

平成22年 6月21日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2009

課題番号：19580020

研究課題名（和文） 台風による倒状に対する耐性メカニズムの解明

研究課題名（英文） Function of QTL for rice lodging resistance in a typhoon

研究代表者

石丸 健（ISHIMARU KEN）

独立行政法人農業生物資源研究所・光環境応答研究ユニット・主任研究員

研究者番号：80370641

研究成果の概要（和文）：台風における耐倒伏性を高める QTL (Lrt5) の持つ生理学的な機能の解明並びに染色体上領域の矮小化を目的として研究を行った。コシヒカリとカサラスの Lrt5 を有す染色体部分置換系統 (S1) の比較から、Lrt5 は止葉下第一葉の老化の遅延により炭水化物を蓄積させ茎の強度が高める。その結果、台風による倒伏の起因となる茎の折れ曲がりが発生せず、耐倒伏性を高めることを明らかにした。加えて表現型と遺伝子型の判別結果から Lrt5 の染色体上の領域を約 4.6cM に絞り込んだ。

研究成果の概要（英文）：We demonstrated the new target for lodging resistance in rice (*Oryza sativa* L.) by the analysis of physiological function of a locus for lodging resistance in a typhoon (Lrt5) with the near isogenic line under rice “Koshihikari” genetic background. The weight of the buckled upper plant parts increased the pressure on adjacent plants and caused a domino effect in “Koshihikari”. The rigidity of the upper culm by the higher starch content (as a result of delayed senescence in the upper leaves) may be responsible for the higher lodging resistance during a typhoon in rice. Additionally, linkage mapping allowed us to map the Lrt5 region to 4.6cM.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：作物学・雑草学

キーワード：イネ、コシヒカリ、倒伏、QTL

1. 研究開始当初の背景

イネの栽培地域では台風が発生しやすく、毎年多大な被害が引き起こされている。被害を軽減するために、台風による倒状に耐性を持

つ品種の作出が望まれている。しかしながら、台風に対する倒状耐性を決定する遺伝生理学的メカニズムに関する情報はほとんど無く、改良すべきターゲットは明らかにされていなかった。台風における強風と雨による倒

伏は、その状況から転び型倒伏（以下倒伏と記す）と見なされる。通常的环境条件下において、草丈の矮小化、強稈化が耐倒伏性向上に向けたターゲットされてきた。15年度につくばを通過した台風15号の被害調査をもとに、BILsを用いてQTL解析を行った。その結果、台風に対する耐倒伏性に関与する3個のQTLを位置づけた。その中で染色体5番上に見出されたQTL(Lrt5)は、カサラス型になることでコシヒカリの耐性を高める作用を持っていた。このQTLは、草丈並びに稈の太さには影響を及ぼさず耐倒伏性を高めていた。台風に対する倒伏耐性を決定する遺伝生理学的メカニズムに関する情報を得るためにLrt5の機能を解明することが望まれていた。また、通常イネ等の植物における遺伝子型判別には、SSRやCAPSマーカーが用いられてきたが、PCR後に泳動を行う必要があり、多大な時間と労力を要するため、領域の矮小化等の多くのサンプルを判別することには適していない。加えてマーカーの設定において自由度が低い等の欠点があり、新たな遺伝子型判別方法の確立が求められていた。

2. 研究の目的

台風に対する倒伏耐性を決定する遺伝生理学的メカニズムについては改良すべきターゲットを明らかにすることが本研究の目的であり、台風における耐倒伏性に関与するQTLを有すS1を用いて、耐性を決定する要因の遺伝生理学的な解明を行った。具体的にはコシヒカリの倒伏していく経過を詳細に調査し、倒伏を引き起こす原因となった形態的な変化に加え生理学的な解析を行い、S1とコシヒカリの耐倒伏性の差異を決定する要因を明らかにした。加えてS1にコシヒカ리를バッククロスしたF1の自殖後代(BC1F2)系統の表現型マーカーによる判別と遺伝子型解析の結果から、Lrt5の原因遺伝子の染色体上の存在領域の矮小化を行った。また、矮小化を行うためには、大量個体の遺伝子型判別が必要であったが、既存の方法ではLrt5の判別に適してなかったため、新たな方法の確立を試みた。

3. 研究の方法

(1) 台風に対する耐倒伏性の弱いコシヒカリと耐性の強いS1を田圃で栽培し台風による耐性を観察した。また詳細な解析を行い、耐倒伏性を引き起こす生理学的な要因を解析した。研究を通じて台風に対する耐倒伏性を決定するメカニズムの解明を行った。
 (2) 遺伝学的な手法を用いて関与する染色体領域を矮小化するためには、多数のBC1F2系統を解析する必要がある。台風に対する耐倒伏性に関して、多数の系統を同じ環境下で評価することは非常に難しく現実的に不可能

である。そのため機能研究の成果を用いて、台風による倒伏に対する耐性を事前に判別することが可能な形質（表現型マーカー）の特定を行った。

(3) 一塩基多型(SNPs)の判別による遺伝子型判別方法の確立に向けて、アレル特異的PCRの原理を基にしてイネに最適なプライマーの設計条件並びに泳動せずに判別するための検出方法を詳細に検討し、最適な条件を特定した。

(4) 確立した遺伝子型判別方法と表現型マーカーを用いて、Lrt5の領域の矮小化を行った。

4. 研究成果

(1) S1の台風に対する耐倒伏性

本研究では、台風に対する耐倒伏性遺伝子座(Lrt5)を導入した染色体置換系統(S1)を用いて、イネの台風に対する耐倒伏性を決定する要因の特定を行った。コシヒカリは台風通過後、約半分の個体が完全に倒伏し、数日後には完全に倒伏した。一方S1では、一部の植物体が傾いたが、数日経った後も倒伏は見られなかった(図1)。

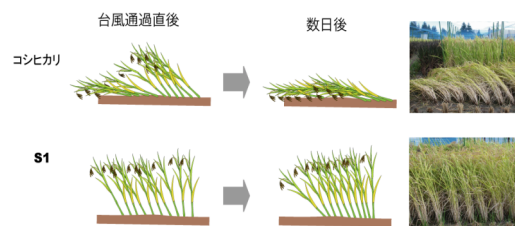


図1. コシヒカリとS1の台風による耐倒伏性

(2) 台風により倒伏が発生するメカニズム

台風による強風並びに雨により、コシヒカリでは第1節の茎が折れ曲がり、近隣の個体にもたれ掛かる。もたれ掛かられ耐えられなくなった個体は倒伏し、更に近隣の個体にもたれかかる。この繰り返しの結果により、倒伏がドミノ状に発生していた。一方、S1では上部の折れ曲がり並びに倒伏が見られなかった。このことから、第1節の茎が折れ曲がること、台風による倒伏の原因であると推測された。

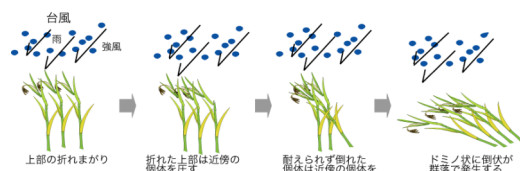


図2. 台風による倒伏発生メカニズム

(3) S1 とコシヒカリの茎の強度の差異とその要因

収穫時期の茎を観察したところ、止葉下第一葉の茎において、S1 は緑色であったがコシヒカリの茎は老化していた(図 3)。また、コシヒカリの茎は節で折れ曲がっていた。一方の S1 の茎には真っ直ぐであった。イネ等の植物の茎の堅さは弾性応力の指標となるヤング率により評価される。ヤング率を用いて、収穫時期の第 1 節の茎の強度の比較を行った。その結果、S1 ではコシヒカリに比べ有意に高い値を示した。

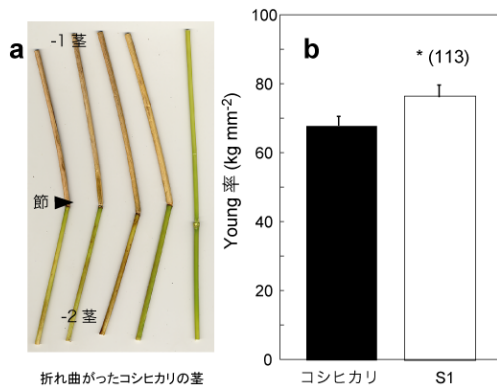


図 3. S1 とコシヒカリの茎 (a) とヤング率 (b) ((a) の右端に有る真っ直ぐな茎は S1 のもの)

S1 とコシヒカリ間に茎の太さ等の形態的特性には違いは見られなかった。茎の構成物質であるリグニン、セルロース並びにケイ酸含量はコシヒカリに比べ S1 では低い値を示した。茎に含まれる炭水化物(スターチ)量は約 5 倍に増加していた。これらの結果から、S1 では炭水化物の蓄積量が増加することにより、茎の強度が高まる。その結果、倒伏の原因となる茎の折れ曲がりが発生せず、耐倒伏性が向上すると考えられた。

(4) 炭水化物の蓄積と茎の強度の関係

炭水化物の蓄積と茎の強度の関係を明らかにするために、出穂前に止葉下第一葉を様々な大きさに切除し、炭水化物蓄積量を変化させた。茎に含まれる炭水化物含量は葉の切除に伴い減少した。炭水化物含量とヤング率による茎の折れまがりの強さの評価結果間には高い正の相関($r=0.92$)が見られた(図 3)。これらの結果は、茎における炭水化物の蓄積量が増加することにより、折れまがりの強度が高まることを示している。

S1 の止葉下第一葉において老化の指標であるクロロフィル含量は、コシヒカリに比べ有意に高く約 1.3 倍であった。S1 では第一葉の老化が遅く光合成特性が維持されることで、茎の炭水化物蓄積量が増加し曲げ特性が高く維持され(台風による倒伏の起因が抑え

られ)、台風による耐倒伏性を高めると考えられた。

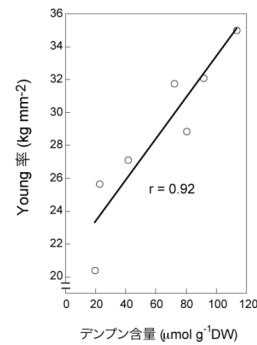


図 4. デンプン含量とヤング率の関係

(5) Lrt5 の領域の矮小化と遺伝子型判別方法の確立

S1 にコシヒカリをバッククロスして得られた F1 の自殖後代系統 BC1F2 を田圃に栽培し、SPAD を用いて収穫時期の第一葉の老化特性(表現型)を評価した。表現型と一塩基多型マーカーを用いた BC1F2 の遺伝子型の判別結果から Lrt5 の染色体上の領域を DNA マーカー S1919 と S0575 の間(約 20cM)に絞り込んだ。

絞り込んだ Lrt5 の領域中に、SSR や CAPS マーカーを設定することは困難であり、更に領域を狭めるには異なる方法を用いて遺伝子型判別を行う必要があった。研究の第一歩として、一塩基多型(SNPs)をマーカーにした判別方法の確立を試みた。アレル特異的 PCR の原理を基にしてイネに最適なプライマー設定の方法を詳細に検討し、最適な条件を特定した。また、syber green を用いて泳動せずに判別する方法(ASP-array 法)を確立した。確立した方法による遺伝子型判別と第一葉の老化による表現型解析結果の比較から、Lrt5 の領域の矮小化をマーカー L10008 と S0068 間の 4.6cM に矮小化した。

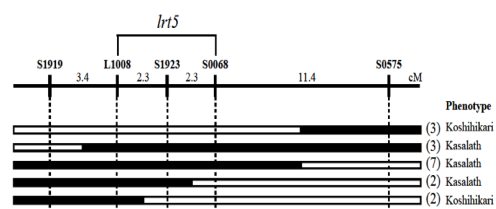


図 5. Lrt5 の領域の矮小化

本研究の遂行により、台風に対するイネの耐倒伏性を決定する遺伝生理学的な要因が明らかになった。コシヒカリと比較して、S1 では収量特性及び米の品質に差異が見られ

ないことから、Lrt5の実用性は高いと考えられた。また、イネにおいて耐倒伏性の向上に向けた育種では、短稈化が主要なターゲットとされてきた。近年、イネの籾量を削減したバイオ燃料の生産が計画されている。短稈化は籾量を減少させるため、短稈化に換わる新たな耐倒伏性ターゲットが望まれている。本研究における S1 の持つ耐倒伏性の作用要因の解析により、現在知られている耐倒伏性の3つのターゲット（短稈化、強稈化、バランス保持力の向上）と異なる新たなターゲット（第一葉の老化の抑制）を提示することができた。加えて本研究において台風のような強い風雨でもゲノム育種により耐倒伏性を高めることが可能であることを示す結果を得た。研究成果は耐倒伏性を持つ新品種の作出に寄与すると考えられた。また、本研究で確立した SNP を用いた遺伝子型判別方法（ASP-array 法）は、マーカー設定の自由度が高いことに加え、判別に特別な機器や特殊なプライマーを必要としないため、初期経費や運営コストが安く、応用可能性が高い。そのためイネのみならず他の生物の遺伝子型判別において広く利用が可能であると考えられた。台風によるイネ倒伏の被害は日本のみならず、世界中で発生している。本研究の成果は、耐倒伏性品種の作出に繋がる基礎研究として高く評価されることが期待できる。

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3件）

- ① Ken Ishimaru, Eiji Togawa, Taiichro Ookawa, Takayuki Kashiwagi, Yuka Madoka, Naoki Hirotsu, New target for rice lodging resistance and its effect in a typhoon, *Planta*, 査読有, Vol. 227, 2008, 601-609
- ② 廣津直樹, 柏木孝幸, 円 由香, 石丸 健, バイオマスエネルギー生産に向けたイネ草丈の制御, *日本作物学会紀事*, 査読有, Vol. 76, 2007, 501-507
- ③ Naoki Hirotsu, Naomi Murakami, Takayuki Kashiwagi, Kazuhiro Ujiie, Ken Ishimaru, Protocol: a simple gel-free method for SNP genotyping using allele-specific primers in rice and other species, *Plant Methods*, 査読有, in press

〔学会発表〕（計1件）

- ① 廣津直樹, 柏木孝幸, 石丸 健, ASP アレイを用いたコシヒカリの準同質遺伝子系統の選抜とその生理解析, *日本作物学会第225 会講演会*

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石丸 健 (ISHIMARU KEN)
農業生物資源研究所・植物科学研究領域・主任研究員
研究者番号：80370641

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：