

氏 名	おち あい くみ こ 落 合 久 美 子
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学位記番号	論 農 博 第 2575 号
学位授与の日付	平 成 17 年 7 月 25 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	イネにおける塩害時のナトリウムの侵入メカニズムに関する研究

論文調査委員	(主 査) 教 授 關 谷 次 郎	教 授 宮 川 恒	教 授 堀 江 武
--------	----------------------	-----------	-----------

論 文 内 容 の 要 旨

塩害は農業の生産性を低下させる主要な要因の一つであり、持続的な農業活動のために解決されなければならない課題である。湿潤熱帯と亜熱帯において主要な作物であるイネ (*Oryza sativa* L.) は塩害に感受性が高い。塩害は根圏の高浸透圧による吸水阻害と植物体中に侵入した高濃度のイオンによる代謝阻害によって生じるが、イネでは浸透圧ストレスの影響よりもイオンストレスの影響が大きく、イネの塩害は地上部に過剰の Na^+ が蓄積することによっておこる。イネの耐塩性を強化するためには、地上部に Na^+ が過剰に蓄積するのを防ぐことが必要であり、そのためにはまず、塩害環境下で Na^+ がどのようにしてイネ根導管中に侵入するのかを明らかにする必要がある。本研究では、イネの塩害を軽減・回避する方策を考案することを目的とし、高濃度の NaCl を与えた場合のイネ根導管への Na^+ の侵入メカニズムについて検討した。

第1章では、高濃度の NaCl を与えた場合のイネ地上部の Na^+ 含有率の経時変化を追跡し、耐塩性が中程度であるイネ科作物のコムギ (*Triticum aestivum* L.) との比較を行った。 NaCl を与えて水耕栽培試験を行ったところ、100 mM NaCl 区でイネ (cv. IR36) はすべて枯死したが、コムギ (cv. BT-Schomburgk) では乾物重は対照区に比べて小さくなったものの4週間の栽培期間中に枯死することはなかった。本研究に用いた品種でもコムギはイネに比べて耐塩性が強いことが示された。25~200 mM の NaCl を与えた場合9時間目までのイネ地上部 Na^+ 含有率は時間とともに直線的に増加した。 Na^+ の地上部への移行速度は培養液 NaCl 濃度の増加とともに急激に増加し、吸収実験を明所で行った場合と蒸散速度の著しく低下する暗所で行った場合に差はなかった。高濃度の NaCl を与えた場合のイネ地上部への Na^+ の移行は蒸散によるマスフローではなく、主に拡散によっていることが示された。一方、コムギの場合、暗所では明所に比べて Na^+ の移行速度が大きく低下し、 Na^+ の移行に蒸散流の寄与が大きいことが示された。このことから、耐塩性の程度の異なっていたイネとコムギでは根導管への Na^+ の負荷経路が異なっている可能性が示された。

第2章では、高濃度の NaCl を与えた場合のイネ根導管への Na^+ の侵入に対するアポプラスト経路の関わりについて検討した。膜による制御を受けるシンプラスト経路にくらべ、アポプラスト経路では透過する溶質に対する選択性は低い。膜を透過しない蛍光色素ピレントリスルホン酸 (PTS) の地上部への移行量をアポプラスト輸送量の指標として用いた。100 mM の NaCl を与えた場合には PTS の地上部への輸送量が増加することが示された。100 mM NaCl とともに PTS を与えたイネでは PTS の地上部への移行量と Na^+ の移行量の間には正の相関があり、 Na^+ の地上部への移行にアポプラスト経路の寄与が大きいことが示された。この時の PTS 吸収部位を明らかにするため、膜を透過せずセルロースを蛍光染色するフルオス테인 I を根に与え、24時間後、根の切片を作成して蛍光顕微鏡観察した。フルオス테인 I のみを与えた場合には外皮のみが染色されていたのに対し、100 mM NaCl とともに与えた場合には皮層や中心柱も染色された。根端部の縦断切片を観察したところ、根端分裂組織に特に強い蛍光が見られた。これらの結果から100 mM の NaCl を与えた場合には根端部においてアポプラスト経路が拡大し、アポプラスト輸送量が増加することが示された。また、 Na^+ 自身もこの経路でイネ根導管中に侵入するようになることが示唆された。

第3章では、根圏の pH, カルシウム濃度, ポリエチレングリコール (PEG) という外部因子によって Na^+ の吸収を抑

制することを試みている。培養液のカルシウム濃度を5 mM から0.05 mM に低下させた場合や培養液の pH を 6 から 4 に低下させた場合には100 mM の NaCl を含む培養液からイネ地上部への Na⁺ 移行量が増加した。細胞壁のペクチン質多糖はウロン酸残基カルボキシル基部位でカルシウムイオンによって架橋されているが、低 pH 条件や高 Na⁺ 条件では解離状態の変化や競合のために架橋されにくくなる。地上部への Na⁺ 移行量が培養液の pH や Ca²⁺ 濃度に影響されたという結果は、第 2 章で示された100 mM の NaCl によって根端部のアポプラスト経路が拡大するという結果と合わせ、根端細胞壁のペクチン質多糖—カルシウムゲルの性質が過剰の Na⁺ によってまず影響を受けることを示唆している。0.5% (w/v) PEG 500,000 を共存させると、イネ地上部への Na⁺ の移行を抑制する効果があった。この効果は土耕栽培においても再現され、50 mmol/kg soil の NaCl のみを与えたイネが枯死したのに対し、PEG を共存させた場合には、生育は低下したものの、出穂に至り、PEG によってイネの塩害を軽減させることができることを示した。

第 4 章では、イネ科の塩生植物が根圏の高浸透圧による体内の水ストレスに適応する機構について、中国東北部や内モンゴルのアルカリ化土壤に自生するヒツジグサ (*Anneulorepidium chinense*) を材料に検討している。ヒツジグサでは双子葉塩生植物で見られるような塩による生育の促進は見られず、塩を与えない場合に最もよく生育したが、500 mM の NaCl を与えた場合にも生長を続けた。0 ~ 200 mM の NaCl を与えて栽培したヒツジグサ活動中心葉の葉身搾汁液の浸透圧は培養液 NaCl 濃度の増加に伴って増加し、根圏との浸透圧勾配が維持されていた。搾汁液のカリウムイオンは培養液 NaCl 濃度にかかわらず約300 mM と一定であり、葉身の浸透圧は主に K⁺ によって構成されていた。浸透圧の増加は Na⁺、NO₃⁻、グリシンベタインの濃度増加によっていた。また、葉身の含水比の低下が葉身搾汁液の浸透圧の増加に大きく寄与していた。これは浸透圧を増加させるために正味の溶質量を増加させる必要が無く、エネルギー的に安価な手段である。ヒツジグサは、葉身の含水比の低下、高い K⁺ 濃度の維持、グリシンベタインの蓄積、Na⁺ の適度な蓄積によって根圏の高濃度の塩による水ストレスを回避していることが示された。

第 5 章では、今後の研究の方向について、根端部分の細胞壁ペクチンゲルと Na⁺ の相互作用についての検討をすすめることがイネの耐塩性を強化するために必要であると述べている。

論文審査の結果の要旨

塩害は農業の生産性を低下させる主要な原因の一つであり、持続的な農業活動のために解決されなければならない。主要作物の一つであるイネは塩害に感受性が高い。塩害は根圏の高浸透圧による水ストレスと体内に高濃度に蓄積した塩によるイオンストレスによって生じるが、イネの場合にはイオンストレスの影響が大きい。イネの塩害は地上部に高濃度の Na⁺ が蓄積することによって生じるので、イネの耐塩性を強化するためには、塩害環境下で Na⁺ が根導管中に侵入するメカニズムを明らかにし、地上部への Na⁺ の移行を抑制する必要がある。

本論文はイネの塩害を回避・軽減する手法を考案することを目的として、塩害環境下での根圏からイネ地上部への Na⁺ の移行の様式と経路について検討したものであり、評価される点は次のとおりである。

1. イネ地上部への Na⁺ の移行速度は、培養液の NaCl 濃度にしたがって急激に増加すること、明所でも暗所でも差が無いことを示し、イネ根導管への Na⁺ の移行はマスフローではなくて主に拡散によっており、イネは Na⁺ の輸送を制御する能力が乏しいことを示した。
2. 塩害環境下でのイネ根導管への Na⁺ の移行において、通過する溶質に対する選択性の低いアポプラスト経路の寄与が大きいことを示した。また、高濃度の Na⁺ そのものが根端部におけるアポプラスト経路の拡大をひきおこし、この経路を通して導管中に運ばれる Na⁺ の量を増大させることを明らかにした。
3. イネ根における塩害の初発効果は、多量に存在する Na⁺ がペクチン質多糖のカルシウムによる架橋部位において Ca²⁺ と競合し、ペクチン質多糖ゲルの性質を変化させることであるという新規なモデルを示し、ペクチンゲルの架橋を維持することでイネ地上部への Na⁺ の過剰な蓄積を抑制できる可能性を示唆した。
4. 地上部への Na⁺ の移行を抑制する効果のあった PEG 500,000 を施用することによって実際にイネの塩害を軽減することができることを示した。
5. より高濃度の塩が存在しても生育できるイネ科の耐塩性植物ヒツジグサが体内の水ストレスを回避する機構を明らか

にした。

以上のように、本論文は、塩害環境下での Na^+ のイネ根導管中への侵入に対するアポプラスト経路の重要性、外部因子によって Na^+ の侵入を抑制することでイネの塩害を軽減することが可能なことを明らかにしており、植物栄養学、植物生理学に寄与するところが大きい。さらに本論文の成果は耐塩性イネ作出のための基礎的知見としても重要である。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成17年6月17日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。