



Title	アカマツの芽の生長物質について
Author(s)	近藤, 芳五郎; 小笠原, 隆三
Citation	北海道大學農學部 演習林研究報告, 21(2), 317-322
Issue Date	1962-09
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/20801
Type	bulletin (article)
File Information	21(2)_P317-322.pdf



[Instructions for use](#)

アカマツの芽の生長物質について

近藤 芳五郎*
小笠原 隆三

Studies on Auxins in the Buds of *Pinus densiflora*

By

Yoshigorō KONDŌ and Ryuzō OGASAWARA**

緒 言

天然に存在する生長物質のうち Indoleacetic acid (IAA) は多くの高等植物に存在することが知られており、高等植物の最も普通の生長物質とされている。

マツ類の生長物質については CZAJA¹⁾ 以来研究が行われているが、定性的に調べた報告は少なく、また IAA が存在するという報告は殆んどみられなかった。

FRANSSON²⁾ は *Pinus silvestris* の auxin は IAA 以外のものであると報告しており、上田等³⁾ もアカマツで IAA の存在を認めていない。

MIROV³⁾ 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 (例えば Indoleacetonitrile や Indoleacetaldehyde の如き) 従来のマツ類の生長物質の研究は再検討の必要があるとしている。

最近小笠原⁴⁾ はクロマツの生長物質を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3種類の生長物質が存在し、その1つは IAA であることを認めた。

今回、アカマツの生長物質について調べたところ、クロマツと類似した結果が得られ IAA の存在することがほぼ確認された。

実験方法

生長物質および抑制物質の抽出

2年生アカマツの芽 10g を凍結した後これをすりつぶし、エーテルを加えて 0°C で抽出した。この間エーテルを4回交換し、総量を 100 ml とした。エーテル抽出液に 2% 重

* 鳥取大学農学部造林学研究室

** Laboratory of Silviculture, Faculty of Agriculture, Tottori University

曹溶液 60 ml を 3 回に分けて加え、酸性物質を分離した。エーテル層は濃縮して中性区分とした。重曹溶液層は 15% 酒石酸溶液で pH 3.0 とした後、90 ml のエーテルで 3 回にわけて抽出し、このエーテル層を濃縮して酸性区分とした。

ペーパークロマトグラフィーによる分離、吸着剤として東洋ろ紙 No. 50 (2×40 cm) を用いた。上記試料を 1 ml のエーテルで溶し、そのうち 0.1 ml をろ紙の一端にしみこませ、暗所において、上昇法により約 20 cm 展開した。

展開溶媒としてイソプロパノール—28% アンモンニア—水、8:1:1 (v/v/v)、ブタノール—エタノール—水、4:1:1 (v/v/v)、70% のエタノールの 3 種類を用いた。

アベナ伸長試験による定量

試料を展開して得たクロマトグラムを風乾後、展開した距離を 10 等分し、各ろ紙片を小管瓶に移し、これら各々に 2% 蔗糖液 2 ml を加えて 0°C で約 20 時間溶出した。溶出後ろ紙片を取除き、25°C の暗所で 3 cm 程のびたアベナの子葉鞘の先端 3 mm を除いた次の 2.3 mm を各々 10 ケずつ入れ、25°C 暗所に 20 時間おいてその伸長を測定した。

呈色反応

試薬として EHRlich 試薬 (p-dimethylaminobenzaldehyde 2 g + 20 ml HCl + 80 ml abs. ethanol), GORDON & WEBER 試薬 (0.05 M FeCl₃ + 5% HClO₄, 1:50 v/v), MITCHELL & BRUNSTETTER 試薬 (KNO₂-HNO₃, 1 g-200 ml) の 3 種類を用いた。

試料を展開して得たクロマトグラムに試薬を吹きかけ約 70°C で加熱して発色状態を調べた。

Tryptophane 処理

6~7 cm のアカマツの芽を DL-Tryptophane 1000 ppm 溶液に浸して 25°C 暗所に 24 時間おいた。24 時間後にこれを取り出し、その生長物質および抑制物質を前記同様な方法で定性、定量した。

結 果

2 年生アカマツの芽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 (展開溶媒として、イソプロパノール—アンモンニア—水、を用いた) で分離し、アベナ伸長試験で定量した結果を示せば Fig. 1 に示すごとくである。酸性区分において Rf 0.1~0.5 に生長促進帯が、Rf 0.5~1.0 に生長抑制帯がみられた。中性区分では生長促進帯は認められず全 Rf に生長抑制帯がみられた。

同時に展開した別のクロマトグラムに EHRlich 試薬、GORDON & WEBER 試薬、MITCHELL & BRUNSTETTER 試薬による呈色反応をみれば酸性区分で Rf 0.20, Rf 0.26 に陽性を示す 2 つの物質が認められた。IAA 位置に若干の生長促進を認められるが、これら

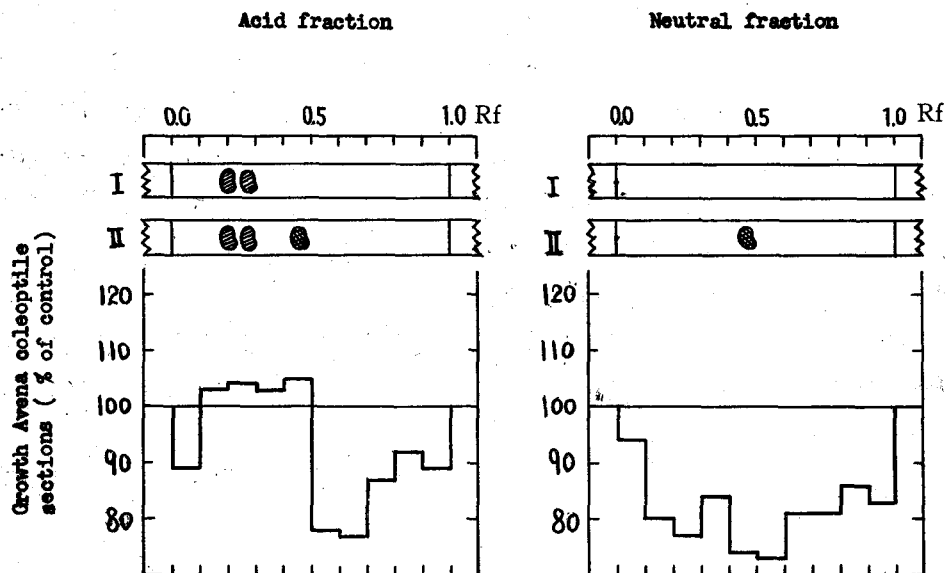


Fig. 1. Chromatograms of ether extracts obtained from the buds of *Pinus densiflora*, developed in isopropanol-28% ammonia-water, 8:1:1, (v/v/v), assayed by Avena straight growth test.

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

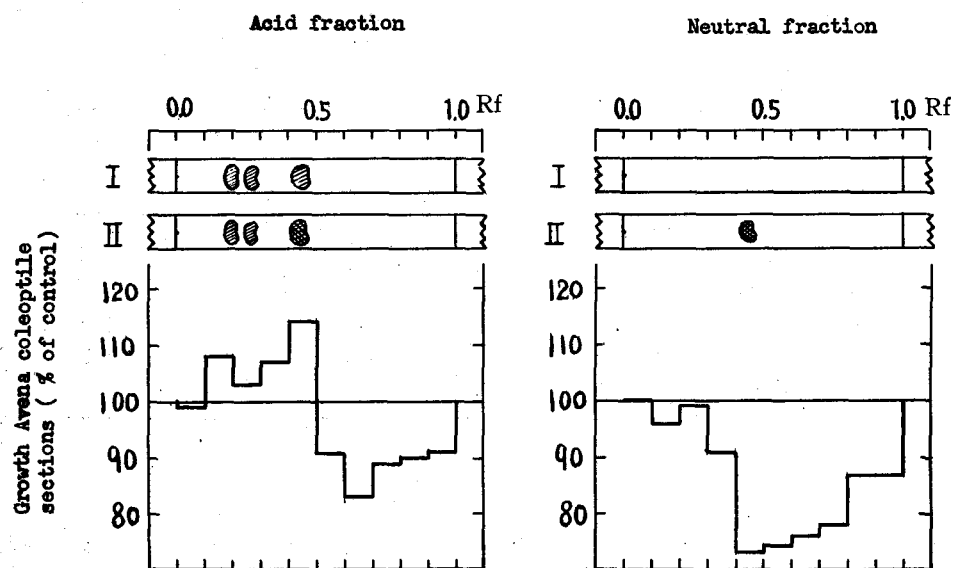


Fig. 2. Chromatograms of ether extracts obtained from buds treated with 1000 ppm solutions of Tryptophane for 24 hours, developed in isopropanol-28% ammonia-water, 8:1:1, (v/v/v), assayed by Avena straight growth test.

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

の試薬で発色を認めることができなかった。

中性区分は呈色反応は不明瞭であった。

次に IAA の前駆物質である Tryptophane 1000 ppm 溶液に 24 時間浸してから生長物質および抑制物質を調べた結果は Fig. 2 に示すごとくである。生長物質が増加し、抑制物質が減少する傾向がみられた。EHRlich 試薬による呈色反応をみれば Rf 0.20, Rf 0.26 に無処理の場合と同様に発色が認められたが、そのほかに新しく Rf 0.43 に紫紅色が認められた。これは合成 IAA の Rf と完全に一致した。

本物質の IAA であることを確認するために 3 種類の展開溶媒による Rf 値および 3 種類の呈色反応を比較してみれば、Table 1~2 に示すごとくで、本物質の Rf 値および呈色反応は、IAA のそれと殆んど同じであった。

このことから、Tryptophane を与えた場合新しく認められた本物質は IAA であることが確認された。

Table 1. Rf values of auxins

Substance	Rf values in —		
	Isopropanol -ammonia -water	Butanol -ethanol -water	70% ethanol
Substance A	0.20	0.43	?
Substance B	0.26	0.48	?
Substance C	0.43	0.73	0.82
IAA	0.43	0.74	0.83

Table 2. Colour reactions of auxins

Substance	Colour reactions with		
	p-dimethylamino benzaldehyde	FeCl ₃ -HClO ₄	KNO ₂ -HNO ₃
Substance A	Green	Bluish pink or pink	Yellow
Substance B	Blue	Bluish red	Yellow
Substance C	Purple or bluish red	Pink	Red or pink
IAA	Purple or bluish red	Pink	Red or pink

考 察

アカマツの芽の生長物質および抑制物質を調べたところ、酸性区分において EHRlich 試薬, GORDON & WEBER 試薬, MITCHELL & BRUNSTETTER 試薬によって陽性を示す 2 つの生長物質 (Rf 0.20 Rf 0.26) が認められた。これらの物質は Rf 値および呈色反応からみてクロマツ⁴⁾, フランス海岸松⁵⁾ の酸性区分において IAA の Rf より下にみられる 2 つの生長物質と同じもので、恐らくはインドール化合物であろう。

酸性および中性区分にみられる抑制物質はクロマツのそれと類似しているが、その化学的性質は不明である。

IAA 位置に若干ではあるが生長促進がみられ、恐らく IAA と思われるが EHRlich 試薬等で発色を認めることができず IAA の存在を確認できなかった。

IAA は酵素の作用により Tryptophane から作られるとされている。

もし、アカマツに IAA が形成されているとすれば、Tryptophane \rightarrow IAA の反応に関係する Tryptophane—IAA 転換酵素系が存在していることになり、人為的に Tryptophane を与えた場合本酵素系によって IAA が生成されなければならない。

切り取ったアカマツの芽に Tryptophane を与えた後、生長物質を調べると前記 2 つの生長物質とともに明白に IAA の形成が認められた。

このことはアカマツの芽に Tryptophane — IAA 転換酵素系が存在していることを示しており、無処理の場合でも IAA 位置に生長促進物質がみられることと考え合せて、恐らくは人為的に Tryptophane を与えなくても本酵素系によって Tryptophane \rightarrow IAA の反応が行われているものと考えられる。

通常これを呈色反応で確認できないのは、本抽出法では呈色反応が陽性を示すだけの量が得られないためでないかと思われる。

ULRICH⁹ は根菌である *Boletus* 属, *Amanita* 属, *Coprinus* 属, に属する 11 種の菌に Tryptophane を与えてインドール化合物の代謝を調べたが、Tryptophane から IAA の形成されることを認め、また *Amanita* 属では IAA とともに多くの他のインドール化合物の生成されることを認めている。

アカマツでは IAA 以外に呈色反応で陽性を示す物質が認められる場合があるが (例えば酸性区分で Rf 0.55 附近に抑制物質) 本実験では認められなかった。

要 約

4 月に 2 年生アカマツの芽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フィー (展開溶媒としてイソプロパノール—アンモニア—水、を使用) で分離し、アベナ伸長試験で定量した結果、酸性区分では Rf 0.1~0.5 に生長促進帯が、Rf 0.5~1.0 に生長抑制帯が認められた。中性区分では生長促進帯はみられず、全 Rf に生長抑制帯が認められた。酸性区分において EHRlich 試薬, GORDON & WEBER 試薬, MITCHELL & BRUNSTETTER 試薬により陽性を示す 2 つの物質 (Rf 0.20, Rf 0.26) が認められた。IAA 位置にも生長促進がみられたが、これら試薬による発色を認めることができなかった。しかし、IAA の前駆物質である Tryptophane を与えると明白に IAA の形成が認められた。

このことはアカマツの芽に Tryptophane — IAA 転換酵素系が存在していることを

示しており、無処理の場合も IAA 位置に生長促進がみられることと考え合せて、恐らく Tryptophane を与えない場合でも本酵素系により Tryptophane \rightarrow IAA の反応が行われているものと推定する。

文 献

- 1) CZAJA, A.: Ber. d. deut. bot. Ges. 52; 267, 1934.
- 2) FRANSSON, P.: Physiologia Plantarum 6; 544-550, 1953.
- 3) MIROV, N. T. and STANLEY, R. G.: Ann. Rev. Plant Physio. 10; 223-238, 1959.
- 4) 小笠原隆三: 日林誌, 43; 50-54, 1961.
- 5) ———: 鳥取農学会報 13; 130-133, 1961.
- 6) SEN, S. P. and LEOPOLD, A. C.: Physiologia Plantarum 7; 98-108, 1954.
- 7) URLICH, J. M.: Physiologia Plantarum 13; 429-443, 1960.
- 8) 上田弘一郎・斎藤達夫: 日林関西四国大会講集, 13-14, 1953.

Summary

Auxins and inhibitors in the buds of 2 years old *Pinus densiflora* were extracted with ether and were measured by means of paper chromatography and Avena straight growth test.

On chromatographing in isopropanol-ammonia-water, 8:1:1, (v/v/v), a growth promoting zone (Rf 0.10-0.50) and a growth inhibiting zone (Rf 0.50-1.00) were detected in the acid fraction. In the neutral fraction, a growth inhibiting zone (Rf 0.00-1.00) was detected.

On the growth promoting zone in the acid fraction two auxins (Rf around 0.20, Rf around 0.26) showing positive reactions by EHRlich reagent, GORDON & WEBER reagent and MITCHELL & BRUNSTETTER reagent were found. It may be suggested that they are indole compounds.

The small amount of promoting substance of Rf around 0.43 correspond to IAA, shown unpositive reactions by these reagents. Therefore, authors could not confirmed that this substance is IAA.

The buds were treated with 1000 ppm solution of tryptophane for 24 hours at 25°C in the dark. After the treatment, auxins and inhibitors were measured.

Three auxins (Rf around 0.20, Rf around 0.26, Rf around 0.43) showing positive reactions by EHRlich reagent etc. were found in the acid fraction. Among them, auxin of Rf around 0.43 was identified as indoleacetic acid (IAA); comparing it with Rf and colour reaction of synthesized IAA controls.

From these results, it may be considered that Tryptophane-IAA converting enzym system exists in the buds of *Pinus densiflora* and these buds produced IAA even without the addition of Tryptophane.