

令和 2 年 6 月 22 日現在

機関番号：15101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07755

研究課題名(和文) 砂漠の野生種スイカにおける光反射機能の分子基盤

研究課題名(英文) Molecular mechanism of light reflection in a desert plant *Citrullus lanatus*

研究代表者

明石 欣也 (AKASHI, Kinya)

鳥取大学・農学部・教授

研究者番号：20314544

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：野生種スイカをはじめとする乾燥地植物は、一般の植物とは異なり、ストレスに暴露されると葉の表面のクチクラ層ワックスの蓄積量を顕著に増大させることが示された。この応答に伴い、葉表面における光の反射率が高まることが示された。この現象は、余剰な光の吸収を抑制し乾燥地での生存能力を高める効果があると示唆された。また、これらクチクラ層ワックスの強化を担う生合成遺伝子群の転写挙動や、この制御を担う転写因子候補群が見いだされ、乾燥地植物が独自の分子機構を発達させてストレス下での生存を図っていることが示唆された。また、フーリエ変換赤外分光法を用いて、クチクラ層ワックスの高分子組成を分析する新技術の開発を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

乾燥ストレスは、世界の植物生産を律速する最大要因であり、地球温暖化の進行に伴い乾燥地が拡大している。本研究では、乾燥地に生育するストレス耐性植物が、余剰な光を反射する仕組みを葉の表面に発達させ、悪環境での耐性を高めていることを分子レベルで明らかにしたものである。本研究は地球上の植物の多様性と驚異的な適応能力について学術的に新規な発見を報告している。また、ストレス耐性の育種に利用することで、乾燥地での食糧生産や、砂漠緑化の技術開発に利用される可能性を持っている。

研究成果の概要(英文)：Plants in the arid lands, such as wild watermelon, accumulated a large amount of cuticle waxes upon drought stress. The wax-fortified plant leaves showed an increased ratio of reflection of incident light, suggesting that the wax fortification contributes to the avoidance of excess light absorption under high light stress. Gene expression patterns of wax biosynthetic genes were analyzed in this study, and candidate transcription factors responsible for the transcriptional regulation of these biosynthetic pathway were identified. Moreover, a novel analytical method of analyzing the chemical structure of cuticle layer by Fourier-transformed infrared spectroscopy was developed in this study.

研究分野：植物分子生理学

キーワード：クチクラ層 ワックス 乾燥耐性 光反射

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

植物の葉表面を覆うクチクラ層ワックスは、水分保持や余剰光の反射など重要な働きを持つ。厳しい環境下で生育する砂漠植物種の中には、その葉が緑色ではなく、白色に近いものや青緑色の植物種がある。これらの色は、葉表面のクチクラ層に大量に沈着するワックス類が原因であることが明らかとなっている。過去の生理学的研究において、ワックスの大量蓄積により、葉の水分保持能力と太陽光の反射率が高まり、過剰光によるダメージが回避されることが示されている。一方、シロイヌナズナの変異体解析等から、ワックス生成経路の概略は判明しているが、モデル植物ではワックスの大量蓄積が観察されないこともあり、環境に適応してワックスを大量蓄積し、クチクラ層の強化を介して環境ストレス耐性を発揮する分子メカニズムについては、ほとんど解明されていない。

2. 研究の目的

植物葉において、環境に応答してクチクラ層ワックスを強化する現象について、分子制御メカニズムの先行知見は無く、この形質が高度に発達した砂漠植物を用いた本研究の独創性は高い。砂漠植物の環境耐性を担う分子生理メカニズムについての先行研究は少なく、本研究によりこれらの分子機構とその進化に関して新規な知見を得ることができる。また、表皮クチクラ層の形態形成プログラムの全容は、モデル植物でも未解明である。その形質が高度に発達した野生種スイカを用いてその分子メカニズムを研究することにより、植物のクチクラ層形態形成の発達制御に関する普遍的なメカニズム解明に向け、突破口を開くことができる。

3. 研究の方法

乾燥地の植物の中には、光反射能力を高め、過剰光による障害を回避する機構を有するものが存在する。しかし、乾燥地植物における光反射の分光的特性や生理的意義については詳細が明らかとなっていない。そこで本研究では、アフリカ・カラハリ砂漠の野生種スイカを含む 23 種の乾燥地植物を用い、シロイヌナズナおよびソルガムを対照群として、葉表面の光反射特性と、表皮に沈着するワックス等の蓄積量と組成の解析、および電子顕微鏡による表面構造の形態観察を行った。

また、乾燥耐性を有する乾燥地植物において、クチクラ層がどのようなメカニズムにより強化されるのかについて理解することを目的に、強光・乾燥ストレス下におけるボツワナ・カラハリ砂漠原産の野生種スイカの葉におけるクチクラ・ワックス組成の変化と、ワックス生成関連因子および転写制御遺伝子の分子挙動との関連について解析した。

さらに、クチクラ層ワックスの重合様式を分析する新手法として、植物葉をフーリエ変換赤外分光法(FT-IR)により直接分析し、特に従来では観測不可能であった高分子ワックス成分の分析手法の開発を行うこととした。さらに、クチクラ層ワックスに沈着する重金属成分について ICP-MS により分析した。

4. 研究成果

様々な波長の光を植物葉に照射し、その反射、吸収および透過率を測定した結果、シロイヌナズナにおける光の反射率が平均 16%なのに対し、乾燥地の植物は概して光の反射率が高く、最大で照射光の 92%を反射する植物が見いだされた。また、いくつかの植物は短波長側の可視光をよく反射することが示された。また、表皮クチクラ層のワックス蓄積量を測定した結果、今回測定した全ての乾燥地の植物は、シロイヌナズナに比べて単位面積当たりのワックス蓄積量が多か

ったが、光反射率とワックス蓄積量の相関は必ずしも高くないことが示された。さらにワックス組成は、植物毎に著しく異なることが観察された。葉表面の構造を電子顕微鏡により観察したところ、光反射率の高い植物には、繊維層状構造や針状突起構造、繊維半球構造など特徴的な幾何学的構造を持つものが多く観察された。これらの結果から、乾燥地植物の葉が光の反射率を高める形質を発達させていること、さらにその高い反射率を担う要因として、ワックス蓄積量だけでなく、その組成または葉表面の幾何学構造が寄与する可能性が考えられた。

野生種スイカを用いて葉面に沈着するワックス総量を測定した結果、下位葉および中位葉において、単位面積当たりのワックス沈着量がストレス 6 日間で約 6-8 倍に増加することが示された。一方、上位葉はワックス増大が緩やかであり、代わりに葉を立てて葉面を閉鎖する傾向が観察された。さらに中位葉では、ストレス前は炭素鎖長 28 の長鎖アルコールが主成分なのに対し、ストレス後には炭素鎖長 31 のアルカンを中心とするアルカン類が著しく増大する傾向が示された。

アルカンは長鎖アシル CoA を基質として、細胞内の ER の CER1/CER3 複合体により還元され、アルデヒド中間体を経て生合成される。CER1 および CER3 の両者は、脂肪酸還元酵素ファミリーに属する。スイカのゲノム解析の結果、スイカにおいて CLCER1 および CLCER3 遺伝子が存在し、ワックスの高度な蓄積に先立つ乾燥ストレスの 3 日目において、両遺伝子が転写レベルで活性化していること、また両遺伝子と転写プロファイルが近似する転写因子が存在することが示された。これらの結果は、野生種スイカがストレスに応答して、ワックス類の量および組成の両方を制御していること、またその応答が葉の位置に依存すること、さらに野生種スイカにおける環境ストレス下でのクチクラ・ワックス蓄積量の強化に、転写制御メカニズムが関与していることを示唆している。なお、ストレス下でアルカン・長鎖アルコール組成比を変化させることはこれまで報告されたことがなく、その生理的意義は不明であるが興味深い。

また、クチクラ層ワックスの強化は、上述の乾燥ストレス下に加え、重金属への暴露下においても起こること、またこの応答は金属種特異的であり、かつ植物種により応答が変化することを見出した。重金属応答とクチクラ層強化との関連はこれまで報告されたことが無く、その生理的意義は不明であるが興味深い現象である。

クチクラ層はワックス類の重合体の内に低分子疎水性物質が沈着する構造をしているとされているが、従来のガスクロマトグラフィーで分析可能な分子種は抽出可能な低分子化合物に限定され、光反射に対する寄与度が大きいと考えられる疎水性高分子化合物群の分子特性および構造情報の理解は非常に遅れており、技術的問題の解決が求められていた。フーリエ変換赤外分光法 (FT-IR) は、対象物質の赤外線吸収スペクトルを利用して化合物を定性・定量する技術である。他のメタボローム法の多くが生体内の低分子を対象とするのに対し、FT-IR 法は高分子 (細胞壁・疎水性ポリマー等) の組成や構造の分析が可能であり、鋭敏な分析ツールとして機能し得る。しかしながらこの手法を乾燥地植物に適用した研究は報告されていなかった。そこで、FT-IR 分析の 1 技法である FTIR-ATR (attenuated total reflection: 全反射法) を用いて、葉表面における化学組成を分析する実験系を構築し、強光順化前後のクチクラ層の変化を測定したところ、いくつかの高分子成分において、強光順化に伴いその蓄積量が顕著に変化することを見出した。この新手法は、ワックス類が高分子化するクチクラ層の高次構造の変化を評価する上で効果的な実験手法であり、今後において植物環境ストレスの分子機構の理解だけではなく、育種等への応用も期待され興味深い。

今後さらに、乾燥地植物が環境ストレスへの暴露に際してワックス層を強化する分子機構の解析を介して、植物の光反射を担う仕組みの理解が深まることが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Malambane, G., Nonaka, S., Shiba, H., Ezura, H., Tsujimoto, H., Akashi, K.	4. 巻 82
2. 論文標題 Comparative effects of ethylene inhibitors on Agrobacterium-mediated transformation of drought-tolerant wild watermelon.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 433-441
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） https://doi.org/10.1080/09168451.2018.1431516	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Malambane, G., Tsujimoto, H., Akashi, K.	4. 巻 10
2. 論文標題 The cDNA structures and expression profile of the ascorbate peroxidase gene family during drought stress in wild watermelon.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Agricultural Science	6. 最初と最後の頁 56-71
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） https://doi.org/10.5539/jas.v10n8p56	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Konaka, T., Ishimoto, Y., Yamada, M., Moseki, B., Tsujimoto, H., Mazereku, C., Akashi, K.	4. 巻 40
2. 論文標題 Tolerance evaluation of Jatropha curcas and Acacia burkei to an acidic and copper/nickel-contaminated soil	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Environmental Biology	6. 最初と最後の頁 1109-1114
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） http://doi.org/10.22438/jeb/40/5/MRN-1052	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 2件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 山田 みな美, 只野 翔大, 留森 寿士, 辻本 壽, 明石 欣也
2. 発表標題 乾燥地植物の光反射特性および表皮に蓄積する化合物プロファイルの解析.
3. 学会等名 日本農芸化学会中四国支部例会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 明石 欣也, 山田 みな美, 只野 翔大, 岸田 真由子, 留森 寿士, 辻本 壽
2. 発表標題 乾燥地の植物葉における光反射の分光特性と、表皮に蓄積する化合物プロファイルとの関連
3. 学会等名 日本植物細胞分子生物学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kinya Akashi
2. 発表標題 Watermelon in the desert: Molecular response, metabolic regulation, and drought tolerance.
3. 学会等名 Second Interdisciplinary and Research Alumni Symposium iJaDe2018 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山田 みな美, 只野 翔大, 留森 寿士, 辻本 壽, 明石 欣也
2. 発表標題 乾燥地植物の光反射特性および表皮に蓄積する化合物プロファイルの解析
3. 学会等名 日本農芸化学会中四国支部例会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山田 みな美, 只野 翔大, 留森 寿士, 辻本 壽, 明石欣也
2. 発表標題 乾燥地植物の光反射特性および表皮に蓄積する化合物プロファイルの解析
3. 学会等名 日本生化学会中国・四国支部例会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 明石 欣也
2. 発表標題 アフリカ固有植物群の遺伝資源の探索と利用
3. 学会等名 みどり「適塾」第9回デザイン思考勉強会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 明石 欣也, 山田 みな美, 只野 翔大, 留森 寿士, 辻本 壽
2. 発表標題 乾燥地のストレス耐性植物群の表皮ワックス組成と光反射能との関係
3. 学会等名 日本生化学会大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----