



# 岐阜大学機関リポジトリ

## Gifu University Institutional Repository

Title	Studies on Responses of Pollen Tubes to Ion Stresses( 内容の要旨 )
Author(s)	練, 春蘭
Report No.(Doctoral Degree)	博士(農学) 甲第159号
Issue Date	1999-03-15
Type	博士論文
Version	
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12099/2500">http://hdl.handle.net/20.500.12099/2500</a>

この資料の著作権は、各資料の著者・学協会・出版社等に帰属します。

氏 名 (国籍)	練 春 蘭 (中華人民共和国)
学 位 の 種 類	博士 (農学)
学 位 記 番 号	農博甲第 1 5 9 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 1 1 年 3 月 1 5 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研 究 科 及 び 専 攻	連合農学研究科 生物資源科学専攻
研究指導を受けた大学	静岡大学
学 位 論 文 題 目	Studies on Responses of Pollen Tubes to Ion Stresses
審 査 委 員	主査 静岡大学 教授 横 田 博 実 副査 岐阜大学 教授 原 徹 夫 副査 信州大学 教授 柴 田 久 夫 副査 静岡大学 助教授 早 津 雅 仁

### 論 文 の 内 容 の 要 旨

ストレス土壌が世界的に増加していること、また世界の人口増加に対応した食糧生産の向上が必要なことから、ストレス環境下での作物生産の維持・向上をはかることが求められている。そのためには、施肥や栽培方法など技術的な対策と並んで、ストレス耐性作物の育成も有効な手段である。本研究では、ストレス耐性作物の育成に資することを目的として、植物栄養学的な見地からイオンストレスに対する植物の応答反応の解析を行った。すなわち、植物が土壌からのストレスを受けて最も早く反応する部位が根であることから、根と類似点が多く、生長の速い花粉管をモデルとして用い、花粉管の生長評価法を検討するとともに、種々イオンストレスに対する花粉管の応答を調べ、ストレスに対する応答機構の解析を試みた。得られた結果は以下のように要約できる。

#### 1. Callose 生成量を指標にした花粉管生長評価方法

花粉管長の測定に代えて花粉管生長を評価する方法として、花粉管に多く含まれる callose ( $\beta$ -1,3-glucan)量による評価方法の確立について検討した。チャ花粉管の callose 量は花粉管生長にともなって増加し、Ca、B、P、Zn、Fe及びAlの過剰及び欠乏条件下での花粉管長と callose 量の間に関連がみられた。この結果から、callose 量は花粉管生長の指標として用いることが可能であると判断した。この callose 量を基にした新たな花粉管生長評価法を用いて、以下の実験を行った。

#### 2. Zn過剰による花粉管生長阻害に対するPの影響

PとZnの相互作用に関しては、これまで主にZn欠乏に対する多量Pの施与の影響に関す

る研究が報告されている。しかし、作物のZn過剰害に対するP施与の影響に関してはほとんど検討されていない。そこで、本実験では、Zn過剰害に対するPの影響を花粉管の応答により検討した。液体培地に単独でPを与えると、花粉管の生長はほとんど影響されないが、Znを加えると生長は顕著に抑制された。培地にZnとともに一定の濃度範囲内でPを添加すると、Znによる花粉管生長阻害が明らかに軽減された。このZnによる花粉管生長阻害の軽減は花粉管のZn吸収がPによって抑制されたためと考えられた。

### 3. 酸性土壌における花粉管生長の抑制因子の検索

酸性土壌における植物の生育阻害の要因は、低pH、高濃度のAl及びMn、P、Ca及びMgの不足などが考えられる。そこでこの実験は、硬質酸性土壌、黒ボク酸性土壌及び硫酸酸性土壌の3種の酸性土壌を供試して、これらの土壌溶液に対する花粉管の応答により土壌溶液中の花管生長抑制因子を検索した。その結果、3種の酸性土壌溶液では、低pHとCa、Bの不足が共通した阻害要因であること、硬質酸性土壌ではAlの過剰が花粉管生長を阻害する要因であった。

### 4. 低pHとAl過剰に対する花粉管内Ca<sup>2+</sup>の応答

低pH及びAl過剰による生育阻害のメカニズムを明らかにするため、低pH及びAl過剰に対する花粉管内Ca<sup>2+</sup>の応答を蛍光プローブ (fura-2) を用いる方法により検討した。fura-2の花管への導入を種々条件下で検討した結果、マイクロインジェクションを用いなくても花粉管に導入できることが明らかとなった。花粉管の低pH処理を行うと、花粉管内Ca<sup>2+</sup>の濃度は増加した。またAl処理によって花粉管内Ca<sup>2+</sup>の濃度はやや減少した。これらの結果から、低pH及びAl過剰による生育阻害は細胞膜の透過性やCaチャンネルと関連していることが示唆された。

### 5. Al過剰によるチャの花管及び根の生育阻害と callose 合成の関係

一般に、Alによって callose 合成が誘導され、その結果根の伸長阻害がおこるとされている。しかし、酸性土壌を好むチャは、Al存在下で良好な生育を示し、特にその根の生長が促進される。そこで、チャの花管と根における callose の合成とAlの関係を検討した。適量濃度のAl処理（花管では2 μM、根では0.4 mM）を行うと、花管、根ともに生長が促進され、callose 含量はAl無処理に比べて減少した。しかし、過剰Al処理により callose 含量は明らかに増加した。これらの結果は、チャでは適量濃度のAl処理がストレス要因にはならないこと及びチャにおけるAlの有用性を示していると考えられる。

以上のように、本研究は callose 生成量を指標とした花粉管生長評価法を用いてイオンストレスに対する応答を検討した結果、Zn 過剰害の軽減、酸性土壌の生育阻害要因および低pH・Al ストレスに対する応答について新たな知見を加えるとともに、本評価法が優れた生物検定法であることを示した。これらの結果は、イオンストレスに対する植物の応答機構の解明及びストレス耐性植物の育成に貢献することが期待される。

## 審 査 結 果 の 要 旨

本論文は、植物栄養学的な見地からイオンストレスに対する植物の応答反応の解析を行ったものである。すなわち、植物が土壌からのストレスを受けて最も早く反応する部位が根であることから、根と類似点が多く、生長の速い花粉管をモデルとして用い、花粉管の生長評価法を検討するとともに、種々イオンストレスに対する花粉管の応答を調べ、ストレスに対する応答機構の解析を試みた。得られた結果は以下のように要約できる。

### 1. Callose 生成量を指標にした花粉管生長評価方法

花粉管長の測定に代えて花粉管生長を評価する方法として、callose ( $\beta$ -1,3-glucan)量による評価方法の確立について検討した。チャ花粉管の callose 量は花粉管生長にともなって増加し、Ca、B、P、Zn、Fe及びAlの過剰及び欠乏条件下での花粉管長と callose 量の間には有意な相関がみられた。この結果から、callose 量は花粉管生長の指標として用いることが可能であると判断し、以下の実験に適用した。

### 2. Zn過剰による花粉管生長阻害に対するPの影響

本実験では、Zn過剰害に対するPの影響を花粉管の応答により検討した。液体培地に単独でPを与えると、花粉管の生長はほとんど影響されないが、Znを加えると、生長は顕著に抑制された。培地にZnとともに一定の濃度範囲内でPを添加すると、Znによる花粉管生長阻害が明らかに軽減された。このZnによる花粉管生長阻害の軽減は花粉管のZn吸収がPによって抑制されたためと考えられた。

### 3. 酸性土壌における花粉管生長の抑制因子の検索

この実験では、硬質酸性土壌、黒ボク酸性土壌及び硫酸酸性土壌の3種の酸性土壌を供試して、これらの土壌溶液に対する花粉管の応答により土壌溶液中の花粉管生長抑制因子を検索した。その結果、3種の酸性土壌溶液では、低pHとCa、Bの不足が共通した阻害要因であること、硬質酸性土壌ではAlの過剰が花粉管生長を阻害する要因であった。

### 4. 低pHとAl過剰に対する花粉管内Ca<sup>2+</sup>の応答

低pH及びAl過剰に対する花粉管内Ca<sup>2+</sup>の応答を蛍光プローブ (fura-2) を用いる方法により検討した。fura-2 の花粉管への導入は、マイクロインジェクションを用いなくても可能なことが明らかとなった。また、花粉管の低pHまたはAl処理によって花粉管内Ca<sup>2+</sup>のレベルに変動がみられたことから、低pH及びAl過剰による生育阻害は細胞膜の透過性やCaチャンネルと関連していることが示唆された。

### 5. Al過剰によるチャの花粉管及び根の生育阻害と callose 合成の関係

チャの花粉管と根における callose の合成とAlの関係を検討した。適量濃度のAl処理（花粉管では2  $\mu$ M、根では0.4mM）を行うと、花粉管、根ともに生長が促進され、callose 含量はAl無処理に比べて減少した。しかし、過剰Al処理により callose 含量は明らかに増加した。これらの結果は、チャでは適量濃度のAl処理がストレス要因にはならないこと及びチャにおけるAlの有用性を示していると考えられる。

以上本論文の内容は、花粉管の callose 生成量を基にした新たな生物検定法を確立するとともに、Zn 過剰害とPとの関係、酸性土壌の生育阻害要因および低 pH・Al ストレスに対

する応答について新たな知見を加えるものであり、イオンストレスに対する植物の応答機構の解明及びストレス耐性植物の育成に貢献するものと評価される。審査委員全員一致で、本論文が岐阜大学大学院連合農学研究科の学位論文として、十分価値あるものと認めた。

#### 基礎となる学術論文

- 1 . Chun Lan Lian, Hiromi Yokota, Gang Wang and Shigeki Konishi:Effect of phosphorus on zinc toxicity in tea pollen tube growth, *Soil Sci. Plant Nutr.*, 44(2), 261-264 (1998) .
- 2 . Chunlan Lian, Yoshihisa Oiwake, Hiromi Yokota, Gang Wang and Shigeki Konishi:Effect of aluminum on callose synthesis in root tips of tea (*Camellia sinensis* L.)plants, *Soil Sci. Plant Nutr.*, 44(4), 695-700 (1998) .