

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 5月11日現在

機関番号：11201

研究種目：若手研究B

研究期間：2011～2012

課題番号：23780012

研究課題名（和文） イネ穂ばらみ期の高度耐冷性に関わる遺伝子座とその機能解明

研究課題名（英文） QTL for cold tolerance at booting stage of rice and its physiological function

研究代表者

下野 裕之 (SHIMONO HIROYUKI)

岩手大学・農学部・准教授

研究者番号：70451490

研究成果の概要（和文）：北日本のコメ生産は冷害が制約し続けており，その被害軽減には耐冷性を強化した品種の効率的な選抜が不可欠である．そのため，近年，育成された極めて高い耐冷性を持つ中間母本系統「東北 PL3」が持つ耐冷性 QTL を特定し，その機能解明を行うことを目的とした．「東北 PL3」と「アキヒカリ」の組み換え近交系統（215 系統，F₈ 世代）について QTL 解析を行ったところ，第 5，12 染色体に有意な QTL が検出された．第 12 染色体の QTL は，低温ストレス下で葯長を維持しやすい形質を，第 5 染色体の QTL は，同一の葯長あたりの受精効率を維持する形質と関与することが示された．

研究成果の概要（英文）：Cold damage has been one of the major problems for rice production in northern Japan. Effective screening for new cold tolerance cultivar such as maker-basis is strongly required. The present study aimed to identify the QTL of cold tolerance of highly cold tolerant cultivar “Tohoku PL-3” (PL3) and clarify the physiological functions of QTL. The recombinant inbred lines of 215 lines (F₈) between PL3 and “Akihikari” (weak tolerance) were used for analysis. We found significant QTL on chromosome 5 and 12 for spikelet sterility induced by low temperature at the booting stages. The QTL at the chromosome 12 has a role for maintaining anther length at low temperature and the QTL at the chromosome 5 has a role for maintaining higher efficiency for fertilization specific anther length.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学 作物学・雑草学

キーワード：食用作物

1. 研究開始当初の背景

穂ばらみ期の低温を原因とするイネの冷害研究の歴史は長く，我が国において 100 年以上の歴史を持つ．その中で，育種的，栽培的な改良により，耐冷性は格段に高まってきたものの，平成の大冷害にみられるように，イネの冷害は未だに大きな問題であり続けている．

これまでの研究により，穂ばらみ期の低温により発達中の花粉の発達が阻害され，その

結果，開花期に健全な花粉が不足することで不受精になることを原因とすることなど，多くの知見が蓄積されている．

一方で，最近の遺伝的解析の中で，様々な組み合わせ間の組み換え近交系統等を用いた QTL 解析において，穂ばらみ期耐冷性に関与する遺伝子座の同定が進んでいるが，ほとんどの解析で対象とする表現型を，最終的な不稔歩合としており，どのようなメカニズムにより不稔を誘発しているか，それに関与す

る遺伝子座の特定には至っておらず、効率的な耐冷性向上につながっていない。これには、上記の受精構成要素のそれぞれに関わる遺伝子座の特定が方法として考えられるが、計測に多大な労力を要し、組み換え近交系統のような大量の材料を扱う場合に適していない。その結果、現在のところ、生理的な知見と分子生物学的な知見のギャップが埋まっていないという現実がある。

宮城県古川農業試験場では、現在の栽培品種の耐冷性の最強レベルを3ランク上回る中間母本「東北 PL3」を開発した。「東北 PL3」は、東北地方の品種「レイメイ」に、北海道の耐冷性品種「はやゆき」、さらに中国の「麗江新団黒谷」、ブータンの「Kuchum」の耐冷性遺伝子をピラミディングし、穂ばらみ期の低温による選抜を重ね育成された。また、その「東北 PL3」の耐冷性に関与する遺伝子座を解析するために、耐冷性の弱い「アキヒカリ」との組み換え近交系統（第8世代）が育成されている。

本研究で、以下に提案する新たな受精構成要素により、総合的に解析することで、耐冷性に関わる要因を明らかにすることができるものと期待される。

2. 研究の目的

イネの穂ばらみ期耐冷性のメカニズム解明のため、中間母本「東北 PL3」の持つ穂ばらみ期の高度耐冷性の要因解析を通じて、生理研究と分子生物学的研究の知見の統合を目的とする。

そのため、まず Satake & Shibata の提唱した花粉数をベースとした旧来の受精構成要素を参考として、簡易に計測できる葯長をベースとした新たな受精構成要素を提案する。一般に、葯長と花粉数の間で密接な正の相関関係があることが知られており、彼らの旧来の花粉数ベースの構成要素から葯長をベースとする新たな簡易構成要素の提案を試みる。その構成要素は、以下のように、旧来の受精構成要素（1）の要素は冷害処理を行わない植物の葯長（葯長高温）に、（2）の要素は冷害処理した葯長（葯長冷害）と冷害処理しない葯長の比率、（3）の要素は稔実歩合と冷害処理した葯長の比率に置き換えた簡易な受精構成要素の確立を目指す。このことにより、簡易に耐冷性の品種間差を生み出している要因を簡易に特定できるバックグラウンドができるものとする。

続いて、「東北 PL3」と「アキヒカリ」の組み換え近交系統の遺伝子型を多型解析により特定し、その情報に基づき、開発した新たな受精構成要素を用いて「東北 PL3」の高度耐冷性に関わる遺伝子座の特定とその機能解明をする。このことにより、高度耐冷性がどの遺伝子により発揮されているかを定量的

に評価できると考える。この際に、これまで報告されている耐冷性に関わる QTL 座と比較を行い、耐冷性に関わっている遺伝子群の機能を推定できるものとする。

3. 研究の方法

宮城県古川農業試験場で育成された、耐冷性が強い中間母本「東北 PL3」と耐冷性の弱い「アキヒカリ」の組み換え近交系統（215 系統）を供試した。

（1）多型解析

まず、まず、組み換え近交系の多型解析を行う。なお、遺伝子型の同定のための DNA については、平成 22 年における古川農業試験場の育成個体の葉のサンプリングを凍結保存しており、DNA の抽出までは 22 年度内に終了した。その DNA を用いて、まず、両親について、全染色体をカバーするマーカーを用いてラフマッピングを行い、その抽出された DNA の多型が得られるプライマーを決定する。そのプライマーを用い PCR により大量増幅をさせ、電気泳動し、組み換え近交系統について行うことで、遺伝子型を決定する。

（2）簡易受精構成要素の確立

続いて、穂ばらみ期の低温における耐冷性の違いを生み出す要因を簡易にかつ総合的に評価できる手法を開発する。

（3）QTL 解析

それらを用いて、遺伝子座の特定を目指す。そのため、古川農業試験場の恒温深水水田に各系統を生育させ、幼穂形成以降に冷害処理を行う集団と、通常水田で育成し、冷害処理を行わない集団を設ける。両集団について、開花直前の穎花を採取し、50%エタノールで保存し、その葯長の計測を行う。また、収穫期に穂をサンプリングし、その不稔歩合を計測する。得られたデータを元に、QTL 解析を行い、遺伝子座の特定を行う。

4. 研究成果

（1）多型解析

本研究の対象とする「東北 PL3」における QTL 解析を行うために、その手法を用いて、遺伝子座の特定を行うために、「東北 PL3」と「アキヒカリ」の組み換え近交系の多型解析を 72 のマーカーを用いて行った。215 系統について両親のどちらの遺伝子領域を引き継いでいるかを明らかにした。

（2）簡易な受精構成要素の確立

続いて、穂ばらみ期の低温における耐冷性の違いを生み出す要因について葯長をベースとする簡易手法を開発した。すなわち、冷害条件（あり）での稔実歩合を 3 つの要素に

分けた。①冷害なしの条件の葯長 (=小孢子数を反映)、②冷害ありの葯長の冷害なしの葯長の比率 (=冷害時の耐性を反映)、③冷害ありの葯長に対する冷害ありでの稔実歩合の比率 (=受精効率を反映) (図1)。本手法により、労力が必要な花粉数を計測することなく、葯長ならびに稔実歩合を2段階の温度条件で測定することで達成できることを明らかにした。この手法は、品種間の特性また組み換え近交系などの遺伝子解析材料にも幅広く応用ができる手法であると考えられる。

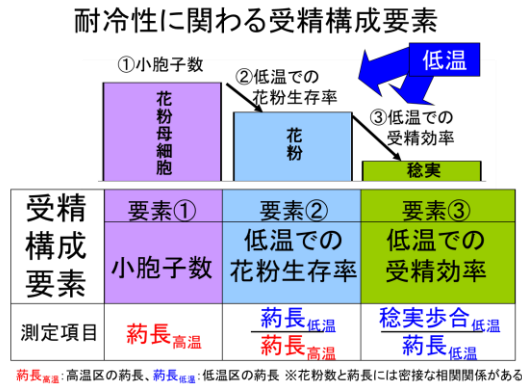


図1. イネの新たな受精構成要素

(3) QTL 解析

系統内の冷害時の稔実歩合の変異を図2に示した。最大95%~最小4%の大きな変異が認められ、東北PL3は89%。アキヒカリは4%となった。一方、高温条件の稔実歩合は90%以上で大きな変異は認められなかった。

受精構成要素の分布についてみると、すべての要素について、大きな変異が認められた(図3)。

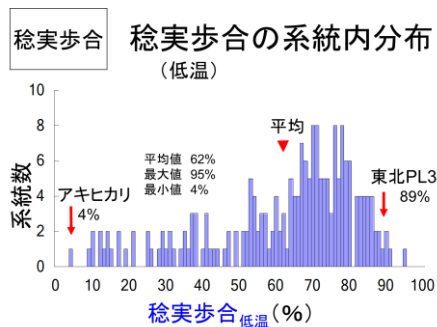


図2. イネの冷害時の稔実歩合の系統内分布

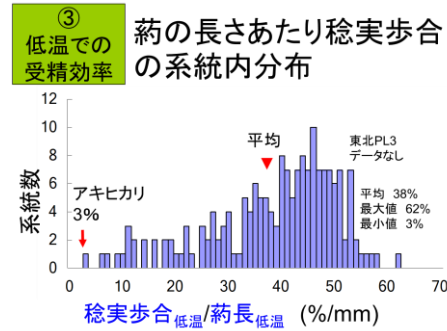
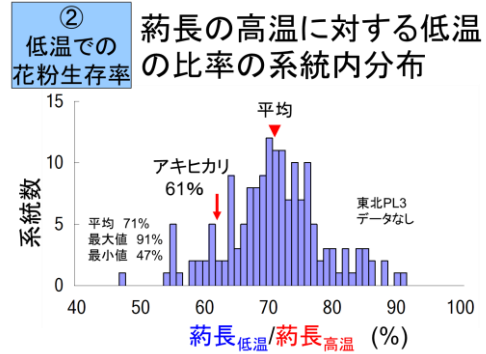
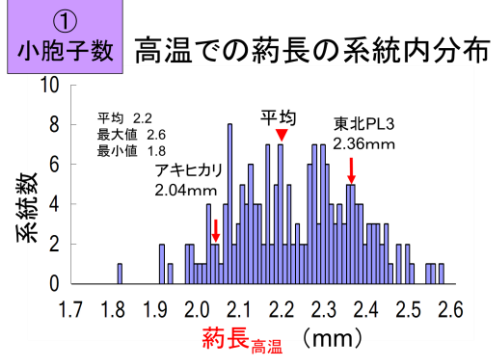


図3. イネの受精構成要素の系統内分布

それら情報をもとに、QTL 解析を実施した結果、第5、12染色体に有意なQTLが検出した(図4)。第12染色体のQTLは、要素2の低温ストレス下で葯長を維持しやすい形質を、第5染色体のQTLは、要素3の同一の葯長あたりの受精効率を維持する形質と関与することが示された。

既存の研究におけるQTL解析は表現型を稔実歩合そのものにしており、そのQTLの機能まで踏み込んだものはほとんどない。本研究では新規のQTLを見出したとともに、それぞれのQTLの役割を類型化することができた。本研究で得られた成果は、今後、戻し交雑を進めた系統の既存の優良品種への効率的な耐冷性の付与に役立つものと考えられる。

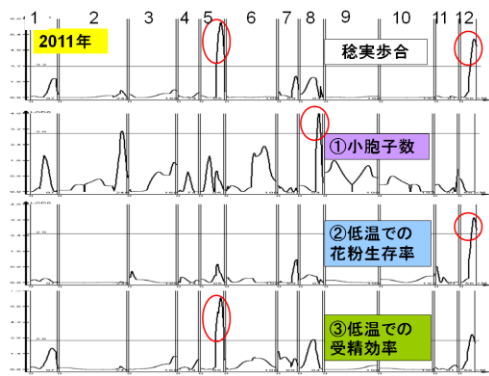


図4. イネの冷害時における稔実歩合と耐冷性構成3要素におけるQTL

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表] (計1件)

- ① 下野裕之・佐藤将大・洞井翔・阿部陽・佐伯研一・遠藤貴司・永野邦明 イネの穂ばらみ期における高度耐冷性に関与するQTLの特定とその機能解明 日本作物学会東北支部会 2012.08.21 秋田県立大学(秋田県)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

下野 裕之 (SHIMONO HIROYUKI)

岩手大学・農学部・准教授

研究者番号：70451490