

作物生産における酸化ストレス

誌名	日本土壌肥料学雑誌 = Journal of the science of soil and manure, Japan
ISSN	00290610
巻/号	904
掲載ページ	p. 273-278
発行年月	2019年8月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



2018年神奈川大会
シンポジウムの概要

作物生産における酸化ストレス —障害機構, 耐性機構, 危険予知による回避—

鈴木雄二¹・小林 優²・小林佑理子³・大津(大鎌)直子⁴・
伊福健太郎⁵・三宅親弘⁶

1. はじめに

環境ストレスは作物の生産性を低下させるが、その原因の一つに活性酸素種 (ROS) による酸化ストレスがある。作物の生産性低下を防ぐうえで、酸化ストレスによる植物への障害、これに対する耐性機構、さらには酸化ストレスの予知と回避についての可能性、といった点は重要な情報となる。今回のシンポジウムでは、これらの点に関して、根部から地上部における最近の知見を紹介することとした。

(鈴木雄二・三宅親弘)

2. ホウ素欠乏による酸化ストレスの発生機構

1) はじめに

ホウ素(B)の欠乏が作物生産の制限要因となっている地域は世界各地に存在する。Bが欠乏すると、根の伸長停止、成長点や肥大根の壊死、不稔など多様な生理障害が発生し、作物の収量や品質は著しく低下する。こうした欠乏障害の回避や欠乏耐性品種の効率的な開発にはB欠乏による障害発生メカニズムの理解が不可欠である。我々はこれまでの研究で、B欠乏が酸化ストレスを誘導することを明らかにしてきた。ここではその経緯と共に、B欠乏で酸化ストレスが発生する機構に関する考察を紹介する。

2) B欠乏は酸化ストレスを誘導する

植物体内でBは細胞壁に局在し、細胞壁多糖ペクチンのラムノガラクトuronan II (RG-II) 領域とホウ酸エステルを形成している。その際、ホウ酸1分子が2つのRG-II領域と同時に結合することでペクチン多糖鎖間に架橋が形成され、水溶性多糖であるペクチンがゲル化し細胞壁内部に保持される。すなわちBは細胞壁の構築に必要な元素であり、欠乏すると正常な細胞壁が作れないために様々な障害が発生すると推定される。しかし細胞壁の構造異常とB欠乏に伴う様々な生理障害の因果関係は明らかでない。そこでタバコ培養細胞をモデル実験系としてB欠乏に対する植物細胞の応答を解析した (Koshiba *et al.*, 2009)。

タバコ培養細胞をB不含培地に移植すると細胞死が発生し、48時間後の生存率は30%以下まで低下した。その際、B欠除処理細胞ではROSの細胞内蓄積が観察された。培地への抗酸化剤添加は、B欠除処理細胞の生存率を向上させた。シロイヌナズナ根でも、B欠除処理後直ちに根端伸長領域でROS蓄積と細胞死が生じた (Oiwa *et al.*, 2013)。これらの知見から、B欠乏に陥った細胞ではROSが過剰生産され、酸化ストレスによる細胞死が発生すると結論した。これは、B欠乏障害が強光条件下でより顕著になること、細胞内アスコルビン酸含量の減少や呼吸活性の低下を伴うこと等の知見とも矛盾しない。

3) B欠乏でなぜ酸化ストレスが発生するか

以上のように、B欠乏による障害の直接の原因はROSの過剰生産による酸化ストレスと示唆された。それではB欠乏時になぜROSが過剰生産されるのか？ この点を明らかにするため、シロイヌナズナ根のB欠乏応答をより詳しく解析した (Kobayashi *et al.*, 2017)。

前述のように、シロイヌナズナの培地からBを除去すると、根端伸長領域で1時間以内にROS蓄積と細胞死が発生する。Bと同じくペクチンの架橋因子であるカルシウム (Ca) を欠除した場合も同じ応答が観察された。一方、培地浸透圧を高め細胞の吸水を抑制する処理やCaチャネルブロッカーの添加は、B欠乏応答を著しく抑制した。これらの結果を併せ、B欠乏応答のスキームを次のように推定した。すなわち、植物細胞の原形質は膜内外の浸透圧差に従って吸水し拡大する傾向にあるが、通常は強固な細胞壁がその拡大を抑制している。しかしペクチンの架橋が+

Yuji SUZUKI, Masaru KOBAYASHI, Yuriko KOBAYASHI, Naoko OHKAMA-OHTSU, Kentaro IFUKU and Chikahiro MIYAKE: Oxidative stress in crop production: Damage, tolerance, and avoidance by its prediction

¹岩手大学農学部 (020-8550 岩手県盛岡市上田3-18-8)

²京都大学大学院農学研究科 (606-8502 京都府京都市左京区北白川追分町)

³岐阜大学応用生物科学部 (501-1193 岐阜県岐阜市柳戸1-1)

⁴東京農工大学大学院農学研究科 (183-8509 東京都府中市幸町3-5-8)

⁵京都大学大学院生命科学研究科 (606-8502 京都府京都市左京区北白川追分町)

⁶神戸大学大学院農学研究科 (657-8501 兵庫県神戸市灘区六甲台町1-1)

Corresponding Author: 鈴木雄二 ysuzuki@iwate-u.ac.jp

2019年3月20日受付・2019年4月16日受理

日本土壌肥科学雑誌 第90巻 第4号 p. 273~278 (2019)

分でなく細胞壁の強度が低下すると、原形質の吸水拡大を押しとどめられず細胞膜が伸展する。この伸展が細胞膜上の機械刺激受容チャネルの活性化と Ca 流入をもたらし、ROS 生成を促進する、という仮説である。

迅速な ROS 生成や細胞死の誘導は、病原菌感染応答における過敏反応との類似性を想起させる。実際、B 欠除処理に伴うトランスクリプトーム変化は、感染応答との類似性が高い。感染にも細胞壁の分解が伴うことを考えると、両反応は、細胞壁の構造不全に対する植物細胞の応答に相当するのかもしれない。

4) 今後の展望

酸化ストレスは様々な養分の欠乏で発生するが、その機構は元素ごとに異なり、B 欠乏の場合は細胞壁の構造不全が ROS 生成の引き金と推定される。今後、植物の B 欠乏応答を更に詳細に解析していくことで、現時点では殆ど明らかにされていない細胞壁と原形質の相互作用機構や、それと ROS 生成の関連を理解する手がかりが得られると考えている。

(小林 優)

3. ゲノム・トランスクリプトーム解析から見えた根の酸化ストレス応答とその多様性

1) はじめに

過剰な有害元素や栄養欠乏は、ROS 生成による酸化ストレスを細胞に与え、生育障害を引き起こす。植物は、これらの酸化ストレスに対する防御機構として、ROS をシグナル分子として様々な防御応答遺伝子の転写活性化や細胞死を引き起こす。ここでは、酸化ストレス応答に着目しながら、有害元素ストレスに対する発現変動遺伝子群の比較解析と有害元素耐性バリエーションに関与する遺伝子や機構のゲノムワイド探索から得た知見を紹介する。

2) イオン比較トランスクリプトーム解析から見えた酸化ストレス応答

Al, Cd, Cu または NaCl の強弱ストレス時のシロイヌナズナ根部で顕著に発現変動する遺伝子群を比較解析した (Kusunoki *et al.*, 2018)。いずれのストレスでも多くの酸化ストレス防御遺伝子の転写誘導が見られた。Al ではストレス強弱間で ROS 応答を含む転写応答が類似しており、Al 特異的誘導遺伝子群の共発現遺伝子ネットワークには、Al 耐性転写因子 STOP1 (Sensitive TO Proton rhizotoxicity 1) によって制御される遺伝子群及び、レドックス応答転写因子 RRTF1 (Redox Responsive Transcription Factor 1) 制御 ROS 応答遺伝子群が含まれていた。一方、Cd と Cu の転写応答は根部、地上部ともに類似しており (Sawaki *et al.*, 2016)、複数の H₂O₂ 消去系関連遺伝子が有意に多く含まれていた。しかし、それらはストレス強弱間では異なっていた。同じ酸化ストレスを与えるイオンストレスであっても、イオン種やストレス強度に共通または特異的な酸化ストレスへの転写応答が存在することが明らかになった。

3) GWAS から見えた酸化ストレス応答

シロイヌナズナアクセッションのイオンストレスによる根生育阻害率を耐性の指標とし、ゲノムワイド関連解析 (Genome-Wide Association Study; GWAS) を行った。NaCl 耐性の GWAS では、既知耐性遺伝子や ABA 応答遺伝子との関連が多く認められ、少数ではあるが ROS 応答遺伝子との関連性も確認された (Kobayashi *et al.*, 2016)。Al 耐性の GWAS では、主要 Al 耐性遺伝子である *AtALMT1* (ALuminum-activated Malate Transporter 1) に加えてレドックス制御に関連する *TRX1* (thioredoxin H-type 1) の発現量多型が Al 耐性と強く関連していた。さらに、Cd, Cu, H₂O₂, Al 耐性に共通する QTL 領域との関連性が認められたことから、ストレス共通な酸化ストレス耐性因子の存在が示唆された。また、Al 耐性感受性と耐性系統の RNA-Seq 比較解析では、酸化還元反応関連遺伝子群が耐性系統で高く発現しており、これらの転写応答が Al 耐性へ関与することが示唆された (Kusunoki *et al.*, 2017)。

H₂O₂ ストレス耐性の GWAS では、アクアポリン *NIP1;1* のプロモーター多型に起因する発現量多型が H₂O₂ 耐性に強く関連していることが明らかになった (Sadhukhan *et al.*, 2017)。*NIP1;1* 発現酵母および過剰発現シロイヌナズナは H₂O₂ 感受性と高 H₂O₂ 集積を示したことから、*NIP1;1* は H₂O₂ 輸送能を有することが示唆された。

(小林佑理子)

4. 含硫代謝産物を介した植物の酸化還元制御

1) はじめに

硫黄は自然界で様々な酸化状態を取りうる。植物体内で最も酸化された状態が硫酸であり、植物や微生物は硫酸を硫化物に還元し、システイン (Cys) に取り込む。そして Cys から様々な化合物に還元硫黄が受け渡されて行く。還元硫黄を含む化合物の多くはチオール基を介して細胞内の酸化還元反応に関わる。例えばグルタチオンが酸化物を還元して解毒することはよく知られている。

2) H₂S のシグナル伝達およびストレス耐性における機能

近年は含硫有機化合物だけでなく、硫化水素自体がシグナル物質として機能することが示唆され始めている。硫化水素 (H₂S) は無色のガスであるが、その悪臭や、蓄積すると根腐れを引き起こすことから有害なイメージが強い。しかし近年動物において H₂S は低濃度で存在する場合、一酸化窒素 (NO) や一酸化炭素 (CO) に次いで第 3 のガス状シグナル伝達物質 (gasotransmitter) として機能することが分かってきた。植物においても、様々な環境ストレスにより体内の硫化水素濃度が増加し、それがストレス耐性獲得に関与していることが示唆され始めている。この事は水耕液に少量の硫化水素を添加する実験により検証され、植物体内の硫化水素増加に伴い、ROS が減少し、生育抑制が緩和された例が多く報告されている (Li *et al.*, 2016)。

硫化水素は硫酸の還元だけでなく、植物細胞においては L-Cys desulfhydrase (DES) 1 により Cys が分解されることによっても生じる。シロイヌナズナの *des1* 欠損変異株では、Cys やグルタチオンが増加して酸化ストレス耐性が向上する一方、老化が早まる。また *des1* 欠損変異株ではオートファジーが促進されるが、*des1* 変異株に硫化水素ナトリウム (NaHS) を添加した実験から、Cys ではなく H₂S がシグナルであることが示されている (Gotor *et al.*, 2015)。H₂S はタンパク質 Cys 残基のスルフィドリル化 (-S-SH) により活性を制御すると考えられている。

しかし H₂S は高濃度で体内に存在すると生育を抑制する。H₂S の主な体内解毒機構としては、過酸化グルタチオンとして取り込まれた後に ETHE1 により酸化されてチオ硫酸を生成する経路が示唆されている (Birke *et al.*, 2015)。生成したチオ硫酸の一部は葉緑体に運ばれ、cysteine synthase (CS) 26 により O-アセチルセリンと反応してスルフォシステインとなる。シロイヌナズナの *cs26* 欠損変異株は長日や連続光条件でクロロシスが生じ、ROS の蓄積も観察されることから、CS26 が光により生じる酸化ストレスへの応答に関与することが考えられている (Bermúdez *et al.*, 2010)。

3) まとめ

このように、チオ硫酸やスルフォシステインなど、植物の硫酸同化経路にない硫黄化合物の存在や役割について報告され始めている。大腸菌や酵母では、チオ硫酸は硫酸と比べて、発酵や生育に有利な硫黄源であることが知られている (Nakatani *et al.*, 2012; Funahashi *et al.*, 2015)。これは硫酸よりも酸化数の小さいチオ硫酸を硫黄源とすることにより、還元のためのエネルギーを節約できるためだと考えられている。私達のグループは植物におけるチオ硫酸の効果を検証するために、シロイヌナズナとイネをチオ硫酸を硫黄源として栽培したところ、前者では多少生育の低下がみられたが後者では比較的健全な生育を示した。またチオ硫酸の使用により、植物体内の硫化物が増加し、Cys を多く含むタンパク質の遺伝子発現が誘導されるなど、硫黄の還元や同化が促進されていることが示唆された。今後さらなる検討が必要ではあるが、これまで焦点が当てられていなかった硫黄化合物について、未知の役割が多くあるかもしれない。

(大津 (大鎌) 直子)

5. 光化学系 II からの活性酸素発生を抑制する 防御機構の重要性

1) はじめに

植物にとって、光は光合成に必須であると同時に、過剰な光は ROS の発生を伴う酸化障害を引き起こす。どの程度の光が過剰となるかは、刻々と変化する光の強度だけでなく、植物の生理状態によっても変動し、気温や土壤中の水分、養分など、様々な環境要因によって影響を受ける。そのため、植物にとって ROS の発生は避けられない問題

であり、植物は効率的な ROS の消去システムを備えると同時に、過剰な光エネルギーを効率的に熱として散逸する機構 (非光化学的消光, Non-Photochemical Quenching, NPQ) を発達させてきた。

2) 光合成電子伝達鎖からの活性酸素発生

過剰な光エネルギーによる ROS の発生源としては、葉緑体チラコイド膜に存在する光合成電子伝達鎖、中でも光化学系 I (photosystem I, 以下, PSI) による酸素分子の還元 (メーラー反応) が有名である。一方、水を酸化して酸素を発生すると同時に還元力を生成する光化学系 II (PSII) でも、強力な酸化力を発生する反応中心クロロフィルの過剰励起は ROS の発生につながる。そうした ROS の発生を防ぐため、過剰な光のもとでは PSI への電子伝達を抑制するシステム (PSI 酸化システム) が働くことが明らかとなっている (Shimakawa and Miyake, 2018)。一方、PSII 周辺においては、葉緑体チラコイド内腔の酸性化が引き金となって、集光タンパク質においてキサントフィルサイクルが活性化し、NPQ が誘導される。さらに、PsbS タンパク質も NPQ の迅速な誘導に必須な役割を果たす。それでもなお、光による PSII の損傷 (光阻害) は不可避であり、損傷を受けたタンパク質の除去と再合成を伴う修復機構 (PSII 修復サイクル) が PSII の機能を支えている (Ifuku and Shikanai, 2015)。しかしながら、それら防御機構の分子機構の詳細については、まだまだ未解明な点が多い。

3) 光化学系 II 防御機構の重要性

我々は、PSII からの ROS 発生を抑制する防御機構の重要性を明らかにするために、PSII の水を酸化する触媒中心である Mn クラスタが不安定なシロイヌナズナ *psbo1* 変異株を PSII 光阻害のモデルとして用いた。*psbo1* 変異体では、PSII の活性が低いため電子伝達活性が不十分であり、光防御機構の誘導に重要な葉緑体チラコイド内腔の酸性化を十分に維持できないと考えられる。こうした状況は、特に悪環境が続いた場合に発生することが想定される。過剰な光に対する様々な防御機構に関わる遺伝子を欠損する変異株と *psbo1* との二重変異体の解析から、熱放散を担うタンパク質 PsbS を欠損すると、*psbo1* 株に特徴的な素早い非光化学的消光 (NPQ) 誘導が消失し、生育の顕著な遅延が確認された。一方、キサントフィルサイクルに必要な violaxanthin deepoxygenase (VDE) 欠損の影響はマイナーであり、チラコイド内腔の酸性化に寄与すると考えられている PSI 周辺の循環的電子伝達の欠損の影響も認められなかった。以上の結果は、PsbS を介した NPQ の重要性を示唆しており、近年の PsbS の過剰発現による作物の生育改善の報告とも一致した (Kromdijk *et al.*, 2016)。

さらに変動する光環境下における PSII 修復サイクルの役割についても解析を進めた。我々は以前、mRNA 共発現解析から、PsbP-like protein 1 (PPL1) が損傷を受けた PSII の迅速な修復過程に関わることを示唆していた (Ishi-

hara *et al.*, 2007). 最近の生化学的な解析から, PPL1 は主に PSII 複合体の生合成過程が行われるチラコイド膜のストロマラメラに蓄積し, 分子集合過程の中間的な複合体に結合してアッセブリー因子として機能することが明らかとなった. また, *ppl1* 変異株は, 光環境に応じた集光機能調節にも問題があり, 実際, 人工的な変動光環境でも, 閉鎖ガラス温室内の自然光環境においても, 野生株に比べて生育が遅延することが認められた.

以上の結果から, PSII の光阻害が生じやすい環境において, 光エネルギーを効率的に散逸し, かつ, 損傷を受けた PSII を速やかに修復する防御機構の重要性が明確となった.

(伊福健太郎)

6. 光呼吸による過剰光エネルギーに対する防御

1) はじめに

植物が乾燥ストレスや塩ストレスを受けると, 葉からの水分損失を防ぐために気孔を閉鎖する. このような状態でも植物に光が照射されている限り, 光化学系・電子伝達系により還元力や ATP が生産される. その一方で, 気孔閉鎖により葉内への CO₂ 拡散が阻害されることで, 光合成炭酸同化が滞り, 還元力や ATP の消費量が減少する. このようにして生じる過剰な光エネルギーを消費し, ROS による酸化障害を防ぐための防御メカニズムとして光呼吸が挙げられる.

2) 光呼吸による過剰光エネルギーの消費

光呼吸は Rubisco が炭酸固定反応と拮抗的に触媒する酸素化反応を初発反応とし, その反応生成物を葉緑体, ミトコンドリア, ペルオキシゾームにわたる複雑な代謝経路によりカルビン・ベンソンサイクルの中間代謝産物として回収するが, その際に, CO₂ の発生, O₂, 還元力や ATP の消費がなされる (Ogren, 1984). 気孔閉鎖により葉内 CO₂ 分圧が著しく低下した場合, 光呼吸による CO₂ の発生と Rubisco による CO₂ 固定の収支がバランスするように, 光呼吸と光合成が進行すると考えられている. この際に還元力や ATP が消費されるため, 光呼吸は過剰光エネルギーからの防御に貢献していると考えられている (Wingler *et al.*, 2000). その根拠として, 乾燥ストレス下では光呼吸により消費されるエネルギーの割合が増加することや, 光呼吸系酵素のミュータントや遺伝子組換え体では PSII において NPQ が増加する, あるいは PSII が光阻害を受けることが挙げられる (Wingler *et al.*, 2000; Haupt-Herting and Fock, 2002).

3) PSI の頑健性への光呼吸の貢献

また近年, 光呼吸が PSI の過剰光エネルギーに対する防御に貢献しているとも示唆されている. PSI は過剰光ストレスに対して頑健であるが, 一旦光阻害が生じるとその修復には時間を要し, 植物にとって大きな障害となる (Sonoike, 2011). このため, PSI を過剰光エネルギーから防御する強固な機構が存在すると考えられている. この点を

直接的に調べるため, 私たちは光呼吸の律速因子と考えられている Rubisco の量を特異的に増減させた遺伝子組換えイネを材料とした解析を行った (Wada *et al.*, 2018). 通常の大気条件下では, Rubisco 量の特異的減少は PSI の酸化還元状態に影響を及ぼさなかった. その一方で, 気孔閉鎖を模した低 CO₂ 分圧下では PSI が過還元状態となっていた. さらに, 光呼吸が働く強光条件下で飽和パルス光を断続的に照射し (下記7項の「パルス法」を参照) 過剰光ストレスを負荷したところ, 低 CO₂ 分圧下で PSI に光阻害がみられた. このことで, 光呼吸は過剰光エネルギーから PSI を防御していることが示された. しかしながら, Rubisco 量の増強により PSI の過剰光ストレスに対する耐性が増加することはなく, その原因は不明である.

4) おわりに

以上, 光呼吸は過剰光エネルギーに対する植物の防御に重要な役割を果たしていることを紹介した. 光呼吸は植物の物質生産にとっては無駄であると考えられているが, 地球温暖化と水不足が問題視される近未来的環境に対し, ストレス耐性強化の観点からの活用を考えなければならないかもしれない.

(鈴木雄二・和田慎也・高木大輔・三宅親弘・牧野 周)

7. 内在的活性酸素生成を目的としたパルス法の確立と栽培環境診断への応用

~P700 酸化システムにもとづく
活性酸素 (ROS) 診断の実用化~

1) はじめに

私たちが普段目にする農作物は, 非常にコストがかかった栽培方法がとられている. 収量を上げるために多量の施肥がなされる, 土壌改良が必要とされる, 寒冷地での霜降り対策のための野外における暖房対策など, ともかく人工的な投資が不可欠な環境 (農環境) で生育している. 一方で, これらの投資がなされない環境では作物の収量は目に見えて低下する. このような状況は, 投資の最適基準値を与えることができればコスト削減, 労働力削減を可能にできる (理論的に). 我々が提案する「活性酸素 (ROS) 診断」は作物が生育不良にいたる農環境をいち早く判断するものである. これは, 播種・植え付け前の土壌の化学性・物理性診断と異なる. 作付け後, 実際に作物を診断することにより栽培改善の指針を与えることを狙うものである.

2) パルス法とは

独立栄養を営む光合成生物は, 太陽光のエネルギーが光合成の場である (葉緑体) チラコイド膜に吸収され, 光合成電子伝達反応が駆動する. この結果, CO₂ を糖に変えるための化学エネルギー化合物 NADPH, ATP が生成する. 光エネルギーが電子の流れへの変換は, チラコイド膜 PSI および PSII で進行する. 例えば, PSI に吸収された光エネルギーは最終的に PSI 反応中心クロロフィル P700 に吸収され, 励起 P700 (P700*) が生成する. P700* は電子の受け手が存在すれば, その受け手に電子

を与え酸化型 P700 (P700⁺) が生成する。P700⁺は、PSII から来る電子を受け取り基底状態 (P700) に戻る。このように、PSI 反応中心クロロフィル P700 は光酸化還元サイクルの様式でターンオーバーしている (Shimakawa and Miyake, 2018)。

世界的な酸化障害研究の歴史の中で、光合成が抑制されると ROS 生成が促進されることが明らかにされてきた (Asada, 1999)。そして、メインとなる ROS 生成部位が PSI である。しかしながら、ROS 生成様式および生成抑制様式は、長い間未知であった。我々は、電子受容体に電子を与える励起 P700 に着目した。P700* が蓄積する環境を実験的に作り出せば、未知のままであった ROS 生成・抑制メカニズムを明らかにすることができると考えた。

そこで、暗黒下、生葉に一過的に光を照射するパルス法を採用した。この方法は、見事に我々の思惑を具現化させた (Sejima *et al.*, 2014)。パルス光 (20,000 μmol photons m⁻² s⁻¹, 300 ms) を 10 秒ごとに生葉に照射 (rSP 処理：パルス法) すると P700* が蓄積し、パルス照射時間の経過とともに PSI に酸化障害が生じた。そして、驚くことに、生葉に定常光を照射し、その光が強いほど rSP 処理での PSI 酸化障害が抑制された。最終的に、生葉に照射する光強度が強いほど ROS による障害が抑制されるという、非常に不思議な結果となった (Sejima *et al.*, 2014)。

その後の解析で、P700 光酸化還元サイクルにおいて、酸化型 P700 の蓄積が定常光で促進されることと rSP 処理における ROS 酸化障害抑制が正の相関関係をもつことを見出した (Sejima *et al.*, 2014)。つまり、このサイクルにおいて P700* が蓄積することで O₂ へ電子を与えスーパーオキシド・ラジカル O₂⁻ を生成する、また O₂ を一重項酸素 ¹O₂ に励起する P700* の蓄積を抑えることが rSP 処理での酸化障害を抑制することを実証した (Sejima *et al.*, 2014)。

光合成生物が、光合成抑制時に P700⁺を蓄積することは 1980 年代終わりに見出されていたが、その生理的役割は未知のままであった (Shimakawa and Miyake, 2018)。瀬島らの論文 (Sejima *et al.*, 2014) は、ROS 生成抑制の役割を実証し、それが頑健な性質であることを示した。

3) パルス法の栽培環境への適用

三宅が代表を務める CREST 事業では、パルス法が作物の栽培環境を診断できることを明らかにした。つまり、コムギにおいて、栽培環境での無機養分欠乏状況ではパルス法で生成する ROS に対して脆弱性を示すことを明らかにした。しかも、この ROS 耐性の低下は生葉で欠乏症状が顕在化する前に診断できる特徴をもつ。これは、実フィールドの栽培環境の良しあしを、刻々と変動する自然環境の下でいち早く判断し、その原因追及の開始を指示するものである。これにより、収量低下をもたらす前に栽培改善を図ることができる。また、劣悪環境改善において必要以上の改善をもたらすことのない基準となる。

今後は、最適な栽培環境を目指した指針としてのパルス法の利用を考案していく必要があり、地球環境にやさしい技術となると考えている。

(瀬島健裕・高木大輔・嶋川銀河・
釋啓一郎・埴 仁美・三宅親弘)

8. おわりに

以上、植物は全身で種々の酸化ストレスに応答し防御を図ることを、分子生物学から生理学的レベルで紹介した。今回取り上げられなかったものも含め、酸化ストレスへの応答を個体内での一連の反応として統合しさらに理解を深めていくことが、ストレス耐性作物の作出にとって必須であると考えられる。また、酸化ストレスの予測と回避については、未だ決定的な方法論はなく、今回紹介したものも含め、今後の技術的発展が強く望まれる。

(鈴木雄二・三宅親弘)

文 献

- Asada, K. 1999. The Water-Water Cycle in Chloroplasts: Scavenging of Active Oxygens and Dissipation of Excess Photons. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **50**, 601-639.
- Bermúdez, M.A., Paez-Ochoa, M.A., Gotor, C., and Romero, L.C. 2010. *Arabidopsis* S-sulfocysteine synthase activity is essential for chloroplast function and long-day light-dependent redox control. *Plant Cell*, **22**, 403-416.
- Birke, H., De Kok, L.J., Wirtz, M., and Hell, R. 2015. The role of compartment-specific cysteine synthesis for sulfur homeostasis during H₂S exposure in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol.*, **56**, 358-367.
- Funahashi, E., Saiki, K., Honda, K., Sugiura, Y., Kawano, Y., Ohtsu, I., Watanabe, D., Wakabayashi, Y., Abe, T., Nakanishi, T., Suematsu, M., and Takagi, H. 2015. Finding of thiosulfate pathway for synthesis of organic sulfur compounds in *Saccharomyces cerevisiae* and improvement of ethanol production. *J. Biosci. Bioeng.*, **120**, 666-669.
- Gotor, C., Laureano-Marín, A.M., Moreno, I., Aroca, Á., García, I., and Romero, L.C. 2015. Signaling in the plant cytosol: cysteine or sulfide? *Amino Acids*, **47**, 2155-2164.
- Haupt-Herting, S., and Fock, H.P. 2002. Oxygen exchange in relation to carbon assimilation in water-stressed leaves during photosynthesis. *Ann. Bot.*, **89**, 851-859.
- Ifuku, K., and Shikanai, T. 2015. Regulation of photosynthetic Electron transport via supercomplex formation in the thylakoid membrane. In R.O. Louro and I. Diaz-Moreno (ed.) *Redox proteins in supercomplexes and signalosomes*, p. 167-186. CRC press, Boca Raton.
- Ishihara, S., Takabayashi, A., Ido, K., Endo, T., Ifuku, K., and Sato, F. 2007. Distinct functions for the two PsbP-like proteins PPL1 and PPL2 in the chloroplast thylakoid lumen of *Arabidopsis*. *Plant Physiol.*, **145**, 668-679.
- Kobayashi, M., Miyamoto, M., Matoh, T., Kitajima, S., Hanano, S., Sumerta, I.N., Narise, T., Suzuki, H., Sakurai, N., and Shibata, D. 2017. Mechanism underlying rapid responses to boron deprivation in *Arabidopsis* roots. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **64**, 106-115.
- Kobayashi, Y., Sadhukhan, A., Tazib, T., Nakano, Y., Kusunoki, K., Mohamed, K., Chaffai, R., Iuchi, S., Sahoo, L., Kobayashi,

- M., Hoekenga, O.A., and Koyama, H. 2016. Joint genetic and network analyses identify loci associated with root growth under NaCl stress in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Environ.*, **39**, 918–934.
- Koshihara, T., Kobayashi, M., and Matoh, T. 2009. Boron nutrition of tobacco BY-2 cells. V. oxidative damage is the major cause of cell death induced by boron deprivation. *Plant Cell Physiol.*, **50**, 26–36.
- Kromdijk, J., Głowacka, K., Leonelli, L., Gabilly, S.T., Iwai, M., Niyogi, K.K., and Long, S.P. 2016. Improving photosynthesis and crop productivity by accelerating recovery from photo-protection. *Science*, **354**, 857–861.
- Kusunoki, K., Kobayashi, Y., Kobayashi, Y., and Koyama, H. 2018. Comparative characterization of aluminum responsive transcriptome in *Arabidopsis* roots: comparison with other rhizotoxic ions at different stress intensities. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **64**, 469–481.
- Kusunoki, K., Nakano, Y., Tanaka, K., Sakata, Y., Koyama, H., and Kobayashi, Y. 2017. Transcriptomic variation among six *Arabidopsis thaliana* accessions identified several novel genes controlling aluminum tolerance. *Plant Cell Environ.*, **40**, 249–263.
- Li, Z.G., Min, X., and Zhou, Z.H. 2016. Hydrogen sulfide: a signal molecule in plant cross-adaptation. *Front. Plant Sci.*, **7**, 1621.
- Nakatani, T., Ohtsu, I., Nonaka, G., Wiriyathanawudhiwong, N., Morigasaki, S., and Takagi, H. 2012. Enhancement of thioredoxin/glutaredoxin-mediated L-cysteine synthesis from S-sulfocysteine increases L-cysteine production in *Escherichia coli*. *Microb. Cell Fact.*, **11**, 62.
- Ogren, W.L. 1984. Photorespiration: pathways, regulation, and modification. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, **35**, 415–442.
- Oiwa, Y., Kitayama, K., Kobayashi, M., and Matoh, T. 2013. Boron deprivation immediately causes cell death in growing roots of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **59**, 621–627.
- Sadhukhan, A., Kobayashi, Y., Nakano, Y., Iuchi, S., Kobayashi, M., Sahoo, L., and Koyama, H. 2017. Genome-wide association study reveals that the aquaporin NIP1;1 contributes to variation in hydrogen peroxide sensitivity in *Arabidopsis thaliana*. *Mol. Plant*, **10**, 1082–1094.
- Sawaki, K., Sawaki, Y., Zhao, C.R., Kobayashi, Y., and Koyama, H. 2016. Specific transcriptomic response in the shoots of *Arabidopsis thaliana* after exposure to Al rhizotoxicity: - Potential gene expression biomarkers for evaluating Al toxicity in soils. *Plant Soil*, **409**, 131–142.
- Sejima, T., Takagi, D., Fukayama, H., Makino, A., and Miyake, C. 2014. Repetitive short-pulse light mainly inactivates photosystem I in sunflower leaves. *Plant Cell Physiol.*, **55**, 1184–1193.
- Shimakawa, G., and Miyake, C. 2018. Oxidation of P700 Ensures Robust Photosynthesis. *Front. Plant Sci.*, **9**, 1617.
- Sonoike, K. 2011. Photoinhibition of photosystem I. *Physiol. Plant.*, **142**, 56–64.
- Wada, S., Suzuki, Y., Takagi, D., Miyake, C., and Makino, A. 2018. Effects of genetic manipulation of the activity of photorespiration on the redox state of photosystem I and its robustness against excess light stress under CO₂-limited conditions in rice. *Photosynth. Res.*, **137**, 431–441.
- Wingler, A., Lea, P.J., Quick, W.P., and Leegood, R.C. 2000. Photorespiration: metabolic pathways and their role in stress protection. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, **355**, 1517–1529.