

令和 6 年 6 月 25 日現在

機関番号：82104

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K05522

研究課題名(和文) Dual-NAM集団を用いた出穂期メタQTLの環境応答性を評価する数理モデリング

研究課題名(英文) Mathematical Modeling to Evaluate Environmental Responsiveness of multiple QTL for flowering time Using Dual-NAM Population

研究代表者

齊藤 大樹 (SAITO, HIROKI)

国立研究開発法人国際農林水産業研究センター・熱帯・島嶼研究拠点・主任研究員

研究者番号：10536238

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、4つの環境(北上市、東郷町、石垣市1期、11期)において、2つの japonica品種(「ひとめぼれ」：石垣市の主幹品種、「台中65号」：亜熱帯地域に適応した台湾japonica品種)を共通親とするNAM集団(T65\_NAMおよびHT\_NAM)、合計11集団(1,693系統)を栽培し、出穂日数および環境応答性に関するGWASを実施した。その結果、それぞれの作期における出穂日数については、染色体2、3、4、5、6、7、10、12に座乗する16から45の有意なSNPが検出された。環境応答性については、染色体3、5、6、7、10に座乗する1から30の有意なSNPが検出された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

イネは、赤道直下の熱帯・亜熱帯地域から北緯50度(南緯40度)を超える亜寒帯地域まで幅広い地域で栽培されている。イネの出穂期は、品種の地域適応性を決定し、生産性に寄与する最も重要な農業形質の一つであるが、これまで研究では、出穂期を制御する遺伝子の環境応答性まで十分に明らかにされてこなかった。本研究では、多環境条件下のデータセットを用いることで、出穂期制御に関わる遺伝子の環境応答性を明らかにすることができた。この成果は、多様な稲作地域のニーズに応える新品種を速やかに育成するため、その地域の栽培暦や環境条件に最適な出穂期遺伝子の組み合わせを見出すことに貢献する。

研究成果の概要(英文)：NAM populations (T65\_NAM and HT\_NAM), which are derived from the cross between 'Taichung 65' or 'Hitomebore' as a common parent and various varieties, were grown in four environments (Iwate Biotechnology Science Center, Iwate Prefecture; Togo experimental Field of Nagoya University, Aichi Prefecture; and Ishigaki island, Okinawa Prefecture, Spring-Summer season and Summer-Autumn season). A total of 11 populations (1,693 lines), were grown and GWAS were conducted for days to heading (DTH) and environmental responsiveness (Photoperiod sensitivity and Temperature sensitivity). The results showed that for DTH in each cropping season, 16-45 significant SNPs were detected, locating on chromosomes 2, 3, 4, 5, 6, 7, 10 and 12. For environmental responsiveness, 1-30 significant SNPs were detected, locating on chromosomes 3, 5, 6, 7 and 10.

研究分野：植物遺伝・育種

キーワード：イネ 出穂期 NAM集団 環境応答性

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

イネは、全世界人口の約半分が主食として利用する重要な穀物であり、アジアをはじめ、ヨーロッパやアメリカ大陸など赤道直下の熱帯・亜熱帯地域から北緯 50 度 (南緯 40 度) を超える亜寒帯地域まで幅広い地域で栽培される。イネの出穂期は、品種の地域適応性を決定し、生産性に寄与する最も重要な農業形質の一つである。短日植物であるイネは、短日条件下で出穂が促進し、長日条件下で出穂が遅延する日長反応性を有する。加えて、生育に最適な気温と短日条件下で最短の到穂日数で表される基本栄養成長性や、温度の上昇・下降に伴い出穂がどれくらい促進・遅延されるかを表す温度反応性を加味した複合的な出穂特性によって、イネの出穂期は決定される。栽培地域の環境条件を理解し、これら 3 つの特性を最適化することが、生産性を最大化する品種の育成において重要となる。

これまでイネの出穂特性に関する分子遺伝学的研究が行われ、多数の出穂期遺伝子が同定・単離されている。また、単離された遺伝子の相互作用や制御ネットワークも明らかにされ、イネの出穂期制御に関する理解が進んできた。しかし、これまでの多くの研究が、遺伝子の機能解析や出穂期制御ネットワークの解明に主眼がおかれ、出穂期遺伝子の環境に対する応答性を明らかにできていない。また、これらの研究における遺伝解析の多くは、2 つの品種・系統 (Bi-parents) 間から育成された交雑集団を利用したものであるため、集団育成に選択した 2 つの親系統の対立遺伝子頻度と効果に遺伝解析検出力が左右されるため、多様な出穂期遺伝子座を明らかにすることができていない。最後に、これまでの研究の多くは、出穂期遺伝子単体に着目したものであり、それぞれの遺伝子座に同定された対立遺伝子の組み合わせ効果を明らかにしていない。

### 2. 研究の目的

世界のイネ栽培地域の新たなニーズに応える品種を速やかに育成するため、本研究のゴールは、世界の稲作地域の栽培暦や環境条件に最適な出穂期遺伝子アレルセットを見出すことに資する、出穂期遺伝子の環境応答性と組み合わせ効果を明らかにする数理モデルを構築することである。本研究では、これまで温帯地域で蓄積された圃場調査データに加え、亜熱帯地域での調査データを加えることで、多環境条件下データセットを整備し、出穂期遺伝子の環境応答性を明らかにすることを目的とする。

### 3. 研究の方法

#### (1) 播種日から出穂に至るまでの日数 (到穂日数) に関するメタ QTL 解析の実施

4 つの環境 (岩手県北上市、愛知県愛知郡東郷町、沖縄県石垣市 I 期、II 期) において、2 つの japonica 品種 (「ひとめぼれ」: 石垣市の主幹品種、「台中 65 号」: 亜熱帯地域に適応した台湾 japonica 品種) を共通親とする NAM 集団 (T65\_NAM および HT\_NAM)、合計 11 集団 (1,693 系統) (Table 1) を栽培し、到穂日数の調査を行った。栽培は 2022 および 2023 年 (石垣市 II 期作では、2021 年および 2022 年) に行い、それぞれの播種日および移植日は Table 2 の通り。

次世代シーケンサーによる解析によって得られた配列から、20,338 箇所の SNP 多型情報を決定し、それぞれの地点・作期における到穂日数に関する GWAS を実施した。GWAS は、統計解析ソフトウェア R の GAPIT パッケージを用いて集団構造と家系を考慮した MLM によって実施し、ポ

ソフェローニ補正に従い  $P$ .value < 4.91E-05 を有意な SNP として同定した。

**Table 1** Reference parents, founder, and No. of lines used in this study. The colored cells by light blue mean the common founder.

Population ID	Reference parents	Founder	No. of lines
T65/KA	Taicung 65	Kasalath	110
T65/SJ		Suejamkhi	86
T65/BD		Badari Dhan	132
HT/KA	Hitomebore	Kasalath	171
HT/SJ		Suejamkhi	75
HT/BD		Badari Dhan	72
HT/KL		Kulheenati	232
HT/TA		Takanari	135
HT/RE		Rexmont	187
HT/SE		Sesia	250
HT/HA		Hayayuki	243

**Table 2** Seeding and transplanting date of each Crop season/place in this study.

Cropping ID	Crop season/place	Seeding date	Transplanting date
ISG_2021_S	Second/Ishigaki	13 Jul. 2021	11 Aug. 2021
ISG_2022_S		26 Jul. 2022	23 Aug. 2022
ISG_2022_F	First/Ishigaki	9 Feb. 2022	6 Mar. 2022
ISG_2023_F		9 Feb. 2023	6 Mar. 2023
NGY_2022	Toyota	27 May 2022	24 Jun. 2022
NGY_2023		26 May 2023	23 Jun. 2023
IWT_2022	Kitakami	2 May 2022	30 May 2022
IWT_2023		27 Apr. 2023	24 May 2023

## (2) 検出された QTLs の環境応答性の解析

イネは一般的に、長日条件、ならびに低温条件で出穂が遅延する。出穂期遺伝子座の環境応答性について、笹村 (1981) の方法に基づき、系統ごとに低温による出穂遅延度ならびに長日条件における出穂遅延度を求め、(1) と同様に GWAS を実施した。各地点の日長および気温は、最寄りの気象庁観測地点から得た。各地点の日長および気温を、最寄りの気象庁観測地点から入手し、各環境の 2 ヶ年にわたる岩手および名古屋の環境条件を、それぞれ長日・低温および長日・高温とみなし、石垣における I 期および II 期の環境条件を、それぞれ短日・低温および短日・高温とみなした。短日条件における低温による遅延度 (LowS)、長日条件における低温による遅延度 (LowL)、低温における長日条件による遅延度 (LongL)、および高温における長日条件による遅延度 (LongH) を以下の通り定義した。

LowS = 石垣 I 期における到穂日数 (DTH: Days to heading) - 石垣 II 期における DTH

LowL = 岩手における DTH - 名古屋における DTH

LongL = 岩手における DTH - 石垣 I 期における DTH

LongH = 名古屋における DTH - 石垣 II 期における DTH

得られた結果を (1) で検出された QTLs と比較し、これらの QTLs が日長もしくは気温に対する応答性に関与するか、考察を行った。

## 4. 研究成果

### (1) 到穂日数に関する QTL 解析

各栽培地点・作期での到穂日数は、30~148 日であった (Fig. 1)。GWAS を実施したところ、それぞれの作期において 16~45 の有意な SNP が検出された (Fig. 2)。これらの SNP は、染色体 2、3、4、5、6、7、10、12 に座乗し、それぞれの染色体において合計 1~89 の SNP が検出された。これらのうち、染色体 3、7、10 には、それぞれ 61、89、45 の SNP が座乗し、染色体 7 および 10 では、すべての作期において、有意な SNP が検出された。これらの SNP は、それぞれ既知の出穂期制御遺伝子 *DTH2* (染色体 2)、*Ehd4*、*OsMADS50*、*Ef-cd*、*Hd16*、*Hd6* (以上染色体 3)、*Hd1* (染色体 6)、*Ghd7*、*OsPRR37* (以上染色体 7)、*Ehd1*、*OsMADS56* (以上染色体 10) の遺伝子上、もしくは近傍に座乗しており、これらの遺伝子が原因遺伝子である可能性が示唆された。一方、これまで報告のない領域にも SNP が検出されたことから、これらの近傍には、未知の出穂期制御遺伝子が座乗している可能性がある。

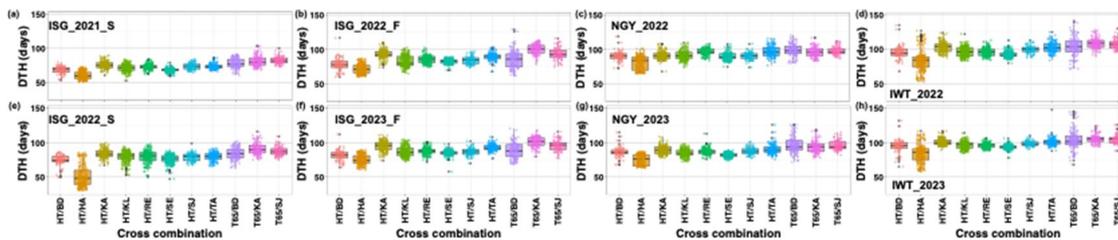


Fig. 1 Distribution of days to heading (DTH) of 11 populations in total of 8 cropping seasons in 3 locations over 2 years.

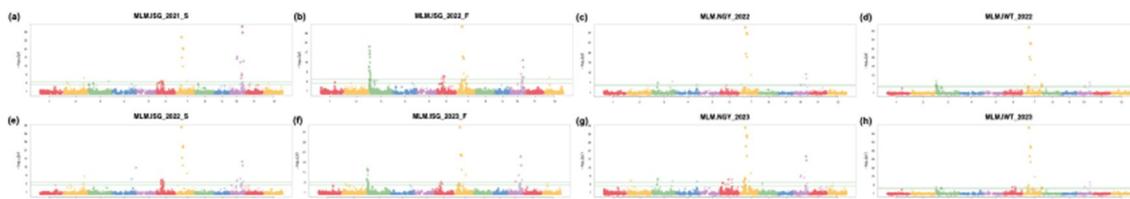


Fig. 2 Manhattan plots for GWAS of days to heading in total of 8 cropping seasons in 3 locations over 2 years. This plot is based on  $-\log_{10}$  (P-value) from GWAS and imputation analysis against chromosome position, each color represents different chromosome. Solid line indicates genome-wide significant threshold  $P = 4.92E-06$ .

Fig. 2 Manhattan plots for GWAS of days to heading in total of 8 cropping seasons in 3 locations over 2 years. This plot is based on  $-\log_{10}$  (P-value) from GWAS and imputation analysis against chromosome position, each color represents different chromosome. Solid line indicates genome-wide significant threshold  $P = 4.92E-06$ .

すべての作期において、染色体 7 の 9Mbp 付近、および染色体 10 の 20Mbp 付近に SNP が検出された。この近傍には、それぞれ *Ghd7* 座および *OsmADS56* 座があり、その対立遺伝子による効果であると考えられた。これらの SNP は、栽培地や作期にかかわらず広い作型で検出されたことから、日長や気温によらず環境変化に対して頑健で出穂期決定に重要な役割を果たすと考えられた。*Ghd7* 座は、長日条件において出穂を遅延させる効果を持つと報告されているが、短日条件の石垣でも出穂期の制御に関わることが示唆され、低緯度地域の品種の出穂期変化にも利用できると考えられた。一方、染色体 3 上腕部末端に座乗する SNP は、他の作型より生育初期において、やや低温で推移する石垣 1 期や岩手の到穂日数において検出された。このことから、この SNP 近傍に座乗する *Ehd4*、*OsmADS50* もしくは *Ef-cd* は、温度に応じて出穂期を制御するメカニズムに関与すると考えられた。

## (2) 検出された QTLs の環境応答性の解析

T65 を基準とした移植後から出穂までの日長と気温の平均値は、Table 3 であった。環境応答性に関する GWAS を実施したところ、それぞれにおいて 28~56 の有意な SNP が検出された。これらの SNP は、染色体 3、5、6、7、10 に座乗し、それぞれの染色体において合計 1~30 の SNP が検出された。これらの SNP は、それぞれ既知の出穂期制御遺伝子 *Ehd4*、*OsmADS50*、*Ef-cd* (以上染色体 3)、*Hd1* (染色体 6)、*Ghd7*、*OsPRR37* (以上染色体 7)、*Ehd1* (以上染色体 10) の遺伝子上、もしくは近傍に座乗しており、これらの遺伝子が原因遺伝子である可能性が示唆された。一方、これまで報告のない領域にも SNP が検出されたことから、これらの近傍には、未知の環境応答性因子が座乗している可能性がある。

Table 3 Mean temperature and day length during growth period from transplanting to heading in T65.

	Ishigaki 1st season	Ishigaki 2nd season	Nagoya	Iwate
Mean Temperature (°C)	22.3	29.4	27.3	21.3
Definition of Temperature	LOW	HIGH	HIGH	LOW
Day length (hr)	12.34	12.21	14.12	14.57
Definition of day length	SHORT	SHORT	LONG	LONG

これらのうち、長日条件による遅延度は、染色体 6、7 に有意な SNP が多く座乗し、特に LongH は、有意な SNP が染色体 6 に集中した。一方、LongL は、染色体 6 と 7 に有意な SNP が座乗し

た。これらの SNP の中には、気温によらず共通して検出されるものがあったことから、これらは、長日条件による出穂遅延に関して気温による影響のない遺伝子座であると考えられた。一方、高温時にのみ、もしくは低温時にのみ検出された SNP もあったことから、気温による長日条件への反応性が変化することが示唆された。

次に、低温による遅延度は、染色体 3 および 7 に有意な SNP が多く座乗した。LowS は、有意な SNP が染色体 3 に集中した。一方、LowL は、有意な SNP が染色体 3 および 7 に座乗した。これらの SNP の中には、日長によらず共通して検出されるものがあったことから、これらは、低温による出穂遅延に関して日長による影響のない遺伝子座であると考えられた。一方、長日条件でのみ、もしくは短日条件でのみ検出された SNP もあったことから、日長条件による気温への反応性が変化することが示唆された。染色体 3 上腕部末端に座乗する SNP は、石垣 1 期や岩手の到穂日数においても同様に検出された (Fig. 2)。このことから、この SNP 近傍に座乗する *Ehd4*、*OsMADS50* もしくは *Ef-cd* は、温度に応じて出穂期を制御するメカニズムに関与すると考えられた。

これらの結果をもとに、到穂日数を元に検出された QTL を説明変数とし、到穂日数を目的変数とした重回帰による線形回帰モデリングを実施したが、すべての地域を精度良く予測できるモデルの構築には至らなかった。今後は、環境因子と環境応答性に関する QTL を数理モデルに加えることによって、栽培地域の環境に応じた出穂期の予測精度が向上すると期待される。以上の結果は、イネ品種を育成する上で重要な出穂期の改変に役立つ知見となり、環境応答性(特に気温に対する応答性)を理解する数理モデルを構築する上で、環境パラメータをどのように取り組むべきか、という問いに対して重要な示唆を与える結果となった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 齊藤大樹, 土井一行, 阿部陽, 小川諭志
2. 発表標題 Dual-NAM集団を用いた出穂期制御に関わる環境応答性遺伝子の同定
3. 学会等名 日本育種学会 第145回講演会
4. 発表年 2024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	土井 一行  (Doi Kazuhiro)  (80315134)	名古屋大学・生命農学研究科・准教授   (13901)	
研究分担者	阿部 陽  (Abe Akira)  (80503606)	公益財団法人岩手生物工学研究センター・ゲノム育種研究部・主席研究員   (81202)	
研究分担者	小川 諭志  (Ogawa Satoshi)  (50792652)	国立研究開発法人国際農林水産業研究センター・生産環境・畜産領域・任期付研究員   (82104)	

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
---------	---------