

耐塩性イネ科牧草の葉内元素の局在を可視化 ～塩水でも育つローズグラスはナトリウムを葉緑体から隔離する～

国立大学法人東海国立大学機構 名古屋大学大学院生命農学研究科の大井 崇生 助教と谷口 光隆 教授は、西オーストラリア大学（オーストラリア）のルーカス・コチュラ博士らとの共同研究で、耐塩性の高いイネ科牧草ローズグラスにおいて、高濃度のナトリウム蓄積をはじめとする様々な元素の葉組織内での局在を可視化し、塩害環境下でも高い光合成能力を維持する仕組みの一端を解明しました。

ローズグラスなどの耐塩性植物は、植物細胞にとって有害となるような高濃度のナトリウムを葉内に溜めても生育し続けられることが知られていますが、薄い葉の中においてイオンがどのように分布しているか細胞レベルで定量的に比較した例はありませんでした。

本研究では、試料を液体窒素で瞬間凍結することで組織内のイオン分布を留めたまま解析可能なクライオ走査型電子顕微鏡^{注1)}とエネルギー分散型X線分析装置^{注2)}による元素分析によって、ローズグラスの葉組織における細胞内構造と各種元素の分布を併せて可視化し、根から吸収されたナトリウムが葉に輸送された後に維管束や表皮の液胞に偏って蓄積される一方、光合成を担う葉緑体においてはその蓄積が抑えられていることを示し、作物の耐塩性向上に繋がる知見を得ました。

本研究成果は、2022年2月6日付国際学術雑誌「Plant, Cell & Environment」にオンライン版で掲載されました。

なお、本研究は2018年度エンデバー研究フェローシップ（オーストラリア）および日本学術振興会（JSPS）科学研究費補助金の支援のもとで行われたものです。

【ポイント】

- ・ イネ科 C₄ 植物^{注3)} ローズグラスは、荒地でも育つ牧草で、高濃度の塩水を与えられても光合成能力を維持して成長し続けるが、葉内のナトリウム濃度は高くなる。
- ・ その葉組織の元素マッピングにより、ナトリウムや塩素は葉内で均一に分布しているのではなく、維管束や表皮層に偏り、特に木部柔細胞に局在することが示された。
- ・ ローズグラスでは葉緑体や、それらを多く含む葉肉細胞^{注4)} や維管束鞘細胞^{注5)} の液胞でナトリウム濃度の増加を抑えることが耐塩性に繋がっていると考えられる。

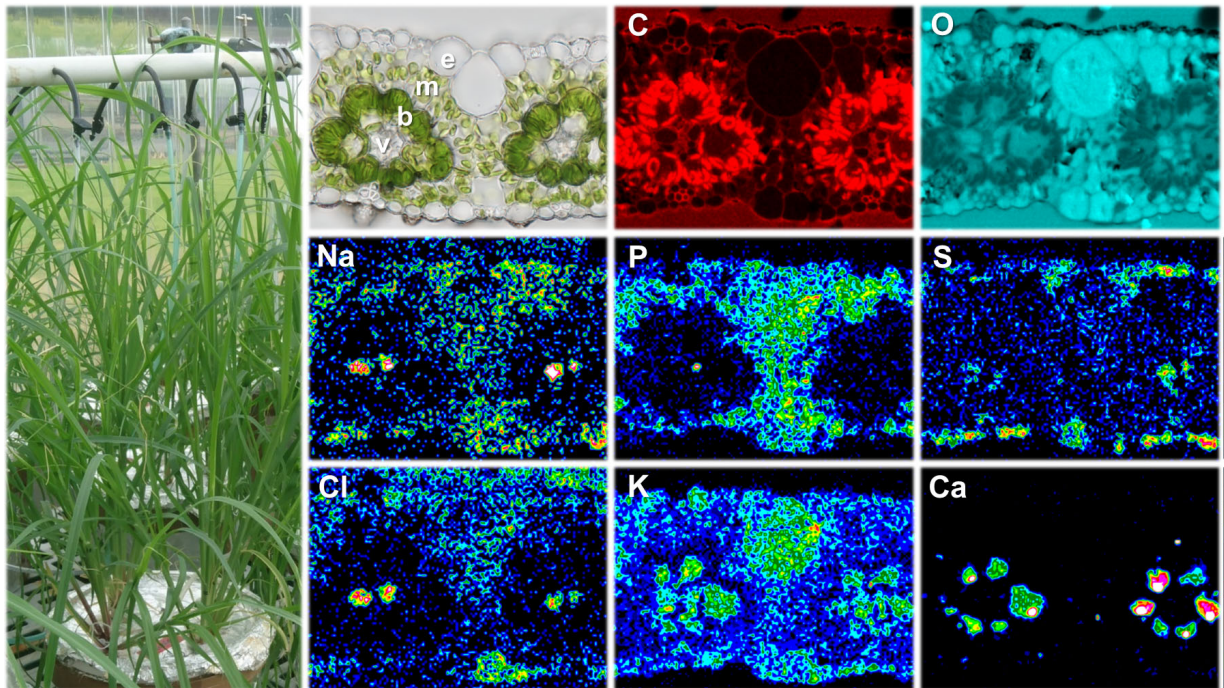


図1：塩付加水耕液で栽培したローズグラスとその葉横断面のCryo-SEM-EDSによる元素マッピング。
v：維管束（木部柔細胞を含む）、b：維管束鞘細胞、m：葉肉細胞、e：表皮細胞。右のカラーバーはナトリウム(Na)、リン(P)、硫黄(S)、塩素(Cl)、カリウム(K)、カルシウム(Ca)各々の相対濃度を示す。

【研究背景と内容】

土壌の塩分濃度が高い塩類集積地は、世界の耕作可能面積の1割に相当するとも言われており、作物の塩害への耐性の強化や、高耐塩性植物の利用は、世界の食糧生産における重要な課題です。一般的な作物では、土壌の塩濃度が高いと吸水が阻害されて光合成能力が弱まり、更に葉内のイオン濃度が高まると、葉緑体が傷害を受けて枯死に至ります。ところが、荒地でも生育旺盛で、牧草として利用されるローズグラス（和名：アフリカヒゲシバ）は、葉内のイオン濃度を高めることで吸水能力を保つことができる耐塩性植物としても知られています。

しかし、耐塩性植物においても、細胞基質や葉緑体におけるイオン毒性への感受性は変わらないことが生理学的な実験から示されており、イオンは葉組織内で均一に分布していない可能性が示唆されてきましたが、ローズグラスのように薄い葉を持つイネ科の耐塩性植物について、イオン濃度を細胞レベルで比較した例はありませんでした。特に、ローズグラスはC₄植物に分類され、維管束を取り囲む維管束鞘細胞が発達しており、その外側を囲む葉肉細胞と連携して光合成を行っているため、これらの細胞や内部

の葉緑体におけるイオンの分布が分かれば、高い塩濃度においても光合成能力を保ち続ける仕組みを理解できると考えました。

本研究では、ローズグラスを一般的な水耕液（対照区）と、塩化ナトリウムを加えた水耕液（200 mM NaCl、質量濃度で約1.2%、味噌汁 [0.6~1.0%] より塩辛い）（塩処理区）で栽培しました。その結果、塩を付加しなかった対照区に比べて塩処理区では、最終的な生長量は抑制されたものの、高塩濃度下においても2週間以上にわたって生育を続け、光合成能力を維持できることをまず確かめました。調査した葉内のナトリウム濃度は、対照区（約8.5 mM）に比べ、塩処理区では約30倍高く（約240 mM）、高濃度の塩分を溜めていましたが、透過型電子顕微鏡で細胞の内部構造を観察しても、葉緑体などに目立った傷害は見られませんでした。

更に本研究では、調査部位の葉を切り出して液体窒素で瞬間凍結し、凍らせたまま切削して平滑な組織断面を露出させ、エネルギー分散型X線分析装置を搭載したクライオ走査型電子顕微鏡によって冷却したまま元素分析を行うことで、細胞内のイオンを流出させることなく、内部の微細構造と併せてナトリウム (Na)、リン (P)、硫黄 (S)、塩素 (Cl)、カリウム (K)、カルシウム (Ca) 等の分布をマッピングして可視化することに成功しました（図1）。本手法では定性的な観察だけではなく、定量的な解析が可能であり、組織構造を示す炭素および酸素のマップに基づいて領域分けすることで、各細胞や葉緑体、液胞における濃度を算出して比較も可能となりました（図2）。

これらの解析結果より、耐塩性の高いローズグラスでは、有害な濃度のナトリウムが組織内で均一に分布しているのではなく、光合成を担う維管束鞘細胞や葉肉細胞で少なく、表皮細胞で多くなるように偏在し、細胞内では葉緑体で濃度が低くなるように液胞に隔離されていることが明らかとなりました。特に、維管束内では木部柔細胞（根から吸い上げられた溶液が通る導管に接した柔細胞）がナトリウムを高濃度に蓄積することが初めて示された他、カリウム濃度もナトリウムとのバランス (K/Na比) が低下し過ぎないように細胞ごとに変動していることや、塩処理に応答したリンや硫黄の蓄積、維管束鞘細胞に特異的なカルシウムの局在などが明らかとなりました。

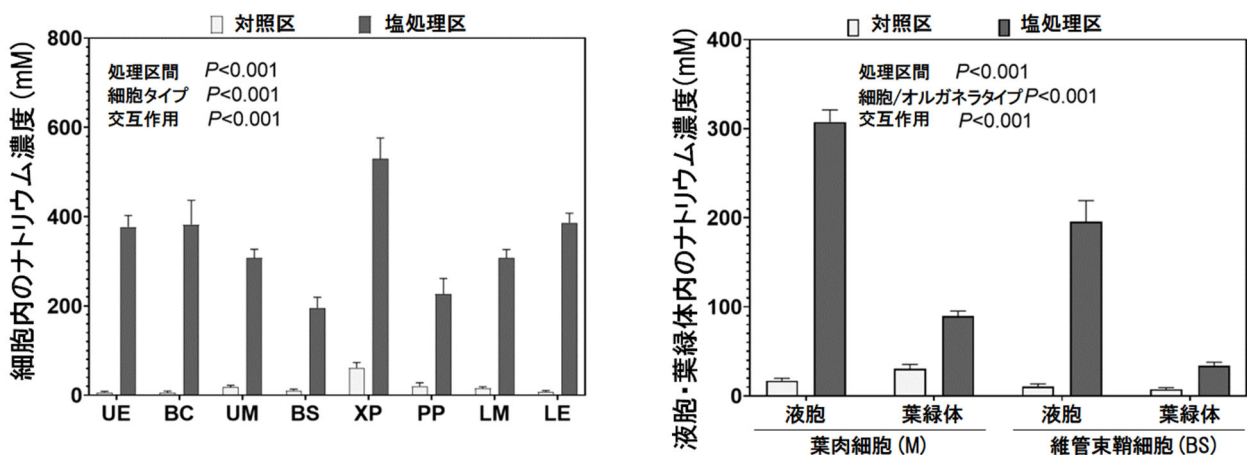


図2: ローズグラス葉組織の各種細胞(左)、液胞と葉緑体(右)のCryo-SEM-EDSによる元素定量(Naの例)。UE: 上側表皮細胞、BC: 機動細胞、UM: 上側葉肉細胞、BS: 維管束鞘細胞、XP: 木部柔細胞、PP: 篩部柔細胞、LM: 下側葉肉細胞、LE: 下側表皮細胞。

【成果の意義】

本研究は、塩害環境において植物体内のイオン濃度が高くなる場合でも、葉組織内で元素を細胞ごとに局在させて分配し、液胞へナトリウムを隔離することで、葉緑体への傷害を抑えられる可能性を示しており、 C_4 植物特有の生理・形態的特徴を明らかにしながら細胞間のイオンの輸送経路を解明することで、ローズグラスだけではなく、広くイネ科作物の耐塩性強化に繋がれると期待されます。

【用語説明】

注1) クライオ走査型電子顕微鏡 (Cryo-SEM) :

細く絞った電子線を試料表面に順々に照射(走査)して、試料表面から反射したり、発生したりする電子を検出して微細構造を観察する走査型電子顕微鏡に、試料を凍結させた状態で観察できる冷却試料台を搭載した装置。

注2) エネルギー分散型X線分析装置 (EDS) :

試料への電子線照射によって発生する特性X線を検出し、エネルギーで分光することで元素分析を行う装置。

注3) C_4 植物 :

二酸化炭素を葉組織内で濃縮して光合成を行う回路を持つ植物。その濃縮回路は、初期化合物の炭素数が4つであることから C_4 回路と呼ばれる(基本的な炭素固定を行うカルビン回路は C_3 回路と呼ばれ、イネなどの一般的な植物の多くは C_4 回路を持たない C_3 植物である)。トウモロコシやキビなどの高温でも生育旺盛な穀物や、ローズグラスやシバなどの環境ストレスに強い牧草類や被覆植物が挙げられる。

注4) 葉肉細胞 :

維管束と上下の表皮の間に詰まった葉緑体を含む柔細胞。一般的な C_3 植物では主に葉肉細胞の葉緑体のみで光合成を行うが、 C_4 植物では葉肉細胞と維管束鞘細胞が連携して光合成を行う。

注5) 維管束鞘細胞 :

維管束を取り囲む筒状の“維管束鞘”を構成する細胞。一般的な C_3 植物では葉緑体が小型で少ないが、 C_4 植物では大型の葉緑体が局在して C_4 光合成回路による二酸化炭素濃縮を行う。

【論文情報】

雑誌名 : Plant, Cell & Environment

論文題目 : Salt tolerance in relation to elemental concentrations in leaf cell
vacuoles and chloroplasts of a C₄ monocotyledonous halophyte

著者 : Takao Oi*, Peta L Clode, Mitsutaka Taniguchi*, Timothy D Colmer, Lukasz
Kotula *名古屋大学教員

DOI : 10.1111/pce.14279

URL : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/pce.14279>