

鉄欠乏大麦根からのムギネ酸分泌に及ぼす光の影響

三野芳紀

Effects of Light on Mugineic Acid Secretion from Iron-Deficient Barley Roots

Yoshiaki MINO

Osaka University of Pharmaceutical Sciences, 4-20-1, Nasahara, Takatsuki, Osaka 569-1094, Japan

(Received November 14, 2006; Accepted December 15, 2006)

Mugineic acid (MA), a phytosiderophore, is secreted from iron-deficient barley roots, and the amounts of secreted MA are reported to peak 2h after sunrise. We examined the effects of light on the secretion of MA from iron-deficient barley roots. As a result, it was found that the amounts of secreted MA remarkably depend on the surrounding light. The reduction in light by half decreased the amounts of secreted MA more than 90%. MA secretion did not always require the dark period. However, the dark period was related to the secretion cycle. MA was secreted mainly during 4h just after change from the dark period to the light period. When iron-deficient barley was grown in irregular light circumstances, irregular secretion resulted but the regular secretion cycle was restored in three days, adapting to the new circumstances.

Key words—mugineic acid (MA); siderophore; secretion; barley; iron deficiency; light

序 論

ムギネ酸 (mugineic acid, 以下 MA と略す) は、大麦の根から分泌されるキレーターで、三価鉄に特に強い親和性を有し、また、その分泌量が鉄欠乏時に顕著に増加することから、植物界のシデロホアと考えられている。¹⁻³⁾ 現在までにその金属錯体の構造や性質が明かにされ、MA を介する植物の鉄取込み機構がかなり明らかになってきているが、^{4,5)} 植物が MA を分泌するための条件等については、不明な点が少なくない。例えば、分泌の時期については、従来、日の出から 2 時間後に最も多く分泌されるとされてきたが、⁶⁾ 正午前後にピー

クになるという報告もある。⁷⁾ MA の分泌と気象条件との関係についての詳細な検討は、植物の鉄取込み機構を考察する上でも不可欠であると思われる。

そこで、本研究においては、人工気象器を用いて、MA の分泌量と光 (照度) との関連性を中心に検討を行った。

方 法

1. 試薬

MA は、Takemoto らの方法に準じて、大麦根の洗液から精製した。⁶⁾ 他の試薬は市販の特級品を使用した。

2. MA の分析

大麦根の洗液は、大麦(100本)の根を蒸留水(2l)に4時間浸すことで調製した。なお、根の温度変化を避けるため、蒸留水は人工気象器内で1時間以上放置し、23°Cにしたものを使用した。洗液(2l)

のうち200mlを用いて、その鉄溶解能をo-フェナントロリン法(Fig. 1)により測定し、予め作成したMAと鉄溶解能(508nm吸光度)の検量線からMAの量を求めた(Fig. 2)。なお、大麦の場合、根の洗液の鉄溶解能はMAに起因することが分かっている。⁶⁾

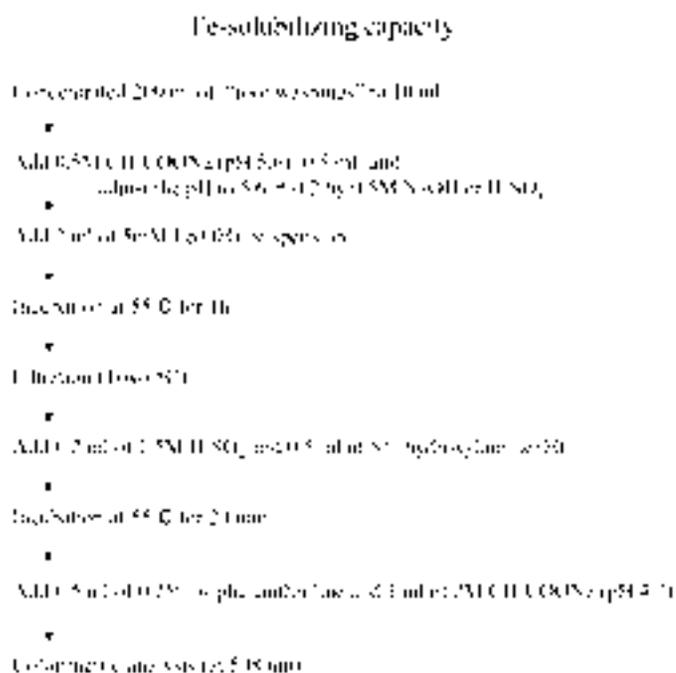


Fig. 1. Procedures for Iron-Solubilizing Capacity of Barley-Root Washings

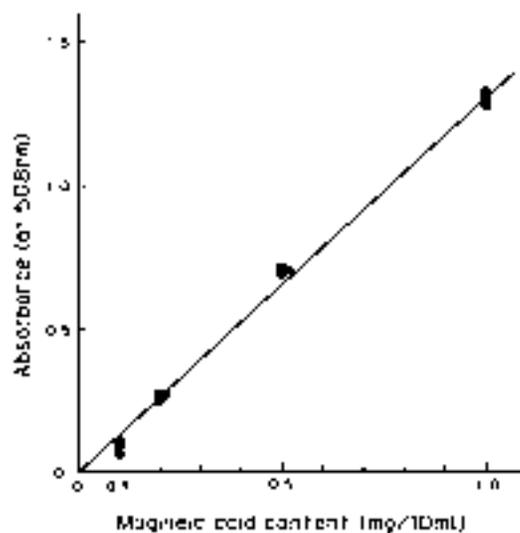


Fig. 2. Calibration Curve for Mugineic Acid

3. 水耕栽培

大麦 (*Hordeum vulgare* L. var. Minorimugi) の水耕栽培を種々の条件下で行った。基本条件は以下の通りである。栄養液は、 KNO_3 2.5 mM; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 2.5 mM; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 2.0 mM; $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 1.0 mM; H_3BO_3 3.0 μM ; $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.5 μM ; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.2 μM ; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.4 μM ; $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 1.0 μM ; NaCl 0.5 μM ; $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 20 μM で、鉄欠乏用の栄養液はこれらから $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ を除いた組成で、かつ pH を 7.0 に調整したものである。基本の栽培条件は、23°C、明期：12 時間 (8:00~20:00), 8000 lux ; 暗期：12 時間 (20:00~8:00 [翌日]), 0 lux である。他の条件は、高城らの方法に準じた。¹⁾

結果と考察

Fig. 3 は、鉄欠乏状態の大麦根からの MA 分泌量に及ぼす光の強さ（明期での照度）の影響を示している。明期の照度を 6000 lux にした場合、鉄

分含有栄養液で水耕栽培した大麦の根からは MA の分泌は観察されなかったが、鉄欠乏処理 [-Fe, pH 7] の後 4 日目から、MA の分泌 (約 20 $\mu\text{g}/1$ 植物体) が認められた。その後も、ほぼ直線的に約 150 $\mu\text{g}/1$ 植物体まで分泌量が増加し、2 週間後には、ほぼプラトーに達した。一方、-Fe 処理後 7 日目から、遮光ネットで照度を 6000 lux から 2600 lux に下げた場合、その翌日から分泌量の明らかな減少が起こり、遮光後 2 日目以降は有意な量の MA 分泌は認められなかった。なお、遮光ネットを外し、6000 lux の照度に戻すと、その 2 日後から再び MA の分泌は急激に増加した。これらの結果は、大麦根からの MA の分泌量は光の強さ（照度）に大きく依存していることを示している。植物の光合成反応が鉄を要求することはよく知られているので、^{8,9)} 今回の結果は、照度の減少により光合成が抑制され、鉄消費が少なくなったことで、大麦が鉄欠乏にならなかったためと説明できる。これに関連して我々は、自然光の環境下温室内で大麦を水耕栽培し、洗液の鉄溶解

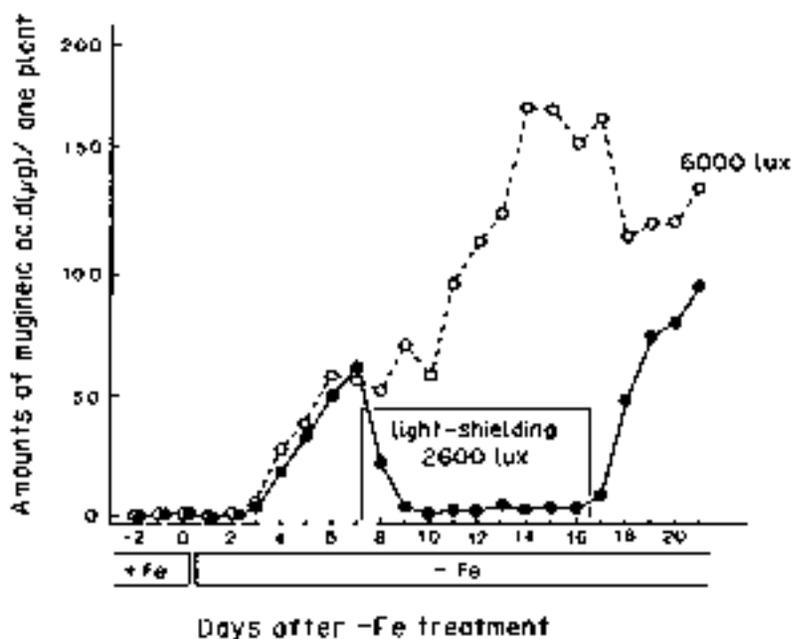


Fig. 3. Effects of Light on the Amounts of Mugineic Acid Secreted from Barley Roots

○: 6000 lux, ●: 2600 lux for the period from 7th to 16th day after -Fe treatment and 6000 lux for the other period.

活性 (MA 量) を毎日モニターする実験において、MA 分泌量が天候 (晴れ, 曇り, 雨による照度の違い) に大きく影響されること, さらに興味深いことに, 洗液を採る日の天気ではなく, その前日と前々日の天候に顕著に依存 (晴天の場合は MA 量増加) することを観察している。¹⁰⁾ このような現象は, 今回の実験結果 (照度と MA 分泌量は正の相関を示し, 照度が増すと 2 日後に MA 分泌増加) で説明される。

次に, 日の出から 2 時間後に MA 分泌量がピークになるといわれていることから, MA 分泌のためには, 暗期から明期への変化が必要か否かについて検討した。MA 分泌量がほぼプラトーに達した大麦を用いて, 明期 (6000 lux) のみで 5 日間栽培したときの分泌量を調べた。その結果を Fig. 4 に示すが, 暗期を除いた翌日の分泌量は減少するものの, その

後は却って分泌量が増加する傾向がみられた。この結果から, MA の分泌には必ずしも暗期を必要としないと考えられた。なお, この実験において MA 分泌量が少ないのは, 実験に供した大麦が -Fe 処理後 1 ヶ月近く経過していることに関連があると思われた。

1 日のうちでどの時間帯に MA 分泌が盛んになるかなど, 種々の明暗期サイクルで 2 時間毎の分泌量をモニターした。ただし, 連続的に洗液を採るのは, 大麦を蒸留水で栽培する状態になってしまうため, 洗液を採取した直後の 2 時間は鉄欠乏の栄養液で栽培することにした。Fig. 5 は, 明暗期のサイクルを変化したときの MA 分泌量の経時変化を示したものである。Fig. 5-a は, 基本条件下で鉄欠乏大麦根の洗液採取を 3 日間にわたっ

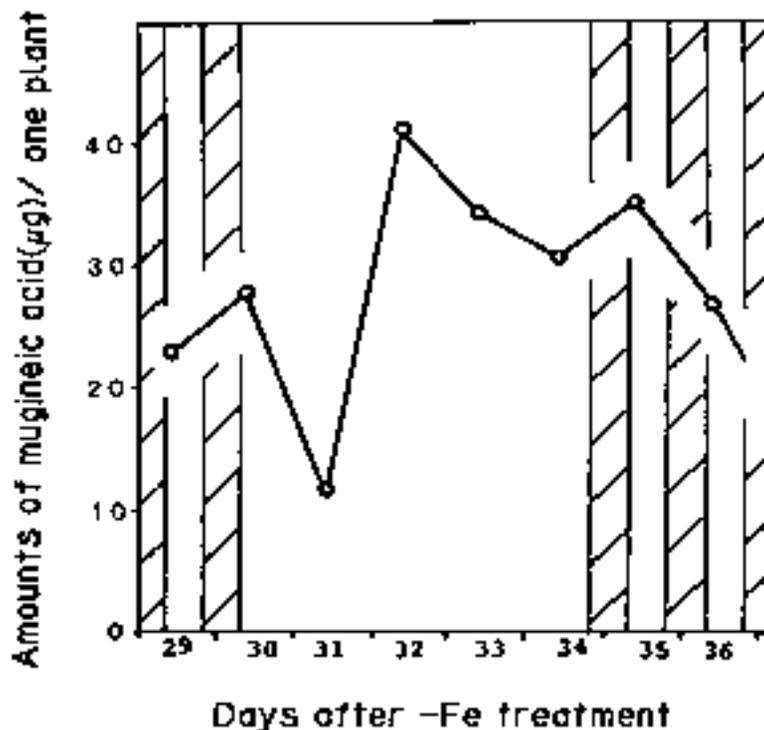


Fig. 4. Effects of Light and Darkness on the Amounts of Mugineic Acid Secreted from Barley Roots

Slashed part reveals the dark period, and the others the light period.

Root washings were collected for 4 h after 8:00 (changed from darkness to light)

て行ったときの MA 分泌の経時変化を表している。暗期に比べて明期での分泌量が顕著に多く、特に暗期から明期に変わった直後の 2 時間にそのピークが現われた。この結果は、日の出後 2 時間に分泌量が最も多くなると報告している竹本らの結果と一致している。Fig. 5-b は、少しずつ暗期の時間をずらすことで、洗液採取を暗期のときから始めた場合の MA 分泌量の経時変化を示している。洗液を採取し始めた最初の暗期に相当量の分泌がみられ、その分泌パターンは Fig. 5-a での明期のそれと類似している。2 日目以降の暗期では徐々に分泌量は減少したが、明期では最初の 2 時間での分泌量が最も多いと

いう典型的なパターンを示した。次に 1 日だけ暗期を 24 時間続けるという変則的な照度サイクルで実験を行った (Fig. 5-c)。本来、明期のところを暗期にした場合でも洗液採取の最初の 2 時間に多くの分泌が観察された。次の明期には有意な MA 分泌は起こらなかったが、次の暗期に多くの MA が分泌され、明らかに異常な分泌パターンを示した。しかし、3 日目以降は正常な分泌パターンに戻っていく傾向が認められた。逆に、1 日だけ明期を 24 時間続けた場合、最初の 24 時間（明期と暗期）には分泌は起こらず、2 日目から正常な分泌パターンに戻る傾向が認められた。このように、照度サイクルを

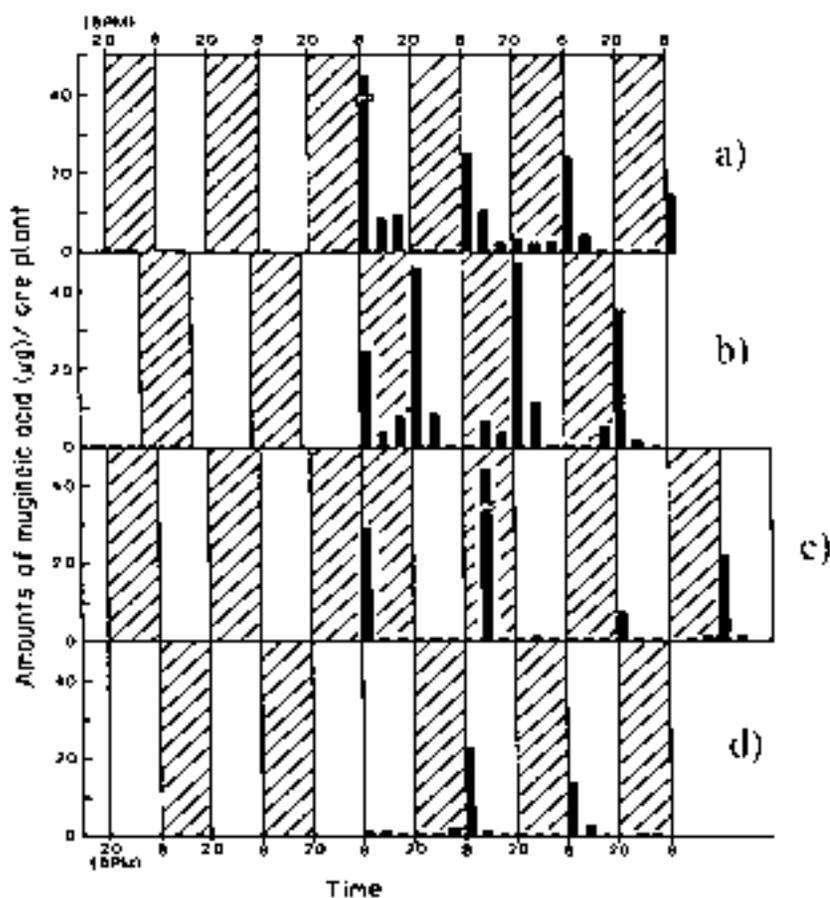


Fig. 5. Time course of the Amounts of Mugineic Acid Secreted from Barley Roots Related to Light and Dark Periods

■ : Amounts of mugineic acid secreted from barley roots

Slashed part reveals the dark period, and the others the light period.

変化させた場合、異常な MA 分泌パターンを示すようになるが、2, 3 日間で順応し、正常な分泌パターンを示すようになると思われる。

本研究において、① MA の分泌量は、光の強さ（照度）に著しく影響され、照度が半減した場合、その分泌量は 10% 以下に減少した。これは、照度の減少により植物の光合成が抑制され、同時に鉄の消費が少なくなることで、植物が鉄欠乏に陥りにくくなるためと考えられる。② MA の分泌のためには、暗期は必ずしも必要ではないが、その分泌の周期性（パターン）には密接な関連があり、暗期から明期に変わった直後に、MA の分泌量は著しく増加する傾向がある。③ 植物を異なる光の環境下（明期、暗期）においた場合、3 日間程度で同じ周期性をもつようになり、新しい環境に順応する。等の知見が得られた。

MA の分泌に関しては、鉄欠乏大麦の根に特異な小胞の存在、カリウムイオンの関与、特異なペプチドの関与が示唆されており、¹¹⁻¹³⁾ また MA- 鉄錯体の吸収に関してはその輸送タンパク質 (HvYS1) が最近になり同定された。¹⁴⁾ 今後、本研究で明らかになった MA 分泌と光の関連性など、MA の分泌及び MA- 鉄錯体の取込み機構の分子レベルでの解明が大いに期待される。

REFERENCES

- 1) Takagi S., *Soil. Sci. Plant Nutr.*, **22**, 423-433 (1976).
- 2) Sugiura Y., Tanaka H., Mino Y., Ishida T., Ota N., Inoue M., Nomoto K., Yoshioka H., Takemoto T., *J. Am. Chem. Soc.*, **103**, 6979-6982 (1981).
- 3) Mino Y., Ishida T., Ota N., Inoue M., Nomoto K., Takemoto T., Tanaka H., Sugiura Y., *J. Am. Chem. Soc.*, **105**, 4671-4676 (1983).
- 4) Mino Y., Ishida T., Ota N., Inoue M., Nomoto K., Yoshioka H., Takemoto T., Sugiura Y., Tanaka H., *Inorg. Chem.*, **20**, 3440-3444 (1981).
- 5) Iwashita T., Mino Y., Naoki H., Sugiura Y., Nomoto K., *Biochemistry*, **22**, 4842-4845 (1983).
- 6) Takemoto T., Nomoto K., Fushiya S., Ouchi R., Kusano G., Hikino H., Takagi S., Matsuura Y., Kakudo M., *Pro. Japan Acad.*, **54**, B, 469-473 (1978).
- 7) Mori S., Nishizawa N., Kawai S., Sato Y., Takagi S., *J. Plant Nutr.*, **10**, 1003-1011 (1987).
- 8) Kaim W., Schwederski B., "Bioinorganic Chemistry: Inorganic Elements in the Chemistry of Life: an Introduction and Guide" ed. by Kaim W., Schwederski B., John Wiley & Sons, Chichester, New York, Brisbane, Toronto, Singapore, 1994, pp.150-171.
- 9) Brown, J. C., "Bioinorganic Chemistry-II," ed. by Raymond, K. N., American Chemical Society, Washington, D. C., 1977, pp.93-103.
- 10) Mino Y., unpublished data
- 11) Nishizawa N., Mori S., *J. Plant Nutr.*, **10**, 1013-1020 (1987).
- 12) Sakaguchi T., Nishizawa N., Nakanishi H., Yoshimura E., Mori S., *Plant and Soil*, **215**, 221-227 (1999).
- 13) Mori S., Hachisuka M., Kawai S., Tagagi S., Kishi-Nishizawa N., *J. Plant Nutr.*, **11**, 653-662 (1988).
- 14) Murata Y., Ma J. F., Yamaji N., Ueno D., Nomoto K., Iwashita T., *Plant J.*, **46**, 563-572 (2006).