

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 10 日現在

機関番号：10105

研究種目：基盤研究（C）（一般）

研究期間：2009～2011

課題番号：21580001

研究課題名（和文） 寒冷地帯におけるイネ低温順化反応性に関する育種学的研究

研究課題名（英文） Genetic studies of response to chilling acclimation under cold climate in rice

研究代表者

大西 一光 (ONISHI KAZUMITSU)

帯広畜産大学・畜産学部・助教

研究者番号：50526704

研究成果の概要（和文）：

温帯や寒帯地域の多くの越冬性植物は、弱い低温に曝されることで生理的・発育的变化が誘導され、耐凍性を獲得する。この機構は低温順化反応と呼ばれ、コムギやオオムギなどでは越冬性を支配する重要な農業形質の一つである。本研究では、イネ低温適応機構の解明を目的として、これまで厳密に評価されてこなかったイネの低温順化反応性に着目し遺伝解析を行うとともに、寒冷地帯での適応的意義と新たな育種形質としての農業的価値について評価を行った。

研究成果の概要（英文）：

Tolerance to low temperature can be enhanced by pre-exposure to low, non-harmful temperatures, a process known as acclimation. The effects of acclimation on chilling tolerance in species from tropical and subtropical regions are not well understood. Therefore, we investigated whether acclimation improved chilling tolerance at the plumule and seedling stages in Asian rice. Present results suggest that acclimation capacity, as well as intrinsic chilling tolerance, might contribute to local adaptation. In addition, QTLs involved in acclimated chilling tolerance at the plumule stage are different from those involved in intrinsic chilling tolerance. Furthermore, fine mapping of QTL for chilling tolerance at the plumule stage on the chromosome 11 (*qCTP11*) was conducted. Further genetic studies of chilling tolerance involving the process of acclimation will contribute to the development of new varieties with higher chilling tolerance in Asian rice.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2010 年度	700,000	210,000	910,000
2011 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学・育種学

キーワード：イネ、低温抵抗性、QTL、遺伝資源、環境適応

1. 研究開始当初の背景

アジア栽培イネ (*Oryza sativa*) は、熱帯から温帯まで広く分布し、多種多様な環境に適応している。低温ストレスはイネの生育期間全般にわたり様々な傷害を引き起こし、栽培地域を制限する最大の要因の一つである。特に、世界の稲作の北限地帯の一つである北海道は、冷涼な気候と短い生育期間によって引き起こされる低温傷害が最大の制限要因となっていたが、19世紀後半から現在に至るまで絶え間ない育種努力と栽培技術の改良により、現在の稲作体系が確立された。栽培イネの北海道への適応は、近代育種以前の長い進化的な遺伝変異の蓄積と近代の人為的選抜や交雑育種により、わずか100年の間に達成されており、作物進化の歴史上極めて興味深い事例と考えられる。しかしながら、栽培イネの進化過程の中で、低温抵抗性の遺伝的変化がどのように北方適応や北海道品種群の成立に寄与したかについては不明な点が多い。

栽培イネにおいて、生育初期の低温抵抗性（幼芽期低温抵抗性および幼苗期低温抵抗性）は、日本型 (*ssp. japonica*) とインド型 (*ssp. indica*) の間で明瞭な遺伝的分化が認められる形質として知られている。一般的に、インド型に比べ日本型は高い抵抗性を示すが、低温抵抗性が、栽培イネの北方地域への適応に寄与したかどうかについてはこれまで厳密な検討がなされていなかった。我々は、これまで生育初期の低温抵抗性に関する遺伝的多様性について解析を進め、多数の栽培および野生イネ系統の評価から、発芽直後の幼芽期の低温抵抗性が、日本型品種内および祖先野生種である (*O. rufipogon*) 内で緯度勾配（地理的クライン）を示すことを明らかにした。クラインは形質変異に自然選択が働いた証拠と考えられており (Mitchell-Olds et al. 2007)、低温抵抗性が北方適応に関与する可能性が示唆された (Baruah et al. 2008)。また幼芽期および幼苗期の低温抵抗性に効果を持つ5つのQTLを同定した。このうち地理的クラインを示した幼芽期低温抵抗性では、強い効果を持つ2つのQTLsに関して準同質遺伝子系統を育成しマッピングを行ってきた (Baruah et al. 2008)。低温抵抗性に関しては、現在までゲノム全域に数多くのQTLsが報告されていることから、イネの低温抵抗性は複雑な遺伝支配を持つと考えられる。

温帯や寒帯地域の多くの越冬性植物は、弱い低温に曝されることで生理的・発育的变化が誘導され、凍結 (freezing temperature) に対する抵抗性 (耐凍性) を獲得する。この機構は低温順化反応と呼ばれ、コムギやオオムギなどでは越冬性を支配する重要な農業形質の一つである。しかしながら、イネを含む熱帯由来の植物の持つ順化反応性については不明な点が多い。そこで本研究では、寒冷地帯におけるイネ低温適応機構の解明を目的として、これまで厳密に評価されてこなかった低温順化反応性に着目し遺伝機構を明らかにするとともに、稲作北限地帯である北海道において適応的意義と新たな育種形質としての農業的価値を評価することを目的とする。

2. 研究の目的

イネにおいて、低温抵抗性が順化処理により向上するかを検証するとともに、順化反応性に遺伝変異が存在するかを調査する。また世界各地の栽培・野生イネ系統を用いて、順化処理後の低温抵抗性の遺伝変異について評価し、無順化条件との比較を行う。また組換え自殖系統を用いて QTL 解析を行い、順化条件と無順化条件で関与 QTL を比較する。さらに、無順化条件下で同定した第 11 染色体上の幼芽期低温抵抗性 QTL の単離を目指し、ファインマッピングを行う。

3. 研究の方法

(1) イネにおける低温順化反応性の遺伝変異の評価と QTL 解析

イネの生育初期の低温抵抗性が順化反応により向上するかどうかを検証するため、低温に対して高い抵抗性を示す北海道在来品種 A58 と感受性を示すインド由来野生イネ系統 W107 を用いて低温抵抗性に対する順化処理の効果を調査した。次に、アジアイネにおける低温抵抗性の遺伝変異を順化および無順化条件で比較するため、世界各地に由来する栽培イネ 34 系統および野生イネ 23 系統の低温抵抗性を 順化および無順化条件で調査した。順化処理条件は予備試験の結果に基づき、幼芽期で 8°C3 日間、幼苗期で 12°C3

日間とした。低温処理条件は、より広範な変異が検出できるように幼芽期で 0-1°C 2 日間（無順化条件）または 4 日間（順化条件）、幼苗期で 5°C 4 日間（無順化条件）または 8 日間（順化条件）に設定した。さらに、A58 と W107 の組換え自殖系統 RIL を用いて QTL 解析を行い、順化条件と無順化条件での関与 QTL について比較を行った。

(2) 幼芽期低温抵抗性 QTL (*qCTP11*) のファインマッピング

A58 と W107 との交雑に由来する組換え自殖系統 (RILs) を用いて同定した無順化条件下での幼芽期低温抵抗性 QTL (*qCTP11*) の単離を目的としてファインマッピングを行った。A58 に W107 から *qCTP11* 領域を導入した BC₄ 集団 4500 個体を用いて組換え体を選抜し、候補遺伝子の絞り込みを行った。

4. 研究成果

(1) イネにおける低温順化反応性の遺伝変異の評価と QTL 解析

幼芽期 (0-1°C) および幼苗期 (5°C) の低温ストレスに対する抵抗性は、順化处理 (幼芽期 8°C 3 日間、幼苗期 12°C 3 日間) により A58 で著しく向上したのに対して、W107 では低温抵抗性の向上はほとんど見られなかった。このことはイネの低温抵抗性に順化反応性が寄与することを示すとともに、反応程度に遺伝変異が存在する可能性が示唆された。

次に、栽培イネに関しては、幼芽期と幼苗期ともに順化および無順化条件で日本型とインド型品種間に明瞭な遺伝的分化が存在し、インド型に比べ日本型で高い低温抵抗性を示した。しかしながら、品種群間の差異は順化条件でより明瞭となる傾向が認められた。野生イネ 23 系統に関して、低温抵抗性と由来地の緯度との関係を調査したところ、無順化条件では幼芽期のみで地理的クラインが見いだされたが、順化条件では幼芽期と幼苗期ともに明瞭な地理的クラインが存在することが示された。さらに幼芽期低温抵抗性に関して、A58 と W107 の交雑に由来する組換え自殖系統 (RILs) を用いて QTL 解析を行った。これま

で無順化条件での幼芽期低温抵抗性に関して 3 つの QTL (*qCTP1*、*qCTP11*、*qCTP12*) を同定しているが、順化条件では無順化条件とは異なる 2 つ (*qCTAP3*、*qCTAP5*) の QTL が新たに見出された。

以上の結果から、イネの低温抵抗性が順化处理により向上するとともに、アジアイネにおいて順化反応性が品種群分化や地域適応性に寄与してきた可能性が示された。また、順化处理を行うことで、これまで評価できていなかった潜在的な遺伝変異を検出することができると考えられた。今後は、低温抵抗性について順化反応性を考慮した育種を行うことで、より高度な抵抗性を持つ品種育成が可能になると考えられる。

(2) 幼芽期低温抵抗性 QTL (*qCTP11*) のファインマッピング

幼芽期低温抵抗性 QTL (*qCTP11*) について、約 4500 個体の分離集団を用いてファインマッピングを行った結果、*qCTP11* を約 12kb の領域に絞り込むことができた。「日本晴」ゲノム配列に基づくアノテーションでは 5 つの遺伝子が予測されている。しかしながら、候補領域を含む約 11.5kb の配列と 98% の相同性も持つ配列が、同じ染色体上の下流約 900kb で重複する。また部分的な相同性を持つ配列も複数存在することが明らかとなり、W107 の候補ゲノム領域の特異的増幅や発現解析が予想以上に難航した。そこで W107 と同様に感受性の対立遺伝子を持つことが明らかになっており、比較的配列決定が容易なジャポニカ品種である「ほしのゆめ」を用いて塩基配列の比較を進めた。今後、候補領域約 12kb 内に存在する 6 つの組換え体を用いてさらなる領域の絞り込みを進め、原因配列の特定を行う。

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)

[雑誌論文] (計 3 件)

- ① Baruah, A. R. *, Onishi, K., Oguma, Y., Ishigo-Oka, N., Uwatoko, N. and Sano, Y. (2011) Effects of acclimation on chilling tolerance in Asian cultivated and wild rice. *Euphytica* 181:293-303. (査読有)
doi: 10.1007/s10681-011-0427-9
- ② Mori, M. *, Onishi, K., Tokizono, Y., Shinada, H., Yoshimura, T., Numao, Y., Miura, H. and Sato T. (2011) Detection of a novel quantitative trait locus for cold tolerance at the booting stage derived from a *tropical japonica* rice variety Silewah. *Breeding Science* 61: 61-68. (査読有)
doi:10.1270/jsbbs.61.61
- ③ Shimizu, H. *, Maruoka, M., Ichikawa, N., Baruah, A. R., Uwatoko, N., Sano, Y. and Onishi, K. (2010) Genetic control of phenotypic plasticity in Asian cultivated rice and wild rice in response to nutrient and density changes. *Genome* 53: 211-223. (査読有)
doi: 10.1139/G09-099

[学会発表] (計 3 件)

- ① Baruah A.R. ・ 小熊恭代 ・ 石郷岡典子 ・ 上床修弘 ・ 佐野芳雄 ・ 大西一光, 栽培および野生イネにおける低温順化反応性の解析, 日本育種学会第 120 回講演会, 福井県立大学 (福井県小浜市), 2011 年 9 月 23 日
- ② 大西一光 ・ 時園佳朗 ・ Baruah AR. ・ 品田博史 ・ 佐藤毅 ・ 三浦秀穂 ・ 佐野芳雄, 北海道在来品種より見いだされたイネ幼芽期低温抵抗性 QTL (*qCTP11*) の解析, 日本育種学会第 118 回講演会, 秋田県立大学 (秋田市), 2010 年 9 月 24 日

- ③ 時園佳朗 ・ Baruah AR ・ 石郷岡典子 ・ 安達美江子 ・ 小熊恭代 ・ 佐野芳雄 ・ 大西一光 栽培および野生イネにおける生育初期の低温抵抗性に関する遺伝解析 日本育種学会第 116 回講演会, 北海道大学, 2009 年 9 月 26 日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大西 一光 (ONISHI KAZUMITSU)
帯広畜産大学・畜産学部・助教
研究者番号: 50526704

(2) 研究分担者 (2009 年度)

佐野 芳雄 (SANO YOSHIO)
北海道大学・農学研究院・教授
研究者番号: 70109528