

## 論文審査の結果の要旨

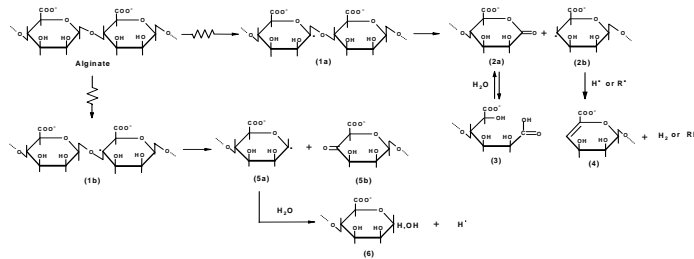
申請者氏名 リ クワンク ルアン  
Le Quang Luan

ベトナムにおいて廃棄物として出される海産物は年間 50 万トンにおよびその大部分を占める海藻類ならびにエビ、カニの殻を農業利用として有効利用することを目的に研究を行った。褐藻類から得られるアルギン酸ならびにエビやカニからのキトサンをターゲットとした。これらアルギン酸やキトサンの分解によって得られるオリゴ糖は、植物生長促進、ファイトアレキシン誘導、植物に対する酵素活性の増大などの新しい生物活性機能が注目されているからである。多糖類の分解には、主として化学薬剤や酵素が用いられてきたが、最近簡便に分解できる手法として放射線処理法の利用が期待されている。そこで本研究では、放射線分解によるアルギン酸及びキトサンについて、高い植物生長活性を発現するための照射条件や放射線分解産物の構造について検討した。

論文ではまず照射アルギン酸及びキトサンによる植物生長促進効果を調べた。照射したアルギン酸の 4%水溶液を用いた植物生長促進効果試験を行い、最適の線量は 75kGy、添加濃度は 100mg/L と求められた。本照射産物を用いて組織培養を行ったところ、キク、トルコギキョウ、宿根リモニウムで増殖率が 20~40%向上し、生育試験においても草丈、根長、新鮮重が大きく増大した。オオムギ、ダイズの穀類においても水耕栽培で新鮮重が 10%以上増大した。土耕においてもダイズ種子の収量が 7.4%高くなることが示された。通常行われている、酵素により分解されたアルギン酸を用いたところ、オオムギに対する生育促進の最適濃度は 300 mg/L であり、照射アルギン酸より約 3 倍高い濃度が必要であり、照射アルギン酸の比活性が高いことがわかった。照射キトサンでも、同様の植物生長促進効果が認められた。また主要な酵素活性の誘導効果を検討したところ、照射したアルギン酸では、植物の成長促進に関与するアルコール脱水素酵素 (ADH) の活性を著しく上昇させたが、ファイトアレキシンに関与するフェニールアラニンアンモニアリアーゼ (PAL) やキチナーゼ活性の増加はわずかであった。一方、照射キトサンは、ADH はほとんど変化しなかったのに対し PAL の増大が認められ、とくにキチナーゼ活性の増大が著しかった。これらの結果から、照射アルギン酸は主として植物生長促進剤として作用しているのに対し、照射キトサンの成長促進効果は小さくむしろ防護剤としての作用が大きいと考えられた。

次にアルギン酸及びキトサンの照射による構造変化についての検討を行った。水溶液中で照射したアルギン酸及びキトサンの分子量は線量の増加と共に減少し、その分子量減少は照射試料の濃度に依存した。最も高い植物促進活性が得られる照射条件として、アルギン酸では 4%水溶液の 75kGy照射、キトサンでは 10%溶液 (0.4M 酢酸水溶液中) の 100kGy照射が最適であった。本照射条件で得られた最適分子量は、アルギン酸 (未照射: 900 kDa) で 14 kDa、キトサン (未照射: 193 kDa) で 16 kDaであった。その分解収率G値 (100eV当たりの分解数) を基に、照射線量とアルギン酸及びキトサンの分子量との関係式を求め、植物の生長促進に適した分子量を得るための線量を容易に算出できるようにした。植物活性を有し、構造変化が確認されて

いる酵素分解したアルギン酸と4%水溶液中で照射したアルギン酸との構造を比較検討した。UV スペクトルでは、酵素分解したアルギン酸には出現しない265nmのバンドが出現し、照射によって生成したカルボニル基と推測された。FT-IR計測によってもカルボニル基に基づく $1709\text{cm}^{-1}$ のバンドが出現し、カルボニル基の生成を伴った分子切断が示唆された。また、化学分析法による照射アルギン酸の還元基の量は、酵素分解生成物よりも少なく、カルボキシル基の量は多かった。これらの結果と分子量変化とから推定されたアルギン酸の放射線による構造変化が以下のように推定された。



照射キトサンでも同様に酵素分解したキトサンと比較した結果、UV スペクトルからカルボニル基及びカルボキシル基の生成が推定された。化学分析法によって求めたカルボキシル基は、照射線量の増加と共に増大し、酵素分解物よりも多かった。さらに、照射キトサン分解物の元素分析の結果により、窒素及び炭素量に変化はなく水素含量だけが減少していることが分かった。酵素分解したキトサンでは、1-4 グルコシド結合の切断のみが起こるのに対し、照射キトサンでは還元基及びカルボキシル基の生成を伴う分子切断も起こっていると考えられた。

次に植物生長促進効果の高い放射線分解産物の検討を行うため、照射アルギン酸を、メンブレンフィルターを用いて5つのフラクションに分子量分画した。1-3kDaの画分(F2)は、植物生長、酵素活性誘導、子実体収量の促進効果が最も高く、低濃度で効果が得られた。酵素分解の場合にも同様に、F2画分が最も活性が高かったが、放射線分解物の20mg/Lよりも高濃度の50mg/Lが必要であった。従って、同じ画分でも放射線産物の比活性が高く、上述の構造の違いが寄与しているものと考えられる。さらに、このF2画分は、酵素分解物では10%であったのに対し、放射線分解では26%生成しており、4%水溶液75kGyの照射でF2の活性区分の生成量がとくに多いことが、植物成長促進活性の高い要因であることを明らかにした。

以上のように本研究ではアルギン酸やキトサンの放射線分解物に、顕著な植物生長促進活性及び酵素誘導効果が発現することを明らかにした。とくに照射アルギン酸では、分子量1-3kDa(6-15量体)のオリゴ糖画分で最も強い活性が認められた。酵素分解生成物でも同様の分子量1-3kDa(6-15量体)のオリゴ糖画分で活性が認められたが、放射線分解物の活性はるかに強かった。この相違は、照射アルギン酸では本活性画分が特異的に蓄積することに加え、主鎖の切断に伴うカルボニル基及びカルボキシル基が生じた新たな構造に起因しているものと示唆された。

以上、本論文は放射線分解によるアルギン酸及びキトサンについて、高い植物生長活性を発現するための照射条件や放射線分解産物の構造について検討した結果、多くの有用な知見が得られ、これらの結果については今後の活用が大いに期待されるものであり、学術上貢献するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士(農学)の学位論文として価値あるものと認めた。