

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 14 日現在

機関番号：12605

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2016

課題番号：26660013

研究課題名(和文) 遺伝子座の集積によりトウモロコシに匹敵する高い光合成能力をもつイネを作出する

研究課題名(英文) Developing a rice line with high leaf photosynthetic capacity equivalent to that of corn by pyramiding loci for enhancing photosynthetic rate

研究代表者

平沢 正 (HIRASAWA, Tadashi)

東京農工大学・(連合)農学研究科(研究院)・名誉教授

研究者番号：30015119

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：インド型多収水稻品種タカナリとコシヒカリの交雑自殖後代にC4植物のトウモロコシに匹敵する高い光合成速度を示す系統(HP-a)があり、コシヒカリ対立遺伝子がタカナリ遺伝背景のイネの光合成速度を高める量的形質遺伝子座(QTL)が、第1染色体短腕側と長腕側、第3染色体長腕側、第7染色体短腕側と長腕側に計5つ見出されている。本研究の結果、HP-aのもつ4つのQTLをすべてタカナリに集積すると、光合成速度はHP-aの光合成速度とほぼ等しくなること、そして、5つのQTLをいろいろに組み合わせて集積して集積効果を解析したところ、5つのQTLすべてがプラスの効果をもって積み重なることが分かった。

研究成果の概要(英文)：The high-yielding indica cultivar Takanari has one of the highest values of leaf photosynthetic rate (Pn) in rice. Five quantitative trait loci (QTLs) at which 'Koshihikari' alleles enhance Pn of rice in the Takanari genetic background were estimated on the short and long arms of chromosome 1, on the long arm of chromosome 3 and on the short and long arms of chromosome 7 and a line (HP-a) with 20 to 30% higher Pn value than that of Takanari was identified among backcrossed inbred lines derived from a cross between Takanari and Koshihikari. Four QTLs, which HP-a carries, were pyramided into a rice line via crosses among near isogenic lines carrying one QTL and it was demonstrated that the pyramided line showed high Pn value equivalent to that of HP-a. We then developed 20 rice lines carrying 2 to 5 QTLs in the genetic background of Takanari and compared Pn among lines. From a model analysis it was shown that each QTL increased Pn additively.

研究分野：作物学

キーワード：イネ ゲノム 光合成 量的形質遺伝子座

1. 研究開始当初の背景

(1) アジアでは急増する人口増加に見合った食料を供給するために、そしてわが国では水田の維持と食料自給率向上のために、イネの収量を飛躍的に高めることが求められている。個体群受光態勢や収穫指数の飛躍的改善は望めないとされている現在、これまでほとんど意識的に改良されてこなかった個葉光合成速度の向上が、収量増加への残された方策の一つとされている。

(2) C_4 植物は、 C_3 植物に比較して個葉光合成速度が高いことによって乾物生産能力が高くなることから、 C_4 光合成の鍵となる遺伝子を C_3 植物であるイネに導入してイネの光合成速度の飛躍的向上を図る研究が行われているが、まだ実現の見通しは立っていない。イネの個葉光合成速度の品種間差は現代の日本型品種内ではほとんどないが、多収性インド型品種は日本型品種に比較して 20 ~ 30% 程度高い。研究代表者らは多収のインド型水稻品種タカナリと日本型品種コシヒカリとの交雑自殖後代約 200 系統の中から、個葉光合成速度がタカナリの約 1.2 倍と高く、 C_4 植物のトウモロコシに匹敵する高い光合成速度を示す系統 (HP-a、HP-b) を見出し、タカナリを上回る高い光合成速度をもつイネの育成の可能性を示した (Adachi et al. 2013)。さらに、両品種の戻し交雑自殖系統群と染色断置換系統群を用いた量的形質遺伝子座解析から、コシヒカリの対立遺伝子がタカナリを遺伝背景とするイネの葉の光合成速度を高める遺伝子座を第 1 染色体の短腕側 ($qHP1a$) と長腕側 ($qHP1b$) にそれぞれ 1 か所ずつ、第 3 染色体長腕側に 1 か所 ($qHP3$)、第 7 染色体の短腕側 ($qHP7a$) と長腕側 ($qHP7b$) にそれぞれ 1 か所ずつの計 5 ヶ所見出してきた (図 1; 内田ら、2010; 山下ら、2012)。

2. 研究の目的

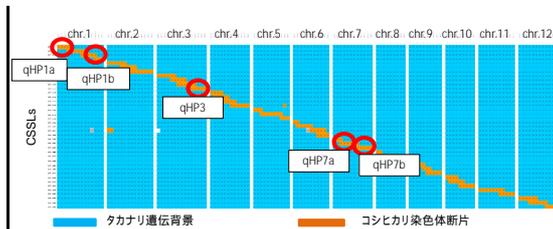


図 1 .コシヒカリ対立遺伝子がタカナリ遺伝背景イネの光合成速度を高める遺伝子座

(1) 光合成速度の高い系統 (HP-a あるいは HP-b) のもつ光合成速度を高めるコシヒカリ対立遺伝子を量的形質遺伝子座 (QTL) 解析によって明らかにし、そしてこれらを集積して C_4 植物のトウモロコシに匹敵する高い光合成能力をもつ準同質遺伝子系統イネを作出できるか否かを検討する。

(2) タカナリを遺伝背景とするイネに、光合成速度を高めるコシヒカリ対立遺伝子を種々の程度集積した系統を育成し、光合成速度に及ぼす遺伝子の集積効果を解析し、各遺伝子座の光合成速度向上に対する寄与を検討する。

(3) 光合成速度を高める遺伝子座を集積した準同質遺伝子系統イネの乾物と子実生産に及ぼす効果を検討する。

3. 研究の方法

(1) 測定材料の栽培

第 4 葉展開期の苗を本学農学部附属フィールドサイエンス教育研究センター水田に 22.2 株 m^{-2} ($30 \text{ cm} \times 15 \text{ cm}$), 1 株 1 本の栽植密度で移植した。水田には前作水稻を全量すきこみ、化学肥料を基肥として、N、 P_2O_5 、 K_2O を各成分で 3, 6, 6 kg/10a 施用した。N は 1/3 を硫安、うち 2/3 は緩効性肥料とし、LP50 と LPS100 を 1:1 で施用した。QTL 解析は 2 反復、QTL の集積効果の検討は 4 反復で行った。

(2) 光合成速度と気孔伝導度の測定

携帯用光合成蒸散測定装置 (LI-6400 ;

LI-COR社製)を用いて、穂揃い期に主茎の止葉の光合成速度と気孔伝導度を測定した。測定前に葉緑素計 (SPAD-502、コニカミノルタ社)にて緑色程度 (SPAD値)を測定し、平均的なSPAD値を示す葉を測定に選んだ。測定条件は気温30、光強度2000 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 、同化箱内のCO₂濃度370あるいは400 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ 、飽差約1.5 kPaとした。

(3) QTL解析

HP-a/タカナリの交雑自殖後代 (F₇) 120系統について光合成速度を測定し、43個のSSRマーカーを用いて多型解析を行い、QTL Cartographer ver 2.5によってQTL解析を行った。LOD値の閾値は1000回のpermutation test (P<0.05)で決定した。

(4) 地上部乾物重の測定

収穫期に各反復区について20株の穂数を連続測定し、茎数の平均的な8株を選んで採取した。水洗して土を洗い流し、根を切除した後、ビニルハウス内で風乾した。風乾後、80で3日間通風乾燥させて乾燥重を測定した。

(5) 子実収量の測定

収穫期に各反復約0.54 m²を2カ所地際で刈り取り、部分刈り収量の測定に供した。ビニルハウス内で風乾した後、脱穀・籾摺りを行い、1.8 mmの篩で選別した玄米を精玄米とし、水分率14.5%での精玄米重を求めた。

4. 研究成果

(1) 高光合成系統 HP-a の光合成速度を高める QTL とその集積効果

図2 に示すように、HP-aは光合成速度を高めるコシヒカリ対立遺伝子、*qHP1b*、*qHP3*、*qHP7a*、*qHP7b*を持つ。QTL解析の結果、第3染色体長腕のRM7389近傍と第7染色体短腕のRM5499近傍、第7染色体長腕のRM1365近傍に光合成速度に関わるQTLが3つ検出され (図

3)、これらはそれぞれすでに明らかになっている*qHP3*、*qHP7a*、*qHP7b*に対応していた。しかし、*qHP1b*に対応する第1染色体長腕側にはQTLは検出されなかった。検出されたQTLのLOD値、相加効果、寄与率は、RM7389近傍のQTLでは、それぞれ2.81、0.402 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 、6.0%、RM5499近傍のQTLでは、それぞれ4.73、0.539 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 、10.1%、RM1365近傍のQTLでは、それぞれ10.6、0.854 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 、26.0%であった。

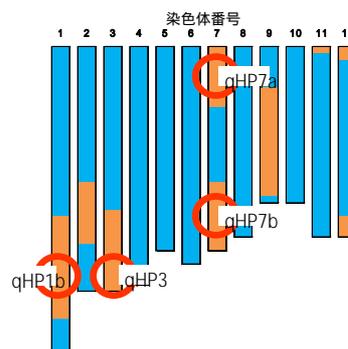


図2. HP-a のグラフ遺伝子型と光合成速度を高めるコシヒカリ対立遺伝子のある領域。青はタカナリ遺伝背景、赤はコシヒカリ染色体断片を示す。

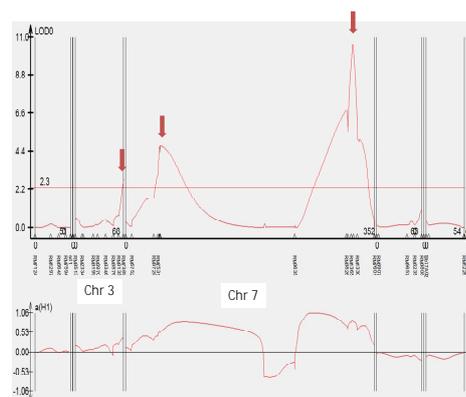


図3. 光合成速度の LOD 値の分布

TL解析によって見いだされた3つのQTLを集積したNILの光合成速度は、HP-aの光合成速度には及ばなかった。そこで、3つのQTLを集積しているNILに*qHP1b*を加え、4つのQTLをもつNILを作成したところ、この光合成速度はHP-aと違いは認められなくなった (図4)。

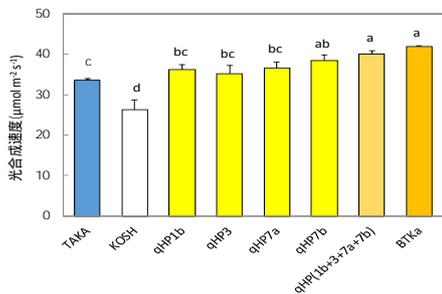


図 4. HP-a のもつコシヒカリ対立遺伝子を 4 つ集積した NIL の光合成速度 TAKA、KOSHI はそれぞれタカナリ、コシヒカリを示し、qHP で示される記号はコシヒカリ対立遺伝子をもつ NIL を示す。

(2) 光合成速度を高めるコシヒカリ対立遺伝子の集積効果と寄与度の検討

光合成速度の比較 QTLを持つすべての系統がタカナリよりも高い光合成速度を示した(図5)。集積したQTLの数ごとにまとめた系統の光合成速度の平均値を比較すると、単独QTL系統<2つのQTL集積系統<3つのQTL集積の順で光合成速度が増加した。供試した4つのQTLを集積した2系統と5つのQTLを集積した系統はいずれの3つのQTL集積系統よりも光合成速度は高く、値は高光合成系統のBTK-a、BTK-bに匹敵していたことから、これらの光合成速度を高めるQTLは集積することによって光合成速度をさらに高めることが推測された。そこで、単独系統と2つのQTL集積系統の光合成速度の実測値から相加効果・相互作用を含めた予測モデルを作成して3~5つのQTL集積系統の光合成速度を予測したところ、予測値と実測値との間に高い回帰係数($y=0.94x+2.72$, $R^2=0.81$) が得られ、集積効果を確認できた。重回帰分析(ステップワイズ法)により各QTLの光合成速度に対する作用を検討すると、5つのQTLすべてがプラスの効果をもつことが確認され、とくに、*qHP1a*と*qHP7b*は効果の大きいQTLであることが示された。また、QTL間のプラスの相互作用は検出されなかった。

光合成速度と光合成関連形質の関係 タカナリと1~5つのQTLを集積した系統の結果を用いて、光合成速度と光合成関連形質との相関を調べたところ、光合成速度とSPAD値、葉身窒素含量の相関係数はそれぞれ、0.55、0.34で有意な正の相関が認められたが、光合成速度と気孔伝導度との相関係数は0.11で有意でなかった。光合成速度を目的変数、気孔伝導度とSPAD値を説明変数として重回帰分析を行ったところ、寄与率は0.31%であった。

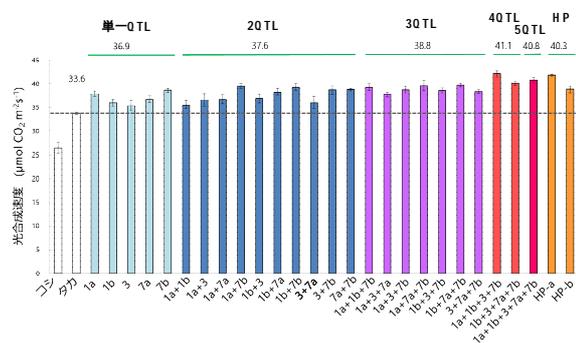


図 5. 光合成速度を高めるコシヒカリ対立遺伝子を集積したタカナリ遺伝背景イネの光合成速度 TAKA、KOSHI はそれぞれタカナリ、コシヒカリを示し、横軸の記号はコシヒカリ対立遺伝子をもつ NIL を示す。2QTL、3QTL、4QTL、5QTL はそれぞれコシヒカリ対立遺伝子を 1、2、3、4、5 つ集積したイネ系統群を示し、その下の数字は光合成速度の平均値を示す。

QTL集積系統の乾物生産と子実収量 収穫期地上部乾物重はタカナリと比べて有意に大きい系統はなく、むしろQTLを多く集積する系統は地上部乾物重が減少する傾向があった。子実収量もタカナリよりも有意に高い系統はなく、QTLを多く集積する系統は子実収量が減少する傾向があった。*qHP3*と*qHP7a*を持つ系統はすべて出穂期が早くなり、QTLを多く集積する系統には*qHP3*あるいは*qHP7a*が含まれるので、出穂期が早くなる傾向があった。出穂期は収穫期の乾物重や子実収量に大きな影響を及ぼす。本研究でも出穂期と収穫期地上部乾物重、子実収量との間にはそれぞれ0.55、0.25の有意な相関関係が認められ、光合

成速度を高めて、乾物生産量や子実収量を高めていくためには、光合成速度を高める遺伝子と出穂期を早める遺伝子との連鎖を切り離していく必要があることが示された。

<引用文献>

Adachi S., Nakae, T., Uchida, M., Soda, K., Takai, T., Oi, T., Yamamoto, T., Ookawa, T., Miyake, H., Yano, M., and Hirasawa, T., The mesophyll anatomy enhancing CO₂ diffusion is a key trait for improving rice photosynthesis, 2013, Journal of Experimental Botany, 64:1061-1072.

内田万咲、早田一也、高井俊之、山本敏央、大川泰一郎、平沢正、コシヒカリ/タカナリの戻し交雑自殖 (BC₁F₆) 系統群を用いた光合成速度に関わる形質の量的形質遺伝子座 (QTL) 解析、2010、日本作物学会紀事、79 (別 1): 96 - 97 .

山下雅大、狩又亮治、中江徹、市原直登、高井俊之、山本敏央、大川泰一郎、矢野昌裕、平沢正、水稻の個葉光合成速度に関わる遺伝子座の推定 - コシヒカリとタカナリの正逆染色体断片置換系統群を用いて - 、2012、日本作物学会紀事、81(別 2): 142-143.

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

He, W., Adachi, S., Sage, R. F., Ookawa, T. and Hirasawa T., Leaf photosynthetic rate and mesophyll cell anatomy changes during ontogenesis in backcrossed *indica* × *japonica* rice inbred lines、2017、Photosynthesis Research、査読有 (in press)

〔学会発表〕(計 14 件)

青莉紗子、中野瑠璃、安達俊輔、岩田洋佳、山本敏央、大川泰一郎、平沢正、水稻品種コシヒカリ対立遺伝子がタカナリに対して光合成速度を高める QTL の集積効果の解析 - 1 ~ 5 個の QTL を有する系統を用いて - 、日本作物学会第 243 回講演会、2017 年 3 月 29 ~ 30 日、東京大学 (東京都文京区)

中野瑠璃、青莉紗子、安達俊輔、山本敏央、大川泰一郎、平沢正、水稻品種コシヒカリの対立遺伝子がタカナリに対して光合成速度を高める QTL 集積系統の乾物重、収量と収量構成要素の解析、日本作物学会第 243 回講演会、2017 年 3 月 29 ~ 30 日、東京大学 (東京都文京区)

Hirasawa, T., Ochiai, T., Ao, R., Kojima, Y., Nakanishi, A., Yamamoto, T., Ueda, T., Ookawa, T., Adachi, S., Quantitative trait loci for enhancing photosynthesis in progeny of rice ‘Takanari’ × ‘Koshihikari’ and effects of their pyramiding, 14th International Symposium on Rice Functional Genomics, 26-29 September 2017、モンペリエ (フランス)

6 . 研究組織

(1)研究代表者

平沢 正 (HIRASAWA, Tadashi)
東京農工大学・大学院農学研究院・名誉教授

研究者番号 : 3 0 0 1 5 1 1 9

(2)研究分担者 なし

(3)連携研究者 なし

(4)研究協力者

安達 俊輔 (ADACHI, Shunsuke)
落合 隆行 (OCHIAI, Takayuki)
跡部 雅史 (ATOBE, Masafumi)
青 莉紗子 (AO, Risako)
中野 瑠璃 (NAKANO, Ruri)