

令和元年5月20日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K07643

研究課題名(和文) ナトリウム施肥によるイネ生育促進機構に関する分子遺伝学的解析

研究課題名(英文) Study on Mechanisms of Growth Promotion by Sodium Fertilization in Rice

研究代表者

上田 晃弘 (Ueda, Akihiro)

広島大学・生物圏科学研究科・准教授

研究者番号：10578248

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：土壤中にナトリウムが過剰に蓄積されると植物の生育を阻害する。一方で、低濃度のナトリウムであれば生育が促進される植物種も存在する。本研究では塩害に弱いイネを用いてナトリウム施肥の有用性を検証した。大規模な品種選抜を行った結果、低濃度のナトリウム施肥下で多くのイネ品種の生育が阻害されたものの、生育が促進されるイネ品種群も同定された。これらの品種では、ナトリウム施肥効果は特に根部の乾物重の増加が顕著であった。ナトリウム応答性遺伝子群の同定とともに、ナトリウム施肥による生育促進を担う遺伝子座の同定のための素地を築きあげた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ナトリウムは土壤中に過剰に蓄積されると塩害を引き起こすため、土壤や灌漑水のナトリウム濃度の管理は農作物生産を低下させないために極めて重要である。本研究では、有害元素としてのイメージが強いナトリウムを低濃度で施用すれば植物の生育促進に有効であることを検証することを目的とした。塩害に弱いイネを用いた品種選抜を行ったところ、低濃度のナトリウムで生育が促進される品種が見つかった。今後、ナトリウム施肥による生育促進機構を明らかにすることで、研究成果がイネの生産性向上につながることを期待される。

研究成果の概要(英文)：Accumulation of excess sodium in soils inhibits plant growth. However, growth of some plant species can be promoted by application of lower concentration of sodium. The objective of this study is to access whether sodium fertilization is effective for growth promotion in rice or not. Large-scale screening identified some rice varieties whose growth is promoted by sodium fertilization. Promotion of root growth is clearly observed in these rice varieties with sodium fertilization. The findings including whole transcriptomic analysis and development of progeny groups established the basis on further analysis for identification of determinant genes/loci controlling growth promotion by sodium fertilization in rice.

研究分野：植物栄養学

キーワード：ナトリウム施肥 イネ

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

### 1. 研究開始当初の背景

塩害は世界の農業生産を減じる主要因となっている。塩害は乾燥地における不適切な灌漑や毛細管現象による塩分の地表への蓄積、沿岸部農耕地への海水の流入により発生する。塩害土壌に含まれる主要な塩分はナトリウムであり、高濃度のナトリウムの存在は植物の生育阻害を引き起こす。ゆえに植物の耐塩性を向上させる試みにおいては、植物細胞のナトリウム耐性能や細胞からのナトリウム排出能の改良に主眼が置かれてきた。土壌中に存在する様々な元素の中でもナトリウムは塩害を引き起こすために有害な元素である、と認識されていることが多い。

申請者は耐塩性イネ品種の選抜とその耐塩性機構の解明、ナトリウム流入経路の同定を行ってきた。これまでの研究において、様々なナトリウム濃度でイネを生育させたところ、高濃度のナトリウム処理は塩害によりイネの生育は阻害されるが、低濃度のナトリウム処理は逆にイネの生育が促進される現象を見出した(図1)。この発見は、塩害にならない程度の低濃度のナトリウム施用であれば、イネの生産性の向上が可能であることを示している。

### 2. 研究の目的

本研究ではナトリウム施肥による生育促進が認められる品種と認められない品種の大規模選抜を行う。選抜された品種群を用いて比較栽培試験を行い、ナトリウムによる生育促進メカニズムの解明を明らかにするとともにいまだ不明な部分が多い有用元素としてのナトリウムの生理機能を明らかにする。

### 3. 研究の方法

#### (1) イネ品種の選抜試験

来歴が異なる多様なイネ 175 品種を用いた水耕栽培を行った。対照区とナトリウム施肥区(2 mM Na)の2つの処理区で栽培を行い、栄養生長期におけるナトリウム施肥効果を検証した。イネ個体は栽培後に、葉身、葉鞘、根に分けてサンプリングを行い、新鮮重を測定し、80°Cの乾燥機内で72時間以上乾燥させた後、乾物重の測定に用いた。

#### (2) イオン分析

乾燥させたイネサンプルは1N HCl中で24時間、おだやかに振盪を行うことで、ナトリウムとカリウムの抽出を行った。ナトリウムとカリウム濃度は蛍光光度計(ANA135型、東京光電)を用いて測定した。ナトリウムとカリウム以外の必須元素については、イネサンプルを硫酸分解した後、誘導結合プラズマ発光分光分析装置(iCAP6300, Thermofisher Scientific)を用いて行った。

#### (3) 網羅的遺伝子発現解析

ナトリウム施肥後24時間および40日目の生育促進品種の根を液体窒素を用いて-80°C超低温冷凍庫で保存した。対照区およびナトリウム施肥区の根サンプルを用いて、Sepason-RNAI Super G(ナカライテスク)を用いてTotal RNAを抽出した後、Total RNA Extraction Kit(SciTrove)を用いてTotal RNAの精製を行った。2サンプル間の遺伝子発現の変動はRNA sequence解析(Beijing Genomics Institute)により検出した。

### 4. 研究成果

イネ実生を対照区およびナトリウム施肥区で40日間水耕栽培を行った。ナトリウム施肥効果は相対乾物重(ナトリウム施肥区の乾物重/対照区の乾物重)として評価を行った。ナトリウ

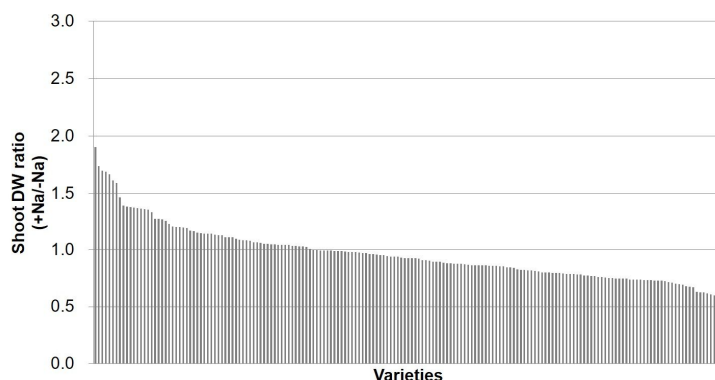


図1. ナトリウム施肥下におけるイネの地上部乾物重比

ム施肥効果には大きな品種間差が見られた。いくつかの品種では地上部乾物重が増加したものの、多くの品種では地上部乾物重の減少が見られたことから、イネは低濃度のナトリウム施肥下でも塩害を受けやすい作物であることが再認識された(図1)。ナトリウム施肥効果は地上部よりも根部で顕著にみられた(図2)。いくつかの品種では根の乾物重量が2倍以上に増加することが分かったことから、ナトリウム施肥効果は地上部乾物重量の増加よりも、根部乾物重量の増加として現れやすいことが分かった。

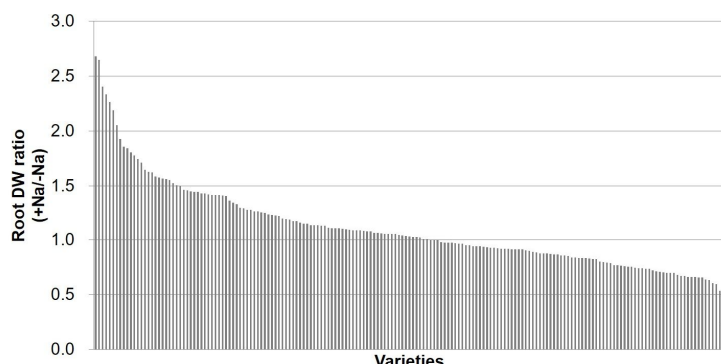


図2 .ナトリウム施肥下におけるイネの根部乾物重比

次に、ナトリウム施肥後のイネ体内のナトリウム濃度を調べた。根部乾物重比と根部ナトリウム濃度には明確な相関関係は見られなかったほか(図3)、地上部乾物重比と地上部ナトリウム濃度比にもはっきりとした相関関係は見られなかった。ナトリウム施肥により生育が促進された品種においても、施肥ナトリウム濃度を増加させた場合にはその生育が抑制されたことから、生育促進に必要なナトリウム濃度には閾値が存在すると考えられた。

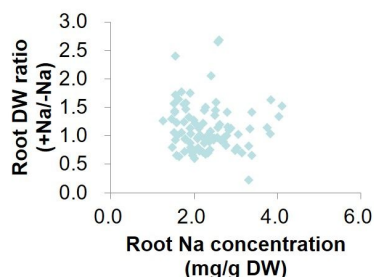


図3 . 根部乾物重比と根部ナトリウム濃度の関係

ナトリウムが根においてどのように生育を促しているのかを調べるために、生育促進品種と生育抑制品種を用いて交配を行い、後代集団の育成を行った。F2世代を用いたQTL解析により根の生育促進に関わる遺伝子座の絞り込みが可能になると考えられる。

生育促進品種を使ってナトリウム施肥により発現量の変動する遺伝子群の探索を行った。その結果、オーキシンシグナル伝達系やグルタチオン代謝系遺伝子群の発現誘導が見られた。これらの遺伝子産物とナトリウムによる生育促進機構との関係は不明であるが、引き続き関係を調べる必要がある。

塩生植物の中には好ナトリウム性を示す種が存在する。数種の塩生植物を使って水耕栽培時にナトリウム施肥効果を検証したところ、顕著な生育促進効果が見られた。特にツルナでは100 mM Naを添加した際には約5倍程度の乾物重量の増加が見られたほか(図4)、オカヒジキやハマツナでも同様の効果が確認された。これらの塩生植物ではナトリウム施肥による案物重量の増加が観察される前に、急減な新鮮重量の増加が確認されている。おそらく塩生植物体内にナトリウムが蓄積されたことにより、吸水力がまず増加することで植物体新鮮重が増加すると考えられる。その後、根部からの栄養塩獲得や光合成による物質生産を介して乾物重量の増加へとつながると推測された。

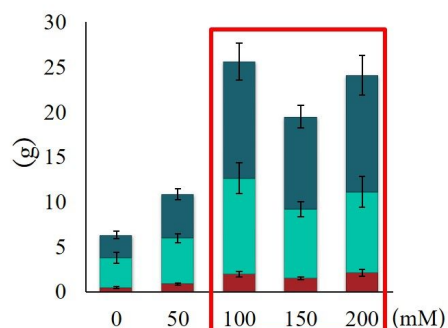


図4．ナトリウム施肥下におけるツルナの乾物重量の変化。棒グラフは上から葉、茎、根のデータを示す。横軸はNa濃度を示す。

## 5．主な発表論文等

### 〔雑誌論文〕(計3件)

Wangsawang T, Chuamnakhong S, Kohnishi E, Sripichitt P, Sreewongchai T, Ueda A (2018)

A salinity tolerant japonica cultivar has Na<sup>+</sup> exclusion mechanism at leaf sheaths through the function of a Na<sup>+</sup> transporter OsHKT1;4 under salinity stress.

*Journal of Agronomy and Crop Science* **204**: 274-284.

DOI:10.1111/jac.12264 (査読有)

Mekawy AMM, Assaha DVM, Munehiro R, Kohnishi E, Nagaoka T, Ueda A, Saneoka H (2018)

Characterization of type 3 metallothionein-like gene (*OsMT-3a*) from rice, revealed its ability to confer tolerance to salinity and heavy metal stresses.

*Environmental and Experimental Botany* **147**: 157-166.

DOI:10.1016/j.envexpbot.2017.12.002 (査読有)

Assaha DVM, Ueda A, Saneoka H, Al-Yahyai R, Yaish MW (2017)

The role of Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> transporters in salt stress adaptation in glycophytes.

*Frontiers in Physiology* **8**:509.

DOI:10.3389/fphys.2017.00509 (査読有)

### 〔学会発表〕(計7件)

大戸貴裕, 実岡寛文, 上田晃弘

塩ストレスが塩生植物の生育と養分吸収に及ぼす影響

日本土壌肥料学会神奈川大会、2018年

藤田貴文, 大隅彰太, 実岡寛文, 上田晃弘

ナトリウム施肥によるイネの生育促進機構の解明

2018年度日本土壌肥料学会神奈川大会、2018年

上田晃弘

ナトリウムはイネの生育促進に寄与するのか?

第9回中国地域育種談話会、2017年

藤田貴文・宗廣理子・実岡寛文・上田晃弘

耐塩性植物ローズガラスの塩類腺からの塩排出特性

第9回中国地域育種談話会、2017年

Sumana Chuamnakhong, Hirofumi Saneoka, Akihiro Ueda

Amelioration of salinity stress by ascorbic acid pretreatment in rice

日本土壌肥料学会関西支部講演会、2017年

大隅彰太, 上田晃弘, 実岡寛文

ナトリウム施肥により生育が促進されるイネ品種の選抜

第2回植物の栄養研究会、2016年

大隅彰太, 上田晃弘, 実岡寛文

ナトリウム施肥により生育が促進されるイネ品種の選抜

日本土壌肥料学会佐賀大会、2016年

〔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: