

平成 30 年 6 月 18 日現在

機関番号：82104

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K07342

研究課題名(和文) 変異体を用いたイネの根の通気組織形成に関する分子・生理機構の解明

研究課題名(英文) Understanding molecular and physiological mechanisms of aerenchyma formation in rice roots

研究代表者

小原 実広 (Obara, Mitsuhiro)

国立研究開発法人国際農林水産業研究センター・生物資源・利用領域・主任研究員

研究者番号：10455248

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：10系統の通気組織形成が低下した変異体の候補系統から、その低下が劣性な1遺伝子で説明される5系統を単離した。また、2系統については、原因遺伝子の座上する位置を特定した。それらの変異体の通気組織形成機構を評価したところ、突然変異系統1においては、全ての通気組織形成が阻害されていた。一方、突然変異系統2においては、恒常的な通気組織形成および窒素欠乏による誘導的な通気組織形成は阻害させていたものの、酸素欠乏による誘導的な通気組織形成は阻害されていなかった。イネの根の通気組織形成は、環境に対する応答機構とそれに続く形成機構が存在していることが示された。

研究成果の概要(英文)：Five out of ten candidates of aerenchyma formation rice mutant was explained in their formation by single recessive gene. We identified newly two different loci to control aerenchyma formation by positional cloning method. A candidate1 showed severe reduction of aerenchyma formation via three mechanisms, spontaneous, induced by nitrogen deficient and oxygen deficient. Contrary, the formation induced by oxygen deficient was not reduced in a candidate 2. Taken together, aerenchyma formation of rice was controlled by at least two mechanisms, the first one was mechanism of response to environmental factors and the following one was mechanisms of aerenchyma formation itself.

研究分野：植物遺伝生理学

キーワード：イネ 根 通気組織 窒素栄養欠乏 酸素欠乏

## 1. 研究開始当初の背景

近年の気候変動により、干ばつや集中豪雨などが頻繁に起こっている。その被害によって、作物の生産性が低下し、食料の安定的な生産が崩壊し、食料価格の高騰にも繋がってきている。例えば、コムギやトウモロコシ等の畑作物は、一過的な雨または長期の雨によって畑が過湿な環境にさらされると根ぐされが起こり、生産性が劇的に低下することが知られている。このような現象は、アジア地域の多雨地域のみならず、オセアニア地域、アフリカ地域の高地においても認められており、世界的に解決すべき重要な問題となっている。この根ぐされは、生長が盛んな根の先端部への酸素の供給が過湿によって低下するために引き起こされると知られている。この問題の解決に向け、コムギやトウモロコシ等の畑作物を用いて通気組織形成に関する分子・生理機構の解析が、精力的に研究されてきている。それらの成果によって、通気組織は性状が異なる2種類の通気組織に分けられることが明らかになった。1つ目は根の皮層組織が離れることで形成される細胞間隙である離層通気組織、2つ目は皮層組織の崩壊によって形成される破生通気組織である (Evans et al., 2003, Jackson et al., 1999)。多くの作物で主要な破生通気組織 (本研究では、通気組織と記載) は、その形成のトリガーの違いによって2種類に分けられることが示されている (Visser et al., 2004)。1つ目は根の生長によって形成される自発的な通気組織、2つ目は様々な環境要因に応答して形成される誘導的な通気組織である。

畑作物の主要な通気組織は誘導的な通気組織であり、自発的な通気組織は殆ど形成されないことが知られている (Bailey-Serres et al., 2012, Colmer et al., 2009)。この誘導的な通気組織形成機構については、多くの知見が得られてきた。例えば、トウモロコシの根を用いた形態学的な解析から、誘導的な通気組織は、物理的な接触、乾燥および栄養欠乏に応答して形成されることが明らかにされた (Abiko et al., 2012, Drew et al., 1979, He et al., 1992, He et al., 1996, Zhu et al., 2010)。また、トウモロコシの根を用いた生理学的な解析から、通気組織の形成は、エチレンや活性酸素の生成、カルシウムシグナルによって情報が伝達されていることが明らかにされてきた (He et al., 1996, Siyiannis et al., 2012)。さらに、トウモロコシの根を用いた分子生物学的な網羅解析において、通気組織の形成過程において劇的に変動する情報伝達や細胞の崩壊に関わる遺伝子群が、通気組織形成に関わる候補遺伝子として同定されている (Rajhi et al., 2011)。しかし、誘導的な通気組織が形成される畑作物は、過湿な環境への耐性が低い。これより、過湿な環境に応答して形成される誘導的な通気組織は、過湿な環境を克服することには十分でないと考えられる。即ち、誘

導的な通気組織形成に関わる遺伝子群は、一過的な雨または長期の雨による生産性の低下を解決することは極めて困難であり、根の生長によって形成される自発的な通気組織が過湿な環境を克服することに重要であると考えられる。

一方、イネやヨシ等の湿生植物は、過湿な土壤に長期間さらされてもその生育は維持され、甚大な生育や生産性の低下は認められない。陸上植物とは異なり、湿生植物は、誘導的に通気組織を形成させる機構に加え (Colmer et al., 2003, Karahara et al., 2012, Shiono et al., 2011)、土壤の過湿程度に関わらず自発的に根の通気組織を形成させる機構が発達している (Arakido et al., 1990)。この自発的な通気組織が、一過的な雨または長期の雨による生産性の低下を解決することに必要であると考えられる。しかしながら、自発的な通気組織形成の分子・生理機構の解明が期待される、イネの根を用いた通気組織形成に関する研究はそれほど多くない。その理由は、自発的な通気組織と誘導的な通気組織を区別して評価することが困難なためである。

我々は、イネの根を用いて、植物の生長を大きく支配する栄養である窒素の欠乏および根の先端部での生長に必須な酸素の欠乏による誘導的な通気組織形成を評価することで、自発的な通気組織形成を正確かつ簡便に評価することに成功した (Abiko and Obara, 2014)。イネの根の誘導的な通気組織は、酸素欠乏によって根の先端部のみで形成されるのに対し、窒素栄養欠乏によっては根全体で形成されることが判明し、その生理機能が異なることが示された。特に、窒素栄養の欠乏によって形成される通気組織は、細胞で消費されるエネルギーを抑制し、貧栄養状態での生育を維持していることが推察された。さらに、これらの評価方法を用いて、報告例のない通気組織の形成が低下した複数の突然変異体の候補を単離してきた (Obara et al., unpublished)。これらの研究を推進することで、自発的な通気組織形成、酸素欠乏および窒素栄養の欠乏による誘導的な通気組織形成について、それらの形成に関わる遺伝子群が同定されるとともに、それらの通気組織の生理機能が解明されることが期待される。

## 2. 研究の目的

地上部から根の先端へ供給される酸素の通り道である植物の根の通気組織は、湛水あるいは湿害への耐性に重要な組織である。しかし、植物の根の通気組織形成に関する分子・生理機構はほとんど明らかになっていない。その理由として、植物の根の通気組織形成に関わる変異体が単離されていなかったことが考えられる。我々のこれまでの研究において、通気組織形成に関わるイネの変異体候補を単離してきた。本研究においては、通気組織形成に関する変異体群を用いて、通気組織

形成に関わる遺伝子群を同定するとともに、それらの遺伝子群の生理機能を明らかにすることを目的とする。さらに、湛水あるいは湿害への耐性が低い植物種における、それらの遺伝子群の機能を明らかにすることも視野に入れて研究を展開する。

### 3. 研究の方法

(1) 通気組織形成が低下した突然変異体候補からの真の変異体の選抜

突然変異体集団などから単離している、10系統の通気組織形成が低下した変異体の候補について、その通気組織の形成が環境の変異によるものであるか、遺伝子の変異によるものであるかを明らかにし、真の変異体を単離する。

(2) 通気組織の分子機構の解明

分離集団は、ポジショナルクローニング法による原因遺伝子を同定するためのインド型品種カサラスとの F2 個体を作製する。遺伝的背景品種との F2 個体を作成し、メンデル分離を検証する。通気組織の評価を行い、遺伝背景と同程度の F2 個体群、変異体と同程度の F2 個体群から、DNA を調整し、次世代シーケンス解析を行い、MutMap 法による遺伝子同定も試みる。

(3) 通気組織の生理機構の解明

Abiko and Obara 2014 に従い、自発的な通気組織、窒素欠乏により誘導的に形成された通気組織、酸素欠乏により誘導的に形成された通気組織の形成程度を評価する。

(4) コムギの酸素欠乏耐性の評価

コムギの酸欠耐性評価に資するよう、イネの評価系 (Obara et al, 2010, Abiko and Obara, 2014) を改変して水耕評価系を確立する。20 度に設定した人工気象機にて播種後 7 日間栽培を行った。水耕液の pH はコムギの適性 pH にあわせ、pH6.0 に MES にて調整する。

### 4. 研究成果

(1) 通気組織形成が低下した突然変異体候補からの真の変異体の選抜

10 系統の通気組織形成が低下した変異体の候補系統と遺伝的背景品種との F2 個体を用いた解析から、5 系統については、劣性な 1 遺伝子によって、通気組織形成が低下していることが明らかになった。残りの 5 系統については、2 遺伝子以上の変異によって、通気組織形成が低下していることが示唆された。

(2) 通気組織の分子機構の解明

通気組織形成が低下した突然変異体 5 系統について、カサラスとの交雑集団を用いたポジショナルマッピング解析を行った。その結果、2 系統については原因遺伝子の存在する領域が同定された。この位置は、これまでに本研究で同定してきた位置とは異なり、通気

組織形成の分子機構の解明に向けた、分子素材が整備された。のこりの 3 系統については、MutMap 法による遺伝子同定を試みたものの、遺伝子を同定するには至らなかった。

(3) 通気組織の生理機構の解明

これまでに明らかになっている 3 種類の通気組織形成機構 (恒常的に形成される通気組織の形成機構、窒素欠乏によって誘導的に形成される通気組織の形成機構、酸素欠乏によって形成される通気組織の形成機構) を区別して評価した。その結果、突然変異系統 1 においては、全ての通気組織形成が阻害されていた。一方、突然変異系統 2 においては、恒常的な通気組織形成および窒素欠乏による誘導的な通気組織形成は阻害させていたものの、酸素欠乏による誘導的な通気組織形成は阻害されていなかった。これまでの結果と合わせて、イネの根の通気組織形成は、環境に対する応答機構とそれに続く形成機構が存在していることが示された。

(4) コムギの酸素欠乏耐性の評価

コムギ (Bobwhite) の酸素欠乏耐性を評価した結果、酸素欠乏条件では、酸素十分条件にくらべて根の伸長が抑制された。本研究結果より真の通気組織変異体の原因遺伝子を発現させたコムギの評価を行える状況になった。

### 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 0 件)

[学会発表] (計 0 件)

[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)

[その他]

ホームページ等

### 6. 研究組織

(1) 研究代表者

小原 実広 (OBARA, MITSUHIRO)

国立研究開発法人国際農林水産業研究センター・生物資源・利用領域・主任研究員  
研究者番号：10455248

(2)研究分担者

安彦 友美 (ABIKO, TOMOMI)  
九州大学大学院農学研究院・助教  
研究者番号：00743882

(3)連携研究者

( )

研究者番号：

(4)研究協力者

( )