

[別紙2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名

西村 直記

塩類土壤は地表面の7%、耕作地の5%を占めている。一方で、人口の急激な増加とそれに伴う食糧危機は21世紀の最大の課題である。これらの解決のために塩類土壤に適応した耐塩性作物の選抜、作出が求められており、植物の塩ストレス耐性機構を知る必要がある。この手がかりの1つは適合溶質と呼ばれる低分子の有機化合物と無機イオンによる細胞内の浸透圧調節にある。本研究では、浸透圧調節物質のうち広く存在するグリシンベタイン(GB)をはじめ、ベタイン関連化合物やアミノ酸に注目した。これらをキャピラリー電気泳動により簡便に高分離分析する方法を開発し、その方法を用いて多くの植物種における適合溶質の分布を明らかにし、その誘導と耐塩性の関係を解明することをめざした。さらに、有用作物の中で合成酵素欠損のためにGBを合成できないダイズにGBを投与することにより効率的に耐塩性を付与する実用的な方法について検討した。

ベタイン類を感度よく分析するために、GB、 β -アラニンベタイン(AB)、プロリンベタイン(PB)、2-ヒドロキシプロリンベタインを誘導体化して同時分析する方法を検討した。ベタイン類は、*p*-ブロモフェナシルブロミド(PBB)を用いてエステル化した。泳動液はpH 3.0に調整した100 mM リン酸ナトリウム溶液を用いたが、ABエステルとPBエステルが分離できなかったため、添加剤としてポリエチレングリコール4000を4%加えることにより、両者の分離が可能となった。

次に、ベタイン類とアミノ酸の同時定量をする直接分析法を検討した。ベタイン類およびアミノ酸は短波長における直接検出を行った。ベタイン類として上記の他にトリゴネリンおよび関連化合物としてジメチルスルホニオプロピオン酸塩(DMSP)を用い、アミノ酸20種にヒドロキシプロリンを加えて標準試料とした。泳動液pHをpH 2.0から2.5の間で検討した結果、pH 2.25においてベタイン類と多くのアミノ酸の分離が良好であった。本法によりきわめて簡便にベタイン類および遊離アミノ酸の同時分析が可能となった。

植物からのベタイン類およびアミノ酸の抽出効率および乾燥処理について検討したところ、GBの分析では乾燥法を問わず、水で抽出可能であることが分かった。

ベタイン類およびアミノ酸の同時定量においては新鮮試料の代用として凍結乾燥試料が使用でき、水抽出も可能であることが示された。

本法を用いた中国河北省の塩類土壤地帯で採取した植物試料の GB 分析の結果、約半数の試料から GB が検出された。ナトリウムを蓄積する植物の多くから GB が検出されたことから GB は主要な浸透圧調節因子であること、これに対してナトリウムを蓄積しない植物の多くからは GB が検出されず、これらは塩を排除することにより塩ストレスに対抗しているものと考えられた。

塩ストレスによるベタイン類および遊離アミノ酸などの誘導を調べるため植物を塩ストレス下で栽培し分析を行った。この結果、塩ストレスにより GB が特異的に誘導する植物種、GB または PB と遊離アミノ酸が増加する植物種、遊離アミノ酸が増加する植物種が見られ、これらの誘導パターンと耐塩性の関係が示された。

品種間における溶質の誘導の差異と耐塩性の関係を調べるため、幼植物時または発芽時の耐塩性がわかっているオオムギ 36 品種について乾燥ストレスをかけた条件とかけない条件で栽培しその幼植物の GB および Pro 濃度を調べた。この結果、GB はオオムギにおける幼植物時の耐塩性に関係している可能性が示された。

GB 投与と耐塩性の関係を調べるため、GB 合成能のないインゲンおよびダイズに対して塩ストレス下で GB 投与を行った。GB 投与法を検討し、GB を根から効果的に吸収させるため徐放性 GB 顆粒を作成し、土壤中に埋めて使用した。この結果、徐放性 GB 顆粒の塩ストレス緩和への有効性が示された。そこで、中国河北省の塩類土壤地帯で圃場実験を行い、GB が植物に吸収され、クロロフィルを増加させることを確認した。実際の塩類土壤における GB 投与の有効性を検討することは今後の課題である。

以上、本論文は、植物体中の浸透圧調節物質のキャピラリー電気泳動用いた簡便な高分離同時定量法を初めて開発し、植物種によりベタイン類、遊離アミノ酸、塩の蓄積にいくつかのパターンがあることを発見している。この分析法は、塩類土壤地帯における植物分析に耐えうるものであり、耐性種や耐性品種の選抜に有効利用できるものと考えられる。さらに、GB 投与という独創的なアプローチによる植物の耐塩性増強への有効性を示しており、学術上、応用上貢献するところが少くない。よって審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものであると認めた。