

氏 名  
授 与 学 位  
学 位 授 与 年 月 日  
学 位 授 与 の 根 拠 法 規  
研 究 科, 専 攻 の 名 称

お じま くに ひ  
小 島 邦 彦  
農 学 博 士  
昭 和 35 年 3 月 25 日  
学 位 規 則 第 5 条 第 1 項  
東 北 大 学 大 学 院 農 学 研 究 科  
博 士 課 程 ( 農 芸 化 学 専 攻 )

学 位 論 文 題 目

分 離 小 麦 根 の 生 長 促 進 物 質 に 関 す る 研 究

指 導 教 官  
論 文 審 査 委 員

東 北 大 学 教 授 藤 原 彰 夫  
東 北 大 学 教 授 藤 原 彰 夫  
東 北 大 学 教 授 志 村 憲 助  
東 北 大 学 教 授 植 村 定 治 郎  
東 北 大 学 教 授 輪 田 潔

## 論文内容要旨

根端組織培養の史的発展の跡をたどってみると、概括的に生長促進物質の検索とその要求性の問題に重点がおかれて生物学者独自の立場から発展されてきたと言ってよい。根端組織培養に関しては、現在チアミン等二三のビタミンB群物質が多くの双子葉植物根に共通な生長促進物質であることが明らかにされ、その無限生長の可能性も証明されている。したがってその限りでは、母体種子の栄養効果を完全に断った培養組織塊を clone として自由に供給できる段階に達している。

しかし農業上重要な穀作物を 抱括する単子葉植物の根端分離培養に関しては研究報告も少く、その生長促進物質が殆んど未見であって、長期間にわたる分離培養も不可能の段階にある。この意味で穀作物根の生長制限因子と考えられている生長促進物質に関する課題は、現組織培養分野における一大焦点となっており、生理学的意義からは勿論農学的应用面からも重要な問題と考えられる。

この研究の立場は、代表的単子葉穀作物である小麦の幼植物根に取材し、分離培養過程においてそれが要求する生長促進物質を明らかにすることを当面の目的とし、さらに得られた物質とその作用性を介在させて分離培養根の老化の原因を説明しようとするものである。

本文には、分離小麦根に対するペプトンの生長促進物質をめぐって、アミノ酸類、トリプトファン及びβ-インドール醋酸にいたるまでの実験的推移が記述され、分離根組織におけるこれら物質相互の代謝的連関性と培養時における光照射の意義について吟味された上で、生体内のオーキシン代謝の消長を以て分離根の老化現象についての説明が与えられている。なおこれら生長促進物質の外部供給によって相当の長期間にわたり分離培養が可能とされるのであるが、この事実は種子栄養の残余効果を極端に稀釈した根端材料を獲得できるという点で、少なくとも分離小麦根に関しては今後作物栄養生理学的或は肥料学的应用実験への道が開かれたものと信ずる。

小麦幼植物根端を分離して無機塩、糖及びビタミンB群物質を含有する基礎培地に無菌培養を最初に試みたが、従来の研究者が指摘しているように、接種後 2~3 週間で完全に細胞の分裂機能が失活し、約 20 糎を限度として生長を停止するにすぎない。このような外圍培養条件について検討を加え、さらに培地にペプトンを添加した結果生長が著しく増進された。すなわち主軸は 1 日 1~1.5 糎の割合で生長を続け 3 カ月後には 1 米以上の長さに達し、同時に側根の著しい形成と発達を観察された。代謝面においてもこの量的生育増進効果に対応して、呼吸能の増加と密接な関連の下に養分吸収の増大、体蛋白質の活発な合成等が認められた。

この天然複合物質であるペプトンの有効成分を明らかにするにあたって、まずペプトンに物理的或は化学的処理を施して各成分に分離或は分解を試み、その促進効果における消長を観察した。すなわちこの有効成分は水溶性でアルコールに難溶、エーテルに不溶な化学性を有し、またセロファン膜で析出し得る比較的低分子のものであり、酸加水分解により容易にその有効性を失した。

促進効果に関してペプトンはビール酵母エキス、ビタミンB群物質によって置換され得ず、その至適濃度 300mg/l は NO<sub>3</sub>-N の存在によって左右されない。また酸加水分解によって作成したカゼイン水解物も、ペプトンに比して著しく劣ること等が観察された。

他方ペプトン本来の性質からその有効成分に一応アミノ酸類を想定して、ペプトン所含のアミノ酸 13 種の有効性についてしらべた。その結果、屋光色蛍光灯による照射条件において、トリプトファン (TTP) が 0.5~1.0mg/l の濃度で、遮光暗所培養条件下におけるペプトンに匹敵する促進効果を示すことが見出された。

上記ペプトンの有効成分の諸性質並びにその至適濃度の対比によって、ペプトンの分離小麦根に対する促進効果に関しては、その構成成分である TTP が主要な役割をなしていることが推定された。

TTP は加熱或は光に対して比較的不安定なアミノ酸であるが、その促進効果は培地滅菌時の autoclaving 並びに培養時の光照射による培養液中における同化合物の分解生成物によるものではなく、TTP それ自体の作用であることが明らかにされた。また異なった代謝経路において TTP に関連する数種の化合物中、 $\beta$ -インドール醋酸 (IAA) が  $10^{-8}$  モルでペプトン或は TTP と同様の促進効果を有することが観察され、さらに分離根組織において TTP から IAA への酵素的転換のおこり得ることが証明された。

以上のことから Roberts & street (1955) の見解に相違して、培地に添加された TTP は直接分離根に吸収され、生体内において IAA の前駆体として働くことによってその特異的促進効果を発揮することが推定されるに至った。

次に TTP 或は IAA の促進効果が光照射条件下において発揮されるという事実に関して検討が加えられた。すなわち光照射と両化学物質の分離根に対する形態的作用様式の類似性、光照射による分離根の両物質の濃度に対する感受性における増大等の諸現象の観察から、照射が生体内のオーキシンレベルを維持または増大せしめる方向に働き且つその形成系より破壊系に作用するという想定がたてられ、培養時の光照射が分離根組織の IAA 酸化酵素能に及ぼす影響について調査された。in vitro の実験によって、照射条件下における分離培養根は遮光下におけるものより IAA 酸化酵素能が著しく低く、その主要な原因が同酵素に対する阻害物質の形成にあることが推定された。さらに IAA を分離根に強制吸収させた in vivo の実験によっても同一の結果が得られ、ここに実際の分離培養の過程において培養時の光照射はその作用機構は異なるが TTP 或は IAA の外部供給と同一の意義を有するものであることが推定された。したがって照射条件下に IAA を供給した場合には、光が生体内におけるオーキシンの酸化作用を抑制すると共に外部からの IAA 供給と相俟って、そのレベルを至適状態に維持することによって長期間にわたる生長が可能であることが示唆された。このことは逆に分離根における老化の原因が、培養過程にともなう IAA 酸化酵素能の増大にあることを意味し、結局遮光培養条件下における分離根に対しては、年令の増加にともなうオーキシンレベルの低下を招来し、生長調整の均衡に攪乱が生じて生長停止の結果がもたらされるとの説明が与えられた。

しかしペプトンは TTP 或は IAA と異なり、遮光条件下においても促進効果を発揮し得る。このことから分離根のオーキシン代謝に関して、ペプトンの TTP 以外の窒素化合物を中心とした構成成分の外部供給が、光照射と結果的に同一の役割を演じているのではないかということが今後の問題として提起された。

植物組織培養一般において、その生長因子としてビタミン B 群物質を要求するのが根組織であり、オーキシンを要求するのが形成層或は貯蔵器官のカルス組織であるというのが通則とされているが、本研究の立場は単子葉植物殊に穀作物根一般の分離培養における老化現象に対して、特に生体内の破壊系を考慮したオーキシン代謝の重要性を強調するものである。

## 審査結果要旨

植物の切断根端の組織培養法については、古くから研究されていて、双子葉植物については或る程度の成功が見られ、その生育には二三のビタミンB群を要求することも知られている。しかし主要穀作物である単子葉植物については未だ組織培養に成功した例は無いといえる。著者はこの点に鑑みて小麦根を用いて組織培養の実験を重ねて、遂に基礎培地にペプトンを添加することによって、3ヶ月以内に1Mに達する生長をみるに到った。かつペプトン効果はビタミン類によらず、又窒素に影響されず、ある種の生長促進効果であることを認め、更に進んでペプトン中に存在する生長促進物資を検索して、アミノ酸の一種であるトリプトファンであることを確認した。しかも昼光色蛍光灯照射下において、トリプトファンが遮光暗所におけるペプトンに匹敵する生長促進効果を有することが知られ、又トリプトファンの滅菌時或いは照射下における分解生成物が作用するのではなく、トリプトファンそれ自体の作用であることも発見された。更にまた異なった代謝経路においてトリプトファンに関連する数種類の化合物の中で、 $\beta$ -インドール醋酸がほぼ同様な効果を有することが知られ、分離根組織中においてトリプトファンよりインドール醋酸への酵素的転換のおこり得ることが証明された。

次の問題としてトリプトファンの生長促進効果が光照射条件下において発揮されるという事実は、照射が生体内のオーキシンレベルを維持、増大せしめる方向に働き、且つその形成系より破壊系により強く働くことも証された。そして照射条件下では遮光下よりもインドール醋酸酸化能が著しく低く、その原因が阻害物質の形成にあることが推定された。

このことは照射下で、これらの物質を供給すると光が生体内におけるオーキシンの酸化作用を抑制して、そのレベルを至適状態に維持することを意味し、よって長期間に亘る生長が可能であることが示された。このことは逆に分離根の培養過程の進行に伴うインドール醋酸酸化酵素能の増大がオーキシンレベルの低下を招いて老化現象を起すと説明される。

これらの一連の研究は、単に単子葉植物根端の組織培養に成功しただけでなく、単子葉植物根の伸長の生理を明らかにしたものであって、植物栄養生理学中、著しい成果をあげたのみでなく、農業技術に対しても大きい示さを与えるものであって、著者は農学博士の学位をうくる価値ありと認められる。