

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 30 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26450003

研究課題名(和文) 種子脱粒性の喪失によるイネ栽培化過程の実験的検証

研究課題名(英文) Evaluation of rice domestication by loss of seed shattering

研究代表者

石川 亮 (Ishikawa, Ryo)

神戸大学・農学研究科・助教

研究者番号：70467687

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：作物の栽培化において、種子脱粒性の喪失は最も重要な選抜形質のひとつである。イネにおける種子脱粒性の喪失は、sh4 遺伝子座に生じた変異が原因であると広く認識されている。しかし、栽培イネが持つsh4 遺伝子座を野生イネの遺伝的背景に導入しても、なお強い脱粒性が見られることから、栽培化初期における脱粒性喪失にはsh4 遺伝子座以外の遺伝変異も関与したと考えられる。本研究では、野生・栽培イネ間で新たに同定され、sh4 遺伝子座と共に脱粒性の喪失に関与した遺伝子座qSH3における原因遺伝子の同定と証明、ならびに栽培化における役割を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Loss of seed shattering was one of the key phenotypic changes selected for in the domestication of many crop species. Asian cultivated rice, *Oryza sativa* L., was domesticated from its wild ancestor, *O. rufipogon*, and three seed-shattering loci, qSH1, sh4 and qSH3, have been reported to be involved in the loss of seed shattering in cultivated rice. In this study, we analysed the seed-shattering behaviour of wild rice using introgression lines carrying the cultivated alleles from *O. sativa* Nipponbare in the genetic background of wild rice, *O. rufipogon* W630. We found that the interaction of mutations at these two loci may have played a role in the initial loss of seed shattering during rice domestication.

研究分野：植物遺伝育種学

キーワード：栽培イネ 野生イネ 脱粒性 栽培化

### 1. 研究開始当初の背景

多くの作物において、種子脱粒性の喪失は栽培化初期に選抜対象となった重要な形質である。イネにおいても、脱粒性をもたらす種子基部の離層形成に異常の生じた変異体が栽培化されるようになったと考えられ、脱粒性を支配する主要遺伝子座が2つ同定されていた。ひとつは、インディカ-ジャポニカ間の自然変異として同定された *qSH1* 遺伝子座(Konishi et al. 2006)であり、もうひとつはインディカ-野生イネ間で同定された *sh4* 遺伝子座(Li et al. 2006)である。*sh4* 遺伝子座における変異は、全ての栽培イネにおいて保存されていることから脱粒性の喪失に重要な役割を果たしたと考えられている(Lin et al. 2007)。しかし、これまでの研究から、栽培イネの *sh4* 対立遺伝子、又は *qSH1* 対立遺伝子を戻し交雑によって野生イネの遺伝背景に導入したイントログレッション系統を作出したところ、これらは共に完全な離層を形成し、強い脱粒性を示した。さらに、両方の対立遺伝子を導入したイントログレッション系統 IL(*qSH1*+*sh4*)でさえも、なお強い脱粒性が見られた(Ishikawa et al.2010)。つまり、野生イネではこれまでに同定されている *qSH1* や *sh4* 遺伝子座に生じた変異だけでは、脱粒性喪失には至らなく、野生イネの遺伝背景では脱粒性を強く促進する他の因子の存在が予測された。そこで、作出した IL(*qSH1*+*sh4*)と栽培イネ(日本晴)を再び交雑し、*qSH1* と *sh4* 遺伝子座以外の領域が分離する F<sub>2</sub> 集団を作出し、QTL(量的形質遺伝子座)解析によって、脱粒性を支配する新規遺伝子座の検出を行った。その結果、第3染色体に新たな遺伝子座(*qSH3*)を同定した。高密度連鎖解析から、原因となる遺伝子を同定したが、この遺伝子における自然変異はこれまで同定されていなかった。

### 2. 研究の目的

イネにおける種子脱粒性の喪失は、*sh4* 遺伝子座に生じた変異が原因であると広く認識されていた。しかし、栽培イネが持つ *sh4* 対立遺伝子を野生イネの遺伝的背景に導入しても、なお強い脱粒性が見られることから、栽培化初期における脱粒性喪失には *sh4* 座以外の遺伝変異も関与したと考えられる。

本研究では、野生・栽培イネ間で新たに同定され、*sh4* 遺伝子座と共に脱粒性の喪失に関与したと推定される遺伝子座 *qSH3* における原因変異の同定と証明、ならびに栽培化における役割を明らかにし、イネの栽培化と脱粒性喪失過程の詳細を明らかにする

### 3. 研究の方法

本研究では、新たに同定された脱粒性遺伝子座(*qSH3*)の原因変異の特定を高密度連鎖解析と遺伝子組換え技術を用いて行った。また、*qSH3* と *sh4* 遺伝子座の変異が離層形成に与える影響、ならびに穂の開閉を支配する

*SPR3* 遺伝子座との相互作用効果を解析するために、野生イネの遺伝的背景において、栽培種由来のこれらの対立遺伝子を持ったイントログレッション系統を作出した。これらの系統を用いて、脱粒強度測定、電子顕微鏡と樹脂切片を用いた離層形態の比較、屋外圃場における脱粒日数の測定、水田を利用した種子回収率調査を行い、脱粒性遺伝子における変異の相互作用を評価した。

### 4. 研究成果

新規脱粒性遺伝子座 *qSH3* の原因となる変異は、形質転換実験を行い遺伝子上の塩基置換が原因であることが明らかとなった。

続いて、*sh4* と *qSH3* における変異が離層形成に与える効果について明らかにするために、野生イネの遺伝的背景において、*sh4* のみ、または *sh4* と *qSH3* 座について栽培イネ(日本晴)の対立遺伝子を持つ系統を交配によって作出した。これら系統における脱粒に要する強度を測定したところ、*sh4* 座のみについて日本晴の対立遺伝子を持つ系統は野生イネ *O. rufipogon* W630 と同様にほぼ 0 g f

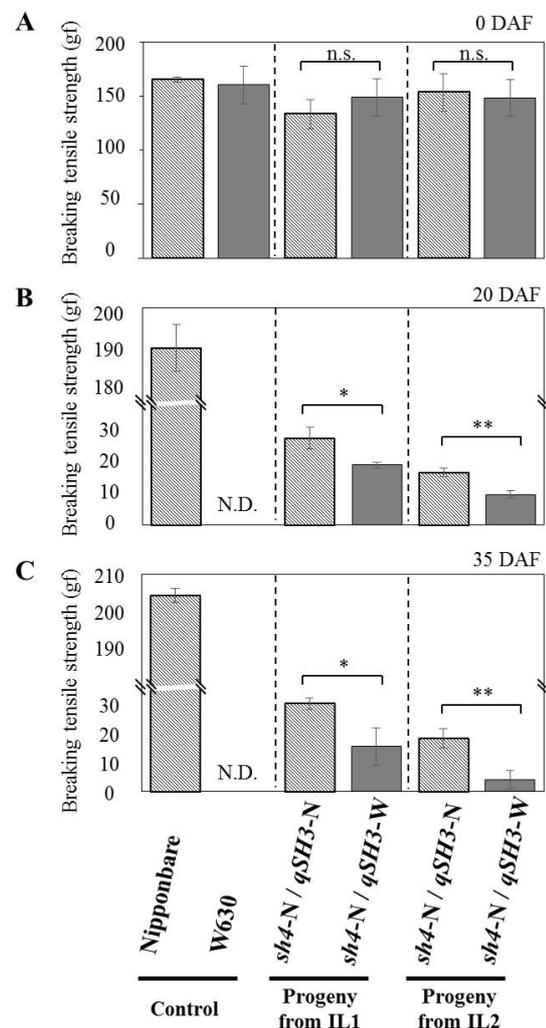


図1 野生イネ(*O. rufipogon* W630)の遺伝的背景において、2つの脱粒性遺伝子座(*sh4*と*qSH3*)を栽培イネ(*O. sativa* 日本晴)由来の対立遺伝子を含む染色体断片で置換した染色体断片置換系統における脱粒強度 (A; 0DAF, B; 20DAF, C; 35DAF)

に近い値を示したが、*sh4* と *qSH3* 座を共に日本晴由来の対立遺伝子で持つ系統では有意に高い脱粒強度を示した(図 1)。さらに、樹脂切片を用いて離層形態について調査したところ、野生イネ *O. rufipogon* W630 や *sh4* 座のみについて日本晴の対立遺伝子を持つ系統では完全な離層形成が見られたが、*sh4* と *qSH3* 座を共に日本晴由来の対立遺伝子で持つ系統では維管束周辺の離層形成が阻害されていることが判明した(図 2)。また、これらの系統については、電子顕微鏡を用いた観察も行い、*sh4* と *qSH3* 座における変異が重なった場合に維管束周辺の離層形成が阻害されていることを確認した(Inoue et al. 2015 Genes & Genetic Systems)。

また、脱粒性の喪失より以前に選抜されたと考えられる穂の開帳性の喪失(Ishii et al. 2013 Nature Genetics)に関わる *SPR3* 座と *sh4* と *qSH3* 座における変異の関連について評価を行った。穂が閉じた上で、*sh4* と *qSH3* 座における変異が重なると種子脱粒に要する日数はより長くかかることが判明し、また圃場を用いた種子回収実験においてもこれらの系統では同様に高い収穫率が見られた。

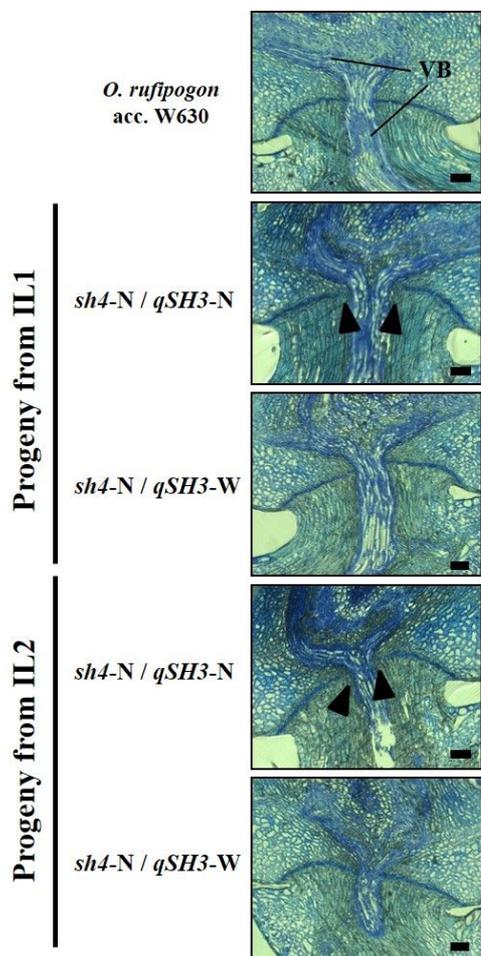


図2 野生イネ(*O. rufipogon* W630)の遺伝的背景において、2つの脱粒性遺伝子座(*sh4*と*qSH3*)を栽培イネ(*O. sativa* 日本晴)由来の対立遺伝子を含む染色体断片で置換した染色体断片置換系統における離層の縦断切片 VB, 維管束、Bars = 50  $\mu$ m.

以上、一連の実験から *qSH3* 座において生じた変異は *sh4* 座における変異と相互作用することによって、イネの非脱粒化につながった可能性を明らかにした。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計2件)

- (1) Ryo Ishikawa, Akinori Nishimura, Than Myint Htun, Ryo Nishioka, Yumi Oka, Yuki Tsujimura, Chizuru Inoue, Takashige Ishii (2017) Estimation of loci involved in non-shattering of seeds in early rice domestication. *Genetica* 145: 201-207. (査読有)  
DOI: 10.1007/s10709-017-9958-x.
- (2) Chizuru Inoue, Than Myint Htun, Kanako Inoue, Ken-ichi Ikeda, Takashige Ishii, Ryo Ishikawa (2015) Inhibition of abscission layer formation caused by an interaction of two seed-shattering loci, *sh4* and *qSH3*, in rice. *Genes & Genetic Systems* 90: 1-9. (査読有)  
DOI: 10.1266/ggs.90.1.

〔学会発表〕(計7件)

- (1) 辻村 雄紀, 井上 千鶴, Than Myint Htun, 西村 彬則, 杉山 昇平, 岡 佑美, 石井 尊生, 石川 亮  
インディカ型栽培イネ IR36 の非脱粒性を支配する新規遺伝子座の探索  
日本育種学会第 131 回講演会  
2017年3月29-30日 名古屋大学(愛知県)
- (2) 辻村 雄紀, Than Myint Htun, 沼口 孝司, 石井 尊生, 石川 亮  
ジャポニカ型栽培イネ(日本晴)の非脱粒性に関与した遺伝子座の推定  
日本育種学会第 130 回講演会  
2016年9月24-25日 鳥取大学(鳥取県)
- (3) 岡 佑美, 竹中 祥堯, 高間 菜摘, 井上 千鶴, Than Myint Htun, 辻村 雄紀, 石井 尊生, 石川 亮  
野生イネ *Oryza rufipogon* とインディカ型栽培イネ(カサラス)の戻し交雑集団を用いた種子脱粒性に関する新規遺伝子座の探索  
日本育種学会第 130 回講演会  
2016年9月24-25日 鳥取大学(鳥取県)
- (4) 岡 佑美, 井上 千鶴, Than Myint Htun, 竹中 祥堯, 辻村 雄紀, 石井 尊生, 石川 亮  
インディカ型栽培イネ Kasalath の脱粒性喪失に関与した新規遺伝子座の探索  
日本育種学会第 129 回講演会  
2016年3月21-22日 横浜市立大学(神奈川県)

- (5) 井上 千鶴, Than Myint Htun, 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と穂の開帳性の関係  
第 128 回講演会日本育種学会  
2015 年 9 日 11-12 日 新潟大学(新潟県)
- (6) 西村 彬則, Than Myint Htun, 井上 千鶴, 岡 佑美, 石井 尊生, 石川 亮  
インディカ型栽培イネ(*Oryza sativa* cv. IR36)における種子脱粒性の喪失に関与した遺伝子座数の推定  
日本育種学会 第 127 回講演会  
2015 年 3 月 21-22 日 玉川大学(東京都)
- (7) 井上 千鶴, Than Myint Htun, 井上 加奈子, 池田 健一, 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の相互作用と離層形態  
日本育種学会 第 126 回講演会  
2014 年 9 月 26-27 日 南九州大学(宮崎県)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

石川 亮 (RYO ISHIKAWA)  
神戸大学大学院・農学研究科・助教  
研究者番号：70467687

### (2) 連携研究者

池田 健一 (KEN-ICHI IKEDA)  
神戸大学大学院・農学研究科・准教授  
研究者番号：40437504