

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 4 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23380040

研究課題名(和文) 近未来環境を想定した環境保全型多収イネの開発

研究課題名(英文) Development of a new type of high-yielding rice cultivar for environmental conservation in near future

研究代表者

牧野 周 (Makino, Amane)

東北大学・(連合)農学研究科(研究院)・教授

研究者番号：70181617

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,400,000円、(間接経費) 4,320,000円

研究成果の概要(和文)：大粒イネ品種である秋田63号をモデルに、超多収の実証と多収理論を構築することを目的とした。圃場試験の結果、秋田63号が大粒であるにも関わらず、種子親品種オオチカラに認められた総モミ数の減少は確認されず、そのトレードオフ要因を克服した育種であることが、多収性を示す最大要因であることがわかった。秋田63号の大粒の要因は、gs3遺伝子であることがわかった。また、オオチカラに確認されたモミ数減の不良遺伝子に関しては、同定中である。

研究成果の概要(英文)：We examined main factors for achieving a high yield in a new type of high-yielding and large-grain rice cultivar, Akita 63. The field experiments showed that a large grain size without reducing the grain number in Akita63 directly leads to high yield, although the grain number largely declines in a mother cultivar, Oochikara. We have identified gs3 as a QTL for grain length in Akita-63, and we are determining a QTL for reducing the grain number in Oochikara.

研究分野：農芸化学

科研費の分科・細目：植物栄養学・土壌学

キーワード：イネ 多収 大粒 未来環境

1. 研究開始当初の背景

「世界規模での穀物不足」が進行している。その背景には、途上国での爆発的な人口増、食の変化、農耕地の減少、異常気象に加え、投機マネーの穀類市場への介入、バイオエタノール生産による穀物価格の高騰、肥料価格の高騰などがある。一方で、大気 CO₂ 濃度は急速に上昇しており、作物生産への影響が懸念されている。また、近年の環境保全への配慮から、窒素肥料の使用量の低減が強く望まれている。コメは世界半数以上の人々の主食であり、今後の世界人口の増加は、とくにアジアで大きく、コメの需要は 2025 年までに 50%以上増加すると予想される (IRRI, 1995)。稲作地の開発は既に限界に達しており、今後のイネ増収は、土地面積当たりの収量増加以外にない。

1960 年代に国際稲研究所で開発された短稈品種により、この 40 年の間に生産性は 2-3 倍と飛躍的に増加した (緑の革命)。しかし、この飛躍的な生産性の増加は、多量な窒素肥料の投入によって達成されており、現在では肥料成分の環境への流出による環境負荷の増大が懸念されている。現在及び近未来環境下でのイネ栽培においては、少ない窒素施肥量で多収となり、生産の安定化と環境負荷の軽減が図れる革新的な多収品種の育成が必要であり、そのための確かな戦略の策定が必須である。

近年、私達は、一粒重が普通栽培品種の 1.4 倍程度大きい大粒品種「秋田 63 号」を育成し、日本記録に匹敵する超多収性 (精玄米収量にして 9.83 t/ha) を実証した。また、生理学的な観点の解析から、従来品種に比較して、単位吸収窒素量あたりの玄米生産効率が格段に高く、少ない窒素肥料で、高収量が得られることを突き止めた。大粒品種によりこのレベルの超多収が達成されたのは初めてである。従来多肥のもとでの籾数の増加による超多収に比べ、少ない窒素吸収量で超多収が実現されることから耐倒伏性、いもち病感染の低減、および環境負荷の軽減もなされる。一方で、秋田 63 号は、シンク容量不足を解消する有用形質を十分に有していると期待される。これらは、今後の超多収イネ育成の新しい方向性を示す画期的な成果である。

そこで、本研究では、秋田 63 号の有用形質に関し、その両親品種との特性の違いを明らかにするとともに、QTL 遺伝子の同定や DNA マーカー等の分子基盤の整備も行い、近未来環境への適合性が高く、かつ良質で多収を実現する実用品種の分子育種を、整備した DNA マーカーによってスタートさせる。また、秋田 63 号及びその後代品種を用いて、新たな超多収品種育成の戦略の提示を目指した。

2. 研究の目的

近未来に予想される高 CO₂ 環境に備え、多収性と窒素生産効率に優れた革新的イネ新品種の育成に向けて、少肥で超多収を実現した絶好の素材である大粒イネ新品種「秋田 63 号」の有用形質に関わる両親品種との特性の違いを圃場レベルで明らかにするとともに、それらの遺伝子を同定し、DNA マーカーを整備して、その有用形質を実用品種育成に応用できる分子基盤を構築し、実用品種育成をスタートさせる。

3. 研究の方法

秋田 63 号の超多収性の実証と多収理論を構築するため、窒素あたりの収量構成要素の推移やバイオマス生産の生理解析を行うべく、秋田県立大学大湯村実験圃場にて、秋田 63 号、その種子親品種であり、かつ大粒のオオチカラ、および標準粒重の花親品種である秋田 39 号の多収解析を行った。

次に、秋田 63 号の大粒性を決定している遺伝的要因の同定のために、標準型の岩手 75 号との F1 個体を交配法で得た。その自殖系統である F2 系統、F5 系統を作製した。153 個体の F2 系統を慣行法にて水田で栽培し、玄米の長さ、幅を算出し、重量を測定した。F5 系統については、本研究で開発した秋田 63 号の大粒性を決定している DNA マーカーを用いて、大粒性の秋田 63 号型の F5 系統、標準型の岩手 75 号型の F5 系統、各任意の 6 系統を栽培し、農業形質を測定した。また、秋田 63 号の親であるオオチカラとの F1 個体も得た。その自殖系統である F2 系統を慣行法にて水田で栽培し、籾数を測定した。

籾および玄米の長さ、幅はプログラム Image J を用いて算出した。遺伝的要因の同定には、バルクセグレガント法を用いた。DNA マーカーは、McCouch ら (2002)、イネゲノムプロジェクト (<http://rgp.dna.affrc.go.jp/>) で公開されている、単純反復配列を検出する DNA マーカー 2000 個程度を用いた。また、塩基配列の決定、日本晴のゲノム DNA 配に基づいた DNA マーカーの開発は、Obara ら (2002) の方法で行った。PCR 法、電気泳動、遺伝子型の解析は、Obara ら (2014) に準じて行った。

4. 研究の成果

秋田 63 号はオオチカラより一粒重が 30% ほど小さく、秋田 39 号より 30% ほど大きかったが、吸収窒素量当たりの総モミ数が秋田 63 号と秋田 39 号に差がなく、オオチカラの約 2 倍増であることがわかった (図 1)。このことは、種子親オオチカラには大粒形質とモミ数に負の相関があるのに対し、秋田 63 号がその大粒の一部の形質を持ちつつ、オオチカラに見られたトレードオフを解消した育種に成功し、39 号のモミ数確保の優れた形質を保持していることがわかった。

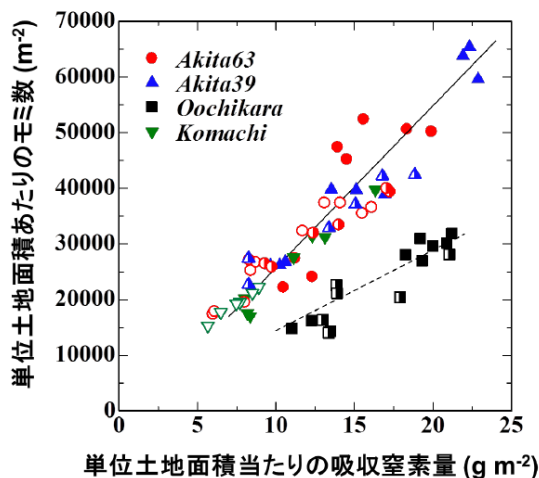


図1 単位土地面積あたりの吸収窒素量とモミ数の関係

秋田 63 号の大粒性を決定している遺伝要因の同定について、以下の結果を得た。岩手 75 号に比較して、秋田 63 号の出穂期の穎の長さおよび幅は有意に長かった(表 1)。また、完熟した玄米に関しては、秋田 63 号の長さ、幅および重量は有意に長かった(表 1)。これらの結果から、秋田 63 号の大粒性は、穎のサイズが大きいため、玄米が重くなることが推察された。重回帰分析の結果、秋田 63 号と岩手 75 号に由来する F2 個体の完熟期の玄米の重量は、玄米の長さおよび幅の変異で 98% 説明できることが判明した。これらの結果から、秋田 63 号の大粒性は、玄米の長さおよび幅の増加によって達成されていることが明らかになった。F2 系統でのバルクセグレガント法によって、秋田 63 号の大粒性に関する遺伝要因は第 3 染色体の長腕側に座していることが判明した。この領域は、籾の大きさに関する遺伝要因 GS3 が座していた (Fang et al., 2006)。そこで、GS3 遺伝子の塩基配列について、秋田 63 号の配列 (GS3-Akita63) と岩手 75 号の配列 (GS3-Iwate75) を比較解析し

表 1 穎および玄米サイズの比較

形質	秋田 63 号	岩手 75 号	
長さ ^a			
(mm)	9.2	7.7	**
幅 ^a			
(mm)	3.9	3.7	*
長さ ^b			
(mm)	6.5	5.2	**
幅 ^b			
(mm)	3	2.8	**
重量 ^b			
(mg)	30.3	21.3	**

a 出穂期の穎

b 完熟期の玄米

** : $P < 0.01$, * : $P < 0.05$ (ANOVA)

た。その結果、GS3-Iwate75 ではアミノ酸をコードする領域において、GS3-Akita63 は、一塩基の変異により停止コドンへの置換が検出された。この塩基変異は、Mao 等 (2010) で報告されている大粒性を引き起こす GS3-3 変異と同じであった。これらの結果から、GS3 の一塩基の変異による停止コドンへの置換が、秋田 63 号の大粒性を決定している遺伝要因であることが明らかになった。しかしながら、これまでに GS3-3 変異の生産性への効果は明らかにされていない。そこで、GS3-Akita63 である任意の F5、6 系統の生産性を比較した。その結果、GS3-Iwate75 の系統群と比較して、GS3-Akita63 の系統群は、穂重、地上部重、玄米重、全地上部重に対する穂重の比(HI)が有意に高かった。一方、茎葉重、総籾数、登熟歩合に有意な差は認められなかった。各収量構成要素から玄米収量を算出したところ、GS3-Akita63 の系統群は、玄米収量が有意に高かった(表 1)。さらに、地上部へと吸収した窒素量あたりの玄米収量は、GS3-Iwate75 の系統群が 57.5 g/m^2 であるのに対し、GS3-Akita63 の系統群は 62.0 g/m^2 と有意な差が認められなかった。これらの結果から、GS3-Akita63 の系統群の玄米収量の増加は、吸収窒素の増加によるものではなく、穂への分配が高いことが主要な原因であることが示された。この穂への分配が高いことは、GS3-Akita63 によって達成されていることが示された。

秋田 63 号の籾数の減少を伴わない遺伝要因の同定について、以下の成果を得た。本研究によって、オオチカラの地上部吸収窒素あたりの籾数は、秋田 63 号を含めた多くの日本型品種に比較して、有意に低いことが判明した。この遺伝様式を明らかにするために、秋田 63 号とオオチカラに由来する F2 系統を栽培し、調査した。地上部の吸収窒素量と乾物重の間には高い正の相関が認められている。そのため、地上部重あたりの籾数を測定することで、簡便に上部吸収窒素あたりの籾数を見積もることにした。その結果、秋田 63 号では 17.5 籾数/gD.W. であったのに対し、オオチカラでは 12.4 籾数/gD.W. と有意に低かった。この結果から、地上部重あたりの籾数は、地上部吸収窒素あたりの籾数を反映していることが明らかになり、簡便な評価方法が確立された。F2 個体の地上部重あたりの籾数は、 9.8 から 17.8 籾数/gD.W. と連続的に分布していた(図 2)。また、オオチカラの地上部重あたりの籾数が低い系統があり超越分布が認められたが、秋田 63 号の地上部重あたりの籾数が高い系統は認められなかった。これらの結果から、オオチカラには地上部吸収窒素あたりの籾数を低下させる不良要因が少なくとも 2 つ以上存在しており、そのうちのひとつが主動的であることが示された。高生産系統の育成を目指した飼料イネ育成の母本に用いられているオオチカラの不良形質は遺伝的支配を受けていることが明らかになった。

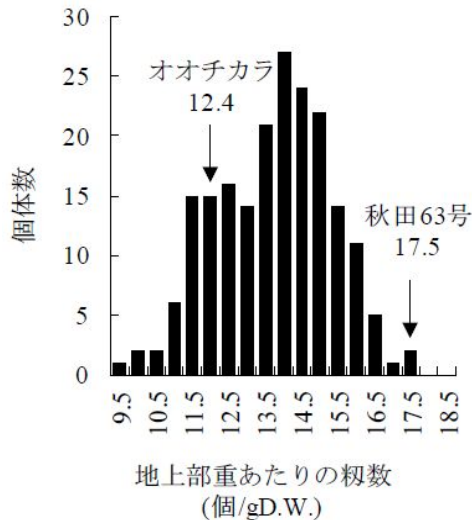


図2 オオチカラと秋田63号に由来するF₂個体における地上部重あたりの粒数の分布
この遺伝要因の同定に向けて、一塩基の違いを検出する1419個のDNAマーカーを用いて多型検出を行ったところ、44個のDNAマーカーにおいて多型が検出された。今後、F₃、F₄系統を育成、地上部重あたりの粒数を調査するとともに、遺伝解析を行っていく。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計11件)

以下、11件すべて査読あり

. Obara M, Ishimaru T, Abiko T, Fujita D, Kobayashi N, Yanagihara S and Fukuta Y (2014) Identification and characterization of quantitative trait loci for root elongation by using introgression lines with genetic background of Indica-type rice variety IR64. *Plant Biotechnol. Reports* in press. doi: 10.1007/s11816-014-0320-9

. Abiko T and Obara M (2014) Enhancement of porosity and aerenchyma formation in nitrogen-deficient rice roots. *Plant Science* 215-216: 76-83. doi: 10.1016/j.plantsci.2013.10.016

. Suzuki Y and Makino A (2013) Translational down-regulation of *RBCL* is operative in the coordinated expression of Rubisco genes in senescent leaves in rice. *J Exp. Bot.* 64: 1145-1152. doi: 10.1093/jxb/ers398

. Hasegawa T, Sakai H, Tokida T, Nakamura H, Zhu C, Usui Y, Yoshimoto M, Fukuoka M, Wakatsuki H, Katayanagi N, Matsunami T, Kaneta Y, Sato T, Takakai F, Sameshima R, Okada M, Mae T and Makino A (2013) Rice cultivar responses to elevated CO₂ at two free-air CO₂ enrichment (FACE) sites in Japan. *Func. Plant Biol.* 40: 148-159. doi: org/10.1071/fp12357

. Hanzawa E, Sasaki K, Nagai S, Obara M, Fukuta Y, Uga Y, Miyao A, Hirochika H,

Higashitani A, Maekawa M and Sato T (2013) Isolation of a novel mutant gene for soil-surface rooting in rice (*Oryza sativa* L.). *Rice* 6:30 <http://www.thericejournal.com/content/6/1/30>

. Ogawa S, Suzuki Y, Yoshizawa R, Kanno K and Makino A (2012) Effect of individual suppression of *RBCS* multigene family on Rubisco contents in rice leaves. *Plant Cell Environ.* 35, 546-553. doi: 10.1111/j.1365-3040.2011.02434.x

. Suzuki Y, Fujimori T, Kanno K, Sasaki A, Ohashi Y and Makino A (2012) Metabolome analysis of photosynthesis and the related primary metabolites in the leaves of transgenic rice plants with increased or decreased Rubisco content. *Plant Cell Environ* 35: 1369-1379. Doi: 10.1111/j.1365-3040.2011.02434.x

. Suzuki Y and Makino A (2012) Availability of Rubisco small subunit up-regulates the transcript levels of large subunit for stoichiometric assembly of its holoenzyme in rice. *Plant Physiol.* 160: 533-540. doi: 10.1104/pp.112.201459

. Makino A (2011) Photosynthesis, grain yield and N utilization in rice and wheat. *Plant Physiol.* 155: 125-129. doi: 10.1104/pp.110.165076

. Seneweera S, Makino A, Hirotsu N, Norton R, Suzuki Y (2011) New insight into photosynthetic acclimation to elevated CO₂: The role of leaf nitrogen and ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase in rice leaves. *Environ. Exp. Bot.* 71: 128-136. doi: 10.1016/j.envexpbot.2010.11.002

. Yamori W, Nagai T and Makino A (2011) The rate-limiting step for CO₂ assimilation at different temperatures is influenced by the leaf nitrogen content in several C₃ crop species. *Plant Cell Environ.* 34: 764-777. doi: 10.1111/j.1365-3040.2011.02280.x

〔学会発表〕(計11件)

小原実広、福田善通、柳原誠司、陸稲の根関連形質の遺伝的変異とQTLの検出、第125回日本育種学会講演会、2014年3月20日、仙台

Makino A: Rubisco, nitrogen and plant growth in rice. JST-CREST International Symposium on Productivity Improvement of Plants: From Model to Crop Plants, Nara City, Japan, January 10, 2014

Makino A: Rubisco and nitrogen relationships in rice leaves. The 16th international Congress on Photosynthesis Research, St. Louis, MI, USA, August 11-16, 2013

金田吉弘、重粘土水田の汎用化促進と水稲安定生産のための土壌管理・施肥技術の開発、第59回日本土壌肥料学会大会、2013年9月11日、名古屋

牧野周、作物の光合成能力の改善は可

能か？これからの挑戦、第4回日本光合成学会年会および公開シンポジウム、2013年6月1日、名古屋

小原実広、小玉郁子、金田吉弘、前忠彦、牧野周、超多収イネ秋田63号の収量ポテンシャルを支配している遺伝要因の同定と特徴づけ、第54回日本植物生理学会年会、2013年3月21日、岡山市

Makino A: Source/sink improvement in rice: Rubisco as a target for enhancing N-use efficiency. The 13th Chinese Crop Physiology Academic Conference (International Symposium) Yanzhou, Jiangsu, China, September 20-22, 2012

小原実広、イネの窒素利用機能に関する研究、第58回日本土壌肥料学会、2012年9月4日、鳥取市

小原実広、イネ安定生産に向けた窒素利用を向上させるQTL遺伝子と生産性、第53回日本植物生理学会年会、2012年3月16日、京都市

牧野周、イネの窒素栄養生理と生産性、第57回日本土壌肥料学会、2011年8月10日、つくば

小原実広、イネの生産性における窒素利用の遺伝学的解析、第57回日本土壌肥料学会、2011年8月8日、つくば

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

研究代表者所属研究室 WEBSITE

<http://www.agri.tohoku.ac.jp/syokuei/index-j.html>

!

5. 研究組織

(1) 研究代表者

牧野 周 (MAKINO, AMANE)

東北大学・大学院農学研究科・教授

研究者番号：70181617

(2) 研究分担者

小原 実広 (OBARA, MITSUHIRO)

独立行政法人国際農林水産業研究センター・生物資源領域・研究員

研究者番号：10455248

(3) 研究分担者

金田 吉弘 (KANETA, YOSHIHIRO)

秋田県立大学・生物資源科学部・教授

研究者番号：30347207