

# OsLGI遺伝子は栽培化されたイネの閉じた穂の形態を制御する

研究期間：2013～2023年

## 研究背景・目的

作物の栽培化のはじまろうとするころ、生計のほとんどを狩猟採集にたよっていた人間にとり野生植物の成熟した種子の落ちにくくなることは、その種子を採集する際の効率が格段に上がることにつながるため非常に都合のよい形質であった。本研究では、栽培イネの祖先となる熱帯アジアの野生イネに焦点をあて、まず、野生イネの開いている穂が閉じた形態に変化すると成熟した種子が落ちにくくなることを示した。さらに、この穂の形態の変化にともない、開花のとき外から花粉を受け取ることがさまたげられ、受精のほとんどが自分の花粉による繁殖である自殖へと導かれた可能性を示した。この穂の開閉に関与する原因遺伝子については、DNAマーカーを用いた解析により *OsLGI* 遺伝子であることが明らかになった。以上のことから、野生イネにおける穂の形態の変化はイネの栽培化の初期において大きな影響を及ぼし、*OsLGI* 遺伝子はイネの栽培化の引き金となった遺伝子だと考えられた。

## 1. 野生イネの閉じた穂への形態の変化は種子の脱粒性と生殖様式に大きな影響をあたえる

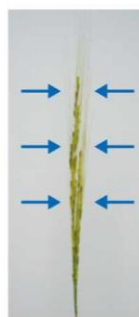
野生イネは栽培イネとは異なり、広く開いたかたちをした穂をもつ。また、種子の先端には芒とよばれる細長い器官がある。この器官は野生イネにとり自然の状態で種子を飛散させるのに必要なものである。なぜなら、種子の登熟期に風雨をはじめさまざまなものが芒に触れると種子の脱落が促されるからである。まず、遺伝分析により、この穂の開閉が *SPR3* 遺伝子座1つにより制御されていることを明らかにした。そのため、当該する遺伝子1つに変化が起これば、閉じた穂をもつ野生イネの植物体が比較的簡単に生じるものと考えられた。

閉じた穂をもつ野生イネの系統を栽培イネ *O. sativa* 'Nipponbare' を野生イネ *O. rufipogon* W630 により戻し交雑することにより作出し、どのような現象が観察されるのか圃場調査を行った(右上図)。その結果、この系統の成熟種子は落ちにくくなること、また、それにより種子は採集しやすくなることがわかった。成熟種子の採集に関する調査では、開いた穂をもつ系統より閉じた穂をもつ系統からのほうが約1.5倍も効率よく採集できることが示された。これは、穂が閉じている状態では芒どうしが重なりあうことが大きく影響していた。1つの穂のなかの種子の成熟の時期には1週間ほどのばらつきがあるが、下位の未成熟の種子の芒は上位の成熟した種子を支えるため、種子の脱落が一時的に抑えられると考えられた。そこで、成熟種子の脱粒までの日数を調べたところ、閉じた穂の種子は開いた穂のものより1日ほど長く穂に残ることがわかった。

野生イネの穂の形態変化は種子の脱粒性と生殖様式に大きな影響を与える。



登熟期



下位の未熟種子の芒が  
上位の成熟種子を支える  
↓  
成熟種子が落ちにくくなる

穂が閉じると



開花期

おしべとめしべの  
外部への露出が抑えられる  
↓  
外からの花粉が  
かかりにくくなる

穂が閉じた形態になると、成熟種子は落ちにくくなるとともに、外からの花粉はかかりにくくなる。

## 2. 穂の開閉を制御する遺伝子の同定

穂の開閉を制御していたのは *SPR3* 遺伝子座であったが、イネの染色体においてどの領域のどの遺伝子が関与しているのかを明らかにするため高密度連鎖分析を行った。その結果、*SPR3* 遺伝子座は第4染色体の長腕 9.3 kbp の領域に存在することがわかった。そこで、この領域の野生イネ *O. rufipogon* W630 における塩基配列を決定し、栽培イネ *O. sativa* 'Nipponbare' のものと比較したが、ともに、この領域には遺伝子産物となるタンパク質をコードする配列はみつからなかった。このことは、この 9.3 kbp の内部にほかの遺伝子を制御する領域のあることを示唆した。そこで、この領域の付近の遺伝子を調べたところ、約 10 kbp 下流に葉および葉舌の形態に関与する *OsLGI* 遺伝子が存在しており、野生イネの開いた穂ではこの遺伝子の発現量の大きいことがわかった。*OsLGI* 遺伝子は *SQUAMOSA* プロモーター結合タンパク質様ドメインをもつ転写因子をコードしている。

穂の開閉に関与する原因遺伝子を調べるため、9.3 kbp の領域と *OsLGI* 遺伝子との相補性検定を行った。まず、9.3 kbp の領域と *OsLGI* 遺伝子の両方を含む野生イネのゲノムコンストラクトを、閉じた穂をもつ栽培イネ *O. sativa* 'Nipponbare' に導入したところ、形質転換イネは開いた穂を示した。一方、*OsLGI* 遺伝子のみを含む野生イネのゲノムコンストラクトを導入すると、形質転換イネの穂の形状に変化はみられなかった。この結果は、穂の開閉に関与する原因遺伝子は *OsLGI* 遺伝子であり、その発現制御領域が 9.3 kbp の領域に含まれることを示した。

## 主な発表論文

- 1) Ishii T., Numaguchi K., Miura K., Yoshida K., Thanh P.T., Htun T.M., Yamasaki M., Komeda N., Matsumoto T., Terauchi R., Ishikawa R., Ashikari M. (2013) *OsLG1* regulates closed panicle trait in domesticated rice. *Nature Genetics* 45: 462-465.
- 2) Htun T.M., Inoue C., Chhournn O., Ishii T., Ishikawa R. (2014) Effect of quantitative trait loci for seed shattering on abscission layer formation in Asian wild rice *Oryza rufipogon*. *Breeding Science* 64: 199-205.
- 3) Orn C., Shishido R., Akimoto M., Ishikawa R., Htun T. M., Nonomura K., Koide Y., Sarom M., Vang S., Sophany S., Makara O., Ishii T. (2015) Evaluation of genetic variation among wild rice populations in Cambodia. *Breeding Science* 65: 430-437.
- 4) Ikemoto M., Otsuka M., Thanh P.T., Phan P.D.T., Ishikawa R., Ishii T. (2016) Gene interaction at seed-awning loci in the genetic background of wild rice. *Genes & Genetic Systems* 92: 21-26.
- 5) Ishikawa R., Nishimura A., Htun T. M., Nishioka R., Oka Y., Tsujimura Y., Inoue C., Ishii T. (2017) Estimation of loci involved in non-shattering of seeds in early rice domestication. *Genetica* 145: 201-207.
- 6) Ishikawa R., Iwata M., Taniko K., Monden G., Miyazaki N., Orn C., Tsujimura Y., Yoshida S., Ma J. F., Ishii T. (2017) Detection of quantitative trait loci controlling grain zinc concentration using Australian wild rice, *Oryza meridionalis*, a potential genetic resource for biofortification of rice. *PLoS One* 12: e0187224.
- 7) Ishii T. Ishikawa R. (2018) Domestication loci controlling panicle shape, seed shattering and seed awning. *Rice Genomics, Genetics and Breeding*, Chapter 12, Springer eBook
- 8) Fang X.\*, Wang L.\*, Ishikawa R.\* (\*equal contribution), Li Y., Fiedler M., Liu F., Calder G., Rowan B., Weigel D., Li P., Dean C. (2019) *Arabidopsis* FLL2 promotes liquid-liquid phase separation of polyadenylation complexes. *Nature* 569: 265-269.
- 9) Tsujimura Y., Sugiyama S., Otsuka K., Htun T.M., Numaguchi K., Castillo C., kagi T., Ishii T., Ishikawa R. (2019) Detection of a novel locus involved in non-seed-shattering behaviour of Japonica rice cultivar, *Oryza sativa* 'Nipponbare' *Theor. Appl. Genet.* 132: 2615-2623.
- 10) Numaguchi K., Akagi T., Kitamura Y., Ishikawa R., Ishii T. (2020) Interspecific introgression and natural selection in the evolution of Japanese apricot (*Prunus mume*). *Plant J.* 104: 1551-1567.
- 11) Amarasinghe Y.P.J., Kuwata R., Nishimura A., Phan P.D.T., Ishikawa R., Ishii T. (2020) Evaluation of domestication loci associated with awnlessness in cultivated rice, *Oryza sativa*. *Rice (N Y)*. 13: 26.
- 12) Ogasawara M., Miyazaki N., Monden G., Taniko K., Lim S., Iwata M., Ishii T., Ma J.F., Ishikawa R. (2021) Role of *qGZn9a* in controlling grain zinc concentration in rice, *Oryza sativa* L. *Theor. Appl. Genet.* 134: 3013-3022.
- 13) Ishikawa R.\*, Castillo C.C.\*, Htun T.M.\* (\*equal contribution), Numaguchi K., Inoue K., Oka Y., Ogasawara M., Sugiyama S., Takama N., Orn C., Inoue C., Nonomura K., Allaby R., Fuller D.Q., Ishii T. (2022) A stepwise route to domesticate rice by controlling seed shattering and panicle shape. *PNAS* 119 e2121692119.
- 14) Lim S., Onoda A., Orn C., Iwamoto H., Ishikawa R., Saito H., Sato Y., Ishii T. (2022) Variations in grain traits among local rice varieties collected more than half-century ago in Indochinese countries. *Plants (Basel)* 12: 133.
- 15) Sugiyama S., Sakuta M., Tsujimura Y., Yamaguchi Y., Htun T.M., Inoue C., Numaguchi K., Ishii T., Ishikawa R. (2023) Detection of novel loci involved in non-seed-shattering behaviour of an *indica* rice cultivar, *Oryza sativa* IR36. *Mol Genet Genomics* 298: 943-953.

## 共同研究先

Cambodian Agricultural Research and Development Institute (Cambodia), Yezin Agricultural University (Myanmar), Nong Lam University, University (Vietnam), University Collage London, Institute of Archaeology (UK), Warwick University, School of Life Sciences (UK), 岡山大学植物科学研究所、信州大学繊維学部、佐賀大学農学部、九州大学大学院農学研究院、北海道大学大学院農学研究院、和歌山県果樹試験場うめ研究所等

## 研究費 (代表課題のみ)

(科研費) 基盤研究(B) : 2023-2026, 2022-2025, 2018-2021, 2014-2017, 基盤研究(B)(海外学術調査) : 2014-2016, 基盤研究(C) : 2014-2016, 2018-2020, 挑戦的研究(萌芽) : 2021-2023, 2018-2020, 特別研究員奨励費 : 2016-2017, 国際共同研究加速基金 : 2016-2019, (受託研究) 二国間共同研究 : 2014-2016, 2018-2020, 2021-2023 (その他助成金等) 日揮実吉奨学会助成金 : 2017-2018, 未来教育研究所研究助成金 : 2017-2018, エリザベスアーノルド富士財団助成金 : 2018, 2019, 木下基礎科学研究基金助成金 : 2019, G-7奨学財団 : 2023