



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。



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

(氏名： Orn Chhourn No. 2)

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

(氏名： Orn Chhourn No. 3)

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与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

(氏名： Orn Chhourm No. 4)

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。

氏名	Orn Chhourm		
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			
<p>イネ(<i>Oryza sativa</i>)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 <i>O. rufipogon</i> 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。</p> <p>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。</p> <p>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</p>			

氏名	Orn Chhourm
<p>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。</p> <p>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。</p> <p>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 (<i>sh4</i>, <i>qSH1</i>, <i>qSH3</i>)、出穂期 (<i>Hd6</i>)、穂の開帳性 (<i>SPR3</i>)、籾殻の色 (<i>Bh4</i>)、種皮の色 (<i>Rc</i>)、有芒性 (<i>LABA1</i>)、米の香り (<i>BADH2</i>)。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 <i>sh4</i> と <i>qSH3</i> で機能喪失型、<i>qSH1</i> 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のみみられている。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。</p> <p>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。</p> <p>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 Chhourm は、博士(学術)の学位を得る資格があると認める。</p>	