

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 五月女 格

葉菜類は収穫後、時間とともに鮮度が低下するが、その主たる原因は呼吸代謝による基質の消耗や、水分損失である。水分は気孔蒸散やクチクラ蒸散等により放出されるが、これには細胞内部の水の動的状態や、細胞内外の物質移動をつかさどっている細胞膜や液胞膜等の生体膜の状態が深く関わっている。葉菜類の鮮度保持を図る上では、葉菜類内部の水移動、水の動的状態の変化、さらに生体膜の水伝導係数など水の移動に関わる物性を明らかにする必要がある。本研究は、葉菜類組織内部の水移動を把握するために、葉組織内部の水の動的状態の経時変化を $^1\text{H-NMR}$ による縦緩和時間(T_1)を通して検討すること、葉細胞プロトプラストの低浸透圧への耐性を通して細胞膜の物性・機能などの経時変化について検討すること、さらに細胞膜の水伝導係数測定について検討することを目的として行われた。

はじめに、オオムギ子葉をモデル試料として、プロトプラストの低浸透圧耐性および組織内の水の動的状態について検討した。オオムギ子葉を試験管内にて 72 時間貯蔵した。貯蔵時間 0 時間（貯蔵無し）から 24 時間刻みに試料を取り出し、次の手順で低浸透圧耐性を測定した。子葉から作成したプロトプラストをマンニトール溶液に滴下し、40 分静置した後、顕微鏡により細胞膜の破壊の有無を調べ、プロトプラストの生存率を計測した。こうして 8 種類の濃度のマンニトール溶液における生存率からプロトプラストの低浸透圧耐性を算出した。その結果、プロトプラストの低浸透圧耐性は、経時的に低下することが明らかになった。これは、細胞膜の物性の変化により細胞の浸透圧調節機能が低下したためと考えられた。また低浸透圧耐性の細胞毎のばらつきが、子葉切り出し後 48 時間の間は減少するが、これ以降 72 時間までは増加することが明らかになった。このことから低浸透圧耐性の低下に 2 段階の過程が存在すると考えられた。植物細胞の老化は液胞膜の機能低下に始まるが、上記の結果は、液胞膜の機能低下とそれによる液胞から細胞質への水移動、更にそれによって引き起こされる細胞膜の機能低下を反映していると考えられた。この測定と並行して、プロトプラスト作成前にオオムギ子葉内の水の T_1 を 24 時間ごとに測定した。切り取り直後の子葉には約 700ms の比較的長い T_1 を示す水が約 85% 存在していたが、切り取り後 48 時間までにその割合が約 70% まで減少し、それ以降は大きな変化がないことが明らかになった。この長い T_1 を示す水の割合の減少は、試料の質量損失が微小であったことなどを考慮すると、液胞内の長い T_1 を示す水が細胞質へ移動し、短い T_1 を示す水に変化したためと考えられた。以上の結果、葉組織においては、全体的な水分損失がない条件においても、内部での局所的な水移動により鮮度低下が起こると考えられた。

次に葉組織内部における局所的な水移動に深く関わっている細胞膜の水伝導係数を測定した。水伝導係数は細胞外部溶液の浸透圧を変化させ、それに対する細胞の体積応答から

知ることができる。これまで様々な測定手法が考案されてきたが、それらの手法は測定精度に問題があることや大量の試料が必要であることなどにより、葉組織の細胞を対照とした測定には適用しにくいと考えられた。このため、少量の試料で高い測定精度が得られる新たな手法である二層流式水伝導係数法を考案し、装置を開発した。この手法は微小な流路に2種の溶液を層流として流すと、混合せずに分離した状態を維持するという現象を利用したものである。二層流式水伝導係数測定法と既存の測定手法によりホウレンソウの葉から作成したプロトプラストの、細胞膜水伝導係数を測定したところ、二層流式水伝導係数測定法では $0.073\sim 0.075$ [pm/s/Pa]であったが、既存の手法による測定値は $0.032\sim 0.065$ [pm/s/Pa]であった。既存の手法と開発した二層流式水伝導係数法による測定値との関係は、真の値を仮定した場合に計算される両者の差に一致した。その結果、二層流式水伝導係数測定法による測定値は、従来法より測定精度が高いと結論付けた。

以上、本研究は葉組織内部の局所的な水移動を $^1\text{H-NMR}$ による縦緩和時間 T_1 の変化から検証するとともに、水移動に深く関わる細胞膜の水伝導係数の高精度測定法を開発したものであり、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。