

[日本作物学会賞]

作物ストレス研究における電子顕微鏡技術の応用と展開 三宅博（名古屋大学大学院生命農学研究科）

電子顕微鏡とくに透過型電子顕微鏡に関する技術は、固定、包埋、薄切、電子染色、観察・写真撮影など多様かつ高度な技術群から成り、作物学研究に応用する場合には多大な困難を伴う。しかし、透過型電子顕微鏡による解析によって得られる成果は、他の形態学的手法に比べて画期的である。三宅博氏は作物の葉緑体・プラスチドを中心とした細胞小器官の微細構造変化と生理的意義に関する研究を通じて作物学研究における透過型電子顕微鏡技術を確立し、大気汚染物質および塩ストレスによる作物の生育障害の発現機構の研究にこれらを応用・展開して、作物学の発展に寄与する多くの重要な知見を得た。研究業績の内容は以下のように要約される。

1. 葉緑体とプラスチドの微細構造解析

イネの葉身の維管束鞘細胞に葉緑体が認められることを示し、その微細構造と発達過程および機能を、改良を重ねた固定・包埋法による透過型電子顕微鏡像の解析によって明らかにした。さらに、葉身組織細胞中の葉緑体とプラスチドの微細構造と特徴を詳細に比較観察して明らかにするとともに、葉緑体・プラスチドがそれらのデンプン蓄積能と消長からみて、植物の分化・生長に密接に関与する多機能性の細胞小器官であることを示した。また、免疫走査電子顕微鏡法を適用し、 C_4 植物葉身における光合成関連酵素の検出に成功した。

2. 大気汚染物質による植物細胞の微細構造変化

植物に顕著な障害を引き起こす大気汚染物質であるオゾンと二酸化硫黄の影響が、電子顕微鏡技術を応用して細胞の微細構造変化として詳細に解析できることを明らかにし、作物の環境ストレス研究における電子顕微鏡技術応用の有効性を示した。すなわち、暴露処理により、オゾンでは最初に葉緑体チラコイドの膨潤が生じ、遅れてミトコンドリアのクリステの収縮、小胞体やゴルジ体の膨潤が認められること、二酸化硫黄ではストロマの膨潤が先行し、その後チラコイドが膨潤するが、影響は葉緑体に限定されることなどを明らかにして、両者の作用機構が異なることを示した。また、オゾン暴露による葉緑体チラコイドの膨潤には活性酸素が関与することを示唆した。さらに一連の研究では維管束鞘において葉緑体とミトコンドリアとの結合部位の存在を明らかにするなど、植物生理学的にも重要な多くの知見を明らかにした。

3. 塩ストレス研究における電子顕微鏡技術の応用と展開

作物生産を抑制する環境ストレス要因である塩ストレスが作物に及ぼす影響とその作用機構について、電子顕微鏡による作物各器官の細胞および小器官の微細構造解析を通じて多くの重要な知見を明らかにした。塩ストレスによる微細構造変化のうち、イネ葉身においては葉緑体チラコイドの膨潤が、冠根においては根端細胞の液胞化がそれぞれ特徴的に認められることを明らかにした。さらに、イネおよびサツマイモ培養組織に明・暗条件で塩ストレス処理を行い、明条件下では葉緑体チラコイドが膨潤するが、暗条件下ではこの障害が生じないことを明らかにした。これは塩ストレスによって生じる葉緑体チラコイドの障害が光依存的であることを示す結果であり、オゾン暴露の研究でも示唆された活性酸素が塩ストレス障害にも関与することを強く示唆する知見である。また、活性酸素消去剤の効果や関連酵素の検討から、塩ストレスによる障害の発生には過酸化水素とその分解産物ヒドロキシルラジカルの関与を示唆するとともに、塩ストレス障害の軽減方法についても提案している。さらに、NADP—ME型 C_4 植物であるトウモロコシの葉身における塩ストレス障害は葉肉細胞の葉緑体には顕著に生じるが、維管束鞘細胞の葉緑体には生じないことを明らかにし、葉肉葉緑体の活性酸素生成が障害発現に関与することを示した。また、塩ストレスによって本来グラナ構造を欠く維管束鞘細胞の葉緑体にグラナ形成が誘導されることを明らかにした。

以上のように、一連の研究は作物学研究における電子顕微鏡とくに透過型電子顕微鏡技術の応用と展開を通じて作物のストレス研究に新たな多くの知見を蓄積し、今後の作物学研究に大きく貢献する研究成果であり、日本作物学会賞に値するものと判断した。

主要業績リスト

1. 葉緑体とプラスチドの微細構造解析

- 1) Miyake, H. and E. Maeda 1976. Development of bundle sheath chloroplasts in rice seedlings. *Can. J. Bot.* 54 : 556—565.
- 2) Miyake, H. and E. Maeda 1976. The fine structure of plastids in various tissues in the leaf blade of rice. *Ann. Bot.* 40 : 1131—1138.

- 3) Miyake, H. and E. Maeda 1978. Starch accumulation in bundle sheath chloroplasts during the leaf development of C₃ and C₄ plants of the Gramineae. *Can. J. Bot.* 56 : 880–882.
 - 4) Miyake, H., M. Nishimura and Y. Takeoka 2001. Immunogold labeling of Rubisco in C₄ plant leaves for scanning electron microscopy. *Plant Prod. Sci.* 4 : 41–49.
 - 5) 三宅博 2005. 透過型電子顕微鏡試料作製法. 作物の形態研究法：マクロからミクロまで. 日作紀 74 : 98–100.
2. 大気汚染物質による植物細胞の微細構造変化
- 6) Miyake, H., A. Furukawa, T. Totsuka and E. Maeda 1984. Differential effects of ozone and sulphur dioxide on the fine structure of spinach leaf cells. *New Phytol.* 96 : 215–228.
 - 7) Miyake, H., A. Furukawa and T. Totsuka 1985. Structural associations between mitochondria and chloroplasts in the bundle sheath cells of *Portulaca oleracea*. *Ann. Bot.* 55 : 815–817.
 - 8) Miyake, H., H. Matsumuro, Y. Fujinuma and T. Totsuka 1989. Effects of low concentrations of ozone on the fine structure of radish leaves. *New Phytol.* 111 : 187–195.
3. 塩ストレス研究における電子顕微鏡技術の応用と展開
- 9) Rahman, Md. S., T. Matsumuro, H. Miyake and Y. Takeoka 2000. Salinity-induced ultrastructural alterations in leaf cells of rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Prod. Sci.* 3 : 422–429.
 - 10) Mitsuya, S., Y. Takeoka and H. Miyake 2000. Effects of sodium chloride on foliar ultrastructure of sweet potato (*Ipomoea batatas* Lam.) plantlets grown under light and dark conditions in vitro. *J. Plant Physiol.* 157 : 661–667.
 - 11) Rahman, Md. S., T. Matsumuro, H. Miyake and Y. Takeoka 2001. Effects of salinity stress on the seminal root tip ultrastructures of rice seedlings (*Oryza sativa* L.). *Plant Prod. Sci.* 4 : 103–111.
 - 12) Rahman, Md. S., H. Miyake and Y. Takeoka 2002. Effects of exogenous glycinebetaine on growth and ultrastructure of salt-stressed rice seedlings (*Oryza sativa* L.). *Plant Prod. Sci.* 5 : 33–44.
 - 13) Mitsuya, S., K. Yano, M. Kawasaki, M. Taniguchi and H. Miyake 2002. Relationship between the distribution of Na and the damages caused by salinity in the leaves of rice seedlings grown under a saline condition. *Plant Prod. Sci.* 5 : 269–274.
 - 14) Mitsuya, S., M. Kawasaki, M. Taniguchi and H. Miyake 2003. Relationship between salinity-induced damages and aging in rice leaf tissues. *Plant Prod. Sci.* 6 : 213–218.
 - 15) Mitsuya, S., M. Kawasaki, M. Taniguchi and H. Miyake 2003. Light dependency of salinity-induced chloroplast degradation. *Plant Prod. Sci.* 6 : 219–223.
 - 16) Hasan, R., Y. Ohnuki, M. Kawasaki, M. Taniguchi and H. Miyake 2005. Differential sensitivity of chloroplasts in mesophyll and bundle sheath cells in maize, an NADP-malic enzyme-type C₄ plant, to salinity stress. *Plant Prod. Sci.* 8 : 567–577.
 - 17) Miyake, H., S. Mitsuya and Md. S. Rahman 2005. Ultrastructural effects of salinity stress in higher plants. In A. K. Rai and T. Takabe eds., *Abiotic Stress Tolerance in Plants : Toward the Improvement of Global Environment and Food Supply*. Springer, Dordrecht. 215–226.
 - 18) Hasan, R., M. Kawasaki, M. Taniguchi and H. Miyake 2006. Salinity stress induces granal development in bundle sheath chloroplasts of maize, an NADP-malic enzyme type C₄ plant. *Plant Prod. Sci.* 9 : 256–265.