

イネ半矮性遺伝子 *sd1* 座と連鎖する 葯の不裂開性の遺伝分析

入江憲治*・叢花**・YE TINT TUN***・菊池文雄*・藤巻 宏*・長峰 司****

(平成 19 年 11 月 30 日受付/平成 20 年 3 月 14 日受理)

要約：水稲品種フジミノリの人為突然変異品種レイメイは、第 1 染色体上に半矮性遺伝子 *sd1-r* をもつ。この半矮性遺伝子を受粉農林 29 号に 9 回連続戻し交雑により育成された半矮性同質遺伝子系統 SC レイメイを母本とし、農林 29 号（反復親）を父本とした交雑 F_2 雑種集団に多くの不稔個体が出現した。この不稔個体の花粉は正常に形成されるが、葯が裂開しなかったことから、不稔の原因は葯の不裂開によることを明らかにした。さらに、不稔性の遺伝様式を F_2 集団ならびに F_3 系統を用いて解析した結果、葯の不裂開性は単一の劣性遺伝子に支配されていることがわかった。多くの不稔個体が半矮性であったので、不稔性と半矮性との間の独立性の検定および連鎖解析を行った結果、両形質を支配する遺伝子は、第 1 染色体上に座乗すると推定された。両親はともに花粉稔性も種子稔性も高いこと、農林 29 号（反復親）を母本とし、SC レイメイを父本とした逆交雑の F_2 雑種集団には不稔個体が出現しなかったことから、不稔を生ずる葯の不裂開は SC レイメイ×農林 29 号の F_1 植物に起こった突然変異によるものと推定された。不稔個体の節間伸長を調べた結果、葯の不裂開を起こす遺伝子の多面発現により、稈の上位節間が短縮されると推察された。

キーワード：SC レイメイ、同質遺伝子系統、単一劣性遺伝子、多面発現効果、突然変異体

緒 言

イネの種子稔性は、子実収量に大きく影響する重要な形質の一つである。また、イネの障害型冷害では、減数分裂期の低温により、花粉形成の阻害や葯の裂開不全などによる受粉障害が不稔を発生させることが知られている。さらに、高温条件下における稔歩合の低下も葯の裂開不全によることが報告されている¹⁾。他方、人為的に誘発された不稔系統の中には、花粉発育のさまざまな段階で生ずる障害が遺伝的雄性不稔を引き起こし、それらの中には、葯の不裂開によるものがあることが報告されている²⁻⁴⁾。

水稲品種フジミノリのガンマ線照射による人為突然変異により育成されたレイメイは、第 1 染色体上に座乗する半矮性遺伝子 *sd1-r* を持つことが報告されている^{5,6)}。

水稲農林 29 号を父本とした 9 回の連続戻し交雑によりレイメイの半矮性遺伝子 *sd1-r* を長稈品種農林 29 号のゲノムに導入して育成された半矮性同質遺伝子系統 SC レイメイを母本とし、農林 29 号を父本とする交配により養成された F_2 世代の雑種集団に多数の不稔個体が分離した。

本報告では、この SC レイメイ×農林 29 号組み合わせの F_2 雑種集団に出現した不稔性の原因と半矮性との遺伝的な関係を明らかにした。

材料および方法

本実験では、レイメイの半矮性遺伝子同質系統 SC レイメイと反復親農林 29 号の間で正逆交配を行い、 F_1 雑種を得た。それらの F_1 雑種植物の自殖により F_2 雑種種子を得た。翌年の 2002 年に、SC レイメイ×農林 29 号および農林 29 号×SC レイメイの正逆交雑 F_2 雑種集団 150 個体を、両親、 F_1 雑種植物とともに農業生物資源研究所（茨城県つくば市）の圃場で栽培した。播種日は 4 月 19 日、移植日は 5 月 10 日とした。栽植密度は 30×15 cm の 1 株 1 本植えとした。施肥量は、N, P_2O_5 , K_2O を 10 a 当たり、それぞれ 6 kg, 9 kg, 8 kg を施用した。

収穫後両親、 F_1 雑種、 F_2 雑種集団の稈長を測定した。半矮性と見られる個体の分布の境界を明らかにするために、農林 29 号×SC レイメイの組み合わせでは、分布の境界あたりの 31 個体から採種し、翌年に F_3 系統（系統あたり 25 個体）を養成し、半矮性の分離を調べた。栽培法は 2002 年に準じて行い、播種日は 4 月 21 日、移植日は 5 月 21 日とした。成熟期に稈長を測定した。

他方、SC レイメイ×農林 29 号の F_2 雑種集団には多数の不稔個体が出現した。そこで F_2 雑種集団において、不稔性の分離を調査するとともに、不稔性と半矮性との関連性を明らかにするために、 F_2 雑種集団の中から半矮性で不稔

* 東京農業大学国際食料情報学部国際農業開発学科

** 中国新疆農業科学院作物品種資源研究所

*** ミャンマー農業灌漑省農業公社

**** (独) 農業・食品産業技術総合研究機構作物研究所

性の4個体と半矮性で稔性の3個体を個別に掘上げてポットに植え温室で保存した。これら株保存7個体を翌年の2003年に圃場で栽培し、稈長、節間長、穂首抽出長などを調べた。また、ヨウ素ヨウ化カリ溶液で花粉を染色し、実体顕微鏡で花粉稔性を観察した。

さらに、2006年に、半矮性と不稔性との遺伝的関係を調べるために、SCレイメイ×農林29号のF₂雑種集団に生じた半矮性不稔個体に農林29号を交雑して養成したF₂雑種集団(150個体)を東京農業大学厚木柵沢水田圃場で栽培した。播種日は4月22日、移植日は5月27日とした。栽植密度は26×26cmの1株1本植えとした。施肥量は、10a当たり換算で、N、P₂O₅、K₂Oをそれぞれ14kg、8kg、5kg施用した。収穫後、稈長と稔性との関係を調べ、両形質間の独立性の検定および連鎖分析を行った。

結 果

両親品種のSCレイメイならびに農林29号、正逆交雑のF₁雑種、それら自殖によるF₂雑種集団は、いずれも8月20日前後に出穂し、F₂雑種集団における到穂日数の変異は小さかった。

SCレイメイ×農林29号のF₂雑種集団には、傾穂期以降、穂が青立ちになる不稔個体が多数現れた。一方、農林29号×SCレイメイのF₂雑種集団には、不稔個体は見られなかった。

そこで、SCレイメイ×農林29号のF₂雑種集団における不稔性の分離を調べた。その結果、正常稔性と不稔性の個体数は、それぞれ115と32であった。分離比(3稔:1不稔)に関する χ^2 検定の結果、不稔性は単一の劣性遺伝子により支配されていることがわかった(Table 1)。SCレイメイと農林29号の正逆交雑組合せのF₂雑種集団の稈長の変異を両親、F₁雑種とともにFig. 1-a, bに示した。農林29号の平均稈長は94cmであったのに対し、半矮性のSCレイメイの平均稈長は76cmであった。

不稔個体を分離したSCレイメイ×農林29号のF₂雑種集団の稈長の変異(Fig. 1-a)は、55~94cmの範囲にあり、その分布は、不稔個体を分離していない農林29号×SCレイメイのF₂雑種集団(Fig. 1-b)の範囲73~100cmとは異なり、明らかに短稈の側に偏っていた。

まず、不稔個体を分離していない農林29号×SCレイメイのF₂雑種集団における半矮性遺伝子の分離を調べた。77cm以下を半矮性ホモ個体と見なし、半矮性と長稈の分布の境界にあり、稈長が78~83cmの間の31個体について、F₃系統を養成し稈長を調べた。その結果、31系統のうち27系統が半矮性であることがわかった。したがって、農

林29号×SCレイメイのF₂雑種集団における長稈と半矮性の分離は、112対38となり、単因子劣性の分離比(3:1)によく適合し、半矮性はSCレイメイのもつ単一の劣性遺伝子により支配されることを確認した(Table 2)。

つぎに、SCレイメイ×農林29号のF₂雑種集団で多くの不稔個体が半矮性であったので、両形質間の連鎖関係を調べた。この交雑組合せのF₂雑種集団に出現した半矮性

Table 1 Segregation of fertility in F₂ population of SCReimei/Norin29

Phenotype	Fertile	Sterile	Total	$\chi^2(3:1)$	Probability
Segregation	115	32	147	0.82	0.37

Table 2 Segregation of culm length in F₂ population of Norin29/SCReimei

	Tall	Semi-dwarf	Total	$\chi^2(3:1)$	Probability
Segregation	112	38	150	0.01	0.92

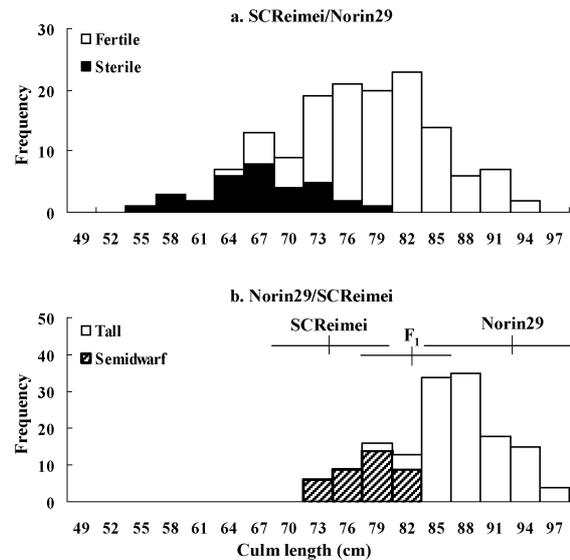


Fig. 1 Frequency distributions for culm length in F₂ population of SCReimei/Norin29 with segregation of sterile plants (a) and culm length in F₂ population of Norin29/SCReimei (b).

*Solid horizontal lines show the range of parents and F₁.

Table 3 Segregations of semidwarfness and sterility in F₂ population of SC-S/Norin29

Phenotypic class	Tall		Semidwarf		Total	Test of independence		Semidwarfness		Sterility	
	Fertile	Sterile	Fertile	Sterile		$\chi^2(9:3:3:1)$	<i>p</i>	$\chi^2(3:1)$	<i>p</i>	$\chi^2(3:1)$	<i>p</i>
Segregation	96	8	14	28	148	61.63**	<0.001	0.90	0.50-0.75	0.04	0.75-0.90

*SC-S indicates the anther indehiscence plants.

不稔個体に農林 29 号を交雑し、その F₂ 雑種集団における不稔性と半矮性の間の独立性の検定を行った (Table 3)。その結果、両形質の間には関連があることがみとめられた。そこで、Table 3 のデータに基づいて両形質間の組換え価を最尤法により推定した。その結果、不稔性遺伝子と第 1 染色体上の半矮性遺伝子 *sd1* との間の組換え価は、16.2 ± 3.4% と推定された。

さらに、不稔性遺伝子が他の形質へ及ぼす影響を調べるため、SCレイメイ × 農林 29 号の F₂ 雑種集団における稔性個体と不稔性個体の稈長、第 1 と第 2 節間長および穂首抽出長を測定し比較した。その結果、不稔性個体は穂首抽出長および第 1 と第 2 節間長がかなり短縮していることがわかった (Fig. 2)。そこで、半矮性個体の中から不稔性の 4 個体 (SCReimei-S) および稔性 3 個体 (SCReimei-F) をランダムに抽出して温室で株保存し、翌年圃場に栽培して稈長、節間長、穂首抽出長を測定した。その結果、Table 4 に示した通り、SCReimei-F 型個体に比べて、SCReimei-S 型個体は第 1、第 2 節間長が短縮し、穂首の抽出が不十分で、稈長を低いことがわかった。これらのことから、不稔性遺伝子は第 1 と第 2 節間長と穂首抽出長を短縮する多面発現効果をもつと推察された。

成熟期における SCReimei-S 型個体は、「青立ち」状態となり完全不稔 (Fig. 3) であった。これらの完全不稔個体の観察を行った結果、開花期に正常に開穎するが、葯が正常に裂開しないことがわかった (Fig. 4)。しかし、開穎花の葯から取り出された花粉は、ヨウ素ヨウ化カリ溶液でよく染まり、形態的にも花粉に異常は認められなかった (Fig. 5)。したがって、葯の裂開不全による雄性不稔とみられた。これらの雄性不稔個体に農林 29 号の花粉を授粉したところ正常に結実した。このことから、不稔性個体の雌蕊は、正常であることがわかった。さらに、穂孕期から開花期にかけて雄性不稔個体の穂を不織布で覆い、他家受粉を防いだところ完全不稔となった。

考 察

イネの核遺伝子性雄性不稔は、劣性の自然突然変異として高い頻度で出現することが知られている⁷⁾。また、放射

線やエチレンイミン処理により人為的に雄性不稔突然変異を誘発でき、それらが単一劣性遺伝子によることが報告された^{8,9)}。TAMARU ら⁴⁾ は、ニホンマサリから誘発された遺伝子性雄性不稔 29 系統の葯と花粉の発達過程の細胞組織学的観察を行い、花粉形成過程の異なる時期に突然変異が発生したとみて、雄性不稔を 7 つのタイプに類別した。これらの中には、高い花粉稔性をもつが、葯の裂開不良によ

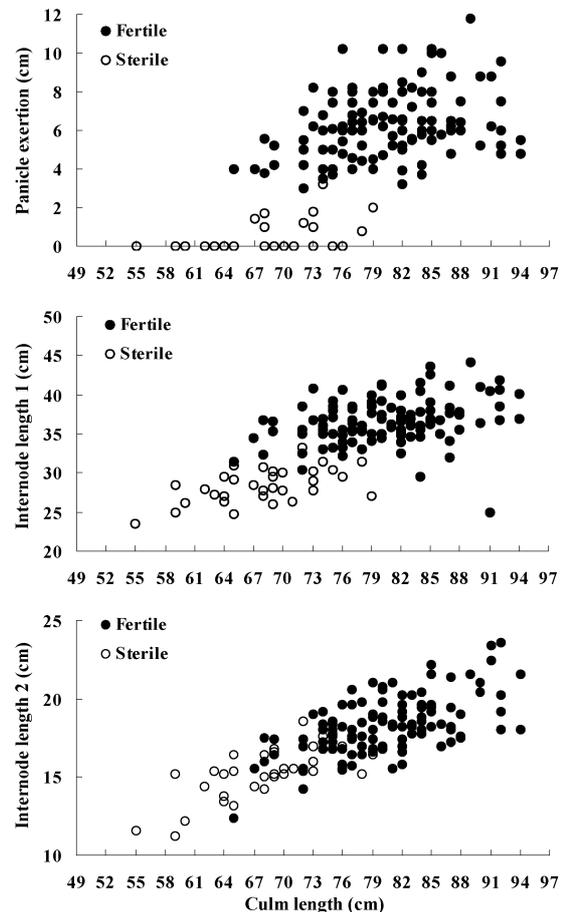


Fig. 2 Relations between culm length and panicle exertion, internode lengths in F₂ population of SCReimei/Norin29.

Table 4 Means of culm length, internode length and panicle exertion

Segregants	Culm length (cm)	Internode length (cm)						Panicle exertion (cm)	
		1	2	3	4	5	6		
SCReimei-F (Semidwarf-fertile)	1	68.6	28.6	19.1	11.8	7.3	2.2	0.4	2.7
	2	67.8	29.4	18.7	10.4	7.8	1.6	1.0	3.1
	3	68.4	29.7	19.7	10.0	6.8	2.7	1.0	2.1
	Av.	68.3	29.2	19.2	10.7	7.3	2.1	0.8	2.6
SCReimei-S (Semidwarf-sterile)	1	67.5	25.4	16.9	12.8	9.3	3.1	0.9	2.3
	2	64.8	26.6	17.5	11.1	7.8	1.6	0.8	1.1
	3	60.9	23.1	16.1	11.9	7.1	3.4	0.0	-1.5
	4	64.2	23.9	17.6	12.1	7.4	3.1	0.9	-1.6
Av.	64.3	24.7	17.0	12.0	7.9	2.8	0.9	0.1	



Fig. 3 Male sterile panicle in SCReimei-S

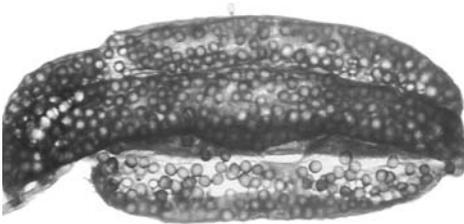


Fig. 4 An indehiscence anther with normal pollens in SCReimei-S.

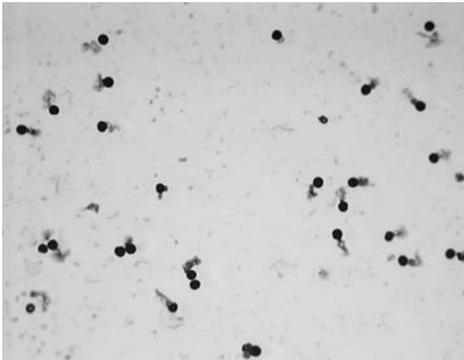


Fig. 5 Normal pollens in an indehiscence anther in SCReimei-S.

り不稔となるものがあることを報告した。

SATAKE ら¹⁰⁾ は、穂孕期の低温による障害型冷害では、タペト肥大による花粉の不稔や充実不良による葯の裂開不全が主因となることを報告した。また、MACKILL ら¹¹⁾ は、イネの高温障害により葯の裂開不全が生じ、授粉が阻害されたり、あるいは、受粉しても花粉の発芽が不良であったりすることを明らかにした。これらの障害には、品種間変異が見られることを報告した。

SC レイメイ×農林 29 号の F₂ 雑種集団に発生した雄性不稔個体では、花粉は正常に形成されるが、葯が裂開しなかったことから、不稔性の原因は葯の裂開不全によることが明らかになった。

両親品種とした SC レイメイと農林 29 号は、いずれも正常な花粉稔性と種子稔性をもつこと、ならびに、逆交雑

組合せには不稔性個体が出現しなかったことからみて、雄性不稔の原因となる葯の裂開不全を起こす遺伝子は、SC レイメイ×農林 29 号の F₂ 雑種集団の F₁ 世代において突然変異により生じたものと考えられる。

雄性不稔個体の形態特性を調査した結果、穂首抽出長および第 1 および第 2 節間長が短縮していることが明らかになった。この結果から、雄性不稔遺伝子が稈長、とくに上位節間を短縮する多面発現効果をもつと考えられる。したがって、雄性不稔の現れた SC レイメイ×農林 29 号の F₂ 雑種集団における稈長の変異が、農林 29 号×SC レイメイの F₂ 雑種集団に比べて、やや低い方向に偏っていたのは、不稔性遺伝子の多面発現効果の影響と考えられる。

シロイヌナズナでは、葯裂開不全突然変異体から雄性不稔遺伝子が単離され、それがジャスモン酸生成に関わる遺伝子であることが明らかにされた¹²⁻¹⁴⁾。イネなどの自家受粉作物では、葯が裂開するかしないかは、結実性に深く関わる重要な特性である。本研究で発見された葯の裂開性を制御する遺伝子の連鎖関係や分子生物学的特性を明らかにすることは、葯裂開性の発現メカニズムを解明する上できわめて重要な情報であると考えられる。

引用文献

- 1) SATAKE, T. and S. YOSHIDA, 1978, High temperature-induced sterility in indica rice at flowering. *Jan. J. Crop Sci.*, 47: 6-17.
- 2) 田丸典彦, 1991a, イネ雄性不稔性の遺伝分析と形質発現. *植物細胞工学* 3: 13-23.
- 3) 田丸典彦, 1991b, 核遺伝子型雄性不稔イネの開花期におけるヨウ素ヨウ化カリ染色性花粉の出現頻度と葯の形態について. *北海道教育大学紀要 (第 2 部 B)* 42: 67-78.
- 4) TAMARU, N. and T. KINOSHITA, 1992, Classification of induced genetic male sterile mutants based on histological observations of microsporogenesis. *RGN* 2: 76-77.
- 5) 菊池文雄, 板倉 登, 池橋 宏, 横尾政雄, 中根 晃, 丸山 清明, 1985, 短稈・多収水稻品種の半矮性に関する遺伝子分析. *農業技術研究報告 D36*: 125-145.
- 6) MURAI, M. and H. YAMAMOTO, 2001, Allelic relationships and height effects of rice dwarfing genes from cv. Deegoo-woo-gen, Calrose 76 and Reimei determined in a constant genetic background. *SABRAO Journal of Breeding and Genetics* 33: 21-30.
- 7) KAUL, M.L.H., 1988, *Oryza sativa* L. (cultivated rice) In *Male Sterility in Higher Plants*. Springer-Verlag: 459-481.
- 8) FUJIMAKI, H., S. HIRAIWA, K. KUSHIBUCHI and S. TANAKA, 1977, Artificially induced male-sterile mutants and their usages in rice breeding. *Japan J. Breed.* 27: 70-77.
- 9) KINOSHITA, T., 1997, Gene symbols and information on male sterility. *RGN* 14: 13-22.
- 10) SATAKE, T. and H. HAYASE, 1970, Male sterility caused by cooling treatment at the young microspore stage in rice plants. V. Estimations of pollen developmental stage and the most sensitive stage to coolness. *Jpn. J. Crop. Sci.* 39: 468-473.
- 11) MACKILL, D.J., W.R. COFFMAN and J.N. RUTGER, 1982, Pollen shedding and combining ability for high temperature tolerance in rice. *Crop Science* 22: 730-733.
- 12) STINTZI, A. and J. BROWSE, 2000, The Arabidopsis male-

- sterile mutant, *opr3*, lacks the 12-oxophytodienoic acid reductase required for jasmonate synthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **97** : 10625-10630.
- 13) ISHIGURO, S., A. KAWAI-OBA, J. UEDA, I. NISHIDA and K. OKADA, 2001, *The defective in anther dehiscence1* Gene encodes a novel phospholipase A1 catalyzing the initial step of jasmonic acid biosynthesis, which synchronizes pollen maturation, anther dehiscence, and flower opening in Arabidopsis. *The Plant Cell* **13** : 2191-2209.
- 14) von MALEK, B., E. van der GRAAFF, K. SCHNEITZ and B. KELLER, 2002, The Arabidopsis male sterile mutant *dde2-2* is defective in the allene oxide synthase gene encoding one of the key enzyme of the jasmonic acid biosynthesis pathway. *Planta* **216** : 187-192.

Genetic Analysis of Sterility Caused by Anther Indehiscence Gene Linked with a Semidwarfing Gene Locus, *sd1* in Rice

By

Kenji IRIE*, CONG HUA**, YE TIN TUN***, Hiroshi FUJIMAKI*,
Fumio KIKUCHI* and Tsukasa NAGAMINE****

(Received November 30, 2007/Accepted March 14, 2008)

Summary : Rice cultivar Reimei, an artificial mutant of Fujiminori, is known to harbor a semidwarfing allele *sd1-r* on the chromosome 1. The semidwarfing gene was transferred to the genome of Norin 29 by nine repeated backcrosses to develop an isogenic line SCReimei. This isogenic line was crossed with Norin 29 (recurrent parent) to make an F₂ hybrid population, in which a number of sterile plants segregated. Close observation disclosed that the seed sterility was not caused by pollen sterility but by anther indehiscence. Segregations of the sterility were investigated in an F₂ population revealing that the anther indehiscence was affected by a single recessive gene. Since sterile plants tended to be semidwarf, independence between sterility and semidwarfness was statistically tested to ascertain association between them. The results suggested that genes affecting both characters were linked on the chromosome 1. Taking into account that pollens and seeds of both parents were fully fertile and no sterile plants were observed in an F₂ population of Norin29/SCReimei, anther indehiscence affecting seed sterility seemed to be caused by a mutation arisen in F₁ plants of SCReimei/Norin29. The investigation of internode elongation of sterile plants suggested that the gene affecting anther indehiscence had a pleiotropic effect to inhibit the upper internode elongation of culm.

Key words : isogenic line, mutant, pleiotropic effect, SCReimei, single recessive gene

* Department of International Agricultural Development, Faculty of International Agriculture and Food Studies, Tokyo University of Agriculture

** Institute of Crop Germplasm Resources, Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, P.R. China

*** Myanma Agriculture Service, Ministry of Agriculture and Irrigation, Myanmar

**** National Institute of Crop Science, Japan