

亜鉛欠乏オオムギ幼植物におけるトリプトタミンについて

誌名	日本土壌肥料学雑誌 = Journal of the science of soil and manure, Japan
ISSN	00290610
著者	高木, 浩 有田, 重明 Mateo, L.G.
巻/号	58巻2号
掲載ページ	p. 152-158
発行年月	1987年4月

亜鉛欠乏オオムギ幼植物におけるトリプタミンについて*

高木 浩**・有田重明**・マテオ・ルン・ジー**

キーワード 亜鉛欠乏, インドール酢酸, トリプタミン, オオムギ幼植物

高等植物において、亜鉛が欠乏すると、茎の伸長が衰えるのが特徴である。植物ホルモンのインドール酢酸 (IAA) が茎の伸長に関与していることはよく知られているところから、亜鉛栄養と IAA の関係が、SKOOG¹⁾ によって最初に調べられた。彼はトマトを用いた水耕試験で、IAA 含量は亜鉛欠乏症状の現われる以前に、すでに半分以上にも低下していることを見出した。TSUI²⁾ も、この現象を詳細に調べ IAA 含量が亜鉛欠乏トマトで低いことを確認し、その原因は IAA 先駆体としてのトリプトファンの生成が抑えられるからであると結論した。亜鉛がトリプトファンの生合成に必須であるとするこの説は、その後、*Neurospora* を用いて NASON³⁾ により、*Parthenocissus tricuspidatus* のクラウンゴールおよびカルスを用いて KLEIN⁴⁾ により、さらに、トウモロコシ幼植物を用いて SALAMI⁵⁾ によって支持された。

しかし、最近、筆者らにより、亜鉛欠乏植物におけるトリプトファンの生成には、異常が認められないことが、トウモロコシ⁶⁾、トマト⁷⁾、オオムギおよびエンバク⁸⁾ を用いて明らかにされた。

さらに、筆者らは亜鉛栄養との関連で、他の種々なインドール化合物の消長を調べるために、亜鉛欠乏トウモロコシ葉エタノール抽出物の塩基性画分について、薄層クロマトグラフィー (TLC) を行ったところ、強いエーデルリッヒ反応を呈する未同定スポットを見出した⁶⁾。これは亜鉛添加区では、かろうじて検出できる程度の弱いスポットであった。主として TLC により、このインドール化合物はトリプタミンと考えられた。

亜鉛欠乏のトマト、ナタネおよびオオムギの各幼植物においても、トリプタミンの集積は認められたが、その含量は植物種間で大きく異なった。亜鉛欠乏地上部の新鮮重 100 g 当たり、オオムギ 800 μ g、トウモロコシ 30 μ g、トマト 6 μ g およびナタネ 0.1 μ g であり、これらの値は亜鉛添加区の 2~10 倍であった⁷⁾。

トウモロコシ幼植物におけるトリプタミンの集積は、

* 本研究は、昭和 53 年度文部省科学研究費の助成を受けて行われた。

** 宮崎大学農学部 (889-21 宮崎市大字熊野 7710)

昭和 61 年 8 月 11 日受理

日本土壤肥科学雑誌 第 58 巻 第 2 号 p.152~158 (1987)

ホウ素、銅、マンガン、鉄などの微量必須元素欠除区では、ほとんど認められなかった⁹⁾。

亜鉛欠除処理区で集積したトリプタミンは、Zn 0.1 ppm を含む水耕液に移して栽培を続けると、日数の経過とともに減少した。この回復過程の形態的特色の一つに、茎の急速な伸長という興味深い反応が認められた⁹⁾。

IAA 生合成系におけるトリプタミンの意義を重要視する報告はかなり多い。MUIR^ら¹⁰⁾ はマメ科植物から酵素を取り出して実験を行い、IAA 生合成の第一段階はトリプトファン→トリプタミンへの脱炭酸反応であり、ついで IAA への酸化反応であること、これらの反応系はいずれもジベレリン酸により促進されることを報告した。GIBSON^ら¹¹⁾ はセファデックス G-200 を用いて、トマトより、トリプタミン・ホーミング・L-トリプトファン・デカルボキシラーゼの部分的な精製に成功し、それらの諸性質について記載を行った。トリプタミンから IAA までの生合成系については、MC GOWAN^ら¹²⁾ により、この反応はまずトリプタミンの 3-インドール・アセトアルデヒド (IAAld) への酸化的脱アミノ反応であること、これをアミン・オキダーゼが触媒することが示された。IAAld は IAAld・デヒドロゲナーゼの作用により IAA に変換されることが認められた。

さらにオオムギについて興味ある現象が倉石¹³⁾ によって見出された。矮性オオムギ (uzuz) 子葉鞘は、普通オオムギ (UZUZ) の半分しか成長しない。その原因は、オーキシン生成が阻害されているためと思われた。UZUZ の子葉鞘は無菌状態で、トリプトファンとトリプタミンの両方に反応したが、uzuz の子葉鞘はトリプタミンだけに反応した。これらのことから uzuz の子葉鞘の伸長が抑制される現象は、トリプトファンからトリプタミンへの反応に関与している酵素活性がないためだと結論された。

以上のことを総合すれば、トリプタミンが IAA の先駆体であることは確実であろう。したがって、亜鉛欠乏植物におけるトリプタミンの集積現象を、より明確にすることは、高等植物における亜鉛の生理的役割を考えるうえで重要と思われる。

とくに、これまで筆者らが行ってきたトリプタミンの

同定方法は、主として TLC によるものであり、定量方法も TLC におけるスポットの強弱を、標準トリプタミンのスポットと比較することに基づいたもので、同定・定量いずれについても精度の高いものではなかった。本報告では、オオムギ幼植物を供試し、ガスクロマトグラフィー・マススペクトロメトリー (GC-MS) を用い、トリプタミンについてのより正確な同定・定量を行うことができたので、その詳細について述べる。ついで、各種要素欠除区地上部におけるトリプタミン含量を調べ、トリプタミンの集積が、亜鉛欠除区の場合のみに、特異的であるかどうかについて考察した。

1. 実験方法

1) 各種要素欠除オオムギ幼植物の栽培方法

オオムギ (はるな 2 条) を供試し、30°C で催芽させた。1 週間後、亜鉛欠除区、窒素、リン、カリウム、カルシウム、マグネシウム、イオウ、鉄などの各種必須要素欠除区および対照区 (NO₃-N 区) の各処理を開始した。また、NH₄-N 区も設けた。対照区の水耕液 (3 l 容量プラスチック容器、pH 6.2) の組成は、NO₃-N 50 ppm または NH₄-N 50 ppm, P 20 ppm, K 50 ppm, Ca 50 ppm, Mg 20 ppm, Fe 2 ppm, Mn 300 ppb, B 200 ppb, Zn 50 ppb, Cu 40 ppb, Mo 7 ppb である。使用した塩は、NaNO₃ または (NH₄)₂SO₄, NaH₂PO₄·2H₂O, K₂SO₄ (または KCl), CaCl₂·2H₂O, MgSO₄·7H₂O, EDTA-Fe, MnCl₂·4H₂O, H₃BO₃, ZnSO₄·7H₂O, CuCl₂·2H₂O, Na₂MoO₄·2H₂O である。各種要素欠除区はそれぞれ当該の要素を添加しないで調整した。それぞれの処理効果が、外観的にはっきりする時点まで、自然光・自然温度のガラス室内で栽培し、地上部全体を切り取って分析用試料とした。なお、亜鉛欠除区の水耕液 Zn 濃度は、10~20 ppb の範囲にあった。

2) 各種無機成分の定量

乾物試料について常法にしたがい定量した。全窒素：ケルダール分解・蒸留法、可溶性窒素：80°C 熱水抽出物のケルダール分解・蒸留法、リン：湿式灰化・パナドモリブデン酸塩比色法、カリウム：湿式灰化・炎光光度法、カルシウム、マグネシウム、鉄、亜鉛：乾式灰化・原子吸光光度法、イオウ：蛍光 X 線法。

3) トリプタミンの抽出

地上部 (新鮮重 20~100g) を 10 倍量のメタノールとともに、ミキサーにかけて室温で抽出した。ヌッチェで吸引ろ過し、ろ液を減圧下、40°C でメタノール除去をした。残った部分に、水 200 ml を加えよく溶かしたのち、H₃PO₄ (1:2) を滴下し、pH 5.0 に調整した。この水

層に、ジクロロメタン 300 ml を加えてよく振り、ジクロロメタン層を捨てた。この操作を合計 3 回行い、色素類の除去をした。得られた水層を、1 N NaOH で pH 10.2 とし、再び 300 ml のジクロロメタンで 3 回抽出した。ジクロロメタン抽出液を、減圧下 40°C で濃縮し、この画分を、メタノール抽出物の塩基性画分とした。

4) TLC によるトリプタミンの精製と同定

薄層板 (20×20cm) はシリカゲル (Kieselgel 60 G, Kieselgel H, Merck Co.) とセルロース (micro granular CC 41, Whatman Co.) を使用して作成した。展開溶媒は *n*-ブタノール：酢酸：水 (4:1:2)、8% 塩化カリウム水溶液、50% エタノールを用いた。トリプタミン・スポットの検出は、ユーリッヒ試薬 (1g の *p*-ジメチル・アミノベンツアルデヒドを濃塩酸 20 ml とメタノール 80 ml に溶かしたもの)、ニンヒドリン試薬およびサルコフスキー試薬 (2g の塩化鉄・6 水塩を水 500 ml と濃硫酸 300 ml に溶かしたもの) を用いて行った。

5) ろ紙電気泳動法によるトリプタミンの同定

ろ紙 (3 M, Whatman Co.) に、試料および標準トリプタミン (1 μg) をスポットし、電解液 (1% 炭酸アンモニウム水溶液) 中で、76 V, 20 mA, 4 時間、泳動させた。検出はユーリッヒ試薬を用いて行った。上記条件下で、標準トリプタミンは負極へ 4.7 cm 泳動した。

6) 紫外外部吸収スペクトル法によるトリプタミンの同定

紫外外部吸収スペクトルの測定は、常法にしたがい、島津 UV 200 型スペクトロフォトメーターを使用して行った。

7) GC-MS によるトリプタミンの同定

マススペクトルの測定は、常法にしたがい、日本電子 JMS-D 300 S 型ガスクロマトグラフ・マススペクトロメーターを使用して行った。分析条件は次のとおりである。カラム：0.3×50cm, ポリエチレングリコール 20M + KOH, 5+5% (Gaschrom Q), 温度：210°C 一定, キャリアガス：ヘリウム 2 kg/cm²。

8) ガスクロマトグラフィー (GC) によるトリプタミンの定量

地上部 (新鮮重 20~100g) をメタノール抽出し、抽出液を 1 l に定容した。これを 3 等分し、それぞれに、標準トリプタミン塩酸塩 (50 mg/100 ml) 溶液を、0, 0.80, 1.60 ml, または 0, 0.10, 0.20 ml 添加した。ついで、「トリプタミンの抽出」の項にしたがい、それぞれのメタノール抽出物の塩基性画分を得て、2 ml 容量バイアル中に濃縮し、乾固した。これを 0.20~1.0 ml の 80% メタノールによく溶かし、そのうち 5 μl を島津

GC-7 A 型 ガスクロマトグラフにかけた。グラフ用紙上、横軸に、添加標準トリプタミン量を、縦軸にピーク面積(カウント数・3回平均値)をプロットし、外挿法により、抽出液中にもともと存在したトリプタミン量を計算した。

GC 分析条件は次のとおりである。カラム：0.3×300 cm, ポリエチレングリコール 20 M+KOH, 5 + 5% (Gaschrom Q), 温度：210°C 一定, キャリアガス：ヘリウム, 液量 100 ml/min, 検出器：Flame thermionic detector (FTD), この条件下で、標準トリプタミンは 31 分にピークとして現われた。検出限界は 0.1 μg 程度であった。

2. 実験結果と考察

1) オオムギ幼植物の生育に及ぼす亜鉛欠除処理および各種要素欠除処理の影響

オオムギ幼植物の生育に及ぼす各種要素欠除処理の影響を第 1 表に示した。正常な生育を示す NO₃-N 区(四葉期)を対照区とした。

窒素欠除区：根部は白くて長く、かつ大量であった。葉身は淡黄緑色で、下葉ほど著しかった。総 N は 1.27%, 可溶性 N は 0.4% であった。

リン欠除区：はっきりとした欠乏症状が認められるまでに、約 1 か月を要した。種子中のリンが多量であったためと考えられる。下葉の一部が枯れ上り、新葉は暗緑色を呈していた。地上部 P は 0.18% であった。

カリウム欠除区：下葉の周辺が枯れ、褐色の斑点が現われていた。地上部 K は 0.43% と低く、対照区の 1/10 に近い値であった。

カルシウム欠除区：新芽はつぶれており、伸長葉の先

端が白く枯れていた。地上部 Ca は 0.03% で、対照区の 1/10 の低い値であった。また、根の伸長が異常に悪く、根毛の先端が褐変していた。

マグネシウム欠除区：はっきりとした欠乏症状が認められまでに 1 か月以上要した。種子中のマグネシウムが多量であったためと考えられる。葉脈間クロロシスが、主として下位葉に現われた。地上部 Mg は 0.09% で対照区の 1/3 であった。

イオウ欠除区：葉身は淡黄緑色で、窒素欠除区にきわめてよく似ていた。蛍光 X 線分析のピーク強度比より算出すると、地上部 S 含量は対照区の約 1/2 であった。

鉄欠除区：新葉は黄白化していた。地上部 Fe は 47 ppm であった。

亜鉛欠除区：-Zn(a) 区は、みかけが全く正常と思われる時点で収穫したもので、地上部 Zn は 13.2 ppm を示していた。-Zn(b) 区は -Zn(a) 区より 8 日だけ長い

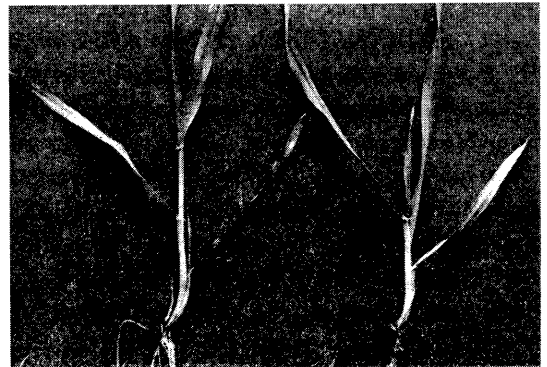


写真 1 対照区および亜鉛欠除区 [-Zn(b)] (右) のオオムギ幼植物

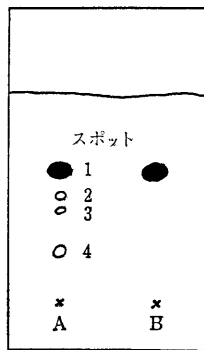
第 1 表 各種要素欠除処理がオオムギ地上部の生育とトリプタミン含量に及ぼす影響

処理区	地上部生育量 新鮮重(g/10本)	水分 (%)	生育期間	トリプタミン含量 トリプタミン塩酸塩 (μg/新鮮重 g)	無機成分含有率と生育のようす
NO ₃ -N (対照区)	3.87	87.6	1/21~2/15	0.8	T-N 3.32%, 可溶性 N 0.93%, P 0.72%, K 3.65%, Ca 0.32%, Mg 0.26%, Fe 101 ppm, Zn 25.0 ppm
NH ₄ -N	2.52	86.6	2/ 3~2/27	4.5	T-N 3.47%, 可溶性 N 0.98%, 根は褐変, 葉身は濃青色
-N	1.79	84.8	1/21~2/12	2.1	T-N 1.27%, 可溶性 N 0.40%, 根は白くて長い, 葉身は淡黄緑色
-P	6.16	83.8	1/13~2/14	2.8	P 0.18%, 下葉の一部は枯れ, 新葉は暗緑色
-K	3.92	86.0	1/21~2/20	1.7	K 0.43%, 下葉の周辺が枯れ上り, 褐色の斑点多数
-Ca	2.65	86.4	2/ 3~2/27	0.5	Ca 0.03%, 新芽のつぶれ, 根伸長の抑制
-Mg	6.01	88.0	2/ 3~3/ 7	0.6	Mg 0.09%, 下葉の葉脈間クロロシス
-S	4.76	86.8	12/7~1/ 7	5.7	180 cps (control=437 cps) peak intensity, 全体が淡黄緑で窒素欠除区に酷似
-Fe	1.65	86.8	1/21~2/12	0.5	Fe 47 ppm, 新葉の黄白化
-Zn(a)	2.50	87.6	1/21~2/12	3.4	Zn 13.2 ppm, みかけは正常
-Zn(b)	4.08	86.8	1/21~2/20	11.3	Zn 7.5 ppm, 節間抑制

期間亜鉛欠除処理をしたのち収穫したものであり、茎の伸長阻害およびクロロシスなどの典型的な亜鉛欠乏症状を呈していた。地上部 Zn は 7.5 ppm であった(写真1)。

NH₄-N 区：各種要素欠除区との比較をするために設けた区である。根が褐変し、葉身は濃青緑色を呈していた。可溶性Nは1%に近い高い値を示した。

2) オオムギ地上部からのトリプタミンの単離と同定
亜鉛欠除区・地上部から得られたメタノール抽出物の塩基性画分について TLC を行ったところ、スポット 1, 2, 3, 4 が認められた(第1図)。それらのうちで、最も大きく、顕著なスポット 1 は、標準トリプタミンの *R_f* 値と一致した。スポット 1 の精製を行うことを目的として、新鮮重 100g 分を同様に処理し、薄層板 4 枚に



第1図 薄層クロマトグラム上のスポット
A, 亜鉛欠除区オオムギから得られたメタノール抽出物の塩基性画分; B, 標準トリプタミン。
展開溶媒, *n*-ブタノール:酢酸:水(4:1:2); 検出, エールリッヒ試薬。

第2表 各種溶媒系におけスポット1と標準トリプタミンの *R_f* 値

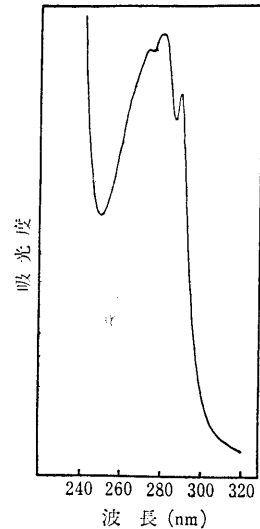
展開溶媒系	薄層板	スポット1	標準トリプタミン
<i>n</i> -ブタノール:酢酸:水(4:1:2)	Silicagel 60 G	0.6	0.6
8%塩化カリウム水溶液	Cellulose CC 41	0.5	0.5
50%エタノール	Silicagel H	0.5	0.5
水	Cellulose CC 41	0.3	0.2
水	Silicagel H	0.1	0.1

第3表 スポット1と標準トリプタミンの各試薬との呈色反応

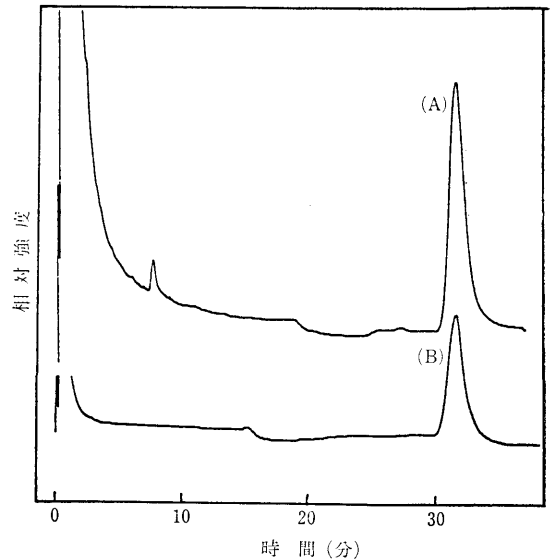
試薬名	呈色	
	スポット1	標準トリプタミン
エールリッヒ	Purple	Purple
サルコフスキー	Yellow	Yellow
ニンヒドリン	Greyish-purple	Greyish-purple

おけるスポット1相当画分をメタノール抽出した。この濃縮物をセルロース, TLC (8% KCl), 続いて, シリカゲル・H, TLC (50%エタノール) を行い, スポット1を精製した。各種溶媒系におけるスポット1と標準トリプタミンの *R_f* 値は一致した(第2表)。

TLCにより精製されたスポット1は、ろ紙電気泳動



第2図 亜鉛欠除区オオムギ・メタノール抽出物から精製されたスポット1の紫外吸収スペクトル



第3図 亜鉛欠除区オオムギ・メタノール抽出物から精製されたスポット1(A)と標準トリプタミン(B)のガスクロマトグラム

分析条件: カラム, 0.3×300cm, ポリエチレングリコール 20 M+KOH, 5+5%; キャリアガス, ヘリウム 100 ml/min; 温度, 210°C.

にかけられた。スポット 1 および標準トリプタミンの泳動距離は、ともに、4.7cm で完全に一致した。なお、本法はトリプタミンと他の色素類との分離が優れており、精製および同定いずれにも良好な方法として、応用できることが判明した。

スポット 1 と標準トリプタミンのニンヒドリン試薬、エールリッヒ試薬およびサルコフスキー試薬との反応については、第 3 表に示されているとおりである。スポット 1 のこれら試薬との反応は、標準トリプタミンの場合と全く同じであった。

TLC により精製されたスポット 1 の紫外外部吸収スペクトルは、標準トリプタミンのスペクトルと一致した。すなわち、280 nm で最大、285 nm で特有のショルダー、そして 245~250 nm で最小値を示した(第 2 図)。

TLC により精製されたスポット 1 を GC にかけたところ、標準トリプタミンの溶出時間 (31±0.5 min) と一致した位置に、顕著な未同定ピークが現われた(第 3 図)。この未同定ピークは、GC-MS によるマススペクトル分析の結果、トリプタミンであることが判明した

(第 4 図)。

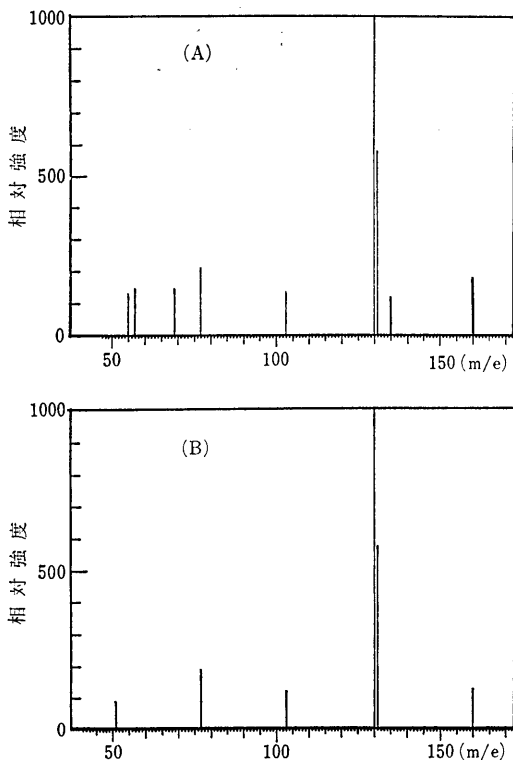
以上のことから、亜鉛欠除区・地上部のメタノール抽出物の塩基性画分にはトリプタミンが存在することは確認された。

なお、オオムギ幼植物の他の処理区・地上部のメタノール抽出物についても同様に、トリプタミンが存在することを確認した。

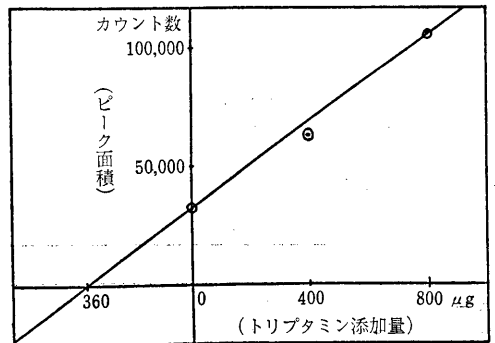
3) 亜鉛欠除処理および各種要素欠除処理がオオムギ地上部のトリプタミン含量に及ぼす影響

亜鉛欠除区について分析した一例を第 5 図に示す。地上部・新鮮重 37.5 g をメタノール抽出し、1 l とした。これを 3 等分して、それぞれに標準トリプタミン・塩酸塩 (50 mg/100 ml) 溶液を 0, 0.80, 1.60 ml ずつ添加した。「トリプタミンの定量」の項目にしたがい、それぞれについて、メタノール抽出物の塩基性画分を得た。ついで、80% メタノール 1.0 ml を加えて溶かし、5 μl を GC にかけた。第 5 図における外挿点の読み 360 μg は、亜鉛欠除区 (37.5/3g) の抽出液中にはじめから存在していたトリプタミン量である。したがって、28.9 μg/新鮮重 g という値が得られたことになる。

以下、同様に、亜鉛欠除処理および各種要素欠除処理がオオムギ・地上部のトリプタミン含量に及ぼす影響について、2 反復して調べたのが第 1 表である。対照区 (NO₃-N 区) の地上部のトリプタミン含量は 0.8 (単位は μg/新鮮重 g で以下省略する) であった。固有の欠乏症状が認められた窒素、リン、カリウム欠除区のトリプタミン含量は、それぞれ、2.1, 2.8, 1.7 と対照区に比較すれば高い値が得られた。カルシウム、マグネシウムおよび鉄欠除区もそれぞれ固有の欠乏症状が認められたが、トリプタミン含量は、0.5, 0.6 および 0.5 で、対照区よりも低い値であった。イオウ欠除区のトリプタミン含量は 5.7 と各種要素欠除区のうちでは、亜鉛欠除区について高い値を示した。なお、NH₄-N 区のトリプタ



第 4 図 亜鉛欠除区オオムギ・メタノール抽出物から精製されたスポット 1 (A) と標準トリプタミン (B) のマススペクトル



第 5 図 標準添加法によるトリプタミンの定量の一例

ミン含量も4.5と高い値であった。

みかけが正常な時点で収穫した亜鉛欠除区〔-Zn(a)〕では3.4、節間伸長阻害などの亜鉛欠乏症状が明らかに認められた亜鉛欠除区〔-Zn(b)〕では11.3と全処理中最も高い値を示した。なお、亜鉛欠除区については、分析例としてあげた第5図のように、28.8とさらに高い値を示す場合もあった。

以上述べたように、オオムギ地上部中のトリプトタミン含量は、とくに亜鉛欠除区で高いことが確認された。しかし、イオウ欠除区、NH₄-N区でもトリプトタミン含量は、かなり高いことも判明した。亜鉛欠除区と同様、イオウ欠除区、NH₄-N区の幼植物において、遊離アミノ酸画分が増加することはよく知られた事実¹⁴⁾であるので、遊離アミノ酸画分が増加したため、これと関連して含窒素化合物であるトリプトタミンも、単に、増加した可能性もある。この場合、(1)欠除症状の明らかな窒素欠除区において、トリプトタミン含量は対照区より高いこと、

第4表 トリプトファン、トリプトタミン、IAAに対するアベナ子葉鞘の反応—アベナ屈曲試験

濃度 (ppm)	屈曲度(度)*		
	トリプトファン	トリプトタミン	IAA
0.002	—	—	4.9
0.02	3.3	2.8	5.2
0.2	4.5	6.7	32.3
2	4.9	30.3	—

* エンバクの種子 (*Avena sativa* var. Zenshin) を3時間水に浸し、暗所、25°Cで90時間生育させた。先端より2mm下までを除き、3時間後にもう一度、先端を切り取った。次に被検液を浸みこませた寒天片 (2×2×2mm) を子葉鞘の片側にのせ、25°Cで、2時間、暗所で培養し、その間の屈曲度を測定した。

第5表 トリプトファン、トリプトタミン、IAAに対するアベナの反応—アベナ伸長試験

濃度 (ppm)	長さ (mm)*		
	トリプトファン	トリプトタミン	IAA
0	8.81	8.89	8.26
0.02	8.48	8.99	9.10
0.2	8.81	9.20	11.32
2.0	8.54	9.89	12.39
20.0	9.30	10.89	12.36

* エンバクの種子 (*Avena sativa* var. Zenshin) を3時間水に浸し、暗所、25°Cで90日間生育させた。先端より2mm下から5mmの画分を切り取り、1皿当たり15個の画分を2mlの試験液 (リン酸バッファー pH 4.5, 1%シュウクロース, インドール化合物) のなかに置いた。暗所で、24時間生育させたのち、その長さを測定した。

(2)カルシウム、マグネシウム、鉄欠除区でのトリプトタミン含量が対照区よりも低いこと、これらの事実をどう考えたらよいのか目下のところ不明である。トリプトタミン集積の機作について、さらに詳細な検討が必要であろう。

予備的な実験によると、トリプトタミンはアベナ屈曲試験 (第4表)、アベナ子葉鞘伸長試験 (第5表) において明らかな活性を示した。活性の強さは、トリプトファン<トリプトタミン<IAAの順であった。これらの実験結果は、トリプトタミンがIAAの先駆体となりうるとの前述の報告を裏づけるものである。

さて、オオムギ幼植物の亜鉛欠除区で認められるトリプトファン、トリプトタミンの集積と茎の伸長阻害現象といかなる関連があるのであろうか。仮に、トリプトタミンからIAAへの生合成系に亜鉛が関与しているとすれば、亜鉛欠除処理がIAA含量を低下させ、トリプトファン、トリプトタミンを集積させ、その結果、茎の伸長が阻害されることは容易に理解できる。このような意味から、今後さらに、亜鉛-IAAとの関連を調べてみる必要がある。

3. 要 約

オオムギ地上部からのメタノール抽出物の塩基性画分について、TLC (*n*-ブタノール:酢酸:水=4:1:2) を行うと、いくつかのエールリッヒ試薬に反応するスポットが検出された。亜鉛欠除区から得られたスポット1は、標準トリプトタミンと同じR_f値を示した。TLCにより精製されたスポット1は、紫外部吸収スペクトル法、電気泳動法、GC-MSにより、トリプトタミンであることが確認された。トリプトタミンの定量は、ガスクロマトグラムのピーク面積から算出する方法で行った。

亜鉛欠乏の症状が進んだオオムギ地上部には、大量のトリプトタミンが存在した (11.3 μg/新鮮重g)。対照区では0.8 μg/新鮮重gであった。明らかな欠乏症状が認められた窒素、リン、カリウム欠除区のトリプトタミン含量は、それぞれ、2.1, 2.8, 1.7で、対照区に比較して高い値が得られた。カルシウム、マグネシウム、鉄欠除区では、それぞれ、0.5, 0.6, 0.5で、対照区よりも低い値であった。イオウ欠除区のトリプトタミン含量は、5.7と各種要素欠除区のうちでは、亜鉛欠除区について高い値を示した。なお、NH₄-N区のトリプトタミン含量も4.5と高い値であった (単位はそれぞれ μg/新鮮重g)。

謝 辞 本研究の遂行に当って、マススペクトルの測定をしていただいた本学工学部田辺公子助手に感謝の意を表します。また、実験にご協力いただいた本研究室の田崎浩美君、菊池章子君に感謝します。

文 献

- 1) SKOOG, F.: Relationships between Zinc and Auxin in the Growth of Higher Plants. *Am. J. Bot.*, **27**, 939~951 (1940)
- 2) TSUI, C.: The Role of Zinc in Auxin Synthesis in the Tomato Plant. *ibid.*, **35**, 172~179 (1948)
- 3) NASON, A., KAPLAN, N. O. and COLOWICK, S. P.: Changes in Enzymatic Constitution in Zinc Deficient Neurospora. *J. Biol. Chem.*, **188**, 397~406 (1951)
- 4) KLEIN, R. M., CAPUTO, E. M. and WITTERHOLT, B. A.: The Role of Zinc in the Growth of Plant Tissue Cultures. *Am. J. Bot.*, **49**, 323~327 (1962)
- 5) SALAMI, A. U. and KENEFIC, D. C.: Stimulation of Growth in Zinc Deficient-Corn Seedlings by the Addition of Tryptophan. *Crop Sci.*, **10**, 291~294 (1970)
- 6) TAKAKI, H. and KUSHIZAKI, M.: Accumulation of Free Tryptophan and Tryptamine in Zinc Deficient Maize Seedlings. *Plant Cell Physiol.*, **11**, 793~804 (1970)
- 7) 高木 浩・串崎光男: 亜鉛欠乏植物におけるトリプトファンならびにトリプタミンについて, 土肥誌, **43**, 81~85 (1972)
- 8) TAKAKI, H. and ARITA, S.: Free Tryptophan in Zinc Deficient Oat and Barley. *Bull. Fac. Agric., Miyazaki Univ.*, **32**, 307~315 (1985)
- 9) 高木 浩・串崎光男: 作物における亜鉛栄養に関する研究, 農技研報, **B28**, 75~118 (1976)
- 10) MUIR, R. M. and LANTICAN, B. P.: Purification and Properties of the Enzyme System Forming Indole Acetic Acid; In The Physiology and Biochemistry of Growth Substances, ed. WIGHTMAN, F. and SETTERFIELD, G., p.259~272, Runge Press, Ottawa Canada (1968)
- 11) GIESON, R. A., BARRETT, G. and WIGHTMAN, F.: Biosynthesis and Metabolism of Indole-3-yl-acetic Acid. III. Partial Purification and Properties of a Tryptamine-forming L-Tryptophan Decarboxylase from Tomato Shoots. *J. Exp. Bot.*, **23**, 775~786 (1972)
- 12) McCOWAN, R. E. and MUIR, R. M.: Purification and Properties of Amineoxidase from Epicotyls of *Pisum sativum*. *Plant Physiol.*, **47**, 644~648 (1971)
- 13) KURAIISHI, S.: Biogenesis of Auxin in Barley; In Plant Growth Substances, ed. International Plant Growth Substances Association, p.209~216, Hirokawa Publishing Co., Tokyo (1974)
- 14) ヒュイット, E. J.・スミス, T. A. 著, 鈴木米三・高橋英一共訳: 植物の無機栄養—実験植物栄養学入門—, p.111~148, 理工学社, 東京 (1979)