

令和 2 年 7 月 6 日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K07651

研究課題名(和文) 単子葉植物の根が産生する過酸化水素の耐湿性に対する寄与解明

研究課題名(英文) Relationship between the hydrogen peroxide leakage from monocot root and its flooding tolerance

研究代表者

乙部 和紀(OTOBE, KAZUNORI)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・中央農業研究センター・主席研究員

研究者番号：50355517

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,400,000円

研究成果の概要(和文)：生体内至る所で必ず発生する過酸化水素(HP)は容易に酸素に変わるため、水に浸かって酸素の少ない土の中にある根が生き続ける上で重要な意味を持つ。HPが果たす役割を調べるため、耐湿性(水に浸かっても生きられる能力)に違いのあるトウモロコシ品種を水耕栽培して、根から漏れ出すHP量の違いを調べた。その結果、耐湿性の高い根は漏れ出すHP量(HPのロス)が少ない傾向にあることが示唆された。さらに根の耐湿性を高める機能を有する通気組織量が多い根ほど、根から発生する化学発光量(生成HP量に対応)が減少する傾向にあることを見いだした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

地球温暖化による劇的な気候変動に備え、穀物などの栽培品種に対する各種耐環境付与は喫緊の課題である。なかでも我が国では耐乾性向上もさることながら、豪雨・長雨などによる湿潤環境への適応性向上が強く求められている。本研究は、生物が本質的に有する「毒物である過酸化水素の体内生産」という負の側面を「生命活動への積極的な利用」という正の側面からアプローチして説明しようとする試みでもあり、耐環境性付与の要件解明という社会的意義だけでなく、生命活動の本質に迫ろうとする点で、学術的意義を有している。

研究成果の概要(英文)：Biological production of harmful hydrogen peroxide (HP), byproduct consequent on respiration or photosynthesis in cellular organisms, is converted to oxygen essential for aerobic activities of living things. In rhizosphere, the conflicting aspects of the production is highlighted since, without oxygen source, its anaerobic circumstances suffocate the roots of higher plants. We have hypothesized that HP production in the roots may provide a solution of the rhizosphere mystery. We utilized maize interspecific introgression lines having known trait variations in flooding tolerance and their roots of seedlings were evaluated by their HP producing behaviors. Correlation coefficients among the prior knowledge on the trait variations and detected behaviors suggested a weak, positive correlation between the HP leakage from the roots and a trait of leaf injury. In addition, the other negative correlation between a trait on aerenchyma formation and chemiluminescence from the roots was hinted.

研究分野：農学

キーワード：耐湿性 過酸化水素 単子葉植物 根圏

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

多くの作物は冠水に脆弱で、「湿害」と呼ばれる症状を呈する。その原因は根圏の酸欠による根組織の細胞質アシドーシス(酸性化)・細胞死と、これによる吸水障害であると考えられている(Tournaire-Roux et al., 2003)。一般的には、植物の耐湿性機序には根の通気組織形成が重要とされているが、他の要因も関与していると考えられている。なかでも「湿害は根通気組織からの酸素漏失(ROL)によって助長される」との仮説が有力視されており、根組織のROLバリア性検証に関心が高まっている(山内&中園, 2015)。一方、植物ではミトコンドリアや葉緑体で過酸化水素(HP)が産生されるが、カタラーゼなどにより、安全かつ容易に酸素に変換・再利用されるだけでなく、過敏反応などの生体防御、細胞増殖シグナル、通気組織形成への寄与も報告されている(Perez & Brown, 2014)。加えて作物生産力の指標と目される「根の酸化力」研究では、根組織が産生する過酸化水素(HP)が酸化(酸素供給)力の実体と考えられている(Matsuoka, 1960)。一見、相反するかに見える根が有するこれらの特性に整合性を持たせる研究が求められている。

2. 研究の目的

生物が活動する上で必然的に生体内至る所で生成されるHPを、新たに酸素供給源として位置づけ、当該機能に着目することにより、「根のHP漏出性もまた、耐湿性に関与する」との仮説を設定し、これを検証することを目的とした。具体的には、Mano & Omori (2013)が作出した耐湿性に差異のあるトウモロコシ交配系統を用いて、種子根からのHP漏出性と耐湿性との関連を、栽培環境要因の寄与を加味しながら検証を進めた。

3. 研究の方法

(1)HP漏出性は生成量に対する漏出量の割合として求められるため、食品の抗酸化活性評価法をベースに開発した種子根HP生成量測定法を用いてこれらの指標とした。具体的には種子根を一定時間溶液中に浸した際に根から漏出したHPにより、溶液に含まれるアミノアンチピリン(AAP)の発色量を漏出したHP量の指標とした(以下、AAP法)。同時並行で、同じ処理群から採取した種子根をセルに入れて蒸留水に浸した状態で、暗条件において観察される化学発光量を根固有のHP生成量の指標とした(以下、CL法)。

(2)両手法を用いて、耐湿性が既知のトウモロコシ染色体部分置換系統(IL)(耐湿性遺伝子座周辺の部分置換系統)ならびに交配母本の、栽培条件(土壌物理性・化学性、温度・照光)による応答を比較・調査した。最終的には、耐湿性の特徴抽出に適した栽培条件において調整した種子根について、通気組織形成などの組織学的な検討を加えた上で、HP漏出性指標とMano & Omori (2013)の報告にあるIL毎の耐湿性指標(Leaf Injuryスコア及びAerenchymaスコア)との相関を検討した。

(3)一般的に、植物が根から有機酸を放出して土壌粒子に固定されている様々な栄養分を遊離させ、それを根から吸収することが知られている。この現象とプルシアンブルー(PB)の酸化還元状態ごとの色調変化を利用し、漏出HPによる根圏酸化力の評価を試みた。具体的には、液中では透明化するヒドロゲルシリカの特長(乙部, 2015)を利用して、粉碎ヒドロゲルにPBを固定した培地を調製し、ガンボークB5培地を添加した養液栽培を試験管中で実施した。HP漏出性の異なる交配母本および耐湿性大のILを用いて、試験管内で生じる酸化状態(青)から還元状態(透明)への色調変化を調べた。

4. 研究成果

(1)供試した種子根は、湛水状態で栽培しても根の通気組織形成に至らない生育期間(発芽後1週間以内)において、根のHP生成・漏出が認められ、IL及び交配母本の間で差異が認められた。至適栽培条件を検討した結果、人工培地としてガンボークB5培地を20mL添加したヒドロゲルシリカを充填した500mLの樹脂製コニカルビーカーに種子を5粒播種したのち、30℃恒温槽内のLED照光(>600 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$)下で3日間催芽した。ついで、湛水状態に馴染んだ十分量の種子根を得るため、引き続き脱イオン水で湛水状態に置いて4日間生長させた種子根を最終的な試料として用いることとした。

(2)発芽後に4日間湛水栽培した種子根をIL毎に調査したところ、11日間湛水栽培した際のLIスコア(LI 11d)とAAP法によるHP量との間に弱い正の相関($r=0.466$)が認められた(図1)。

(3)同様に、AerenchymaスコアとCL法によるHP生成指標との間に弱い負の相関($r=-0.494$)が認められた(図2)。

(4)漏出HPによる根圏酸化力は、栽培初期の一定栽培時間で比較した場合、漏出HPの大小に応じてPBの色調変化速度が異なる傾向にあることを見いだした。さらに栽培期間を延長して完全に培地が透明化した状態において、根からの漏出HPにより根及びその近傍が再度、青色に変化する現象を認めた。

(5)以上の結果から、根からの「物質漏出性」は酸素、HP、有機酸類の何れにおいても類似の傾向を示し、「物質漏出性」の観点から根の耐湿性を論じられる可能性のあることが示唆された。

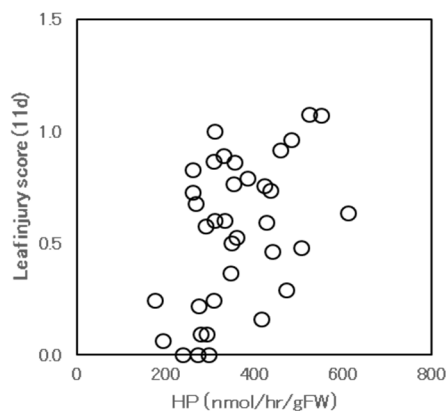


図1 AAP法による漏出HP量とLIスコア

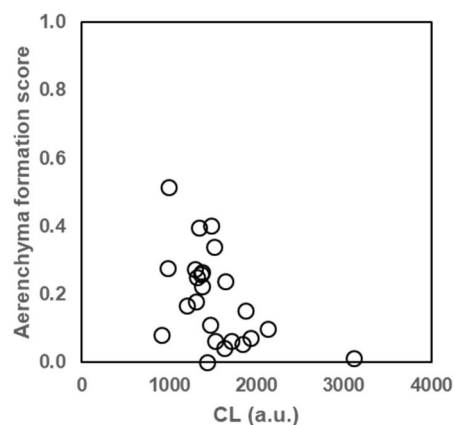


図2 CL法によるHP生成指標とAerenchyma

<引用文献>

- Mano & Omori (2013) *Annals of Botany* 112, 1125-1139.
Matsunaka, S. (1960) *J. Biochem.* 47, 820-829.
Perez, I.B. and Brown, P.J. (2014) *Front. Plant Sci.*, Article 754.
Tournaire-Roux, C. (2003) *Nature* 425, 393-397.
山内, 中園 (2015) *根の研究* 24(1), 23-35.
乙部 (2015) *根の研究* 24(4), 129-132.

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〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----