

(様式第9号)

学位論文審査の結果の要旨

氏名	PRASAJITH KAPILA DISSANAYAKE
審査委員	<p>主査 山内 直樹 (印)</p> <p>副査 執行 正義 (印)</p> <p>副査 板村 裕之 (印)</p> <p>副査 田中 秀平 (印)</p> <p>副査 田邊 賢二 (印)</p>
題目	Use of Allium alien monosomic addition lines to investigate chlorophyll degradation mechanism in stored Japanese bunching onion (ネギ属異種染色体添加系統を用いた葉ネギの貯蔵中におけるクロロフィル分解機構の解明)
<p>審査結果の要旨 (2,000字以内)</p> <p>葉ネギ (<i>Allium fistulosum</i> L.; ゲノム FF) は日本を含む東アジアでは勿論のこと、アメリカ合衆国でも利用されている重要な緑色野菜である。収穫後、鮮度低下が顕著にみられ、その主要な要因は葉の黄化、すなわちクロロフィル (Chl) 分解である。本論文は葉ネギの Chl 分解機構を明らかにするため、シャロット (<i>A. cepa</i> L., ゲノム AA) 由来単一異種染色体添加系統を用い、葉ネギと添加系統の Chl 分解過程について Chl 分解物および分解酵素の比較検討を行った。</p> <p>葉ネギを 25℃で貯蔵すると3日以内に黄化が進行したが、4℃ではほとんど変化がみられなかった。この黄化に伴い生成する Chl a の分解物として、主にフェオフィチン (Phy) a, クロロフィリッド (Chlide) a, フェオホルビド (Pheide) a および C132-ヒドロキシクロロフィル (OHChl) a 誘導体が検出された。これらの誘導体は 25℃貯蔵に伴い減少し、一方、4℃ではほとんど減少は認められなかった。クロロフィル分解酵素活性の変化について調べたところ、25℃貯蔵において Chl 分解ペルオキシダーゼ活性および Mg-脱離活性の増大がみられたが、4℃ではほとんど増大はみられなかった。このように、25℃貯蔵された葉ネギでは、Chl 分解が顕著に生じるとともにクロロフィル誘導体も減少したことから、形成された誘導体はさらに次の分解物に変化すること、また、Chl 分解ペルオキシダーゼおよび Mg-脱離作用が貯蔵中の Chl 分解に大きく関与しているものと推察された。シャロット由来単一異種染色体添加系統 (FF+1A~FF+8A) は、添加されたシャロット染色体により葉ネギとは違った生理学的特性および形態学的な特性を持ち、また、外観にも変化が生じる。これらの結果は添加系統を貯蔵した場合、Chl 分解にも影響を及ぼす可能性が考えられた。そこで、添加系統と葉ネギの貯蔵中における Chl 分解を比較検討することで、葉ネギの Chl 分解機構を明らかにできるものと思われた。まず、葉ネギと添加系統の生育中での成熟葉における Chl 含量の年変化について調べたところ、FF+4A および FF+5A の Chl は葉ネギより高含量を示したことから、4A および 5A 染色体は他の染色体より Chl 生合成に大きく影響を及ぼしているものと推察された。25℃貯蔵における Chl 分解程度を調べたところ、FF+3A および FF+5A は葉ネギに比べ急激な Chl 分解が認められ、一方、FF+4A は分解の進行が抑制された。主要な Chl 誘導体として、Chlide a, OHChl a, Pheide a 並びに Phy a が検出された。FF+3A (急速 Chl 分解系統) において、Phy a レベルは増加がみられ、また、FF+3A</p>	

および葉ネギでは、OHChl a は貯蔵に伴い減少した。さらに、Chlide a はすべての区で貯蔵に伴い低下がみられた。Chl 分解酵素活性の変化について調べたところ、Chl 分解ペルオキシダーゼ活性および Mg-脱離活性は 25℃貯蔵で急増した。

他の園芸作物とは異なり葉ネギでの Chl 分解物の特徴として、Phy a の形成が認められたので、この要因についてさらに検討を行った。まず、葉ネギ、FF+3A (急速 Chl 分解系統)、FF+4A (緩慢 Chl 分解系統) からの粗酵素抽出物に Chl a を加え Chl 分解を調べたところ、Mg-脱離作用による Chl a からの直接的な Phy a 形成が認められた。この Phy a 形成は葉ネギおよび FF+4A に比較し、FF+3A で顕著であった。続いて、電子顕微鏡下での観察から、クロロプラスト内でのチラコイドからのプラストグロビュール形成と液胞への移動が明らかとなった。この観察は、液胞内での有機酸による非酵素的な作用により Phy a の形成が行われる可能性を示唆している。特に、Chl 分解が顕著にみられる FF+3A において、液胞内に多くのプラストグロビュールの存在がみられることは、FF+3A での高い Phy a 形成に関与しているものと思われる。

以上の結果から、葉ネギの貯蔵に伴う Chl 分解には、Chlide a および OHChl a を通して行われる分解系に加え、Phy a 形成を通して分解する系が存在すること、また、クロロプラストとともに液胞が、Chl 分解の重要な場として関与しているものと推察された。

これらの成果は園芸作物の新たなクロロフィル分解過程を解明したものと評価され、学位論文としての独創性と優れた内容を持つものと判定した。