

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

## 主論文の要約

論文題目 *Zea mays* ssp. *mays* と *Zea nicaraguensis* を用いた  
酸素漏出バリア関連形質の遺伝解析

氏名 渡邊 宏太郎

## 論文内容の要約

多くの畑作物は、過剰な水に対する耐性（耐湿性）が低く、降雨や洪水などにより畑が湛水状態になると収量の減少や品質低下といった湿害と呼ばれる生育障害を受けやすい。一方、イネなどの湿生植物は湿害を防ぐための様々な耐湿性形質を持つ。湛水条件下では、根の酸欠が問題となるが、湿生植物は根の酸欠を防ぐために酸素供給機構を発達させる。大気中の酸素は、葉などの地上部の器官から植物体内に取り込まれ、通気組織と呼ばれる空隙を通して根端部まで輸送される。さらに、通気組織から根圏への酸素の漏出を抑制する酸素漏出（radial oxygen loss、ROL）バリアが根表層に形成される。ROLバリアが形成されることにより、輸送途中での酸素の損失が減少し、根端部へ効率的に酸素が輸送される。1960年代にROLバリアが発見されて以来、これまでに様々な植物種を用いて研究が行われてきたが、ROLバリアの形成機構を明らかにするには至っていない。トウモロコシ（*Zea mays* ssp. *mays*）の近縁種である *Zea nicaraguensis* は tight なROLバリアを形成するのに対し、トウモロコシは partial なROLバリアしか形成しない。そのため、*Z. nicaraguensis* はトウモロコシと比べ耐湿性が高いことから、トウモロコシの耐湿性を向上させる育種を進める際の遺伝資源として注目されている。そこで本論文では、トウモロコシと *Z. nicaraguensis* を材料に用いて、ROLバリア関連形質の比較解析を行い、さらに順遺伝学的手法によるROLバリア形成の分子機構の解明を目指した。

第1章では、緒論として、根のROLバリアに関するこれまでの知見を概説した。

第2章では、ROLバリア形成時の根表層の構造変化について観察および分析を行った。これまでに、ROLバリア形成には根の表層細胞の細胞壁におけるスベリン化やリグニン化、また、細胞間隙における物質の蓄積などの関与が示唆されてきた。そこで、

トウモロコシと *Z. nicaraguensis* の根を用いて、組織化学的な染色、分析化学的な解析、および透過型電子顕微鏡による観察を行うことで、これらの物質の蓄積の比較解析を行った。その結果、*Z. nicaraguensis* の根の ROL バリア形成時に特異的に、根の表層での特定のスベリン単量体成分（炭素数 28 と 30 の  $\omega$ -水酸化脂肪酸）の高蓄積、および表皮細胞と外皮細胞の間の細胞間隙（中葉）における物質の蓄積が起こっていることが明らかになった。これらの根の表層構造の変化は tight な ROL バリアを形成するイネと同様であり、スベリンの単量体成分の変化、あるいは細胞間隙への物質の蓄積が tight な ROL バリア形成に関与している可能性が示唆された。

第 3 章では、ROL バリア形成を制御する染色体領域を特定するために、トウモロコシを遺伝的背景に *Z. nicaraguensis* の染色体断片を置換した染色体断片置換系統（introgression line、IL）シリーズ（42 系統）の ROL バリア形成能を評価した。その結果、1 系統（系統名 IL#11）のみが ROL バリア形成を示し、他の系統との比較解析から、*Z. nicaraguensis* 由来の 3 番染色体短腕上の領域に ROL バリア形成の制御に関わる遺伝子座が座乗していることが明らかになった。この染色体領域を *Z. nicaraguensis* タイプホモ接合型で持ち、tight な ROL バリアを形成する系統（#468）の解析を行ったところ、スベリンとリグニンの染色パターンは tight な ROL バリアを形成しないトウモロコシと同様であることが分かった。このことから、スベリンとリグニンの染色パターンは ROL バリア形成と相関しないことが分かり、第 2 章で示したスベリンの単量体成分の変化や表皮細胞と外皮細胞の間の細胞間隙（中葉）における物質の蓄積のような微細な構造変化が ROL バリアに寄与している可能性が考えられた。

耐湿性の高い植物種は、ROL バリアの他に、還元土壌からの毒性物質の流入を抑制する溶質に対するアポプラステックバリアが根の表層に形成される。アポプラステックトレーサーを用いて溶質に対するアポプラステックバリア形成を評価したところ、*Z. nicaraguensis* には形成されるが、トウモロコシには形成されないことが分かった。一方、#468 の解析を行ったところ、#468 の根には *Z. nicaraguensis* と同様に、溶質に対するアポプラステックバリアが形成されることが分かった。このことから、3 番染色体短腕上の ROL バリア形成の制御に関わる遺伝子座は溶質に対するアポプラステックバリア形成も制御していることが示唆された。

第 4 章では、ROL バリア形成を制御する遺伝子を同定するために、遺伝子マッピングによる ROL バリア形成制御領域の絞り込みを行った。その結果、制御領域は 3 番染色体短腕上の約 232 kb の領域に座乗していることが分かった。そこで、この領域内に推定されている 5 つの遺伝子について遺伝子発現解析を行ったところ、*Zm00001d040004* のみが ROL バリア形成時に誘導されていることが分かった。さらに、組織特異的な遺伝子発現解析を行ったところ、この遺伝子は ROL バリアが形成される根の表層で高発現していることが明らかとなり、この遺伝子の ROL バリア形成への関

与が示唆された。

第 5 章では、第 2 章から第 4 章で得られた実験結果を踏まえ、総合考察を行った。*Z. nicaraguensis* の不定根では、*Zm00001d040004* が根端近くの根の表層で発現することによって、スベリンの単量体成分の変化あるいは表皮と外皮の間の細胞間隙（中葉）への物質の蓄積が起これ、その結果 **ROL** バリアが形成されるという分子機構が示唆された。本論文の研究成果によって、これまで長く未解明であった **ROL** バリア形成の分子機構が明らかになるだけでなく、耐湿性の高いトウモロコシ品種の作出の一助となることが期待される。