

## イネのアルミニウム誘導性の根伸長阻害過程における細胞壁成分の変化

辰己 朱 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 佐藤 忍 (筑波大学 生命環境系)

## 【背景・目的】

アルミニウム(Al)は pH がおよそ 5 を下回る酸性土壌下では  $Al^{3+}$  という水溶性の状態になって植物体内に取り込まれ、根の伸長を阻害することが分かっている。世界の農耕地の 30~40 %は酸性土壌と言われ、Al による成長阻害は世界の農作物の収量低下の大きな要因と考えられている。

こういった Al 毒性への代表的な耐性機構として、根から有機酸を分泌し、土壌中の Al が有機酸と化合物を形成することで根に吸収されにくくするというメカニズムが知られている。しかしながら、イネは有機酸の分泌と Al 耐性の相関が確認されないにも関わらず、高い Al 耐性を持つことが知られている。当研究室の結果により、Al 濃度が高くなるほど根のペクチンの蓄積量が多くなることで Al に対して障壁として働き、根本体への Al 吸着を防いでいることが分かっている (Nagayama *et al.* 2019, 2021, 2022)。一方、Al 耐性が弱く、Al 存在下で根の伸長が抑えられる *star1* 変異体では、Al ストレス下でも分泌性ペクチンは増加せず、根への Al の吸着が観察されている。また根に吸着した Al は細胞壁領域で存在することから、根の細胞壁成分と Al が結合することで細胞壁特性が変化し、根の伸長が阻害されたと考えられている。しかし、根から吸収された Al がどの細胞壁成分に結合し、どのような細胞壁成分の変化が起こって根の伸長阻害が引き起こされるのかはまだ明らかになっていない。そこで本研究では、Al の細胞壁における吸着部位と Al ストレスに伴う細胞壁成分の変化を解析し、Al 毒性に関与する根の伸長阻害のメカニズムを明らかにすることを目的としている。

## 【材料・方法】

## 1. イネのサンプリング・細胞壁分画

WT(品種: コシヒカリ)、Al 感受性変異体 *star1*、キシログルカン分解酵素過剰発現イネ XGase-OX の種子を 3 日間吸水させた後、1.0 mM の  $CaCl_2$  水耕液(pH4.5)で 3 日間生育、その後異なる濃度 (0/100  $\mu$ M) の  $AlCl_3$  を含んだ 1.0 mM の  $CaCl_2$  水耕液で一日処理した。 $CaCl_2$  水耕液での生育期間とコントロールの Al 処理期間では 5  $\mu$ M のクエン酸を添加し、Al の吸収を阻害した。得られた根の成長点領域の 1mm を除いた先端 1 cm をサンプリングした。

サンプリングした根から細胞壁を抽出し、EPG 可溶画分(エンドポリガラクトナーゼによって加水分解され単糖化したペクチンと水溶性の低分子量ヘミセルロース等を抽出した画分)と、TFA 可溶画分(ヘミセルロースと結合性の強いペクチンが、トリフルオロ酢酸によって分解され単糖化し、抽出した画分)に分画した。

## 2. 細胞壁構成糖の分析

ガスクロマトグラフィー、カルバゾール硫酸法、アンスロン硫酸法を用いて WT と *star1* におけるコントロール、Al ストレス条件それぞれの EPG/TFA 可溶画分の構成糖の定量を行った。

## 3. 各細胞壁成分に含まれる Al の定量

WT、*star1*、キシログルカン分解酵素過剰発現イネ (XGase-OX) から抽出した細胞壁成分に硝酸分解を施した後、ICP-AES にて各細胞壁成分に含まれる Al の定量を行った。

## 4. XGase-OX の根の伸長の測定

1 と同様に生育させた後、0 / 50 / 100  $\mu$ M  $AlCl_3$  を含んだ 0.5 mM  $CaCl_2$  水溶液 (pH4.5) で 1 日処理した。Al 処理の前後で根長を計測し、処理中の伸長量を算出した。

## 【結果】

## 細胞壁構成糖の分析

Al ストレスによって、WT(Al 耐性)と *star1* (Al 感受性)の TFA 可溶画分に含まれるキシロースとグルコースの含有量が大幅に増加した。また WT では *star1* より多くのキシロースとグルコースが含まれていた。

## 各細胞壁成分に含まれる Al の定量

Al ストレス条件下において、*star1* では WT に比べて多くの細胞壁への Al 蓄積が見られた。また *star1* のヘミセルロースを多く含む TFA 画分では、ペクチンを多く含む EPG 可溶画分よりも多くの Al が検出された。XGase-OX では全ての区分で、WT や *star1* に比べてわずかな Al しか蓄積されていなかった。

## XGase-OX の根の伸長の測定

WT と比較して、XGase-OX は、100  $\mu$ M  $AlCl_3$  処理条件において、根の伸長量の阻害が抑えられる傾向が観察された。

## 【考察】

Al ストレスによって増加するキシロースとグルコースはイネにおいて、ヘミセルロースの 1 種であるキシログルカン(XG)を構成している。また Al 定量の結果より、Al の主な吸着部位はヘミセルロースであると明らかになった。さらに先行研究では前述したように、WT は Al に応答してペクチンを分泌することで根への Al 吸着を阻害し、Al 耐性を持つことが分かっている。これらのことから WT では、Al ストレスによって XG とペクチンの合成量が増加し、十分なペクチンが XG に結合することで Al の吸着をある程度防ぐことができると考えられる。一方で *star1* の場合は、Al ストレスによって XG の合成は増加するのに対してペクチンの合成量は変化しない。そのことによって、*star1* では XG に対して十分なペクチンがなく、Al が吸着するのではと考えられる。

XGase-OX は Al ストレスによって、WT と同じようにペクチンの合成は増加するものの XG の蓄積は抑制されている。XG に対して WT 以上に十分なペクチンが存在し、その上、標的となる XG 自体が少ないため Al 吸着が抑えられたことで、XGase-OX は高濃度の Al に対して耐性を持ったのではと考えている。