

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 6月 12日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21380017

研究課題名（和文）次世代型セルプレッシャープローブによる地球温暖化に伴う水稻登熟障害の機構解明

研究課題名（英文）Ring-shaped chalkiness increased by dry wind in rice: Direct measurement of turgor in endosperm cells and the role of osmotic adjustment at low water potential

研究代表者 和田博史（WADA HIROSHI）

独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構

九州沖縄農業研究センター 水田作・園芸研究領域 主任研究員

研究者番号：40533146

研究成果の概要（和文）：

本研究では、水稻胚乳組織中の標的細胞層の水分子状態を直接計測できるよう既存のセルプレッシャープローブを改良し、これを用いて高温乾燥風によるリング状乳白粒の発生機構を解析した。その結果、高温乾燥風による水ストレス条件下の胚乳細胞では同化産物の転流量の低下なしに、浸透調節が起り、胚乳組織で一時的に澱粉集積が阻害された。胚乳内の澱粉蓄積は中心から外側に向かって進むため、水ストレス時に澱粉蓄積中であつた一部の細胞層のみが白濁化して、リング状乳白が多発したことが示唆された。

研究成果の概要（英文）：

Foehn-induced dry wind during grain filling typically increased ring-shaped chalky kernels in rice (*Oryza sativa* L.) plants. The objective of this study was to physiologically investigate mechanisms of the occurrence of ring-shaped chalkiness in the growing endosperm cells by utilizing the improved cell pressure probe. The inner endosperm cells, where the highest frequency of ring-shaped chalkiness was observed, maintained turgor by osmotic adjustment spatially even at low water potentials prior to the chalky formation. The results also indicated that neither the final grain weight nor ^{13}C distribution in both panicles and the kernels was declined. Therefore, it was concluded that turgor maintenance by osmotic adjustment contributes to grain development under water deficit by foehn, and osmotic adjustment has a role in temporally inhibiting starch accumulation in endosperms, resulting in ring-shaped chalky kernels under foehn-induced water deficit conditions.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
21年度	12,100,000	3,630,000	15,730,000
22年度	2,000,000	600,000	2,600,000
23年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
総計	15,300,000	4,590,000	19,890,000

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，作物学，環境ストレス，細胞生理，糖代謝

1. 研究開始当初の背景

近年、地球温暖化に伴う夏季の異常高温により水稻の登熟障害が発生している。特に、

高温乾燥風による乳白粒の発生についてはここ数年間で全国的に複数の事例が認められていることから、その対策を考えるために

も生理学的な発生メカニズムの解明が求められている。

2. 研究の目的

乳白粒については多くの研究蓄積があるものの、そのほとんどが組織レベルの解析に留まっており、成長中の玄米を用いた細胞レベルの解析は行われていない。図1の玄米横断面写真が示すように、リング状乳白粒の白濁部位は胚乳組織内の一部分に限定されていることから、高温乾燥風による乳白粒の発生機構を生理学的に理解するためには、拡大中の胚乳を対象に白濁細胞層の水分状態を直接計測することが一つの有効な手法である。そこで、本研究では細胞レベルの水分状態計測機器として用いられているセルプレッシャープローブを改良し、特定領域の胚乳細胞層を計測対象に水分状態の計測を行うことで、乳白粒の発生メカニズムを解明する。



図1. 左は多発した乳白粒の写真、右は乳白粒の横断面写真を示す。玄米中央部を切除すると横断面の胚乳組織上にリング状の白濁が観察される。

3. 研究の方法

(1) 上述の様な細胞計測を可能にするために、既存のセルプレッシャープローブのガラス管固定部にピエゾマニピュレータを搭載し胚乳組織内の深度を自動計測した上で、細胞計測のための作業空間を確保すべく鉛直方向に長作動距離のデジタルマイクロスコップを設置し、細胞計測の省力化と深度計測の精度向上を図った(図2)。改良したセルプレッシャープローブシステムを用いることで、高温乾燥風処理したポット稲の弱勢顕果を稲体から切り離すことなく、玄米が成長を続けている状態で標的領域での胚乳細胞の水分状態計測を省力的に行うことが可能となった(図2)。

(2) 九州農研(福岡県筑後市)において、ポット成苗用育苗箱で23日間育成(5/7種子消毒 5/19育苗箱播種)した「コシヒカリ」の苗を1/5000aワグネルポットへ円形10株で1株1本植えし、基肥はポット当たり窒素含量で5g(N:P:K=14:14:14、窒素の20%がシグモイド型緩効性肥料)。分けつは逐次除去し主稈

のみを栽培した。

8月7日12時頃から翌8日12時頃に出穂した穂を供試。開花後5日目から人工気象室へポットを入れて、直ちに9日間の40%の低日照処理を行った後、24時間の高温乾燥風処理(気温:昼34°C/夜26°C, 相対湿度: 昼50%/夜40%, 飽差: 昼26.6hPa/夜20.2hPa, 平均風速: 6.9m/s)を行った。

(3) 高温乾燥風処理開始から処理終了の翌日まで葉と穂、および茎の導管の水ポテンシャルをポンプアッププレッシャーチャンバー法により断続的に測定した。人工気象室内でのプレッシャーチャンバー計測後、直ぐポットを実験室に持ち込み、穂の中位の弱勢顕果(3次粒)の籾殻の一部を丁寧に除去し、上述のプレッシャープローブを用いて、ピエゾマニピュレータによる深度計測により、表皮から400-1000 μmの範囲の胚乳細胞を対象に水分状態(膨圧)を計測した。止葉の光合成速度、気孔コンダクタンスはLI-6400により測定した。また、高温乾燥風処理直前に止葉に¹³C標識CO₂をフィードし、同化直後からの炭素の子実への分配率を測定した。

さらに、一部の個体については、プレッシャーチャンバー測定後の穂を湿度100%に保持したグローブボックスに移動し、同じ着粒位置の3次粒玄米(3粒)の水ポテンシャルを等圧式サイクロメーターにより計測した。また、着粒位置別の玄米の外観品質についてはサタケ穀粒判別器(RGQI20A)により測定した。

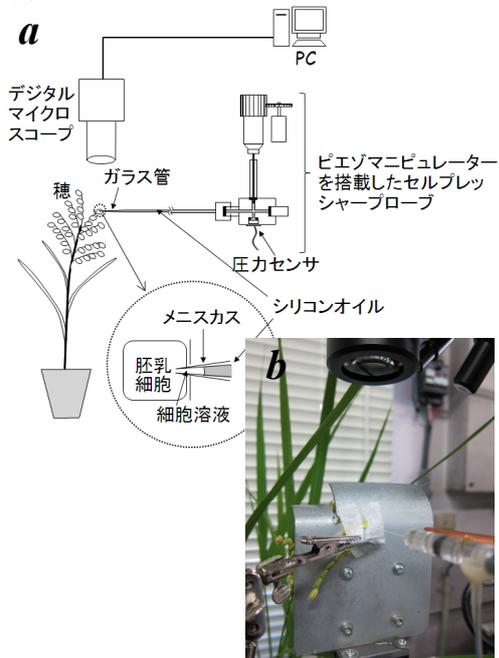


図2. (a) 改良したセルプレッシャープローブの略図、(b) 実際の細胞計測の様子。図のように、胚乳の細胞計測はインタクトな状態で行った。

4. 研究成果

(1) 低日照条件後に高温乾燥風処理を行うと、乳白粒発生率は穂全体で約35%であり、対照区(高温乾燥風処理なし)の約15%に比べて20ポイントの増加を認めた(図3)。また、プレッシャープローブ計測に用いた中位・弱勢顕果では乳白粒発生率は約61%であり、対照区と比べると、34ポイントの高温乾燥風による乳白粒発生の助長効果が認められた(図3)が、玄米1粒重には有意差は確認できなかった。なお、この人工気象室試験の結果は圃場再現試験において得られた結果に符合していた。

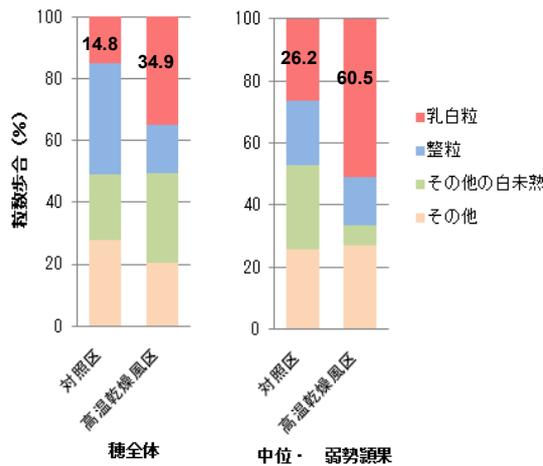


図3. 乾燥風が玄米外観品質に及ぼす影響。数字は乳白粒粒数歩合を示す。

(2) 高温乾燥風処理により葉身水ポテンシャルは低下したが、高温乾燥風処理終了後1日の間に水分状態は対照区のレベルまで回復した(図4a)。高温乾燥風条件下では光合成速度は気孔コンダクタンスの低下によって、低かったが、葉内炭酸ガス濃度に有意差はなかった(図4b-d)。

(3) プレッシャーチャンバー法と等圧式サイクロメーター法による測定を並行して行うことで、登熟中期の穂の水ポテンシャルと種子の水ポテンシャルの間に高い相関関係が認められた(図5)ことから、この相関を用いて玄米の水ポテンシャルと直接計測した膨圧値の差として胚乳の浸透ポテンシャルを求めた(図6d)。

(4) 高温乾燥風処理により穂および茎の導管の水ポテンシャルが6-12時間の間に有意に低下したが、穂での水ポテンシャルの最小値は-0.9MPaと、過去報告された顕果白化(白穂発生)時の水ポテンシャル(<-2.0MPa)

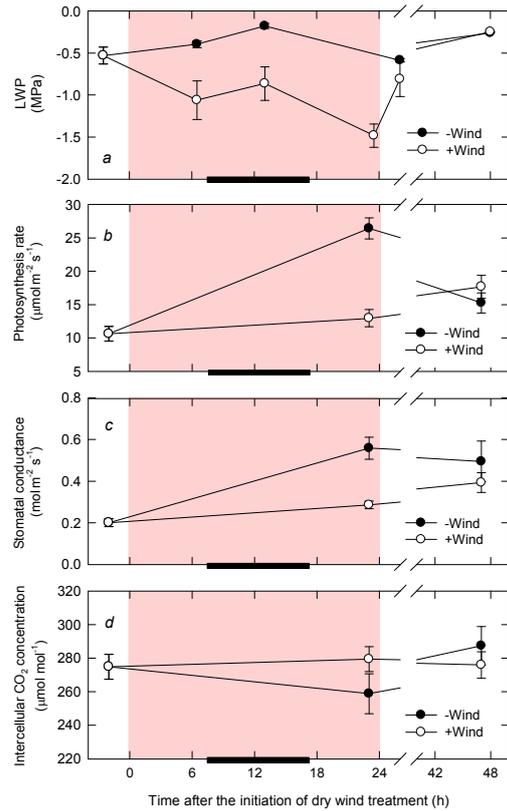


図4. 24時間の高温乾燥風処理条件下での稲体の葉身水ポテンシャル(a)、光合成速度(b)、気孔コンダクタンス(c)、葉内炭酸ガス濃度(d)を示す。ピンク色部分は乾風処理期間を、+Windが高温乾燥風区、-Windは対照区(風なし区)を示す。

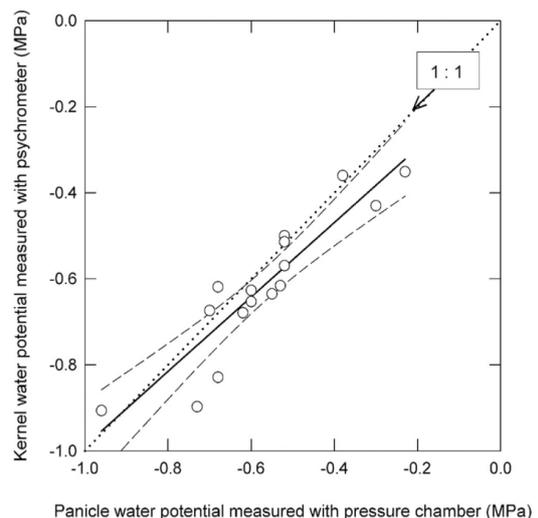


図5. ポンプアッププレッシャーチャンバーによる穂の水ポテンシャル値(x軸)と等圧式サイクロメーター法による同じ穂由来の弱勢顕果の水ポテンシャル(y軸)との関係。

と比較すると相当高く、本高温乾燥風条件下で穂が受けた水ストレス程度は比較的軽い水ストレスであったと考えられた。また、稲体の水分状態は高温乾燥風条件下で低下するものの、高温乾燥風処理終了後1日の間に水分状態は回復した(図6 a,b)。

(5) 乳白粒の発生が顕著に認められた穂の中位の弱勢穎果(図3参照)では胚乳細胞の膨圧は高温乾燥風条件下でも維持されており(図6)、穂を含む稲体の水分状態の低下に伴い、胚乳の浸透ポテンシャルにも有意な低下(胚乳の浸透圧の有意な上昇)が起こっていた。

(6) トレーサー解析の結果を表1にまとめた。穂全体でも、細胞計測の対象にした乳白粒発生率の最も高かった(図3)弱勢穎果でも、 ^{13}C の分配率に高温乾燥風処理の影響は認められなかった(表1)。

表1. 高温乾燥風処理開始後24時間時点の穂、弱勢穎果における ^{13}C の分配率。

処理区 ¹⁾	^{13}C 分配率	
	穂	弱勢穎果
	%	%
対照区	88.8	1.76
高温乾燥風	86.9	2.13
有意差 ²⁾	NS	NS

¹⁾ 両処理区とも、低日照処理の前歴あり。
²⁾ NSはt検定による有意差なしを示す。

(7) 以上の試験結果を総合すると、①高温乾燥風に伴う水ストレス条件下で胚乳では浸透調節が発現し、胚乳細胞内への溶質集積により浸透圧が上昇することで、膨圧を維持した結果、玄米の成長が促され、玄米1粒重が維持された。しかし、②澱粉集積が胚乳中心から外側へ進む途中の過程で浸透調節が起こったことにより、胚乳中心と外側の中間の細胞層で澱粉集積が阻害された。さらに、水ストレス回復後は外側の細胞層では澱粉蓄積が回復し、再度透明化したものの、澱粉集積が阻害された細胞層ではそれ以降も澱粉蓄積が回復せずに白濁化した結果、リング状乳白の多発に至ったと考えられた(図7参照)。

これまで高温や低日照での乳白粒の発生要因として同化産物の供給不足が指摘されてきたが、本実験で認めた軽度の水ストレス条件下では、同化産物の供給不足なしに玄米成長を損なうことなく、浸透調節を介して白濁が形成されるという新たなメカニズムが見出された。

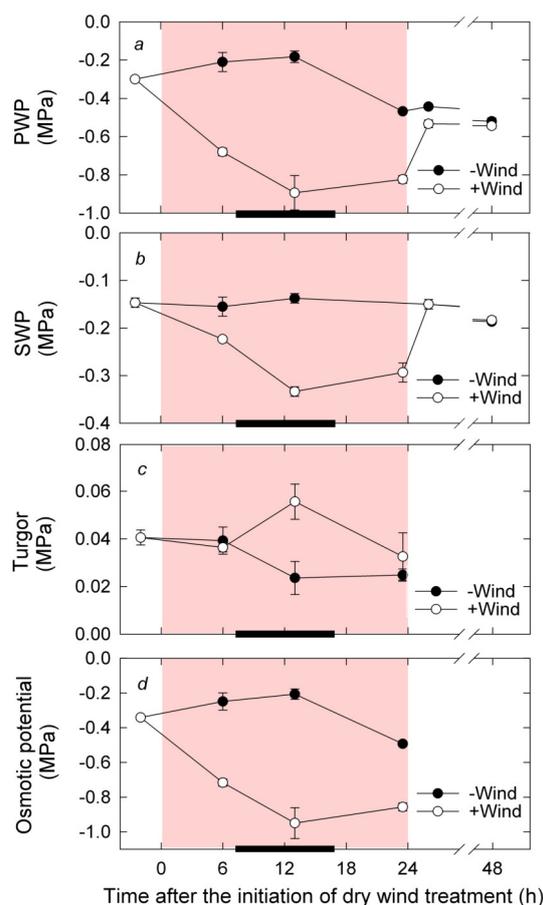


図6. 24時間の高温乾燥風処理条件下での稲体の水分状態推移.穂(a)および茎(b)の水ポテンシャル、胚乳膨圧(c)、算出した胚乳の浸透ポテンシャル(d)を示す.ピンク色部分は高温乾燥風処理期間を、+Windが高温乾燥風区、-Windは対照区(高温乾燥風処理なし)

過去、高温乾燥風による品質低下の影響に関する報告はなされてきたが、メカニズム解明については研究が進展していなかった。本課題で細胞計測という斬新な手法を加え、詳細な生理解析を行ったことにより、水ストレスを介する新たな乳白粒の発生機構が解明された。本成果は論文として米国作物学会誌に受理され、インパクトのある研究成果となった。今後、水ストレス下での浸透調節に伴う代謝変化や遺伝子発現の関与については更なる解析が求められる。この点については今年度採択された科研費 基盤研究B課題である「リアルタイム *in situ* 細胞計測による水稻胚乳の高温ストレス応答機構の解明」(平成24年度~26年度)において研究を深化させる計画である。

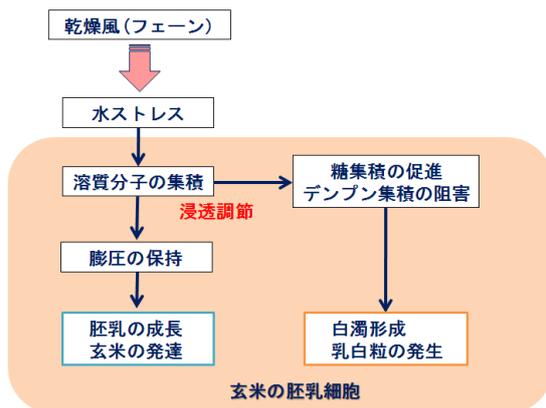


図7. 乾燥風による乳白粒の発生プロセス.

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4件)

- ① Wada H, Nonami H, Yabuoshi Y, Maruyama A, Tanaka A, Wakamatsu K, Sumi T, Wakiyama Y, Ohuchida M, Morita S (2011) Increased ring-shaped chalkiness and osmotic adjustment when growing rice grains under typhoon/foehn-induced dry wind condition. *Crop Science* 査読有, 51, 1703-1715, <https://www.crops.org/publications/cs/pdfs/51/4/1703>
- ② Wong E, Slaughter DC, Wada H, Matthews MA, Shackel KA (2009) Computer vision system for automated cell pressure probe operation. *Biosystems Engineering* 査読有, 103, 129-136 <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1537511009000713>

[学会発表] (計5件)

- ① 和田博史・野並浩・藪押睦幸・脇山恭行・森田敏 (2012) 台風・高温乾燥風による乳白粒発生の機構解明とその対策技術の考察, 日本作物学会第229回講演会要旨集, 2012年3月29日, 東京
- ② Wada H, Morita S, Gholipour Y, Erra-Balsells R, Tanaka F, Nonami H, (2011) Osmotic Adjustment in Growing Rice Grains under Dry Wind Condition. 4th International Symposium of Environmental Physiology of Ectotherms and Plants (ISEPEP4), July 18-22, 2011, Rennes, France, P28: 120
- ③ Wada H, Nonami H, Yabuoshi Y, Maruyama A, Tanaka A, Wakiyama A, Sumi T, Morita S. (2010) Increased ring-shaped chalkiness and turgor maintenance in rice grains grown

under Typhoon/Foehn-induced dry wind condition. ASA, CSSA, and SSSA Annual Meetings, October 31- November 3, 2010, Long Beach, CA 191-32

6. 研究組織

(1) 研究代表者

和田博史 (WADA HIROSHI)

独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構・九州沖縄農業研究センター・水田作・園芸研究領域・主任研究員
研究者番号：40533146

(2) 研究分担者

森田敏 (MORITA SATOSHI)

独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構・九州沖縄農業研究センター・水田作・園芸研究領域・上席研究員
研究者番号：40391453