

クロマツの生長物質および抑制物質について (第 II 報)

インドール酢酸の存在

小笠原隆三・近藤芳五郎 (鳥取大学農学部林学科造林学教室)

Studies on auxins and inhibitors in *Pinus Thunbergii* (II)

Existence of Indoleacetic acid

Ryuzō OGASAWARA and Yoshigorō KONDŌ

(Laboratory of Silviculture, Faculty of Agriculture, Tottori University)

1961年12月20日受理

緒 言

植物体内で生成される生長物質のうちインドール酢酸 (IAA) は最も広く植物界に存在し、オーキシシン作用力決定の基準にされている物質である。

前報⁷⁾においてクロマツに3種類の生長物質と2種類の抑制物質が存在することを認めたが、生長物質のうち一つは IAA であると考えた。しかし、本物質は常に認められるとはかぎらず、IAA の存在についてはさらに検討を要するものとした。

IAA は酵素の作用により Tryptophane (TTP) から作られるとされているから、もしクロマツで IAA の生成が行われているとすれば TTP→IAA 酵素系が存在しており、人為的に TTP を与えた場合本酵素系によつて IAA が生成されなければならない。

今回、IAA の前駆物質である TTP を与えて IAA の存在について検討してみた。

本研究はその一部を文部省科学研究費をもつておこなつた。

実 験 方 法

1961年6月に鳥取大学農学部苗畑に植栽されている6年生クロマツの芽および葉を供試材料として用いた。

生長物質および抑制物質はエーテルで抽出し、これを酸性区分、中性区分に分けて、それぞれペーパー・クロマトグラフィーで分離後、アベナ伸長試験で測定する方法を用いた。

生長物質および抑制物質の定性、定量、呈色反応等の具体的な方法は既報^{4,7,8)}とほぼ同様であるので省略する。

結 果

6月にクロマツの芽および葉の生長物質および抑制物質をエーテルで抽出し、ペーパー・クロマトグラフィーとアベナ伸長試験で定性、定量した結果は Fig.1・3 に示す如くである。

芽についてみれば酸性区分で Rf0.0~0.5 に生長促進帯がみられ、Rf0.5~1.0 に生長抑制帯がみられた。EHRlich 試薬による呈色反応をみれば生長促進帯で Rf0.25, Rf0.32 Rf0.38 に、抑制帯では Rf0.81 に陽性を示す物質がみられた。

IAA 位置にも生長促進帯がみられたが試薬により陽性を示さなかつた。中性区分では Rf0.5~1.0 に抑制帯がみられたが EHRlich 試薬等による呈色反応は不明瞭であつた。

葉についても芽の場合と大体同じで、酸性区分の生長促進帯 (Rf0.1~0.5) に EHRlich 試薬で陽性を示す3つの物質と抑制帯 (Rf0.3~1.0) に一つの物質がみとめられた。IAA 位置の生長物質は芽の場合と同様陽性を示さなかつた。

TTP 1000ppm 溶液で48時間処理した芽および葉の生長物質、抑制物質を調べた結果は Fig.2.4 に示す如くである。大体の傾向は無処理の場合とあまりかわらないが IAA 位置の生長物質の増加していることが認められる。EHRlich 試薬による呈色反応は無処理の場合にみられた4つの物質のほかに IAA 位置に1つと、また抑制帯に1つとそれぞれ新しく認められた。

これらの物質の各試薬による反応をみた結果は Table 1 に示すごとくである。

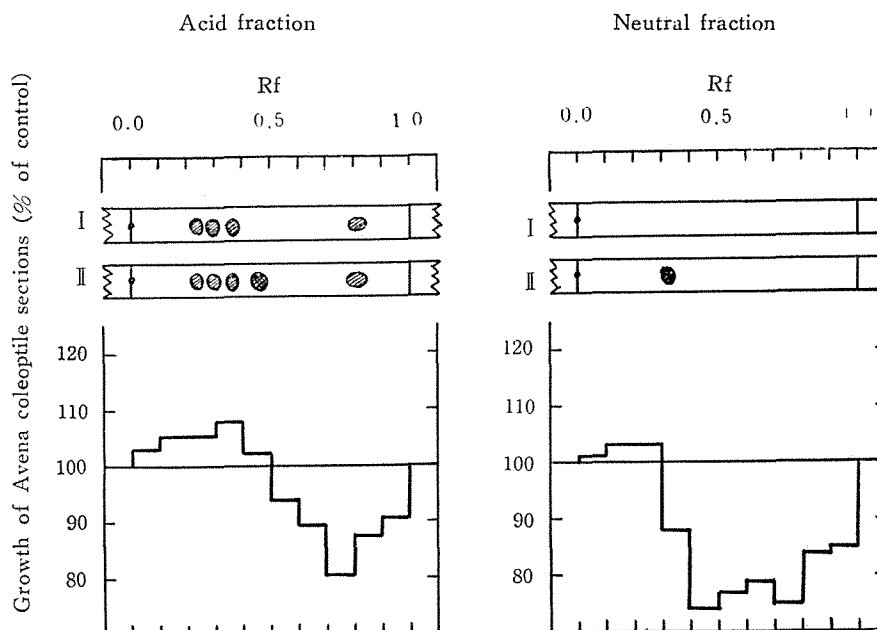


Fig. 1 Chromatograms of ether extracts obtained from the buds of *Pinus Tunbergii*, developed in isopropanol-ammonia-water (8:1:1), assayed by Avena straight growth test.

I : Reactions of chromatograms of ether extracts by EHRlich reagent.
 II : Reactions of guide chromatograms of adding synthesized IAA to ether extracts by EHRlich reagent.

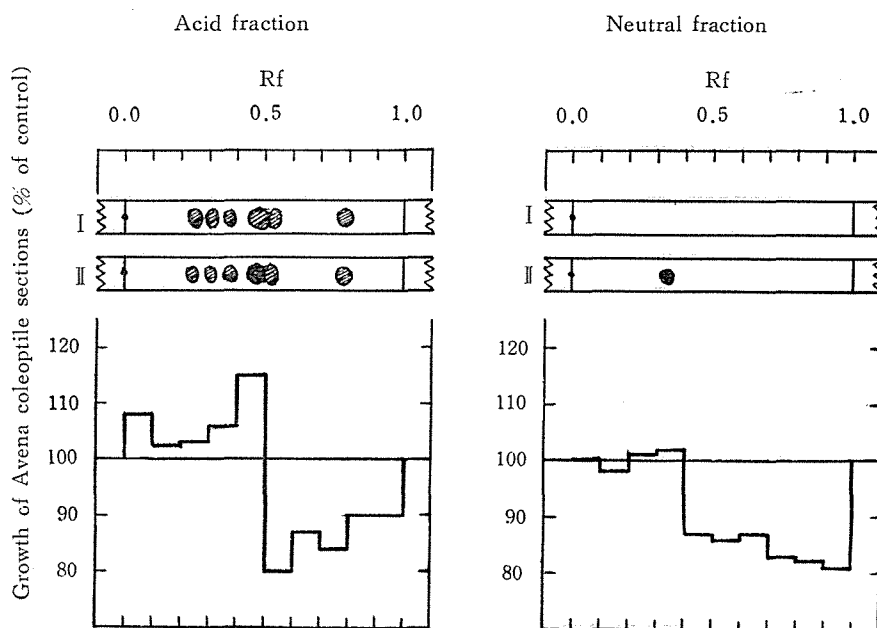


Fig. 2 Chromatograms of ether extracts obtained from the buds were treated with 1000ppm solution of Tryptophane for 48 hours at 25°C, assayed by Avena straight growth test.

I : Reactions of chromatograms of ether extracts by EHRlich reagent.
 II : Reactions of guide chromatograms of adding synthesized IAA to ether extracts by EHRlich reagent.

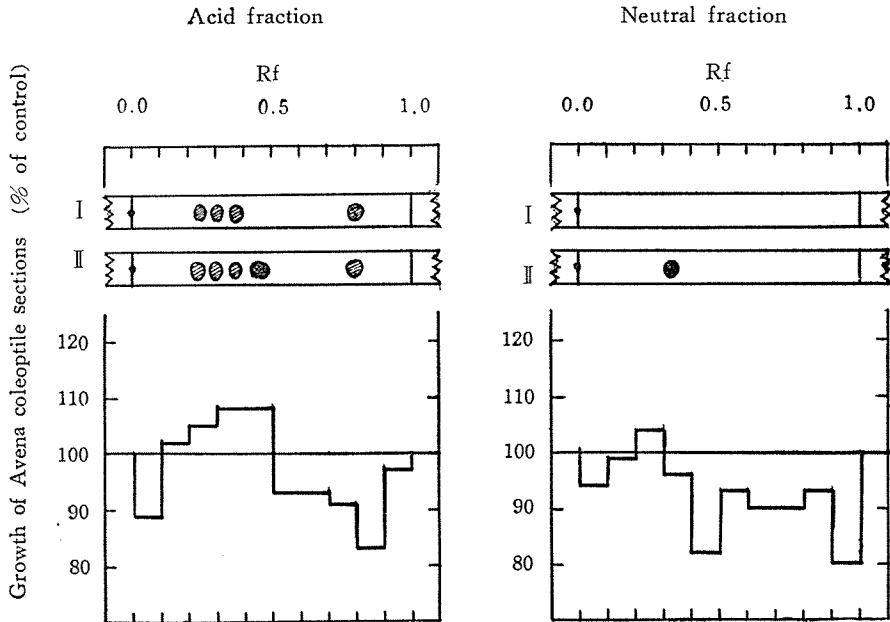


Fig. 3 Chromatograms of ether extracts obtained from the leaves of *Pinus Tunbergii*, developed in isopropanol-ammonia-water (8:1:1), assayed by Avena straight growth test.
 I : Reactions of chromatograms of ether extracts by EHRlich reagent.
 II : Reactions of guide chromatograms of adding synthesized IAA to ether extracts by EHRlich reagent.

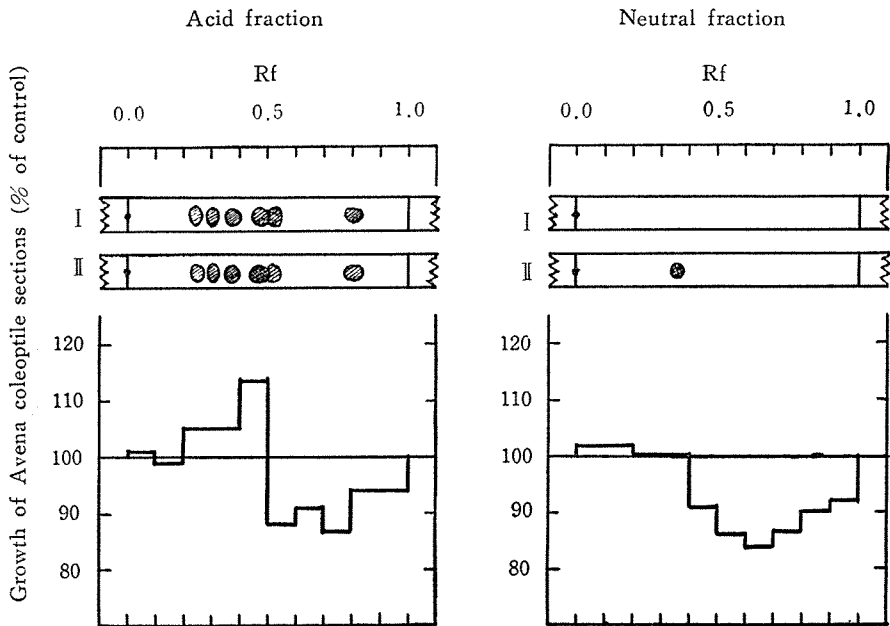


Fig. 4 Chromatograms of ether extracts obtained from the leaves were treated with 1000 ppm solution of Tryptophane for 48 hours at 25°C, assayed by Avena straight growth test.
 I : Reactions of chromatograms of ether extracts by EHRlich reagent.
 II : Reactions of guide chromatograms of adding synthesized IAA to ether extracts by EHRlich reagent.

Table 1 Color reactions of auxins and inhibitors in the acid fraction of ether extracts.

Substance	Color reactions with		
	EHRlich reagent	GORDON & WEBER reagent	MITCHELL & BRUNSFETTER reagent
A : Rf around 0.25	Green	Pink	Yellow
B : Rf around 0.32	Blue	Bluish red	Yellow
C : Rf around 0.38	Purple ?	—	—
D : Rf around 0.48	Bluish red	Pink	Red
F : Rf around 0.52	Yellow	—	—
F : Rf around 0.81	Red	—	—
Synthesized IAA	Bluish red	Pink	Red

Rf0.48 の生長物質は合成の IAA の呈色反応および Rf値と全く同じであり、本物質が IAA であることが確認された。

考 察

マツ類の生長物質については CZAJA²⁾, ZIMMERMANN¹¹⁾ FRASSON³⁾, 上田等⁹⁾ の報告があるが、IAA の存在については知られていない。

MIROV 等⁵⁾ は最近多くの生長物質および前駆物質が発見されていることから、従来のマツ類の生長物質の研究は再検討を要するものとしている。

小笠原⁷⁾ はクロマツの酸性区分に3種の生長物質を認めたが、その一つは IAA であると考えた。IAA と思われる生長物質はアベナ伸長試験で認められても、呈色反応で認めることのできたのは一度のみであった。

本実験でも芽および葉の酸性区分に EHRlich 試薬で陽性を示す3つの生長物質とともに IAA 位置にも生長物質がみられたが、EHRlich 試薬で陽性を示さず IAA であることが確認できなかった。

呈色反応で陽性を示すに要する量はアベナ伸長試験で反応を示す量よりかなり小さいことから、クロマツに IAA が存在していても、抽出された量が小さいため呈色反応で陽性を示さないことが考えられる。

IAA は酵素の作用により植物体内で TTP から作られるとされている。この反応に関係するのは TTP-IAA 転換酵素系とされている。

BONNE¹⁾ は植物組織で TTP→IAA 能力を調べたが、ハウレンソウ、トマトの葉その他で TTP→IAA 転換酵素系の存在することを述べている。村上等⁶⁾ は未熟な水稲の穀粒の搾汁は TTP から IAA を生成するこ

とを報告している。小笠原⁸⁾ はストロブマツの芽で、近藤等⁹⁾ はアカマツの芽で TTP を与えた場合 IAA の生成が行われることを報告した。

もし、クロマツに IAA の生成が行われているならば TTP→IAA の反応に関係する酵素系が存在していることになり、人為的に TTP を与えると IAA が増加しなければならない。芽および葉を DL-Tryptophane 1000 PPM 溶液で 25°C 暗所において 48 時間処理すると IAA 位置の生長物質が増加し、呈色反応および Rf 値から IAA であることが確認できた。

クロマツの芽および葉は TTP を IAA に変化させる能力をもっていることは TTP→IAA 転換酵素系を持つていていることを示しており、また、人為的に TTP を与えない場合でも IAA と同じ Rf のところに、わずかではあるが生長物質がみられること等を考えて、クロマツの芽および葉において IAA の生成が行われているものと考えられる。

Rf0.38 の生長物質は前報⁷⁾ で認められなかつたものである。これはどのような性質のものか明らかでない、尚抑制物質についての詳細なことは次回に報告したい。

要 約

クロマツの芽および葉に EHRlich 試薬で陽性を示す 3 つの生長物質と 1 つの抑制物質が認められた。

IAA 位置にもわずかではあるが生長物質はみとめられたが EHRlich 試薬等で陽性を示さず IAA であることを確認できなかった。

芽および葉に IAA の前駆物質である Tryptophane を与えると IAA 位置の生長物質が増加した。本生長物質の EHRlich 試薬, GORDON & WEBER 試薬等による

呈色反応および Rf 値が合成の IAA のそれと一致することから IAA であることが確認された。

このことはクロマツの芽および葉に TTP-IAA 転換酵素系の存在していることを示し、無処理でも IAA 位置に生長物質のみられることから、人為的に TTP を与えない場合でもクロマツに IAA 生成が行われているものと考えらる。

文 献

1. BÖNNER, J. : Plant Biochemistry 1952 (山田, 丸尾訳, 朝倉書店)
2. CLOAJA, A. : Ber. d. deut. Bot. Ges. **32** : 267~271 1934
3. FANSSOH, P. : Physiologia Plantarum **6** 544~550 1953
4. 近藤芳五郎, 小笠原隆三 : 北大演報 (投稿中)
5. M. ROV, N. T. and STANLEY, R. G. : Ann Rev Plant Physiol **10** 223~238 1959
6. 村上浩, 林武 : 農化誌 **31** 468~470 1957
7. 小笠原隆三 : 日林誌 **43** 50~54 1961
8. 小笠原隆三 : 日林誌 **43** 307~310 1961
9. 上田弘一郎 : 斎藤達夫 : 日林関西支部四国大会 講集 13~14 1953
10. ULRICH, J. M. : Physiologia plantarum **13** 429~443 1960
11. ZIMMERMANN, W. A. : Zeitschr., Bot. **30** 203~252 1937

Summary

Auxins and inhibitors of *Pinus Thunbergii* were investigated.

On chromatographing in isopropanol-ammonia-water (8:1:1), three auxins (Rf 0.25, Rf 0.32, Rf 0.38) and one inhibitor (Rf 0.81) showing positive reactions by EHRlich reagent were found in acid fraction.

Chromatography reveals a growth promoting substance which corresponds in Rf with IAA, while no color was observed upon application of EHRlich reagent etc. to the chromatogram.

The buds and leaves were treated with 1000ppm solution of Tryptophane for 48 hours at 25°C in the dark. After the treatment, auxins and inhibitors were measured.

Four auxins and two inhibitors showed positive reactions by EHRlich reagent in the acid fraction.

Among them, auxin of Rf around 0.48 was identified as indoleacetic acid (IAA), comparing it with Rf value and color reactions in three reagents of synthesized IAA controls.

From these results, it may be considered that Tryptophane-IAA converting enzyme systems, existing in the buds and leaves, produce IAA from Tryptophane even without the addition of Tryptophane.