植物の光応答を利用した栽培促進手法の開発

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2017-10-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 佐藤, 正幸, Sato, Masayuki メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/43870

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.

学位論文要旨

植物の光応答を利用した栽培促進手法の開発

Development of cultivation technique for yield expansion utilizing the light signal responses of the plants

金沢大学大学院自然科学研究科　生命科学専攻
佐藤正幸

Abstract

We confirmed that the green light irradiation in dark resulted in a jasmonic acid (JA) expression, induction of flowering in both of strawberry (Houkouwase) and *Arabidopsis thaliana* plants and 15% increase of fruits yield compared with normal light conditions in strawberry cultivation. JA is known as a signal transduction hormone which enhances the defense gene expression and suppresses the growth of plants. We also confirmed that salicylic acid (SA) was induced by blue light irradiation in dark in strawberry cultivation, but this SA induction by blue light was not observed in *A. thaliana*. Red light irradiation in dark increased fruit yield due to relatively large fruits. This suggests auxin (IAA) induction by red light signal in dark. These results suggest that monochromatic light irradiation in dark specifically controls plant hormone expression through an activation of light signal transduction mechanisms, which causes a specific photomorphogenesis. The mechanism of fruit yield increase by green light irradiation in dark has remained to be solved. To elucidate the phenomenon, we made a hypothesis that induced JA, as a signal of shade avoidance, by green light irradiation in dark strengthen a mechanism of IAA induction as homeostatic reaction, and the homeostatic mechanism function by following sun light irradiation in day light time. According to this hypothesis, we tested whether sequential light treatment of red or blue light irradiation after green light irradiation in dark enhance more strongly to the IAA induction than the green light treatment only. Far red and green light in the sun light may cause negatively to homeostasis and monochromatic red or blue light may enhances strongly the green light signal in the dark. Thus we have set up four strawberry cultivation group, red light irradiation in dark after green light irradiation in dark group (G-R group), blue light irradiation in dark after green light irradiation in dark group (G-B group), green light irradiation in dark group (Green group) and no irradiation group (Non group). Although a number of flowering was induced in G-B light regime, leaves area were relatively small and fruits yield did not increased as much as increased flowering. In G-R group leaves area were relatively large, fruits yield increased 91% compared with Non group and both of JA and IAA levels in shoots increased. Sequential light treatment of red light irradiation after green light irradiation in dark (G-R method) will be a new cultivation technique to increase fruits yield using light signal response and photomorphogenesis in strawberry and other plants.

１．初めに

Kevin M. Folta が 2007 年に緑色光に関する Review Paper [1] を

報告しているが、その題名が Green light: a signal to slowdown or stop である。植物にとって緑色光は成長を抑制または阻害する光質として扱われている。例外的に光飽和した状態の植物の葉において、緑色光が青や赤色光より吸収されていると KIM et al.(2004) [2]、寺島（2010）[3]が報告している。一方 R.KUDO　et al. (2010)[4] が報告している「暗期の緑色光短時間照射が病害耐性を誘導し、かつイチゴなど作物の収量増加となる」との報告は、暗期での短時間の緑色光照射という条件の特殊性と、病害応答誘導および収量増加という農業にとって理想的な手法になる可能性がある点で著者の興味を引いた。しかしそのメカニズムは解明されていなかった。著者は日本の農業において、安全でかつ単収増加につながる生産手法の開発を学術と技術を結集して実施すべきと考えていたので、この暗期緑色光照射によって発生する現象の再現性の確認とメカニズムの解明を研究テーマに設定した。

２．暗期照射の単色光による植物ホルモンの誘導と緑色光による病害耐性向上効果

植物の病害耐性向上の信号伝達物質としてジャスモン酸とサリチル酸の両植物ホルモンが知られている。ジャスモン酸が誘導されると壊死細胞に寄生するネクロトロフィックな病原体に対する耐性が増強され、また食害応答も誘導することが報告されている [5]。またサリチル酸によって全身獲得性抵抗（SAR）が誘導され、うどん粉病など活細胞に寄生するバイオトロフィックな病原体に対する耐性が

増強されること、またサリチル酸とジャスモン酸には拮抗作用があることが報告されている[6]。

著者のイチゴの栽培試験の結果、暗期照射の緑色光が Fig.1 に示すようにジャスモン酸を誘導し、暗期照射の青色光が Fig.2 に示すようにサリチル酸を誘導することを確認した。またジャスモン酸誘導が確認された緑色光照射区では Fig.3 に示すようにハダニの被害量が抑制されており食害応答も誘導されていることを確認した。また暗期照射の緑色光によるジャスモン酸誘導は、活物寄生糸状菌であるうどん粉病に対して防御効果がなかったが、これは状来の報告と一致していた。また暗期照射の赤色光によりトマトでは成長促進の植物ホルモンであるオーキシンが誘導されたとの報告があるが[7]、著者の実験でも暗期照射の赤色光によってイチゴの果実肥大が進み収量が増加したことからオーキシン誘導を示唆していた。

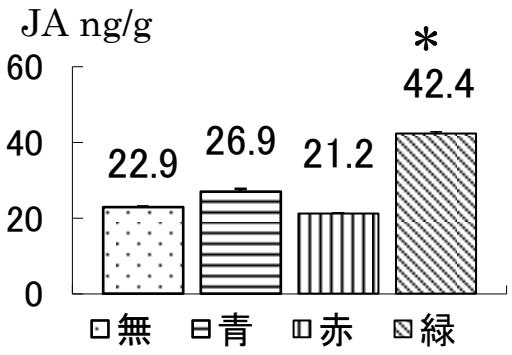

Fig.1　ジャスモン酸内在量

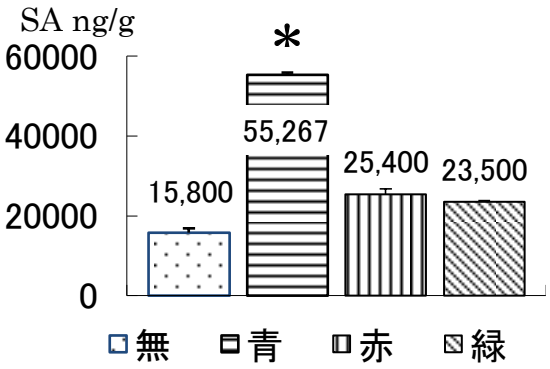

Fig. 2　サリチル酸内在量

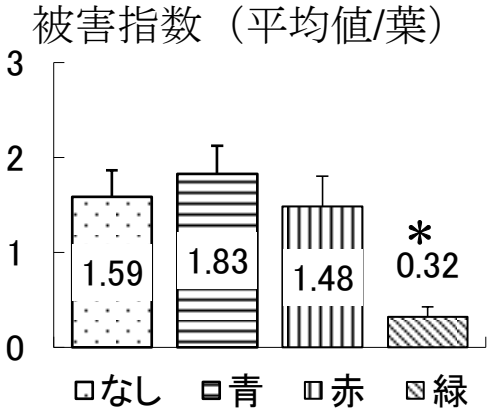

Table.1　ハダニ被害量スコア

スコア	葉の状況
5	蜘蛛の巣が葉を覆った状態
4	葉裏は全体が変色、葉表は斑点状に変色
3	葉裏は全体変色、葉表変化ない。
2	葉裏は斑点状変色、葉表変化ない
1	葉裏に黒点状にハダニ検出、葉の変色なし
0	被害なし

Fig.3　ハダニ被害指数（Table.1 の被害量スコアから算出）

３．暗期照射の緑色光によるイチゴの収量増加

非照射区との比較では、暗期照射の緑色光によって Fig.4 のように開花が促進された。４年間の継続した栽培の平均で Fig.5 のように１５％の果実収量増加となった。但し開花数の差異ほどには果実収量の差異はなかった。果実収量の統計検定での有意差は 2012 年の栽培で検出されたが、他の３年間では有意差は認められなかった。

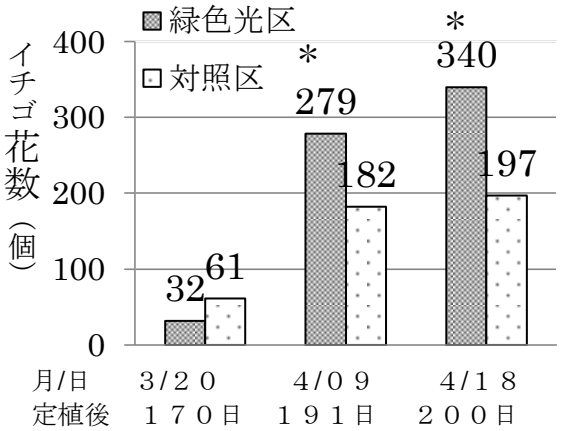

Fig.4 暗期緑色光照射による開花促進効果

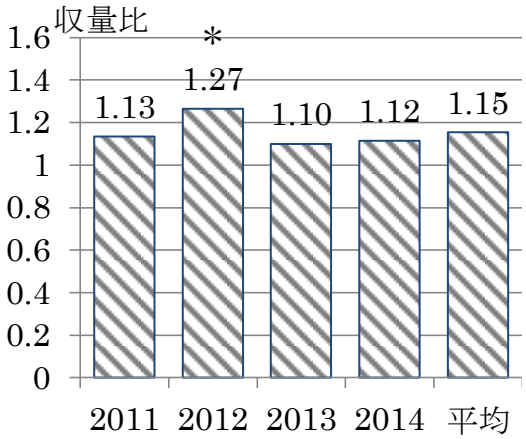

Fig.5 暗期緑色光照射によるイチゴ果実収量増加効果（非照射区との収量比較）

４．シロイヌナズナ変異体を使った緑色光効果のメカニズムの究明

青色光の受容体のクリプトクロムが緑色光受容の候補である可能性が強いと判断し、クリプトクロム１の欠損変異体 *cry1* とクリプトクロム２の欠損変異体 *cry2* の種子と比較対照のための野生株 Col-0 のシロイヌナズナの種子を入手した。またイチゴへの緑色光照射で発生していたジャスモン酸の影響を調べるためジャスモン酸イソロイシン合成酵素欠損変異体の *jar1* の種子を入手し、暗期緑色光照射区と暗期青色光照射区と非照射区の３栽培区を作り人工気象器内で栽培試験した。発芽２週間までは MS 培地で育成し、根長、葉数、茎長などを計測後 100ml のポリポット内の土壌培地に移植し人工気象器内に戻し開花まで育成した。この結果から暗期照射の緑色光によるジャスモン酸誘導と根長抑制は *cry2* と *cry1* および Col-0 との比較検証結果から、クリプトクロム２が緑色光の受容体となって起きる現象であると推察した。また *cry2* 変異体は開花が極端に遅れていることから、クリプトクロム２が緑色光の受容体となって開花を促進していることを示唆している。この現象はシロイヌナズナでは師管伴細胞のクリプトクロム２が開花を促進する光受容体であるとの報告[8)]や、クリプトクロム２は半還元状態の時に緑色光を吸収できるとの報告[9)]とも一致していた。また *jar1* の開花が有意に早いことからジャスモン酸は開花には抑制的に作用していることを示唆している。しかしながら、これまでのイチゴとシロイヌナズナの栽培試験結果からは暗期の緑色光照射によるイチゴ収量増加のメカニズム

が解明できていない。イチゴ果実肥大にはオーキシンの供給が不可欠である[10]が、このオーキシンの供給が緑色光照射で果たして起きるのかが不明であった。関連文献の調査から、植物ホルモンのクロストークに関してジャスモン酸がオーキシンの生合成酵素のYUCCA 増加を刺激しており[11]、一方オーキシンがジャスモン酸生合成経路の信号受容部位のJAZリプレッサー発現を刺激している[12]との報告があった。これはあたかも発現したジャスモン酸が反転するために必要なオーキシンの発現の準備をしているようであった。また緑色光によって植物が日陰を感知し、ジャスモン酸を信号伝達手段として成長抑制的な日陰応答を誘導していると仮定すると、光環境が改善した時に即時に反転できるようにオーキシンの発現体制を準備しておき、陽光照射を受容した時にオーキシン発現させて再び成長促進モードに移行することは十分に考えられる。このことから『暗期の緑色光照射によりイチゴの収量が増加となったのは開花促進だけではなく、同時に発現したジャスモン酸がオーキシン誘導の体制を準備し翌日以降の太陽光照射によりオーキシン誘導が促進された結果である。』とのホメオスタシス仮説を設定した。

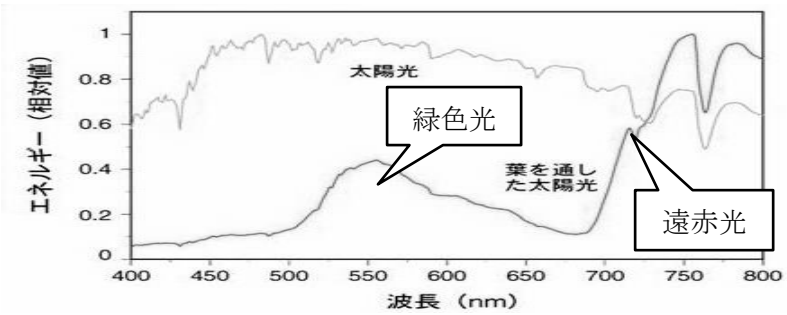

Fig.6 太陽光と緑葉日陰光の比較

この仮説が正しければホメオスタシス効果に抑制的な光質の緑色光や遠赤光を含む太陽光よりも、オーキシンの誘導を示唆している暗期赤色光照射を暗期緑色光照射の後に組み合わせる方法（G-R 法)、または開花を抑制しているジャスモン酸をサリチル酸で消去することで開花誘導を促進し、結果として収量拡大の可能性がある暗期青色光照射を組み合わせる方法（G-B 法）は、単なる暗期緑色光照射より収量を増加させる可能性があると想定できる。この想定のもとに実施した暗期緑色光照射と暗期青色光照射を組み合わせた G-B 法によるイチゴ栽培試験では、開花が極端に多くなったのはサリチル酸によるジャスモン酸消去が開花を促進させるとの想定通りであったが、果実の肥大は進まず開花数の割には果実の収量は増加しなかった。イチゴにおいて青色光がオーキシンを誘導できないことがその原因であろう。一方暗期緑色光照射と暗期赤色光照射を組み合わせた G-R 法によるイチゴ栽培試験では Fig.8, Fig.9 のようにシュート部位の生育が旺盛であり、かつ開花が促進されている。更に Fig.10 に示すようにオーキシン誘導が強化されるため果実肥大が進み収量は非照射区に対して９１％の増加（Fig. 7 参照）となった。また Fig.11 に示すように G-R 区ではジャスモン酸誘導も強化されている。この結果はジャスモン酸とオーキシンの相互作用の報告 [11)12)]と一致している。これらは「暗期の緑色光照射によるイチゴ果実収量増加はジャスモン酸とオーキシンのホメオスタシス効果による」仮説の正しさを示している。

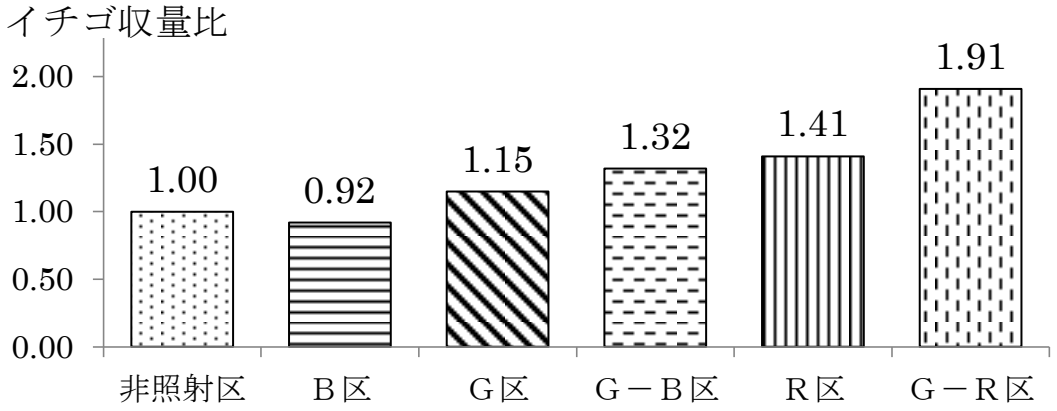

Fig.7 光処理によるイチゴ収量（非照射対照区の収量との比率）

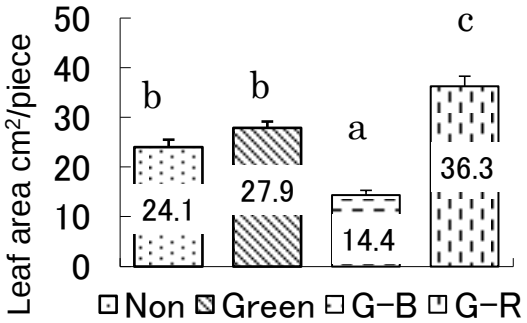

Fig.8 光処理と葉面積比較

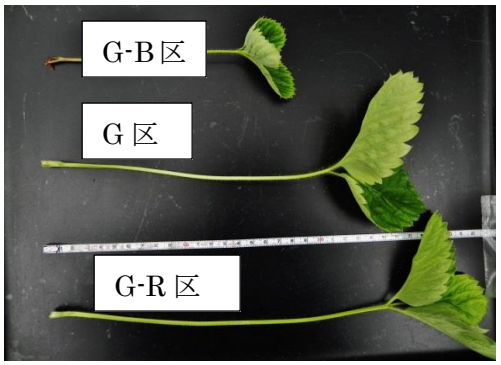

Fig.9 光処理と葉茎成長差
上から G-B 区、G 区、G-R 区

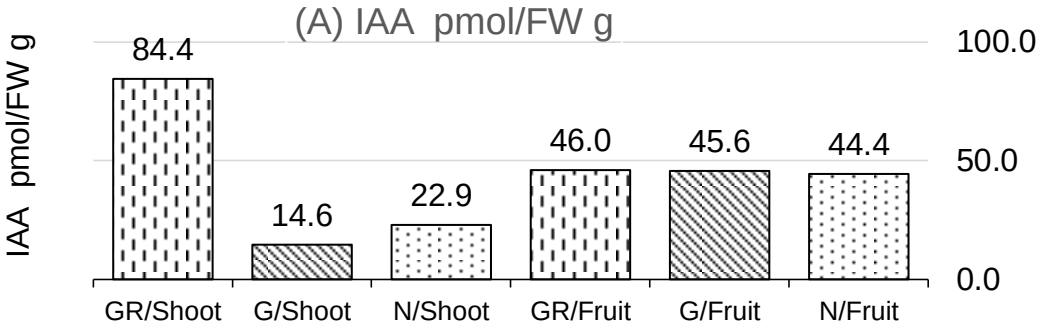

Fig.10 オーキシン（IAA）内在量

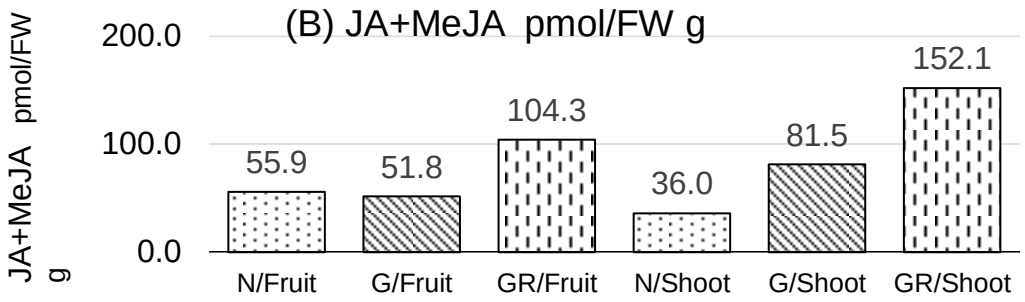

Fig.11 ジャスモン酸とジャスモン酸メチル合計内在量

今回の検証の過程で開発した G-R 法は、植物に固有の光応答を刺激して成長を促進する新規の栽培手法であり、農業生産の革新に貢献できると考えている。Fig.12 に従来の報告と今回の研究で確認した結果から想定したメカニズムを示す。

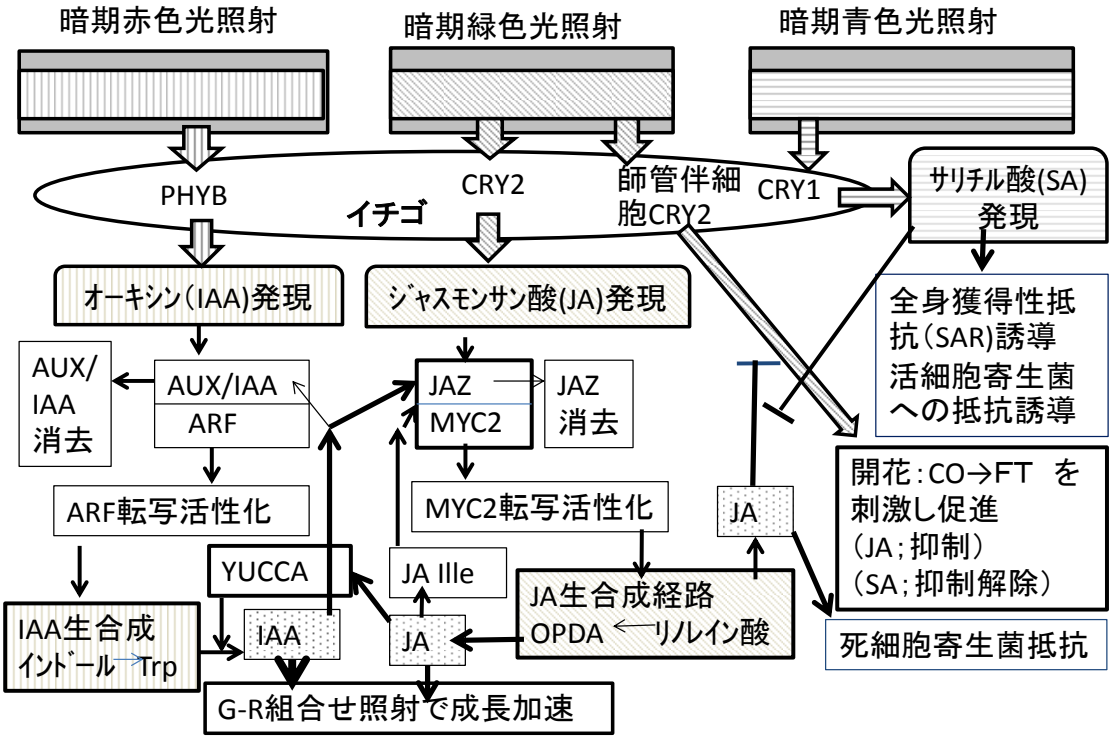

Fig.12 暗期の単色光照射による現象のメカニズム説明モデル

引用文献

1) Kevin M. Folta, Stefanie A. Maruhnich: Green light, a signal to slow down or stop. Journal of Experimental Botany Advance Access published July 13, 2007

2) Hyeon Hye Kim, Gregory D. Goins, Raymond M. Wheeler, John C. Sagaer, Green- light Supplementation for Enhanced Lettuce Growth under Red and Blue- light -emitting Diods, Hort Science 39(7) :1617-1622, 2004

3) 寺島一郎、葉が緑色なのは緑色光を効率よく利用するためである：研究紹介、光合成研究（２０）１，２０１０

4) 工藤りか、山本敬司、石田豊：農作物への緑色光照射技術の開発-緑色光の多様な効果について-日本生物環境工学会２０１０年大会（京都）講演要旨.294-295.2010

5) Fuminori Takahashi, Riichiro Yoshida, Kazuya Tsuyoshi , Mizoguchi, Shigemi Seo, Masahiro Yonezawa, Kyonoshin Maruyamaf, Kazuko Yamaguchi-Shinozaki and Kazuo Shinozakia. The Mitogen-Activated Protein Kinase Cascade MKK3–MPK6 Is an Important Part of the Jasmonate Signal Transduction Pathway in Arabidopsis. The Plant Cell March 2007 vol.19 no.3 805-818

6) Antonio Leon-Ryyes, Dieuwertje Van der Does, Elvira S. Lange, Carolin Delker, Claus Wasternack, Saskia C.M. Van der Wees, Tita Ritsema, Corne M.J. Pieterse: Salicylate mediated suppression of jasmonate-responsive gene expression in Arabidopsis is targeted downstream of the jasmonate biosynthesis pathway. Planta (2010) 232; 1423-1432

7) Xing Liu, Jerry D. Cohen, and Gary Gardner.: Low-Fluence Red Light Increases The Transport and Biosynthesis of Auxin. Plant Physiology, October 2011, Vol.157, pp891-904

8) Motomu Endo, Nobuyoshi Mochizuki, Tomomi Suzuki, and Akira Nagatani CRYPTOCHROME2 in Vascular Bundles Regulates Flowering in Arabidopsis. The Plant Cell, Vol. 19: 84–93, January 2007

9) Roopa Banerjee, Erik Schleicher, Stefan Meier, Rafael Mun˜ oz Viana, Richard Pokorny, Margaret Ahmad, Robert Bittl, and Alfred Batschauer. The Signaling State of *Arabidopsis* Cryptochrome 2 Contains Flavin Semiquinone. THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY VOL. 282, NO. 20, pp. 14916–14922, May 18, 2007

10) Lincoln Taiz, Eduardo Zeiger. Sinauer associates In.: Plant Physiology Fifth Edition. Chapter 19, Auxin: The First Discovered Plant Growth Hormone. 577-578, 2010

11) Mathias Hentrich, Christine B€ottcher, Petra D€uchting, Youfa Cheng, Yunde Zhao, Oliver Berkowitz, Josette Masle,Joaquın Medina and Stephan Pollmann, The jasmonic acid signaling pathway is linked to auxin homeostasis through the modulation of YUCCA8 and YUCCA9 gene expression. The Plant Journal (2013) 74, 626–637

12) Wim Grunewald1, Bartel Vanholme, Laurens Pauwels, Eva Plovie, Dirk Inze, Godelieve Gheysen & Alain Goossens. Expression of the Arabidopsis jasmonate signalling repressor JAZ1/TIFY10A is stimulated by auxin. EMBO report VOL 10 | NO 8 | 2009.

平成 27 年 2 月 2 日

学位論文審査報告書（甲）

1．学位論文題目（外国語の場合は和訳を付けること。）

植物の光応答を利用した栽培促進手法の開発

2．論文提出者　(1) 所　　属　　生命科学専攻

(2) 氏　　名　　佐藤　正幸（ふりがな：さとう まさゆき）

3．審査結果の要旨（600～650 字）

2009 年に未来型植物工場の実現を目指した研究に着手し、経済的合理性のある持続可能なシステムを構築するためには、太陽光を利用することを前提とし、解決すべき問題の設定を行った。完全閉鎖型の人工環境ではないため、施設内の温度並びに光環境を制御するための機構の開発を進めるとともに、その施設内で生育させる植物そのものがもつ環境応答機構について基礎研究を実施した。イチゴの栽培実験を継続して実施し、暗期緑色光照射と暗期赤色光照射を組合せる光刺戟法（G-R 法）を単位面積当たりの収量を大幅に改善する新規の栽培手法として提唱するに至った。このメカニズムとして、植物が本来示す光質判定メカニズム、光質に対応した信号伝達物質として植物ホルモンを発現させる機能、および植物ホルモン間のクロストークによるホメオスタシス機能について仮説を立て、モデル植物であるシロイヌナズナの変異体を用いた実験により検証した。研究開始時点では、緑色光照射が植物の生育に与える効果については、経験的に知られてはいたが、応答機構の詳細は不明であった。栽培植物の収量改善にとどまらず、そのメカニズムについてモデル植物を用いた実験により解明するに至った点は、植物の光信号応答機構を基礎科学的観点から研究するとともに、さらに自然のもつ原理に基づいた栽培促進手法として応用することを目指した融合研究として刮目に値する。以上の研究成果は当該学問分野における新知見を含むものであり、審査委員会として博士（理学）に値すると判断した。

4．審査結果　　(1) 判　　定（いずれかに○印）　合　格　・　不合格

(2) 授与学位　　博　士（理学）