

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

氏 名 森 欣 順

論 文 題 目

Physiological analysis of adaptation mechanism on flood
environment in deepwater rice

(浮 イ ネ の 洪 水 環 境 適 応 に 関 す る 生 理 学 的 解
析)

論文審査担当者

主 査	名古屋大学教授	芦 苺 基 行
委 員	名古屋大学教授	中 園 幹 生
委 員	名古屋大学教授	佐 塚 隆 志
委 員	名古屋大学准教授	土 井 一 行
委 員	名古屋大学助教	永 井 啓 祐

論文審査の結果の要旨

本研究では、冠水条件下での浮イネの酸素濃度状態変動解析や、イネ体内の気体移動の可視化を行い、洪水に対して浮イネの節間伸長応答が果たす生物学的な意義を検証した。また洪水応答における重要な形質である浮イネの節間伸長について、その機構を制御する遺伝子の機能解析を行った。

第 2 章において森は、浮イネ節間内の酸素濃度状態に着目し研究を行った。初めに、完全冠水状態の浮イネ品種 C9285 と、葉先を水面上に抽出し大気との接触が保たれている部分冠水状態の C9285 について、節間内部の酸素濃度の日周変動を計測した。夜間において、冠水していない C9285 節間内の酸素濃度が 20 kPa であったのに対し、完全冠水状態の C9285 は節間内部の酸素濃度が 3-5 kPa 程度まで低下した。一方、部分冠水状態の C9285 は、夜間でも完全冠水状態よりも高い 10 kPa 程度で保たれた。この結果は、浮イネは洪水時に節間伸長し水面上に抽出した葉によって酸素摂取を行い、夜間の体内酸素濃度をある程度維持していることを示唆した。さらに、完全冠水状態における浮イネの節間伸長維持機構について解析を行った。そこでガスフィルムという水辺環境で生育するイネ科を含む植物が持つ形質に着目した。ガスフィルムは水中の葉表面に形成される空気層であり、水中に溶存している酸素、二酸化炭素の取り込みを促進することが報告されている。初めに、完全冠水状態においてガスフィルムを物理的に除去した C9285 節間内部の酸素濃度変動を計測した。ガスフィルムを除去した状態の植物は、夜間において酸素濃度が 0 kPa を示し、無酸素状態であった。また日中においてもガスフィルムを除去した C9285 の節間内部の酸素濃度は、ガスフィルムを保持している植物に比べ大きく減少していた。よって完全冠水状態の植物でも、ガスフィルムにより、日中夜間ともに節間内部の酸素濃度が低いながらも維持されることが明らかとなった。次にガスフィルムを除いた状態における完全冠水状態での C9285 の節間伸長を評価した結果、ガスフィルムを除いた状態では、節間伸長は有意に減少していた。よって、浮イネは完全冠水状態でもガスフィルムによって無酸素状態にならず、ある程度酸素濃度が維持されることにより呼吸を維持し、継続して節間伸長を行い葉先を水面に抽出させ大気中の酸素を摂取し、体内の酸素濃度状態の維持を行っていると考えられた。

第 3 章では、イネの通気機構について解析を行った。イネは葉身や葉鞘、また茎や根の植物体全体に通気組織を発達させている。これらの組織を通じて水面上に抽出している組織から水面下の組織へ酸素を供給し、呼吸を維持していると考えられている。これまでにイネ体内の気体の移動を直接観察した例はない。そこで部分冠水状態での C9285 および一般的なイネ品種 T65 に、放射性同位体窒素 $^{13}\text{N}_2$ を投与し、PETIS イメージングシステムを用いることで、植物体体内の気体の移動について直接的な観察を行った。両品種において、水面上に抽出している葉より摂取させた $^{13}\text{N}_2$ ガスが、時間経過に従って徐々に水面下の組織へ移動していく様子が観察された。また中空の

チューブを用いた対照実験との比較により、植物体内を気体は拡散によって移動している可能性が示唆された。さらに植物体内を移動する $^{13}\text{N}_2$ ガスは、葉において同化された $^{11}\text{CO}_2$ 転流産物よりも速く植物体の基部へ到達した。以上の結果よりイネは、通気組織を通じて気体の状態で酸素を輸送することで、冠水した組織へ効率的に酸素輸送を行っているということが考えられた。

第4章では、節間伸長を制御する遺伝子の機能解析を行った。浮イネの節間伸長は、植物ホルモンであるエチレン、アブシシン酸(ABA)、およびジベレリン(GA)によって制御されている。浮イネが冠水すると体内にエチレンが蓄積し、蓄積したエチレンが体内の ABA 含量の減少を引き起こすことによって、植物内での GA への感受性が増加する。そして GA が節間における細胞分裂および伸長を促進することによって、節間伸長が引き起こされる。これまでに、浮イネにおいて GA に応じて節間伸長の開始を制御する遺伝子は同定されていない。そこで、GA に応答して節間伸長を誘導する遺伝子の同定および機能解析を行い、浮イネの節間伸長機構のさらなる解明を行った。これまでに T65 と C9285 の交雑に由来する雑種集団を用いた QTL 解析により、3 番染色体および 12 番染色体に、GA に応答した節間伸長を制御する QTL が検出されている。本研究では 12 番染色体の QTL に着目し、ポジショナルクローニングを行った。その結果 GA に応じた節間伸長を制御する遺伝子として *DECELERATOR OF INTERNODE ELONGATION1* (*DECI*) を同定した。*DECI* は、一般的なイネの生殖成長期において節間伸長に関わる遺伝子 *PINE1* の新規アレルであった。One Hybrid Assay により、*DECI* タンパク質は転写抑制能を持つことが明らかとなった。*DECI* の過剰発現を行った形質転換体は矮化すること、また CRISPR-Cas9 により作出した *dec1* 変異体は節間伸長を生育の早期に誘導することから、*DECI* は節間伸長を抑制していることが明らかとなった。*DECI* は C9285 でのみ、GA 投与に応じて発現が減少することから、浮イネ特異的な *DECI* を介した GA 感受性制御機構が示唆された。さらに *DECI* は冠水によって発現が低下し、また GA 合成阻害剤と共にエチレンの前駆体である ACC を投与することによっても発現の減少が見られた。過去に浮イネでは、GA の合成酵素である *GA20ox2* が冠水およびエチレンに応じて特異的に発現上昇し、冠水時における節間伸長が促進されることが報告されている。これらの結果から、浮イネはまず冠水特異的に体内にエチレンを蓄積させ、蓄積したエチレンが *DECI* の発現を冠水初期に抑制し、GA への感受性を上昇させると同時に、*GA20ox2* の発現を上昇させ GA 合成を促進する。そして合成された GA が *DECI* 発現を抑制し続けることにより、GA への感受性を維持し、急激な節間伸長を誘導するという節間伸長制御機構が考えられた。

本論文では、浮イネの洪水環境適応について、体内酸素濃度変動に着目した生理学的な解析を行い、浮イネの節間伸長による洪水ストレスの回避と酸素摂取についての関

係性を明らかにした。また、これまでに生理状態解析や形態観察を中心として、水辺環境に生育する植物の気体摂取に関する研究が行われてきた。本論文では、イネ体内の気体移動について放射性同位体 $^{13}\text{N}_2$ ガスと PETIS イメージングシステムを用いて直接観察し、イネ体内の気体拡散機構と物質輸送における効率性について明らかにした。このことは、本研究で用いた研究手法を他の水生植物に応用することで、さらなる洪水応答機構の解明を行うことができる可能性を示唆した。さらに、分子生物学的な観点から、GA および洪水に応じて浮イネ特異的に節間伸長を制御する遺伝子 *DECI* の単離、機能解析を行うことで、浮イネの洪水環境適応と節間伸長に関する新たな機構を明らかにした。

○ 以上の結果より本論文は博士(農学)の学位論文として十分価値を有するものと認め、論文審査に合格と判定した。

○