



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	凍霜害防止に向けた資源植物の氷核形成阻害活性の利用 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	鈴木, 伸吾
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第13583号
Issue Date	2019-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/73909
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Shingo_Suzuki_review.pdf, 審査の要旨



学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博 士（農学）

氏名 鈴 木 伸 吾

審査担当者	主 査	准教授	荒 川 圭 太
	副 査	教 授	佐 野 雄 三
	副 査	教 授	松 浦 英 幸
	副 査	准教授	福 士 幸 治

学 位 論 文 題 名

凍霜害防止に向けた資源植物の氷核形成阻害活性の利用

本論文は5章からなり、図20、表5、引用文献113を含む、総頁数120の和文論文である。別に2編の参考論文が添えられている。

寒冷地に生育する樹木では、冬季に、木部柔細胞内の水を -40°C 以下まで長期安定的に過冷却状態に維持できる。この木部柔細胞では、ヨウ化銀や氷核細菌などの水の凍結を誘導する氷核形成物質の存在下において、水の凍結温度を数 $^{\circ}\text{C}$ 低下させる氷核形成阻害活性を有するフラボノール配糖体や加水分解性タンニンなどが存在する。さらに、類似の構造をもつ多数の化合物からも同様の活性が検出されており、このような凍結抑制効果のある化合物の利用は興味深い。特に、農作物の凍霜害発生の要因のひとつとして農作物表面に分布する氷核細菌の存在が挙げられるため、氷核細菌による凍結誘導をこれらの氷核形成阻害活性によって抑制し、凍霜害の防止を試みようと考えた。そこで、野外実験で試行錯誤する時間や労力を節約するため、実験室レベルでより効果的な実施条件を見出すことから始めることにした。そこで本研究では、氷核形成阻害活性を有する植物抽出物を利用して、農作物の緑葉表面上で氷核細菌が促す凍結を抑制して凍霜害を回避することが可能か否かを検証することを主目的とした。

第1章は序章として、氷核形成阻害物質に関連する研究背景を中心に概説した。

第2章では、氷核形成阻害活性画分を調製するために適した植物材料をスクリーニングするため、72の植物組織（主に緑葉）から抽出溶媒（アセトン／水＝1／1）にて抽出物を調製し、従来法であるドロップレット凍結法によって氷核細菌 *Erwinia ananas* 存在下での氷核形成阻害活性を測定した。その結果、氷核形成阻害活性は高いもので 3.2°C を示し、 2°C 以上の活性を有するものは15試料あることを示すと共に、このような活性を有する植物は他にも多数存在する可能性を示唆した。また、高い活性が検出された11試料についてヨウ化銀やフロログルシノールを氷核形成物質に用いて活性測定すると、 10°C 程度の活性を示すものをいくつか見出した。

第3章では、農作物に対する凍霜害抑制効果の有無を簡易的に検証するため、ヤマグワやチャノキなどの緑葉から調製した均質なリーフディスク（緑葉切片）の表面に *E. ananas* と抽出物を含む液滴を載せて冷却し、緑葉上で水の凍結抑制効果を調べるリーフディスク凍結法を確立した。本法では、緑葉表面で液滴が凍結すると緑葉切片も凍結して致死的な傷害を被るのに対し

て、そこに氷核形成阻害物質が共存すると液滴の凍結は抑制され、緑葉切片の凍結傷害が回避されるというものである。そこで、第2章でスクリーニングしたクマイザサなどの5つの植物抽出物をリーフディスク凍結法に供試すると、いずれも対照区と比べて十分に高い割合で *E. ananas* による凍結を回避でき、その有用性を示唆した。

続いて、緑葉上でも *E. ananas* を含む液滴に対して有効な凍結抑制効果を示した資源植物のひとつであるクマイザサ抽出物を利用して、農作物個体における凍霜害抑制効果の有無を検証した。予め *E. ananas* を緑葉に付着させた未馴化の農作物（ダイコン実生、チャノキ苗）の鉢植えにクマイザサ抽出物を噴霧して氷点下温度で処理すると、凍結を回避できた部位では傷害が発生しなかったことが明らかとなった。この結果は、リーフディスク凍結法で効果を確認できたクマイザサ以外の植物抽出物でも同様に凍結傷害を回避できる可能性を示唆するものであった。そのため、次の段階では、野外で栽培している農作物にこれらの植物抽出物を散布して凍霜害防止効果を検証する必要があると結論づけた。

第4章では、クマイザサ葉身抽出物に含まれている氷核形成阻害物質の同定を試み、その実験経過を示した。現時点では、過去に報告されていないフラボン配糖体の一種を活性物質候補として挙げ、研究の継続が必要であることを示した。

第5章では、終章として本研究結果を総括した。本研究では、新たに確立したリーフディスク凍結法と従来法であるドロップレット凍結法とを併用することで、氷核細菌によって誘発される農作物の凍霜害を回避するための資材候補（植物抽出物）を効率よく選抜できたと結論づけた。

本研究は、植物二次代謝産物であるポリフェノールの新たな利用価値を見出すものであり、氷核形成阻害活性によって凍結を回避するという機能を農業に有効利用するひとつの可能性を示し、研究の発展が期待できる。また、得られた知見は *E. ananas* やヨウ化銀のような氷核形成物質に対してポリフェノール類が示す氷核形成阻害活性の作用機序の解明にも貢献しうるものである。

よって、審査員一同は、鈴木伸吾が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。