

「野生イネが持つ花序形態環境可塑性の解明」

研究期間: 2020 年 12 月～2023 年 3 月

研究者: 縣 歩美

加速フェーズ期間: 2023 年 4 月～2024 年 3 月

1. 研究のねらい

世界的な気候変動下での食料問題に対応するため、野生遺伝資源の持つ遺伝的多様性を作物育種に利活用することが期待されている。一方で、野生種が持つ遺伝的多様性は、育種利用に限らず、生物学的な問いに応えるための研究材料としても利用可能である。野生イネは日々変動する環境に生息し、繁殖を最適化してきた。そのため、その形態的・遺伝学的多様性は、植物の繁殖戦略を理解するのに適した材料であるといえる。特に子孫の数に大きな影響を与える花序形態は、繁殖の最適化に最も重要な要素であり、その多様化を支える遺伝基盤を解明することで、植物の繁殖戦略の多様性の理解に繋がる。

栽培化と育種の過程で収量性の向上が起こったと考えられており、野生祖先種の収量性は低いという先入観があった。そのため、これまでに野生イネの収量関連形質は殆ど研究されていない。しかしながら、野生イネは変動する環境下で繁殖を最適化するための生殖形態を必要とし、このことが多様な花序形態の進化を促してきた可能性が考えられる。

そこで本研究課題では、野生イネ遺伝資源を利用して、分子遺伝学的手法により、種内・種間の花序形態多様性、および、環境変化に応答して個体レベルで見られる花序形態多様性の分子基盤の解明を目指した。具体的には、栽培イネに近縁なゲノムを持つ野生イネ遺伝資源を用いた大規模な花序形態の形質評価およびゲノムワイド関連解析、栽培イネと近縁野生イネの染色体断片置換系統群およびその親系統を用いた環境変化への応答評価を行った。

本研究によって得られる知見は、生態系にあわせて柔軟に変化する植物繁殖戦略の理解に繋がる。またイネの収量性は、花序形態を制御する遺伝子を組み合わせて花序をデザインすれば向上できる。しかしながら、花序を改良したイネは環境変化に敏感であり、実環境において必ずしも期待した効果が発揮されない場合がある。この問題を解決するためには、花序形態が環境に左右されないように、花序形態の環境応答を理解する必要がある。本研究では、花序形態の多様性が生み出される仕組みと、花序形態が環境に応答する仕組みを理解し、その制御方法を提案する。それにより、野生遺伝資源の多様な変異を利用して、変動する環境下においても花序形態を自在に制御・デザインするための基盤技術の開拓に繋げる。環境適応型植物デザインが可能になれば、気候変動時代における食料安定生産を実現できる。

ACT-X 研究で得られた研究成果から、野生イネが示す花序形態の多様性を利用すれば、栽培化の過程で選抜されてこなかった未利用有用形質や遺伝子を同定し、花序形態の新奇制御方法を提案できる可能性が示された。そのためには、分子遺伝学的手法により、花序形態多様化遺伝子の単離と機能解析を進め、野生イネに独自の花序形態の多様性を生み出す仕組みを理解する必要がある。そこで加速フェーズでは、ACT-X 研究で見出してきた野生遺伝資源が

示す花序形態の多様性を利用して分子遺伝学的手法により、花序形態の多様性創出に関わる遺伝基盤の解明に挑戦した。それにより花序形態の多様化に関わる遺伝子群を網羅的に明らかにし、その作用機序を解明することを目指した。

2. 研究成果

(1) 概要

初めに、野生イネの花序形態が種間で多様性を示すのかを検証するために、近縁野生イネ *O. rufipogon*、*O. barthii*、*O. glumaepatula*、*O. meridionalis* および *O. longistaminata* を供試し、花序形態の形質評価を行った。その結果、野生イネが種間で多様な花序のパターンを示すことを見出した。次に、この多様性創出に関わる遺伝要因を明らかにするために、栽培イネと野生イネの染色体断片置換系統群 4 集団を用いた花序形態の形質評価を行なった。その結果、栽培イネの花序形態に影響を与える野生イネ由来の遺伝子座を複数検出した。花序形態に関する QTLs の検出パターンを 4 集団間で比較した。その結果、近縁野生イネが示す種間の多様性および、*O. rufipogon* が示す種内の多様性を利用した解析を進めることにより、新規の形態形成メカニズム解明に繋がることが分かった。

そこで、*O. rufipogon* 約 300 アクセションを用いて大規模な花序の形質評価を行なった。その結果、*O. rufipogon* が種内で多様な花序のパターンを示すことを見出した。野生種は確かに小さな穂をつけるものが多いが、驚いたことに、野生種にもかかわらず栽培種に引けを取らないばかりか、より大きな穂をつけるものも存在することが明らかになった。このことは、栽培化というボトルネックを経ていない野生種には、栽培種では機能していない穂形態の多様性創出機構が存在することを示唆している。また野生イネに独自の花序形態の多様性創出の遺伝基盤解明を目指して、*O. rufipogon* を用いたゲノムワイド関連解析、栽培イネと野生イネの染色体断片置換系統群を用いた QTL-seq 解析を並行して進め、野生イネ由来の花序形態を制御する遺伝子座を複数検出した。

環境変化に応答して変化する花序形態の分子基盤解明を目指して、短日処理が可能な圃場において環境ストレス応答の評価系を確立した。栽培イネと野生イネの染色体断片置換系統群、およびその親系統を用いて、野生イネが示す環境適応性の多様性の評価と環境ストレス下において花序の形態形成を制御する遺伝子座の探索を行なった。

加速フェーズでは、ACT-X 研究期間中に見出した栽培イネの花序形態に影響を与える野生イネ由来の遺伝子座の候補領域の絞り込みに成功した。さらに、ACT-X 研究期間内に作出した栽培イネと野生イネの分離集団を用いた QTL 解析を実施し、野生イネ由来の花序形態を制御する遺伝子座を複数検出した。穂メリステムを用いた大規模なトランスクリプトーム解析を実施し、既知遺伝子の発現量の変化による野生イネの穂形態多様化への貢献を検証した。

(2) 詳細

テーマ 1: 近縁野生イネが示す種内・種間の花序形態多様性の遺伝基盤の解明

野生イネの花序形態が種間で多様性を示すのかを検証するために、近縁野生イネ *O. rufipogon*、*O. barthii*、*O. glumaepatula*、*O. meridionalis* および *O. longistaminata* を供試し、花序形態の形質評価を行った。形質評価では、6 形質(穂長、穂軸長、一次枝梗長、一次枝梗数、二次枝梗数、一穂粒数)を調査した。その結果、野生イネが種間で多様な花序のパターンを示すことを見出した。特に *O. meridionalis* は他の種と比較して分枝数が多く、一穂粒数も多い傾向を示すことが明らかになった。



次に、この多様性創出に関わる遺伝要因を明らかにするために、栽培イネ *O. sativa* と近縁野生イネ *O. rufipogon* (perennial type)、*O. rufipogon* (annual type)、*O. glumaepatula* および *O. meridionalis* の染色体断片置換系統群 4 集団を用いた花序形態に関する形質評価を実施した。その結果、栽培イネの花序形態に影響を与える野生イネ由来の遺伝子座を複数検出した。特に、W1962(*O. rufipogon*)由来の二次枝梗数の減少に関わる QTL、および W1625(*O. meridionalis*)由来の二次枝梗数の増加に関わる QTL は、栽培イネの花序形態に顕著な影響を与えていた。そこで、これら QTLs の原因遺伝子の同定に向けて、顕著な表現型を示した染色体断片置換系統にそれぞれ栽培イネ側の親系統である台中 65 号を戻し交配し BC₅F₂ 種子を得た。現在、この材料を用いて QTL-seq 解析により、QTLs の原因遺伝子の絞り込みを試みている。また第 5 染色体上に一穂粒数および二次枝梗数に関する遺伝子座が、4 集団間で重複して検出された。この結果から、この遺伝子座が栽培イネと近縁野生イネの花序形態の違いを生み出している可能性が考えられた。4 集団間で検出された QTLs のパターンがそれぞれ異なっていたことから、近縁野生イネが示す種間の花序形態の多様性を利用した解析を進めることで、新規の形態形成メカニズム解明に繋がることが分かった。また *O. rufipogon* 由来の 2 集団間においても、検出された QTLs のパターンが異なっていたことから、*O. rufipogon* が示す種内の花序形態多様性を利用した解析を進めることで、新規の形態形成メカニズム解明に繋がることが分かった。

(加速フェーズ実施後追記)

加速フェーズでは、これまでに同定した W1962(*O. rufipogon*)由来の二次枝梗数の減少に関わる QTL、および W1625(*O. meridionalis*)由来の二次枝梗数の増加に関わる QTL の候補領域の絞り込みに成功した。現在、両集団について BC₅F₃ 集団を用いたマッピングを実施し、更なる候補領域の絞り込みおよび原因遺伝子の単離に向けた解析を進めている。

そこで、*O. rufipogon* 約 300 アクセッションを用いて大規模な花序の形質評価を行なった。その結果、野生種の花序はいつも小さいとは限らず、*O. rufipogon* が種内で多様な花序のパターンを示すことを見出した。すなわち、栽培化というボトルネックを経た栽培イネとは異なる、野生イネに独自の花序形態の多様性創出機構が存在することを意味している。したがって、野生イネが示す花序形態の多様性を利用すれば、栽培化の過程で選抜されてこなかった未利用有用形質や遺伝子を同定し、花序パターンの新奇制御方法を提案することができると考えられた。また、野生イネに独自の花序形態多様性創出の遺伝基盤を明らかにできれば、野生種が示す多様な繁殖戦略の理解にも繋がる。現在、*O. rufipogon* 約 300 アクセッションを用いた花序形質に関するゲノムワイド関連解析を実施し、多様性創出に関わる遺伝基盤の解明を目指している。また、*O. rufipogon* の大規模な形質評価を通して、一穂あたりの分枝数が顕著に多いアクセッションをいくつか見出した。そこで、一穂あたりの分枝数が顕著に多い *O. rufipogon* と分枝数の少ない *O. sativa* を交配して得た F₁ 個体に、栽培イネ *O. sativa* による戻し交配を進め、野生イネ由来の有用遺伝子の育種利用に向けた検討を行うための材料の作出も試みている。

(加速フェーズ実施後追記)

加速フェーズでは、ACT-X 研究期間中に作出した一穂あたりの分枝数が顕著に多い *O.*



rufipogon と分枝数の少ない *O. sativa* を交配して得た F₂ 集団を用いた QTL 解析を実施し、栽培イネの花序形態に影響を与える野生イネ由来の遺伝子座を複数検出した。さらに、野生イネの花序メリステムを用いたトランスクリプトーム解析を行なった。この解析から、既知遺伝子の発現量およびタイミングの変化による野生イネの花序形態多様化への貢献を明らかにした。

テーマ 2: 近縁野生イネが示す個体レベルでの花序形態環境可塑性の分子基盤の解明

野生イネが花序をつけるために必要不可欠な短日処理が可能な圃場において、環境変化への応答を評価するための実験系を確立した。乾燥ストレスを与えるために、2 つの異なる圃場環境(通常の水田条件と最低限の灌漑を行う畑作条件)で同一のアクセッションを栽培した。畑作条件では、土壌水分センサーで乾燥の度合いを確認しながら最低限の灌漑を行い、乾燥ストレスを施した。栽培イネと野生イネの染色体断片置換系統群の親系統を実験に供試し、出穂日、稈長、穂数、茎葉重および花序形質を調査した。違う環境で育成された同じアクセッションの表現型の変化を調査し、各アクセッションの乾燥ストレス応答性を評価した。

その結果、畑作条件下で全アクセッションの到穂日数が遅延する、稈長・穂数・茎葉重が減少する傾向にあったが、その減少度合いがアクセッション間で異なっていた。このことから、野生イネが示す環境適応性に多様性が存在する可能性が示唆された。現在、花序パターンの調査および比較を進め、花序形態の乾燥ストレスへの応答を評価している。また、栽培イネ *O. sativa* と近縁野生イネ *O. rufipogon* (perennial type)、*O. glumaepatula* および *O. meridionalis* の染色体断片置換系統群 3 集団を用いて、同様の乾燥ストレスへの応答評価を行なった。その結果、環境ストレス下において花序の形態形成を制御する遺伝子座をいくつか検出した。

3. 今後の展開

栽培化と育種の過程で収量性の向上が起こったと考えられており、野生祖先種の収量性は低いという先入観があったため、これまで野生イネの収量関連形質は殆ど研究されていなかった。しかしながら申請者は、野生イネは変動する環境下で繁殖を最適化するための生殖形態を必要とし、このことが多様な花序形態の進化を促してきたのではないかと考えた。このような独自の発想から、ACT-X 研究において、野生種の花序はいつも小さいとは限らず野生イネが多様な花序形態を示すことを見出した。また本研究では、野生イネ由来の花序形態を制御する遺伝子座を複数検出し、さらに野生イネ由来の有用遺伝子の育種利用検討のための材料作出にも着手した。本研究により、野生イネ遺伝資源の作物育種への利用に向けた重要な基盤を築くことに成功した。

これまでの研究成果から、野生イネが示す花序形態の多様性を利用すれば、栽培化の過程で選抜されてこなかった未利用有用形質や遺伝子を同定し、花序の分枝パターンの新奇制御方法を提案できる可能性が示唆された。そこで、今後は分子遺伝学的手法により花序形態多様化遺伝子の単離と機能解析を進め、野生イネに独自の花序形態の多様性を生み出す仕組みを解明していく。



(加速フェーズ実施後追記)

加速フェーズでは、野生イネ由来の花序形態を制御する複数の遺伝子座の検出およびその候補領域の絞り込みに成功した。これにより、野生イネからの有用遺伝子単離と将来的な育種利用への展開可能性が高まった。さらに QTLs の検出パターンの比較から、*O. rufipogon* が示す種内の花序形態多様性を利用した解析をさらに推し進めていくことで、新規 QTLs の検出およびその原因遺伝子の単離に繋がる可能性が期待された。

4. 自己評価

本研究課題で行なった取り組みは、環境変動時代における作物安定生産の実現に応用展開することができると確信している。今後、独自の発想から明らかにした野生イネ遺伝資源が示す花序形態多様性を利用して、多様性創出に関わる遺伝基盤を明らかにし、その作物育種への利用を検討していくことで、科学技術および社会に大きなインパクトを与える成果に繋がることが期待される。そのためにも、研究成果の論文化や育種母本の作出等を迅速に進め、社会に研究成果を還元していくことが求められると考えている。

研究の進め方については、モデル植物でない野生遺伝資源の取り扱いが当初の想定よりも難しく、研究スケジュールに若干の遅れが出てしまった。研究補助員を雇用することにより、計画通りのスケジュールで研究を遂行できた可能性もあるため、研究実施体制については反省し今後活かしていきたい。また研究費は適切に執行することができた。

また本 ACT-X での研究成果が認められ、名古屋大学で助教(テニュアトラック)となることができ、今後、独自のアイデアに基づく研究を加速・発展させる基盤を固めることができた。

(加速フェーズ実施後追記)

加速フェーズでは、ACT-X 研究期間中に同定した QTLs の候補領域の絞り込みに成功し、研究成果の論文化に向けて成果を得ることができた。また加速フェーズでは、研究実施体制を見直し、研究補助員を雇用することで効率的に花序形態の形質評価を進めることができた。

5. 主な研究成果リスト

(1) 代表的な論文(原著論文)発表

研究期間累積件数: 1件

Ayumi Agata, Motoyuki Ashikari, Yutaka Sato, Hidemi Kitano, Tokunori Hobo. 「Designing rice panicle architecture via developmental regulatory genes」. 『*Breeding Science*』. 2023, Volume 73, Issue 1, 86–94.

(2) 特許出願

研究期間累積件数: 0 件

(3) その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

【総説論文】

Yutaka Sato, Katsutoshi Tsuda, Yoshiyuki Yamagata, Hiroaki Matsusaka, Hiromi Kajiya-



Kanegae, Yuri Yoshida, Ayumi Agata, Kim Nhung Ta, Sae Shimizu-Sato, Toshiya Suzuki, Misuzu Nosaka-Takahashi, Takahiko Kubo, Shoko Kawamoto, Ken-Ichi Nonomura, Hideshi Yasui, Toshihiro Kumamaru. 「Collection, preservation and distribution of Oryza genetic resources by the National Bioresource Project RICE (NBRP-RICE)」. 『*Breeding Science*』. 2021, Volume 71, Issue 3, 291-298.

【主要な学会発表】

「野生イネ遺伝資源を用いた穂形態の多様性の評価」, 縣 歩美, 佐藤 豊,
日本育種学会 第 142 回講演, 2022 年 9 月 23 日 (その他 7 件)

【招待講演】

「The regulatory mechanisms underlying diverse panicle branching pattern in rice」,
Ayumi Agata, 日本植物学会 第 85 回大会 シンポジウム 「Inflorescence development and diversity in grasses」, 2021 年 9 月 19 日

【受賞】

日本育種学会 第 142 回講演会 優秀発表賞 (2022 年 9 月) (その他 3 件)

【著作物 (※加速フェーズ実施の成果)】

「イネを用いた穂形態の多様性創出機構の理解と制御」, 縣 歩美, アグリバイオ 7(6)
71-73 2023 年 6 月

