

平成 30 年 6 月 8 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K07254

研究課題名(和文) 土壤乾燥ストレス強度制御システムの構築とストレス下の植物の成長制御機構の解析

研究課題名(英文) Elucidation of effects of mild drought stress on plant growth using a newly developed watering system that can precisely control soil moisture

研究代表者

戸高 大輔 (Todaka, Daisuke)

東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・特任准教授

研究者番号：10533995

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：植物は、乾燥ストレスを受けると葉などの地上部の生育が抑制される。このような生育抑制の分子機構を調べるためには、植物が枯死してしまうような強い乾燥ストレスを植物体を与えるのではなく、ストレスの強度を調節して穏やかな強度の乾燥ストレスを与えることが重要である。本課題では、土壤乾燥ストレスの強度を調節する土壤水分含量制御装置を開発し、その装置を用いてイネ幼植物体にさまざまな強度で乾燥ストレス処理を施し、生育の影響およびその影響を司る遺伝子発現と代謝産物の量的変化を調べた。

研究成果の概要(英文)：Drought decreases a plant growth, which leads to a yield reduction. In order to investigate the effects of drought stress on the plant growth, the magnitude of drought stress must be controlled. In this study, a soil matric potential (SMP)-based irrigation system that precisely controls soil moisture was developed. Using this system, rice seedlings were grown under three different drought levels denoted Md1, Md2 and Md3, with SMP values set to -9.8, -31.0, and -309.9 kPa, respectively. Although Md1 did not alter the visible phenotype, Md2 caused shoot growth retardation (SGR). Md3 markedly induced SGR, without photosynthesis inhibition. More severe drought (Sds), under which irrigation was terminated, resulted in leaf wilting and photosynthesis inhibition. Metabolome revealed the sugar accumulation under Md3 and Sds. Transcriptome showed that the expression profiles of associated genes supported the observed changes in photosynthesis and metabolites.

研究分野：植物分子生物学

キーワード：穏やかな乾燥ストレス 土壤水分含量制御装置

1. 研究開始当初の背景

植物は、乾燥などの環境ストレスを受けると葉などの地上部の生育が抑制される。このような生育の抑制は、光合成の低下がまだ起こらない穏やかなストレスの段階で既にかかることから、植物の積極的な応答の一つであると考えられている。

本研究では、作物に甚大な被害をもたらす土壤乾燥ストレスに着目する。植物の土壤乾燥ストレス時の生育の影響を評価するためには、適切な強度の土壤乾燥ストレス処理を植物に施すことが重要である。従来の実験室環境、温室環境での土壤乾燥ストレス処理は、給水を停止することにより行われる。この場合、植物に付与される乾燥ストレスの強度はとて強くなってしまふ。各ポットの植物体の重量は同じであると仮定してポットごとの重量を調節してポット内の土壤水分含量を制御する方法もあるが、植物体の大きさが大きい場合はその重さを無視することはできない。

そこで私は、土壤乾燥ストレスの強度の指標として土壤マトリックポテンシャルを用いることとした。土壤マトリックポテンシャルは、土壤の種類の違いに依らず植物の根の土壤からの水の吸引のし易さを表す。この土壤マトリックポテンシャルを制御する装置を構築すれば、土壤乾燥ストレスの強度が適切に調節され、植物の土壤乾燥ストレス時における生育の影響を再現性よく緻密に調べることができるのではと考えた。

2. 研究の目的

植物に与える土壤乾燥ストレスの強度を調節する装置を新たに構築する。土壤乾燥ストレス強度の指標は土壤マトリックポテンシャルとする。構築後、この装置を用いてイネに対して異なる強度の土壤乾燥ストレス処理を施し、生育の影響やその影響を司る分子機構を解明する。

3. 研究の方法

土壤マトリックポテンシャルセンサー、電磁弁、灌水ノズル、制御ユニットを用いて土壤水分含量制御装置を組み立てた。イネ (*Oryza sativa*) は日本晴を用いた。自然光型人工気象室(昼 28°C / 夜 22°C)において、構築した土壤水分含量制御装置を用いてイネを生育させた。生育具合は背丈を非破壊的にメジャーを用いて測定することにより評価した。個別の遺伝子の発現量に関しては、リアルタイム PCR 法により解析した。網羅的な遺伝子の発現量はマイクロアレイ法によって解析した。一次代謝産物および植物ホルモン含量は質量分析装置により測定した。

4. 研究成果

(1) 土壤水分含量制御装置の構築

自然光型人工気象室内に土壤マトリックポテンシャルセンサー、電磁弁、灌水ノズル、

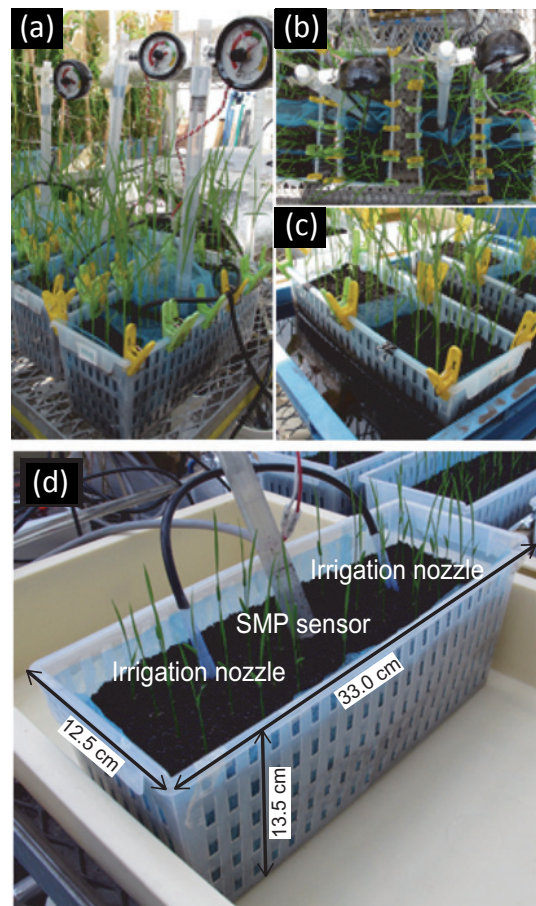


図1. 土壤水分含量制御装置の構築。a, b, c. 外観。d. 土壤マトリックポテンシャルセンサー(SMP sensor)と灌水ノズル(Irrigation nozzle)の設置状況。

制御ユニットを用いて土壤水分含量制御装置を組み立てた(図1)。組み立てた後この装置の性能を確認するため、コントロール区(以下Conと記載、閾値を0kPaに設定)、とても穏やかな乾燥ストレス区(以下Md1と記載、閾値を-9.8kPaに設定)、穏やかな乾燥ストレス区(以下Md2と記載、閾値を-31.0kPaに設定)、乾燥ストレス区(以下Md3と記載、閾値を-309.9kPaに設定)の土壤中のマトリックポテンシャルの推移を測定した。その結果、それぞれの処理区において設定した閾値の土壤マトリックポテンシャル値がほぼ維持された(図2)。従って構築した装置は、植物体の大きさや土壤の種類に左右されない土壤マトリックポテンシャル値を指標として異なる強度の乾燥ストレス処理を効果的に植物に与えることが可能であると判断した。

(2) 生育の影響

Con条件下で生育させたイネと比べMd1条件下で生育させたイネの葉の成長に有意な差は見られなかった。一方、Md2、Md3条件下で生育させたイネの葉の成長は抑制された(図3)。なお、Md3条件下では通常シビアな乾燥ストレス下で見られるような葉のロールは観察されなかった。

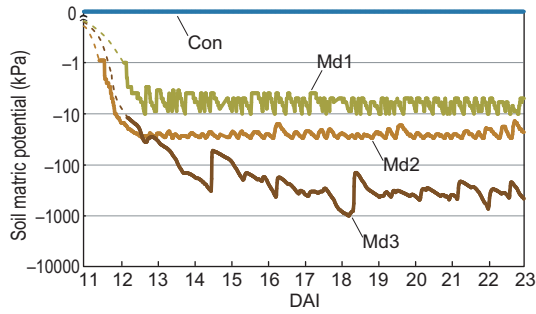


図2. 土壤水分含量制御装置によって制御された土壤マトリックポテンシャルの推移. 横軸のDAIはイネ種子吸水後の日数を示す.

(3) 一次代謝産物量の網羅的な解析

一次代謝産物の網羅的な解析を行った結果、Md3 条件下で生育させたイネにおいてグルコースなどの糖の増加が見られた。アミノ酸はセリン、アスパラギン酸、グルタミン酸を除くアミノ酸において葉がロールするほど強度の強い乾燥ストレス (Sds) 下において増加が認められた (図4)。

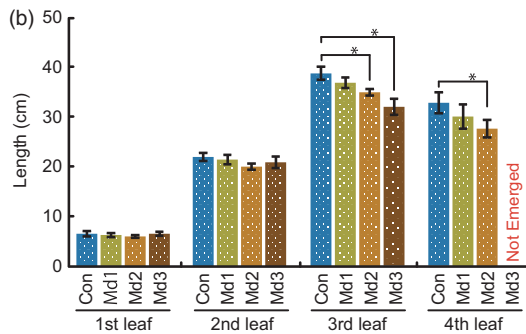
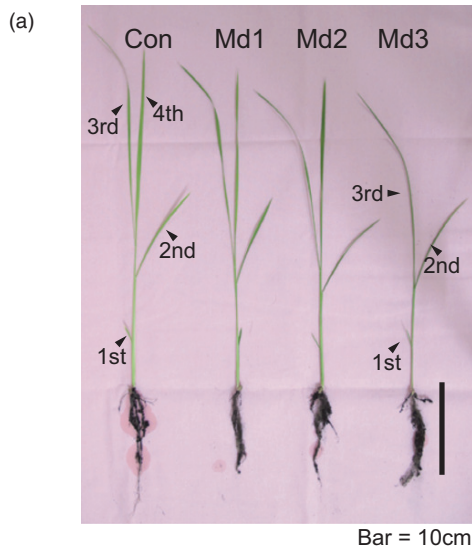


図3. 土壤水分含量制御装置によって異なる強度の乾燥ストレス下で生育させたイネの生育具合. (a) イネ植物体の外観. (b) (a)の植物体の各々の葉の長さ. *はチューキーの多重比較により有意差があることを示す ($P < 0.05$).

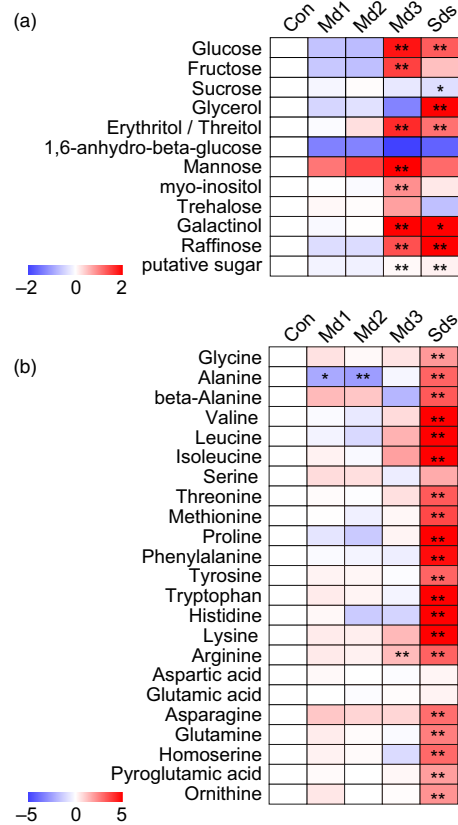


図4. メタボローム解析による糖およびアミノ酸の含量の相対値. コントロール(Con)を1とした. カラーマップの値は対数値を示す. (a) 糖. (b) アミノ酸. *または**はチューキーの多重比較により有意差があることを示す ($*P < 0.05$, $**P < 0.01$).

(4) 遺伝子発現量の網羅的な解析

コントロール条件下で生育させたイネと比べMd2、Md3、Sds 条件下で生育させたイネにおいて遺伝子発現が上昇していた遺伝子群および減少していた遺伝子群を明らかにした (図5)。Md3 条件下で減少していた遺伝子群の中に細胞伸長を制御する遺伝子と細胞分裂を制御する遺伝子が数多く見出された。Md3 条件下では、これらの遺伝子発現量の減少により葉の成長の抑制が引き起こされていることが考えられた。

(5) 植物ホルモン含量の解析

測定の結果、Md3 条件下および Sds 条件下において ABA の蓄積が見られた (図6)。オーキシン、サイトカイニンはその条件下において減少した。このようなオーキシン、サイトカイニンの減少は細胞分裂が活発な領域である茎の基部において特異的に見られた。オーキシン、サイトカイニンの代謝関連遺伝子の発現量に変化は見られなかったことから、これら植物ホルモンの量的な組織局在性が Md3 条件下になると変化していることが考えられた。

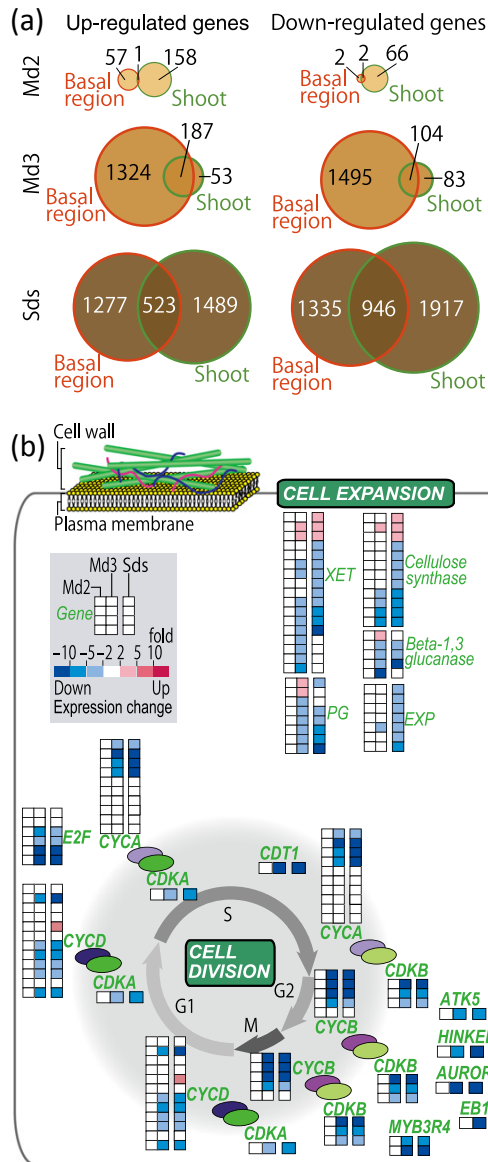


図5. トランスクリプトーム解析による結果. (a) トランスクリプトーム解析によって得られた発現変動遺伝子数のベン図. コントロールと比べ2倍以上発現量が変化していた遺伝子を発現変動遺伝子とした. (b) 細胞壁関連遺伝子(細胞伸長を制御する遺伝子)および細胞分裂制御遺伝子の発現量の変化.

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)

- ① Daisuke Todaka, Zhao Yu, Takuya Yoshida, Madoka Kudo, Satoshi Kidokoro, Junya Mizoi, Ken-Suke Kodaira, Yumiko Takebayashi, Mikiko Kojima, Hitoshi Sakakibara, Kiminori Toyooka, Mayuko Sato, Fernie Alisdair R, Kazuo Shinozaki, Kazuko Yamaguchi-Shinozaki. (2017). Temporal and spatial changes in gene expression, metabolite accumulation and phytohormone content in rice seedlings grown under

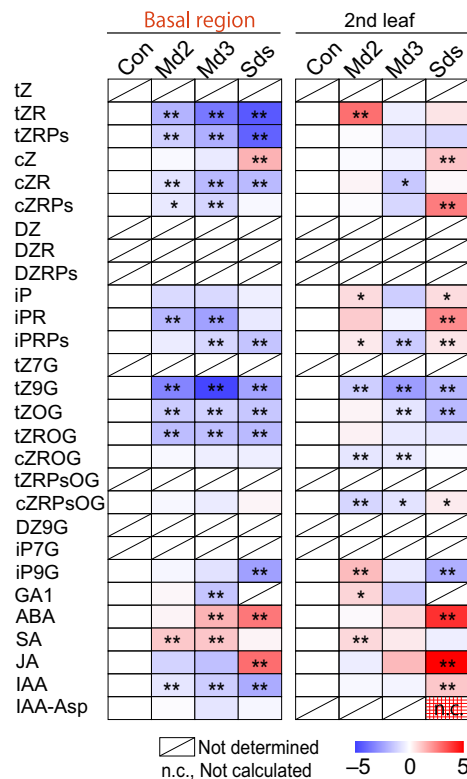


図6. ホルモーム解析による植物ホルモンの含量の相対値. コントロール(Con)を1とした. カラーマップの値は対数値を示す. *または**はチューキーの多重比較により有意差があることを示す(*P < 0.05, **P < 0.01).

drought stress conditions.

Plant J. 90(1): 61-78. 査読有り. doi: 10.1111/tpj.13468.

[学会発表] (計2件)

- ① 戸高大輔, 趙宇, 吉田拓也, 工藤まどか, Alisdair R. Fernie, 篠崎一雄, 篠崎和子. 環境ストレス時の生長制御機構の解析. 第57回日本植物生理学会年会. 岩手. 2016年.
② 戸高大輔, 趙宇, 吉田拓也, 工藤まどか, Alisdair R. Fernie, 篠崎一雄, 篠崎和子. 異なる強さの乾燥ストレスに対する応答の網羅的解析. 第58回日本植物生理学会年会. 鹿児島. 2017年.

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:

国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

特記事項なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

戸高 大輔 (TODAKA DAISUKE)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・特
任准教授

研究者番号：10533995

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

なし