#### 研究成果報告書 科学研究費助成事業

平成 30 年 6 月 1 5 日現在

機関番号: 15101

研究種目: 基盤研究(C)(一般)

研究期間: 2014~2017

課題番号: 26450020

研究課題名(和文)根の細胞壁の化学・物理特性と作物の耐塩性の関係の解明

研究課題名(英文)Crop salinity tolerance in relation to chemical and physical properties of root cell call

研究代表者

安 萍(AN, Ping)

鳥取大学・乾燥地研究センター・准教授

研究者番号:60379659

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): 本研究は、乾燥地において重要な作物、ダイズ、コムギとトマトについて根伸長域の細胞壁の化学成分、性質および物理性質を解析し、これらの特性と作物の耐塩性との関係を研究した。 3種の作物とも塩性条件下では根伸長域の細胞壁が変化し、耐塩性品種は根の成長に有利な方向(ペクチンと伸展性の維持、酸性残基の増加)、感受性品種は根の成長に不利な方向(ペクチンの減少、伸展性の低下、セルロースの増加)への変化が見られた。塩性条件下では、根の成長はこれらのパラメーターとの相関関係があることを見出した。

これらの発見は、塩類集積土壌でも高い収量を得られる耐塩性の高い作物の作出や栽培技術の改良などに有用 である。

研究成果の概要(英文): During 2014-2017, chemical composition and physical properties of salt tolerant and sensitive cultivars of soybean, tomato and wheat have been assessed. The relation between root growth and above parameters were also investigated. It was found that measured parameters of root cell wall were altered under salinity. Changes in the tolerant cultivars benefited root growth due to the maintenance of pectin, extensibility and increased acid radicals in the root cell wall. Chemical changes like decrease in the extensibility and increase in the cellulose of sensitive cultivars were found unfavorable for the root growth. Correlation of root growth and cell parameters indicated that physico-chemical characteristics of root cell wall affected root growth and thus enhanced the salt tolerance of plants. Findings of this project would certainly contribute to the development and improvement of bio-saline technology in arid areas.

研究分野: 植物耐塩性機構

キーワード: 耐塩性 根 細胞壁 化学成分 物理性 ダイズ コムギ トマト

## 1.研究開始当初の背景

作物の耐塩性メカニズム研究分野では、植物の地上部の原形質体に注目が集まっている。ところが、土壌中の塩類と直接やり取りすることができるのは根であるにもかかわらず、塩分と根の機能に関する研究は非常に少ない。土壌中および塩と植物内部が相互作用する最も外側の層は、細胞壁である。しかし、輸送やイオン交換における細胞壁の役割や、植物の細胞壁と耐塩性との関係についての情報はほとんどない。

細胞壁は、植物の成長および発達中に重要な機能を果たすダイナッミックな細胞の一区画である。この細胞壁は、原形質膜の外側の溶液と接触する最初の境界であるため、外部の液と細胞壁との間のイオン交換が、原形質膜のイオン組成および濃度を変化させると考えられる。従って、細胞膜を通るイオン輸送に影響を及ぼす。

イオン結合およびイオン交換における根細胞壁の特性は、細胞壁の化学的性質に依存するが、それは化学組成に密接に関連している。細胞壁は構造タンパク質にセルロース、架橋グリカン、ペクチンが加わって構成されている。これらの化合物、特にペクチンは、PH、イオン恒常性および細胞壁透過性に影響を及ぼす。ペクチンは、負に帯電したガラクツロン酸残基を多く含む分枝状多糖類のに入りが表が裏のように取り巻いている。したがって、細胞内および細胞外へのイオン輸送は、ペクチンによって影響される可能性がある。

根細胞壁の機能や、作物におけるアルミニウムおよびマンガン耐性に関するメカニズムは、ある程度研究されている。しかし、耐塩性(Na)に関するメカニズムは明らかにされていない。そこで、作物耐塩性における根の細胞壁の機能を解明する目的で、以下の研究が提案された。

## 2.研究の目的

- (1) 根細胞壁におけるペクチンの機能を明らかにする。
- (2) 根細胞壁における陽イオン交換能と作物における耐塩性との関係を明確にする。
- (3) 作物の耐塩性における根細胞壁の役割を解明する。

本研究で、作物耐塩性における根の細胞 壁の機能とそのメカニズムが全体的に実証 されることが期待される。

## 3.研究の方法

(1) 材料および処理:主要な3つ乾燥土地作物、大豆、小麦、トマトを実験材料として選定した。3つの作物の耐塩性の高い栽培品種を試験した。耐塩度の品種間差は、根による植物へのNa<sup>+</sup>有毒イオンの吸収量に基づくことが知られている。

苗の若い根に一連の濃度の塩化ナトリウム (NaCl: 0, 40, 80, 120 mM) と塩化カルシウム (CaCl $_2$ : 0.2 mM) を導入した。その処置により、根の長さは著しい違いを示し、根の試料は以下の測定のために採取された。

- (2) ルートゾーンの決定:根は2つの部分に分けられ、伸長(分裂組織および伸長領域、根冠から 0-5 mm 根冠)および隣接領域(根冠から 5-10 mm)を含む。各ゾーンの新鮮な状態で乾燥して重量を決定した。
- (3) 根細胞壁の化学成分、CEC および物理的性質の決定:すべての処理における全品種の各根領域におけるペクチン、架橋グリカン(Iと II) およびセルロースの量が決定された。各処理において各品種の根全体を収集した。80 で乾燥させた後、根を微粉に粉砕した。これらの根の陽イオン交換容量(CEC)を測定した。物理的特性(すなわち、弾性、伸張性、粘度、可塑性)は、クリープメーターを用いて測定した。

### 4. 研究成果

## (1) 大豆:

塩処理により、感受性品種の細胞壁の総糖含量が有意に減少した。0-5 mm の根部で顕著な減少が観察され、総糖含量は 40 mM のNaCI 処理で 70%減少した。耐性栽培品種では、NaCI 処理は細胞壁の全糖量に有意な影響を示さなかった。異なる NaCI レベルの中では、両方の品種において総糖含量は不変であった。

感受性品種の総糖分は、ペクチン、ヘミセルロースおよびセルロース画分の場合のように塩分によって大きく減少した。耐性栽培品種では、NaCl処理はペクチン画分にわずかな減少を引き起こしただけで、ヘミセルロースおよびセルロース画分には顕著な変化は見られなかった。

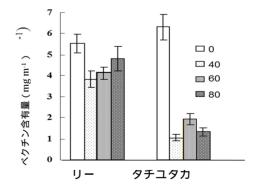


図 1.0, 40, 60, 80 mM NaCI 下での耐塩性 (Lee) および感受性 (Tachiyutaka) ダイズ栽培品種のペクチン含量。

NaCl 処理は、感受性品種の 0-5 mm 根部 において、ペクチン画分中のウロン酸含量を 著しく減少させたが、ヘミセルロースおよび セルロース画分中の変化はほとんどなかっ た。しかし、同じ耐性品種の根部において、 ウロン酸含量はペクチン画分では減少が小 さめで、セルロース画分ではわずかに増加し、 NaCl 処理後のヘミセルロース画分では変化 しなかった。 感受性品種の 5-10mm 部分にお けるペクチン画分のウロン酸含量は減少し、 これは 0-5mm 部分と同じように減少したが、 ちらは顕著ではなかった。この部分のへミ セルロースおよびセルロース画分に変化は 見られなかった。耐性品種の 5-10 mm の根部 において、ヘミセルロース画分中のウロン酸 含量は、NaCl 処理によって増加したが、ペ クチンおよびセルロース画分では変化は見 られなかった。

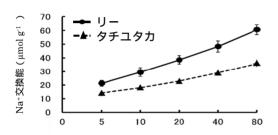


図 2.塩水条件下での耐塩性 (Lee) および感受性 (Tachiyutaka) ダイズ栽培品種の根の細胞壁における Na\*交換能。

耐性品種の根の陽イオン交換容量(CEC)は、感受性品種と比較して耐性品種において有意に高く、これは根の細胞壁により多くの酸性残基が存在することを示している。

#### (2) 小麦

2 つの塩感受性品種の細胞壁の総糖含量は、 耐性品種のそれよりも高かった。伸長域では、 塩分処理により JS-7 を除くすべての品種に おいてペクチン濃度が減少した。HC1 および HC2 は、塩分処理において、感受性品種の伸 長域および隣接ゾーン両方において有意に 増加した。塩分処理を施したすべての品種に おいて、セルロース含量は伸長域および隣接 域の両方で顕著に増加した。塩水条件下では、 感受性品種の伸長域におけるペクチンのウ ロン酸含量は、耐性品種のものと比較して有 意に低かった。しかしながら、ヘミセルロー ス画分中のウロン酸含量は逆の傾向を示し た。すべての品種における伸長および隣接 領域におけるセルロースのウロン酸含量は、 塩水処理で顕著に増加した。

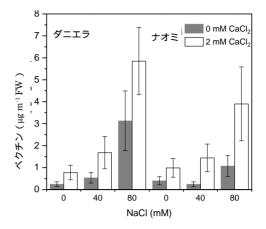


図 3.小麦品種 YL-15、GS-6058、JS-7、XC-31 の根から 0-5mm 部分の 0,40,80 および 12mM NaCI 処理下でのヘムセルロース I、ヘミセルロース II およびセルロース量。データは平均±SE(n=4)で示す。文字が続くバーは、それぞれ有意に異なる(P=0.05)

すべての小麦品種における根細胞壁のCECは、塩分の増加とともに有意に減少した。感受性品種においてCECは、0 および 80mM NaCI下で、耐性品種と比較して有意に低かった。根の成長は、相対的なペクチン含有量(R=0.77)およびCEC(R=0.70)と正の相関があったが、相対的なセルロース含有量(R=-0.69)と負の相関があった。CECは相対的なペクチン含量と正の相関があり(R=0.64)、細胞壁の総量と負の相関があった(R=-0.69)。

## (3) トマト

トマトの実験結果は、大豆および小麦の実験結果と同様であった。伸長域では、感受性品種中の総糖含量はペクチン、ヘミセルロース=およびセルロースで減少を示し、ヘミセルロースIでの変化は見られなかった。耐性細胞壁の成分の変化は、感受性の品種のそれとは異なった。耐性品種において、総糖含量はペクチンおよびセルロース画分で有意な変化を示さなかったが、ヘミセルロースではNaCl存在下でわずかな増加を示した。

Ca<sup>2+</sup>の添加により、根の成長の低下および根の細胞増殖と伸長に好ましくない細胞壁の成分変化が一般的に増す。これらの結果は、細胞壁におけるカルシウムの改善を説明することができる。トマトの根の成長へのカルシウムの添加の影響は、ダイズにおけるそれらと同様であり、それは作物細胞のホメオスタシスに影響を与え、伸長および成長に寄与し得るという意味で、陽イオン結合におけるカルシウムの普遍的な役割を示している。

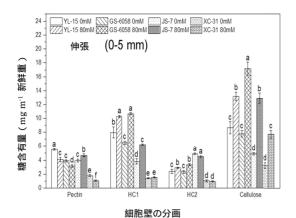


図 4.0,40,80 NaCI および 0,2 mM CaCI 処理下のトマト品種、ダニエラおよびナオミの根端の 0-5mm 部分におけるペクチン量。データは平均 ± SE(n=4)で示す。

## 一般考察

塩分処理は、すべての3つの作物の耐性および感受性品種における根および苗の成長を低下させた。これは以前の報告と一致している。影響を受けやすい栽培品種については、比較的低いNaCI濃度で成長が可能であるが、塩濃度が高レベルを超えるとほぼ完全に停止した。対照的に、耐性品種は、より高い塩分レベルでもそれらの成長を維持することができた。耐性栽培品種はまた、感受性品種よりも新鮮な根の重量の減少が比較的小さかった。

多糖類は細胞壁の主成分である。したがっ て、細胞壁の総糖含量は、細胞壁多糖類の量 を示し、さらに細胞壁密度を反映するはずで ある。塩感受性品種では、塩処理により細胞 壁の全糖含量が有意に減少したが、耐性品種 に大きな変化は見られなかった。細胞壁多糖 類の減少は、3つの作物の伸長域と考えられる 領域である0-5 mm部分においてより顕著で あった。植物細胞が成長すると、それらのサ イズは壁によって決定され、典型的には 10-100倍に伸張する。植物細胞は、古い壁に 継ぎ目なく収まる新しい壁の基質を沈着させ て、より薄く弱くならないようにしている。 感受性品種における塩分による壁成分の減少 は、根の成長に対する塩分の抑制効果と関連 している可能性がある。

一次細胞壁は主にペクチン、セルロース結合へミセルロースおよびセルロースからなる。ペクチンは、すべての陸上植物の一次細胞壁の主要成分であり、ガラクツロン酸に富んだ多糖類の区分を包含する。また、遊離カルボキシル基を有するこれらの多糖類は、イオンおよび低分子化合物との相互作用の潜在能力が高い。Ca<sup>++</sup>、ホウ酸塩、アルミニウムおよび他の陽イオンに加えて、これらの細胞壁ペクチンのカルボキシル基は結合が可能であるという報告がある。我々の経験では、耐性品

種の伸長域におけるペクチンの割合が比較的高いことが、塩に対する耐性に寄与することができ、ウロン酸含量の顕著な減少は、塩分濃度による影響を受けやすい品種の根の成長の阻害を説明することができた。また、細胞壁のカルボキシル基は、塩分下で植物に主要な毒性物質であるNa+に結合し、細胞質への侵入を防ぎ、正常な生理的代謝および細胞の成長を維持することができる。

細胞壁は、ヘミセルロース画分の総糖含量 によって測定される。ヘミセルロースは、セ ルロースミクロフィブリルに対して水素結合 によって一次ネットワークを形成することが でき、共有結合によって酸性ペクチンに結合 することもできることが報告されている。へ ミセルロースの構造変化および組成変化は、 壁伸長および細胞伸長のための1つの過程で ある。したがって、それは壁の構造を維持す るために不可欠な必須成分である。細胞壁の 主要成分の1つとしてシグナル分子を含み、こ れはオーキシンを介して増殖を制御すると考 えられている。感受性品種におけるヘミセル ロース量の減少は、細胞壁ネットワークを不 安定性にし、シグナル分子の損失をもたらし、 したがって細胞増殖を阻害し得る。

この実験における細胞壁組成は、根の部 分によって異なった。塩が存在しない場合、 ペクチンは 0-5mm の根領域で全壁組成物の うちの約 40%を占め、セルロースは 30%を 占めていた。根の 0-5mm 部分と比較して、 5-10mm 部分のペクチンの比率は減少したが、 セルロースのそれは増大した。これは、ペク チンが細胞増殖を大きく制御することを示 し、0-5mm 部分はほとんどの作物の伸長域と 考えられ、ペクチンは弾性や粘性を持つと考 えられているからである。耐性品種中のペク チンの割合が比較的高く、セルロースの割合 が低いと、耐塩性に寄与する可能性がある。 塩処理は、ペクチンの割合を減少させたが、 3 つの作物の全領域においてセルロースの増 加をもたらした。これは、塩の存在が細胞壁 の硬さを増加させ、したがって根の成長を阻 害する可能性があることを示唆している。

この研究は、根の細胞壁と植物の耐塩性 との間に密接な関係があることを示した。細 胞壁の組成は、壁の化学的および物理的特性 に影響し、これは塩分下での細胞増殖および伸長に大きく影響し得る。細胞壁の各組成物は、塩分ストレス下での根の成長に対して独自の機能および効果を有する。感受性および耐性品種における細胞壁組成のそれぞれ異なる反応は、塩水条件下で品種根の増殖に異なって影響し得る。根は、塩水条件下での作物の成長にとって実質的に重要である。より良い根の成長は、一般に塩水条件における作物の成長を改善する。

この研究から得られた情報は、耐塩性栽培品種を選択するための新たな基準として用いられるであろう。さらに、これらの機構は、耐塩性栽培品種の育種の新たな方向性を提供することができる。さらに、塩水条件下で根細胞壁を強化する技術は、塩水条件下の作物の全体的な成長に寄与し得る。

この研究の結果は、作物の耐塩性および 関連メカニズムにおける根細胞壁の機能を 結論付けた論文に要約されている。これらの 論文は近い将来論文として提出予定である。

# 引用文献

An, P., X. Li, Y. Zheng, A. Matsuura, J. Abe, A. E. Eneji, E. Tanimoto and S. Inanaga. 2014: Effects of NaCl on root growth and cell wall composition of two soya bean cultivars with contrasting salt tolerance. Journal of Agronomy and Crop Science 200, 212-218.

Cosgrove, D. J. 2016: Plant cell wall extensibility: connecting plant cell growth with cell wall structure, mechanics. and the action wall-modifying enzymes. Journal of Experimental Botany 67, 463-476. Deinlein, U., A. B. Stephan, T. Horie, W. Luo, G. H. Xu and J. I. Schroeder. 2014: Plant salt-tolerance mechanisms. Trends in Plant Science 19, 371-379. Li, T. Q., Q. Tao, M. J. I. Shohag, X. E. Yang, D. L. Sparks and Y. C. Liang. 2015: Root cell wall polysaccharides involved are in cadmium hyperaccumulation in Sedum alfredii. Plant and Soil 389, 387-399.

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者に は下線)

### [雑誌論文](計 23 件)

Zobia Anwar, Muhammad Irshad, An Ping, Farhan Hafeez and Shao Yang. Water extractable plant nutrients in soils amended with cow manure co-composted with maple tree residues. International Journal of Agricultural and Biological Engineering (In press) 査読有

Zobia Anwar, An Ping, Bushra Haroon, Muhammad Irshad and Gary Owens. Nutrients losses via runoff from soils amended with livestock manures co-composted with leaf litter. Journal of Soil Science and Plant Nutrition (In press) 查読有

Xiaohui Feng, Ping An, Xiaoguang Li, Kai Guo, Ce Yang, Xiaojing Liu. 2018: Spatiotemporal heterogeneity of soil water and salinity after establishment of dense-foliage *Tamarix chinensis* on coastal saline land. Ecological Engineering press) (In 10.1016/j.ecoleng.2017.06.031 査読有 Asma Saleem1, Muhammad Irshad1, An Ping and Bushra Haroon. Loss of phosphorus by runoff from soils after amendment with poultry litter co-composted with crop International waste. Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture press) (In https://link.springer.com/article/10. 1007%2Fs40093-018-0207-9 査読有

Weiqiang Li, Rie Nishiyama, Yasuko Watanabe, Chien Van Ha, Mikiko Kojima, Ping An, Lei Tian, Chunjie Tian, Hitoshi Sakakibara and Lam-Son Phan Tran. 2018: Effects of overproduced ethylene on the contents of other phytohormones and expression of their key biosynthetic genes. Plant Physiology and Biochemistry 128: 170-177. doi:10.1016/j.plaphy.2018.05.013 查 読有

Xiaohui Feng, <u>Ping An</u>, Kai Guo, Xiaoguang Lia, Xiaojing Liu and Xiumei Zhang. 2017: Growth, root compensation and ion distribution in *Lycium chinense* under heterogeneous salinity stress. Scientia Horticulturae 226: 24-32. doi: 10.1016/j.scienta.2017.08.011 查読有

Qiaoyan Li, Liming Lai, Hui Du, Wentao Cai, Tianyu Guan, Xiaolong Zhang, Lianhe Jiang, Yuanrun Zheng, Yi Yu, Yong Gao, Ping An and Hideyuki Shimizu. 2017: Elevated CO2 concentrations affect the growth patterns of dominant C3 and C4 shrub species differently in the Mu Us Sandy Land of Inner Mongolia. Botany 95: 869-877.

doi.org/10.1139/cjb-2017-0014 査読有 Hiroki Nakahara, Rina Adachi, Kensuke Kondo, <u>Ping An</u> and Naotaka Matsuzoe. 2017: Effects of different cultivation temperatures and CaCl2 addition on growth and absorption of inorganic components in the halophyte *Suaeda* salsa under saline conditions. Sand

Dune Research 64(2): 39-48. 查読有 Otie V., An P., John N.M. and Eneji A.E. 2016: Interactive effects of plant growth regulators and nitrogen on corn growth and nitrogen use efficiency. Journal of Plant Nutrition 39(11): 1597-1609. doi: Z. Hussain, R. A. Khattak, M. Irshad, Q. Mahmood and P. An. 2016: Effect of saline irrigation water οn leachability of salts, growth and chemical composition of wheat (*Triticum* aestivum L.) in saline-sodic soil supplemented with phosphorus potassium. Journal of Soil Science and Plant Nutrition 16(3): 604-620. doi: 

Asana Matsuura, Ping An, Kouhei Murata & Shinobu Inanaga. 2016: Effect of preand post-heading waterlogging on growth and grain yield of four millets, Plant Production Science 19: 348-359. doi: Weigiang Li, Shinjiro Yamaguchi, M. Ajmal Khan, Ping An, Xiaojing Liu and Lam-Son P. Tran. 2016: Roles of Gibberellins and Abscisic Acid in Regulating Germination of Suaedasalsa Dimorphic Seeds Under Salt Stress. Frontiers in Plant Science (Section: Crop Science and Horticulture) 6: Article 1235. doi: 10.3389/fpls.2015.01235 查読有 Rina Adachi, Marin Susaki, Kensuke Kondo, Ping An and Naotaka Matsuzoe.

An, P., Zheng, Y., Li, X., Eneji, A.E., Inanaga, S. 2015: Selection of plant species as indicators desertification in Mu Us sandy land. China. Sand Dune Research 61 (3): 101-110 査読有

2016: Effects of calcium and day-length on growth and flower bud formation in halophyte Suaeda salsa under salt

stress. Sand Dune Research 63: 57-65

An, P., Li X., Zheng, Y., Eneji, A.E., Qiman, Y., Zheng M., Inanaga S. 2015: Vegetation distribution species-soil relationship in the east central area of Gurbantunggut desert, China. Journal of Geographical Sciences 101-112. 25(1): doi:10.1007/s11442-015-1156-0 查読有 Suha, O.A., Abdalla, A.W.H., Osman, M.A., Inoue, T., An, P. and Babiker, E.E. 2015: Effect of different levels of

micronutrients fertilizer on protein

and basic and acidic amino acids contents of grains of sorghum cultivars. Journal of Agricultural Sciences 21: 159-166 http: //dergipark.gov.tr/download/article-f ile/21081 査読有 Kashiwagi, J., Morito, Y., Jitsuyama, Y., An, P., Inoue, T. and Inagaki, M. 2015: Effects of root water uptake efficiency on soil water utilization in wheat (Triticum aestivum L.) under severe drought environments. Journal of Agronomy and Crop Science 201(3): 161-240 doi.org/10.1111/jac.12092 查読 An, P., Li, X., Zheng, Y., Matsuura, A., Abe, J., Eneji, A.E., Tanimoto, E., Inanaga, S. 2014: Effects of NaCl on root growth and cell wall composition of two soybean cultivars with contrasting salt tolerance. Journal of Agronomy and Science 200: 212-218 Crop doi:10.1111/jac.12060 查読有 An, P., Li, X., Zheng, Y., Eneji, A.E., Inanaga, S. 2014: Calcium effects on root cell wall composition and ion contents in two soybean cultivars under salinity stress. Canadian Journal of plant Science 94(4): 733-740 doi: Suha, O.A., Abdalla, A.W., Inoue, T., An, P. and Babiker, E.E. 2014: Nutritional quality of grains of sorghum cultivar grown under different levels of micronutrients fertilization. Food Chemistry 159: 374-380 DOI:

# [学会発表](計10件)

「他3件」

Shao, Y. and An, P. Effects of salinity on root growth and cell wall composition of wheat cultivars differing in salt tolerance (Oral). 47th Biannual Meeting of Japanese Society for Root Research 2017

10.1016/j.foodchem.2014.03.033 査読有

Shao, Y. and An, P. Effects of salinity on root growth and cell wall composition of Lycium ruthenicum (poster). 45th Biannual Meeting of Japanese Society for Root Research 2016 「他8件」

## 6. 研究組織

#### (1)研究代表者

安 萍 (AN, Ping)

鳥取大学・乾燥地研究センター・准教授

研究者番号:60379659