

平成 30 年 6 月 1 日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2016～2017

課題番号：16H05974

研究課題名(和文) マイクロ土壌デバイスによる根の成長メカニズムの定量解析

研究課題名(英文) Quantitative analysis of root growth mechanism using micro artificial-soil devices

研究代表者

肥田 博隆 (Hida, Hirotaka)

神戸大学・工学研究科・准教授

研究者番号：60402509

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,400,000円

研究成果の概要(和文)：根は、植物にとって水や養分を獲得するための重要な器官であり、その成長メカニズムの理解は、農作物を栽培する上で重要な知見となる。本研究では、土壌の固さを表現可能なマイクロ分析デバイスを開発し、デバイス上において根の成長挙動を時間的、空間的に詳細かつ定量的に解析する手法を確立した。本手法を用い、根が伸長時に発揮する推進力の直接的な計測、および機械的ストレスが根の成長挙動に与える影響の定量的解析に成功した。本研究で確立した解析技術の応用により、農作物の品種改良や栽培技術に関する知見を効率良く獲得することが期待でき、将来的には食糧問題やエネルギー問題の解決への寄与が見込まれる。

研究成果の概要(英文)：Roots are essential organs for plants to take up water and nutrients, thus studying the strategies of growing roots might be contribution to improvement of the crop productivity and biomass. In this study, we developed novel analytical methods for characterizing the mechanisms of growing roots by using micro artificial-soil devices. By using our analytical methods, we quantitatively clarified that the roots of plant to prefer lower mechanical stress conditions. In addition, we confirmed that the root elongation was drastically decreased or suppressed under the high mechanical stress conditions. We also measured the driving forces generated by the root growth under restrained conditions assuming the soil environments and quantitatively estimated the Young's modulus of the growing roots based on the buckling analysis using a simple structure model.

研究分野：マイクロ・ナノデバイス

キーワード：マイクロ・ナノ科学 生物物理 Micro TAS Plant-on-a-chip

1. 研究開始当初の背景

植物にとって、根は本体の物理的支持に加え、養分や水分の吸収を行うための非常に重要な器官である。トマトや豆類など多種多様な農作物や、植物学における重要なモデル生物であるシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) などの双子葉植物は、一般に、根の先端部にある分裂組織を起点として主根を成長させ、その発達に伴って主根から複数の側根を発生させて土壤中に広く根系を形成する。この過程において、根は養分などの化学的環境、土壌細菌などの生物的環境、および土壌の形態(障害物、空隙、土の密度など)に起因する物理的環境にさらされている。この中で、特に物理的環境は、根は土壌中の障害物を回避、あるいは貫通する選択を経て地中に伸長していることから、成長メカニズムを理解する上で重要な因子であるにも関わらず、これまでほとんど解明されていない。これは、根の成長に関わる物理的影響を定量的に表現し、かつ、伸長に伴う推進力や物理的な頑強さなど、根に関する物理性を詳細に分析するための実験手法が未確立であったことに起因し、その分析手法の実現が望まれていた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、土壌環境を模倣したマイクロデバイスを開発し、根の成長に伴う推進力や、根系の発生パターンの分析等を通じ、物理的因子に対する根の成長メカニズムを明らかにすることである。本研究の成果は、植物の育成技術や品種改良を促進し、将来的には農作物の生産性向上による食糧問題の解決や、植物由来のバイオマスエネルギー技術の発展へとつなげる。

3. 研究の方法

本研究では、根の成長メカニズムを詳細かつ定量的に分析するため、大別して以下の2種類のマイクロ土壌デバイスを開発した。

(1) 主根の機械的特性評価用分析デバイス

種子から最初に発生し、生涯を通じて植物の根系の中心となる主根を解析対象とし、成長に伴い発生する推進力、ならびに物理的な頑強さを計測するためのマイクロデバイスの開発を行う。具体的には、申請者の専門分野の一つである MEMS (Microelectromechanical systems, またはマイクロマシン) 技術を駆使し、単結晶シリコンを主材料とする幅、高さ共に 0.5 mm 以下のマ

イクロ流路内に、数マイクロニュートンオーダーの検出分解能を持つフォースセンサを集積化したデバイスを開発する。根は、その先端部において細胞の発生、分裂、伸長の過程を繰り返すことで伸長し、根端は推進力の発生源となる。本研究では、根端の先鋭的な形状に応じて設計した V 字型のトラップ機構をフォースセンサと一体化することにより、根端を非破壊的に捕捉した上で推進力の計測を行う。本デバイスについて、植物の養分となる Murashige-Skoog (MS) を含む寒天培地上に配置し、培地上で植物を直接発芽・発根させ、フォースセンサにより主根の推進力を計測すると共に、簡単な物理モデルに基づく解析により、根の物理的な頑強さの指標となるヤング率の推定を行う。

(2) 根に機械的ストレスを付加可能なマイクロデバイス

根が成長する際、周囲の土壌の重さに起因する機械的ストレスが加わることとなり、その圧縮力は伸長に影響を与えることとなる。そこで、土壌による機械的ストレスを定量的に表現可能な、マイクロピラーアレイで構成されたデバイスの開発を行う。マイクロピラーは、高い生体適合性、透明性を有する樹脂である PDMS (poly dimethylsiloxane) を材料とし、その直径や、ピラー間の寸法の変更により、根に与える機械的ストレスを調整可能となる。

本デバイスについても上述の通り、MS 寒天培地上に配置し、根の成長過程の定量的な観察を行う。また、根は重力方向に従って成長する性質(重力屈性)を示すことから、生育温度を一定に保つためのインキュベータ内にデバイスおよび植物を鉛直に配置した状態で、成長挙動の計時変化を連続的に観察可能な解析システムを新たに構築する。

4. 研究成果

(1) 根端トラップデバイスによる根の推進力の計測

シリコン製マイクロ流路に、根端を非破壊で捕捉可能なトラップ機構を有する力変位

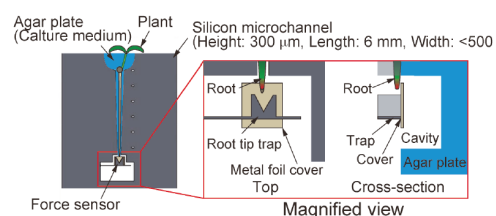


図1 根端トラップデバイスの概略図

センサを集積化した(図1)。モデル植物であるシロイヌナズナ(*Arabidopsis thaliana*)をデバイス上に播種し、インキュベータ(22±2)内で一定期間成長させたのちに光学顕微鏡によりタイムラプス撮影を行い、伸長挙動を解析した。

この結果、根端が強く拘束された状態において、フォースセンサの機械的抵抗により根が座屈し、その後も伸長を持続する様子を確認した(図2)。このことは、根は、土壤中で障害物に拘束された際、形態を変化させ、周囲との相互作用により物理的支持を強化することで、伸長を維持することを示唆している。一方で、一定時間が経過後、根の伸長が静止する様子を確認し、推進力には一定の閾値が存在する可能性が示唆された。

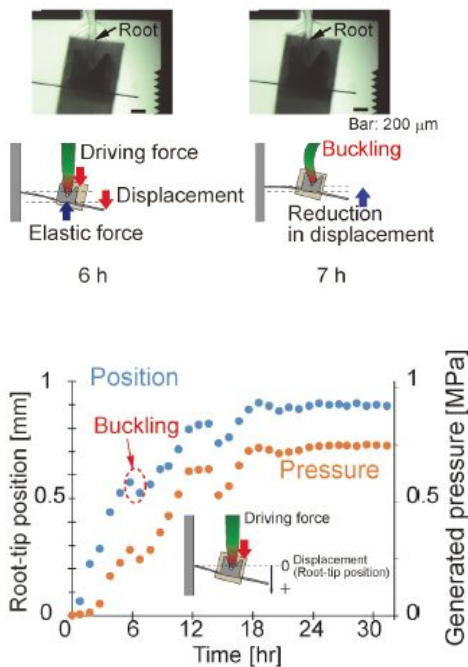


図2 成長する根の座屈現象および伸長する根の推進力の計測

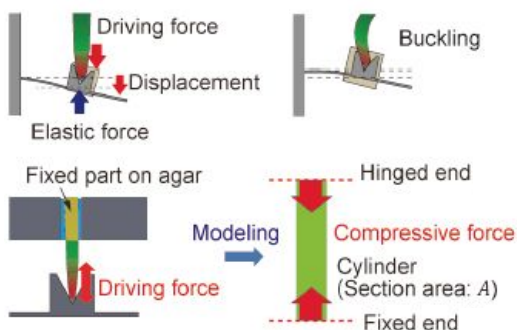


図3 物理モデルおよび座屈解析による根のヤング率の推定

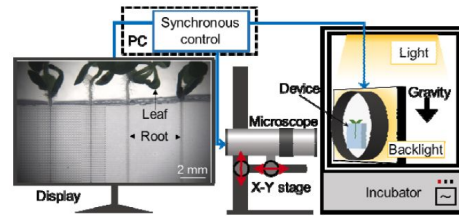


図4 根の成長挙動をリアルタイム観察可能な分析システムの概略図

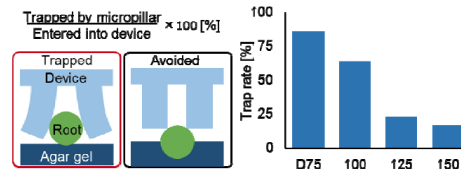


図5 機械的ストレスの負荷と根の回避行動との関係。マイクロピラーの径(Dの値)が大きいほど根には高い機械的ストレスが加わり、ピラー間への進入率(Trap rate)が減少することが分かる。

また、根の座屈現象について、物理モデルをもとに、座屈発生時における根への機械的な負荷応力から、根のヤング率の算出を行ったところ、その値は $10^0 \sim 10^1$ MPaとなった。この結果は、先行研究における報告との比較からも妥当な値として判断でき、本手法の応用により、養分や温度など、様々な栽培環境に対する根の物理的な頑強さを高効率且つ定量的に解析可能である見通しを得た。

(2) 機械的ストレス下における根の成長挙動解析

本研究で新たに構築した解析システム(図4)を用い、機械的ストレス下における根の成長挙動の解析を行ったところ、根は機械的負荷が大きくなる環境を回避する傾向があることが確認された(図5)。また、機械的ストレスの増加に従い、根の伸長速度は低下することを定量的に明らかにした(図6)。

高い機械ストレスを受けている根の伸長速度が低下する原因について明らかにするため、根の状態を詳細に観察したところ、機械的な負荷により、根の一部が強く変形していることが確認された。このことから、変形により、根の内部における細胞の伸長に関わるホルモンの移動が阻害された結果であることが示唆された。

機械ストレスによる根の変形について、有限要素法に基づく数値解析を行ったところ、

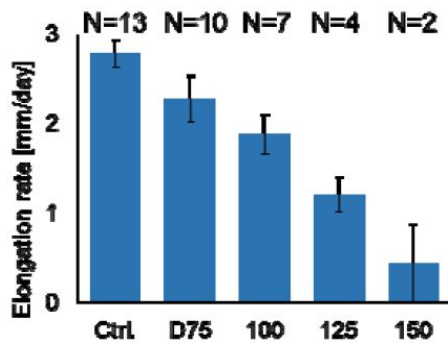


図 6 根の伸長速度と機械的ストレスとの関係 .

Ctrl は比較対象となる値(デバイスを用いないときの根の伸長速度) .

根のヤング率を 10^0 MPa オーダーとしたときに大きな変形が生じることを確認した . このヤング率の値は , 先述した座屈解析によって得られた値と同程度である . よって , 土壌中の機械的ストレス下において , 根 , つまり植物個体が成長を持続するためには , 根は一定の頑強さを持つことが重要であると示唆された .

以上の結果より , 本研究で確立した解析手法の応用により , 物理的要因を含む多様な環境因子を与えた状況下において , 根の推進力 , およびヤング率の算出が可能であるとの見通しを得た . 本手法は , 今後 , 理学(植物学)においては植物の成長メカニズムを理解する上での新規分析技術として , 農学においては農作物の栽培技術向上に資する知見へと昇華させるなど , 多様な分野への波及効果が期待される .

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

H. Hida, T. Hamamura, 他 4 名 , Piezoelectric characterization of $Pb(Zr,Ti)O_3$ thin films deposited on metal foil substrates by dip coating , Jpn. J. Appl. Phys. Vol.56 Paper ID: 10PF08(5p)
<https://doi.org/10.7567/JJAP.56.10PF08>

[学会発表] (計 23 件)

H. Hida, K. Ozoe, 他 3 名 , METHODS FOR PHYSICAL CHARACTERIZATION OF GROWING PLANT ROOTS , Proc. of 21st

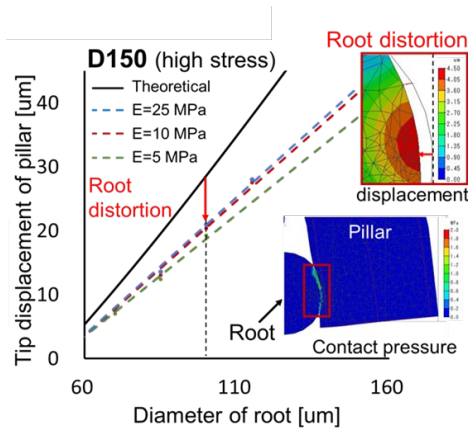


図 7 有限要素解析による機械的ストレスと根の変形量との関係

International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS 2017) (2017)

D. Nishiwaki, H. Hida, 他 2 名 , ON-CHIP MECHANICAL STRESS TEST ON PLANT ROOT GROWTH , Proc. of 21st International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS 2017) , 2017

肥田 博隆, 尾添克哉, 他 2 名 , 根端トラップデバイスによる根の伸長挙動の解析 , 化学とマイクロ・ナノシステム学会第 37 回研究会 , 2017

西脇 大維, 肥田 博隆, 他 2 名 , フォースセンサアレイによる根の機械的ストレス応答の解析 , 化学とマイクロ・ナノシステム学会第 37 回研究会 , 2017

H. Hida, D. Nishiwaki, 他 2 名 , ANALYTICAL METHODS OF ROOT GROWTH BEHAVIOR USING AN ARTIFICIAL SOIL DEVICE , Proc. of 20th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS 2016) , 2016

西脇 大維, 肥田 博隆, 他 3 名 , 根の成長パターン解析を目的としたマイクロピラーデバイスの開発 , 日本機械学会 2016 年度年次大会 , 2016

H. Hida, S. Fujimoto, 他 3 名 , Fabrication of Force Sensor for Studying Seed Germination of Plants , Proc. of

Asia-Pacific Conference of Transducers
and Micro-Nano Technology 2016
(APCOT2016), 2016

〔その他〕

ホームページ

<http://www.research.kobe-u.ac.jp/eng-dynamics/>

6 . 研究組織

(1)研究代表者

肥田 博隆 (HIDA, Hirotaka)

神戸大学・大学院工学研究科・准教授

研究者番号：60402509