

|           |                                                                                                                                                                 |
|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 氏 名       | 梁 修 静                                                                                                                                                           |
| 学 位 の 種 類 | 博 士 (農 学)                                                                                                                                                       |
| 学 位 記 番 号 | 農 博 第 1379 号                                                                                                                                                    |
| 学位授与の日付   | 平成 15 年 11 月 25 日                                                                                                                                               |
| 学位授与の要件   | 学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当                                                                                                                                         |
| 研究科・専攻    | 農 学 研 究 科 農 学 専 攻                                                                                                                                               |
| 学位論文題目    | Hypersensitive Leaf Browning Injury Induced by Mechanical Stimuli<br>in Gesneriaceae and Acanthaceae Plants<br>(イワタバコ科とキツネノマゴ科植物における物理的刺激によって過敏に発生<br>する葉の褐変障害) |
| 論文調査委員    | (主 査)<br>教 授 矢 澤 進 教 授 櫻 谷 哲 夫 教 授 米 森 敬 三                                                                                                                      |

### 論 文 内 容 の 要 旨

イワタバコ科に属するセントポーリア (*Saintpaulia ionantha*) は園芸的に重要な鉢花である。セントポーリアは頭上かん水で葉にリーフスポットと呼ばれる障害が発生することから、かん水にはその方法や時間を選ぶなどの注意が必要である。リーフスポットはかん水による急激な葉温降下が原因で発生し、低温障害とは異なる障害である。本論文は、この障害がセントポーリアだけではなく、イワタバコ科、キツネノマゴ科の広い範囲の植物種で発生すること、また、茎や葉の切断といった物理的刺激によって葉にリーフスポットと同様の褐変障害が発生することを見いだしたことをきっかけにして実験を行ったものであり、イワタバコ科、キツネノマゴ科植物を用いて、切断刺激をはじめとした物理的刺激に対する植物の応答反応について詳細に研究したものである。特に、摘葉などの物理的刺激によって植物体に誘導される過敏感状態の発生メカニズムについて整理し、環境ストレスの感受性が高い温室植物の新しい栽培技術の確立に向けた新しい知見を提言したものである。

第1章では、セントポーリアの葉の赤外線画像解析により葉温の降下速度が  $3^{\circ}\text{C}/\text{s}$  を越えるとリーフスポットが発生することを明らかにし、リーフスポットが低温障害とは異なる障害であり、葉温の降下速度に起因するものであることを明らかにした。また、イワタバコ科植物においてリーフスポットが発生する植物を探索したところ、セントポーリアを含むイワタバコ科の多くの植物種に葉温降下に伴う障害発生が見られた。さらに、キツネノマゴ科植物においても同様の障害が発生する植物種が多く見つかった。これらのことから、葉温降下に伴う葉の障害発生は限られた植物に見られる特殊な現象ではないことが明らかとなった。さらに、リーフスポットの発生する植物においては摘葉などの植物への傷つけ処理によって葉温降下によるリーフスポット発生の感受性が高まることを見いだした。そこでイワタバコ科のセントポーリア、ストレプトカルパス (*Streptocarpus holstii*) また、キツネノマゴ科のルエリア (*Ruellia macrantha*) などの植物を用いて、傷つけ処理が引き起こす非傷つけ部における障害発生の特徴を調べた。その結果、傷つけ回数と障害発生とは量的関係にあること、障害の感受性は葉齢が若いほど激しいこと、一回の傷つけ処理のみでは障害が発生することはほとんどなく、傷つけ処理後のかん水などの二次的な刺激によってはじめて障害が発生することが明らかとなった。このように障害は発生しなくても二次的な刺激に対する感受性が高まる状態をここでは、「過敏感状態」と呼んだ。過敏感状態の植物においては葉温と同じ温度の水でさえも葉に付着することによって、障害を引き起こすことが明らかとなった。また、茎への傷つけ処理後の水付着などの刺激によって、葉だけではなくがく片でも障害の発生が見られることを明らかにした。

第2章では、ルエリアを用いて、一次刺激としてかみそりによる傷つけ処理を行った後、経時的に葉に水を付ける二次刺激を与えることで過敏感状態の持続時間を調査した。過敏感状態は傷つけ処理後3分で最高に達し、約30分経過すると見られなくなることを明らかにした。また、環状剥皮によって師管を取り除き、環状剥皮部の下部の茎を切断したところ、環状剥皮部を通して上位の葉に障害が発生した。このことから、切断刺激が導管を通して、上部に伝わる過敏感状態を引き起こしたのと考えられた。傷刺激が導管を通して移動する早い反応であることは、急激な水の移動が関与する可能性を強く示

唆するものである。

第3章では、傷つけによる過敏感状態は日中変動を示し、夕方になると誘導されにくいことが明らかとなった。過敏感状態の誘導は天候の影響を受け、晴天日においてのみ誘導された。高温と高い光強度は過敏感状態を誘導することが示唆された。かん水頻度の異なる株において過敏感状態の誘導に差異がみられ、生体内の急激な水ポテンシャルの変動が起こりうる栽培条件では過敏感状態になりやすく、葉の褐変障害の発生につながりやすいものと考えられた。

第4章では、リーフスポットの発生メカニズムを解明するため、植物体の活性酸素消去系酵素活性の品種間差を調べた。リーフスポットが発生しにくい品種ではスーパーオキシドジスムターゼやカタラーゼをはじめとした活性酸素消去系酵素の活性が高いことが明らかとなった。また、活性酸素種である次亜塩素酸の消去能力を評価することによって、リーフスポット発生の感受性を簡易にスクリーニングすることができることが分かった。次に、傷つけ処理による過敏感状態誘導のメカニズムを解明するため、特に水分生理学的側面からのアプローチを試みた。茎流センサーを用いた測定結果から、ルエリアの茎の切断および切葉のような傷つけ処理は、蒸散流を高めることを明らかにした。また、傷つけ処理に伴う葉の水ポテンシャルの変動を調べたところ、傷つけ処理は離れた非傷つけ葉の水ポテンシャルを下げることが明らかとなった。

第5章では、低温や乾燥といった環境ストレスによって発現する遺伝子群の発現を調節するシス因子であるDREB遺伝子を過剰発現するセントポーリア植物体の作出とその評価を行った。環境ストレスへの遭遇に反応するrd29AプロモーターにつないだDREB遺伝子をセントポーリアに形質転換したところ、形質転換体は低温に対して若干強くなったものの、大きな違いは見られなかった。植物体中でDREBが発現しているのか、また正常に機能しているのかを調査する必要があると思われた。

## 論文審査の結果の要旨

セントポーリア (*Saintpaulia ionantha*) を含むイワタバコ科の植物の中には、頭上かん水をするとうちにリーフスポットと呼ばれる褐色斑が発生し、栽培上問題となっている。本論文は、リーフスポットが発生する植物の種類に調査するとともに、茎や葉の切断といった物理的刺激によってリーフスポットと同様の褐色斑が葉に発生することを明らかにした。また、物理的刺激によって植物体に誘導される過敏感状態の発生のメカニズムについて詳細に実験を行い、温室植物の栽培技術の確立のための基礎的研究を行ったものである。成果として評価すべき点は次の通りである。成果として評価すべき点は次の通りである。

1. セントポーリアでは葉温降下速度が $3^{\circ}\text{C}/\text{s}$ を越えるとリーフスポットが発生することを明らかにした。また、イワタバコ科に属する多くの植物種、さらにはキツネノマゴ科植物の中にも葉温降下によるリーフスポットが発生することを認めた。
2. リーフスポットの発生する植物では葉などの植物への傷つけ処理によって、葉温降下に対するリーフスポットの発生の感受性が高まることを見いだした。さらに、傷つけ処理を行った植物は常温降下や頭上かん水刺激などの二次的な物理刺激に対してリーフスポット発生の感受性が非常に高くなる過敏感状態が存在することを明らかにした。
3. 葉に一次刺激としてかみそりによる傷つけ処理を行った後、経時的に葉に水を付ける二次刺激を与えることで過敏感状態の持続時間を調査した。過敏感状態は傷つけ処理後3分で最高に達することを見いだした。この刺激は導管を通過して移動する早い反応であることを認めた。
4. 水ストレスなどの生体内の急激な水ポテンシャルの変動により過敏感状態になりやすく、リーフスポットが発生しやすいことを明らかにした。
5. リーフスポットの発生には、活性酸素の関与が認められたので、葉における活性酸素消去系酵素の活性の品種間差を調べた。その結果は、リーフスポットが発生しにくい品種では、スーパーオキシドジスムターゼやカタラーゼをはじめとした酵素の活性が高いことを見だし、これらの酵素活性を測定することによりある程度リーフスポットの発見しやすい品種と発見しにくい品種を判別できることを明らかにした。
6. 低温や乾燥といった環境ストレスによって発現する遺伝子群の発現を調節するシス因子であるDREB遺伝子を過剰発現するセントポーリア植物体の作出とその評価を行った。形質転換体は低温に対して若干強くなったものの、大きな違いは見られなかった。今後、植物体中でDREBが発現しているのか、また正常に機能しているのかを調査する必要がある。

以上のように本論文は、イワタバコ科をはじめとした園芸植物の観光ストレス反応に対して新しい知見を提供したものであり、園芸学並びに花卉の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15年10月23日、論文並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。