

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 6 月 13 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K05615

研究課題名(和文)花葉で発達する仮道管様組織の通水機能とその発達機構の解析

研究課題名(英文)Analysis for tracheid-like cells develop in floral leaves

研究代表者

北村 嘉邦 (Kitamura, Yoshikuni)

岡山大学・環境生命科学研究所・准教授

研究者番号：90578139

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)：仮道管様組織の発達前後で通水性が劇的に変化する現象を認めているアジサイの花葉を用いて調査した。まずは、人工気象条件下で仮道管様組織の発達を再現する実験系を構築した。次に、装飾的萼片の緑色化を抑制した状態で仮道管様組織の分化を誘導する実験系を確立した。確立した実験系を活用し、人工気象条件下で仮道管様組織を発達させた小花を用いて水分生理の変化を解析した。また、仮道管様組織の発達前後に発現する遺伝子群を網羅的に比較した。その結果、仮道管様組織の発達前と比較して発達後では、装飾的萼片への水の吸い上げが迅速に起こることを認めた。また、サンプル間で差次的な発現が認められた遺伝子の配列情報を獲得した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでに明らかにされてこなかった、装飾的な花器官への物理的補強を担う仮道管様組織の分化メカニズムの一端に触れることができた。また、仮道管様組織が水分輸送に寄与することを示すことができた。これらは以下に示す意義を持つ。まず、物理的に強固な花器官を持つ花卉の作出に向けた基礎的な知見を得たことで、将来的な物理的に強固な切り花の生産と作出への応用が期待される。これは、切り花の輸出戦略にも波及する。また、高い水分輸送能力を持つ通道組織を花器官に分化させることで、長寿命の切り花の作出に寄与する可能性が高い。以上をまとめると、高い輸送耐性を持つ高付加価値な切り花の開発に資する知見を得ることができた。

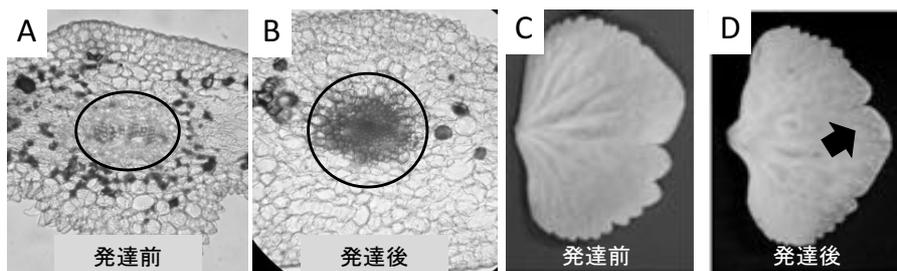
研究成果の概要(英文)：Following studies were conducted using hydrangea decorative sepals in which tracheid-like tissue differentiates in vein tissues. At first, experimental system was established to induce tracheid-like tissue differentiation in decorative sepals of hydrangeas under the artificial climate condition. Then, the experimental condition was modified to suppress chloroplast differentiation in the course of tracheid-like tissue differentiations. Using these experimental systems, water transportation capacity of tracheid-like tissue was successfully evaluated. The obtained results indicated that the tracheid-like tissue differentiation increased water transportation capacity of vein tissues of hydrangea decorative sepals. The experimental systems enabled us to acquire decorative sepal samples for gene expression analysis. Comparison of gene expression profiles was conducted by RNA seq between the decorative sepals before and after the tracheid-like tissue differentiation.

研究分野：花卉園芸学

キーワード：切り花 組織構造 輸出

1. 研究開始当初の背景

花葉や葉などの植物体の末端部位に存在する通水組織の多様性に着目した研究は非常に少ない。商業作物の多くが属する被子植物では、一般的に、植物体の末端部位を含めて道管が通水機能を担う。一方で、一部の被子植物の葉や花葉では、道管に加えて仮道管様の組織が発達する(下図 A, B)。仮道管は、道管を持たない裸子植物では、主たる通水組織として機能している。つまり、道管に加えて仮道管様組織を持つ葉や花葉では、通水機能が強化されている可能性があるが、詳細な解析例は見あたらない。申請者は、アジサイの花葉で、仮道管様組織の発達によって通水性が劇的に向上する現象が散発的に起こることを見だし(下図 C, D)、解析している。その結果、アジサイの花葉で認められる仮道管様組織には、通水を担う有縁壁孔対が存在することを認めていた(北村ら, 2016. 園学研 (Hort. Res. (Japan)), (別) 2:465)。



A, B: 仮道管様組織の発達前のアジサイの花葉(A)では、通水組織は道管のみ(丸枠内)。発達後(B)では、道管以外に多数の仮道管様細胞が認められる(丸枠内の濃色部分)。

C, D: 仮道管様組織の発達前のアジサイの花葉(C)では、着色水の吸水による着色が起こらない。仮道管様組織の発達後(D)では、開始2時間後には通道組織が着色される(矢印)。

2. 研究の目的

本課題を端緒とする研究目標は以下の通りである。仮道管様組織の発達によって通道組織の通水機能が強化されることを示し、園芸生産物を代表とする農業生産物の生産・利用場面において、仮道管様組織を持つ場合に発揮される優位性を提示する。最終的には、広範の植物種に仮道管様組織をはじめとした通水機能を補強する組織を付与、または、潜在的にこれらの機能をもつ植物種ではアクティベートさせる技術を開発することを目的とした。

本課題では、仮道管様組織の発達によって通道組織の通水機能が強化されることを、形態学的特徴と関連づけて明らかにする。また、仮道管様組織の発達機構の解明に向け、遺伝子発現に関する基礎データを蓄積する。仮道管様組織の発達前後で通水性が劇的に変化する現象を認めている、アジサイの花葉を用いて以下の調査を行なった。

3. 研究の方法

制御環境下で安定的にアジサイの装飾的萼片で仮道管様組織の分化を誘導することで、仮道管様組織の通道能力の評価やトランスクリプトーム解析に用いるサンプルを安定的に得ることが可能になる。まず、これらの実験系の確立に注力した。

・人工気象条件下で仮道管様組織の発達を再現する実験系の構築

従来、*in vitro*かつ暗黒環境下で小花を管理することで仮道管様組織の発達を待ち、発達前後の水分生理の違いを解析していた。この系では、仮道管様組織が発達する際に形成される二次細胞壁の構築に必要な糖類を、小花に安定して供給することを目的としていた。しかし、微生物汚染や小花の枯死が頻発し、解析に適した小花を得るには非効率的であった。そこで、切り花を暗黒条件で維持し、より効率的に解析に適した小花を得る実験系を検討した。具体的には、糖類と抗菌剤の両方を含む切り花鮮度保持剤を用いて切り花を管理するものである。

・装飾的萼片の緑色化を抑制した状態での仮道管様組織の分化誘導

上記の調査結果をもとにして、圃場条件では仮道管様組織の分化誘導と同時に起こる装飾的萼片の緑色化を抑制する実験系を検討した。装飾的萼片の緑色化を抑制することで、着色水などを用いた仮道管様組織の通道能力の評価が可能になる。具体的には、切り花として収穫したのちに上記調査結果で明らかにした通りに糖類を添加した活け水に活けて管理し、さらに完全遮光条件に置くことで萼片の緑色化の抑制を試みた。

・人工気象条件下で仮道管様組織を発達させた小花を用いた水分生理の変化の解析

前述の系を用いて、仮道管様組織の発達前後での装飾的萼片での水分生理の変化を解析した。具体的には、着色水を小花および萼片に給液し、着色水による染色程度がどの程度進むのかを確認することで、通道組織の通水能力を評価した。

- ・仮道管様組織の発達前後に発現する遺伝子群の網羅的な比較

人工気象条件下でアジサイの切り花を管理することによる仮道管様組織の誘導実験系を活用し、仮道管様組織の分化前後の遺伝子発現を網羅的に比較した。具体的には、以下の通りである。暗黒条件・20℃に設定した人工気象機内に開花中のアジサイの切り花を搬入し、切り花延命剤を加えた活け水に活けた上で4週間静置した。人工気象機への搬入から4週間後に、花脈内に仮道管様組織が分化した装飾的萼片を採取し、RNAを抽出した。仮道管様組織の分化前のサンプルについては、人工気象機への切り花搬入時に採取し、RNAを抽出した。各サンプルについてRNA seqにより発現遺伝子群のシーケンスを解析した。Plant gardenにアップされているアジサイのゲノム配列をリファレンスとしてショートリードをマッピングしたのち、マッピングされたショートリードの数に基づいてサンプル間で発現量を比較した。また、gene ontology (GO) 解析を行った。

4. 研究成果

- ・人工気象条件下で仮道管様組織の発達を再現する実験系の構築

アジサイを切り花として収穫したのちに糖類および抗菌剤を加えた活け水中に維持することによって、人工気象条件下でも装飾的萼片における仮道管様組織の分化が誘導されることを見いだした。

- ・装飾的萼片の緑色化を抑制した状態での仮道管様組織の分化誘導

アジサイを切り花として収穫したのちに、上記調査結果で明らかにした通りに糖類を添加した活け水に活けて管理し、さらに完全遮光条件に置くことで、装飾的萼片の緑色化を抑制することが可能であることを見いだした。また、緑色化を抑制した装飾的萼片について、仮道管様組織の分化誘導の有無を調査したところ、高確率で仮道管様組織の分化が起ることを確認した。

- ・人工気象条件下で仮道管様組織を発達させた小花を用いた水分生理の変化の解析

仮道管様組織の発達前と比較して発達後では、装飾的萼片への水の吸い上げが迅速に行われることを認めた(下図)。従来法でも同様の結果は得られていたが、実験結果の再現性が大幅に改善された。



図 仮道管様組織の発達前後の装飾的萼片への着色水の吸い上げ程度の違い
左：仮道管様組織の発達前、右：仮道管様組織の発達後。いずれも最上段の萼片は着色水の給液前の萼片を示す

- ・仮道管様組織の発達前後に発現する遺伝子群の網羅的な比較

サンプル間で差別的な発現が認められた遺伝子のGO termの解析結果では、Biological Process, Cellular Component, Molecular Functionのそれぞれのtermを付された遺伝子がそれぞれ約30%を占めていた。Biological Processの中ではmetabolic processが、Cellular Componentではcell partが、Molecular Functionではcatalytic activityのGO termを持つ遺伝子群と相同性を示すコンテイングがそれぞれ最も高い割合を占めていた。今後、得られた遺伝子の発現情報をもとに、詳細な発現解析を進める。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 itamura, Y., Watanabe, T., Kato, Y., Teoh, W.W., Kataoka, K., Yamaguchi, Y., Haruta, T., Nishioka, H. and Kametani, K.	4. 巻 87
2. 論文標題 Sclerified parenchyma differentiation in hydrangea veins is essential for robust decorative sepals (Hydrangea spp.).	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Horticulture Journal	6. 最初と最後の頁 549-556
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2503/hortj.UTD-003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 SUNTIPABVIVATTANA, Niramon,JAISAO, Teerisara,KITAMURA, Yoshikuni	4. 巻 18
2. 論文標題 Combined Treatment of 8-Hydroxyquinoline and Glucose on Cut Hydrangea Flowers	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bulletin Shinshu University Alpine Field Center	6. 最初と最後の頁 19-27
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 北村嘉邦・赤堀真子
2. 発表標題 アジサイの装飾的萼片で分化する厚壁柔組織は水分輸送に寄与する
3. 学会等名 園芸学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 KITAMURA, Yoshikuni, SUNTIPABVIVATTANA, Niramon,JAISAO, Teerisara,
2. 発表標題 Combined Treatment of 8-Hydroxyquinoline and Glucose on Cut Hydrangea Flowers
3. 学会等名 Symposium on Application of Advanced Technologies In Agriculture (AATA) (国際学会)
4. 発表年 2020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
---------	---------