

論文の内容の要旨

論文題目 イネの分げつおよび根の成長を制御する *D10*、*D14* 遺伝子
およびストリゴラクトンに関する研究
氏名 有手 友嗣

「枝分かれ（分枝）」という現象は、植物の形態形成において重要な現象の 1 つである。特にイネにおいては、枝分かれは「分げつ」と呼ばれ、収量に直接的に影響することから、農業的にも重要な意味を持つ。そのため、イネの分げつ制御のメカニズムを明らかにすることは、重要な研究課題である。

イネの分げつ制御メカニズムについて解明するため、まず初めに、分げつが極端に増加する突然変異体である *dwarf* (*d*) 変異体 (*d3*、*d10*、*d14*、*d17*、*d27*) を用いて、形態学的な観察と分子遺伝学的な解析を行い、*d* 変異体では腋芽の休眠が弱くなっていること、*D10* と *D14* 遺伝子が、それぞれカロテノイド酸化開裂酵素と加水分解酵素をコードする遺伝子であることを明らかにした（第 1 章）。次に、*D14* 遺伝子の機能について明らかにするため、植物の枝分かれを制御する植物ホルモンであるストリゴラクトンを用いて相補実験を行い、*D14* 遺伝子がストリゴラクトンの受容またはシグナル伝達に関与していることを明らかにした（第 2 章）。さらに、ストリゴラクトンが根の形態に及ぼす影響について解析を行い、ストリゴラクトンがリン酸欠乏時に根の伸長を促進することを明らかにした（第 3 章）。

以上の結果、本研究では次のような結論を得た。

1. *D10* および *D14* はストリゴラクトンを介して、イネの分げつを抑制的に制御する遺伝子である。

d 変異体 (*d3*、*d10*、*d14*、*d17*、*d27*) は、茎や葉が短くなる矮性という表現型と、分げつが極端に増加する多分げつ性という 2 つの形態学的な表現型を示す変異体である。*d* 変異体では腋芽の形成は正常に行われているが、形成された腋芽のほとんどが休眠することなく成長していた。そのため、*d* 変異体の原因遺伝子 *D3*、*D10*、*D14*、*D17*、*D27* は、いずれもイネの腋芽成長を抑制的に制御していると考えられた。

マップベースクローニングにより原因遺伝子を特定した結果、*D10* はカロテノイド酸化開裂酵素 *CCD8* をコードする遺伝子であり、

シロイヌナズナ *MORE AXILLARY GROWTH 4 (MAX4)* のホモログであることが明らかになった。また、*D14* は加水分解酵素と予想されるタンパク質をコードする遺伝子であることが明らかになった。

シロイヌナズナの *max (max1, max2, max3, max4)* 変異体を用いた接木実験の結果から、腋芽の成長を抑制する新規ホルモン様物質の存在が示唆されていた。既に単離されていたイネの *D3* は、F-box タンパク質をコードしており、シロイヌナズナの *MAX2* のホモログであることが明らかになっていた。また、同じく *D17* は *CCD7* をコードする *MAX3* のホモログであることが明らかになっていた。*D3*、*D10*、*D17* が *MAX2*、*MAX4*、*MAX3* とホモログの関係にあったことから、イネにおいてもシロイヌナズナと同じく、新規ホルモン様物質が腋芽の成長を抑制的に制御しており、*D3*、*D10*、*D17* 遺伝子はこの新規ホルモン様物質の生合成または受容・シグナル伝達に関与していると考えられた。

D10 および *D14* 遺伝子の発現パターンを解析すると、*d* 変異体 (*d3*、*d10*、*d14*、*d17*、*d27*) では生合成に関与すると予想された *D10* 遺伝子の発現が大きく上昇しており、新規ホルモン様物質の生合成には、*D10* の発現を制御する負のフィードバックが存在していると考えられた。また、この結果から、*D3*、*D10*、*D17* だけではなく *D14*、*D27* も新規ホルモン様物質を介した共通した経路で機能していると考えられた。

腋芽の成長制御として古くから知られている頂芽優勢という現象と、新規ホルモン様物質との関係について検討するため、*d* 変異体を用いて Decapitation 実験を行った。イネは、栄養成長期には茎がほとんど伸長せず、Decapitation 処理を行うことが難しかったため、まず生殖成長期の個体を材料に用い、穂を取り除くことで Decapitation 処理と同様の効果があることを確認した。次に切断面にオーキシンを与えることで Decapitation 処理の効果が打ち消されることを確認した。これらの結果により、イネにおいても、オーキシンを介した頂芽優勢が機能していることが確かめられた。

d10 変異体では、Decapitation 処理をしなくても、通常は休眠している腋芽が成長しているため、頂芽優勢が弱くなっていると考えられた。また、*d10* 変異体ではオーキシンの内生量が増加しているにも関わらず頂芽優勢が弱くなっていること、また *D10* 遺伝子の発現は、Decapitation 処理をすることで減少し、切断面にオーキシンを与えると維持されることから、*D10* はオーキシンの下流で頂芽優

勢を制御していることが示唆された。しかし、*d10* 変異体においても、切断面にオーキシンを塗布することで、完全ではないものの腋芽の成長が抑制されることから、*D10* を介さずにオーキシンが頂芽優勢を制御する経路も存在すると考えられた。

その後、腋芽成長を制御している新規ホルモン様物質が、ストリゴラクトンであることが明らかになった。*d3* 変異体はストリゴラクトンに対して非感受性を示すことから、*D3* はストリゴラクトンの受容またはシグナル伝達に関与していると考えられた。また、*d10*、*d17* 変異体はストリゴラクトンに対して感受性を示すことから、*D10*、*D17* はストリゴラクトンの合成に関与していると考えられた。一方、*d14* 変異体は、ストリゴラクトンを外生的に供与しても、表現型が回復せず、内生ストリゴラクトン量が大きく増加していたため、*d3* 変異体と同じく、ストリゴラクトンの受容またはシグナル伝達に関与していると考えられた。

2. ストリゴラクトンは、リン酸欠乏時に根の伸長を促進することで、リン酸の吸収を促進させる。

近年の研究により、ストリゴラクトンには大きく2つの機能があることが明らかにされた。1つは根から分泌されたストリゴラクトンがAM菌の共生を促す機能である。2つめは植物体内で腋芽の成長を制御する植物ホルモンとしての機能である。

ストリゴラクトンは、植物がリン酸欠乏に直面したときに内生量が増加するため、地上部では分枝を抑制して、限られたリン資源を少数の枝に集中投資し、一方で地下部ではAM菌の共生を促進してリン酸の吸収を促進していると考えられるようになった。

しかし、本研究の結果、イネにおいては、ストリゴラクトンはこれら2つの効果だけではなく、「根の伸長促進」という効果によっても、リン酸欠乏に対する適応を行っていると考えられた。

播種後6週間の *d10*、*d14* 変異体の根の形態を観察すると、野生型よりも根の長さは短くなり、乾物重は小さくなっていた。播種後14日の *d3*、*d10*、*d14*、*d17*、*d27* 変異体において、種子根と冠根の成長を野生型と比較したところ、種子根の長さや冠根の数は野生型と有意差がなかったが、冠根の長さは野生型より有意に短くなっていた。

ストリゴラクトンに対して感受性の *d10* 変異体と非感受性の *d14* 変異体に、外生的に合成ストリゴラクトン GR24 を与え、冠根の長さが回復するか相補試験を行ったところ、*d10* 変異体はストリゴラク

トンの濃度依存的に冠根の長さが回復したのに対し、*d14* 変異体はストリゴラクトンの濃度に関わらず冠根が短いままだった。高濃度のストリゴラクトンを与えると野生型では冠根が伸長したが、*d14* 変異体では変化はなかった。以上の結果から、ストリゴラクトンには冠根の伸長を促進する効果があると考えられた。

イネでは、水耕培養液で育成した個体をリン酸欠乏培養液に移すと、一時的に冠根の伸長が促進することが知られている。実際に、野生型のイネを、リン酸を含む培地で発芽させた後、リン酸を含まない培地で育成すると一時的に冠根が伸長した。一方、*d10* 変異体および *d14* 変異体は同様の試験を行っても、冠根の伸長が観察されなかった。従って、イネがリン酸欠乏時に一時的に冠根を伸長させる現象は、ストリゴラクトンに依存する現象であると考えられた。

d10、*d14* 変異体と野生型の根端分裂組織を比較すると、伸長帯および分裂帯の細胞の大きさに違いはなかったが、*d10*、*d14* 変異体は分裂帯が短く、細胞数が少なくなっていた。従って、*d* 変異体は細胞伸長ではなく、分裂帯における細胞分裂が抑制された結果、根が短くなっていると考えられた。すなわち、ストリゴラクトンには根の細胞分裂を促進する効果があると考えられた。

土壌からリン酸を吸収するには、根長が長い方が有利であるため、ストリゴラクトンによって根の伸長が促進されることは、イネがリン酸欠乏の状態に陥ったときに、土壌からのリン酸吸収を促進するために行う応答反応の1つであると考えられた。

以上をまとめると、イネのリン酸欠乏に対する応答反応は、①限られたリン酸資源を節約するために、腋芽の成長を抑制して分げつの発生を抑える、②土壌からのリン酸吸収を促進するために、AM菌の共生を促すとともに、自身の根系を伸長させる、という2つの戦略で成り立っていると考えられた。そして、*D10*、*D14* 遺伝子と、これら遺伝子によって制御されているストリゴラクトンは、この応答反応を統合制御する中心的な役割を担っていると考えられた。

本研究によって、イネの分げつ制御メカニズムと、そのメカニズムの中心に位置するストリゴラクトンの機能について、一部を明らかにできたことは、大きな意義を持つことと考えられる。