

機関番号：15101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20580015

研究課題名(和文) 水稻の穂培養法を用いた籾中の窒素代謝と炭水化物代謝との関連性の解明

研究課題名(英文) Elucidation of the relationship between nitrogen metabolism and carbohydrate metabolism in rice grain using the detached ear culture method

研究代表者

山口 武視 (YAMAGUCHI TAKESHI)

鳥取大学・農学部・教授

研究者番号：30182447

研究成果の概要(和文)：水稻の穂へ供給する窒素と炭素の量を任意に制御できる実験系を用いて、それらと粒重増加との関係を検討した。高濃度の窒素を穂に供給すると、玄米中にアンモニア態窒素が蓄積し、それが糖代謝を阻害して、粒重増加が緩慢となった。一方、炭素の供給量が多いほど粒重増加は大であるが、同じ炭素量であれば太陽光を照射した穂の粒重がより増大した。この増大は、籾殻の光合成の寄与と日射が直接糖代謝を活性化させたためと推察した。

研究成果の概要(英文)：Using an experimental system that can control optionally the amount of carbon and nitrogen supplied in rice panicle, we investigated their effects on grain weight. If the ear was supplied to the high concentration of nitrogen, the grain weight decreased because of inhibition of glucose metabolism by accumulated ammonia nitrogen in the grain. Grain weight was greater with the amount of carbon supply, if the ear was supplied to the same carbon content, the grain weight was increased by solar radiation. We guessed that the increased grain with solar radiation was directly activated the glucose metabolism and contribution of photosynthesis of rice husk.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2009年度	900,000	270,000	1,170,000
2010年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学・作物学・雑草学

キーワード：水稻、登熟、穂培養、窒素代謝、炭素代謝、太陽光

## 1. 研究開始当初の背景

筆者らはこれまでの研究成果で、登熟不良の玄米中には多量のアンモニア態窒素が存在し、玄米中のアンモニア態窒素濃度と粗玄米千粒重とは負の比例関係にあること、グルタミン合成酵素阻害剤を穂に散布すると明らかな粒重増加抑制が起きることを認めて

いる。しかし、登熟には複雑な要因が関与しているために、窒素代謝と炭水化物代謝との因果関係についてはいまだ明確に解明されていない。

登熟に関する研究で苦慮するのはシンクソースの量的制御である。一般に登熟は個体のソース能力に強く影響されるが、この能

力を高めるための窒素追肥は籾数の増大、すなわちシンクサイズにも影響を及ぼしてしまう。また、ソース能力だけでなく、ソースサイズにも影響するため、受光態勢の低下や群落呼吸量の増大などを招いてしまうこともある。このため、シンク-ソース関係を自由に制御できる単純な実験系の確立が必要であった。

そこで筆者らは、切り穂を液体培地に挿してソース能力を任意に定めることができる培養方法（以下穂培養法と呼ぶ）を確立した。シンク-ソース関係と登熟環境を自由に制御できる培養法を確立したことで、これまでなかなか踏み込めなかった玄米中の窒素代謝と炭水化物代謝との因果関係の解明に着手できる実験環境を得た。

## 2. 研究の目的

(1) 穂培養法で培養開始後2週間で登熟が停止する原因を解明する。具体的には、培地組成に出液を添加したり、導管内部の構造変化を観察することで、登熟後期の粒重増加要因を検討する。

(2) 穂培養法を活用して、登熟初期における窒素代謝と炭水化物代謝の因果関係を明らかにする。

具体的には、穂部に登熟不良を引き起こす種々の処理を施し、玄米中のアンモニア態窒素と粒重増加との関係を調査する。同時に、穂のおかれている環境が粒重増加に及ぼす影響についても明らかにする。

## 3. 研究の方法

(1) 穂培養法において培養2週間後で登熟が停止する原因を解明する実験

穂培養法において、培養2週間で粒重増加が停止する要因として①植物ホルモンなどの特定の供給物質の不足、または②穂部の転流物質受け取り能力の低下の2点について検討した。

①培養液に出液を添加して粒重増加に及ぼす影響を明らかにする実験

穂培養では通常茎葉から転流する植物ホルモンが一切供給されない。しかし、サイトカイニンやアブシジン酸などは粒重増加に関与する植物ホルモンとしての報告もあり、これらの存在は無視できない。ただ、植物ホルモンはその種類や濃度に応じて反応が異なるため、本実験では、各種ホルモン様物質や無機成分を含有する茎基部からの出液を培養液に添加して、粒重増加を検討した。

②穂部のシンク能力と粒重増加との関係を解明する実験

穂は枝梗と籾で構成されているので、籾自身の受け取り能力の低下と通導器官の老化による物質移動の抑制の両面から検討した。籾自身の受け取り能力を強化するために、2

次枝梗を切除して、粒重増加を調査した。また、通導系に差異があると思われる4品種を用いて、シンク能力および通導器官の特性と粒重増加との関係を検討した。通導器官は、穂軸横断面をデジタルマイクロスコープを用いて調査した。

## ③穂培養の方法

圃場栽培した水稻から、第2伸長節で切除しサンプリングした。実験室に持ち帰り、すべて穂首節下18cmで切断した。今回用いた培地の基本組成を第1表に示した。30mL試験管に28mL分注し、アルミホイルで上部を覆った後、パラフィルムをかぶせ、穂を挿した。試験管に穂を挿入する前後で試験管の重さを測ることで、穂の生体重を測定した。穂を挿した試験管は、4℃の冷却水に浸し、常に冷却した。その後、一定間隔でサンプリングした。

第1表 穂培養の培養液の組成

区分	試薬	ストック溶液	培養液添加量
窒素成分	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	24 g/50ml	2.98 ml/L
多量要素	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	1.95 g/50ml	5 ml/L
	KCl	14.95 g/50ml	5 ml/L
	CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	4.4 g/50ml	5 ml/L
	MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	3.05 g/50ml	5 ml/L
	NaSO <sub>4</sub> ·10H <sub>2</sub> O	5.57 g/50ml	5 ml/L
	FeC <sub>6</sub> H <sub>5</sub> O <sub>7</sub>	0.246 g/50ml	5 ml/L
微量要素	KI	996 mg/600ml	500 ul/L
	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	7.44 g/600ml	500 ul/L
	MnSO <sub>4</sub> ·4H <sub>2</sub> O	26.76 g/600ml	500 ul/L
	ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	10.32 g/600ml	500 ul/L
	NaMoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	300 mg/600ml	500 ul/L
	CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	30 mg/600ml	500 ul/L
	CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	30 mg/600ml	500 ul/L
有機物	ニコチン酸	100 mg/10ml	500 ul/L
	ピリドキシンHCl	200 mg/10ml	500 ul/L
	チアミンHCl	200 mg/10ml	500 ul/L
	グリシン	40 mg/10ml	500 ul/L

(2) 穂培養法を活用した登熟初期における窒素代謝と炭水化物代謝との因果関係を解明する実験

穂培養において培養液中の窒素および糖濃度および糖の種類を変えて、それが胚乳中の炭水化物代謝に及ぼす影響について検討した。

(3) 穂培養における光環境が粒重増加に及ぼす影響を明らかにする実験

筆者らは、過去に穂部を遮光すると登熟不良を引き起こすことを報告しているが、穂部の光環境が粒重増加に及ぼす影響については未だ不明の点が多く、穂部のみの環境制御が可能な穂培養を用いて検討することは重要であると考えた。

そこで、穂部への光環境が粒重増加にどの程度関与しているかを調査し検討した。

## 4. 研究成果

(1) 穂培養法において培養2週間後で登熟が停止する原因を解明

①培養液に出液を添加して粒重増加に及ぼ

す影響

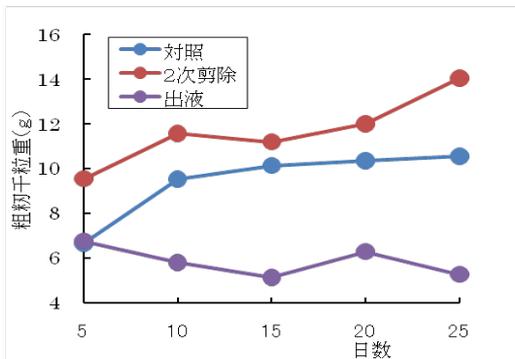
茎基部からの出液には、無機成分や有機成分の他に、各種植物ホルモンが含まれている。従来用いていた穂培養に用いた培養液にはこれらが含まれていないため、培養2週間で粒重増加が停止すると考えた。

そこで、茎基部からの出液を採取し、培養試験管に2mL添加して、粒重増加に及ぼす影響について、調査した。その結果の一例（品種：アキヒカリ）を第1図に示した。

対照区は5日から10日にかけて粒重は増大したが、その後の増加は緩慢であった。出液添加区は、登熟初期から粒重増加がみられず、登熟に何らかの悪影響があったが、この原因については不明である。一方、2次枝梗着生籾を剪除した区は、培養3週間を過ぎても粒重が増大していることを認めた。この結果は、品種コシヒカリでも同様であった。

これとは別に、界面活性剤の添加が切り花維持に効果があるとの知見があったため、界面活性剤（Tween20）を添加したが、粒重増加効果は認められなかった。

この結果より、穂培養において培養2週間後で登熟が停止する原因は、特定物質の供給不足ではなく、培養液または培養液の糖濃度と穂の通導器官の活性が関与している可能性が大であると推察した。



第1図 出液添加が粒重増加に及ぼす影響

②穂部のシンク能力と粒重増加との関係を解明

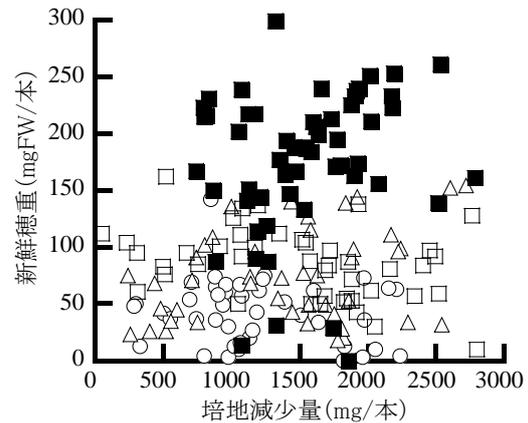
前項で穂培養においても、培養液または培養液の糖濃度と穂の通導器官が関与していると想定されたので、本項では、穂のシンク機能のひとつとして通導系に着目した。すなわち、品種タカナリは籾数が多く着生しても高い登熟歩合を示すので、穂培養を用いてタカナリと他の品種との通導系の差異を検討した。

穂培養期間中の吸収した培地量が同じであっても、タカナリは穂重(新鮮重)増加量が他の品種よりも高い傾向にあった(第2図)。培地はスクロース117mM溶液であることより、タカナリは糖からデンプンへの転換効率が

高いことが示唆された。

期間茎重減少量が大きかったタカナリは、1次枝梗の大維管束導管部直径の総和が他品種よりも大で(第2表、第3図A、B)、輸送器官と同化産物輸送能力は密接な関係にあった。

以上より、タカナリは発達した輸送系、もしくは糖からデンプンへの高い転換効率を持つことで高い登熟特性を示すと推察された。

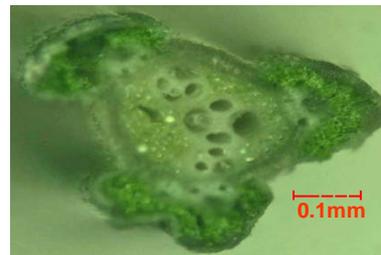


第2図 穂培養における培地減少量と穂重増加量との関係

■タカナリ、○あきたこまち、□アケノホシ、△コシヒカリ

第2表 大維管束数直径の合計値と0~10日茎重減少量

品種	大維管束直径(μm)		減少量 (g/m <sup>2</sup> )
	1次	2次	
あきたこまち	113	53	91
コシヒカリ	88	68	69
タカナリ	176	47	249
アケノホシ	125	58	77



第3図A  
タカナリの1次枝梗の横断面



第3図B  
アケノホシの1次枝梗の横断面

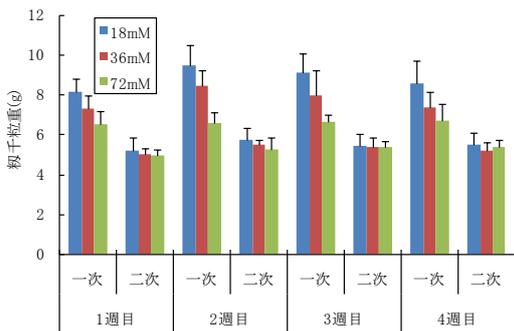
(2) 穂培養法を活用した登熟初期における窒素代謝と炭水化物代謝との因果関係の解明

① 培養液の窒素濃度が粒重増加に及ぼす影響

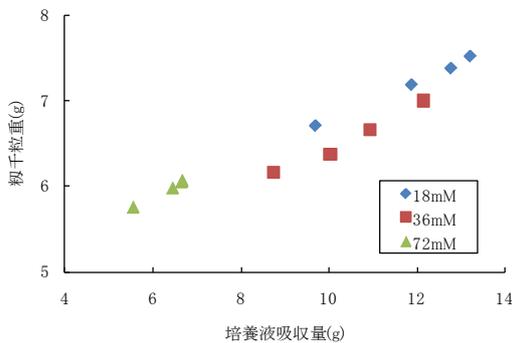
品種‘コシヒカリ’および‘あきたこまち’を用いて、第1表に示した培地成分のうち、 $\text{NH}_4\text{NO}_3$ 濃度が18mM、36mM、72mMとなるよう培養液を調整した。

第4図にコシヒカリの籾千粒重の推移を示した。籾千粒重は2週目が最大となり、その後はほとんど増加しないか、むしろ減少した。特に、高 $\text{NH}_4\text{NO}_3$ 濃度(72mM)区は、籾千粒重の値が低く推移した。

この原因を探るために、培養液の吸収量と千粒重との関係を求めると(第5図)、両者の間には比例関係が認められたが、高 $\text{NH}_4\text{NO}_3$ 濃度(72mM)のものは、他の処理に比べ培養液の吸収量が極端に少なかった。大量に $\text{NH}_4$ が供給されることにより糖がデンプンに同化されず、籾中に糖が蓄積し、培養液の受動的吸水がおこらず、吸収量が低く推移したのではないかと考えられた。このことが高窒素濃度で籾千粒重が低い原因であると推察した。



第4図 培養液の窒素濃度が籾千粒重に及ぼす影響。図中の棒線は標準偏差



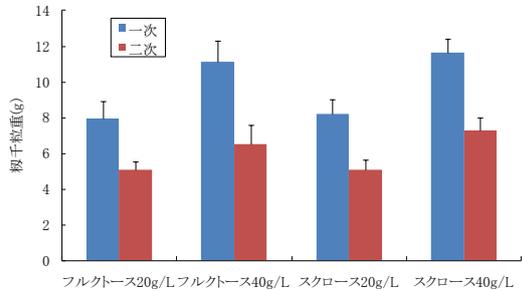
第5図 培養液吸収量と籾千粒重との関係

② 培養液の糖濃度および糖の種類が粒重増加に及ぼす影響

品種‘ハナエチゼン’を用いて、スクロー

スとフルクトースそれぞれ糖濃度が20、40g/Lとなる培養液を作成した。

培養開始4週目において、スクロース、フルクトースとも、20g/Lに比べ40g/Lのほうが一次及び二次枝梗着生籾ともに千粒重の値が大きかった(第6図)。また、同じ糖濃度でのスクロースとフルクトースとの間に明確な差を見出すことはできなかった。



第6図 培養液の糖濃度および糖の種類が穂培養4週目の籾千粒重に及ぼす影響。図中の棒線は標準偏差

(3) 穂培養における光環境が粒重増加に及ぼす影響の解明

① 穂培養環境と穂部の蒸散が粒重増加に及ぼす影響

品種‘アキヒカリ’を供試し、室内と屋外で穂培養を行った。また、それらの一部には、穂部からの蒸散を抑制する目的で、トレーシングペーパーで作った袋で1穂ずつ被覆する区も設けた(第7図)。

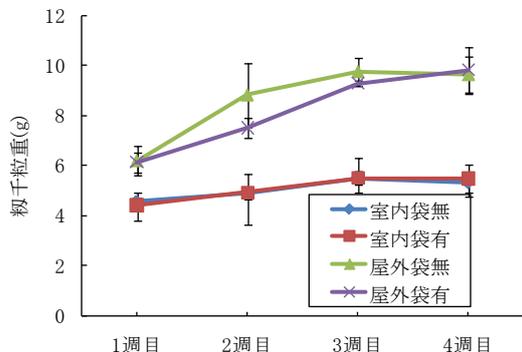


第7図 穂培養の様子

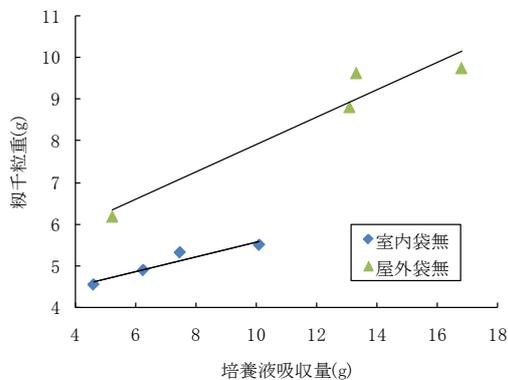
各処理の籾千粒重の推移を第8図に示した。培養1週目から室内と屋外で千粒重の値に大きな差が表れ、培養4週目には、屋外の千粒重は室内のものに比べ約4g大きな値を示した。穂を紙で被覆することによる蒸散の抑制効果は、室内・屋外培養ともに明確な差を認めることができなかった。

無袋区において、培養液吸収量と千粒重との関係を第9図で見ると、屋内、屋外にかかわらず、どちらの処理も培養液吸収量と千粒

重は比例的な関係であることが示された。しかし、屋外培養は、室内での培養に比べ培養液の吸収量は多く、同じ培養液吸収量であれば、屋外で培養のものの方が千粒重が大きい値を示した。



第8図 穂培養環境が千粒重に及ぼす影響



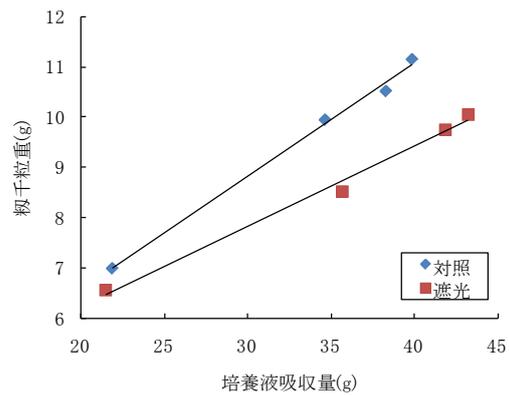
第9図 培養液吸収量と千粒重との関係

## ②穂部への太陽光照射の有無が粒重増加に及ぼす影響

前項で屋外での培養環境が粒重増加に影響することが確認できた。そこで、品種‘アケノホシ’を用いて、屋外で培養したものに、太陽光を遮る処理区を設けることで、穂部への太陽光照射の有無が粒重増加に及ぼす影響を検討した。

穂培養では、培養液吸収量が多いものほど粒重増加は大であり、両者の間には比例関係が成立した(第10図)。しかし、同じ培地吸収量であっても太陽光が当たった穂の粒重増加が大であった(第10図)。また、太陽光の代わりにLED光源を用いて、青色光および赤色光を照射して遮光下での粒重増加と比較検討したが、いずれの波長光でも千粒重増加に差は認められなかった。これより、粒重の増大には太陽光の照射が有効であると言えた。

日射による粒重増大の要因として、日射が籾殻の光合成に寄与している可能性および穂部での糖代謝に関与している可能性が推測できた。

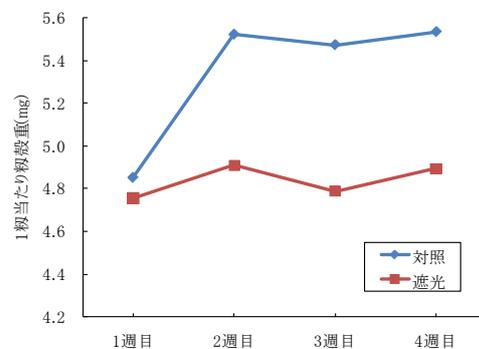


第10図 培養液吸収量と千粒重との関係

そこでまず、粒重増加の及ぼす籾殻の光合成の寄与について検討した。現象を解明するために、粒重を籾殻重と玄米重とに分け、日射の有無が籾殻重に及ぼす影響を検討した。

日射下で培養した穂の籾殻重は1週から2週にかけて増加したがその後は一定であった(第11図)。一方、遮光下での増加は見られなかった。また、糖を含まない培地(無糖)で日射の有無による粒重増加を検討した結果、日射下の粒重増加は大であったが、それは培養液吸収量の増大によってもたらされたものであった。

これらより、日射下での籾殻の光合成はわずかに認められ、その寄与率(籾殻増加量/籾増加量×100)は最大で23%であった。

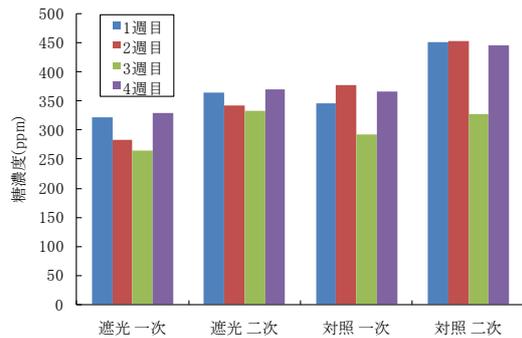


第11図 1 籾当たり籾殻重の推移

次に、日射が穂部の糖代謝に関与している可能性について検討した。穂培養で吸収された糖は籾殻から玄米へと移行するとの前提で、籾殻に含まれる全糖含有率を調査した。

その結果を第12図に示した。遮光下の籾殻中全糖含有率は日射下よりも若干低いものの、玄米で合成されるデンプンの基質として十分にあると考えられた。

これより、日射が籾殻から玄米への糖の移行に関与している可能性は低く、玄米中のデンプン合成に日射が関与していることが示唆された。



第12図 籾穀中に含まれる全糖濃度

これらより、日射による籾千粒重の増大は、籾穀の光合成による増加と、玄米中での糖からデンプンへの転換が活性化されたことに起因しているのではないかと推察した。

#### (4) まとめ

穂培養法で培養2週間で粒重増加が停止してしまう原因は、培養液または培養液の糖濃度と穂の通導器官が関与している可能性が大であった。また、穂培養の適用はシンク機能を評価することが可能となった。シンク機能といっても多くの要因をあげることができるが、例えば穂軸などの輸送系の評価が可能である。

さらには、粒重増加に太陽光が関与している可能性を指摘できたのも、穂培養法を登熟の解析に用いたからであり、この発想および実験自体が独創的なものである。

本研究で得られた成果は、シンク機能の高い品種の改良および登熟歩合の向上のための新しい栽培技術へ応用することができ、多収穫栽培技術の発展に貢献するものと思われる。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計2件)

① 山口武視・岩本裕己：太陽光は粒重増加を増大させる。日本作物学会紀事 79 別 2：254-255. 2010.

[http://www.jstage.jst.go.jp/article/jcsproc/229/0/254/\\_pdf/-char/ja/](http://www.jstage.jst.go.jp/article/jcsproc/229/0/254/_pdf/-char/ja/)

② 山口武視・小室宏輔・畑中麻子・中野淳一：水稲多収性品種タカナリの登熟特性の解析。日本作物学会紀事 78 別 1：224-225. 2009.

[http://www.jstage.jst.go.jp/article/jcsproc/227/0/224/\\_pdf/-char/ja/](http://www.jstage.jst.go.jp/article/jcsproc/227/0/224/_pdf/-char/ja/)

[学会発表] (計2件)

① 山口武視・岩本裕己：太陽光は粒重増加を増大させる。日本作物学会、2010年3月30日、宇都宮大学農学部

② 山口武視・小室宏輔・畑中麻子・中野淳一：水稲多収性品種タカナリの登熟特性の解析。日本作物学会、2009年3月28日、つくば国際会議場エポカルつくば

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

山口 武視 (YAMAGUCHI TAKESHI)

鳥取大学・農学部・教授

研究者番号：30182447