

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 15 日現在

機関番号：24201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26450009

研究課題名(和文) 貧栄養ストレス耐性イネ品種開発のためのゲノム解析

研究課題名(英文) Genome wide analysis for breeding of tolerant rice cultivars to unfertilized paddy field.

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) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：低投入持続型農業に適した耐性品種の育種に向けて、ゲノム全域に渡る3000以上のDNAマーカー情報が利用可能な日本のイネ集団112品種を用いたゲノムワイド関連解析(GWAS)を行った。18年以上連続で無肥料無農薬で使用してきた水田でイネ集団を栽培し、バイオマスや収量に係る形質を調査した。GWASにより、2014～16年の3年間で共通して有意差の観られたゲノム領域を特定することができた。大きな品種間差のみられた穂数については、組換え固定後代によるQTL解析も行った(2015～16年)。その結果、作染色体7に2年共通でLODスコア4以上で寄与率20%のQTLを検出することができた。

研究成果の概要(英文)：To breed tolerant cultivars adapted to low-input sustainable agriculture, we conducted genome wide association study (GWAS) using 112 Japanese rice cultivars which have been genotyped using more than three thousands of genome wide DNA markers. Rice cultivars were cultivated at 18- years-unfertilized paddy field once a year from 2014 to 2016 and biomass-related and yield-related traits were investigated. Results of GWAS showed consistently significant genome regions at several traits. Since panicle number showed very significant varietal differences, QTL analyses were conducted using recombinant inbred lines (from 2015 to 2016). A major QTL on chromosome 7 having LOD scores >4 and ~20 percent of phenotypic variance was detected at both of 2015 and 2016.

研究分野：育種学

キーワード：栄養ストレス耐性 遺伝解析

1. 研究開始当初の背景

イネは世界人口の半数以上を支える最重要穀物であり、その収量増産は将来的な食糧問題解決に必須の課題である。作物の更なる収量性改善に向けてこれまでは、生産条件の良い環境における収量増加が重要視されてきた。一方で、地球規模で食糧需給を満たすには、広大な面積を持つ不良環境に対するストレス耐性育種もまた重要である。特に貧栄養ストレス耐性は、投入肥料削減および製造に伴う CO₂ や NO_x 排出の削減を可能にする非常に重要な形質といえる。

近年の塩基配列解読技術および多検体ジェノタイピング技術の進展により、多数のイネ品種について、ゲノムワイドな塩基配列とその多型情報が得られるようになった。これらの情報を効率的に利用した遺伝解析手法にゲノムワイド・アソシエーション解析 (GWAS) がある。GWAS は、QTL 解析とは異なり交雑集団を準備する必要がなく品種群の形質間差に關与する遺伝領域を探索することができ、複数の対立遺伝子を同時に評価できる。ゲノム情報が利用できるイネでは、農業上の重要形質について GWAS の報告がなされつつある。

2. 研究の目的

本研究の目的は、低投入型イネ品種育成に役立つ有用形質について、日本イネ集団における多様性を調べ、ゲノム領域の特定を行うことである。そのために、学内にある連続無施肥水田で日本イネ集団を栽培し、収量関連形質に関する GWAS を行うことにした。

3. 研究の方法

ゲノムワイドな 3,232 個の SNP および SSR マーカー遺伝子型情報が既に調査済みであり、その集団構造も解析済みの日本の栽培イネ 112 品種を供試した。イネ集団は各品種 8 個体以上をバットで 3 週間育苗したものを、18 年以上連続で無肥料栽培している水田に移植し、到穂日数、穂数、稈長、穂長、一穂粒数、粒重などを調査した。得られた形質データと遺伝子型情報は、Tassel ver4.2 を用いた混合モデルによる GWAS を行った。形質調査は 3 カ年行い、形質値および GWAS で検出された有意なマーカーについて、年次間比較を行った。

3 カ年共通で有意なマーカーが検出された調査形質のうち、品種間差の明瞭な穂数については、組換え固定後代 (RILs) を用いた QTL 解析も行った。

4. 研究成果

連続無施肥圃場で栽培した日本イネ集団の各形質について、年次間相関係数は殆どのものに有意差がみられ、3 カ年の結果の再現性は高いといえた (表 1)。特に到穂日数と稈長の 2 形質は、年次相関が一貫して高くな

り、次に一穂粒数や百粒重および穂長も係数の大きさにバラツキはあるものの全ての相関係数に有意差がみられた。穂数は 2014 年と 2015 年の年次相関係数は有意差がみられなかったが、その他の年次間は 0.1% 水準で有意差がみられた。

表1 主な調査形質についての年次相関係数

	2014vs2015	2015vs2016	2014vs2016
到穂日数	0.991 ***	0.984 ***	0.982 ***
穂数	0.118	0.330 ***	0.488 ***
稈長	0.831 ***	0.942 ***	0.829 ***
穂長	0.305 ***	0.646 ***	0.252 **
百粒重	0.701 ***	0.808 ***	0.500 ***
一穂粒数	0.582 ***	0.826 ***	0.590 ***

*, **, ***はそれぞれ5%, 1%, 0.1%水準での有意差を表す

GWAS においても、3 カ年で共通して有意差が検出されるゲノム領域が検出された。以下では 2015 年度の GWAS の結果を抜粋して、到穂日数、稈長、一穂粒数、百粒重、穂数の各形質における解析結果を報告する。

[到穂日数における GWAS の結果]

年次相関係数が最も高かった到穂日数について、GWAS の結果をマンハッタンプロットで観てみると (図 1)、染色体 6 の Hd1 という既知の出穂関連遺伝子の近傍マーカー Hd1_G2760 および Hd1_Haplotype は FDR0.2 の基準よりも低い有意確率を示した。この傾向は 2014、2016 年の GWAS の結果でも共通して観察できた。また、染色体 7 の既知の出穂関連遺伝子 Lhd4 (Ghd7) および DTH7 の近傍マーカー、Lhd4_Haplotype および NE004343 は、2015 年度は FDR0.2 の基準には及ばないもののやや低い有意確率を示した。

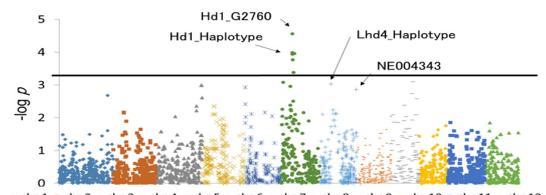


図1 到穂日数に関するマンハッタンプロット図。横軸はイネ染色体1~12別マーカーの物理地図位置を示し、縦軸は混合モデルで検出した有意確率 p を表す。矢印で示したマーカーはその近傍に既知の出穂関連遺伝子が単離されている。

[稈長における GWAS の結果]

到穂日数の次に年次相関係数が高かった稈長の場合の GWAS の結果は、図 2 のようになった。染色体 6 と染色体 7 長腕および染色体 10 短腕で有意なマーカーが検出された。染色体 6 の領域は 2014 年度や 2016 年度でも共通して有意差が検出された。

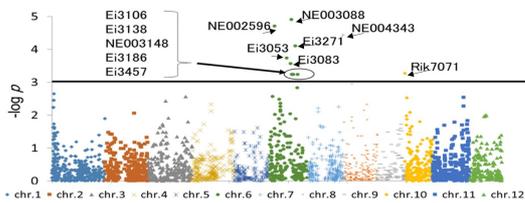


図2 稈長に関するマンハッタンプロット図。横軸はイネ染色体1~12別マーカーの物理地図位置を示し、縦軸は混合モデルで検出した有意確率 p を表す。矢印は、FDR(0.2)の基準で有意とみなしたDNAマーカー名である。

[一穂粒数における GWAS の結果]

到穂日数や稈長ほどは年次相関係数は高くなかったが、3 カ年間で一貫して有意な年次層間係数を示した一穂粒数では、染色体6に共通の有意なゲノム領域が検出された(図3)。これらの領域には一穂あたりの小穂数に関するとされる QTL が報告されている。今回検出された領域と既知の QTL や *Hd1* との関係性を明らかにするため、組換え固定後代を用いた解析を2017年度に行っている。

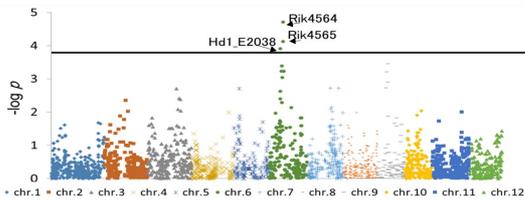


図3 一穂粒数に関するマンハッタンプロット図。横軸はイネ染色体1~12別マーカーの物理地図位置を示し、縦軸は混合モデルで検出した有意確率 p を表す。矢印は、FDR(0.2)の基準で有意とみなしたDNAマーカー名である。

[百粒重における GWAS の結果]

年次相関係数の程度が、一穂粒数と同じぐらいであった百粒重については FDR0.2 の基準では有意なマーカーは検出できなかった(図4)。

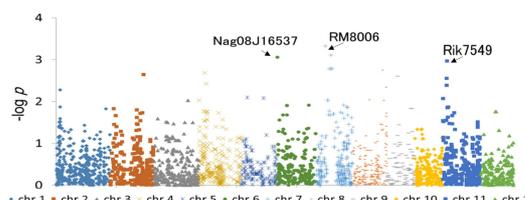


図4 百粒重に関するマンハッタンプロット図。横軸はイネ染色体1~12別マーカーの物理地図位置を示し、縦軸は混合モデルで検出した有意確率 p を表す。矢印は、FDR(0.2)の基準では有意ではないが、他よりも p 値が低い(-log p が高い) DNAマーカー名である。

[穂数における GWAS の結果]

穂数は、年次相関係数は高くなかったが、GWAS では、染色体2、6および7に複数年有意なマーカーが検出された(図5)。

GWAS で検出された有意なゲノム領域は、品種間を交雑した分離集団の QTL 解析によって検証することが可能である。穂数は、供試したイネ集団内で、大きな品種間差がみられた

ため、QTL による検証は穂数を対象とすることにした。

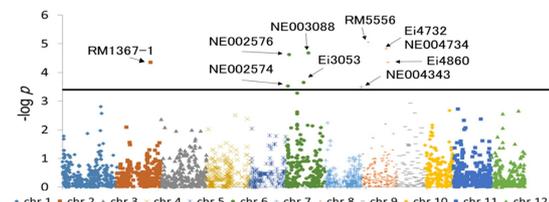


図5 穂数に関するマンハッタンプロット図。横軸はイネ染色体1~12別マーカーの物理地図位置を示し、縦軸は混合モデルで検出した有意確率 p を表す。矢印は、FDR(0.2)の基準で有意とみなしたDNAマーカー名である。

[穂数の QTL 解析]

3 カ年ともにイネ集団中で最多の穂数を示したユークラと、穂数の少ないコシヒカリとの組換え固定後代(RILs)を、2015年および2016年に連続無施肥圃場で栽培し、穂数の QTL 解析を行ったところ、2 カ年で共通して LOD スコア4以上寄与率20%で有意な染色体7のゲノム領域が検出できた。

組換え固定後代の中には、到穂日数と一穂粒数がコシヒカリ並みであるにも関わらず穂数が多い系統が複数みられ、これらは低肥料(低投入)農業でも収量の減少を抑えた育種に利用できる可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)
2 件準備中

〔学会発表〕(計 2 件)
清水顕史「連続無施肥水田を利用した、イネ収量形質の全ゲノム関連解析」日本土壌肥料学会、2016年9月22日、佐賀大学(佐賀県・佐賀市)
藤田楓加、橋本康史、山崎将紀、清水顕史「無肥料水田で栽培したイネ穂数の遺伝解析」日本育種学会、2017年3月29日、名古屋大学(愛知県・名古屋市)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：

発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 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

(2) 研究分担者

山崎 将紀 (YAMASAKI Masanori)
神戸大学・農学研究科・准教授
研究者番号：00432550