

学位論文題名

Physio-genetic study on rice (*Oryza sativa* L.)
plant type and its interaction
with environments using QTL analysis

(QTL解析を用いたイネの草型と
その環境反応に関する生理遺伝学的研究)

学位論文内容の要旨

イネ(*Oryza sativa* L.)の草型は、収量を決定する基本的な要因である。育種による草型改良を容易にするためには、その関連形質を支配する遺伝的要因を理解することが重要である。しかし、草型関連形質(以後、草型形質と略)は、量的形質であり、相互に関連し合い、さらに環境に反応して変化するため、従来の方法で遺伝的要因を解析するのは難しかった。近年、分子マーカー技術の発達により、量的形質の遺伝子座(quantitative trait locus: QTL)を解析できるようになった。そこで本研究は、QTL解析を異なる気候条件下で複数の草型形質に対して網羅的に行い、草型に関わる遺伝子が座上する染色体領域を同定すると共に、環境との相互作用も含め各領域の特徴づけを行った。

密陽 23 号(M23、インド型、穂重型)とアキヒカリ(AK、日本型、穂数型)を親とする組換え近交系 191 系統(F₇)を、1995、96、97 年に北陸農業試験場(現北陸研究センター)で、2000 年と 2001 年の乾期(1-4 月)と雨季(6-10 月)に国際イネ研究所(IRRI、フィリピン)で栽培して、各系統 5 個体以上を用いて、14 の草型形質を調査した。各形質の QTL は、遺伝解析用ソフト QGENE の interval mapping により、LOD 値 2 を閾値として検出した。さらに QTL 解析の結果から、特に作用力の強い染色体領域 3 つを選び、それらの領域が M23/M23、M23/AK、AK/AK 型に分離した系統群(分離集団)を分子マーカーにより作出し、各領域の QTL やその効果を詳しく同定・評価した。得られた結果は以下の通りである。

(1) 稈長、穂長、穂数、分げつ数および有効分げつ割合について QTL 解析を行い、イネ体の基本的な発達に関わる合計 22 の染色体領域を同定した。これら 22 領域中、第 2 (XNpb298-XNpb317B)、6 (G2140-XNpb12) および 11 (C477-XNpb257) 染色体上にある 3 つの領域は、稈長と穂長を増加させるが、穂数と分げつ数を減少させ、重要な領域であることを示した。これらの領域は作用力が大きく、それが IRRI で顕著に増加したため、環境と相互作用しながら草型を決定する主要な遺伝子が座乗すると思われる。このような環境との相互作用は、稈長に関連する 10 領域中 7 つで認められた。しかし、穂長では 12 領域中 2 つであったため、QTL と環境との相互作用は形質によって異なることが示された。

(2) 止葉の形態(長、幅、角度)と第3葉の窒素濃度(出穂期、収穫期および登熟期間中)についてQTL解析を行い、葉の発達に関わる合計15の染色体領域を同定した。これらの領域中、第1(*XNpb359-C955*)、4(*XNpb235*)および6(*XNpb12*)染色体上の3領域は、止葉の長さとの幅の両方に作用した。これらを含めた止葉形態に関わる8領域は、窒素濃度に関わる6領域と重なっておらず、葉の形態形成と窒素生理は異なる遺伝的要因で支配されると考えた。

(3) 総穎花数、一穂穎花数および登熟歩合についてQTL解析を行い、イネの穂形質に関わる合計12の染色体領域を同定した。これらのなかで、第1(*R210B-XNpb90*)、6(*C235*)、7(*XNpb152*)および9(*XNpb160*)染色体上の4領域は、総穎花数を増加させた。結果(1)もふまえると、第1(*R210B-XNpb90*)、2(*XNpb227-XNpb132*)、4(*XNpb271-XNpb235*)および6(*C235*)染色体上の領域は、一穂穎花数を増加させ、かつ穂数を減少させた。このことから、これら4領域に、M23とAKを穂重型と穂数型イネに分化させる主要な遺伝子が座乗すると思われる。

(4) 以上の結果から、複数の草型形質に強く作用するQTLが、第1(*N079A-XNpb90*)、4(*Xnpb331-XNpb235*)および6(*C235-Xnpb135*)染色体上の3つの領域にあると考えた。そこで分離集団を用いて、これら3領域に含まれるQTLの位置や効果をより詳細に解析した。第1染色体の領域は、M23の遺伝子型で、穂重を増加し、一穂穎花数を減少させた。第4染色体の領域は、*RM255-XNpb348*にQTLが1つ検出され、それがM23の遺伝子型で、穂数と分けつ数を増加し(分けつの発達を促進)、止葉長、止葉幅および一穂穎花数を減少させた(止葉と穂の発達を抑制)。第6染色体の領域は、*G1314-RM340*に3つQTLが検出され、それらがAKの遺伝子型で、分けつの発達を促進し、シュート(稈長と穂長)の伸長および止葉と穂の発達を抑制した。これらのQTLは、出穂前の分けつ数に影響しており、生育初期から発現すると推測された。

上述の結果を統合して考察すると、合計33の染色体領域がM23とAKの草型に関連することが明らかとなった。これら33の領域は、形質に対する効果に基づき、以下の8グループに分類できた。グループIに属する3つの領域は、分けつの発達を促進するが、シュートの伸長および止葉と穂の発達を抑制した。グループIIの4領域は、穂数を増加させ、一穂穎花数を減少させた。グループIIIの2領域は、出穂日のQTLと一致しており、一見無関係な複数の形質に作用していた。グループIVの2領域はシュートの伸長、グループVの4領域は稈の伸長、グループVIの7領域は葉の形質、グループVIIの9領域は穂形質、およびグループVIIIの2領域は分けつ性のみそれぞれ作用した。これら計33領域のうち18領域は、北陸とIRRIのどちらか一方で発現するか、もしくは栽培地間でその作用力が異なった。

これらをまとめると、1)草型の遺伝は機能の異なる30以上の領域により構成され、2)そのうち3つの領域が縦と横方向の生長バランスを変化させ、3)4つの領域がイネを穂重型と穂数型に分化させ、4)半数近くの領域が、環境との相互作用を通じ、温帯と熱帯の間で草型の遺伝様式を変化させる、ことが明らかとなった。

これらの研究成果は、1)育種現場において草型形質の分離を理解・予想する際や2)分子マーカー育種で草型を改良する際に有用であろう。また、3)環境との相互作用や多面効果(pleiotropic effect)があるユニークな遺伝子をfine mapping・単離・機能解析する際に一次情報として利用でき、今後の育種・生理遺伝研究にとって重要な知見が得られた。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 大 崎 満
副 査 教 授 中 嶋 博
副 査 教 授 佐 野 芳 雄
副 査 教 授 喜 多 村 啓 介
副 査 国際流動
研究員 福 田 善 通 (国際イネ研究所、フィリピン)

学 位 論 文 題 名

Physio-genetic study on rice (*Oryza sativa* L.) plant type and its interaction with environments using QTL analysis

(QTL 解析を用いたイネの草型と
その環境反応に関する生理遺伝学的研究)

本研究は、表 13、図 12 を含む 115 ページの英文論文で、引用文献 108 を含み、6 章から構成されている。他に、参考論文が 2 編添えられている。

イネ (*Oryza sativa* L.) の草型は、収量を決定する基本的な要因である。育種によって草型を容易かつ敏速に改良するためには、関連形質を支配する遺伝的要因について理解することが重要である。

しかし、草型関連形質は、量的形質で、相互に関連し合い、さらに環境に反応して変化するため、従来の手法では遺伝解析が難しかった。近年、分子マーカー技術の発達により、そのような量的形質の遺伝子座 (QTL) を連鎖地図上に同定して、その効果を推定できるようになった。

本研究の目的は、QTL 解析を利用して、草型に関わる染色体領域を同定すると共に、多面効果や環境との相互作用に注目しながら各領域の特徴を明らかにすることである。密陽 23 号とアキヒカリを親とする組換え近交系 191 系統を、1995~97 年に旧北陸農業試験場で、2000 年と 2001 年の乾期と雨季にフィリピンの国際イネ研究所 (IRRI) で栽培して、14 の草型関連形質に対して QTL 解析を行った。さらに、特定の染色体領域が分離したヘテロ性自殖集団を分子マーカーにより作出し、各領域に座上する QTL の位置や効果を詳しく同定・評価した。

稈長、穂長、穂数、分けつ数および有効分けつ割合に関する QTL 解析により、イネ体の基本的な発達に関わる合計 22 の染色体領域を同定した。第 2、6 および 11 染色体上にある領域は、稈長と穂長を増加させるが、穂数と分けつ数を減少させており、重要な領域であった。これらの領域は、作用力が大きく、それが IRRI で顕著に増加したため、環境と相互作用しながら草型を決定する遺伝子が座乗すると思われる。

止葉の長さ、幅、角度および第 3 葉の窒素濃度に関する QTL 解析から、葉の発達に関わる合計 15 の染色体領域を同定した。第 1、4 および 6 染色体上の領域は、止葉の長さ、幅の両方に作用しており、止葉のサイズを遺伝的に改良する上で有用な遺伝子が座乗すると思われる。これらを含めた止葉形態に関わる 8 領域は、窒素濃度に関わる 5 領域と重ならず、葉の形態形成と窒素生理が異なる遺伝的要因によって支配されていることが示唆された。

総穎花数、一穂穎花数および登熟歩合に関する QTL 解析から、イネの穂形質に関わる合計 12 の染色体領域を同定した。なかでも、第 1、6、7 および 9 染色体上の 4 領域は、総穎花数を増加させており、収量を遺伝的に改良する上で有用な遺伝子が座乗すると思われた。穂数の結果と統合すると、第 1、2、4 および 6 染色体上に、穂数を増加させ、一穂穎花数を減少させる領域が見つかった。これらの領域には、密陽 23 号とアキヒカリを穂重型と穂数型イネに分化させる遺伝子が座乗すると考えた。

第 1、4 および 6 染色体の一部が分離するヘテロ性自殖集団の解析から、これら 3 領域が、穂数を増加させると共に、穂重を減少させることが確認された。また、第 4 および 6 染色体の領域には、それぞれ QTL が 1 つと 3 つ検出され、それらが穂数、穂長、止葉長など複数の草型形質に作用したことから、多面効果を持つ遺伝子の存在が示唆された。

上述の結果を統合して考察すると、合計 33 の染色体領域が密陽 23 号とアキヒカリの草型に関与し、それらは 8 つのグループに分類できることが明らかとなった。グループ I に属する 3 領域は、穂数を増加させるが、草丈および止葉と穂の形質を減少させた。グループ II の 4 領域は、穂数を増加させ、一穂穎花数を減少させた。グループ III の 2 領域は、出穂日の QTL と一致しており、一見無関係な複数の形質に作用した。グループ IV の 2 領域は草丈、グループ V の 4 領域は稈長、グループ VI の 7 領域は葉の形質、グループ VII の 9 領域は穂形質、およびグループ VIII の 2 領域は分けつ数のみにそれぞれ作用した。これら 33 領域中 18 領域は、北陸と IRRI のどちらか一方で発現するか、もしくは栽培地間でその作用力が異なり、環境との相互作用を示した。

本研究は、異なる気象条件下で多数の草型形質を網羅的に調査して、草型に関わる染色体領域を徹底的に同定・特徴づけした点で特に優れている。得られた結果は、育種現場において草型形質の分離を理解・予想する際や分子マーカー育種で草型を改良する際に有用である。また、環境との相互作用や多面効果があるユニークな遺伝子をファインマッピング・単離・機能解析する際に一次情報としても利用でき、今後の育種・生理遺伝研究にとって重要な知見が得られている。よって審査員一同は、小林創平が博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認めた。