

令和元年6月19日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H04864

研究課題名(和文) 極長稈イネの耐倒伏性強化に向けた深根性および強稈性遺伝子の解析

研究課題名(英文) Analysis of genes associated with deep rooting and strong culm to strengthen lodging resistance in extremely long-culm rice

研究代表者

宇賀 優作 (Uga, Yusaku)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・次世代作物開発研究センター・上級研究員

研究者番号：00391566

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究課題では、長稈型多収イネに求められる理想的な草型と根型のバランスを遺伝学的に解明することを目指した。1) 深根性遺伝子DR01と半矮性遺伝子SD1の2遺伝子のアリル組み合わせが耐倒伏性に及ぼす影響を水田にて調べた。短稈背景では根型は耐倒伏性に大きく影響する要因ではなかったが、長稈化した場合、浅根型のほうが倒伏しにくい傾向にあることが分かった。2) 根型改良のための遺伝子素材の充実のため、新規な根伸長角度遺伝子DR02の単離を試み、候補領域を絞り込んだ。

研究成果の学術的意義や社会的意義

「緑の革命」以降に育成された多くのイネ品種は半矮性のため、地上部バイオマスの増大による収量増加は限界にきている。新たな多収育種として長稈で倒伏しない大型品種の開発が近年進められている。しかし、長稈品種は倒伏し易いため、稈と根の支持力を遺伝的に改良し、耐倒伏性を改善する必要がある。従来、地上部草型の改良に着目した遺伝研究は多く報告されているが、根型を含めた植物体全体の遺伝的改良を検証した研究はほとんどない。本研究では、長稈品種において浅根型が耐倒伏性に寄与する可能性を示した。草型同様に根型の改良が重要であることを示した本研究の成果は今後のイネ育種戦略を考えるうえで重要な知見であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：In this study, we firstly tried to clarify an ideal combination between shoot structure and root structure required for long-culm high-yield rice. We investigated the genetic effects of two allele combination in the deeper rooting gene (DR01) and the semi-dwarf gene (SD1) on the lodging resistance in the paddy field. In case of the semi-dwarf plant type, difference of root system architecture between shallow and deep rooting was not a significant factor that affects lodging resistance. On the other hand, in the case of the long-culm plant type, rice with shallow rooting tended to show better lodging resistance compared to rice with deep rooting. To increase gene materials for improving root system architecture, next, we tried to isolate new gene related to root growth angle (DR02). Finally, we narrowed the candidate region of DR02.

研究分野：植物遺伝育種学

キーワード：深根性 耐倒伏性 QTL イネ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

今後の世界人口増加に対応するためには生産性のより高い作物が必要である。「緑の革命」以降、イネやコムギなどの穀類の育種は稈長を低くすることで多肥でも倒伏しにくく多収になるというイデオタイプに従い世界中で進められ、食料増産に大きく貢献してきた。ところが、半矮性品種は地上部のバイオマスの増加が制限されるため、これ以上の多収化は限界と考えられる。国際イネ研究所では New plant type という半矮性で低分げつ、穂重型による多収イネの育成をめざしてきたが、これら系統は登熟性が悪く十分な多収化には至っていない。一方、近年日本で育成されてきた多収の飼料向けイネ品種の多くは半矮性品種よりも長稈であることから、長稈化による地上部バイオマス生産の増加は多収化の新たな育種戦略と期待される。ただし、長稈品種は倒伏し易いため、稈と根の支持力を遺伝的に改良し、耐倒伏性を向上する必要がある。しかし、これまでに草型と根型のバランスが耐倒伏性や収量性にどのように影響するのかを遺伝学的に解明した研究はない。したがって、更なる長稈化による地上部バイオマスや収量の増大をめざすには、最適な草型と根型のバランスを遺伝学的に解明することが重要と考える。

これまで作物において自然変異から稈長に關与する量的形質遺伝子座 (QTL) はいくつか単離・同定されている。「緑の革命」で有名な半矮性遺伝子 *SD1* もその 1 つである (Asano et al., PNAS, 2011)。その一方で、深根性に關与する QTLs はこれまでほとんど同定されていなかった。草型と根型のバランスを遺伝学的に解明するためには、地上部関連遺伝子だけでなく、根系に關与する QTLs の単離とその育種への利用が重要であると考えられる。

2. 研究の目的

申請者は、これまでに、深根性関連 QTL (*DRO1*) の単離 (Uga et al., 2013a) や強稈性に関する QTLs、*SCM2* (Ookawa et al., 2010) および *SCM3* (Yano et al., 2015) をイネで単離した。しかし、これら QTLs が長稈品種の草丈を超える極長稈品種で耐倒伏性に有効であるかはまだ明らかでない。

そこで、本研究課題では、耐倒伏性に關与する稈長・強稈性・深根性の 3 つの形質に着目し、以下の課題を実施することで、極長稈品種において多収化が可能か、遺伝学的解明を試みた。最初に、*DRO1* および *SD1* の機能型および非機能型アリルを相互に組み合わせた 4 つの系統 (短稈/浅根・短稈/深根・極長稈/浅根・極長稈/深根) を水稻品種 IR64 背景で作製し、地上部と地下部のバランスが耐倒伏性や収量性に及ぼす影響を明らかにする。つぎに、機能型 *SD1* を持った極長稈系統に、*DRO1*、*SCM2* および *SCM3* の非機能型、機能型アリルを持った品種を交配・選抜し、集積系統を作製した後、圃場試験により深根性および強稈性遺伝子の集積効果を検証する。さらに、根系改良のための新規な遺伝子資源の獲得・利用をめざし、*DRO2* の単離・同定を実施した。

3. 研究の方法

(1) 深根および稈長に関する遺伝子の相互作用解析

本試験では、IR64 を背景とした以下の 4 系統を用いた。IR64 (*sd1/dro1*: 短稈/浅根)、*Dro1*-NIL (*sd1/DRO1*: 短稈/深根)、SL1004 (*SD1/dro1*: 極長稈/浅根)、SL4-1 (*SD1/DRO1*: 極長稈/深根)。圃場における試験はすべて、東京農工大学の水田圃場にて行った。

深根性の解析... 深根性の評価は、収穫後のイネ株に対して、直径 15 cm の円筒モリスを深さ 20 cm まで打ち込み (耕盤層まで)、回収した土壌ブロック中の根重を測定して求めた。具体的には、回収した土壌モリスを地表から 10 cm まで (上層部) と 10 cm から 20 cm まで (下層部) に切り分け、各ブロックから根を洗い出し、オープンにて乾燥後、乾物重を計測した。全根乾物重に対する下層部の根乾物重の割合 (深根重率) が大きいほど、下層に根が多く分布するとみなした。

耐倒伏性および収量試験... 挫折型、たわみ型、ころび型の 3 つの倒伏抵抗性について計測した。挫折型の指標として稈の挫折時モーメント (稈の断面係数と曲げ応力) を、たわみ型の指標は稈の曲げ剛性 (断面二次モーメントとヤング率) を精密材料試験機によりそれぞれ測定した。ころび型の指標として押し倒し抵抗値を押し倒し抵抗器により測定した。収量試験については、坪刈り収量を 21 株 x 3 反復の平均として精玄米重 (g/m²) を求めた。また、穂数が平均的な 3 株 x 3 反復を用いて収量構成要素を計測した。

(2) 極長稈品種における深根性および強稈性遺伝子の集積効果の検証

極長稈品種 ARC5955 およびその背景に深根アリルの *DRO2* を導入した準同質遺伝子系統 (*DRO2*-NIL) を作製した。さらに、ARC5955 と *DRO2*-NIL に強稈アリルの *SCM2* および *SCM3* を導入するため、八バタキと中国 117 号を交配し、DNA マーカー選抜と連続戻し交配により集積系統の作製を行った。

(3) 深根性遺伝子 *DRO2* の単離・同定

詳細マッピング... *DRO2* は浅根型の 3 品種 (ARC5955・Pinulupot1・Tupa729) と深根型品種 Kinandang Patong (KP) の交雑由来から作製した 3 つのマッピング集団において第 4 染色体の長腕部に検出された (Uga et al., 2013b)。*DRO2* の候補領域を絞り込むため、詳細マッピング用に ARC5955 と KP の交雑後代の BC₅F₂ 集団 2246 個体から本候補領域で組換えの起こった 166 系統を選抜し、自殖後代の BC₅F₄ 集団を作製した。温室で育てたイネの根伸長角度をバスケット法にて定量化し、得られた表現型の分離から候補となる領域を絞り込んだ。

BAC ライブラリーからのスクリーニングと配列解析... 候補領域が絞り込まれることを前提に ARC5955 のゲノミックライブラリーを作製した。KP のライブラリーはすでに作製している BAC を用いた。候補領域が絞り込まれた後、候補領域を含む BAC のスクリーニングを実施し、選抜した BAC の配列を解析し

た。

4. 研究成果

(1) 深根および稈長に関する遺伝子の相互作用解析

層別の根乾物重を計測した結果、IR64とSL1004はともに深根重率が8%であったのに対し、Dro1-NILとSL4-1は13%と約1.6倍下層に根が多く分布していることが分かった(図1a)。Dro1-NILとSL4-1はともにDRO1の機能型アリルを持っており、草型の違いに関係なくDRO1の機能型アリルが深根化に寄与していることが分かった。

稈強度を調べる前に、稈長を調査したところ、IR64とDro1-NILはそれぞれ84cm、83cmであった。一方、SL1004とSL4-1は133cm、126cmであった。挫折時モーメントはIR64とDro1-NILがそれぞれ1155gf cm、1177gf cmであったのに対し、SL1004とSL4-1は1754gf cm、1686gf cmと約1.5倍大きかった(図1b)。さらに、挫折時モーメントを構成する断面係数と曲げ応力を比較すると、曲げ応力、断面係数ともに、短稈系統よりも長稈系統で大きい傾向にあった。SD1はジベレリン合成に関与する遺伝子であるが、節間伸長に影響するばかりでなく、稈の

太さを大きくすることが分かっており、IR64においても機能型アリルが稈の肥大化に影響したと考えられる。以上のことから、機能型アリルのSD1の効果により挫折型の耐倒伏性が向上することが推察された。一方、浅根と深根の差は挫折型の抵抗性に対してあまり影響しないことが分かった。曲げ剛性はIR64とDro1-NILがそれぞれ2.82kgf cm²、2.72kgf cm²であったのに対し、SL1004とSL4-1は6.89kgf cm²、5.18kgf cm²と長稈系統で有意に大きいことが分かった(図1c)。つぎに、押し倒し抵抗値を計測したところ、茎あたり押し倒し抵抗値はIR64とDro1-NILでそれぞれ0.061kgf、0.064kgfと2系統間に有意な差はみられなかった。一方、SL1004とSL4-1は0.095kgf、0.076kgfとともに短稈系統より大きな値を示した(図1d)。とくに、SL1004は短稈系統よりも1.5倍と有意に値が大きいことが分かった。以上の結果から、短稈系統ではたわみ型およびころび型の倒伏抵抗性に根張りの違いは大きく影響しないことが分かった。一方、たわみ型およびころび型に関して、長稈系統では深根型よりも浅根型のほうがより倒伏抵抗性が高い傾向にあった。

収量試験を行ったところ、坪刈りベースの精玄米重では4系統間で統計的に有意な差はみられなかった。ただし、SL4-1は他の3系統が600g/m²以上の値であったのに対し、490g/m²と低い値を示した。収量構成要素について調べた結果、穂数、一穂粒数、登熟歩合、千粒重から推計した精玄米重はSL1004、SL4-1、IR64、Dro1-NILの順に高く、SL004の収量が低いことが確認された。1穂粒数や穂数が他の系統より少ないことが原因と考えられた。

(2) 極長稈品種における深根性および強稈性遺伝子の集積効果の検証

極長稈品種における深根性および強稈性遺伝子の集積効果の検証のために、機能型SD1を持つ極長稈品種ARC5955に対し深根型アリルのDRO2と強稈型アリルのSCM2またはSCM3を集積した系統の作製を試みた。深根型アリルのDRO2供試親としてKP、強稈型アリルのSCM2またはSCM3の供試親として八バタキと中国117号をそれぞれ交配し、BC₁F₁を得た。しかし、初年度、DRO2の詳細マッピングがうまくいかず、候補領域の絞り込みが進まなかったため、BC₁F₁個体のDNAマーカー選抜を予定通り実施できなかった。そこで、方針を変更し、すでに、機能型および非機能型アリルのDRO1とSD1の準同質遺伝子系統ができているIR64背景に、八バタキと中国117号を交配し、IR64背景の集積系統を作製することにした。しかしながら、本研究期間中に強稈性遺伝子を導入した集積系統が完成しなかったことから、深根・長稈・強稈の3つの遺伝子の表現型に対する相互作用解析を実施するには至らなかった。

(3) 深根性遺伝子DRO2の単離・同定

選抜した換え自殖固定個体を用いてマップベースクローニング法により、DRO2の候補領域を絞り込んだが、単一の遺伝子を同定するには至らなかった。

< 引用文献 >

Asano K. (2011) Artificial selection for a green revolution gene during japonica rice domestication. Proc Natl Acad Sci U S A. 108(27):11034-11039.

Uga Y. et al. (2013a) Control of root system architecture by DEEPER ROOTING 1 increases rice yield under drought conditions. Nat Genet 45: 1097-1102.

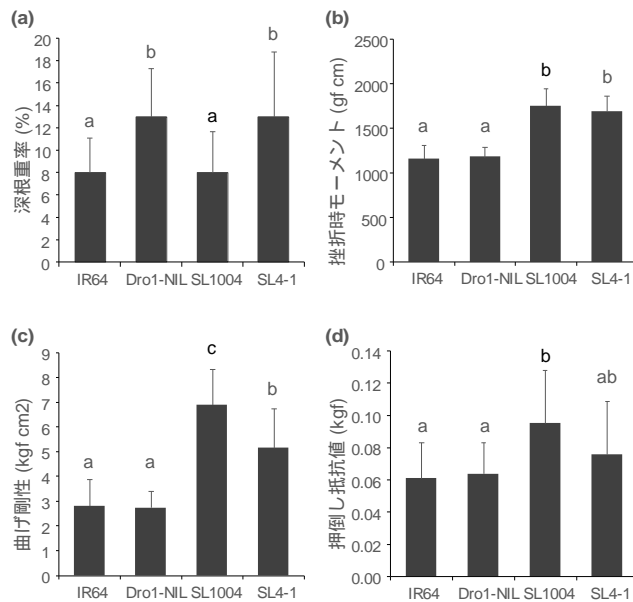


図1. SD1とDRO1の異なるアリルを持った4系統間における深根性と耐倒伏性の比較
同じアルファベットはStudent's t testにおいて5%水準で有意でなかったことを示す。

Ookawa T. et al. (2010) New approach for rice improvement using a pleiotropic QTL gene for lodging resistance and yield. Nat Commun 1: 132, 1-11.

Yano K. et al. (2015) Isolation of a novel lodging resistance QTL gene involved in strigolactone signaling and its pyramiding with a QTL gene involved in another mechanism, Mol Plant 8: 303-314.

Uga Y. et al. (2013b) A major QTL controlling deep rooting on rice chromosome 4. Sci Rep 3: 3040.

5. 主な発表論文等

[学会発表] (計 11 件)

宇賀優作 「Towards cloning and application of QTLs associated with steeper and longer root systems to develop climate-resilient rice」International Plant & Animal Genome XXVII(招待講演)(国際学会), 2019.

宇賀優作 「Challenges in desired genetic control of root system architecture for producing climate-resilient rice」16th International Symposium of Rice Functional Genomics(招待講演)(国際学会), 2018.

宇賀優作 「Development of climate-resilient rice using QTLs for root system architecture」4th International Conference “Plant Genetics & Breeding Technologies”(招待講演)(国際学会), 2018.

宇賀優作 「Molecular breeding of root system architecture improves rice yield performance under deficiencies of water and nitrogen」XIII International Rice Conference for Latin America and The Caribbean(招待講演)(国際学会), 2018.

宇賀優作 「Natural variation of QTL controlling root growth angle enhances salt avoidance in rice」International Plant & Animal Genome XXVI(招待講演)(国際学会), 2018.

宇賀優作 「Genomics-based breeding using genetic variation of root system architecture improves crop productivity under abiotic stress conditions」4th International conference “Plant Genetics, Genomics, Bioinformatics and Biotechnology”(招待講演)(国際学会), 2017.

宇賀優作 「Towards genetic improvement of root system architecture to enhance rice productivity under drought stress」InterDrought-V(招待講演)(国際学会), 2017.

宇賀優作 「Genomics-based ideotype breeding for root system architecture to enhance rice production」International Plant & Animal Genome XXV(招待講演)(国際学会), 2017.

宇賀優作 「根系改良がもたらす青の革命」日本育種学会(招待講演), 2016.

宇賀優作 「Genetic control of root system architecture improves rice yield under deficiencies of water and nitrogen」7th International Crop Science Congress(招待講演)(国際学会), 2016.

宇賀優作 「Natural Variation of Genes for Root System Architecture Confers Drought and Salt Avoidance」Gordon Research Conference: Salt & Water Stress in Plants(招待講演)(国際学会), 2016.

[図書] (計 1 件)

1. Kitomi Y., Itoh J., Uga Y. (2018) Genetic mechanisms involved in the formation of root system architecture. In Rice Genomics, Genetics and Breeding (eds. T. Sasaki, M. Ashikari): 241-274 (Springer Nature, Singapore)

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名: 大川 泰一郎

ローマ字氏名: (OOKAWA, Taiichiro)

所属研究機関名: 東京農工大学

部局名: (連合) 農学研究科(研究院)

職名: 教授

研究者番号(8桁): 80213643

(2)研究協力者

研究協力者氏名: 木富 悠花

ローマ字氏名: (KITOMI, Yuka)

ては、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。