

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 15 日現在

機関番号：22701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26450247

研究課題名(和文) アマモ場の造成と管理を目指したアマモの生理学的研究

研究課題名(英文) Physiological study of eelgrass for recovery and management of seagrass meadows

研究代表者

塩田 肇 (SHIOTA, HAJIME)

横浜市立大学・生命ナノシステム科学研究科(八景キャンパス)・准教授

研究者番号：40315825

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：アマモの種子発芽から初期成長における生理メカニズムの解明を目指し、生理学的・分子生物学的研究を行った。約230のアマモ遺伝子を解析し、種子の休眠から発芽に至る時期には呼吸、塩耐性、吸水、植物ホルモン応答などに関与する遺伝子の発現変動が顕著であることが示された。アマモ遺伝子を組換えたシロイヌナズナでの解析から、少なくとも3遺伝子が塩耐性や低酸素耐性に関与することが明らかになった。光応答性の解析から、アマモにも光に応答して成長を調節する仕組みと赤色光と青色光の受容システムが存在することが示唆された。本研究を通して、アマモの種子発芽と初期成長に関与する遺伝子や環境要因の一端が明らかになった。

研究成果の概要(英文)：To elucidate the physiological mechanisms of seed germination and seedling growth in eelgrass, the physiological and molecular biological studies were performed. During seed dormancy and germination in eelgrass, the approximately 230 eelgrass genes were expressed, and the genes for respiration, salt tolerance, absorbing water, and perception of plant hormone were expressed markedly. The transgenic Arabidopsis which expressed eelgrass genes were analyzed, and it is indicated that at least three genes may be involved in salt tolerance and hypoxia tolerance. It is also suggested that eelgrass is likely to have the system of photoresponse and reception of blue and red light. In this study, the part of the physiological mechanisms involved in seed germination and growth became clear in eelgrass.

研究分野：植物生理学

キーワード：アマモ場 種子発芽 光応答 水圏環境・保全

1. 研究開始当初の背景

アマモ場は魚介類の生活と繁殖の場になる。50年程前まで、日本の浅海には多くのアマモ場が存在したが、埋め立てや水質汚染のため大部分が失われた。近年、水産資源の保護や海洋環境保全の観点から、各地でアマモ場造成が進められている。しかし、基礎となるアマモの生物学的知見は不足している。

この15年程の間に、陸生植物では膨大な生物学的知見が蓄積された。海生植物のアマモでは、このような生理学的・分子生物学的研究はまだ少なく、陸生植物で得られた研究成果も十分に活用されていない。そこで、アマモの生理メカニズム、特に種子の休眠と発芽のメカニズムに着目して研究を進め、種子発達と開花後日数との関係や、種子発芽が低温、低塩濃度、低浸透圧で促進されることを明らかにしてきた。また、アマモの種子発芽と成長には植物ホルモンが関与すること、種子の発達と発芽の過程では少なくとも200種類の遺伝子が発現することも明らかにしてきた。一連の研究から、アマモは独自の生理メカニズムをもつことで、海水中での生活を可能にしていることが強く示唆された。一方、実際にアマモ場造成に携わる中で、種子保存の難しさ、種子発芽の不安定さ、高温による枯死など、アマモ場造成を妨げる要因を認識し、特に種子発芽とその後の初期成長が重要であると考えられた。

2. 研究の目的

本研究では、アマモの種子発芽から初期成長における生理メカニズムの解明を目的とする。第一に、これまでに得られたアマモ遺伝子の発現様式と機能を詳細に解析する。第二に、種子発芽と初期成長において光、特に浅海の光成分の特性からどのような波長の光が影響するのかを、植物生理学的手法で解析する。これらの解析結果と陸生植物での研究成果を比較して、アマモの生理メカニズムを解明する。さらに、本研究で得られる成果を応用し、アマモ場造成で活用できる種子発芽技術や生育管理技術の開発にも道筋をつける。

3. 研究の方法

(1) アマモ遺伝子の発現解析

既に得られていた200種類のアマモ遺伝子について詳細な発現解析を行った。アマモの種子や発芽後の幼植物体をさまざまな環境要因や植物ホルモンで処理し、その際の遺伝子発現様式を解析した。環境要因としては、塩濃度、浸透圧、温度、酸素濃度などを対象とした。植物ホルモンとしては、種子発芽を抑制するアブシシン酸、種子発芽を促進するジベレリンなどを対象とした。発現解析の対象は組織レベルや細胞レベルと多岐に渡るため、定量的 RT-PCR 法 (リアルタイム PCR 法) を用いて解析の効率を上げた。

(2) アマモ遺伝子の機能解析

アマモ遺伝子の機能について、モデル実験植物シロイヌナズナに遺伝子組換えを行いその表現型の解析を行った。(1)の結果を受けて、塩耐性や低酸素耐性に関与が予想される遺伝子、植物ホルモン応答に関与が予想される遺伝子、構造や発現様式が特徴的な遺伝子について4種類を対象とし、DNA操作、アグロバクテリウム法による遺伝子導入、組換え植物の薬剤選抜、自家交配による組換え植物の作出、という手順で進めた。これらの遺伝子組換え植物が、塩分、溶存酸素、温度、乾燥などの環境要因に対してどのように反応するかを解析した。

(3) 種子発芽と成長における環境要因の解析

環境要因として光に着目した。アマモが生育する浅海では、水や浮遊物による特定波長の吸収のため陸上と光成分が異なると考えられる。白色光、赤色光、青色光、遠赤外光の4種類のLED照明装置を用いて各光色の照射を行い、種子発芽と初期成長について植物生理学的に解析した。特に、幼葉鞘の伸長と本葉の形成について解析した。

(4) アマモ場造成での生育管理技術の開発

(1)(2)(3)の結果から考察される生理メカニズムを応用して、アマモ場造成で種子発芽や初期成長を制御するための実用的な方法を検討した。東京湾都市部の浅海環境で温度、塩分などを1年間調査した。また、同じ海域環境においてアマモを生育させ、生育状況を観察した。

4. 研究成果

(1) アマモ遺伝子の発現解析

当初からの200種類のアマモ遺伝子について、配列解析と詳細な発現解析を行った。配列解析の結果、200種類の遺伝子は157種類に整理された。うち7遺伝子については、塩濃度、浸透圧、温度、酸素濃度、植物ホルモンなどの条件を変化させた種子、幼植物体、葉における発現特性を明らかにした。これらの結果から、アマモ種子の休眠と発芽時には、呼吸、塩耐性、吸水などに関与する遺伝子の発現が顕著であることが示唆された。

これらの遺伝子に加えて、植物ホルモンの生合成、応答、代謝に関与する22種類の遺伝子を単離し発現解析を行った。これらの解析から、アブシシン酸とジベレリンについて、生合成される時期、作用する時期、代謝・不活化される時期がほぼ決定された。陸生植物と同様に、アマモ種子の休眠と発芽でもこの2種類の植物ホルモンが関与するが、その調節の変遷が緩やかに進行することが示唆された。

2016年にアマモのゲノム情報が公開されたため、これまで解析してきた遺伝子との比較を行った。若干の塩基配列の違いはあったが、公開されたゲノム情報は日本産のアマモにも適用可能と判断された。また、これまで解析してきた遺伝子の遺伝子ファミリーについても発現解析を進めている。

本研究を通して、ストレス応答や植物ホルモンに関連する約 230 の遺伝子を解析でき、種子休眠や種子発芽の特性に關与する遺伝子の一端が明らかになった。

(2) アマモ遺伝子の機能解析

4 種類のアマモ遺伝子について、遺伝子組換えシロイヌナズナを作出し、主に環境ストレス耐性における表現型を解析した。遺伝子 A では、組換えシロイヌナズナは高塩濃度、高温、乾燥に耐性を示し、遺伝子 A が塩耐性、高温耐性、乾燥耐性に關与すると考えられた。また、遺伝子 B では、遺伝子組換えシロイヌナズナは高塩濃度、乾燥、低酸素に耐性を示し、遺伝子 B が塩耐性、乾燥耐性、低酸素耐性に關与すると考えられた。遺伝子 C では、遺伝子組換えシロイヌナズナは低酸素に耐性を示し、遺伝子 C が低酸素耐性に關与すると考えられた。また、2 遺伝子が共同して作用する可能性が得られたため、交配によって両遺伝子を保有する組換え体の作出を進めている。

本研究を通して、少なくとも 3 遺伝子が塩耐性や低酸素耐性に關与することが明らかになった。

(3) 種子発芽と初期成長における環境要因の解析

アマモの光応答メカニズムを解明するため、LED 照明装置や培養装置の条件を検討し、基本条件となる光の波長や強度を設定した。アマモ幼植物体について、白色光、赤色光、青色光、遠赤色光の応答性について解析した。白色光、赤色光、青色光下では、暗黒下に比べて幼葉鞘の伸長が抑制され、第一葉の出芽が促進された。遠赤色光下では、暗黒下と同様に幼葉鞘の伸長が促進されたが、第一葉の出芽も白色光、赤色光、青色光下と同様に促進された。これらの結果から、陸生植物と同様にアマモにも光に答えて成長を調節する仕組みと赤色光と青色光の受容体が存在することが示唆された。一方、遠赤色光に關しては特殊な応答性をもつと考えられた。

(4) アマモ場造成での生育管理技術の開発

東京湾で水温や塩分を調査することで、実際のアマモ場造成での問題点を検討した。特に都市部に近い海域では、泥やヘドロの底質、低透明度による光量の減少、夏期の水温上昇、河川水の流入による低塩分などが生育障害のおもな原因であると考えられた。

(1) から (3) の結果をアマモ場造成に応用することを目指し、都市海域でのアマモの育成実験を行った。低率ではあるが 1 年間を通じた育成に成功した。特に、光量の減少の影響は大きく、光を量的・質的に調整してアマモの育成を調節できる可能性が高いと判断された。

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 1 件)

塩田肇、高校生および社会人に対する生物学実験講座、横浜市立大学論叢、査読無、Vol.65 (1,2,3)、2017、41-62

[学会発表](計 6 件)

塩田肇、皆川朋美、国井奈菜、ニンジン不定胚の乾燥耐性獲得におけるアブシシン酸とブドウ糖の効果、日本植物学会第 80 回大会、2016 年 9 月 16-18 日、沖縄コンベンションセンター(沖縄県宜野湾市) 谷田久美、塩田肇、アニス未分化細胞における 2,4-D の作用と代謝、第 34 回日本植物細胞分子生物学会大会、2016 年 9 月 2 日、信州大学繊維学部(長野県上田市) 坪俊介、塩田肇、海生種子植物アマモにおけるアブシシン酸とジベレリン関連遺伝子の解析、第 57 回日本植物生理学会年会、2016 年 3 月 18-20 日、岩手大学(岩手県盛岡市)

坪俊介、板東由希子、佐藤洸、塩田肇、海生種子植物アマモにおけるアブシシン酸関連遺伝子の解析、第 56 回日本植物生理学会年会、2015 年 3 月 16-18 日、東京農業大学(東京都世田谷区)

鈴木康太、土橋昇平、板東由希子、塩田肇、海生種子植物アマモの種子で発現する遺伝子の解析、日本植物学会第 78 回大会、2014 年 9 月 12 日、明治大学(神奈川県川崎市)

谷田久美、塩田肇、セリ科植物の未分化細胞誘導における 2,4-D の作用と代謝、第 32 回日本植物細胞分子生物学会大会、2014 年 8 月 22 日、いわて県民情報交流センター(岩手県盛岡市)

[その他]

塩田肇、生物学研究のための基礎講義(植物編)、理科高大連携講座、2016 年 7 月 5 日、横浜市立桜丘高校(神奈川県横浜市)

塩田肇、海草アマモの植物生理学的研究、理科高大連携講座、2015 年 12 月 11 日、横浜市立大学(神奈川県横浜市)

塩田肇、「海洋生物観察の基礎」横浜の海とアマモについて 2、理科高大連携講座、2015 年 8 月 7 日、横浜市立大学(神奈川県横浜市)

塩田肇、「海洋生物観察の基礎」横浜の海とアマモについて 1、理科高大連携講座、2015 年 7 月 4 日、横浜市立桜丘高校(神奈川県横浜市)

塩田肇、臼井優、鈴木康太、琵琶島水質調査報告、第 12 回横浜・海の森づくりフォーラム、2014 年 12 月 7 日、横浜市立大学(神奈川県横浜市)

塩田肇、ゆるやかな連携による東京湾(横浜)のアマモ場再生、全国アマモサミット 2014 in あおもり、2014 年 9 月 27 日、ねぶたの家 ワ・ラッセ(青森県青森市)

6 . 研究組織

(1)研究代表者

塩田 肇 (SHIOTA HAJIME)

横浜市立大学・大学院生命ナノシステム科
学研究科・准教授

研究者番号：40315825