

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 15 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25292012

研究課題名(和文) イネの次世代耐塩性品種育成に重要な組織耐性の生理機構の解明

研究課題名(英文) study on the physiological mechanism of tissue tolerance in the salinity tolerance in rice

研究代表者

三屋 史朗 (MITSUYA, Shiro)

名古屋大学・生命農学研究科・助教

研究者番号：70432250

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、イネの耐塩性向上を目指して、イネの耐塩性に重要であると考えられる組織耐性の作物生理学的意義および機構を調べた。その結果、幼苗期および分けつ期のいずれにおいても組織耐性を有するイネ品種は塩障害および生育障害が軽微であり、塩感受性品種と比較して耐塩性を示した。一方塩吸収蓄積程度は塩感受性品種と同程度であり、組織耐性と塩吸収抑制能は独立していることが明らかになった。またその機構は過酸化脂質の増加を抑制するなど酸化ストレス耐性に関わることが示唆された。本研究で用いた日本のイネ品種は塩害下で組織耐性を示さなかったことから、組織耐性は日本イネ品種の耐塩性向上にも役に立つことが期待された。

研究成果の概要(英文)：The objective of the present study was to determine the impact on the growth and the mechanism (in terms of crop physiology) of tissue tolerance in the salinity tolerance of rice. New salinity tolerant rice cultivars with tissue tolerance showed better growth and less salinity-caused damages under salinized conditions in comparison to a salinity-sensitive check cultivar. However, Na<sup>+</sup> accumulation level in shoots of the cultivars with tissue tolerance was comparable to that of the salinity-sensitive one. It is indicated that tissue tolerance contributes to the salinity tolerance in an independent manner of salt exclusion mechanism. Also, the tissue tolerance might be related to antioxidant activity to inhibit lipid peroxidation under salinity. Within the Japanese rice cultivars used in this study, new salinity-tolerant cultivars with tissue tolerance was not screened, which indicated that the tissue tolerance can be used for improving the salinity tolerance of Japanese rice cultivars.

研究分野：作物生理学、植物生理学

キーワード：イネ 環境 耐塩性 生理機構 組織耐性

## 1. 研究開始当初の背景

現在、世界の灌漑農地の約 20% が過剰な塩化ナトリウムなどの塩害にさらされており、この塩類集積土壌面積は年々増加している。イネなどの主要作物のほとんどは塩害により成育および収量が著しく減少するため、近年の地球温暖化や乾燥化と相まって世界の農業の不安定化の大きな原因となっている。本研究において注目するイネは主にアジア地域で生産されているが、アジアの特に沿岸地帯において、近年の海水面上昇や塩性地下水位の上昇に伴った土壌中塩濃度の増加により、イネの生産量が不安定化している。一方、降雨量の多い日本ではこの塩害は重要な問題ではないが、2011 年 3 月 11 日に起こった東北地方太平洋沖地震による東日本大震災では東北地方の多くの土地が海水を被って塩が蓄積し、イネが生産できない事態に陥った。そこで、現在爆発的に増加している世界の人口を支えるためだけでなく、日本においても、イネの耐塩性を向上させる方策を見だし、高塩濃度の地域における稲作農業を成立・安定させることが重要である。

現在、イネの耐塩性向上のための育種が国際イネ研究所 (IRRI) を中心として進んでいる。イネの耐塩性育種に特に重要な形質は、塩を地上部に吸収しないことと (塩の吸収抑制) 葉に蓄積された高濃度の塩存在下で光合成などの生理活性を維持すること (組織耐性) である。これまでに、根から地上部への塩の吸収抑制についてのみ、原因となる遺伝子座、遺伝子が単離され、耐塩性育種への利用に成功している。根から地上部への塩の吸収抑制を制御する *OsHKT1;5* 遺伝子は第 1 染色体の *Saltol* 遺伝子座に座乗し (Thomson et al. 2010) 耐塩性イネ品種 Pokkali の *Saltol* 遺伝子座がマーカー育種によりアジア各国の主要品種に導入されている。今後さらにイネの耐塩性を向上させるためには、塩の吸収抑制能とは独立し、かつ相加効果を持つ、組織耐性の導入が

必要である。

本研究の研究協力者である IRRI の Abdelbagi M. Ismail 博士および J. Damien Platten 博士は、新奇耐塩性イネ約 100 品種の中から顕著に組織耐性が高いイネ品種を選抜することに成功した (Platten et al. 2013)。このイネ品種は、塩感受性品種 IR29 と同程度の高濃度の塩を葉に蓄積してしまうにも関わらず、IR29 と比較して著しい耐塩性を示す。注意すべき点は、この耐塩性は、葉の色およびしおれ具合により耐塩性程度を決定していることである。しかし、組織耐性を持つ耐塩性品種がどのような生理機構であるかは未知である。また、組織耐性が塩害下のイネの生育および収量の維持にどの程度寄与するのか、その作物生理学的意義について詳しく調べる必要がある。

## 2. 研究の目的

上記の背景から本研究では、イネの耐塩性機構において重要であろう組織耐性の生理機構に注目する。また、これまでの研究より、イネの耐塩性は成育ステージにより異なることが報告されているため、幼苗期、分けつ期、および分けつ期と生殖成長期に分けて組織耐性がイネ耐塩性に寄与するのか、またはどのように寄与するのかを作物生理学的視点で解明を試みた。

## 3. 研究の方法

(1) 幼苗期において組織耐性を有する耐塩性イネ品種の選抜および塩存在下での成育反応調査

*Oryza sativa*33 品種および *Oryza glaberrima*3 系統を含む 36 系統を、名古屋大学東山キャンパス内ガラス室において水耕栽培した。栽培開始 2 週間後、塩化ナトリウムを用いて塩処理した。段階的に塩ストレス強度を上げ、最終的に 120 mM 塩化ナトリウムを処理した。処理を開始して 1 週間の後、地上部および地下部に分けて収穫し、乾燥機に

において乾燥させた。また、地上部における黄化などの障害程度を目視により数値化して評価した。その後、乾物重、地上部および地下部における  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  および  $\text{NH}_4^+$  イオンの濃度を測定した。

また組織耐性を有する耐塩性イネ品種を含む 6 品種を用いて、国際イネ研究所内ガラス室において水耕栽培した。栽培開始 2 週間後、塩ストレス強度を段階的に上げながら、最終的に 150 mM 塩化ナトリウムを処理した。処理開始 1 週間後、地上部および地下部、または最上位展開葉に分けて収穫し、体内イオン濃度、過酸化脂質量、クロロフィル濃度、およびカロテノイド濃度を測定した。

(2) 分けつ期における組織耐性を有する耐塩性イネ品種の塩存在下での成育反応調査

組織耐性を有する新奇耐塩性イネ品種を含むイネ 9 品種を土耕栽培した。播種 1 ヶ月後、50、100 mM 塩化ナトリウム水溶液を灌漑することにより塩処理を行った。処理後 1 週間および 1 ヶ月に収穫し、(1) と同様に植物体内のイオン濃度を測定した。

(3) 分けつ期から生殖成長期における長期間塩ストレスによるイネ成育に及ぼす影響

塩水灌漑圃場において、(1) において見出された新奇耐塩性イネ品種を栽培した。移植して約 1 ヶ月後、塩処理を開始し、収穫まで塩濃度を維持した。対照として、耐塩性チェック品種 FL478 および塩感受性チェック品種 IR29 を用いた。収穫後、収量調査、および葉中イオン濃度の測定を行った。

#### 4. 研究成果

(1) 幼苗期において組織耐性を有する耐塩性イネ品種の選抜および塩存在下での成育反応調査

IRRI で新たに選抜された組織耐性を有する新奇耐塩性イネ品種における塩存在下での成育と体内イオン濃度を、既存耐塩性イネ品種と比較した。その結果、組織耐性型新奇耐

塩性イネ品種は、塩感受性チェック品種 IR29 と同程度塩を地上部に蓄積したにも関わらず、耐塩性チェック品種 FL478 と同様の耐塩性を示した。さらに成育維持に重要な最上位展開葉においても組織耐性型イネ品種は、IR29 と同程度の塩濃度を示したが、塩によるカロテノイド濃度の減少および過酸化脂質量の増加は IR29 においてのみ顕著であり、組織耐性型品種では、同程度の塩を蓄積しても光酸化ストレス障害を軽減することが示唆された。

さらに組織耐性を示す耐塩性イネ品種の選抜を行った。結果として、今回新たに用いた 36 系統は幅広い耐塩性を示し、耐塩性チェック品種 FL478 と同程度の耐塩性を示す新奇品種が得られた。しかし、その塩による障害程度は地上部  $\text{Na}^+$  濃度と負の相関があり、塩吸収抑制機構により説明された。一方組織耐性を示す新奇耐塩性系統を見出すことはできなかった。一方、幼苗では塩処理により  $\text{Ca}^{2+}$  濃度が増加した。この  $\text{Ca}^{2+}$  濃度の増加は耐塩性機構におけるシグナル伝達系において耐塩性に重要であると考えられているが、 $\text{Ca}^{2+}$  濃度の増加程度と耐塩性には負の相関があり、 $\text{Ca}^{2+}$  濃度の増加程度はむしろイネの塩障害の結果であると考えられた。

(2) 分けつ期における組織耐性を有する耐塩性イネ品種の塩存在下での成育反応調査

次に、組織耐性型イネ品種および塩吸収抑制型耐塩性イネ品種 FL478 および塩感受性イネ品種 IR29 を用いて、分けつ期における塩処理の生育に対する影響を 2 年にわたって調べた。その結果、FL478 は IR29 に比べて地上部における塩蓄積程度が小さく、生育抑制も小さかった。一方組織耐性型品種は、地上部における塩蓄積程度は IR29 と同程度であるにも関わらず、塩による生育抑制程度は FL478 とほぼ同程度であった。このことは水耕栽培において葉のしおれ具合を指標として選抜された組織耐性型品種は、塩存在下での生育維持にも貢献することを示す重要な知見である。

さらに葉身部および葉鞘+茎部部の $\text{Na}^+$ および $\text{K}^+$ を測定したところ、塩処理により葉身では $\text{Na}^+$ が増加し、 $\text{K}^+$ が減少した。一方葉鞘+茎部では $\text{Na}^+$ と $\text{K}^+$ の両方が増加したことから、塩存在下では葉鞘における $\text{K}^+$ 蓄積能が増加し、そのことが葉身への $\text{K}^+$ 供給を制限する可能性があることを示した。このことは、葉鞘における $\text{K}^+$ 濃度増加程度が小さい品種では葉身における $\text{K}^+$ 濃度減少程度も小さいことによって裏付けされた。

(3) 分けつ期から生殖成長期における長期間塩ストレスによるイネ成育に及ぼす影響

塩吸収抑制型耐塩性イネ品種 FL478 および塩感受性イネ品種 IR29、さらに(1)で選抜した耐塩性機構が未知な新奇耐塩性品種の分けつ期から生殖成長期における長期塩処理が及ぼす成長への影響を調べた。その結果、IR29では大きく地上部乾物生産量および収量が抑制されたのに対し、FL478ではその乾物生産量および収量は維持された。またその抑制程度は、収穫期における藁中 $\text{Na}^+$ 蓄積程度とは相関がなく、 $\text{K}^+$ の減少程度と正の相関がみられた。一方、穂軸における $\text{Na}^+$ 蓄積程度と収量の減少程度には負の相関がみられた。これらの傾向は新奇耐塩性品種においても同様であったことから、(3)で用いた新奇耐塩性品種はFL478と同様の耐塩性機構を有することが示唆された。しかしながら、塩害下での収量維持につながる要因として、FL478では千粒重および稔実歩合の維持が貢献していたのに対し、新奇耐塩性品種では全粒数がむしろ塩害下で維持または増加したことが、収量維持に貢献した。したがって新奇耐塩性品種では、長期塩ストレスに対して穂に流入する $\text{Na}^+$ 量を抑え、 $\text{K}^+$ 流入量を維持することにより、小穂形成を維持して収量を維持することが明らかになった。コシヒカリはIR29と同様、塩処理により粒数、稔実歩合、千粒重などすべての収量構成要素が減少したことから、FL478および新奇耐塩性品種の耐塩性機構は、

今回実験を行った東北地方での日本イネ品種の耐塩性向上にも役に立つことが期待される。

## 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8件)

Tani T., Hayashi M., Endoh I., Mitsuya S.,

Hayashi T., Yamauchi A. (2015) Effects of a combination of application of controlled-release fertilizer to surface soil and top dressing with quick-acting fertilizer on the growth of common wheat under excess moisture conditions: a technique to mitigate excess moisture injury.

Japanese Journal of Crop Science. 84, 256-263.

査読有. <http://doi.org/10.1626/jcs.84.256>

Kamisugi Y., Mitsuya S., El-Shami M., Knight CD., Cuming AC., Baker A. (2015) Giant peroxisomes in a moss (*Physcomitrella patens*) pex11 mutant. New Phytologist. 209, 576-589.

査読有. 10.1111/nph.13739

Mitsuya S., Tsuchiya A., Kono-Ozaki K.,

Fujiwara T., Takabe T., Takabe T. (2015)

Functional and expression analyses of two kinds of betaine aldehyde dehydrogenases in a

glycinebetaine-hyperaccumulating graminaceous halophyte, *Leymus chinensis*. SpringerPlus 4, 202.

査読有. doi:10.1186/s40064-015-0997-4

Kameoka E., Suralta R.R., Mitsuya S.,

Yamauchi A. (2015) Matching the Expression of

Root Plasticity with Soil Moisture Availability

Maximizes Production of Rice Plants Grown in an

Experimental Sloping Bed having Soil Moisture

Gradients. Plant Production Science 18, 267-276.

査読有. <http://doi.org/10.1626/pps.18.267>

Tani T., Hayashi M., Hiraiwa K., Ochiai I.,

Mitsuya S., Suralta R.R., Yamauchi A. (2015)

Simultaneous application of controlled

availability fertilizers to seeding furrows with

seeding increases grain yield and quality of no-till

cultivated common wheat in Japan. *Agricultural Sciences* 6, 279-290. 査読有. DOI: 10.4236/as.2015.63028

Tran T.T., Kano-Nakata M., Suralta R.R., Menge D., Mitsuya S., Inukai Y., Yamauchi A. (2014) Root plasticity and its functional roles were triggered by water deficit but not by the resulting changes in the forms of soil N in rice. *Plant Soil* 386, 65-76. 査読有. DOI 10.1007/s11104-014-2240-4

Takei M., Nakamura M., Hamada Y., Ikeda A., Mitsuya S., Suralta R. R., Yamauchi A. (2014) Assessment of damage caused by two-striped leaf beetle (*Medythia nigrobilineata* Motschulsky) larval feeding of root nodules in soybean and its control during furrow cultivation at seeding time. *Plant Prod. Sci.* 17, 276-283. 査読有. <http://doi.org/10.1626/pp.s.17.276>

Tran T.T., Kano-Nakata M., Takeda M., Menge D., Mitsuya S., Inukai Y., Yamauchi A. (2014) Nitrogen application enhanced the expression of developmental plasticity of root systems triggered by mild drought stress in rice. *Plant Soil* 378, 139-152. 査読有. 10.1007/s11104-013-2013-5

〔学会発表〕(計 21 件)

Thiem T.T., Mitsuya S. など合計 7 名. Effects of soil compaction on the expression of plasticity in root system development triggered by water deficit conditions and nitrogen application and its contribution to dry matter production in rice. 日本作物学会第 237 回講演会, 2014 年 3 月 29 日. 千葉大学 (千葉県千葉市).

中田裕也, 三屋史朗 など合計 5 名. ソース・シンクバランスからみた摘心処理によるダイズ収量増加機構. 日本作物学会第 237 回講演会, 2014 年 3 月 29 日. 千葉大学 (千葉県千葉市).

増田悦子, 三屋史朗, 山内章. 新奇耐塩性イネ品種の選抜と低 Na<sup>+</sup> 蓄積をもたらす生理

機構の解明. 日本作物学会第 237 回講演会, 2014 年 3 月 29 日. 千葉大学 (千葉県千葉市).  
小池竜平, 三屋史朗, 山内章. イネ耐塩性には分けつ数の維持が重要である. 日本作物学会第 237 回講演会, 2014 年 3 月 29 日. 千葉大学 (千葉県千葉市).

Nketia S.O., Mitsuya S. など合計 6 名. Functional roles of root developmental plasticity and its contribution to dry matter production under soil moisture fluctuation in rice introgression lines. 日本作物学会第 237 回講演会, 2014 年 3 月 29 日. 千葉大学 (千葉県千葉市).

Menge D., Mitsuya S. など合計 8 名. Functional role of root plasticity in water uptake and dry matter production as affected by drought stress and nitrogen application in NERICA (New Rice for Africa). 日本作物学会第 237 回講演会, 2014 年 3 月 29 日. 千葉大学 (千葉県千葉市).  
Mitsuya S., Masuda E. など合計 5 名. Low accumulation of Na<sup>+</sup> in shoots of salt-tolerant Iranian native varieties of rice is attributed to their low bypass flow rate in the transpiration. International Rice Congress, 2014 年 10 月 27 日. バンコク (タイ).

Kameoka E., Mitsuya S., Suralta R.R., Yamauchi A. Toposequence position-dependent phenotypic plasticity for rice root distribution patterns in depths in response to water conditions. 8th Asian Crop Science Association Conference. 2014 年 9 月 23 日. ハノイ (ベトナム)

Kabuki T., Mitsuya S., Yamauchi A. Hydraulic architecture in the relationship of lateral root development with the maturity of xylem vessels in a seminal root system of soil-grown seedlings in rice. 8th Asian Crop Science Association Conference. 2014 年 9 月 23 日. ハノイ (ベトナム)

Nakata Y., Mitsuya S. など合計 8 名. Pinching treatment improved canopy photosynthesis and

seed yield in soybean. 8th Asian Crop Science Association Conference. 2014年9月23日. ハノイ(ベトナム)

Suralta R.R., Mitsuya S. など合計 16 名. Genotypic variations in root system development, dry matter production and yield of rainfed lowland rice grown under different positions in the toposequence. 8th Asian Crop Science Association Conference. 2014年9月23日. ハノイ(ベトナム)

Tran T.T., Mitsuya S. など合計 7 名. Functional roles of root plasticity for dry matter production as affected by drought stress, nitrogen application, and soil compaction and their interaction in rice. 8th Asian Crop Science Association Conference. 2014年9月23日. ハノイ(ベトナム)

Menge D., Mitsuya S. など合計 8 名. Effect of soil moisture fluctuation at different growth stages on the expression of root plasticity of two upland NERICA varieties as affected by nitrogen levels. 日本作物学会第 239 回講演会, 2015年3月27日. 日本大学(神奈川県藤沢市).

小池竜平, 山内章, 三屋史朗. 超塩排除能を持つイラン在来イネ品種の生育と収量. 日本作物学会第 240 回講演会, 2015年9月5日. 信州大学(長野県長野市).

中田裕也, 三屋史朗 など合計 8 名. ダイズ摘心栽培における収量増加に最適な主茎節数および時期. 日本作物学会第 240 回講演会, 2015年9月5日. 信州大学(長野県長野市).

Menge D., 三屋史朗 など合計 5 名. 乾燥ストレスと窒素施肥条件下におけるネリカの窒素吸収ならびに乾物生産に果たす根系可塑性の機能. 日本作物学会第 240 回講演会, 2015年9月5日. 信州大学(長野県長野市).

Nekesa W.J., 三屋史朗 など合計 8 名. ネリカを用いた土壤水分変動条件下での根の発育的可塑性の乾物生産における役割解析. 日

本作物学会第 241 回講演会, 2016年3月28日. 茨城大学(茨城県水戸市).

中村倫理, 三屋史朗, 山内章, 仲田(狩野) 麻奈. 土壤中の水分供給位置の違いに対するイネ根系発育反応. 日本作物学会第 241 回講演会, 2016年3月28日. 茨城大学(茨城県水戸市).

榎原大悟, 三屋史朗 など合計 28 名. テーラードによるケニアの環境に適したイネ品種と栽培技術の開発. 日本作物学会第 241 回講演会, 2016年3月28日. 茨城大学(茨城県水戸市).

今吉興志郎, 三屋史朗, 仲田(狩野) 麻奈, 山内章, 加藤洋一郎. リン欠乏に対するイネ品種の生育応答. 日本作物学会第 241 回講演会, 2016年3月28日. 茨城大学(茨城県水戸市).

②Neang S., 仲田(狩野) 麻奈, 山内章, 三屋史朗. 耐塩性機構としてのイネ葉鞘における中央部組織への Na<sup>+</sup> の優先的蓄積. 日本作物学会第 241 回講演会, 2016年3月28日. 茨城大学(茨城県水戸市).

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

○取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.agr.nagoya-u.ac.jp/~brc/jyunkanshigengaku/youkoso.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

三屋 史朗 (MITSUYA, Shiro)

名古屋大学・大学院生命農学研究科・助教  
研究者番号: 70432250

### (2) 連携研究者

山根 浩二 (YAMANE, Koji)

近畿大学・農学部・講師

研究者番号: 50580859

### (3) 研究協力者

小池 竜平 (KOIKE, Ryuhei)

増田 悦子 (MASUDA, Etsuko)

Abdelbagi M. Ismail

J. Damien Platten