

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 19 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2014

課題番号：23580016

研究課題名(和文) 登熟優先度調節系からのアプローチによるイネ穎果のデンプン蓄積および品質向上

研究課題名(英文) Approach for raising starch accumulation and quality of grain through analyzing the strength of controlling the grain filling priority of spikelets within the panicle in rice

研究代表者

中村 貞二 (NAKAMURA, TEIJI)

東北大学・(連合)農学研究科(研究院)・助手

研究者番号：70155844

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：イネには1穂内穎果の登熟優先度調節系があり、その強さには遺伝的差異がある。本実験では登熟優先度調節の強さ(SCFP)が異なるいくつかの品種・系統を用いた。低source/sink比下で、穂の下部の弱勢な穎果の初期成長が遅延しにくく、一穂内の穎果が一斉に登熟する、すなわちSCFPが弱い品種・系統の方が、弱勢な穎果の初期成長が遅延しやすく、一穂内の穎果がバラバラに登熟する、すなわちSCFPが強い品種・系統よりも登熟と品質が低下しにくく良好であった。この理由は、穎果の初期成長の遅延が、後の乾物重蓄積期におけるデンプン合成系関連酵素の活性低下を通じてデンプン合成の能力そのものを低下させるためである。

研究成果の概要(英文)：It is known that there is the genetic difference in the strength to control the filling priority of grains within the panicle (SCFP) in rice. In this experiment, several cultivars and lines (CL) differing SCFP were used. Low source/sink condition delayed early growth of inferior grains attached to the lower position of panicle, and consequently started the dry matter accumulation of grains within the panicle asynchronously, and lowered filling and quality of inferior grains in CL with strong SCFP. Oppositely low source/sink condition did not delay early growth of inferior grains, and started the dry matter accumulation grains within panicle synchronously, and did not lowered filling and quality of inferior of grains in CL with weak SCFP. For this reason, it was indicated that the delay of early grain growth reduce activities of several enzymes related to starch synthesizing during dry matter accumulation stage, consequently reduce starch synthesizing ability itself.

研究分野：作物学

キーワード：イネ 穎果 初期成長 登熟優先度 品質 source/sink比 ABA 炭水化物関連代謝酵素

### 1. 研究開始当初の背景

イネでは、穂の下部に着生する穎果が弱勢で、登熟優先度が低い。多収性を求めるために面積当たりの穎花数が極端に多くなるような栽培や育種を行うと、弱勢な穎果の登熟が悪化し、収量は減少しやすくなる。低日射などの不良環境はさらにこれを助長する。

著者は、品種ササニシキを用い、登熟優先度が低い弱勢な穎果は、とくに低日射など source/sink 比が低い条件下では、そのデンプン蓄積期よりも、むしろ胚乳発達の初期段階で成長の遅延を起し易いこと、そしてこの初期成長の遅延は、胚乳細胞数の減少を通じて最終粒重の低下を伴うことを示した。さらに、この遅延は、穎果への光合成産物の供給不足によるのではなく、植物ホルモンの ABA (アブシジン酸) レベルの低下により生ずること、つまり ABA は穎果の成長促進要因として働いていることを示した。一方、登熟歩合や収量と密接な関係にある穎果の最終粒重は、胚乳細胞数だけでなく穎果の直線的乾物重増加速度に影響を受け、その速度は穎果に供給される炭水化物により決定されることがわかった。よって、穎果の初期成長 (細胞分裂・伸長) さらに胚乳細胞数 (sink サイズ) は栄養というよりもホルモナルな制御で、胚乳細胞における物質蓄積は炭水化物という栄養的な制御を受けて最終粒重つまり登熟の良否が決定されることが示された。

また、登熟優先度調節系は野生イネを含めたすべてのイネに存在するが、その強さには遺伝的多様性があり、それは ABA レベルの違いにより生じていること、また登熟優先度の調節が弱く、低 source/sink 比の条件下でも弱勢な穎果の初期成長が遅延しにくい品種・系統の方が、し易い品種・系統すなわち登熟優先度の調節が強い品種・系統よりも、弱勢な穎果の胚乳細胞数の低下も少なく、収量低下も少なかった。つまり、現在の品種では一穂内の穎果が一斉に登熟しても、通常起こりうる悪天候下では競合により登熟が悪化することはないようである。以上のように、イネにとって穎果の登熟優先度調節が弱いという性質は、低 source/sink 比という登熟にとって不利な環境下でも、弱勢な穎果の初期成長が遅延しにくく、sink の大きさである胚乳細胞数の減少も少なく登熟が悪化しにくいことが示されたことになる。

一方、最近米の品質を低下させる白未熟粒発生が問題になっている。とくに登熟期の高温で発生することが多いが、宮城県などでは登熟期の低日射で発生することもしばしばである。白未熟粒の代表格となる乳白米や心白米は、一穂の中でも開花が遅く下部に着生する弱勢な穎果に多く発生することが以前から知られている。著者が行ってきた登熟優先度決定に関する一連の実験結果では、残念ながら白未熟粒など品質の調査は行っておらず、前述したように、とくに弱勢な穎果の初期成長遅延による登熟不良は、sink サイズ

である胚乳細胞の減少が登熟不良の主な原因であるとしてきた。著者は、最近、弱勢な穎果の登熟および品質は、穎果の初期成長期やデンプン蓄積期における低 source/sink 比により悪化するが、白未熟粒発生 (品質低下) はデンプン蓄積期よりも初期成長期の低 source/sink 比で起こることを明らかにした。白未熟粒ではデンプン蓄積が不良となり、デンプン粒間に空隙ができ光が乱反射するとされ、デンプン蓄積期における光合成産物の供給不足がその発生の主な要因と考えられる。しかし、弱勢な穎果について初期成長期は低 source/sink 比とし、その後のデンプン蓄積期には穎果間引きにより高 source/sink 比とし、十分に光合成産物を供給しても白未熟粒発生を抑えることはできなかった。以上より、初期成長が遅延した穎果では、後に起こるデンプン蓄積期におけるデンプン合成系に問題が生じていると考えられる。したがって、穎果の初期成長遅延がなぜ後に起こるデンプン蓄積、さらには品質を低下させるのかを明らかにする必要があると考えた。

### 2. 研究の目的

本研究では、登熟優先度が低い弱勢な穎果における初期成長の遅延による白未熟粒発生 (デンプン合成・蓄積不良) には、穎果のデンプン蓄積期におけるデンプン合成能の減少が関係しているという仮説の立証を試みる。デンプン合成能は穎果におけるデンプン合成系のいくつかの酵素活性で評価する。ABA は sink において、ATPase により生じた H<sup>+</sup> 駆動力による同化物の unloading や貯蔵細胞による同化物の吸収を促進することが示されているので、登熟優先度が異なる穎果について、デンプン蓄積期における穎果の内生 ABA を測定しデンプン蓄積、品質との関係を明らかにする。さらに、開花後の登熟段階が異なる穎果について sink である穎果内の同化物輸送経路における ATPase の分布、活性を明らかにする。次に、登熟優先度調節の強さが異なると予想されるいくつかの品種・系統を用い、登熟期における source/sink 比の変化に対するとくに弱勢な穎果の登熟の変化、さらに白未熟粒発生など米品質の変化を調査し、登熟優先度の強さと登熟、品質の関係を明らかにする。以上より、イネ穎果のデンプン蓄積・品質に及ぼす登熟優先度調節系の影響とその作用機作を明らかにする。

### 3. 研究の方法

(1) Source/sink 比が穂上位置を異にするイネ穎果の初期成長、登熟、品質、乾物蓄積期における ABA レベルおよびデンプン合成能に及ぼす影響

暗黒下 32 条件下で催芽したササニシキの種子を 1/5000a ワグネルポットに円形 20 粒播き、分けつ除去、土耕栽培した。基肥として播種直前に N 200mg、P2O5 50mg、K2O 75mg を液肥で施与し、畑状態で栽培した。第 5 葉

期から湛水し、10日ごとに基肥と同じ量の液肥を施与した。なお、前もってポットのゴム栓をはずし、水を数回注いでポット内の土を水洗いした後に施与した。出穂後は上記の半分の量の液肥を同様に施与した。出現した分けつを数日間隔で除去し、主茎のみを生育させた。出穂直前から24/19（昼/夜温）の自然光ファイトトン内に移動した。強勢な穎果の代表として2B（上から2番目の一次枝梗の最基部に着生した穎果）と弱勢な穎果（最基部一次枝梗の先端から2番目に着生した穎果）を供試した。開花日をstage A、穎果の幅が籾殻の半分に達した日をstage H、穎果が籾殻全体を埋め尽くした日をstage Mとし、それらの日付を透視法で調査した。またstage A~H（初期成長期）とstage H以降（乾物蓄積期）の計2時期について、全葉身の先端から1/2を切除する剪葉（低source/sink比）と、剪葉に加えて2BまたはB2が着生する一次枝梗穎果（5~6粒）以外の全ての穎果を切除する穎果間引き（高source/sink比）を組み合わせて処理を行い、穎果の初期成長、stage M後の直線的乾物重増加速度、最終粒重、登熟歩合、品質および直線的乾物重増加期における内生ABAレベルをELIZA法で、デンプン合成関連酵素（sucrose synthase、ADP glucose pyrophosphorylase、soluble starch synthase、granule-bound starch synthase）活性を常法で測定した。

(2) イネ穎果の背部組織におけるATPase活性の局在性およびその同化物輸送との関係

ササニシキを供試し、全期間24/19（昼/夜温）の自然光ファイトトン内で(1)と同様な方法で栽培した。開花後6、12、18、24、36日における強勢な穎果（上から2番目の一次枝梗の最基部着生穎果）について、lead phosphate precipitation法を用いて透過型電子顕微鏡によって観察した。ATPaseの活性があるとその場に高い電子密度のリン酸鉛が沈着し、黒色を呈する。なお、2mM ATP（基質）を含まない溶液でインキュベートした対照区を設けて、観察したがATPase活性の反応は全く見られなかった。

(3) 穎果の登熟優先度調節系がイネの登熟と品質に及ぼす影響

アキニシキ、奥羽飼403号、蔵の華、コシヒカリ、ササニシキ、南粳44（中国江蘇省）、夢あおば、揚粳806（中国江蘇省）、楊粳4038（中国江蘇省）、92133（中国江蘇省）を供試し、(1)と同じように栽培した。出穂期に全葉身の先端から長さで半分を切り取る剪葉（低source/sink比）と穂の上から奇数番目の1次枝梗を切除する穎果間引き（高source/sink比）を設けた。強勢な穎果として2Bと弱勢な穎果としてB2を選び、stage Aからstage Hに達するまでの日数（穎果の初期成長）を(1)同様調査した。成熟後、2B、B2および穂全体の登熟歩合（比重1.06で判定）、最終粒重、品質（目視）を調査した。

#### 4. 研究成果

(1) Source/sink比が穂上位置を異にするイネ穎果の初期成長、登熟、品質、乾物蓄積期におけるABAレベルおよびデンプン合成能に及ぼす影響

初期成長期の低source/sink比により弱勢な穎果のstage A~Hの日数は長くなり、初期成長が遅延した。またstage M後の穎果は直線的に乾物重が増加し、その直線的乾物重増加速度は初期成長期に低source/sink比とした弱勢な穎果で低下し、初期成長期の低source/sink比の後、乾物蓄積期にsource/sink比を高めた場合でも直線的乾物重増加速度は回復しなかった。さらに穎果の最終粒重、登熟歩合も初期成長期に低source/sink比とした弱勢な穎果で低下し、白未熟粒発生により整粒歩合が低下、すなわち品質も低下した。以上のように、穎果の乾物重増加速度は登熟歩合、品質と正の関係にあることが示された。ABAは一般にsinkにおける同化物のunloadingを促進していると考えられているが、本研究では直線的乾物重増加期の穎果における内生ABAレベルと乾物重増加速度、との正の関係は無いことが示された。一方、穎果の直線的乾物重増加期におけるデンプン合成関連酵素は、弱勢な穎果の方が強勢な穎果よりも活性が低い傾向が認められ、中でも初期成長期に低source/sink比とした場合にsucrose synthase、ADP glucose pyrophosphorylase、soluble starch synthase活性の有為に低下した。穎果の直線的乾物重増加速度は、sucrose synthase、ADP glucose pyrophosphorylase、soluble starch synthaseそれぞれの活性と有為な正の相関を示した。穎果のデンプン合成関連酵素活性が低下したことによりデンプン合成・蓄積が低下し、穎果の乾物重増加速度が低下したと考えられた。

以上より、低source/sink比による弱勢な穎果の初期成長の遅延は、後の乾物蓄積期における炭水化物代謝関連酵素活性を低下させる、つまり穎果におけるデンプン合成・蓄積の能力そのものを低下させることにより乾物重蓄積を低下させ、米の登熟不良および品質低下を引き起こすという機構が示された。

(2) イネ穎果の背部組織におけるATPase活性の局在性およびその同化物輸送との関係

背部維管束組織では、開花後6日の登熟初期で一部の師要素の原形質膜にlead phosphate (Ip)がわずかに沈着したが、伴細胞および維管束柔細胞の原形質膜ではIpの沈着はなかった。登熟盛期の開花後12日、18日では、師要素と伴細胞の原形質膜に著しいIpの沈着が観察されたが、維管束柔細胞の原形質膜のIpの沈着はわずかであった。その後両者のIp沈着は開花後24日（成熟期）にかけて急激に減少した。珠心突起では、開花後12日、18日の登熟盛期になっても退化珠心層に近い一部の細胞を除いてIpはほと

んど沈着しなかった。珠心表皮では、開花後 12 日になると胚乳を取り囲むすべての部分でその原形質膜に lp が沈着した。開花後 12 日以降、腹部から背部に向かい珠心表皮細胞は退化し、24 日では背部に近い一部の細胞だけが残存した。胚乳細胞では、開花後 6 日では胚乳細胞の原形質膜の lp 沈着はなかった。登熟盛期ではすでに胚乳の外側数層の細胞は糊粉細胞へと分化しており、これらすべての糊粉細胞の原形質膜にかなりの lp が沈着し、ATPase 活性が非常に高かった。その内側のデンプン貯蔵細胞では外側から 3~5 層目までの細胞の原形質膜に lp が沈着したが、その程度は内部の細胞ほど小さかった。これらの原形質膜 ATPase の活性は登熟盛期を過ぎると低下した。

以上より、開花後 6 日の初期成長期では胚乳の周辺細胞に ATPase 活性はまだ検出されないことから、能動輸送ではなく受動輸送が行われていること、一方登熟盛期では糊粉層および周辺部数層のデンプン貯蔵細胞は珠心表皮や一部の珠心突起から apoplast に放出された同化物を H<sup>+</sup>駆動力により能動的に取り込むことが示され、能動輸送系はイネの登熟にとって非常に重要な機構であると考えられたが、能動輸送と関係する ABA の内生レベルと穎果の乾物重増加速度は関係しないという(1)の結果から、登熟優先度調節の強さが異なる穎果の乾物重増加速度と能動輸送の関係は否定的な結果となった。

(3) 穎果の登熟優先度調節系がイネの登熟と品質に及ぼす影響

穎果間引き(高 source/sink 比)ではほとんどの品種・系統の弱勢な穎果において、stage A から stage H までの初期成長は速くなったが、剪葉(低 source/sink 比)では反対に初期成長は遅延した。しかし、その遅延程度は品種・系統により異なった。また、剪葉によりとくに弱勢な穎果の登熟歩合が低下し、さらに白未熟粒発生によりそれらの品質が低下したために穂全体でも登熟歩合と品質が低下したが、その低下程度は弱勢な穎果の初期成長の遅延が少ない品種・系統ほど小さかった。以上より、剪葉などの source/sink 比が低い条件下では、弱勢な穎果の初期成長が遅延しにくい品種・系統、すなわち登熟優先度調節が弱く不良環境下でも一穂内の穎果が一斉に登熟する品種・系統の方が登熟と品質が悪化しにくいことが明らかとなった。この理由は(1)で示したように、穎果の初期成長の遅延は、後の乾物重蓄積期におけるデンプン合成系関連酵素の活性低下、すなわちデンプン合成の能力そのものを低下させる。この結果は今後稲作の安定多収を目指すためには非常に重要なキーポイントとなるが、国内外で今までに報告が無く、本研究が最初である。また、デンプン合成能力自体の低下は同化物が多量に供給されたとしても登熟が阻害されることになるので、イネの安定多収は全く望めないことに

なり、インパクトの非常に強い結果となった。したがって、登熟優先度調節が弱い(弱勢な穎果の初期成長が遅延しにくく、穂内の穎果が一斉に登熟する)品種を育成するか登熟優先度調節が弱くなるような栽培法を開発することが今後期待される。登熟優先度調節が弱く、穂内の穎果が一斉に登熟することになるので、穎果間の同化物競合が予想されたため、もちろん source 能を高めることも必要になると考えられる。

また、本研究では外生 ABA 処理を検討し(一部の農家では登熟・品質向上のためにすでに実施されている)これにより弱勢な穎果の初期成長を速め、登熟優先度調節を弱くすることも試みたが、明確な結果を得ることができなかった。さらに、登熟優先度調節が弱く sink capacity が大きいイネを中国江蘇省を中心に選び出し、登熟・品質に関する特性を調査することを試みたが、選出することができなかった。

## 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1件)

中村 貞二、イネ穎果の背部組織における原形質膜 ATPase 活性の局在性およびその同化物輸送との関係、日本作物学会東北支部会報、査読有り、55 巻、2013、17-24。

[学会発表](計2件)

中村 貞二、イネ穎果の背部組織における ATPase 活性の局在性およびその同化物輸送との関係、日本作物学会東北支部会第 55 回講演会、2012 年 08 月 21 日、秋田県立大学生物資源科学部(秋田県秋田市)

中村 貞二、大勝 慶子、国分 牧衛、穎果の登熟優先度調節系がイネの登熟と品質に及ぼす影響、日本作物学会第 239 回講演会、2015 年 3 月 28 日、日本大学生物資源科学部(神奈川県藤沢市)

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

中村 貞二 (NAKAMURA Teiji)

東北大学・大学院農学研究科・助手

研究者番号：7 0 1 5 5 8 4 4