lin の影響のみならず硫化水素による阻害的な影響も若干加算されていると考えられる。

摘 要

Gibberellin 処理した水稻は無処理のものに比して次の如き変化を認めた。

(1) Gibberellin によつて水稻幼植物の最も若い葉が伸長し初めると共に初めに生体重、水分、やや遅れて乾物重が増加する。

(2) Gibberellin 処理した葉鞘では蔗糖、澱粉が減少し、hemicellulose, cellulose はやや増加し、還元糖や water soluble-hemireserves には変化が認められなかつた。尚蔗糖の減少は gibberellin の作用の現われる前に起つた。

(3) 処理した幼植物の組織細胞は長さを増し幅を減少する。細胞液の滲透圧には変化を認めなかつた。

(4) 水耕法により水稻を長期培養して gibberellin の作用を調べた結果によると、草丈は顕著に増加したが分蘖の増加遅延し、収穫物では籾重及び根重は減少したが藁重は増加した。

本研究の施行に当り元東大教授藪田博士より種々御教示を戴いた。附記して感謝の意を表す。

(1) 藪田, 林: 本誌, 15, 403 (1933).

Ges., 60, 333, (1927).

(2) W.E. LOOMIS and L.A. SCHULL: *Methods in Plant Physiology*, 1937.

(4) 島田: 札幌農林, 24, 170 (1932).

(5) 春日井: 土壤肥料, 13, 669 (1939).

(3) A. KIESEL und N. SEMIGANOWSKY:

Summary

1) The effect of gibberellin was investigated to rice plants dealing with the following special items: composition, cell elongation, yield, etc.

The plant was cultured in water culture; and the gibberellin used was of a crude form.

2) Treated with gibberellin, the youngest leaves began to elongate, and increased their moisture contents as well as fresh weights at an early period, and dry weights at the later (Table 1 and 2).

3) In the leaf sheath of the plant, treated with gibberellin, sucrose and starch decreased, hemicellulose and cellulose somewhat increased, and reducing sugar as well as water-soluble hemireserves remained unchanged (Table 3).

Considerable decrease of sucrose occurred before the elongation of leaves, caused by the application of gibberellin (Table 2).

4) Gibberellin application caused the cell of leaf sheath to increase in length and decrease in width (Table 4), but not to change the osmotic pressure of the sap, the pressure being estimated by plasmolytic method.

5) By the application of gibberellin, tops increased remarkably their length, tillering was depressed (Table 5), and grain decreased its yield, but the straw production of the plant was favored, when cultured until the harvest time (Table 6).

稲馬鹿菌病菌の生化学 (第 29 報) Gibberellin の生理作用 (其の 5)

Gibberellin のエンドウ幼茎切片の伸長に及ぼす作用

林 武, 村上 浩 (農業技術研究所生理遺伝部)

昭和 28 年 5 月 26 日 受理

The Biochemistry of Bakanae Fungus. Part 29. The Physiological Action of Gibberellin. V. The Effect of Gibberellin on the Straight Growth of Etiolated Pea Epicotyl Sections.

By Takeshi HAYASHI and Yutaka MURAKAMI

(Section of Physiology and Genetics, National Institute of Agricultural Sciences)

前報⁽¹⁾に於て gibberellin (以下 GIB とす) のホルモンの作用を明かにするためにアベナテストを始め種々なホルモンのテストの結果が発表されているが、結果は negative であつた。そこで著者等は水稻、エンドウ等

の幼植物の種の組織切片を用いて真直生長に対する影響を検した処、生長の盛んな部分が GIB によつて positive の反応をすることをみとめた。これら切片を用いる事は、intact の植物を用いるよりも簡単な実験条件が与えられ、他のホルモンと作用様式の上に於て、直接比較出来る長所を有する。本報では植物ホルモン作用の研究のために、THIMANN⁽²⁾、GALSTON⁽³⁾ 等により用いられている黄絨化エンドウの epicotyl 切片について行つた実験を報告する。尚植物ホルモンの一つである indoleacetic acid (以下 IAA とす)を比較の対照として用いた。実験の部に於ける GIB は gibberellin A の結晶を意味する。

実 験 の 部

材料及び方法

アラスカエンドウの種子を水につけ吸水させた後、22~25° に1昼夜おき、発芽し始めたものを水に満したポットに張つた亀甲紋の上にならべる。これを湿度約 90%、22~25° の暗所におく。約 5 日後に長さ約 15cm に達すると、鱗片状の葉をもつた 2 節と頂端に葉のある 1 節とを有するようになる。第 2 節より上部が約 2cm の長さのものをえらび、2 枚の刃をつけた自作のカッターにて一定の長さ(約 6mm)に切る (Fig. 1)。この切片

Fig. 1. Etiolated pea seedling. A represents the portion utilized for experiments.

Fig 2. Elongating response of pea sections treated with GIB and IAA at various concentration.

Each point is the mean of 15 sections, measured after 20 hours at 25°. Initial length of sections is approximately 6 mm.

したがつて生長の結果は約 20 時間後に測定すればよい。

(3) pH の影響: 1 γ/cc の GIB を加えた pH 4.6~8.2 の範囲の磷酸塩緩衝液 (1/60M) に於ける伸長は Table 2 の如く、弱酸性で好適である。

10~15 本を一定の試験液 (10cc) に浮せて暗所におき、一定時間後に長さ及び重さを測定する。これ等の操作は暗室内で赤色光のもとで行う。長さは双眼解剖顕微鏡の ocular micrometer で、重さは切片を濾紙上で水分を除き、秤量管に入れ化学天秤にて測定する。尚試験液の調製には再蒸溜水を用いた。

この切片は acetocarmin squash 法で mitosis をみることが出来なかつた故、組織の伸長は細胞の分裂を伴わず。その伸長のみによるものである。

実験結果及び考察

(1) GIB の濃度と切片伸長: GIB 及び IAA の種々な濃度の試験液 10cc に切片を浮かせ、25°, 20 時間後の長さの増加は、Fig. 2 の如く、GIB の最大伸長は 1~10 γ/cc, IAA は 0.1~10 γ/cc で現れ、且つ GIB による伸長は IAA の約半分である。最適濃度に於ける GIB の伸長作用は 0.02 γ/cc に於ける IAA の作用に匹敵し、且これら両組織の外観的形には差がみとめられない。しかし IAA の濃度を 1 γ/cc よりも高くする態と、切片は太くなるが、GIB では濃度を増してもこのような現象はみ

られない。又 Table 1 の如く伸長は重さの増加を伴い、この重さの増加は本実験条件に於ては細胞の吸水によるものと考えられる。

(2) GIB による伸長の時間的経過: 切片を 1 γ/cc の GIB 液に浮せて、1.5, 4, 6, 8, 10, 22.5 及び 24 時間後に伸長と重さとの増加を測定すると、Fig. 3 に示す如く、20 時間前後で殆ど生長はとまる。

Table 1. Increase in Length and Fresh Weight of Pea Sections treated with GIB and IAA.

Test solutions	Results after 18 hours at 25°	
	Elongation % of initial length	Increase in fresh weight % of initial fresh weight
Water	13.8	36.5
GIB(5 γ/cc)	30.8	56.3
IAA(2 γ/cc)	51.5	102.7

Fig. 3. The time-course of percentage growth of pea sections at the concentration of 1 γ /cc GIB.

Each point, expressed as percentage growth, is the mean of 10 sections of initial length 5.98mm and of initial fresh weight 13.4 mg.

Fig. 4. Effect of temperature on elongation of pea sections. Elongation in distilled water is taken as unity.

W: distilled water
G: 1 γ /cc gibberellin
I: 0.1 γ /cc indoleacetic acid

Table 3. Elongating Response of Pea Sections starved in Water for Varying Periods before receiving GIB and IAA.

Results after 18 hours at 25° are expressed as percentage elongation of initial length.

Test solutions	Periods of starvation in hours at 15°C.		
	0.5	4.5	18.8
Water	15.0	—	13.6
GIB (1 γ /cc)	33.7	34.4	15.5
IAA (1 γ /cc)	57.4	—	52.0

Starvation を行う前と行つた後の切片について糖類、及び乾物重の測定をして、それらを比較すると Table 4 の如く、各かなりの減少があるので、starvation を行つた切片に 2% sucrose 及び 1/60 M phosphate (pH 6.2) を加えたが、GIB の作用は回復しなかつた (Table 5)。したがつて、これらの栄養物質の減少のために GIB の作用がみられなくなつたとは考えられない。

(6) 種々な化合物の影響：水耕液に GIB を加え植物を植えると、著しい徒長現象がみられる。しかるにエンドウ切片の伸長作用をみると、(1) の項でのべた如く、GIB の作用は IAA のそのの半分であり、最適な

Table 2. Effect of pH on Elongation of Pea Sections in the Presence of 1 γ /cc GIB.

The solution was buffered with phosphate mixtures of a total concentration of 1/60 M. Measurements were made after 18 hours at 25°.

pH	Elongation : % of initial length
4.6	40
5.8	40
6.7	42
7.3	31
7.8	18
8.2	1.6

(4) 温度の影響：10°, 20°, 30° の各温度で、蒸溜水、GIB (1 γ /cc)、IAA (0.1 γ /cc) の液中に切片を浮かせ、4 及び 18 時間後に伸長を測定した結果を Fig. 4 に示す。尙測定結果は蒸溜水の場合を 10 とした比作用で示した。即ち GIB の作用は経過時間に関係なく、20° に於てよく現われた。蒸溜水中の組織切片の伸長も 20° が最適であるから GIB の作用は組織本来の生長に依存するものの如くである。又伸長作用の現われる速さを GIB と IAA とで比較すると、Fig. 4 より明かな如く GIB の方が遅く現われる。

(5) 蒸溜水による前処理の影響：切片を蒸溜水中にて一定時間生長させた後、更に GIB、或は IAA の溶液に浮せて、伸長促進作用をみる事により、蒸溜水による starvation がその後の GIB 及び IAA の伸長作用に及ぼす影響をみた。Table 3 に示す如く、15° で 0.5 及び 4.5 時間 starvation を行つた切片では GIB の作用が現われるが、18.8 時間では GIB による伸長は蒸溜水中に於ける伸長と殆んど同程度である。したがつてこのような前処理をうけた切片は GIB によつて作用を受けない。併し此の場合でも、IAA は明かにこれらの切片に伸長促進作用を及ぼす事が出来る。かかる実験より、GIB の作用は IAA に比較して、エンドウ切片の endogenous growth に依存する程度が高いと言ひうる。

Table 4. Changes in Sugars and Dry Weight of Pea Sections starved for 18 hours at 25° in Water.

	Results are expressed as percentage of initial fresh weight.	
	Before starvation	After starvation
Reducing sugars ^a	1.20	0.74
Sucrose ^b	0.28	0.10
Dry weight	8.0	7.4

^a Reducing sugars were determined after SHAFER-HARTMANN procedure.

^b Sucrose was determined after method of Roe.

Table 6. Effect of Sucrose on Elongation of Pea Sections in the Presence and Absence of GIB.

Test solutions	Elongation % of initial length
Water	16.2
1% Sucrose	17.1
2% Sucrose	18.6
4% Sucrose	17.0
1 γ/cc GIB	35.5
1 γ/cc GIB+1% sucrose	40.5
1 γ/cc GIB+2% sucrose	41.4
1 γ/cc GIB+4% sucrose	38.6

GIB の濃度に於ても 0.02 γ/cc の濃度の IAA の作用力に匹敵するにすぎない。そこで GIB の伸長促進作用の現れるためには、更に他の要因が必要なのではないかと考え、種々な化合物を加えて GIB の作用に対する影響をみた。

先ず栄養物質として sucrose の効果をみると、1~4% で若干促進的である故 (Table 6), 2% sucrose 液に 1~10 γ/cc の GIB を加え、更にアミノ酸 (10~100 γ/cc), 有機酸 (10~100 γ/cc), ビタミン類 (0.1~10 γ/cc) を加えた液の効果を検した。Table 7 に見られる如く L-tryptophan (10 γ/cc) で促進がみとめられ、L-hydroxyproline (100 γ/cc), DL-methionine (100 γ/cc), DL-proline (100 γ/cc), nicotinamide (5 γ/cc) で 20~30% の阻害がみられた。その他の化合物ではみるべき作用はなかつた。

次に tryptophan 添加の効果につき次のような実験を行つた。即ち Table 8 に示す如く、100 γ/cc の try-

Table 5. Effect of Feeding with Sucrose and Phosphate on Pea Sections starved for 16 hours at 20°.

Test solutions	Elongation % of initial length
2% Sucrose+1/60 M phosphate (pH 6.0)	18.8
2% Sucrose+1/60 M phosphate (pH 6.0)+GIB(5 γ/cc)	18.8
2% Sucrose+1/60 M phosphae (pH 6.0)+IAA(1 γ/cc)	54.7

Table 7. Effect of Various Substances on the Elongation due to GIB.

Ten~fifteen sections were placed in 10 cc of test solution contained 2% sucrose, 1-10 γ/cc GIB, and various substances. Measurements were made after 18 hours at 25°

Substances	Concentrations employed γ/cc	Effect
DL-α-Alanine, β-Alanine, L-Arginine, Asparagine, L-Aspartic acid, L-Cystie, L-Glutamic acid, Glycine, L-Histidine, L-Hydroxyproline, L-Isoleucine, DL-Lysine, DL-β-Phenylalanine, DL-Proline, DL-Serine, L-Tryptophan, L-Tyrosine, DL-Valine.	10-100 γ	L-Tryptophan (10 γ/cc): growth stimulation L-Hidioxypoline(100 γ/cc), DL-Methionine(100 γ/cc), DL-Proline (100 γ/cc): 20% growth inhibition
Acetic, Citric, Fumaric, Malic, Pyruvic, Succinic acids	10-100 μ	
Nicotinamide, Adeninsulfate	0.1-10 γ	Nicotinamide (5 γ/cc): 20% growth inhibition

Table 8. Effect of Tryptophan (T) on Elongation of Pea Sections in the Presence and Absence of GIB. (Conditions as in Table 7)

Test solutions	Elongation (mm)
2% Sucrose (S)	1.42±0.07 ^a
S+0.1 γ/cc T	1.44±0.09
S+ 1 γ/cc T	1.44±0.05
S+ 10 γ/cc T	1.54±0.13
S+100 γ/cc T	2.19±0.10
S +6 γ/cc GIB	2.58±0.14
S+0.1 γ/cc T +6 γ/cc GIB	2.73±0.12
S+ 1 γ/cc T +6 γ/cc GIB	2.89±0.13
S+ 10 γ/cc T +6 γ/cc GIB	3.92±0.15
S+100 γ/cc T +6 γ/cc GIB	3.72±0.10

^a Standard error

Table 9. Effect of Tryptophan (T) on Elongation of Pea Sections in the Presence and Absence of IAA. (Conditions as in Table 7.)

Test solutions	Elongation (mm)
2% Sucrose (S)	1.47±0.12 ^a
S+ 1 γ/cc T	1.55±0.11
S+ 10 γ/cc T	1.89±0.11
S+100 γ/cc T	1.92±0.12
S +0.1 γ/cc IAA	3.64±0.17
S+ 1 γ/cc T +0.1 γ/cc IAA	3.63±0.23
S+ 10 γ/cc T +0.1 γ/cc IAA	3.73±0.15
S+100 γ/cc T +0.1 γ/cc IAA	3.63±0.13

^a Standard error

ptophan を加える時は切片の伸長は GIB の有無に関せず非常に促進される。6 γ /cc の GIB に 100 γ /cc の tryptophan を加えた場合は、長さの増加に於ては、Table 9 を参照して較べると 0.1 γ /cc の IAA に近い促進がみられる。一方、IAA の最適濃度である 0.1 γ /cc に更に tryptophan を加えても添加の効果は全くみとめられないが (Table 9), GIB の作用力に相当する低濃度の IAA (0.02 γ /cc) に tryptophan を加えると、Table 10 に示す如く GIB の場合 (Table 8) と同様に tryptophan の促進的效果が現われる。これは GIB と低濃度の IAA とが elongation と云う結果を来す作用過程に於て類似している点のある事を示している。

Table 10 Effect of Tryptophan (T) on Elongation of Pea Sections in the Presence and Absence of Lower Concentration of IAA. (Conditions as in Table 7)

Test solutions	Elongation (mm)
2% Sucrose (S)	1.62 $\pm$ 0.08 ^a
S+ 1 γ /cc T	1.65 $\pm$ 0.08
S+ 10 γ /cc T	1.88 $\pm$ 0.06
S+100 γ /cc T	2.89 $\pm$ 0.19
S +0.02 γ /cc IAA	2.85 $\pm$ 0.18
S+ 1 γ /cc T +0.02 γ /cc IAA	2.78 $\pm$ 0.08
S+ 10 γ /cc T +0.02 γ /cc IAA	3.14 $\pm$ 0.08
S+100 γ /cc T +0.02 γ /cc IAA	3.89 $\pm$ 0.12
S +0.2 γ /cc IAA	3.55 $\pm$ 0.19

a Standard error

さて前にのべた如く、starvation を行つた切片は GIB により伸長促進作用を失い、sucrose 及び phosphate を加えてもその作用が回復しなかつたが、かかる切片に上記の tryptophan を加えて GIB の作用力回復に役立つかを検した。その結果は Fig. 5 の如く、作用は positive である。即ち、10~100 γ /cc の濃度の tryptophan のみでは starvation をおこなつた切片の伸長には効果がないが、これに 5 γ /cc の GIB を加えると明に伸長がみられる。両者はかかる組織に於て 1 種の synergistic な作用を行つていると考えられる。Tryptophan が植物体内で IAA の precursor となると言われているので⁽⁴⁾、tryptophan が GIB の存在の下で IAA に変つたものと考えられるから、GIB の存在に於て更に低濃度の IAA (0.05 γ /cc) を加えて

Table 11. Interaction of GIB and Lower Concentration of IAA on Further Elongation of Pea Sections starved for 20 hours at 20° in water.

Length of starved sections is 1.38 $\pm$ 0.12 mm. Measurements were made after 20 hours at 25°.

Test solutions	Elongation (mm)
2% Sucrose (S)	1.57 $\pm$ 0.12 ^a
S+ 10 γ /cc GIB	1.63 $\pm$ 0.12
S+0.01 γ /cc IAA	1.41 $\pm$ 0.11
S+0.05 γ /cc IAA	1.77 $\pm$ 0.10
S+ 10 γ /cc GIB +0.01 γ /cc IAA	1.88 $\pm$ 0.13
S+ 10 γ /cc GIB +0.05 γ /cc IAA	2.32 $\pm$ 0.15

a Standard error

条件下に於ける GIB の切片伸長促進作用に及ぼす影響を IAA と比較検討した。

(1) GIB の最適濃度は 1~10 γ /cc であるが、その伸長は IAA の最適濃度 0.1 γ /cc の約 1/2 である。なお伸長は重さの増加を伴い、この重さの増加は本実験条件に於ては細胞の吸水によるものである。

(2) GIB は切片に対し弱酸性、20~25°, 約 20 時間後で最良の伸長作用をする。

(3) 切片を蒸留水中で starvation すると GIB の作用は消失するが、IAA の作用は顕著である。Sucrose, phosphate は GIB の作用回復に役立たない。

(4) 種々な化合物添加の効果を見ると、GIB の作用は L-tryptophan (10 γ /cc) で促進、L-hydroxyproline (100 γ /cc), DL-methionine (100 γ /cc), DL-proline (100 γ /cc), nicotinamide (5 γ /cc) で 20~30%。

Fig. 5. Interaction of GIB and tryptophan on elongation of pea sections starved for 18 hours at 15° in water.

Measurements were made after 20 hours at 25°

a: After starvation for 18 hours at 15° in water.

○—○: Tryptophan only.

×—×: Tryptophan + 5 γ /cc GIB.

みると、明かに促進作用をもつようになる。所が、両者単独では促進作用が殆んどみられない (Table 11)。したがつて tryptophan の効果の一部はそれが IAA に植物体内で変化したためであろう。

Starvation した切片に就て GIB と tryptophan 又は IAA とが以上の如く、synergistic な作用を有することは興味あることであつて、これらの関係は今後の研究をまつて明かにしたい。

摘 要

黄織化エンドウの epicotyl 切片を用いて、種々の

の伸長阻害が起る。

(5) 蒸留水中で starvation を行つた切片では GIB と tryptophan 及び IAA との間に synergistic action がある。

(6) 黄織化エンドウ epicotyl 切片の伸長に対する GIB と IAA とのホルモン作用の様式を比較すると, GIB は低濃度の IAA の作用に類似した点があり, GIB は IAA に比較すると, 組織切片の endogenous growth に依存して伸長作用を現わす傾向が大である。

本実験に用いた gibberellin A の結晶は東大住木教授より頂いたもので厚く感謝の意を表する。なお費用の一部は文部省科学研究費を仰いだ。

(1) 住木: 農化, 26, 393 (1952).

(2) K.V. THIMANN and W.D. Jr. BONNER:

Am. J. Botany, 36, 214 (1949).

(3) A.W. GALSTON and M. E. HAND: *Am.*

J. Botany, 36, 85 (1949).

(4) J. BONNER: *Plant Biochemistry* (1950).

Summary

The abnormal internodal elongation appears when young plants are cultured in a definite concentration of gibberellin (GIB). In the previous paper it was reported that with GIB the auxin assays were negative such as avena standard test, pea test, epinastic curvature of petioles.

However, the authors found that the straight growth of various tissues isolated from young vigorously growing organs was promoted by floating on the solution containing GIB.

In this report, the promoting effect of GIB is described on the straight growth of etiolated pea epicotyl sections, when compared with plant growth hormones such as indoleacetic acid (IAA), under various conditions: concentration, time-course of growth, pH, temperature, starvation in water, and addition of other substances.

It is suggested that the stimulation due to GIB may be attributed to acceleration of water absorption. At suitable concentrations GIB has the stimulating effect comparable with at IAA a lower concentration (0.02 γ /cc) (Fig 2).

The effects of a large number of substances were examined such as sucrose, amino acids, organic acids, and vitamins on the stimulation of GIB. Only tryptophan was found to have promoting effect and the following substances had depressing effect: L-hydroxyproline, DL-methionine, DL-proline, and nicotinamide (Table 7).

With the section starved in water for about 19 hours at room temperature, IAA again gives marked stimulation, but GIB does not (Table 3). The stimulation due to GIB is not recovered when sucrose and phosphate are provided (Table 5). By feeding of exogenous tryptophan, however, the effect of GIB is partly recovered (Fig. 5).

Also it is suggested that the effect of GIB, as compared with that of IAA, depends markedly on the endogenous growth of the section.

微生物によるビタミン B₁₂ 生産に関する研究 (第1報)

プロピオン酸菌によるビタミン B₁₂ 生産に就て (1)

麻生和衛, 有田正樹, 庄司圭吾, 徳江茂, 横田輝子 (日本農産工業株式会社)

昭和 28 年 5 月 目 受 理

Studies on the Production of V.B₁₂ by Microorganism. Part 1.

The Production of V.B₁₂ by Propionibacterium. (1)

By Kazue ASO, Masaki ARITA, Keigo SHOJI, Shigeru TOKUE and Teruko YOKOTA

(Nippon Nosan Kogyo Co. Ltd.)

最近飼料添加剤として抗生物質ビタミン B₁₂ 等が重要視されて盛んに使われるようになり, 我国でもこれらを輸入して飼料に配合していることは周知の事実であるが, この輸入依存を廃して自家生産を行う事は総ての点で有利である。此の為に先ずビタミン B₁₂ 生産を計画し実験を開始した。