

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 27 日現在

機関番号：11201

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24580379

研究課題名(和文) 除染復旧農地の健全性を早期確認するための生物検定・マトリクスパッチ法の開発

研究課題名(英文) Development of a novel measuring method for judgement of agricultural soundness of field recovered from contamination

研究代表者

庄野 浩資 (Shono, Hiroshi)

岩手大学・農学部・准教授

研究者番号：90235721

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：津波などの災害農地を復旧する場合、そこで作物を栽培しても問題無いことの最終確認は非常に重要な作業である。微妙な汚染物質の影響を植物の生育状態から測ることは有望な確認方法の1つであるが、広く使われる光合成活性指標にはそこまでの感度は期待できない。一方、植物に温度・水環境の変動を2元的に与えてストレスを負荷すれば、光合成系の2元的な環境応答に汚染物質の影響が浮き彫りになることが期待できる。本研究では、植物の温度・水環境変動に対する2元的環境応答の簡易測定法を開発し、実際にインゲンマメ初生葉に適用した結果、本測定法が温度・水環境変動に対する2元的環境応答を高感度かつ簡易に測定できることを確認した。

研究成果の概要(英文)：For recovering agricultural field from contamination by disaster, like a tsunami, judgement of soundness of field is essential. Important information for the judgement could be delivered from plants growing on such field through some index of photosynthetic activity. Although the indices are used as promising measure for plant examinations, they are not so enough sensitive to detect slight influence of remaining toxic components. However in natural condition, most plants are growing under very volatile environment. So, the indices measured under such volatile conditions both of temperature and water might contain more important and delicate information of plant growth influenced from remaining contamination.

We developed a new sensitive technology for determination of photosynthetic activities under fluctuating environment both of temperature and water. From results of some experiments with the new technology, we could confirm its usefulness and promising future.

研究分野：農業環境工学

キーワード：温度環境応答 水環境応答 光合成活性 高精度農法

1. 研究開始当初の背景

津波などの災害農地を除塩などによって復旧する場合、その土地で農業を営んでも問題無いか、最終確認することは非常に重要である。その簡便な確認方法は、感受性の強い指標作物を実際にその土地で栽培しその生育状態を精査する方法と考えられる。現在、植物の生育状態を評価するための測定方法として、温度・水環境を一定とした定常状態で光合成活性を測定する方法が普及しつつあるが、本測定法には培地に微妙に残る汚染物質の影響を浮き彫りにできるほどの感度は必ずしも期待できない。しかしここで、通常の生育環境と同様に、植物の光合成系に温度・水環境の変動を2元的に与え、言わば光合成系のストレス試験を行えば、両環境変動に対する2元的な環境応答から定常状態下の測定からは得られない汚染物質の影響を推し量ることが可能と期待できる。一方、既存の技術で光合成活性の2元的環境応答を測定するには実験系の規模と時間が過大となる問題がある。そこで本研究では、葉一枚でも測定可能な植物の温度・水環境変動に対する2元的環境応答の簡易測定法の開発を試みた。

2. 研究の目的

本研究の最終的な目標は、図1に示す様な温度・水環境変動を葉面上に一気に実現し、光合成活性の2元的環境応答を簡易に測定する方法の実現である。しかし現状では、まず、温度・水環境変動をどの様に実現するのか、両環境変動に反応する光合成活性指標は何か、さらにはそもそも2元的環境応答の測定データから植物の微妙な生育状態の変異が読み取れるのか、などの多くの項目が未確認である。以上のことから、本研究においては2元的環境変動の実現を初めとする測定の具体的な方法と2元的環境応答の有効性の確認に焦点をあてて研究を行った。

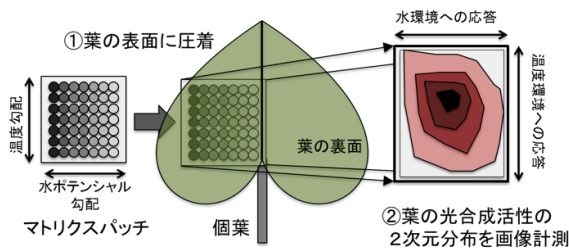


図1. 2元的環境応答測定法のイメージ

3. 研究の方法

(1) 材料

植物材料は、培地としてジフィーセブン(株)サカタのタネ、神奈川)を用いてグロースチャンバー(日長12時間、温度23°C一定)で育成したインゲンマメ‘つるなしモロッコ’ (タキイ種苗(株)、京都)の初生葉を用いた。灌水は1日1回純水を与え、肥料は数日に1回程度、500倍に希釈した液肥ハイポ

ネックス(株)ハイポネックス(株)を適宜与えた。実験中、湿気によるカビの発生や肥料過多が原因とみられる症状が発生することがあったため、灌水と施肥の量ならびにそれらの時間間隔を適宜調整した。

(2) 温度勾配装置の試作

温度環境変動の実現のため、一枚の金属プレート上に温度勾配を実現することを目的とした実験装置を試作した。製作は、岩手大学工学部加工センターと本研究室の機材を使用して行い、試料に接触するプレートには、銅板(1.0mm厚)とアルミ板(0.3, 0.5, 1.0, 3.0mm厚)、ステンレス板(0.5mm厚)を使用した。しかし、どの素材を用いても目的とする温度変動幅を安定的に実現する温度勾配は得られなかった。これは、熱源として用いたアルミブロック恒温槽クールサーモユニットCTU-Mini(TAITEC(株)、埼玉)の出力が不足していたことが原因の1つと考えられる。

以上の検討から、温度勾配を一枚の金属プレート上に安定して実現するためには大出力の冷熱源・温熱源が必要なことが分かった。しかも、プレート上の各部の正確な温度を把握することが困難であるなど、本装置で高精度な温度環境変動を実現することが難しいことが判明したため、今回は本実現方法を不採用とした。

(3) 温度環境変動の実現方法

上記の温度勾配プレートの様に、温度環境変動を一度に実現することはできないが、少なくとも高精度で安定した温度環境が実現可能なことから、今回は、上記のアルミブロック恒温槽の温度を段階的に変動させ、そこに一定時間、試料を接触させることで温度環境変動を実現する方法を採用した。本研究では温度を10, 15, 20, 25, 30, 35, 40(°C)の7段階に設定し、試料の接触時間はそれぞれ20分とした。

(4) 水環境変動の実現方法

任意の水環境は、浸透ポテンシャルを調整したポリエチレングリコール(PEG-6000)(和光純薬工業(株)、大阪)水溶液に試料を接触させて水平平衡状態とすることで理論上実現可能であるが、この際の重要な問題は、水平平衡状態を実現するために実際にどの程度の時間が必要となるか不明な点である。そこで本研究では、その確認実験を繰り返した結果、水平平衡に必要な時間は実現する水ポテンシャルの大きさに大きく依存することが分かった。今回、実現する水ポテンシャルを0, -0.4, -0.8, -1.0, -1.2, -1.6(MPa)の6段階としたが、全ての段階で水平平衡に達するまでに必要な時間は結果として約12時間に達した。

(5) 光合成活性指標の選定

温度・水環境変動に対する環境応答を測定

する場合、両環境変動に対して感度の高い光合成活性指標を選ぶことが極めて重要となる。現状で主流となる光合成活性の測定法は、暗順応下での OJIP 測定と明順応下でのクエンティング測定である。そこで、本研究では、まず、両測定法による光合成活性指標それぞれの、温度・水環境変動に反応する感度を詳細に検討した。ここで、OJIP 測定装置には Fluorometer FP-100 (PSI, Czech republic) を用い、暗順応の時間は 30 分とした。一方、クエンティング測定装置には Fluorcam FC1000-H (PSI, Czech Republic) を用い、暗順応の時間は同じく 30 分間とした。

OJIP 測定指標には、 ΦPo 、 ΦEo 等の、主に光化学系 II 周辺の状態を反映する複数の指標を用い、また明順応下におけるクエンティング測定指標には、光化学系全体の状態を反映する、 Fv' / Fm' 、 $\Phi PS II$ 、 qP 、 qN 、 NPQ 、 Rfd を用いた (励起光: $300 \mu mol Photons m^{-2}s^{-1}$, 励起時間: 120 sec)。

検討の結果、OJIP 測定指標は温度環境変動に対しては高い感度を示すものの、水環境変動に対する感度がかなり低いことが判明したため、本研究では両環境変動に安定した感度を示したクエンティング測定指標を採用することとした。

4. 研究成果

(1) 本測定法の有効性の確認

本測定方法を葉齢の異なるインゲンマメ初生葉に適用し、微妙な葉齢の差が測定結果にどの様に現れるかを検討することで本測定法の有効性を検討した。使用したインゲンマメの葉齢は発芽後約 2 週間 (以下 young) と発芽後約 7 週間 (以下 mature) であり、それぞれ $n = 4$ である。

まず最初に、短冊状に切断した葉片を対象に既述の方法で 0, -0.4, -0.8, -1.0, -1.2, -1.6 (MPa) の水環境変動を実現した。さらに既述の方法で 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 (°C) の 7 段階の温度環境変動の実現を行い、クエンティング測定装置による測定を行った。なお、葉片の大きさは、測定装置の測定範囲に合わせて一枚あたり縦 40mm 横 60mm とした。また、実験中は、試料の下に湿潤なる紙を置き、実験中に乾燥が進まない様に配慮した。

(2) 結果および考察

図 2 に NPQ と温度環境の関係、図 3 に NPQ と水環境の関係、さらに図 4 に温度・水環境変動に対する NPQ の環境応答の 2 次元グラフ (縦軸は温度、横軸は水ポテンシャル) をそれぞれ示す。図 2, 3 には t 検定による有意差検定の結果を示しており、* の数は有意水準を示している (*: 5% 水準, **: 1% 水準, ***: 0.1% 水準)。また、誤差バーは標準誤差である。

図 2 では、young と mature のグラフ形状に大きな違いが見て取れる。young の NPQ は

40°C 以外 1 を超えているのに対し、mature の NPQ は 30°C 以外は全てそれ以下である。一般に NPQ の大きさは光エネルギーの熱放散 (無駄使い) を意味しており、これは両者の成熟度の違いが温度変化への耐性の違いとして明確に現れた結果と考えられる。また、図 3 では、0 MPa においては、両者の NPQ の値に有意差は認められない。しかし、-0.4 ~ -1.2 MPa において、young の NPQ の値が急上昇したのに対し mature の NPQ の値は横ばいで、有意差も認められる。このことから、この領域の水環境において、young では光化学系 II のアンテナ系において、熱放散が急激に亢進したことが推測される。

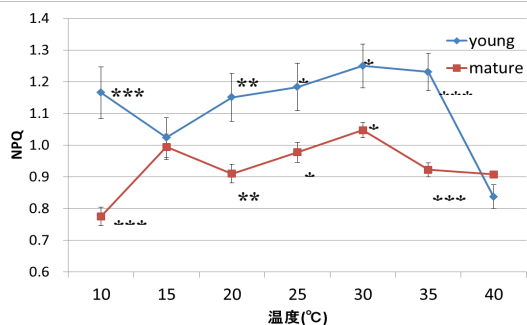


図 2. NPQ と温度環境の関係

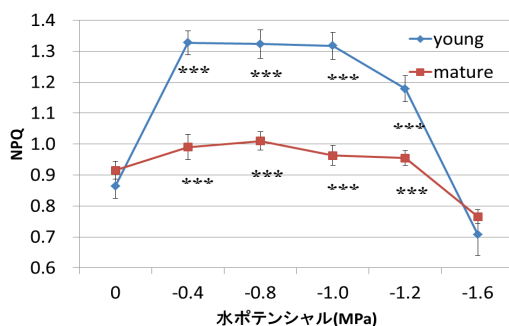


図 3. NPQ と水環境の関係

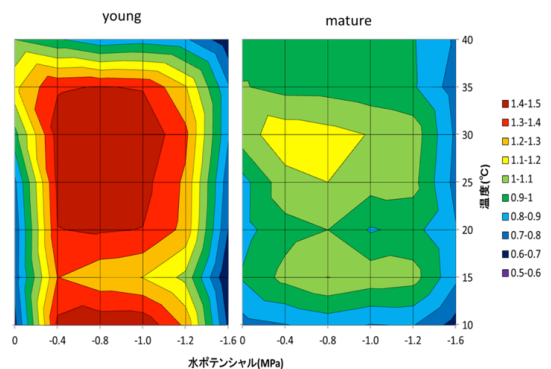


図 4. NPQ の 2 元的環境応答

ここで、図 4 を見ると、図 2 と図 3 で個別に見られた温度・水環境の変動への反応の違いが一度に、しかも極めて明確に視認できる。それに加え、young では認められない両環境の“交互作用”が mature にあることが簡単に視認できる。この交互作用は 1 元的環境応

答からは決して求められないものであり、本測定法の有用性を示すものである。

(4) 結論

以上の結果から、温度・水環境を2元的に変動させることで微妙な葉齢の違いが明確化されること、しかも、図4の様な2元的環境応答を2次元表示したグラフが、処理の違いをより明確に“視覚化”し、結果として処理間差の比較検討において非常に有用であることがわかった。これらは、本測定法の実現可能性と有効性を示すものである。

今回特に、温度・水環境を2元的に変動させることで本来は微妙な生育差（young と mature）が視覚的に明確化されたことは非常に重要な結果である。このことは本測定法を用いれば、汚染物質による生育への微妙な影響が浮き彫りとなる可能性を示唆している。

さらに、将来的には、各種の病気や生理障害で観察される図4の様な2元的環境応答の状況を、言わば“指紋”の様にあらかじめデータベース化しておけば、対象となる植物体に生じた問題の“犯人（原因）”の解明に繋がる可能性がある。すなわち、本測定法の応用範囲は極めて広い。

以上の検討から、本研究は、災害復旧農地の健全性を植物の微妙な生育状況の精査を通じて確認するための簡便な測定法として、本測定法が十分実現可能であり、その有用性も高いことを示したと考えられる。

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 0 件）

〔学会発表〕（計 0 件）

〔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：

出願年月日：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

特に無し

6. 研究組織

(1) 研究代表者

庄野 浩資 (SHONO, Hiroshi)

岩手大学・農学部・准教授

研究者番号：90235721

(2) 研究分担者

該当者無し

(3) 連携研究者

該当者無し

(4) 研究協力者

該当者無し