

学位論文題名

Genetic studies on adaptive diversification
of flowering time in rice

(イネ出穂性の適応分化に関する遺伝育種学的研究)

学位論文内容の要旨

作物育種では、自然界に存在する遺伝的変異を予測可能な形で活用し、作物の形質を改良する。そのため、遺伝変異の起源と維持に関する遺伝機構を理解することは作物育種において重要な意義をもつ。農業的有用形質はしばしば量的遺伝を示し、多数の遺伝子による支配を受ける。さらに量的遺伝子の多くは、遺伝子間で互いに作用しあうことに加え、環境変化によって大きく影響を受けると考えられており、このことが量的形質の遺伝的理解を複雑にしている。しかしながら、遺伝子間の交互作用(エピスタシス)および遺伝子・環境間相互作用(GEI)が適応分化に関わる形質変異の鍵になる可能性が認識される一方で、実際の生物集団においてエピスタシスおよびGEIがもつ適応的形質への影響について、知見は乏しい。こうした現状をふまえて、本研究は地域適応性に関わるイネの出穂に着目し、出穂に及ぼすエピスタシスとGEIの影響を明らかにするとともに、それらの地域適応への関連を理解することを目的とした。本研究では、遺伝子、エピスタシスおよびGEIの効果を厳密に評価するため、日本型栽培イネ台中65号(T65, *Oryza sativa* ssp. *japonica*)の準同質遺伝子系統(NIL)をすべての実験において供試した。本研究で得られた結果は、以下に要約される。

- 1) イネの出穂は感光性(PS)、基本栄養生長性(BVG)および適日長(OP)の発育的要素によって決定される。既報の *Se1*、*Efl*、*m-Efl* は、各々感光性、基本栄養生長性および *Efl* の効果変更に関わることが知られ、これらの3遺伝子は日本在来品種の地域適応性に関連すると推測される。これら3遺伝子の異なる発育的要素に及ぼす影響を評価するために、合計6対立遺伝子で可能な8組合せのNILsを作成して、5日長条件および2温度条件の下で到穂日数を調査した。到穂日数は日長時間(x)を用いて、 $f(x) = ax^2 + bx + c$ の日長反応曲線で表すことができる。この2次回帰分析から、8NILsにおけるPS(2a)、BVG($c - b^2/4a$)およびOP($-b/2a$)を推定した。3遺伝子座と温度を要因とした分散分析の結果、3遺伝子座内の効果だけでなく、遺伝子座間のエピスタシスおよびGEI(遺伝子×温度)もPS、BVGおよびOPを有意に変動させて日長反応パターンを制御することが明らかとなった。したがって、イネの出穂においては、関与遺伝子の相加的効果だけでなくエピスタシスおよびGEIも多様な地域適応性に大きく貢献することが示唆された。
- 2) 栽培および野生イネ系統には、出穂性に関わる異なる劣性の感光性遺伝子が第6染色体のモチ(*wx*)座近傍に検出される。その1つ *se-pat* は、インド型栽培品種 Patpaku (ssp. *indica*) から見出され、札幌の自然日長(43°N)下で出穂を遅延させる。多年生野生イネ W593 (*Oryza*

rufipogon) が保持する *en-Se1* はモチ座近傍に座乗するが、*se-pat* より著しく出穂を遅延させる。類似した領域の遺伝子が多様な表現型をもたらせる原因を調査するため、NILs を用いて遺伝的解剖を行った。2 遺伝子 (*se-pat* および *en-Se1*) を含む各々の領域を細分化したところ、*se-pat* では、3 つの連鎖した QTLs (*qDF6.1*, *qDF6.2*, *qDF6.3*)、他方、*en-Se1* では 2 つの連鎖した QTLs (*qDF6.4*, *qDF6.5*) が出穂に影響を与えた。これら QTLs のうち、*qDF6.2* (*qDF6.4*) および *qDF6.3* (*qDF6.5*) の候補遺伝子は、シロイヌナズナの *FT* 遺伝子のホモログである *RFT1* および *Hd3a* と推定された。これら QTLs の効果を比較した結果、*RFT1* を含む *qDF6.2* (*qDF6.4*) が *se-pat* の主要因子と考えられた。ところが、*Hd3a* が座乗する *qDF6.3* および *qDF6.5* では、*qDF6.3* が早生効果を示すのに対し *qDF6.5* は晩生効果を示したこと、Patpaku と W593 の間に対立遺伝子の分化が起きていると考えられた。このような複合遺伝子の構築を詳しく理解するため、*se-pat* の *qDF6.1*, *qDF6.2* および *qDF6.3* について異なる遺伝子組合せをもつ 6NILs を作出し、短日・長日条件下で到穂日数を調査した。その結果、これら連鎖した 3 つの QTLs の間には有意なエピスタシスおよび GEI が存在した。また、分子系統学的解析から、*RFT1* は *Hd3a* より速い速度で進化しており、*RFT1* と *Hd3a* の遺伝子間で組換えが起きていることが分かった。したがって、複合遺伝子では、連鎖した QTLs 自体の変異や遺伝的組換えによってエピスタシスも変化して、多様な表現型の出現が可能になると考えられた。

- 3) アフリカイネ (W025, *Oryza glaberrima*) がもつ *Se-gla* は、モチ座近傍に座乗するものの、*se-pat* とは異なり不完全優性の感光性遺伝子である。*Se-gla* についても詳細に解析したところ、*Se-gla* は 2 つの連鎖した QTLs (*Se-gla1*, *Se-gla2*) からなる複合遺伝子であった。自然日長条件において、*Se-gla1* および *Se-gla2* はともに出穂を遅延させるのに対し、短日条件下では *Se-gla2* は単独で出穂を促進させた。両遺伝子が座乗する領域には、*RFT1* および *Hd3a* がそれぞれ候補遺伝子として含まれた。W025 の *Se-gla1* 候補である *RFT1* の塩基配列を調査したところ、エキソン 1 の翻訳領域に 1,874 bp の挿入が認められ、この挿入による *RFT1* の機能喪失が出穂遅延の原因であると考えられた。一方、*Se-gla2* は 5.9 kb の領域に存在し、その領域には *Hd3a* を含む 2 つの ORF が存在した。*Hd3a* はイネのフロリゲン遺伝子であり、W025 の *Hd3a* が T65 と比較して 4 つの非同義置換をもつことから、これらの非同義置換が *Se-gla2* の出穂変異を引き起す原因であると推察された。これらのことから、*Se-gla* は重複した 2 つの *FT* 様遺伝子の各々が多様化して生じたものと考えられた。最近のイネ出穂の分子的研究から、短日条件下における出穂の促進は、*Hd1* (*Se1*) および *Ehd1* (*Efl*) の制御因子が *Hd3a* をはじめとする *FT* 様遺伝子の発現を促進することによって起こると報告される。しかしながら、本研究で供試された T65 は機能欠失型の *Hd1* および *Ehd1* をもつ。したがって、*Se-gla2* は *Hd1* および *Ehd1* の花芽誘導経路とは独立して、短日下の出穂を促進すると推定され、遺伝的背景が変われば出穂制御機構も異なると考えられる。このことは、遠縁種由来の有用遺伝子を育種に利用する際に、期待された効果が得られない場合があることを示している。

本研究では、異なる遺伝子座間のエピスタシスおよび GEI がイネ出穂性に大きな影響を与えることを示すとともに、緊密に連鎖した QTLs からなる複合遺伝子では、個々の因子の分化によって多様な表現型が生み出されることを明らかにした。得られた知見は、単に出穂の複雑な遺伝機構を示すだけでなく、適応現象に関与する量的形質を理解する上でも重要な

示唆を与える。ゲノム内には非相加的効果をもつ膨大な数の遺伝子が存在すると予想されるので、内在する隠蔽変異をどのように育種に活用するかが今後の緊急な課題となろう。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 佐 野 芳 雄

副 査 教 授 喜多村 啓 介

副 査 教 授 三 上 哲 夫

副 査 准教授 貴 島 祐 治

学 位 論 文 題 名

Genetic studies on adaptive diversification of flowering time in rice

(イネ出穂性の適応分化に関する遺伝育種学的研究)

有用形質の多くは量的遺伝を示し、その自然変異の維持機構を理解するため、多くの研究がなされてきた。遺伝子間の交互作用（エピスタシス）および遺伝子・環境間相互作用（GEI）がどのように適応分化に関わるかについては、今なお知見は乏しい。本研究では地域適応性に関わるイネ出穂性に着目し、エピスタシスと GEI の影響を明らかにするとともに、量的形質の地域適応を理解することを目的とした。本研究で得られた結果は、以下に要約される。

- 1) イネの出穂は感光性 (PS)、基本栄養生長性 (BVG) および適日長 (OP) の発育要素によって決定される。これら発育要素を支配する3つの遺伝子 (*Se1*, *Efl*, *m-Efl*) は日本在来品種の地域適応性に関与する。本実験では、これら遺伝子に関する8つの同質遺伝子系統 (NILs) を作出して、5日長条件および2温度条件において到穂日数を調査した。各 NIL の PS ($2a$)、BVG ($c-b^2/4a$) および OP ($-b/2a$) は $f(x) = ax^2 + bx + c$ の日長反応曲線から推定した。分散分析の結果、座内の効果だけでなく、座間のエピスタシスおよび GEI (遺伝子×温度条件) も PS、BVG および OP を変動させることが分かった。したがって、遺伝子の相加的效果だけでなくエピスタシスおよび GEI も地域適応に大きく寄与すると考えられた。
- 2) イネのモチ座近傍には、劣性の感光性遺伝子が存在する。インド型栽培品種 Patpaku が保持する *se-pat* は、台中65号 (T65) の遺伝背景下で出穂遅延を引き起こすが、多年生野生イネ W593 が保持する *en-Se1* は *se-pat* より著しい出穂遅延を起こす。本実験では、メンデル因子の表現型多様化をもたらす遺伝機構を明らかにするため、詳細なマッピングを行った。その結果、*se-pat* には、出穂期に影響を与える3つの連鎖した QTLs ($qDF6.1$, $qDF6.2$, $qDF6.3$) が、他方、*en-Se1* は2つの連鎖

した QTLs (*qDF6.4*, *qDF6.5*) が存在した。*qDF6.2* (*qDF6.4*) および *qDF6.3* (*qDF6.5*) の候補遺伝子は、シロイヌナズナ *FT* 遺伝子のホモログである *RFT1* および *Hd3a* であると推定され、*RFT1* を含む *qDF6.2* (*qDF6.4*) が *se-pat* の主要因子と考えられた。ところが、*Hd3a* を含む *qDF6.3* および *qDF6.5* では、表現型が異なり、遺伝的に分化していた。これら複合遺伝子を比較するため、*qDF6.1*、*qDF6.2* および *qDF6.3* について異なる組合せをもつ 6 つの NILs を作出し、短日・長日条件下で到穂日数を調査した。その結果、これら QTLs 間にも有意なエピスタシスと GEI が存在することが分かった。また、分子系統学的解析から、*RFT1* は *Hd3a* より速い速度で進化してきたことが示唆された。

- 3) アフリカイネ (W025) の *Se-gla* はモチ座近傍に存在するが、その出穂反応は *se-pat* と異なり不完全優性であった。遺伝的解剖の結果、*Se-gla* は 2 つの連鎖した QTLs (*Se-gla1*, *Se-gla2*) からなる複合遺伝子であった。自然日長下において、*Se-gla1* および *Se-gla2* はともに出穂を遅延させるのに対し、短日条件下では *Se-gla2* が単独で出穂を促進させた。両者が座乗する領域には *RFT1* および *Hd3a* がそれぞれ候補遺伝子として含まれた。W025 の *RFT1* では、エキソン 1 の翻訳領域に 1,874bp の挿入が認められ、この挿入による機能喪失が *Se-gla1* の出穂遅延を引き起こす原因であると考えられた。一方、*Se-gla2* は 5.9 kb の領域に存在し、その領域には *Hd3a* を含めて 2 つの ORF が存在した。W025 の *Hd3a* は 4 つの非同義置換をもつことから、*Se-gla2* の原因遺伝子であると推察された。したがって、*Se-gla* は重複した *FT* 様遺伝子の各々が多様化して生じたと推測された。T65 は機能欠失型の *Hd1* および *Ehd1* をもつので、本結果はこれまでに報告されていない誘導経路によって出穂が制御されることを示している。遠縁種の有用遺伝子を育種に利用する際には、遺伝制御様式に注意する必要がある。

以上のように、本研究では、異なる遺伝子座間のエピスタシスおよび GEI がイネ出穂性に大きな影響を与えることを示すとともに、複合遺伝子としてのメンデル因子では個々の因子の分化によって多様な表現型を生み出すことを明らかにした。本研究の知見は、単にイネ出穂性の複雑な遺伝構築を示すだけではなく、量的形質による適応現象を理解する上でも重要な示唆を与える。よって、審査員一同は、上床 修弘が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。