

平成22年 3月31日現在

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2007～2009

課題番号：19380009

研究課題名(和文) イネの吸水能力に関わる遺伝子座とその機能の解明

研究課題名(英文) Identification and characterization of genomic regions that control the capacity of water uptake in rice

研究代表者

平沢 正 (HIRASAWA TADASHI)

東京農工大学・大学院共生科学技術研究院・教授

研究者番号：30015119

研究成果の概要(和文)：多収性インド型水稻品種ハバタキは標準的な日本の品種であるササニシキ、コシヒカリに比較して、吸水能力を表す水伝導度と葉の窒素含量が高いこととによって、葉の光合成速度を一日を通じて高く維持すること、そしてハバタキの高い水伝導度は根表面積が大きくなることによることを明らかにした。ついで、ササニシキあるいはコシヒカリにハバタキの染色体断片を置換した遺伝解析集団を用いて、ハバタキの水伝導度を高めることに関わる遺伝子座を第4染色体長腕側の165-Kb、および第8染色体短腕側の789-Kbの領域に推定した。そして、第4染色体の当該領域は根の量を増加させる機能を持つことを明らかにした。

研究成果の概要(英文)： A high-yielding indica cultivar, Habataki maintains the higher rate of leaf photosynthesis than in the standard Japanese cultivars, Koshihikari and Sasanishiki as a result of the higher hydraulic conductance as well as the higher level of leaf nitrogen. The significant higher hydraulic conductance resulted from the larger root surface area in Habataki. Using progeny populations and lines derived from a cross between Koshihikari (or Sasanishiki) and Habataki, we identified the genomic regions responsible for the hydraulic conductance within a 165-kb region and within a 789-kb region on the long arm of chromosome 4 and on the short arm of chromosome 8, respectively. The designated region on chromosome 4 of Habataki was responsible for the increase in root mass.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	9,300,000	2,790,000	12,090,000
2008年度	4,700,000	1,410,000	6,110,000
2009年度	1,800,000	540,000	2,340,000
年度			
年度			
総計	15,800,000	4,740,000	20,540,000

研究分野：作物学

科研費の分科・細目：作物学・雑草学

キーワード：(1) イネ、(2) 気孔伝導度、(3) 吸水能力、(4) 光合成速度、(5) 染色体断片置換系統、(6) 窒素含量、(7) 水伝導度、(8) 量的形質遺伝子座

1. 研究開始当初の背景

(1) 背景

イネは土壤水分が低下した時だけでなく、土壤水分が十分にある時でも蒸散が盛んな条件では、体内水分欠乏を起こし、気孔が閉じて光合成速度が低下する。イネは他の作物に比較して水ストレスを受け、乾物生産や子実収量が低下しやすい。イネが体内水分欠乏に陥りやすいのは、①吸水能力が劣ることと葉のクチクラ抵抗が小さいためであり、②イネの吸水能力が他の作物に比較して劣るのは、根系の発達が劣ることと単位根量当たりの吸水能力が劣ることによる。同じイネであっても吸水能力には大きな品種間差がある。吸水能力は量的形質と考えられる。根における水輸送制御機構に関して、組織、細胞、分子のレベルで多くの研究が行われているが、吸水能力を直接の指標とした量的形質遺伝子座 (QTL) 解析はまだ行われるに至っていない。

(2) 研究の動機

吸水能力に関わる多くの形質が量的形質であり、遺伝的研究は著しく立ち遅れている。したがって効率的育種法もまだ確立されていない。最近のゲノム研究の成果によって、これまでの研究によって明らかにされてきた重要な収量や品質に関する量的形質の遺伝子座が解明でき、DNAマーカーによって有用な生理的、形態的形質を効率的に新しい品種に導入することが可能になりつつある。根の吸水能力についても、これまでの多くの研究から明らかにされてきた形質について、遺伝子座を解明し、DNAマーカーを作出することによって、これまでの研究成果を育種に適用できるものと考えられる。しかし、吸水能力のQTLを研究するのに適した実験系統がまだ作出されてこなかった。

最近になって染色体断片置換系統群 (CSSL) が作出された。CSSLは、①各系統が遺伝的に固定されているので、同じ遺伝子型をもつ個体が多数得られ、測定に反復を要する生理的形質のQTL解析に適している、②特定の染色体領域のみ置換されているので、遺伝解析が容易である、などの利点がある。CSSLを使えばこれまでの申請者の研究成果に基づいて、根の吸水能力に関わる遺伝子座の同定と機能の解明ができると考えた。

2. 研究の目的

わが国の標準的品種のササニシキ、コシヒカリと光合成速度の高い多収性インド型品種ハバタキ、そしてさらに、これらの染色体断片置換系統群を用いて、以下の検討を行う。

(1) 多収性品種ハバタキの葉の光合成速度の高い機構を根の吸水能力を表す水伝導度 (hydraulic conductance) に着目して解析する。

(2) 水伝導度の大きく異なる両親から作出されたCSSLを用いて、吸水能力に関わる染色体遺伝子座領域を推定する。

(3) 推定された遺伝子座をもつ染色体領域のF₂分離集団とその組換え固定系統を用いて、吸水能力に関わるイネの遺伝子座をDNAマーカーによって同定する。

(4) 見出した遺伝子座の機能を解析する。

3. 研究の方法

(1) 供試材料

水伝導度を高めることに関わるおおよその染色体領域を推定するため、ササニシキにハバタキの染色体断片を置換したCSSL (Ando et al., 2008) を用いた。ついで、推定したQTL領域のコシヒカリとハバタキのF₂分離集団、および候補QTL領域のコシヒカリ染色体にハバタキ染色体断片を置換したCSSLを供試した。

(2) 栽培

本学農学部附属広域都市圏フィールドサイエンス教育研究センターの水田に生育させた水稲を主として測定に用いた。栽植密度は22.2株/m²、1本/株、肥料は基肥として堆肥約2t/10a、化成肥料N、P₂O₅、K₂Oを各成分で1.5、6、6kg/10a施用した。Nは緩効性肥料を用い、追肥は行わなかった。

吸水能力の解析には1/5000aワグネルポットで、グロースチャンパー内(12時間(昼)/12時間(夜)、28°C/23°C、湿度60%/80%)に生育させた水稲を用いた。

(3) 水伝導度の測定

① 浸透的水伝導度

茎基部の出液速度 (E)、茎基部における木部液の浸透ポテンシャル (Ψ_{pos})、土壤溶液の浸透ポテンシャル (Ψ_{sos}) および根の反射係数 (σ 、ここでは0.4とした) から、根から茎基部までの浸透的水伝導度 (C_o) を次式より求めた。

$$C_o = E / \sigma (\Psi_{sos} - \Psi_{pos}) \quad (1)$$

② 受動的水伝導度

葉の蒸散速度 (T) と木部の水ポテンシャル (Ψ_x) とから、根から葉身までの受動的水伝導度 (C_p) を次式より算出した。

$$C_p = -T / \Psi_x \quad (2)$$

(4)葉の光合成速度と気孔伝導度の測定
光合成速度と気孔伝導度は、携帯用光合成蒸散測定装置 (LI-6200 あるいは LI-6400, LI-COR 社) を用いて測定した。

4. 研究成果

(1)ハバタキの光合成速度がササニシキ、コシヒカリに比較して高い要因の解析

ハバタキは、ササニシキ、コシヒカリに比較して、窒素施用量が等しくても葉の窒素含量が高いことによって、そして、葉の窒素含量が等しくても気孔伝導度が大きいことによって、葉の光合成速度が高くなることが分かった (図 1、2)。さらに、葉の窒素含量が等しくても、ハバタキの気孔伝導度が大きいのは、ハバタキは水伝導度が大きいことによって、光飽和条件下でも葉の水ポテンシャルを高く維持しているためであることが分かった。

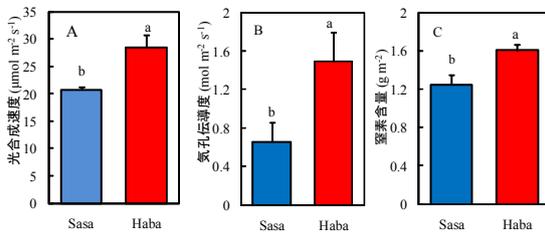


図 1 ササニシキ (Sasa) とハバタキ (Haba) の止葉の光合成速度 (A)、気孔伝導度 (B)、窒素含量 (C) (穂揃い期)。異なるアルファベット間には 5% 水準で有意差があることを示す。

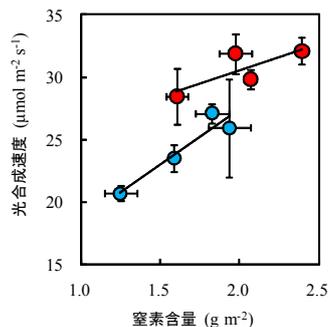


図 2 ササニシキ (●) とハバタキ (●) の止葉の窒素含量と光合成速度の関係 (穂揃い期)。

(2)ハバタキの水伝導度が大きい要因

ハバタキは総根長が大きいことによって、根の表面積が大きい。しかし、根の表面積当たりの水伝導度 (hydraulic conductivity) にはササニシキと違いがなかった。したがって、ハバタキの水伝導度が大きいのは、根表面積

が大きいことによることが推察された。

(3)浸透的水伝導度の測定精度の検討

簡便に測定できる浸透的水伝導度によって受動的水伝導度を推定、評価できるか否かを、受動的水伝導度の異なる品種を用い、出穂期と登熟中期に検討した。その結果、受動的水伝導度と浸透的水伝導度とは、品種、生育段階を通じて一つの直線的関係にあることが分かった。このことから、浸透的水伝導度により、受動的水伝導度と同様に根の吸水能力を比較できることが分かった。

(4)水伝導度と光合成速度の Q T L 解析：ササニシキを背景とするハバタキの C S S L を用いた解析

ササニシキを背景とするハバタキの C S S L 3 8 系統 (SL401~SL439) を用いて水伝導度と光合成速度の Q T L 解析を行った。

① 水伝導度

登熟期の水伝導度は、ササニシキに比較して SL414 は有意に大きく、SL413 は大きくならなかったことから、第 4 染色体の RM3916 と RM2431 の間の領域に水伝導度を大きくする遺伝子座のあることが推察された。SL414 は、ハバタキと同様、ササニシキに比較して、根の表面積が有意に大きかった。

SL410 と SL425 の水伝導度はササニシキに比較して大きい傾向が認められ、第 3 染色体長腕側と第 8 染色体短腕側にも水伝導度を大きくすることに関わる遺伝子座のある可能性が推察された。

② 光合成速度

穂揃い期の光合成速度は、SL414、SL416、SL434 はササニシキに比較して常に有意に高かった (図 3)。これらの光合成速度の高かった系統は、ササニシキに比較して葉の窒素含量が高い傾向があり、さらに、葉の窒素含量が等しくても、気孔伝導度が大きいことによって、光合成速度が高い傾向が認められた。以上の結果から、第 4、5、11 染色体に葉の窒素含量を高め、水伝導度を高めて、葉の光合成速度を高める染色体領域のあることが推察された。

他の C S S L 系統の光合成速度の結果と併せると、第 4 染色体は RM3916 と RM2431 の間、第 5 染色体は RM6742 と RM5642 の間、第 11 染色体は RM7283 と RM1341 の間にそれぞれ葉の光合成速度を高める領域のあることが推察された (図 4)。

(5)吸水能力と光合成速度を高める遺伝子座の同定：コシヒカリとハバタキの遺伝解析集団を用いて

ササニシキとハバタキの C S S L を用い

て推定した第4染色体と第8染色体上の水伝導度と光合成速度を高める領域を絞り込むため、F₂集団を用いてQTL解析を行った。そしてこれに基づいて、CSSL解析集団を作成して遺伝子座領域の絞り込みを行い、併せて、準同質遺伝子系統を用いて、当該領域の機能を解析した。

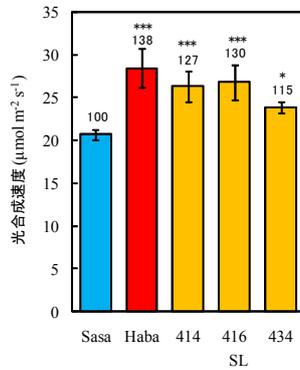


図3 ササニシキ (Sasa)、ハバタキ (Haba) および SL414, 416, 434 の止葉の光合成速度の比較 (穂揃い期)。
*、***はそれぞれ5%、0.1%水準でササニシキとの間に有意差があることを示す。図中の数字はササニシキに対する割合。

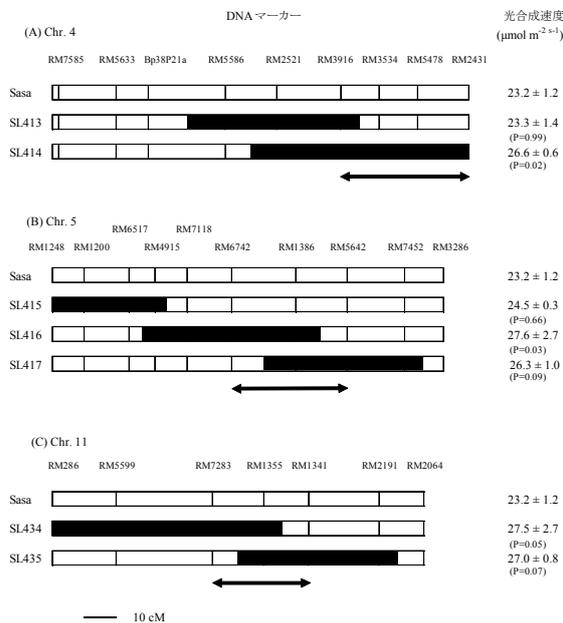


図4 第4 (A)、5 (B)、11 (C) 染色体における光合成速度を高める領域の推定。白と黒のボックスは、それぞれ遺伝子型がササニシキ型、ハバタキ型であることを示す。Sasa はササニシキを示す。矢印は光合成速度を高めることに関する推定領域を示す。

① F₂ 集団の QTL 解析

コシヒカリ/ハバタキの BC₅F₁ の自殖集団 (F₂ 集団) を用いて QTL 解析を行ったところ、光合成速度を高める QTL が第4染色体長腕側の RM3836 近傍に、そして、第8染色体短腕側の RM8019 近傍に検出された。

② CSSL を用いた解析

①の結果に基づいて、光合成速度、水伝導度を高める第4染色体と第8染色体の領域をさらに絞り込むため、コシヒカリとハバタキの CSSL を作成し、それぞれの系統の光合成速度、気孔伝導度を比較した。その結果、光合成速度、気孔伝導度を高める QTL を、第4染色体では RM3836 近傍の 165kb の領域に、第8染色体では RM8019 近傍の 789kb の領域に絞り込んだ。

③ 遺伝子座の機能

第4染色体と第8染色体のそれぞれの光合成速度、気孔伝導度を高める遺伝子座領域をハバタキの染色体断片と置換した準同質遺伝子系統 (NIL) を用いて、機能を検討した。その結果、いずれの NIL もコシヒカリと比較して、葉の窒素含量が等しくても、光合成速度と気孔伝導度は大きかった (第5図)。第4染色体におけるこの領域は水伝導度を大きくして気孔伝導度を大きくするとともに葉身窒素含量を高めることによって、そして、第8染色体は主として水伝導度を大きくして気孔伝導度を高めることによって、それぞれ光合成速度を高めていることが分かった (第6図)。

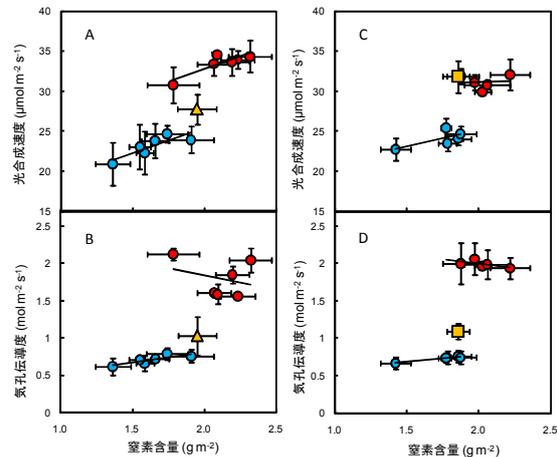


図5 コシヒカリ (●), ハバタキ (●) および準同質遺伝子系統 (▲, ■) における葉の窒素含量と光合成速度 (A, C)、気孔伝導度 (B, D) の関係。A, B は第4染色体, C, D は第8染色体における準同質遺伝子系統の比較。

また、第4染色体におけるNILはコシヒカリに比較して、根の表面積が大きいことから、第4染色体の当該領域は根長を増加させる機能を有することが推察された。

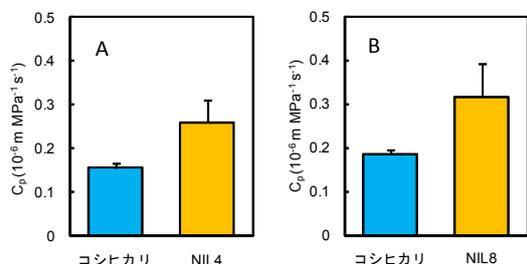


図6 コシヒカリと準同質遺伝子系統の水伝導度の比較。
A, Bはそれぞれ第4染色体 (NIL4), 第8染色体 (NIL8) の準同質遺伝子系統の比較。

(6) 今後の展望

①本研究で見いだされた吸水能力を高め、光合成速度を高める領域のDNAマーカーをもとに、吸水能力が高く、光合成速度の高い水稲を育成する計画である。

②本研究の成果をもとに、吸水能力に関わる遺伝子の同定、単離を目指す。

5. 主な発表論文等

(下線は研究代表者、研究分担者)

〔雑誌論文〕 (計4件)

- ① Hirasawa, T., S. Ozawa, R. D. Taylaran and T. Ookawa, 2010, Varietal differences in rates of leaf photosynthesis in rice plants, with special reference to the nitrogen content of leaves, *Plant Production Science*, 査読有, Vol.13, No.1, pp. 53-57.
- ② Taylaran, R. D., S. Ozawa, N. Miyamoto, T. Ookawa and T. Hirasawa, 2009, Performance of a high-yielding modern rice cultivar Takanari and several old and new cultivars grown with and without chemical fertilizer in a submerged paddy field, *Plant Production Science*, 査読有, Vol.12, No.3, pp.365-380.
- ③ 浅沼俊輔、二戸奈央子、大川泰一郎、平沢正、2008、水稲品種ササニシキとハバタキの収量、乾物生産とこれに関わる生理生態的性質の比較、*日本作物学会紀事*、査読有、Vol.77、No. 4、pp. 471-480.
- ④ Koizumi, K., T. Ookawa, H. Satoh and T. Hirasawa, 2007, A wilty mutant of rice has

impaired hydraulic conductance, *査読有*, *Plant & Cell Physiology*, Vol.48, No.8, 1219-1228.

〔学会発表〕 (計24件)

- ① Asanuma S., Estimation and characterization of a quantitative trait locus on chromosome 4 for leaf photosynthesis in paddy rice, *American Society of Plant Biologists*, 2009年7月19-20日, Hawaii, USA
- ② Hirasawa, T., QTL analysis of leaf photosynthesis of rice using the lines of Habataki chromosome segment substitution in Sasanishiki, *American Society of Plant Biologist*, 2008年7月1日, Merida, Mexico
- ③ Asanuma S., QTL analysis of the capacity of water uptake and transport in rice: resistance to water transport in the lines of (cv.) Habataki chromosome segment substitution into (cv.) Sasanishiki, 2007年11月5-9日, Bangkok, Thailand

〔図書〕 (計3件)

- ① 平沢正、農山漁村文化協会、作物学用語事典、2010、pp. 166-167.

〔産業財産権〕

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

平沢 正 (HIRASAWA TADASHI)
東京農工大学・大学院共生科学技術研究院・教授
研究者番号：30015119

(2) 研究分担者

大川 泰一郎 (OOKAWA TAIICHIRO)
東京農工大学・大学院共生科学技術研究院・准教授
研究者番号：80213643