

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 4 日現在

機関番号：12201

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K18632

研究課題名(和文) イネ倒伏抵抗性改良に向けた稈の物理強度劣化抑制メカニズムの解明

研究課題名(英文) Clarification of the control mechanism of culm physical deterioration for improvement of lodging resistance in rice

研究代表者

柏木 孝幸 (Kashiwagi, Takayuki)

宇都宮大学・農学部・准教授

研究者番号：40595203

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：イネの倒伏抵抗性向上を目的として、上位部稈における物理強度劣化を抑制するBSUC11の機能を解析した。染色体断片置換系統を戻し交雑した後代系統から選抜したNIL-BSUC11とコシヒカリを比較した結果、コシヒカリでは出穂から4週目以降に稈の物理強度が低下するのに対し、NIL-BSUC11は物理強度を高く維持していた。さらに同時期にコシヒカリでは稈内ホロセルロース含量の低下が確認され、これに対しBSUC11はホロセルロース含量を高く維持していた。BSUC11領域の矮小化のためにQTL解析を実施した結果、4つの候補領域のうち1つの領域のみが複数年検出され、その領域を700kbpまで矮小化した。

研究成果の概要(英文)：To improve rice lodging resistance, this study analyzed the function of BSUC11 for the control mechanism on physical deterioration in the upper culms. The near isogenic line containing BSUC11 region with Kasalath genotype (NIL-BSUC11) was selected from backcrossed progenies of the chromosomal segment substitution line developed between Koshihikari and Kasalath. Koshihikari showed decreasing the physical strength of upper culms after 4 weeks from heading, but NIL-BSUC11 remained high physical strength until 6 weeks after heading. In addition, Koshihikari decreased holocellulose content with the culm physical deterioration, while BSUC11 contributed to keep high content of holocellulose. As the result of narrowing BSUC11 region by the analysis of quantitative trait loci with using the backcrossed progenies, only one locus, BSUC11d, in four candidate regions was detected in two years, which was localized within 700-kbp.

研究分野：作物学

キーワード：イネ 倒伏抵抗性 QTL ホロセルロース

### 1. 研究開始当初の背景

イネ生産において倒伏は品質と収量を低下させ、収穫時の仕事量増加を引き起こす。競争力のあるイネ生産実現には高品質・高収量・易栽培性の品種が必要であり、これらを低下させる倒伏は重要な問題の1つである。また食用以外で飼料やバイオエタノール生産を目的としてイネを用いる場合でも、高い草丈を有する高バイオマス品種が必要となるため倒伏抵抗性は不可欠な形質である。倒伏抵抗性の改良には短稈化、強稈化、支持力強化の方法があり、これまでの品種改良では短稈化が重要視されてきた。高収量、高バイオマスを目的とした品種改良では上位部モーメントの増加から倒伏のリスクが増大するが、短稈化による解決はソース能と乾物生産量低下を招くため必ずしも適していない。そのため、強稈化や下位部の支持力強化を目的とした植物体物理的強度の改良が重要となる。

倒伏抵抗性の改良や機能メカニズムの解明のため、倒伏抵抗性に関する形質の遺伝的要因の研究が盛んに行われている。これまでの研究により、イネの倒伏抵抗性改良に向けた強稈化や支持力強化に関する遺伝的要因がいくつか明らかになっている。強稈化には稈の形態が関与し、重要な要因の1つである稈径に關する量的形質遺伝子座(QTL)解析により見いだされた *sdm8* は、稈壁厚を増加させて物理的強度を高めることが報告された(Kashiwagi et al., Theoretical and Applied Genetics, 2008)。この他にも Okawara (Nature Communications, 2010) によって報告された *SCM2* や Ishimaru (Planta, 2008) によって報告された *Lrt5* 等、強稈に關する QTL がいくつか発見されており、これらの利用により強稈性を有する品種の育成が可能である。一方で下位部の支持力に關する遺伝学的研究は少ない。その中で上位部を切除して押し倒し抵抗を測定する下位部の押し倒し抵抗を指標として、下位部の支持力に關する QTL (*pr15*) が発見されている(Kashiwagi and Ishimaru, Plant Physiology, 2004)。*pr15* は出穂以降の葉身の老化を遅らせ、登熟後の稈に非構造性炭水化物を再蓄積し、下位部の支持力を強化する機能を有しており(Kashiwagi et al., Plant Physiology and Biochemistry, 2006)、さらにこの作用は施肥量を増加させても維持されることから、多肥多収を目的とした栽培にも適応できることが明らかになっている(Kashiwagi et al., Field Crops Research, 2010)。

これまで行ってきた研究において、コシヒカリの低い倒伏抵抗性の1つの要因として出穂以降に生じる稈の物理的強度低下があり、上位部稈の強稈性に關する *BSUC11* がこの問題の解決に貢献できることを報告した(Kashiwagi, Euphytica, 2014)。この結果は完熟期の強稈化には稈の物理性の最大強度強化と組織の老化に伴う物理強度劣化抑制

(遅延)の2タイプがあり、*BSUC11* は後者のタイプに該当することを示していた。

### 2. 研究の目的

倒伏抵抗性における稈の物理強度劣化抑制メカニズムを解明し、原因となる形質(稈内成分等)を同定することはイネ品種の倒伏抵抗性把握の指標として応用が可能である。さらに、収穫期に稈の物理強度劣化が生じるコシヒカリ等の品種について新しい倒伏抵抗性改良方向が打ち出せると考えられる。これまで物理強度劣化抑制に關する *BSUC11* の機能解析を進めてきた中で、*BSUC11* を有する系統の完熟期稈について形態学的形質の変化は無いことや含まれる化学成分で非構造性炭水化物や灰分(無機元素)含量への影響は無い等の予備的な結果を得ている。そこで本研究ではより詳細な稈の物理強度劣化抑制の原因を明らかにするため、*BSUC11* 領域を矮小化した NIL を育成してその機能解析を行った。

### 3. 研究の方法

#### (1) 稈物理強度劣化抑制型系統として

NIL-*BSUC11* の選抜と *BSUC11* 領域の矮小化コシヒカリ × カサラス間で育成された染色体断片置換系統の中から *BSUC11* を有する系統を戻し交雑し、その後代系統である BC<sub>1</sub>F<sub>3</sub> (83 個体) と BC<sub>1</sub>F<sub>4</sub> (ホモ化した 19 系統) を用いた QTL 解析から領域を矮小化し、NIL を選抜した。さらに BC<sub>1</sub>F<sub>5</sub> 系統を用いて遺伝子型から *BSUC11* の領域を矮小化した。

#### (2) *BSUC11* の機能解析

##### a) 出穂期から完熟期における稈の物理的特性解析

選抜された NIL-*BSUC11* (BC<sub>1</sub>F<sub>4</sub>) とコシヒカリについて、出穂から 2 週間毎の第 2 節間の挫折強度及び圧縮抵抗を測定した。

##### b) 稈内の構造性及び非構造性炭水化物の蓄積特性解析

選抜された NIL-*BSUC11* とコシヒカリについて、出穂から 2 週間毎の第 2 節間のホロセルロース、リグニン、非構造性炭水化物含量を測定した。

##### c) 各部位の老化特性に關する生理学的解析

選抜された NIL-*BSUC11* とコシヒカリについて、出穂から 2 週間毎の第 2 節間及び止葉より 1 つ下の葉身・葉鞘の可溶性タンパク質、クロロフィル含量を老化の指標として測定した。

### 4. 研究成果

(1) NIL-*BSUC11* の選抜及び QTL 領域の矮小化コシヒカリ × カサラス間の染色体断片置換系統である CSSL234 を戻し交雑し、世代促進した CSSL234BC<sub>1</sub>F<sub>3</sub> 系統 から 13 個の DNA マーカーによる遺伝子型を解析し、選抜した 83

個体を用いて上位部3節間の挫折抵抗(収穫期)のQTL解析を行った。QTL解析の結果、*BSUC11*領域に関与する4つの領域があり(図1A)、第1節間に関与するQTLが1個、第2節間に関与するQTLが4個、第3節間に関与するQTLが1個検出した。この中で重複するQTLが存在していたが、上位部3節間すべてに作用するQTLは確認されなかった。この結果から*BSUC11*による上位部3節間への効果は複数のQTLによって構成されていることが示唆されたため、NILの候補として見出されたすべてのQTLを含む位置にドナー(Kasalath)由来の染色体断片(9.8Mbp)を有し、ホモ化されている個体(NIL-*BSUC11*)を選抜した(図1B)。

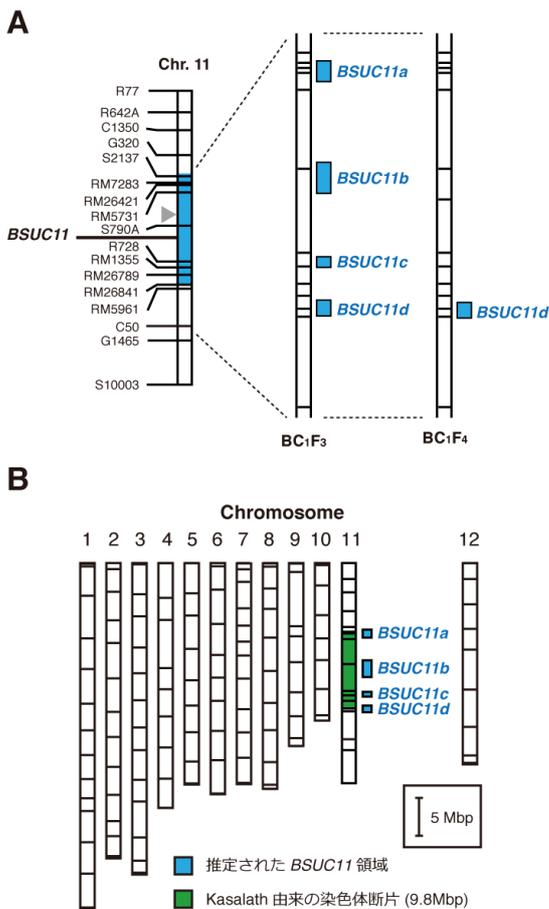


図1. 戻し交雑システムを用いたQTL解析による*BSUC11*領域の矮小化(A)と選抜したNIL-*BSUC11*の遺伝子型(B)

検出した4つのQTLから主効果を示す領域を同定し、*BSUC11*領域をさらに矮小化するため、19のBC<sub>1</sub>F<sub>4</sub>システムを用いて14個のDNAマーカーによる遺伝子型と上位部3節間の挫折抵抗からQTL解析を行った。候補となっている4領域のうち1つの領域に3節間の挫折抵抗に関与するQTL(*BSUC11d*)が検出され(図1A)、この結果から*BSUC11*の主効果を示す領域が1.1Mbpまで矮小化された。*BSUC11d*の領域をさらに矮小化するため、BC<sub>1</sub>F<sub>5</sub>を用いてQTL解

析を行い、その領域を700kbpまで矮小化した。

## (2) *BSUC11*の機能解析

a) 出穂期以降における稈の物理的特性  
コシヒカリとNIL-*BSUC11*を用いて第2節間の挫折抵抗を比較した結果、両系統は出穂から2週目まで同等の挫折抵抗値を示し、それ以降コシヒカリは挫折抵抗値を低下させるが、NIL-*BSUC11*は値を維持して出穂から6週目には2015年と2016年でそれぞれ1.35倍、1.31倍コシヒカリよりも高くなった(図2)。圧縮抵抗でも同様に、2週目以降に強度の低下が確認され、2015年で1.22倍、2016年で1.12倍コシヒカリよりも高い値を示した(図2)。

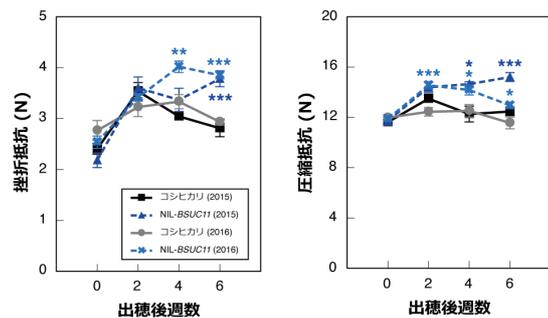


図2. 出穂期から収穫期における第2節間の挫折抵抗及び圧縮抵抗の経時的変化

b) 出穂期以降における稈内の構造的及び非構造的炭水化物の蓄積特性  
第2節間の乾物重を比較すると、出穂から2週目以降NIL-*BSUC11*はコシヒカリと比べて約1.3倍の重量を示した。コシヒカリは構造的炭水化物であるホロセルロース含量を出穂から2週目まで蓄積し、その後減少する特性を示したが、NIL-*BSUC11*は2週目以降も蓄積を継続し、6週目の値は2015年と2016年でそれぞれコシヒカリの1.14倍、1.16倍の蓄積量を示した(図3)。一方で構造的炭水化物であるリグニンの蓄積では、NIL-*BSUC11*は出穂から4週目までコシヒカリよりも低い値を示したが、6週目で同等となった(図3)。

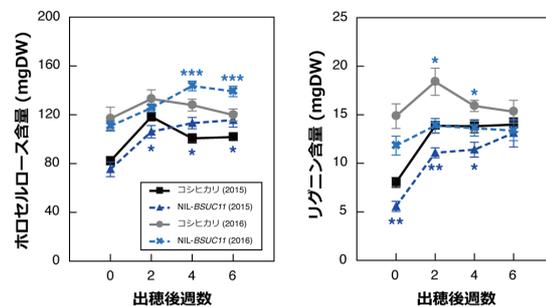


図3. 出穂期から収穫期における第2節間の構造的炭水化物蓄積量の経時的変化

デンプン、ショ糖、単糖類を含む非構造性炭水化物含量を比較すると、2015年はコシヒカリとNIL-*BSUC11*は出穂から完熟期まで同等の値を示し、2016年では出穂から4週目のみNIL-*BSUC11*は高い蓄積量を示したが、それ以外はコシヒカリと同等となった。

- c) 出穂期以降における各部位の老化特性  
NIL-*BSUC11*の第2節間内クロロフィル含量は2015年では出穂から4-6週目、2016年では2-4週目でコシヒカリよりも高い値を示し、可溶性タンパク質含量では両年とも4-6週目でコシヒカリよりも高い値を示した。止葉より1つ下の葉身においても出穂から6週目で両年ともNIL-*BSUC11*のクロロフィル含量及び可溶性タンパク質含量がコシヒカリに比べ高くなっていた。一方で葉鞘では2ヶ年の比較で安定した特性は確認されなかった。

本研究の結果から、*BSUC11*領域の中で*BSUC11d*の領域が主効果を示す領域であり、この領域のさらなる矮小化によって出穂期以降に生じる稈の物理強度劣化を抑制する遺伝的要因を明らかにすることが可能である。また、コシヒカリで生じる完熟期における稈湾曲の原因の一つが登熟期以降のホロセルロース含量低下であり、*BSUC11*は老化を遅らせてホロセルロース含量を高く維持し、これにより完熟期の物理的強度を向上させていることが明らかになった。このことから湾曲型倒伏が生じやすい品種の改良において、登熟期以降の稈内ホロセルロース含量の維持が重要なターゲットになりうると思われる。

#### 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 1 件)

1. Takayuki Kashiwagi, Jun Munakata, Ken Ishimaru, Functional analysis of the lodging resistance QTL *BSUC11* on morphological and chemical characteristics in upper culms of rice, *Euphytica*, 査読有, 210 巻, 2016 年, 233-243  
DOI: 10.1007/s10681-016-1707-1

〔学会発表〕(計 1 件)

1. 柏木 孝幸・宗方 淳・石丸 健, イネにおける上位部稈物理強度劣化を抑制する量的形質遺伝子座 *bsuc11* の機能解析, 日本作物学会第 241 回講演会, 平成 27 年 3 月 28 日

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://shigen.mine.utsunomiya-u.ac.jp/cropscience2/lodging/>

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

柏木 孝幸 (KASHIWAGI TAKAYUKI)

宇都宮大学・農学部・准教授

研究者番号: 40595203

##### (2) 研究分担者

( )

研究者番号:

##### (3) 連携研究者

( )

研究者番号:

##### (4) 研究協力者

( )