Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2025-07-16

Evaluation of genetic variation among wild and cultivated rice in Cambodia

Orn, Chhourn

(Degree)
博士（学術）

(Date of Degree)
2016-03-25

(Date of Publication)
2024-03-25

(Resource Type)
doctoral thesis

(Report Number)
甲第6663号

(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1006663

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。

別紙様式３（博士論文審査等内規第２条関係）

博士論文内容の要旨

氏　　名　Orn　Chhourn

専攻・講座　資源生命科学専攻　・　応用植物学講座

論文題目（外国語の場合は，その和訳を併記すること。）

Evaluation of genetic variation among wild and cultivated rice in Cambodia

カンボジアにおける野生イネおよび栽培イネの遺伝的多様性の評価

指導教員　石井　尊生

イネ(*Oryza sativa*)は世界の人々を支える主要作物の１つである。熱帯・温帯地方で広く栽培されているイネは、約１万年前にアジアの野生種である *O. rufipogon* より栽培化されたと考えられている。初期の栽培化においては、種子の非脱粒性・非休眠性、穂の非開帳性、種子の大きさ、植物形態など、比較的単純ないくつかの形質によって淘汰されてきたと推測される。その後、それぞれの土地に適した形質の選抜が行われ、在来品種が作られてきた。特に、ここ数十年で作られた近代品種は、在来品種間での交配、その後代での特性調査、優良個体の選抜という過程を経て作られたものがほとんどである。しかし、このような淘汰・選抜による栽培化および品種改良は、遺伝的多様性を短期間に縮小してきたといえる。それゆえ、野生種や在来品種には栽培化および近代育種の過程で無意識のうちに落としてしまった数多くの有用遺伝子が存在していると考えられ、これらは将来の育種における重要な遺伝資源であるといえる。そこで、これらの遺伝的多様性の程度を調べ、比較することは遺伝資源としての利用を考えるうえで非常に重要である。そこで本研究では、熱帯アジアにおいてイネの生育環境が多様であるカンボジアの野生種、在来品種、近代品種を材料として、それらの遺伝的多様性の評価を分子マーカーを用いて行った。

第１章では、この研究の着想に至った経緯等の背景ならびに研究の目的、また本論文の構成を記述した。

第２章では、カンボジアの在来品種と改良品種における遺伝的多様性の評価を行った。材料とした在来品種 276 系統は、50 年以上前に収集されたもので、floating rice, rice in dry regions, non-glutinous rice, glutinous rice の４つに分類されている。また，改良品種は国内で育成された 35 系統および外国から導入された 25 系統の計 60 系統である。これらより DNA サンプルを抽出し、12 個の SSR マーカーを用いて解析を

行った。まず、在来品種分類群内における遺伝子多様度を調べたところ、それぞれほぼ似た値が得られ、在来品種全体での遺伝子多様度は 0.55 であった。一方、国内で育成された改良品種について調べたところ、遺伝子多様度はやや低めの 0.46 であった。このようにカンボジアで育成された改良品種の遺伝的多様性が在来品種より減少したことは、近代育種法の導入とこれまでの社会状況の変化によるものと考えられた。しかし、外国からの導入系統を含めた改良品種全体における遺伝子多様度は 0.61 であった。このことは、現在カンボジアで栽培されている改良品種は、国内育成品種と外国導入品種を混在させることによって高い遺伝的多様性が維持されていることを示すものである。また、カンボジアで育成された改良品種と 4 つの在来品種分類群との分化の程度を遺伝的距離に基づき調査したところ、カンボジア国内改良品種が主に在来品種の non-glutinous rice グループから育成されたこと、また深水生態環境が floating rice の独特な遺伝的分化に大きく影響したことが示唆された。

第 3 章では、カンボジアの野生イネ集団における遺伝的多様性の評価を行った。まず、カンボジア国内において、5 つの野生イネ自生集団を選定し、合計 448 個体のサンプルを収集した。そして、第 2 章の研究で使用した同じセットの 12 個の SSR マーカーと 2 つの葉緑体マーカーを用いて、それらの集団間および集団内における遺伝的多様性の評価を行った。まず 2 つの一年生集団では、12 個すべての SSR マーカー座においてホモ接合型である植物の割合は高く（66.3%および 79.5%）、これらの植物は主に自殖による種子繁殖を行っていることが示唆された。次に 3 つの多年生集団では、全ての遺伝子座がホモ接合型である個体は見られなかったが、栄養繁殖由来の同じ遺伝子型を持つ個体が観察された。これらの重複した遺伝子型を持つ個体の割合は集団ごとに変動があり、3.6%、29.2%および 86.0%であった。これは環境条件の安定性が異なっているこ

とに起因するものと考えられた。一方、葉緑体ゲノムに関しては、多くの野生イネ個体がインド型栽培イネで一般的にみられるゲノムタイプを持っていた。また、異なった葉緑体型を持つ植物が同じ集団内で維持されていた。なお、5 つの集団からなる野生イネ全体の遺伝子多様度は 0.81 であり、カンボジア国内の在来品種や改良品種より遺伝的多様性が非常に高いことが示された。熱帯アジアの国々では、本研究で調査した環境と同じような条件下で多くの野生イネ集団が観察されている。そのため、本研究における集団内の構造に関する結果は、今後の野生イネの遺伝的特徴の解明に重要であるとともに、自然条件下の野生イネ遺伝資源の利用と保全に大きな手がかりを与えるものであると考えられた。

第 4 章では、栽培化および育種に関係した形質を制御する遺伝子がカンボジアの野生および栽培イネにおいてどのように分布しているのかを調査した。植物材料は、遺伝的多様性の解析に用いた在来品種 276 系統、国内改良品種 35 系統、および野生イネ 240 個体である。また調査対象は、遺伝子が同定され、さらにその遺伝子の機能を失う突然変異もわかっている次の形質（遺伝子座）である：種子脱粒性（*sh4, qSH1, qSH3*）、出穂期（*Hd6*）、穂の開帳性（*SPR3*）、籾殻の色（*Bh4*）、種皮の色（*Rc*）、有芒性（*LABA1*）、米の香り（*BADH2*）。そして、遺伝子の機能が失われる突然変異を検出する dCAPS, CAPS または InDel マーカーを設計し、これら 9 個の遺伝子座における対立遺伝子が機能型か機能喪失型かを調査した。まず、野生イネに関しては全ての遺伝子座で機能型の対立遺伝子を持つことが期待されるが、数個体が 4 つの遺伝子座において機能喪失型の対立遺伝子をヘテロで維持していた。これらの個体は田んぼに隣接した野生イネ集団でみられたため、栽培イネからの遺伝子流動によって生じたものと考えられた。一方栽培イネは、種子脱粒性に関しては全ての系統が *sh4* と *qSH3* で機能喪失

型，*qSH1* で機能型を持っていた。この結果は、種子の脱粒機構に関してカンボジアの栽培品種がインド型栽培イネのグループに含まれることを示唆していた。出穂期に関しては、全ての系統が機能型の対立遺伝子を持っており、主に日本型栽培イネでみられる機能喪失型のものはカンボジアのイネの出穂期には無関係であることが示された。米の香りは機能喪失型の突然変異に起因するが、機能喪失型の対立遺伝子が低い割合で在来品種（8.0%）と改良品種（25.7%）にみられたため、在来品種の当該形質が改良品種に引き継がれたものと考えられた。その他の遺伝子座については、ほとんどの品種が機能喪失型を持っていたが、一部の系統で機能型のものがみられた。これらは、黒い籾殻または赤い種皮、芒をそれぞれ持つ変わった品種として維持されてきたものと考えられた。

第 5 章では、以上の結果を要約するとともに、有用遺伝資源としての野生種および在来品種の育種的利用など本研究の意義について記述した。

（別紙１）　　論文審査の結果の要旨

氏名	Orn　Chhourn		
論文題目	Evaluation of genetic variation among wild and cultivated rice in Cambodia カンボジアにおける野生イネおよび栽培イネの遺伝的多様性の評価		
審査委員	区　分	職　名	氏　　名
	主　査	教　授	石　井　尊　生
	副　査	教　授	万　年　英　之
	副　査	教　授	森　　直　樹
	副　査		印
	副　査		印

要　　旨

イネ(*Oryza sativa*)は世界の人々を支える主要作物の１つである。熱帯・温帯地方で広く栽培されているイネは、約１万年前にアジアの野生種である *O. rufipogon* より栽培化されたと考えられている。初期の栽培化においては、種子の非脱粒性・非休眠性、穂の非開帳性、種子の大きさ、植物形態など、比較的単純ないくつかの形質によって淘汰されてきたと推測される。その後、それぞれの土地に適した形質の選抜が行われ、在来品種が作られてきた。特に、ここ数十年で作られた近代品種は、在来品種間での交配、その後代での特性調査、優良個体の選抜という過程を経て作られたものがほとんどである。しかし、このような淘汰・選抜による栽培化および品種改良は、遺伝的多様性を短期間に縮小してきたといえる。それゆえ、野生種や在来品種には栽培化および近代育種の過程で無意識のうちに落としてしまった数多くの有用遺伝子が存在していると考えられ、これらは将来の育種における重要な遺伝資源であるといえる。そこで、これらの遺伝的多様性の程度を調べ、比較することは遺伝資源としての利用を考えるうえで非常に重要である。そこで本研究では、熱帯アジアにおいてイネの生育環境が多様であるカンボジアの野生種、在来品種、改良品種を材料として、それらの遺伝的多様性の評価を分子マーカーを用いて行っている。

本論文は５章から構成され、まず第１章では、この研究の着想に至った経緯等の背景ならびに研究の目的、また本論文の構成を記述している。

第２章では、カンボジアの在来品種と改良品種における遺伝的多様性の評価を行っている。材料とする在来品種 276 系統は、50 年以上前に収集されたもので、floating rice、rice in dry regions、non-glutinous rice および glutinous rice の４つに分類されている。また，改良品種は国内で育成された 35 系統および外国から導入された 25 系統の計 60 系統である。これらより DNA サンプルを抽出し、12 個の SSR マーカーを用いて解析を行っている。まず、在来品種分類群内における遺伝子多様度を調べたところ、それぞれほぼ似た値が得られ、在来品種全体での遺伝子多様度は 0.55 である。一方、国内で育成された改良品種について調べたところ、遺伝子多様度はやや低めの 0.46 である。このようにカンボジアで育成された改良品種の遺伝的多様性が在来品種より減少していることは、近代育種法の導入とこれまでの社会状況の変化によるものと考えられる。しかし、外国からの導入系統を含めた改良品種全体における遺伝子多様度は 0.61 である。このことは、現在カンボジアで栽培されている改良品種は、国内育成品種と外国導入品種を混在させることによって高い遺伝的多様性が維持されていることを示すものである。また、カンボジアで育成された改良品種と４つの在来品種分類群との分化の程度を遺伝的距離に基づき調査したところ、カンボジア国内改良品種が主に在来品種の non-glutinous rice グループから育成されたこと、また深水生

氏名	Orn　Chhourn

態環境が floating rice の独特な遺伝的分化に大きく影響したことが示唆されている。

第３章では、カンボジアの野生イネ集団における遺伝的多様性の評価を行っている。まず、カンボジア国内において、５つの野生イネ自生集団を選定し、合計 448 個体のサンプルを収集している。そして、第２章の研究で使用した同じセットの 12 個の SSR マーカーと２つの葉緑体マーカーを用いて、それらの集団間および集団内における遺伝的多様性の評価を行っている。まず２つの一年生集団では、12 個すべての SSR マーカー座においてホモ接合型である植物の割合は高く（66.3%および 79.5%）、これらの植物は主に自殖による種子繁殖を行っていることが示唆されている。次に３つの多年生集団では、全ての遺伝子座がホモ接合型である個体は見られなかったが、栄養繁殖由来の同じ遺伝子型を持つ個体が観察されている。これらの重複した遺伝子型を持つ個体の割合は集団ごとに変動があり、3.6%、29.2%および 86.0%である。これは環境条件の安定性が異なっていることに起因するものと考えられる。一方、葉緑体ゲノムに関しては、多くの野生イネ個体がインド型栽培イネで一般的にみられるゲノムタイプを持つ。また、異なった葉緑体型を持つ植物が同じ集団内で維持されている。なお、５つの集団からなる野生イネ全体の遺伝子多様度は 0.81 であり、カンボジア国内の在来品種や改良品種より遺伝的多様性が非常に高いことが示されている。熱帯アジアの国々では、本研究で調査した環境と同じような条件下で多くの野生イネ集団が観察されている。そのため、本研究における集団内の構造に関する結果は、今後の野生イネの遺伝的特徴の解明に重要であるとともに、自然条件下の野生イネ遺伝資源の利用と保全に大きな手がかりを与えるものであると考えられている。

第４章では、栽培化および育種に関係した形質を制御する遺伝子がカンボジアの野生および栽培イネにおいてどのように分布しているのかを調査している。植物材料は、遺伝的多様性の解析に用いた在来品種 276 系統、国内改良品種 35 系統、および野生イネ 240 個体である。また調査対象は、遺伝子が同定され、さらにその遺伝子の機能を失う突然変異もわかっている次の形質（遺伝子座）である：種子脱粒性（*sh4, qSH1, qSH3*）、出穂期（*Hd6*）、穂の開帳性（*SPR3*）、籾殻の色（*Bh4*）、種皮の色（*Rc*）、有芒性（*LABA1*）、米の香り（*BADH2*）。そして、遺伝子の機能が失われる突然変異を検出する dCAPS, CAPS または InDel マーカーを設計し、これら９個の遺伝子座における対立遺伝子が機能型か機能喪失型かを調査している。まず、野生イネに関しては全ての遺伝子座で機能型の対立遺伝子を持つことが期待されるが、数個体が４つの遺伝子座において機能喪失型の対立遺伝子をヘテロで維持していた。これらの個体は田んぼに隣接した野生イネ集団でみられたため、栽培イネからの遺伝子流動によって生じたものと考えている。一方栽培イネは、種子脱粒性に関しては全ての系統が *sh4* と *qSH3* で機能喪失型, *qSH1* で機能型を持っていた。この結果は、種子の脱粒機構に関してカンボジアの栽培品種がインド型栽培イネのグループに含まれることを示唆している。出穂期に関しては、全ての系統が機能型の対立遺伝子を持っており、主に日本型栽培イネでみられる機能喪失型のものはカンボジアのイネの出穂期には無関係であることが示されている。米の香りは機能喪失型の突然変異に起因するが、機能喪失型の対立遺伝子が低い割合で在来品種（8.0%）と改良品種（25.7%）にみられるため、在来品種の当該形質が改良品種に引き継がれたものと考えられる。その他の遺伝子座については、ほとんどの品種が機能喪失型を持っているが、一部の系統で機能型のものがみられている。これらは、黒い籾殻または赤い種皮、芒をそれぞれ持つ変わった品種として維持されてきたものと考えられる。

第５章では、以上の結果を要約するとともに、有用遺伝資源としての野生種および在来品種の育種的利用など本研究の意義について記述している。

以上のように本研究は、カンボジアにおける野生イネおよび栽培イネの遺伝的多様性を分子マーカーを用いて詳細に評価するものであり、イネの遺伝・育種学的分野において重要な知見を得るものとして価値ある集積であると認める。よって、学位申請者の Orn Chhourn は、博士（学術）の学位を得る資格があると認める。