

氏 名 (本籍)	塚 原 啓 太 (栃 木 県)
学 位 の 種 類	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	博 甲 第 6495 号
学位授与年月日	平成 25 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
審 査 研 究 科	生命環境科学研究科
学 位 論 文 題 目	オゾンによるイネの収量低下機構の遺伝学的解析
主 査	筑波大学准教授 (連携大学院) 博士 (農学) 玉 置 雅 紀
副 査	筑波大学教授 理学博士 佐 藤 忍
副 査	筑波大学教授 (連携大学院) 農学博士 中 嶋 信 美
副 査	筑波大学准教授 博士 (理学) 小 野 道 之

論 文 の 内 容 の 要 旨

光化学オキシダントの主成分であるオゾンは、植物に取り込まれると葉の黄変化、褐変化、枯死を引き起こし、生育に影響を与える。また、多くの農作物において収量がオゾンの濃度上昇により低下することが知られている。本研究では、高オゾン条件下で収量が低下するインド型イネ品種のハバタキと、オゾンによる収量低下が見られない日本型イネ品種のササニシキを用いて、QTL 解析によりオゾンによる収量低下に関わる遺伝子の同定及び、同定された遺伝子の収量低下への関与について解析を行った。ハバタキにおけるオゾン誘導性の収量低下にどのような要素が関与しているかについて解析を行った結果、オゾン曝露によりハバタキにおいてイネの収量構成要素である稈長 (茎の長さ) 及び一次枝梗数 (穂軸から最初の枝分かれの数) が有意に低下することが分かった。一方で、オゾン暴露によりササニシキの葉では可視障害が見られたのに対し、ハバタキではそのような障害は確認できなかった。このことからこれらの品種間ではオゾンによる葉の可視障害と収量に相関が見られないことが明らかになった。

次に 39 系統からなるササニシキ/ハバタキ染色体置換系統群を用いて、QTL 解析によりオゾンによるハバタキの収量、稈長及び一次枝梗数の低下に関わる遺伝子座の同定を行った。その結果、稈長による QTL 解析では有意な遺伝子座を検出することはできなかった。一方で、収量及び一次枝梗数を用いた QTL 解析により、6 番染色体の RM3430 マーカー (107.6cM) 近傍にオゾンによるイネの収量及び一次枝梗数低下に関わる遺伝子座が存在することが示唆された。このマーカー近傍には、一次枝梗数を調節する *ABERRANT PANICLE ORGANIZATION 1* (*APO1*) と呼ばれる遺伝子が存在していた。この *APO1* 遺伝子は過去の研究より一次枝梗の分化に関与することが知られている。次に *APO1* 遺伝子が単独でオゾンによる収量減少に関与しているかどうかについて検討するため、ゲノム領域全体がほぼササニシキ背景であり、且つ *APO1* 遺伝子領域のみがハバタキ型に置換された SHA422-1.1 系統の解析を行った。その結果、オゾンによる収量及び一次枝梗数の有意な低下が SHA422-1.1 でもハバタキと同様に見られたことから、*APO1* 遺伝子がオゾンによる収量低下を引き起こす遺伝子であることが示唆された。

APO1 タンパク質のアミノ酸配列をササニシキとハバタキで比較したところ、3 箇所のアミノ酸配列が異なっていた。このうちこのタンパク質の機能に関与すると予測される F-box ドメインに見られたアミノ酸の

違いがタンパク質の機能に影響するかどうかについてホモロジーモデリングにより検証をおこなったところ、品種間におけるアミノ酸の違いはF-boxドメインの3次元構造に影響を及ぼさないことが明らかになった。このことからササニシキとハバタキにおけるAPO1タンパク質には機能の差はなく、APO1遺伝子の発現量が異なる可能性が示唆された。そこでAPO1遺伝子がイネのどの器官で発現しているのかについて解析したところ、この遺伝子の発現量は幼穂で著しく高いこと、また、その発現量は葉、幼穂及び穂においてハバタキで高い発現を示した。そこで幼穂におけるAPO1遺伝子の発現量がオゾンに影響を受けているのかについて解析を行ったところ、APO1遺伝子の発現量はハバタキにおいてオゾン曝露により著しく低下し、ササニシキでは上昇していた。次にオゾンストレスのシグナルがどのように幼穂でのAPO1遺伝子発現へと伝達されるかを検討するため、幼穂及び葉における植物ホルモン量のオゾンによる変化を測定した。その結果、どちらの器官でもササニシキではオゾン曝露によりジャスモン酸、ジャスモン酸イソロイシン及びアブシジン酸量が低下し、ハバタキではこれらが増加することが明らかになった。また、これらの植物ホルモン含有量は幼穂に比べ葉で著しく高いことが明らかになった。

以上の結果から、オゾン曝露によってハバタキではジャスモン酸類及びアブシジン酸が葉において増加し、これらの植物ホルモンが直接あるいは植物ホルモンにより誘導されたシグナルが幼穂に伝達され、これにより幼穂においてAPO1遺伝子の発現低下が引き起こされること。さらに幼穂におけるAPO1遺伝子発現の低下により一次枝梗数の低下が起こる事により収量低下が引き起こされることが示された。

審 査 の 結 果 の 要 旨

オゾンによる植物の生産量または作物の収量の低下については、オゾンによる葉に生じる可視的障害に伴う光合成量の低下が原因であると考えられてきた。しかし、特にイネにおいては葉に生じる可視障害の程度と収量低下割合に相関が見られないことから、この仮説が正しいのかについて議論されていた。本論文ではこの問題に答えることができるように、オゾンによる葉の可視障害と収量低下との間に相関が見られない2つのイネ品種を用いてAPO1遺伝子がオゾンによる収量低下に関与していることを示した。この遺伝子は本来、イネの穂の形態形成に関与していることが知られているため、本研究で得られた結果はオゾンが植物の形態形成障害を通じて収量を低下させることを世界で初めて明らかにしたとともに、従来から議論されてきたオゾンによる収量低下には葉における可視障害以外のメカニズムが存在することを明らかにすることができた。こうした知見は、工業化に伴う大気汚染が著しい東アジア諸国（中国、インドなど）におけるイネの品種改良に貴重な情報を提供しうるものである。

平成25年1月29日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（理学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。