ヤマノイモとミョウガのわか葉における
シュウ酸カルシウムの結晶
の生成について

高 見 亘*

Wataru TAKAMI*: On the Formation of Calcium Oxalate Crystals in the
Young Leaf of *Dioscorea japonica* and *Zingiber Miyoga*

1966年 4 月 18 日受付

シュウ酸カルシウムの結晶の形や分布については古くから多くの研究があるが¹⁾, 培養植物によってその生成に関する実験的研究をおこなった例は少ない。筆者は, ヤマノイモについて培養液内の無機塩の欠乏による影響については報告したが²⁾, ここで培養中外気への酸素の補給, 培養液中へのブドウ糖, 二三のアミノ酸の添加の, シュウ酸カルシウムの結晶の生成に対する影響について調べた結果を報告する。

実験の方法と結果

実験は数年間にわたって試みられたが, シュウ酸カルシウムの結晶の多いヤマノイモを主として観察

した。ヤマノイモでは前年の秋, 同じ場所で採集した同じ位の大きさのムカゴを砂にまいてえられた芽ばえを, ミョウガでは同じ場所に群生している同様な芽ばえを使用し, つぎの Hoagland 液によって水耕したものを対照とした。

Ca(NO₃)₂・4H₂O1.18 g
KNO₃0.51 g
MgSO₄・7H₂O0.49 g
FeCl₃0.002 g
井戸水1000 ml

ヤマノイモのわかばには多くの毛があり, 通気が不十分であることがシュウ酸の生成と関係があるのではないかと考え, 外気に酸素を供給して対照の場

Table 1. Distribution density of calcium oxalate crystals in young leaves of *Dioscorea japonica*, observed in the visual circle field of the diameter 1.7 mm.

Exp. no.	Cultured plants in Hoagland's solution		Plants under natural conditions	
	form of leaf	no. of crystals	form of leaf	no. of crystals
1	10 mm×17 mm	31.6	11 mm×16 mm	43.6
2	10 ×17	44.3	11 ×19	52.0
3	11 ×18	52.0	11 ×20	54.0
4	11 ×18	46.2	12 ×12	47.0
5	11 ×20	37.2	12 ×21	23.0
6	12 ×20	40.0	14 ×21	55.0
	average	41.9	average	45.9

* 早稲田大学商学部生物学教室
Biological Institute, Faculty of Commerce, Waseda University, Tokyo, Japan.

Table 2. Effect of oxygen supply in the air on the distribution density of calcium oxalate crystals in young leaves of *Dioscorea japonica*. Counting method is the same as in Table 1.

Exp. no.	Control (no oxygen supply)		Treated (oxygen supply in the air)	
	form of leaf	no. of crystals	form of leaf	no. of crystals
1	10 mm × 17 mm	31.6	10 mm × 17 mm	25.3
2	10 × 17	44.3	10 × 19	31.0
3	11 × 18	52.0	11 × 17	38.0
4	11 × 18	46.2	11 × 19	20.5
5	11 × 20	37.2	11 × 20	23.8
6	12 × 20	40.0		
	average	41.9	average	27.7

Table 3. Effect of glucose on the distributive density of calcium oxalate crystals in young leaves of *Dioscorea japonica*. Counting method is the same as in Table 1.

conc. of glucose	form of leaf	no. of crystals
0 %	20 mm × 20 mm	25.9
0.1	22 × 26	29.7
0.5	23 × 30	32.8

Fig. 1. *Dioscorea japonica* cultured for about 30 days. Culture medium (from right to left). 1) control (Hoagland's solution), 2) with 10⁻³% methionine, 3) with 10⁻⁴% methionine, 4) with 10⁻³% glutamic acid, 5) with 10⁻⁴% glutamic acid.

合と比べた。それには、 $13 \times 23 \times 53$ cm の 2 このビニール箱の一方を対照とし、他方に 2 酸化マンガんに 10% の過酸化水素水約 50 ml を滴下して発生した酸素約 0.073 モルを朝夕 2 回 1~2 分間注入した。各箱内には、上記培養液約 190 ml をいれた 3 この容器をおき、各 3 こずつの芽ばえを栽培した。(対照の方のムカゴの大きさは 18×10 , 18×11 , 20×12 mm, 酸素を補給した方のは 18×10 , 16×11 ,

Table 4. Effect of some amino acids (glutamic acid, asparatic acid and methionine) on the distribution density of calcium oxalate crystals in young leaves of *Dioscorea japonica*. Counting method is the same as in Table 1.

Exp. 1	medium	form of leaf	no. of crystals
control		11 mm $\times$ 21 mm	39.6
		11 $\times$ 20	34.0
		12 $\times$ 20	29.0
		average	34.2
with 10 ⁻⁴ % glutamic acid		11 $\times$ 29	23.8
		11 $\times$ 20	23.1
		11 $\times$ 18	12.0
		average	19.6
with 10 ⁻⁴ % methionine		11 $\times$ 18	32.2
		11 $\times$ 20	30.4
		12 $\times$ 20	14.2
		average	25.6
Exp. 2	medium	form of leaf	no. of crystals
control		11 mm $\times$ 21 mm	39.6
		12 $\times$ 20	29.0
		average	34.3
with 10 ⁻⁴ % glutamic acid		10 $\times$ 20	32.7
		11 $\times$ 29	23.8
		average	28.3
with 10 ⁻⁴ % methionine		11 $\times$ 20	30.4
		11 $\times$ 18	32.2
		average	31.3
Exp. 3	medium	form of leaf	no. of crystals
control		11 mm $\times$ 20 mm	34.0
		12 $\times$ 19	17.4
		average	25.7
with 10 ⁻⁴ % glutamic acid		11 $\times$ 20	23.1
		11 $\times$ 18	12.0
		average	17.6

18×10 mm で、対照の方を大きめにした.)

つぎに、培養液にブドウ糖、アミノ酸を添加した場合の影響を調べるためには、上記の培養液約 800 ml をいれた ガラス円筒により栽培したものを対照とし、ブドウ糖を 0.1, 0.5%, L-グルタミン酸, L-メチオニン, L-アスパラギン酸では $10^{-4}\%$, $10^{-3}\%$ になるように添加して比べた。

約 1 カ月培養した後、わかばを抱水クロラルにより透明にした後、80 倍の視野 (直径 1.7 mm) 内の結晶数を 10 数回数えて平均し、結晶分布密度を求めた。葉の大きさは、幅と、葉柄基部から先端までではなく、心臓形の接線と葉の先端までを示す。

1. 自生のものと水耕したヤマノイモのわかばにおける結晶の分布: Hoagland 液により約 1 カ月間水耕して葉の大きさが 10×20 cm 程度になったものについて、自生のものと水耕したヤマノイモの葉のシュウ酸カルシウムの結晶の分布を調べた結果を表 1 に示す。これによって、両者の場合に結晶分布の密度は同様であるといえる。

2. ヤマノイモのわかばにおける結晶形成におよぼす外気中への酸素補給の影響: 5 月 4 日から 6 月 15 日まで、上記のように、一方のビニール培養箱内に朝夕 2 回ずつ酸素を補給すると、酸素を補給した方の生長は多少促進される。シュウ酸カルシウムの結晶の分布を調べた結果は表 2 で、外気中に酸素を補給すると、結晶形成は著しく抑制されている。

3. ヤマノイモのわかばにおける結晶形成におよぼすブドウ糖添加の影響: 培養液にブドウ糖を 0.1, 0.5% 添加し、約 4 週間後に、ヤマノイモの同形の葉の結晶の分布を調べた結果が表 3 で、ブドウ糖添加によって、結晶数は多くなることが知られる。

4. ヤマノイモのわかばにおける結晶形成におよぼす二三のアミノ酸添加の影響: 培養液にグルタミン酸、メチオニン、アスパラギン酸を 10^{-4} , $10^{-3}\%$ 添加すると図 1 に示すように、グルタミン酸とメチオニンは生長を促進するが、アスパラギン酸は著しい効果を示さない。この生長の促進に対応して、表 4 に示すように、 $10^{-4}\%$ のグルタミン酸、メチオニンを添加すると結晶の形成が少なくなることが知られる。

5. ヤマノイモのムカゴにおけるデン粉粒の大きさにおよぼすメチオニン添加の影響: 栽培後約 1 カ

月後に、対照の植物と、メチオニン $10^{-4}\%$ 添加の培養液の植物にできたムカゴの大きさは、前者の直径は 2 mm、後者の直径は 5 mm と、後者が大きく、デン粉粒も、前者の平均は $36.9\mu\times 29.1\mu$ 、後

Table 5. Size of calcium oxalate crystals in young leaves of *Zingiber Miyoga* (A unit of length is about 2.8 μ).

medium	cubic form length×breadth	rhombic form length×breadth
control	8.0×8.0	12.0×6.5
	8.0×8.0	10.0×6.0
	8.0×8.0	10.0×6.0
	8.0×8.0	10.0×4.5
	7.0×7.0	9.5×5.0
	7.0×7.0	9.0×5.0
	5.5×5.5	8.0×4.5
	5.5×5.5	7.0×4.5
	4.5×4.5	7.0×4.0
	4.5×4.5	7.0×4.0
average	6.6×6.6	9.0×5.0
with $10^{-3}\%$ methionine	4.0×4.0	6.0×4.0
	4.0×4.0	6.0×4.0
	4.0×3.5	6.0×3.5
	3.5×3.5	6.0×3.0
	3.0×3.0	6.0×3.0
	3.0×3.0	6.0×3.0
	3.0×3.0	6.0×3.0
	3.0×2.5	6.0×2.5
	2.5×2.5	5.0×3.0
	2.5×2.5	5.0×2.5
average	3.3×3.2	5.8×3.2
with $10^{-4}\%$ aspartic acid	4.0×4.0	10.0×5.0
	4.0×4.0	9.0×5.0
	4.0×4.0	8.5×5.0
	4.0×4.0	7.5×4.0
	4.0×3.0	7.0×4.0
	3.5×3.5	7.0×4.0
	3.0×3.0	7.0×4.0
	3.0×3.0	7.0×4.0
	3.0×2.5	7.0×4.0
	2.5×2.5	6.0×3.5
average	3.5×3.4	7.6×4.3

者の平均は $42.6 \mu \times 31.6 \mu$ で後者の大きい。

6. ミョウガのわかばにおける結晶の大きさにおよぼすメチオニンまたはアスパラギン酸添加の影響: 培養液にグルタミン酸, メチオニン, またはアスパラギン酸を 10^{-4} , $10^{-3}\%$ 添加してミョウガのめばえを栽培すると, 生長に対する差異は見られないが, 約1カ月後に600倍で検鏡するとアミノ酸添加の場合には結晶の大きさが小さくなるようである。表5にメチオニン $10^{-3}\%$ またはアスパラギン酸 $10^{-4}\%$ 添加した場合に結晶が対照のものより小さい結果を示す。

考 察

シュウ酸カルシウムはふつうには植物組織における酸化の終末生成物と考えられており³⁾, 特異な異形細胞に生ずることが多い。

アミノ酸の高等植物への影響についてはいろいろな報告があるが⁴⁾, ヤマノイモでは培養液に $10^{-4}\%$

のグルタミン酸を添加すると生育は促進され, シュウ酸カルシウムの結晶密度はかなり減少し, グルタミン酸がシュウ酸生成を抑制するようである。調べたアミノ酸は3種だけであったが, ヤマノイモではメチオニンにもこの効果が多少みられるが, アスパラギン酸ではむしろ反対に結晶密度が増加する。この効果は, 天候などの条件にも左右されると思われる。

ミョウガはヤマノイモより観察に不便なため, 結晶密度を比較しないで, 結晶の大きさを比べたが, この場合には, アスパラギン酸やメチオニンを添加することによって結晶は小形になるので, シュウ酸の生成が抑制されると考えられる。したがって, どんなアミノ酸がこのような効果を与えるかは, 植物によって異なるようで, さらに研究を要するが, 適当なアミノ酸を適量添加することによってシュウ酸カルシウムの結晶の形成が抑制されるということが

文 献

- 1) Frey, A., Calciumoxalat-Monohydrat und Trihydrat (Handbuch der Pflanzenanatomie III) (1929).
- 2) Takami, W., Bot. Mag., Tokyo **69**: 243 (1956).
- 3) Tanaka, K., Shokubutsu Seiri (Kyoritsushuppan, Tokyo, 1964).
- 4) Webster, G. C., Nitrogen Metabolism in Plants (Row. Peterson & Company, New York, 1959).

Summary

1. Young leaves of *Dioscorea japonica* cultured in Hoagland's solution show similar distribution of calciumoxalate crystals as those under natural conditions.
2. Supply of oxygen in the atmosphere depresses the formation of calcium oxalate crystals in young leaves of *Dioscorea japonica*.
3. By adding 0.5% glucose to the culture medium, the formation of calcium oxalate crystals in young leaves of *Dioscorea japonica* is slightly promoted.
4. By adding 10^{-4} ~ $10^{-3}\%$ glutamic acid or methionine to the culture medium, growth of *Dioscorea japonica* is promoted and the formation of calcium oxalate crystals in young leaves is depressed.
5. By adding $10^{-3}\%$ methionine or $10^{-4}\%$ asparatic acid to the culture medium, the size of calcium oxalate crystals in *Zingiber Miyoga* becomes smaller than that in untreated plants.