

# トウモロコシ (*Zea mays* L.) および ヨシ (*Phragmites communis* Trinius) のナトリウム吸収に及ぼすイオン 輸送阻害剤の影響

小林雄二\*・前田良之\*\*・武長 宏\*\*

(平成 13 年 5 月 31 日受付/平成 13 年 9 月 20 日受理)

要約: NaCl 条件下の植物の耐塩性に関与しているイオン輸送系タンパク質を明らかにするため, ヨシおよびトウモロコシの Na 吸収に及ぼすイオン輸送阻害剤の影響を検討した。阻害剤として Amiloride ( $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -antiporter 阻害剤), Bafilomycin  $\text{A}_1$  および Concanamycin A (V-type  $\text{H}^+$ -ATPase 阻害剤), Ouabain (動物の  $\text{Na}^+$ -ATPase 阻害剤) を供試した。その結果, 100 mM NaCl 条件下におけるヨシの地上部 Na 含有量は, 100  $\mu\text{M}$  Ouabain 処理でのみ有意に増加した。しかし, トウモロコシの地上部 Na 含有量に阻害剤による影響は認められなかった。従って, ヨシが有する Na の転流機構には  $\text{Na}^+$ -ATPase が関与している可能性が示された。

キーワード: 阻害剤, イオン輸送, ナトリウム, ヨシ, トウモロコシ

## 緒 言

植物の耐塩性機構として (1) Na の吸収抑制および排除, (2) Na を液胞などの植物自身の代謝に影響を及ぼさない場所に隔離する, (3) 細胞内に適合溶質を合成して浸透圧を高めるなどが挙げられ, これらの機構をより強く保有しているか否かが耐塩性の強弱に関連している<sup>1,2)</sup>。汽水域に広く生息し, 塩生植物であるヨシ (*Phragmites communis* Trinius) は, 根および導管から侵入した Na を地上部へ輸送せずに再び根に転流するという独特の機構によって耐塩性を保有する<sup>3)</sup>。また, 中生植物であるが耐塩性が強いトウモロコシは, NaCl 処理条件下において根から根圏への Na 排除能が高いことが報告されている<sup>4)</sup>。ヨシおよびトウモロコシの耐塩性機構に関するこれら報告は, Na 排除能に Na の輸送機構が関与している可能性を示唆するものであるがその詳細は明らかにされていない。一方, 植物の Na 輸送には, 原形質膜および液胞膜に存在するイオン輸送系タンパク質  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -antiporter および  $\text{H}^+$ -ATPase が関与すること<sup>5)</sup>, また, 動物の  $\text{Na}^+$ -ATPase が植物にも存在する可能性が示唆されている<sup>6)</sup>。従って, これらイオン輸送系タンパク質がヨシの Na の転流機構およびトウモロコシの Na 排除能に関与する可能性が考えられる。本試験は, 植物の耐塩性に関与しているイオン輸送系タンパク質

の存在を明らかにするため, ヨシおよびトウモロコシの Na 吸収に及ぼすイオン輸送阻害剤の影響を検討した。

## 材料および方法

### 1. 供試植物および生育条件

ヨシ (*Phragmites communis* Trinius) (平成 5 年広島産, 雪印種苗株式会社より譲渡) およびトウモロコシ (*Zea mays* L.) (ハニーバンタム, 平成 10 年米国産サカタのタネ) を 1/2000 アールワゲネルポット内のパーミキュライト上に播種しバイオトロン内 (温度 25°C, 相対湿度 60%, 明期 13.5 時間, 暗期 10.5 時間, 光条件 350  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) で栽培した。ヨシおよびトウモロコシそれぞれ第 4 葉齢, 草丈約 25 cm および第 3 葉齢, 草丈約 25 cm に達した時に阻害剤実験に供した。

### 2. 阻害剤処理および Na 含有量の測定

供試阻害剤として  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -antiporter 阻害剤である 5-(N-Methyl-N-isobutyl)-amiloride (SIGMA)<sup>7,8)</sup>, V-type  $\text{H}^+$ -ATPase 阻害剤である Bafilomycin  $\text{A}_1$  および Concanamycin A (SIGMA)<sup>9)</sup>, および動物の  $\text{Na}^+$ -ATPase 阻害剤である Ouabain<sup>6)</sup> の 4 種類を選択した。阻害剤濃度は, 生育に影響を及ぼさない濃度を参考文献<sup>6~9)</sup>, および予備試験 (図 1 および図 2) にて検討した結果からそれぞれ

\* 東京農業大学農学研究科農芸化学専攻

\*\* 東京農業大学応用生物科学部生物応用化学科

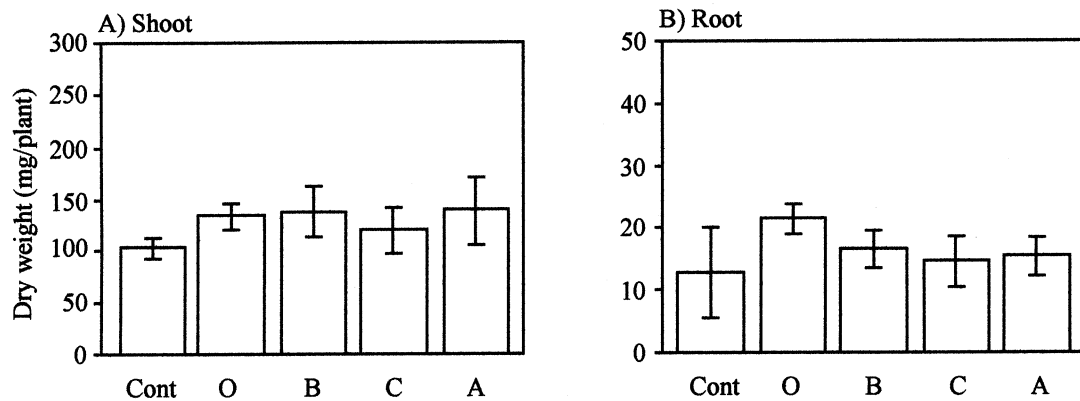


Fig. 1 Effects of inhibitors on growth in shoot (A) and root (B) of reed (*Phragmites communis* Trinius) grown in Hoagland culture medium supplemented with 100 mM NaCl. Data represent the mean  $\pm$  standard error of five samples (n=5). Control group were treated with Hoagland culture medium. Cont : control, O : ouabain (100 μM), B : bafilomycin A<sub>1</sub> (20 nM), C : concanamycin A (20 nM), A : amiloride (100 μM).

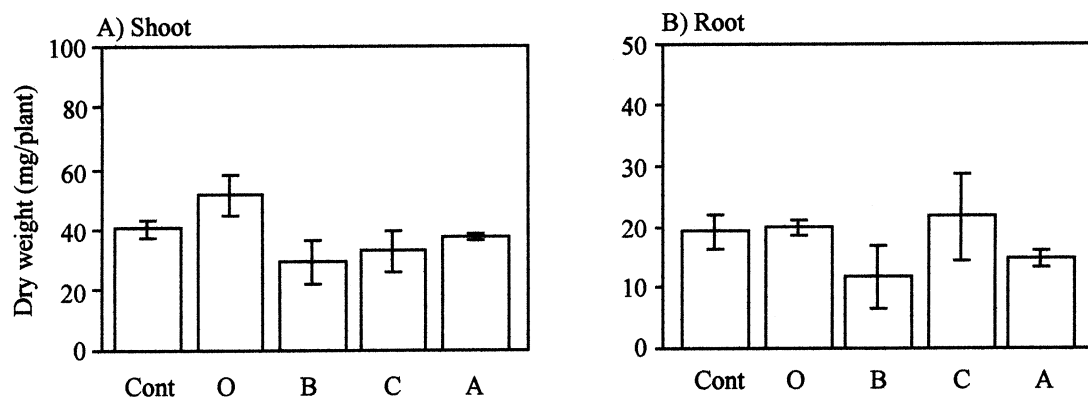


Fig. 2 Effects of inhibitors on growth in shoot (A) and root (B) of maize (*Zea mays* L.) grown in Hoagland culture medium supplemented with 100 mM NaCl. Data represent the mean  $\pm$  standard error of five samples (n=5). Control group were treated with Hoagland culture medium. Cont : control, O : ouabain (100 μM), B : bafilomycin A<sub>1</sub> (20 nM), C : concanamycin A (20 nM), A : amiloride (100 μM).

100 μM, 20 nM, 20 nM, および 100 μM に設定した。供試植物は、処理溶液として 100 mM NaCl および各種阻害剤を含む Hoagland 水耕液 (pH5.5) で栽培し、バイオトロン内 (温度 25°C, 相対湿度 60%, 明期 13.5 時間, 暗期 10.5 時間, 光条件 350 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) にて NaCl および阻害剤処理を 48 時間行った。なお、対照区として NaCl のみを添加した区を設定した。処理後、植物体を地上部および地下部に分け 60°C で 48 時間乾燥し、乾物重を測定した。硝酸過塩素酸分解後、原子吸光分析法によって Na 含有量を測定した。

### 結果および考察

ヨシおよびトウモロコシの生育に及ぼすイオン輸送阻害剤の影響を図 1 および図 2 に示した。100 mM NaCl 処理条件下のヨシおよびトウモロコシの乾物重は、地上部および地下部でも対照区と 4 種の供試阻害剤の間で有意な差は認められなかった。この結果から、設定した阻害剤濃

度は生育に影響を及ぼさない濃度であり、生育の低下による Na 吸収の変化を伴わないことが考えられた。したがって、設定した阻害剤濃度は、ヨシおよびトウモロコシの Na 吸収に及ぼすイオン輸送阻害剤の影響を検討する上で適当であると判断した。

ヨシの Na 吸収に及ぼすイオン輸送阻害剤の影響を図 3 に示した。100 mM NaCl 処理条件下の Na 含有量は、対照区に比べて 100 μM Ouabain 処理の地上部においてのみ有意に増加した (P<0.05)。一方、地下部の Na 含有量には阻害剤処理による影響は認められなかった。ヨシにおける Na 転流機構について、NaCl 処理条件下での地下部から地上部への<sup>22</sup>Na<sup>+</sup>移行量は、代謝阻害剤である PCMB (*p*-クロロメルクリ安息香酸), DNP (2, 4-ジニトロフェノール), CCCP (カルボニルシアニド *m*-クロロフェニルヒドラゾン) および DCCD (ジシクロヘキシルカルボジイミド) 処理によって対照区に比べて約 2 倍に増加することが示され、ヨシの Na 転流機構はエネルギー依存的であることが

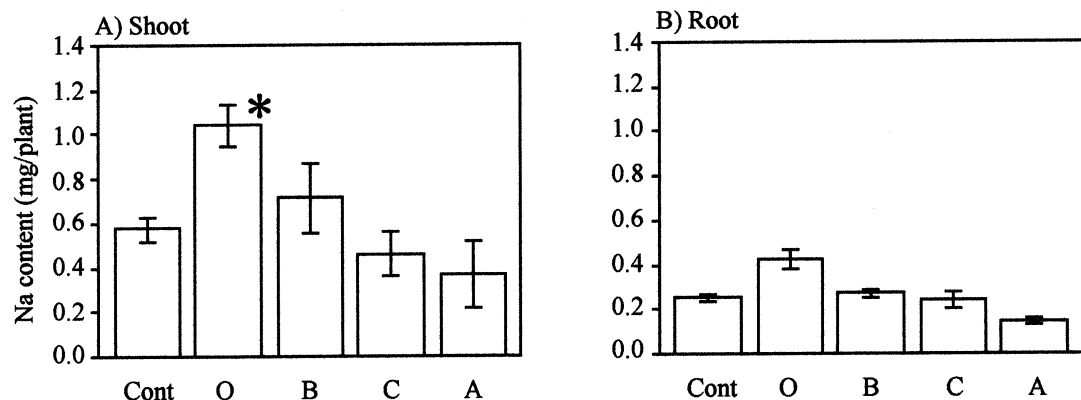


Fig. 3 Effects of inhibitors on Na contents in shoot (A) and root (B) of reed (*Phragmites communis* Trinius) grown in Hoagland culture medium supplemented with 100 mM NaCl. Data represent the mean  $\pm$  standard error of five samples ( $n=5$ ). Control group were treated with Hoagland culture medium. Cont : control, O : ouabain (100  $\mu$ M), B : bafilomycin A<sub>1</sub> (20 nM), C : concanamycin A (20 nM), A : amiloride (100  $\mu$ M). \*Significantly different to control ( $P < 0.05$ ).

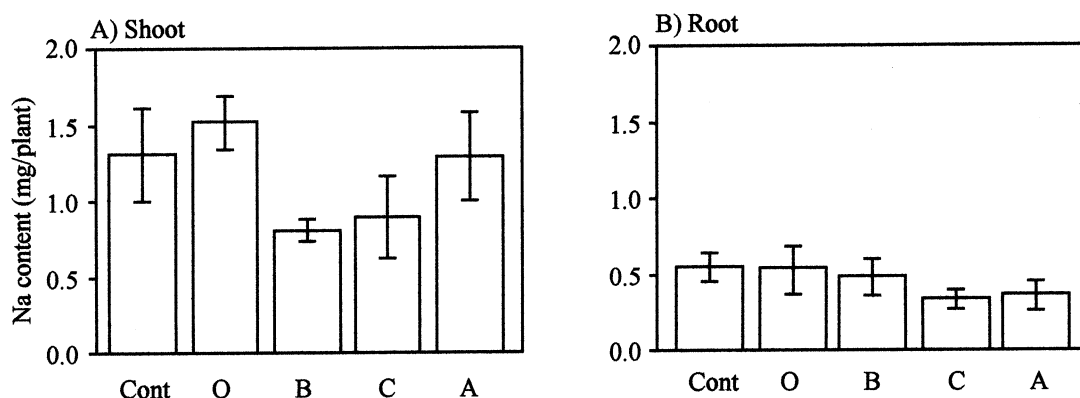


Fig. 4 Effects of inhibitors on Na contents in shoot (A) and root (B) of maize (*Zea mays* L.) grown in Hoagland culture medium supplemented with 100 mM NaCl. Data represent the mean  $\pm$  standard error of five samples ( $n=5$ ). Control group were treated with Hoagland culture medium. Cont : control, O : ouabain (100  $\mu$ M), B : bafilomycin A<sub>1</sub> (20 nM), C : concanamycin A (20 nM), A : amiloride (100  $\mu$ M).

報告されている<sup>10)</sup>。従って、本試験で示された Ouabain 処理によってヨシの地上部への Na 移行量が増加した結果は、NaCl 処理条件下において地上部へ移行した Na を再び根に転流するというヨシ独特の耐塩性機構に、Na<sup>+</sup>-ATPase によるエネルギー依存的な Na の輸送機構が関与している可能性を示唆したものと言えよう。一方、NaCl 処理条件下のトウモロコシの Na 含有量は、対照区と比較して地上部および地下部ともに阻害剤処理による有意な差は認められなかった (図 4)。トウモロコシは、アスパラガス、コムギとともに地下部から根圏への Na 排除能が高い作物として分類されている<sup>4)</sup>。また、NaCl 処理条件下のトウモロコシの細断根では、Ouabain 処理によって Na 含有量が増加し、動物 Na<sup>+</sup>-ATPase に似た ATPase がトウモロコシ Na 排除能に関与している可能性が報告されている<sup>6)</sup>。これらの報告に基づいて本試験ではトウモロコシにおけるイオン輸送系タンパク質の Na 排除能への関与

を想定したが、今回の結果からは明白な関連を示すことはできなかった。

#### 参考文献

- 1) GREENWAY, H. and MUNNS, R., 1980. Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. *Plant Physiol.*, 31, 149-190.
- 2) HANSON, A. D. and HIRTZ, W. D., 1982. Metabolic responses of mesophyte to plant water deficits. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 33, 163-203.
- 3) MATSUSHITA, N. and MATOH, T., 1992. Function of the shoot base of salt-tolerant reed (*Phragmites communis* Trinius) plants for Na<sup>+</sup> exclusion from the shoot. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 38, 565-571.
- 4) 田中 明・但野利秋・多田洋司, 1974. 塩基適応性の作物種間差 (第 3 報) ナトリウム適応性—比較植物栄養に関する研究—, 日本土壌肥科学雑誌, 45 (6), 285-292.
- 5) NIU, X., BRESSAN, A. R., HASEGAWA, M. P. and PARDO, M. J., 1995. Ion homeostasis in NaCl stress environments. *Plant Physiol.* 109, 735-742.

- 6) DAVIS, F. R. and JAWORSKI, Z. A., 1979. Effects of ouabain and low temperature on the sodium efflux pump in excised corn roots. *Plant Physiol.* **63**, 940-946.
- 7) BARKLA, J. B., CHARUK, H. M. J., CRAGOE, J. E. Jr. and BLUMWALD, E., 1990. Photolabeling of tonoplast from sugar beet cell suspensions by [ $^3\text{H}$ ]5-(*N*-methyl-*N*-isobutyl)-amiloride, an inhibitor of the vacuolar  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -antiport. *Plant Physiol.* **93**, 924-930.
- 8) TALEISNIK, E., GRUNBERG, K. and LINO, A., 1991. Effects of amiloride on sodium accumulation in intact *Lycopersicon esculentum* plants. *J. Plant Physiol.* **138**, 634-639.
- 9) DRÖSE, S. and ALTENDRF, K., 1997. Bafilomycins and concanamycins as inhibitors of V-ATPases and P-ATPases. *J. Exp. Biol.*, **200**, 1-8.
- 10) MATOH, T., MATSUSHITA, N. and TAKAHASHI, E., 1988. Salt tolerance of the reed plant *Phragmites communis*. *Physiol. Plant.*, **72**, 8-14.

## Effect of Ion Transport Inhibitors on Sodium Uptake in Reed (*Phragmites communis* Trinius) and Maize (*Zea mays* L.)

By

Yuji KOBAYASHI\*, Yoshiyuki MAEDA\*\* and Hiroshi TAKENAGA\*\*

(Received May 31, 2001/Accepted September 20, 2001)

**Summary :** The effects of ion transport inhibitors on sodium uptake in reed and maize were studied to examine the participation of ion transporter in the salt tolerance. 5-(*N*-Methyl-*N*-isobutyl)-amiloride ( $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -antiporter), bafilomycin  $\text{A}_1$  and concanamycin A (V-type  $\text{H}^+$ -ATPase) and ouabain (animal  $\text{Na}^+$ -ATPase) were used as inhibitors. Among them, 100  $\mu\text{M}$  ouabain significantly increased sodium content of reed shoots in the presence of 100 mM NaCl. However, sodium content of maize was not affected by the inhibitors. These results suggested that  $\text{Na}^+$ -ATPase might be involved in specific mechanism of  $\text{Na}^+$  re-transport in reed.

**Key Words :** Inhibitor, Ion transporter, Sodium, *Phragmites communis* Trinius, *Zea mays* L.

---

\* Department of Agriculture Chemistry, Graduate School of Agriculture, Tokyo University of Agriculture

\*\* Department of Applied Biology and Chemistry, Faculty of Applied Bioscience, Tokyo University of Agriculture