

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 1 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24580022

研究課題名(和文)南米野生イネの洪水適応反応

研究課題名(英文)Adaptive responses of flooding in Amazonian wild rice species

研究代表者

東 哲司(Azuma, Tetsushi)

神戸大学・(連合)農学研究科(研究院)・准教授

研究者番号：30231913

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：アマゾン野生イネ種*Oryza grandiglumis*の2つの系統は、部分的深水で浮稲と同様に節間の伸長を示し、冠水状態では、冠水耐性イネ品種と同様に成長を停止し、氣中に戻すと正常に成長した。これらの系統において、SUBMERGENCE1(SUB1A)遺伝子とSNORKEL(SK)遺伝子は共に検出できなかった。これらの結果は、*O. grandiglumis*のこれらの系統は、SUB1AとSK遺伝子が関与しないメカニズムによって相反する2つの成適応反応を有することを示す。これらの系統の深水下での節間の伸長促進にはエチレンではなく過湿度環境が引き金となっている。

研究成果の概要(英文)：When subjected to gradual submergence, adult plants of the Amazonian wild rice species *Oryza grandiglumis* accessions showed enhanced internodal elongation with rising water level and their growth response closely resembled that of deepwater varieties. On the other hand, when subjected to complete submergence, seedlings of the accessions displayed reduced shoot growth and resumed normal growth after desubmergence, similar to the response of submergence-tolerant varieties of. Neither SUBMERGENCE1A (SUB1A) nor the SNORKEL (SK) genes were detected in the accessions. These results indicate that the *O. grandiglumis* accessions are capable of adapting successfully to flooding by activating two contrasting mechanisms and that each mechanism of adaptation to flooding is not mediated by SUB1A or the SK genes. The enhanced internodal elongation of submerged *O. grandiglumis* plants is not triggered by ethylene accumulated during submergence but by the moist surroundings provided by submergence.

研究分野：熱帯有用植物学

キーワード：洪水適応 浮稲 冠水耐性

1. 研究開始当初の背景

洪水は陸生植物の生育を制限する環境ストレスの1つであり、熱帯低湿地では毎年発生する自然災害となっている。近年、その発生頻度は増加しており、地球温暖化との関連が疑われている。熱帯地方で毎年発生する洪水により食糧生産が多大な被害を被っている。これは、農作物が洪水により部分的な浸水や冠水に曝されることによって、低酸素・無酸素状態になり、その結果、好気呼吸が極度に制約されることに起因する。ほとんどの陸生植物にとって、洪水は生存を脅かす不良環境であるが、*Oryza* 属、*Rumex* 属、*Echinochloa* 属の中には洪水に適応するメカニズムを発達させた種がある。これらのうち *Oryza* 属の栽培種である *O. sativa* のなかには、浮稲と呼ばれる洪水に適応する品種と冠水耐性稲と呼ばれる洪水に耐性を示す品種が存在する。

浮稲は主に東南アジアの大河流域の氾濫原で栽培されているインド型品種で、数ヶ月にわたる長期間の水位上昇に伴い節間を伸長させ、水没することなく水面上に常に葉の一部を出して光合成を行うことで生育を続ける。この浮稲の深水に対する反応は、水没から逃れる反応であることから回避戦略(浮稲性)と呼ばれており、植物ホルモンであるエチレンが水中で蓄積することが引き金となる。浮稲性を誘導する遺伝子として *SNORKEL1 (SK1)* と *SNORKEL2 (SK2)* が同定されており、共にエチレン応答性転写因子であり、エチレンにより発現が誘導される。一方、冠水耐性稲は、幼苗期に短期間の冠水に遭うと成長を止めることでエネルギーの消耗を抑え、洪水が引いた後に保存しておいたエネルギーを利用して再成長する品種である。そのためこれらの品種の反応は、静止戦略(冠水耐性)と呼ばれており、これも水中で組織中に蓄積するエチレンが引き金となる。冠水耐性を導く遺伝子として *SUBMERGENCE1A (SUB1A)* が同定されており、これもエチレン応答性転写因子である。栽培稲 (*O. sativa*) の中には、回避戦略(浮稲性)と静止戦略(冠水耐性)の2つの反応を合わせ持つ品種は今までのところ見つかっていない。

2. 研究の目的

Oryza grandiglumis と *Oryza glumaepatula* は主に南米に自生するイネ野生種であり、そのなかには洪水によって年間の水位変動が 10 m 以上に達するようなアマゾン川氾濫原に生息する系統が存在する。本研究は、これらのイネ野生系統における洪水環境での回避戦略(浮稲性)と静止戦略(冠水耐性)の有無と、洪水適応様式を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 浮稲性の調査

播種後 50 日齢の野生イネ系統の植物体を用いて 1 日おきに 5cm の水位上昇処理を 58 日間行い、その成長反応を伸長能力の高い浮稲品種 *Habiganj Aman (HA II)* と伸長能力が低い浮稲品種 *T442-57* の成長反応と比較することで、長期間の洪水に対する応答を調べた。

(2) 冠水耐性の調査

播種後 14 日齢の野生系統の植物体を用いて、7 日間の冠水(水没)処理を行い、その後さらに気中で 14 日間栽培して生育を調査し、代表的な冠水抵抗性品種 *Flood Resistant 13A (FR13A)* と成長反応を比較した。

(3) 遺伝子解析

O. sativa において浮稲性を付与する *SK1* と *SK2* 遺伝子と冠水耐性を付与する *SUB1A* 遺伝子の野生型系統における存在の有無を調査するために、既知の遺伝子配列を参考に複数のプライマーのセットを用いてゲノム DNA を PCR 解析した。さらに、これらの遺伝子の発現解析も行った。

4. 研究成果

(1) *Oryza grandiglumis* の反応

調査した全ての野生系統 (*W0613, RS8-H*) と栽培品種 (*T442-75, HA II*) で植物体は水没することはなく、*O. grandiglumis* の両系統と *HA II* では水位の上昇速度と総節間の伸長速度が常にほぼ一致した。(図 1)。また、成長解析を行い、*O. grandiglumis* と *HA II* の水位上昇環境での相対成長率は気中栽培環境の

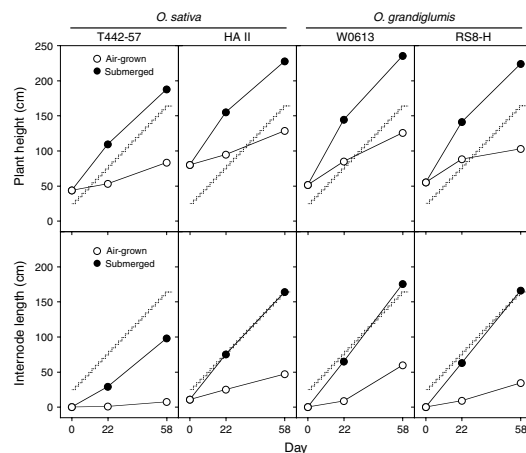


図 1 *O. grandiglumis* (*W0613, RS8-H*) と浮稲 (*T442-57, HA II*) の水位上昇処理に対する伸長反応。播種後 50 日齢の植物体を 2 日間 25 cm の深さに沈めた後、一日おきに 5 cm ずつ 165 cm まで沈めた。対照は期中で同じ期間栽培した。草丈と主稈の節間の総長を処理開始 0, 22, 58 日目に測定した。それぞれの点は 8 個体の平均値±標準誤差を示す。エラーバーは用いたシンボルよりも小さかった。それぞれのパネルの点線は水位を示す。

植物体と差はなく、水位上昇環境での純同化率は共に気中栽培のものよりも有意に高かった。これらにより、*O. grandiglumis* のこれらの系統は、伸長能力の高い浮稲品種と同等の回避戦略（浮稲性）を示すことが明らかとなった。

次に、播種後 14 日齢の植物体を用いて、7 日間の冠水（水没）処理を行い、その後さらに気中で 14 日間栽培し生育を調査し、代表的な冠水抵抗性品種 FR13 と比較した。非耐性イネ品種（HA II）では冠水処理により草丈が伸長し、その後の気中栽培で倒伏して枯死したのに対し、*O. grandiglumis* は FR13A と同様に冠水処理により草丈が伸長することはなく、気中に移すことにより再成長することを認め、*O. grandiglumis* は静止戦略（冠水耐性）も示すことが明らかとなった。静止戦略はより成熟した植物体でも観察され、そのような植物体では穏やかな水位上昇による部分的深水では水位にあわせて節間を伸長させることにより回避戦略をとり、急激な洪水による冠水条件では伸長を止めて静止戦略をとることが観察された。

さらに、*O. sativa* において浮稲性を付与する *SK1* と *SK2* 遺伝子と冠水耐性を付与する *SUB1A* 遺伝子の *O. grandiglumis* における有無を調査した。既知の遺伝子配列を参考に複数のプライマーのセットを用いてゲノム DNA を PCR 解析した結果、*O. grandiglumis* の 2 つの系統共にどのプライマーセットを用いても *SK1*, *SK2*, *SUB1A* は全て増幅されなかった（図 3,4）ことより、これらの遺伝子を全て持っていない可能性が高いことが示され

た。

次に、*O. grandiglumis* の浮稲性と冠水耐性を誘導する要因について検討した。*O. grandiglumis* は深水条件で組織内エチレン濃度は著しく上昇したが、大気中のエチレン処

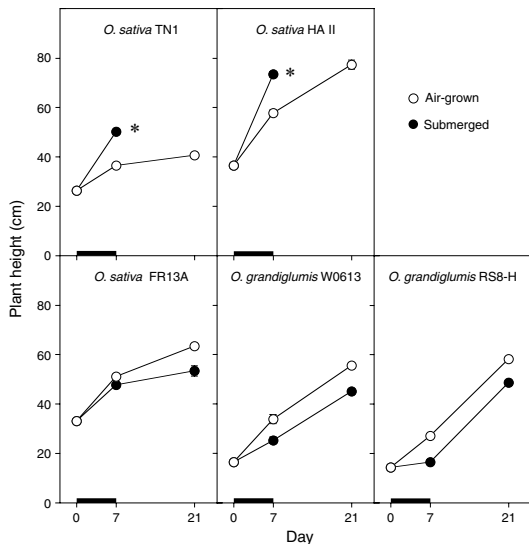


図 2 *O. grandiglumis* と浮稲の実生の草丈に及ぼす冠水の影響。水位上昇処理に対する伸長反応。播種後 14 日齢の植物体を 80 cm の深さに完全に沈めた。冠水 7 日後に植物体を非冠水状態に 14 日間移した。x 軸上の太線は冠水期間を表す。アスタリクスは、冠水後に植物体が枯死したことを示す。対照の植物体は同じ期間中で栽培した。それぞれの点は 8 個体の平均値±標準誤差を示す。エラーバーは用いたシンボルよりも小さかった。

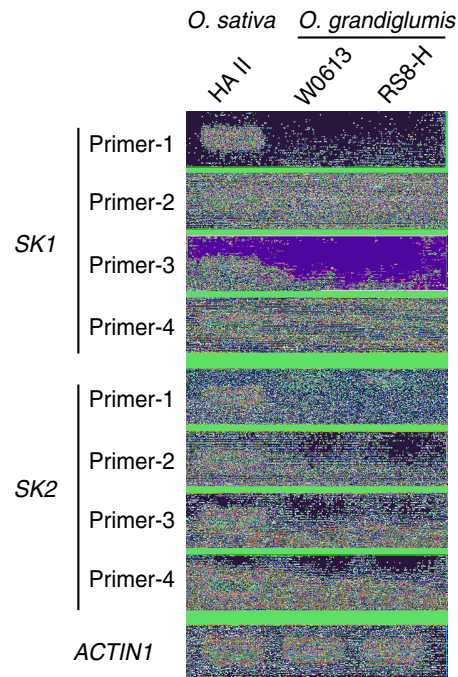


図 3 *O. grandiglumis* における *SK1* と *SK2* 遺伝子の解析。*O. grandiglumis* (W0613, RS8-H) と浮稲 (HA II) から抽出したゲノム DNA からそれぞれ 4 つのプライマーセットを用いて PCR を行った。ACTIN1 はコントロールとして用いた。

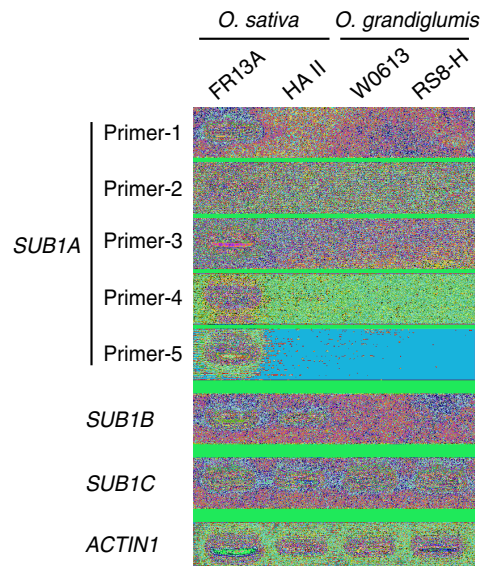


図 4 *O. grandiglumis* における *SUB1* 遺伝子の解析。*O. grandiglumis* (W0613, RS8-H) と浮稲 (HA II), 冠水耐性品種 (FR13A) から抽出したゲノム DNA からそれぞれ 4 つのプライマーセットを用いて PCR を行った。ACTIN1 はコントロールとして用いた。

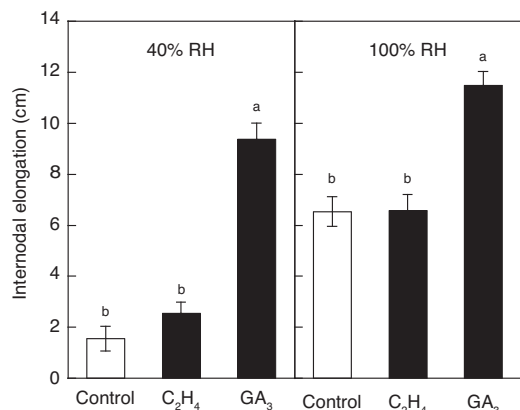
理によって節間の伸長は誘導されず、気中での湿度条件を変えて処理を行ったところ、単に湿度の高い環境で伸長が誘導された(図5)。またこの高湿度気中環境で低酸素処理すると節間の伸長成長が抑制されたことより、冠水時の成長停止には組織内の酸素濃度の低下が関係していることが推察される。

以上のことより、*O. grandiglumis* は部分的深水環境下では水没を免れるように茎葉を伸長させる「回避戦略」、冠水環境下では成長を停めることでエネルギーを保存し洪水が終わった後に再成長する「静止戦略」の2つの戦略を合わせ持つことが明らかとなった。さらに、これらの反応にはエチレンが関与せず、栽培イネが持つ浮稲性遺伝子 *SKs* と冠水抵抗性遺伝子 *SUB1A* が関与していない新規の植物の適応メカニズムであることを明らかにした。これらの両方の戦略をこのように高い能力で示す植物は他に報告がない。このメカニズムを解明し栽培植物に応用することで、洪水環境での農業への多大な貢献が期待できる。

(2) *Oryza glumaepatula* の反応

次に、アマゾンで生育する *O. glumaepatula* の系統 (W1246) の浮稲性と冠水耐性を上述の方法で調査した。この系統は伸長能力の高い浮稲品種よりもさらに高い浮稲性を有することが明らかとなった。しかしながら、冠水耐性は示さなかった。また浮稲性遺伝子 *SKs* の存在を調べた結果、この野生イネ系統が *SK1* と *SK2* の両遺伝子のオーソログを持つ事が判明した。

次に、*O. glumaepatula* の浮稲性を誘導する要因について検討したところ、この野生イネも深水環境下で組織内エチレン濃度が著し



く上昇した。しかしながら気中でのエチレン

図5 *O. grandiglumis*(RS-8)の茎切片の節間伸長に及ぼすエチレンとGAの影響。40 mlの蒸留水あるいは10 μMのGA₃溶液に茎切片を立て、相対湿度40%と100%のエチレンフリーの空気を通気する処理を3日間行った。エチレン処理は、通気空气中に10μLL⁻¹のエチレンを付加した。データは6個体の平均値の標準誤差を示す。異なる英字間には有意差があることを示す (p<0.05, Tukey's HSD test)。

処理では深水条件での節間伸長量の30%以下しか誘導しないことより、この野生種の反応もエチレンが主な誘導因子ではないといえる。この深水下での反応を誘導する因子を調査したところ、低酸素処理は深水と同等の伸長を誘導することが判明した。さらに、*SK1* 遺伝子の発現はエチレン処理と深水処理で強く誘導されるが、低酸素での誘導はわずかであること、*SK2* 遺伝子の転写はエチレンで誘導されるが、低酸素では誘導されなかった。以上のことから、*O. glumaepatula* の洪水に対する回避戦略(浮稲性)は、エチレンを介さないメカニズムで誘導されると考えられる。

今後の展望として、*O. glumaepatula* のエチレンを介さない浮稲性反応を明らかにし、その形質を、*SUB1A* を持つ冠水抵抗性イネに導入することで、急な冠水では成長を停止して水位が低下するのを待ち、穏やかな水位上昇による深水では水位上昇につれて茎を伸長させるといった、様々な深水環境に適応可能な栽培品種の育成が期待できる。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計2件)

- ① Okishio T, Sasayama D, Hirano T, Akimoto M, Itoh K, Azuma T. Ethylene is not involved in adaptive responses to flooding in the Amazonian wild rice species *Oryza grandiglumis*. *Journal of Plant Physiology* 174 (1): 49-54, 2015, 査読有
DOI: 10.1016/j.jplph.2014.09.012
- ② Okishio T, Sasayama D, Hirano T, Akimoto M, Itoh K, Azuma T. Growth promotion and inhibition of the Amazonian wild rice species *Oryza grandiglumis* to survive flooding. *Planta* 240 (3): 459-469, 2014, 査読有
DOI: 10.1007/s00425-014-2100-8

[学会発表] (計3件)

- ① 笹山大輔・東 哲司 アマゾン野生イネ *Oryza glumaepatula* の浮稲性について、近畿作物・育種研究会, 2015.5.30, 奈良県立橿原考古学研究所 (奈良県)
- ② 置塩琢磨・笹山大輔・平野達也・秋本正博・伊藤一幸・東 哲司 アマゾン野生イネ *Oryza grandiglumis* の浮稲性と冠水耐性、近畿作物・育種研究会, 2014. 7.19, 神戸大学 (兵庫県)
- ③ 置塩琢磨・東 哲司・伊藤一幸, 南米野生イネ *Oryza glumaepatula* と *O. grandiglumis* の洪水下での伸長反応におけるエチレンの関与, 日本作物学会, 2012.9.10, 東北大学 (宮城県)

[その他]

ホームページ等

<http://www.edu.kobe-u.ac.jp/ans-tropica>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

東 哲司 (AZUMA, Tetsushi)

神戸大学・大学院農学研究科・准教授

研究者番号：30231913

(2) 研究分担者

平野達也 (HIRANO, Tatsuya)

名城大学・農学部・教授

研究者番号：30319313

笹山 大輔 (SASAYAMA, Daisuke)

神戸大学・自然科学系先端融合研究環・特

命助教

研究者番号：20554249