

氏名(本籍)	齋藤 力 (山形県)
学位の種類	博士(理学)
学位記番号	博甲第1078号
学位授与年月日	平成5年3月25日
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当
審査研究科	生物科学研究科
学位論文題目	Studies on the light-induced adventitious shoot formation in horseradish (<i>Armoracia rusticana</i>) (西洋わさびにおける光誘導不定芽形成の研究)
主査	筑波大学教授 理学博士 原 田 宏
副査	筑波大学教授 理学博士 渋谷 達 明
副査	筑波大学教授 理学博士 猪 川 倫 好
副査	筑波大学助教授 理学博士 鎌 田 博

論 文 の 要 旨

高等植物の繁殖形態としては、種子繁殖が一般的であるが、塊茎、塊根等による栄養繁殖を行う植物も多い。今回の実験に用いられた西洋わさびでは、根のところどころに不定芽が形成され、この不定芽によって繁殖することが知られている。また、自然環境下で生育している植物では、根は通常土壌中(暗黒下)にあるが、土壌が取り除かれて根が露出し、光に照射されるような条件下では、西洋わさびをはじめとする種々の植物において根で新たに不定芽が形成され、不定芽形成に対して光が重要な役割を演じていると考えられている。そこで、このような光誘導不定芽形成の機構について西洋わさびを用いて解析を行った。

まず初めに、この光誘導不定芽形成を解析するため、西洋わさびの根を切り取り、*invitro*で培養したところ、光照射下で不定芽形成が認められたが、その頻度は低く、実験材料としては適さなかった。一方、植物病原菌の一種である *Agrobacterium rhizogenes* が植物体に感染することによって形成される不定根である毛状根を用いて不定芽形成が起こるか否かを検討したところ、植物体の根と同様に光照射で不定芽が形成され、しかもその頻度は非常に高いことが明らかとなった。そこで、西洋わさびの根における光による不定芽誘導現象を、毛状根を用いて解析した。

毛状根からの不定芽形成には、毛状根が伸長成長していることが必要であったため、一定期間暗所で培養した毛状根を用いて光強度及び光照射時間の効果を調べたところ、光強度が強くなるにつれ、また光照射時間が長くなるにつれて不定芽形成頻度は上昇した。両者の積で表される照射量が一定となるように両者を変化させたところ、光照射時間の方がより大きな影響を持つことが明ら

かとなった。

次に、光受容体の一つであるフィトクロムの関与を検討するため、赤色光及び近赤外光を照射したところ、赤色光照射で不定芽形成が見られるが、赤色光照直後に近赤外光を照射すると不定芽形成は見られなかった。また、赤色光と近赤外光の効果は可逆的であったことから、フィトクロムの関与が示された。また、フィトクロム以外に光受容体が関与するか否かを検討するため、大型スペクトログラフを用いて単色光を照射し、作用スペクトルを作成した。その結果、近紫外光、青色光、赤色光の3ヶ所に極大を持つ曲線が得られた。さらに、これらの波長の光による不定芽誘導効果は、直後に照射した近赤外光により抑制されたことから、主要な光受容体はフィトクロムであり、青色光受容色素も何らかの関与をしていることが示唆された。

そこで、西洋わさび毛状根におけるフィトクロムの存在を調べたところ、I型フィトクロムの存在が確認された。次に、毛状根中でのフィトクロムの分布を調べたところ、基部側末端に多く、暗所での培養期間が長くなるにつれてその含量は増加した。フィトクロムのこのような分布は、毛状根における不定芽形成部位および不定芽形成頻度の経時的増加と一致していた。そこで、光誘導不定芽形成がフィトクロム含量の変化と密接に関わっていることを直接的に示すため、*Arabidopsis*のフィトクロム遺伝子を毛状根中で過剰に発現させたところ、不定芽形成頻度は上昇した。これらのことからフィトクロム含量の増加が光誘導不定芽形成にとって極めて重要な因子となっていることが示された。

次に、フィトクロムによる光受容の後に、光誘導不定芽形成に先だつて内生植物ホルモンの量的変化が起り、その結果として不定芽形成が引き起こされるのではないかと考え、毛状根に対する植物ホルモンの効果を検討した。一般的に不定芽形成を抑制することが知られているオーキシンを培地に添加したところ、極めて高濃度の場合だけ、明所下での不定芽形成を抑制した。一方、サイトカイニンを添加したところ、暗所であっても高頻度で不定芽形成が見られた。また、抗サイトカイニン剤を明所で添加したところ、光誘導不定芽形成が抑制された。そこで、照射後の内生サイトカイニンレベルの変化を、イムノアッセイ法により検討したところ、ゼアチンおよびリボシルゼアチンの含量が照射によって増加することが明らかとなり、内生サイトカイニンの増加が光誘導不定芽形成に重要であることが示された。

本論文では、以上のことより、西洋わさび毛状根からの光誘導不定芽形成においては、根の伸長成長にともなうフィトクロム含量が増加し、このフィトクロムによって受容された光情報が植物体内へと伝達され、内生サイトカイニンの増加を引き起こし、その結果として不定芽形成が引き起こされることを示した。さらに、植物個体の根を用いた実験結果を考え合わせると、土壌が取り除かれて露出した根においても、同様の機構で不定芽形成が起こることを示唆している。

審 査 の 要 旨

本研究において筆者は植物生理学に関する豊富な知識や経験と分子生物学の最新技術を駆使し、

高等植物の形態形成機構について解析を試みた。そして、西洋わさびの根で見られる光誘導不定芽形成における光受容から不定芽形成に至る機構の解析を行った。その結果、西洋わさびの毛状根における光誘導不定芽形成がフィトクロムを介した反応であり、この光情報によって生体内サイトカイニンレベルが増加し、その結果として不定芽が形成されることを明らかにした。これらの新知見はこの分野の今後の研究にとって極めて重要であり、今後の発展に大きな期待がもてるものとして高く評価される。

よって、著者は博士（理学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。