

令和 3 年 6 月 18 日現在

機関番号：32644

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K05600

研究課題名(和文) 低酸素条件下における雑穀の冠根の酸素獲得機構の解明

研究課題名(英文) Mechanisms of getting oxygen of crown root among millets under hypoxic condition

研究代表者

松浦 朝奈 (Matsuura, Asana)

東海大学・農学部・教授

研究者番号：30299672

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：アワ、コルネ、テフ、およびヒエを用いて、不定根の酸素獲得機構と個体の成長との関係を調べた。低酸素耐性2種(テフとヒエ)の根の成長、葉と茎の窒素含有率、および植物あたりのナトリウム含有量は、低酸素処理によって変化しなかった。一方、低酸素感受性2種(コルネとアワ)では、根の成長、葉と茎の窒素含有率が減少し、植物全体のナトリウム含有率が増加した。低酸素耐性2種の不定根の中心柱の面積の割合(酸素消費)は、低酸素感受性2種よりも小さく、恒常的に破生通気組織が発達(酸素供給)した。一方、ROLバリア(酸素漏出防止)を構成すると考えられているスベリンやリグニンには明らかな種間差異は認められなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

温暖化の進行により、世界各地で洪水のリスクが増加している。畑作物は一般に湿害に弱く、世界各地で農業生産を低下させる問題となっている。湿害の主な要因は根の酸素不足であり、低酸素に対する代謝適応では生存や成長は限定的であるため、形態的な適応が不可欠であるとされてきた。本研究では、低酸素下で旺盛に成長する雑穀は、根からの酸素漏出防止ではなく根への酸素供給と酸素消費に関わる破生通気組織と中心柱の面積の割合が重要な形質であることを明らかにした。このことは、今後の耐湿性植物の育種と栽培管理を通じて、湿害条件下での食料生産向上に貢献できるものと期待される。

研究成果の概要(英文)：Brachiaria ramosa, Echinochloa utilis, Eragrostis tef and Setaria italica were used. Thirty-day-old plants were hydroponically cultivated for 27 days in a control with continuous aeration and a hypoxic treatment with reduced oxygen concentration by aeration with nitrogen gas. Hypoxia-tolerant root growth, leaf and stem nitrogen content, and sodium content per plant did not change with hypoxia treatment. On the other hand, in the two hypoxic-sensitive millets, root growth, leaf and stem nitrogen content decreased, and sodium content of the whole plant increased. The ratio of the area of the central column of the adventitious roots of the two hypoxic-tolerant species (oxygen consumption) was smaller than that of the two hypoxic-sensitive species, and lysigenous aerenchyma developed constantly (oxygen supply). On the other hand, no clear interspecific differences were observed in suberin and lignin, which are thought to constitute the ROL barrier (prevention of oxygen leakage).

研究分野：作物学

キーワード：雑穀 種間差異 スベリン 成長 低酸素耐性 破生通気組織 不定根 リグニン

## 1. 研究開始当初の背景

温暖化の進行により、東南アジアや東アフリカを含む世界各地で洪水のリスクが増加しており (Hirabayashi ら 2013), 作物が受ける自然災害のうち最も大きい被害は 60% を占める洪水によるもので、損失額は 130 億ドルになる (FAO 2015). 畑作物は一般に湿害に弱く、世界各地で農業生産を低下させる問題となっている (Bailey-Serres ら 2012, Perata ら 2011). 湿害に対する植物の反応として、これまでエネルギー代謝、嫌気経路上の最終産物の毒性、光合成産物の輸送、植物ホルモン、養水分吸収、根の発達、通気組織の形成、根から地上部へのシグナル伝達および遺伝子発現の改良などいろいろな研究が行われてきた (Setter と Waters 2003, Subbaiah と Sachs 2003, Visser ら 2004, Irfan ら 2010, Yamauchi ら 2013, Mano ら 2016).

120 年以上前から観察されている通気組織の形成は、地上部から根や根圏に酸素を供給して根が速やかに成長できるため、イネ、コムギ、オオムギ、トウモロコシ、ソルガムなど多くの作物において、強い耐湿性を示す特徴として考えられている (Thomson ら 1990, Visser ら 1996, Jackson and Armstrong 1999). ところが、湿地性植物や耐湿性の強い作物は湛水条件でなくても通気組織を発達させる (Cardoso ら 2013). 雑穀 4 種を用いて通気した条件と通気しない水耕条件下で冠根の通気組織を調べたところ、耐湿性の強い雑穀は通気の有無に関係なく通気組織をよく発達させ、耐湿性の弱い雑穀は湛水処理により、耐湿性の強い雑穀より少ないが、通気組織を発達させるものがあった (Matsuura ら 2016). これらのことから、酸素濃度に敏感に反応して生じる通気組織と酸素濃度に関係なく発達する通気組織の双方が同じく耐湿性に貢献するのだろうかという疑問が残る. さらに申請者は、耐湿性の強い雑穀は中心柱の面積が相対的に小さいことを明らかにしており (Matsuura ら 2016), 皮層よりも中心柱の酸素消費量が高い (Cardoso ら 2013) ことを考慮すると、この形質も根の酸素獲得において有利な形質であると考えられる. イネの酸素獲得機構については、湛水条件では根端近くまで通気組織を発達させるだけでなく、下皮にスベリン、厚壁組織にリグニンを蓄積して外部への酸素消失を防いでいることが示されてきた (Nishiuchi ら 2012). この機構により、地上部から根への酸素供給が効率的に行われるだけでなく、根の外部からの有害物質の侵入を防止できると推察されている (Greenway ら 2006). イネでは、播種後 9 日目の幼植物に 14 日間低酸素処理を行うと、冠根の厚壁組織にリグニンが蓄積し、この外側の下皮にスベリンが蓄積するという. 播種 30 日後のイネの冠根のリグニンとスベリンは低酸素処理により多く蓄積し、水の透過性は変化しなかったが、ナトリウムの透過性は減少した (Ranathunge 2011). 耐塩性の強いイネはスベリンを蓄積してアポプラストのナトリウム流量を低下させる (Krishnamurthy ら 2011). Ranathunge ら (2011) の報告では、スベリンの蓄積は根の基部の方が根端より蓄積量が多く、低酸素処理により、根端側のスベリンは 1 から 1.5  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  に増加したというが、酸素に反応して蓄積したのは 0.5  $\mu\text{g}$  程度のため、蓄積の 30% 程度が酸素濃度による増加分と推察される. 彼らの研究では、リグニンは根端側で多く蓄積し、低酸素処理により 55 から 90  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  に増加したため、酸素濃度に反応したリグニン増加分は 40% 程度である. このように、酸素濃度とリグニンやスベリンの蓄積との関係は不明な点がある (Watanabe 2013). 雑穀については、リグニンとスベリンが根の酸素漏洩を防止するかどうかについてさえ明らかではなく、どの形質が最も「低酸素耐性」に関与しているのか? は不明である.

## 2. 研究の目的

根の内部の通気組織の形成や、リグニンやスベリンの蓄積は、地上部から根や根圏に酸素を供給して根が速やかに成長できるため、多くの作物において、耐湿性を示す重要な形質であると考えられている. (Visser ら 1996, Jackson and Armstrong 1999, Nishiuchi ら 2012). ところが、湿地性植物や耐湿性の強い作物は低酸素条件でなくても通気組織を発達させる (Cardoso ら 2013, Matsuura 2016). さらに、リグニンやスベリンがどれほど酸素獲得に貢献しているかについては不明な点が多い (Krishnamurthy ら 2011). そこで本研究では、耐湿性の大きく異なる雑穀を用いて、酸素供給 (通気組織)、酸素消費 (中心柱) および酸素漏出防止 (リグニン、スベリン) のいずれが耐湿性に深く関わっているかを明らかにすることを目的とした.

## 3. 研究の方法

### (1) 材料

植物材料には、雑穀 4 種 (アワ (*Setaria italica*), コルネ (*Brachiaria ramosa*), テフ (*Eragrostis tef*), ニホンビエ (*Echinochloa utilis*); ヒエと表記) を用いた.

### (2) 栽培方法

各作物をビニルハウス内の 100L の容器で水耕栽培した. 播種 2 週間後に 400L の水槽に移した. 幼穂分化期 (播種後 30~50 日) に窒素ガスを通気して溶存酸素濃度を 1mg/L 以下とした低酸素区 (H 区) と通気を続ける対照区 (C 区) を設けて 27 日間栽培した.

### (3) 葉身木部の水ポテンシャル

処理後 10~20 日目にプレッシャーチェンバーで上位展開第 1 葉の葉身木部の水ポテンシャルを測定した.

### (4) 成長解析

処理開始時と終了時に植物個体を採取し、葉面積と乾物重を測定して成長解析を行った. 個体あたりの葉面積と全乾物重を用いて次式により個体成長速度 (PGR), 純同化率 (NAR), 平均葉面積 (MLA) およびストレス感受性指数 (SSI) を算出した.

$$\text{PGR} (\text{g day}^{-1}) = (W_2 - W_1) / (T_2 - T_1) \dots (1)$$

$W_2$ と $W_1$ は、処理終了日と処理開始日の植物個体の乾物重、 $T_2-T_1$ は処理期間の日数である。

$$NAR \text{ (g m}^{-2} \text{ day}^{-1}\text{)} = PGR \times \frac{\log_e LA_2 - \log_e LA_1}{LA_2 - LA_1} \times 10^4 \dots (2)$$

$$MLA \text{ (cm}^2\text{)} = \frac{LA_2 - LA_1}{\log_e LA_2 - \log_e LA_1} \dots (3)$$

ここで、 $LA_1$ と $LA_2$ は、それぞれ処理開始日と処理終了日の個体あたりの葉面積である。  
 ストレス感受性指数 (SSI) は次式により算出した (Fisher and Maurer, 1978)。

$$SSI = \left(1 - \frac{W_H}{W_C}\right) \left(1 - \frac{W_{HM}}{W_{CM}}\right)^{-1} \dots (4)$$

ここで、 $W_H$ は低酸素処理におけるそれぞれの雑穀の全乾物重、 $W_C$ は通気区におけるそれぞれの雑穀の全乾物重、 $W_{CM}$ および $W_{HM}$ はそれぞれ通気区と低酸素区における雑穀の全乾物重の平均値である。

#### (5) 成分分析

器官別に原子吸光度法にてカリウムとナトリウムの含有率を、燃焼法にて窒素含有率を測定した。

#### (6) 不定根の形態 (図1)

処理後 5 日目と 17 日目に根長が 15~20 cm の不定根を採取し、根端から 1cm ごとに根の横断切片を作成して、リグニン、スベリン、破生通気組織および中心柱の観察を行った。根の切片にフロログルシノール塩酸溶液で染色してリグニンの蓄積を、根の切片に fluorol yellow 088 乳酸溶液で染色してスベリンの蓄積を観察した。破生通気組織と中心柱の観察は不定根の切片をトルイジンブルー溶液で染色して観察した。根の断面積、破生通気組織および中心柱の面積は ImageJ を用いて画像解析を行った。

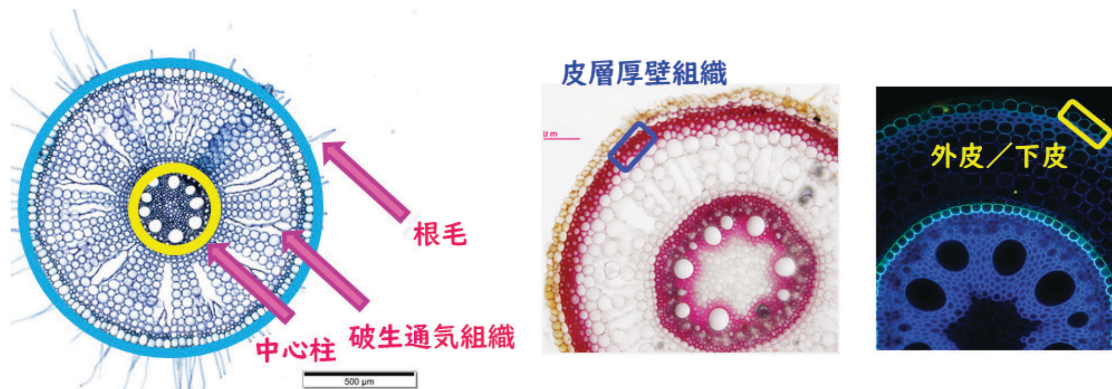


図1 冠根の内部形態

#### 4. 研究成果

植物の湿害は、根の酸素濃度低下により細胞内で好気呼吸から嫌気呼吸に転換することによって ATP 生産が大幅に低下し、その過程において細胞質酸性症になって細胞が枯死するため、植物の生育や収量が大きく低下する (Drew, 1979)。雑穀もほかの植物と同様に代謝適応のみでは低酸素条件下で旺盛に成長できないと考え、形態的適応反応を調べることにした。本研究では、根が十分に酸素を獲得できると、根の養水分吸収機能が維持され、葉面成長や光合成が大きく低下せず、個体の成長速度を維持できると仮説を立て、雑穀 4 種を対象に、低酸素耐性の規定要因を明らかにすることを目的とした。根の酸素獲得機構としては、酸素の供給 (通気組織の発達)、酸素の消費 (中心柱の面積)、酸素の漏出 (下皮におけるスベリンやリグニンの蓄積) の 3 要因のうち、いずれが雑穀の種間差異を説明できるかを考えた (図 2)。

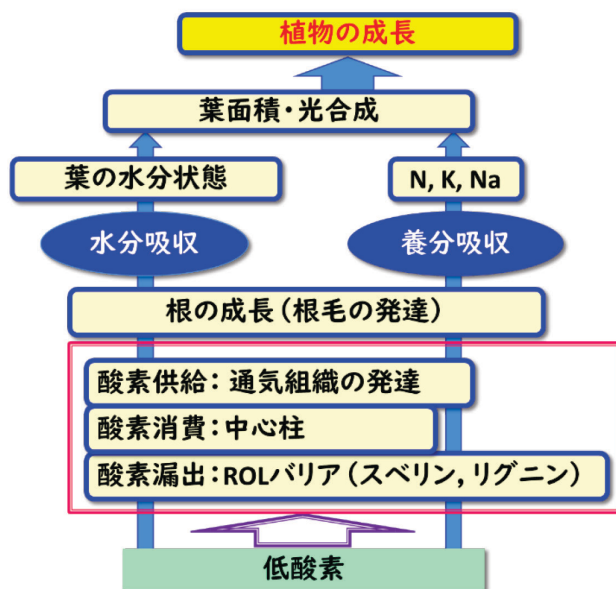


図2 低酸素耐性機構の解析

高かった。低酸素処理により、テフとヒエの純同化率 (NAR) は通気区の約 1.3 倍に増加し、平均葉面積 (MLA) は変化しなかった。一方、低酸素処理により、コルネとアワの NAR はそれぞれ通気区の 75% と 67% に低下し、コルネの MLA も 51% に低下したが、コルネの MLA は変化しなかった。すべての雑穀において、NAR および MLA と PGR との間に 1% レベルで有意な相関関係が認められた。

### (2) 養水分吸収能の解析

低酸素処理により、低酸素耐性の強い雑穀 2 種の根の乾物重は変化しなかったが、低酸素耐性の弱い雑穀 2 種では通気区の 37%~56% に減少した。根への乾物分配率は、すべての雑穀で低酸素処理により変化しなかった。低酸素耐性の強い雑穀の根の乾物増加速度は、低酸素処理により変化しなかったが、低酸素耐性の弱い雑穀では、通気区の 33~53% に減少した。葉身木部の水ポテンシャルは、雑穀 4 種において、低酸素処理による処理間差は認められなかった。低酸素処理により、低酸素耐性の弱いコルネの個体あたりの窒素含有率のみが通気区の 77% に減少し、そのほかの雑穀では変化しなかった。低酸素処理により、低酸素耐性の強い雑穀では葉と茎の窒素含有率は変化しなかったが、低酸素耐性の弱い雑穀では 64~84% に減少した。低酸素処理により、すべての雑穀において、植物個体あたりのカリウム含有率は変化しなかった。低酸素処理により、コルネの葉のカリウム含有率は通気区の 69% に減少し、根では 1.7 倍に増加した。

低酸素処理により、低酸素耐性の強い雑穀の個体あたりのナトリウム含有率は変化しなかったが、低酸素耐性の弱い雑穀では通気区の 1.4~1.6 倍に増加した。低酸素処理により、低酸素耐性の強い雑穀の葉のナトリウム含有率は通気区の 54~57% に減少したが、アワでは変化せず、コルネでは 1.7 倍に増加した。低酸素処理により、ヒエの根のナトリウム含有率は変化しなかったが、テフ、コルネおよびアワではそれぞれ通気区の約 2 倍に増加した。

### (3) 不定根の酸素獲得機能の解析

#### ① 葉鞘の通気組織および不定根の通気組織と中心柱

低酸素耐性の強い雑穀では、通気区においても低酸素区においても葉鞘に通気組織が確認された (第 4-7 図)。一方、低酸素耐性の弱い雑穀では、コルネの低酸素区の葉鞘のみに通気組織が観察された。

低酸素耐性の強い雑穀の通気区と低酸素区の不定根には根端から 3cm の部位に破生通気組織が観察され、その面積は概して低酸素区のほうが大きかった (第 4-8 図)。通気区の中心柱の面積には種間差異は見られなかったが、低酸素区ではテフよりヒエの中心柱が小さかった。

低酸素耐性の弱い雑穀の通気区の不定根には破生通気組織は観察されなかった (第 4-9 図)。低酸素区では、コルネは根端から 9~10cm に、アワでは基部から 1cm に破生通気組織が観察された。

根端から 5~6cm のコルネの不定根の断面積は、低酸素処理によって通気区の 64% に低下した (図 4-10 図)。ヒエでは低酸素区の根端から 5~10cm および基部から 1cm の部位では不定根の断面積は通気区の 1.4~1.9 倍に増加した。ヒエとコルネの不定根の断面積は概してテフとアワより大きかった。

不定根の断面積に対する中心柱の面積は、概して低酸素耐性の強い雑穀より低酸素耐性の弱い雑穀で大きかった (第 4-11 図)。低酸素処理により、テフの中心柱の面積の割合は変化しなかったが、そのほかの雑穀の中心柱の面積の割合は概して減少した。

低酸素処理によりテフでは根端から 1cm の破生通気組織は増加し、ヒエでは根端から 5~8cm で増加した (第 4-12 図)。低酸素耐性の弱いコルネの通気区では根端から 5~8cm にわずかな破

### (1) 低酸素耐性の種間差異

処理期間中の通気区と低酸素区の pH、水温および電気伝導度はそれぞれ 5.4、27°C および 2.6 mS/cm で変化はなかったが、低酸素区の溶存酸素濃度は、飽和酸素濃度の 11% であり、通気区では 91% であった。

通気区の水耕液の溶存酸素濃度は飽和酸素濃度の 60~80% であった。低酸素区の水耕液の溶存酸素濃度は 4~5 日間隔で窒素ガスを通気して溶存酸素濃度を 1 mg/m l 以下に調整した。実験期間中の低酸素区の水耕液の pH、温度および電気伝導度は処理によって変化しなかったが、飽和溶存酸素濃度に対する溶存酸素濃度の割合は有意に低下した。

処理後 30 日目のテフとヒエの個体成長速度 (PGR) は低酸素処理により、通気区の PGR の約 1.6 倍に増加し、コルネとアワではそれぞれ 39% と 47% に低下した。テフとヒエの PGR に基づくストレス感受性指数 (SSI) は、コルネとアワより有意に

生通気組織が観察されたが、アワでは全く観察されなかった。低酸素処理によってもいずれの部位においても破生通気組織の面積の割合は変化しなかった。

#### ② 不定根のリグニンとスベリンの蓄積

低酸素耐性の強い雑穀の不定根におけるリグニンの蓄積パターンには一定の傾向がみられなかった(第4-13図)。低酸素耐性の弱い雑穀では、低酸素処理によりリグニンを蓄積する部位が拡大する傾向がみられた(第4-14図)。

低酸素耐性の強いテフでは、低酸素処理にかかわらず、根端から7cm以上の不定根の下皮にスベリンの蓄積が観察された(第4-15図)。ヒエの通気区でもテフと同様に根端から7cm以上の不定根の下皮にスベリンの蓄積が観察された。ヒエの低酸素区では、不定根の先端部から基部まで、下皮にスベリンの蓄積が観察された。一方、低酸素耐性の弱い雑穀では処理にかかわらず根端から7cm以上の不定根の下皮にスベリンの蓄積が観察された。

#### ③ 不定根のTTC還元活性

根系を構成するすべての不定根を対象に根端1cmのTTC活性を測定した。雑穀4種において、通気区の不定根の先端は強く染色された。低酸素耐性の強い雑穀の不定根の先端は、染色が見られたが、低酸素耐性の弱い雑穀の不定根の先端はあまり染色されなかった。低酸素処理により、低酸素耐性の強い雑穀のTTC還元活性は変化しなかったが、低酸素耐性の弱い雑穀では通気区の20~30%に著しく減少した。

#### ④ 不定根の特徴

根毛の発生部位の長さを不定根の長さに対する割合として算出した。低酸素耐性の強いテフとヒエでは低酸素処理にかかわらず、根毛の発生部位は不定根の86~94%を占めていた。一方、低酸素区では処理にかかわらず1%未満であった。

以上のことから、雑穀の低酸素耐性には、不定根の破生通気組織と根毛の発達が重要であるといえる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 加藤康之・松浦朝奈
2. 発表標題 低酸素が雑穀2種の成長，通気組織およびROLバリアに及ぼす影響
3. 学会等名 日本作物学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Matsuura A. and P. An
2. 発表標題 Dehydration tolerance among four millet species was limited sink during severe water deficit
3. 学会等名 The 18th Asian Agricultural Symposium of Tokai University (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Matsuura, A. and M. Yamato
2. 発表標題 Toward realization of agriculture that can respond to natural disasters and climate change
3. 学会等名 The 18th Asian Agricultural Symposium of Tokai University (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Matsuura, A., Kato, Y. and An, P.
2. 発表標題 Hypoxic tolerance of four millets is attributable to constitutive aerenchyma formation and root hair development of adventitious root.
3. 学会等名 The 10th Asian Crop Science Association Conference (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 加藤康之・松浦朝奈
2. 発表標題 低酸素がテフとアワの通気組織およびROLバリアに及ぼす影響.
3. 学会等名 日本作物学会
4. 発表年 2020年

〔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

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関