

令和 4 年 5 月 28 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18H02178

研究課題名(和文) イネの栽培化にユニークに関わった種子の有芒性と無芒性の謎を解く

研究課題名(英文) Significance of awn length changes uniquely involved in rice domestication

研究代表者

石井 尊生 (Ishii, Takashige)

神戸大学・農学研究科・教授

研究者番号：20260648

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,000,000円

研究成果の概要(和文)：イネの栽培化は約1万年前に始まったといわれている。栽培化のきっかけには閉じた穂の出現が考えられ、それに付随した種子を落ちにくくさせる長い芒は採集民にとって都合の良いものであった。しかし、栽培化が進むにつれて芒は逆に消失の方向に選抜されてしまった。そこで本研究では、栽培化全般にユニークに関与した芒に焦点を当て、栽培化前、栽培化初期、栽培化全体、栽培化終期、栽培化後の5つの時系列に応じた研究項目を設定した。そしてこれらの結果から、栽培化以前から現在に至る種子の有芒性および無芒性の意義を考察した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

栽培種の誕生は、人類が何千年も植物に働き続けたことによって達成されたものである。そのため、栽培化解明の研究は、無名の農民たちの不断の努力ならびに人類の誇りを対象植物側から検証・評価することである。本研究では、イネの栽培化にユニークに関与した芒に焦点を当て、栽培化の時系列に応じた研究項目を設定し、過去から現在に至る種子の有芒性および無芒性の意義を明らかにした。また、研究成果はイネの生態学、遺伝学、育種学分野において新たな知見を提供するものである。

研究成果の概要(英文)：Rice domestication started about 10,000 years ago. Closed panicle and seed awing may be key traits for the emergence of cultivated rice. Since these two traits lead to temporary inhibition of seed shedding, they seem to be preferable for the ancient seed gatherers. However, in the middle of domestication, seed awing was eliminated as an undesirable trait. In this study, significance of awn length changes uniquely involved in rice domestication was investigated through the research subjects from the five temporal aspects, i.e., before, early, middle, late and after domestication periods. Based on the results, general discussion on awn length changes was carried out.

研究分野：植物育種学

キーワード：イネ 栽培化 芒

1. 研究開始当初の背景

今日の農業の基礎となっている作物の栽培種は、人類が何千年も植物に働き続けたことによって誕生したものである。初期の作物の栽培化においては、比較的単純ないくつかの形質によって淘汰されてきたと推測される。その後、それぞれの土地に適した在来品種が作られ、さらに近代育種による品種改良により多くの優良品種が育成された。しかし、このような淘汰・選抜による栽培化および品種改良は、遺伝的多様性を短期間に縮小してきたといえる。それゆえ、野生種には栽培化の過程で無意識のうちに落としてしまった数多くの有用遺伝子が存在していると考えられ、野生種は栽培品種を改良するための新しい遺伝子の供給源であるといえる。そこで、現在の作物が野生植物よりどのような過程を経て現在に至ったのかを明らかにすることは、これら作物の遺伝的多様性の程度を調べる、さらに野生種等の遺伝資源としての利用を考えるうえで非常に重要である。また、無名の農民たちの不断の努力ならびに人類の誇りを対象植物側から検証・評価することにもつながるものである。

本研究では、主要作物の1つであるイネを材料とし、その栽培化解明に焦点を当てた。熱帯・温帯地方で広く栽培されているイネ(*Oryza sativa*)は約1万年前にアジアの野生種である *O. rufipogon* より栽培化されたといわれている。この栽培化は栽培イネに様々な形態変化をもたらした。これらの違いは、まさに人類が淘汰・選抜を行ってきた結果生じたものであり、栽培化関連形質であるといえる。我々はこれまでに、栽培化のきっかけになった、つまり人類がイネの成熟種子を採集していた頃に大きな影響を与えた形質は、閉じた穂と長い芒であるという独自の研究結果を報告した。そして、種子の非脱粒性はその後に獲得されたと考えた。これらのうち、閉じた穂と非脱粒性は現在の栽培イネでも維持されている。しかし芒に関しては、無芒の栽培品種がほとんどで、まれに短いながらも芒長に変異を持つものが観察される。このことは、芒の性質が栽培化初期から現在に至るまで、様々な経緯で選抜されてきたことを示唆するものであり、イネの栽培化の詳細を明らかにするのに適した形質だと考えられた。

2. 研究の目的

本研究では、イネの栽培化の初期には利用されたが、その後消失の方向に選抜されてしまったユニークな器官である芒に焦点を当てた。そして、次に示す栽培化に関する様々な立場からの研究アプローチを設定した。栽培化前：野生イネの立場から、栽培化初期：採集民の立場から、栽培化全体：遺伝子の立場から、栽培化終期：在来品種の立場から、栽培化後：野生イネ自生集団の立場から。そしてこれらの結果から、栽培化以前から現在に至る種子の有芒性および無芒性の意義を多角的な視点から総合考察し、イネの栽培化全般の俯瞰を目指した。

3. 研究の方法

本研究で設定した5つの研究アプローチに対して、以下の実験を計画した。

(1) 野生イネの立場から：野生イネにおける芒の役割

野生イネの種子には長い芒があるが、これは自然状態で成熟種子の飛散や拡散を促すために必要な器官であると考えられた。そこで、自然状態を模した処理区を設定し、種子脱落および移動に関する物理実験を行った。

次に、野生イネが持つ早朝開花性に芒が関与しているか調査するために、野生イネの小穂に対して芒の有無の2処理区を設定し、それらの開花時間を比較した。

(2) 採集民の立場から：栽培化初期の種子採集の再現

野生イネ系統の遺伝的背景において栽培品種由来の種子の非脱粒性遺伝子ならびに穂の非開帳性遺伝子を導入した準同質遺伝子系統を圃場に展開し、種子採集実験を行った。そして、栽培化初期には長い芒は必要であったかを検証した。

(3) 遺伝子の立場から：栽培化において無芒化を促進した遺伝子座の同定

2つの栽培品種を野生イネで戻し交雑した2種類の自殖系統のうち、最も芒が短い系統を選抜し、野生イネおよび栽培イネ親系統と交雑した。そして、後代の分離集団を用いて芒の長さに関するQTL解析を行い、栽培化において無芒化を促進した遺伝子座を推定した。

(4) 在来品種の立場から：栽培イネに残る有芒性の遺伝的機構の解明

熱帯アジア5カ国の在来品種の種子標本について、芒の性質を調査するとともに、可能な系統からDNAサンプルを抽出した。そして、芒の長さに関する主要遺伝子座における機能喪失変異を検出するマーカーを用いて、栽培イネに残る有芒性に関与する遺伝子座を推定した。

(5) 野生イネ自生集団の立場から：野生イネへの遺伝子流動の実態解明

野生イネ海外調査を行ったミャンマー・カンボジア・ベトナムにおける栽培イネからの遺伝子流動の実態を、芒の長さに関する主要遺伝子座の機能喪失変異を検出するマーカーを用いて推定した。

4. 研究成果

イネの栽培化にユニークに関わった種子の有芒性と無芒性の意義を明らかにすることを目的として、様々な立場から設定した研究アプローチに関して、以下の研究成果が得られた。

(1) 野生イネの立場から：野生イネにおける芒の役割

野生イネの長い芒は、自然状態での成熟種子の飛散や拡散を促すために必要な器官であるかを検証するために、野生イネ *Oryza rufipogon* W630 系統を材料として、芒の長さの異なる4つの処理区(全長、1/2長、1/4長、なし)を設定した。そして、それらを用いて、親植物からの離脱、落下時の角度、網表面への通過度、振とう機上で移動速度、流水中の移動速度を測定・比較した。その結果、ほとんどの実験で、全長の芒を持つ種子が他の処理区の種子よりも種子拡散に有利に働くことが明らかになった。このことは、野生イネの種子は種子拡散に適した長さの芒を維持していることを示唆するものであった。

野生イネは早朝開花性を持つが、この性質は鱗被の吸水を誘導する小穂の蒸散量と大きな関係がある。そこで、この早朝開花性と芒(気孔が存在する)の有無に関係があるのかを調べるために、*Oryza rufipogon* W630 系統の3個体から8穂を準備し、1次枝梗ごとに交互に小穂の芒を切除した。そして、植物体を野外の自然条件下に配置し、翌朝開花した全ての小穂の正確な開花開始時刻を分刻みで記録したところ、芒の有無によって開花開始時間に有意な差がないことがわかった。芒からの蒸散は直接開花開始時間には関係しなかったが、小穂の開花の正確なスイッチは内穎または外穎の表面からの蒸散に同調しているものと思われた。

(2) 採集民の立場から：栽培化初期の種子採集の再現

野生イネ *Oryza rufipogon* W630 系統の遺伝的背景において栽培品種 *O. sativa* Nipponbare

由来の種子の非脱粒性遺伝子 (*sh4*, *qSH3*) ならびに穂の非開帳性遺伝子 (*Spr3*) を導入した準同質遺伝子系統ならびに蓄積系統を育成した。これらの系統の登熟種子は自然状態でほぼ脱落するが、2つの非脱粒性遺伝子の蓄積系統にはやや落ちにくい性質がみられた。これらの系統を圃場に展開し、種子採集実験を行ったところ、穂が閉じている系統は開いている系統より種子回収率が高いことがわかった。このことは、栽培化初期段階においては、穂の非開帳性と長い芒は重要であり、種子採集の効率を押し上げたものと考えられた。さらに、2つの非脱粒性遺伝子と穂の非開帳性遺伝子の蓄積系統は有意に高い種子回収率を示した。この結果は、非脱粒性遺伝子が蓄積するにつれて、閉じた穂の植物は登熟種子を長い芒によって支える必要がなくなることを示唆するものであった。

(3) 遺伝子の立場から：栽培化において無芒化を促進した遺伝子座の同定

長い芒を持つ野生イネ系統 *O. rufipogon* W630 と芒の無い栽培品種 *O. sativa* Nipponbare および IR36 を交雑し、さらに野生イネで戻し交雑を行った BC2F7~BC2F8 世代の戻し交雑自殖系統群を育成した。そしてそれらから最も芒が短い系統を選抜し、野生イネ親系統と交雑・自殖させ、それぞれの分離集団を育成した。これらを用いて、無芒化に関する QTL 解析を行ったところ、Nipponbare 由来の集団では、第 4 染色体上の *An-1* および第 8 染色体上の *RAE2* 遺伝子座が大きく関与することがわかった。一方、IR36 由来の集団では、第 4 染色体上の *An-1* および *LABA1* 遺伝子座が大きく関与し、次いで第 2 染色体上に *qA1/NL2* と命名した QTL の関与が推定された。この *qA1/NL2* 遺伝子座については、さらなるファインマッピングにより 157.4 kb の領域に限定することができた。

選抜した最も芒が短い戻し交雑自殖系統は、栽培イネ親系統 (Nipponbare, IR36) と交雑・自殖させ、それぞれの分離集団を育成した。これらを用いると上述の遺伝子座に次ぐ微動遺伝子座を推定することが可能である。そこで、無芒化に関する QTL 解析を行ったところ、Nipponbare 由来の集団では 5 つの微動遺伝子座が検出され、うち 3 つが栽培イネの対立遺伝子が芒の長さを短くするものであった。IR36 由来の集団においても 5 つの微動遺伝子座が検出され、うち 3 つが栽培イネの対立遺伝子が芒の長さを短くするものであった。

以上の結果に基づき、無芒性に関与する主動遺伝子と微動遺伝子を持つ系統を選抜・交雑し、芒に関する遺伝子座の遺伝子型が分離する集団を育成した。これらの集団には、芒に関する様々な組み合わせの対立遺伝子を持つ系統が含まれるため、栽培化においていくつの遺伝子座が関与すれば無芒に導けるかを検証する材料となる。

(4) 在来品種の立場から：栽培イネに残る有芒性の遺伝的機構の解明

神戸大学で保存されているメコン河流域 5 カ国 (北ベトナム、南ベトナム、カンボジア、ラオス、タイ) で収集された在来品種を研究対象とした。まず、過去の種子形態記録から芒の有無について調べたところ、計 1125 系統中 1101 系統が無芒であり、残りの 24 系統が芒を持っていた。それぞれの国における無芒品種の割合は、北ベトナムで 100% (無芒系統/全系統 = 103 系統/103 系統)、南ベトナムで 96.9% (442 系統/456 系統)、ラオスで 100% (149 系統/149 系統)、カンボジアで 97.6% (280 系統/287 系統)、タイで 97.7% (127 系統/130 系統) であった。

また、在来品種の種子標本のうち 1028 系統から DNA サンプルが抽出できた。そして、芒の長さに関する主要遺伝子座 (*An-1*, *LABA1*, *RAE2*) の機能喪失変異を検出するマーカーによるサーベイを行った。その結果、機能型の対立遺伝子を持つ系統の割合は *An-1* 遺伝子座で 23.5%、*LABA1* 遺伝子座で 3.4%、*RAE2* 遺伝子座で 0.5% であった。サーベイできた有芒性の 21 系統の

うち、すべての遺伝子座において機能型対立遺伝子を持つものは3系統、1つの遺伝子座において機能型対立遺伝子を持つものは8系統であった。残りの10系統は機能型対立遺伝子を1つも持っておらず、他の遺伝子座の関与が示唆された。

(5) 野生イネ自生集団の立場から：野生イネへの遺伝子流動の実態解明

野生イネ海外調査を行ったミャンマー、カンボジア、ベトナムの計21集団を対象として、栽培イネから野生イネ集団への遺伝子流動調査を行なった。集団あたり48個体を抽出し、芒の長さに関する主要遺伝子座 (*An-1*, *LABA1*, *RAE2*) の機能喪失変異を検出するマーカーを用いて解析した。その結果、21集団のうち8集団で少なくとも1つのマーカーで栽培種特異的突然変異を持つ個体が検出され、遺伝子流動が起きていることが明らかになった。また、全てのマーカーデータをまとめると、上記8集団において1~9個体(2.1~18.6%)が遺伝子流動由来の個体として検出され、頻度は水田付近の集団が高い傾向にあった。

以上の通り本研究では、栽培化全般にユニークに関与した芒に焦点を当て、栽培化前、栽培化初期、栽培化全体、栽培化終期、栽培化後の5つの時系列に応じた研究項目を設定した。そして、野生イネにおける芒の役割、栽培化初期の種子採集の再現、栽培化において無芒化を促進した遺伝子座の同定、栽培イネに残る有芒性の遺伝的機構の解明、野生イネへの遺伝子流動の実態解明を行い、栽培化以前から現在に至る種子の有芒性および無芒性の意義を多角的な視点から明らかにした。また、これらの研究成果はイネの生態学、遺伝学、育種学分野において新たな知見を提供するものである。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4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 Amarasinghe Yaddehige Priya Jayantha, Kuwata Rie, Nishimura Akinori, Phan Phuong Dang Thai, Ishikawa Ryo, Ishii Takashige	4. 巻 13
2. 論文標題 Evaluation of Domestication Loci Associated with Awnlessness in Cultivated Rice, <i>Oryza sativa</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Rice	6. 最初と最後の頁 26
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12284-020-00386-4	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 -
1. 著者名 Amarasinghe Yaddehige P.J., Otsuka Mitsuharu, Lim Sathya, Ishikawa Ryo, Ishii Takashige	4. 巻 30
2. 論文標題 The role of wild rice (<i>Oryza rufipogon</i>) awns in seed dispersal	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Seed Science Research	6. 最初と最後の頁 319～324
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1017/S096025852000046X	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Amarasinghe YPJ, Kuwata R, Ishikawa R, Ishii T	4. 巻 64
2. 論文標題 QTL analysis for awnlessness using a backcross population between <i>Oryza rufipogon</i> and <i>O. sativa</i> IR36	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Crop Research	6. 最初と最後の頁 43-46
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 オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ogawa F, Ishikawa R, Ishii T	4. 巻 64
2. 論文標題 Spikelet opening under controlled transpiration conditions in rice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Crop Research	6. 最初と最後の頁 31-35
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 オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小川風和、石川亮、石井尊生
2. 発表標題 イネにおける小穂の開花メカニズムの解明に向けて
3. 学会等名 近畿作物・育種研究会 第185回例会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Priya J.A. Yaddehige, Rie Kuwata, Ryo Ishikawa, Takashige Ishii
2. 発表標題 QTL analysis for awnlessness using a backcross population between <i>Oryza rufipogon</i> and <i>O. sativa</i> IR36
3. 学会等名 近畿作物・育種研究会 第186回例会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------