

# 博士論文

塩・アルカリストレス下におけるイネの養分蓄積と  
カリウム獲得機構に関する分子生理学的解明

(要約)

2024年3月

広島大学大学院統合生命科学研究科

生物資源科学プログラム

南平眞実

イネ等の農作物の減収は様々な環境要因に起因するが、その代表として塩害が挙げられる。塩害は海水の流入や不適切な灌漑農業により高濃度に塩類が集積した土壌で発生する。特に乾燥地や半乾燥地では、土壌中の塩類土壌が降雨により溶脱されないため慢性的に塩害が続く。さらに、乾燥地の塩害土壌は炭酸塩を多量に含むためアルカリ性を呈することが多く、イネ栽培は中性の塩害地よりも困難を極める。一方、塩害は古代から重要な農業上の課題であったため、多くの研究が行われてきたが、塩・アルカリストレスに焦点を当てた研究例は僅少である。したがって、アルカリ性を呈する塩害土壌で安定したイネ生産を実現するためには、イネの塩・アルカリ耐性機構の理解や新たな塩・アルカリ耐性イネ栽培品種の作出が不可欠である。

本研究では、イネの塩・アルカリ耐性機構の理解と塩・アルカリ耐性イネ品種作出のための基盤構築を目的として、以下の解析を行った。

### 1. 塩・アルカリストレス下におけるイネの経時的 Na<sup>+</sup>蓄積特性

塩・アルカリストレスが引き起こす症状は複数あるが、そのひとつが塩ストレスよりも過剰な Na<sup>+</sup>が蓄積することである。Na<sup>+</sup>がイネ体内に過剰に侵入すると拮抗作用により K<sup>+</sup>欠乏が誘引される。Na<sup>+</sup>害の影響を抑制するためにはストレス初期の Na<sup>+</sup>耐性機構が非常に重要であるが、塩・アルカリストレス初期の Na<sup>+</sup>蓄積パターンや分子応答はよくわかっていない。そこで本研究では、塩・アルカリストレス初期における Na<sup>+</sup>の経時的な蓄積特性と、塩および塩・アルカリストレス下における Na<sup>+</sup>耐性機構の違いを明らかにすることを目的とした。塩・アルカリ感受性イネ品種であるコシヒカリを供試品種として、第 4, 5 葉期のイネを Control 区 (0 mM Na + pH 5.5), Na 区 (50 mM Na + pH 5.5), Mild SA 区 (50 mM Na + pH 7.5), Moderate SA 区 (50 mM Na + pH 8.0), Severe SA 区 (50 mM Na + pH 8.5) で栽培し、経時的にサンプリングした。乾物重は Control 区で最も高く、Na 区よりも塩・アルカリ区 (Mild SA 区, Moderate SA 区, Severe SA 区) で低かった。特に葉身では pH が高いほど乾物重が減少する傾向が見られた。Na<sup>+</sup>濃度は根、新葉鞘、新葉身において Moderate SA 区や Severe SA 区で、古葉身では Na 区と Mild SA 区でより上昇する傾向が見られた。K<sup>+</sup>濃度は塩・アルカリ区の根と新葉鞘で著しい減少が見られたものの、それ以外に特筆すべき処理区間差は見られなかった。以上の結果から、イネ体内の Na<sup>+</sup>濃度の増加は pH の上昇に伴うこと、塩・アルカリ条件下では Na<sup>+</sup>は古葉ではなく新葉に蓄積しやすいことが明らかになった。遺伝子発現解析において、細胞外への Na<sup>+</sup>排除を担う細胞膜型 Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>アンチポーター遺伝子 *OsSOS1* の発現は Na 区と Mild SA 区で顕著に増加したが、Moderate SA 区と Severe SA 区では変化がなかった。以上の結果から、塩・アルカリストレス下において、Na<sup>+</sup>蓄積が塩ストレス下よりも過剰になり新葉部に Na<sup>+</sup>が蓄積されやすくなる原因は、*OsSOS1* の駆動力となる根圏の H<sup>+</sup>量が少ないため *OsSOS1* の機能が低下することや、アルカリ条件で *OsSOS1* 発現が誘導されないことにあると考えられた。

## 2. イネの塩・アルカリストレス下における生育制限要因と耐性遺伝子の同定

塩・アルカリ土壌におけるイネの耐塩性を真に向上させるためには、塩・アルカリ条件下でも栽培可能な新たな耐塩性イネ品種を作出する必要がある。筆者の修士論文研究では、塩・アルカリ耐性栽培イネ品種の育種母本となり得るイネを探索し、その結果、塩・アルカリ耐性品種として Shwe Nang Gyi (SNG)、感受性品種としてコシヒカリ (KSH) を選抜した。本研究では、これら二つの品種を分子生理学的に比較し、塩・アルカリ耐性向上のカギとなる耐性候補遺伝子の同定を試みた。まず、4週齢の SNG と KSH をコントロール区 (0 mM Na + pH 5.5)、塩処理区 (50 mM Na + pH 5.5)、塩・アルカリ処理区 (50 mM Na + pH 8.0-8.3) で栽培し、経時的にサンプリングした。このサンプルを用いて必須元素分析を行ったところ、両品種において、塩・アルカリストレスの K 含有量はコントロール区や塩処理区に比べ顕著に低かった。品種間差を見ると、塩・アルカリストレス下の K 含有量は KSH よりも SNG で高かった。SNG を対象とした RNA-seq による網羅的遺伝子発現解析では、根において K<sup>+</sup> 輸送関連遺伝子群の発現増加が見られた。さらに、K<sup>+</sup> 輸送体遺伝子である *OsHAK/KUP/KT family* について品種間の詳細な遺伝子発現パターンを解析すると、両品種の根において塩・アルカリストレス下のみ *OsHAK17* や *OsHAK21* の発現が増加し、その増加は KSH よりも SNG でより顕著であった。これらの結果から、*OsHAK17* や *OsHAK21* が塩・アルカリストレス下における SNG の K<sup>+</sup> 獲得機構に関与すると考えられた。そこで、機能が不明である *OsHAK17* に焦点を当て、酵母形質転換体を用いた機能解析を行った。Control 株と *OsHAK17* 発現株を様々な塩条件で培養したところ、0, 50 mM Na 処理区において両株の生育に差異は見られなかったが、100 mM 以上の Na を含む処理区において *OsHAK17* 発現株は Control 株よりも生育が良好であった。塩・アルカリ条件 (100, 150 mM Na + pH 7.0, 7.5) においても *OsHAK17* 発現株の生育は Control 株よりも良好であった。さらに高塩条件下における *OsHAK17* 発現株の K<sup>+</sup> 濃度は、コントロール区の K<sup>+</sup> 濃度よりも高いことが示されたが、Na<sup>+</sup> 濃度に両株間に有意な差は見られなかった。したがって、*OsHAK17* は高塩条件下で機能する K<sup>+</sup> 輸送体であり、塩・アルカリストレス下で K<sup>+</sup> 獲得に寄与すると考察された。以上の結果から、塩・アルカリ耐性イネ品種 SNG の耐性機構のひとつに *OsHAK17* を介した優れた K<sup>+</sup> 獲得機構があると示唆された。