### 学位論文題名

# イネ低温発芽性に関する分子育種学的研究

## 学位論文内容の要旨

作物の安定生産には、環境ストレス耐性の付与が不可欠であり、環境ストレス耐性の向上は重要な育種目標である。寒冷地である北海道におけるイネの安定生産においては、耐冷性の付与が不可欠である。特に、播種期と穂孕み期の低温ストレス障害が品種育成において大きな問題となっている。播種期の耐冷性については、穂孕み期に比して遺伝解析および品種改良研究の蓄積が少ない。これは、北海道におけるイネの栽培方法が直播から移植へと変遷し、さらに栽培技術が改良されたことによって、品種育成によって播種期の耐冷性の付与を行わなくとも栽培が可能となったためである。しかしながら、農業就労人口の減少・高齢化、生産費の低コスト化、大規模栽培の実施等の近年の農業情勢の変化から、今後北海道におけるイネの直播栽培の必要性が大きくなっている。そのためには、低温下における発芽・苗立ち性に関する遺伝特性の解明を行ない、播種期の低温下において安定した発芽・苗立ち性を示す品種の開発が必要である。

以上の背景から、本研究ではイネの低温発芽性に着目し、低温発芽性に関する遺伝子の同定と DNA マーカーの開発およびその利用による良食味系統への低温発芽性の導入を行った。

第1章の緒論では、作物の安定生産と環境ストレス耐性の育種を論じた後、環境ストレス耐性に関する DNA マーカーの開発、北海道における耐冷性育種と栽培方法の改良および今後のイネ直播栽培の必要性を述べ、低温発芽性の重要性を論じた。

第2章では、低温発芽性に極めて優れるイタリア由来の系統「Italica Livorno」について、低温発芽性の遺伝解析を行った。北海道の系統「はやまさり」との交雑後代  $F_2$ および  $BC_1F_1$  世代では、低温発芽性は連続的な変異を示したことから、「Italica Livorno」の低温発芽性は複数の遺伝子が関与する量的形質であることが明らかとなった。この  $BC_1F_1$  世代において、「Italica Livorno」と同程度の高い低温発芽性を示す系統が認められたため、低温発芽性の表現型に基づく

選抜と連続戻し交雑を行い、低温発芽性に関する遺伝子の同定を試みた。 $BC_5F_1$ 世代までの戻し交雑によって、極めて作用力の大きな低温発芽性遺伝子 Low temperature germinability (t) (Ltg(t)) を同定することに成功した。

第3章では、「Italica Livorno」の低温発芽性に関する QTL 解析を行った。まず、解析集団として「はやまさり」/「Italica Livorno」//「はやまさり」の  $BC_1F_1$ 世代に由来する組換え自殖系統  $BC_1F_5$ 系統を作出した。両親は共に温帯ジャポニカに属するために DNA マーカーの多型率は低かったが、多数の DNA マーカーを供試することにより、イネゲノム全域をカバーする連鎖地図を構築した。この連鎖地図を用いた QTL 解析により、低温発芽性に関する 3 個の遺伝子を同定することができた。

第4章では、最も作用力の大きな低温発芽性 QTL(qLTG-3-1)に関して、詳細な座乗染色体領域の同定と高精度な DNA マーカーの開発を行った。組換え自殖系統から 3 個の低温発芽性 QTL のうち、目的とする qLTG-3-1 のみを有する系統 (BIL116) を選抜し、「はやまさり」との交雑により解析集団を作出した。 QTL 近傍に DNA マーカーを作出し、qLTG-3-1 との連鎖解析によって、 qLTG-3-1 の座乗染色体領域を約 100kb の領域までに絞り込んだ。このときに 開発した DNA マーカーは、いずれも高精度な DNA マーカーとして選抜に用いることが可能である。

第5章では、作用力の極めて大きな低温発芽性遺伝子 qLTG-3-1を DNA マーカー選抜により良食味品種「ほしのゆめ」への導入を行った。作出された準同質遺伝子系統は、高い低温発芽性を示したことから、qLTG-3-1とその DNA マーカーの有効性が実証できた。

第6章の総合考察では、本研究で見出した極めて作用力の大きな低温発芽性遺伝子 qLTG-3·1 および本研究で開発した qLTG-3·1 に関する DNA マーカーと 準同質遺伝子系統を用いた、低温発芽性の効率的な改良方法についてのシステムの提案を行った。

## 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 喜多村 啓 介副 査 教 授 三 上 哲 夫 副 査 教 授 岩 間 和 人

学位論文題名

## イネ低温発芽性に関する分子育種学的研究

本論文は6章76頁からなる和文論文であり、図20、表8および要約を含む。

作物の安定生産には、環境ストレス耐性の付与が不可欠であり、環境ストレス耐性の向上は重要な育種目標である。寒冷地である北海道におけるイネの安定生産においては、耐冷性の付与が不可欠である。特に、播種期と穂孕み期の低温ストレス障害が品種育成において大きな問題となっている。播種期の耐冷性については、穂孕み期に比して遺伝解析および品種改良研究の蓄積が少ない。これは、北海道におけるイネの栽培方法が直播から移植へと変遷し、さらに栽培技術が改良されたことによって、品種育成によって播種期の耐冷性の付与を行わなくとも栽培が可能となったためである。しかしながら、農業就労人口の減少・高齢化、生産費の低コスト化、大規模栽培の実施等の近年の農業情勢の変化から、北海道におけるイネの直播栽培の必要性が大きくなっている。本研究では、低温下における発芽・苗立ち性に関する遺伝特性の解明を行ない、播種期の低温下において安定した発芽・苗立ち性を示す品種の開発に向けた基礎的研究を行った。

得られた結果は以下の通りである。

#### 1. 低温発芽性に関する変異解析

低温発芽性に極めて優れるイタリア由来の系統「Italica Livorno」について、低温発芽性の遺伝解析を行った。北海道の系統「はやまさり」との交雑後代  $F_2$  および  $BC_1F_1$  世代では、低温発芽性は連続的な変異を示したことから、「Italica Livorno」の低温発芽性は複数の遺伝子が関与する量的形質であることが明らかとなった。この  $BC_1F_1$  世代において、「Italica Livorno」と同程度の高い低温発芽性を示す系統が認められたため、低温発芽性の表現型に基づく選抜と連続戻し交雑を行い、低温発芽性に関する遺伝子の同定を試みた。 $BC_5F_1$  世

代までの戻し交雑によって、極めて作用力の大きな低温発芽性遺伝子 Low temperature germinability (t) (Ltg(t)) を同定することに成功した。

#### 2. 低温発芽性に関する QTL 解析

「Italica Livorno」の低温発芽性に関する QTL 解析を行った。まず、解析集団として「はやまさり」/「Italica Livorno」//「はやまさり」の  $BC_1F_1$  世代に由来する組換え自殖系統  $BC_1F_5$  系統を作出した。両親は共に温帯ジャポニカに属するために DNA マーカーの多型率は低かったが、多数の DNA マーカーを供試することにより、イネゲノム全域をカバーする連鎖地図を構築した。この連鎖地図を用いた QTL 解析により、低温発芽性に関する 3 個の遺伝子を同定することができた。

3. 低温発芽性遺伝子 qLTG-3-1 の詳細な座乗染色体領域の同定ならびに遺伝子作用力の評価

最も作用力の大きな低温発芽性 QTL(qLTG-3-1)に関して、詳細な座乗染色体領域の同定と高精度な DNA マーカーの開発を行った。組換え自殖系統から 3 個の低温発芽性 QTL のうち、目的とする qLTG-3-1 のみを有する系統(BIL116)を選抜し、「はやまさり」との交雑により解析集団を作出した。QTL 近傍に DNA マーカーを作出し、qLTG-3-1 との連鎖解析によって、qLTG-3-1 の座乗染色体領域を約 100kb の領域までに絞り込んだ。このときに開発した DNA マーカーは、いずれも高精度な DNA マーカーとして選抜に用いることが可能である。

### 4. 低温発芽性遺伝子 qLTG-3-1 に関する DNA マーカー選抜

作用力の極めて大きな低温発芽性遺伝子 qLTG-3-1 を DNA マーカー選抜により良食味品種「ほしのゆめ」への導入を行った。作出された準同質遺伝子系統は、高い低温発芽性を示したことから、qLTG-3-1 とその DNA マーカーの有効性が実証できた。

本研究は、低温発芽性の遺伝特性を分子育種学的に解明し、実用的な選抜 DNA マーカーを開発するとともに、その実証として系統の作出を行い、イネの直播用品種育成への応用に重要な道筋を立てるものであり、学術的に高く評価できる。

よって、審査員一同は、藤野賢治が博士(農学)の学位を受けるに十分な資格を有するものと認めた。