

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 18 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23580473

研究課題名(和文) 野生種を利用したイネ科作物における種子脱粒性制御機構の解明に向けて

研究課題名(英文) Toward the understanding of the regulation of seed shattering habit in cereal plants using wild species

研究代表者

石川 亮 (ISHIKAWA, RYO)

神戸大学・(連合)農学研究科(研究院)・助教

研究者番号：70467687

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,300,000円、(間接経費) 1,290,000円

研究成果の概要(和文)：離層形成による種子の自然脱粒は野生植物の繁殖にとって必須であるが、作物として人間が利用する場合には収量低下に繋がる。しかしながら、離層形成に関わる因子やその制御機構については不明な点が多い。本研究では、イネで同定された栽培種由来の2つの非脱粒性遺伝子を戻し交雑によって野生イネに導入し、これらを遺伝的に固定させてもなお脱粒性を示す独自の材料を用いて、従来では検出が困難であった新規脱粒性遺伝子座をQTL(量的形質遺伝子座)解析により同定した。さらに、完全離層を形成する野生種と比較することによって、新規・既知脱粒性遺伝子座の離層形成における役割について組織レベルで明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Previously, two major quantitative trait loci (QTLs, qSH1 and sh4) were shown to be responsible for the seed-shattering degree. We produced introgression lines carrying cultivated alleles from *O. sativa* Nipponbare at the two major QTLs in wild rice *O. rufipogon* W630, genetic background. The introgression lines carrying Nipponbare alleles at either or both loci showed complete or partial abscission layer formation, respectively. This result indicated that other unknown loci might be involved in enhancing seed shattering in wild rice. Using an F2 population between Nipponbare and the wild introgression line carrying the Nipponbare alleles at the two QTLs. We identified a single QTL regulating seed-shattering degree and named it qSH3. A significant effect on seed-shattering degree was observed for the wild introgression line carrying Nipponbare alleles at qSH3 and the two QTLs, suggesting an important role of qSH3 on seed shattering in coordination with the two QTLs.

研究分野：応用分子細胞生物学

科研費の分科・細目：発生・分化制御

キーワード：イネ 脱粒性

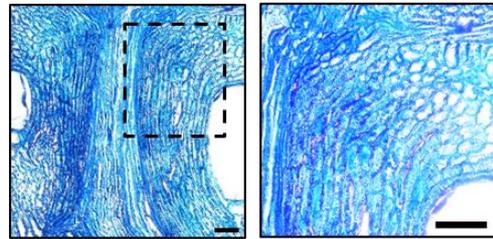
1. 研究開始当初の背景

多くの作物において、祖先野生種が有していた種子脱粒性の喪失は栽培化の初期に起きたと考えられており、農業上収量を保証する最も重要な形質の1つである。熱帯・温帯地方で広く栽培されている栽培イネ (*Oryza sativa* L.) は約1万年前にアジアの野生種である *O. rufipogon* より栽培化されたことが知られている。これまでに、交雑系統を用いた QTL 解析によって、脱粒性に関与する主要な2つの遺伝子座が発見されている。1つは野生種とインド型品種との種間交雑由来の F_2 集団を用いた解析から同定された *sh4* 遺伝子座 (Li et al. Science 2006) であり、もう1つは、日本型とインド型との交雑 (日本晴 X カサラス) 由来の F_2 集団を用いた解析から同定された *qSH1* 遺伝子座 (Konishi et al. Science 2006) である。これら2つの遺伝子座はそれぞれの集団内での変異寄与率が65%以上と極めて高いことから、脱粒性を制御する主働遺伝子座として機能していることが広く認識されていた。しかし、種子脱粒性は野生種が持つ特性であることから、野生イネの遺伝的背景において評価することが重要であると考えた。そこで、2つの遺伝子座 (*qSH1* および *sh4*) におけるジャポニカ型品種 (日本晴) 由来の非脱粒性対立遺伝子をそれぞれ戻し交雑によって野生種に導入し、野生イネの遺伝的背景で脱粒程度について比較する実験を行った。驚いたことに、野生種の遺伝的背景にどちらか1つの栽培種の非脱粒性対立遺伝子 (それぞれ *qSH1-N*、*sh4-N* とする) を導入しても、自然脱粒を示すことが明らかになった (Ishikawa et al. GGS 2010)。またこれらの染色体置換系統では、完全な離層を形成していることが判明した (図1)。さらに、野生種の遺伝的背景に栽培種が持つ非脱粒性対立遺伝子の両方を導入した植物では、自然脱粒はみられなかったものの、同じ遺伝子型の栽培種に比べると脱粒強度が著しく低下し、維管束付近の離層形成が阻害されていた (図1)。このことは、野生種の遺伝的背景では、*qSH1* と *sh4* の遺伝子機能が失われた条件下でも離層形成を部分的に促進する機構が働いており、脱粒性を強く促進する遺伝因子が存在することが示唆された。

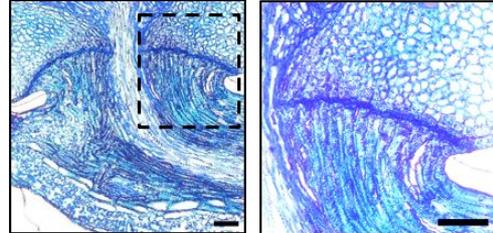
2. 研究の目的

イネ科作物における種子脱粒性は量的形質であり、複数の遺伝子座が関与している。そこで、*qSH1-N* と *sh4-N* を野生種 (*O. rufipogon* W630) の遺伝的背景に導入した植物と栽培種 (*O. sativa* 日本晴) を用いることによって、これまでに同定された *qSH1* と *sh4* 遺伝子座以外で離層形成に関与する遺伝子座を遺伝学的に同定することができると着想した。なぜなら、両者を交雑して得られる F_2 集団では脱粒性程度に明瞭な分離が認め

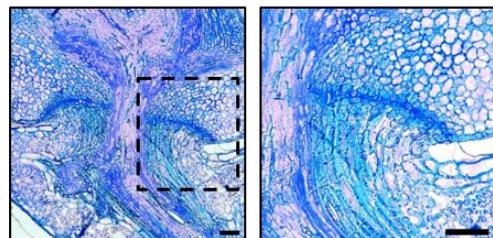
O. sativa (日本晴)



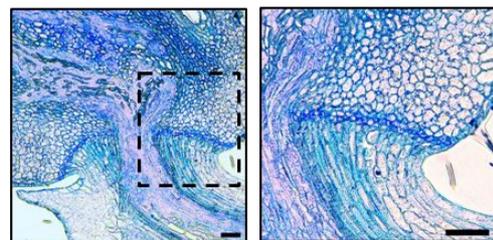
O. rufipogon (W630)



Introgression line (*sh4*)



Introgression line (*qSH1*)



Introgression line (*sh4* + *qSH1*)

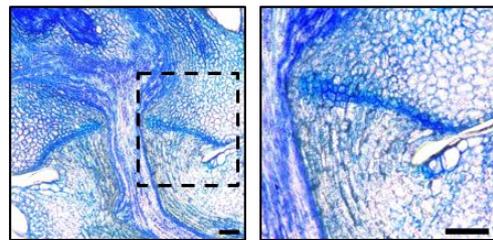


図1 野生イネ (*O. rufipogon* W630) の遺伝的背景において、2つの脱粒性遺伝子座 (*qSH1* と *sh4*) を栽培イネ (*O. sativa* 日本晴) 由来の対立遺伝子を含む染色体断片で置換した染色体置換系統における離層の縦断切片 (スケールバー = 50 μ m)

られることが期待され、しかも *qSH1* と *sh4* 領域はホモ接合となっているため、形質の分離は、*qSH1* と *sh4* 遺伝子座以外に座乗する新規脱粒性遺伝子の分離によることが期待できる。この分離集団を用いることで、イネの離層形成に関わる新規の遺伝子座を遺伝学的手法によって検出し、その遺伝子座の効

果を確認することによってイネの種子脱粒性の制御機構の遺伝学的制御機構の解明、ならびに種子脱粒性の喪失と栽培化の関係性を明らかにするための研究基盤を確立することを目的とした。

3. 研究の方法

野生種の遺伝的背景に栽培種の *qSH1* と *sh4* 座の対立遺伝子を戻し交雑によって導入・固定した系統と栽培種（日本晴）を再び交雑し、両遺伝子座以外の領域については分離が生じる F₂ 集団を作出した。この F₂ 集団では開花期も分離することが予測されたため、開花に關与する遺伝子座の遺伝子型判別を行い、短日処理によって各個体の開花時期を調整し、夏期の一定期間に開花を誘導した。また、各個体の全ゲノムの遺伝子型を 179 の分子マーカーを用いて明らかにし、脱粒強度の測定値を用いた QTL 解析を行い、脱粒性を制御する遺伝子座を同定した。さらに、同定した新規遺伝子座の有無による離層形成状態の差異を組織レベルで調査した。

4. 研究成果

野生イネの遺伝的背景において、*qSH1* と *sh4* 遺伝子座について日本晴由来の対立遺伝子を持った染色体置換系統と日本晴を再度交雑し得られた F₂ 分離集団を用いて種子脱粒性を引っ張り強度によって測定した(図2)。これらの値と、各染色体に配置されたマーカーによって明らかになった各 F₂ 個体のマーカー遺伝子型を用いて種子脱粒性を支配する新規の遺伝子座を QTL 解析によって探索した。その結果、イネ第 3 染色体の RM16-RM3513 付近に *qSH3* 遺伝子座(LOD=5.8, Percentage of variance 16%)を特定した。

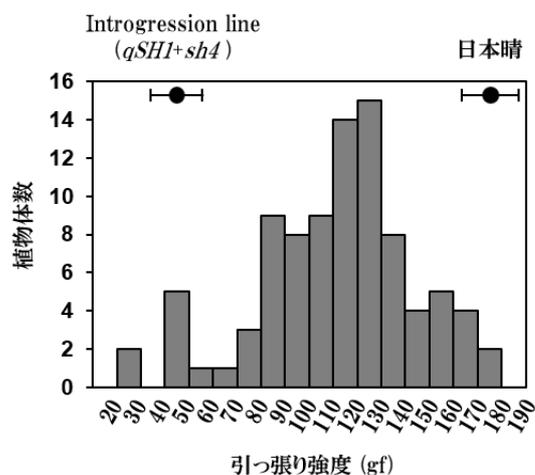


図2 日本晴と野生イネ(*O. rufipogon* W630)の遺伝的背景を持った染色体置換系統: Introgression line (*qSH1+sh4*) のF₂集団における種子脱粒性(引っ張り強度)の分離

次に、野生イネの遺伝的背景において *qSH3* についてのみ日本晴の対立遺伝子を導入した染色体置換系統では、野生イネと同様に完

全な離層を形成し、強い脱粒性を示した。この結果から、*qSH3* 座に生じた単独では種子脱粒性の喪失は生じないことが明らかとなった。しかし、*qSH1* ならびに *sh4* について日本晴の対立遺伝子を導入した染色体置換系統について、さらに *qSH3* 対立遺伝子を導入したところ、有意に脱粒性が低下したことから、*qSH3* が *qSH1* や *sh4* 座における変異と相互作用し、イネの脱粒性喪失において重要な役割を持っていることが判明した(雑誌論文9)。

今後、*qSH3* の原因となる遺伝子変異の同定や、他の種子脱粒性を支配する遺伝子座との遺伝的相互作用を明らかにすることが可能になり、イネ科作物の種子脱粒性の制御機構を明らかにする研究基盤が確立された。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計4件)

- 1, Than Myint Htun, Chizuru Inoue, Orn Chhourn, Takashige Ishii, and Ryo Ishikawa
Effect of quantitative trait loci for seed shattering on abscission layer formation in Asian wild rice *Oryza rufipogon*.
Breeding Science (2014) (in press)(査読有)
- 2, Takashige Ishii, Koji Numaguchi, Kotaro Miura, Kentaro Yoshida, Pham Thien Thanh, Than Myint Htun, Masanori Yamasaki, Norio Komeda, Takashi Matsumoto, Ryohei Terauchi, Ryo Ishikawa, and Motoyuki Ashikari
OsLGI1 regulates a closed panicle trait in domesticated rice
Nature Genetics (2013) 45: 462-465.
DOI: 10.1038/ng.2567. (査読有)
- 3, Phuong Dang Thai Phan, Hiroki Kageyama, Ryo Ishikawa, and Takashige Ishii
Estimation of the outcrossing rate of Asian wild rice, *Oryza rufipogon*, under field conditions
Breeding Science (2012) 62: 256-262.
DOI: 10.1270/jsbbs.62.256. (査読有)
- 4, Than Myint Htun, Takashige Ishii, and Ryo Ishikawa
Temporal changes of seed shattering degree of substitution lines having non-shattering alleles from cultivated rice (*Oryza sativa*) in the genetic background of wild rice (*O. rufipogon*)
Journal of Crop research (2011) 56: 39-44. (査読有)
WEB:
<http://ci.nii.ac.jp/naid/110008711270>

〔学会発表〕(計5件)

- 1, 井上 千鶴, Than Myint Htun, 石井 尊生,
石川 亮
野生イネ(*Oryza rufipogon*)の遺伝的背景
における種子脱粒性遺伝子座間の相互作用
日本育種学会第 125 回講演会 2014 年 3
月 21-22 日 東北大学
- 2, Than Myint Htun, Chizuru Inoue, Orn
Chhoun, Takashige Ishii, and Ryo
Ishikawa
Identification of a quantitative trait
locus involved in abscission layer
formation for seed shattering in Asian
wild rice, *Oryza rufipogon*
日本育種学会第 125 回講演会 2014 年 3
月 21-22 日 東北大学
- 3, Takashige Ishii, Koji Numaguchi, Kotaro
Miura, Kentaro Yoshida, Pham Thien
Thanh, Than Myint Htun, Masanori
Yamasaki, Takashi Matsumoto, Ryohei
Terauchi, Ryo Ishikawa, and Motoyuki
Ashikari
Closed panicles in rice domestication
7th International Conference of Rice
Genetics 2013 年 11 月 5-8 日 マニラ
フィリピン
- 4, Ryo Ishikawa, Kotaro Miura, Kentaro
Yoshida, Koji Numaguchi, Than Myint
Htun, Pham Thien Thanh, Takashi
Matsumoto, Masanori Yamasaki, Ryohei
Terauchi, Motoyuki Ashikari, and
Takashige Ishii
A closed panicle trait regulated by
OsLG1 in domesticated rice, *Oryza
sativa* L.
7th International Conference of Rice
Genetics 2013 年 11 月 5-8 日 マニラ
フィリピン
- 5, 沼口 孝司, Htun Than Myint, Thanh Pham
Thien, 石川 亮, 石井 尊生
穂が閉じることによって野生イネはどう
変化したか?
日本育種学会第 124 回講演会 2013 年 10
月 12-13 日 鹿児島大学

〔その他〕

研究室ホームページ

<http://www.ans.kobe-u.ac.jp/kenkyuuka08/sigen/shokubutuiikusyu.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石川 亮 (RYO ISHIKAWA)

神戸大学大学院・農学研究科・助教
研究者番号：70467687

(2) 連携研究者

石井 尊生 (TAKASHIGE ISHII)

神戸大学大学院・農学研究科・教授
研究者番号：20260648