

令和 5 年 6 月 9 日現在

機関番号：12605

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19H02939

研究課題名（和文）葉のガス交換の直接計測によるイネ光合成QTLの同定手法の開発

研究課題名（英文）Development of a method for identification of QTLs for photosynthesis in rice by direct measurement of leaf gas exchange

研究代表者

安達 俊輔（Adachi, Shunsuke）

東京農工大学・（連合）農学研究科（研究院）・准教授

研究者番号：30717103

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,200,000円

研究成果の概要（和文）：葉1枚あたり測定時間を従来の1/10以下に短縮した新型迅速光合成測定装置MIC-100を用い、日本で育成されたイネ198品種のCO₂同化速度の変異を解析した。日本のイネ品種のCO₂同化速度には世界イネ品種パネルに匹敵する幅広い変異が存在すること、日本の近代育種過程においてイネのCO₂同化速度は改良されてこなかったことが示された。また3年間の測定データを統合したGWASにより候補ゲノム領域を第1、第8、第11染色体に見出した。このうち第1染色体の領域は日本晴/羽地黒穂F2集団で検出されたQTLと近接していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

かつてない大規模な光合成評価により、日本で育成されたイネの光合成速度の多様性が網羅的に示された。特に日本のイネを利用した光合成改良の可能性が高いことが示された。またMIC-100を利用した光合成解析とGWASの融合は、CO₂同化速度に関わるゲノム領域をきわめて省力的に特定できることが明らかとなった。MIC-100によるガス交換直接測定法は、近年開発された間接評価法とともに作物光合成の制御因子の解明に役立つと期待される。

研究成果の概要（英文）：Using the new rapid photosynthesis measurement system MIC-100, which reduces the measurement time per leaf to less than 1/10 of the conventional method, we analyzed the variation in CO₂ assimilation rates of 198 rice varieties bred in Japan. The results showed that there is a wide range of variation in the CO₂ assimilation rate of Japanese rice varieties comparable to the world panel of rice varieties, and that the CO₂ assimilation rate has not been improved during the modern breeding process in Japan. Genome wide association study with integrated three years of measurement data identified candidate genomic regions on chromosomes 1, 8, and 11. Of these, the chromosome 1 region was in close proximity to the QTL detected in the Nihonbaru/Hajikuroho F2 population.

研究分野：作物生産科学

キーワード：MIC-100 イネ CO₂同化速度 GWAS ゲノム

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

葉の光合成速度の改良はさらなる作物の生産性向上のために不可欠と考えられる。なぜなら、現代の多収品種においては収穫指数が理論的最大値に近く、バイオマス生産に関わる草型や葉面積の改良の余地も小さいためである (Long et al. 2006)。作物光合成の育種改良を目指し、量的形質遺伝子座 (QTL) 解析による光合成関連自然変異アレルの道程のための研究がこれまで行われてきた (Adachi et al., 2011, 2017)。これらは原因遺伝子の解明に結びつくなど一定の成果を上げてきたが、一方で連鎖解析に用いる実験集団の育成に時間を要すること、2品種の交雑に基づく解析材料であるために検出できるアレルの多様性が限定されるなどの課題があった。

この課題を解決しうる遺伝解析手法がゲノムワイド関連解析 (GWAS) である。GWAS は多数の品種パネルの DNA マーカー情報と表現型との関連に基づいて QTL を特定する手法であり、交雑系統の育成が不要で多品種において重要なアレルが検出される可能性が高い。しかし、GWAS を行うためには数百～数千個体の形質評価が必要となり、測定スループットの低い従来のガス交換測定手法を用いて葉の光合成速度 (CO_2 同化速度) を指標とした GWAS を実施するのは不可能と考えられた。 CO_2 同化速度に関わる新規 QTL を GWAS によって同定するためには、ガス交換測定のスループットを大幅に向上させた新技術の開発が不可欠である。

2. 研究の目的

筆者らは、(株)マサイインタナショナルと共同で新型迅速光合成測定装置 (MIC-100) を開発した。MIC-100 は、 CO_2 同化速度の測定機構として閉鎖系測定システムを採用することによって、一般的に用いられる開放系測定システムに対して1枚の葉の測定にかかる時間を1/10以下に短縮した。一方で、光強度が十分な野外環境においては、従来の開放系測定システムと同等の測定精度を有した。そこで本研究ではMIC-100を用いてイネ葉の CO_2 同化速度を大量測定し、GWASを通じて光合成速度に関わるQTLをゲノム網羅的に特定することを目的とした。具体的には、(1)日本型イネ品種パネルの CO_2 同化速度に関わるGWASを実施し、(2)従来のQTL解析を併せて実施することでQTL存在領域を確認し、(3)突然変異系統等を用いた遺伝子機能の証明を実施することである。さらに(4) CO_2 同化速度の遺伝要因×環境要因の相互作用に関わる新規QTLの検出を試みた。

3. 研究の方法

(1)日本型イネ品種パネル198品種を水田圃場で栽培した。3台のMIC-100装置を利用して最高分げつ期に CO_2 同化速度の測定を実施した。このとき葉の形態的特性にかかわる複数の表現型を併せて取得した。表現型データとSNP多形情報を用いてGWASを行った。GWASには個別のマーカー効果を変量とするリッジ回帰BLUPを採用し、RパッケージrrBLUPを使用した (Endelman, 2011)。

(2)日本晴/愛国もち、日本晴/かばしこ、日本晴/羽地黒穂の F_2 集団(各100個体)を育成して水田圃場で栽培した。MIC-100で CO_2 同化速度を評価するとともにRAD-seqによってゲノム多形を抽出し、r-qtlプログラムによるQTL解析を実施した。

(3)日本晴種子に対してアグロバクテリウム法によりゲノム編集コンストラクトの導入を行った。

(4)日本型イネ品種パネル120品種を水田圃場で栽培した。この際窒素肥料条件を3段階に変化させた。3台のMIC-100装置を利用して最高分げつ期に CO_2 同化速度の測定を実施し、(1)と同様にGWASを行った。

4. 研究成果

(1) CO_2 同化速度の測定はイネ198品種に対して実施したが、極早生の北海道品種は生育相の違いが CO_2 同化速度に強く影響したと考えられたため、北海道品種を除いた168品種に対して解析を行った。第1表は取得した全表現型の平均値、標準偏差 (SD)、最小値、最大値を表している。 CO_2 同化速度には幅広い自然変異があることが3年間通じて認められた。この自然変異幅(最小と最大の差4倍)は、世界のイネコアコレクションで認められた CO_2 同化速度の変異幅と匹敵するものであった (Kanemura et al. 2007)。すなわち遺伝変異が比較的小さいとされる温帯ジャポニカ品種に分類される日本のイネ品種群の光合成速度には幅広い変異が存在し、育種素材として役立つことが示唆された。

取得した各表現型間の相関を調べたところ、 CO_2 同化速度と密接な関わりが指摘されているSPAD値と CO_2 同化速度との相関は認められなかった(第1図)。また葉の形態形質に関わる表現型と CO_2 同化速度との相関も小さかった。したがって、日本型イネ品種の光合成速度には、これら以外の性質(例えば気孔コンダクタンスやRubisco含量など)が強く影響すると考えられた。

第 1 表 日本で育成されたイネ 168 品種光合成速度に関わる表現型データ。A, CO₂ 同化速度、LW, 葉幅、LA, 葉面積、LMA, 葉面積。下付きの数字は測定年を示す。

Trait	Description	Unit	Mean	SD	Min	Max
A ₂₀₁₈	Net CO ₂ assimilation rate in 2018	μ mol m ⁻² s ⁻¹	29.84	5.14	14.04	44.05
A ₂₀₁₉	Net CO ₂ assimilation rate in 2019	μ mol m ⁻² s ⁻¹	35.97	5.97	11.96	58.63
A ₂₀₂₀	Net CO ₂ assimilation rate in 2020	μ mol m ⁻² s ⁻¹	31.73	4.95	12.98	51.75
LW ₂₀₁₈	Leaf width in 2018	cm	1.15	0.12	0.80	1.60
LW ₂₀₁₉	Leaf width in 2019	cm	0.97	0.12	0.64	1.40
LW ₂₀₂₀	Leaf width in 2020	cm	1.15	0.12	0.82	1.64
LA ₂₀₂₀	Single leaf area in 2020	cm ²	42.12	8.95	17.33	75.64
LMA ₂₀₂₀	Leaf mass area (dry weight/area) in 2020	g m ⁻²	50.13	12.30	13.87	159.03
SPAD ₂₀₂₀	SPAD reading in 2020	dimensionless	43.44	2.98	30.30	52.00

日本イネ品種の CO₂ 同化速度の特徴を育成時期に着目して解析した。まず公的研究機関等において近代に開始されたいわゆる育成品種の CO₂ 同化速度は、農家によって育成された在来品種に比較して高い傾向が認められた。一方で、近代育成品種と品種公開年との関係は認められなかった (第 2 図)。このことから、近代育成品種は在来品種に比べれば光合成速度が高い傾向があるが、これを積極的に高める育種は行われてこなかったと判断された。これは、「近年に育成された品種は概して光合成速度が改良されている」とする報告 (黒田・玖村 1990, Sasaki & Ishii 1992) とは対照的である。

CO₂ 同化速度に関わる QTL を GWAS によって複数検出した (第 3 図)。2018 年には第 1、第 3 染色体に大きなピークを検出した。2019 年には明確なピークは認められなかった。2020 年には第 8、第 11 染色体に大きなピークが認められた。Liu (2019) に基づき一般化線型モデルを作成して各品種の遺伝効果を抽出し、3 年間のデータ統合的 GWAS を実施したところ、第 1、第 8、第 11 染色体のピークが顕著であった。すなわちこれら 3 つのゲノム領域に、日本イネの光合成速度の変異をもたらす原因遺伝子が存在する可能性が高い。

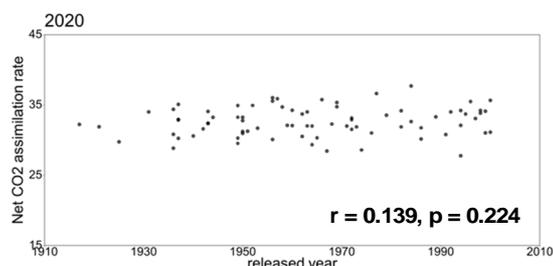
(2) 日本晴/愛国もち、日本晴/かばしこ、日本晴/羽地黒穂の F₂ 集団を育成し、CO₂ 同化速度の測定を行った。このうち日本晴/羽地黒穂 F₂ 集団において、第 1 染色体に有意な QTL が認められた。この QTL では、羽地黒穂アリルが CO₂ 同化速度を低下させる効果を持つと推定された。本 QTL は GWAS で検出された第 1 染色体のゲノム領域と極めて近接していた。

(3) 日本晴を遺伝背景として、CO₂ 同化速度に対する効果が報告されている GPS/NAL1 アリルを破壊したゲノム編集系統を育成した。一方で、GWAS で検出された第 1、第 8、第 11 染色体上の候補遺伝子の遺伝子操作実験には至らなかった。

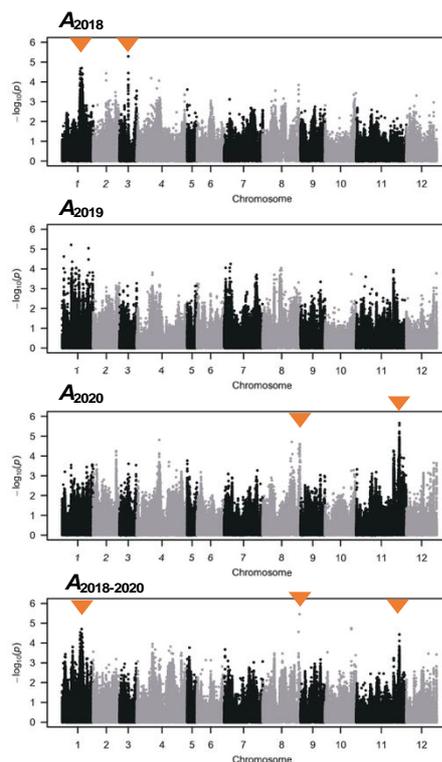
(4) 施肥窒素量を三段階に変化させた条件でイネ 120 品種を栽培し、最高分けつ期に CO₂ 同化速度を測定した。その結果、施肥窒素含量が増えるほど CO₂ 同化速度が上昇する傾向が認められた。各施肥窒素条件において共通する QTL ピークが複数認められたものの、施肥条件間の CO₂ 同化速度の差分値や、環境との相互作用を示すと考えられる PC2 パラメータには明瞭なピークは検出されなかった。



第 1 図 表現型データのピアソン相関係数。色が濃いほど相関係数が高いことを示す。表現型名称は第 1 表参照。



第 2 図 近代育成品種の育成年度と CO₂ 同化速度との関係。r は相関係数を示す。



第 3 図 CO₂ 同化速度 (A) に関わる GWAS マンハッタンプロット。下付きの文字は測定年を示す。A2018-2020 は線型混合モデルによって抽出した遺伝効果に基づいた GWAS。横軸は染色体番号、縦軸は p 統計量を表す。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 12件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Honda Sotaro, Ohkubo Satoshi, San Nan Su, Nakkasame Anothai, Tomisawa Kazuki, Katsura Keisuke, Ookawa Taiichiro, Nagano Atsushi J., Adachi Shunsuke	4. 巻 11
2. 論文標題 Maintaining higher leaf photosynthesis after heading stage could promote biomass accumulation in rice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 7579
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-86983-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 OHTAKE Noriko, JU Yao, ISHIKURA Masaharu, SUZUKI Hiroshi, ADACHI Shunsuke, YAMORI Wataru	4. 巻 59
2. 論文標題 Alternating Red/Blue Light Increases Leaf Thickness and Mesophyll Cell Density in the Early Growth Stage, Improving Photosynthesis and Plant Growth in Lettuce	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Environment Control in Biology	6. 最初と最後の頁 59～67
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2525/ecb.59.59	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Araie Toshitake, Tomozumi Ikeda, Kakimoto Akira, Adachi Shunsuke	4. 巻 10
2. 論文標題 Development of Upper-Limb Assist Suit for Reduction Physical Load in Leaf Photosynthesis Measurement	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Modeling and Optimization	6. 最初と最後の頁 185～190
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.7763/IJMO.2020.V10.768	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Ohkubo Satoshi, Tanaka Yu, Yamori Wataru, Adachi Shunsuke	4. 巻 11
2. 論文標題 Rice Cultivar Takanari Has Higher Photosynthetic Performance Under Fluctuating Light Than Koshihikari, Especially Under Limited Nitrogen Supply and Elevated CO2	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Science	6. 最初と最後の頁 1308
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fpls.2020.01308	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kondo Rintaro, Tanaka Yu, Katayama Hiroto, Homma Koki, Shiraiwa Tatsuhiko	4. 巻 204
2. 論文標題 Continuous estimation of rice (<i>Oryza sativa</i> (L.)) canopy transpiration realized by modifying the heat balance model	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biosystems Engineering	6. 最初と最後の頁 294 ~ 303
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.biosystemseng.2021.01.016	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shunsuke Adachi, Satoshi Ohkubo, Nan Su San, Toshio Yamamoto	4. 巻 40
2. 論文標題 Genetic determination for source capacity to support breeding of high-yielding rice (<i>Oryza sativa</i>)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Breeding	6. 最初と最後の頁 20
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11032-020-1101-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sakoda Kazuma, Adachi Shunsuke, Yamori Wataru, Tanaka Yu	4. 巻 73
2. 論文標題 Towards improved dynamic photosynthesis in C3 crops by utilizing natural genetic variation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Experimental Botany	6. 最初と最後の頁 3109 ~ 3121
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jxb/erac100	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 本田爽太郎・大久保智司・新家寿建・秋山重之・青木直史・田中佑・安達俊輔	4. 巻 -
2. 論文標題 葉のCO2同化速度の簡便迅速測定システムの開発	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 日本作物学会紀事	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Taniyoshi Kazuki、Tanaka Yu、Adachi Shunsuke、Shiraiwa Tatsuhiko	4. 巻 174
2. 論文標題 Anisohydric characteristics of a rice genotype 'ARC11094' contribute to increased photosynthetic carbon fixation in response to high light	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Physiologia Plantarum	6. 最初と最後の頁 e13825
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/pp1.13825	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Adachi Shunsuke、Stata Matt、Martin Duncan G、Cheng Shifeng、Liu Hongbing、Zhu Xin-Guang、Sage Rowan F	4. 巻 191
2. 論文標題 The Evolution of C4 Photosynthesis in Flaveria (Asteraceae): Insights from the Flaveria linearis Complex	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Plant Physiology	6. 最初と最後の頁 233 ~ 251
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/plphys/kiac467	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Yoshida Hideki、Matsuoka Makoto	4. 巻 54
2. 論文標題 Two bHLH transcription factors affect sprouting by regulating the level of ABA	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nature Genetics	6. 最初と最後の頁 1772 ~ 1773
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41588-022-01238-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tanaka Yu、Taniyoshi Kazuki、Imamura Ayumu、Mukai Ryo、Sukemura Shun、Sakoda Kazuma、Adachi Shunsuke	4. 巻 49
2. 論文標題 MIC-100, a new system for high-throughput phenotyping of instantaneous leaf photosynthetic rate in the field	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Functional Plant Biology	6. 最初と最後の頁 496 ~ 504
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1071/FP21029	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Nakkasame Anothai, 速水 健太郎, San Nan, 桂 圭佑, 松岡 信, 大川 泰一郎, 安達 俊輔
2. 発表標題 日本で育成されたイネ品種の光合成関連形質と育成年次との関係
3. 学会等名 第250回日本作物学会講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 関佳彬・速水健太郎・野村知宏・大川泰一郎・松岡信・田中佑・安達俊輔
2. 発表標題 イネ個葉光合成速度の迅速多検体測定によるゲノムワイド関連解析
3. 学会等名 日本作物学会関東支部会第109回講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大久保智司・田中佑・矢守航・安達俊輔
2. 発表標題 変動光条件の光合成速度に対するCO ₂ 濃度と施肥窒素量の相互作用
3. 学会等名 第10回日本光合成学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 本田爽太郎・大久保智司・大川泰一郎・安達俊輔
2. 発表標題 ドキュメントスキャナによるイネ葉身画像取得法の確立
3. 学会等名 日本作物学会関東支部第108回講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 速水健太郎・野村知宏・関佳彬・平野恒・松岡信・大川泰一郎・安達俊輔
2. 発表標題 イネ止葉のCO2同化速度に関わるゲノムワイド関連解析
3. 学会等名 第249回日本作物学会講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sotaro Honda, Satoshi Ohkubo, Nan Su San, Anothai Nakkasame, Kazuki Tomisawa, Keisuke Katsura, Taiichiro Ookawa, Atsushi J. Nagano, Shunsuke Adachi
2. 発表標題 Maintaining higher leaf photosynthesis after heading stage contributes to higher biomass accumulation in rice
3. 学会等名 The 10th Asian Crop Science Association Conference(国際学会) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Seki Y, Hayami K, Nomura T, Tanaka Y, Ookawa T, Matsuoka M, Adachi S
2. 発表標題 Genome wide association study for leaf photosynthetic properties in 166 temperate japonica rice cultivars
3. 学会等名 The 10th Asian Crop Science Association Conference (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	松岡 信 (Matsuoka Makoto) (00270992)	福島大学・食農学類附属発酵醸造研究所・特任教授 (11601)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	田中 佑 (Tanaka Yu) (50634474)	京都大学・農学研究科・助教 (14301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関