

イネの根の細胞壁におけるストロンチウム応答機構に関する研究

吉田 文哉 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 岩井 宏暁 (筑波大学 生命環境系)

<導入・目的>

ストロンチウム(Sr)はイネに取り込まれると根の伸長を阻害することが知られている。しかし、Sr 毒性のメカニズムは知られていない。その機構を知る手掛かりとして、根の細胞壁ペクチンによるアルミニウム毒性緩和が関係していると考えている。

アルミニウム(Al)はSrと同じく非必須元素で、根の伸長阻害を引き起こすことが知られている。イネは植物の中でもAl耐性が高いとされるが、これは根から多量のペクチンを分泌し、それが障壁となってAlの吸着を防ぐことにより、毒性を緩和することがわかっている。ペクチンが含まれる細胞壁は金属元素が細胞内に吸収される前に通過する最初の組織であり、重金属応答においてイオン隔離装置として機能していると言われている。Al毒性は、Caの置換に、効果的なSrやBaなどの元素の毒性と同じ傾向を示すとされており、SrもAlと同様な機構が存在することが考えられる。しかし、予備実験として、Sr処理したイネ(コシヒカリ)の根のペクチンをルテニウムレッド染色で観察したところ、他の重金属処理では見られなかった被膜状の構造が見られた。このことから、Srに対する細胞壁ペクチンの応答は、他の重金属イオンに対するものとは明らかに異なることが考えられた。このように、イネにおけるSr毒性のメカニズムや、それに対する根の細胞壁ペクチンの応答については不明な点が多いのが現状である。そこで本研究では、細胞壁のペクチンの量や質が変化したイネを用いてSrの植物体内での挙動や毒性に対する耐性の変化を調べることで、根の細胞壁およびペクチンのSr毒性への応答と毒性緩和における機能を明らかにすることを目的として実験を行った。

<材料・方法>

実験1. 伸長の測定

WT(品種:日本晴)の種子を3日間吸水させ、1.0 mMのCaCl₂水耕液(pH4.2)で3日間生育後、各濃度(0, 200, 500 μM)のSrCl₂を含んだCaCl₂水耕液で7日間処理した。Sr処理前と後に根との伸長量を測定した。

実験2. EGCG処理下での伸長の測定

WTの種子を3日間吸水させ、各濃度(0, 50 μM)のペクチンメチルエステルアゼ阻害剤EGCGを含んだ1.0 mM CaCl₂水耕液で3日間生育後、各濃度(0, 50 μM)のEGCGと各濃度(0, 200, 500 μM)のSrCl₂を含むCaCl₂水耕液で7日間処理した。Sr処理前と後に根の伸長量を測定した。

実験3. ルテニウムレッド(RR)による根のペクチン染色

実験1および実験2でサンプリングした根をRRで5分間染色し、脱メチル化ペクチンの観察を行なった。その後、0.1NのNaOHで1分間けん化処理した後、再び0.01%のRRで5分間染色し、メチル化ペクチンも含むペクチン全量の観察を行なった。

<結果>

伸長の測定

日本晴におけるSr処理による伸長量への影響を調べるため、各濃度のSrCl₂を処理し、Sr処理前と後の根の伸長量を測定した。Srの濃度が上昇するにつれ、根の伸長量は減少し、Sr 500 μMの伸長量は、Sr 0 μMの46%程度であった。

EGCG処理下での伸長の測定

当研究室の研究により、EGCGはイネのペクチン分泌量を増加させ、根の伸長を促進することがわかっている。そこで、EGCG処理下でのSr処理による伸長量への影響を調べるため、EGCGとSrを処理し、処理前と後の根の伸長量を測定した。EGCG未処理区では、実験1と同様にSr濃度が上昇するにつれ、根の伸長量は減少した。EGCG処理区においても、Sr処理によって根の伸長量は減少したが、EGCG未処理区と比較すると、伸長量の減少の程度は小さかった。

RRによる根のペクチン染色

日本晴において、Sr処理下での根のペクチンの様子を観察するために、RR染色を行った。Sr 200 μMとSr 500 μMでは、根の先端に被膜状の構造が観察されたが、Sr 0 μMでは観察されなかった。また、EGCG処理下では、Sr 200 μMとSr 500 μMだけでなく、Sr 0 μMにおいても被膜状の構造が見られた。また被膜状の構造には、多数の細胞構造が観察された。

<考察>

日本晴において、Srを処理することで根の伸長量は減少したが、EGCGを加えると減少の程度が小さくなったことから、EGCGはイネの根におけるSrの毒性を緩和することが分かった。また、EGCGはペクチンの分泌量を増加させることから、イネの根におけるSrに対する応答や毒性緩和にはやはりペクチンが関与していると考えられる。さらに、根のRR染色では、他の金属処理では見られない被膜状の構造の再現性が確認されたことから、イネの根におけるSrに対する応答は、他の金属に対するものとは異なることが示唆された。またこの被膜状構造には細胞層が観察されたことから、根の表面構造が分離したものである可能性が高い。また、EGCG処理下ではSr 0 μMであっても被膜状の構造が観察されたが、これはペクチンの分泌量が増加したことによるものと考えられ、Sr処理によるものとは異なると考えられる。

<今後の展望>

今後は、ペクチンによるSr応答について詳細に調べるためにポリガラクトソナーゼ過剰発現イネ *OsPG2-FOX* やペクチンメチルエステルアゼ過剰発現イネ *OsPME1-FOX* を用いて、伸長の測定やRR染色を行う。また、Srの植物体内での輸送や挙動を調べるため放射性ストロンチウムを用いたトレーサー実験を計画している。