

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 4月16日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22780014

研究課題名（和文）イネにおける水および酸化ストレス交差耐性を利用した品種選抜方法の検証

研究課題名（英文）Evaluation of cross-tolerance to water and oxidative stress for selection method in rice cultivar breeding

研究代表者

本間 香貴 (HOMMA KOKI)

京都大学・大学院農学研究科・講師

研究者番号：60397560

研究成果の概要(和文):イネにおける水および酸化ストレス耐性を評価する実験系を確立した。この評価方法に基づいて育種系統を選抜し、栽培試験を行ったところ、収量性や酸化ストレス耐性に改善効果が見られた。しかしながら養分の吸収特性など他の形質による影響も大きかったため、今後は本法に加え、複数の方法による評価が必要であると考えられた。

研究成果の概要(英文): The evaluation method for cross-tolerance to water and oxidative stress was established in rice. Lines selected by the method showed better performance in oxidative stress tolerance and yield in field experiment. However, the other factors, such as nutrient uptake ability, also significantly affected the performance, suggesting several evaluation methods are suitable to select lines in addition to this method.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2011年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

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：食用作物・イネ

## 1. 研究開始当初の背景

天水田とは灌漑設備がなく、降雨由来の水に依存した栽培を行っている水田の事であり、世界のイネの栽培面積の3分の1を占める。そこでの生産性は灌漑田の約半分と非常に低い。これまで人口増に伴う米需要の増加は、水や施肥管理のできる灌漑田が賄ってきたが、生産性の増加速度は頭打ちとなっており、天水田での生産性の大幅な増加が求めら

れている(Serraj 2009)。しかしながら降雨の不安定さに起因する水ストレスの頻発に加え、多くの天水田において土壌の貧栄養が問題となっており、生産性の改善はあまり進んでいない(鴨下 2009)。

植物は様々なストレスを受けると光合成速度が低下し、過剰となった光エネルギーにより活性酸素種(ROS)が発生する(Asada 2006)。通常このROSは細胞内の抗酸化機能

により無害化されるが、ストレス程度が激しいと抗酸化が間に合わず、光合成が光阻害を受け、さらに膜を始め細胞内器官がダメージを受ける(Zhou ら 2007)。従って抗酸化機能に優れた酸化ストレス耐性を持つことは、様々なストレスに対しても耐性を持つと考えられている(Selote and Chopra 2006)。

## 2. 研究の目的

タイの東北部は上述した天水田が水田面積の 90%を占め、世界でも有数の天水田地帯である。イネの収量は平均で 1.9t/ha とタイ中部の 3.2t/ha と比べても著しく低く、生産性が降雨量と土壌の低肥沃度により制限されているため、天水田研究のためのモデル地域となっている。

本研究は光合成を阻害し活性酸素を発生させる物質であるメチルピオロゲン(MV)を用いて、酸化ストレス耐性を評価する簡易選抜方法をイネに適用し、水ストレスが頻発し、高日射環境であるタイ東北部ウボン県の天水田において、研究代表者の提案する簡易選抜手法の有効性を量的に評価することを目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1) 農家圃場におけるイネの酸化ストレス状態の評価

本研究の意義を評価するために、実際の農家圃場におけるイネの酸化ストレス状態に関する調査を行った。ウボンラチャタニ稲研究所近辺の、研究代表者がかつて調査を行っていた農家圃場群を対象とした。出穂前および出穂後の 2 時期に、葉身の葉緑体濃度指標 (SPAD) 値を計測後、葉身を採取し、膜安定性指数 (MSI) の計測により酸化ストレス程度を評価した。MSI と SPAD の関係のほか、相対標高や圃場の水掛かり程度などとの関係を解析した。

### (2) 簡易選抜の適用

研究代表者が栽培実験に用いてきた品種群に加え、現地協力機関であるタイ国ウボンラチャタニ稲研究所より提供された育種用系統群に、酸化ストレス耐性に関する簡易選抜方法を適用した。育種用系統は IRRI で育成された CT9993-5-10-1-M と IR62266-42-6-2 の交雑による倍加半数体系統(DHLs)と、DHLs のうち乾燥下において水ポテンシャルの維持力の高かった IR68586-FA-CA-143 に現地育成品種である Surin1 を 3 回戻し交雑して得られた系統群 (BCLs) で構成される、これらの系統群に、これらの親品種や APO や Miliyang23 などの指標となる品種群 (CHKs) を加えて、合計 96 品種・系統で試験を行った。

簡易選抜法では、水耕用トレーに播種し、

2 週間育苗した苗を用いて、光合成阻害物質であるメチルピオロゲン (MV) を処理し、光環境にさらして活性酸素を発生させて植物体にダメージを与えた。酸化ストレスの程度はクロロフィル蛍光による最大量子収率 (Fv/Fm) および膜安定性指数 (MSI) で評価した。

同時に水耕液にポリエチレングリコール (PEG) を処理し、水ストレスを与えて、上記と同様に Fv/Fm および MSI を計測し酸化ストレス程度を評価した。

以上の MV 処理および PEG 処理によって評価が異なる 20 品種・系統を選抜して (3) の試験に供試した。

### (3) 選抜品種・系統群を用いた圃場実験

上述の実験 (2) で選抜した 20 品種・系統を用いて、栽培実験を行った。研究所内に天水田を模した非湛水区と、常に湛水状態とした湛水区を設置した。

現地農家の栽培方法に準じて移植日や施肥量を設定し、栽培を行った。各品種・系統の乾物生産量・収量を計測するほかに、生育期間中に個葉のクロロフィル蛍光を測定することにより、植物体の酸化ストレス (光阻害) 程度を評価した。

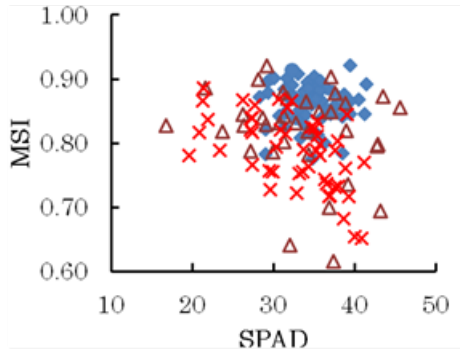
## 4. 研究成果

### (1) 農家圃場におけるイネの酸化ストレス状態の評価

出穂前である 9 月 26 日の調査では MSI は平均 0.86 であったが、出穂後の登熟期間である 10 月 29 日からの 4 日間の調査では平均 0.82 と低下した。最小で 0.62 を示すなど、0.7 を切る測定値も観察され、酸化ストレスにより細胞膜が傷害を受けていることが推察された。MSI の低下は主に SPAD 値の高い葉色の濃い葉で生じており (第 1 図)、これは活性酸素の発生にクロロフィルが必要なためであると考えられる。一方で、葉色の濃い葉で必ずしも MSI の低下が起こっていたわけではないため、MSI の低下には別な要因が関係していると考えられた。調査地では水や養分が地形に応じて変化しているため、相対標高に対して MSI をプロットしたが、ほぼ無相関に近く有意な関係は得られなかった。湛水や倒伏の影響もはっきりとはしなかった。

以上のように MSI に関与する要因として SPAD 値の影響が一番大きかった。そこで SPAD 値以外の要因の影響を評価するために、10 月 29 日以降の 4 日間のデータを用いて重回帰分析を行った (表 1)。測定日と湛水の効果は 10%水準ではあるが、いずれの項目も有意な回帰係数を示し、様々な要因で MSI が変化することが示唆された。測定日とともに低下する傾向が見られたことから、水ストレ

スもしくは成熟に伴うシンク活性の低下などが、光合成の低下を通して酸化ストレスを引き起こしたと推察される。また、リン欠乏様相を呈した葉で MSI の低下を示す事例が観察され、養分バランスが酸化ストレスの一因になることも考えられた。



第1図 SPADとMSIの関係.9月26日(◆), 10月30日(△), 11月1日(×)のものを示した。

第1表 MSI に対する SPAD,測定日, 相対標高, 湛水, 倒伏の単相関係数と, 重回帰における偏回帰係数, P 値および標準化偏回帰係数。

	r	Multiple regression		
		b <sup>1)</sup>	P	b <sup>*2)</sup>
interception		0.95	0.00	
SPAD	-0.36	-0.0036	0.00	-0.37
Date	-0.04	-0.0067	0.06	-0.13
Hight	0.09	0.012	0.05	0.16
Flooded	-0.12	-0.017	0.06	-0.14
Lodging	0.12	0.042	0.00	0.32

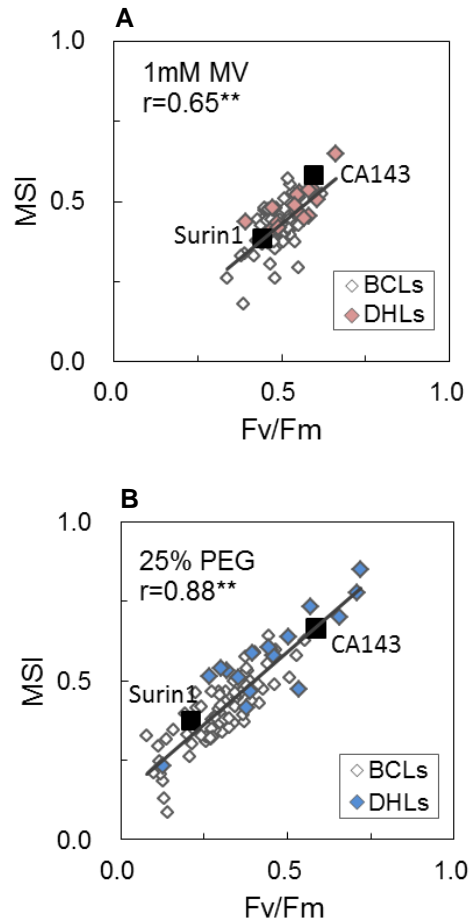
<sup>1)</sup> partial regression coefficient  
<sup>2)</sup> standardized partial regression coefficient

## (2) 簡易選抜の適用

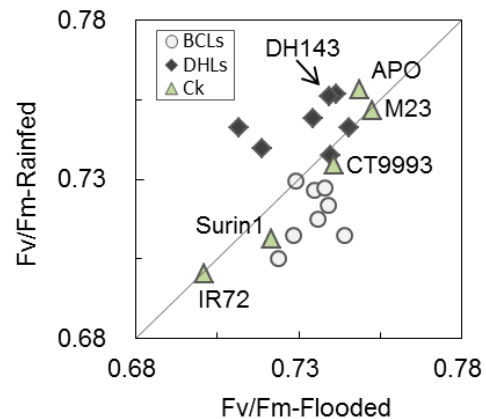
酸化ストレスを引き起こす MV 処理だけでなく, PEG 処理による水ストレス環境下においてもイネは酸化ストレス状態を示し, 光化学系 II の最大量子収率 (Fv/Fm) および細胞膜の安定性指数 (MSI) で表される酸化ストレス程度には大きな遺伝子型間差異が観察された (第2図). これら両者のストレスの種類にかかわらず, Fv/Fm と MSI には強い相関関係が見られた。

DHLs の Fv/Fm および MSI は BCLs より高い傾向にあり, DHLs は酸化ストレス耐性が強いと考えられた. MV 処理と PEG 処理には有意な相関関係が存在し, 両者の相関係数は Fv/Fm 値において 0.41, MSI 値において 0.36 であった. この有意な関係は酸化ストレス耐性が水ストレス耐性に寄与することを示唆している。

以上の簡易選抜試験における結果をもとに, 耐性のことなる品種・系統が選抜された. その内訳は BCLs9 系統, DHLs8 系統, これに Surin1, IR72, Miliyan23 を加えた 20 品種・系統である。



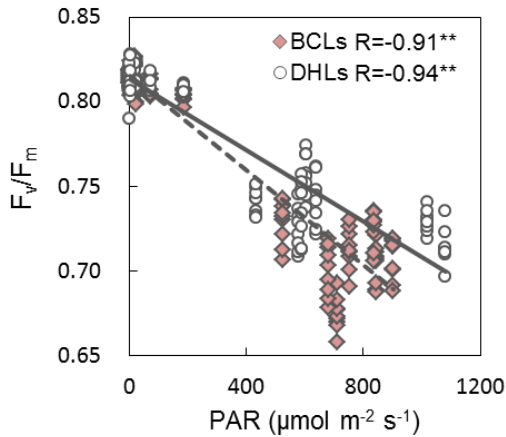
第2図 (A) MV による酸化ストレス処理, および (B) PEG による水ストレス処理における Fv/Fm および MSI 値の遺伝子型間差異。



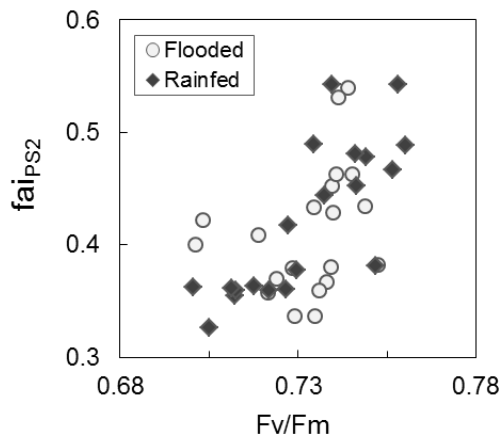
第3図 湛水区 (Flooded) と非湛水区 (Rainfed) とにおける, 日中の Fv/Fm 値の関係。

(3) 選抜品種・系統群を用いた圃場実験

非湛水区における Fv/Fm 値は、DHLs よりも BCLs で小さく、簡易選抜における評価と一致した(第3図)。一方、湛水区では DHLs と BCLs の差は明瞭ではなかった。非湛水区における DHLs と BCLs の差は、特に高日射環境下で顕著であった(第4図)。



第4図 非湛水区における日射が Fv/Fm 値に与える影響。



第5図 湛水区 (Flooded) および非湛水区 (Rainfed)における Fv/Fm と faipS2 の関係。

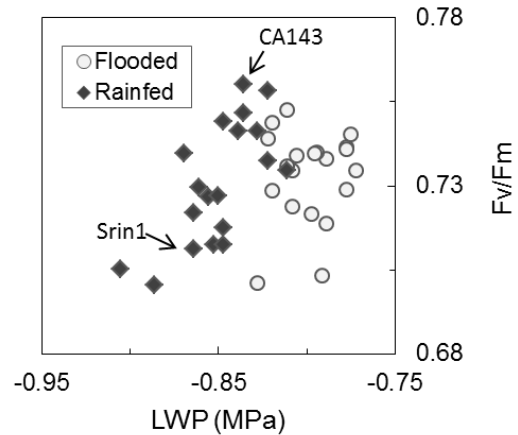
Fv/Fm 値の低い系統では電子伝達速度 (faipS2) も低い傾向が見られた(第5図)。faipS2 の低下は光合成の低下を示唆し、また電子伝達鎖における過剰還元を引き起こし、酸化ストレス被害を増加させていると考えられる。

葉身水ポテンシャル (LWP) も非湛水区で減少し、DHLs と比較して BCLs での低下が大きい傾向にあった(第6図)。faipS2 と同様に、Fv/Fm の低い遺伝子型で、LWP が低い傾向にあった。

以上の結果は乾燥ストレスと酸化ストレスに対する生理的な機構が、互いに似通っていることを示唆している。

非湛水区における収量を調査したところ、

日中の Fv/Fm 値の低い品種で、収量が低い傾向にあった(図省略)。しかしながら養分吸収などの他の形質による影響も大きく、酸化ストレス耐性付与による収量性改善効果を量的に示すことができなかった。従って本研究による酸化ストレスおよび水ストレスに対する簡易評価手法は、他の評価手法と組み合わせることによってより効果的になると考えられた。



第6図 湛水区 (Flooded) および非湛水区 (Rainfed)における葉身水ポテンシャル (LWP) と Fv/Fm の関係

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 Iseki, K., Homma, K., Jongdee, B. (2012) Oxidative stress and its relation to radiation use efficiency in rice growing under rainfed condition in Northeast Thailand. Proc. the 7th Asian Crop Science Conference. (in press). (査読なし)
- ② Iseki, K., Homma, K., Jongdee, B. (2012) Identification of physiological traits for drought tolerance in rice. 1. Evaluation of oxidative stress tolerance. Proc. The Annual Meeting of Rice Research Center in Northeast Thailand. (in press). (査読なし)

[学会発表] (計3件)

- ① 本間香貴, 他7名(2012) 東北タイ天水田農家圃場における水稻の酸化ストレス状態. 第233回日本作物学会講演会, 2012年3月29・30日, 東京農工大学.
- ② 井関洗太郎, 本間香貴, Boonrat Jongdee, 白岩立彦(2012) 穏やかな乾燥条件に順化したイネは強い乾燥ストレス下で高い光呼吸速度を示す. 第233回日本作物学

会講演会，2012年3月29・30日，東京農工大学。

- ③ 井関洗太郎, 本間香貴, Boonrat Jongdee (2011) イネの乾燥ストレス下における生育と酸化ストレス耐性に関する遺伝的変異 第2報 東北タイにおける天水条件下での光化学系 II 電子伝達活性と酸化傷害. 第231回日本作物学会講演会, 2011年3月30・31日, 東京農業大学

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

本間 香貴 (HOMMA KOKI)  
京都大学・大学院農学研究科・講師  
研究者番号：60397560

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

なし

### (4) 研究協力者

井関 洗太郎 (ISEKI KOHTARO)  
京都大学・大学院農学研究科・大学院生  
Mekwatanarkarn, Poonsak  
Ubon Ratchathani Rice Research Center・  
Director  
Jongdee, Boonrat  
Ubon Ratchathani Rice Research Center・  
Researcher