

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 5 月 30 日現在

機関番号：16301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009～2011

課題番号：21780014

研究課題名（和文） イネ葉からのアンモニア放出現象の生理学的機作の解明とその応用

研究課題名（英文） Physiological approach of ammonia emission from rice leaves

研究代表者

荒木 卓哉 (ARAKI TAKUYA)

愛媛大学・農学部・准教授

研究者番号：10363326

研究成果の概要（和文）：

イネ 3 品種（アケノホシ、白紅屋および Kasalath）の葉身からのアンモニア放出速度を開放型同化箱を用いて測定した。アンモニア放出速度および葉身アンモニウム含量は施用窒素量の減少に伴い低下した。しかし、供試した 3 品種間で差が認められた。アンモニア放出速度、葉身のアンモニウムイオン含量およびグルタミン合成酵素は類似した傾向を示し、日中に最大値を示した。アケノホシは Kasalath と比べてアンモニア放出速度とアンモニウムイオン含量は低かったものの、グルタミン合成酵素活性は高かった。

アンモニア放出速度は酸素濃度の増加に伴い増加した。このことより、光呼吸の促進により総光合成速度が減少したことが関係しており、蒸散速度および気孔伝導度の影響は小さいことが示唆された。アケノホシおよび Kasalath において、アンモニア放出速度と光呼吸速度との間に有意な正の相関関係が認められた。また、アンモニア放出速度、総光合成速度、蒸散速度および気孔伝導度は光強度の増加とともに上昇した。これに対し、葉温の上昇はアンモニア放出速度および蒸散速度を上昇させたものの、走行ご末井速度および気孔伝導度は減少させた。Kasalath は強光、高葉温および高酸素濃度条件においてアケノホシよりも高いアンモニア放出速度を示した。これらの結果から光呼吸がイネ葉からのアンモニア放出に強く関係しており、アンモニア放出速度の品種間差は光呼吸におけるアンモニアの再同化の能力に関係しているグルタミン合成酵素活性に大きく影響を受けていること、および蒸散速度ならびに気孔伝導度にあまり影響を受けていないことが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：

NH₃ emission from leaves of three rice (*Oryza sativa* L.) cultivars, Akenohoshi, Shirobeniya and Kasalath, was examined using a simple open chamber system. In the three cultivars, NH₃ emission rate (AER) and NH₄⁺ content of leaves decreased with decreasing NH₄⁺ concentration in the root medium, but these values differed significantly with the cultivar. In the daytime, AER, NH₄⁺ content and glutamine synthetase (GS) activity in leaves changed similarly with maximum values around midday. Akenohoshi showed significantly lower AER and NH₄⁺ content but higher GS activity than Kasalath. The difference in AER among the rice cultivars may be related to the activity of GS involved in photorespiratory NH₃ recycling. Akenohoshi can be a breeding material useful for improving nitrogen recycling.

An increase in [O₂] increased AER in the two cultivars, accompanied by a decrease in gross photosynthetic rate (PG) due to enhanced photorespiration, but did not greatly

influence transpiration rate (Tr) and stomatal conductance (gs). There were significant positive correlations between AER and photorespiration in both cultivars. Increasing light intensity increased AER, PG, Tr and gs in both cultivars, whereas increasing leaf temperature increased AER and Tr but slightly decreased PG and gs. 'Kasalath' (low GS activity) showed higher AER than 'Akenohoshi' (high GS activity) at high light intensity, leaf temperature and [O₂]. Our results demonstrate that photorespiration is strongly involved in NH₃ emission by rice leaves and suggest that differences in AER between cultivars result from their different GS activities, which would result in different capacities for reassimilation of photorespiratory NH₃. The results also suggest that NH₃ emission in rice leaves is not directly controlled by transpiration and stomatal conductance.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

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：

1. 研究開始当初の背景

現在、アジア開発途上国を中心とする地域での人口爆発に対応できるコメの生産拡大が求められている。また気候変動に伴い、農業生産のための資源（土壌、水、養分）の不足が生じ、食料としてのコメが不足する食糧危機が想定されている。一方で、食糧不足解決へ向けた水田への化学肥料や農薬等の多投入は、流域環境の化学物質汚染を進行させている。イネの生産力維持と流域環境の化学物質汚染抑制を同時に進行させることが、今日イネ生産諸国が抱える重要な課題である。本課題解決のためには、イネの窒素利用効率の向上が最も効果的かつ有望な戦略である。すなわち、イネの窒素利用効率を向上させることが、化学肥料節減下における生産力を確保し、流域環境への化学物質の流入抑制を可能にする。また、窒素に関しては、2003年に持続的な食糧生産に伴う窒素利用の最適化と窒素負荷の環境への影響の最小化を目的とした International Nitrogen Initiative (INI)が発足され、世界的に窒素に関連する諸問題に関心が集まっている。申請者は、イネの窒素利用効率向上へのアプローチとして、光合成の窒素反応性に着目して

研究を進めてきた。これまでの研究成果に基づき、本研究ではイネの窒素利用効率向上へのアプローチとして葉からのアンモニア放出現象について着目したい。葉からのアンモニア放出はオオムギ、ナタネなどで認められており解析が進められてきた。葉にはアンモニア補償点が存在し、通常 0.1-20mmol mol⁻¹である。大気濃度より高い場合は葉からアンモニアが放出され、低い場合は吸収される。葉内でアンモニアが放出される代謝系で特に重要なのが光呼吸代謝で、ミトコンドリアで生成されたアンモニアは葉緑体グルタミン合成酵素 (GS2) に直ちに再固定される。また、GS2は活性酸素による損傷を受け易い。葉内の光化学系に蓄積された過剰エネルギーにより活性酸素種は生成され、それにより光阻害が誘導される。これらのことは、葉からの呼吸代謝および光阻害特性が関連している可能性を示すものである。圃場条件下では、光阻害は頻発しており、それが葉からのアンモニア放出に影響を及ぼし、ひいては個体の窒素利用効率に影響を及ぼす可能性が推察される。しかしながら、光阻害特性とアンモニア放出の関係について解析した例は見当たらない。そこで光呼吸と光阻害特性と

の関連でイネ葉からのアンモニア放出現象における生理的意義ならびに作用機作を解明するとともにアンモニア放出現象を応用した圃場条件における低窒素条件下での栽培管理技術を構築したい。

2. 研究の目的

上記のような社会的背景と学術的経緯から、好アンモニア性作物であるイネ葉からのアンモニア放出現象の生理的意義ならびに作用機作を葉内アンモニア代謝に関連する光呼吸代謝および光阻害特性に関連させて解明し、その意義に基づいてアンモニア放出を応用した環境保全型栽培管理技術を目指した重要な手がかりを得ることを目的とする。

3. 研究の方法

本研究を遂行するに当たり、以下の5課題について検討した。

課題Ⅰ. イネ葉からのアンモニア放出に対する環境作用の評価

まず、①同化箱法によるイネ葉におけるアンモニア放出速度の測定法を確立する。外気をアンモニア吸着剤に通過させて、アンモニアを完全に除去した後、同化箱に導き、次にそれを塩酸溶液に通過させて、葉から放出されるアンモニアを補足する。塩酸溶液に吸収させたアンモニア濃度をイオンメータあるいは吸光光度法で分析し、これと通気流量からアンモニア放出速度を算出する。系内の測定環境（導入空気流量）、アンモニア採取に必要な測定時間、捕集液（希塩酸）量および濃度の検討の必要がある。この方法を利用して、②アンモニア放出の基礎情報として環境（温度、光強度、相対湿度）に対する作用を評価する。

課題Ⅱ. アンモニア放出と光合成との関連性の解析

異なる CO_2/O_2 分圧下で、①で確立した方法と光合成ガス交換速度とクロロフィル蛍光消光の同時計測により、アンモニア放出速度と光合成速度との相関を調べる。光呼吸系の酵素活性を測定し、アンモニア放出速度との関係を検討する。

課題Ⅲ. アンモニア放出と光阻害特性との関連性の解析

これまでに窒素施肥の減少や老化に伴い、イネ止葉の光阻害が進行することを明らかにしている。そこで、窒素施肥量の減少と老化がイネ葉からアンモニア放出速度に及ぼす影響を検討する。光合成系、光防御系の各成分、組織内アンモニア濃度および活性酸素発生量の分析により、④光阻害特性とアンモニアとの関係性を明らかにする。

課題Ⅳ. 光阻害緩和策によるアンモニア放出抑制効果の検討

イネ葉アンモニア放出速度の日変化を調査し、日中の光阻害程度がアンモニア放出速度に及ぼす影響を解析する。日中の光阻害程度とアンモニア放出の比例関係が認められたら、光阻害緩和策による葉からのアンモニア放出抑制効果の検討を行う。

以上のIV課題の成果より総合的に考察し、イネ葉からのアンモニア放出の生理的意義を光合成・窒素理論としてまとめる。

課題Ⅴ. アンモニア放出を指標とした Speaking Plant Approach を応用した高度栽培管理技術の構築

課題Ⅰ～Ⅳまでで得られた葉からのアンモニア放出の生理学的機作を実際の栽培水田での応用を行いたい。そのために、①課題Ⅰで確立したアンモニア捕集方法の水田で応用可能な改良、②水田地表面からのアンモニア放出速度の把握について検討し、水田における土壌-作物-大気系のアンモニア収支を評価する。このアンモニア収支を①気象条件の変化、例えば近年深刻化している出穂期以降の高温や台風に伴う潮風害、が生じた場合、②施肥体系（施用量、施肥時期、方法）を変化させた場合について評価することで水田内イネの生理活性を把握し、速やかな生理障害の緩和ならびに回避への対応や肥料節減型の高度栽培管理技術を構築したい。

4. 研究成果

(1) まず、イネ葉身からのアンモニアを捕集するための計測システムを構築した。開放型同化箱測定装置に前処理した濾紙を下流に固定し、2時間吸着させた。既値の発生させたアンモニア量に対し、本システムは99%の捕集率であったことから、本システムの有効性が示された。

(2) 葉身からのアンモニア放出速度は、日射量の増加とともに上昇し、13時頃に最大値に達し、その後減少する日変化を示した。また、葉内のアンモニウムイオン含量はアンモニア放出速度と同調したパターンを示した。アンモニア放出速度が大きい品種においてはグルタミン合成酵素活性が低かった。

(3) 葉身からのアンモニア放出速度には品種間差が認められ、供試した3品種（Kasaklath, 白紅屋, アケノホシ）を同時条件で測定した場合、Kasalathで最も高く、次いで白紅屋、日本晴の順となった。また、窒素施肥量を半分にした場合、アンモニア放出速度はいずれ

の品種も低下したが品種間の関係には変化が見られなかった。

研究者番号：10363326

(4)アンモニア放出速度は、光合成有効放射束密度、温度および大気中の酸素濃度と密接な関係が認められた。これらの環境要因に対するガス交換関連パラメータとの関係より、アンモニア放出速度は気孔伝導度に影響を受けず、光呼吸と密接な関係があることが示唆された。このことより光呼吸により生成されたアンモニアが主たる放出源の一つであることが明らかとなった。

(5)葉身からのアンモニア放出源として根において代謝されずに地上部へ輸送されたアンモニアがあげられる。アンモニア放出源の割合(光呼吸由来:根において未代謝のもの)は品種により異なった。

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2件)

① Kumagai E., Araki T. and Ueno O., Ammonia Emission from Leaves of Different Rice (*Oryza sativa* L.) Cultivars, Plant Production Science, 14, 249-253, 2011, 査読有

② Kumagai E., Araki T., Hamaoka N. and Ueno O., Ammonia emission from rice leaves in relation to photorespiration and genotypic differences in glutamine synthetase activity, Annals of Botany, 108, 1381-1386, 2011, 査読有

[学会発表] (計3件)

① 荒木 卓哉, 異なる窒素施用条件におけるイネ葉からのアンモニア放出に対する出液速度および地上部への NH_4^+ 輸送の影響, 日本生物環境工学会 2011 年大会, 2011 年 9 月 7 日, 北海道大学

② 荒木 卓哉, 異なる窒素施用条件で栽培したイネの出液速度および地上部への NH_4^+ 輸送が葉からのアンモニア放出に及ぼす影響, 日本作物学会第 232 回講演会, 2011 年 9 月 2 日, 山口大学

③ 熊谷悦史, 光強度, 温度および酸素濃度が葉身窒素含量の異なるイネ 2 品種の葉からのアンモニア放出に及ぼす影響, 日本作物学会第 230 回講演会, 2010 年 9 月 5 日, 北海道大学

6. 研究組織

(1) 研究代表者

荒木 卓哉 (ARAKI TAKUYA)

愛媛大学・農学部・准教授