

学 位 論 文 題 名

Ecophysiological studies of *Arabidopsis thaliana* ecotypes
with special reference to flowering

（シロイヌナズナのさまざまなエコタイプの
開花に関する生理生態学的研究）

学位論文内容の要旨

First, I discussed the effect of latitude on the growth of four *Arabidopsis thaliana* ecotypes (from South to North: Ct-1, Pf-0, Old-1 Per-1) under different light and temperature conditions (Chapter II). Like light, temperature also played an important role in flower induction. Plants grown at 22°C showed flowering within 31 days (experimental period). A decrease in growth temperature (14°C) delayed flowering. Flowering started from South (low-latitude) ecotypes to North (high-latitude) ecotypes at both the temperatures. The activity of membrane-bound ascorbate peroxidase (tAPX) increased with decreasing latitude. This indicates that oxidative stress was higher in South ecotypes than in North ecotypes, suggesting that an increase in oxidative stress induce earlier flowering in South ecotypes. The North ecotypes were smaller in size than the South ecotypes, suggesting that the North ecotypes invest more energy into a stress-tolerant system rather than into growth and therefore smaller in final size than the South ecotypes (Chapter II, III-A). At 22°C, tAPX activity increased with growth. This indicates that the oxidative stress was higher in flowering plants or higher oxidative stress might induce flowering at 22°C.

Flowering occurred earlier under 150 $\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ (condition M) than under 300 $\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ (condition H) and total chlorophyll (Chl) content decreased with plant growth in all four ecotypes under both light conditions, whereas, senescence (leaves turned yellow) was visually seen under condition H. This suggests that light plays a natural role in promoting senescence. In early vegetative stages, Chl *b* content was higher under condition M, where earlier flowering occurred, than under condition H (Chapter III-B, IV). This indicates that Chl *b* content at the vegetative stage plays an important role in promotion of flowering as an endogenous factor. Total Chl content decreased with growth under both light conditions in all four ecotypes (Chapter III-B, IV). At the same time, the enzyme activities of tAPX or glutathione reductase (GR) increased with growth, suggesting that a decrease in the Chl content occurs more rapidly under stressful conditions or under stressful conditions the degradation of Chl content induces tAPX or GR activities.

Chapter V explains the effect of light intensity on plant growth and flowering time. Plant size and flowering time decreased and the activities of tAPX and GR increased with an increase in light intensity, indicating that oxidative stress increased with light intensity. With an increase in light intensity, plant size decreased and the tAPX and GR activities increased. This shows that the plants under higher light invest more energy in photostress tolerance than to plant growth. From these results, it is clear that the increased GR or tAPX activities, indicators of oxidative stress, with increasing light intensity (Chapter V) or with decreasing latitude (Chapter III-A, B) are related to earlier flowering. From these results, I speculate that

H₂O₂ is a possible factor for flower induction (Chapter III-A, B; V).

H₂O₂ is a major product of oxidative stress and plays an important role as a signal molecule (Foyer et al., 1997). H₂O₂ and glutathione (GSH) are the central components of signal transduction in both environmental and biotic stresses and act as multifunctional triggers, modulating metabolism and gene expression. Both are able to cross biological membranes and diffuse or be transported long distances from their sites of origin. GSH and H₂O₂ may act, alone or unison, in intracellular and systematic signalling systems to achieve acclimation and tolerance to biotic and abiotic stresses (Prasad et al., 1994; Foyer et al., 1997; Karpinski, 1999).

Many flower induction pathways in *Arabidopsis thaliana* have been proposed (Fig. 1(Fig. VI-1 in Chapter VI in the thesis)) (Martinez-Zapater and Somerville, 1990; Soppe et al., 1999; Reeves and Coupland, 2000; Lizal and Relichová, 2001; Ratcliffe et al., 2001). Blue light and assimilates available (illustrated by A1, A2, A3 in Fig. 1) on the meristem (autonomous pathway i.e. independent of environmental conditions) also promote earlier flowering. It is also known that light quality (Pathway B in Fig. 1) and vernalization (Pathway C in Fig. 1) also promote flowering in wild type Landsberg and late flowering mutants (Martinez-Zapater and Somerville, 1990).

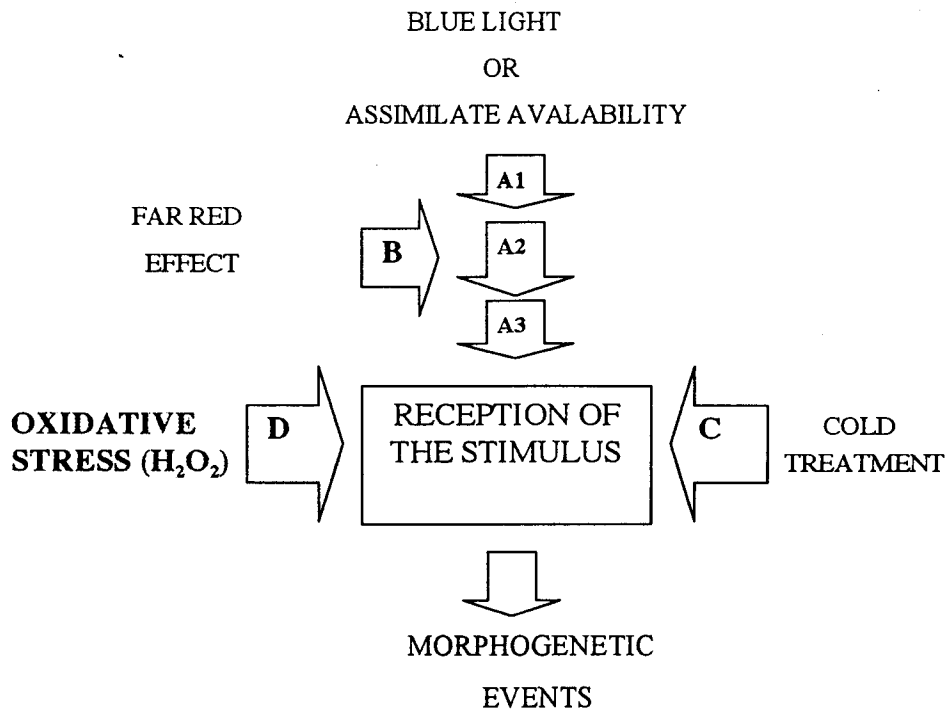


Figure 1. Hypothetical flower induction pathways in *Arabidopsis thaliana* by Martinez-Zapater and Somerville (1990) (A1, A2, A3, B, C) and the oxidative-stress-induced flower induction pathway proposed in this thesis (D).

I observed that the increase in stressful conditions (higher tAPX or GR activity i.e. higher H₂O₂ level) in plants induced earlier flowering in *Arabidopsis thaliana* ecotypes. Several researchers have reported that flowering is induced by not only photoperiod but also stresses such as drought, chilling, high light, and infections (Chaikiattiyos et al., 1994; Lu and Koide, 1994; Yokoyama et al., 2000). These references and my results also suggest that the oxidative stress is also one of the pathways that induce flowering in plants. I propose the oxidative stress flower

induction pathway (pathway D in Fig. 1) in *A. thaliana* in addition to the pathways described by Martinez-Zapater and Somerville (1990) (A1, A2, A3, B, C). Increased H_2O_2 under stressful conditions plays an important role in signal transduction for the promotion of flowering in *A. thaliana*.

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 原 登志彦
副 査 教 授 田 中 歩
副 査 教 授 甲 山 隆 司
副 査 助教授 隅 田 明 洋

学 位 論 文 題 名

Ecophysiological studies of *Arabidopsis thaliana* ecotypes with special reference to flowering

(シロイヌナズナのさまざまなエコタイプの
開花に関する生理生態学的研究)

植物は、低温、乾燥、強光などさまざまな環境からのストレスを受けながら生育している。低温や乾燥のストレスは、植物の光ストレスを増幅することが知られているが、その光ストレスにより光合成系に生じた活性酸素は組織を破壊し、時として植物を枯死させる。申請者は、一年生草本シロイヌナズナの緯度傾度に沿って分布しているさまざまなエコタイプを用い、グロースチャンバーでさまざまな光および温度条件下で生育させ、開花時期やさまざまな生態学的、生理学的パラメータを調べ、環境への植物の応答と適応について光ストレスの観点から研究した。まず、開花時期は南のエコタイプのほうが北のエコタイプよりも早くかつ最終的な植物体サイズは大きいということがわかった。光ストレスにより光合成系に生じる活性酸素は、まずそのほとんどが葉緑体のチラコイド膜に結合しているアスコルビン酸ペルオキシダーゼ(tAPX)により消去されるということが近年明らかにされている。さらに葉緑体のストロマに拡散した活性酸素はストロマ・アスコルビン酸ペルオキシダーゼ(sAPX)によって消去される。従って、tAPXの活性は植物の光合成系が受ける光ストレスの大きさに対応していると申請者は考えた。tAPXの存在が明らかにされたのは、近年になってからであるが、その存在が明らかになった以降も多くの研究で測定されているのはsAPXのみである。生育環境条件を変化させて、植物がどの程度のストレスを受けそれにどのように応答しているのかを調べる研究において、本研究のようにtAPX活性を測定するという方法を取り入れた研究は非常に少ない。まったく同じ光および温度条件下で生育させても、南のエコタイプのほうが北のエコタイプよりもtAPXの活性は高いが、光合成の光集アンテナの大きさに対応しているクロロフィル a/b 比はどのエコタイプでも同じであるという結果を申請者は得た。以上より、南のエコタイプのほうが光ストレスを受けや

すく、光合成系に生じる oxidative stress の程度が高いこと、すなわち、北のエコタイプのほうがより光ストレスに対する耐性があることが明らかとなった。

次に、シロイヌナズナを $50 \mu \text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ の弱光から $1000 \mu \text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ という強光まで播種時からさまざまな一定の光条件下で生育させると、光が強くなるに従って、開花日までの日数が短くなりかつ開花時の植物体サイズが小さくなるという結果を申請者は得た。通常では、シロイヌナズナは約 1 ヶ月、ロゼットの直径約 5cm で開花するが、播種時から $1000 \mu \text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ で生育させると約 10 日でロゼットの直径約 0.5cm の段階で開花することを申請者は発見した。また、光が強くなるに従って、tAPX の活性も急激に増加した。しかし、sAPX の活性に変化は見られなかった。以上から、光ストレスによって光合成系に生じる oxidative stress が開花を促進しているという新しい知見を申請者は提案した。これまでは、blue light や far red など光の質が開花に関与していると考えられてきたが、光の強さも oxidative stress を介して開花に関与しているという本研究での提案は、新しい知見である。また、グロースチャンバーで播種時からコンスタントに $1000 \mu \text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ という強光で植物を生育させた実験はこれまでにほとんどないこと ($1000 \mu \text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ という強光が可能な特殊なグロースチャンバーが平成 12 年度に低温科学研究所に設置されたことで可能となった)、sAPX と tAPX を分離して活性を測定したこと、野生型のシロイヌナズナが播種後 10 日でロゼット直径 0.5cm の段階で開花することの発見、など本研究により新たに発見された現象と得られた知見は生物学的にみて非常に興味深いものである。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、また研究者として誠実かつ熱心であり、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ申請者が博士（地球環境科学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。