

氏名(国籍)	ジャルニー ジュンクラング (タイ)		
学位の種類	博士(農学)		
学位記番号	博甲第 3362 号		
学位授与年月日	平成 16 年 3 月 25 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	農学研究科		
学位論文題目	Physiological and Biochemical Mechanisms of Salt Tolerance in <i>Sesbania rostrata</i> Brem. & Oberm. (<i>Sesbania rostrata</i> Brem. & Oberm. における耐塩性の生理・生化学的機構)		
主査	筑波大学教授	農学博士	松本 宏
副査	筑波大学教授	農学博士	白井 健二
副査	筑波大学助教授	農学博士	小林 勝一郎
副査	筑波大学教授	農学博士	横尾 政雄

論文の内容の要旨

Sesbania rostrata Brem. & Oberm. はマメ科の一年生草本であるが、耐塩性が比較的強いことから、タイ国東北部の土壤中の塩類濃度が高い地帯において主に緑肥としての効果を期待され、イネの作付け前に栽培、すき込まれて利用されている。*S. rostrata* の耐塩性機構に関する知見は、今後におけるこの植物の耐塩性機能の向上および新規の耐塩性種の育種や塩類集積土壌改良への利用などに極めて有用なものになる。本研究は *S. rostrata* の生理・生化学的な耐塩性機構について解明を試みたものである。

S. rostrata の耐塩性の程度を明らかにするために、幼植物段階における NaCl の影響について、感受性が高いと推定されたインゲンマメと比較する生物試験を人工気象室内で行った。その結果、*S. rostrata* は 0.9 ~ 1.2% (150 ~ 200mM) の NaCl を含む水耕液で栽培した場合でも生存できたが、インゲンマメは 0.3% で枯死した。また、*S. rostrata* では高濃度の NaCl 処理下でもクロロフィルの減少が少なく、光合成電子伝達における量子収率 (Fv/Fm) の低下も見られなかった。これらの結果から、*S. rostrata* は同じマメ科植物であるインゲンマメに比べて大きな耐塩性を有することが明らかとなった。

この耐性機構を明らかにするために、まず、Na⁺、Cl⁻ の吸収と分布および他の無機イオンのそれらについて検討した。*S. rostrata*、インゲンマメ共に、NaCl の処理濃度の増加に伴い Na⁺、Cl⁻ の吸収量が増加したが、*S. rostrata* はこれらを茎葉部に移行させる割合が顕著に大きく、茎葉部に高濃度を形成した。茎葉部における蓄積を葉位別に調べた結果、特に Na⁺ は下位葉に蓄積する傾向がみられた。これらのことから *S. rostrata* の茎葉部には高濃度の Na⁺、Cl⁻ に耐えるメカニズムが備わっているものと推定された。一方、インゲンマメでは根に残存する割合が大きかった。また、両植物とも Na⁺ 濃度の増加に伴って K⁺ の減少が起こり K⁺/Na⁺ 値が減少したが、*S. rostrata* では K⁺/Na⁺ 値への影響はより小さかった。NaCl 処理による他の無機元素イオン含量への影響は両植物とも小さかった。

NaCl の処理によって両植物の茎葉部および根部に、可溶性アミノ酸と適合溶質として知られるプロリンの増加が確認された。インゲンマメでは感受性が高いためプロリンが浸透圧の維持を通して Na⁺ や Cl⁻ による害作用の防御に働いているとは考えにくいだが、抵抗性の強い *S. rostrata* では他の抵抗性要因と共に防御に

有効に働く可能性が考えられた。

植物に対する環境ストレスの生理作用の多くは活性酸素の発生増加を通してもたらされることが知られつつあり、塩類の処理でも種々の活性酸素分子種の発生が増加することが報告されている。活性酸素による酸化傷害は致命的であることから、植物細胞は種々の代謝系で生成する活性酸素を消去するための抗酸化系を備えており、また、ストレスによって抗酸化活性の増強が誘導されることも知られている。活性酸素抵抗性は塩類に対する抵抗性の要因となる可能性があるため、本研究では植物細胞内で重要な役割を果たしていると考えられる抗酸化酵素のスーパーオキシドジスムターゼ(SOD)、アスコルビン酸ペルオキシダーゼ(APX)、カタラーゼ(CAT)およびグルタチオンレダクターゼ(GR)について、両植物の茎葉部の上位葉および下位葉における活性と、NaClの処理による活性誘導を追跡した。*S.rostrata*が保有するこれらの酵素活性は、上位、下位葉中ともインゲンマメにおけるそれらより顕著に大きかった。NaClの処理を行うと上位、下位葉中とも*S.rostrata*においてSODおよびCATのより大きな活性誘導が起こった。それぞれの種ではより若い上位葉の活性がより大きかった。

*S.rostrata*におけるこれらの高い抗酸化酵素活性が活性酸素の消去に実際に有効に働くかどうかを調べるため、活性酸素の一種であるスーパーオキシド(O_2^-)を発生させる除草剤パラコートに対する抵抗性を調べた。NaCl処理を行った*S.rostrata*から葉片を作成し、パラコート溶液に浮かべて光を照射すると、NaCl処理しない場合に比較して活性酸素によるクロロフィルの分解が抑制されることが明らかとなった。このことは*S.rostrata*における高い抗酸化酵素活性が活性酸素の消去に実際に機能している可能性を強く示唆するものであった。

以上の結果より、*S.rostrata*は土壌中におけるNaCl濃度が高い場合に、吸収した Na^+ 、 Cl^- を積極的に茎葉部に移行させ、茎葉部でそれらに起因して増加する活性酸素に対して高い抗酸化酵素活性で消去することにより、細胞を酸化ストレスから防御していると結論された。また、適合溶質の蓄積があることから、細胞質において高い浸透圧が形成されていることが推察されたが、 Na^+ 、 Cl^- の細胞内局在性との関係についてはさらに検討を要すると考えられた。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、耐塩性が比較的に強いこと、タイ国東北部の塩類土壌地帯においてその緑肥としての効果を期待され、イネの作付前に栽培されるマメ科の一年生草本*Sesbania rostrata* Brem. & Oberm.の耐塩性機構の解明を試みたものである。本研究ではまず、*S.rostrata*がインゲンマメに比べて大きな耐塩性を有することを詳細な生物試験によって明らかにした。次に、この耐性機構を検討するために、 Na^+ 、 Cl^- および他の無機イオンの吸収と分布について検討した。*S.rostrata*、インゲンマメ共に、NaCl処理濃度の増加に伴い Na^+ 、 Cl^- の吸収量が増加したが、*S.rostrata*はこれらを茎葉部に移行させる割合が顕著に大きく、茎葉部により高濃度を形成することを見出した。また、*S.rostrata*の抗酸化酵素活性は、上位、下位葉中ともインゲンマメにおけるそれらより顕著に大きく、かつ、NaClの処理により大きな活性誘導が起こることを示した。また、この高い抗酸化酵素活性が活性酸素の消去に実際に機能していることを示す結果も得た。これらのことから、*S.rostrata*は、土壌中におけるNaCl濃度が高い場合に、吸収した Na^+ 、 Cl^- を積極的に茎葉部に移行させ、茎葉部ではそれらに起因して増加する活性酸素を高い抗酸化酵素活性で消去することで細胞を酸化ストレスから防御していると結論した。

これらの耐塩性機構に関する知見は、今後におけるこの植物の耐塩性機能の向上、塩類集積土壌改良への利用、および新規の耐塩性種の育種などにつながる極めて有用なものであると評価される。 Na^+ 、 Cl^- の細胞内局在性と耐性の関係について完全に解明されるまでには至っていないが、得られた*S.rostrata*に関する知

見はすべて新規のものであり、その成果は大きいものと判断される。また、一連の研究を通して実験は適切に行われており、結果も適切に考察、記載されている。

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。