

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 3 月 31 日現在

機関番号：32663
 研究種目：研究活動スタート支援
 研究期間：2010～2011
 課題番号：22880036
 研究課題名（和文）バイオマス生産能力向上におけるショ糖リン酸合成酵素の有効性の実証
 研究課題名（英文）The effects of changes in sucrose-phosphate synthase gene expression to the biomass production in rice.
 研究代表者
 廣津 直樹（HIROTSU NAOKI）
 東洋大学・生命科学部・准教授
 研究者番号：40584389

研究成果の概要（和文）：*OsSPSI* 遺伝子周辺の染色体をカサラス型染色体に置換した染色体断片置換系統[CSSL(SPS)]を開放系大気 CO₂ 増加実験 (FACE) 圃場で栽培し、FACE 効果および CSSL 効果による高 SPS 活性がバイオマス生産に及ぼす影響を評価した。その結果、幼苗期における CSSL(SPS) および高 CO₂ 濃度条件下において *OsSPSI* の遺伝子発現レベルが増加することを明らかにした。また、FACE 区の CSSL(SPS) において 収穫期の稈の乾物重が有意に増加した。高 CO₂ 環境下において稈のバイオマスを増加させるためには、*OsSPSI* の遺伝子発現レベルを増加させることが有効であることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：I tested the effects of free air CO₂ enrichment (FACE) on *OsSPSI* gene expression and biomass production using chromosome segment substituted line which carries Kasalath allele *OsSPSI* [CSSL(SPS)]. *OsSPSI* gene expression levels and the dry weight of culm were increased in CSSL(SPS) under FACE condition.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,260,000	378,000	1,638,000
2011 年度	1,160,000	348,000	1,508,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,420,000	726,000	3,146,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：作物学・雑草学

キーワード：イネ、染色体断片置換系統、ショ糖リン酸合成酵素 (SPS)、開放系大気 CO₂ 増加 (FACE)

1. 研究開始当初の背景

アジアの人口は今後爆発的に増加すると予想され、食糧不足に至ることが確定的事実となりつつある。耕作面積の飛躍的な拡大が見込めない現状においては、アジア地域の主食であるコメの増産が求められている。イネの収量は主にシンクサイズとソース能によ

り決定される。これまでにシンクサイズに関与する複数の遺伝子は特定され、実際にゲノム育種法によるシンクサイズの拡大が実現している (Ashikari ら Science 2005 309:741-745)。一方でソース能の拡大に関与する遺伝子は特定されていない。

20 世紀後半のイネ多収性品種の育種にお

いて、半矮性品種を多肥栽培することにより見かけ上のソース能を上げてきた。しかしながら、半矮性品種は長稈品種に比べてソースとしてのポテンシャル能力が低いことが作物生理学的に明らかとなっている(翁ら 1982 日作紀 51:510-518、武田ら 1983 日作紀 52:299-306)。イネの収量を飛躍的に向上させるためには、これまで半矮性・多肥栽培により行われてきた多収方針を 180 度転換し、ソース・バイオマス生産向上に主眼を置いた育種を行う必要がある。

ソース・バイオマス生産向上に関与する遺伝子として、唯一、イネの第 1 番染色体に座乗する草丈を増加させる量的形質遺伝子座 (QTL) の原因遺伝子としてショ糖リン酸合成酵素 (SPS) 遺伝子 (*OsSPS1*) が特定された (Ishimaru ら 2004 *Planta* 218:388-395)。これ以前から SPS 活性とイネの生長速度との間に正の相関関係が見られることが知られており (Seneweera ら 1995 *Plant Physiol* 108:1471-1477)、SPS 遺伝子の過剰発現による形質転換イネにより SPS 活性の増加が炭水化物代謝を含むソース能に与える影響が調べられてきた (Ono ら 2003 *Plant Prod. Sci.* 6:281-286)。しかしながら、形質転換植物体であるため、グロースチャンバーという限定された環境下でのソース能の評価に止まっている。イネ以外では、トマト (Laporte ら 1997 *Planta* 203:253-259) およびジャガイモ (Ishimaru ら 2008 *Plant Prod Sci* 11:104-107) で SPS 遺伝子の過剰発現植物が圃場栽培され、いずれもコントロールと比べて 20%程度の収量 (それぞれ果実および塊茎) 増加が確認されている。

現在、大気中の CO_2 濃度は約 390 ppm であるが、今世紀末には倍増すると予測されている。現在の CO_2 濃度条件下においてイネの光合成速度は、 CO_2 の拡散を含む

ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase による CO_2 固定反応により律速されているが、高 CO_2 濃度条件下では、電子伝達反応および最終産物生産反応により律速される (Sharky ら 1985 *Bot Rev* 51:53-105)。すなわち高 CO_2 濃度条件下では、光合成の最終産物であるショ糖合成経路の律速性が増し、SPS が光合成速度に直接的に影響を及ぼす可能性がある。また、高 CO_2 濃度条件下においては SPS 活性が増加すること (Seneweera ら 1995)、加えてこの活性増加は、SPS 遺伝子の転写レベルで制御されていることが明らかになっている (Aoki ら 2003 *Plant Prod Sci* 6:52-58)。これらのことから、高 CO_2 濃度条件下では SPS の重要性がより高まるのではないかと予想される。

Ono ら (2003) は、SPS 過剰発現イネを高 CO_2 濃度を再現したグロースチャンバーで栽培し、コントロールに比べてデンプンの蓄積が

低下し、炭水化物の転流が改善されるという結果を得ている。しかしながら、グロースチャンバーなどの人工環境下においては、光量不足、根圏の不足および密閉空間による無風・高温条件などにより、ソース能という環境因子の影響を大きく受ける形質の評価は困難であった。NIL などの非遺伝子組み換え植物を用いた開放系大気 CO_2 倍加実験 (FACE) で、実際の圃場に近い環境下での評価が必要である (小林 2001 日作記 70:1-16)。

2. 研究の目的

コシヒカリ (*OsSPS1*) が座乗する染色体部位をインディカ品種のカサラス由来染色体に置き換えた染色体断片置換系統 (CSSL) を用いた解析により、カサラス型の SPS が SPS 活性を増加させ、草丈および地上部乾物重を増加させることを明らかにしてきた (Hirotzu ら 2008 *Plant Physiol Biochem* 46:517-523)。この結果は、コシヒカリとカサラス間の SPS 遺伝子の塩基配列の差異が、SPS 活性ひいてはバイオマス生産を増加させることを示唆している。申請者らが用いる CSSL 系統のメリットは、圃場栽培が可能であるため、カサラス型 SPS 遺伝子による高 SPS 活性がソース能に与える影響を圃場レベルで解析することが容易な点にある。今後、高 SPS 活性が、イネ体内の炭水化物代謝にどのように影響し、バイオマス生産にどのように影響するのか、自然栽培条件下で詳細に解析することが期待される。

そこで本課題では、高 SPS 活性が期待される CSSL をソース能が十分に発揮される条件 (FACE) で栽培し、バイオマス生産能力向上における SPS の有効性を自然栽培条件下で評価することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 材料

コシヒカリの SPS 遺伝子 (*OsSPS1*) が座乗する染色体部位をインディカ品種のカサラス由来染色体に置き換えた CSSL (SPS) を、通常大気 CO_2 濃度条件下 (Ambient 区、約 390ppm) と高 CO_2 濃度条件下 (FACE 区、約 590ppm) で各 4 区ずつ栽培した。

(2) 解析項目

① *OsSPS1* 遺伝子発現量の測定

播種後 1 ヶ月の幼苗期、移植後 28 日後の栄養成長期、69 日後の出穂期に各区それぞれ 3 個体ずつ最上位完全展開葉の葉身をサンプリングし、液体窒素で凍結させた後 -80°C で保存したサンプルを用いて、*OsSPS1* 遺伝子発現量の測定を行った。測定は SYBR Green I を用いたリアルタイム PCR 法によって行い、遺伝子発現量は $\Delta\Delta\text{Ct}$ 法により求めた。リファレンス遺伝子として *OsUBQ1* を用いた。

②生育・バイオマスの測定

各生育時期における草丈を調査した。また、移植後 123 日の収穫期に各区 6 個体ずつの主稈および各区 3 個体ずつ株全体をサンプリングし、各部位ごとの長さおよび乾物重を測定した。

4. 研究成果

(1) *OsSPS1* 発現レベルの比較

まず幼苗期における *OsSPS1* 発現レベルを比較した結果、幼苗期では CSSL (SPS) の *OsSPS1* 発現レベルはコシヒカリに対して約 2 倍高かった (図 1)。次に、FACE 区と Ambient 区で栽培したコシヒカリおよび CSSL (SPS) の *OsSPS1* 発現レベルを調べた。その結果、栄養成長期の *OsSPS1* 発現レベルはコシヒカリと CSSL (SPS) とで有意な差は見られなかったが、FACE 区の *OsSPS1* 発現量が Ambient 区に対して有意に増加していた (図 2)。一方で、出穂期における *OsSPS1* 発現レベルはどの実験区においても差は見られなかった (図 3)。これらのことより、CSSL 効果による *OsSPS1* の遺伝子発現レベル増加は、幼苗期のみ現れることが明らかとなった。また、高 CO₂ 濃度条件下において *OsSPS1* の遺伝子発現レベルが増加するということが、圃場レベルで明らかとなった。

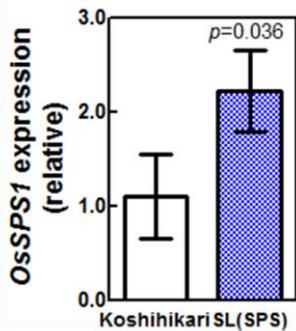


図 1. 幼苗期のコシヒカリおよび CSSL (SPS) における *OsSPS1* 発現レベル

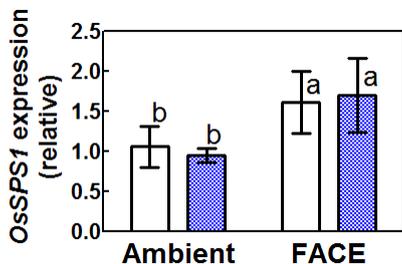


図 2. 栄養成長期における *OsSPS1* 発現レベルの比較

(2) 生育・バイオマスの比較

全ての生育期間を通じて、コシヒカリより

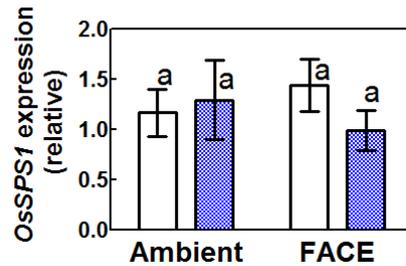


図 3. 出穂期における *OsSPS1* 発現レベルの比較

も CSSL (SPS) の草丈が高く推移した。また出穂期および収穫期において CSSL (SPS) の草丈は、Ambient 区よりも FACE 区で高くなっていた (図 4)。このとき収穫期の植物体の乾物重は、FACE 区の CSSL (SPS) で有意な増加が見られた (図 5)。これらは CSSL 効果と FACE 効果の相乗効果によるものと考えられた。収穫期における主稈の乾物重は Ambient 区よりも FACE 区で有意に増加していた。この稈の乾物重の増加は、コシヒカリ (108%) よりも CSSL (SPS) (116%) の増加率が高く、応答の品種間差が見られた。またこの稈の乾物重の増加は、特に下位節間の増加によるものであったが、節間長や稈の長径 (最大部) に大きな変化が見られなかったことから、デンプンなどの炭水化物の蓄積によるものと考えられた。

以上の結果より、将来の高 CO₂ 濃度環境下においてイネのバイオマス生産、特に稈のバイオマスを増加させるためには、*OsSPS1* の遺伝子発現レベルを増加させることが有効であることが示唆された。

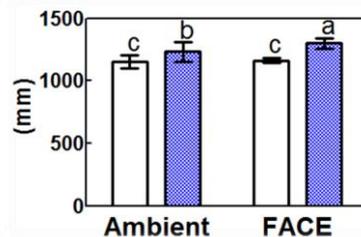


図 4. 収穫期における草丈

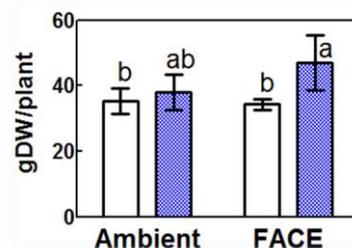


図 5. 収穫期における植物体の乾物重

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 1 件)

- ① Seneweera S., Makino A., Hirotsu N., Norton R., Suzuki Y. New insight into photosynthetic acclimation to elevated CO₂: The role of leaf nitrogen and ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase content in rice. Environmental and Experimental Botany、査読有、71 巻 2 号、2011、128-136

[学会発表] (計 1 件)

- ① 廣津直樹・根岸理紗・氏家和広・常田岳志・酒井英光・中村浩史・長谷川利拡・石丸健、開放系大気 CO₂ 濃度増加 (FACE) が染色体断片置換イネのバイオマス生産に及ぼす影響、日本作物学会第 231 回講演会、2011 年 3 月 30 日、東京農業大学農学部

[その他]

ホームページ等

http://ris.toyo.ac.jp/details/index.php?user_id=1577

6. 研究組織

(1) 研究代表者

廣津 直樹 (HIROTSU NAOKI)
東洋大学・生命科学部・准教授
研究者番号：40584389

(2) 研究分担者 (0)

(3) 連携研究者 (0)