

令和 6 年 6 月 25 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20H02969

研究課題名（和文）イネの穂数と稔実歩合に関与する耐塩性遺伝子の作用機構と集積効果の解明

研究課題名（英文）Analysis and pyramiding effects of genes for salt tolerance relating to panicle number and grain filling

研究代表者

平井 儀彦（Hirai, Yoshihiko）

岡山大学・環境生命自然科学学域・教授

研究者番号：80263622

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,800,000円

研究成果の概要（和文）：イネの収量形質に関連する耐塩性機構の解明を目的として、長期塩条件下での収量維持に関わる3つのQTLの領域の絞り込みを行うとともに、候補遺伝子について検討した。さらに、穂数および稔実歩合の維持に関わるQTLの集積効果についても検討した。その結果、第6染色体の穂数の維持に関わるQTL領域には異なる2つの耐塩性QTLの存在が示唆された。さらに穂数および稔実歩合の維持に関わるQTL領域を絞り込むことができた。また、候補遺伝子について検討した結果、約50の耐塩性候補遺伝子が推定された。穂数と稔実歩合の維持に関わる耐塩性QTLの集積は塩条件下での収量性の維持に有効と推察された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでの多くの研究は、幼苗期のイネを用いた短期の塩処理による結果であるが、幼苗期の耐塩性が必ずしも収量向上に結びつかないことが報告されている。本研究は、農業上最も重要な形質である収量に着目し、塩条件下での収量に関わる新規耐塩性QTLの領域の絞り込みを行い、さらに耐塩性候補遺伝子を推定しており、学術的意義がある。また、耐塩性遺伝子の集積が塩条件下での収量性の維持に有効と推察されたことは、耐塩性品種の育成を進める上で極めて有用であり、社会的意義も大きい。

研究成果の概要（英文）：To clarify the mechanism of salt tolerance related to yield traits in rice, we focused on the region of three QTLs associated with grain yield under long-term salt conditions and examined candidate genes. We also studied the pyramiding effects of QTLs related to the panicle number and fertility. As a result, we found evidence of two different salt tolerance QTLs in the QTL region associated with the panicle number on chromosome 6. We were also successful in further narrow down the QTL region associated with the panicle number and fertility. In addition, we identified approximately 50 salt tolerance candidate genes. It was suggested that the pyramiding of salt tolerance QTLs related to the panicle number and fertility is effective in maintaining yield under salt conditions.

研究分野：作物学

キーワード：イネ 耐塩性 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。さらに温暖化は塩害地を拡大すると指摘されており、その対策が今後ますます重要となる。塩害対策としては、1) 土壌からの除塩、2) 栽培法による耐塩性の改善、3) 耐塩性品種の育成が挙げられるが、安価で持続的な栽培を可能とするためには、耐塩性品種の育成が必要である。

イネの耐塩性程度はイオン吸収と密接に関わることが報告されており(Munns and Tester 2008)、イオン害に関する研究が長年進められてきた。特に、Na<sup>+</sup>輸送については、突然変異体の形質解析などを通じて、様々な輸送体の同定と機能解析が進められている。また耐塩性は量的形質座位(QTL)に支配されており、イネの葉苗期の耐塩性については、数多くのQTLが検出されている。その中でも、大きな効果を持つQTLのSaltolは、多くの国で耐塩性品種の開発に利用されている。これら多くの研究は、幼苗期のイネを用いた短期の塩処理による結果であるが、幼苗期の耐塩性が必ずしも収量向上に結びつかないことが報告されている(Singhら2010, Hossainら2015)。一方、収量は農業上最も重要な形質であるにもかかわらず、塩条件下での収量に関わる生理学および遺伝学的研究は少なく、耐塩性品種の育成は進んでいない。

### 2. 研究の目的

申請者はこれまでに、塩に感受性品種のコシヒカリの染色体背景に耐塩性品種のノナボクラの染色体断片が置換された44系統の染色体断片置換系統(CSSLs)、およびコシヒカリに中程度の耐塩性を示すIR64の染色体断片が置換された42系統のCSSLsを入手して、幼苗期から成熟期まで塩処理し、収量と収量構成要素を調査した。その結果、収量維持に関する複数の染色体領域を見いだした(Thuyら2018)。さらに耐塩性の系統とコシヒカリを交配して得られたF<sub>2</sub>集団を長期塩条件下で栽培し、穂数の維持あるいは稔実歩合の維持に関わる量的形質遺伝子座(QTL)を見いだした。そのうち、IR64由来で第2染色体に座乗するQTLとノナボクラ由来で第6染色体に座乗するQTLは比較的耐塩性の高いことが示された。そこで本研究では、長期塩条件下での収量維持に関わる3つのQTLの領域の絞り込みを行うとともに、候補遺伝子について検討した。さらに、穂数および稔実歩合の維持に関わるQTLの集積効果についても検討することを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) マップベースクローニングによるQTL領域の絞り込み

##### 第2染色体

IR64由来で第2染色体に検出された耐塩性QTLの染色体領域を絞り込むため、コシヒカリの遺伝的背景に第2染色体の一部がIR64に置換された系統のSL2007とコシヒカリを交配して得られた準同質遺伝子系統を用いた。育苗後、水田土壌を入れた2Lポット移植し、ビニールハウス内の大型水槽に入れて、長期塩条件下で栽培した。成熟期に、乾物重および収量構成要素を調査した。

##### 第6染色体

ノナボクラ由来で第6染色体に検出された耐塩性QTLの染色体領域を絞り込むため、コシヒカリの遺伝的背景に第6染色体の一部がノナボクラに置換された系統のSL535とコシヒカリを交配して得られた後代系統を用いてQTL解析を行った。栽培法は、上記と同様とした。

#### (2) 耐塩性候補遺伝子の検討

第6染色体における耐塩性QTL領域の4.6Mb~6.5Mbがノナボクラの染色体に置換された準同質遺伝子系統とその領域がコシヒカリ型の系統を用いて水耕栽培を行った。吸水20日後に60mM塩処理を行い、塩処理5日後、10日後、20日後、30日後に植物体を採取し、乾燥後、器官別に乾物重およびNa<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>、Cl<sup>-</sup>含有率の測定を行った。また、RNA-seqにより、候補遺伝子の検討を行った。

#### (3) 稔実歩合の維持に関わる要因の解析

IR64由来由来の準同質遺伝子系統を塩条件下で栽培し、開花期に花粉充実率、花粉発芽率を調査した。

#### (4) 遺伝子集積による耐塩性の強化の検証

穂数や稔実歩合の維持に関わる領域を有する準同質遺伝子系統を用いて、遺伝子集積による耐塩性の強化について検討した。

### 4. 研究成果

#### (1) マップベースクローニングによるQTL領域の絞り込み

##### 第2染色体

収量および収量構成要素に関する耐塩性QTLが複数箇所に検出された。その後さらにQTL領域の絞り込みを行った結果、穂数と個体重の維持に関わる耐塩性QTLが27.0~28.4Mbに、精初重

と稔実歩合の維持に関わる耐塩性 QTL が 29.7~30.4Mb と推定された。

#### 第 6 染色体

個体重の維持に関わる耐塩性 QTL が 4.6~6.5Mb の範囲に推定され、その領域には 2 つの高い LOD 値が検出された。このことから、この領域には異なる 2 つの耐塩性 QTL の存在が示唆された。

#### (2) 耐塩性候補遺伝子の検討

水耕栽培において、2 系統の個体重は、対照区では差がなかったが、塩処理区では、ノナボクラ型の系統はコシヒカリ型に比べて高く、枯死部割合は低く推移した。塩処理区の両系統間で各器官の Na<sup>+</sup>および Cl<sup>-</sup>含有率に差はなかった。また、2 系統間で QTL 領域における発現量が異なる遺伝子は、各部位および採取時間で大きく異なり、約 50 の耐塩性候補遺伝子が推定された。耐塩性候補遺伝子の絞り込みには、さらなる QTL 領域の絞り込みが必要と考えられた。

#### (3) 稔実歩合の維持に関わる要因の解析

充実花粉の割合と花粉発芽率は塩条件でいずれも低下し、充実花粉の割合は耐性系統と感受性系統に差はなかったが、花粉発芽率は耐性系統で高かった。しかし、稔実歩合の維持に関わる QTL 領域には、出穂関連遺伝子が座乗しており、耐性系統では出穂が約 3 日遅かった。このため、稔実歩合と花粉発芽率の差には、出穂期の気象条件が影響した可能性があり、稔実歩合の維持に関わる耐塩性遺伝子の推定には出穂関連遺伝子の影響を除く必要があると考えられた。

#### (4) 遺伝子集積による耐塩性の強化の検証

稔実歩合の維持に関わる耐塩性 QTL 領域には出穂関連遺伝子が座乗しており、出穂期が遅延することから、約 2 千系統を用いて分離系統の選抜をしたが、適切なマーカーの作出の問題もあり、分離系統が得られなかった。このため、遺伝子集積効果の明確な結果は得られなかった。しかし、SL2007 が穂数と個体重の維持に関わる耐塩性 QTL と精籾重と稔実歩合の維持に関わる耐塩性 QTL を含むことで、精籾重が高いことから、耐塩性遺伝子の集積は塩条件下での収量性の向上に有効と推察された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Nguyen Sao Mai, Dao Duy Hanh, Mai Nakashima, Kotaro Kumamoto, Nguyen Thi Thu Thuy, Tohru Kobata, Kuniyuki Saitoh and Yoshihiko Hirai	4. 巻 11
2. 論文標題 Identification and Validation of QTLs for Yield and Yield Components under Long-Term Salt Stress Using IR64 CSSLs in the Genetic Background of Koshihikari and Their Backcross Progenies	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Agriculture	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） 10.3390/agriculture11080777	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 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Yoshihiko Hirai, Hanh Duy Dao, Mao Kuroda and Kazushi Hirai
2. 発表標題 CI- More Detrimental Than Na+ in Salt-stressed Rice
3. 学会等名 10th Asian Crop Science Association Conference（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 平井儀彦
2. 発表標題 イネのCI-蓄積と耐塩性との関係
3. 学会等名 第253回日本作物学会講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 平井儀彦, 前岡洸希, 井本竜太, Ahamed M.M. Emam, 富田朝美, 齊藤邦行
2. 発表標題 イネ品種Nona Bokraの第6染色体に座乗する耐塩性QTL の解析
3. 学会等名 日本作物学会第256回講演会
4. 発表年 2023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	富田 朝美  (Tomita Asami)  (00846529)	岡山大学・環境生命自然科学学域・助教   (15301)	
研究 分担者	村田 芳行  (Murata Yoshiyuki)  (70263621)	岡山大学・環境生命自然科学学域・教授   (15301)	

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