

令和 2 年 6 月 1 日現在

機関番号：17201

研究種目：基盤研究(B) (特設分野研究)

研究期間：2016～2019

課題番号：16KT0034

研究課題名(和文) 近縁種間の遺伝子循環による次世代植物資源の開発と持続的作物生産力の向上

研究課題名(英文) Improvement of sustainability for crop production and development of next-generation plant resource through gene circulation between relative species

研究代表者

藤田 大輔 (FUJITA, DAIUSKE)

佐賀大学・農学部・准教授

研究者番号：80721274

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、(課題1)として、国際稲研究所で維持されているアフリカイネ0.glaberrima 150系統に関して、次世代シーケンサーにより、全ゲノム領域の解読を行い、多数のSNP情報を検出した。(課題2)として、アフリカイネ150系統の生物的ストレス・収量関連形質の特性評価を行った。課題1で得られたSNP情報を用いてゲノムワイド関連解析により、これらの形質に関して関連する遺伝子座を複数検出した。(課題3)として、次世代植物資源を作出するために、インド型品種Peikuの不稔緩和系統と0.glaberrimaを交雑し、複数の交雑組み合わせにおいてBC1F1種子を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

研究成果で得られたアフリカイネ0.glaberrima150系統のゲノムワイドSNPにより、他の有用形質(耐病性、耐乾性、耐暑性など)に関してもゲノムワイド関連解析が可能となる。また、本研究では、収量関連形質(出穂性、分けつ数、脱粒性など)と耐虫性に関する遺伝的変異が確認され、関連する遺伝子座が推定された。ゲノムワイド関連解析から推定された各形質に関する遺伝子座の情報をもとに、遺伝子特定に向けた研究が促進する。これらの有用遺伝子が関連する領域が詳細に特定され、将来的に、アフリカイネやアジアイネの生産性改良へ貢献することが期待される。

研究成果の概要(英文)：In this study, there are three parts. (1) The whole genome sequence of 150 accessions of African rice (*Oryza glaberrima*) that is maintained in genetic resource center of International Rice Research Institute had been conducted through next-generation sequencer. A lot of SNPs are detected through whole genome sequence data. (2) The biotic stress and yield related traits on 150 accessions of African rice were characterized. The multiple gene loci for these characteristics were detected by Genome-wide association study based on SNP information. (3) To develop next generation plant resource, BC1F1 seeds from multiple cross combinations between indica rice line with mitigating sterility and African rice were developed.

研究分野：植物育種学

キーワード：イネ アフリカイネ 生殖的隔離 遺伝子循環 GWAS

1. 研究開始当初の背景

**アジア・アフリカにおける持続的作物生産性の問題と試み**

イネ (*Oryza sativa* L.) は、世界人口の約半数が主食としている主要作物であり、90%以上がアジアにおいて生産・消費されている。2035年までに、アジアではコメ生産量を1億1600万トン、アフリカでは3000万トン増産する必要がある。熱帯アジアでは、コメの生産量を増加するため、化学肥料の多投入による環境負荷や、除草剤・殺虫剤の大量散布による生態系の破壊の問題が生じている。今後、アフリカにおいて生産性の高いイネの栽培面積が広がることにより、アジアと同様に、化学肥料や農薬による環境や生態系への影響が懸念される。環境や生態系への影響を軽減しながら生産性を確保するには、遺伝資源が潜在的に保有する特性を最大限に活用することが1つの手段としてある。例えば、生物的ストレスに対しては、インド原産の在来品種 PTB33 が保有するトビイロウンカ抵抗性遺伝子 *Bph3* が、国際稲研究所での品種改良に利用されてきた。非生物的ストレスに対しては、インド原産の在来品種 FR13A 由来の冠水耐性遺伝子 *Sub1* を導入した品種が、洪水が多発する地域(インド・バングラデッシュ)において、急速に普及している(Bailey-Serres et al. 2010)。

栽培イネには、アジア栽培イネ *O. sativa* とアフリカ栽培イネ *O. glaberrima* があり、両者の栽培化は異なった野生種に起因する独立した歴史を持ち、多様な地理的環境に適応した遺伝的変異を保有している(Wang et al. 2014)。特に、*O. sativa* は熱帯アジアおよび温帯アジアを中心に栽培され、高収量および耐病虫性品種が多く開発されている。一方、*O. glaberrima* は、狭い緯度間にサバナ気候、熱帯モンスーン気候、熱帯雨林気候が連続する不安定な気候帯に生育し、高いアルカリ性および重金属土壌等の不良環境に対する耐性(不良環境耐性)や初期生育性、耐虫性、高温耐性(Li et al. 2015)を保有しているが、収量性は低い。アジア栽培イネは、収量が高く、良食味であり、多くの分野において研究が進められている。一方、初期生育性・耐虫性・不良環境耐性の有用な特徴を持つアフリカ栽培イネは、潜在的に持つそれらの特性が、品種改良や学術的な研究へ活用されていない。アフリカ栽培イネが品種改良や学術的な研究へ利用できない理由として、アジア栽培イネと交雑した後代から自殖種子を得ることができない(不稔性)ことによる生殖的隔離の問題がある。それゆえ、雑種集団の育成が困難であり、育種的利用や学術的な研究も進んでいない。

Wang et al. (2014) Nature Genetics 46: 982-988.

Li et al. (2015) Nature Genetics 47:827-833.

Bailey-Serres et al. (2010) Rice 3:138-147.

## 2. 研究の目的

### 持続的作物生産力の向上にむけた次世代植物資源の創出

研究グループでは、アジア栽培イネとアフリカ栽培イネの生殖的隔離の打破に向け、不稔緩和遺伝子等を利用した遺伝子を循環させる技術開発が進んでいる。不稔緩和遺伝子等を利用することで、アジア栽培イネとアフリカ栽培イネの特性を併せ持つ次世代植物資源の創出が可能となる。将来的に、アジアやアフリカ地域にて、創出した次世代植物資源の栽培試験を行い、品種改良や学術研究へ利用し、アジア・アフリカ地域の持続的生産性に貢献する。また、ゲノム情報を利用して、アフリカ栽培イネが保有する有用な特性を支配する遺伝子座を網羅的に検出する。栽培試験の基盤を形成するために、フィリピン国際稲研究所やカメルーンにおいて *O. glaberrima* 30 系統の栽培試験を行い、形質を評価する。

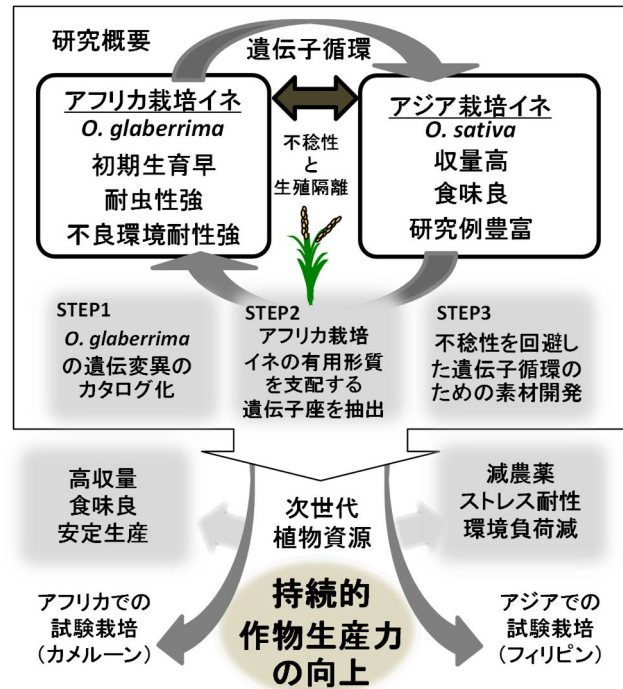


図1. 研究の概要と予想される効果と意義

## 3. 研究の方法

本研究は、4 研究機関(大学)の担当者の専門分野に従い、(課題1) *Oryza glaberrima* 150 系統のゲノムワイド SNP データベースの整備 (課題2)ゲノムワイド関連解析による有用形質を支配する遺伝子座(収量構成要素、生物的ストレス)の網羅的解析、(課題3)不稔性を回避した植物資源開発、の3つの段階に沿って行う。まず、150 系統のアフリカ栽培イネを用いて、次世代シーケンサーにより塩基配列を解読し、ゲノム全域を網羅する SNP を検出し、SNP データベースを構築する。構築したデータベースの活用によって収量性やストレス耐性に関連する有用形質の遺伝子座を網羅的に解析し、新規遺伝子座を検出する。また、不稔緩和系統を用いて戻し交雑集団を作出し、アフリカ栽培イネとアジア栽培イネの有用形質を併せ持つ次世代植物資源を開発する。さらに、研究期間内に、アジアではフィリピン(国際稲研究所) アフリカではカメルーンにて、次世代植物資源の作出に用いるアフリカ栽培イネの栽培試験を行う。

研究課題は以下の3 課題からなり、課題2には、課題2-1~2を設定した。

課題1 . *Oryza glaberrima* 150 系統のゲノムワイド SNP データベースの整備

課題2 . ゲノムワイド関連解析による有用形質を支配する遺伝子座の網羅的解析

小課題2-1: 収量構成要素関連形質の遺伝子座の網羅的探索

小課題2-2: 生物的ストレス耐性に関する遺伝子座の網羅的探索

課題3 . 不稔性を回避した植物資源開発

## 課題1 . *Oryza glaberrima* 150 系統のゲノムワイド SNP データベースの整備

国際稲研究所のジーンバンクで維持されている *O. glaberrima*150 系統を取り寄せる(フィリピンにある国際稲研究所からは SMTA を取り交わしたうえで、日本の植物防疫所による検査を通じて、日本へ種子を輸入する)。これらを代表者と分担者の各機関において短日条件下で栽培し、集団構造解析を行う。解析の結果と原産国(採取地)のデータから、国際稲研究所で維持されている *O. glaberrima* の遺伝変異を確認する。*O. glaberrima* の系統について、次世代シーケンサーにより、全ゲノムを網羅する SNP を探索する。全ゲノムの塩基配列を解読し、得られた塩基配列の信頼性を確認する。塩基配列データを既存の日本晴のゲノムと比較し、SNP データを取得する。

## 課題2 . ゲノムワイド関連解析による有用形質を支配する遺伝子座の網羅的解析

*O. glaberrima* に関する有用形質の評価データと SNP データを用いて、各有用形質に関する遺伝子座の網羅的な解析を行う。表現型と遺伝子型のデータから、*O. glaberrima* 集団内における有用形質に関する遺伝子座を検出する。

### 小課題 2-1 : 収量構成要素関連形質の遺伝子座の網羅的探索

*O. glaberrima* の収量関連形質の調査として、出穂、稈長、穂長、穂数、分けつ数、籾数、種子重量、難脱粒性の評価を行う。ポット栽培を行い短日条件下において開花を誘導する。

### 小課題 2-2 : 生物的ストレス耐性に関する遺伝子座の網羅的探索

*O. glaberrima* を用いて、トビロウカ抵抗性の評価を行う。トビロウカ抵抗性の評価に関しては、播種後1か月の植物体を用いて、抗生作用検定により、抵抗性強度を評価する。

## 課題3 . 不稔性を回避した植物資源開発

近縁種間の交雑により新しい変異を保有する植物資源を作出するために、不稔緩和系統と *O. glaberrima* を交雑し、 $F_1$  種子を作出する。Peiku 不稔緩和系統と *O. glaberrima* の  $F_1$  に Peiku 不稔緩和系統を戻し交雑し、 $BC_1F_1$  を作出する。また、作出した  $BC_1F_1$  集団を用いて、有用形質に関する遺伝解析を行う。

## 4 . 研究成果

本研究は、4 研究機関(大学)の専門分野に従い、(課題1) *O. glaberrima* 150 系統のゲノムワイド SNP データベースの整備 (課題2)ゲノムワイド関連解析による有用形質を支配する遺伝子座(収量構成要素、生物的ストレス)の網羅的解析、(課題3)不稔性を回避した植物資源開発、の3つの段階に沿って行っている。

(課題1)として、国際稲研究所のジーンバンクで維持されている *O. glaberrima* 150 系統を取り寄せた(フィリピンにある国際稲研究所からは SMTA を取り交わしたうえで、日本の植物防疫所による検査を通じて、日本へ種子を輸入した)。これらの材料を短日条件下で栽培し、それらの系統から DNA を抽出し、次世代シーケンサーを用いて、集団構造の解析をおこなった。大きく分けて3つの集団に分けられたが、遺伝的変異は、アジアイネと比較して狭いと推定された。また、*O. glaberrima* 150 系統に関して、全ゲノムの塩基配列解読を行い、得られたデータの信頼性を確認した。日本晴と *O. glaberrima* 150 系統のゲノム配列情報を比較し、多数の SNP を検出した。

(課題2)として、生物的ストレス耐性の試験を行うためには、大量の種子が必要となるため、*O. glaberrima* 150系統の種子増殖を行った。さらに、収量構成要素関連形質の遺伝子座の網羅的探索するために、*O. glaberrima*の収量関連形質の調査として、出穂、稈長、穂長、穂数、分げつ数、穂構造、脱粒性の調査を行った。調査した結果、*O. glaberrima*には、感光性や穂長に関してある程度の変異がみられた。また、稈長、穂数に関しては、系統間においてあまり違いが見られなかった。また、初期の分げつ数変動に関しては、系統間で明確な違いが見られた。一般的に、*O. glaberrima*の初期生育性が良いと言われているが、ある特定のグループがもつ特性である可能性がある。穂構造の解析では、1次しこう数が数本~25本以上と多様な変異がみられた。ほぼすべての*O. glaberrima*は、2次しこう数が少ないことは共通していたが、籾数に関しては幅広い変異が見られた。*O. glaberrima*の脱粒性に関しては、系統間である程度の変異が見られ、基本的にSH4の部分に変異があり、それにより非脱粒性を獲得している傾向が見られた。

さらに、生物的ストレス耐性の特性評価を行った。イネの害虫であるトビイロウンカ抵抗性に関して検定を行ったところ、5系統において、ある程度抵抗性を示す系統が見られた。*O. glaberrima*由来のトビイロウンカ抵抗性に関する報告はほとんどなく、新規トビイロウンカ抵抗性遺伝子を保有することが期待される。150系統のSNP情報を用いて、ゲノムワイド関連解析により、これらの複数の形質に関して関連する遺伝子座を多数検出したが、大きな効果がある遺伝子座はみつからなかった。

(課題3)として、近縁種間の交雑により新しい変異を保有する植物資源を作出するために、インド型品種Peikuの不稔緩和系統と*O. glaberrima*を交雑し、複数の交雑組み合わせにおいてBC1F1種子が得られた。また、不稔緩和系統のみでは、不稔率を改善できず、有用遺伝子を特定するための集団作出には限界があったため、*O. glaberrima*同士の交雑を行いF2集団の種子を得た。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Koide Yohei, Ogino Atsushi, Yoshikawa Takanori, Kitashima Yuki, Saito Nozomi, Kanaoka Yoshitaka, Onishi Kazumitsu, Yoshitake Yoshihiro, Tsukiyama Takuji, Saito Hiroki, Teraishi Masayoshi, Yamagata Yoshiyuki, Uemura Aiko, Takagi Hiroki, Hayashi Yoriko, Abe Tomoko, Fukuta Yoshimichi, Okumoto Yutaka, Kanazawa Akira	4. 巻 115
2. 論文標題 Lineage-specific gene acquisition or loss is involved in interspecific hybrid sterility in rice	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 PNAS	6. 最初と最後の頁 E1955 ~ E1962
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1073/pnas.1711656115">https://doi.org/10.1073/pnas.1711656115</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Nguyen Giao Ngoc, Yamagata Yoshiyuki, Shigematsu Yuko, Watanabe Miyako, Miyazaki Yuta, Doi Kazuyuki, Tashiro Kosuke, Kuhara Satoru, Kanamori Hiroyuki, Wu Jianzhong, Matsumoto Takashi, Yasui Hideshi, Yoshimura Atsushi	4. 巻 7
2. 論文標題 Duplication and Loss of Function of Genes Encoding RNA Polymerase III Subunit C4 Causes Hybrid Incompatibility in Rice	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 G3	6. 最初と最後の頁 2565 ~ 2575
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1534/g3.117.043943">https://doi.org/10.1534/g3.117.043943</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	山形 悦透 (Yoshiyuki Yamagata)  (00600446)	九州大学・農学研究院・准教授  (17102)	
研究分担者	石川 亮 (Ryo Ishikawa)  (70467687)	神戸大学・農学研究科・准教授  (14501)	

## 6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	小出 陽平  (Yohei Koide)  (70712008)	北海道大学・農学研究院・助教       (10101)	