

インゲンとトウモロコシの鉄欠乏ストレス に対する反応の差異

米谷 力*・森次益三**・河崎利夫***

Differences in the Responses to Iron Deficiency Stress between Bean and Maize

Tsutomu YONETANI, Masumi MORITSUGU and Toshio KAWASAKI

The responses to iron deficiency stress in bean and maize were compared.

The susceptibility to iron deficiency stress was smaller in bean than in maize; i.e., the tolerance to iron deficiency was greater in bean than in maize.

The roots of the bean plants exposed to iron deficiency stress, developed iron reducing capacity and medium-pH lowering capacity, but not the roots of maize.

The iron reducing capacity and medium-pH lowering capacity of the bean roots were inhibited by a shadowing, detopping, and the addition of 2,4- dinitrophenol.

Iron absorption in the bean plants was stimulated by the pretreatment without iron in the growth medium, but not in the maize plants.

The findings suggest that the high tolerance of bean plants to iron deficiency stress is caused by the development of iron reducing capacity and medium-pH lowering capacity of the bean roots.

Key words: Bean, Iron deficiency stress, Iron reducing capacity, Maize, Medium-pH lowering capacity

緒 言

植物の微量元素としての鉄の必須性は古くから知られており、鉄欠乏に関して多数の研究が行われてきた。アルカリ性土壌、特に石灰質土壌における植物の鉄欠乏に関する報告は非常に多い。近年、鉄欠乏条件に対する各種植物の反応について、非常に重要な実験結果が次々と発表され、植物の鉄欠乏耐性に関する研究は大きく進展した。

それらの研究の中で最も重要なものの一つは Brown ら^{2~6,10,11)}の研究成果であり、鉄欠乏ストレスを受けた植物が鉄還元能力と培地 pH を低下させる能力を発現することを明らかにした。これは主としてマメ科植物やトマト等の双子葉植物の鉄欠乏耐性機構と考えられている¹⁵⁾。他の重要なものは Takagi ら^{7,13~18)}の研究成果であり、鉄欠乏ストレスを受けた植物はムギネ酸を根から放出し、難溶性鉄を溶解して体内に取りこむことを示した。これはイネ科植物の鉄欠乏耐性機構と考えられている¹⁵⁾。

ここでは、マメ科植物としてインゲンを、イネ科植物としてトウモロコシを実験材料とし、両者の鉄欠乏感受性と鉄欠乏ストレスに対する反応について検討した結果を報告する。

本論文について、柴坂三根夫博士(岡山大学資源生物科学研究所)から貴重な御批判と御意見を頂いた。ここに深謝の意を表す。

材料および方法

実験材料：インゲン (*Phaseolus vulgaris* L., cv. Masterpiece) ならびにトウモロコシ (*Zea mays* L., cv. Nagano No. 1) を実験材料として用いた。

植物栽培実験の方法：材料種子を砂箱に播種し、発芽後、幼植物を水耕栽培用ポット(3.5 l 容)に移した。最初の数日間は規定の1/4濃度の培養液、次いで規定濃度の培養液で、自動 pH 調整水耕栽培装置⁸⁾を用いて一定期間育成した後に収穫した。用いた基本培養液の組成を表-1に示す。培養液の更新は1週間に1回、鉄(クエン酸鉄)の添加は2日に1回とした。培養液の pH および鉄添加の濃度は実験結果の中に記載する。本栽培実験での収穫物についての鉄の定量は原子吸光分光分析法による。

Table 1. Composition of culture medium

| | |
|--|------------|
| KNO ₃ | : 4.0 mM |
| NH ₄ H ₂ PO ₄ | : 1.0 mM |
| CaCl ₂ | : 2.0 mM |
| MgSO ₄ | : 1.0 mM |
| | |
| B (as H ₃ BO ₃) | : 0.5 ppm |
| Mn (as MnCl ₂) | : 0.5 ppm |
| Zn (as ZnSO ₄) | : 0.05 ppm |
| Cu (as CuSO ₄) | : 0.02 ppm |
| Mo (as (NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄) | : 0.01 ppm |

植物根による鉄還元と培地の pH 低下，ならびに植物による鉄吸収の測定：材料種子を砂箱に播種し，7 日後に 2 個体の幼植物を水耕栽培用ポット（1 l 容）に移した。最初の 2 日間は規定の 1/4 濃度の培養液で育成し，次いで 4 日間の鉄無添加と鉄添加（EDTA-鉄として Fe^{3+} 3 ppm）の前処理を行った。前処理期間中の培養液は規定濃度（鉄以外）の基本組成とし，培養液 pH を毎日 5.0 に調整した。前処理期間の後，放射性鉄 (^{59}Fe) で標識した EDTA-鉄 (Fe^{3+}) を含んだ規定濃度の培養液に更新し，6 時間および 24 時間後に培養液を採取して，二価鉄 (Fe^{2+}) および pH を測定した。実験開始 24 時間で植物を収穫し，乾燥，灰化後， ^{59}Fe の放射能強度を測定して，実験期間（24 時間）中の植物による鉄吸収量を算出した。この実験では，光による鉄の還元を避けるため，通気用ガラス管等をアルミ箔で包んで遮光した。

二価鉄および pH の測定：二価鉄は TPTZ (2,4,6,-Tris (2-pyridyl) -s-triazine) を用いる吸光光度法⁹⁾，pH はガラス電極法によって測定した。

結 果

1. 培養液の鉄濃度あるいは pH を変えた場合のインゲンとトウモロコシの生育

自動 pH 調整水耕栽培装置を用い，培養液の鉄濃度あるいは pH を変えて，インゲンとトウモロコシを育成した。培養液の鉄濃度を変えた場合の両植物の生育ならびに収穫物の鉄含有率を図-1 に示す。また，培養液の pH を変えた場合の両植物の生育ならびに収穫物の鉄含有率を図-2 に示す。

図-1 によれば，培養液の鉄濃度を 2.0 から 0.2 ppm に低下させたとき，インゲンの生育は僅かに減少することが認められた。培養液の鉄濃度の低下によって，インゲン植物体の鉄含有率も若干小さくなった。

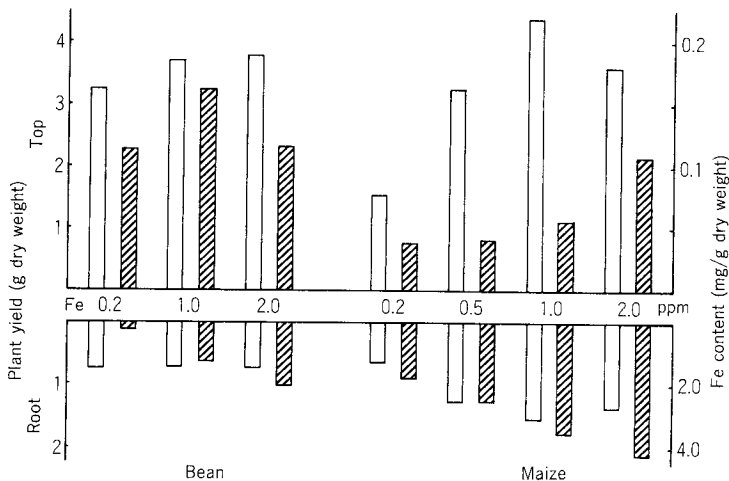


Fig. 1. Effects of iron concentrations in nutrient solution on yield and iron content of bean and maize. □ Plant yield, ▨ Fe content.

トウモロコシの場合には、培養液の鉄濃度を2.0から0.2 ppmに低下させたとき、その生育の減少は著しく大きかった。培養液の鉄濃度の低下によって、トウモロコシ植物体の鉄含有率の低下は顕著であった。

図-2から、培養液のpHが4.0から6.0の間ではインゲンの生育はあまり変わらず、むしろpH 6.0で僅かに大きい傾向があった。しかし、インゲン植物体の鉄含有率はpH 6.0の場合に明らかに小さくなった。

培養液のpHが4.0から6.0に上昇したとき、トウモロコシの生育は明らかに減少した。培養液のpHの上昇によって、トウモロコシ植物体の鉄含有率は僅かに低下した。

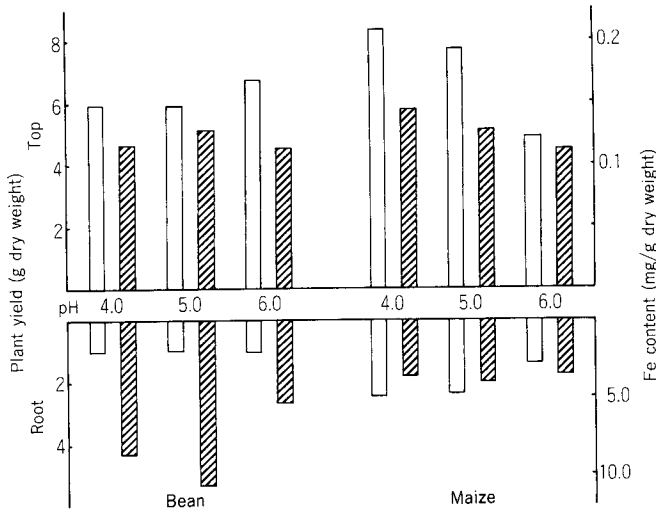


Fig. 2. Effects of pH of nutrient solution on yield and iron content of bean and maize.
□ Plant yield, ▨ Fe content.

2. 植物根による鉄還元と培地のpH低下、ならびに植物による鉄吸収

鉄無添加あるいは鉄添加の前処理を行ったインゲンとトウモロコシについて、培養液にEDTA-鉄として Fe^{3+} 5 ppmを与え、還元鉄(Fe^{2+})の生成とpH変動を測定した。この際の実験開始時の培養液のpHは6.0とした。実験結果を図-3に示す。

図-3から明らかなように、インゲンでは、時間の経過とともに還元鉄の生成は増加し、培養液のpHは低下した。しかし、鉄添加前処理に比べて鉄無添加前処理の場合には、還元鉄の生成の程度は著しく大きく、培養液のpH低下の程度も顕著であった。他方、トウモロコシの場合、還元鉄生成とpH低下の程度は僅かであり、鉄添加前処理と鉄無添加前処理の間に全く差がなかった。

上述の実験では、実験開始後24時間の還元鉄生成とpH低下を測定した。この24時間内の植物による鉄吸収を放射性鉄を用いて測定した結果を図-4に示す。実験時間が短いため、植物の根の鉄含有率は地上部に比べて明らかに大きいことが分かる。しかし、地上部と地下部の両者とも、鉄添加前処理のインゲンに比べ、鉄無添加前処理のインゲンの鉄含有率は著しく大きかった。他方、トウモロコシの鉄含有率はインゲンに比べて小さく、また、鉄添加前

処理と鉄無添加前処理の間に全く差がなかった。

上記の場合には実験開始時の培養液の pH を 6.0 とした。しかし、還元鉄生成と培養液 pH との間になんらかの関係のあることも考えられるので、実験開始時の培養液の pH を変えて還元鉄生成について検討した。その結果を図-5 に示す。本実験では、EDTA-鉄として Fe^{3+} 20 ppm を添加し、還元鉄 (Fe^{2+}) の生成を測定した。インゲンでは、実験開始時の培養液の pH を 4.0 とした場合でも還元鉄の生成は認められた。その程度は実験開始時の pH を 6.0 とした場合よりも若干小さいようであったが、鉄無添加前処理のインゲンによる還元鉄生成は鉄添加前処理の場合に比べて明らかに大きかった。トウモロコシでは、実験開始時の培養液の pH を 4.0 としたとき、鉄無添加前処理の場合に還元鉄の生成が認められたが、その程度は小さかった。

3. インゲンの還元鉄生成反応に対する光、地上部切除および代謝阻害剤の影響

上述の実験結果から、鉄無添加前処理によってインゲンの根が鉄還元能を発現することは明らかである。その機作を追究するため、インゲン根の還元鉄生成に対する光、地上部切除および代謝阻害剤 (DNP) の影響について検討した。本実験では、鉄無添加と鉄添加の前処理の後、EDTA-鉄として Fe^{3+} 5 ppm を含む培養液を与え、各種条件の下で還元鉄の生成と培養液の pH 変化を測定した。ここでは硝酸態窒素のみを窒素源とする培養液を用い、実験時間は 24 時間とした。

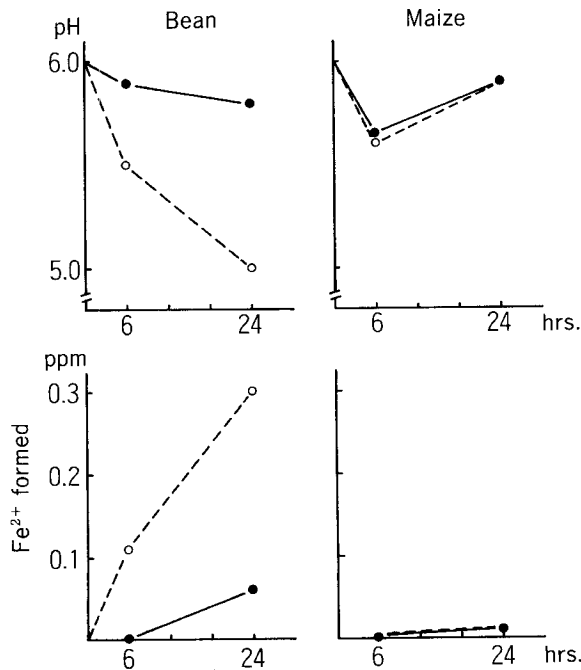


Fig. 3. Effects of Fe-pretreatment on pH changes and reduced iron formation in nutrient solution. ○---○ - Fe pretreatment, ●—● + Fe pretreatment.

鉄無添加前処理したインゲン根の還元鉄生成に対する遮光の影響を調べた結果を図一6に示す。遮光の程度は自然光の約1/4の光量となるようにした。棒グラフの上の数字は実験終了時の培養液のpHである。実験結果から、還元鉄の生成は鉄添加前処理した場合に比べ、鉄無添加前処理の場合に大きいことが明らかであった。この還元鉄の生成は遮光処理によって減少した。また、培養液のpH低下は遮光処理によって若干抑制されるようであった。

鉄無添加前処理したインゲンの還元鉄生成について検討するとき、植物体の地上部を切断して根部だけを用いるという処理を行った。図一7にその結果を示す。先の実験と同様な遮光処理の結果を参考として図中に記載する。図一7の結果から、地上部切除処理は鉄無添加前処理したインゲンの還元鉄生成を著しく抑制することが認められた。

鉄無添加前処理したインゲンの還元鉄生成に対するDNP(2,4-dinitrophenol)の影響について検討した結果を図一8に示す。DNPの添加量は5 μ Mとした。図一8から、鉄無添加前処理したインゲンによる還元鉄の生成は明らかに認められた。5 μ MのDNP添加はこの還元鉄の生成を大きく抑制したが、培養液のpH低下に対しては影響しないようであった。

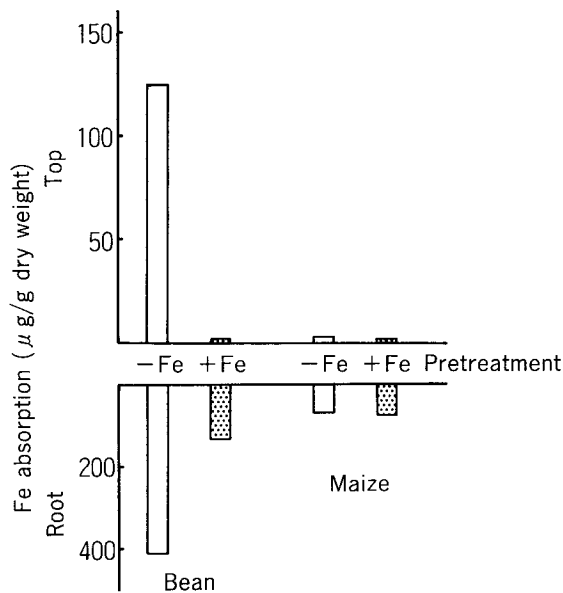


Fig. 4. Effects of Fe-pretreatment on iron absorption in bean and maize.

考 察

1. インゲンとトウモロコシの鉄欠乏感受性

植物の鉄欠乏は培地の鉄濃度の低下によって引き起こされるが、培地のpHの上昇によっても誘起される。本実験では、培地の鉄濃度を低下させたときのインゲンとトウモロコシの生育について検討した。その結果、インゲンでは培地の鉄濃度が低下したときの生育の減少は僅かであったが、トウモロコシの生育の減少は顕著であった(図一1)。また、培地の鉄濃

度の低下によるトウモロコシの鉄含有率の減少の程度はインゲンに比べて明らかに大きかった(図-2)。

以上の結果から、トウモロコシは鉄欠乏感受性が大きく、インゲンは鉄欠乏感受性が小さいと考えられる。換言すれば、インゲンは鉄欠乏耐性が大きく、トウモロコシは鉄欠乏耐性が小さいといえることができる。

2. 鉄欠乏ストレスによる植物根の鉄還元能ならびに培地 pH 低下能の発現

鉄欠乏前処理によって鉄欠乏ストレスを受けたとき、インゲンでは還元鉄の生成と培地 pH の低下は著しく大きく、明らかに鉄還元能ならびに培地 pH 低下能の発現が認められた(図-3)。一方、トウモロコシでの還元鉄の生成と培地 pH の低下は小さく、鉄欠乏ストレスによるトウモロコシ根での鉄還元能ならびに培地 pH 低下能の発現はほとんど認められなかった(図-3)。鉄欠乏ストレスに対する両植物根の反応は実験開始時の培養液 pH を変えたときにもほぼ同様であり、インゲンの場合の還元鉄生成は明らかに大きく、トウモロコシの場合の還元鉄生成は非常に小さかった(図-5)。

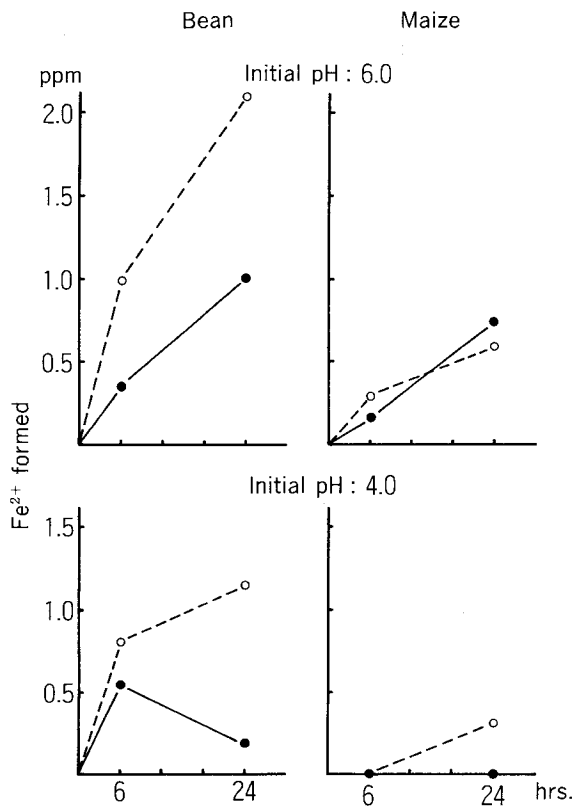


Fig. 5. Effects of Fe-pretreatment on iron reducing capacity under different initial pH in nutrient solution. ○- - -○ - Fe pretreatment, ●- - -● + Fe pretreatment.

3. インゲン根の鉄還元能に対する光、地上部切除ならびに代謝阻害剤 (DNP) の影響

上述の結果から、鉄欠乏ストレスによってインゲン根が著しい鉄還元能を発現することが明らかとなった。このインゲン根での鉄還元能発現の機作を追究するため、還元鉄生成に対する数種の要因の影響について検討した。

実験期間中の光の量を約1/4程度に減らしたとき、インゲン根による還元鉄の生成は明らかに抑制された(図-6)。また、地上部切除処理はインゲン根による還元鉄の生成に対してさらに顕著な抑制効果を示した(図-7)。このことから、インゲン根による還元鉄の生成には植物体地上部からのエネルギー供給が関係しているものと推測される。

DNPの添加も鉄欠乏ストレスによるインゲン根の鉄還元能を大きく抑制した(図-8)ので、このインゲン根における還元鉄生成反応とエネルギー供給の密接な関係が示唆された。本実験で、DNPの添加は培地pHの低下にはほとんど影響を与えなかった(図-8)。このことは植物根による還元鉄生成反応と培地pH低下反応とが相互に関連しないことを意味するものと考えられる。

4. 植物根の鉄還元能ならびに培地pH低下能と植物の鉄吸収

還元鉄の生成と培地pHの低下はいずれも培地での鉄の可溶化につながるものであり、その結果として、植物による鉄吸収の促進が予想される。

インゲンとトウモロコシの還元鉄生成とpH低下について検討したとき、実験終了後、植物体を収穫して実験期間(24時間)中の鉄吸収量を測定した。植物による鉄吸収は鉄無添加前処理のインゲンの場合に著しく大きく、鉄添加前処理のインゲンでは小さかった。また、トウモロコシによる鉄吸収は非常に小さく、鉄無添加と鉄添加の両処理の間に差は認められなかった(図-4)。

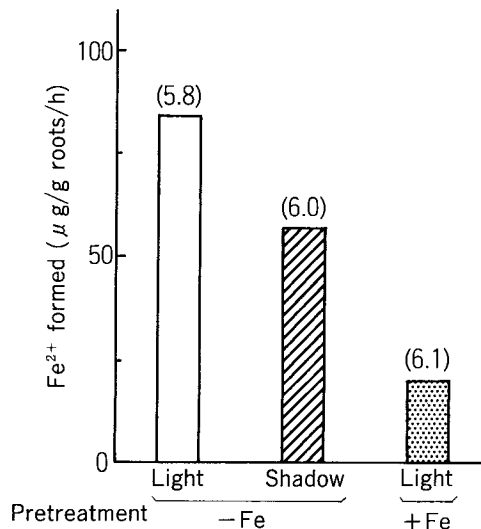


Fig. 6. Effects of light conditions on iron-reducing capacity in bean. Values in parentheses indicate the pH of nutrient solution at the end of the experiment.

上記の結果は鉄欠乏前処理を受けたときのインゲンとトウモロコシ両植物の間の還元鉄生成と培地 pH 低下の大きさの差異とよく一致した。このことから、インゲンが鉄欠乏に対する耐性が大きいのは、鉄欠乏ストレスによる鉄還元能と培地 pH 低下能の発現に起因するものと考えられる。

植物の鉄欠乏に関して古くから多くの研究があり、特に各種植物の鉄欠乏耐性については

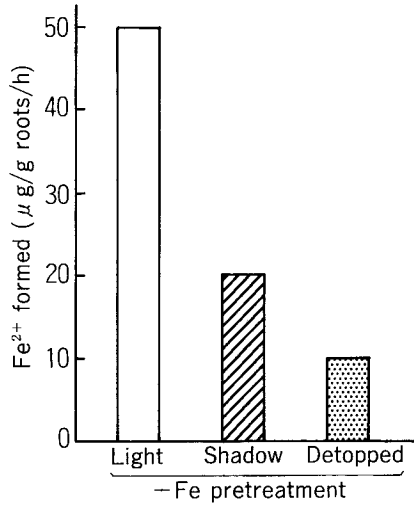


Fig. 7. Effects of light conditions and decapitation on iron reducing capacity in bean.

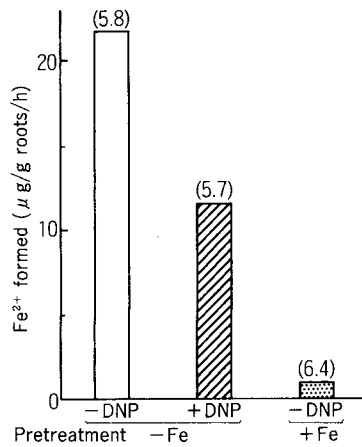


Fig. 8. Effect of DNP on iron reducing capacity in bean. Values in parentheses indicate the pH of nutrient solution at the end of the experiment.

膨大な実験結果が報告されている。Brownらは、双子葉植物の鉄欠乏耐性は鉄欠乏ストレス条件下でそれらの植物が鉄還元能と培地 pH 低下能を発現することに起因することを示し、鉄還元物質の一つとしてカフェイン酸を提示した^{1,12)}。

本実験で、鉄欠乏ストレスによってインゲンが鉄還元能と培地 pH 低下能を発現したことは明らかであり、それらの反応がインゲンの鉄欠乏耐性の要因であると考えられた。この結果は Brown らの報告とよく一致するものであるが、インゲンの場合、その原因物質がカフェイン酸であるかどうかは明らかではない。また、本実験の結果からは、鉄還元能と培地 pH 低下能の両者の間に直接的な関連は少ないものと考えられる。

他方、トウモロコシについては、鉄欠乏ストレスによる鉄還元能と培地 pH 低下能の発現はほとんど認められなかった。トウモロコシの鉄吸収が非常に小さく、鉄欠乏感受性が大きかったのは、鉄欠乏によってトウモロコシでは鉄還元能と培地 pH 低下能が発現しなかったことによると考えられる。本実験では、トウモロコシによるムギネ酸の分泌については検討しなかったが、もし分泌があったとしても非常に僅かであって、鉄欠乏耐性には関係しえない程度であったと考えられる。

摘 要

インゲンとトウモロコシを用い、鉄欠乏ストレスに対する両植物の反応の差異について検討した。その結果は以下のように要約できる。

- 1) 鉄欠乏ストレスに対して、インゲンの感受性は小さく、トウモロコシの感受性は大きかった。換言すれば、インゲンの鉄欠乏耐性は大きく、トウモロコシの鉄欠乏耐性は小さいということができる。
- 2) 鉄欠乏ストレスを受けたとき、インゲン根は鉄還元能と培地 pH 低下能を発現したが、トウモロコシ根ではそのような反応はほとんど認められなかった。
- 3) 鉄欠乏ストレスによるインゲン根での鉄還元能と培地 pH 低下能の発現は遮光処理、植物体地上部の切断処理、あるいは代謝阻害剤 (DNP) の添加によって抑制された。
- 4) 鉄無添加処理はその後のインゲン植物体の鉄吸収を著しく促進した。トウモロコシではそのような現象は認められなかった。したがって、インゲンの鉄欠乏耐性が大きいのは、鉄欠乏ストレスによってインゲン根で鉄還元能と培地 pH 低下能が発現することによるものと考えられる。

キーワード：インゲン、鉄欠乏ストレス、鉄還元能、トウモロコシ、培地 pH 低下能

引 用 文 献

1. Bennett, J. H., Olsen, R. A. and Clark, R. B. 1982. Modification of soil fertility by plant roots: Iron stress-response mechanism. *What's New in Plant Physiol.* 13: 1-4.
2. Brown, J. C. 1961. Iron chlorosis in plants. *Adv. Agron.* 13: 329-369.
3. Brown, J. C. and Jones, W. E. 1974. pH changes associated with iron-stress response. *Physiol. Plant.* 30: 148-152.

4. Brown, J. C. and Ambler, J. E. 1974. Iron-stress response in tomato (*Lycopersicon esculentum*). I. Sites of Fe reduction, absorption and transport. *Physiol. Plant.* 30 : 221-224.
5. Brown, J. C. and Olsen, R. A. 1980. Factors related to iron uptake by dicotyledonous and monocotyledonous plants. III. Competition between root and external factors for Fe. *J. Plant Nutr.* 2 : 661-682.
6. Clark, R. B. and Brown, J. C. 1974. Internal root control of iron uptake and utilization in maize genotypes. *Plant Soil* 40 : 669-677.
7. Kawai, S., Itoh, K. and Takagi, S. 1988. Studies on phytosiderophores: Biosynthesis of mugineic acid and 2'-deoxymugineic acid in *Hordeum vulgare* L. var. Minorimugi. *Tetrahedron Letters* 29 : 1053-1056.
8. 森次益三・河崎利夫. 1977. 自動 pH 調整水耕栽培装置の製作—自動制御水耕栽培装置の応用(その1)—
日土肥誌 48 : 243-247.
9. 中島史登・酒井 馨. 1962. ボイラー水中の極微量鉄の迅速光度定量. *分析化学* 11 : 73-77.
10. Olsen, R. A. and Brown, J. C. 1980. Factors related to iron uptake by dicotyledonous and monocotyledonous plants. I. pH and reductant. *J. Plant Nutr.* 2 : 629-645.
11. Olsen, R. A. and Brown, J. C. 1980. Factors related to iron uptake by dicotyledonous and monocotyledonous plants. II. The reduction of Fe³⁺ as influenced by roots and inhibitors. *J. Plant Nutr.* 2 : 647-660.
12. Olsen, R. A., Brown, J. C., Bennett, J. H. and Blume, D. 1982. Reduction of Fe³⁺ as it relates to Fe chlorosis. *J. Plant Nutr.* 5 : 433-445.
13. Shi, W. M., Chino, M., Youssef, R. A., Mori, S. and Takagi, S. 1988. The occurrence of mugineic acid in the rhizosphere soil of barley plant. *Soil Sci. Plant Nutr.* 34 : 585-592.
14. Takagi, S. 1976. Naturally occurring iron-chelating compounds in oat- and rice-root washings. I. Activity measurement and preliminary characterization. *Soil Sci. Plant Nutr.* 22 : 423-433.
15. 高城成一・河合成直・亀井 茂. 1987. 鉄欠乏オオムギ根におけるムギネ酸生合成経路と分泌機構(昭和61年度科学研究費補助金(一般研究B)研究成果報告書) 1-8.
16. Takagi, S., Kamei, S. and Yu, M. H. 1988. Efficiency of iron extraction from soil by mugineic acid family phytosiderophores. *J. Plant Nutr.* 11 : 643-651.
17. 高城成一・森 敏. 1990. ムギネ酸. “金属関連化合物の栄養生理(日本土壤肥料学会編)”. 5-60. 博友社, 東京.
18. Takagi, S. 1993. Production of phytosiderophores. *In* “Iron Chelation in Plants and Soil Microorganisms (Barton, L. L. and Hemming, B. C., eds.)”, 111-131. Academic Press, New York.