

令和 3 年 6 月 1 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K05595

研究課題名(和文)冠水耐性遺伝子と浮稲性遺伝子を併せ持つ野生イネ種の洪水に対する応答

研究課題名(英文) Responses of wild rice species scarring both submergence-tolerance gene and deepwater rice gene

研究代表者

東 哲司 (Azuma, Tetsushi)

神戸大学・農学研究科・教授

研究者番号：30231913

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：Oryza属植物の中でAゲノムを持つ野生イネ種であるOryza rufipogon, O. longistaminata, O. meridionarisの系統の多くは、冠水耐性遺伝子SUB1Aと浮稲性遺伝子SNORKEL1/2 (SK1/2)を併せ持つことを明らかにした。これらの野生種が持つSUB1Aのアミノ酸配列は、O. sativaの配列との相同性は78%以上であり、SK1/2のアミノ酸相同性は77%以上であった。これらの系統を用いて、洪水に対する反応を調査したところ、多くの系統は浮稲性を示したが、冠水耐性を示す系統はほとんどなく、O. rufipogonの1系統のみが両性質を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

洪水環境に適応することのできる栽培イネ (Oryza sativa) として、短期の冠水条件で数週間の生存が可能な冠水耐性イネと長期の水位上昇条件で水没することなく生育を続ける浮稲という二つの品種群が知られている。しかしこれら二つの性質を併せ持つ品種は知られていない。本研究で、栽培イネと同じAAゲノムを持つ様々なイネ野生種の系統を用いて洪水適応を調べた結果、栽培イネの祖先野生種とされるOryza rufipogonの中に、両性質を示すことのできる系統を見いだした。この系統の適応のメカニズムをさらに研究することで、様々な洪水環境に適応することのできるイネ栽培品種の育成が可能になると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Sequence analysis revealed that many of the strains of the wild rice species Oryza rufipogon, O. longistaminata, and O. meridionaris, which belong to the A-genome group of the genus Oryza, have the submergence-resistance gene SUB1A and the floating rice gene SNORKEL1 / 2 (SK1 / 2). The amino acid sequence of SUB1A possessed by these wild species had a homology of 78% or more with the sequence of O. sativa, and the amino acid homology of SK1 / 2 was 77% or more. When the response to flood was investigated using these strains, many strains showed floating ability, but few strains showed flood resistance, and only one strain of O. rufipogon showed both traits.

研究分野：作物生理学

キーワード：洪水適応 野生イネ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

地球温暖化の進行に伴って世界各地で洪水の頻度が増え、規模も拡大すると予想されている。世界の主要作物の中で洪水に適応できる能力を潜在的に有するのはイネだけであり、将来の食糧の安定供給のためにはさらに多様な洪水に適応することが可能な品種の育成が望まれる。栽培イネの中には異なる様式の洪水に適応する二つの品種群が存在する。一つは冠水耐性稲品種であり、これは幼植物が2週間までの洪水による短期的な水没(冠水)に対して成長を抑制することでエネルギー消費を抑え、洪水後に正常な成長を再開するという反応特性を持つ。この反応は冠水に対して成長を停止させるため静止戦略(冠水耐性)と呼ばれている。もう一つは浮稲品種であり、成熟植物体が長期にわたる緩慢な水位上昇に伴って茎(節間)を伸長させる反応で、それにより葉を水面上に保持することで光合成を続ける。この伸長反応は冠水を避ける反応であるため回避戦略(浮稲性)と呼ばれている。冠水耐性と浮稲性を併せ持つ品種は栽培イネの中には現在のところ存在しない。

我々は、南米アマゾン川において水深が数十メートルに達する周期的に洪水に着目し、その流域に自生している複数の野生イネ種の洪水適応について調査を行った。その中で *Oryza grandiglumis* が冠水耐性と浮稲性を兼ね備えていることを明らかにした(Okishio et al. 2014, 2015)。しかしこの野生イネのゲノムは異質4倍体の CCDD であり栽培イネの AA ゲノムとは異なるため、栽培種への形質の導入は困難である。そこで、栽培イネと同じ AA ゲノムを持つ野生イネの中にも冠水耐性と浮稲性を併せ持つ系統が存在するのではというのが当初の問いであった。

2. 研究の目的

栽培イネにおいて冠水耐性を付与する遺伝子として *SUB1A* が同定され、さらに浮稲性を付与する遺伝子として *SNORKEL1/2* が同定された。我々は PCR による調査で、*SUB1A* と *SK1/2* 遺伝子を併せ持つ AA ゲノム野生イネ系統が、アジアの *Oryza rufipogon*、アフリカの *O. longistaminata*、オーストラリアの *O. meridionalis* にそれぞれ複数系統存在する可能性をこ見いだした。本研究ではこれらの系統において、それらの遺伝子の配列を決定し、またそれらの系統の冠水耐性反応と浮稲性反応を調査することで *SUB1A* と *SK1/2* 遺伝子との関係を明らかにすることを目的とし、また両者の反応を示す系統の発見を目指す。

3. 研究の方法

(1)冠水耐性試験

O. rufipogon、*O. longistaminata*、*O. meridionalis* の *SUB1A* と *SK1/2* を共に持つ可能性のある系統のうち入手可能なものを国立遺伝学研究所より譲渡を受けた。それらをポット栽培し葉を3から4枚持つ植物体にまで生育させた。*O. rufipogon* の一部の系統と *O. longistaminata* は地下茎で繁殖するため、地下茎の節より発芽した幼植物体を用いた。それらの植物体が完全に水没する深水処理を10~14日間行い、その後2週間空気中で栽培(回復期間)し、冠水期間中の草丈の伸長量と回復期間後の生存率を調査した。冠水処理後に倒伏せず、かつ回復期間後に生存している植物体を冠水耐性を有すると評価し、冠水耐性栽培イネ品種 FR13A の反応と比較した。

(2)浮稲性試験

播種後約50日間栽培した野生イネ植物体を用いて水位上昇処理を行った。水位上昇処理後、各系統の生存率、草丈、節間長を測定し、同時に処理した栽培イネの深水イネ品種 T442-57 と浮稲品種 Habiganj Aman II と比較した。処理により水没することなく節間が伸長することで、葉の一部を水面上に保持している系統を浮稲性があると判断した。

(3) *SUB1A* と *SK1/2* の遺伝子配列の決定と発現解析

SUB1A と *SK1/2* を共に有する野生イネ系統のそれぞれの遺伝子の配列を決定し、機能することがすでに明らかにされている栽培イネの *OsSUB1A-1* と *OsSK1/2* との相同性を明らかにし、機能を推定する。さらにそれらの遺伝子の発現解析を上述の冠水耐性試験および浮稲性試験した植物で行った。

4. 研究成果

(1) AA ゲノムから HHJJ ゲノムの野生イネ 153 系統において、浮稲性に関与する *SK1/2* 遺伝子および冠水耐性に関与する *SUB1A* 遺伝子の存在の有無を PCR により再調査した。*SK1/2* 遺伝子については AA ゲノムのほぼすべての系統において増幅され、*SUB1A* 遺伝子については *O. meridionalis*、*O. longistaminata*、*O. rufipogon* のほとんどの系統において増幅されたが、*O. barthii*、*O. glumaepatula* には増幅された系統はなかった。また BB ゲノムから HHJJ ゲノムの野生イネにおいては *SK1/2* 遺伝子および *SUB1A* 遺伝子は増幅が確認されなかった。以上のことから *SK1/2* 遺伝子および *SUB1A* 遺伝子は、AA ゲノムに特異的に存在すること可能性が高いことが示された。

(2) *SK1/2* 遺伝子および *SUB1A* 遺伝子を併せ持つ野生イネの洪水適応反応を調査するために、まず *O. longistaminata* のいくつかの系統を用いて *SK1/2* 遺伝子および *SUB1A* 遺伝子の配列決定

を行った。*O. longistaminata*のSK1遺伝子のアミノ酸配列は,*O. sativa*の遺伝子と比較してその相同性は95.6~96.3%であり,SK2遺伝子では90.6~95.4%,SUB1A遺伝子では96.5%であり,すべての遺伝子が機能型遺伝子との相同性が高く,洪水条件下で*O. sativa*種の浮稲や冠水耐性イネと同様の機能を有している可能性が示唆された。

次に,*O. longistaminata*の地下茎由来の成熟植物体5系統を用いて浮稲性を調査するために,5 cm/dayの速度で水位165cmまでの水位上昇処理を行った結果,供試したすべての系統は水没することなく生育を続け,*O. sativa*の伸長能力の高い浮稲品種であるHabiganj Aman IIと同等かそれ以上の節間の伸長反応を示し,強い浮稲性を示すことが明らかになった。さらに2節間部位でのSK1/2遺伝子の発現解析を行ったところ,発現の誘導が認められた。

*O. longistaminata*の1系統を用い,節を含む切片の腋芽から完全葉を1枚あるいは2枚持つ植物体を育成し,それらを10日間冠水処理したところ,成長を停める個体と停めない個体に分かれることを観察した。その中で冠水後の気中栽培後に生存していた個体は冠水中に草丈を伸長させた個体であることを見いだした。冠水により,SUB1A遺伝子の発現は誘導されたが,成長停止とは無関係であった。

*O. longistaminata*の自生地はアフリカであるが,アフリカには栽培種*O. glaberrima*が存在し,その中にSUB1A遺伝子を有する系統があることを発見した。しかしながら,*O. glaberrima*の野生祖先種とされる*O. barthii*の中にはSUB1Aが存在するものは見いだせなかった。それゆえ,*O. glaberrima*のSUB1A遺伝子は*O. longistaminata*に由来する可能性が考えられたが,配列を調査した結果*O. sativa*のSUB1A-1の配列と同じであるにもかかわらず,冠水により発現は誘導されず,植物体も冠水耐性を示さなかった。

(3) オーストラリア野生イネ*O. meridionalis* 6系統のSK2遺伝子の配列を調査した結果,*OsSK2*とアミノ酸相同性は77.8~91.9%であった。また,SUB1Aの配列は全ての系統で配列が一致し,*OsSUB1A*とアミノ酸相同性は78.7%で,この遺伝子は非耐性型のSUB1A-2型であった。

播種後50日齢の*O. meridionalis* 6系統を用いて1日当たり5cmの水位上昇処理を30日間行ったところ,全ての系統で草丈と節間の伸長が促進されたが,その程度は浮稲Habiganj Aman IIに比べて小さく,深水イネT442-57と同程度であった。

播種後14日齢の植物体を14日間冠水処理を行い,その後14日間気中で回復させたところ,全ての系統において生存する個体はなく,冠水耐性を示す系統はなかった。

(4) PCRによる調査でアジア野生イネ*O. rufipogon* 39系統中38系統が浮稲性遺伝子SK1/2を持ち,その中の18系統が冠水耐性遺伝子SUB1A遺伝子を併せ持つ可能性が示唆されていた。そこでこれらのいくつかの系統を用いて,各遺伝子の配列調査を行った。調査した系統の中で両遺伝子を持つことが示唆されていた4系統のSK1アミノ酸配列は*O. sativa*のSK1と92.2~93.0%の相同性であり,SK2では*O. sativa*のSK2と93.9~100%の相同性の範囲であった。また,これらのうち2系統は*O. sativa*と同一配列の冠水耐性機能型であるSUB1A-1を,他の2系統は*O. sativa*と同一配列の非機能型であるSUB1A-2をそれぞれ持つことが明らかとなった。今回調査した9系統のうち,4系統が*O. sativa*の浮稲と相同性の高いSK1/2遺伝子を持つこと,そのなかで2系統がSUB1A-1を併せ持つことが明らかとなった。

次に,これらの系統の浮稲性評価を行った。播種後72日齢植物体に深水処理を行った結果,6系統は深水条件下での節間伸長が認められ浮稲性を持つことがわかった。さらに,播種後14日齢植物体に14日間冠水処理を行った結果,SUB1A-1を持つ1系統のみが高い生存率を示した。これらのことからSK1/2遺伝子とSUB1A-1遺伝子を併せ持つ*O. rufipogon*のこの系統は,浮稲性と冠水耐性の両方の形質を有すると考えられる。

<引用文献>

Okishio T, Sasayama D, Hirano T, Akimoto M, Itoh K, Azuma T. Growth promotion and inhibition of the Amazonian wild rice species *Oryza grandiglumis* to survive flooding. *Planta* 240: 459-469, 2014

Okishio T, Sasayama D, Hirano T, Akimoto M, Itoh K, Azuma T. Ethylene is not involved in adaptive responses to flooding in the Amazonian wild rice species *Oryza grandiglumis*. *Journal of Plant Physiology* 174: 49-54, 2015,

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Quanshu Luo, Misaki Nakazawa, Daisuke Sasayama, Hiroshi Fukayama, Tomoko Hatanaka, Tetsushi Azuma | 4. 巻 65 |
| 2. 論文標題 Responses to Complete Submergence in African Rice (<i>Oryza glaberrima</i>) | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Crop Research | 6. 最初と最後の頁 37-41 |
| 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 オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 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 藤原将平・笹山大輔・畠中知子・深山浩・東哲司 |
| 2. 発表標題 イネ AA ゲノム野生種の洪水適応 <i>Oryza longistaminata</i> の洪水応答 |
| 3. 学会等名 日本作物学会第248回講演会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 羅全淑，中澤美沙希，笹山大輔，畠中知子，深山浩，東哲司 |
| 2. 発表標題 アフリカイネ <i>Oryza glaberrima</i> とその祖先種 <i>Oryza barthii</i> の洪水に対する応答 |
| 3. 学会等名 日本作物学会第246回講演会 |
| 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 |
|-------|---|--------------------------------------|----|
| 研究分担者 | 笹山 大輔 (Sasayama Daisuke) (20554249) | 神戸大学・農学研究科・助教 (14501) | |

6. 研究組織（つづき）

| | 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 |
|-------------------|---|--|----|
| 研究 分 担 者 | 平野 達也 (Hirano Tatsuya) (30319313) | 名城大学・農学部・教授 (33919) | |

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 |
|---------|---------|
| | |