

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年5月7日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22780053

研究課題名（和文）イオノミクスを利用した環境ストレス応答解析

研究課題名（英文）Ionomic response of plant to environmental stress

研究代表者

渡部 敏裕 (WATANABE TOSHIHIRO)

北海道大学・大学院農学研究院・助教

研究者番号：60360939

研究成果の概要（和文）：植物に含まれる元素の集合体であるイオノームに与える養分欠乏およびアルミニウムストレスの影響を調査した。窒素、リン、カリウムの欠乏は植物のイオノームプロファイルを大きく変動させた。測定した元素のうち、モリブデンとセシウムの変動が特に顕著だった。窒素欠乏下でのモリブデン含有率の上昇には窒素固定微生物が関与すると予想された。アルミニウムストレスもイネのイオノームプロファイルに影響した。

研究成果の概要（英文）：Effects of nutrient deficiency and aluminum toxicity stresses on plant ionome, all the mineral nutrient and trace elements found in an organism, were investigated. Nitrogen, phosphorus, and potassium deficiencies greatly changed ionome profile in plant. Among analyzed elements, changes in concentration of molybdenum and cesium were noticeable. It was expected that increase in molybdenum concentration under nitrogen deficient conditions could be related to nitrogen-fixing microorganisms. Aluminum stress also affected ionome profile in plant.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：植物栄養学・土壌学

キーワード：イオノミクス・養分欠乏・セシウム

1. 研究開始当初の背景

「イオノミクス (ionomics)」は、ある生物に含まれる全ての元素の集合体（イオノームという）を体系的にプロファイリングするものであり、新しい解析手法として注目されている。環境ストレス応答における遺伝子発現（ネットワーク）の解析にもイオノミクスは強力なツールとなることが期待されるが、これまでの研究例はほとんどない。また、植

物の生育環境である土壌のイオノームと植物イオノームの関係についても報告がない。

2. 研究の目的

植物のイオノームを変化させる要因として養分欠乏（三要素欠乏）および有害元素ストレス（アルミニウム (Al) ストレス）に注目し、イオノミクスを軸に他の技術を組み合わせ統合的に解析することにより、植物栄養

学／栄養生態学の新たな解析手法としてのイオノミクスの多面的有用性を証明し、植物の環境ストレス応答における新たな知見を得ることを目指すことを目的とした。

実験にはストレスの直接的な影響を見るための水耕実験だけでなく、圃場実験にも重点をおき、植物－土壤間の養分動態解析も行う。応答解析はイオノミクスを軸とし、代謝成分を網羅的に解析するメタボロミクスを組み合わせた統合的解析を試みる。本研究を通して、新規のストレス応答機構が解明されるだけでなく、植物栄養学分野におけるイオノミクスの更なる可能性を提示することができる。

3. 研究の方法

(1) 三要素制限がイオノームに与える影響

植物栄養学を論じる上で土壤を用いた栽培、特に圃場における栽培は欠くことができない。そこで申請者の研究室が管理する化学肥料による三要素の制限（+NPK、-N、-P、-K、および-NPK区）を90年以上にわたり長期継続している圃場（三要素圃場、灰色低地土）にて異なる作物種を栽培し、栄養生長期における葉の無機成分および代謝成分を網羅的に測定する。同時に土壤の物理化学性（土壤イオノーム解析、一般的物理化学性解析）を調査し、化学肥料の要素制限付き長期連用が土壤に及ぼすインパクトを明らかにする。土壤イオノーム解析では、予備的に様々な土壤抽出手法（水抽出、濃度を変えた各種酸・KCl・酢安抽出など）を試み、最適と思われる数種の抽出法を適用する。圃場実験に加えて、水耕実験系でも三要素欠乏の影響を評価する。

(2) モリブデン施与と窒素栄養の関連性調査

圃場試験の試験から、非マメ科植物では窒素欠乏時にモリブデン含有率が高まること示された。モリブデンは生物学的窒素固定に必須の元素であるため、根圏あるいは内生窒素固定菌のモリブデン要求の増大により吸収が高まった可能性がある。そこで、モリブデンと植物の窒素獲得の関係を調べるため、ポットを用いた土耕栽培でモリブデン施与が窒素欠乏下での植物の窒素獲得におよぼす影響を調査する。

(3) 植物のセシウム吸収におよぼす硫安施肥の影響

圃場試験の結果から、植物のセシウム吸収に対してアンモニウム態窒素は促進的に、カリウムは抑制的に働く事が示唆された。そこでセシウム集積能が高いことが予想される植物種を選定し、硫安施肥レベルを変え、カリウム無施肥の圃場で栽培し、セシウム集積

能を評価する。

(4) アルミニウムストレスがおよぼすイネのイオノーム変動品種間差

水耕実験で、A1耐性の異なるイネの各品種に対してA1処理を行う。元素組成の品種間差とA1処理によるその変動から予想されるイネのA1耐性応答機構を推定する。

4. 研究成果

(1) 三要素制限がイオノームに与える影響

三要素試験圃場（完全区、-N区、-P区、-K区、-NPK区）にてコムギ、トウモロコシ、ダイズ、ヒマワリの4作物種を栽培し、生育応答とイオノームプロファイルの変動を測定した。葉の分析結果では、欠乏させた三要素以外のほとんどの元素（必須・非必須の両方）の含有率が変動した（図1）。

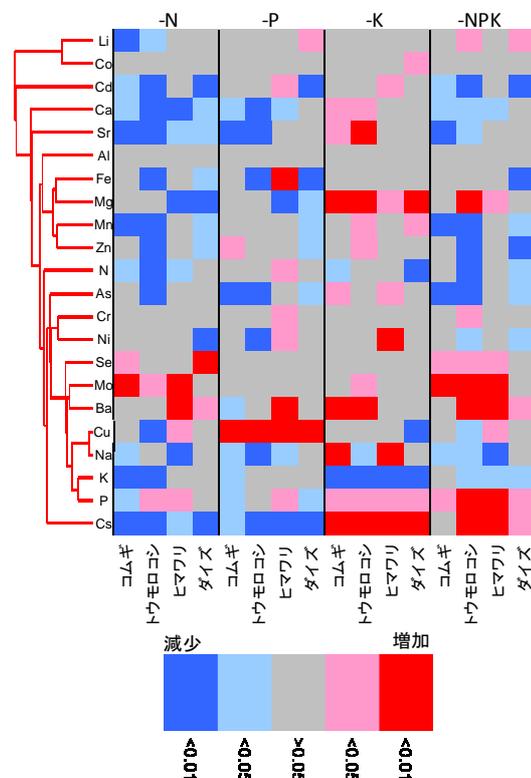


図1. 圃場条件下で栽培した各種作物の養分欠乏に対するイオノーム応答。完全区に対する各区の含有率変動をt検定で解析し、有意差を示した。赤が上昇、青は低下を示す。

変動の傾向は欠乏させた三要素により大きく異なり、作物種による変動の違いも認められた。窒素欠乏下では、コムギとヒマワリの葉におけるモリブデン含有率が大きく上昇したのに対し、ダイズでは逆に減少した。モリブデンは生物学的窒素固定におけるニトロゲナーゼの構成要素であるため、窒素固定微生物と

の関わり方の違いが影響していることが予想される。また、窒素欠乏はセシウム含有率を大きく低下させた。

一方、リン欠乏下のヒマワリでは重金属吸収が高まった。これはリン欠乏により根からの分泌が誘導された、有機酸などリン可溶化物質が根圏における重金属の可給度を高めたためと推定される。カリウム欠乏は全ての作物種でセシウムやストロンチウムを含む様々な陽イオン元素の吸収を高めた。K吸収低下に体内でのチャージバランスを維持するため、他の陽イオン吸収を高めたのかもしれない。

本研究は施肥法による植物の元素集積制御の可能性を示し、重金属や放射性元素（セシウム、ストロンチウム）などの有害元素で汚染された土壌のファイトレメディエーション効率化や、逆に作物の有害元素蓄積量低減化への応用が期待される。

(2) モリブデン施与と窒素栄養の関連性調査

圃場試験の結果から、非マメ科植物では窒素欠乏時にモリブデン含有率が高まること示された。モリブデンは生物的窒素固定に必須の元素であるため、根圏あるいは内生窒素固定菌のモリブデン要求の増大により吸収が高まった可能性がある。そこで、モリブデンと植物の窒素獲得の関係を調べるため、ポットを用いた土耕栽培でモリブデン施与が窒素欠乏下でのコムギの窒素獲得におよぼす影響を調査した。その結果、ポット実験でも窒素欠乏により地上部のモリブデン含有率が高まることを確認し、圃場条件と同様の結果が得られた（図2）。

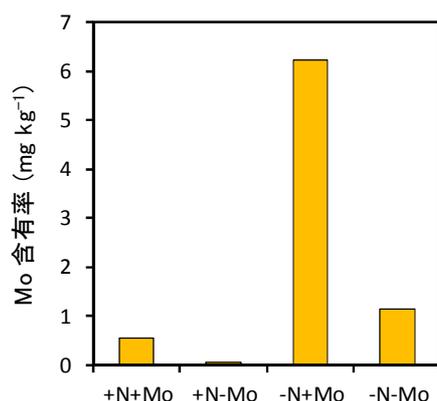


図2. 土耕ポット栽培したコムギの葉モリブデン含有率。窒素施与・無施与とモリブデン施与・無施与を組み合わせた4処理を設けた。モリブデン含有率は特に窒素欠乏下で含有率が大きく上昇している。

土壌溶液中のモリブデン濃度が窒素欠乏下で高まったわけではないため、圃場・土耕栽培条件下でのモリブデン含有率の上昇には根圏土壌あるいは体内（内生）の窒素固定微生物が関わっていることも考えられた。

モリブデン添加の影響については、モリブデンを添加することにより植物体の生育は改善し、窒素集積量も高まった（図3）。一方、水耕による実験を行ったところ、窒素欠乏によるモリブデン含有率の上昇は認められず、根圏土壌に生息する微生物の影響が強く示唆された。

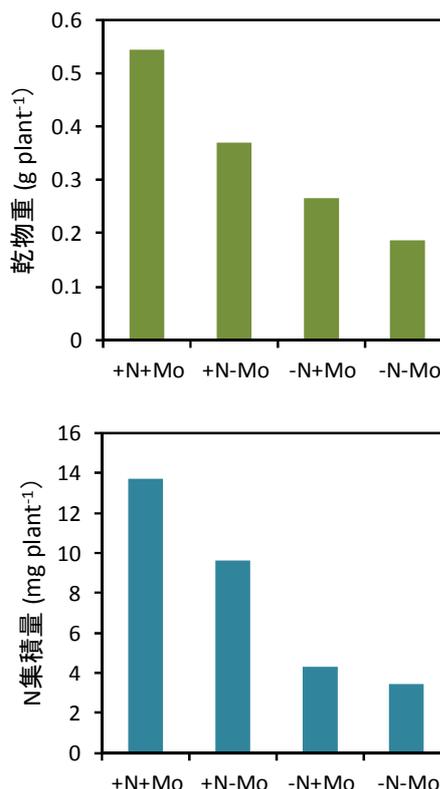


図3. 土耕ポット栽培したコムギの地上部乾物重（上）および葉窒素集積量（下）。モリブデンの施与は乾物重と窒素集積量を増加させた。

(3) 植物のセシウム吸収におよぼす硫安施肥の影響

放射性セシウム汚染土壌のファイトレメディエーションの効率化を目的として、セシウム吸収能が高い植物種をカリウム無施肥の圃場で栽培し、硫安施肥の影響を調べた。しかし、圃場の場合、窒素はこれまでに十分施与されているため、処理の有意な効果は認められなかった（図4）。以上のことから、畑地では施肥によるセシウム吸収の制御は困難であると考えられた。

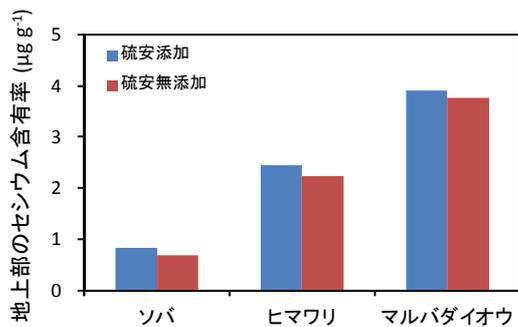


図 4. 硫安処理栽培後の各種植物地上部セシウム含有率 (mg/g 乾物重)

(4) アルミニウムストレスがおよぼすイネのイオノーム変動品種間差

Al 耐性の異なるイネ品種を用いて Al ストレスがイネのイオノーム変動品種間差に及ぼす影響について調査した。Al 処理後 72 時間目のイオノームプロファイルに ±Al 処理区で比較したところ、各品種で葉イオノームに変動が認められた (図 5)。しかし、品種間のイオノームプロファイルに違いはあったが、Al ストレスによる変動傾向に大きな違いは認められなかった。

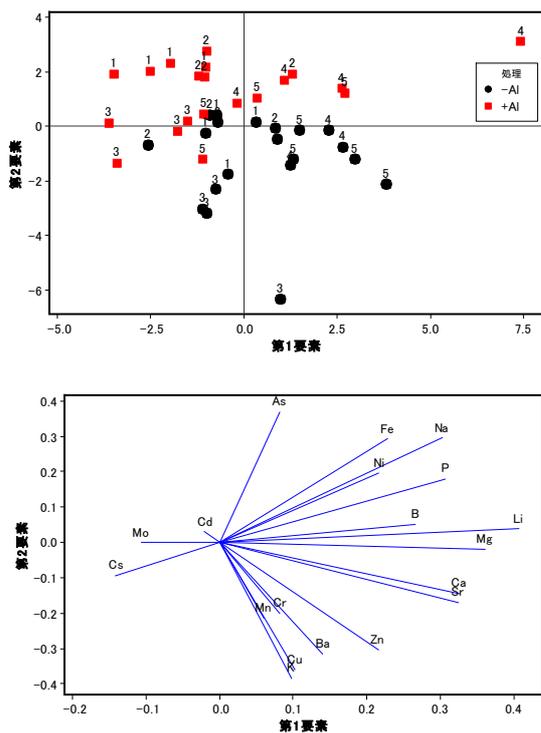


図 5. イネ 5 品種のイオノームプロファイルと Al 添加処理 (72 時間) の影響。データラベルは品種番号を示す。1: 日本晴、2: 台中 65 号、3: カサラス、4: IR36、5: IR72。各元素の含有率を変数とした主成分分析を行った。上はスコアプロット、下は負荷量プロットである。Al はデータ解析から除いた。

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 5 件)

1. Quadir QF, Watanabe T, Chen Z, Osaki M and Shinano T. Ionic response of *Lotus japonicus* to different root-zone temperatures. *Soil Science and Plant Nutrition*, 57, 221-232 (2011). DOI: 10.1080/00380768.2011.555841 (査読有)
2. Nanamori M, Watanabe T, Shinano T, Kihara M, Kawahara K, Yamada S, and Osaki M: Changes in the saccharide, amino acid and S-methylmethionine content during malting of barley grown with different nitrogen and sulfur status. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91, 85-93 (2011). DOI: 10.1002/jsfa.4154 (査読有)
3. 信濃卓郎・渡部敏裕: 植物の有害元素. *日本土壤肥料学雑誌*, 82, 504-510 (2011). <http://jssspn.jp/file/introduction04.pdf> (査読無)
4. 渡部敏裕: 植物による土壌浄化の可能性と課題. *サイエンスネット*, 42, 10-13 (2011). <http://www.chart.co.jp/subject/rika/scnet/42/sc42-3.pdf> (査読無)
5. Sakai Y, Watanabe T, Shinano T, Wasaki J, Senoura T, Shinano S, and Osaki M: Influence of arsenic stress on synthesis and localization of low-molecular-weight thiols in *Pteris vittata*. *Environmental Pollution*, 158, 3663-3669 (2010). DOI: 10.1016/j.envpol.2010.07.043 (査読有)

[学会発表] (計 13 件)

1. 岡田遼介・渡部敏裕・浦山勝・大崎満: 養分欠乏下で栽培した各種作物のイオノーム解析: 日本土壤肥料学会北海道支部会, 札幌, 2011年12月1日.
2. 渡部敏裕, 東隆行: 植物種によるセシウム吸収の差異, 第 53 回植物生理学会年会シンポジウム - 福島第一原子力発電所事故にともなう植物への放射性物質蓄積, 京都, 2012年3月17日.
3. Sha Z・Oka N・Okazaki K・Ohhira K・Watanabe T・Osaki M・Shinano T: Ionic study of soybean seed affected by previous cropping with mycorrhizal plant, manure and phosphorus

- applications, 第 53 回植物生理学会年会, 京都, 2012 年 3 月 16 日.
4. 室伏祥子・渡部敏裕・野瀬裕之・伊藤隆政・須田俊之・久保田伸彦: セシウムおよびストロンチウムの植物への集積と最終処分方法の検討, 第 53 回植物生理学会年会, 京都, 2012 年 3 月 16 日.
 5. 渡部敏裕: ファイトレメディエーション～放射能汚染土壌の浄化技術としての有用性と課題～, 科学技術政策研究所講演会, 東京, 2011 年 10 月 27 日
 6. 渡部敏裕: 放射性元素による土壌汚染, 現代社会におけるリスク分散のあり方と環境教育, シンポジウム: 現代社会におけるリスク分散のあり方と環境教育, 札幌, 2011 年 10 月 22 日.
 7. Wagatsuma T, Watanabe T, Khan MSH, Sekimoto H, Yokota T, Nakano T, Toyomasu T, Tawaraya K, Koyama H: Plasma membrane sterols and the related gene in root-tip portion as key components for aluminium tolerance of varieties of plants species, cultivars, lines and mutants. *In* International Rhizosphere Conference, 25-30 September 2011, Perth, Australia, 2011 年 9 月 29 日.
 8. Okada R, Watanabe T, Urayama M, and Osaki M: Comprehensive analysis of mineral elements in different plant species under N, P and K deficiencies. *In* International Rhizosphere Conference, 25-30 September 2011, Perth, Australia (2011), 2011 年 9 月 28 日.
 9. Watanabe T, Kouho R, Onodera T, Kitajima N, Sakamoto N, Shinano T, Yurimoto H, and Osaki M: Uptake and distribution of sulphur in *Pteris vittata* grown with arsenic. *In* International Rhizosphere Conference, 25-30 September 2011, Perth, Australia, 2011 年 9 月 26 日.
 10. 渡部敏裕・岡田遼介・東隆行・浦山勝・信濃卓郎・大崎満: 植物のセシウムおよびストロンチウム集積特性の解析, 日本土壌肥料学会つくば大会, つくば, 2011 年 8 月 9 日.
 11. Quadir QF・Watanabe T・Chen Z・Shinano T・Osaki M: Ionic response of Lotus japonicus to different root-zone temperatures, 日本土壌肥料学会北海道支部会, 札幌, 2010 年 12 月 1 日.
 12. 渡部敏裕・岡田遼介・浦山勝・大崎満: 長期継続三要素試験圃場の土壌とそこで栽培したトウモロコシが含む元素の一斉分析, 日本土壌肥料学会北海道大会,

札幌, 2010 年 9 月 8 日.

13. 皇甫蘭・渡部敏裕・小野寺とも・中村考志・山口紀子・北島信行: モエジマシダのヒ素耐性における硫黄の役割, 日本土壌肥料学会北海道大会, 札幌, 2010 年 9 月 7 日.

〔図書〕 (計 1 件)

1. Watanabe T, Khan MSH, Rao IM, Wasaki J, Shinano T, Ishitani M, Koyama H, Ishikawa S, Tawaraya K, Nanamori N, Ueki N and Wagatsuma T: Physiological and Biochemical Mechanisms of Plant Adaptation to Low-Fertility Acid Soils of the Tropics: The Case of Brachiariagrasses. *In* Principles, Application and Assessment in Soil Science, E. Burcu Özkaraova Güngör (Ed.), ISBN: 978-953-307-740-6, (2011).
<http://www.intechopen.com/articles/show/title/physiological-and-biochemical-mechanisms-of-plant-adaptation-to-low-fertility-acid-soils-of-the-trop>

〔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〕

ホームページ:
<http://www.geocities.jp/watanabe1209/index.htm>

6. 研究組織
(1) 研究代表者
渡部 敏裕 (WATANABE TOSHIHIRO)
北海道大学・大学院農学研究院・助教
研究者番号: 60360939