

令和 2 年 6 月 22 日現在

機関番号：32658

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07572

研究課題名(和文) 酸素律速に着目した湿生植物の高温ストレスと温暖適応機構の解明

研究課題名(英文) Heat responses of wetland plant roots in relation to oxygen restriction

研究代表者

中村 隆俊 (NAKAMURA, Takatoshi)

東京農業大学・生物産業学部・准教授

研究者番号：80408658

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：根圏が低酸素状態にある湿生植物では、根への給気や根の呼吸応答、呼吸で得たエネルギーの分配特性において、温度上昇に対し北方種と南方種で異なる挙動を示すことを明らかにした。高温環境下で給気能力と呼吸速度が上昇する南方種に対し、北方種では高温環境下で給気能力と呼吸速度が大きく低下した。北方種では、呼吸速度低下によるエネルギー不足に対して、根維持のための呼吸コストを抑えることで根成長や窒素吸収の活性低下を回避する傾向にあることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、温度上昇が北方系湿生植物の根に対して酸素・エネルギー不足をもたらし、特に根維持(養分の転流など)と関連する生態生理特性に影響を及ぼす可能性を示した。根における酸素の供給・利用からみた湿生植物の温暖応答については、これまでほとんど議論されてこなかったが、本研究で得られた知見はそれらに関する貴重な生態生理学的洞察を提供するものであるとともに、温暖化に対する北方系湿生植物の応答予測にも貢献するものであると思われる。

研究成果の概要(英文)：The ecophysiological behaviors of wetland plant roots with increasing growth temperature under hypoxic conditions differed between northern and southern species regarding the oxygen supply to roots and root respiratory responses. In the southern species, the oxygen supply capacity and root respiration rate were increased with increasing temperature. Furthermore, the root growth rate and nitrogen uptake rate per root respiration rate were decreased, suggesting that the respiratory cost for root maintenance was increased. In the northern species, in contrast, the oxygen supply capacity and root respiration rate were substantially decreased. Moreover, the responses of root growth and nitrogen uptake to the respiration rate suggested that the respiratory cost for root maintenance was suppressed with increasing temperature.

研究分野：湿生植物の生態生理学

キーワード：湿生植物 呼吸 低酸素 通気組織 高温ストレス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

一般に根の呼吸速度は温度上昇により指数関数的に高まる (Amthor 2000)。しかし、湿生植物の根圏は低酸素状態であるため、高温下では根における酸素の需要と供給のバランスが崩れ、根の生態生理活性は強い酸素律速状態に陥りやすいと考えられる。温度上昇による酸素律速への応答戦略は、湿生植物における北方種や南方種といったグローバルな温度環境分布を特徴付ける重要な要因となっている可能性がある。こうした視点は、新たな生態生理学的洞察の提供にとどまらず、湿生植物の地球温暖化に対する応答予測においても極めて重要なアプローチであると思われるが、これまで国内外で議論されたことはほとんどない。

本研究では、温度上昇による湿生植物の生態生理学的挙動について、北方種と南方種の違いや、酸素の供給から利用に至る3つのフェーズ(酸素供給フェーズ、根の呼吸フェーズ、エネルギー利用フェーズ)に着目した(図1)。酸素供給フェーズでは、シュートから根へ通じる通気組織を利用した根へ酸素供給(給気)能力が、温度環境や種間で大きく変化する可能性がある。根の呼吸フェーズでは、エネルギーを産生する呼吸経路(COX経路)と産生を伴わないシアン耐性呼吸経路(AOX経路)が存在し、呼吸活性における両者の比は温暖適応能力を左右する重要なパラメータとなる可能性がある。エネルギー利用フェーズでは、根成長・窒素吸収・根維持(主に養分転流や膜電位の維持)に対するエネルギー分配特性や、温度上昇に伴うエネルギー消費上昇の主要原因とされるタンパク質のターンオーバーについて、種間・温度変化がみられる可能性がある。

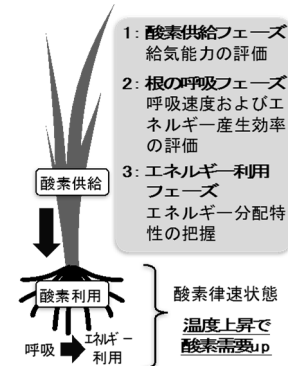


図1. 湿生植物の酸素供給と酸素利用に関わる3つフェーズ

2. 研究の目的

北方種と南方種を対象に、実生を用いた温度制御下(20 と 35 条件)での水耕実験を行い、上述の各フェーズ(図1)に相当する以下の項目を明らかにする。そして、得られたデータから、北方種と南方種を峻別する生態生理学的挙動を抽出し、湿生植物における酸素律速からみた温暖適応機構について考察する。

(1) 給気能力の評価: 地上部から根への給気能力の指標として、根の空隙率と通気組織内(根空隙内)の酸素濃度を明らかにする。

(2) 根呼吸活性の評価: 呼吸の構成要素である COX と AOX の活性比を把握することで、呼吸のエネルギー産生効率について検討する。また、生育条件下で得られるエネルギー量の指標として、通気組織内の酸素濃度や COX/AOX 比を反映させた正味の呼吸速度を明らかにする。

(3) エネルギー利用特性の評価: 窒素獲得、根成長、根維持に対するエネルギー分配戦略を明らかにする。また、温度上昇に伴うエネルギー需要増に強く関与するタンパク質のターンオーバー(根維持の主構成要素)に着目し、根のタンパク分解酵素活性を把握するとともに根の総タンパク濃度を明らかにする。

3. 研究の方法

北方系の大型湿生植物2種(ヤラメスゲ、オオカサスゲ)と、南方系の大型湿生植物2種(ヨシ、マコモ)を対象とし、それぞれ30日間の水耕実験を行った。水耕実験は培養液を低酸素状態とするため常時窒素ガスによるバブリングを行い、20 と 35 の温度条件を設定し主に以下の項目について測定を行った。

(1) 根空隙内酸素濃度および空隙率: 水耕時と同様の温度・光・低酸素環境が維持されたチャンパー内にて、根の空隙内(通気組織内)へ微細酸素電極を挿入し酸素濃度測定を行った。根基部(根元から1.5cmまでの区間を対象とした)の空隙率は、水で満たされたピクノメータに根を入れ、減圧前後の重量変化から求めた。

(2) 根の呼吸速度・AOX活性: 根の呼吸測定は、酸素飽和状態の培養液で満たされた容器に根を入れ、栽培時と同様の温度条件下で酸素濃度を連続計測することにより求めた。AOXの活性(最大活性)については、呼吸測定と同様な手順においてCOX経路阻害剤を併用することで計測した。また、根空隙内の酸素濃度に応じた呼吸速度を求め、AOX呼吸分を差し引くことにより、栽培条件下での実質的な呼吸速度(正味の呼吸速度)を算出した。

(3) 根のタンパク質ターンオーバー関連要素: 根の総タンパク濃度は蛍光法により計測し、タンパク質分解酵素(プロテアーゼ)活性は蛍光標識された基質の分解活性を利用して計測した。

4. 研究成果

(1) 通気組織内酸素濃度および空隙率(酸素供給フェーズ)

根の空隙内酸素濃度は、全種において根基部から根先端にかけて大きく低下し、根先端部ではゼロに近い酸素濃度を示した（図 2）。給気能力の指標の一つとされてきた根基部の空隙内酸素濃度について、両温度環境下で南北種間に特徴的な差は認められなかった。しかし、温度変化に対する種内変化として、北方 2 種では 20 から 35 への温度変化により根基部の空隙内酸素濃度が約 25～35%低下したのに対し、南方 2 種ではほとんど変化しなかった。

根基部の空隙率は、35 への温度上昇に対して南方 2 種で約 30～40%の大幅な上昇がみられたが、北方種ではむしろ低下傾向を示し、南方種と北方種の挙動に特徴的な違いがみられた（表 1）。また、根基部における根の体積と根数から求めた根の平均直径は、35 への温度上昇に対して南方 2 種ではほとんど変化せず、北方種では大幅に減少(40～50%)した。

空隙内酸素濃度と空隙率、根の平均直径から根基部における空隙内の酸素量を根 1 本あたりで算出したところ、20 では有意な種間差は認められなかった。しかし、35 への温度上昇に対して北方 2 種では酸素量が約 75～90%低下したのに対し、南方 2 種では約 40%～120%もの上昇が認められた。

これらのことから、温度上昇に対して南方種では、根空隙率の上昇を通じて空隙内酸素量が増加しており、給気能力が大きく上昇することが明らかとなった。一方で、北方種では根空隙率・空隙内酸素濃度・根の太さのいずれもが温度上昇により低下しており、給気能力が大幅に低下することが明らかとなった。

(2) 根の呼吸特性 (根の呼吸フェーズ)

培養液の酸素濃度を 0～200 μM とした際の根呼吸速度は、20 で大きな種間差は認められなかった（図 3）。しかし、35 では南方 2 種において幅広い酸素濃度域で呼吸速度が約 1.5～2 倍に上昇し、ほとんど呼吸速度が上昇しなかったヤマメスゲやむしろ低下したオオカサスゲに対して大きな差が生じた。AOX 呼吸速度については、4 種ともに 35 では 20 よりも上昇する傾向が認められたが、呼吸速度全体に占める AOX 呼吸速度はいずれの種・温度においても極めて低く推移した。

栽培条件下でのエネルギー産生量の指標として、根空隙内の酸素濃度に応じた呼吸速度を求め、AOX 呼吸分を差し引いた実質的な根呼吸速度 (正味の呼吸速度) を求めた (図 4)。正味の呼

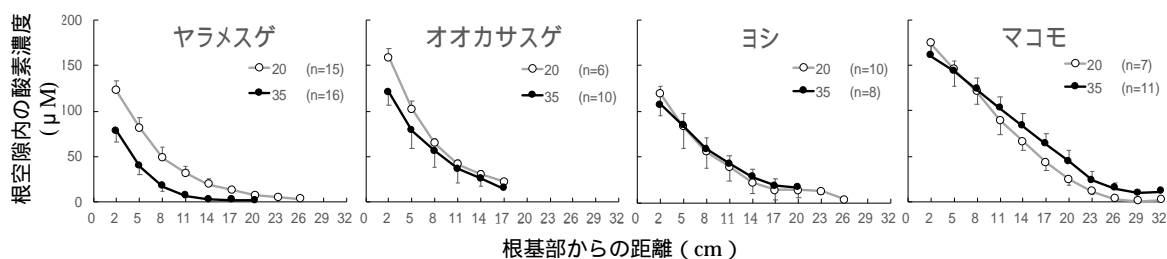


図 2. 異なる温度条件における根基部からの距離に沿った根空隙内の酸素濃度

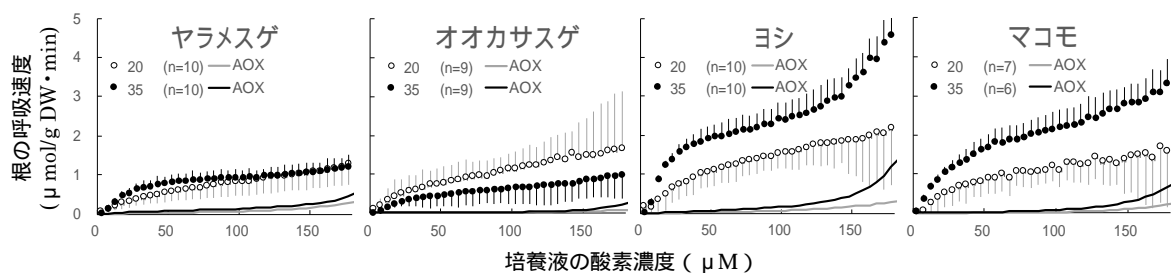


図 3. 異なる温度条件における培養液の酸素濃度に沿った根の呼吸速度

表 1. 異なる温度条件における根基部の空隙率、空隙内酸素量、根直径の変化

	温度条件	ヤマメスゲ	オオカサスゲ	ヨシ	マコモ
空隙率 (%)	20°C	21.9 ± 2.9a*	21.8 ± 3.6a	21.0 ± 4.7a*	26.2 ± 2.7a*
	35°C	14.8 ± 4.6c*	18.0 ± 3.1c	29.1 ± 2.9b*	43.8 ± 3.7a*
空隙内酸素量 (μmol × 10 ⁻³ /本)	20°C	0.41 ± 0.21a*	0.42 ± 0.13a*	0.30 ± 0.06a*	0.49 ± 0.20a*
	35°C	0.04 ± 0.01c*	0.10 ± 0.03bc*	0.43 ± 0.09b*	1.10 ± 0.31a*
根の平均直径 (mm)	20°C	1.11 ± 0.22a*	1.01 ± 0.13a*	1.02 ± 0.09a	0.94 ± 0.15a
	35°C	0.56 ± 0.04b*	0.62 ± 0.10b*	1.08 ± 0.10a	1.15 ± 0.20a
		(各n=5)	(各n=5)	(各n=5)	(各n=5)

表中の数値は平均値および標準偏差を表す。表中の異なるアルファベットは各パラメータ・温度条件における有意な種間差をあらわす (Tukey-Kramer test)。*: 各種・パラメータにおいて温度条件間に有意な差が認められたことを表す (t-test p<0.05)。

吸速度は、20 で各種ともに 0.9~1.1 $\mu\text{mol O}_2/\text{g DW}\cdot\text{min}$ 程度の値を示し種間差は認められなかったが、35 では北方2種の呼吸速度が低下し(約 0.6 $\mu\text{mol O}_2/\text{g DW}\cdot\text{min}$)、南方2種の値が大きく上昇した(約 1.9 $\mu\text{mol O}_2/\text{g DW}\cdot\text{min}$)。従って、35 環境下では正味の呼吸速度が北方種と比べ南方種で3倍程度高くなることが示された。

これらのことから、南方種では温度上昇に対して呼吸活性が大きく上昇し、根空隙内の酸素濃度の低下がみられないため(1)の研究結果参照)実質的により多くのエネルギーを産生できることが示された。一方で、北方種では温度上昇に対して呼吸活性が停滞あるいは低下することに加え、根空隙内の酸素濃度も低下するため、実質的なエネルギー産生量は大きく低下することが明らかとなった。

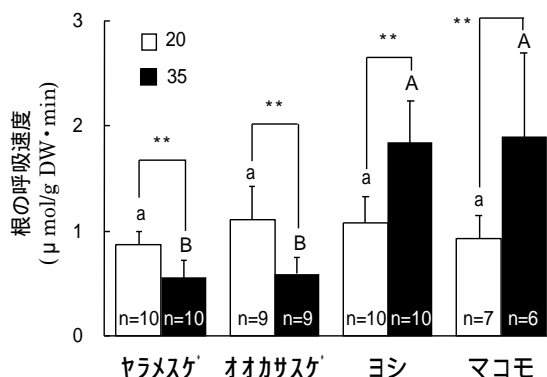


図4.栽培条件下での実質的な根呼吸速度(正味の呼吸速度) 表中の数値は平均値および標準偏差を表す。表中の異なるアルファベットは各温度条件における有意な種間差をあらわす(Tukey-Kramer test), ** :各種において温度条件間に有意な差が認められたことを表す(t-test p<0.01)。

(3) 呼吸に対する根成長・窒素吸収・根維持の関係(エネルギー利用フェーズ)

温度変化に対するエネルギー分配特性の変化について示唆を得るために、(2)で求めた正味の呼吸速度を用いて、呼吸速度あたりの根成長速度および窒素吸収速度を20と35で比較した(表2)。呼吸速度あたりの根成長速度・窒素吸収速度はともに類似した傾向を示し、温度変化に対して北方種と南方種で異なる挙動を示した。20 では両パラメータにおいて明瞭な種間差は認められなかったが、35 では北方種においてそれらの値が上昇し、南方種で低下する傾向にあった。このことから、温度上昇に対して、北方種では窒素吸収や根成長へのエネルギー分配が相対的に増加し、根維持への分配率が低下している可能性が示された。一方で、南方種では窒素吸収や根成長へのエネルギー分配率が減少し、根維持への分配率が増加していることが示唆された。

根維持と関連した重要なエネルギー消費要素であるタンパク質のターンオーバー活性を把握するために、タンパク質分解酵素であるプロテアーゼ活性を分析したところ、南北種間と関連した特徴的な傾向は認められなかった(表2)。ただし、本研究で得られたプロテアーゼ活性値は極めてバラツキが多く、信頼性の高い結論を得るにはさらに多くのサンプル分析を行うか分析手法を改める必要があると考えられた。また、根の総タンパク濃度は、20 では種間差が認められなかったが、35 では北方2種の値が大きく上昇したのに対し、南方2種の値はほとんど変化せず、北方種と南方種の間で明瞭な濃度差が認められた。このことから、温度上昇によって北方種ではタンパク質のターンオーバーが滞り、その結果としてタンパク質が分解されず残存した可能性も考えられるが、本研究ではプロテアーゼ活性データによる裏付けができなかったため、今後さらに検証が必要であると思われる。

(4) まとめ

根圏が低酸素状態にある湿生植物では、根への給気や根の呼吸応答、呼吸で得たエネルギーの分配特性において、温度上昇に対し北方種と南方種で異なる挙動を示すことが明らかとなった。南方種の温暖応答では、給気能力の上昇とともに実質的な呼吸速度も上昇するため、陸生植物の温暖応答と同様に根維持のための呼吸コストが増加し、根成長や窒素吸収へのエネルギー分配率が相対的に低下する傾向にあることが示唆された。対照的に、北方種の温暖応答では、給気能

表2.異なる温度条件における根の総タンパク濃度、プロテアーゼ活性および、根呼吸速度あたりの根相対成長速度(RGR)、窒素吸収速度(NNUR)

	温度条件	ヤマメスゲ	オオカサスゲ	ヨシ	マコモ
総タンパク濃度 (mg/g FW)	20°C	0.89 ± 0.60a*	0.96 ± 0.4a*	0.80 ± 0.3a*	0.87 ± 0.5a
	35°C	2.61 ± 1.30a*	2.69 ± 1.08a*	1.24 ± 0.35b*	0.86 ± 0.54b
プロテアーゼ活性 (U/g FW)	20°C	2.53 ± 1.57ab	6.29 ± 3.85a	1.16 ± 0.42b	5.10 ± 2.85ab
	35°C	5.79 ± 3.24a	5.48 ± 4.21a	1.56 ± 1.82a	6.00 ± 4.75a
		(各n=10)	(各n=10)	(各n=10)	(各n=10)
根RGR/根呼吸速度 (mg DW/mol O ₂)	20°C	124.7 ± 19.9a	90.1 ± 27.1a*	107.9 ± 38.0a	118.4 ± 29.1a*
	35°C	136.4 ± 41.6a	150.8 ± 27.6a*	88.3 ± 20.1b	74.6 ± 23.3b*
NNUR/根呼吸速度 (mg N/mol O ₂)	20°C	15.2 ± 3.4a*	12.9 ± 4.0a*	14.2 ± 3.1a	15.1 ± 5.6a*
	35°C	21.5 ± 7.1a*	18.1 ± 5.0a*	16.0 ± 2.3a	6.2 ± 1.7b*
		(各n=10)	(各n=9)	(各n=10)	(20°C n=5, 35°C n=6)

解析に用いた根呼吸速度は正味の根呼吸速度とした。表中の数値は平均値および標準偏差を表す。表中の異なるアルファベットは各パラメータ・温度条件における有意な種間差をあらわす(Tukey-Kramer test), * :各種・パラメータにおいて温度条件間に有意な差が認められたことを表す(t-test p<0.05)。

力が低下するとともに実質的な呼吸速度が低下するため、根維持のための呼吸コストを抑え、根成長や窒素吸収のためのエネルギーを確保する傾向にあることが示唆された。北方種のような挙動は、温度上昇が根の酸素・エネルギー不足を介して特に根維持と関連する様々な生態生理特性に強く影響することを示唆している。そして同時に、温暖化に対して北方系湿生植物は特異的な反応を示す可能性があることを意味している。根における酸素の供給・利用からみた湿生植物の温暖応答については、これまでほとんど議論されてこなかったが、本研究で得られた知見はそれらに関する貴重な生態生理学的洞察を提供するものとして重要な成果であったと思われる。

<引用文献>

Amthor JS (2000) The McCree-de Wit-Penning de Vries-Thornley Respiration Paradigms: 30 Years Later. *Annals of Botany* 86: 1-20.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Takatoshi Nakamura, Haruto Hirano, Hiroki Jin, Ryouta Zenpou, Rika Ohtani, Takeshi Kiyokawa, Hiroshi Kakuda	4. 巻 144
2. 論文標題 Transplantation of native species to existing vegetated slopes: Importance of optimal habitat and initial nutrient reserves	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Ecological Engineering	6. 最初と最後の頁 105708
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ecoleng.2019.105708	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 中村隆俊・野口比呂・本間洋平・中村元香
2. 発表標題 根の酸素利用に着目した湿生植物の温度応答
3. 学会等名 日本生態学会北海道地区大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中村元香・土谷岳令・中村隆俊
2. 発表標題 水性植物の嫌気耐性の評価: シュートの換気能力と根の酸素要求性の統合的解析
3. 学会等名 日本生態学会北海道地区大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中村元香・土谷岳令・中村隆俊
2. 発表標題 水生植物の低酸素耐性の評価: シュートの換気能力と根の酸素要求性の統合的解析
3. 学会等名 日本生態学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中村隆俊、本間陽平、藤原拓也、中村元香
2. 発表標題 湿生植物の根における給気状況の評価と温度応答
3. 学会等名 日本生態学会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 中村隆俊（ウエットランドセミナー100回記念出版編集委員会編）	4. 発行年 2017年
2. 出版社 北海道大学出版会	5. 総ページ数 45-54
3. 書名 5章 湿原植物の窒素利用「湿地の科学と暮らし」	

〔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