# 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 11 日現在

機関番号: 17102

研究種目: 研究活動スタート支援

研究期間: 2016~2017

課題番号: 16 H 0 7 0 4 6

研究課題名(和文)葉毛はイネの生産性に寄与するのか?:葉毛出現メカニズムの解明とその環境応答

研究課題名(英文) Physiological mechanism of leaf hair development in rice

#### 研究代表者

濱岡 範光 (Hamaoka, Norimitsu)

九州大学・農学研究院・助教

研究者番号:40778669

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文):野生イネ由来の葉毛性を示す近似同質系統を用いて、イネ葉毛の生理生態的特性を検討した。葉毛は小維管束上の表皮細胞であるmacro hairが伸長したことにより生じていると推察された。また、葉毛によって蒸散速度が抑えられ、光合成水利用効率と葉温が高まることが明らかとなった。連鎖解析により、イネ葉毛性に関わる単一の優性遺伝子を染色体6上にマッピングした。一方、イネの葉毛発生は高温によって抑制されることが明らかとなり、また高温条件で発現量が低下する遺伝子が見出されたことから、これが葉毛形成を制御する原因遺伝子であると考えられた。

研究成果の概要(英文): Leaf morphological traits that affect water use efficiency are not well known. I examined whether leaf hairiness improves water use efficiency in rice. A chromosome segment introgression line (IL-hairy) of wild Oryza nivara with the genetic background of Oryza sativa cultivar 'IR24' had high leaf hair. The leaf hairs developed along small vascular bundles. IL-hairy plants had a warmer leaf surface in sunlight, probably due to increased boundary layer resistance. They had a lower transpiration rate, resulting in higher photosynthetic water use efficiency. Linkage analysis in F2 and F3 populations showed that the trait was governed by a single gene, designated BLANKET LEAF (BKL), on chromosome 6. Furthermore, development of leaf hairs was suppressed under high temperature condition, and a candidate gene of BKL was identified by gene expression analysis.

研究分野: 作物学

キーワード: 葉毛 水利用効率 温度応答 野生イネ

### 1.研究開始当初の背景

今後の人口増加に伴った食糧増産と地球 規模での環境変動に対応した農業体系の確 立に向けて,資源利用効率や環境ストレス耐 性といった環境適応性が高い作物品種の作 出が求められている.植物の葉,茎,子実等 の器官には,しばしばトライコームがみられ, シロイヌナズナなどモデル植物を中心に研 究が進んでいる.しかしながら,イネ等の主 要作物種における研究蓄積は少なく、とりわ け,作物生産に関わる生理生態特性とトライ コームの関係については報告されていない. また植物の葉毛については, 害虫回避, 遮光 作用や集水などの機能・役割が指摘されてい るが,それらを実証した例は極めて少ない. 葉毛は,作物にとってどのような役割をもち, 葉・個体の生理生態や成長に関与するのだろ うか.これまでに著者はイネ属(Oryza)植 物の光合成および乾物生産に関する窒素施 肥反応について研究を行ってきたが, それら を調査・観察する中で葉身表面に明確な毛性 がある野生イネ Oryza nivara の系統, IRGC105715 (NVR)を見出しており,さらに NVR と栽培イネ IR24 (Oryza sativa L.)の 交雑後代(BC4F6世代)から明瞭な葉毛を示す 系統(葉毛系統)を選抜・育成している. -方, NVR をビニルハウス内で複数年栽培する 中で,夏期の気温が高い時期に出葉した葉身 の葉毛がほぼ失われることを確認している. これまでにイネ葉毛出現の環境応答に関す る報告はなく,本現象は作物生理学のみなら ず,生物学的にも興味深いと考える.

# 2.研究の目的

本研究では,イネ葉毛の生理生態的意義を作物学の視点から明らかにすることを目的として,(1)葉毛が生理生態的特性に及ぼす影響,(2)葉毛遺伝子のマッピングと同定,並びに(3)生育温度が葉毛出現に及ぼす影響という3つの課題について研究を実施した.

本研究により,イネ葉毛の有用性および葉毛の出現機構と環境応答性が明らかになれば,環境適応型のイネ品種育成や農業現場での栽培応用に資する基礎的知見となることが期待される.

### 3.研究の方法

(1)「葉毛が生理生態的特性に及ぼす影響」

野生イネ由来の近似同質イネ系統である 葉毛系統の葉毛を光学顕微鏡および走査型 電子顕微鏡により観察し、葉身表皮の形態的 特性を評価した.また、ガス交換速度を測定 し、葉毛系統の光合成特性(光合成速度、蒸 散速度、葉拡散伝導度、光合成水利用効率) を評価するとともに、葉身を採取し、窒素含 量、クロロフィル含量および気孔形態(気孔 密度、孔辺細胞長)を調査した.さらに、赤 外線サーモグラフィを用いて個体-群落レベ ルでの日中の葉面温度を調査した.

(2)「葉毛遺伝子のマッピングと同定」

IR24×葉毛系統に由来する分離集団 $(F_2 \cdot F_3)$ 世代)を展開し,葉毛性について形質評価を行った.また, $F_2$ 集団については,DNA マーカーを用いて遺伝子型を判別し,連鎖解析による遺伝子マッピングを行った.さらに,ゲノム情報を用いて候補遺伝子を予測した.

(3)「生育温度が葉毛出現に及ぼす影響」

高温条件でイネの葉毛発生程度が変化する現象について、その実態を検証し、生育温度(気温)による葉形態の制御機構について検討した。すなわち、葉毛系統と IR24 を 4段階の気温条件(30、,25、,20、,15 [ファイトトロン])、並びに高温条件(高温区:38、対象区:26 [グロースチャンバー])で栽培し、葉毛性の形質評価を行った。高温条件で育成した植物については、分化途中の葉身を採取し、(2)で予測された候補遺伝子を対象に RT-PCR 法を用いた遺伝子発現解析を行った。

# 4. 研究成果

# (1)「葉毛が生理生態的特性に及ぼす影響」

葉毛系統の単位葉面積当たりの葉毛密度は、IR24よりも顕著に高く、約8倍の違いがあった.葉毛系統の葉毛は小維管束に沿って発生ており、一細胞性と二細胞性の葉毛が存在することが確認された.また、これら葉毛は小維管束上の表皮細胞である macro hairが伸長したことにより生じていると推察された.一方で、葉毛系統の毛性は籾等の他の器官では観察されず、葉身特異的なものであると考えられた.

次に,葉毛系統の光合成特性を IR24 と比較検討した.葉毛系統は IR24 よりも蒸散速度および拡散伝導度が低く,光合成水利用効率が高いことが示された(図1).一方,窒素含量,クロロフィル含量および気孔形態に有意な系統間差異はみられなかった.個体および群落における日中の葉面温度は,IR24と比較して葉毛系統で 1-2 高いことが示された(図2).これらの結果から,高密度の葉毛は,イネの蒸散速度を抑制し,光合成水利用効率を向上させることが明らかとなり,これは葉毛によって葉面境界層抵抗が増大し,葉内から大気への水の拡散が抑えられたことによると考えられた.

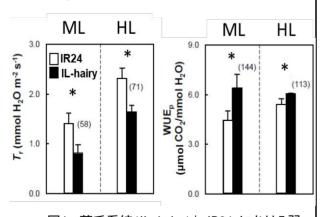


図1. 葉毛系統(IL-hairy)と IR24 における弱 光 (400  $\mu$ mol  $m^{-2}$   $s^{-1}$ : ML)・強光 (1500  $\mu$ mol  $m^{-2}$   $s^{-1}$ : HL)条件下での蒸散速度 ( $T_\rho$ )および 光合成水利用効率 ( $WUE_\rho$ ) カッコ内の数値は IR24 の値に対する IL-hairy の値のパーセンテージを示す・\*は、5%水準で有意差あり (t-test).

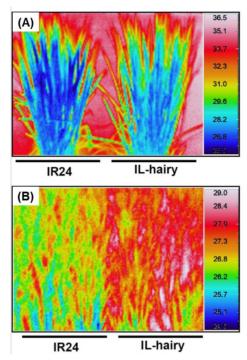


図2. 赤外線サーモグラフィによる葉毛系統 (IL-hairy)と IR24 の日中の葉面温度.(A)ポット 栽培した個体の葉面温度,(B)水田における群落の葉面温度.

## (2)「葉毛遺伝子のマッピングと同定」

葉毛系統由来の後代集団を用いた連鎖解析の結果,イネ葉毛性に関わる単一の優性遺伝子を染色体6上にマッピングし,本遺伝子を BLANKET LEAF と名付けた(図3).また BLANKET LEAFを同定するため,染色体6上の候補領域に含まれる遺伝子を対象に遺伝子予測を行った.候補領域に存在する204個の遺伝子の中から,イネの葉毛性への関与が予想される5つの候補遺伝子を選抜した.

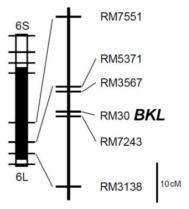


図3. 染色体6における葉毛遺伝子(BLANKET LEAF: BKL)近傍の連鎖地図. 白塗り部分がIR24型,黒塗り部分がNVR型の染色体領域を示す.

# (3)「生育温度が葉毛出現に及ぼす影響」

葉毛発生の環境応答を生育温度(気温)の 面から評価した.4段階(30,25,20, 15 )の気温条件にて栽培した葉毛系統につ いて葉形態を観察したところ,葉毛発生程度 に明確な違いはみられなかった.一方,高温 条件下(38)で育成した幼植物においては, 対象区(26)と比べて,葉身表面の葉毛密度 が向軸側・背軸側ともに大きく低下し,葉毛 長も短くなっていたことから,イネの葉毛発 生は高温によって抑制されることが示唆さ れた.5つの候補遺伝子について遺伝子発現 を解析した結果,対象区と比べ高温区で発現 量が低下する遺伝子を1つ見出した.高温条 件で葉毛が抑制されるという表現型の変化 と遺伝子発現パターンが一致していたこと から,本遺伝子がイネ葉毛性に関わる遺伝子 BLANKET LEAFであると考えられた.

## 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)

Norimitsu Hamaoka, Hideshi Yasui, Yoshiyuki Yamagata, Yoko Inoue, Naruto Furuya, Takuya Araki, Osamu Ueno, Atsushi Yoshimura (2017) A hairy-leaf gene, *BLANKET LEAF*, of wild *Oryza nivara* increases photosynthetic water use efficiency in rice. *RICE*, 10: 20. (査読有り)

### [その他]

## ホームページ等

http://www.agr.kyushu-u.ac.jp/lab/sakumotsu/

# 6.研究組織

# (1)研究代表者

濱岡 範光 (HAMAOKA, Norimitsu) 九州大学・大学院農学研究院・助教 研究者番号:40778669