

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 26 日現在

機関番号：21401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26850007

研究課題名(和文) イネにおける濁水冠水条件下の抵抗性機構の解明-葉の光合成活性に注目して

研究課題名(英文) Physiological mechanism of submergence tolerance under turbid-water in rice (*Oryza sativa* L.) -Focused on the photosynthetic activity in leaves

研究代表者

曽根 千晴 (Sone, Chiharu)

秋田県立大学・生物資源科学部・助教

研究者番号：30710305

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：イネは、濁りの少ない水と比べ、濁水で冠水に遭うと退水後の回復が低下するが、濁水冠水下の生理反応には不明な点が多い。本研究では、濁水冠水がイネ品種の光合成活性に与える影響を葉のクロロフィル蛍光を用いて解析した。55品種を用いた試験で、清水冠水区および清水冠水区を遮光シートで覆った遮光冠水区、培養土を溶かした濁水冠水区の冠水中の伸長草丈および退水後の回復程度は、品種と冠水条件間で相互作用が認められ、冠水条件によって品種の反応が異なる可能性が示唆された。冠水抵抗性遺伝子Sub1Aを持つ品種は冠水中で葉の葉緑素の分解を抑え、光合成活性を高く維持していたが、濁水冠水では光合成活性の低下が促進された。

研究成果の概要(英文)：The survival of rice seedlings after complete submergence decreased with increased turbidity of water. In this study, we clarified the effects of turbid-water submergence on photosynthetic activity and chlorophyll breakdown in the submerged rice leaves, as indicated by the maximal quantum yield of PSII photochemistry (Fv/Fm). In the experiment that used 55 rice cultivars, the shoot elongation during submergence and the shoot biomass accumulation after post-submergence were differed between three submergence conditions (submergence of tap-water, covered the water tank of submergence of tap-water with shading sheet, turbid-water submergence). There were significantly interaction effects between cultivars and submergence conditions. A cultivar, Milyang23 had the submergence tolerance gene Sub1A. Milyang23 suppressed photodamage and chlorophyll breakdown in the leaves under tap-water submergence but they were promoted under turbid-water submergence.

研究分野：作物学

キーワード：イネ 冠水ストレス 濁水 光合成 クロロフィル蛍光

1. 研究開始当初の背景

大河川の勾配が大きく水流の早い日本では、土地改良事業が行われる以前、洪水被害が頻発していた。土地整備や排水設備の整備により、長期的な連続冠水でイネの収穫が皆無になるような状況は減少した。しかしながら、短期間のイネへの冠水被害は毎年発生しており、今後、地球温暖化などの影響によって洪水リスクが増加することが予測されている。このような洪水リスクの増加に対し、我が国の主食であるイネにおいて作物生理学的見地に基づいて被害の軽減を考えることは極めて重要であり、そのためには冠水ストレス期間中および退水後の詳細な生理的反応の解明が必要である。

イネの冠水応答について、これまでに多くの研究がなされてきたが、ほとんどは形態的反応に注目が置かれていた。一般的にイネは冠水条件下で草丈の伸長速度を早め、葉を水面上に展開し、嫌気的環境から逃れようとする性質を示す。この形質は長期間の冠水が続く条件下では有効である。しかしながら、数日間から2週間程度の期間で退水が起こるような短期間の冠水条件下では、急激な草丈の伸長は退水後の倒伏を招き、伸長による貯蔵炭水化物の消費によって回復が阻害される。一方、極一部のイネ品種の中から、冠水条件下で地上部伸長を抑制し、退水後の回復に優れている品種が発見され、その形質に寄与する遺伝子 *Submergence 1 (Sub1)* が同定された。フィリピンおよびインドでは、*Sub1* 遺伝子を有する優良品種との交雑種が開発され、普及されている。今後の洪水被害の増加予測に伴い、日本においても *Sub1* 品種の利用を考える必要があるだろう。著者らはこれまでクロロフィル蛍光を用いて世界で初めて水中のイネの葉身で直接光合成活性を測定することに成功した。*Sub1* 遺伝子を持ち退水後の回復がよい品種は、冠水中でクロロフィル蛍光の低下が始まるのが遅く、クロロフィル蛍光で現される葉の光合成活性は冠水抵抗性品種の指標となる可能性が示された。

冠水によるイネの障害は、水深、冠水期間、温度、水濁度、窒素施肥量の増加、および日射量の減少によって助長される。発芽時以降のイネでは、特に濁水は冠水被害を大きくすることが報告されている。近年、日本および世界で増加している豪雨等による洪水および氾濫水は濁水であり、濁水条件下でのイネの冠水抵抗性機構の解明が必要と考えられる。しかしながら、これまでイネの冠水抵抗性試験はほとんどが清水中で行われてきており、濁水冠水がイネ品種の生育に及ぼす影響についての知見は少ない。

本研究では、*Sub1* 品種を含むイネ品種の濁水中と清水中のイネの冠水抵抗性の比較、濁水中のイネのクロロフィル蛍光によって評価した葉の光合成活性と冠水抵抗性と

の関係を検討した。

2. 研究の目的

本研究では、*Sub1* 系統品種を含むイネ品種の濁水中の冠水抵抗性機構を、これまでの冠水抵抗性試験で重要視されてきた草丈、乾物重、クロロフィル含量に加え、クロロフィル蛍光を用いた葉の光合成活性に着目して明らかにし、濁水冠水条件下で有効な冠水抵抗性の指標および栽培管理技術の開発に資することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 実験 1: 冠水条件がイネ品種の冠水中および退水後の生育に与える影響

供試品種として、NIAS Global Rice Core Collection 37 品種を含むアジアイネ 55 品種を供試した(表 1)。

表 1. 供試品種

品種番号	品種名	品種番号	品種名
1	SHUUSOUSHU	29	赤柳
2	CO 13	30	農林16号
3	LEBED	31	戦しよう
4	JARJAN	32	はえぬき
5	SURJAMUKHI	33	もえみのり
6	NEPAL 555	34	あきたこまち
7	KHAU MAC KHO	35	DENG PAO ZHAI
8	PADI PERAK	36	TADUKAN
9	REXMONT	37	SHWE NANG GYI
10	URASAN 1	38	CALOTOC
11	KHAU TAN CHIEM	39	PINULUPOT 1
12	TUPA 729	40	MUHA
13	MILYANG 23	41	JHONA 2
14	DEEJIAOHUALUO	42	NEPAL 8
15	HONG CHEUH ZAI	43	KALO DHAN
16	VANDARAN	44	ANJANA DHAN
17	IR28	45	SHONI
18	IR64	46	TUPA 121-3
19	Azucena	47	ARC 7291
20	Dular	48	ARC 5955
21	IRAT109	49	RATUL
22	短銀坊主	50	ARC 7047
23	ホウネンワセ	51	ARC 11094
24	世界一	52	BADARI DHAN
25	田優1号	53	KALUHEENATI
26	農林糯	54	MA SHO
27	密陽29	55	KHAO NOK
28	農林19号		

稲作粒状培土を充填した育苗用セルで約 4 葉期までイネを栽培後、深さ 80cm のアクリル水槽を用いて葉先から水面まで 20cm 以上となる完全冠水処理を 14 日間行った。処理区として、無冠水の対照区、冠水に水道水を用いた冠水区、冠水区の水槽を 50%遮光シートで覆った遮光冠水区、培土を溶かした泥水で冠水した濁水冠水区の 4 処理区を設けた(図 1)。冠水 14 日後に植物体を水槽中から取り出し、その後 20 日間、対照区と同じ水管理で栽培した。冠水前、冠水 14 日後および退水 20 日後に植物体を収穫し、草丈および茎葉部乾物重を測定した。



図 1.冠水試験区および対照区の様子.写真左より、濁水冠水区、遮光冠水区、冠水区および冠水を行わなかった対照区.

(2) 実験 2: 冠水条件が *Sub1* 遺伝子の発現に及ぼす影響

実験 1 より冠水中の生育が特徴的だった 2 品種 (Rexmont および Mi Iyang23 (密陽 23)) を選抜し、実験 1 と同じ 4 処理区を設け、約 4 葉期より 15 日間冠水処理した。冠水前、冠水 3、7、15 日後、退水 14 日後に植物体を収穫し、草丈、SPAD 値を測定した。収穫した個体の最上位展開葉は収穫直後に液体窒素中で凍結した。凍結した葉身約 100mg を、ビーズショッカーで凍結粉碎し、RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen) を用いて total RNA を抽出した。その中より 300ng を用い、PrimeScript™ 1st strand cDNA Synthesis Kit (Takara) を用いて cDNA を合成した。その中より 1μl を用い、Premix Taq™ Hot Start Version (Takara) を用いて目的の遺伝子を検出した。

(3) 実験 3: 冠水条件が冠水中の葉の光合成活性に及ぼす影響

実験 2 と同じ Rexmont および密陽 23 を供試し、実験 1 と同じ 4 処理区を設け、約 4 葉期より 14 日間冠水処理した。冠水前、冠水 4、10、14 日後、退水 14 日後に植物体を収穫し、草丈、SPAD 値、茎葉部乾物重を測定した。冠水期間中、クロロフィル蛍光計 (OS1p, Opti-Science, USA) を用い、最上位展開葉および冠水中に成長した葉のクロロフィル蛍光 (最大量子収率 (F_v/F_m)) を測定した (図 2)。



図 2.冠水中の葉のクロロフィル蛍光測定の様子.

4. 研究成果

(1) 実験 1: 冠水条件がイネ品種の冠水中および退水後の生育に与える影響

対照区に対する相対値で、冠水 14 日後の各冠水区の草丈を比較した (図 3)。冠水 14 日後の相対草丈は品種によって異なり、冠水条件によって影響を受けた。イネの冠水抵抗性の評価指標としてよく用いられる、退水 20 日後の相対茎葉部乾物重もまた、品種および冠水条件間で有意な差があった (図 4)。品種をまとめた結果で、退水 20 日後の相対茎葉部乾物重は、冠水区が最も高く、濁水冠水区が最も低かった。分散分析の結果、退水 20 日後の相対茎葉部乾物重は、品種と冠水条件間で相互作用が認められ、冠水条件によって品種の反応が異なる可能性が示唆された。

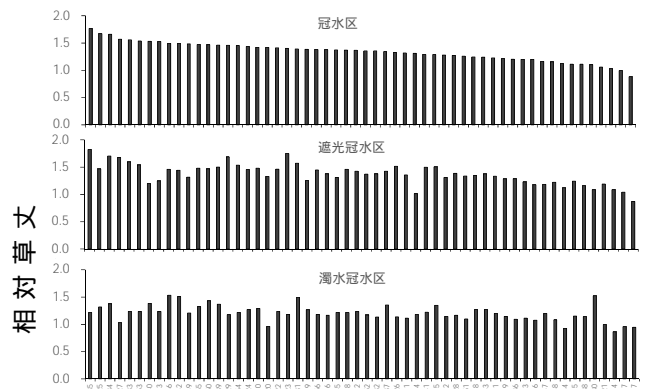


図 3. 冠水 14 日後の各冠水区の相対草丈 (/ 対照区)

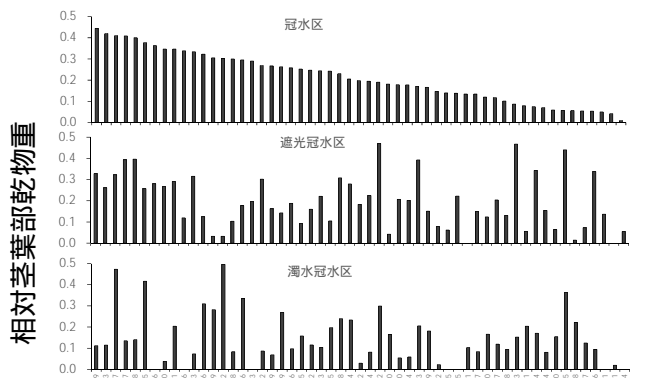


図 4. 退水 20 日後の各冠水区の相対茎葉部乾物重 (/ 対照区)

(2) 実験 2: 冠水条件が *Sub1* 遺伝子の発現に及ぼす影響

実験 1 の結果より、冠水条件下で冠水中に草丈がよく伸長した Rexmont と、冠水中の草丈の伸長が小さく、退水後の茎葉部乾物重が高かった密陽 23 を選抜した。PCR 解析の結果、密陽 23 は冠水抵抗性遺伝子 *Sub1A* を持っており、冠水によって *Sub1A* の発現が誘導され

ていた。いずれの冠水区においても、冠水後より冠水 14 日目まで密陽 23 では *Sub1A* が発現していた。

(3) 実験 3 : 冠水条件が冠水中の葉の光合成活性に及ぼす影響

退水後 14 日間の相対増加茎葉部乾物重 (/ 対照区) は、冠水区および遮光冠水区で、密陽 23 が Rexmont よりも高かった (図 5)。一方、濁水冠水区ではいずれの品種も退水後に茎葉部乾物重が増加しなかった。

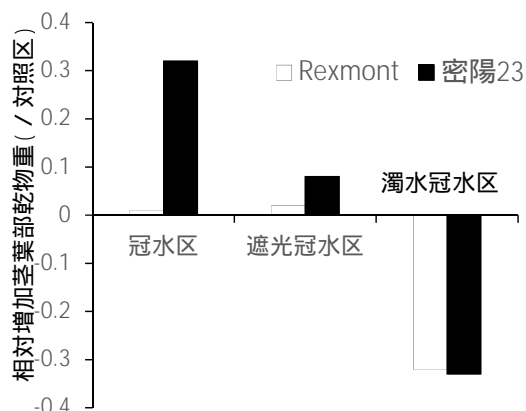


図 5. 退水後 14 日間の相対増加茎葉部乾物重 (/ 対照区)

冠水期間中の葉身のクロロフィル蛍光 (最大量子収率 F_v/F_m) の推移を図 6 に示した。冠水開始時の最上位展開葉 (第 5 葉) の F_v/F_m は冠水区で、Rexmont および密陽 23 とともに冠水期間が長くなるほど低下した。冠水中に新しく展開した葉 (第 6 葉) は、密陽 23 は展開後から冠水終了時まで F_v/F_m はほとんど変化が見られなかった。一方、Rexmont の第 6 葉の F_v/F_m は展開直後より密陽 23 よりも低く、冠水期間の増加とともに低下する傾向があった。遮光冠水区では、冠水区および濁水冠水区に比べ、いずれの品種も冠水後の第 5 葉の F_v/F_m の低下がゆるやかであった。また、密陽 23 は Rexmont に比べ F_v/F_m の低下が始まるのが遅く、低下程度も小さい傾向があった。第 6 葉の F_v/F_m は、冠水区と同様に展開直後より密陽 23 の方が Rexmont よりも高かった。濁水冠水区において、密陽 23 は遮光冠水区と同様に、Rexmont に比べ第 5 葉の F_v/F_m の低下が始まるのが遅かった。しかし、冠水 10 日後より 2 品種とも急激に第 5 葉の F_v/F_m が低下した。第 6 葉の F_v/F_m は展開直後は 2 品種で変わらなかったが、Rexmont では冠水期間の増加とともに低下した。密陽 23 では第 6 葉の F_v/F_m は展開直後は 2 品種で

わらなかったが、Rexmont では冠水期間の増加とともに低下した。密陽 23 では第 6 葉の F_v/F_m の低下は冠水 11 日後より始まった。

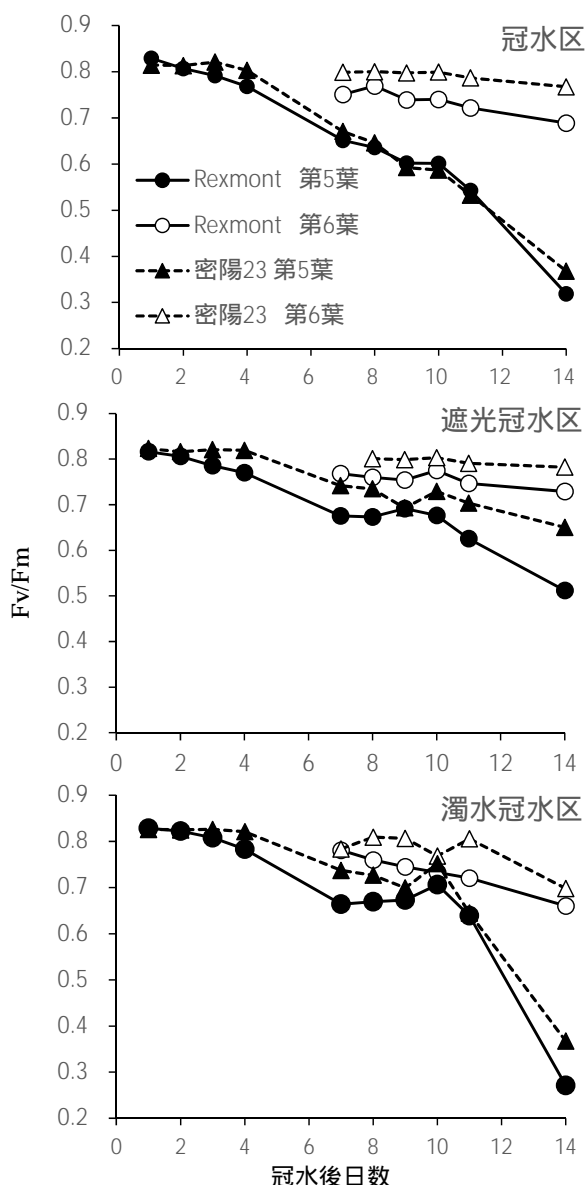


図 6. 冠水期間中のクロロフィル蛍光 (最大量子収率 F_v/F_m) の推移。第 5 葉 : 冠水開始時の最上位展開葉。第 6 葉 : 冠水中に新たに展開した葉。

冠水 14 日後の各冠水区の最上位展開葉の相対 SPAD 値は、いずれの品種も遮光冠水区が最も高く、濁水冠水区が最も低かった (図 7)。また、どの冠水処理区においても、密陽 23 の値は Rexmont よりも高かった。

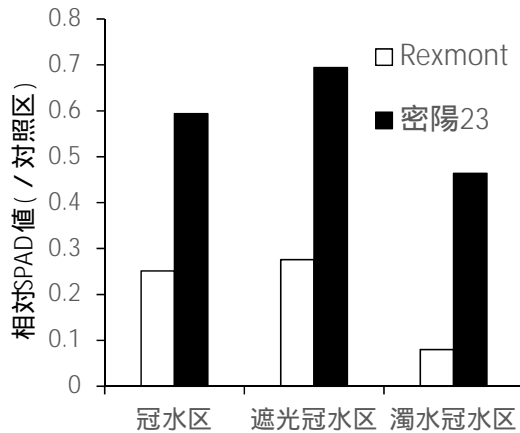


図7 冠水 14 日後の最上位展開葉の相対 SPAD 値 (/ 対照区)

以上より、冠水条件によって冠水中のイネの生育と退水後の回復が異なり、濁水冠水中では冠水被害が増大することが分かった。これまでの報告で、清水冠水に比べ濁水冠水によって冠水害が促進される原因として、濁りによる日射量の減少が指摘されてきた。本試験の結果、遮光冠水区と濁水冠水区の結果は一致せず、濁水冠水区ではより被害が大きくなる傾向があった。これより、濁水冠水区では遮光以外の要因によってイネの生育は影響を受けていると考えられた。

冠水抵抗性遺伝子 *Sub1A* を持つ密陽 23 は、これまでに報告されてきた *Sub1A* 遺伝子を持つ他の品種と同様、冠水下での草丈の伸長が小さく、退水後の回復程度が大きかった。以前の研究より、*Sub1A* を持つ品種は冠水中に葉の Fv/Fm および葉緑素含量を高く保ち、このことは本試験の冠水区および遮光冠水区の密陽 23 にも当てはまった。一方、濁水冠水区では冠水 10 日目までは密陽 23 の Fv/Fm が Rexmont よりも高かったが、冠水 10 後より Fv/Fm が急激に低下し、冠水解除時の SPAD 値も他の冠水区に比べ低かった。これより、濁水冠水区では葉の光合成活性の低下が早く起こり、それによって品種の冠水抵抗性が低下している可能性が考えられた。これまでの研究で、*Sub1A* を持つイネ品種は、2 週間以内の冠水において抵抗性を示すことが報告されている。濁水冠水では、*Sub1A* 品種が抵抗性を示す期間が短くなる可能性が示唆された。

本試験において、いずれの品種も遮光冠水区の Fv/Fm が冠水区よりも高い傾向があり、冠水 14 日後の葉の SPAD 値も高かった。水中では CO₂ 供給の制限が起こっており、光化学系と光化学系間の不均衡からエネルギー過剰となり、光阻害が発生する。しかし、遮光冠水区では、遮光によって光阻害が抑えられ、Fv/Fm および葉緑素含量が冠水区よりも高く維持されたと考えられた。しかしながら、遮光によって水中の葉での光合成が抑えられたために、退水後の乾物増加も小さかつ

たのかもしれない。遮光冠水区で、冠水区よりも冠水中の Fv/Fm および葉緑素含量の低下が小さいにも関わらず、退水後の回復程度が冠水区よりも小さい理由については、さらなる検討が必要である。

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)

〔学会発表〕(計 1 件)

曾根 千晴・鈴木 のぞみ、冠水条件が冠水中および退水後のイネ苗 (*Oryza sativa* L.) の生育に及ぼす影響と品種間差異、第 239 回日本作物学会講演会、2015 年 3 月 27 日、日本大学 (神奈川県藤沢市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

曾根 千晴 (Sone Chiharu)

秋田県立大学・生物資源科学部・助教

研究者番号：30710305