

令和 3 年 6 月 25 日現在

機関番号：34428

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K05590

研究課題名(和文) ヤムイモ類における沈降性アミロプラストとオーキシンが関わる塊茎形状成立機構の解明

研究課題名(英文) Studies on mechanisms of tuber morphogenesis involved in amyloplast sedimentation and auxin in yams

研究代表者

川崎 通夫 (KAWASAKI, MICHIO)

摂南大学・農学部・教授

研究者番号：30343213

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：ナガイモなどの塊茎頂端部において重力方向へ沈降するアミロプラストの存在が本研究より以前に見出された。本研究では、ヤムイモ類塊茎における形態形成と沈降性アミロプラストやオーキシンとの関係性を明らかにするための研究を行った。その結果、塊茎頂端部に含まれるアミロプラストの数・量や分布の差異が、塊茎間で認められる塊茎形状や重力応答性の各差異の発現に関与している可能性が示された。オーキシンやカルシウムも、塊茎間の形態形成や重力応答性の差の発現に関与していることが示唆された。これらの知見は、これまで不明な点が多かったヤムイモ類塊茎における形状成立機構の理解の進展に寄与するものであると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヤムイモ類の塊茎形状は、種・品種・系統により多様であり、市場価値や生産効率を決める重要な要素である。農業現場では形の悪い塊茎が発生し易く、このことは生産者の収益や生産効率を低下させる農業上の課題となっている。しかし、未だにその塊茎形状の成立機構は不明な点が多い。本研究より得られた知見は、塊茎形状における成立機構の理解の進展とその制御を図る上での学術的な意義を有すると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Previously, I found amyloplast sedimentation in tip parts of growing yam tubers. The aim of this study is to clarify the mechanisms of tuber morphogenesis involved in amyloplast sedimentation and auxin in yams. The results showed that the number, amount and distribution of the amyloplasts in the tuber tips would be involved in not only the expression of different tuber forms but also different gravity sensitive of tubers. Additionally, it was suggested that auxin and Ca in the tuber tips involved in the expression of different tuber forms and different gravity sensitive of tubers.

研究分野：作物機能形態学

キーワード：ヤムイモ 形態形成

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ヤムイモ類は世界で広く栽培され、人類の食を支える基幹作物である。ヤムイモ類塊茎は、茎と根の中間的な形質を有していることから「担根体」とも呼ばれる特殊な器官である。ヤムイモ類の塊茎形状は、種・品種・系統により多様であり、市場価値や生産効率を決める重要な要素である。また、ヤムイモ類は、同一の品種・系統内でさえ同じ環境下でも塊茎形状が均一になりにくい性質を有する。そのため「形の悪い」塊茎が発生し、生産者の収益や生産効率を低下させる農業上の課題となっている。

植物の根は、頂端部の沈降性アミロプラストを有する根冠で重力方向を感受することを起点とし、オーキシンの根内分布を制御して重力屈性や形態形成に至ることが知られている(澱粉平衡石説、コロドニー・ウェントン説)。一方、ヤムイモ類塊茎では根冠が形成されないにもかかわらず、細長い形状のナガイモ塊茎は、根のように地中で重力方向へ伸長し、且つ、頂端部に沈降性アミロプラストを局在させることが本研究より見出されている。

上記の農業上の課題を解決するには、塊茎形状の成立メカニズムを把握することが重要であるが、ヤムイモ類における塊茎形状の成立と沈降性アミロプラストやオーキシンの関係性については、未だその学術関連情報が国内外において極めて少ない。

2. 研究の目的

本研究では、ヤムイモ類における沈降性アミロプラストとオーキシンが関わる塊茎形状成立機構の理解を深め、人類の基幹作物であるヤムイモ類の塊茎形状を制御するための学術基盤を構築することを目的とした。この目的の下で、本研究では下記の3つの課題について、幾つかのヤムイモ類を用いて取り組んだ。

課題1. ヤムイモ類における沈降性アミロプラストと塊茎形状成立との関係性の明確化

課題2. ヤムイモ類におけるオーキシンと塊茎形状成立との関係性の解明

課題3. ヤムイモ類の塊茎形状の成立に関わるシグナル伝達の仕組みの解明

3. 研究の方法

(1)課題1.

ヤムイモ類における形の異なる塊茎および重力刺激処理を施した塊茎を用いて沈降性アミロプラストと塊茎形状成立との関係性を明確化する研究を行った。まず、細長い形状(ナガイモ)、球状(ツクネイモ)、扁平状(イチョウイモ)などの塊茎、障害を有する塊茎、および、形成中の塊茎を倒置、横倒し、回転させて重力刺激処理した塊茎を用いて、塊茎形状と沈降性アミロプラストの局在・数量との関係性を検証した。次に、塊茎頂端部の沈降性アミロプラストを含む柔細胞の微細構造における種・品種・系統間の共通性および根冠コルメラ細胞との類似性についても検証した。

観察手法では、光学顕微鏡に加え、透過電子顕微鏡と走査電子顕微鏡を用いた。透過電子顕微鏡用の試料調整では、構造保形性に優れた固定法である凍結置換法も取り入れた。これらに加えて、凍結活断法とオスミウム軟浸法で試料内部を露出した後、走査電子顕微鏡で三次元的な高倍率観察も行い、多角的な構造解析を実施した。更には、超薄切片よりも厚い樹脂包埋試料の準薄切片を試料台に展着し、走査型電子顕微鏡で観察する切片走査電子顕微鏡法と呼ばれる新たな技法を用いて試行的な解析も試みた。

(2)課題2.

内生オーキシンと塊茎形状成立との関係性について調査した。まず、形状の異なる塊茎間におけるオーキシン含有量の比較を行った。次に、塊茎を傾斜させて重力刺激処理を行い、屈曲中の細長い塊茎や球状の塊茎において、上側部と下側部の間でオーキシン含有量に差が生じるのかどうかを調査した。オーキシンの定量には、アッセイキットを用いたマイクロプレートリーダーでの測定を併用した。また、PIN 遺伝子の発現量を RT-PCR 法で測定した。

(3)課題3.

重力刺激処理した塊茎を用いてカルシウム局在・存在量の変動を微細構造レベルまで解析し、塊茎形状成立のための情報伝達の仕組みを検証した。ここでは急速凍結-真空凍結乾燥法と走査電子顕微鏡観察下でのエネルギー分散型 X 線分析法を用いたカルシウムの存在量・分布の測定手法を用いた。更に、高周波誘導結合プラズマ発光分光分析法で塊茎断片のカルシウム含有量を測定した。

4. 研究成果

(1) 課題 1.

塊茎の形が長形状のナガイモ系統園試系 6、扁平状のイチョウイモ、球形状のツクネイモを供試し、生育中の塊茎を含むポットを 5 日間横倒しにして生育させた重力刺激区とポットの向きを変えない対照区を設けた。塊茎の屈曲角度において各供試材料間で有意差が認められ、塊茎はナガイモでは直角的に、イチョウイモでは緩やかに重力方向へ屈曲し、ツクネイモでは屈曲しなかった。また、塊茎の屈曲後の伸長した距離は、ナガイモで他の供試材料より有意に長かった。対照区の塊茎頂端部皮層における 1 細胞中のアミロプラスト数は、供試材料間で有意差に異なり、ナガイモで最も多く、ツクネイモで最も少なかった。

対照区の塊茎頂端部皮層における 1 細胞中のアミロプラスト沈降率は、ナガイモとイチョウイモでは 80%前後で、ツクネイモでは約 50%であった。一方、重力刺激区でも、塊茎頂端部皮層における 1 細胞中のアミロプラスト数とアミロプラスト沈降率は、対照区と同様であった。対照区の塊茎側部皮層における 1 細胞中のアミロプラスト数は、ナガイモとイチョウイモでツクネイモより多く、且つ、頂端部皮層と比較してナガイモとイチョウイモで顕著に少なくツクネイモで同程度であった。対照区の塊茎側部皮層における 1 細胞中のアミロプラスト沈降率は、全ての供試材料で 50%前後であり、供試材料間で大きな差はなかった。一方、重力刺激区でも、塊茎側部皮層における 1 細胞中のアミロプラスト数とアミロプラスト沈降率は対照区と変わらず、アミロプラストの分布様式が維持された。これらのことから、塊茎皮層に含まれるアミロプラストの数や分布の差異が、供試材料間における塊茎形状や重力に対する応答性の各差異の発現に関与していると考えられた。

ヤムイモ類塊茎における頂端部の微細構造観察において通常の透過電子顕微鏡観察では、デンプン粒に歪みや皺が生じ、更にデンプン粒が抜け落ちることにより、アミロプラストやその周辺の細胞構造が明瞭に認められない場合があった。一方、切片走査電子顕微鏡法による観察では、顕著なデンプン粒の変形や抜け落ちは認められなかった。無染色の切片ではコントラストが低く、酢酸ウランだけで染色した切片ではより高いコントラスト像が得られた。酢酸ウランと鉛塩で二重染色した切片では更に画質が改善され、切片走査電子顕微鏡法においてもこの染色方法が適用できることが認められた。

切片走査電子顕微鏡法の観察像では、ナガイモ塊茎頂端部の細胞内において多くのアミロプラストが重力方向へ沈降していることが容易に認められた。また、沈降したアミロプラストの直下には小胞体が存在し、これらのアミロプラストと下方の細胞膜とは接触していない場合が多いことも確認された。これらのことから、ナガイモ塊茎頂端部におけるアミロプラストの配置やアミロプラストとその周辺を含めた構造的特徴が明瞭に示された。これまでの観察技法に加えて、切片走査電子顕微鏡法を試行的に用いたことにより、沈降性アミロプラストと塊茎形状成立との関係性についてより理解を深めた知見を本研究より得ることができた。

(2) 課題 2.

幾つかの PIN-like 遺伝子の発現様式について、園試系 6、イチョウイモ、ツクネイモを用いて調査したところ、これらの材料間では、PIN-like 遺伝子の発現様式が異なる可能性が示された。塊茎の IAA 含有量は 園試系 6、イチョウイモ、ツクネイモの順で多いことを示唆する結果が得られた。これらのことから形の異なる塊茎間でオーキシン含有量の差異が認められつつあり、更にオーキシン輸送体関連の遺伝子の発現様式にも差異があることが示唆された。また、ある濃度のインドール 3 酢酸を含んだ寒天ブロックを接触させた方向へ塊茎が屈曲することが認められた。このことから、ナガイモ塊茎の屈曲におけるオーキシンの必要性が示唆された。なお、傾斜させて重力刺激処理した塊茎における上側部と下側部の間のオーキシン含量の測定については、安定したデータが得られることが難しく、現在も反復実験を実施中である。

(3) 課題 3.

生長中のナガイモ塊茎を横倒して重力刺激処理し、カルシウム存在量や存在場所の変動をエネルギー分散型 X 線分析法を用いて解析した。さらに高周波誘導結合プラズマ発光分光分析法を用いて、重力刺激処理した塊茎断片の中のカルシウム含有量も測定した。横倒しによる重力刺激処理を行ったナガイモ塊茎では、頂端部中心柱のカルシウム含有量が増加することが示唆された。この結果は、重力刺激を感受すると本来頂端部皮層で多く蓄積されているカルシウムが中心柱に移動したことによるものと考えられた。このことから、塊茎の重力感受・屈性や形態形成とカルシウム動態との関係性を理解する上で意味のある結果が得られた。このカルシウムの移動が塊茎の重力感受後に引き起こされる屈性に関与している可能性を今後更に確認し、明確化していく必要がある。

以上の 3 課題より得られた知見は、これまで不明な点が多かったヤムイモ類塊茎における形状成立機構の理解を形態学と生理学の両面から深める上で有意義なものであると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Kawasaki M, Thinh NC, Shimono H, Kumagai E
2. 発表標題 Effects of elevated atmospheric CO2 concentration on tuber morphology in Chinese yam.
3. 学会等名 3rd Agriculture and Climate Change Conference (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 石井隆之・川崎通夫
2. 発表標題 形状の異なるナガイモ塊茎間におけるアミロプラスト分布と重力刺激処理に対する応答性に関する比較
3. 学会等名 日本作物学会第247回講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 川崎通夫・石井隆之
2. 発表標題 ナガイモ塊茎頂端部における内部構造の「切片SEM法」を用いた観察とその有効性
3. 学会等名 日本作物学会第251回講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 川崎通夫
2. 発表標題 様々な試料作製法・観察法の基礎 植物の電顕試料作製法
3. 学会等名 日本顕微鏡学会 関東支部実技講習会 2020年度電顕チュートリアル
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 川崎通夫
2. 発表標題 作物における電子顕微鏡試料の作製法. 電子顕微鏡観察のための生物試料作製法の基礎とトラブルシューティング.
3. 学会等名 日本顕微鏡学会第75回学術講演会
4. 発表年 2018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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------