

イネ科植物が生産する鉄輸送キレート剤, ムギネ酸類の 植物細胞培養への適用

Application of phytosiderophores of mugineic acid series to
plant cell and tissue cultures

代表研究者	岩手大学農学部教授 Prof., Faculty of Agric., Iwate Univ. Sei-ichi TAKAGI	高城成一
協同研究者	東北大学農学部教授 Prof., Faculty of Agric., Tohoku Univ. Kunihiko OJIMA	小島邦彦
	岩手大学農学部助手 Instructor, Faculty of Agric., Iwate Univ. Shigenao, KAWAI	河合成直

Mugineic acid (MA) is a phytosiderophore secreted from the roots of barley (*Hordeum vulgare* L. cv. Minorimugi) in a rather large amount under iron deficiency stress. Its functional role is to extract iron from the soil and to carry it, as Fe (III)-MA complex, into the root cells via a postulated high affinity transport system, and is very similar to that of microbial siderophores. This similarity in the functional role implies that as exemplified by several microbial siderophores, MA might serve as a growth promoter of some cultured cells or tissues of plants belonging to *Gramineae*. In this study, several callus tissues of graminous plants were examined for their growth response to MA added to R-2 medium containing ferric hydroxide-gel (Fe(III)-gel; 45 μ M) as iron source.

Under conditions of suspension culture, the addition of MA caused a slight or considerable increase in the growth rate in five out of the six cell lines examined. However, the growth rate of these cell lines at the optimal MA concentrations (3 or 30 μ M) did not exceed remarkably that of those supplied with Fe(III) EDTA (45 μ M) as iron source.

In an experiment using solidified agar medium, we found one cell line (initiated from immature embryo of barley cultivar Rikuzenmugi; tentatively called "RM callus") which showed remarkable growth response to MA. The RM callus grew poorly on the agar medium with iron source of Fe(III) EDTA; its growth rate increased by several fold when supplied with Fe(III)-gel + MA (3 or 30 μ M). Moreover, in a course of suspension culture (2 to 3 transfer) with R-2 liquid medium containing Fe(III)-gel + MA, RM callus differentiated numerous adventitious roots, and when transferred to an iron-free medium, the roots-emerged callus tissue released a large amount of compounds possessing Fe(III)-gel solubilizing activity. These compounds were identified as malic acid and citric acid.

There are grounds for believing that increased release of citric acid is an important mineral stress response of certain Al-tolerant carrot cell lines, whereby they cope with both Al toxicity and phosphorus deficiency due to the precipitation of soluble phosphate in the ambient media: The confirmatory evidence of the latter item was obtained in this study. The functional significance of the organic acids released by roots-emerged RM callus, however, remains to be clarified. The results of the present study further represent a fundamental problem of whether or not cultured cell lines and tissues of graminous plants are capable of producing phytosiderophores of mugineic acid series.

研究目的

ムギネ酸 (mugineic acid; MA と略記) は、イネ科植物の根が土壌からの鉄獲得のため自律的に合成、分泌するアミノ酸系キレート剤 (ムギネ酸類)¹⁾ の一つであり、オオムギ品種ミノリムギの分泌物から初めて単離され²⁾、この種の物質の典型として集中的に研究されてきた成分である。したがって、MA に関する知見は多岐にわたるが、注目される点の一つは、その生理的挙動と機能が好氣的代謝を営む多様な微生物が鉄欠乏下で放出する siderophore(s) (鉄運搬キレーター) のそれと多くの面で類似することである。すなわち、オオムギ根による MA の合成～分泌量は鉄欠乏ストレス下で激増する³⁾。そして、分泌された MA は培地 (土壌) 中の不溶性鉄 (III) と結合して水溶性の Fe(III) 錯体を作り⁴⁾、特定の能動輸送系を介してこれを根細胞に運び込む機能を果たす³⁾と考えられる。このため近年、ムギネ酸類は一括して Phytosiderophore と呼ばれ、食糧生産の主角を担うイネ科作物の鉄吸収を律速する生理活性物質として、内外の研究者の関心を集めている。

ところで、今日、微生物生理の分野では数十種を超す多数の siderophore が知られているが、その発見の経緯をたどると、これらの中には当初ある特定の微生物種の growth factor として見いだされたものが少なくない^{5), 6)}。これは、この種の物質固有の生理機能 (鉄吸収の加速を通してその生産菌株の初期増殖促進、あるいは該当する siderophore 合成系欠損株の増殖能力の復活をもたらす) からみて、自然の成行きであったと考えられる。同様に、ムギネ酸類はイネやトウモロコシなど、ムギネ酸類生産能力のとりわけ低いイネ科植物の中性培地における鉄吸収を劇的に促進し、生育量の激増を招く³⁾ことから、これらをイネ科植物における growth factor の一つと見ることが出来る。

近年、植物関連の諸分野では基礎、応用の両面にわたり、細胞、組織あるいは器官培養に関する技法の飛躍的な発展がみられてきた。しかしながら、これらの技法の適用範囲については今なお多くの制約があり、増殖不良で放棄されている培養

材料もかず多く見受けられる。とくに、主要作物の主体をなすイネ科植物由来の培養材料にそうした事例がめだっているが、これらの中には、鉄吸収の不調に基づく lag phase の過度の延長が培養の成功を阻んでいると見られるケースも少なくない。

本研究では、以上にかんがみ種々のイネ科植物に由来する培養細胞を主要な対象として、その初期増殖と鉄栄養および再分化などに対する MA の影響を手広く検討し、植物細胞培養による新たな研究場面の展開をはかる。これを通して、世界的に今日広く待望されているソルガムその他のイネ科作物の鉄欠乏耐性品種作出の試みに寄与することも、本研究に託する夢の一つである。

研究経過

既報の手順により、鉄欠培地で培養中のオオムギ根分泌物から必要量の MA 試料を分離し、オオムギなどのイネ科植物から新たに誘導した数種のカルスを対象として液体培地による振とう培養実験を開始した。培地の鉄源としては水酸化鉄 (III) ゲルを用い、これに MA を種々の濃度で添加した。Fe(III) EDTA を鉄源とした場合を基準として、カルス細胞の増殖状況をその時間経過や接種量、培地容量との関係など、さまざまな角度から検討したが、残念ながらそれらの増殖が MA の供給下でとくにめだって促進される事例は得られなかった。

そこで次に寒天培地上での増殖を調べたところ、供試したカルスの中でオオムギ品種リクゼンムギの未熟胚に由来するもの (RM カルス) がひとり特異な生育反応をみせ、水酸化鉄+MA (3~30 μ M) の供給下で Fe(III) EDTA を与えた場合の数倍に及ぶ旺盛な増殖を示した。この RM カルスはまた、水酸化鉄+MA を含む液体培地で継代培養すると多数の不定根を分化し、この発根したカルスを鉄源を欠く培地に移すと多量の鉄 (水酸化鉄 (III) ゲル) 溶解物質を培地に放出した。この鉄溶解物質はしかし、ムギネ酸類ではなく、リンゴ酸とクエン酸を主体とする有機酸類であった。

植物培養細胞による有機酸の放出現象は従来おもにニンジン細胞におけるアルミニウム耐性機構

表 1. R-2 培地の組成.

NaH ₂ PO ₄	2.0 mM	NnSO ₄	9.1 μM	Thiamine HCl	1.0 mg/l
KNO ₃	40 mM	ZnSO ₄	7.6 μM	Sucrose	20 g/l
(NH ₄)SO ₄	2.5 mM	H ₃ BO ₃	4.6 μM	2,4-D	2.0 mg/l
MgSO ₄	1.0 mM	CuSO ₄	0.79 μM	EDTA-Fe	45 μM
CaCl ₂	1.0 mM	NaMoO ₄	0.52 μM		

pH 6.0

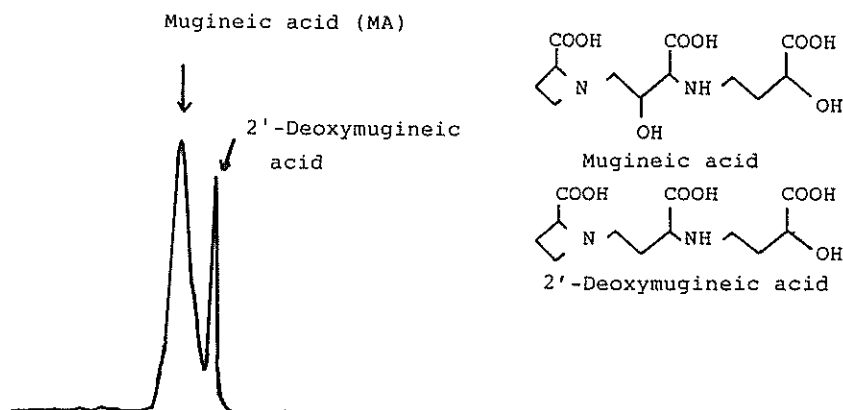


図 1. 供試したムギネ酸の HPLC クロマトグラム

Column: 7.5 μm Shim-pack Li-ISC-07/S1504 (150×4.0 mm i.d.), Mobile phase: 0.15 M lithium citrate in 7% aqueous ethanol solution (pH 2.65), Flow rate: 0.4 ml/min, Column temperature: 38°C.

との関連で注目されてきたが、今回の研究により、この現象が同じ AI 耐性ニンジン細胞株のリン酸獲得機構としても役立っていることが確認された。一方、前記の発根 RM カルスにおける有機酸の放出は、この現象の発現状況からみて鉄欠乏に対するストレス反応と考えられるが、ここでの放出物質がムギネ酸類でなく有機酸であったことは予想外の事実で、イネ科植物由来の培養細胞や組織におけるムギネ酸類生産の有無の問題が改めて問い直されることになった。この問題については、さらに検討を続ける予定である。

研究成果

材料および方法

主として下記の植物品種、部位から誘導したカルスを実験に供した。

エンバク (品種ゼンシン/下胚軸)

イネ (品種ササニシキ/催芽種子)

トウモロコシ

(品種ハニーバンタム/上胚軸)

コムギ (品種 PIMA/下胚軸)

オオムギ (品種リクゼンムギ/未熟胚)

オオムギ (品種ミノリムギ/未熟胚)

オオムギ (品種美人/下胚軸)

基本培地としては、小島の処方による R-2 培地 (組成: 表 1) を用いた。R-2 培地の本来の鉄源は Fe(III) EDTA (45 μM) であるが、本研究ではこの Fe(III) EDTA を鉄源とする基準培地のほかに、鉄源として水酸化鉄 (III) ゲルを用い、これに滅菌フィルターでろ過した MA 水溶液を種々の量 (終濃度 0, 0.3, 3.0, 30 μM) 添加した一連の培地を調製し、実験に用いた。振とう培養における培地量は原則として 50 ml/flask とし、27°C, 80 rpm で回転振とう培養した。固体培地は、上記の各培地に agar (0.7%) を加えて調製した。なお、MA 供給下における増殖量の測定には、原則として MA 添加培地で 1~2 代前培養した材料を供試した。

培地の調製に要した MA 試料は、鉄源を欠く

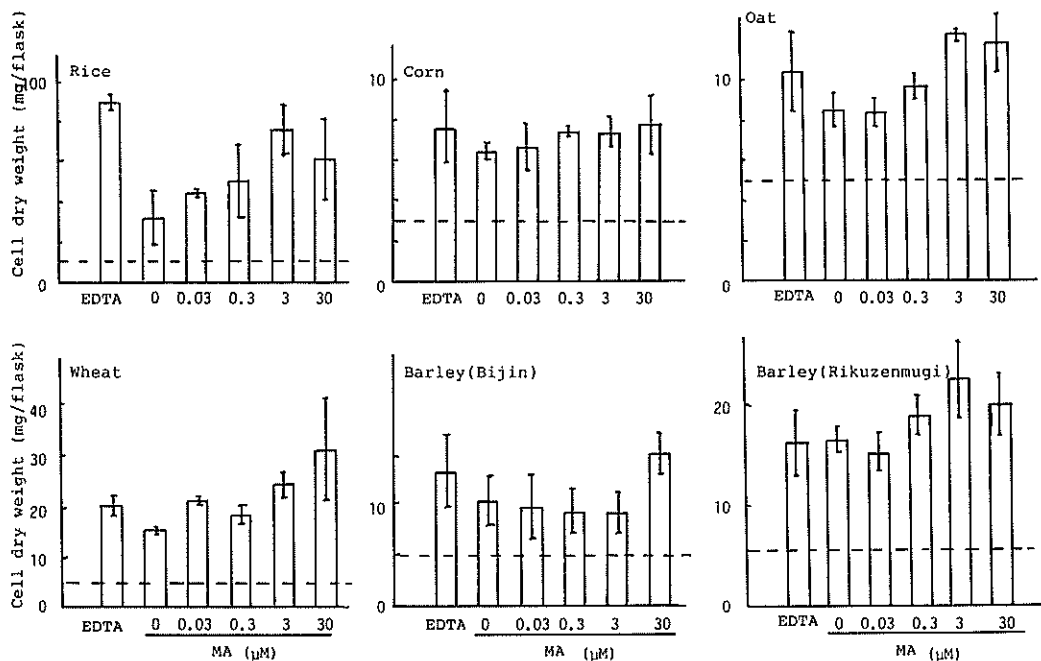


図2. 液体培地におけるムギネ酸(MA)濃度とカルス増殖量
 培地量: 50 ml/flask, 点線は移植したカルス量を示す。
 EDTA: Fe(III) EDTA 45 μ M, MA: Fe(OH)₃ 45 μ M+MA 0~30 μ M,
 縦棒 I は標準偏差を示す。

水耕液を与えて育成したオオムギ(品種ミノリムギ) 幼植物の根分泌から既報⁹⁾の手順により分離した。このMA試料は mugineic acid と 2'-deoxymugineic acid を約 4:1 のモル比で含んでいるが(図1), 本研究の目的からみてむしろ両者の併用が望ましいと思われたので, 両成分未分離のまま実験に供した。培地中のMA濃度の測定は, 高速液体クロマトグラフィー(HPLC)⁷⁾または水酸化鉄(III)ゲル溶解活性測定法⁸⁾により行った。

結 果

(1) 液体培地における増殖

通常量のカルス組織(5~25 mg-Dry Wt./flask)をR-2液体培地に移植し, 2週間振とう培養した場合における生育量(カルス乾燥重)を図2に示す。これらのデータを通覧すると, 水酸化鉄+MAの系列における生育量はカルスの種類によってかなり異なるものの, 概してMA濃度の増加に伴い増大し, 3ないし30 μ M-MAで最

大に達している。しかし, これらの最適MA濃度における生育量も, Fe(III) EDTAの供給下における生育量と同等か多少これを上回る程度で, MAの供給により細胞増殖がとくに目立って促進されるというような事例は認められない。

図3は, 図2に示した各カルスの最適MA濃度における生育過程を, Fe(III) EDTA(45 μ M)供給下の生育経過と同時的に追跡した結果の一部であるが, ここでも多くの場合両者の間に大きな違いは認められない。例外として, オオムギ品種リクゼンムギのカルスの場合, 水酸化鉄+MAの供給下における生育速度がFe(III) EDTA供給下のそれを明らかに上回っているが, その差もさほど大きいとはいえない。なお, イネのカルスは水酸化鉄+MAの供給下で培養10日目以降, 生育を停止したが, 理由は不明である。

我々は当初, 細胞接種量の比較的少ない場合における初期増殖の促進に, MAが著効を示す可能性が濃いと考えた。しかし, カルスの移植量を段

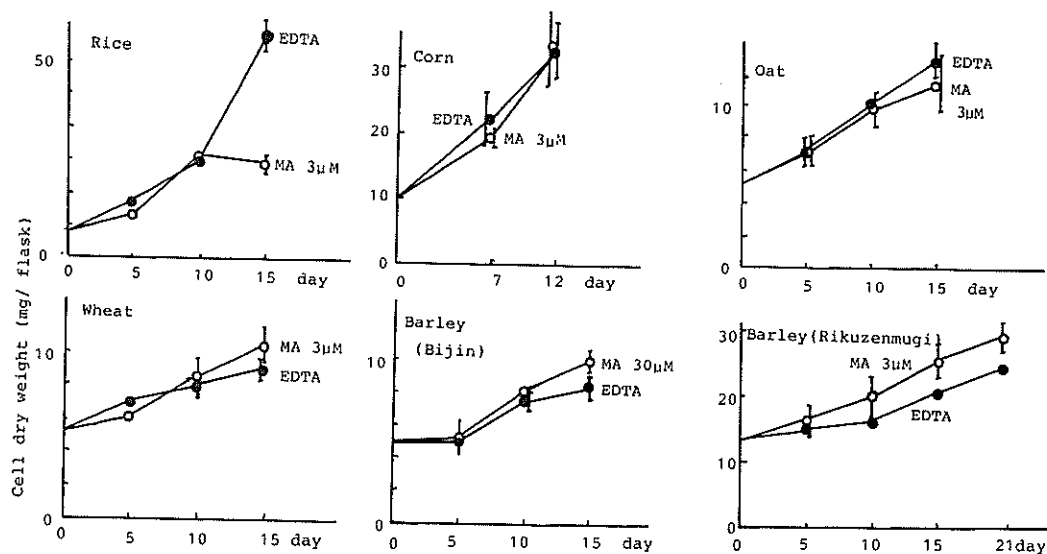


図3. Fe(III) EDTA および Fe(OH)₃ + MA を鉄源とする液体培地におけるカルス増殖の時間経過。培地量: 50 ml/flask,

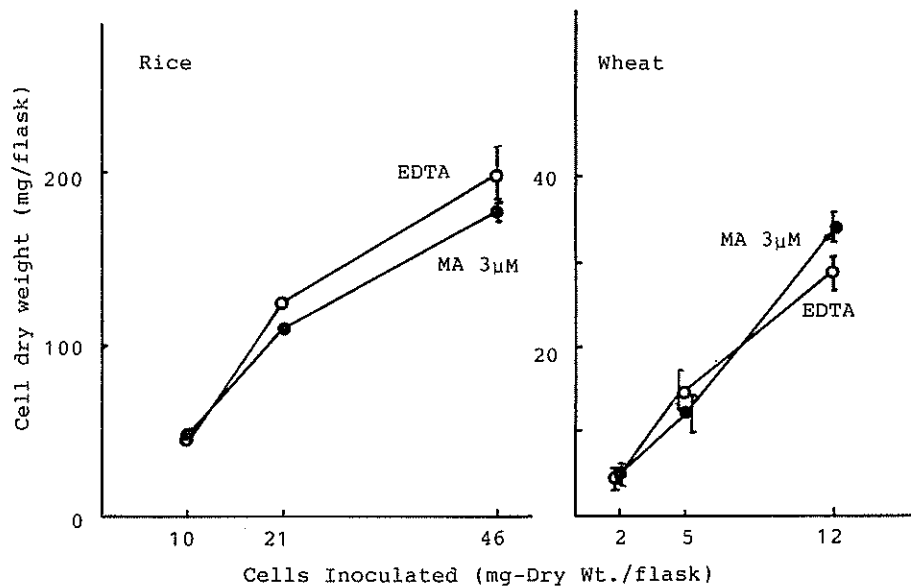


図4. Fe(III) EDTA および Fe(OH)₃ + MA を鉄源とする液体培地におけるカルス増殖に対する接種量の影響。培地量: 50 ml/flask, 培養期間: イネ-カルス 8 日間, コムギ-カルス 14 日間

階的に変えてみた結果 (図4), 予想を裏付けるデータは得られなかった。また, 移植量を一定とし, 培地量を3倍 (150 ml/flask) に増やした場合の生育速度も, Fe(III) EDTA 供給下と水酸化鉄

+MA の供給下とで大差はなかった (データ省略)。

結局, 以上の実験の中では, 水酸化鉄+MA の供給によりカルス細胞の増殖が強く促進される場

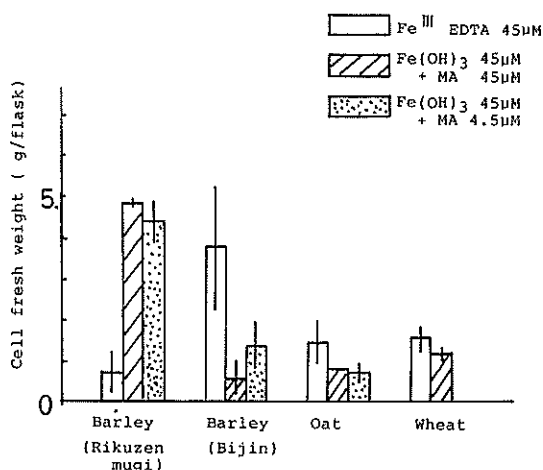


図5. Fe(III) EDTA および Fe(OH)₃ + MA を鉄源とする固体(寒天)培地におけるカルの増殖
培地量: 50 ml/flask, 接種量: 15 mg-dry wt,
培養期間: 90 日

面を認めることはできなかった。このことは、液体培地による振とう培養の条件下では、鉄の吸収が細胞増殖の律速因子となる可能性が少ないことを示唆するものと思われる。おそらく、植物細胞の場合是一般の微生物に比し増殖速度がはるかに遅い関係で、細胞の多くが外液に接している振とう培養下では MA を介する鉄の能動輸送は必ずしも必要でなく、外液中に溶存する Fe(III) EDTA の単なる受動的取込みだけでも必要量の鉄を一応確保できるのであろう。

(2) 固体培地における増殖

前項の実験に続いて、R-2 寒天培地による静置培養実験を試みた。その結果(図5)、供試した数種のカルの中でただ一つ、オオムギ品種リクゼンムギに由来するもの(RM カルスと略記)が特異な生育反応をみせ、水酸化鉄+MA の供給下で Fe(III) EDTA を与えた場合の10倍近くに及ぶ旺盛な生育を示すことが判明した。

前記のように(図3参照)、この RM カルスは液体培地のもとでも水酸化鉄+MA の供給下で比較的優れた生育を示したが、固体培地上ではこの傾向がより強く増幅された形で現れると見ることができる。しかし、その理由は定かでない。一つの可能性として、固体培地上に置かれたカルス

の場合は培地と細胞塊の接触面積が限られているため、Fe(III) MA 錯体の能動輸送による急速な鉄吸収が生育上有利に働くということも考え得ぬではない。この考え方ではしかし、RM カルスのそれと逆の関係にある他の多くのカルスの生育反応については全く説明がつかないことになる。固体培地上での RM カルスの生育が MA の供給により特異的に促進される理由に関しては、次に述べる RM カルスの発根および有機酸放出現象との関連を含めて、改めて検討を加える必要がある。

(3) RM カルスの不定根分化と有機酸放出

以上の実験を進める中で、水酸化鉄+MA を鉄源とする R-2 液体培地で継代培養中(2週間×2~3代)の RM カルスに、多数の不定根が発生していることが観察された。この RM カルスは、本研究に用いたほかのカルスに比べてより発根を起こしやすい傾向があり、これを 2,4-D を除いた培地に移すと容易に不定根を分化する。近年の研究^{9,10)}によると、2,4-D は培養細胞内で種々のアミノ酸と conjugate を作る傾向があるが、これらの結合体は生理活性を有し、しかも細胞から放出されがたいため、conjugate 形成の増加は培養細胞を 2,4-D free の培地に移した際の再分化の阻害を招くといわれている。MA 添加に伴う RM カルスの発根現象が、2,4-D~アミノ酸 conjugate 形成の阻害によるのか、あるいは MA 独自の生理作用に基づくものなのかは不明であるが、いずれにしても本物質がカルス細胞の不定根分化をなんらかの形で促進する働きをもつことは疑いないと思われる。

このことに関連して早速問題になるのは、カルス自身の生産するムギネ酸類がその不定根分化になんらかの形で関係しているのではないかということである。既述のように、一般にムギ類は鉄欠乏条件下で多量のムギネ酸類を根において合成~分泌するが、しかしこれらの植物のカルスや培養細胞がムギネ酸類を生産するという証拠は今まで全く得られていない。その理由はいろいろ考えられるが、もしこれが脱分化状態の培養細胞ではムギネ酸類合成系の遺伝子発現がない故とすれば、

表2. 発根および非発根オオムギカルス*による鉄欠培地のもとでの水酸化鉄(III)溶解物質の放出.

	Fe(OH) ₃ 溶解活性 (μg-Fe/flask**)	
	継代数*** /	
発根カルス	1	46.0
非発根カルス	2	42.5
		0
		1.2

* オオムギ品種リクゼンムギの未熟胚より誘導

** 培地量: 50 ml/flask

*** 継代間隔: 7 日間

培養細胞の発根に伴いその合成が開始されるということがあるかも知れない。

そこで、次に発根および非発根状態の RM カルスに、それぞれ鉄源無添加の R-2 液体培地を与えて 7 日間ずつ 2 回継代培養した後、培地溶液の水酸化鉄(III)ゲル溶解活性を調べたところ、発根カルスの培地にのみ強い溶解活性が検出された(表2)。しかし、その鉄溶解活性を担う物質は、イオン交換樹脂による分画および HPLC による分析の結果、ムギネ酸類ではなく、リンゴ酸(7.2 mg/50 ml)とクエン酸(2.2 mg/50 ml)を主体とする有機類であることが明らかになった。

我々は、これまでにイネ科由来の種々の非発根カルスが鉄欠培地のもとで、有機酸とみられる鉄溶解物質をごく微量ながら放出することを認めてきたが、上記の検討を通して、その放出量がカルスの発根に伴い激増するという意外な事実が浮んできた。Escherichia coli K12 などの腸管系細菌には、自前の siderophore (enterobactin など)に依存する鉄輸送系のほかに、自らは生産しないクエン酸を外来の siderophore として利用する基質誘導性の鉄輸送系が存在する¹⁰⁾。また一方、最近の研究でタバコ¹¹⁾やキクイモ塊茎¹²⁾のカルスの発根に際し cyanide 耐性呼吸の増加が起こることが示されているが、こうした呼吸の増加に伴いカルス組織の鉄要求量も増加する可能性が考えられる。

イネ科植物の発根および非発根カルスが鉄欠培地の下で放出する有機酸類は、果たしてムギネ酸類に代わる phytosiderophore としてカルス組織の鉄吸収を支えているのであろうか? 果たし

て、これらのカルスはムギネ酸類生産能を全く欠いているのか? また、これらのカルスの不定根分化と呼吸代謝や有機酸放出の間にはいかなる因果関係が存在するのであろうか? 我々は、MA の投与による RM カルスの発根現象の発見に伴う研究上の成行きとして、これらの疑問の解決を迫られることになったが、その検討は未了である。

(4) アルミニウム耐性ニンジン細胞によるクエン酸の放出と難溶性リン酸塩の利用

植物培養細胞による有機酸の放出は、当研究グループの小島¹³⁾が最初に注目し、ニンジン培養細胞のアルミニウム耐性機構に関連して研究を進めてきた現象である。その結果によれば、Al ストレス選抜で得られた Al 耐性細胞は高濃度の Al³⁺ イオンを含む培地を与えた場合、多量のクエン酸を放出して Al³⁺ イオンをマスクしその毒性を免れる。このクエン酸放出は、Al³⁺ の解毒と同時に培地中の難溶性リン酸塩の可溶化、吸収にも役立っていると考えられるが、確証は得られていない。以下の実験では、前項で述べた発根 RM カルスにおける有機酸放出現象の生理的意義に関する情報収集の一環として、Al 耐性ニンジン細胞におけるクエン酸の放出と難溶性リン酸塩利用との関連について検討した。

すなわち、ニンジン品種 MS ヨンスンの下胚軸に由来する培養細胞を、4 mM-AlCl₃ を含む R-2 培地のもとで数十代にわたり継代培養して得た Al 耐性選抜株、および Al 無添加の R-2 培地で同様に継代培養した非選抜株を、それぞれ水溶性の NaH₂PO₄ または難溶性の AlPO₄ または FePO₄ をリン酸源とする 3 種の R-2 培地(それぞれ NaH₂PO₄ 培地、AlPO₄ 培地、FePO₄ 培地と略記)に移殖し、2 週間培養した後、両細胞株の生重および培地中のクエン酸濃度を測定した。その結果(表3)、FePO₄ 培地と AlPO₄ 培地における非選抜株の生育は非常に悪く、生重ベースで NaH₂PO₄ 培地を与えた場合の 1/3 から 1/4 にすぎなかったが、同じ条件下で選抜株は NaH₂PO₄ 培地におけると大差ない生育を示した。また表4に示すように、選抜株の培養に用いた各培地溶液の中で、FePO₄ 培地と AlPO₄ 培地については

表3. 難溶性リン酸源の供給下における Al 耐性選抜および非選抜ニンジン培養細胞の生育反応.

細胞株	生育量 (g-Fresh wt./flask)		
	NaH ₂ PO ₄	FePO ₄	AlPO ₄
選 抜 株	3.73±0.10 (100)	2.99±0.19 (80)	3.76±0.19 (101)
非選抜株	5.23±0.04 (100)	1.93±0.10 (37)	1.28±0.04 (24)

()内の数字は NaH₂PO₄ をリン酸源とした場合を 100 とした生育量の指数を示す.

培地量: 50ml/flask

接種細胞量: 0.75g-fresh wt./flask

培養期間: 7 日間

表4. 難溶性リン酸源の供給下における Al 耐性選抜および非選抜ニンジン培養細胞によるクエン酸の放出.

細胞株	培地中のクエン酸濃度 (mM)		
	NaH ₂ PO ₄	FePO ₄	AlPO ₄
選 抜 株	0.07	0.34	0.86
非選抜株	0.03	0.11	0.04

培地量: 50 ml/flask

培養期間: 7 日間

NaH₂PO₄ 培地における濃度の 5 倍から 12 倍に及ぶ高濃度のクエン酸が検出された。

これらの結果は、Al ストレス選抜を経てきたニンジン細胞の選抜株が、AlPO₄ 培地の下ではもとより、Al³⁺ イオンの全く存在しない FePO₄ 培地の下でも多量のクエン酸を放出し、培地中の難溶性リン酸塩を可溶化、吸収することにより、リン酸欠乏による生育障害を免れていたことを示している。おそらく、この選抜株はその選抜培地における特殊な無機栄養環境 (高 Al³⁺, 低溶存リン酸濃度) に対する生理的適応の一つとして、Al³⁺ イオンの解毒と別個に、クエン酸の大量放出による難溶性リン酸塩の効果的な利用の仕組みを発達させてきたのであろう。

一方、前項で述べた RM カルスの発根に伴う有機酸放出現象は、その発現条件 (Al および鉄源を欠く培地の下で発現) からみて、Al ストレスやリン酸欠乏ストレスに基づくものとは考えがたい。この現象の誘因とみられるのは鉄欠乏ストレスで

あるが、前記のように本現象が発根カルスの鉄欠乏解消に関係するか否かの検討は今後に残される。また、Al³⁺ イオン濃度の増加やリン酸欠乏、さらには鉄欠乏といった性格的に大きく異なる複数のストレス要因が、ともに有機酸放出という見掛け上同じ現象をもたらす事実の根底に、共通の生理的基盤が存在するのかどうかの検討も今後の課題の一つであり、関連する情報の収集にいったその努力が求められる。

今後の課題と発展

MA (ムギネ酸) がイネ科植物に由来するカルスや培養細胞の生育促進に著効を示す場面がありうることを予想し、本研究ではイネ科植物から誘導した 7 種のカルスを対象として一連の培養実験を試みた。その結果、液体培養地による振とう培養実験では結局予期した場面が捕えられなかったが、寒天培地による静置培養下で、MA を与えたときその生育量が激増する 1 株のオオムギカルス (RM カルス) を見いだすことができた。この MA による RM カルスの生育促進効果が、本物質の鉄 (III) 輸送活性に基づくものか否かについては、なお検討の余地が残される。しかし、いずれにしても限られた実験材料によるこの最初の試みの中で、わずかに 1 例とはいえ MA がカルス組織の生育促進に著効を示す事例が得られたことは注目すべきことで、これを契機として、植物細胞・組織培養における MA の利用が今後多くの研究場面で広く試みられる状況が開けてくることが期待される。

本研究ではまた、MA の供給により RM カルスの発根が誘発され、さらにその発根に伴い鉄欠培地のもとでの有機酸放出の激増が起こるという意外な事実が浮んできた。これらの現象の機作と生理的意義をめぐって色々な疑問が生れてくるが、その全般にかかわる基本的な問題点は、イネ科植物由来の培養細胞などにおけるムギネ酸系 phytosiderophore 生産能力の有無であろう。この問題は、この種の培養細胞などの増殖や不定根分化と鉄吸収との関係を論じる上ではもとより、細胞または遺伝子工学的的手法によるイネ科作物の鉄欠乏耐性品種作出戦略の方向性を占う上でも見過しえないものと考えられる。

栽培植物の鉄欠乏は、世界的に広大な面積を占める石灰質土壌地域における農業上の主要な問題の一つであり、その対策技術の確立が食糧生産上の急務とされている¹⁴⁾。とくに、ダイズやソルガム、トウモロコシなどの鉄欠乏による減収被害は大きく¹⁵⁾、その抜本的な対策手段として今日、各地で鉄欠乏耐性品種の導入が図られているが、従来からの交配育種による品種改良効果には必ずと限界があることは否定できない。したがって、遺伝子工学的的手法による本格的な鉄欠乏耐性品種作出の試みに期待すべき余地は非常に大きいと言える。このような見地から、我々は現在、MA 合成系遺伝子のクローニングを当面の目標とする総合研究の一環として、オオムギ根における MA 合成機構の研究¹⁶⁾と併せて、イネ科由来の培養細胞におけるムギネ酸類合成能の有無に関する検討を続けている。

引用文献

- 1) Nomoto, K., Y. Sugiura and S. Takagi: in: Iron Transport in Microbes, Plants and Animals. G. Winkelmann *et al.* (eds.). Weinheim: VCH, pp. 401-425. (1987)
- 2) Takemoto, T., K. Nomoto, S. Fushiya, R. Ouki, G. Kusano, H. Hikino, S. Takagi, Y. Matsuura and M. Kakudo: *Proc. Jpn. Acad.*, 54B, 469-473 (1978).
- 3) Takagi, S., K. Nomoto and T. Takemoto: *J. Plant Nutr.*, 7, 469-477 (1984).
- 4) Takagi, S., S. Kamei and M. H. Yu: *J. Plant Nutr.*, 12; in press (1988).
- 5) Snow, G. A.: *Bacteriol. Rev.*, 34; 99-135 (1970).

- 6) Byers, B. R. in: Microbial Iron Transport. J. B. Neilands (ed). New York: Academic Press, pp. 85-105 (1974).
- 7) Kawai, S., Y. Sato and S. Takagi: *J. Chromatography*, 391, 325-327 (1987).
- 8) Feung, C., R. H. Hamilton and R. O. Mumma: *J. Agric. Food Chem.*, 23, 373-376 (1975).
- 9) Montague, M. J., R. K. Enns, N. R. Siegel and E. G. Jamorski: *Plant Physiol.*, 67, 603-607 (1981).
- 10) Rosenberg, H. and I. G. Young: in Microbial Iron Metabolism. J. B. Neilands (ed). New York: Academic Press, pp. 67-82 (1974).
- 11) Liang, H. G. and C. S. Lu: *Plant Physiol.*, 75, 876-878 (1984).
- 12) Hase, A.: *Plant Cell Physiol.*, 28, 833-841 (1987).
- 13) 小島邦彦: 植物栄養特性の遺伝的側面. 日本土壤肥科学会編, 博友社 (東京) pp. 43-85 (1987).
- 14) Vose, P. B.: *J. Plant Nutr.*, 5, 233-250 (1982).
- 15) Clark, R. B.: *J. Plant Nutr.*, 5, 251-268 (1982).
- 16) Kawai, S., K. Itoh and S. Takagi: *Tetrahedron Lett.*, 29, 1053-1056 (1988).

発表論文

- 1) Takagi, S., K. Kamei and M. H. Yu: Efficiency of iron extraction from soil by mugineic acid family phytosiderophores. *J. Plant Nutr.* 11: 633-642 (1988).
- 2) Kawai, S., Y. Sato, S. Takagi and K. Nomoto: Separation and determination of mugineic acid and its analogues by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatography*, 391, 325-327 (1987).
- 3) Kawai, S., K. Ito, S. Takagi, T. Iwashita and K. Nomoto: Studies of phytosiderophores: Biosynthesis of mugineic acid and 2'-deoxymugineic acid in *Hordeum vulgare* L. var. Minorimugi. *Tetrahedron Lett.*, 29: 1053-1056 (1988).
- 4) Kawai, S., S. Takagi and Y. Sato: Mugineic acid family phytosiderophores in root secretions of barley, corn and sorghum varieties: *J. Plant Nutr.* 11: 633-642 (1988).
- 5) 小島邦彦: アルミニウム耐性ニンジン培養細胞 (その2) ストレス選抜の方法を巡って. 組織培養, 12, 96-100 (1986).
- 6) 大川原良次, 小島邦彦, 吉田昌一: アルミニウム耐性イネカルスの選抜とその再分化. 土肥誌, 57, 558-562 (1986).
- 7) 小島邦彦, 宮沢道雄, 佐々木瑞雄, 大平幸次: アルミニウム耐性を異にするコムギ2品種の無菌栽培におけるリンゴ酸の放出. 無菌生物, 17, 91-94 (1987).
- 8) Ojima, K., And K. Ohira; Aluminium-tolerance

and citric acid release from a stress-selected cell line of carrot. *Comm. Soil Sci. and Plant Anal.*, **19**, 7-12 (1988).

9) 小島邦彦; 植物栄養生理学的研究領域における無菌植物実験系と組織培養系との接点. *無菌生物*, **18**, (1988) 掲載予定.