

令和元年6月10日現在

機関番号：23303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K07578

研究課題名(和文) 水稻登熟期の稲体内窒素動態の解析 解析材料育成とそのための基礎研究

研究課題名(英文) Analysis of nitrogen dynamics in rice plants.

研究代表者

塚口 直史 (Tsukaguchi, Tadashi)

石川県立大学・生物資源環境学部・准教授

研究者番号：40345492

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、子実へのタンパク質蓄積は主に遺伝的に決まり環境の影響を受けない子実タンパク質集積性によって決まるとの仮説の下、子実タンパク質集積性を遺伝学的および生理・生態学的に明らかにすることを目的とする。子実タンパク質集積性の定量評価法を開発し、品種比較を行い、その高い品種と低い品種を選抜した。それらの品種を両親としてF2およびF3集団を育成した。QTL解析の結果、子実窒素集積性に関与するQTLが複数見つかリ、そのうち2つのQTLが世代および窒素条件に関わらず検出された。現在この2つのQTL領域についてもう一方の親の遺伝子型の染色体断片に置き換えた準同質遺伝子系統を育成中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、子実窒素集積性は他の遺伝形質や環境要因とともに、子実のタンパク質含量、登熟期のイネ体窒素動態に寄与することが分かった。イネの子実タンパク質含量は栄養的および食味的な側面から重要な形質である。また、持続的な農業生産や環境負荷を最低限にしながら収量性を高めることが重要であり、イネ体の窒素利用効率の高い品種の育成が求められるが、そのためにはイネ体窒素動態の解明が不可欠である。本研究の成果はそれらを目的とした品種育成に寄与することが期待される。

研究成果の概要(英文)：We hypothesize that nitrogen allocation to rice grains is mostly determined by the grain-protein-accumulation ability which is genetically determined and is not affected by environments and aim to clarify the grain-protein-accumulation ability genetically and physio-ecologically. We developed a quantitative measure for the evaluation of grain-protein-accumulation ability, compared it among rice cultivars and selected two cultivars, one with high and one with low grain-protein-accumulation ability. Using these cultivars as parents we developed F2 and F3 populations. QTL (quantitative trait loci) analysis with these populations revealed that several QTLs contributed grain-protein-accumulation ability. Among these QTLs, two QTLs were detected in both generations and both nitrogen conditions. We now are developing near isogenic lines with the introgression of chromosome segments of the other parent's genotype at these two QTL regions to validate the effect of these QTLs.

研究分野：作物学

キーワード：イネ 窒素利用効率 タンパク質含量 子実窒素集積性

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

コメの主要成分はデンプンであるが、5~10%程度をタンパク質が占める。一部の発展途上国などではコメはエネルギー源であるとともに重要なタンパク源でもある。一方、日本の食用米では、食味の観点からタンパク質濃度は一定程度以下に抑えられる方が望ましい。玄米タンパク質濃度には品種間差が知られているが、イネの登熟期の窒素栄養状態や籾数等の他の形質にも強く影響されるため、安定した遺伝解析結果が得られておらず、それをターゲットとした育種も進んでいない。

子実へのタンパク質の蓄積は、イネ体の窒素動態に関与すると考えられ、イネの窒素利用率を通じて、特に窒素施肥が制限される条件下での収量性にも関与している可能性がある。登熟後期まで葉が老化せず緑葉が維持されることは、子実の充実に必要な光合成産物生産の上で極めて重要である。緑葉維持には窒素栄養条件が強く関与するが、登熟中の子実にはタンパク質源として多量の窒素が集積するため、多くの籾をつける多収品種では登熟後半に窒素不足になり、葉のタンパク質が分解、再転流して緑葉維持ができなくなる場合が多い。同様に、玄米のタンパク質濃度が高い品種では低い品種より、早い段階での葉の老化が予想されるが、両者の間に明瞭な関係は認められていない。以上のような結果は、子実タンパク質濃度や葉身窒素含量における品種間差は様々な遺伝子や環境の相互作用の結果であることを示唆する。

子実タンパク質含量や登熟期の葉身窒素動態における品種間差を説明する主要な要因として、窒素の転流や子実への蓄積過程における潜在的な能力(子実窒素集積性)が遺伝的に異なることが考えられる。子実窒素集積性は他の遺伝形質や環境要因と相互作用して子実タンパク質含量や葉身窒素含量を決め、その解明はイネ体登熟期における窒素動態の総合的な理解には不可欠と考えられる。しかしながら子実窒素集積性に着目した研究例は見当たらず、その定量評価法も知られていない。

2. 研究の目的

本研究は、子実窒素集積性を実証しその遺伝的要因を解明するとともに、子実窒素集積性が登熟期のイネ体の窒素動態に及ぼす影響を生理・生態学的に明らかにすることを目的とする。このような目的の下で、研究期間においては、子実窒素集積性の量的評価法の確立、子実窒素集積性に関する量的遺伝子座(Quantitative trait loci, QTL)解析、および推定された染色体領域に関する準同質遺伝子系統(Near Isogenic Lines, NILs)育成の着手を目的とした。

(1) 子実窒素集積性評価法の開発と品種間差

子実タンパク質含量と登熟期イネ体内の窒素動態との間の量的関係を明らかにし、それらが子実窒素集積性に関する遺伝子型・環境相互作用のない指標を明らかにすることを目的とした。さらに、収量性等様々な特性を持つ品種間で子実窒素集積性に関する品種比較を行った。

(2) 子実窒素集積性に関する QTL 解析

(1)で明らかになった子実窒素集積性の高いタカナリと低いモミロマンを両親として交配し、子実窒素集積性の解析集団を育成した。F₂ および異なる窒素条件で栽培した F₃ を用いて子実窒素集積性に関する QTL 解析を行うとともに、関連する他の形質の解析を行った。

(3) 子実窒素集積性に関する NILs の育成

タカナリおよびモミロマンを遺伝背景とし、(2)で明らかになった染色体領域が置換された NILs の育成を目的とした。

3. 研究の方法

(1) 子実窒素集積性評価法の開発と品種間差

子実タンパク質濃度、登熟期の緑葉維持程度、および収量性の異なる水稻 20 品種を 2 か年にわたって、様々な窒素条件で栽培した。シンクソースバランスを変えるために出穂期に摘籾処理を行った。出穂期から成熟期にかけて期間別の乾物重および窒素含量を調査した。玄米タンパク質含量、収量および収量構成要素を調査した。これらのパラメータを用いて子実窒素集積性の定量評価法を開発し、それに関する品種比較を行った。

(2) 子実窒素集積性に関する QTL 解析

モミロマンとタカナリを交配し、得られた F₁ を自殖し、F₂ を得た。両親間で多型を示す DNA マーカーを探索し、全染色体上に 112 配置した。F₂ を 180 個体栽培し、幼植物から DNA を採取し、PCR 法により DNA マーカー座の遺伝子型を調査した。Mapmaker ver.3 を用いて各マーカー座の連鎖地図を作成した。

F₂ 集団は多肥条件で、F₃ 系統は多肥および少肥条件で登熟させ、玄米窒素集積性、緑葉維持能および収量性に関する様々な形質について表現型調査を行う。具体的には、出穂期、玄米タンパク質濃度、出穂後各期の止葉および第 2 葉の葉色 (SPAD 値)、成熟期の地上部乾物重、収穫指数、穂重、窒素吸収量、籾数、玄米千粒重等である。玄米タンパク質濃度は玄米窒素濃度に定数(5.95)を乗じた値とした。遺伝子型および表現型データを用いて QTL cartographer (ver.

2.5) により QTL 解析を行うとともに、各形質間の相関解析を行う。

(3) 子実窒素集積性に関する NILs の育成

タカナリおよびモミロマンの間の正逆の交配による F1 にそれぞれの親品種を戻し交配する。候補領域がヘテロであるものを選抜しながら、戻し交配を進めた。

4. 研究成果

5. 主な発表論文等

(1) 子実窒素集積性評価法の開発と品種間差

子実タンパク質含量には品種間で大きな差が認められた。一方多窒素条件下では品種間差が大きくなるとともに、品種の順位が逆転する例も認められ、子実タンパク質含量は遺伝子・環境交互作用の強い形質であることが確認された。

さらに、各品種において子実タンパク質濃度 $GN(\%)$ と植物体における子実重当たり利用可能な窒素量 $Nav(mg/g)$ との間に対数関数の関係、 $GN = A \times \ln(Nav)$ があることを見出した (A は回帰係数) (Tsukaguchi et al. 2016)。回帰係数 A は窒素条件に影響されない品種固有の値で、子実への窒素集積能力をよく表すと考えられた。子実と茎葉の間の窒素分配は籾数、植物体窒素吸収量および子実窒素集積性でよく説明された。以上のことから回帰係数 A を子実窒素集積性の指標とした。

子実窒素集積性はタカナリ、八バタキおよび Kasalath で高く、モミロマン、べこあおば、およびコシヒカリで低かった。

(2) 子実窒素集積性に関する QTL 解析

F2 および F3 集団、また F3 集団では窒素条件に共通して子実窒素集積性 (A) への関与が推定される 4 つの QTL を見出した (タカナリ対立遺伝子が子実窒素集積性を高める QTL が 3 つ、モミロマン対立遺伝子が高める QTL を 1 つ)。これらのうち特に 2 つの QTL は LOD 値が 6 以上で、あわせて全遺伝分散の 60% を説明した。この 2 つの QTL は玄米タンパク質含量に関与する QTL や SPAD 値に関与する QTL とは一致しなかった。一方これらの QTL は茎葉への非構造的炭水化物の蓄積に関与する QTL と一致し、窒素動態および炭水化物動態に影響することが示唆された。

(3) 子実窒素集積性に関する NILs の育成

モミロマンを遺伝背景とするものは現在 BC3F1、タカナリを遺伝背景とするものは現在 BC2F1 まで育成が進んでいる。

以上の結果は、子実窒素集積性が子実タンパク質含量並びに登熟期のイネ体内の窒素動態に関与するという仮説を支持するものである。また、子実窒素集積性への関与が推定される染色体領域を明らかにし、その領域に関する準同質遺伝子系統の育成も順調に進んでいる。引き続き本研究の成果を基に、子実窒素集積性に関する遺伝的解明と、子実窒素集積性が登熟期のイネ体の窒素動態に及ぼす影響を生理・生態学的に明らかにするために研究を進める。

[雑誌論文](計 7 件)

小林麻子・杉本和彦・林猛・近藤始彦・園田純也・塚口直史・和田卓也・山内歌子・岩澤紀生・矢野昌裕・富田桂. 2016. 穂発芽耐性を強化した水稻品種コシヒカリの準同質遺伝子系統の育成と高温登熟耐性の評価. 育種学研究. 査読有. 18: 1-10.

Tsukaguchi, T., Nitta, S., Matsuno, Y. 2016. Cultivar differences in the grain protein accumulation ability in rice (*Oryza sativa* L.). Field Crops Research. 査読有. 192: 110-117. doi:10.1016/j.fcr.2016.04.022

Tsukaguchi, T., Taniguchi, Y., and Ito, R. 2016. The effects of nitrogen uptake before and after heading on grain protein content and the occurrence of basal- and back-white grains in rice (*Oryza sativa* L.). Plant Production Science. 査読有. 19. (<http://dx.doi.org/10.1080/1343943X.2016.1223527>)

Tsukaguchi, T., Murakami, K., and Michimoto, T. 2016. A quantitative measure for assimilate partitioning efficiency in rice (*Oryza sativa* L.). Field Crops Research. 査読有. 198: 122-130 (<http://dx.doi.org/10.1016/j.fcr.2016.08.033>).

Miyahara, K., Wada, T., Sonoda, J., Tsukaguchi, T., Miyazaki, M., Tsubone, M., Yamaguchi, O., Ishibashi, M., Iwasawa, N., Umemoto, T., and Kondo, M. 2017. Detection and validation of QTLs for milky-white grains caused by high temperature during the ripening period in Japonica rice. Breeding Science. 査読有. 67: 333-339 (doi:10.1270/jsbbs.16203).

西田和弘・塚口直史・二宮悠樹・宇尾卓也・吉田修一郎・塩沢昌. 2018. 夜間掛流し灌漑が

出穂後 20 日間の平均水温・地温および米の外観品質に与える影響。農業農村工学会論文集。306: 1-105-115.

Tsukaguchi, T., Tanaka, R., Inoue, H. and Nakagawa, H. 2018. Effects of high temperature and shading on grain abscisic acid content and grain filling pattern in rice (*Oryza sativa* L.). Plant Production Science. 21. (<http://dx.doi.org/10.1080/1343943X.2018.1524264>).

〔学会発表〕(計 7 件)

松野由莉・新田純代・塚口直史. 2016. 水稻の登熟期窒素動態の支配要因としての玄米タンパク質集積性. 日本作物学会第 242 回講演会(龍谷大学瀬田キャンパス).

西田和弘・柴田里子・塚口直史・吉田修一郎・塩沢昌. 2018. 水稻の高温障害抑制のための掛流し灌漑が水田の窒素環境と稲の窒素吸収に与える影響. 平成 30 年度農業農村工学会大会講演会(京都).

西田和弘・柴田里子・塚口直史・吉田修一郎・塩沢昌. 2018. 水稻の高温障害抑制のための掛流し灌漑が田面水・土壌水の窒素濃度と玄米タンパク質濃度に与える影響. 日本土壌肥料学会 2018 年度神奈川大会(藤沢).

Nishida, K., Shibata, S., Tsukaguchi, T., Yoshida, Y., and Shiozawa, S. Effect of continuous irrigation with running water on the nitrogen environment in a paddy field. PAWEES & INWEPF international conference 2018 (Nara).

丹保彩香・今本裕士・吉田翔伍・塚口直史. 2018. ダイズの栽植密度が収量および品質に及ぼす影響. 北陸作物・育種学会第 55 回講演会(長岡).

宇野史生・島田雅博・吉田ひろえ・中川博視・塚口直史. 2018. 発育予測モデルによる水稻新品種「石川 65 号」の出穂予測. 北陸作物・育種学会第 55 回講演会(長岡).

塚口直史. 2018. 窒素が決めるコメの品質. 平成 30 年度石川県土壌肥料懇話会(金沢)(招待講演).

〔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:
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:
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名:

ローマ字氏名:

所属研究機関名:

部局名:

職名:

研究者番号（8桁）:

(2)研究協力者

研究協力者氏名:

ローマ字氏名:

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。