



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

根圏ミネラルストレスに応答する植物地上部の転写 変動に関する研究

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2017-11-13 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 澤木, 克亘 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/55542

氏 名 (本国籍)	澤木 克亘 (愛知県)
学位の種類	博士 (農学)
学位記番号	農博甲第657号
学位授与年月日	平成28年9月26日
学位授与の要件	学位規則第3条第1項該当
研究科及び専攻	連合農学研究科 生物資源科学専攻
研究指導を受けた大学	岐阜大学
学位論文題目	根圏ミネラルストレスに応答する植物地上部の転写変動に関する研究
審査委員会	主査 岐阜大学 教授 山本 義 治 副査 岐阜大学 教授 小山 博 之 副査 静岡大学 教授 森 田 明 雄 副査 岐阜大学 准教授 清 水 将 文

論 文 の 内 容 の 要 旨

土壌溶液中に含まれる毒性を持つイオンは、根の伸長阻害を介して作物の生育を阻害する原因である。根の発達により、“十分な養分と水分”を獲得すれば、植物は旺盛に生育することができるが、不足する場合、土壌改良剤の添加や施肥などで補うことも可能である。このような、根の発達を支配する土壌の毒性イオンレベルや養分環境をモニターする技術の開発は、省資源・作物生産を実現するために重要と考えられる。この研究は、根に対するイオン処理が及ぼす地上部の転写誘導を調べ、様々なイオンに対する影響を評価する方法を提供するものである。その概要は以下の2点に集約できる。

1) シロイヌナズナの根イオンストレス処理における地上部の転写変動の解析

あらかじめ根部を同等のストレス強度でアルミニウム (Al)、カドミウム (Cd)、銅 (Cu)、塩 (NaCl) で処理したシロイヌナズナの地上部の遺伝子発現をマイクロアレイにより網羅的に解析した。発現遺伝子のクラスタリング解析や相対発現量解析などを用いてイオン特異的な応答遺伝子が存在することを明らかにした。アルミニウム過剰処理では、STOP1 転写制御システムに属する、ALS3 遺伝子が特異的に Al 応答することがわかった。土耕栽培でも、本遺伝子の発現が確認され、さらに STOP1 発現抑制組換えタバコでは、遺伝子発現応答が遮断されることから、STOP1 を介した、Al 応答遺伝子が酸性土壌の問題金属である Al の検出に最適であると結論した。

2) 栄養欠乏に応答する分子マーカーの特定

シロイヌナズナを養分欠乏処理すると、窒素、リン酸、カリウムに応答する転写上昇遺

伝子が存在することがわかった。これらの遺伝子には、リン酸欠乏に応答する酸性フォスファターゼ遺伝子や、窒素欠乏に応答する窒素化合物トランスポーター遺伝子の増加などが含まれていた。これらの遺伝子の発現は、欠乏からのリカバリー処理（注；穏やかな欠乏処理を行った後に、適正レベルでの養分を与える処理）で正常レベルに回復するものが認められたことから、施肥管理上使用可能なバイオマーカーであると結論できた。尚、イネでも同様な遺伝子群が特定できたことから、様々な作物種に応用可能なマーカー特定手法であることがわかった、

いわゆる有用微生物の免疫応答をバイオマーカーにより検出する手法に関しては、既に確立されているが、本研究では同様な着想を栄養生理（特に、土壤中のストレスに起因するもの）に適用して、施肥管理の適正化手法の学術的な手法を提供している。特に、酸性土壌障害で問題となるアルミニウムは、カルシウム施肥で軽減できるが、その適正レベルを正確に把握する手法を開発したことは、貧栄養が問題となる東南アジア・南アジア地域での作物生産の適正な管理に貢献すると考えられる。

審 査 結 果 の 要 旨

近年の人口増加に伴う食料問題は国際的な課題となっており、問題解決には潜在的耕作地の耕作地化による耕作地面積の拡大、それによる作物増産が有効な解決方法である。潜在的耕作地においては、土壤中の有害イオン類の蓄積による作物の生育阻害が生じる場合があり、こういった土壌ストレスに対する作物の耐性を解析することは土壌ストレス耐性作物の作出や土壌環境に合わせた栽培作物・栽培法の選択に有効である。本研究では、モデル植物であるシロイヌナズナ及びイネを用い、栄養欠乏および根圏毒性イオンに対する植物地上部の比較トランスクリプトーム解析および有用微生物 *Penicillium pinophilum* sp YS31（以下 YS31 株）による病害抵抗誘導性を転写レベルで評価した。さらに植物の栄養状態を検査する遺伝子発現バイオマーカーの開発を試みた。

栄養欠乏として N、P および K、根圏毒性イオンとして Al、Cd、Cu、NaCl を用い、水耕栽培系による根圏部へのストレス処理を行い、RNA を抽出しマイクロアレイおよび定量的 RT-PCR に利用した。栄養欠乏処理を行ったシロイヌナズナおよびイネ地上部のマイクロアレイ解析より、N、P、または K 欠乏のストレスに特異的な発現応答を示す遺伝子があることが判明した。N または P 欠乏による発現誘導性遺伝子にはトランスポーター遺伝子や代謝に関わる酵素遺伝子が含まれていた。更に二次代謝産物に関与する遺伝子が多く含まれており、栄養欠乏による代謝の攪乱により地上部で酸化ストレスが生じている可能性が示唆された。K 処理では浸透圧および細胞壁に関連する遺伝子群が変動していた。N または P 欠乏に特異的に発現誘導または抑制される遺伝子を同定し、これらをバイオマーカーとして植物の栄養状態を評価できるかどうかを定量的 RT-PCR により確認したところ、高い特異性および精度で判定することのできるマーカーが含まれていることが確かめられた。根圏毒性イオンストレスを用いたマイクロアレイ解析では、4 種のイオンに共通して強く誘導される遺伝子に浸透圧耐性に関わる遺伝子と Fe 欠乏誘導性遺伝子が同定された。Al イオンに特異的に応答するものとして

ALS3 および PGIP1、Cd と Cu イオン処理で共通して応答しかつ Al、NaCl では応答しない遺伝子として二次代謝に関わる遺伝子および病害応答性遺伝子、NaCl で特異的に応答する遺伝子として DREB2A などの浸透圧ストレス応答性遺伝子群が確認された。選抜された遺伝子について定量的 RT-PCR により発現特異性の評価を行ったところ、高い応答特異性を示すバイオマーカーが得られていることを確認できた。

YS31 株はイネ病害の発病を抑止することから微生物資材として期待されている。しかし、分子レベルでの病害抑止メカニズムについては知られていないため、本研究においてゲノムワイドな遺伝子発現応答を解析した。シロイヌナズナおよびイネに YS31 株を感染させた後の遺伝子発現解析から、いずれの植物種においても PR ファミリーや二次代謝に関与する酵素遺伝子、活性酸素除去遺伝子といった病害抵抗性遺伝子群が発現誘導されていることから、YS31 株は感染により両植物が持つ病害抵抗性のしくみを活性化することで病害を阻害している、ということが示唆された。

本研究ではシロイヌナズナ・イネの比較トランスクリプトーム解析を用いることで、植物が普遍的に持つ土壌ストレス応答についての知見を得ることができた。本研究により開発されたバイオマーカーを用いることで植物の生育状況を的確にモニタリングすることが可能であり、作物生産量の安定生産及び不良土壌地における低投資栽培を可能にすることができる。

以上について、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合農学研究科の学位論文として十分価値あるものと認めた。

基礎となる学術論文

*Sawaki, K., Sawaki, Y., Zhao, C.R., Kobayashi, Y. and Koyama, H.: Specific transcriptomic response in the shoots of *Arabidopsis thaliana* after exposure to Al rhizotoxicity: - Potential gene expression biomarkers for evaluating Al toxicity in soils. *Plant and Soil* (in press).

*澤木克亘, 佐伯裕作, 清水将文, 小林佑理子, 小山博之: *Penicillium pinophilum* 接種によるシロイヌナズナの病害抵抗誘導性の評価. *無菌生物* 46: 75-78, 2016.