

論文審査の結果の要旨

氏名 岡 恵利佳

本論文は3章からなり、第1章では葉の成熟に伴う大気汚染物質ペルオキシアセチルナイトレート(PAN)に対する感受性の変化と気孔の発達との関係について、第2章ではPAN障害における活性酸素の関与について、第3章ではPAN障害におけるエチレンの関与について述べられている。PANは、低濃度で植物に可視障害を引き起こす大気汚染物質であるにも関わらず、PAN障害に至るメカニズム及び植物の持つPAN障害からの防御機構はどちらも解明されていなかった。

論文提出者は、一つの植物個体の中でも葉によってPAN感受性が異なるという特徴を利用して、一個体の中でPAN感受性葉とPAN耐性葉の比較をすることによりPAN感受性のメカニズムを解明することができると考えた。第1章では、PAN感受性が高い植物として知られている*Petunia hybrida* Vilm.を実験材料として使用した解析から、ペチュニアの葉が成熟に伴ってPAN耐性から感受性へ、そして再び耐性へと変化することを示した。このような成熟に伴ったPAN感受性の変化をもたらす要因として、気孔からのPAN吸収量の変化に着目し、気孔の顕微鏡観察、及び気孔の開閉を引き起こす薬剤処理を行なった。それらの結果は、PAN耐性から感受性への変化には、気孔の発達によるPAN吸収量の増加が関与していること、感受性から耐性への変化は、吸収したPANを解毒する機能の獲得によってもたらされることを示唆した。また、PAN耐性を示す葉は活性酸素に対する耐性も高いことが明らかになった。そこで、次の第2章では、活性酸素がPAN障害の発生に関与している可能性を検証した。

第2章では、まず、PAN処理後の植物を、嫌気条件に置くことによって活性酸素の発生を抑えたときの障害発生について調べた。PAN処理を行なったペチュニアを嫌気条件下で培養したところ、PAN障害はほぼ完全に抑制され、活性酸素の生成がPAN障害の発生に関与していることが示唆された。次に、PANにさらした葉を用いて、染色による活性酸素の検出を行なった。PANによる可視障害はPAN処理開始後4～8時間経過してから現われるが、PAN感受性の葉の葉肉細胞には、PAN障害に先立って活性酸素の一種であるO₂⁻の蓄積が見られること、PAN障害が発生した後にはO₂⁻はみられず、過酸化水素

の蓄積がみられることを見出した。PAN 感受性の葉にのみ PAN 处理によってこれらの活性酸素の蓄積が起こったため、感受性の葉と耐性の葉について、活性酸素を消去する主な酵素の活性を比較した。その結果、測定した 5 つの酵素の中でペルオキシダーゼ活性が耐性の葉で非常に高く、PAN に対する耐性がペルオキシダーゼによる活性酸素消去能の増大によってたらされる可能性を見出した。

第 3 章では、活性酸素とともに様々なストレス応答に関与している植物ホルモンの一つエチレンが PAN 障害にも関与しているかどうかについて解析した。PAN にさらした葉では、障害発生（脱水）とほぼ同時にエチレン生成が始まる음을示した。また、エチレンの受容阻害剤ノルボルナジエン（NBD）の処理により PAN 障害が抑制されることを明らかにし、エチレンが PAN 障害を促進していることを示した。

以上のように、論文提出者は、葉の成熟に伴った PAN 感受性の変化が、気孔の発達による PAN 吸収量の変化と、ペルオキシダーゼによる活性酸素耐性の変化という 2 つの要因によって起こっている可能性を見出した。また、様々なストレスへの応答に関与している物質である活性酸素とエチレンが、どちらも PAN 障害に関与していること、しかしながら、活性酸素の蓄積やエチレン生成が開始する時間などが他のストレスとは異なる独特のものであることを明らかにした。また、一般に反応性が高いと考えられている O_2^- が直接的には PAN による障害の引き金とはならないことを示した。他の大気汚染物質であるオゾンや二酸化硫黄による障害では、活性酸素やエチレンの生成から障害にいたるまでの時間が短く、それぞれの物質による効果を区別して考えることが困難であったが、PAN 障害の場合に O_2^- の蓄積が起り始めてから少なくとも 3 時間は障害が現われなかつたこと、 O_2^- と過酸化水素の蓄積に明確な時間差があつたこと、また、エチレンの生成がオゾンや二酸化硫黄に対する反応と比べて非常に遅かつたことなどは、今後、これらの物質それぞれの役割を解明するのに役立つであろうと考えられる。

なお、本論文は大橋毅氏、田上優子氏、村上優理亜氏との共同研究であるが、論文提出者が主体となって研究を行なったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。