

氏名（本籍）	米澤 朋起	（ 岐阜県 ）
学位の種類	博 士	（ 農学 ）
学位記番号	博 乙 第 2716 号	
学位授与年月日	平成 26 年 11 月 30 日	
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当	
審査研究科	生命環境科学研究科	
学位論文題目	5-アミノレブリン酸による作物の成育促進効果へのヘムタンパクと窒素代謝の関与	
主査	筑波大学教授	農学 博士 松本 宏
副査	筑波大学教授	博士（理学） 田中 俊之
副査	筑波大学講師	博士（農学） 春原 由香里
副査	筑波大学教授	農学 博士 林 久喜

論 文 の 要 旨

5-アミノレブリン酸（ALA）はクロロフィル（Chl）やヘムに代表されるテトラピロール化合物に共通の前駆体で植物ではグルタミン酸から合成される。ALA は植物に外部から処理した場合に、高濃度で枯殺作用、低濃度では成育促進作用を示すことが知られ、特に成長促進剤としての利用が期待されている。本研究では低濃度の ALA による植物の成育促進作用のメカニズムについて検討を行った。

まずトウモロコシ（ハニーバンタム）、ハツカダイコン（赤丸廿日）、キュウリ（ときわかぜみどり）、コムギ（農林 61 号）の成育への ALA の影響を調べたところ、トウモロコシにおいて ALA 溶液に茎葉を短時間浸漬する処理を行った場合に、30～150 μM の範囲で濃度依存的な成育増加が認められた。一方で、他の植物種や処理法では明確な成育促進効果は認められなかった。そこで、トウモロコシにおいて成育促進が認められる条件下でそのメカニズムを解析することとした。

ALA による成育促進には Chl 含量と光合成活性の増加が関与しているとの報告があることから、トウモロコシの Chl 含量を測定した。その結果、植物体の単位重量当たりの Chl 含量への ALA の影響は認められなかったため、ALA による成育促進効果には Chl の関与は小さいものと考えられた。次に ALA の窒素代謝への影響を調査した。まず硝酸還元酵素（NR）と亜硝酸還元酵素（NiR）の活性を測定したところ、ALA が 90 μM までの範囲で濃度依存的な NR 活性の増加と 90～150 μM での濃度依存的な減少が認められた。一方、NiR では 150 μM まで ALA による影響は認められなかった。このことから 90 μM までの ALA では NR 活性増加による窒素代謝能の増加が起きている可能性を考え NH₄⁺の定量を行った。その結果、NR 活性と同様、90 μM まででは ALA 濃度依存的な NH₄⁺含量の増加、90～150 μM では濃度依存的な減少が認められた。よって ALA による成育促進効果には、90 μM までの範囲では窒素代謝能の促進が関与していると考えられた。

ヘムはテトラピロール合成系の最終産物の 1 つであり、様々なタンパクの発現や活性を調節している。NR はヘムを含むタンパクであることから NR もヘムによる活性調節を受ける可能性があると考え、ALA のヘム含

量への影響を調べた。その結果、90 μM までの範囲では濃度依存的なヘム含量の増加が認められ、これは生物試験や NR 活性、 NH_4^+ 含量の結果と同様であった。よってこの濃度域ではヘムにより NR 活性が増加し、これが窒素代謝能の促進につながり成育促進効果が現れるものと考えられた。一方で 90~150 μM の範囲では濃度依存的なヘム含量の変化は認められなかったが、150 μM 区でも高いレベルのヘム含量が維持されている可能性が示唆された。窒素代謝において律速段階を担う NR は様々な調節を受けており活性が一時的に増減する可能性もあるため、90~150 μM の範囲では処理後短時間でヘムによる窒素代謝能への影響が現れるものと考えられた。

窒素代謝により生じた NH_4^+ は GS-GOGAT サイクルを経てアミノ酸へと同化されるため、窒素代謝能の変化の指標として遊離アミノ酸の定量を行った。NR 活性や NH_4^+ 含量等は処理 2 日後に測定しており、処理 2 日前後の 90~150 μM ALA による窒素代謝能への影響を調査するため、処理 1 日と 3 日後に測定した。その結果、処理 1 日と 3 日後で共に 150 μM までの範囲で ALA 濃度依存的な遊離アミノ酸含量の増加が認められた。これは生物試験の結果と同様であったことから、90 μM までだけでなく 90~150 μM の範囲でも ALA による成育促進効果には窒素代謝能の増強が関与していると考えられた。さらに処理 1 日後でアミノ酸含量の増加が認められたことから、処理後短時間に 90~150 μM の範囲においても窒素代謝能の増強が起こっているものと考えられた。

審 査 の 要 旨

化学物質を利用した植物の成育促進は、特に作物の生産性の増大に貢献できる重要な技術であるが、植物ホルモンを除きその作用機序はほとんど知られていない。これは、効果的な物質が少ないことや、成育促進の場合は抑制に比べて解析しにくいことなどの理由による。その中で ALA は、特にストレス環境下での作物の成育に正の効果があると期待され、これを加えた肥料が実用化されている。しかし、ALA についても成育促進効果の発現機序についての十分な検討が行われていなかった。

本研究では長期間をかけた丁寧な生物試験を行い、作物の成育への ALA の影響を処理方法や処理時間を変えて検討し、ALA の効果の発現しやすい種（トウモロコシ）と処理方法を見出している点がまず評価される。また、その条件下でこれまで報告のあった生理的効果を検証すると共に、ALA の影響が大きく、また、生物試験結果と一致する変化を示す窒素代謝に注目して窒素同化に係る酵素活性を調べ、ALA の低濃度処理で硝酸還元酵素の活性増加が起こることを示している。これは実際の促進効果がみられる条件下における発見であり、成育促進に直接貢献している可能性が高い。また、本研究では ALA が合成前駆体であり硝酸還元酵素の補因子であるヘムに注目して、その含量への影響を生育促進効果と関連づけて調べている。これまでに ALA によるヘムタンパクの活性増加は報告されたことがあり、この増加はヘム含量の増加によるものと推定されてきたが、実際に成育促進が起こる条件下でヘム含量を測定し、ALA によってヘム含量とヘムタンパクの活性の双方が増加していることを示したのは本研究が初めてであり、高く評価される。また、本研究で得られた成果は ALA の実際の利用を支える重要な知見となる。

平成 26 年 1 月 23 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。