

氏名・(本籍)	つる 鶴	み 見	せい 誠	じ 二
学位の種類	理	学	博	士
学位記番号	理博第	549	号	
学位授与年月日	昭和53年1月25日			
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当			
研究科・専攻	東北大学大学院理学研究科 (博士課程)生物学専攻			
学位論文題目	根の生長制御系に関する研究			
論文審査委員	(主査)			
	教授	柴岡孝雄	教授	小西和彦
			助教授	和田俊司

## 論 文 目 次

### I 根の生長解析

1. ソラマメ根切片の生長解析
2. ソラマメ芽ばえの根の生長解析

### II オーキシン輸送系

1. ソラマメ根切片におけるオーキシン(I A A)の移動
2. ソラマメ芽ばえにおけるオーキシン(I A A)の移動

### III 総合討論及び結論

### IV 謝 辞

### V 文 献

## 論文内容要旨

子葉鞘や茎については多くの研究がなされているが、根に関する報告は少なく、いくつかの問題が未解決のまま残されている。本論文では indoleacetic acid ( I A A ) の移動の問題と、 I A A による根の生長阻害の問題について、ソラマメ ( *Vicia faba* L. cv. Sanukinagasaya ) を用いて得られた知見を述べる。

### I オーキシン輸送系

#### 1. 問題の背景

1930年代には、根における I A A の移動の極性は茎と同様に求基的であると考えられていた。そして、茎及び根の先端で作られた I A A は求基的に移動し、重力刺激を受けると下側 ( 重力方向 ) に移動し、茎では下側の生長が促進されるために上向きに屈曲し ( 負の *geotropism* )、根では下側の生長が阻害されるために下向きに屈曲する ( 正の *geotropism* ) と考えられていた。1963年頃から、放射性同位元素でラベルした I A A が実験に用いられるようになり、茎は I A A の移動に関し、求基的極性を持つことが確められた。ところが、根では、 I A A の移動の極性は求頂的であるという報告がされたため、根の *geotropism* における I A A の役割に疑問が持たれるようになった。

#### 2. I A A の逆方向の移動

Ohwaki and Tsurumi ( 1976 ) はソラマメの芽ばえの根の伸長帯における I A A -  $^{14}C$  の移動を調べ、オートラジオグラフ等から、根の外側 ( 皮層あるいは表皮 ) は求基的極性を持ち、中心柱は求頂的極性を持つことを示し、求基的に移動する I A A が根の生長を制御していることを示唆した。

根の伸長帯の中心柱における I A A の求頂的移動が、子葉鞘等における I A A の極性移動と共通な性質を持つことは既に知られているが、根の外側における求基的な移動も以下の点で極性移動と共通な性質を持つことが、本研究によって明らかとなった。即ち、温度依存性であること。 I A A の極性移動の阻害剤である 2, 3, 5 - triiodobenzoic acid によって阻害されること。 I A A -  $^{14}C$  と同じ条件で与えられた glycine -  $^{14}C$  はほとんど移動しなかったことから、 I A A に特異的な移動と思われること。又、根切片に吸収された I A A は、 I A A -  $^{14}C$  を含む寒天片 ( donor ) を plain の寒天片と取り替えることにより、 donor と切片との間の濃度勾配を除去しても、 donor があつたときと同じように移動したことである。

I A A の求基的な移動は、 I A A 処理後、早い時期に、又短い切片を用いた時に最もよく観察される。根における I A A の移動の極性は求頂的であるという従来の報告においては、長い切片が用いられ、又長時間での移動量が測定されているために、求基的な移動を見出しにくかったのだと思われる。

求基的に移動する IAA が長い距離を移動しない原因は、根の外側を通過して求基的に移動した IAA が中心柱に求心的に移動するためであると著者は推論した。この根拠は、芽ばえの根に IAA-<sup>14</sup>C を与えた場合、処理後 20 分では処理個所より基部においては、表皮あるいは皮層と思われる部分にのみ放射活性が認められ、中心柱には認められなかった。そして、時間の経過とともに、中心柱でも放射活性が認められるようになったことである。中心柱は求頂的極性を示す組織であるので、中心柱を通過して求基的に移動したとは考えにくい。

### 3. IAA の移動と geotropism

根の geotropism においては、重力刺激を感受するのは根冠であり、その根冠から情報伝達物質が伸長帯へ求基的に移動し、伸長帯で屈曲反応がおこることが知られている。ソラマメでは重力刺激を受けた根端の下半は上半より多くの IAA を拡散することが報告されている (Goto and Nagao 1971)。又、先に述べたように、根の生長を制御している皮層及び表皮において、IAA の求基的な極性移動が認められた。従って、geotropism の情報伝達物質が IAA である可能性は十分にある。IAA の求基的な移動は 1 cm を越えることはないが、根の先端から伸長帯まで達するには十分である。

### 4. 根端 IAA の由来

根に IAA が存在することは現在では証明されている。根の先端に存在する IAA が地上部から移動したものであるかどうかを検討するため、IAA-<sup>14</sup>C を子葉と上胚軸から与え、その移動を調べた結果、子葉から与えた方が根に多く移動することが分った。子葉に与えられた IAA は篩管を通過して下胚軸に移動し側根の原基に蓄積した。又、根の伸長帯の基部まで移動し、伸長帯では中心柱の求頂的極性移動によって先端まで達し、伸長帯全体にわたり皮層にも拡散した。一方上胚軸に与えられた IAA は中心柱の柔細胞を求基的に極性移動し下胚軸に達したが、根への移動量は少なかった。

IAA は根の先端で作られるという報告もあるが、子葉に与えた IAA は 2 時間以内に根の先端まで達し、先端に蓄積する傾向がみられたこと、又 8 時間後においても 20~30% は IAA のままであったことから、子葉が根端に存在する IAA の供給源である可能性もあることが分った。

## II 根の生長解析

### 1. 根と茎の比較

根は茎とは異なり、水及びイオンを吸収する組織なので、根の生長は茎とは違った機構を持っていることも考えられる。そこで根切片の生長を解析した。ソラマメ根の伸長しつつある細胞の内部浸透価は約 0.5 M であり、細胞壁は 15% 弾性的にひきのばされている。根切片の生長と茎切片の生長との相違を明らかにするため、差動変圧器を利用した生長計を用いて、ソラ

マメ根切片と表皮を除いたエンドウ (*Pisum sativum* L. cv. Alaska) 茎切片の生長に対する浸透価, pH, イオンの影響を調べたが, 根切片の生長は茎切片の生長と種々の点で似ていた。根切片の伸長生長に対する外液浸透価の影響は茎と似ており, 外液と内部浸透価の差が10%以上低下すると生長は一時的に停止した。根切片の生長は茎と同様に中性及び高いpHによって阻害され, その阻害は可逆的であった。根切片においても茎の場合より少なかったが, 酸生長効果がみられた。根切片の生長は茎と同様に種々の2価イオンによって阻害された。従って, 根の生長は茎の生長と同様な機構で考えることができると思われる。

## 2. IAAによる生長阻害

根の生長は茎とは反対に, 一般にオーキシンを与えることにより抑制される。Thimann (1937) は茎と根のオーキシンの反応性の違いを感受性の違いによって説明した。即ち, IAAの最適濃度が茎では $10^{-5}$  M, 根では $10^{-10}$  Mにあり, それより高い濃度では, いずれの場合も生長が阻害されるという説である。ところが, ソラマメ根切片の生長は $10^{-10}$ ,  $10^{-9}$  MのIAAによって影響されず,  $10^{-8}$  M以上のIAAにより約10分のlagの後に阻害され, いわゆる低濃度IAAによる生長促進効果は観察されなかった。茎においても高濃度IAAによる生長阻害は, 処理後数時間後にみられるものであり, 処理直後においては生長が促進される。従って, 根と茎とのIAAに対する反応の違いは, 短時間でみた場合, 濃度に依存しない。IAAは側根の形成, 及び形成層の発達を促進する。この面からみればIAAはpromoterであるが, 根の伸長生長に関してはinhibiterであると著者は考える。

## 3. 酸生長効果

子葉鞘や茎では, IAAによるばかりでなく, 低いpHによっても生長が促進されることが知られている。これは酸生長効果と呼ばれる現象である。Hagarら(1971)はIAAが原形質膜に存在する $H^+$ ポンプに作用し,  $H^+$ を細胞壁に放出することにより, 細胞壁中のpHを下げ, その結果細胞壁の酵素が活性化され, 細胞壁がゆるみ, 生長の促進がおこるという機作を提出した。その後, IAA処理により, free space内のpHが低下する, 又IAA処理によるばかりでなく, 低いpHによっても細胞壁がゆるむことが報告され, Hagarらの説を裏づけた。もし, 根においても, IAAによって $H^+$ の分泌がおこるならば, IAAの効果と, 低いpHの効果との間に類似性がみられるはずである。ところが根においては, 酸生長効果がみられたにもかかわらず, IAA処理によって生長阻害のみが観察された。又, 中性のpHによって根の生長が抑えられているときIAA処理をすると, 根の生長は更に抑制された。従って, 根においては, Hagarらの $H^+$ 分泌説はあてはまらないことが明らかとなった。このことは根と茎とではIAAのreceptorそのものが違っていることを示唆する。

## 4. 根の生長の特殊性

根の生長と茎の生長は先に述べたように, 種々の点で共通な性質を持っていたが, 異なっている点もいくつかみつかったので, それを以下にまとめる。根では茎に較べて酸生長効果が小

さく、酸による傷害を受けやすい。中性及び高い pH による根の生長阻害は高イオン強度によって消失する。根の生長に対する  $\text{Ca}^{++}$  による生長阻害は茎の場合より、すみやかに回復する。IAA による子葉鞘や茎の伸長促進の作用機作に関する  $\text{H}^{+}$  分泌説は根にはあてはまらない。根は  $\text{H}_3\text{BO}_3$  欠乏症を示しやすい。 $\text{H}_3\text{BO}_3$  を欠乏させ、根の生長速度が低下したとき  $\text{H}_3\text{BO}_3$  を添加すると、40 分の lag の後に伸長が促進されることがあった。これは  $\text{H}_3\text{BO}_3$  が細胞分裂に有効であるばかりでなく、根の伸長生長にも作用していることを示している。

以上の根と茎との相違点が相互にどのように関連しているか、分っていない。これらの相違点を手がかりにして、根の生長の特殊性を追求することは今後の課題である。

### III ま と め

1. ソラマメ根の伸長帯においては、IAA の移動に関し、根の外側（皮層あるいは表皮）は求基的、中心柱は求頂的極性を持つ。
2. 求頂的な移動ばかりでなく、求基的な移動も、子葉鞘における IAA の極性移動といくつかの共通な性質を持つ。従って、geotropism における IAA の役割は再評価されるべきである。
3. 求基的に移動する IAA は長い距離を移動しないが、これは求基的に移動する IAA が中心柱へ求心的に移動するためであると推論される。
4. 根端に存在する IAA の供給源としては、根の先端と子葉の 2 つが考えられる。
5. ソラマメ根切片の生長に対する、浸透価、pH、イオンの影響は、エンドウの茎切片の場合と似ていた。
6. ソラマメ根においては、いわゆる低濃度 IAA による生長促進効果は認められない。従って、IAA は根の伸長生長に対しては inhibitor であると考ええる。
7. Hagar らの IAA による  $\text{H}^{+}$  分泌説は根にはあてはまらない。従って、根と茎では IAA の receptor が異なっていることが示唆される。
8. 根の生長と茎の生長との相違点がいくつかみつかった。

## 論文審査の結果の要旨

未だ解明されていない植物の根の生長制御機構を明らかにするため、本研究においては二つのアプローチを行った。

ソラマメの幼根およびその切片を用い、自作した高感度の自記生長計により生長解析を行ない、大要次のことが明らかになった。外液浸透価を高めると生長は低下し、水にもどすと急速な回復をする。いわゆる *stored growth* を示す。外液の pH 4 以下で生長は促進する。これらは茎の生長とほぼ同様である。Ca<sup>++</sup>などの2価カチオンで生長低下を示すが回復は早いこと、また、硼酸の伸長促進効果があるなどは茎の生長と違っている。最も顕著な茎との相違点はインドール酢酸 (IAA) に対する感度で、 $10^{-10}$ 、 $10^{-9}$  M では作用はなく、 $10^{-8}$  M 以上で抑制がみられ、促進はみられなかった。これらのことは根の生長制御機構が茎のそれと比較的本質的なところで違っていることを示している。

ソラマメの根における、および地上部から根へのオーキシン移動を IAA-<sup>14</sup>C を用い組織の放射能測定とオートラジオグラフにより明らかにした。従来報告されている放射能測定実験の結果は、オーキシンはもっぱら求頂的に移動することを示している。本実験においては短い切片で求基的移動も認められ、オートラジオグラフによると、前者は中心柱に通路をもつが、後者は皮層部を通路とし、1 cm 以下の距離で求心的に中心柱の通路に入ることがわかった。移動の温度依存性、2, 3, 5-triiodobenzoic acid での阻害から求頂、求基いずれもオーキシンの極性移動であると結論できた。芽生えを用い、子葉切除の切断面および上胚軸の切断面に IAA-<sup>14</sup>C を与え、放射能測定とオートラジオグラフによりその移動を調べた。子葉に与えた場合は2時間以内に中心柱を通り根の先端まで移動がみられた。伸長帯では皮層にも放射能がみられたが、これは上述の切片の実験結果から、伸長帯の求頂的極性移動で先端に達したオーキシンが皮層部を通る求基的極性移動になったものと思われる。上胚軸に与えた場合は下胚軸より先へ移動しにくかった。IAA-<sup>14</sup>C を切口から与えた芽生えから抽出し、薄層クロマトおよびカラムクロマトで分離した放射性物質を調べたところ、1/3 は free の IAA であり、2/3 は分子量約3万の物質であることがわかった。

上記の研究は著者が自立して研究活動を行うに必要な高度の研究能力と学識を有することを示しており、よって鶴見誠二提出の論文は理学博士の学位論文として合格と認める。