方法

(1) 籾シンク強度評価法の開発

予め籾シンク強度を調査した水稻8品種を2か年にわたって、様々な環境で栽培した。シンクソースバランスを変えるために出穂期に止葉葉身の切除処理を行った。高密度粒割合、登熟歩合および充填率を測定した。

(2) 染色体断片置換系統群を用いた籾シンク強度に關与する染色体領域の探索

コシヒカリ/Kasalath 染色体断片置換系統群39系統、コシヒカリおよびKasalathを2か年にわたって圃場栽培した。出穂期に止葉葉身を切除する剪葉区を設けた。各系統を成熟期に刈り取り、(1)で求めた評価法により各系統の籾シンク強度を比較し、關与する染色体領域を推定した。

(3) 籾シンク強度に關する分子遺伝学的解明のための解析材料の作製

モミロマンとタカナリを交配し、得られたF₁を自殖し、F₂を得た。両親間で多型を示すDNAマーカーを探索し、全染色体上に112配置した。F₂を180個体栽培し、幼植物からDNAを採取し、PCR法によりDNAマーカー座の遺伝子型を調査した。Mapmaker ver.3を用いて各マーカー座の連鎖地図を作成した。

(4) 籾のタンパク質集積性に關する評価法の確立

玄米タンパク質濃度や登熟期の稲体窒素動態が大きく異なる水稻6品種を用いた。登熟期のシンクサイズ当たりの利用可能窒素

量と玄米タンパク質濃度の関係から窒素集積性を示すパラメータを推定した。利用可能窒素量は、登熟期の窒素吸収量および出穂期までに吸収された窒素の転流可能量の和とした。

4. 研究成果

(1) 初シンク強度評価法の開発

登熟歩合および充填率は環境要因の影響が強く、評価には用いることができなかった。それらと比較すると、高密度粒割合に関する遺伝子型環境相互作用は小さかったが、有意であり、評価法としては使えないことが分かった。

年次間のデータをこみにして、各品種の充填率と登熟歩合の間に指数曲線の関係があることがわかった。その回帰係数は品種間で有意に異なり、また回帰係数が小さい品種では強いシンク強度を示すことが分かった。この回帰係数を求めることにより安定的に初シンク強度が評価できると考えられた。

(2) 染色体断片置換系統群を用いた初シンク強度に関する染色体領域の探索

各系統において、充填率と登熟歩合の間に指数曲線の関係があり、その回帰係数は系統間で大きく異なった。他のパラメータは年次間および処理間で評価が異なった。このことから、(1)で求めた充填率と登熟歩合との間の関係に基づく初シンク強度評価法の有用性が確認された。また本評価法により、初シンク強度に関する領域が数か所推定された。本領域が置換された系統にコシヒカリを戻し交雑し、得られた後代植物を用いて、推定された領域の絞込みを引き続いて行う予定である。

(3) 初シンク強度に関する分子遺伝学的解明のための解析材料の作製

分子マーカー座の遺伝子型調査より、全長1600cMに及ぶ地図を作成した。一部に連鎖するマーカーのないマーカーや、マーカー間の距離が広い箇所もあったが、その他は隣接するマーカー間がほぼ20cM以下となった。本解析材料はまだ分離世代であるので、初シンク強度の解析を行えるよう、今後も引き続いて、世代を進めて組み換え近交系を作製する予定である。一方初シンクのタンパク質集積性に関するQTL解析には利用可能であるので、すでに解析を始めている。

(4) 初シンクのタンパク質集積性に関する評価法の確立

登熟期のシンクサイズ当たりの利用可能窒素量と玄米タンパク質濃度との間には対数曲線の関係が認められた。その回帰係数は品種間で大きく異なり、有意な差が認められた。この回帰係数が大きいと利用可能な窒素量が同程度でも子実への窒素の集積量が多いことを示し、窒素集積性が高いことを示す。

この回帰係数はタカナリで高くモミロマンで低かった。またこの回帰係数により登熟期の稲体窒素動態がよく説明された。(3)で作製した解析材料を用いて本形質の解析が行えることがわかり、引き続き研究を行う。

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 7件)

山村達也・永畠秀樹・中川博視・蛸谷武志・塚口直史. 2013. コシヒカリ/Kasalath 染色体断片置換系統群における高温および低炭水化物供給条件下で乳白粒発生への低い系統の探索. 日本作物学会紀事. 査読有. 82: 167-175.

西田和弘・宇尾卓也・吉田修一郎・塚口直史. 2013. 夜間掛流し灌漑による水田水温と葉温低下. 農林農村工学会誌. 査読有. 81(4):31-34.

西田和弘・宇尾卓也・吉田修一郎・塚口直史. 2014. 登熟期の冷水掛け流し灌漑による稲体温度・群落気温・地温の低下効果. 農業農村工学会論文集. 査読有. 294:25-33.

Wada T., Miyahara K., Sonoda J., Tsukaguchi T., Miyazaki M., Tsubone M., Ando T., Ebana K., Yamamoto T., Iwasawa N., Umemoto T., Kondo M. and Yano M. 2015. Detection of QTLs for white-back and basal-white grains caused by high temperature during ripening period in japonica rice. *Breeding Science*. 査読有. 65: 216-225. doi:10.1270/jsbbs.65.216

西田和弘・宇尾卓也・吉田修一郎・塚口直史. 2015. 冷水掛流し灌漑時の灌漑水量・水深・時間帯が水田の水温形成に及ぼす影響. 農業農村工学会論文集. 査読有. 300: 185-194.

Tsukaguchi T., Nitta, S. Matsuno, Y. 2016. Cultivar differences in the grain protein accumulation ability in rice (*Oryza sativa* L.). *Field Crops Research*. 査読有. 192: 110-117. doi:10.1016/j.fcr.2016.04.022

小林麻子・杉本和彦・林猛・近藤始彦・園田純也・塚口直史・和田卓也・山内歌子・岩澤紀生・矢野昌裕・富田桂. 2016. 穂発芽耐性を強化した水稻品種コシヒカリの準同質遺伝子系統の育成と高温登熟耐性の評価. 育種学研究. 査読有. 18: 1-10.

[学会発表](計 6件)

宇尾卓也・西田和弘・吉田修一郎・塚口直史. 水稻の高温登熟障害抑制のためのかけ流し灌漑による水田水温、葉温、地温、群落内気温低下. 平成25年度農業農村工学会大会講演会. 2013年9月5日. 東京農

業大学(東京都・世田谷区)。
塚口直史・道元俊宏・村上佳矢・中川博視。水稻における登熟初生産効率の品種間差およびその登熟パターンとの関係。日本作物学会講演会第 237 回講演会。2014 年 3 月 30 日。千葉大学西千葉キャンパス(千葉県・千葉市)。

道元俊宏・村上佳矢・塚口直史。イネ染色体断片置換系統群を用いた登熟初生産効率を高める染色体領域の推定。日本作物学会講演会第 237 回講演会。2014. 3 月 30 日。千葉大学西千葉キャンパス(千葉県・千葉市)。

宇尾卓也・西田和弘・吉田修一郎・塚口直史。高温登熟障害抑制のための冷水掛流し灌漑による稲体温度・群落内気温・地温低下効果。平成 26 年度農業農村工学会大会講演会。2014 年 8 月 28 日。新潟コンベンションセンター朱鷺メッセ(新潟県・新潟市)。

塚口直史・道元俊宏。水稻の穎果の登熟動態による穂内の同化産物分配パタンの説明。日本作物学会講演会第 239 回講演会。2015 年 3 月 28 日。日本大学湘南キャンパス(神奈川県・藤沢市)。

西田和弘・塚口直史・二宮悠樹・吉田修一郎・宇尾卓也。冷水掛流し灌漑が水田水温・地温・米の外観品質に与える影響。平成 27 年度農業農村工学会大会講演会。2015 年 9 月 2 日。岡山大学津島キャンパス(岡山県・岡山市)。

〔図書〕(計 1 件)

塚口直史。2013。作物学。今井勝・平沢正編。文永堂出版。70-73。

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 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 0 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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

塚口直史(TSUKAGUCHI, Tadashi)

石川県立大学・生物資源環境学部・准教授

研究者番号：40345492