

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14日現在

機関番号：23303

研究種目：若手研究（B）

研究期間：平成21年～平成23年

課題番号：21780016

研究課題名（和文） 水稻における穂内穎果の成長斉一性検定法の確立および関連 QTL の探索

研究課題名（英文） The evaluation system for the synchronicity in grain growth in a rice panicle and detection of related QTLs.

研究代表者 塚口直史

(TSUKAGUCHI TADASHI)

石川県立大学生物資源環境学部

研究者番号：40345492

研究成果の概要（和文）：出穂10日後の穂をヨードヨードカリ染色することにより、穎果の成長斉一性が評価できることがわかった。光環境および温度環境が穎果の成長斉一性に強く関与し、内生ABAが穎果の成長斉一性に関与することが示唆された。本研究の結果、穎果の成長斉一性および良登熟性に関与すると思われるいくつかの有望な系統を見出すことができ、穎果の成長斉一性と良登熟性および高温登熟性の関連を解析した。

研究成果の概要（英文）：The synchronicity in grain growth in a panicle was well evaluated by staining spikelets with iodine-potassium iodine solution using the panicle about 10 days after flowering. The synchronicity in grain growth was affected by temperature and radiation levels and was possibly associated with the endogenous ABA level in the grain. In the chromosome segment substitution lines between Koshihikari/Kasalath, several lines showed specifically low The synchronicity in grain growth, which is hopefully a desired traits in improving grain filling and the association between the synchronicity in grain growth and grain filling percentage was analyzed.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
21年度	2800000	840000	3640000
22年度	500000	150000	650000
23年度	500000	150000	650000
年度			
年度			
総計	3800000	1140000	4940000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学・作物学

キーワード：

1. 研究開始当初の背景

水稻の穂には多数の穎果が着生するが、それらの穎果の成長は完全に同調せず各穎果の成長には時期的なずれがある。そのため、適温条件では充実度や品質を決定する最も重要な成長初期のステージが穂内の各穎果で重ならず、そのステージにおける炭水化物の不足は生じにくい。したがって成果の成長斉一性は良登熟性に対して重要な形質である

と考えられる。これまでに、穂内の穎果の成長斉一性と登熟の良否を関連させた報告はいくつかある。ただし、穎果の成長斉一性を簡便に評価する方法がなく、また穎果の成長斉一性に対する環境の影響もほとんどわかっていない。穎果の成長斉一性の簡便な評価法の確立、成長斉一性に及ぼす気温および日射条件の影響の解明および成長斉一性に関与する量的遺伝子座（QTL）の探索を目的と

して研究を行った。さらに、穎果の成長斉一性と良登熟性や高温登熟性との関係を探ることを目的とした。

2. 研究の目的

(1) イネでは子房の生長が認められない空籾の発生は穎果の成長斉一性と強く関連すると考えられる。本研究は開花後の光および温度環境により空籾が発生することを明らかにすることを目的とした。また、空籾のヨードヨードカリ溶液に対する染色性を明らかにすることを目的とした。

(2) 開花後生長の認められない穎果の生存率と開花後日数との関係を明らかにすることを目的として、それら穎果の登熟能を、生長穎果の切除処理による登熟の有無および細胞周期のマーカー遺伝子の発現量の変化から検証した。

(3) イネの穂内穎果の乾物蓄積は斉一ではなく、穎果間の乾物蓄積パターンは炭水化物供給や気温などの栄養状態や環境の影響を受けることがわかっている。本研究では、登熟期の気温および光条件が穎果の成長斉一性に対する影響を明らかにすること、穎果の成長斉一性と内生 ABA 含量との関係を明らかにすることを目的とした。

(4) ヨードヨードカリ法による穎果の成長斉一性に関する QTL を探索することを目的とした。また穎果の成長斉一性と良登熟性の指標になると考えられる高密度粒割合との関係および高温登熟性との関係を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) コシヒカリに対して、開花 3 日後から成熟期までグロースチャンバーによる温度 2 水準および光 3 水準の処理を行った。開花 10 日後および 14 日後に各処理区から 10 個体サンプリングし、外見により生存と枯死に分けて成長の認められない穎果の数を調査した。成熟期に各処理区 10 個体の空籾発生率を調査した。また空籾のヨードヨードカリ溶液に対する染色を調査した。

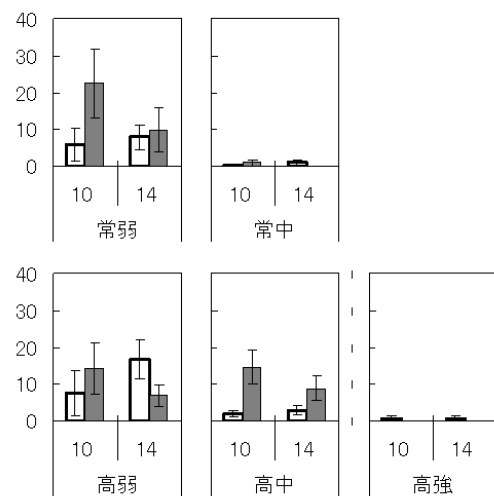
(2) コシヒカリに対して、開花 3 日後に常温弱光条件とした。弱光処理開始 7 日後に、5 個体について、生長の認められない穎果のみを残して生長中の穎果を切除する処理を行った。摘穎果処理直前および 8 時間後に生長の認められない穎果を、32 時間後に 1 日以内に生長を開始したと思われる穎果を採取した。また弱光処理開始前に開花中、開花 24 時間後、開花 48 時間後および弱光処理開始翌日に開花中の穎果を採取した。これらの穎果から Total RNA を抽出し、それぞれ G₁/S 期および G₂/M 期のマーカー遺伝子である *OsPCNA* および *Cycos2* の発現解析をリアルタイム PCR を用いて行った。

(3) コシヒカリを供試し、開花 6 日後から 19 日後まで隔壁型温度勾配チャンバーで常温区および高温区を設けた。各温度処理区で 75% 遮光区を設けた。開花 6 日から 22 日後の間 2、3 日おきに穂を採取し、液体窒素で凍結後凍結乾燥させた。乾燥試料は内外穎を除去後、着生位置別に穎果の乾物重を測定し、ABA 含量を測定した。

(4) コシヒカリ/Kasalath 染色体断片置換系統 (CSSLs) 39 系統、コシヒカリおよび Kasalath を供試して圃場栽培を行った。栽培は慣行に従い、各品種の穂揃期に止葉葉身切除処理を与え (L 区)、他方を無処理区 (C 区) とし、各 3 反復設けた。成熟期に各処理区・各反復から 4 個体ずつ刈り取り収量調査を行った。

4. 研究成果

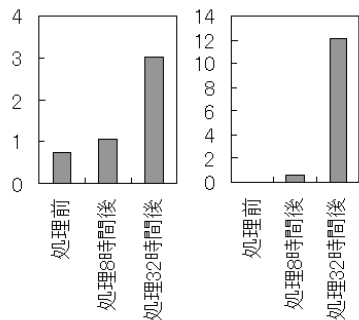
(1) 空籾の発生率は、処理区によって大きく異なった。開花 10 日後および 14 日後には、弱光区および高温中光区において、外見上生存しているが生長の認められない穎果が多く観察された (第 1 図)。それらの穎果の数は開花 10 日後から 14 日後の間に減少した。一方、これらの処理区では、生長せずに枯死した穎果は開花 10 日後から 14 日後の間に増加し、その増加は高温弱光区で顕著であった。開花 14 日後に生長穎果の切除により、それまで生長の認められなかった穎果の一部は登熟したが、その割合は処理区によって異なった。生存によらず、これらの子房の成長の求められない穎果の内外穎はヨードヨードカリ溶液により染色されなかった。したがって開花 10 日後 (出穂 14 日後) 程度までにヨードヨードカリ溶液で染色することにより、穎果の成長斉一性は評価できると考えられた。



第 1 図 開花 10 日後および 14 日後の各処理区における枯死 (白抜き) および生存 (グ

レー) 別の生長の認められない穎果の割合
全穎果数に対する値。

(2) *OsPCNA* および *Cycos2* の発現は、開花 10 日後に生長の認められない子房では抑制され、発現の抑制は *Cycos2* において顕著であった (第 2 図)。穎果切除処理 8 時間後にはこれらの遺伝子の発現量は開花時程度に回復し、32 時間後には多くの穎果で子房の生長が認められ、またこれらの遺伝子の発現量は大きくなった。以上のことから、開花 10 日後頃までは登熟能を有しながら成長を開始しない穎果が存在することが分かった。

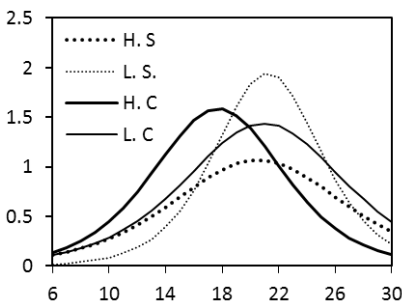


第 2 図 穎果切除処理前後の *OsPCNA* と *Cycos2* の相対発現量 (開花中の穎果の発現量を 1 とする)

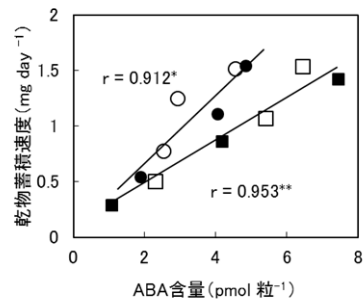
(3) 各処理区とも上位一次穎果に対して、下位二次穎果、下位三次穎果の乾物蓄積が遅れたが、高温により下位高次穎果の乾物蓄積が早まり、また遮光により下位高次穎果の乾物蓄積が遅れる傾向が認められた (第 3 図)。

高温下では ABA の穎果への蓄積量が顕著に低下し、ピークは不明瞭となった。開花 6 日後から 14 日後までの各穎果の乾物増加速度と内生 ABA 量との間には、各温度区で高い正の相関関係が認められた (第 4 図)。高温下では上位穎果と下位穎果の間の ABA 含量の差が小さく、ABA 含量に対する乾物蓄積速度が大きかった。

以上のように、光環境および温度環境が穎果の成長斉一性に強く関与し、内生 ABA が穎果の成長斉一性に関与することが示唆された。



第 3 図 下位 3 次穎果の乾物蓄積速度の推移。H. S. は高温遮光区、L. S. は常温遮光区、H. C. は高温対照区、L. C. は常温対照区を示す。



第 4 図 各区の上位一次、下位二次および下位三次穎果の開花 6~14 日における平均内生 ABA 含量とその期間の平均乾物蓄積速度の関係

(4) インド型は良登熟性に寄与する高密度粒の割合が高いことがわかった。コシヒカリと Kasalath の染色体断片置換系統を用いて高密度粒割合を調査した結果、第 11 染色体に置換部位のある系統がコシヒカリより高い高密度粒割合を示し、特に SL233 間で高かった。一方、ヨードヨードカリ溶液による穂内穎果の成長斉一性は第 11 染色体に置換部位のある系統では高かったが、他にもいくつか高い系統が存在した。一方高温登熟性に優れると系統もいくつか同定したが、必ずしも穎果の成長斉一性とは関連が認められなかった。本研究の結果、良登熟性に関与すると思われるいくつかの有望な系統を見出すことができた。ただし、これらの再現性や穎果の成長斉一性と良登熟性との関係は研究年度内では明らかにできず、今後調査を継続する予定である。

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)

[雑誌論文] (計 件)

Tadashi Tsukaguchi, K. Ohashi, H. Sakai and T. Hasegawa, Varietal Difference of the Response to Assimilate Supply in the Occurrence of Milky White Kernels in Rice Plants (*Oryza sativa*. L)、Plant Production Science、査読あり、Vol. 14 No.2, 2011, pp

塚口直史・山村達也・井上裕則・中川博視・村上佳矢・北恵利佳、コシヒカリにおける胚乳割断面の白濁タイプが異なる乳白粒発生率の登熟温度および炭水化物供給に対する反応性、日本作物学会

紀事、査読あり、81 巻 2 号、2012、印刷中

井上裕紀・北恵利佳・山村達也・長田あゆみ・塚口直史、胚乳割断面の白濁パターン別の水稻乳白粒発生に対する温度と剪葉処理の影響、北陸作物学会報、査読あり、47 巻、2012、

〔学会発表〕(計 7 件)

塚口直史・八木亜沙美・中川博視、開花後の環境によるイネの空粒発生、日本作物学会第 229 回講演会、平成 22 年 3 月 31 日、宇都宮大学

塚口直史・田中隆太・中川博視、着生位置別穎果の乾物蓄積と内生 ABA 含量に及ぼす温度と光条件の影響、日本作物学会第 231 回講演会、2011 年 3 月 31 日、東京農業大学

塚口直史・八木亜沙美・古賀博則・栗原孝行、イネ成長停滞穎果の登熟能に関する研究、日本作物学会第 232 回講演会、2011 年 9 月 2 日、山口大学

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

塚口直史 (TSUKAGUCHI TADASHI)

石川県立大学生物資源環境科学部・講師

研究者番号：40345492

(2) 研究分担者
()

研究者番号：

(3) 連携研究者
()

研究者番号：