

氏名	玉井 一規
授与した学位	博士
専攻分野の名称	学術
学位授与番号	博甲第3742号
学位授与の日付	平成20年 9月30日
学位授与の要件	自然科学研究科資源管理科学専攻 (学位規則第5条第1項該当)
学位論文の題目	イネ変異体を用いたケイ酸吸収関連遺伝子の単離とケイ素有益効果の解析
論文審査委員	教授 馬 建鋒 准教授 且原 真木 教授 村田 芳行

### 学位論文内容の要旨

イネは典型的なケイ素集積植物で、安定多収のために多量のケイ素を地上部に集積する必要がある。しかし、イネのケイ素吸収に関与する遺伝子はこれまで明らかにされていなかった。本研究では単離された低ケイ酸吸収変異体 *Lsi1*、*Lsi2* を用いて、原因遺伝子の単離を行った。まずバルク法を用いて、ラフマッピングを行った。その結果、変異体 *Lsi1* のケイ酸低吸収性にかかわる原因遺伝子は2番染色体上に、変異体 *Lsi2* の原因遺伝子は3番染色体に座乗していることが明らかとなった。さらにファインマッピングを行い、原因遺伝子の候補領域を絞り込み、変異遺伝子を突き止めた。また RNAi 法及び相補性試験を行い、それらが原因遺伝子であることを確認した。*Lsi1* は 298 のアミノ酸から構成され、6 個の膜貫通領域を有するアクアポリン様のタンパク質をコードしていることが予測された。一方、*Lsi2* は 472 のアミノ酸からなり、11 の膜貫通領域を有するアニオントランスポーター様のタンパク質をコードしていることが推定された。野生型と変異体との配列を比較すると、いずれの変異体にも一アミノ酸置換が起こっていることがわかった。

次にケイ酸吸収欠損変異体 *Lsi1* を用いて、イネの生育及び収量に対するケイ素の効果を4年間圃場試験を行い、解析した。移植から収穫まで経時的に野生型イネとケイ酸吸収変異体 *Lsi1* の生育及び収量、窒素、リン、カリウムとケイ素の吸収を調査、比較し、ケイ素の有益効果を解析した。根の乾物重、分けつ数、SPAD 値は野生型と変異体との間に特に差は認められなかった。また草丈や地上部の乾物重については変異体で少し低下した。しかし、変異体の収量は野生型と比べ、大きく低下した。収量構成因子のうち、穂数や千粒重には差がほとんどなかったが、一穂粒数が変異体で少し低下した。一番影響が大きくなったのは稔実歩合で、変異体の稔実歩合は野生型の 14% であった。この稔実歩合の低下にはケイ素の低沈積による籾からの過蒸散と病原菌の感染が考えられる。経時的に養分吸収量を比較した結果、窒素、リン、カリウムについては変異体と野生型との間にいずれの生育時期においても差が認められなかった、しかし、ケイ素の吸収量は最大 2.1 倍の差があった。以上の結果よりケイ素は籾の過蒸散や病原菌の侵入を防ぐことにより高い稔実歩合の維持に重要な役割を果たしていると言える。

## 論文審査結果の要旨

イネは代表的なケイ素集積植物であるが、ケイ素吸収に関与する遺伝子はこれまで明らかにされていなかった。本研究では単離された低ケイ酸吸収変異体 *lsi1*、*lsi2* を用いて、原因遺伝子の単離を行った。まずバルク法を用いて、ラフマッピングを行った。その結果、変異体 *lsi1* のケイ酸低吸収性にかかわる原因遺伝子は 2 番染色体上に、変異体 *lsi2* の原因遺伝子は 3 番染色体に座乗していることが明らかとなった。さらにファインマッピングを行い、原因遺伝子の候補領域を絞り込み、変異遺伝子を突き止めた。また RNAi 法及び相補性試験を行い、原因遺伝子であることを確認した。*lsi1* は 298 のアミノ酸から構成され、6 個の膜貫通領域を有するアクアポリン様のタンパク質をコードしていることが予測された。一方、*lsi2* は 472 のアミノ酸からなり、11 の膜貫通領域を有するアニオントランスポーター様のタンパク質をコードしていることが推定された。野生型と変異体との配列を比較すると、いずれの変異体にも一アミノ酸置換が起こっていることがわかった。

次に低ケイ酸吸収変異体 *lsi1* を用いて、イネの生育及び収量に対するケイ素の効果を 4 年間圃場試験を行い、解析した。移植から収穫まで経時的に野生型イネとケイ酸吸収変異体 *lsi1* の生育及び収量、窒素、リン、カリウムとケイ素の吸収を調査、比較し、ケイ素の有益効果を解析した。根の乾物重、分げつ数、SPAD 値について野生型と変異体との間に特に差は認められなかった。また草丈や地上部の乾物重については変異体で少し低下した。しかし、変異体の収量は野生型と比べ、大きく低下した。収量構成因子のうち、穂数や千粒重には差がほとんどなかったが、一穂粒数が変異体で少し低下した。一番影響が大きく現れたのは稔実歩合で、変異体の稔実歩合は野生型の 14%であった。この稔実歩合の低下にはケイ素の低沈積による籾からの過蒸散と病原菌の感染が考えられた。

これらの成果はすでに国際誌に論文として公表されており、博士学位論文として十分に値すると判定した。