

洪水を受けた植物から得られる生育・分子生物学的情報による水理量推定に関する基礎的検討

石川工業高等専門学校 正会員 ○鈴木 洋之
 上智大学 鈴木 伸洋
 横浜国立大学 志垣 俊介

1. はじめに

植物は外力によるストレスに応じて生育・分子生物学的応答を示す。すなわち、河道内植生は過去の洪水情報を生育・分子生物学的情報の形で持つと考えられる。本研究では流れを受けた植物のストレス応答を調べて、植物の生育・分子生物学的情報から水理情報を抽出するという前例のない手法確立の可能性を探ることを試みた。

2. 実験方法

実験には全ゲノム情報が明らかなシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) を用いた。実験では培養土ポットで約1か月生育したシロイヌナズナ 10 サンプルを水路に配置して30分間通水してストレスを负荷した(図-1)。また培養土ポット底部からの水深が10cmとなる静水中に30分間沈水させたサンプル(静水圧)と负荷を与えないサンプルを作成した。実験条件は培養土ポットのみを設置した水路で水路底部からの水深が10cm, 固定金具上の底部流速 u_b (図-1) が設定流速となるように流量と水路末端の堰を調節して定めた(表-1)。负荷実験は同一条件で5回実施した。実験後は分子生物学的分析を3回, 葉径の成長時系列の計測と葉重量の計測をそれぞれ1回行った。

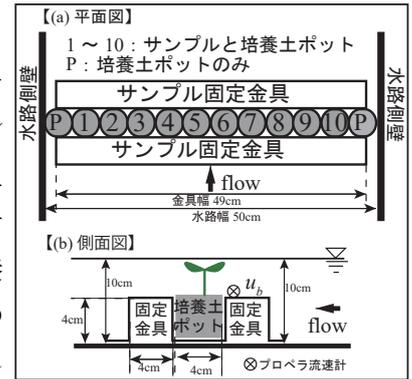


図-1 サンプルの配置と実験概要

3. 実験結果

図-2に5回の负荷実験で計測された u_b の平均値と標準偏差で表した横断流速分布を负荷流量毎に示す。流速の横断分布はほぼ一様であり, 10個のサンプルは同様の流れ場にあると判断できる。標準偏差で確認できる流速の変動幅は葉形のバラツキによるものであり, 5回の実験では同じ负荷流量であれば全てのサンプルに同じストレスが负荷されたと判断した。

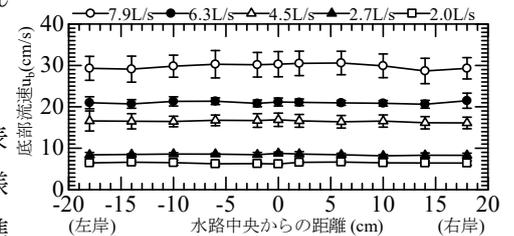


図-2 负荷流量毎の平均流速横断分布

図-3は负荷実験から1か月間生育したサンプルについて负荷流量毎に平均葉径と標準偏差で表した葉径時系列である。负荷流量の増加に伴って, 葉径が小さくなるのが確認できる。また, ストレスが植物に与える影響は強度や時間により変化し, 植物の生長を促進させることもある。负荷流量6.3L/sのサンプルのみ異なる挙動を示すのは偶然的に成長を促進させるストレスに相当したためと考えている。これは植物のストレス応答から水理情報を抽出するにあたり, 今後更なる検討が必要な事項と言える。

流速 u_b の流れがサンプルに与える抗力は表-2式(1)で与えられる。実験時の葉径は全サンプルでほぼ同じ

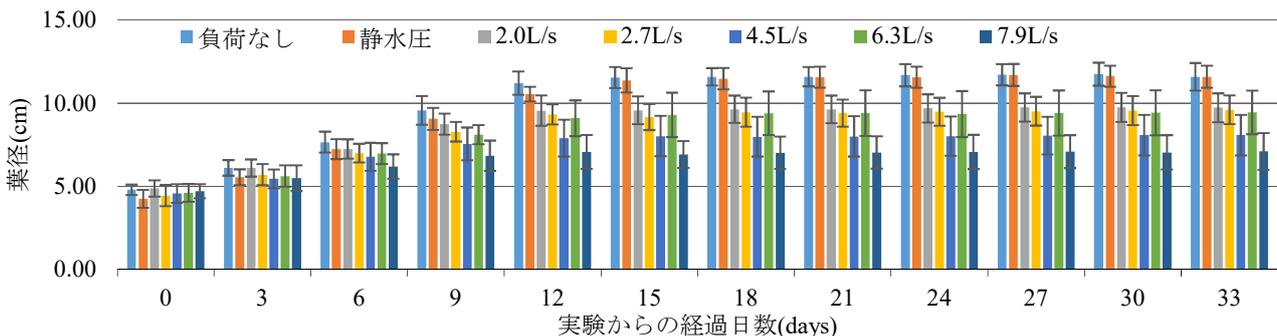


図-3 负荷流量毎の平均葉径時系列

表-1 実験条件 (負荷流量と設定流速)

負荷流量 (L/s)	負荷無し	静水圧	2.0	2.7	4.5	6.3	7.9
設定流速 (cm/s)		0.0	5.0	10.0	15.0	20.0	30.0

表-2 式一覧

$$D = \frac{1}{2} \rho C_D A U^2 \quad (1) \quad \Delta L(d) = L(d) - L(0) \quad (2)$$

$$\Delta L(d) = K(1 - \exp(-d/T)) \quad (3)$$

D =抗力, ρ =水密度, C_D =抵抗係数, A =物体の射影面積, U =流速, $\Delta L(d)$ =実験から d 日の葉径増加量, $L(d)$ =実験から d 日の葉径, $L(0)$ =負荷実験時の葉径, K =ゲイン, T =時定数

であり、負荷流量毎にサンプル背後の後流領域が大きく変わらなるとすれば、 A と C_D は一定とみなせるので、 U^2 が抗力 D を表す指標となる。図-4(a)(b) はそれぞれ実験から 24 日目の葉径・葉重量と u_b^2 の関係である。また、この関係を 1 次関数で近似した結果と相関係数 r を併記した。 u_b^2 の増大に伴う葉径・葉重量の減少が高い相関係数で再現される。すなわち、流れの抗力が外力となって植物にストレスを与えるのが分かる。また、葉径・葉重量と u_b^2 が示す直線性は水理量の抽出に都合の良い特性と言える。

図-5 は表-2 式 (2) で定義する葉径増加量の平均値で表した葉径増加量の時系列である。経過日数と共に小さくなる葉径増加量の変化を一次遅れ系のステップ応答 (表-2 式 (3)) で K と T を推定して近似した結果を図-5 に併記した。葉径増加量は一次遅れ系で精度よく表現できるため、葉径を表すゲイン K と水理量の関係を明らかにすることで、葉径から水理量を推定できる可能性が示された。

葉のストレス応答に関与する分子生物学的情報は数が多く、どの遺伝子が抗力の影響を受けるかはまだ分からない。そこで本研究ではどのようなストレスを受けても必ず応答が現れる活性酸素の制御に関わる遺伝子の発現を解析した。遺伝子の発現解析には多くの先行研究¹⁾²⁾に採用されている RT-PCR 法を用いた。解析対象は活性酸素の除去に関与する遺伝子である (a)*Cat2*、活性酸素の生成に関与する遺伝子である (b)*RbohD* と (c)*RbohF*、これらの遺伝子を制御する (d)*Wrky40* とした。図-6 はこれらの遺伝子の発現量を負荷流量毎に示している。いずれの遺伝子も負荷流量の増大に伴い発現量が上昇する。これは抗力によるストレスが *RbohD* と *RbohF* による活性酸素の発生を誘発したことを示している。しかし、同時に *Cat2* によって植物に有害となる活性酸素の除去機能が作用したと考えられる。また、これらの遺伝子を制御する *Wrky40* も負荷流量に応じて発現量が増大することから、これらの分子生物学的応答は抗力という水理量が引き起こしたと推測される。

4. おわりに

本研究により植物が過去に受けた洪水の水理情報を植物分子生物学的情報の形で保有する可能性が示された。今後もこの植物を用いた新たな技術の確立を目指して、データ蓄積を継続する考えである。

参考文献

1)Suzuki N, Bajad S, Shuman J, Shulaev V, Mittler R: The transcriptional co-activator MBF1c is a key regulator of thermotolerance in *Arabidopsis thaliana*, *Journal of Biological Chemistry*, 283(14), pp. 9269-9275, 2008.
 2)Kong Y, Zhou G, Yin Y, Xu Y, Pattathil S, Hahn MG: Molecular analysis of a family of *Arabidopsis* genes related to galacturonosyltransferases, *Plant Physiology*, 155(4), pp. 1791-1805, 2011.

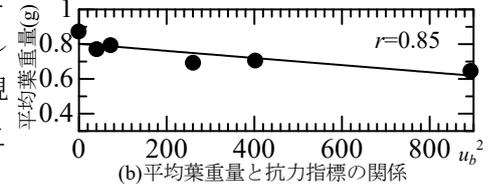
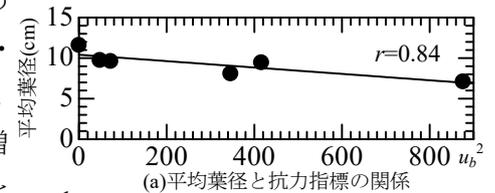


図-4 葉径・葉重量と抗力指標との関係

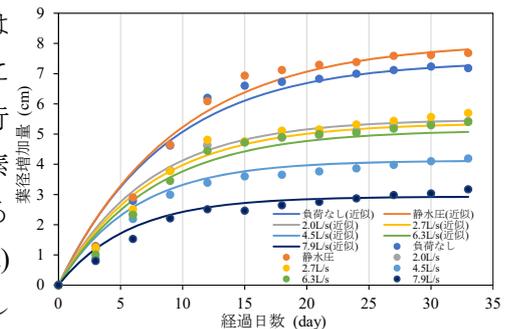


図-5 負荷流量毎の葉径増加量時系列

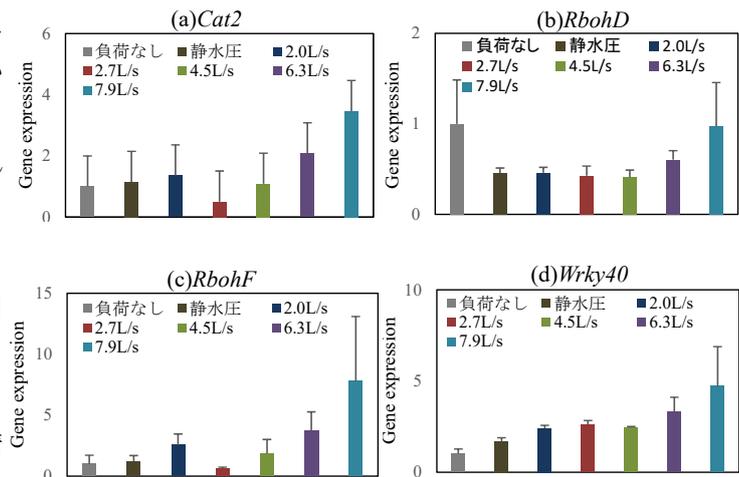


図-6 負荷流量毎の遺伝子発現解析の結果