

令和 2 年 6 月 11 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K15215

研究課題名（和文）小毛からの排水に伴うイネ籾の脱水機構の解明

研究課題名（英文）Study of dehydration mechanism of rice in the husk with water excretion via microhairs

研究代表者

大井 崇生 (Oi, Takao)

名古屋大学・生命農学研究科・助教

研究者番号：60752219

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：イネ登熟期における籾への急激な転流増加に対応する未知の脱水機構について、籾の外表面に分布する小毛から排水が行われている可能性を検証した。登熟期間中のイネ籾表面（外穎中央部）を光学顕微鏡で観察し、小毛の形態や分布を調査した。小毛は開花から15日目頃までは視野中の95%が萎凋していない状態であったが、20日目以降は99%以上が萎凋していた。小毛が萎凋しておらず、穂からの蒸散が盛んであった期間において、籾を油に沈めて水分蒸発を抑えて経時観察したところ、小毛の位置上に水滴が発生し、イネ籾における排水が初めて可視化された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究ではイネ籾表面における小毛からの排水という未知の現象を初めて示した。これにより、転流に伴う水分生理の解明が進むことが期待され、蒸散に伴う高温（登熟）障害耐性の向上にも繋がりをうなど、農学的価値がある。さらに、イネだけでなく多くのイネ科植物において存在意義が不明であった小毛が排水装置としての普遍的機能を有する可能性を示した点で生物学的価値もある。

研究成果の概要（英文）：The hypothesis that microhairs on the surface of the rice husk excrete water was verified to understand the unknown dehydration mechanism corresponding to rapid accumulation of sugar sap. Morphology and distribution of microhairs on the rice husk were observed with microscope during ripening period. The 95% of microhairs were not withered from flowering to the 15th day, however, the 99% of microhairs were withered after the 20th day. During the period when the microhairs were not withered with the active spike transpiration, the rice husks were submerged in oil to restrain the water evaporation. This observation revealed that the microhairs excreted water droplets under the oil.

研究分野：作物学

キーワード：イネ 登熟 毛状突起 環境ストレス 形態

## 1. 研究開始当初の背景

イネは登熟期に葉から糊ヘシヨ糖を転流してデンプンを蓄積するが、輸送媒体に利用された水は転流後に糊から放出されることによって円滑な登熟が進むと考えられている。しかし、登熟に伴う水の流入に見合う糊の脱水機構は解明されていない。登熟期において、穂から活発な蒸散が行われており、穂の表面積の大部分を占める糊表面からの蒸散率が高いことは示されている<sup>1)</sup>。しかし、蒸散の主要因となるはずの気孔は糊外表の大部分において欠如しており<sup>2)</sup>、表皮細胞は細胞壁が厚くクチクラ化・珪化して通水性が著しく低い構造をしている。従って、気孔や表皮表面からの蒸散だけでは糊からの水分蒸発を説明できない。

これに対し、糊の表皮に存在する毛状突起から蒸散されている可能性が考えられる<sup>3)</sup>。水稻の糊表皮には、イネ科植物の葉表面で一般的に観察される刺毛・大毛・小毛の3種類すべての毛状突起が存在する。このうち、肉眼でも見える長さの毛である大毛や、手で触れた際に引っかかる刺である刺毛の主な役割は、虫や動物による食害を防ぐことであると考えられている。刺毛と大毛は一細胞性であり、細胞壁は厚くて硬く、成熟した葉においては内部が液胞や空洞に占められているなど、体外へ積極的に水を放出するような構造的特徴は見られない。また、糊における刺毛の頻度は少なく、大毛については一部の陸稲やアフリカイネでは完全に欠如しているものの円滑な登熟は行われていることから、これらは糊における脱水に重要ではないと考えられる。

一方で、刺毛や大毛よりも微小な小毛は、形態的特徴の異なる2つの細胞で構成され、両細胞とも成熟した組織においても液胞が小さくて細胞質密度の高い発達した内部構造を有することが知られているが、イネ科全般で共通する機能や存在意義は不明である。ただし、イネ科のうちヒゲシバ亜科に属する一部の種では塩を排出する“塩腺”として機能することが知られ、耐塩性に寄与していると考えられている。近年、ヒゲシバ亜科に属する飼料作物であるローズグラスにおいて電子顕微鏡レベルでの調査の結果、小毛はその先端側の細胞から塩を水溶液として滲み出させるように排出していることが示された。イネやトウモロコシをはじめ多くのイネ科植物では、小毛の上に「塩」が排出されたという報告はないものの、塩分を含まない「水」のみが排出されてすぐに蒸発している可能性が考えられる。イネにおいて小毛は、葉表面だけでなく糊の外表面にも一定間隔で整然と分布しており、それらが排水機能を有して糊表面からの蒸散を担う構造であるならば、コメの登熟過程の脱水機構を解明する重要な鍵となるであろう。

## 2. 研究の目的

転流のための水分輸送が活発で、糊表面からの蒸散も盛んであると考えられる出穂直後から登熟初期において、機能未知の小毛から排水が生じていることを証明し、コメ登熟過程における水分生理の謎を解き明かすことを目指した。

## 3. 研究の方法

イネ (*Oryza sativa* L.) の代表的な水稻品種「日本晴」を主な調査に用い、比較材料として葉と糊に大毛が存在しない陸稲系統の「WAB 56-104」も調査した。これらを人工気象室 (明期: 14 h, 500  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 28 / 暗期: 10 h, 20 ) 内で1/5000 aワグネルポットで土耕栽培した。催芽後60日目に人工気象室を短日条件に変更して出穂させ、登熟期間中 (開花後1~21日目) に糊表面 (外穎中央部) の観察を行った。

小毛は実体顕微鏡では認識できないほど微小な構造であるため、研究開始当初は濡れたままの試料の観察も可能な低真空走査型電子顕微鏡 (SEM) (TM-3030, Hitachi) を用いて排水の有無を調査した。しかし、小毛の先端は水分を失いやすいようであり、SEM試料室内の低真空環境では観察後数分で萎凋してしまうなど、安定した形態観察が行えず、排水と水滴の観察結果も再現性に乏しいなどの問題があった。そこで、観察方法を正立光学顕微鏡 (BX51, Olympus) の落射蛍光システム (U-LH100HG, Olympus) を用いた蛍光観察に切り替えた。一般的な正立顕微鏡では実体顕微鏡よりも解像度は高いが焦点深度は浅く、凹凸のある試料では形状を捉えにくい。しかし、顕微鏡に搭載したデジタルカメラのフォーカス合成機能によって焦点位置をずらしながら撮影することによって被写界深度の広い観察像を取得可能になった。これにより、試料室を異なる大気条件に隔離する必要のあるSEMでは困難な「糊を植物体に付けたままの調査」が可能となった。さらに、糊表面からの蒸発を抑えるために糊を油に沈めたまま経時観察も行った。

また、糊表面からの蒸散と登熟との関わり検証するために、開花日および開花後7日目に糊表面にワセリンを塗布し、開花後50日目に収穫して登熟歩合を測定した。

#### 4. 研究成果

まず、SEM観察によって、イネの籾表面(穎殻外表皮)において、小毛は長さが約 $40 \pm 10 \mu\text{m}$ で一定であり、かつ籾の長軸に沿って縦列した大きな表皮細胞に挟まれて規則的に分布(密度: 約 $160 \text{個} \mu\text{m}^{-2}$ )していることが確認された。加えて、それら小毛の先端に直径 $10 \sim 50 \mu\text{m}$ ほどの物体が付着していることがあることを見出した。この現象は出穂から15日目前後までの短い期間でしか確認されなかったが、この期間は玄米重が急速に増加する時期と重なっており、登熟に関連した小毛からの排水の可能性が示唆された。

この知見を踏まえ、落射蛍光システムとフォーカス合成機能を用いて様々な条件で小毛の状態と水分排出を検証した。まず、この手法によって小毛を構成する2つの細胞の形状まで十分に識別できるようになった(図A、矢印)。その結果、籾が植物体に繋がっていたり、枝梗から適切な給水が行われていたりする限り、小毛は開花から15日目までの間、視野中の95%は萎凋していない状態であった。一方で、その後急激に萎凋率は高まり、20日目以降はほぼ全ての小毛が萎凋していたことが示された。なお、籾1粒あたりの水分量は開花から10~13日目にかけて最も高くなり、この期間に種皮と穎殻が接するまでに籾の胚乳体積は増加したが、15日目以降において水分量は減少していった。

このように、小毛の状態と籾の水分量には関連が見られたものの、どの生育段階においても籾表面をそのまま観察した場合には、小毛の周囲に水滴が確認されることはなかった。そこで、穂からの蒸散が盛んであった開花後11日目において、日本晴の籾を油に沈めて水分蒸発を抑えた状態で経時観察したところ、小毛が存在する位置に泡状の球体が発生した(図B、破線部)。一方で、大毛の周囲には変化が見られなかった(図A、B、矢尻)。また、大毛が存在しないIWAB 56-104においても小毛の位置に泡状の球体が発生した。籾と周辺の油をマイクロチューブに移し、遠心分離して得られた液体を塩化コバルト紙に滴下すると赤色を呈し、これが水であることが示された。また、観察開始時にすでに萎凋していた小毛の位置には水滴が発生しなかったことから(図A、B、破線矢印)、小毛は萎凋していない状態で水分を排出することが示された。さらに、枝梗を穂から切り出して給水させずに経時観察すると、15分後には視野中の全ての小毛が萎凋したが、濡らした脱脂綿を枝梗に巻きつけて給水しながら観察すると30分経過しても小毛は萎凋しなかったことから、小毛には水分が継続的に供給されていることも示唆された。

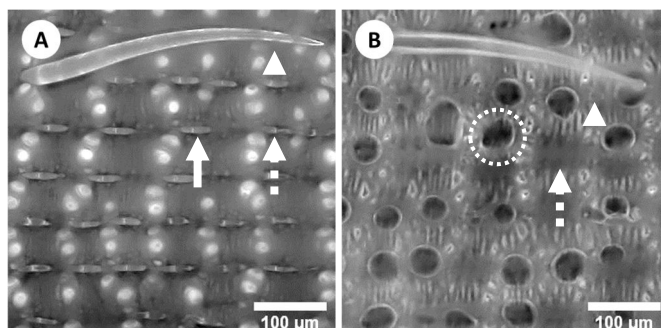
以上から、登熟初期においてイネ籾表皮上の毛状突起である小毛から継続的な水分排出が行われることが示された。一方で、日本晴の大毛の周囲には水滴が見られず、大毛のないIWAB 56-104においても小毛からの排水が確認されたことから、大毛は籾表皮上の排水に関与していないと考えられた。

また、開花日に籾表面へワセリンを塗布して生育させると、収穫時の登熟歩合が無処理区と比べて著しく低くなった。一方で、開花後7日目にワセリンを塗布して生育させると無処理区と有意な差が生じなかった。これらのことから、小毛からの排水が行われている登熟初期において、籾表面からの蒸散が登熟に影響している可能性が示唆されたが、ワセリンは表皮全面に塗布されており、小毛のみを覆っていたわけではないため、更なる調査が必要である。

以上の結果は、存在意義が不明であったイネの小毛が排水機能を有することを初めて示したものであるとして生物学的価値があり、また高温(登熟)障害耐性に繋がりうる形質の提示という農学的価値も含む。今後、登熟段階ごとの蒸散と小毛からの排水量の比較や、小毛からの排水がコメ登熟に及ぼす影響の解明が求められる。

#### 図: 蛍光観察下の外穎中央部(日本晴).

(A) 油に沈めていない籾表面、(B) 油に沈めてから240分後の籾表面。各画像の左側が籾の基部側、右側が先端側である。矢印: 萎凋していない小毛、破線矢印: 萎凋した小毛、矢尻: 大毛、破線円: 水滴。



#### 【参考文献】

- 1) 石原ら(1990) 日作紀 59: 321-326,
- 2) 兼子ら(1988) 日作紀 57: 311-315,
- 3) 江幡ら(1987) 日作東海支部報103: 15-16.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 3件）

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 加藤壮太, 大井崇生, 谷口光隆.
2. 発表標題 イネ( <i>Oryza sativa</i> L.)登熟期における籾表皮上の小毛による排水.
3. 学会等名 日本作物学会第249回講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 西村哲志, 谷口光隆, 大井崇生
2. 発表標題 コメの登熟過程における籾表皮上の小毛による排水の検証
3. 学会等名 日本作物学会第247回講演会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考