

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 6 月 1 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2014

課題番号：24658016

研究課題名(和文)常緑性C4植物トキワススキの耐冷性に関する基礎的研究

研究課題名(英文)Studies on cold tolerance in a C4 species, *Miscanthus floridulus*

研究代表者

青木 直大 (Aoki, Naohiro)

東京大学・農学生命科学研究科・助教

研究者番号：70466811

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：サトウキビやススキ(*Miscanthus sinensis*)のようなNADP-ME型C4植物は、本来、低温には弱い。トキワススキ(*Miscanthus floridulus*)は温帯地域の冬期でも常緑を保ち続ける。3年間の研究によって、トキワススキが夏期には高いバイオマス生産能を持ち、且つ冬期においても光合成機能および成長を維持していることが明らかになった。一方で、当初の目標に掲げた、冷温耐性に関わる遺伝子(バイオマーカー)の特定には至らなかった。今後、トキワススキとススキの比較解析をさらに進め、トキワススキの冷温耐性機構を明らかにし、寒さに強いC4作物の育成・開発に繋げたい。

研究成果の概要(英文)：Whereas NADP-ME type C4 species such as sugarcane and *Miscanthus sinensis*, is generally sensitive to chilling temperature, *Miscanthus floridulus* maintains “ever-green” phenotype during winter season in temperate areas. The present 3-year project revealed a part of eco-physiological characteristics of *M. floridulus*: Under the climate conditions in Tokyo, *M. floridulus* possesses higher ability for biomass production during summer season in comparison with *M. sinensis*, and maintains photosynthetic function and growth even in winter. On the other hand, we could not identify bio-markers to fulfil the cold-tolerance in *M. floridulus*. Although further studies are required to elucidate the molecular mechanism(s) of cold-tolerance in *M. floridulus*, we would like to continue the comparative analyses of two *Miscanthus* species, in order to obtain useful insights for the development/breeding of cold-tolerant C4 crops in future.

研究分野：植物生理学

キーワード：C4植物 トキワススキ 耐冷性

## 1. 研究開始当初の背景

(1) イネ科の C4 植物種は、そのバイオマス生産、水利用効率、窒素利用効率の高さから、近年エネルギー作物として注目され、実際にサトウキビ、トウモロコシ、スイートソルガムなどが利用されている(引用文献)。しかしながら、バイオマス作物になり得るようなイネ科の大型草本は、原産地が一般的に熱帯および亜熱帯であり、温帯以北の地域での栽培には向いていない。実際に、わが国におけるサトウキビ栽培をみると、奄美諸島・沖縄など亜熱帯地域に限られている(例外として四国の一部、小豆島などがあるが、生産量は少ない)。このような熱帯性のバイオマス作物を冷涼な東北・北海道を含めた我が国全体で生産することが可能になれば、エネルギー自給率の向上などに大きく貢献できるものと考えられる。

(2) ススキ属 (*Miscanthus*) は、イネ科ヒメアブラススキ連に属し、サトウキビの近縁種で、そのため交配が可能である(引用文献)。ススキ属の種はいずれも NADP-ME 型の C4 植物であるが、わが国でも、ススキ (*M. sinensis*) やオギ (*M. sacchariflorus*) が全国的に広く分布している。

(3) トキワススキ (*M. floridulus*) は、その名の通り、周年常緑を保ち続けるススキ属の種で、関東以西に分布している。他のススキ類が 9 ~ 10 月に出穂後、茎葉は枯れるのに対して、トキワススキは 7 月に出穂し、以後冬期を通じて生育を続ける。分げつが多く茎長は 2m 以上にもなる。このように、トキワススキはそれ自体がエネルギー作物としてのポテンシャルを秘めているが、耐冷性の強い C4 草本であることから、交雑可能なサトウキビの育種や耐冷性関連遺伝子の単離などを通じて他のバイオマス作物の改良などにも有用な遺伝資源であると考えられる。しかしながら、トキ

ワススキのバイオマス生産や代謝生理を研究した例はなく、またゲノム情報についても皆無であった。

## 2. 研究の目的

上記の背景を踏まえて本研究では、耐冷性の強い C4 植物であるトキワススキ (*M. floridulus*) と近縁種で耐冷性の弱いススキ (*M. sinensis*) を多面的に比較することによって、(1) トキワススキの形態、光合成、代謝生理における特徴を明らかにするとともに、(2) 耐冷性に関する生化学および分子生物学実験に堪えうる実験系の確立し、“冷温耐性”のマーカーとなるメタボライト、酵素活性、酵素遺伝子の特定を目指した。

## 3. 研究の方法

(1) 東京大学弥生キャンパス内の圃場にてトキワススキ(3系統)およびススキ(1系統)を栽培し、年間を通して生育状況を比較するとともに、携帯型光合成測定システムを用いて個葉の CO<sub>2</sub> 吸収速度(見かけの光合成速度)を比較した。また、定期的に葉身のサンプリングを行った。

(2) グロースチャンバー内で低温処理を行うための基本的な実験系を確立するために、株分けした一茎をポットに移植した。移植後約 2 週で腋芽から新芽が抽出したことから、これらを用いて低温処理実験を試みた。

## 4. 研究成果

(1) 研究期間の 3 か年を通して、ススキは 10 月中旬に出穂後、徐々に葉色が薄くなり 12 月下旬から茎葉が枯れ始めた。これに対して、トキワススキは 7 月上旬に出穂し、以後冬期を通じて葉色は濃い緑色を維持し茎葉が枯れることはなかった。また、冬期においても個葉の光合成速度が測定可能であり、且つ新葉の抽出・伸長が認めら

れたことから、ススキの葉身が枯死してしまう冷温下においてもトキワススキでは光合成機能および成長が維持されていることが示唆された。葉の光合成機能を維持したまま越冬する C4 植物はこれまでに報告がないことから、新規な知見であると言える。

(2) 夏期に個葉の光合成速度を比較したところ、ススキに比べてトキワススキで有意に高いことが分かった。トキワススキは一株の大きさ(茎葉重量)がススキの2倍程度になることと合わせて考えると、トキワススキはススキに比べて、春から夏にかけてのバイオマス生産能が圧倒的に高いことが示唆された。研究例がほとんどないトキワススキを、近縁種であるススキと同条件で栽培・比較して得た知見は、今後、研究を進める上で重要な基本情報になると考える。

(3) ポット栽培した植物体を用いて冷温処理実験を行った。はじめに、昼 30 (12 時間)/夜 22 で生育させた後に、10 (昼夜一定)の低温処理を2週間施し、葉色の变化や生育を観察したところ、予想に反してススキよりトキワススキの方が葉色の变化(アントシアニンの蓄積)がより顕著で、生育が明らかに悪くなった。さらに、冷温処理前の栽培条件(ポットの大きさ、温度、日長)および冷温処理条件(温度、期間)を変えて検討したが、いずれにおいてもススキよりトキワススキの方が冷温処理時における生育が悪くなった。このことは、圃場でみられるトキワススキの耐冷性をグロースチャンパー内で再現することが難しいことを示しており、その理由については不明であるが、おそらく根の生育や形態が関係しているものと推察される。

(4) 当初予定していたグロースチャンパー内での栽培・解析、すなわち冷温処理に伴うメタボライト量、酵素活性、遺伝子発現の変化を解析することが困難であること

が明らかになったことから、最終年度には、圃場で栽培した株からサンプリングした葉を用いて、メタボライト量や酵素活性の比較解析を進めた。現在までにトキワススキとススキの間で明確な差異は認められていないが、今後、サンプリング時期を再検討するなどして解析を進め、トキワススキとススキの代謝生理レベルでの違いを明らかにしたい。また、適切な(差異が認められた)サンプルから mRNA を調整し、次世代シーケンサーを用いたトランスクリプトーム解析を予定している。

(5) 3年間の研究によって、トキワススキが夏期には高いバイオマス生産能を持ち、且つ冬期においても光合成機能を維持していることが示唆され、この NADP-ME 型 C4 種の生理生態学的特徴の一端が明らかになった。サトウキビやススキのような NADP-ME 型 C4 植物は、本来、冷温には弱く、トキワススキのように温帯地域の冬期でも常緑を保ち生育を続ける NADP-ME 型 C4 植物は他に例がない。本研究期間内において当初の目標に掲げた代謝レベルや遺伝子レベルでの冷温耐性マーカーの特定には至らなかったものの、今後、トキワススキとススキの比較解析を進め、メタボローム解析やトランスクリプトーム解析を通してトキワススキの冷温耐性機構を明らかにし、寒さに強い C4 作物の育成・開発に繋げたい。

#### < 引用文献 >

- 中川 仁、バイオマス燃料用原料としての熱帯牧草を中心にした草本性バイオマスの特性と品種改良、日本草地学会誌、第 55 巻、2009、274 - 283
- 永富 成紀、サトウキビ、悠書館、品種改良の世界史、2010、285 - 306

#### 5 . 主な発表論文等

〔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)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/croplab/index.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

青木 直大 (AOKI, Naohiro)

東京大学大学院農学生命科学研究科・助教

研究者番号：70466811

### (2) 研究分担者

大杉 立 (OHSUGI, Ryu)

東京大学大学院農学生命科学研究科・教授

研究者番号：40343107