

令和元年6月19日現在

機関番号：11101

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H05777

研究課題名(和文) オセアニア地域に適応進化したイネ属の分布と適応機構の解析

研究課題名(英文) Analysis of Oceania *Oryza* genus adapted to the environmental condition

研究代表者

石川 隆二 (Ishikawa, Ryuji)

弘前大学・農学生命科学部・教授

研究者番号：90202978

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,100,000円

研究成果の概要(和文)：オーストラリアにおける野生イネにおいてAAゲノムの種分化と分布について明らかにした。特にこれまで報告されていた2種である*rufipogon*種と*meridionalis*種以外にTaxon Bと(GOD採取地名としてJpn2)を見出した。生殖隔離機構については両種に対して発達させており、新種として定義される。ゲノムとしては*meridionalis*に類似するが生活史特性としては多年生を示した。さらに形態的に小穂サイズが大型であり、統計的に有意な差が見られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

種間交雑が生じている集団を見出したことと、他殖による戻し交雑が稔性を回復原因であることを遺伝的なマーカーから確認された。このような種間交雑が多年生であり、かつ*meridionalis*的なゲノムを有する新種形成につながったものと結論された。形態的な特徴として見出された顕著な大粒については栽培種に戻し交雑により導入でき、2割程度の種子サイズの増加がみられた。このような野生種からの栽培化形質を導入できたことは育種事業を拡大させる社会的な意義がある。

研究成果の概要(英文)：We identified evolutionary history of Australian wild rice carrying diploid type, AA genome. There have been annotated two species for AA genome as *O. rufipogon* and *O. meridionalis*. The former one is thought to be Asian perennial type. However, we identified they share highly similar chloroplast genome with *O. meridionalis* although highly established reproductive barrier. In addition, we identified presumed third species, described as Taxon B or Jpn2 as site name. The species are perennial and also share highly similarity for not only chloroplast genome but also nuclear genome to *O. meridionalis*. The most distinct morphological characteristic is the size of seed. It is significantly larger than both wild species in Australia. We succeeded to identified a single gene inheritance from backcrossing progenies with cultivated rice. The highly possible model to generate the species is the hybrid origin of the two existed species in single population.

研究分野：作物育種学

キーワード：野生イネ ゲノム分析 種間交雑 雑種形成

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

#### 1. 研究開始当初の背景

本研究の学術的背景は、隔離された大陸で生物種として進化したイネからさらに種分化をしつつある新種を見出したことにある。また、種を識別する生殖隔離機構の発達と形態的特殊性がどのように発達したかを検証できるゲノムツールならびに交配系統が確立していることにある。

#### 2. 研究の目的

申請者はこれまでの現地調査ならびに交雑試験からオーストラリア北部における *Oryza* 属の新種候補を見出し、論文として公表してきた。オーストラリア野生種はときに同所的に生息しており、一部のサイトでは多年生ならびに固有種が共存する場所もみられる。集団内の遺伝変異、種間交雑の実態、地理的遺伝変異勾配、乾季・雨季の激変する環境における生存戦略の相違などの検証から、遺伝資源の生態や種分化の実態などの知見が期待される。この成果は新たな遺伝資源の確保と共にオリザ属の進化を明らかにするための知見を得ることができる。

#### 3. 研究の方法

オーストラリア北部における集団内の遺伝変異、種間交雑の実態、地理的遺伝変異勾配、乾季・雨季の激変する環境における生存戦略の相違などの検証を生態調査から行った。新種の生態・異種の混在集団での遺伝的階層性もあるため、これまで開発した分子マーカーを利用して、自然集団におけるゲノム動態を把握した。具体的には葉緑体ゲノムならびに種間で分化した核マーカーである。

#### 4. 研究成果

オーストラリアならびに PNG において、既知の2種が生殖しているばかりでなく、Jpn2 にみられる新種候補が生息していることを明らかにしてきた。この種は種子サイズが大きいこと、多年生の性質を示すこと、しかし一年生種であるメリディオナリスとのゲノム類似性が高く、かつ既知の種とは生殖隔離を示すことが明らかとなった。種子サイズでは既に戻し交雑により主要な効果を有する遺伝子を導入した系統を得て解析を進めている。この遺伝子とともにメリディオナリスと共通な薬長を支配する遺伝子情報を利用して、進化経路を明らかにすることが独自である。また、自然環境における種間交雑集団を特定して、現在進行している種間交雑をクイーンズランド州の野生集団において既に解析している。同集団の遺伝的多様性解析はほぼ終えて、種形質組合せや交雑方向などの解析が検証可能であり、既に薬長制御遺伝子と薬長の関連解析を終えている。これらの解析により、同集団では既知の2種が種間交雑を生じていること、中間的な形質を持った個体群も出現しており、さまざまな段階の混在ゲノムを有している連続的な交雑が生じていることを明らかにすることができた。

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計15件)

1. Lam, DT, B C Buu, TL Lang, K Toriyama, I Nakamura and R Ishikawa (2019) Genetic diversity among perennial wild rice *Oryza rufipogon* Griff., in the Mekong Delta. Ecology and Evolution 2019;1-14. DOI: 10.1002/ece3.4978
2. Dinh Thi Lam and R. Ishikawa (2018) Molecular discrimination of landraces of *Citrus* species in the Okinawa, Japan. Genet. Resour. Crop Evol. 66 : 321-333 . [https://doi.org/10.1007/s10722-018-0710-x\(\)](https://doi.org/10.1007/s10722-018-0710-x)
3. Kaewcheenchai R, U Promnart, K Soontrajarn, S Chotechuen, S Chitrakon, H Yuki, S Saito, Y-I Sato and R Ishikawa (2018) Diverse genetic variation in maternal lineages with high heterogeneity among in-situ conserved wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.) developed in Thailand. Breed. Sci. 68 : 614-621. (査読有)
4. Busungu C, S Taura, JI Sakagami, T Anai, K Ichitani (2018) High-resolution mapping and characterization of xa42, a resistance gene against multiple *Xanthomonas oryzae*

- pv. oryzae races in rice (*Oryza sativa* L.) *Breeding Science* 68: 188-199.
5. Suehiro S., K Ichitani, E. Domon. K. Fukunaga (2018) Genotyping of the SiDREB2 gene in worldwide foxtail millet (*Setaria italica* (L.) P. Beauv.) genetic resources with special attention to Indian landraces. *Genet Resour Crop Evol* 65: 1559-1564.
  6. 佐藤洋一郎(2018)和食とその文化の地理的多様性. *科学* 88 : 1209-1216(査読無)
  7. Brozynska, M., D. Copetti, A. Furtado, R. A. Wing, D. Crayn, G. Fox, R. Ishikawa, R. J. Henry (2017) Sequencing of Australian wild rice genomes reveals ancestral relationships with domesticated rice *Plant Biot. Jour* 15: 765-774. (査読有)
  8. Makabe, S., W. Yamori, K. Kong, H. Niimi, I. Nakamura (2017) Expression of rice 45S rRNA promotes cell proliferation, leading to enhancement of growth in transgenic tobacco. *Plant Biotech.* 34:29-38. (査読有)
  9. Makabe, S., R. Motohashi, I. Nakamura (2017) Growth increase of Arabidopsis by forced expression of rice 45S rRNA. *Plant Cell Rep.*36:243-254. (査読有)
  10. Muto, C., R. Ishikawa, K.M. Olsen, K. Kawano, C. Bounphanousay, T. Matoh, Y-I. Sato (2016) The origin and diversification of wx allele of glutinous indica rice landraces through the traditional slash and burn system in northern Laos. *Breed. Sci.* 66:580-590. (査読有) DOI [10.1270/jsbbs.16032](https://doi.org/10.1270/jsbbs.16032)
  11. Ishikawa, R., N. Badenoch, K. Miyagi, K. Medoruma, T. Osada, M. Oonishi. (2016) Multi-lineages of of Shiikuwasha (*Citrus depressa* Hayata) evaluated by using whole chloroplast genome sequences and its bio-diversity in Okinawa, Japan. *Breed. Sci.* 66:490-498. (査読有)
  12. Hao, Y., M. Akimoto, R. Kaewcheenchai, M. Sotowa, T. Ishii, and R. Ishikawa (2015) Inconsistent diversities between nuclear and plastid genomes of AA genome species in the genus *Oryza*. *Genes & Genetic Systems* 2016 Mar 23;90(5):269-81. doi: 10.1266/ggs.14-00063. Epub 2015 Dec 18. (査読有)
  13. Tanaka, K., N Kamijo, H Tabuchi, K Hanamori, R Matsuda, J Suginomori, Y-I Sato, T Udatsu, R Ishikawa (2015) Morphological and molecular genetics of ancient remains and modern rice confirm diversity in ancient Japan. *Genet. Resour. Crop Evol.* 63:447-464 (査読有) 10.1007/s10722-015-0262-2
  14. Yamanishi, C., M. M. Alshahni, A. Sano, I. Nakamura, K. Makimura (2016) A new marker sequence for systematics of medically important fungi based on amino acid sequence of the largest subunit of RNA polymerase I. *Med. Mycol.* 55:555-562. (査読有)
  15. Fareed, A., H. Shindo, H. Takahashi, I. Nakamura (2016) Phylogeny of PolA1 gene consistent with the relationships of U's triangle in Brassica. *Hort. J.* 85:55-62. (査読有)

〔学会発表〕(計 30 件)

1. 石川隆二・Dinh Thi Lam・山岸洋貴・片岡太郎：葉緑体ゲノムからみたヒシの進化．日本育種学会第 134 回春季大会． 3 月 17 日(千葉大学)， 2019 ．
2. ラム デイン ティ，湯 陵華，石川 隆二：葉緑体ゲノムを利用した多角的な食用ヒシの起源に関する研究 Study on origin of edible water-chestnut by using chloroplast genome.日本育種学会第134回秋季大会． 9月23日 (岡山大学)， 2018 ．
3. R Ishikawa : Genetic resources for breeding from wild relatives to landraces. 3rd

IPFS-FAFU 2018 International Symposium, Fuzhou, 15 Dec, 2018 China

4. Tadesse L, Y Fukuta, and R Ishikawa : Genetic diversity and variation for blast resistance in Ethiopian rice cultivars 3rd IPFS-FAFU 2018 International Symposium, Fuzhou, 16 Dec, 2018 China
5. R. Ishikawa : Grain Size in Australian wild rice. The 3rd Australian Wild Rice Symposium, 27 June, The Cairns Institute at James Cook University Smithfield Campus, Queensland, Australia, 2018.
6. ISHIKAWA R., T. KATAOKA, L. TANG : Studies on the Domestication Process of Chinese Edible Plants, Water Chestnut (*Trapa bispinosa*). The eighth International Conference of the Society for East Asian Archaeology. 9 June, Nanjing China (Nanjing University), 2018.
7. 石川隆二・Dinh Thi Lam・山岸洋貴・片岡太郎：葉緑体ゲノムからみたヒシの進化. 第13回東北育種研究集会. 11月23日(弘前大学農学生命科学部) 2018
8. Tadesse Lakew・Yoshimichi Fukuta・Ryuji Ishikawa: Genetic diversity and variation for blast resistance in rice cultivars from Ethiopi. 第13回東北育種研究集会. 11月23日(弘前大学農学生命科学部) 2018
9. Dinh Thi Lam, 石川隆二: Phosphorus deficiency tolerance originated from wild species in rice. 第13回東北育種研究集会. 11月23日(弘前大学農学生命科学部) 2018
10. 三島木 隆広, 菅原 魁人, 一谷勝之, 石川隆二: オーストラリア野生イネ集団における自然交雑の検証と種特異的の形質である葯長の連関解析. 第13回東北育種研究集会. 11月23日(弘前大学農学生命科学部) 2018
11. 市川 真, 田浦 悟, 石川隆二, 一谷勝之 : アジア栽培イネ *Oryza sativa* とオーストラリア野生イネ *O. meridionalis* の交雑後代に見られた半不稔現象の遺伝解析. 第13回九州育種談話会 宮崎県都城市 南九州大学 2018年12月12日
12. 一谷勝之, 久保山勉, 手塚孝弘: イネ雑種弱勢の遺伝と病徴. 日本育種学会第134回講演会. 2018年9月22日-23日2 岡山大学 岡山市
13. 宇田津徹朗, 右田晋太郎, 石川隆二, 一谷勝之 : プラント・オパール形状を利用した野生イネの分化と変遷に関する基礎的研究. 日本文化財科学会第25回大会. 2018年7月6日-8日
14. 中村郁郎・高橋弘子・中村晃一・森泉俊幸: 真核生物5000種の種特異的 Ptag 配列のデータベース- 分子的な種の分類単位 IPSUM の提案 -. DNA多型学会. 松江, 12月6-7日, 2018.
15. 佐藤文紅・小川大輔・田中克典・中村郁郎 : 栽培メロン(*Cucumis melo*)は、2つの祖先系譜(IPSUM)からなる複合種である. DNA多型学会, 松江, 12月6-7日, 2018.
16. Nakamura, I.: Practical molecular classification unit (IPSUM) to define species border of eukaryote and to friendly augment Linnaeus classification. Plant and Animal Genome XXVI Conference. San Diego, Jan. 7-13, 2018.
17. M Sato, A Tsuchiya, K Tanaka, D Ogawa, K Kato, I Nakamura: Two ancestral lineages of melon cultivars revealed by the analysis of PoIA1 gene. Plant and Animal Genome

XXVI Conference. San Diego, Jan. 7-13, 2018.

18. Tadesse L, and R Ishikawa : Evaluation of genetic diversity in Ethiopian rice cultivars based on nuclear and cytoplasmic DNA molecular markers 日本育種学会第134回秋季大会. 3月25日(九州大学), 2018.
19. Tadesse L and R Ishikawa : Surveying genetic diversity in Ethiopian rice cultivars as inferred by SSR markers 第12回東北育種研究集会. 11月25日(秋田県立大学) 2017
20. Yo-Ichiro Sato : Domestication and Evolution of cultivated rice. Seminar of wild rice research and in situ conservation. 7 Nov. 2017
21. Dinh Thi Lam, R Ishikawa : Screening and characterizing Cytoplasmic Male Sterile (CMS) in perennial wild rice populations (*Oryza rufipogon*) . 第12回東北育種研究集会. 11月25日(秋田県立大学) 2017.
22. 三島木 隆広・石川隆二 : ヒシのゲノムサイズ測定と次世代シーケンサーからの分子マーカー設置と多様性評価への応用. 第12回東北育種研究集会. 11月25日(秋田県立大学) 2017.
23. 鶴岡優希・石川隆二 : ヒシのゲノムサイズ測定と次世代シーケンサーからの分子マーカー設置と多様性評価への応用・第12回東北育種研究集会. 11月25日(秋田県立大学) 2017.
24. 和田真宝, 菅原 魁人, 一谷勝之, 植村真郷,石川隆二 : オーストラリア固有野生イネに特徴的な小穂長形質解析. 第12回東北育種研究集会. 11月25日(秋田県立大学) 2017.
25. 植村真郷, 保木良太, 西帯野翼, 池本悠一郎, 豊元大希, 田浦悟, 佐藤雅志, 石川隆二, 一谷勝之 : アジア栽培イネ *O. sativa* とオーストラリア野生イネ *O. meridionalis* の交雑後代における種子形成機能遺伝子の脱落. 第12回九州育種談話会. 12月8日(佐賀大学) 2017.
26. Dinh, L. T., B.C. Bui, L. T. Nguyen, 石川隆二 : ベトナムクーロンデルタ流域の多年生野生イネの集団構造 第11回東北育種研究集会 11月12日(山形大学), 2016
27. 石川隆二 : 琉球諸島カンキツ遺伝資源の評価: 次世代シーケンサーによるマーカー開発と在来種の評価. 第131回日本育種学会 3月29日(名古屋大学)
28. 植村 真郷, 保木 良太, 西帯野 翼, 田浦 悟, 佐藤 雅志, 石川 隆二, 一谷 勝之 : アジア栽培イネ *O. sativa* とオーストラリア野生イネ *O. meridionalis* の交雑後代に見出された部分不稔現象の遺伝子分析. 第131回日本育種学会. 3月30日(名古屋大学)
29. 菅原 魁人, 一谷 勝之, 石川 隆二 : *O. rupogon* と *O. meridionails* が同所的に生息するオーストラリア野生イネ集団における自然交雑の検証. 第132回日本育種学会. 10月8日(岩手大学)
30. Dinh Thi Lam, 五十嵐 圭介・鳥山 欽哉, 中村 郁郎, 真壁 壮, 田村紀子, Nguyen Thi Lang, Buu Chi Bui, 石川隆二 : メコンデルタ流域に適應した雄性不稔の多年生野生イネ. 日本育種学会第130回春季大会. 9月24日(鳥取大学), 2016.

〔図書〕(計1件)

佐藤 洋一郎 (2016) 食の人類史. ISBN 978-4-12-102367-4 p279, 中央公論新社, 東京.

〔産業財産権〕特になし

〔その他〕

ホームページ等 <http://nature.cc.hirosaki-u.ac.jp/lab/1/plantbrd/genetics.html>

## 6 . 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名：佐藤洋一郎

ローマ字氏名：Sato Yo-ichiro

所属研究機関名：京都府立大学

部局名：和食文化研究センター

職名：特任教授

研究者番号(8桁)：20145113

研究分担者氏名：一谷 勝之

ローマ字氏名：Ichitani Katsuyuki

所属研究機関名：鹿児島大学

部局名：農水産獣医学域農学系

職名：准教授

研究者番号(8桁)：10305162

研究分担者氏名：齊藤 大樹

ローマ字氏名：Saito Hiroki

所属研究機関名：国立研究開発法人国際農林水産業研究センター

部局名：熱帯・島嶼研究拠点

職名：任期付研究員

研究者番号(8桁)： 10536238

研究分担者氏名：中村 郁郎

ローマ字氏名：Ikuo Nakamura

所属研究機関名：千葉大学

部局名：大学院園芸学研究科

職名：教授

研究者番号(8桁)：50207867

### (2)研究協力者