

令和 元年 6 月 11 日現在

機関番号：10101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2018

課題番号：15K14673

研究課題名(和文)植物において有害元素になぜ有益性が認められるのか

研究課題名(英文)Why toxic elements can be beneficial in some plant species

研究代表者

渡部 敏裕 (Watanabe, Toshihiro)

北海道大学・農学研究院・准教授

研究者番号：60360939

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、有害元素がしばしば示す植物生育に対する有益な効果を説明する機構として、有害元素による抗酸化ストレス活性賦活化の関与を予想した。有害かつ有用な元素としてよく知られているアルミニウムとナトリウムに着目し研究を行った。アルミニウムについては直接的な証拠は得られず、ナトリウムに関しては光による酸化ストレスにおいて仮説が支持された。しかしながら、クロロフィル蛍光による解析からこの現象における光合成の関与は認められず、抗酸化物質の測定などさらなる検討が必要であると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

酸性土壌と塩類土壌は世界の主要な不良(問題)土壌である。アルミニウムは酸性土壌で、ナトリウムは塩類土壌で植物の生育を制限する有害元素である一方、一部の植物種では生育を促進する有用元素としても知られている。しかし、これら有害元素の有用性を示す要因についてはよくわかっていなかった。本研究は、アルミニウムやナトリウムが他の要因によるストレスを直接的あるいは間接的に軽減することを示すものであった。この成果は酸性土壌や塩類土壌における作物生産の向上や森林の保全に貢献できるものである。

研究成果の概要(英文)：In the present study, as one of the mechanisms responsible for the "beneficial effects" of toxic elements on plant growth, we expected the involvement of the activation of antioxidative stress responses induced by these toxic elements. We focused on aluminum and sodium, which are well known as toxic and beneficial elements. No direct result supporting this hypothesis was observed for aluminum in experiments using *Melastoma*. For sodium, by contrast, the hypothesis was supported in sugar beet under light-induced oxidative stress. However, chlorophyll fluorescence analysis suggested no involvement of photosynthesis in this phenomenon. Further studies such as measurement of antioxidants seems necessary.

研究分野：植物栄養学

キーワード：有害元素 有用元素 アルミニウム ナトリウム

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

植物には必須元素以外に生育に対して有益な効果を与える有用元素が存在するが、驚いたことにその多くはむしろ有害元素として知られる元素である。有害元素が有用元素になりうる理由として、必須元素の代替作用や他の有害元素の毒性軽減などが報告されている。しかし、これらで説明できるケースは限定的で、ほとんどの場合なぜ有害元素が特異的に有用性を示すのかわかっていない。

### 2. 研究の目的

これら有害元素が植物に与える障害について考察すると、ひとつの共通する障害機構が見出される。すなわち活性酸素種 (ROS) の蓄積による酸化障害である。ROS は様々なストレスに対する防御応答においてシグナル因子として重要な役割を持つ一方、過剰な蓄積は酸化ストレスによる障害を引き起こす。ROS は有害元素ストレス以外にも様々なストレスで生成し、抗酸化ストレス活性を高めることがこれらに対する共通かつ重要な耐性機構の一つである。これらの知見と後述する申請者らの実験での観察結果 (次項参照) を熟慮することで、「有害元素に対して耐性が極めて強い植物種では、その有害元素によって特異的に抗酸化ストレス活性が劇的に高まり、他の ROS を蓄積しうるストレスが共存する場合、それに対する耐性が一気に向上し有害元素による生育促進現象として観察される」という仮説を立てるに至った。本研究は有害元素による生育促進機構を普遍的かつシンプルな機構で説明することを目指す。

### 3. 研究の方法

#### 【アルミニウムによる生育促進】

好アルミニウム (Al) 植物であるメラストーマを適温/低温で栽培し、ストレス下における Al の効果を調べた。また同様にメラストーマを用い、Al 処理によって変動する遺伝子発現を RNA-seq により調べた。

#### 【ナトリウムによる生育促進】

好ナトリウム (Na) 植物とされるテンサイなどのフダンソウ属植物を高温/適温あるいは強光/弱光条件下で栽培し、ストレス下における Na の影響を調べた。

### 4. 研究成果

#### (1) アルミニウムによる生育促進

適温、低温のいずれの温度条件下においてもメラストーマは Al により生育が促進され、特に根で顕著であった。低温下の Al 無処理条件では根の伸長域に壊死が見られたが、Al 添加により完全に回復した (図 1)。そこで、マロンジアルデヒド (MDA) 濃度の測定により酸化ストレスの程度を調べたところ、メラストーマの根では低温により酸化ストレスが生じるが、Al 添加はそれを軽減することはなかった。一方、鉄イオンの関与を調べたところ、低温下では鉄イオンによる根の壊死がより顕著に発生し、Al はこの鉄による根の壊死を軽減することがわかった。次に、Al 処理を施したメラストーマを用いて、RNA-seq による遺伝子発現解析から Al の持つ有益な効果について検討した。RNA-seq の結果から、メラストーマの葉では Al 処理によりリグニン合成系が抑制されており、これは酸化ストレスが低下していることを示唆している。この結果は以前の研究で実際に見られた Al によるリグニン含有率の低下と一致するものである。一方で、葉緑体に存在するフェリチンをコードすると推定される遺伝子の発現が Al 処理により低下した。メラストーマは鉄イオンによる障害を受けやすく、Al は鉄イオンの吸収を抑制することがこれまでにわかっているが、Al 不在下では鉄毒性回避のためフェリチンの生合成が進んでいることが予想された。以上の結果から、メラストーマにおける Al の有益な効果は鉄の吸収抑制が主要因であり、酸化ストレスの抑制は副次的に発生しうるものであると考えられた。

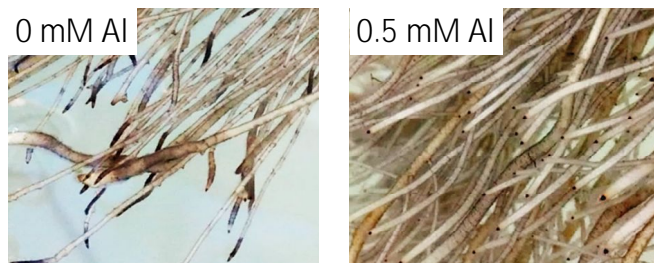


図 1. 気温 15 で水耕栽培したメラストーマ根に対するアルミニウム処理の影響。

#### (2) ナトリウムによる生育促進

酸化ストレスの発生要因として、まず温度ストレスに着目した。テンサイを用い、人工気象器で異なる温度条件下での Na の影響を比較した。高温/適温処理では、高温処理、適温処理ともに Na により生育が促進されたが、生育が悪かった高温処理で Na の生育促進効果が大きかった。抗酸化ストレスに関係する各種酵素活性も両温度処理で Na によって上昇し、その度合は高温処理時に大きく生育応答と同じ傾向を示したが、酸化ストレスの指標である MDA 濃度に対して Na は影響しなかった。

次に、光ストレスに着目した。人工気象器で強光および通常光の条件下でテンサイを栽培し Na

の影響を評価した。強光処理下において Na の著しい生育促進効果がテンサイで認められた(図 2)。MDA 濃度は強光処理で増加したが Na によって大きく低下した。しかしながら、抗酸化ストレスに関係する各種酵素活性は Na によって低下したため、これらの酵素は酸化ストレスの解消には関わっていないと考えられた。また、個葉での光と Na の関係を調べるため、±Na 処理を行ったテンサイ植物体の対となる葉の一方をアルミニウムホイルで覆い、短時間遮光した時の MDA 濃度を測定した。葉の MDA 濃度は光に晒された条件で高く、光により酸化ストレスが生じることが示された。遮光した葉では Na 処理の影響は受けなかった一方、遮光しなかった葉では Na により MDA 濃度が低下したことから、Na による葉の酸化ストレス軽減は光による酸化ストレスを Na が軽減するためであることが示された。

これらの結果から Na による光合成活性の上昇が光阻害を軽減し、酸化ストレスを軽減した結果生育が大きく促進されたものと予想した。そこで、光合成に与える Na の影響について次に調べた。この実験では、テンサイと近縁でより Na による生育促進を受けやすい西洋フダンソウを試した。夏季に網室において西洋フダンソウを光強度処理として 50% 遮光区と無遮光区を設定し、両区で Na 処理を施した水耕栽培を 1 か月間行った。MDA 濃度は各部位において無遮光区で増加したが、Na 添加により減少し、特に根では半減した。一方、クロロフィル蛍光により求めた各種光合成パラメータ (Fv/Fm、ETR) には光強度、Na 処理のいずれの影響も見られず、酸化ストレスや Na による影響における光合成の関与は認められなかった。

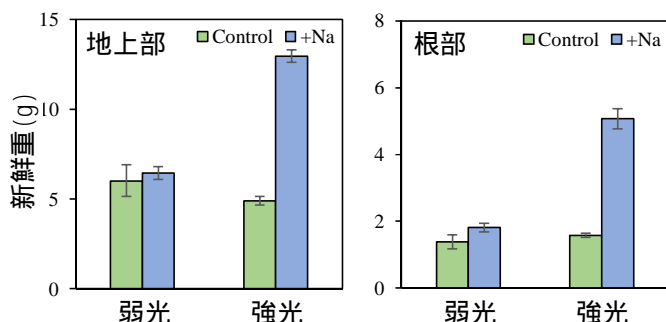


図 2. 異なる光条件下で生育させたテンサイの新鮮重に与えるナトリウム添加 (50 mM Na) の影響。

### (3) 総括

本研究の仮説である、「有害元素による生育促進要因における抗酸化ストレス活性賦活化の関与」についてはアルミニウムについては直接的な証拠は得られず、ナトリウムに関しては光による酸化ストレスにおいて仮説が支持された。しかしながら、クロロフィル蛍光による解析からこの現象における光合成の関与は認められず、抗酸化物質の測定などさらなる検討が必要であると考えられた。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 15 件)

1. Fujiishi M, Maejima E, Watanabe T. Effect of mixed cropping with lupin (*Lupinus albus* L.) on growth and nitrogen uptake in pasture grasses grown under manure application. Archives of Agronomy and Soil Science, 印刷中 (2019), 査読有, doi: 10.1080/03650340.2019.1600673
2. Wagatsuma T, Maejima E, Watanabe T (他 11 名). Dark conditions enhance aluminum tolerance in several rice cultivars via multiple modulations of membrane sterols. Journal of Experimental Botany, 69, 567-577 (2018), 査読有, doi: 10.1093/jxb/erx414
3. 鷹田秀一, 渡部敏裕, 大崎 満. テンサイのカリウム施肥, リン酸施肥及び栽植密度の変動が収量・品質に及ぼす影響と土壌分析値との関連について. 日本土壌肥科学雑誌, 89, 95-107 (2018), 査読有, [https://www.jstage.jst.go.jp/article/dojo/89/2/89\\_890211/\\_pdf/-char/ja](https://www.jstage.jst.go.jp/article/dojo/89/2/89_890211/_pdf/-char/ja)
4. Rahmawati D, Wijaya CH, Hashidoko Y, Djajakirana G, Haraguchi A, Watanabe T, Kuramochi K, Nion YA. Concentration of some trace elements in two wild edible ferns, *Diplazium esculentum* and *Stenochlaena palustris*, inhabiting tropical peatlands under different environments in Central Kalimantan. Eurasian Journal of Forest Research, 20, 11-20 (2017), 査読有, <https://eprints.lib.hokudai.ac.jp/dspace/handle/2115/67941>
5. Schmitt M, Mehltreter K, Sundue M, Testo W, Watanabe T, Jansen S. The evolution of aluminum accumulation in ferns and lycophytes. Journal of American Botany, 104, 573-583 (2017), 査読有, doi: 10.3732/ajb.1600381
6. Chu Q, Sha Z, Osaki M, Watanabe T. Contrasting effects of cattle manure applications and root-induced changes on heavy metals dynamics in the rhizosphere of soybean in an acidic Haplic Fluvisol: A chronological pot experiment. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 65, 3085-3095 (2017), 査読有, doi: 10.1021/acs.jafc.6b05813
7. 大竹勝, 渡部敏裕, 大崎満. テンサイの播漬初穀混合育苗培地が紙筒紙質へ及ぼす影響。

- 日本土壤肥料学雑誌, 88, 403-412 (2017), 査読有,  
[https://www.jstage.jst.go.jp/article/dojo/88/5/88\\_880509/\\_pdf/-char/ja](https://www.jstage.jst.go.jp/article/dojo/88/5/88_880509/_pdf/-char/ja)
8. Maejima E, Osaki M, Wagatsuma T, Watanabe T. Contribution of constitutive characteristics of lipids and phenolics in roots of tree species in Myrtales to aluminum tolerance. *Physiologia Plantarum*, 160, 11-20 (2017), 査読有, doi: 10.1111/ppl.12527
  9. Chu Q, Sha Z, Nakamura T, Oka N, Osaki M, Watanabe T. Differential responses of soybean and sorghum growth, nitrogen uptake, and microbial metabolism in the rhizosphere to cattle manure application: a rhizobox study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64, 8084-8094 (2016), 査読有, doi: 10.1021/acs.jafc.6b03046
  10. Schmitt M, Watanabe T, Jansen S. The effects of aluminium on plant growth in a temperate and deciduous aluminium accumulating species. *AoB PLANTS*, 8, plw065 (2016), 査読有, doi: 10.1093/aobpla/plw065
  11. Watanabe T, Maejima E, Yoshimura T (他7名). The Ionomics Study of Vegetable Crops. *PLoS ONE*, 11, e0160273 (2016), 査読有, doi: 10.1371/journal.pone.0160273
  12. Chu Q, Watanabe T, Shinano T (他4名). The dynamic state of the ionome in roots, nodules, and shoots of soybean under different nitrogen status and at different growth stages. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 179, 488-498 (2016), 査読有, doi: 10.1002/jpln.201600059
  13. Schmitt M, Boras S, Tjoa A, Watanabe T, Jansen S. Aluminium accumulation and intra-tree distribution patterns in three arbor aluminosa (*Symplocos*) species from Central Sulawesi. *PLoS ONE*, 11, e0149078 (2016), 査読有, doi: 10.1371/journal.pone.0149078
  14. Shibuya T, Watanabe T, Ikeda H, Kanayama Y. Ionomics analysis of horticultural plants reveals tissue-specific element accumulation. *The Horticulture Journal*, 84, 305-313 (2015), 査読有, doi: 10.2503/hortj.MI-058
  15. Watanabe T, Urayama M, Shinano T, Okada R, Osaki M. Application of ionomics to plant and soil in fields under long-term fertilizer trials. *SpringerPlus*, 4, 781 (2015), 査読有, doi: 10.1186/s40064-015-1562-x

〔学会発表〕(計28件)

1. 和崎淳, 山本晃弘, 齋藤天翔, 坪田博美, 渡部敏裕, 中坪孝之. 硫黄荒原に分布する耐酸性植物種のイオンプロファイル. 第60回日本植物生理学会年会 (2019)
2. Okamura T, Watanabe T, Tsubota H, Wasaki J. Mobilization of unavailable phosphate in the rhizosphere soil by cluster roots of *Helicia cochinchinensis*. 6th Symposium on Phosphorus in Soils and Plants (2018)
3. 和崎淳, 松山理絵, 栢田元気, 渡部敏裕. 日本に在来するカヤツリグサ科植物のダウシフォーム根形成と低リン耐性. 日本土壤肥料学会2018年度神奈川大会 (2018)
4. 岡村惟史, 渡部敏裕, 坪田博美, 和崎淳. 本在来種ヤマモガシのクラスター根におけるリン可給化能. 日本土壤肥料学会2018年度神奈川大会 (2018)
5. 吉井健祐, 丸山隼人, 西田翔, 和崎淳, 渡部敏裕. アルミニウム集積植物 *Melastoma malabathricum* のアルミニウムストレスに対する初期応答. 日本土壤肥料学会2018年度神奈川大会 (2018)
6. 合田健登, 菅井徹人, 丸山隼人, 渡部敏裕. 異なる光条件下におけるナトリウムの西洋フダンソウに対する影響. 日本土壤肥料学会北海道支部秋季大会 (2018)
7. 亀岡悠香, 丸山隼人, 我妻忠雄, 黒田昌治, 渡部敏裕. HMG 遺伝子を過剰発現させたイネのアルミニウム耐性獲得について. 日本土壤肥料学会北海道支部秋季大会 (2018)
8. Wasaki J, Yamamoto A, Saito T, Tsubota H, Watanabe T, Nakatsubo T. Properties of mineral accumulation of solfatara plants in western Japan. 10th International Symposium on Plant-Soil Interactions at Low pH (2018)
9. Watanabe T, Nishida S, Maruyama H, Yoshii K, Wasaki J. Transcriptome analysis of *Melastoma malabathricum* under aluminum stress. 第59回日本植物生理学会年会 (2018)
10. Tokunaga S, Maruyama H, Okada R, Watanabe T. Molybdenum accumulation in wheat grown under nitrogen deficiency. 第59回日本植物生理学会年会 (2018)
11. 中野友貴, 楠和隆, Taylor GJ, 渡部敏裕, 井内聖, 小林正智, 小山博之, 小林佑理子. シロイヌナズナ野生系統を用いたカドミウム耐性のゲノムワイド関連解析. 第59回日本植物生理学会年会 (2018)
12. Saito T, Watanabe T, Nakatsubo T, Wasaki J. The mechanism of acid tolerance of *Lycopodium cernuum* L. grown in solfatara fields. Taiwan-Japan Plant Biology 2017 (2017)
13. 岡村惟史, 渡部敏裕, 坪田博美, 和崎淳. 低リン土壤に生育するヤマモガシが周辺植物のミネラル吸収に及ぼす影響. 日本土壤肥料学会2016年度佐賀大会 (2016)
14. Chu Q, 渡部敏裕, 中村卓司, 岡紀邦, 大崎満. Effect of cattle farmyard manure

- application on heavy metals dynamics in soil and soybean plant. 日本土壤肥料学会 2016 年度佐賀大会 (2016)
15. 前島恵理子, 合田健登, 大崎満, 渡部敏裕. 低温条件下で栽培した *Melastoma malabathricum* の生育に対するアルミニウムの効果. 日本土壤肥料学会 2016 年度佐賀大会 (2016)
  16. 南波佐間幹人, 前島恵理子, 松本卓也, 土谷修平, 大崎満, 渡部敏裕. ストレス条件下でのテンサイの生育に対するナトリウムの効果. 日本土壤肥料学会 2016 年度佐賀大会 (2016)
  17. 渡部敏裕, 前島恵理子. 強酸性土壌に生育する植物とアルミニウムの関係. 日本土壤肥料学会 2016 年度佐賀大会 (2016)
  18. Watanabe T, Maejima E, Osaki M, Azuma T. Ionic variation in leaves of 826 plant species growing in the botanical garden of Hokkaido University, Japan. Plant Biology Europe EPSO/FESPB 2016 Congress (2016)
  19. Maejima E, Hiradate S, Osaki M, Wagatsuma T, Watanabe T. Characteristics of phenolics in root cells of Al-tolerant woody plants. Plant Biology Europe EPSO/FESPB 2016 Congress (2016).
  20. Maejima E, Watanabe T, Wagatsuma T, Osaki M. The characteristics of root cell components of plants adapted to acidic soil. Rhizosphere 4 congress (2015)
  21. Watanabe T, Kusumoto Y, Morita S, Koyanagi T, Osaki M, Hiradate S. Ionic variation in plant species growing in various soil environments. Rhizosphere 4 congress (2015)
  22. Chu Q, Watanabe T, Sha Z, Osaki M. Effect of different nitrogen sources on nitrogen dynamics, mineral elements and microbial communities in rhizosphere soil of different plant species. Rhizosphere 4 congress (2015)
  23. Watanabe T, Maejima E, Hiradate S, Wasaki J, Osaki M, Jansen S. Physiological variations in aluminum accumulation in different aluminum-accumulator plant species. The 9th International Symposium on Plant-Soil Interactions at Low pH (2015)
  24. Maejima E, Watanabe T, Wagatsuma T, Osaki M. Characteristics of root cell components in aluminum-tolerant woody plants. The 9th International Symposium on Plant-Soil Interactions at Low pH (2015)
  25. Chu Q, 渡部敏裕, 中村卓司, 岡紀邦, 大崎満. Effect of different nitrogen sources on N, mineral elements mobility and microbial metabolism in rhizosphere soil of different plant species. 日本土壤肥料学会 2015 年度京都大会 (2015)
  26. 前島恵理子, 渡部敏裕, 我妻忠雄, 大崎満. アルミニウム超耐性をもつ木本植物の根に含まれるフェノリクスの特性. 日本土壤肥料学会 2015 年度京都大会 (2015)
  27. 土谷修平, 渡部敏裕, 松本卓也, 大崎満. ナトリウム処理下におけるテンサイの抗酸化応答. 日本土壤肥料学会 2015 年度京都大会 (2015)
  28. 高雄惇英, 渡部敏裕, 和崎 淳, 大崎 満. シロバナルーピンで観察される特異的な Cs 吸収傾向. 日本土壤肥料学会北海道支部秋季大会 (2015)

〔図書〕(計1件)

Wagatsuma T, Maejima E, Watanabe T, Khan MSH, Ishikawa S. Aluminum Stress Adaptation in Plants, Springer, 274 (99-124) (2015)

〔その他〕

ホームページ等

<http://lab.agr.hokudai.ac.jp/botagr/pln/nabe/index.htm>

## 6. 研究組織

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。