

イネ幼苗の根の脂肪酸組成と低温感受性

石川県農業短期大学農業資源研究所

島田多喜子

はじめに

イネ直播栽培は、低コストを目指す技術として研究されてきた。栽培技術の研究と同時に直播栽培に適した品種の開発も重要である。直播栽培用品種として備えるべき特性の一つとして、幼苗期の低温耐性が必要とされる。イネのような亜熱帯性作物は、0℃から10℃ぐらいまでの低温で生長が著しく阻害され、低温障害 (chilling injury) を受ける。植物の低温障害の原因については種々の説があるが、生体膜の脂質の液層-固相転移あるいは流動性の低下が原因であり、それは主として脂質の不飽和脂肪酸含量に起因しているという説が古くから提唱されている (Lyons 1973)。そして、最近では、遺伝子組換えにより膜脂質の脂肪酸を改良し、低温耐性を獲得したタバコが報告されている (Murata et al. 1992, Kodama et al. 1994)。我々は、低温耐性イネの育成を目標として、脂肪酸不飽和化酵素遺伝子によって脂肪酸組成を改変しようとしている。ここでは、根に注目してイネの低温感受性と脂肪酸組成の差異について調査し、リノール酸(18:2)からリノレン酸(18:3)へ不飽和化する酵素 ω -3脂肪酸不飽和化酵素の遺伝子をイネに導入し、根の脂肪酸組成を変化させた結果を紹介する。なお、本報告は、日本作物学会第204回および205回講演会で発表したものをもとにしている (島田ら 1997, 島田ら 1998)。

インディカイネとジャポニカイネの幼苗の低温感受性

低温抵抗性と低温感受性の品種の間で、脂肪酸組成に差異があるかどうかを調査するために、いくつかの品種を選んで、まずそれらの低温耐性について検定した。発芽直後の1~2cmの幼植物を低温にさらすと、日本型品種は障害を受けにくいがインド型品種では腐敗・枯死しやすい傾向が知られている (Oka 1958)。そこで、低温感受性品種としてインディカ品種、IR24, 密陽23号, カサラスを、低温耐性品種としてジャポニカ品種、能登ひかり, コシヒカリ, ゆきまる等を選んだ。種子消毒後、シードバックまたはパーミキュライトに播種し、26℃の人工気象室で栽培した。播種5日後に、5℃暗所に3日間おき、その後26℃に移した。26℃7日間栽培した後、芽の伸長を測定した。

播種後5日の能登ひかり, ゆきまる, カサラス, IR24の苗を3日間低温処理した後の芽の伸長を図1に示す。能登ひかり, ゆきまるは低温処理による生長障害は軽微であり、26℃に戻して1週間後には、低温処理しなかったものと同じ生長を示した。一方、カサラスとIR24は著しく成長が阻害された。コシヒカリは能登ひかりと同様に低温障害は軽微であり、密陽23号はIR24と同様に生長阻害され、インディカ品種の低温感受性が高いことが確認された。しかし、この評価方法では、

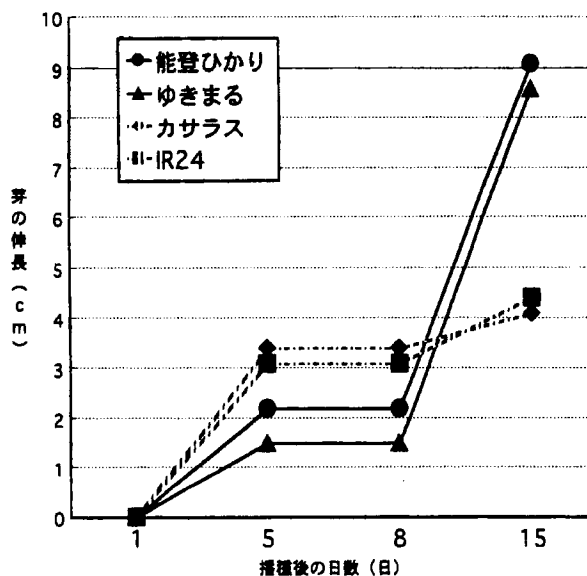


図1. ジャポニカおよびインディカイネ4品種の幼苗の芽の生長に及ぼす低温処理の影響。播種後5日苗を5℃で3日間処理後26℃で7日間栽培。

ジャポニカ品種間およびインディカ品種間での耐性の差異は検出することはできなかった。

インディカイネとジャポニカイネ幼苗の地上部と種子根の脂肪酸組成

一方、播種後5日の幼苗の葉（地上部）と種子根を上部（先端部）と基部に分けて脂肪酸組成を測定した。イネでは、16：1が微量含まれているが、16：2および16：3は殆ど含まれていない。多不飽和脂肪酸（18：3）含量は、地上部の上部の方が、基部より高かった。地上部の上部、基部ともに18：3含量に関して品種間差異は認められなかった。種子根の基部3cmと先端部3cmの脂肪酸組成の一例を表1と表2に示す。種子根では、先端の方が基部より18：3含量が高く、ジャポニカ品種間の差異は認められなかったが、インディカ品種である密陽23号、IR24は、有意にジャポニカ品種と差があり、18：3含量が低かった（表3）。低温感受性の高い密陽23号とIR24が、18：3含量が有意に低いことは、多不飽和脂肪酸含量と低温耐性が相関していることを示唆する。しかし、低温感受性であるカサラスでは、18：3含量がジャポニカ品種と差異が認められないことから、多不飽和脂肪酸含量と低温耐性の相関は明確とはいえなかった。

田嶋ら（1983）は、暖地型作物（熱帯・亜熱帯原産作物）と寒地型作物（温帯原産作物）の地上部から抽出した脂質の脂肪酸を調査したところ、暖地型植物の方が不飽和脂肪酸含量が寒地型植物に比べて低かった。しかし、低温抵抗性を異にするイネ品種の地上部の脂肪酸組成の解析では、品種間で脂肪酸組成の差異は認められなかった。田嶋らは、根の脂肪酸組成を分析していない。我々は、発芽から幼苗の生育に重要な役割を果たしている種子根の脂肪酸組成を調査したところ、インディカとジャポニカで多不飽和脂肪酸含量で差異を認めることができた。以上のことから、多不飽和脂肪酸含量の増加による顕著な低温耐性の増強は期待できないかも知れないが、1つの要因の改良は望める可能性を否定できないと考える。

表1. 播種5日後の種子根基部3cmの脂肪酸組成

	16：0	16：1	18：0	18：1	18：2	18：3
能登ひかり	33.77	0.44	2.40	12.20	32.24	18.95
ゆきまる	34.90	0.34	2.01	7.72	35.91	19.13
カサラス	33.92	0	2.55	12.75	35.49	15.29
IR24	32.06	0.20	2.81	14.23	38.48	12.22

表2. 播種5日後の種子根先端3cmの脂肪酸組成

	16：0	16：1	18：0	18：1	18：2	18：3
能登ひかり	34.76	0	1.99	11.97	28.77	22.51
ゆきまる	33.77	0.32	1.62	9.74	32.79	21.75
カサラス	33.84	0.43	2.60	11.71	30.80	20.61
IR24	32.53	0.20	2.42	13.33	36.36	15.15

表3. 播種後5日苗の種子根先端における18：3含量の品種間差異

品種	試験数	18：3含量(%±sd)	能登ひかりとの有意差	
能登ひかり	4	22.43 ± 2.70	-	a **
コシヒカリ	4	21.71 ± 0.95	なし	a
ゆきまる	2	21.50 ± 0.35	なし	a
カサラス	4	20.51 ± 1.36	なし	a
密陽23号	4	18.59 ± 1.52	あり*	b
IR24	3	16.15 ± 1.41	あり*	b

* 0.05%(t-test)

** 同じアルファベット間では有意差なし

脂肪酸不飽和化酵素遺伝子を導入した形質転換イネの脂肪酸組成

ω -3脂肪酸不飽和化酵素は、16:2から16:3および18:2から18:3への不飽和化を触媒するキーエンザイムである。シロイヌナズナから染色体ウオーキングで ω -3脂肪酸不飽和化酵素遺伝子がクローニングされた。NtFAD3遺伝子はタバコからヘテロログスプロービングによってクローニングされた小胞体膜局在型の遺伝子である (Hamada et al. 1994)。これをイネに導入して数系統の形質転換体を得た。自殖次代の種子を発芽させ、26°Cで約2週間栽培した後、第3葉および根から全脂肪酸を抽出して脂肪酸組成を調査した。

非形質転換体 (品種能登ひかり) と形質転換系統#3の葉と根の脂肪酸組成を表4と表5に示す。形質転換体の根の16:0, 16:1, 18:0, 18:1の含量は非形質転換体と殆ど差異がないが、18:2と18:3含量が明らかに違っていた。18:2含量が能登ひかりでは33.5モル%であるのに対して、#3では9.3モル%に減少していた。それに対して、18:3含量は25.8モル%から48.8%と増加した。形質転換体では18:2が18:3へ不飽和化されたと考えられ、タバコ由来 ω -3脂肪酸不飽和化酵素遺伝子がイネで発現したことを示した。一方、葉の脂肪酸では、通常18:2は11%程度であり、大部分 (60%以上) が18:3脂肪酸となっており、形質転換体での変化は根でほど顕著ではなかった。しかし、形質転換体の葉でも18:2含量は減少し、18:3含量が増加しており、導入遺伝子が発現したことが推測された。

葉の細胞には、葉緑体が多く、葉緑体膜の主要な脂質である糖脂質が多不飽和化脂肪酸を多く含んでいる。FAD3遺伝子は小胞体膜の不飽和化酵素であり、小胞体膜の主な脂質であるリン脂質に作用すると考えられる。従って、葉ではFAD3遺伝子の発現の結果が薄められると推測される。実際に、形質転換体の葉の主な脂質を分画して脂肪酸組成を調べると、リン脂質のホスファチジルコリンやホスファチジルイノシトールの18:3含量が明らかに増加しており、FAD3遺伝子が葉の細胞でも発現していることを示した (データは示していない)。

表4. 能登ひかりおよび形質転換体の幼苗の根の脂肪酸組成 (モル%)

	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	18:3
能登ひかり	34.9±1.1	0.1±0.1	1.0±0.3	4.8±0.6	33.5±0.9	25.8±2.5
形質転換体 #3	37.0±1.9	0	1.6±0.4	3.3±3.3	9.3±2.7**	48.8±5.2**

**1%水準で有意差あり

表5. 能登ひかりおよび形質転換体の幼苗の葉の脂肪酸組成 (モル%)

	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	18:3
能登ひかり	19.8±0.4	0	1.1±0.2	1.0±0.4	11.7±1.3	66.4±1.7
形質転換体 #3	22.0±0.3	0	1.4±0.2	0.8±0.4	6.1±3.5**	69.8±3.8

** 1%水準で有意差あり

これから

小胞体局在 ω -3脂肪酸不飽和化酵素遺伝子を導入することによって、根の18:3脂肪酸を2倍に増加したイネが得られた。この形質転換イネは、形態も稔性も全く非形質転換体と変わらず、その特性は、現在のところ自殖3代まで安定していることを確認している。Kodama et al.(1994)は、シロイヌナズナから単離された葉緑体局在 ω -3脂肪酸不飽和化酵素遺伝子 (AtFAD7) をタバコに導入して、多不飽和脂肪酸含量 (16:3, 18:3) の増加した形質転換体を得た。そして、これらの形質転換タバコは低温耐性を示すことを報告している。ここで得られた形質転換イネの低温に対する適応性について試験しているところである。

ω -3脂肪酸不飽和化酵素遺伝子の他に、脂肪酸不飽和度を改変するいくつかの酵素の遺伝子がクローニングされている。それらの遺伝子を用いて低温耐性植物の作出が期待される。Murata et al.(1992)は、膜脂質の1成分であるホスファチジルグリセロールの不飽和度を遺伝子操作によって増加し、不飽和度が増加した形質転換タバコは低温障害が回避されたことを報告している。この同じ遺伝子、シロイヌナズナから単離したグリセロール-3-リン酸アシルトランスフェラーゼcDNAをイネに導入し、耐寒性のイネを得ている (横井ら 1998)。

しかしながら、低温障害の生理機構には、種々の要因が関与しており、単に脂質の相転移のみではないだろう。低温障害は、タンパク質の構造変化によって引き起こされる可能性も十分考えられる。従って、温度適応能力の高い植物の作出には、低温障害の生理機構のさらなる解明と、種々の面からのアプローチが必要であろう。

引用文献

- Hamada, T., H. Kodama, M. Nishimura and K. Iba 1994 Cloning of a cDNA encoding tobacco ω -3 fatty acid desaturase. *Gene* 147:293-294.
- Lyons, J.M. 1973 Chilling injury in plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 24:445.
- Kodama, H., T. Hamada, G. Horiguchi, M. Nishimura and K. Iba. 1994 Genetic enhancement of cold tolerance by expression of a gene for chloroplast ω -3 fatty acid desaturase in transgenic tobacco. *Plant Physiol.* 105:601-605.
- Murata, N., O. Ishizaki-Nishizawa, S. Higashi, H. Hayashi, Y. Tasaka and I. Nishida 1992 Genetically engineered alteration in the chilling sensitivity of plants. *Nature* 356:710-713.
- Oka, H.I. 1953 Phylogenetic differentiation of the cultivated rice plant. I. Variation of various characters and character combinations among rice varieties. *Japan. J. Breed.* 3(2):33-43.
- 島田多喜子・脇田陽一・大谷基泰・射場厚 1997 イネ幼苗期の脂肪酸組成と低温感受性の品種間差異. *日作紀*66 (別2) : 317-318.
- 島田多喜子・脇田陽一・大谷基泰・射場厚 1998 遺伝子工学的手法を用いた温度ストレス耐性植物の開発 3. タバコFAD3遺伝子による形質転換イネの脂肪酸組成の改変. *日作紀*6 (別1) : 168-169.
- 田嶋公一・雨宮昭・椛木信幸 1983 低温によるイネの生育障害の生理的研究 第II報 低温障害 (Chilling Injury) の生理機構と低温抵抗性の品種間差異. *農技術報D* 34:69-111.
- 横井修司・鳥山欽哉 1998 シロイヌナズナのグリセロール三リン酸アシル基転移酵素遺伝子を導入したイネにおける穂ばらみ期耐冷性の評価. *育種*48 (別1) : 296.

Fatty acid compositions and low temperature tolerance in rice seedlings
Takiko SHIMADA