

イネにおける内生オーキシンの器官別含有量とその日変化****

北野 順一*・渡邊紳一郎**・坂 齊***

Endogenous IAA Level and its Diurnal Variations of Leaf Blade,
Sheath and Panicles in Rice (*Oryza sativa* L.) Plant.

Jun-ichi KITANO, Shin-ichiro WATANABE and Hitoshi SAKA

緒 言

オーキシンは、高等植物の生長・分化に係わる様々な生理現象に関与していることが知られており、また高等植物において機能している主要な内生オーキシンはインドール酢酸 (IAA) であることが明らかになっている⁶⁾。

イネの内生オーキシンに関しては、Bandurski and Schulze⁹⁾が完熟種子から遊離型および結合型の IAA を見だし、その含量が極めて高いことを報告している。また、Kobayashi¹²⁾はイネの内生オーキシンとしては IAA とインドールカルボン酸が存在し、IAA の含量が高いこと、さらにイネの生育段階に従った IAA の含量変動を追及し、茎葉部における生体重当りの IAA 含有量はほとんど変化しないが、開花受精後、急速に種子内で増高することを報告している。しかし、イネにおける内生 IAA の器官および葉位別の含有量などの局在性やその日変化についての検討は試みられていない。

そこで本報では、幼穂分化期以降のイネ葉身、葉鞘および乳熟期の籾について内生 IAA の器官および葉位別の含有量とその日変化について検討した。

材料および方法

農業生物資源研究所 (つくば市) のガラス温室内で栽培した幼穂形成期以降の水稲品種「日本晴」を分析用試

料として供した。1989年7月25日 (天候: 晴一時曇 午後2時~4時) に、11葉期の稲の最上位葉 (止め葉から数えて3枚目の第12葉が展開中) を含む上位4葉を葉鞘と葉身に分けて採取し、直ちに細かく刻んで生体重1~2gを秤量した。また、同年7月25日~26日にかけて、同じ葉期のイネの完全に展開した第10葉の葉鞘および葉身を4時間毎に採取し、同様に処理した。乳熟中の籾は、同年9月20日~21日にかけて主稈穂の上位3枝梗上の稔実籾を6時間毎に採取した。何れも、秤量した試料は直ちにメタノールで抽出し、以下の定量操作を行った。

IAA の定量は渡辺ら⁷⁾の手法に従って行った。抽出液には内部標準物質としてインドールプロピオン酸 (IPA) を使用し、葉身、葉鞘では生体重当り10ngを、籾では100ngをそれぞれ添加した。メタノールは室温で減圧下留去した。水溶性残渣には飽和重曹水 (pH 9) を加えて、ジエチルエーテルで数回抽出をくりかえし、ジエチルエーテル中性区を除いた。水層を2.5Mの塩酸でpH 2以下に調整した後再びジエチルエーテルで数回抽出し、遊離型 IAA の定量では有機層画分を無水硫酸ナトリウムで脱水し Nucleosil5N (CH₃)₂カラム (6×100mm) に注入し精製を行った。そのための溶媒系は0.2%酢酸-メタノール (流速1.0/min) で、蛍光検出器 (励起光280nm, 検出光360nm) 付 HPLC (島津4A

*三重県農業技術センター栽培部 **農水省生物資源研究所 ***農水省北海道農業試験場

****本報の一部は、日本作物学会講演会(1990. 東京)で報告した。

型)を用いて, IAA, IPAが溶出する画分(3.5~7.5分)を分取した(第1図). この分取画分を再び減圧濃縮後, Inertsil ODSカラム(5 μ m 4.6 \times 250mm)に注入した. 溶媒系は0.1M酢酸-50%メタノール-水(流速0.8/min)で, 同じHPLCをもちいてIAA, IPAを検出し(第2図), IPAとの面積比によりIAAを定量した.

また, 乳熟期の初では結合型IAAについても定量した. すなわち, 遊離型IAAの定量に有機層画分を取り除いた後の水層を3MのNaOHで中和し, さらに1MのNaOH水溶液に調製した後, 室温で1時間振とう, アルカリ加水分解させた. 2.5Mの塩酸でpH2以下に調整した後ジエチルエーテルで数回抽出し, 以後遊離型IAAの定量と同じ操作を行い結合型IAAを定量した.

結果

1. 葉身, 葉鞘および乳熟期の初 of IAA含有量

葉位別の葉身および葉鞘の遊離型IAA含有量の定量結果を第1表に示した. 11葉期(2次枝梗分化期に相当)のイネでは, 遊離型IAAは最上位の抽出中の葉(第12葉)の葉身と伸長中の葉鞘に, それぞれ生体重1g当り32~38ngと多く存在し, 下位の葉身および葉鞘ほど少なくなった. 特に葉鞘では, 下位葉の遊離型IAA含有量は伸長葉(第12葉)の20~30%であった. また, 完全

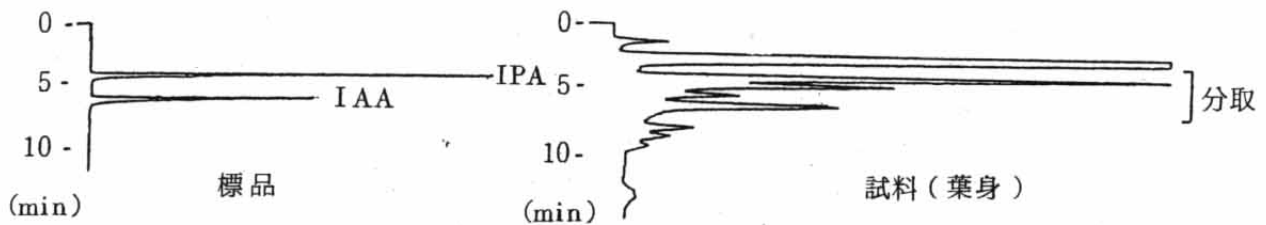
に展開した第11葉以下の葉では, 遊離型IAAは葉鞘よりも葉身に多く存在した.

第1表 器官及び葉位別の遊離型IAA含有量

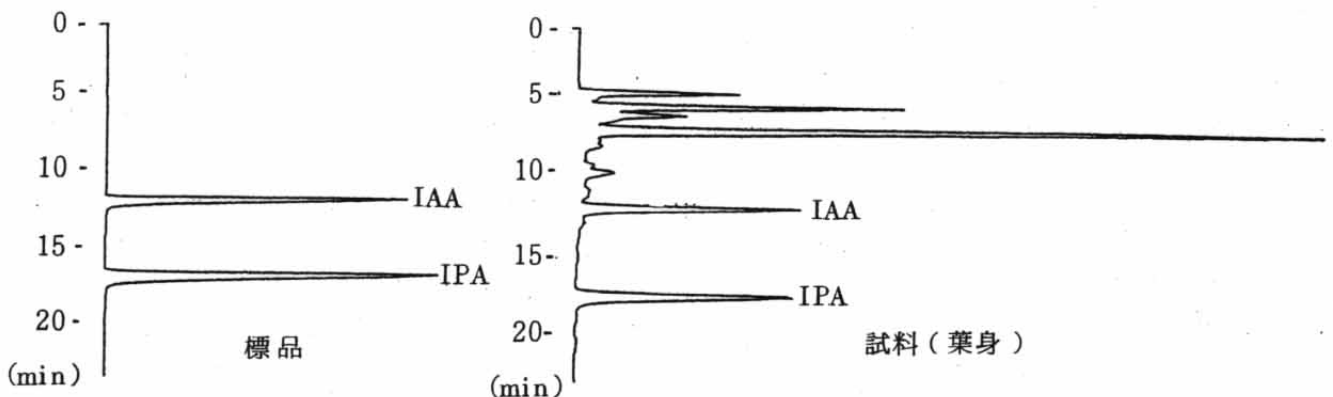
器官	葉位*	IAA含有量 (ng/g f. w.)			葉鞘/葉身
		I	II	平均	
葉身	12	35.8	32.3	34.1	
	11	22.2	20.9	21.5	
	10	15.4	13.6	14.5	
	9	12.3	11.8	12.1	
葉鞘	12	38.3	—	38.3	112
	11	12.6	—	12.6	59
	10	7.5	—	7.5	52
	9	10.5	—	10.5	87

* 位:下位葉から数えた主稈葉位

乳熟期の初 of 遊離型および結合型IAA含有量の定量結果を第2表に示した. 初 of 遊離型IAA含有量は, 葉身および葉鞘の含有量とは異なり生体重1g当り1,000~1,500ngで, 葉身および葉鞘のその約100倍も多く存在した. また, 初1粒当りでは20~35ngと計算できた. 一方, 初 of 結合型IAAは遊離型より更に多く, 生体重1g当り4,000~6,000ngで, 遊離型の4~6倍量の存在が認められた.



第1図 Nucleosil 5 N (CH₂)₂カラムによるオーキシンのクロマトグラム



第2図 Inertsil ODSカラムによるオーキシンのクロマトグラム

第2表 乳熟期の籾における I A A 含有量の日変化

採取時刻*	遊離型 (ng/g f.w.)				1粒当り** (ng/粒)	結合型 (ng/g f.w.)			
	I	II	III	平均		I	II	III	平均
18	1352	1487	—	1420	34.2	5842	—	—	5842
24	1184	1451	—	1318	31.4	4022	3076	—	3549
6	944	1155	—	1050	24.1	4115	4652	—	4383
12	677	739	1103	840	19.4	4025	3002	4048	3692
18	1068	1470	—	1269	30.2	4799	3916	—	4358

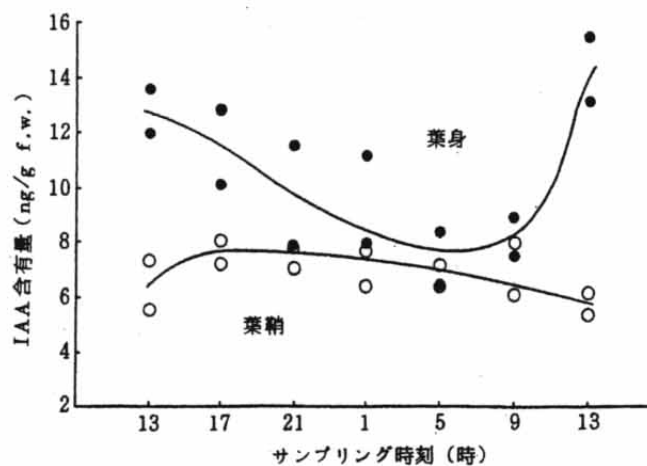
* 1989年9月20日～9月21日に出穂後12日の主稈穂から上位3枝梗の稈実籾を6時間毎に採取した。

** 平均1粒重：24.5mg

2. 葉身、葉鞘および乳熟期の籾の I A A 含有量の日変化

11葉期のイネの完全展開葉（第10葉）における葉身および葉鞘の遊離型 I A A 含有量には、第3図に示した日変化がみられた。葉身の遊離型 I A A 含有量は、午後時に最も多く、その後徐々に減少し、翌日の朝方の午前5時に最も少なくなる日変化を示した。生体重1g当りの遊離型 I A A 含有量は、午後1時には12.0～15.5ngで、午前5時における最小含量の6.4～8.4ngの約2倍であった。一方、葉鞘の遊離型 I A A 含有量は、生体重1g当り5.4～7.7ngであった。葉鞘の遊離型 I A A 含有量の日変化をみると、葉身に比べてその変動巾は小さいものの、夕刻から夜間にかけて高く、日中は低くなる傾向がみられた。

乳熟期の籾の遊離型及び結合型 I A A 含有量の日変化は第2表および第4図のとおりであり、遊離型 I A A 含有量には正午に最も少なく、午後6時に最も多くなる日変化が認められ、葉における日変化とは異なるパターンを示した。

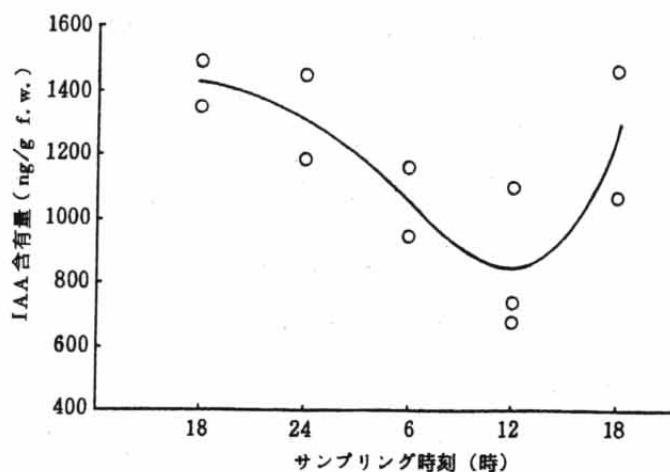


第3図 葉身・葉鞘における遊離型 I A A 含有量の日変化

考 察

イネの内生オーキシン含有量については、Kobayashiは茎葉部の遊離型 I A A 含有量は生体重1g当り10～26ngで栄養生長期間を通じて含有量に変化がみられないこと、穂の遊離型 I A A 含有量は受精後急速に増加し茎葉部の10～100倍も多くなることを報告しており、本実験でもほぼ同様の結果が確認された。さらに本実験によって茎葉部では部位や葉位によって遊離型 I A A の含有量に大きな差があることが明らかになった。茎葉部の遊離型 I A A は代謝活動が盛んな完全展開葉より展開途上の葉身や伸長途中の葉鞘に多く存在していることから、オーキシンは光合成や呼吸等の生理作用よりも伸長・分化などの生長そのものに深く係っていることが明らかであり、またその存在量は組織の齢との係りが深く、若い組織ほど高い含有量であることを示すものと言える。また、完全展開葉では葉鞘より葉身に多く存在することは、その生理機能の違いを反映するものと考えられるが、その詳細は今のところ不明である。

植物の生長、蒸散、光合成などの生理作用には日変化



第4図 乳熟期の籾における遊離型 I A A 含有量の日変化

があり、また植物ホルモンの生成や含有量にも日変化があることが知られている。Michiyama and Saka³⁾はイネの葉鞘中エチレン量は昼間に多く夜間に少なくなること、坂ら⁵⁾は登熟期のイネではエチレン生成量が光の明暗条件によって変化し葉身と穂では逆のパターンを示すことを報告している。オーキシンでは、禿ら¹⁾が時無大根の芽生えを材料として拡散性オーキシンの日変化について、日中に多く夜間に少なくなることを報告している。しかし、これら植物ホルモン含有量の日変化が植物の生理作用や生長とどの様に係りあっているのかまだほとんど解明されておらず、本実験で明らかになった遊離型 IAA 含有量の日変化についてもイネの諸生理作用との関係は不明である。日変化する要因の1つとして、植物体内におけるオーキシンの生合成場所や生合成能力の違い、極性移動や蒸散流に伴う移動等が考えられるが、さらに光合成や炭水化物の転流・蓄積などの生理作用との関係もあるものと推察され、今後の興味深い研究課題と言える。

摘 要

幼穂分化期以降のイネの葉鞘、葉身および乳熟期の籾の内生 IAA 含有量を高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いて定量し、その含有量には器官や葉位によって大きな差異があり、また器官固有の日変化があることを明らかにした。結果の概要は以下のとおりである。

1) 葉身および葉鞘における遊離型 IAA 含有量は、生体重当り葉身では 8~38ng、葉鞘では 12~36ng であった。

2) 葉身および葉鞘の遊離型 IAA は、抽出中の葉に最も多く下位葉ほど含有量は少なくなった。また、完全展開葉では葉鞘よりも葉身に多く存在した。

3) 乳熟期の籾の遊離型 IAA 含有量は生体重 1g 当り 1,000~1,500ng で、結合型 IAA は更に多く生体重 1g 当り 4,000~6,000ng であった。

4) 遊離型 IAA 含有量の日変化は、葉身では昼間の午後 1 時頃に最も多く、朝方の午前 5 時頃に最も少なくなり、葉鞘では葉身とは異なって午後 1 時頃に少なくなる傾向を示した。一方、乳熟期の籾では、正午頃に最も少なく、夕方の午後 6 時頃に最も多くなった。

引用文献

- 1) 禿 泰雄, 平井康市, 藤井清一 (1982) 内生オーキシン生成量の日変化と生長パターンについて. 植化調発表要旨: 12-13.
- 2) Kobayashi, M., A. Sakurai, H. Saka and

N. Takahashi (1989).

Fluctuation of the Endogenous IAA Level in Rice during Its Life Cycle. *Agric. Biol. Chem.* 53 (4): 1089-1094.

- 3) Michiyama, H. and H. Saka (1988) Endogenous Ethylen Levels in Leaf Sheath and Panicle of Rice Plant. *Japan. Jour. Crop-Sci.* 57 (2): 366-370
- 4) Bandurski, R. S. and A. Schulze (1977) *Plant Physiol.* 60: 211
- 5) 坂 齊, 丸山清明, 伊勢一男, 横尾正雄 (1990) 雄性・雌性不念系統の穂からみたイネの登熟期のエチレン生成特性. *日作紀* 59 (別): 132-133
- 6) 生長と運動 植物生理学講座 3. 朝倉書店
- 7) 渡邊紳一郎, 小林正智, 坂 齊 (1989) イネの内生インドール酢酸の分析定量法と矮化剤の影響. *日作紀* 58 (別): 156-157.

SUMMARY

We examined endogenous indole-3-acetic acid (IAA) levels of the leaf blade, leaf sheath and panicles at reproductive growth stage in rice (cv. Nipponbare) plant and their diurnal variations using high performance liquid chromatography (HPLC). The results were summarized as follows.

1) The level of free IAA in leaf blades was 8~38ng/g fr. wt., while that in the leaf sheaths was 12~36ng/g fr. wt. at 11th leaf stage plant.

2) The level of free IAA in the leaf blade and leaf sheath of developing leaf showed the highest content among the upper four leaves and decreased in the descending order of leaf position from the top. The levels of free IAA in leaf blades of adult leaf was found to be higher than that in leaf sheaths.

3) The level of free IAA in panicles was 1,000~1,500ng/g fr. wt., while the level of IAA conjugate in panicles was 4,000~6,000ng/g fr. wt. .

4) The level of free IAA in leaf blades showed diurnal variation with high levels in the afternoon and low in the evening, while that in leaf sheaths and panicles showed diurnal variation with high levels in the evening and low at noon.