

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 31 日現在

機関番号：82626

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011 ～ 2012

課題番号：23658037

研究課題名（和文） 根域の環境調節による根菜類の水耕栽培技術の開発

研究課題名（英文） Development of hydroponic cultivation techniques of root vegetables by the environmental control of root area.

研究代表者

田坂 恭嗣 (TASAKA YASUSHI)

産業技術総合研究所・生物プロセス研究部門・主任研究員

研究者番号：50357422

研究成果の概要（和文）：

養液栽培ジャガイモの根域環境と生育の関係を調査した結果、養液温度を下げることで塊茎を誘導できることが分かった。養液温度 27℃、23℃、17℃の3つの処理区で養液栽培を行ったところ、17℃処理株の生育は地上部、地下部とも劣っていたが、わずか2週間で地下部ストロンが伸びたうえ、茎の基部には異常な塊茎が誘導された。これらの結果は、根域の環境制御する方法で植物体の生育の調整や、塊茎形成を誘導できる可能性を示唆している。

研究成果の概要（英文）：

Relationship between root environment of hydroponic potato and growth was studied. It was found that tubers of potato are induced by low temperature condition. Potato hydroponic cultivation was carried out at 27℃, 23℃, and 17℃. Potato tubers are induced only at 17℃ just 2 weeks. This result suggests that the environmental control of the root zone can be induced tuber formation and regulate plant growth.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学、園芸学・造園学

キーワード：ジャガイモ、水耕栽培

1. 研究開始当初の背景

ジャガイモの水耕栽培技術に関する研究例は極めて少なく、土壌を一切使わず完全人工環境下で成功させたのは NASA の Wheeler(2006) Potato Research 49, 67-90) など少数に限定される。この研究は宇宙ステーションでの食糧自給のため、人工環境下でのジャガイモの水耕栽培条件について検討したものである。水耕栽培では主根の伸長が抑制され細根の割合が増すことが経験的に知られている。提案者らは、これまでジャガイモを完全人工環境下で水耕栽培して塊茎を得ることに成功し、単位面積収量は土耕栽培

と比較して約 5 倍 (16.6 トン/10a) の高い生産性を記録した (田坂ら、(2010) 園芸学研究 9(別冊 2):202)。そこで、本研究では、根域への光照明など、これまで誰も利用したことが無い地下部の環境制御技術を用いて、ジャガイモの水耕栽培技術を確立することを試みる。そのうえで、根の生育に関連深いと考えられる遺伝子の挙動を調べることで、地下部の環境調節の有効性を証明する。根の生育促進効果が確認されれば、根菜類で水耕栽培が困難とされているワサビやゴボウ等に応用し、根の生育促進栽培が可能になるほか、根に有効成分を蓄積するカンゾウ等の薬

用植物の栽培にも応用可能で、その成果は農学分野に限定されず、薬学にも及び非常に大きいと考えられる。ジャガイモの種イモ生産は、土壌病害虫の発生防止と悪天候による生育不良のリスクを下げるため、地理的に離れた複数の隔離農場で生産されている。しかし、野外栽培では天候のリスクは高く、春秋の植え付けシーズンに必要量を確保するには多大な労力を必要とする。国内の試験研究機関ではマイクロチューバー法とミニチューバー法が検討されているが、それぞれ塊茎が小さ過ぎて初期生育が悪い、土壌を用いるため土壌病害虫の危険性が残るなど欠点がある。人工環境下での水耕栽培は土壌病害虫のリスクも連作障害も無いうえ、季節や悪天候の影響を受けないことから、種イモ生産法として最も優れていると考えられる。

2. 研究の目的

本研究は、水耕栽培において根域の環境調節を利用した効率的な種イモ増産技術の開発を目指している。すなわち、申請者らがこれまで植物工場が開発したジャガイモ水耕栽培法を改良し、根への光照射などの手法を用いて根域環境を調節し、成長を促す全く新しい栽培方法を開発する。これと並行して、根の伸長に関連深い遺伝子の発現について調査し、根域環境調節技術の有効性を分子レベルでの解明につなげる。

3. 研究の方法

(1) 根の成長を促す栽培方法の検討

①植物材料と育苗方法

栽培試験には野生株のジャガイモ‘ワセシロ’の培養苗を供した。培養苗の栽培にはMS液体培地を用いた。室温23℃、白色蛍光灯で補光し、光強度を約50 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ に調整し、日長は連続16時間明期/8時間暗期とした。約2週間間隔に継代培養を行い、草丈がおおよそ10cm程度に達した時点で、草姿が揃った株を選んで栽培試験に供した。

②湛液水耕栽培方法

ジャガイモの栽培には2種類のプラスチック製の湛液栽培槽を使用した。ポリプロピレン製の栽培槽は長さ43cm、幅32cm、高さ16cmで、10リットルの養液にスタイロフォームを浮かべ、遮光のために上部を白黒マルチシートで覆い、株間が15cm程度となるような配置で直径3cmの穴を開けて植穴とした。養液にはエアレーションを行った。湛液栽培槽1台あたりの栽植数は4株で、3台を並列に並べて配置し栽培試験を行った。栽培室は完全人工環境の閉鎖空間で、期間を通して室温を23℃に制御し、湿度は60%、CO₂濃度はなりゆき(ほぼ400~600ppm)とした。照明にはメタルハライドランプを使用し、照明時は栽培棚上面の光強度が270 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$

になるよう調節した。日長は連続16時間明期/8時間暗期とした。養液には大塚ハウスA処方を改良して用い、期間を通してECとpHを維持した。定植後14日後に収穫し、草丈、節数、地上部重量、根重量、SPAD値、根活性等の調査を行った。根に光照射を行う栽培試験には透明なポリスチレン製の湛液栽培槽を使用した(後述)。

③養液温度

養液温度とジャガイモの生育と塊茎誘導の相関関係を明らかにするため、低温循環恒温水槽を用いて養液温度を17℃、23℃、27℃に調整した。この間、地上部の温度は23℃一定として養液温度のみを変更した。

④薄膜水耕(NFT)、噴霧耕、ドリップ式による栽培

養液栽培方法とジャガイモの生育との関係を明らかにするため、上記湛液水耕に加えて、薄膜水耕(NFT)と噴霧耕、ドリップ式による栽培試験を行った。NFT栽培槽は長さ60cm、幅35cmで、水深が0.5cm程度になるように下部のタンクから養液を常時循環した。噴霧耕栽培槽は定植スペースは縦横それぞれ65cm、深さ10cmで、スプリンクラーを逆向きに取り付けた形状のノズルから養液が吹き出る仕組みになっている。ドリップ式栽培では定植培地(支持体)と生育の関係を明らかにするため、ロックウールとハイドロボールを使用した。縦横それぞれ10cm、深さ13cmのプラスチックポットに10cm四方のロックウールブロック(grodan, delta)またはハイドロボール(直径5mm程度)を詰め、タイマーで定期的に水耕養液を滴下した。水耕養液はNFT、ドリップ式栽培とも上記湛液水耕で使用したものと同一組成を使用した。

⑤根活性の測定(TTC法)

根活性の測定はTTC(トリフェニルテトラゾリウムクロライド)法(根の事典(根の事典編集委員会編)pp413-414、朝倉書店(1998))を一部改変して行った。ジャガイモの根の先端0.1gをTTC溶液(0.1%TTC、50mMリン酸ナトリウム緩衝液、pH7.0)3mlに浸漬し、暗所で25℃、18時間反応させた。処理後溶液を捨てて根を水で洗浄した後、95%エタノール3mlを添加して10分間煮沸して生成したトリフェニルホルマゼンを抽出した。抽出液中のホルマゼン量を分光光度計(波長480nm)により測定し、根活性を定量化した。

(2) LEDによる根域補光を利用した根の成長制御の検討

①ジャガイモ培養苗の光応答性

ジャガイモの光応答性を確認するため、培養苗の側面から赤色光と青色光を照射して光応答性を調べた。培養後2週間、草丈約10

c mの培養苗を立てた状態でMS寒天培地のスラントの表面に載せて暗所に置き、側面から赤色LED光(660 nmの単一波長)と青色LED光(450 nmの単一波長)をそれぞれ光強度10 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ (弱光条件)と50 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ (強光条件)で照射しながら23°Cで9日間栽培し、ジャガイモの芽と根の光応答性を確認した。

②根に光照射を行う栽培試験

根に光照射を行う栽培試験には透明なポリスチレン製の湛液栽培槽を使用した。長さ28 cm、幅27 cm、深さ16 cmで、内部に5リットルの養液を満たしてスタイロフォームを浮かべ、遮光のために上部と側面を2重の白黒マルチシートで覆い、株間が15 cm程度となるような配置で直径3 cmの穴を開けて植穴とした。養液は常時エアレーションを行った。たん液栽培槽1台あたりの栽植数は2株で、3処理区を各2台(合計6台)を並べて栽培試験を行った。底面に簀子状の枠の上にたん液栽培槽を載せ、下部から青色LED光を根域に照射した。補光は450 nmの単一波長とし、光強度は0 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 、18 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 、50 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ の3段階とした。簀子の横からLED装置に送風を行い、LEDの発熱による養液の温度上昇を防止した。

(3) 根の成長に関わる遺伝子の発現解析
ジャガイモの塊茎肥大に関連する遺伝子の発現を半定量PCR法を用いて解析した。

①ジャガイモRNAの調整

ジャガイモのトータルRNAの抽出にはEZNA Plant RNA Kit (OMEGA bio-tek, USA)を使用し、プロトコルに従って行った。養液温度17°C、23°C、27°Cで2週間栽培した各ジャガイモの葉各0.1 gRNAを得た。RNA試料中のゲノムDNAの分解にはRQ1 RNase-Free DNase (Promega, USA)を使用し、これをRT-PCRの鋳型に使用した。

②RT-PCR用プライマー

ジャガイモの塊茎肥大時には、エクспанシン1遺伝子(StEXPA1)、エクспанシン7遺伝子(StEXPA7)、エクспанシン8遺伝子(StEXPA8)、Ran遺伝子(PoRan1)の発現が誘導されることが知られている(J. Jung et al., Plant Science 179 (2010) 77-85)。そこで、これら4遺伝子の発現をモニタリングすることにした。内部標準としてジャガイモのアクチン遺伝子(PoAc58、X55749)を用い、PCRプライマーの配列は上流側、下流側それぞれ5'-CATACTGGTGTGATGGTTGG-3'、5'-ATCTTCATGCTGCTTGGAGC-3'とした。エクспанシン1遺伝子(StEXPA1)のPCRプライマーの配列は上流側、下流側それぞれ5'-TACTCAACAGGTTATGGTAC-3'、5'-GAAGTAAATAGAGCTTGAAT-3'とした。エクспанシン7遺伝子(StEXPA7)のPCRプライ

マーの配列は上流側、下流側それぞれ5'-TATAGCCAAGGGTATGGAGT-3'、5'-ACCAAATGCAATGTGATG-3'とした。エクспанシン8遺伝子(StEXPA8)のPCRプライマーの配列は上流側、下流側それぞれ5'-GATACGGAGTAAACACAGCA-3'、5'-GAAATCTTTCCGGTGAAAG-3'とした。Ran遺伝子(PoRan1)のPCRプライマーの配列は上流側、下流側それぞれ5'-TATCCAAGCTTCAAGCTTGT-3'、5'-TCATCGTCATCTGGAAGTGG-3'とした。

③RT-PCR反応

RT-PCR反応はSuperScript III One-Step RT-PCR System with Platinum Taq DNA Polymerase (Invitrogen, USA)を用い、プロトコルに従って行った。RT-PCRの鋳型として0.5 μg のトータルRNAを使用した。初めに60°Cで30分間反応しcDNAを合成した後、94°Cで2分間処理した。続いて94°Cで15秒間、55°Cで1分間、69°Cで2分間のPCRサイクルを29回繰り返した。得られたPCR産物をアガロースゲルに電気泳動し、各バンドの濃度をImageJソフトウェアを用いて比較した。

4. 研究成果

(1) 根の成長を促す栽培方法の検討

①養液温度の検討

養液温度とジャガイモ苗の生育との関係を明らかにするため、地上部の温度を23°C一定とし、養液温度のみを17°C、23°C、27°Cに調整した処理区で2週間栽培し、その生育を比較した。その結果、生育は地上部、地下部とも養液温度が高いほど良好で、17°C区は劣っていた(図1)。TTC法を基に定量化した根活性についても同様の傾向が見られ、27°C栽培区が最も高く、次いで23°C、最も低いのは17°Cであった。根重量も27°C栽培区が最も重く(平均重量97 g)、細根がよく発達しているのに対して、17°C栽培区の根は細根が少な

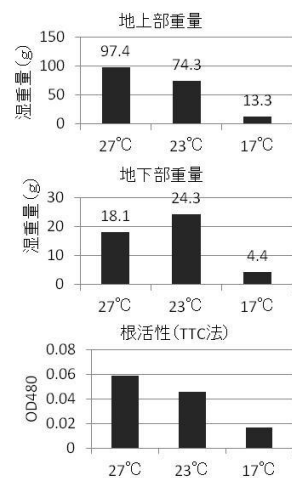


図1 養液温度とジャガイモ苗の生育

いが、ストロンの伸長が見られた。ストロンの先端に肥大はまだ確認されなかったが、地上部の茎基部に異常な塊茎が無数形成されていることが確認された(図2)。いわゆる盛土が出来ないため、地上部で肥大した塊茎は光があ

たり黒緑色に変色した。更に栽培期間を延長することにより、ストロン先端においても塊茎形成を誘導できるものと考えている。



図2 地上部で肥大した塊茎

②養液濃度とジャガイモ苗の生育

養液濃度とジャガイモ苗の生育との関係を明らかにするため、養液濃度を標準処方のおよそ0.5倍、1.0倍、3.0倍の各濃度区で2週間栽培し、その生育を比較した。その結果、地上部、地下部とも最も生育が良かったのは1.0倍濃度区で、3.0倍濃度区は僅かに劣る結果を示した。これに対して0.5倍濃度区では生育が大きく劣り、地上部重量は1.0倍濃度区のおよそ3分の1であった。地上部においては、上記17℃栽培区と同様に茎基部に異常塊茎が形成された。

③養液栽培方法とジャガイモ苗の生育

養液栽培方法とジャガイモ苗の生育との関係を明らかにするため、湛液、噴霧耕、NFT、ドリップ耕(ハイドロボール、ロックウール)の5処理区で2週間栽培し、その生育を比較した。その結果、地上部、地下部とも噴霧耕の生育が最も優れているのに対して、ドリップ耕はハイドロボール、ロックウールとも劣ることがわかった。

(2) LEDによる根域補光を利用した根の成長制御の検討

①ジャガイモ培養苗の光応答性

ジャガイモ培養苗に青色光と赤色光を照射して光応答性を確認した。ジャガイモ培養苗の根に青色光を照射したところ、正の屈光性を示すことが確認された。強光(50 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$)よりも弱光(10 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$)に対する感受性が高く、弱光条件では処理翌日に根の先端が光源方向に曲がったのに対して、強光条件では処理3日目になって屈光性が確認された。赤色光を照射した根では、9日間の試験期間中に屈光性を確認することができなかった。一方、地上部については青色光、赤色光ともに正の屈光性を示すことが確認された。以上の結果から、ジャガイモの根域には青色光を照射し、その影響を確かめることとした。

②根域への青色光照射の有無と生育に相関関係は見出されなかった。

根域に青色光を照射した3処理区(0 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 、18 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 、50 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$)で栽培試験を2週間実施したが、その生育は地上部、地下部とも同等程度であり、処理区ごとの特徴は見出されなかった。2週間の栽培期間後半、50 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 処理区において藻が

発生し、根が薄緑色に着色した。藻の発生により生育が阻害された可能性もあると考えている。また、3処理区ともストロンの伸長や塊茎形成誘導も確認することができなかった。

(3) 根の成長に関わる遺伝子の発現解析
養液温度17℃、23℃、27℃で2週間栽培した各ジャガイモの葉を用いて、塊茎肥大に関連する4遺伝子(エクспанシン1遺伝子(StEXPA1)、エクспанシン7遺伝子(StEXPA7)、エクспанシン8遺伝子(StEXPA8)、Ran遺伝子(PoRan1))の発現レベルを

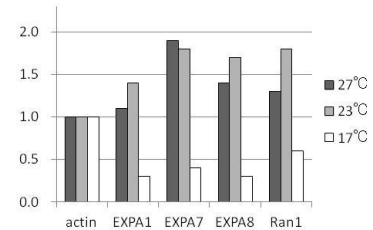


図3 塊茎肥大関連遺伝子の発現レベル

調査した。その結果、低温化(17℃)では4遺伝子ともその発現レベルが低下し、23℃栽培時と比較しておよそ3分の1から4分の1程度に減少することが分かった(図3)。

今回の栽培試験で低温条件と低養液濃度条件において、地上部での塊茎肥大が確認された。低温栽培区ではストロン伸長も見られたことから、栽培期間を延長すればストロン先端においても塊茎形成を誘導できるものと考えている。また、両条件とも地上部、地下部の生育は劣り、上記4遺伝子の発現も低下することが分かった。一方、根域への光照射では特徴的な結果を見出すことが出来なかった。栽培後半で藻の発生を抑えられなかったことが原因かも知れない。今後はこうした問題点を解決するよう改善に努め、ジャガイモ養液栽培のさらなる至適条件を検討したい。開発した養液栽培技術を「種芋生産」に利用することについても視野に入れて開発を進めていきたい。

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)

[学会発表] (計 1件)

田坂恭嗣、閉鎖型植物工場における養液栽培システムの開発、Development of hydroponic culture systems in plant production system with artificial lamp alone. Italy in Japan 2011, Science, Technology and Innovation (招待講演), 2011/11/11, 大阪大学コンベンションセンター(大阪府)、

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田坂 恭嗣 (TASAKA YASUSHI)

産業技術総合研究所・生物プロセス研究部

門・主任研究員

研究者番号：50357422