

塩ストレス条件のイネにおける根細胞壁の生化学的解析

黒川 裕平 (筑波大学 生物学類)

指導教員：壽崎 拓哉 (筑波大学 生命環境系)

【導入】

植物に対する環境ストレスである塩ストレスは植物の成長や生育に影響を及ぼす。農業の現場においても減産を引き起こす深刻な要因の一つであり、塩ストレスによって細胞外の Na^+ の濃度が増加すると、細胞内に Na^+ が流入し、細胞質における Na^+ の濃度が上昇する。過剰な Na^+ の蓄積は植物にとって有害で、細胞膜上または液胞膜上には細胞内に流入した高濃度の Na^+ の排出または隔離を行う膜タンパク質が存在し、細胞膜 Na^+/H^+ 対向輸送体(SOS1)やナトリウム取り込み輸送体(HKT1)、液胞膜 Na^+/H^+ 対向輸送体(NHX)がある。

耐塩性のメカニズムには、植物への塩の侵入を最小限に抑えるメカニズムと、細胞質内の塩の濃度を最小限に抑えるメカニズムの2つが考えられている。OsNHX1は、液胞に塩をため込むことにより、細胞質内の塩の濃度を最小限にすることで、塩障害に対応することで知られている。しかし、*osnhx1*変異体では、液胞内にため込むことができにくくなったために、細胞壁や細胞質に塩をリークせざるを得なくなり、塩ストレスに弱くなっていると考えられる。根の細胞壁は、塩ストレスに植物が晒された時に、最初に対応する場の一つである。塩ストレス条件で栽培した植物は、根の伸長阻害が起きるが、根の伸長に直接的に関与するのもまた細胞壁である。土壌の塩性の変化が根におけるイオンや水の輸送に影響を与えるような細胞壁の変化をもたらすことや、 Na^+ はペクチンをはじめとした細胞壁の化学的組成、特性に影響を与える可能性があることがわかっている。しかし、現状として細胞壁の化学組成及び特性変化が塩ストレス応答に対して果たす役割はほとんど理解されていない。そこで本研究は細胞壁構造と特性が塩ストレス応答において果たす役割を明らかにすることを目的として実験を行った。

【材料と方法】

1. 研究材料には、モデル植物であるイネ (*Oryza sativa*: 品種日本晴)を用いて、異なる塩濃度(0 mM, 50 mM, 100 mM, 125 mM)および播種後日数で、どのように細胞壁組成が変化するか生化学的に分析する。水耕栽培はインキュベーター内で17日間行い、うち3日間塩ストレス処理を行った。塩ストレス処理前後のイネをサンプリングし地下部の乾燥重量(dry weight: DW)の測定を行った。
2. 塩ストレスに弱いイネ (*osnhx1* mutant) を同条件で生育、同様の生化学的分析をすることによってWTとの違いについて細胞壁量と酸性糖/中性糖の変化を解析した。

【結果および考察】

50 mM NaCl では、0 mM のものと比較し少し生長が悪くなったが、100 mM 以上ではほぼ致死性であった。

WT および *osnhx1* 変異体の根における乾燥重量を比較した結果、WT において塩濃度が高くなるにつれて増加する傾向が観察されたが、*osnhx1* 変異体においては、そのような傾向はみられなかった。

また乾燥重量あたりの根における細胞壁量を測定した。その結果、塩濃度を与えていない0 mM の条件でWTは、*osnhx1* 変異体の約5倍の細胞壁量を有していた。このことから、*osnhx1* 変異体の根の細胞壁は多く含まれておらず弱い構造を持っている可能性が考えられた。また、WT では塩濃度が高くなるにつれて細胞壁含量が低下し、致死性の100 mM の濃度では *osnhx1* 変異体と同程度の細胞壁量となった。一方、*osnhx1* 変異体では、そう行った応答を示さなかった。以上の結果から、細胞壁量は、塩ストレスに応答して変化していることが考えられる。

また、ペクチン、ヘミセルロース、セルロースの成分がどのように変化するかについて調査した。WT では、ペクチンとヘミセルロースの細胞壁中に占める割合が、塩濃度が高くなるにつれて減少し、反対にセルロースの割合が増加する傾向がみられた。*osnhx1* 変異体では、そう行った傾向を示す変化はみられなかった。以上の結果から、塩ストレスに対応するためにはセルロース含量が重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

塩ストレスで育てたイネは根の伸長阻害が起きるが、それは細胞壁の変化したことも原因の一つと考えられる。粘弾性に関わるペクチンやヘミセルロースの割合が減少することや細胞壁全体の量が減少することは、細胞伸長に影響を与える可能性がある。また、セルロースの増加は原形質分離が起きないようにする効果もあった可能性がある。今後、細胞壁中の状態の変化や原形質分離の様子も含めた観察、免疫組織化学染色を用いた細胞壁成分の分布、そして細胞壁改変イネを用いて同様な調査を行う予定である。