

令和元年6月14日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K07573

研究課題名(和文) イネの収量形質に関わる耐塩性機構と関連遺伝子座の解析

研究課題名(英文) Analysis of physiological mechanisms and quantitative trait loci for salinity tolerance related to grain productivity in rice

研究代表者

平井 儀彦 (Hirai, Yoshihiko)

岡山大学・環境生命科学研究所・准教授

研究者番号：80263622

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：塩感受性品種コシヒカリにNona Bokra あるいはIR64の染色体断片が置換された遺伝解析集団を用いて長期塩条件下での耐塩性を比較したところ、塩条件において精籾重が高い系統は、いずれも穂揃い期のNa⁺、Cl⁻の含有率が低いことが認められた。塩条件における収量に関わるQTL解析から、第2染色体上の4箇所に塩条件における収量あるいは個体乾物重の維持に関わるQTLが見いだされた。さらに、長期塩条件におけるイネの収量には、Na⁺害ではなくCl⁻害が密接に関係することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究において、塩条件下での収量維持にはCl⁻害が密接に関わることが示唆されたことは、耐塩性に重要な生理的要因を示唆したものであり、学術的意義が高い。また、収量形質に関わる耐塩性QTLが染色体上の複数領域に見いだされた。このことは、耐塩性機構の解析と遺伝子同定に有用な系統の育成につながることから有意義である。さらに、QTL近傍マーカーの情報は、耐塩性育種にそのまま用いることが可能であり、その点においても意義が高いと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Comparison of plant growth and grain yield using progeny populations and lines derived from a cross between Koshihikari and Nona Bokra (or IR64) grown under long-term saline conditions suggests that the salinity tolerance in several lines were related to Na⁺ and Cl⁻ exclusion. Four salt-tolerance QTLs located on chromosome 2 related to grain yield, panicle number, and panicle dry weight were detected by using F2 plants from a cross between Koshihikari and SL506 (or SL2007). Furthermore, it was suggested that plant dry weight and grain yield under long-term salinity conditions was reduced by Cl⁻ toxicity rather than Na⁺ toxicity.

研究分野：作物学

キーワード：耐塩性 イネ 量的形質遺伝子座 収量

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

イネはアジアの低湿地で広く栽培されているが、東南アジアおよび南アジアの沿岸では塩害地が広がっており、米生産の大きな問題となっている。イネの耐塩性には様々な機構が複合して関わり、不明な点が多く残されており、耐塩性品種の育成は進んでいない。塩ストレスは、浸透ストレスとイオンストレスに分けられ、イネの耐塩性程度は Na^+ 吸収と密接に関わるとされ (Munns and Tester 2008)、特に Na^+ 輸送体の研究が進んでいる。しかしこれらは、幼苗期のイネを用いた短期の塩処理による結果であり、塩害地での収量向上に関わる耐塩性機構については十分検討されていない。また近年、染色体断片置換系統 (CSSLs) を利用して、農業上重要な様々な量的形質遺伝子座 (QTL) の同定が行われ、さらに原因遺伝子の単離・同定から育種へと応用されている。イネの耐塩性研究においても QTL 解析による Na^+ 輸送体の同定など、様々な報告があるが、多くは幼植物を用いた短期の影響を調べたものであり、長期の塩処理での収量形質に関わる QTL の報告は少ない。

2. 研究の目的

本研究では、長期塩条件での耐塩性に関わる染色体領域の特定と耐塩性機構を検討するため、以下のことを明らかにする。

- (1) 塩感受性品種コシヒカリの遺伝背景に耐塩性品種 Nona Bokra の染色体断片が置換された系統を用いて収量形質に関わる染色体領域を調査するとともに、耐塩性に関わる要因を検討する。さらに耐塩性系統とコシヒカ리를交配して得られた F_2 集団を用いて QTL を検出する。
- (2) 塩感受性品種コシヒカリの遺伝背景に IR64 の染色体断片が置換された系統を用いて、収量形質に関わる染色体領域を調査するとともに、耐塩性に関わる要因を検討する。さらに耐塩性系統をコシヒカリと交配して得られた F_2 集団を用いて QTL を検出する。耐塩性が低い系統については、その染色体領域についての正逆染色体断片置換系統を用い、コシヒカリ由来の耐塩性を検討する。
- (3) 長期塩条件におけるイネの収量低下に関与するイオンストレスの要因を検討する。

3. 研究の方法

(1) 農業生物資源研究所イネゲノムリソースセンターから分譲されたコシヒカリ/Nona Bokra 染色体断片置換系統 44 系統と親品種のコシヒカリ、Nona Bokra を用いた。水田土壌を入れた 2L ポットに 1 個体ずつ移植し、ビニールハウス内に設置した大型水槽にポットを入れた。NaCl を 2 回に分けて加え (EC 約 7.5dS/m)、湛水栽培した。出穂 45 日後に個体を採取し、乾物重と収量構成要素を調査した。翌年、耐塩性が高かった 6 系統を選抜し、同様の方法で栽培した。塩処理 1 ヶ月後、穂揃い期と出穂 45 日後に各系統を採取し、乾物重、収量構成要素と各器官の Na^+ 、 K^+ および Cl^- 含有率を調査し、耐塩性に関わる要因を検討した。さらに、見いだされた耐塩性系統 SL506 をコシヒカリと交配して得られた F_2 集団を用いて、栄養成長期から収穫期までの長期塩処理を行い、収量と収量構成要素を調査するとともに、各系統の DNA 抽出し、SSR マーカーを用いて遺伝子型を調査し、生育および収量に関わる QTL 解析を行った。

(2) 農業生物資源研究所イネゲノムリソースセンターから分譲されたコシヒカリ/IR64 染色体断片置換系統 42 系統と親品種のコシヒカリ、IR64 を用い、(1)と同様の方法で栽培し、塩処理および調査を行った。翌年、耐塩性が高かった 4 系統を選抜し、同様の方法で栽培した。穂揃い期と出穂 45 日後に各系統を採取し、乾物重、収量構成要素と各器官の Na^+ 、 K^+ および Cl^- 含有率を調査し、耐塩性に関わる要因を検討した。さらに、耐塩性が低い系統については、その染色体領域についての正逆染色体断片置換系統を用い、コシヒカリ由来の耐塩性を検討した。また、見いだされた耐塩性系統 SL2007 をコシヒカリと交配して得られた F_2 集団を用いて、栄養成長期から収穫期までの長期塩処理を行い、収量と収量構成要素を調査するとともに、各系統の DNA 抽出し、SSR マーカーを用いて遺伝子型を調査し、生育および収量に関わる QTL 解析を行った。

(3) 耐塩性の異なるイネ 3 品種 (NSICRc106、日本晴、IR28) を用いた。5L ポットに水田土壌 3L と基肥を入れ、NaCl 区、NaCl 区と土壌溶液のモル濃度が等しくなるよう KCl を加えた KCl 区、対照区の 3 処理区を設けた。6 葉期に達した苗を 1 個体ずつポットへ移植し、塩処理を開始した。茎数、葉齢および草丈を 1 週間毎に測定した。移植 1 ヶ月後、穂揃い期、出穂開始後 45 日目の収穫期に地上部を採取して器官別乾物重を測定し、収穫期の精籾収量と収量構成要素を調べた。各個体茎葉部の Na^+ 、 K^+ および Cl^- 含有量を蛍光光度計で測定した。また、穂揃い期と収穫期の穂に発生した奇形籾の程度を目視により判定した。

4. 研究成果

(1) CSSLs の個体乾物重は対照区で 2 系統、塩処理区で 12 系統、精籾重は対照区で 2 系統、塩処理区で 4 系統がコシヒカリよりも高かった。個体乾物重と精籾重の結果から、耐塩性に関わる染色体領域を持つと推定される 6 系統を選抜した。対照区の個体乾物重は、穂揃い期に SL528 で高かったが、収穫期にはコシヒカリと差が無く、精籾重は SL528 で低かった。一方、塩処理区の個体乾物重は、穂揃い期には SL502、SL506、SL528、SL535 および SL540 で、収穫期には

SL506, SL528 および SL535 でコシヒカリよりも高かった。塩処理区の精籾重は SL506, SL528 および SL535 で高く, SL506 と SL528 では穂数が多いこと, SL535 では登熟歩合が高いことが精籾重の増加に関係していた。個体乾物重, 精籾重および穂数は穂揃い期の個体全体または葉身の Na^+ , Cl^- 含有率と負の相関が認められ (図 1), Na^+ , Cl^- の吸収抑制能が塩条件における乾物生産と収量の維持に重要と考えられた。さらに SL506 とコシヒカリの交配から得られた F_2 集団を用いた QTL 解析の結果, 第 2 染色体の RM1313 と RM13593 近傍に塩条件下での精籾重の維持に関わる QTL が推定された。

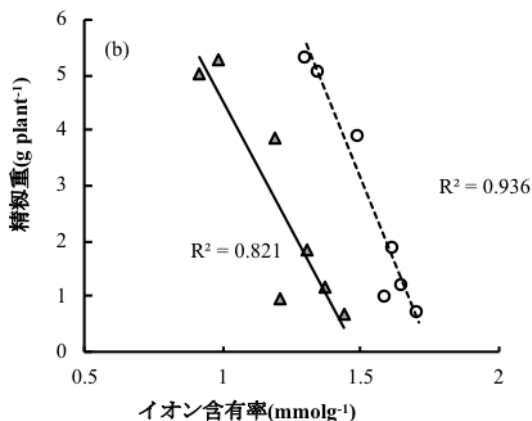


図 1 穂揃い期におけるイオン含有率と精籾重との関係。
○; Cl 含有率, △; Na 含有率

(2) 個体乾物重と精籾重の結果から, 耐塩性に関わる染色体領域を持つと推定される 4 系統を選抜した。成熟期における塩処理区の個体乾物重と精籾重は, SL2007 と SL2038 でコシヒカリよりも高かった。SL2007 では穂数と登熟歩合が高いこと, SL2038 では登熟歩合が高いことが精籾重の増加に関係していた。また, SL2007 と SL2038 では穂揃い期の個体の Na^+ 含有率と Cl^- 含有率が低かった。個体乾物重, 穂数, 精籾重および一株粒数は穂揃い期の個体の Na^+ 含有率および Cl^- 含有率と負の相関が認められ, Na^+ と Cl^- の吸収抑制が両系統の個体乾物重と精籾重向上に関係すると考えられた。コシヒカリ/IR64 染色体断片置換系統からは, コシヒカリ/Nona Bokra 染色体断片置換系統とは異なる領域が置換された 2 系統で, 個体乾物重と精籾重が向上する系統が見いだされたことから, IR64 には Nona Bokra とは異なる耐塩性機構が存在すると考えられ, 注目された。

また, 耐塩性が低い系統については, その染色体領域についての正逆染色体断片置換系統を用い, 耐塩性を調査したところ, IR64 よりも耐塩性を示す 3 つの系統が見いだされた。このことは, 感受性品種コシヒカリにも耐塩性に関わる領域があることを示すと考えられた。

さらに, 耐塩性系統 SL2007 をコシヒカリと交配して得られた F_2 集団を用いた QTL 解析の結果, 第 2 染色体の RM12801 近傍には塩条件下での精籾重の維持に関わる QTL が推定され, RM13713 近傍には塩条件下での穂数の維持に関わる QTL が推定された。

(3) 個体乾物重は移植 1 ヶ月後の NSICRc106 では 3 処理区間で差がなかったが, 日本晴と IR28 では NaCl 区と KCl 区で低かった。穂揃い期と収穫期には 3 品種とも対照区に比べ NaCl 区と KCl 区で低く, 両塩処理区間に差はなかった。個体当たり精籾収量は収穫期の乾物重と同様に両塩処理区で低く, また両塩処理区間に差はなかった (図 2)。精籾収量の低下には, NSICRc106 と日本晴では登熟歩合の低下が, IR28 では一株粒数の低下が大きく影響したが, 何れの品種でも両塩処理区間に差がなかった。茎葉部 Na^+ 含有率は生育期間を通じて NaCl 区で高く, KCl 区と対照区で低かった。一方, 茎葉部 Cl^- 含有率は移植 1 ヶ月後には NSICRc106 では KCl 区で高く, 日本晴と IR28 では NaCl 区と KCl 区で同程度に高かったが, 穂揃い期と収穫期には 3 品種ともに NaCl 区と KCl 区で同程度に高かった。奇形籾の発生程度は IR28 で多く, 日本晴で少なかったが, 何れの品種でも両塩処理区間に差はなかった。以上より, 土壌溶液のモル濃度を揃えた NaCl 処理と KCl 処理を行った場合, 精籾収量の低下や奇形籾の発生程度には品種間差が認められたが, 両塩処理区間の差は認められなかった。このため, 塩条件におけるイネの収量の低下には, Na^+ ストレスではなく Cl^- ストレスが密接に関わると考えられた。

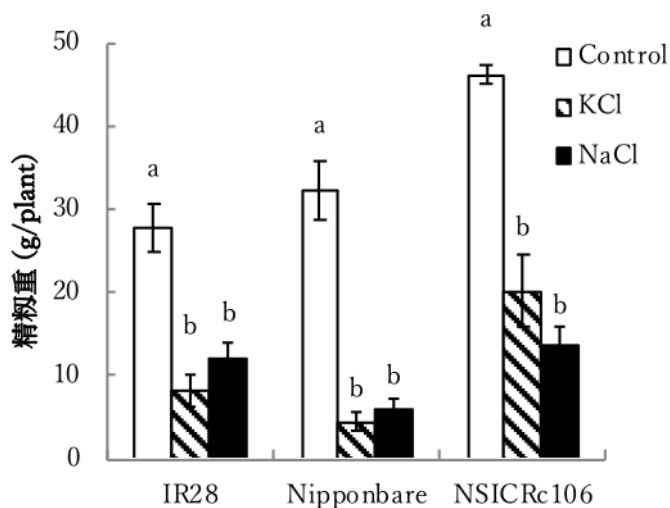


図2 異なる土壤塩分が3品種の精籾重に及ぼす影響。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2件)

Thuy N.T.T., Tokuyasu M., Mai N.S. and Hirai Y., Identification and characterization of chromosome regions associated with salinity tolerance in rice. *Journal of Agricultural Science*, 査読有 10(11),2018, pp.57-68

DOI:10.5539/jas.v10n11p57

Dao H.D. and Hirai Y., Cl^- more detrimental than Na^+ in rice under long-term saline conditions. *Journal of Agricultural Science*. 査読有 10(10),2018, pp.66-75

DOI:10.5539/jas.v10n10p66

〔学会発表〕(計 2件)

Mai N.S., Fukada M., Dao H.D. and Hirai Y., QTL analysis for salt tolerance in rice under long-term salt stress using Koshihikari/IR64 chromosome segment substitution lines and backcross progeny F_2 population. 日本作物学会講演会 2019年3月28-29日 筑波大学

Thuy N.T.T., Tokuyasu M., Tsuda M. and Hirai Y., Identification and characterization of chromosome regions associated with salt tolerance in rice under long-term salt stress using chromosome segment substitution lines derived from Koshihikari and Nona Bokra. 日本作物学会講演会, 2017年3月29-30日 東京大学農学部