

学位論文及び審査結果の要旨

横浜国立大学

氏名 長谷川 愛
学位の種類 博士(学術)
学位記番号 環情博甲第322号
学位授与年月日 平成26年3月26日
学位授与の根拠 学位規則(昭和28年4月1日文部省令第9号)第4条第1項及び
横浜国立大学学位規則第5条第1項
学府・専攻名 環境情報学府 環境生命学専攻
学位論文題 マングローブ植物細胞の耐塩性、好塩性とアレロパシー活性との関係解明
論文審査委員 主査 横浜国立大学 教授 笹本浜子
横浜国立大学 教授 持田幸良
横浜国立大学 教授 雨宮 隆
横浜国立大学 准教授 酒井暁子
東京農工大学 教授 藤井義晴

論文及び審査結果の要旨

本学位論文では、熱帯・亜熱帯の汽水域に広がり、多様な種から構成されるマングローブ林を構成する植物種の分布について、次のような仮説を立て、細胞レベルで検証した。

各種の分布には、海水に含まれる Na^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Cl^- 、 SO_4^{2-} などの塩類イオンに対する耐塩性と、植物の生育における競合メカニズムの一つの他感作用(アレロパシー)が関与すると考えられる。競合種の少ない海側の高塩分濃度域では耐塩性の獲得が必要であり、競合種が多い上流側では耐塩性よりアレロパシーが必要という仮説が立てられる。この仮説を検証するため、マングローブ植物の好塩性や耐塩性とアレロパシー活性の強弱との関係について、マングローブ植物の液体培養細胞およびプロトプラストを用い細胞レベルで解明した。海側と上流側の異なる生育域の塩濃度の差が明らかにされている*Sonneratia*属の種を中心に、海側域生育の*Avicennia*種も用いた。本論文は6章から構成される。

第1章、上流側生育の*S. ovata*の子葉および根から、新規の液体培養細胞系を誘導、確立し、不定根や赤色素分化能について述べた。海側生育の*S. alb*、上流側の*S. caseolaris*および、非マングローブ樹木のポプラのカルス誘導と比較し、培地糖として通常用いられるスクロースと比べ、ガラクトースの重要性を明らかにした。

第2章、*S. caseolaris*、*S. ovata*の培養細胞を用い、5種類の塩10 mM~400 mMを培地に添加し、24穴シャーレSS法を工夫して、Packed Cell Volumeの他、乾重量も評価した。低濃度NaClに対する耐塩性を見出し、マングローブ数種のデータのヒートマップ作成比較法を開発し、好塩性、耐塩性の強弱と、植物体の生育域の塩濃度の高低との相関を明らかにした。

第3章、海側域生育*Sonneratia*属、*Avicennia*属の子葉や液体培養細胞のプロトプラスト単離・培養系を開発し、高浸透圧条件の培地に2章と同様な塩添加の影響試験を行い、好塩性、耐塩性、高浸透圧耐性などの特徴を明らかにした。

第4章、耐塩性にかかわる植物ホルモンアブシジン酸の、プロトプラスト中の微量内生量定量を行い、培養培地における植物ホルモンの影響との関係を明らかにした。

第5章、サンドイッチ法による乾燥葉のアレロパシー検定により、レタス根の伸長阻害効果を測定し、*S. caseolaris* > *S. ovata* > *S. alb*の関係を明らかにした。

第6章、マングローブにおいてアレロパシー検定法「プロトプラスト法」を新規に開発した。*Sonneratia*3種の液体培養細胞のプロトプラストと、レタスとの混合培養法により、レタス側の細胞肥大、分裂に対する阻害効果を定量的に測定する手法開発および、データの解析法を工夫し、*Sonneratia*属3種について、5章のサンドイッチ法と同様な傾向を見出した。また、プロトプラスト法の応用性について議論した。

以上のことから、マングローブ液体培養細胞における好塩性、耐塩性の強弱と、アレロパシー活性の間には逆相関の関係があり、仮説と矛盾しないことを明らかにした。

マングローブにおいて、新規の細胞培養系を確立し、多様な種間の、各種塩類に対する好塩性、耐塩性の比較解析法を開発し、新しいアレロパシー検定法を開発した。今後のマングローブ培養研究の広がり、および培養細胞を用いた耐塩性の細胞レベルの代謝研究、分子生物学研究などの、基礎となるものである。本論文内容の一部は、すでに筆頭著者として学術論文2報として公表となっている。

以上、本学博士論文として十分の内容であると判断される。

最終試験は、平成26年2月5日、総合研究棟 S201A 室において、審査委員全員出席のもと、16時半より40分間、博士論文の内容を公聴会の中で発表させ、質疑応答の後、審査を行った。発表内容および、質疑応答も問題なく、また、筆頭著者として英文の学術論文2報が既に公表となっている。

本論文では、汽水域に生育するマングローブ植物の好塩性や耐塩性の強弱とアレロパシー活性の強弱との関係について仮説を提唱し、海側および上流側生育マングローブ植物の、液体培養細胞およびプロトプラストを用い細胞レベルで解明した。海側と上流側の異なる生育域の塩濃度の差が明らかにされている *Sonneratia* 属の種を中心に、海側域生育の *Avicennia* 種も用いた。培地糖の重要性を明らかにして新規の培養細胞系を確立した。培養細胞と、プロトプラストを用いて、海側生育種の強い好塩性、耐塩性と、上流側生育種の弱い耐塩性を明らかにし、5種の海水塩類イオンに対する反応の特徴をヒートマップ化することにより比較を容易にした。耐塩性発現における植物ホルモンのアブシジン酸の重要性を、培養およびプロトプラスト中の微量内生量の定量により明らかにした。アレロパシー活性を、サンドイッチ法による検定およびマングローブ種におけるプロトプラスト法の開発により検定し、両法において、上流側生育種の強い活性を明らかにした。これらにより、仮説が検証された。

以上の内容は、本学博士論文として十分な内容であり、審査員一致して、提出論文、および試験共に合格 (A) と判断された。

注 論文及び審査結果の要旨欄に不足が生じる場合には、同欄の様式に準じ裏面又は別紙によること。