

氏名(本籍)	中 畝 誠 (埼玉県)
学位の種類	博士(農学)
学位記番号	博甲第5954号
学位授与年月日	平成23年12月31日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	生命環境科学研究科
学位論文題目	<b>Studies on Enhancement of Seed Germination by Short-term Priming with Low Salinity and its Physiological Mechanisms in Tomato</b> (低濃度短時間塩処理プライミングによるトマト種子発芽の促進とその生理機構の解明)
主査	筑波大学教授 博士(農学) 江面 浩
副査	筑波大学教授 農学博士 弦間 洋
副査	筑波大学教授 理学博士 藤村 達人
副査	筑波大学准教授 博士(農学) 松倉 千昭

### 論文の内容の要旨

育苗は農作物栽培の重要要素の一つであり、苗の良し悪しによって作柄が大きく左右されることから「苗半作」といわれる。特に、栽培の最初のステップである種子発芽については、発芽不良や遅延が生じた場合、その後の生育や栽培管理に大きな影響を与えることから、作物の安定生産のためには極めて重要な過程である。そのため、従来から種子発芽を揃える目的で各種の農作物で種子プライミング(予措)が行われており、これまでに様々な処理法が開発されている。しかし、その多くは煩雑で処理剤等のコストがかかるため、農業現場への普及を妨げる要因となっている。そこで、本研究では簡便・低コストで実施可能な新手法を開発すると共に、その分子生理的な生起機構を解明することを目的とした。具体的には、トマトをモデル作物として、塩化ナトリウム(NaCl)を用いた種子プライミング(NaCl-プライミング)の簡易処理技術を開発し、あわせてその発芽促進効果の分子生理機構解明を行った。

まず、NaCl処理を従来法より低濃度、短時間処理で実施し得る条件を再検討し、その効果を検証した。その結果、対照区(蒸留水プライミング)と比較してNaClを300mM、24時間浸漬処理することにより、発芽率、発芽勢および播種後3週間目の苗生長(草丈・茎径・根長)が最も効果的に促進されることが明らかとなった。また、不良環境下における発芽能力を評価するため、プライミング処理後、灌水量を通常の1/4量とした水ストレス区およびNaClストレス区において発芽試験を行った。その結果、対照区(蒸留水)と比較してNaCl-プライミング処理区では種子発芽が有意に促進されたことから、NaCl-プライミング処理が発芽不適環境に対する耐性を付与することが明らかになった。さらに、青枯病細菌(*Ralstonia solanacearum*)の接種試験においても、NaCl-プライミング処理種子は生存率が高く、また感染速度も遅いことが明らかになり、当該病原菌に対して耐性を獲得することが示された。一方、トマトのDNAマイクロアレイ解析から、NaCl-プライミング処理種子では、TIR様タンパク質やARF等のオーキシン応答因子、endo-1,4-beta-glucanaseやxyloglucan endotransglycosylase/hydrolaseなどの細胞伸長関係、14-3-3タンパク質、ascorbate peroxidaseなどのストレス応答関連、およびPRタンパク質やWRKYタンパク質等をコードする遺

伝子群の発現に増加がみられ、遺伝子発現のレベルから、生育促進、不良環境下における発芽の向上及び耐病性の獲得が遺伝子発現レベルで生起していることを明らかにした。

低濃度短時間塩化ナトリウム処理プライミングによる発芽促進の生理機構をより詳細に解明するため、種子発芽への大きな影響があるとされているアブシジン酸 (ABA) および、ジベレリン (GA) 含量の測定とその生合成遺伝子及び種子発芽関連遺伝子の発現解析を行った。プライミング中と播種後において NaCl-プライミング処理区と対照区では種子の内生 ABA 含量に有意な差はみられなかった。一方、GA 含量については、播種後、NaCl-プライミング処理区において活性型 GA が増加し、また、*GA 20-oxidase 1* 及び *GA 3-oxidase 1* などの GA 生合成酵素遺伝子の発現が有意に増加していることが明らかとなった。また、GA 蓄積プロファイルを詳細に調べたところ、トマト種子においては  $GA_1$  よりも  $GA_4$  が量的に多く、発芽前から種子中に存在すること、NaCl-プライミング処理により  $GA_4$  が顕著に増加することが初めて示された。さらに NaCl-プライミング処理区では種子の幼根を覆う部分の細胞壁の分解に関与するタンパク質遺伝子群 (*SIEXP4*, *SIMAN2* 及び *SIXTH4*) の発現が  $GA_4$  含量の増加と一致して有意な増加を示すことが確認された。本研究により、トマトにおいて NaCl-プライミング処理により生起する発芽促進には  $GA_4$  が主要な役割を果たしていることが明らかとなった。

以上の結果から、NaCl 処理を従来法より低濃度、短時間で実施することによりトマト種子において十分なプライミング効果が得られること、また、NaCl 処理により  $GA_4$  の生合成系の活性化、続いて細胞壁分解系の活性化が起こり、その結果として種子発芽が促進されるものと考えられた。

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

本学位論文では、塩化ナトリウムを用いて、既存の種子プライミング法よりも低濃度短時間で出芽、発芽、生育促進及びストレス耐性の獲得が図れる方法を開発した。この方法は、特別な試薬や装置を必要とするものではなく、さらにコスト的にも大変安価であることから、生産者も容易に行うことができる非常に実用的な種子プライミング法であり、実用研究として高く評価できる。また、トマト種子プライミングによる発芽促進の分子生理機構を解析した報告は今までになされておらず、ジベレリン量の変動及びその生合成遺伝子の発現、発芽に関与する細胞壁分解酵素遺伝子の発現などを明らかにした本研究は、プライミング処理による発芽促進のみならず、種子発芽の分子生理機構の解明にも寄与するものであり学術研究としてもインパクトのある優れた研究である。

平成 23 年 11 月 8 日に開催された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）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。