

細胞壁改変イネを用いた Al 耐性に関する細胞壁成分の探索

長山 照樹 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 古川 純 (筑波大学 生命環境系)

【背景と目的】

アルミニウム (Al) は地殻に最も多く含まれる金属元素だが、土壌の pH がおよそ 5 を下回ると溶出し植物に吸収されてその成長を阻害する。Al による植物の成長阻害は世界の作物収量低下の、乾燥に次ぐ大きな要因とされる。

植物に吸収された Al の多くは細胞壁領域に存在し、細胞壁を構成する多糖の一つであるペクチンと主に結合していると考えられている。ペクチンの構成物質の一つであるガラクトuron酸が負の電荷を帯びており、正の電荷を帯びる金属イオンと結合しやすいためである。通常細胞壁のペクチンはカルシウム (Ca) を介して所々でつながり、柔軟なゲルになっている。しかし Al が Ca と入れ替わるとゲルはより硬くなり、これによって細胞伸長が阻害されると考えられている。

また Al がリン脂質と結合することで細胞膜の特性が変化し、機能が阻害されることによっても成長量が低下すると考えられている。

一方植物の中には Al ストレスに抵抗性を示す、あるいはこれを排除する機構を持つものもいる。代表的な方法としては根から有機酸を分泌し、土壌中の Al イオンが有機酸とキレート化合物を形成することで根に吸収されにくくなるという機構が知られている。しかしイネは Al ストレスに応答した有機酸の分泌増加が極めて少ないにもかかわらず、高い Al 耐性を持っている。

本研究ではイネの Al 耐性には細胞壁が寄与しているのではないかという仮説のもと、細胞壁改変イネにおける Al 耐性を調査した。

【材料と方法】

供試植物

細胞壁改変イネ: *PG2*-FOX, WT: 日本晴

ポリガラクトナーゼ (PG) はペクチン主鎖を分解する酵素であり、これを過剰発現させた *PG2*-FOX では細胞壁のペクチン含有量が低下していることが示されている。

実験方法

Al ストレスによる早期の成長阻害は植物の根に表れる。この実験では、異なる濃度の Al 溶液に 24 時間曝して根の伸長量を比較した。

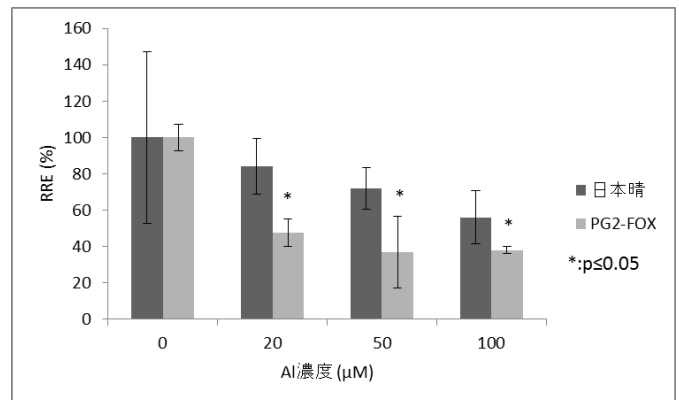
イネの種子を次亜塩素酸ナトリウム水溶液で 15 分殺菌してから 1 日吸水させ、0.5 mM CaCl₂ 水溶液 (pH4.5) で 3 日間育てた後、0/20/50/100 μM AlCl₃ を含んだ 0.5 mM CaCl₂ 水溶液 (pH4.5) で 1 日処理した。Al 処理の前後で定規を用いて根長を計測し、処理中の伸長量を算出した。

Al を加えずに生育させた場合であっても、細胞壁改変イネと WT における根の伸長量には差が生じる場合があるので、Al の影響だけを評価するためその系統で 0 μM AlCl₃ にて処理された個体群における伸長量を 100% とし、他の Al 濃度にて処理され

た個体群における相対伸長量 Relative Root Elongation: RRE (%) を評価した。

【結果と考察】

WT と比較して *PG2*-FOX では 20/50/100 μM AlCl₃ 処理条件下において伸長量の低下がより強く表れることが示された。



この実験結果から

1. Al が結合することにより伸長阻害を発生させる起点となっている場所はペクチン以外にも存在する (ペクチンがその一つであるかは不明)
2. ペクチンが細胞壁中に少ないとき、ペクチン以外の細胞壁成分に Al が結合することで、より大きな伸長阻害が生じる

以上のことを考察した。

考察 1 は Al がリン脂質と結合すると示した先行研究とも矛盾しない。

またペクチンが Al と結合することで細胞壁が柔軟性を失い、それによって細胞伸長が阻害されるというモデルでは、*PG2*-FOX において Al の影響がより強く観察された今回の実験結果を説明することが難しいと考える。

【今後の展望】

イネにおいてペクチン以外の細胞壁成分が Al 耐性に寄与しているかを調べるために、他の細胞壁改変イネにおける Al 阻害強度を確認することを考えている。またどの細胞壁成分が Al と結合しているかを調べるために、各細胞壁改変イネのサンプルを 70% エタノールで保存し、それらの細胞壁における各細胞壁成分やそこに含まれる Al の定量を予定している。