

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

氏 名 大井 崇生

論文題目

Morphology and salt excretion mechanism of the salt
glands in Rhodes grass (*Chloris gayana* Kunth)

(ローズグラスにおける塩腺の形態と塩排出
機構)

論文審査担当者

主査	名古屋大学教授	谷口	光隆
委員	名古屋大学教授	畑	信吾
委員	名古屋大学教授	山内	章
委員	名古屋大学准教授	矢野	勝也
委員	名古屋大学助教	三屋	史朗

論文審査の結果の要旨

塩ストレスは作物の生長と収量を低下させる環境要因の一つである。これに対し、高塩濃度でも生育可能な耐塩性植物の一部において知られる塩腺は、体内の過剰な塩分を体外へ排出する葉表皮上構造であり、葉内のイオンバランスの調整に貢献していると考えられている。農業上重要な作物の多くが属するイネ科でも一部の種において塩腺が存在し、その塩排出機構の解明は作物の耐塩性向上に役立つものと期待される。このイネ科における塩腺は、特殊な微細構造を有する二つの細胞から構成されているが、それらの細胞内の塩排出の一連の流れを説明する定説は確立されていない。耐塩性が高く、塩腺を有することが知られているローズグラス (*Chloris gayana* Kunth) は、世界的に広く栽培されているイネ科の牧草であり、栽培や生育に関する知見が充実しており、近年その塩腺からの塩排出に関する生理的知見の蓄積が進んでいるため、イネ科塩腺の研究におけるモデル植物になると期待される。しかし、その塩腺の形態に関する詳細な報告はまだ行われていない。そこで本論文では、ローズグラスの塩腺の形態を電子顕微鏡レベルで明らかにし、その特殊な微細構造の把握に基づいて塩排出の一連の流れを解明することを目的とした。また、イネ科において塩腺であるとされる細胞が塩を排出することを明確に示した例はこれまでにないため、これを明らかにするとともに、塩腺細胞の表面から体外へ排出される過程を詳細に調査した。

第一章では、まず塩腺の外形や分布の特徴を明らかにするために、ローズグラスの葉を走査型電子顕微鏡 (SEM) で観察した。その結果、ローズグラスの塩腺は葉表面において維管束と並行な直線上に分布するといった特徴が見出されるとともに、個々の塩腺は内側の basal cell と外側の cap cell の二つの細胞から成ることを確認した。その内部微細構造を透過型電子顕微鏡で観察したところ、ローズグラスの塩腺を構成する両細胞は、発達した中央液胞や葉緑体を含まない一方で、細胞質密度が高く、ミトコンドリアを多数有し、未発達のプラスチドや小液胞を有するなど、他のイネ科植物において報告されてきた二細胞性塩腺と共通する特徴を示した。特に、basal cell では細胞内部に延び広がる二重の膜構造が確認され、これらは何層にも重なったシート状に存在することが明らかとなった。それぞれの膜構造はその内部がアポプラストに繋がっているため、その発達した形状によってアポプラストとシンプラストの接触面を拡大し、膜を介した能動輸送の効率を高めていることが示唆された。また、多数のミトコンドリアが存在することから、塩腺はエネルギー消費を伴う積極的な輸送によって塩を排出することが推定された。一方、cap cell 内部には特殊な膜構造は見られなかったが、細胞上部では細胞壁とクチクラが離れて間隙が生じていた。この間隙は塩腺に集められた塩水溶液が排出の最終過程で蓄積する場であると推定された。

第二章では、塩腺の形態に加えて排出された塩水溶液にも着目して観察を行った。前述のように、発達した二つの細胞が塩排出を行っていると考えられるが、イネ科の二細胞性塩腺が塩を排出することを明確に示した報告はこれまでになかった。イネ科

の微小な塩腺の分布を認識するためには SEM が必要であるが、通常の SEM 観察では葉表面の可溶物が試料作製過程で流失してしまうため、排出された塩水溶液と塩腺との位置関係を示すことは困難である。そこで、通常の試料作製過程が不要な低真空モードでの SEM 観察により、ローズガラスの葉を生鮮葉に近い状態で調査した。葉を切取ってすぐに観察した際に見られる排出液の分布と、葉を流水で洗浄した直後に観察した際に見られる塩腺の分布を比較した結果、塩腺の真上に液が排出されていることが示された。加えて、低真空 SEM 搭載の元素分析装置により、NaCl 水溶液を与えて生育した個体における排出液には Na、Cl 元素が顕著に含まれることが示された。以上より、ローズガラスの葉は微小な二細胞性の塩腺から塩を排出することが明らかとなった。

第三章では、塩排出の最終過程で通過する塩腺細胞表面の微細構造に着目して調査を行った。従来の仮説では、cap cell 上部の細胞壁とクチクラの間隙に集められた塩水溶液は、そのクチクラに亀裂や孔が生じることによって外部へ排出されると考えられてきた。しかし、第一章、第二章で行った観察では、ほとんどの塩腺の表面に亀裂や孔は見られなかったため、ローズガラス塩腺はクチクラの微細構造の崩壊を伴わずに塩を排出することが推定された。この仮説の真偽を検証するために、試料を瞬時に凍結させて観察するクライオ SEM 法により、試料作製に伴う損傷が少ない試料の表面微細構造を高解像度で観察した。その結果、この観察法でも cap cell のクチクラには亀裂や孔は見られず、加えて他の表皮のクチクラを覆っていたワックスの微小結晶が cap cell では欠如していることが明らかとなった。疎水性であるワックスが欠如していたことから、cap cell のクチクラは他の表皮のクチクラよりも水を浸透しやすいと考えられた。これらより、ローズガラス塩腺はクチクラに亀裂や孔を生じずに塩を排出するという仮説が支持され、浸透性の高いクチクラから浸み出させるようにして塩水溶液を排出することが推定された。この排出方式ではクチクラの微細構造が崩壊しないため、塩腺は一度排出を行った後も塩排出を継続できると考えられ、このことは実体顕微鏡による排出液の継時観察の結果とも合致した。以上より、ローズガラス塩腺は微細構造の崩壊を伴わずに、クチクラ表層ワックスの欠如した cap cell 表面から塩水溶液を染み出させるようにして、継続的に塩排出を行うことが明らかとなった。

以上のように、本論文ではローズガラスの塩腺がイネ科塩腺に共通してみられる発達した細胞内構造を有する二細胞性塩腺であることを明らかにした。さらに、イネ科における微小な二細胞性塩腺から塩排出が行われることを電子顕微鏡レベルで初めて明らかにすることに成功し、塩腺上部の表面微細構造の観察の成功と併せて、ローズガラスの二細胞性塩腺は微細構造の崩壊を伴わない継続的な塩排出を行うことを新たに示した。これらの成果は、双子葉植物の塩腺とは異なるイネ科特有の塩排出メカニズムの解明に大きく貢献するものであり、審査委員会は、本論文が博士（農学）の学位論文として十分な価値があると認め、論文審査に合格と判定した。