

[ 別紙 2 ]

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 西山 宏樹

---

世界の平地の4割を占める酸性土壌では、土壌から溶出するアルミニウム(Al)が作物の根の生育を阻害し、作物生産上の最も大きな問題となっている。これまでの研究から、Al耐性種の多くは根から有機酸を放出し根へのAl蓄積を防ぐことによりAl耐性能を得ていることが明らかになっている。しかし、イネは有機酸を分泌するコムギなどよりも非常に強いAl耐性を示すにも関わらず有機酸分泌によるAl耐性能は有しておらず、イネのAl耐性機構は未解明である。本研究は、イネのAl耐性機構の解明を目的に、生理学的手法を用いて解析を行ったものである。

研究の背景と意義について述べた序章に続き、第1章ではイネ、コムギそれぞれのAl耐性種、Al感受性種に対してAl処理を行い、根へのAl蓄積量が少ないものほどAl耐性が強いことを示した。特に、イネのAl耐性種である日本晴と感受性種のIR72の間では、Al処理後6時間以内で最も顕著に根の伸長率の違いが見られ、Al蓄積量もAl処理6時間以内で最も顕著に差が見られることを示した。この結果を踏まえて、第2章、第3章ではイネのAl処理初期に根にAlが蓄積しにくいことに着目してAl耐性機構の探索を行った。

第2章では、蛍光レシオ計測法を適用しイネの根アポプラストpHの変化を測定した過程と結果を述べた。まず、イネの根の表層第一層のアポプラスト部位のみを染色する手法を確立した。その際、根撮影画像からアポプラスト部位のみを抽出するには感度、コントラスト共に不足していた。この問題はCCDカメラの感度とコントラストを共に上げることでより解決されたが、2波長励起での各測光の強度の差が拡大されすぎてしまい、同一露光時間での測光が不可能になった。そこで、CCDカメラの露光時間と測光強度に線形性があることを利用し、露光時間を補正して2波長励起測光のレシオ値を取得することが可能なことを示した。pHを固定した蛍光試薬に対して露光時間を変化させてレシオ測定を行った結果、レシオ値に影響が無いことが確認された。以上の検討から、蛍光顕微鏡においてカメラの感度、コントラストを高くしても蛍光レシオ計測が可能な系が確立された。本手法を用いて日本晴とIR72のAl応答時の根アポプラストpHの挙動を計測した結果、日本晴ではAlに応答してpHがわずかに上昇することを示唆する挙動が観測された。酸性条件下ではpHの上昇によりAlイオン濃度が減少することから、日本晴はアポプラストpHを上昇させることで根へのAl蓄積を軽減し、Al耐性を得ている可能性が示唆された。

第3章では、イネがAl処理初期において根へのAl蓄積を防ぐ機構として、根の細胞壁がそもそもAlを根に蓄積させにくい組織的特徴を有しているという仮説を立て、その検証

を目的に実験を行った。イネ、コムギの根から細胞壁成分を抽出し AI 処理したところ、AI 耐性の強い作物種ほど細胞壁成分への AI の蓄積が少ないことが確認された。次にイネ、コムギの細胞壁をペクチン、ヘミセルロース、セルロースの 3 つに分画し、ペクチン含有率を算出したところ、各作物種のペクチン含有率と AI 耐性能との間に相関がないことが示された。そこで、ペクチンの量に差はなくとも、ペクチンの負電化の要因である、カルボキシル基がエステル化されていないフリーのガラクトuron酸に差があると考えた。ペクチンの負電化を担うガラクトuron酸の試薬を AI 処理したところ、カルボキシル基がエステル化されていないフリーのガラクトuron酸量と、ペクチンへの AI 蓄積量が正比例することが確認された。そこでイネ、コムギの細胞壁成分からペクチンを抽出し単糖成分に分解後、カルボキシル基がメチル化されていないフリーのガラクトuron酸量を GC-FID により測定した。カルボキシル基がメチル化されているガラクトuron酸量は、細胞壁成分を 30 分のけん化処理後遊離したメタノール量を GC-FID により測定した。その結果、AI 耐性能の高い作物種ほど、カルボキシル基がメチル化されていないフリーのガラクトuron酸量が少ないことが確認された。イネは細胞壁ペクチン中のフリーのガラクトuron酸が少ないことで、根への AI 蓄積量が軽減され、AI 耐性能を有している可能性が示唆された。総合考察では、総括と展望が述べられている。

以上、本研究は、イネの AI 耐性機構について生理学的手法を用いて解析を行い、AI 耐性の強いイネは AI に応答して根アポプラスト部位の pH をわずかに上昇させる傾向があること、さらに細胞壁の負電荷を担うペクチンのうちカルボキシル基のメチル化されていないガラクトuron酸量が少ないことを明らかにしたものであり、学術上、応用上貢献するところが少なくない。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と認めた。