

まず何らかの活性を持つ物質が発見されねばならないが、これまで述べてきたように分離技術や機器分析の急速な発達により、物質レベルでの生理活性物質の解明はかなりの速度で進められている。しかし、構造がきまってから先、その物質がどのような作用を持ち、どのような目

的に利用できるか、また天然物より有効な類縁体が作られるか否か、供給面での問題はどうかなど、解決すべき問題が山積している。化学者のみならず、植物生理学者や他の分野の研究者的との緊密な関係こそ、これら天然物の実用化に不可欠な要因であろう。

参 考 文 献

- 1) 折谷, 山下: 化学と生物, 13, 351 (1975).
- 2) T. Oritani, M. Ichimura and K. Yamashita: Agric. Biol. Chem., 46, 1759 (1982).
- 3) K. Yamashita, E. Nagano and T. Oritani: Agric. Biol. Chem., 44, 1441 (1980).
- 4) M. D. Grove, G. F. Spencer, W. K. Rowedder, N. Mandava, J. F. Worley, J. D. Warthen, Jr., G. L. Steffens, J. L. Flippen-Anderson and J. C. Cook Jr., : Nature, 281, 216 (1979).
- 5) A. Tanaka and K. Yamashita: Chemistry Lett., 319 (1981).
- 6) C. E. Cook, L. P. Whichard, B. Turner, M. E. Wall and G. H. Egley: Science, 154, 1189 (1966).
- 7) 楠見, 直木, C. C. Chang, M. Wheeler, 久保, 中西: 天然有機化合物討論会要旨集, 24, 111 (1981).
- 8) T. Sugiyama, A. Sato and K. Yamashita: Agric. Biol. Chem. 46, 481 (1982).
- 9) K. Yamashita, A. Takaiwa and H. Nakada: Agric. Biol. Chem., 44, 2931 (1980).
- 10) A. Takaiwa and K. Yamashita: Agric. Biol. Chem., 46, 1721 (1982).

高等植物における

ジベレリンについての諸問題

東京大学農学部農芸化学科農薬化学研究室助教授 室伏 旭

ジベレリンが植物ホルモンとして、高等植物の生理を制御していることは周知のことであり、

この分野における研究は非常に多い。近年における研究手法の急速な発達には、微量にしか存在

しないジベレリンの追求を可能ならしめ、植物生理学・生化学におけるジベレリン研究に長足の進歩をもたらした。他方、ジベレリンの実用的な面での研究、すなわち栽培植物の化学的制御における適用は、きわめて広汎に行なわれ、その対象とする植物は多種多様であり、世界各国の研究者による研究報告はきわめて多い。しかしながら、実用面での研究は、基本的には古くから行なわれてきた、いわゆる「ぶっかけ試験」—それなりにきわめて重要な手法であるが—であり、必ずしも新しい観点からのアプローチが活発に追求されているとはいえない。この事実、ジベレリンのみならず、他の植物ホルモンについてもいえることであり、純学理的な研究と実用面での応用との結合の困難さを示すものであろう。

筆者の属するグループは、現在この学理的ならびに応用的研究の両方にかかわっているが、その過程で、内生ジベレリンと植物の生長生理に関するいくつかの興味ある結果を得ている。それらはまだ、ジベレリンの植物体での機能の一面を垣間見た程度のものであり、ジベレリンの真の働き、作用機作を解明するためには、さらに多くの追究を重ねる必要があるが、少なくとも、応用研究に向けての一つの手がかりとなり得るものと思われる。以下、筆者らの仕事を中心に、そこに用いられた方法論の進歩も含めて、高等植物におけるジベレリンをめぐるいくつかの問題点と今後の展望について述べてみることにする。

1. 内生ジベレリンの同定および定量

1958年、MacMillan らによりジベレリンが高等植物中に存在することが証明されて以来、微生物の代謝産物として単離されていたジベレ

リンは、植物ホルモンとしての地位を確保するとともに、天然物有機化学における魅力的な研究対象として注目をあびるようになった。その結果、高等植物に含まれる新しいジベレリンが、次々と単離・構造決定されたのである。これと平行して、*Gibberella fujikuroi* の代謝産物中に新しいジベレリンを求める研究も活発に行なわれ、現在までに微生物、高等植物から単離・構造決定されたジベレリンは、遊離形のものだけでも62種を数えるまでに至っている。これらのジベレリンは、高等植物の生理現象の解明、あるいはその応用という観点から追求したことにより得られたとは必ずしもいえない。しかし、結果として多数のジベレリンが出そろったわけであり、それに基づいて、高等植物における生理現象の研究において必要なジベレリンは、ほぼ出そろったといえることができる。

高等植物におけるジベレリンの化学的研究、すなわち新ジベレリンの単離・構造解明、およびそれに基づく初期の生合成研究には、一つの問題点があったことは否定できない。すなわち、それらの研究は、高等植物においては異常に高濃度のジベレリンを含むマメ科・ヒルガオ科・ウリ科などの未熟種子を材料として行なわれた点に問題があった。確かに種子は、植物における生活環の一つの重要なステージであり、器官である。しかし、われわれが通常問題にする伸長とか器官分化といった植物全体に関わる生理現象の解明に、直接にはつながらないものである。植物生理の研究においては、まず問題となるべき部位に含まれる内生ジベレリンの本体を明らかにしなければならない。しかし、通常の栄養組織、たとえば茎葉中に含まれるジベレリンはきわめて少ない。未熟種子中には、通常1 kg 当り数 mg のジベレリンが含まれているのに

対し、莖葉中にはたかだか数10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ が存在しているにすぎない。したがって、従来の方法によるならば、それらジベレリンの同定・定量には、莫大な労力と時間を必要とするものと考えられる。しかし、近年における機器分析法の長足の進歩によって、微量ジベレリンの同定は、以前に比べてはるかに容易になったのである。

われわれの研究室においては、数年来イネにおける内生ジベレリンについての研究を行ってきたが、まず最初に行なわなければならなかったのが、内生ジベレリンの同定である。それには、活性物質の構造決定の際に通常とられる手法、すなわち活性分画を生物検定によって選別しつつ精製を進め、最終的には機器分析によって GA_{19} 、 GA_1 の同定を行なったわけであるが¹⁾、そこで用いられた GC-MS、および GC

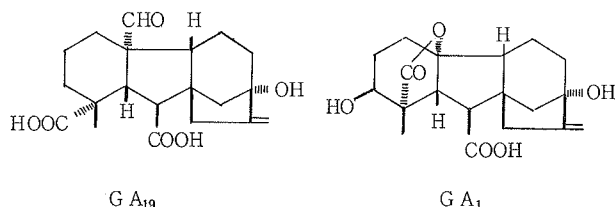


図1. イネ「日本晴」における主要な内生ジベレリン

-SIM分析法は、もっとも新しい手法に数えられるものである。これら機器分析法に、やはり新しい分離・分析法の一つである高速液体クロマトグラフィーを組み入れることにより、ジベレリンをはじめとする植物ホルモンの分析技術は飛躍的に進歩した。現在、100 g 以下の莖葉部に含まれるジベレリンの定性・定量が可能である組織的な分析法が確立されている^{2,3)}。

表1は、ジベレリンの分析法の能力を比較したものであるが、それを見てもわかるように、機器分析法は、従来もっとも高い検出感度をもつといわれた生物検定法の能力を上まわるようになった。しかし、イムノアッセイは、ジベレ

表1. 各種分析法によるジベレリン検出感度

分 析 法	検出・定量限界 (ng)
生 物 検 定 (イネ)	1
ガスクロマトグラフィー	$0.1^{**} \sim 100$
高速液体クロマトグラフィー	$0.01^{**} \sim 50$
GC-SIM	0.05
イムノアッセイ	0.01

* ハロゲン化誘導体としてECDにより検出した場合。

** クマリルエステルとして蛍光検出器により検出した場合。

リンの分析に適用されてからまだ日は浅いのにかわらず、機器分析法にまさる能力を有することが明らかにされている。ジベレリンのイムノアッセイについての研究は、わが国においてはほとんど行なわれていないが、今後集中的に追究すべき重要な課題であると思われる。

2. ジベレリンの生合成・代謝

生体内において、ある化合物がどのような経路で生合成されるかは、それ自体きわめて興味ある問題であると同時に、生理現象との関連性においても重要である。その追究手段

としては、古くからラジオアイソトープでラベルした化合物を用いるフィーディング実験が行なわれているが、植物、とくに無傷植物の場合は、とりこみ率の低いことが実験の大きな妨げとなっている。これを克服するためには、ある特殊な系、たとえば Graebel によって行なわれている未熟種子を材料とするセルフリー系を用いる方法がある⁴⁾。また、高い信頼性をもって同定を行ない得る GC-SIM法によって分析することを前提とし、われわれのグループで行なっている安定同位元素でラベルした化合物を用いる方法もある。

セルフリー系はとりこみ率が比較的高く、か

つ反応が迅速であるという利点をもつが、そこに起る反応がそのまま無傷植物において起っているとの保証はない。したがって、セルフリー系で確認された反応でも、最終的には無傷植物においてもその有無を調べる必要があるであろう。

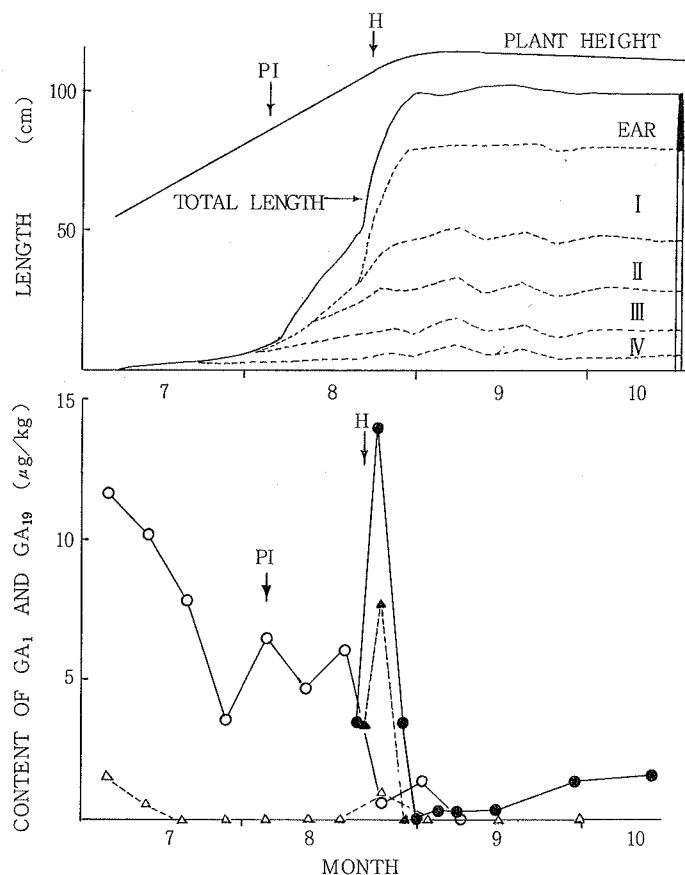
われわれのグループでは、イネの芽生えにイネの内生ジベレリンとして主要な GA_{19} の重水

素標識したものを与え、その変換を GC-SIM によって追究し、変換物として GA_{20} , GA_{29} を同定している (図 2)。しかし、この結果もあくまで芽生えについての結果であり、これをそのまま他のステージに当てはめることはできない。ジベレリン類の生合成、あるいは生成したジベレリンの他のジベレリンへの変換などを、イネの様々な生長生理と関連づけるためには、

それぞれの生育段階において、それぞれの重要な部位について同様の実験を行なわなくてはならない。それに費やされる労力と時間は、莫大なものとなるであろう。この障害をのり越えるためには、イムノアッセイのように、より高感度で簡便な分析法を確立することが必要であろう。

3. 生 理 活 性

生合成・代謝を植物の生理現象と結びつけて考えるとき、まず問題となるのが個々のジベレリンの活性の強さである。現在 62 種の遊離型ジベレリンが知られているが、それらの中で高い活性を有するものは多くはない。一般に、 C_{20} ジベレリンはそれ自体活性をもたず、これより導かれる C_{19} ジベレリンが活性を有するといわれているが、もしそれが正しいとするならば、それ自体で高い活性を有すると思われるものはただか 10 種ぐらいであろう。したがって、実際に生



GA_{19} はGC-SIMにより、 GA_1 は「短銀坊主」を用いる生物検定により定量、plant heightは葉身を含めた草丈、total lengthは穂の先端までの長さ、ear(穂)以下のI~IVはそれぞれ節間を示す。Hはheading(出穂)、PIはpanicle initiation(幼穂分化)を示す。
○ 茎葉部の GA_{19} ● 穂部の GA_{19}
△ 茎葉部の GA_1 ▲ 穂部の GA_1

図2. イネ「日本晴」分けつ期以降における伸長と内生 GA_1 , GA_{19} の量的変動

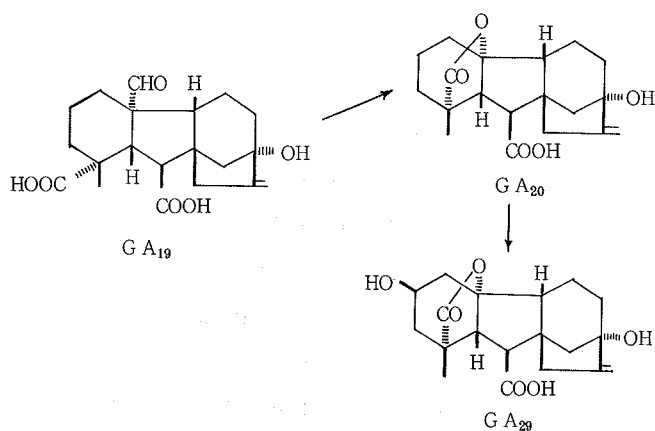
体内で機能しているジベレリンについて調べる際には、それら活性ジベレリンについて追究を行なうことがまず先決である。他方、活性の低い、あるいはほとんど不活性なジベレリンについても考慮する必要がある。たとえば、GA₂₀やGA₁を植物に与えると、すみやかに伸長などの反応が現われるが、同じく短時間後にそれぞれ不活性なGA₂₀、GA₈へ変換することが知られている。これは一体何を意味しているのであろうか。活性ジベレリンの一部は、活性発現に関与しつつそのままの形を維持し、一部が不活性型に変わるのか、一部は活性発現の過程で未知の形態に変化し、一部が不活性型になるのか、あるいは活性型が活性発現に関ったのちに不活性型に変換するのか、いくつかの可能性が考えられるが、この点に関しては現在五里霧中である。この問題をつきつめていくと、結局はジベレリン活性発現のメカニズムの問題に行き当たることになる。ある検定法において、GA₁の活性がGA₂₀の活性より何倍高い、というような結果が得られたとしても、そこにはこのような複雑な要素が内蔵されていることをも考慮すべきであろう。

現在までに、ジベレリンにおける構造-活性相関に関する研究は、いくつか報告されている。それらは、何種類かの生物検定法を用いて行なったものが多いが、それに費やされた労力に比して、他の研究に重要な情報を提供するような成果は多いとはいえない。現在、この種の研究は、あまり多くは行なわれていないようであるが、その理由としては、構造-活性相関よりは、個々のジベレリンの生合

成代謝が、生理活性とどのようにかかわっているかを調べる方法により、多くの関心が向けられていることが挙げられるであろう。

4. 植物体におけるジベレリンの変動

ジベレリンの活性発現の機構を解明する方法は、現在のところ見つけられていない。しかし、それに迫るための方策は、いくつか考えられるであろう。いずれにせよ、自然条件下で生育しつつある植物において、ジベレリンがいかなる役割を演じているかを解明する端緒を見出すためには、内生ジベレリンの量的変動を調べることが必要である。これは、骨の折れる割には得られる結果が必ずしも明確であるとはかぎらない。地味なアプローチの方法であるが、基礎的な知見をつみ上げていく上で、是非ともやっておかなくてはならない課題である。われわれの研究室では、イネを対象とし、そこに含まれるジベレリンのうちで主要なもの2種、すなわちGA₁₉とGA₁、およびアブシジン酸の消長が、生育段階に従っていかに変動するかを追跡した。この調査は、一年に一度しか行なうことができず、



重水素標識したGA₁₉を与え、変換生成物をGC-SIMにより同定。

図3. イネ「日本晴」芽生えにおけるGA₁₉の変換

かつイネの生育は気象条件に左右されるので、再現性においても種々の問題が生じた。図3は、イネ「日本晴」の内生 GA_1 、 GA_{19} の量的変動を、茎葉部と穂部について、分けつ期以後を中心に経時的に調べた結果である⁶⁾。この当時は、分析法が現在ほど進歩していなかったという問題はあるが、その後はるかに改良された分析法によって、いくつかの生育ステージの試料について分析を行なった結果によれば、基本的には図3に示したパターンに誤りはないものと思われる。

図2に示したジベレリンの消長パターンは単純なものであるが、そこには種々の問題点が含まれている。例として節間伸長期をとりあげてみることにする。この時期に至る以前は、葉鞘・葉身の伸長はみられるが、茎の部分、すなわち各節はほとんど伸長せず、基部に圧縮された形で止まっている。そして、幼穂が分化すると、機を同じくして急激に伸長を開始する。すなわち節間伸長である。その際、ジベレリンが関与する可能性は充分考えられるが、それと図3に示すような節間伸長の前における GA_{19} の変動（この場合はレベルの低下）をどのように解釈すればよいであろうか。一つの考えとして、急速な節間伸長は、ジベレリンの活性発現に対応した消費によって誘起される、という可能性が挙げられるであろう。 GA_{19} が C_{20} ジベレリンであり、活性ジベレリンである C_{19} ジベレリンの前駆物質であるという考えは、この仮説には都合がよい。しかし他方において、活性発現のために必要な活性物質は、それを必要とする時期により多く生成する、という一般的な認識があり、また穂においては、 GA_{19} と GA_1 はほぼ同様の時期に同じような変動パターンを示すという事実は、前述の仮説にとって都合が悪い。

いずれにせよ、単に一つのジベレリンの消長に対しても、生合成速度、活性発現に対応した消費、不活性化などの要素をすべて考慮に入れて論議しなくてはならない。

以上のような複雑な要素を含んでいながらも、生長段階に対応したジベレリン——他の植物ホルモンについてもそうであるが——の消長を追跡することは、その結果に基づいてより高度の様々な課題が展開する可能性があることから、きわめて重要な意味を持つといわなければならない。

5. 矮性の問題

植物には、同じ種でありながら矮性変種の存在するものが多くある。それらのうちの多くはその目的に応じて栽培植物の中で作り出されたものである。矮性発現機構にジベレリンが関係するもののあることは、よく知られている。まず第一は、内生ジベレリンの量が少ないこと、すなわちジベレリン生合成経路に何らかの欠陥が存在することによるもの、第二は伸長抑制物質の存在することによるもの、第三は——まだ推測の域を出ないが——ジベレリンの活性発現機構そのものに何らかの異状があることによるもの、である。第一の例としてよく挙げられるものに、キャベツがある。その証拠として、キャベツにジベレリンを与えると、数mの丈になるほど伸長する。第二の例として、明確に証明されたものはまだない。ジベレリンの拮抗物質としてアブシジン酸が知られているが、これを多く含むことによって矮性となっている例はまだ知られていないようである。矮性トウモロコシのあるものは、どのような物質を与えても伸長反応を示さないといわれているが、これは第三の例に当たるかもしれない。以下、本題との

関係から、第一の例を中心に述べてみたい。ジベレリンの検定法としては、村上浩氏の確立したイネ幼苗を用いる方法が⁷⁾、世界的にもっとも広く行なわれている。この方法に用いられるイネは、「短銀坊主」といわれる矮性種であり、ジベレリン生合成経路がブロックされていることから矮性を示すもので、これに外部からジベレリンを与えると、非常に敏感に反応する、といわれている。このように、特異な形質を有していることから、われわれはその内生ジベレリンを調べたところ、興味深いことに、栄養成長期の茎葉中には GA_{19} は全く見出されず、きわめてわずかな GA_1 の存在が確認された⁶⁾。 GA_{19} が見出されなかったことが何を意味するかは、現在のところ不明であるが、 GA_1 の含有量が少ないことは、「短銀坊主」の矮性形質が、内生ジベレリンの低濃度由来であることを示唆している。しかしながら、このことは逆に、この矮性種が、ジベレリンを全く生成しないものではないことを証明している。では、 GA_1 が微量にしか存在しない原因は何か。単に生合成のパイプが細いためであろうか。それとも、少ししか生成しないようにする何らかの制御機構が働いているのであろうか。後者のような場合が考えられるならば、その機構の追究は、きわめて魅力的な課題である。

われわれ利用する側にとって、植物の矮性形質はいかなる意味をもつであろうか。筆者らが研究対象としているイネについていえば、好ましい形質ということができよう。すなわち、丈の高いイネは倒伏しやすく、わが国にとっては宿命的な台風による被害を受けやすい。矮性イネは、この点で望ましい形態を有しているといえる。「短銀坊主」が、昭和26年度、米の反当収量日本一となった際の品種であったことは、

矮性形質とは無縁でないと思われる。では、いかにしてイネを矮性にするか。これには二つの方法が考えられる。一つは矮性品種を用いること、もう一つは矮化剤を用いることである。矮性品種はいくつかあり、実用種としては「短銀坊主」のほかに韓国で作出された「統一」などがある。しかし、現在の種々の状況から決定的に優れているものはまだない、といってよいであろう。もっとも望ましい品種を育種することはもとより必要であるが、それを実際に作出して実用化するためには、長い年月を必要とする。他方、イネに対する矮化剤として、理想的なものはまだ得られていない。矮化剤そのものは、現在まで多種類のものが創り出され、いくつかの栽培植物については実用化されている。しかしながら、イネをはじめとする主要作物に対して、大規模に適用されるようなものはまだ例を見ない。矮化剤の多くは、ジベレリン生合成の阻害剤であり、これを与えることによって、植物の内生ジベレリンの生成を抑え、伸長を抑制するわけであるが、ジベレリンの生理作用は伸長促進だけでなく、多岐にわたる生理現象に関与している。したがって、伸長抑制と同時に他の生理現象をも阻害してしまうおそれは多分にある。イネにかぎっていえば、葉面積を減少させることなく、節間伸長——穂の節をのぞいて——のみを抑えることが望ましい。そのためには、施用するステージがまず問題となるであろう。前述した節間伸長と内生ジベレリンの消長との関連性は、その意味で重要な手がかりを与えるものである。

ジベレリン生合成阻害剤のスクリーニングに、カビ(*Gibberella fujikuroi*)を用いる方法がある⁸⁾。これは短期間で結果が得られ、しかも機器分析により明確にジベレリン生合成を

チェックできるという長所を有しているが、そこで得られた結果は、必ずしも植物において適合しないことを銘記すべきである。ジベレリン生合成阻害剤には、第四級アンモニウム塩が多いが、それらがすべて生合成経路と同じ部位に作用するとはかぎらない。その作用点が明らかにされていないものはいくつかあり、また、ジベレリン生合成以外の作用も有しているものもある。

6. 今後の問題

ジベレリンに関する問題点を、栽培植物への適用、という観点から述べてきたが、今後この方面の研究で追求すべき点はどのようなものであろうか。種々の立場から種々の問題があり、またそれに対する様々なアプローチがあるであろうが、筆者らの立場についていえば、実的な面を常に念頭にいた基礎研究、具体的にいえば、内生ジベレリンの自然環境における姿を解析的に捉えることであろう。その結果に基づき、さらにいくつかの命題が展開していくことが期待される。

他方、ジベレリンの作用をさらに念入りに追究することも重要である。すべての生理作用において、 GA_3 が最も高い活性を有するとは限ら

ない。ナシの果実肥大には、 GA_3 より GA_4 の方がはるかに高い活性を示すことはその一例である。また、従来知られていない作用性についても考慮する必要がある。例えば、図3に示すように、イネの穂においては開花時に GA_{19} 、 GA_1 がもっとも高い含有量を示すが、これは、開花——受精後に起こる同化物質転流の開始などの現象に、ジベレリンが何らかの作用性を有していることの反映かもしれない。

ジベレリンの作用は、種子植物にとどまらない。ある種のシダの前葉体における造精器誘導に対して、ジベレリンが活性を示すことが明らかにされている⁹⁾。この活性は、ジベレリン類の中では比較的活性の低い GA_9 がもっとも高い活性を示し、しかも、通常はほとんど不活性のメチルエステルの方がより高活性を示すことも示された¹⁰⁾。これらの事実は、種子植物におけるジベレリンの作用性からは予想されなかったことである。

以上述べたように、植物における内生ジベレリンの実体が明らかにされるとともに、その多岐にわたる生理活性が次々と見出され、実用に供されることを願ってやまない。

参 考 文 献

- 1) S. Kurogochi, N. Murofushi, Y. Ota and N. Takahashi : *Planta*, **146**, 185 (1979).
- 2) I. Yamaguchi, S. Fujisawa and N. Takahashi : *Phytochemistry*, **21**, 2049 (1982).
- 3) 山口五十麿 : 植物の化学調節, **17**, 71 (1982).
- 4) J. E. Graebe, P. Hedden, P. Gaskin and J. MacMillan : *Phytochemistry*, **13**, 1433 (1974).
- 5) 小林正智・山口五十麿・室伏旭・高橋信孝 : 昭和58年度日本農芸化学会講演要旨集, P. 443 (1983).

- 6) Y. Suzuki, S. Kurogochi, N. Murofushi, Y. Ota and N. Takahashi : *Plant Cell Physiol.*, **22**, 1085 (1981).
- 7) 村上浩 : 植物の化学調節, **4**, 78 (1969).
- 8) K. Y. Cho. A. Sakurai, Y. Kamiya, N. Takahashi and S. Tamura : *Plant Cell Physiol.*, **20**, 75 (1979).
- 9) H. Schraudolf : *Biol. Zentralbl.*, **81**, 731 (1962).
- 10) H. Yamane, N. Takahashi, K. Takeno and M. Furuya : *Planta*, **147**, 251 (1979).

植調第17巻第5号(8月号)の訂正について

頁	摘 要	判定理由または内容(誤)	判定理由または内容(正)
27	(ツツジ)〔鉢植〕 (3) S-07 液	実:〔ツツジ・シャクナゲ鉢栽培; わい化・着蕾促進効果〕 新梢伸長期 <u>20</u> ~50ppm 茎葉処理.	実:〔ツツジ・シャクナゲ鉢栽培; わい化・着蕾促進効果〕 新梢伸長期 <u>25</u> ~50ppm 茎葉処理.

ノビエからホタルイまで

好評発売中

水田初期除草剤

ショウロンM[®]粒剤

®: 昭和電工 登録商標

好評発売中

特長

- ☑ ホタルイに卓効
- ☑ イネに安全

- ☑ 適用地帯が広い
- ☑ 高い安全性

ショウロンM普及会

クミアイ化学工業株式会社 昭和電工株式会社
三井東圧化学株式会社 三井東圧農薬株式会社

植 調 協 会 だ よ り

◎ 会議開催日程のお知らせ

- 昭和58年度畑作物・野菜関係マルチ等資材の試験成績検討会

日時: 昭和59年1月11日, 13~17時

場所: 植調会館3階会議室(東京都台東区台東1-26-6)

- 昭和58年度春夏作野菜花き関係除草剤・生育調節剤試験成績検討会

日時: 昭和59年1月12~13日, 10~17時

場所: 植調会館3階会議室(東京都台東区台東1-26-6)

協和銀行秋葉原支店(東京都千代田区神田和泉町1)

- 昭和58年度リング用除草剤・生育調節剤試験成績検討会

日時: 昭和59年1月27日, 9~15時

場所: 秋田県果樹試験場(秋田県平鹿郡平鹿町醍醐字街道下, TEL. 01822-5-4224)