

学位論文審査の結果の要旨

氏名	Acidri Robert
審査委員	<p>主査 西原 英治 (印)</p> <p>副査 山本 定博 (印)</p> <p>副査 増永 二之 (印)</p> <p>副査 荊木 康臣 (印)</p> <p>副査 山田 智 (印)</p>
題目	<p>Phytochemical Accumulation in Coffee (<i>Coffea arabica</i> L.) Plants as a Photoprotective Mechanism during Oxidative Stress Conditions (酸化ストレス条件下における光保護メカニズムとしてのコーヒー (<i>Coffea arabica</i> L.) へのファイトケミカルの蓄積)</p>
<p>審査結果の要旨 (2,000字以内)</p> <p>本研究はコーヒーの豆, 器官別の抗酸化活性能力を調査するとともに, 酸化ストレス条件下におけるコーヒー幼苗自体の応答およびエリシター化合物の施用による幼苗木の非酵素的抗酸化物質の強化によるストレスからの回避戦略を解明し, 以下の新たな知見を得た.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. コーヒーの根, 葉, 茎およびコーヒー豆の生豆と焙煎豆の抗酸化能力を調査した. さらにコーヒー葉の下位葉から上位葉および茎の形態別における抗酸化能力も同時に調査した. 分析した抗酸化物質のうち, マンギフェリンは葉のみ, そしてカフェインは葉および豆にのみ存在することが明らかとなった. またコーヒーの代表的な抗酸化物質総含量は, 生豆が 9.70 mg gDW^{-1} で最も高く, 焙煎豆の総含量は生豆に比べて 66%減少していた. 葉中の総抗酸化物質含量は, 上位葉 (L1) で $8.23 \text{ mg g DW}^{-1}$ と最も高く, 下位葉が 5.57 mg gDW^{-1} と最も低い値となり, また葉の総ポリフェノール含量は他の器官に比べ最も高く ($60 \text{ mg GAE gDW}^{-1}$ 以上), 抗酸化能力の指標である DPPH, ABST および FRAP においても上位葉は下位葉に比べて高い値を示した. 2. 環境条件の変化; (i) 24 時間サイクル, (ii) 夏から冬の季節, (iii) 遮光率の違いにおける葉中の抗酸化能力への応答について調査した. 日中は, カロテノイド, 5-カフェオイルキナ酸 (5-CQA) が高まる傾向を示した. 一方, 抗酸化物質の含有量と 5-CQA/カフェインの比率は, 夏と冬で増加傾向を示し, 秋で最も少なくなる傾向を示した. さらに, 遮光率の違う条件では直射日光を直接コーヒーの葉が受けると, 抗酸化化合物の一種である 5-CQA とマンギフェリンが急速に蓄積したが, カフェインとトリゴネリンには大きな影響はなかった. このように, コーヒーの葉に含まれる 5-CQA, マンギフェリンおよびカロテノイドの増加は, 環境ストレスに対して保護的な役割をしていることが明らかとなった. 3. 酸化ストレスの1つである低温ストレスは, コーヒーの生育にとって回避させなければいけない環境条件の1つであり, 回避策はまだ明らかになっていなかった. そこで低温ストレス回避のために窒素の葉面散布効果を検討した. この結果, 20mM までの窒素 (尿素) は, 対照区に比べ葉中の窒素と葉色を改善させ, 10~20mM 窒素はコーヒーの葉の光化学系 II 効率を高めた. さらに窒素葉面散布は, 5-カフェオイルキナ酸, マンギフェリン, トリゴネリ 	

ンおよびカフェインを低濃度であるが増加傾向を示した。したがって、適切な窒素濃度の葉面散布は光合成機能を回復させるのに十分であり、低温ストレスを受けたコーヒー苗の光合成性能を改善したと結論付けた。

4. 低温ストレス条件化におけるコーヒー自体の非酵素的抗酸化システムの強化に関するいくつかのエリシター化合物の効果を光合成生理学に評価した。エリシター化合物としてキネチン、サリチル酸、メラトニンおよび TiO₂ NPS の計 4 種とした。この結果、これらのエリシター化合物の葉面散布は、低温ストレスで発生する活性酸素を消去する抗酸化機能の増加を示した。特に、光合成関連では低温ストレス条件化においても高いガス交換を示し、CO₂ 固定の光化学効率を向上させた。したがって、この章で示した結果に基づいて、エリシター化合物の葉面散布は、低温ストレス条件下でコーヒー植物の成長を調節する可能性を示唆した。
5. 3 と 4 の結果から、低温ストレスに対する窒素とメラトニンの混合効果を評価した。この結果、窒素はコーヒーの純および最大同化率を高め、光合成に関連するクロロフィル、RuBisCO 酵素およびトリゴネリンなどの他の窒素化合物の代謝を高めた。一方、メラトニンは、アントシアニン、フラボノイド、クロロゲン酸、マンギフェリンなどのフェノール系非酵素的抗酸化化合物も増加させる効果を示した。したがって、窒素とメラトニンの複合散布効果は、低温ストレスにおけるコーヒーの光合成生理機能低下を緩和させる手法の 1 つであることが明らかとなった。
6. 低温ストレス条件下におけるコーヒー生長障害は、低温によって発生した ROS の過剰生産が細胞膜の損傷を引き起こし、窒素の代謝を抑制したことであると考えられた。ただし、発生した ROS 蓄積は、同時に葉中の非酵素的抗酸化物質、特にアスコルビン酸と 5-カフェオイルキナ酸のレベルを上昇させ、これらの物質によって ROS を消去し、値を通常レベルに戻すことにより、細胞膜のさらなる酸化を防ぐのに役立っていることを明らかにした。

以上から、コーヒー器官別の機能性成分を明らかにし、さらに低温ストレスでのコーヒーの光合成機能を回復させるための抗酸化物質の上昇を誘導させるエリシター化合物の役割を明らかにし、コーヒーの光合成生理学の低温による誘発する活性酸素種を消去させる非酵素的抗酸化システムを強化させ、低温による光合成効率を改善させることが明らかとなったという新たに知見である。よって本論文は、博士（農学）の学位論文に値するものと判断した。