

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

氏 名 DE OCAMPO Marjorie Punzalan

論文題目

Identification of novel QTLs and introgression through marker-assisted backcrossing for improved salinity tolerance in rice

(イネの耐塩性向上のための新規量的形質遺伝子型の同定とマーカーを利用した戻し交雑)

論文審査担当者

主 査 名古屋大学准教授 三屋史朗

委 員 名古屋大学教授 江原 宏

委 員 名古屋大学教授 谷口光隆

委 員 名古屋大学教授 山内 章

委 員 名古屋大学教授 犬飼義明

委 員 名古屋大学准教授 土井一行

委 員 名古屋大学准教授 槇原大悟

論文審査の結果の要旨

DE OCAMPO Marjorie Punzalan 氏はイネの耐塩性向上を最終目的として、イネ耐塩性に関連する量的形質遺伝子座 (QTL) およびハプロタイプを同定し、また他の環境ストレス耐性 QTL と耐塩性 QTL との相互作用による耐塩性への影響を調べることにより、イネ耐塩性向上のためのマーカー育種への基礎的知見を与えた。以下にその要旨を記載する。

イネは世界人口の半数以上を支える重要作物であるが、イネ生産性は様々な環境ストレスにより減少しており、特に塩害による生育、収量の減少が著しい。塩害下のイネ収量を増加し、生産性を安定化させるには、イネの有する耐塩性機構を理解し、各耐塩性形質の改良に資する DNA マーカーを用いたマーカー育種、品種改良が重要である。イネは各生育ステージで異なる耐塩性程度を示し、特に幼苗期と生殖成長期に感受性を示す。イネの幼苗期の耐塩性機構は多くの知見があり、根や茎葉からの塩排除、古葉への塩の隔離、組織耐性が知られている。この中で根での塩排除を制御する QTL (*Saltol*) が知られている。一方、生殖成長期の耐塩性機構は上記以外にも生殖過程の保護も必要であり複雑であるため、耐塩性向上に効果的な QTL は未だ明らかとは言えない。そのため、DE OCAMPO Marjorie P. 氏はこのイネの幼苗期と生殖成長期の耐塩性に注目し、はじめに、幼苗期と生殖成長期に耐塩性を示すイネ品種 Kalarata を用いて、Kalarata の幼苗期における耐塩性に関与する QTL を同定した。次に、ゲノムワイド関連解析 (GWAS) によって、生殖成長期の耐塩性形質に関連する一塩基多型 (SNP) およびハプロタイプの同定を行った。さらに、耐塩性 QTL (*Saltol*) と冠水耐性 QTL (*SUB1*) をフィリピンにおける主要なイネ品種 IR64 に導入し、IR64 の耐塩性と冠水耐性の改良、および両 QTL 挿入の相互作用について調べた。

はじめに、耐塩性イネ在来品種 Kalarata と塩感受性品種 Azucena から作出した F₂ 群を用いて、幼苗期の耐塩性に関する QTL を同定した。F₂ 群について、マーカー間の平均距離が 9.69 cM で 1463 cM をカバーする 151 の SSR マーカーおよび InDel マーカーを用いて遺伝子型を決定した。複合区間マッピング法による QTL 解析の結果、調べた 16 形質について 13 の QTL が同定された。本研究から新規に検出された QTL として、根のナトリウム濃度に対する QTL が最もロッドスコアが高い QTL として第 3 染色体 (Chr 3) 上に検出された。この QTL は、塩障害と耐塩性の指標である SES に対する QTL と同様の遺伝子座に検出された。また複数の QTL が Chr1 の短腕部分に検出され、これらの QTL は既知の *Saltol* QTL の遺伝子座と同様の遺伝子座であった。この結果より、Kalarata の耐塩性は根でナトリウムを蓄積することで地上部への塩輸送を減ずることと考えられ、本研究で同定した新規耐塩性 QTL は、さらなるイネの耐塩性向上に資すると考えられる。

次に DE OCAMPO 氏は、324 系統からなる Rice diversity panel 1 (RDP1) パネルと 211 系統からなる 3K パネルを用いて、生殖成長期の耐塩性に関する形態的および生理的形質を調べ、GWAS により関連遺伝子座を同定し、さらに各パネルまたは両パネルに共通して耐塩性に関係するハプロタイプを調べた。具体的には、両パネルとも土耕栽培条件で塩を 10 dS m⁻¹ になるように処理することにより塩害を施し、RDP1 パネルは幼苗期から収穫に至る

までの長期間の塩害、3 K パネルは止め葉が出てから穂ばらみ期の間（生殖成長期）の塩害を施した。表現型および遺伝子型のデータより GWAS を行った。RDP1 パネルからは、ナトリウム-カリウム比に関連する SNP が Chr 3 と 7 において検出された。3 K パネルからは、対照区に対する相対草丈に関連する SNP が Chr 4、ナトリウム-カリウム比に関連する SNP が Chr 7 と 12 を除く染色体から検出された。また、RDP1 パネルは栄養成長期から生殖成長期への塩害であり、栄養成長期において重要な *Saltol* QTL も本研究から検出された。一方生殖成長期のみ塩害を施した 3 K パネルからは *Saltol* QTL が検出されなかったことから、栄養成長期と生殖成長期の耐塩性 QTL は異なることが示唆された。本 GWAS から示唆された候補遺伝子群は、イネの生殖成長期の耐塩性との関係は未知であり、さらなる研究が必要である。またコロケーション分析より、RDP1 パネルでは 61、3 K パネルでは 76 の遺伝子座が塩害下での相対収量およびその他耐塩性関連形質に共通して関連することが示され、そのうち 3 遺伝子座は両パネルに共通して複数の耐塩性関連形質の向上につながることを示した。この 3 遺伝子座のハプロタイプ解析から耐塩性に有利なハプロタイプが同定された。これらの知見は今後の耐塩性育種における親品種の選定などに役に立つと考えられる。

さらに DE OCAMPO 氏は、耐塩性 QTL の実用化を目指し、フィリピンにおいて重要なイネ品種 IR64 に、耐塩性 QTL *Saltol* と冠水耐性 QTL *SUB1* をピラミッティングすることを試みた。IR64-*Saltol* と IR64-*Sub1* を交配させ、310 F₂ 系統を用いて Chr 1 の *Saltol*、Chr 9 の *SUB1* DNA マーカーを用いて遺伝子型を選抜した。遺伝子型より 21 系統を選抜し、F₃ 系統を表現型の解析に用いた。その結果、*Saltol* QTL の導入により得られると考えられる耐塩性形質のうち、地上部ナトリウム濃度の低下、地上部カリウム濃度の増加、地上部ナトリウム-カリウム比の低下は *SUB1* 共存下でも複数系統で確認された。一方、耐塩性の指標である SES は IR64 遺伝背景でも *Saltol* の導入で低下し、耐塩性が強化されたのに対して、*SUB1* 共存下では SES の低下がみられなくなった。冠水耐性は *SUB1* の挿入により付与され、*Saltol* QTL の有無に関わらなかった。以上の結果より、耐塩性 *Saltol* QTL を冠水耐性 *SUB1* QTL と共存させる場合、耐塩性形質がすべて発現するとは限らないことが示され、今後の耐塩性育種への課題を示した。QTL の相互作用は遺伝背景に依存する可能性もあり、他のイネ品種を利用する必要がある。一方本研究から得られた 3 1-3 系統は、*Saltol* と *SUB1* QTL を単独で導入した場合と同様の、SES を除く耐塩性形質および冠水耐性を発揮する優良系統として、フィリピンの塩害・洪水常襲地域でのイネ生産性向上に資することが期待される。

以上、DE OCAMPO Marjorie Punzalan 氏による博士論文は、イネの耐塩性向上を目的としたイネの幼苗期および生殖成長期の耐塩性に寄与する QTL やハプロタイプを提供し、イネに耐塩性 QTL と冠水耐性 QTL を導入したときの耐塩性への影響、QTL 間相互作用を学術的に明らかにしたものである。特に遺伝学分野において本分野のさらなる発展に大きく貢献するものである。以上の理由により、本論文の内容が博士（農学）の博士論文として十分価値のあるものと認め論文審査に合格と判定した。