氏　　名　伊達修一（だて しゅう いち）
学位(専攻分野)　博　士（農　学）
学位記番号　論農博第2562号
学位授与の日付　平成17年3月23日
学位授与の要件　学位規則第4条第2項該当
学位論文題目　水耕栽培におけるクロラミンによる根部傷害に関する組織学的ならびに生理学的研究
論文調査委員　（主査）教授 矢澤　進　教授 關谷次郎　教授 米森敬三

論文内容の要旨

水耕栽培の生産現場では未だ原因不明の根部傷害がしばしば発生する。その中で，水道水を原水として作成した培養液に植物体を移植した場合に発生するものがある。本論文では，水耕栽培において水道水で作成した培養液で発生する根部傷害に関して，主としてサラダナを供試材料として組織学的ならびに生理学的に検討したものである。その結果は以下のように要約される。

まず第1章では，培養液中の水道水に含まれる次亜塩素酸イオンと養分として添加されるアンモニウムイオンが共存するとき，根部傷害が発生することを明らかにした。両者が共存したときに次亜塩素酸イオンとアンモニウムイオンの反応生成物であるクロラミンが次亜塩素酸イオンと平衡状態で存在し，培養液を明条件に置いたとき，キレート鉄から遊離する鉄によりクロラミンの分解が促進されることを明らかにした。さらに，次亜塩素酸イオンとアンモニウムイオンを同時あるいは個別に植物体に処理した場合，同時に処理したときにのみ根部傷害が発生したことから，根部傷害の原因物質がクロラミンであることを確定した。

第2章ではクロラミンの生成材料である次亜塩素酸イオンおよびアンモニウムイオンの濃度と根部傷害程度の関係を植物体への処理後10日目における生長率を指標として検討した。培養液にアンモニウムイオンを含まない場合，次亜塩素酸イオン濃度に関わらず根部傷害は発生せず，生長率の低下も認められなかった。一方，培養液に0.67 mMのアンモニウムイオンを含む場合，0.2 mg Cl・l^{-1}以上の次亜塩素酸イオン濃度で根部傷害が発生し，0.3 mg Cl・l^{-1}以上では植物体の生長率が有意に低下した。このとき，植物体の生長率を有意に低下させるクロラミンの限界量は0.18 mg Cl・l^{-1}であることを明らかにした。また，アンモニウムイオンを0.67 mM，次亜塩素酸イオンを0.5 mg Cl・l^{-1}含む培養液に植物体を異なる時間接触させたとき，1時間の接触により生長率が有意に低下した。さらに，異なるアンモニウムイオン濃度の培養液に次亜塩素酸イオンを0.5 mg Cl・l^{-1}で添加した培養液に植物体を移植したところ，アンモニウムイオン濃度が5.2×10^{-3} mMで有意に生長率が低下した。

第3章ではクロラミンに接触中および接触前の条件がクロラミンによる根部傷害の発生ならびに植物体の生長率の低下に及ぼす影響について検討した。クロラミンの接触中の条件に関しては培養液の化学的条件として培養液pH，培養液濃度および溶存酸素濃度，気象条件として気温，相対湿度，培養液温および光強度を異にしてクロラミンを含む培養液に植物体を移植した。また，クロラミンに接触する前の条件に関しては，培養液の化学的条件として培養液濃度あるいは各養分濃度を異にした培養液で，また，気象条件として気温，相対湿度，培養液温および光強度が異なる環境で，それぞれ育苗した植物体をクロラミンを含む培養液に移植した。いずれの実験においても，クロラミンによる根部傷害そのものに起因する生長率の低下と比較して，各条件で生じる生長率の方が小さいものとなった。

第4章ではまず，サラダナ以外の蔬菜，すなわちトマト，キュウリ，ネギ，ホウレンソウ，シュンギクおよびミツバについて第2章における次亜塩素酸イオン濃度および接触時間に関する実験と同様の実験を行い，蔬菜の種類によるクロラミンに対する感受性の差異について検討した。その結果，クロラミンに対する感受性は蔬菜の種類によって異なり，特にネギで

は根部傷害が発生せず，生長率の低下も認められず，感受性が低いことが明らかとなった。次に，クロラミンに対する感受性が高いサラダナと低いネギについて，クロラミンに接触したときの根組織の反応を生理学的および組織学的に詳細に調査した。生理学的な検討では，サラダナはクロラミンに接触することにより根組織における電解質漏出率の上昇，TTC 還元力の低下およびエスキュリン酸化速度の上昇が認められた。これに対してネギでは電解質漏出率の低下および TTC 還元力の上昇が認められ，エスキュリン酸化速度の変化は認められず，サラダナとは全く異なる反応を示した。組織学的な検討においては，光学顕微鏡による観察により，サラダナではクロラミンに接触後，表皮から中心柱に向かって細胞崩壊の進行が認められ，12時間後には表皮直下の細胞層に染色性の高い部分が観察された。これらはネギでは認められなかった。蛍光顕微鏡による観察により，ネギではクロラミンとの接触により外皮組織におけるアポプラスト経由での物質の移動を阻害するカスパリー線の発達およびスベリン沈着の進行が観察された。しかしサラダナではスベリンの沈着は観察されたものの，カスパリー線は観察されなかった。透過型電子顕微鏡による観察により，サラダナではクロラミンに接触後1時間目には原形質膜の貫入・断片化やミトコンドリアの空胞化が認められ，電解質漏出率の上昇や TTC 還元力の低下と一致する結果となった。一方，ネギでは接触後48時間目に表皮細胞でのみ原形質の貫入およびミトコンドリアの空胞化が認められ，外皮におけるカスパリー線の発達のみがクロラミンに対する低い感受性の原因ではなく，ネギに特に多く含まれる含硫化合物のクロラミンに対するスカベンジ能が関与している可能性が考えられた。

第5章ではクロラミンによる根部傷害の回避を目的として培養液への還元剤の添加について検討した。次亜塩素酸イオンを 0.5 mg $Cl \cdot l^{-1}$ 含む培養液にチオ硫酸ナトリウム，亜硫酸ナトリウム，ハイドロサルファイトナトリウムおよびアスコルビン酸のいずれかを 0.01 mM の濃度で添加して，サラダナを移植した。その結果，亜硫酸ナトリウムを添加した場合を除いて根部傷害の発生は完全に回避され，還元剤を添加したすべての場合で生長率の有意な低下は認められなかった。さらに，食品添加物として LD_{50} 値が極めて高いチオ硫酸ナトリウムおよびアスコルビン酸の添加濃度を 0.1 mM まで増加させた場合にも根部傷害の発生は完全に回避され，生長率の有意な低下は認められなかった。

以上のことから水道水で作成した培養液で発生する植物体の根部傷害の原因物質はクロラミンであり，環境条件に関わらず極めて微量および短時間の接触で植物体の生長を抑制することが明らかとなった。また，根部傷害の生理学的および組織学的特徴を明らかにした。さらにクロラミンによる根部傷害の回避法を明らかにした。本研究により，水耕栽培における根部傷害に関する体系的な研究の一手法が確立し，その他の原因の根部傷害に対してもその類型化および診断法の確立へ向けての端緒が得られた。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

水液栽培の現場では原因不明の根部傷害がしばしば発生している。その中には水道水を原水として作成した培養液を用いた場合に発生するものがあるが，その原因物質や発生のメカニズムや特徴，回避方法は不明である。原因不明の根部傷害に関する詳細な研究は安定した作物生産を支援する上で極めて重要であるばかりではなく，他の原因で発生する根部傷害に関して研究する際の一つの指標になりうるものとなる。本論文では，水道水を用いて作成した培養液で発生する植物体の根部傷害について，主としてサラダナを用いて，その原因物質の確定に始まり，根部傷害が発生しないネギとの比較により，生理学的ならびに組織学的に詳細に調査するとともに，その回避法についても検討を行っている。評価される点は以下の通りである。

1．培養液中に次亜塩素酸イオンとアンモニウムイオンが共存する場合に根部傷害が発生することを明らかにし，このとき，クロラミンと呼ばれる物質が生成していることを確認し，次亜塩素酸イオンおよびアンモニウムイオンの個別あるいは同時処理により根部傷害の原因物質がクロラミンであることをはじめて明らかにした。

2．クロラミンの生成物質である次亜塩素酸イオンおよびアンモニウムイオン濃度と植物体の生長率との関係を明確にし，クロラミンが植物体の生長に影響を及ぼす限界量を明確にした。また，クロラミンとの接触時間と植物体の生長率との関係を明らかにした。

3．クロラミンに接触している期間および接触するまでの培養液の化学的条件ならびに気象条件に関わらず，クロラミンによる根部傷害により植物体の生長が強く抑制されることを示した。

4．クロラミンに対する感受性は蔬菜の種類により異なることを示し，特にネギの感受性が極めて低いことを示した。さらにサラダナとネギを生理学的および組織学的に比較することにより，クロラミンが細胞の膜構造および呼吸に関与する酵素に傷害を与えることを明らかにし，ネギではクロラミンの根組織内への侵入を抑制するための外皮のカスパリー線を発達させることおよびネギに含まれる含硫化合物が低い感受性に関与していることを認めた。

5．培養液への還元剤の添加により根部傷害を完全に回避することが可能で，最も安全性が高いと思われるチオ硫酸ナトリウムやアスコルビン酸については過剰に添加した場合にも根部傷害が回避されることはもとより，植物体の生育にも影響を及ぼさないことを明らかにした。

以上のように本論文は，水耕栽培におけるクロラミンによる根部傷害に関し，体系的に研究を行ったものであり，根部傷害に関するこのような研究はこれまで報告されていない。本研究は，水耕栽培での安定生産に大きく寄与するもので，園芸学，植物栄養学ならびに実際栽培に寄与するところが大きい。

よって，本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお，平成17年２月17日，論文ならびにそれに関連した分野にわたり試問した結果，博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。