

令和 6 年 6 月 25 日現在

機関番号：24201

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K05529

研究課題名（和文）低肥料で持続可能なイネ生産に役立つ遺伝子探索と、深層学習による新形質分類法の確立

研究課題名（英文）Gene survey for sustainable rice production with low-fertilizer and establishment of a new phenotyping system applying deep learning.

研究代表者

清水 顕史（Shimizu, Akifumi）

滋賀県立大学・環境科学部・准教授

研究者番号：40409082

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）：標準イネ品種の日本晴と栄養ストレス耐性品種KHAO NOKとの組換え自殖後代188系統を作製し、GRAS-Di法でゲノム全域に渡る高密度な遺伝子型情報を入手した。これら系統を低栄養および無栄養で水耕栽培し、乾燥重のQTL解析を行った。KHAO NOKは低栄養で日本晴よりも2倍前後も乾物重が大きい。この品種間差は複数のQTLsの集積で説明できることがわかった。現在、検出されたQTLsの単離に向け、ICP-MSによる多元素分析を進めている。

深層学習を利用した形質分類の準備では、穂形質が分離する交雑後代集団を用いて、分離マーカー遺伝子型を教師ラベルとする畳み込みニューラルネットワークを進めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

低栄養処理区特異的に検出されたQTLsは、40倍希釈した水耕液という低濃度の養分を効率的に利用してバイオマスを増加する機能を持ちうる。これらの利用は、投入肥料を削減することで持続的な農業の実現に役立つといえる。GRAS-Di法で得た日本晴×KHAO NOKの組換え自殖後代のゲノム全域に渡る高密度遺伝子型情報は、上記の低栄養特異的QTLsの検出に有効なだけでなく、親品種間に観られている様々な栄養ストレス耐性遺伝子座の検出にも利用できる。また、得られた高密度遺伝子型情報を深層学習時の教師ラベルとして活用することで、単純な分類が不可能だったメンデル遺伝する新しい表現型値の探索法の確立に有効である。

研究成果の概要（英文）：We produced 188 recombinant inbred lines of the standard rice cultivar Nipponbare and the nutrient stress-tolerant cultivar KHAO NOK, and we obtained high-density genotype information across the entire genome using the GRAS-Di method. These lines were grown hydroponically under low and no nutrition conditions, and QTL analysis was conducted on dry weight. It was found that the accumulation of multiple QTLs could explain the difference between the varieties. Currently, multi-element analysis using ICP-MS is being conducted to isolate the detected QTLs.

In preparation for trait classification using deep learning, we used a population of hybrid offspring with separated ear traits and we advanced a convolutional neural network with the separated marker genotype as the teacher label.

研究分野：遺伝育種科学

キーワード：遺伝育種学 栄養ストレス耐性

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

申請者は、世界および日本在来のイネ・コアコレクションの栄養ストレス耐性を評価し、40倍希釈した水耕液での成育量が標準的なイネ品種の2倍以上大きくなる KHAO NOK という低肥料耐性遺伝資源を見出していた。以前の科研費基盤 C「低肥料環境の収量性限界突破に寄与するイネ遺伝子座および座間相互作用の解析」(18K05577)で見つかった連続無施肥水田でも安定して発現する多穂性や一穂粒重の増加という収量関連形質を集積するには、KHAO NOK のような低肥料条件でもバイオマス生産が高い耐性遺伝資源を利用する必要がある。既に日本晴×KHAO NOK の交雑後代 190 系統の自殖を進めており、固定を進め F₈ 集団世代で網羅的な遺伝子型を調べ、低肥料耐性の遺伝領域を明らかにする。

2. 研究の目的

本研究の目的は、熱帯ジャポニカ品種「KHAO NOK」で見つかった低肥料耐性遺伝子座を同定することである。KHAO NOK は無肥料耐性だけでなく低濃度の養分利用効率も優れた貴重な遺伝資源であることが予備実験で示唆されており、日本晴×KHAO NOK の交雑後代の自殖を進めて完成させる組換え自殖後代を用いた QTL 解析により、KHAO NOK の持つ低肥料耐性遺伝子座領域の解明が本研究の一番の目的である。

また、QTL 解析のために準備する高密度な DNA マーカー遺伝子型情報を利用して、デジタル画像の深層学習による特徴抽出も試みる。

3. 研究の方法

日本晴×KHAO NOK の交雑後代は 2020 年秋に F_{4:5} の自殖種子(約 190 系統)を収穫できるため、初年度の夏は F₅ 世代を圃場で栽培する。自殖を進め最終的に F₈ 世代 188 系統から抽出した DNA を供試して GRAS-Di 法により、ゲノム全域に渡る高密度遺伝子型情報を調査する。この日本晴×KHAO NOK の F₈ 世代を組換え自殖後代(NK-RILs)とし、1/40 倍の吉田の水耕液(低栄養)および蒸留水(無栄養)で栽培した苗(5週齢)の草丈、最大根長、地上部乾物重および地下部乾物重を計測してこれら表現型値ごとに QTL 解析を行い、KHAO NOK の低肥料耐性に関する遺伝子座領域を解明する。

高密度遺伝子型情報を利用した深層学習では、NK-RILs の分離する様々な表現型形質への実施に先立って、イネの染色体 6 長腕のみが *Oryza rufipogon* に置換した染色体導入系統と背景親との交雑後代 IL-Fn を用い、まずは形質が分離している可能性が高い穂形質について、穂のデジタル画像と遺伝子型分離情報による深層学習を試みた。

4. 研究成果

日本晴×KHAO NOK の組換え自殖後代(以下、NK-RILs)188 系統について、GRAS-Di 法による網羅的遺伝子型多型調査を行った。8500 以上の GRAS-Di マーカーがマップでき、95%のマーカー区間距離は 200kb 以下の高密度な遺伝子型情報が入手できた。最も大きなマーカー区間でも 2Mbp 以下(遺伝距離で 20cM 前後)であり、ゲノム全域に渡って QTL スキャンが可能な遺伝子型情報であることがわかった。この NK-RILs を用いて低栄養(1/40 倍の吉田の水耕液)および無栄養(蒸留水)で水耕栽培し、草丈や根長、乾燥重(地上部と地下部)を計測し、上述の網羅的遺伝子型情報を用いた QTL 解析を行った。どの形質についても、低栄養と無栄養で共通し

て検出される QTLs の他に低栄養特異的および無栄養特異的な QTLs が検出された。この結果は、2022 年度に親品種間の無栄養～低栄養水耕栽培で確認された KHA0 NOK の栄養ストレス強度応答的な乾物重の変化を説明できる結果であった。KHA0 NOK は低栄養で日本晴よりも 2 倍前後も乾物重が大きい、この大きな品種間差は主要な単一 QTL で説明できるのではなく、同程度の効果を持つ複数の QTLs の集積による結果になった。現在、検出された QTLs の単離に向けて、栄養ストレス水耕栽培の反復実験と ICP-MS による多元素分析を進めている。

深層学習を利用した形質分類の準備では、染色体置換領域のみ穂形質が分離する IL-Fn 交雑集団を用いた畳み込みニューラルネットワークを進めており、その内容を発展させる研究が令和 6 年度からの基盤 C 研究(24K08851)に採択された。

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 松田真輝, 清水顕史
2. 発表標題 ナノポアMinION MK1Cを用いたイネのde novo トランスクリプトーム解析例
3. 学会等名 近畿作物・育種研究会
4. 発表年 2022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
---------------------------	-----------------------	----

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