

令和 3 年 6 月 26 日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02191

研究課題名(和文) イネの開花時刻に関わる分子制御機構の解明

研究課題名(英文) Study on the molecular control of flower opening time in rice

研究代表者

石丸 努 (Ishimaru, Tsutomu)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・中央農業研究センター・上級研究員

研究者番号：40414635

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,700,000円

研究成果の概要(和文)：近年の温暖化傾向に伴い、世界的に高温不稔を軽減する作物の開発が喫緊の課題となっている。本研究では開花時刻を気温の低い早朝の時間帯に調節することで高温不稔を回避することのできるイネの品種開発を目指し、早朝開花性を決定する遺伝子の単離を試みた。遺伝子の特定までには至らなかったものの、ゲノム編集技術によりある遺伝子の機能を喪失させると開花パターンが著しく変化することが明らかとなり、有力な早朝開花性の原因遺伝子を見出すことに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでに同じ“開花”というキーワードでは、開花期(出穂期)に関する研究が先行しており、イネの開花期を決定する遺伝子として、OsGI、Hd1、Hd3a等、多数の遺伝子が特定され、分子レベルでの遺伝子ネットワークの機構解明が進められている。今回の研究で、地球温暖化の中で高温不稔発生を軽減する重要な形質である早朝開花性を決定する遺伝子の有力候補が初めて見出され、将来的に開花時刻を受精に有利な時刻帯に調節し、高温条件でも生産性の低下しにくい穀物の開発につながる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Genetic improvement of heat-resilience is one of the key requirements for enhancing global food security to tackle the increasing episodes of heat stress damage on crop production. This study attempts to identify the genes for early-morning flowering (EMF) trait in rice, which can mitigate heat-induced spikelet sterility at flowering by adjusting flower opening time at cooler morning hours. We were not able to achieve the identification of the gene responsible for EMF traits during the project term. By employing the genome editing technique, we are successfully found the mutant line that drastically changed flower opening time due to the loss of gene function.

研究分野：作物学

キーワード：イネ 開花時刻 早朝開花性 高温不稔 遺伝子単離

## 1. 研究開始当初の背景

近年の温暖化傾向に伴い、世界的に高温不稔を軽減する作物の開発が喫緊の課題となっている。イネでは開花期に高温に対する感受性が最も高く、開花時に1時間でも34以上の高温にさらされると不稔が発生することが知られている。一方で、開花1時間後の受精を完了した時点でイネはかなりの高温耐性を獲得でき、高温にさらされても不稔を発生しない。そのため開花時刻を気温の低い時間帯、つまり早朝や深夜に調節することで、将来の温暖化に適応したイネが開発できることが提唱されてきた。

しかしながら、開花時刻の変異に関する遺伝資源は分かっているものの、開花時刻の遺伝的制御や生理メカニズムの知見は皆無である。研究代表者のグループは野生種 *Oryza officinalis* の早朝開花性を栽培種に導入した早朝開花性系統 IR64+qEMF3 を世界で初めて育成しており、開花調節の分子メカニズムを解明するためのユニークな研究材料を有している。

## 2. 研究の目的

本研究では「なぜイネの近代品種と野生種では開花時刻が大きく異なるのか」といった学術的な問いを設定し、第一に栽培種との開花時刻の差が大きい野生種をモデルケースとして、*O. officinalis* の早朝開花性を決定する遺伝子を単離することで、近代品種と野生種の遺伝的な開花時刻制御機構を明らかにする。また栽培種と野生種の開花時刻の差異には、当該遺伝子の塩基配列の変異に起因する開花特性や、開花のキーとなる組織の代謝生理あるいは形態的特徴の違いが大きく関わっていることが想定される。開花特性については、早朝開花性のドナーである *Oryza officinalis* は自然界では日陰を好んで生息するため、開花の光環境に対する感受性が栽培種と大きく異なる可能性も考えられる。開花に向かって葯の花粉中に存在するデンプンは糖化され、鱗被は大量の水を引き込み、急激に膨張することで物理的に開穎を引き起こすことが知られている。またこれまでに開花のキーとなる組織が開花日の時刻別にどのような代謝生理の過程を経て開花に至るのかは明らかになっておらず、早朝開花化による穎花の代謝生理の違いも明らかになっていない。本研究では早朝開花性を決定する遺伝子の単離とともに、早朝開花性系統 IR64+qEMF3 の開花特性や穎花の各器官の代謝生理・形態的特徴の違いを栽培種 IR64 と比較解析する。

## 3. 研究の方法

### (1) 早朝開花性を決定する遺伝子の単離

原因遺伝子の同定に向けて、ゲノム編集を用いた早朝開花候補遺伝子変異体の作出・特徴付け、および早朝開花系統の BAC ライブラリ作製を実施した。具体的には IR64+qEMF3 を用いてゲノム編集による候補遺伝子の機能を喪失した突然変異体系統を作出し、開花時刻の変化を観察した。

### (2) 早朝開花性系統 IR64+qEMF3 の異なる光環境下における開花特性

開花時刻を決定する植物体の器官を特定するために、剪葉処理や暗室・明室での光処理の時間を変えて IR64 と IR64+qEMF3 の開花時刻の変化を観察した。

### (3) 穎花の各器官の形態的特徴

開花のキーとなる葯については、花粉の糖化過程をヨウ素ヨードデンプン反応により開花日の時刻別に観察し、鱗被については開花日の時刻別に組織を分離し新鮮重を測定した。また外穎・内穎の引っ掛かりの部分に当たる「鈎合部」を実態顕微鏡下で観察した。

### (4) 穎花の各器官の代謝産物測定

開花日の穎花全体に加え、穎(外穎+内穎)・葯・鱗被を開花時刻別に分離し、キャピラリー電気泳動-質量分析計(CE-MS)、液体クロマトグラフィー-質量分析計(LC-MS)を用いて代謝産物を測定した。

## 4. 研究成果

### (1) 早朝開花性を決定する遺伝子の単離

候補遺伝子の機能を喪失した IR64+qEMF3 背景の突然変異系統では開花時刻が変化した。今後はこの突然変異体系統が具体的に穎花のどの器官にどのような影響を及ぼしているのか、詳細な生理的・形態的な研究が必要である。

### (2) 早朝開花性系統 IR64+qEMF3 の異なる光環境下における開花特性

剪葉処理をした植物体でも開花時刻に変化がないことから葉身は開花のための光の感受器官ではないことがまず明らかとなった(図1)。また剪葉処理した植物体の穂と茎をそれぞれ別々に明室と暗室にさらしたところ、穂が明室にある場合は対照区(穂も茎も明室)と同じ開花時刻を示したことから、開花のための光感受器官は穂であることが明らかとなった(図2)。さらに通常の品種は暗室では開花しなかったのに対し、IR64+qEMF3 では暗室でも半分の穎花が開花に至り残りの半分の穎花は閉花受粉するなど、通常品種 IR64 とは明らかに異なる開花特性を見出し

た。通常の品種 IR64 でもある一定時間暗室に置いておくと、翌日は IR64+*qEMF3* と同じ早朝開花性を示すようになり（図 3）光環境による開花時刻の変動は多様であることが示唆された。今後は *qEMF3* の遺伝的要因により早朝に開花する穎花と光環境（暗闇）により翌日に早朝開花を示すようになる IR64 の穎花で、分子機構がどのように違うのかを明らかにする必要がある。

### （3）穎花の各器官の形態的特徴

花粉の糖化過程と外穎・内穎の引っ掛かりの部分に当たる「鉤合部」の形態については、IR64 と IR64+*qEMF3* で大きな違いは見られなかった。鱗被の新鮮重は開花時に急激に重くなり、開花時刻が早いことに対応して IR64+*qEMF3* で鱗被の新鮮重が重くなっていた。開穎から 30 分後には鱗被は急激に縮小し、新鮮重も小さくなっていった。これらの結果より、IR64+*qEMF3* の早朝開花性には早い時刻での鱗被の膨張が関わっていることが関係しており、鉤合部の形態変化により開穎しやすい構造になっているわけではない、ということが明らかとなった。IR64+*qEMF3* でも花粉の糖化が十分に進んでおり、早い時刻の開花でも花粉は正常な受精が行える状態になっていると考えられた。

### （4）穎花の各器官の代謝産物測定

アミノ酸、有機酸、糖類の多くの物質で穎花の部位や系統間差によらず時間による物質濃度の変化が大きく確認された。開花当日の早朝から開花時刻までの物質変動パターンは、IR64+*qEMF3* が IR64 よりも早い時間帯で蓄積（穎でのグリシン、鱗被のアラニン等）した。アミノ酸、有機酸、糖類の開花時の物質変動パターンは IR64+*qEMF3* および IR64 で同等であるが開花イベントの早朝化に伴い物質蓄積のタイミングも早くなったと考えられた。

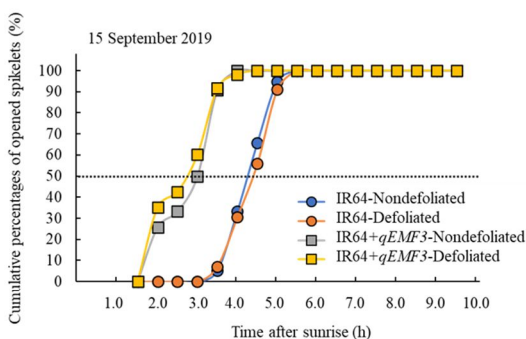


図1. 剪葉区(Defoliated)と無処理区(Nondefoliated)のIR64とIR64+*qEMF3*の開花パターン。  
図1-3の縦軸は1日の積算の開花率を示す。

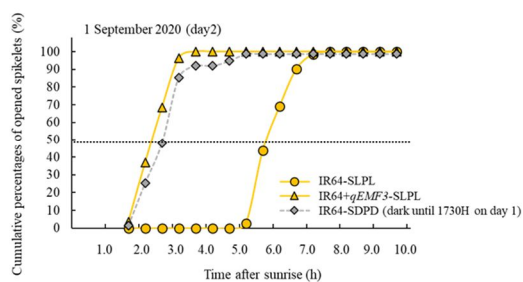


図3. 調査前日に17:30まで穂と茎を暗室にさらしていたIR64 (IR64-SDPD)の調査当日の開花パターン。  
比較のため調査前日に穂と茎を明室にさらしていたIR64 (IR64-SLPL)とIR64+*qEMF3* (IR64+*qEMF3*-SLPL)の開花パターンも同時に調査した。

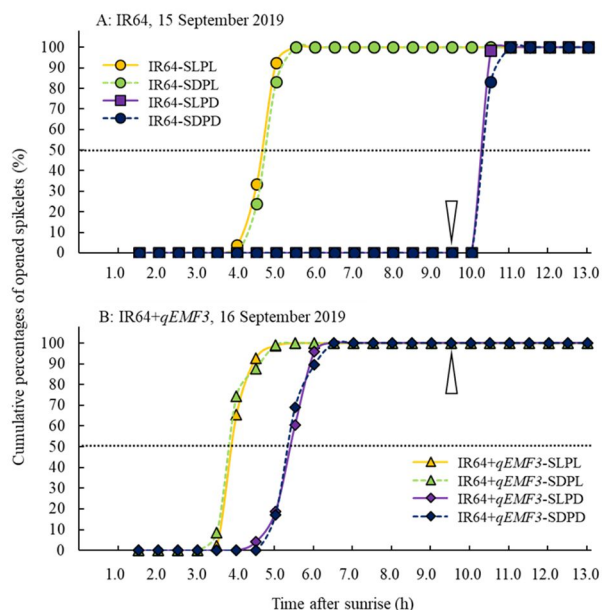


図2. 茎と穂の両方あるいは片方を明室や暗室にさらした光処理区のIR64とIR64+*qEMF3*の開花パターン。  
SLPLは茎と穂の両方を明室にさらしている光処理区。  
SDPLは茎を暗室に、穂を明室にさらしている光処理区。  
SLPDは茎を明室に、穂を暗室にさらしている光処理区。  
SDPDは茎と穂の両方を暗室にさらしている光処理区。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Ishimaru T, Sasaki K, Nozaki I, Ichihashi M, Shimizu H, Wakayama M, Hirabayashi H	4. 巻 13
2. 論文標題 Effect of the light and dark conditions on flower opening time between cultivated rice ( <i>Oryza sativa</i> L.) and a near-isogenic early-morning flowering line	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 AoB plants	6. 最初と最後の頁 受理
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 石丸 努, 佐々木和浩, 野崎育雄, 市橋正則, 清水宏彰, 若山正隆, 平林秀介
2. 発表標題 光環境によるイネの開花時刻の変化
3. 学会等名 日本作物学会第250回講演会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Changrong Ye, Xiaolin Li, Edilberto Redona, Tsutomu Ishimaru, Krishna Jagadish	4. 発行年 2021年
2. 出版社 Springer-Nature	5. 総ページ数 18
3. 書名 Genetics and Breeding of Heat Tolerance in Rice	

〔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	若山 正隆  (Wakayama Masataka)  (20721913)	慶應義塾大学・政策・メディア研究科(藤沢)・特任講師    (32612)	

6. 研究組織（つづき）

	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	石崎 琢磨  (Ishizaki Takuma)  (30442718)	国立研究開発法人国際農林水産業研究センター・熱帯・島嶼 研究拠点・主任研究員    (82104)	
研究分担者	佐々木 和浩  (Sasaki Kazuhiro)  (70513688)	国立研究開発法人国際農林水産業研究センター・生物資源・ 利用領域・任期付研究員    (82104)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関