氏名・（本籍）	丹野憲昭（たんのあき）
学位の種類	博士（理学）
学位記番号	理第1005号
学位授与年月日	平成5年1月27日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
最終学歴	昭和46年3月 東北大学大学院理学研究科 （修士課程）生物学専攻修了
学位論文課目	ヤマノイモ属植物の成長，特に休眠におけるジベレリンの作用
論文審査委員	（主査） 教授 駒嶺穆　教授 四釜慶治 助教授 福田裕穂

論文目次

序論

第一章　ヤマノイモ属植物におけるジベレリン誘導休眠の性質

1．まえがき

2．材料と方法

3．結果

1）ナガイモのムカゴにおけるジベレリン誘導休眠

2）種々のジベレリンによる休眠誘導効果

3）ナガイモのムカゴにおけるジベレリン生合成阻害剤処理の作用

4）他種のムカゴの発芽へのジベレリン処理およびジベレリン生合成阻害剤処理の作用

5）いろいろな種の地下器官へのジベレリン処理およびジベレリン生合成阻害剤処理の作用

6）ヤマノイモにおけるムカゴ，地下器官，種子の間でのジベレリン反応性の違い

4．考察

5．文献

6．図表
第二章　ナガイモの生活環におけるジベレリンの作用
1．まえがき
2．材料と方法
3．結果
1）生活環におけるジベレリンの作用
2）茎の伸長に対するジベレリンとジベレリン生合成阻害剤の影響
4．考察
5．文献
6．図表
第三章　ヤマノイモ属の内生ジベレリン
1．まえがき
2．材料と方法
3．結果
1）ナガイモのムカゴの内生ジベレリンのガスクロマトグラフィー／マススペクトロメトリーによる同定
2）ヤマノイモ属の内生ジベレリン
3）ナガイモの生活環における諸器官の内生ジベレリンの変動
4）ナガイモの異なる休眠状態にあるムカゴの内生ジベレリン含量
4．考察
5．文献
6．図表
結語
謝辞

論 文 内 容 要 旨

序論

植物ホルモンのひとつであるジベレリン（GA）は，他の植物ホルモンと同様に多様な作用をもっているが，特徴的な作用として休眠打破作用がある。しかし，本論文の研究で用いるヤマノイモ属をはじめとするいくつかの種では，他の多くの種の場合とは反対に，GA処理により発芽が抑えられ休眠が誘導される（GA誘導休眠，GA-induced dormancy)。また自然状態の休眠も内生GAによって惹き起こされていることが推定されている。このようなGA誘導休眠に関しては，その機構の生理的な面をはじめとして，内生GAがどのようにかかわっているか，このような特異的と考えられる性質がどのような植物に見られる現象なのかなど，未解明のことが多い。

本論文の研究ではGA誘導休眠の基本的な性質を，いろいろなレベルでの研究に取り扱いが容易なヤマノイモ属のナガイモのムカゴについて調べ，次いでそれが属に普遍的であるかどうかをヤマノイモ属の他の種について研究し，さらに，それらの性質を種子や地下器官と比較した（第一章)。次に休眠期だけに限らず生活環の回転に際してのGAの作用を調べ（第二章），最後にGA誘導休眠の機構の解明には欠くことができない内生GAの同定をナガイモのムカゴについて行い，ガスクロマトグラフィー／マススペクトロメトリー（GC／MS）により8種類とガスクロマトグラフィー／選択イオンモニタリング（GC／SIM）により1種類のGAの同定を行った(第三章)。

今回のような研究は，単にGA誘導休眠の機構の理解に資するばかりでなく，未だ不明な点が多いGAの作用機構などの面の解明にも資すると考えられる。さらに，熱帯諸地域や東南アジアの広い範囲で食料および生薬資源とされているこの属の多くの種の利用方法の面での問題点の改善にも資すると思われる。

第一章

ヤマノイモ属の9種のムカゴ，8種の地下器官，1種の種子，のいずれの種のいずれの器官においても，誘導の程度は種によって器官によって異なるものの，GA誘導休眠が観察され，GA誘導休眠がヤマノイモ属に普遍的な性質であることが明らかにされた。これらの種のムカゴや地下器官の休眠がGA生合成阻害剤処理によって打破されることから，自然状態の休眠の誘導にも内生GAが関与していることが考えられた。GA生合成経路の3 β水酸化反応の阻害剤であるprohexadioneもナガイモのムカゴの休眠を打破したことはムカゴの休眠誘導にGAの3 β水酸化反応または3 β水酸基を有するGAが必要であることを示唆した。ナガイモのムカゴに対するGA1，GA3，GA4の休眠誘導効果を比べたところ，GA4が他のGAより3－10倍効果的だった。これらのことからヤマノイモ属の休眠誘導に3 β水酸基を有するGA4がより深く関わっている可能性が明らかになった。

第二章

GA 誘導休眠以外に GA が，ヤマノイモ属植物の生活環の回転の中でどのような作用があるか調べるために，成長中のナガイモに GA を処理しその後の生活環の過程における変化を追跡した。GA は茎や花梗の伸長を促進し，葉の形を細長くし，他の植物の場合と同じように，伸長促進効果を示した。また，GA 生合成阻害剤 uniconazole は伸長を抑制したことからナガイモの茎の伸長に内生 GA が関与していることが明らかになった。結局，ヤマノイモ属においては休眠器官などの休眠が，他の植物とは異なる GA 反応性をもつことがわかった。

第三章

ヤマノイモ属の内生 GA の動態を調べるうえで，まず，内生 GA の同定をすることが不可欠である。51.2 kg のナガイモの成熟した休眠状態のムカゴから，GC／MS のフルスペクトルと Kovats retention index(KRI)によって，GA 4，GA 9，GA12，GA19，GA20，GA24，GA36，GA53の 8 種類の GA の同定に成功した（表 1)。このことは GA 1 を活性型 GA とする13水酸化（13−OH）GA 合成経路と GA 4 を活性型 GA とする非水酸化（13-H)GA 合成経路が機能していることを示唆している（図 1)。また，GA 9 と GA36 を内生していることは，13-HGA 合成経路は GA 9 を経由する経路と GA36 を経由する経路の二つの経路から成ることを示唆している。さらに，他の 7 種，1 品種，4 系統の茎葉，ムカゴ，地下器官の内生 GA の抽出，精製を試み，ヤマノイモムカゴからは GA19，カエデドコロの茎・葉からは GA 4，GA12，GA19，GA24，GA 53の同定に，それらの GC／MS のフル・スペクトルと KRI によって，成功した（表 2)。これは，13-HGA 合成経路がヤマノイモ属の栄養器官においても普遍的に存在し，機能している可能性を示している。

ナガイモの生活環の回転の中で，内生 GA 1 とその前駆 GA である GA19 および GA53，GA 4 とその前駆 GA である GA24 について調べたところ，他の植物の場合と同様にナガイモでも，GA 1 が茎の伸長成長など成長の促進に関与し，GA 4 は茎・葉の成長に関与しているが，GA 4 は休眠の誘導にも関与していることが示唆された。

異なる休眠状態にあるナガイモのムカゴの GA 様物質の含量を調べたところ，GA 4 様物質は，最も休眠の深い採取直後のムカゴで多く，低温処理によって休眠から完全に醒めたムカゴでは，1／5に減少した。このことは，前述したように，GA 4 とその13-H 経路がムカゴの休眠誘導に関与していることを示唆している。

結語

本研究によって，ヤマノイモ属植物のムカゴ，地下器官，種子の休眠器官には GA による発芽抑制（GA 誘導休眠）が普遍的に見られ，自然状態で誘導される休眠にも内生 GA が関与していることが明らかになった。さらに，ナガイモのムカゴの発芽や茎の伸長成長にも内生 GA が関与していることが明らかになった。これらのことから，ヤマノイモ属植物には GA による成長抑制

系とGAによる成長促進系が存在し，生活環の回転の中でおこる成長の抑制と促進は，この相反する二つの系の相対的強度に依るという仮説が考えられる。他の植物にもこれらの相反する二つの系が存在すると予想されるが，これらの植物ではGAによる成長促進系の強度が相対的に強いために，GAによって休眠が打破されると考えられる。

本論文の実験から，ヤマノイモ属植物では，成長の促進にはGA 1とその13-OHGA経路が，成長の抑制にはGA 4とその13-HGA経路が，それぞれおもに関与していると考えられた。しかし，これらのGAが休眠や発芽，伸長成長の開始を直接もたらしているのか，または，内生成長阻害物質を介して休眠の制御に関与しているのかどうかは，今のところ明らかでない。生活環の進行にともなって各々の器官のGAに対する感受性が変化する可能性も否定できない。

なお，本研究で述べられたGA処理によるヤマノイモ属植物の休眠誘導法は，西アフリカやカリブ海などの熱帯諸地域でいまだ重要な食料資源となつている“ヤムイモ”と俗称されているこの属の植物の地下器官のための，γ線，冷蔵，化学薬品などによる方法に比べ，最も安全で安価であり，かつ小規模での保蔵に取入れることが可能な方法として応用できると考えられる。

表1．ナガイモの休眠ムカゴからメチル，メチル・トリメチルシリル誘導体として同定されたジベレリン

t_R on ODS-HPLC (min)	t_R on $N(CH_3)_2$-HPLC (min)	Kovats index	Prominent ions (Abundance)	Identity (Kovats index)
30-32	30-32	2487	M⁺418(100) 403(22) 375(47) 359(13) 301(12)	GA_{20} MeTMS (2489)
38-39	36-40	2595	M⁺462(22) 430(75) 402(55) 312(57) 284(100)	GA_{36} MeTMS (2599)
41-44	46-48	2596	M⁺462(18) 434(100) 402(35) 375(48) 374(44)	GA_{19} MeTMS (2596)
47-50	12-14	2503	M⁺448(100) 389(33) 251(25) 241(31) 235(19)	GA_{53} MeTMS (2500)
	18-22	2514	M⁺418(45) 289(100) 284(89) 225(45) 224(31)	GA_{4} MeTMS (2509)
51-56	30-32	2322	M⁺330(20) 298(100) 286(16) 270(46) 243(23) 227(35)	GA_{9} Me (2322)
	48-52	2448	M⁺375(30) 342(58) 314(100) 286(79) 226(72)	GA_{24} Me (2450)
81-83	—	2346	M⁺360(4) 328(29) 300(100) 285(23) 240(25)	GA_{12} Me (2348)

表2．ヤマノイモとカエデドコロからメチル，メチル・トリメチルシリル誘導体として同定されたジベレリン

t_R on ODS-HPLC (min)	t_R on $N(CH_3)_2$-HPLC (min)	KRI	Prominent Ions (Abundance)	Identity (KRI)
D. japonica (bulbils)				
24-27	42-45	2596	M⁺462(9) 434(100) 402(38) 375(61) 374(66)	GA_{19} MeTMS (2597)
D. quinqueloba (shoots)				
30-33	30-36	2593	M⁺462(9) 434(100) 402(19) 375(32) 374(42)	GA_{19} MeTMS (2593)
38-42	8-12	2501	M⁺448(100) 389(39) 251(22) 241(31) 235(21)	GA_{53} MeTMS (2500)
	16-18	2504	M⁺418(35) 289(14) 284(95) 225(58) 224(63)	GA_4 MeTMS (2505)
	24-28	2447	M⁺375(2) 342(40) 314(100) 286(95) 226(93)	GA_{24}Me (2447)
44-47	8-12	2344	M⁺360(2) 328(27) 300(100) 285(15) 240(22)	GA_{12}Me (2344)

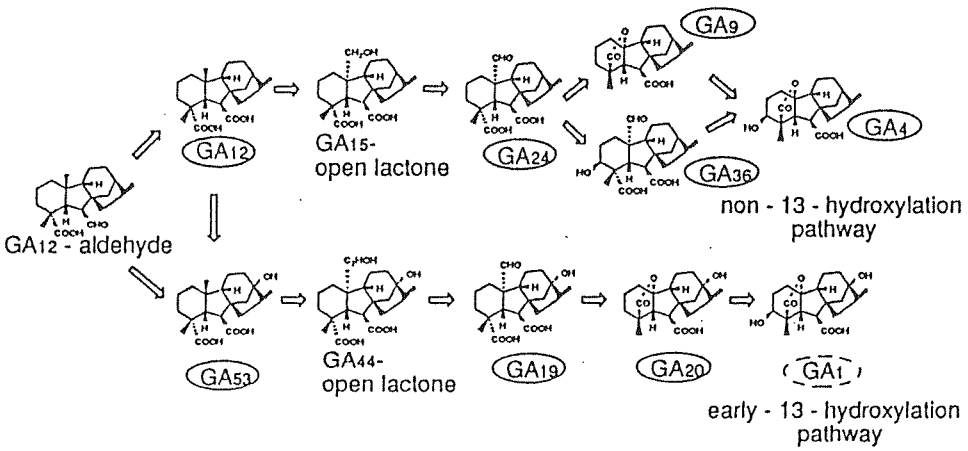


図1．ナガイモのムカゴの推定されるジベレリン生合成経路，実線と破線で囲まれたGAはそれぞれGC／MSとGC／SIMで同定された。

論文審査の結果の要旨

植物ホルモンの1種，ジベレリン（GA)の特徴的な作用のひとつとして休眠打破作用があるが，ナガイモ（ヤマノイモ属）のムカゴでは，他の多くの植物の場合とは反対に，GA処理により休眠が誘導される（GA誘導休眠)。本論文はこれまで殆ど解明されていないヤマノイモ属植物のGA誘導休眠の生理的な機構を明らかにしようとしたものである。

著者は，はじめにヤマノイモ属の9種のムカゴ，8種の地下器官のいずれの器官においても，GA誘導休眠が観察され，GA誘導休眠がヤマノイモ属に普遍的な性質であることを明らかにした。さらに，これらの種のムカゴや地下器官の休眠がGA生合成阻害剤処理によって打破されることから，自然状態の休眠の誘導にも内生GAが関与していることを示唆した。また，ナガイモのムカゴに対するGA1，GA3，GA4の休眠誘導効果を比較し，GA4が最も効果的だったことから，ヤマノイモ属の休眠誘導にGA4がより深く関わっている可能性を明らかにした。

次に著者は，内生GAが，ナガイモの生活環の回転の中で，茎などの伸長成長に，他の植物の場合と同様に，関与していることを明らかにし，ヤマノイモ属植物にはGAによる成長抑制系とGAによる成長促進系が存在し，生活環の回転の中で起こる成長の抑制と促進は，この相反する二つの系の相対的強度に依るという仮説を提出した。

最後に，著者はこの仮説を実証するために不可欠な内生GAの同定を51.2 kgのナガイモのムカゴから試み，GC／MSとGC／SIMによって，GA1，GA4，GA9，GA12，GA19，GA20，GA24，GA36，GA53の9種類のGAの同定に成功した。さらに，他の5種，2系統のヤマノイモ属植物からGA4，GA12，GA19，GA24，GA53の同定に成功し，ヤマノイモ属の栄養器官においてはGA1を活性型GAとする13水酸化GA合成経路とGA4を活性型GAとする非水酸化GA合成経路が普遍的に存在し，機能していることを示唆した。さらに，ナガイモの生活環における内生GAの動態やムカゴの休眠状態の変化に伴う内生GAの動態を調べた結果などから，発芽や伸長成長などに関与するGAによる成長促進系は芽や茎に存在し，GA1がその活性型GAであること，および休眠誘導などに関与するGAによる成長抑制系はムカゴに存在し，GA4がその活性型GAであることが示唆された。

ここに得られた結果の多くは新知見であり，いずれもこの分野の研究の進展に重要な示唆をあたえるものであり，かつ本人が自立して研究活動を行うに充分な高度の研究能力と学識を有することを示すものである。よって，丹野憲昭提出の論文は博士（理学）の学位論文として合格と認める。