

学 位 論 文 題 名

Promotion of root growth by the application of inosine

(イノシンによる植物の根生長促進)

学位論文内容の要旨

Inosine is one of the purine nucleosides widely found in plants, animals and other forms of living organisms. It is composed of the purine-base hypoxanthine and the sugar D-ribose. The nucleosides as well as nucleotides are precursors of nucleic acids (DNA and RNA), metabolites which participate in bio-energetic processes (ATP) and in synthesis of macromolecules, including polysaccharides, phospholipids and glycolipids, and also constituents of cytokinins, which control plant growth and development. The aim of the present study was to verify the effect of inosine on plant growth, especially root growth, and to elucidate its mechanisms, using a hydroponic system and soil with a rhizobox. It is also speculated that other compound(s), such as inorganic nitrogen (N) as N source or plant-growth-promoting substances, derived from inosine degradation can affect on the growth of plant. Therefore, we also conducted an aseptic experiment to confirm whether inosine application directly or indirectly (e.g. contribution of microbial decomposition) affected plant growth.

Rice (*Oryza sativa* L.), tomato (*Solanum lycopersicum* L.), onion (*Allium cepa* L.), sunflower (*Helianthus annuus* L.) and soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) seedlings were grown in a hydroponic system with different added concentrations of inosine (0, 7.2, 72 and 373 μ M) in a greenhouse. The inosine application improved the growth of all plant parts, especially roots except for soybean. The optimum inosine concentration for plant growth was 72 μ M. Furthermore, for rice, tomato and sunflower root length was increased by inosine treatment. To confirm the effect of inosine, an aseptic experiment was performed using rice plants in a hydroponic system and using tomato in a rhizobox system with sterile soil. The

positive effects of inosine application were also confirmed under aseptic conditions in rice and tomato, indicating that inosine directly enhances the plant growth, without microbial decomposition. Also, the inosine application enhanced root growth without increase of N concentration in plant, suggesting that the positive effects of inosine were not due to the improvement of N nutrition of plant.

To elucidate the mechanisms of the inosine-induced growth enhancement in roots, the inosine induced changes in phytohormone (auxin and cytokinin) and metabolites in rice were determined by ELISA and mass spectrometry (GC-MS and CE-MS), respectively. Results of ELISA showed that the inosine application increased concentrations of trans-zeatin riboside (t-ZR) and indole-3-acetic acid (IAA) in xylem sap of rice. Inosine also affected the synthesis of various metabolites. The inosine application increased concentrations of asparagine, aspartic acid, galactaric acid, glycerol-3-phosphate, and suberyl glycine in shoots at earlier stages after the inosine application. In roots, the inosine application increased allantoin concentrations with decreases in amino acid (alanine, proline, glycine, serine, threonine and GABA), threonic acid-1,4-lactone, ribonic acid, spermidine, and glucose.

In conclusion, the present study suggested that inosine directly enhanced the growth of plant, especially in roots. The inosine application changed metabolisms of plant, namely increased concentrations of several plant hormones and allantoin, possibly relating to the growth enhancement. These findings prove that inosine is effective as a plant growth regulator in crop production.

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 大 崎 満

副 査 教 授 松 井 博 和

副 査 客員教授 信 濃 卓 郎

副 査 助 教 渡 部 敏 裕

学 位 論 文 題 名

Promotion of root growth by the application of inosine

(イノシンによる植物の根生長促進)

本論文は英文 74 頁、図 14、表 7、4 章からなり、参考論文 1 編が付されている。

イノシンは植物、動物および他の生物で普遍的に認められるプリンヌクレオシドであり、ヒポキサンチンと D-リボースから構成される。ヌクレオチドと同様に、ヌクレオシドは核酸 (DNA、RNA)、あるいは生体エネルギープロセスや多糖、リン脂質、糖脂質の合成に関与する代謝産物の前駆体であることが知られている。また、植物の生長・発達をコントロールする植物ホルモンであるサイトカイニンの構成要素でもある。本研究の目的は、水耕栽培とリゾボックスを使った土耕栽培で、イノシンの植物生長、特に根の生長に対する影響を明らかにし、そのメカニズムを解明することである。ただし、イノシンの効果として、イノシンが培地中の微生物により分解され、生成した無機態窒素や植物生長促進物質が植物の生長に対して影響する可能性もある。そこで、微生物の影響をのぞくために無菌状態での栽培も行い、イノシンの効果が直接的なものであるのか、間接的 (微生物による分解の結果生じた副次的な効果) なものであるのかを明らかにする。

イネ (*Oryza sativa* L.)、トマト (*Solanum lycopersicum* L.)、タマネギ (*Allium cepa* L.)、ヒマワリ (*Helianthus annuus* L.) およびダイズ (*Glycine max* (L.) Merr.) の幼植物体を異なるイノシン添加処理 (0, 7.2, 72 and 373 μ M) を施した培養液で生育させた。ダイズを除き、その他のすべての植物種においてイノシン施与は植物体のすべての部位の生長を改善し、それは特に根で顕著であった。このとき、植物生長に対する最適イノシン濃度は 72 μ M であった。さらに、イネ、トマト、ヒマワリに関しては、イノシン処理により根長が増加する現象が認められた。これらのイノシンの効果がイノシンそのものによる直接的なものであり、微生物による分解によっ

て生じた化合物が関与していないことを明らかにするため、イネを用いた無菌水耕栽培とトマトを用いた無菌土耕栽培(リゾボックスを使用)を行った。その結果、イノシンの生育促進効果は水耕、土耕ともに無菌条件下においても確認された。このことは、イノシンは微生物による分解を経ることなく、直接的に植物の生育を促進していることを示すものである。また、イノシン施与による生長促進はコントロールと比較して植物体の窒素含有率上昇がない状況でも認められた。すなわち、イノシンによって引き起こされた効果は窒素栄養の改善によるものでないことが証明された。

根におけるイノシン誘導性の生長促進機構を明らかにするため、イネにおける植物ホルモンおよび代謝産物を ELISA と質量分析 (GC-MS および CE-MS) でそれぞれ測定した。ELISA の結果より、イノシン施与は木部分泌液中の trans-ゼアチンリボシド (t-ZR) およびインドール-3-酢酸 (IAA) 濃度を上昇させた。また、イノシンは様々な代謝産物の挙動に対しても影響を与える事が質量分析の結果から示された。イノシン施与後初期ではアスパラギン、アスパラギン酸、ガラクトール酸、グリセロール-3-リン酸、スベリルグリシンの地上部における含有率が上昇した。根では、アミノ酸 (アラニン、プロリン、グリシン、セリン、スレオニン、 γ -アミノ酪酸)、トレオン酸-1,4-ラクトン、リボン酸、スベルミジンおよびグルコースの含有率が減少する一方、アラントイン酸およびアラントイン含有率の上昇が認められた。

以上、本研究はイノシンが直接的に植物の生長、特に根の成長に対して促進的な効果を持つことを示した。イノシンの施与による植物の代謝変動、すなわち、いくつかの植物ホルモンとアラントイン酸、アラントインの濃度上昇がこの生長促進に関与していることが示唆された。これらの研究成果はイノシンの植物生育に対する有益な効果を学術的に初めて証明したものであり、作物生産効率を向上させ、省資源型農業を推進することにも貢献すると期待される。

よって審査員一同は、トクヒサ ダイが博士 (農学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。