黄色種タバコにおける光合成産物の葉肉から 主脈への移行について

第2報 葉肉から一次支脈および主脈に移行した ^{14}C の各種化合物への分布*

関口 節子・山本 友英・大関 和彦

(日本専売公社中央研究所)

緒 言

植物の葉から他の器官に移行する光合成産物の大部分は sucrose であることがこれまでの多くの実験によつてあきらかにされている^{4,8,11,13)}。そのほか、植物によつては stachyose, raffinose も通導組織中を移行すると言われている^{7,12,16,17)}。アミノ酸、有機酸の移行は若い発育時期の植物において比較的多いと言われているが^{4,9)}、それらの移行量は、一般に、糖類の移行量にくらべるとはるかに少ない。これまでに、serine、あるいは malic acid が移行する例が示されているが^{2,6)}、葉から移行するアミノ酸、有機酸の組成については詳しい報告は少ない。これまでの多くの実験では、 $^{14}\text{CO}_2$ 同化葉から茎の中に移行した ^{14}C の各化合物への分布を調べ光合成産物の移動形態を推論しているが、茎中で検出される ^{14}C -化合物には移行している物質のほかに、茎の中の代謝によつて生成された物質、あるいは Clauss 等²⁾ が推論しているように根から再転流してきた物質もふくまれていると考えられる。

本実験では、黄色種タバコの葉から移行する光合成産物の組成を知るため、葉肉の一部に $^{14}\text{CO}_2$ を同化させ、葉肉部、一次支脈および主脈中の ^{14}C 分布の経時的变化を調べた。

実験材料および方法

温室内で黄色種タバコ（ヒックス）を発蕾直前まで水耕法によつて育成したものを供試した。その時の茎丈は 27 cm、着葉数は 22～23 枚、最大葉は子葉より数えて第 12 葉であつた。

前報¹⁴⁾と同じように、最大葉の裏側で中央部の二つの一次支脈の間に、 $^{14}\text{CO}_2$ 発生装置をあてて、 $10\ \mu\text{C}$ の $^{14}\text{CO}_2$ を発生させ、供試葉の水平照度 50,000 lux で 10 分間供与した。

$^{14}\text{CO}_2$ 同化終了後、10,000 lux の照度条件の下に放

置し、30 分、60 分、180 分後に同化葉を切りとり、 $^{14}\text{CO}_2$ を与えた葉肉部、その両側の二本の一次支脈、さらに主脈に分けた。それぞれを 99% エタノール 10～15 ml 中で 1～2 分煮沸後、乳鉢で磨砕し、蒸留水を加えて 80% エタノール溶液になるように調製し、3 回の遠心分離を行なつて 80% エタノール可溶部、80% エタノール不溶部に分画した。

80% エタノール不溶部を 80°C で乾燥し、粉碎してから、その 10 mg を Van Slyke¹⁰⁾ の湿式灰化法によつて分解し、発生した $^{14}\text{CO}_2$ をエタノールアミン、メチルセロソルブ混液 (1:9) 5 ml に吸収させ、その中の 0.5 ml をバイアル瓶に入れ、液体シンチレーション用溶液（トルエン 667 ml、メチルセロソルブ 333 ml、PPO 4 g、POPOP 0.1 g）10 ml を加え、ベックマン社 L. S. 200 型液体シンチレーションカウンターで計測した。

80% エタノール可溶部のうち amberlite IR-120 (H^+ 型)、amberlite IR-45 (OH^- 型) を通過したものを中性部、amberlite IR-120 に吸着し 2 N- NH_4OH で溶出されたものを、塩基性部、amberlite IR-45 の樹脂に吸着し 2 M- $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ で溶出されたものを酸性部として分画した。

各分画部を減圧濃縮し、ワットマン No. 1 の口紙を用いたペーパークロマトグラフィーによつて分離した。中性部の展開剤として ブタノール：酢酸：水 (4:1:5)、酸性部の展開剤として N-アミルアルコール：蟻酸 (1:1) のそれぞれ上層部を使用し、下降法で一次展開をおこなつた。酸性部の展開の際、sugar phosphate は原点附近にとどまることが Wade-Morgan の試薬によつて確かめられた。

塩基性部は一次展開剤としてブタノール：酢酸：水 (4:1:5)、二次展開剤としてメタクレゾール：フェノール：PH 8.3 borate buffer (4:2:1) を用いて二次展開をおこなつた。クロマトグラフィーによつて分離された ^{14}C 化合物の位置をラジオオートグラフィーによつて確認し、その部位を切りとつてバイアル瓶に入れ、ハイアミンを加え、数時間放置後、液体シ

* 昭和 44 年 6 月 30 日受理

第143回講演会（42年4月）において発表。

ンチレーション溶液 (トルエン 700 ml, エタノール 300 ml, PPO 4g, POPOP 0.1 g) を 10 ml 加え, 液体シンチレーションカウンターで計測した。

実験結果

$^{14}\text{CO}_2$ を 10 分間供与した葉肉部から一次支脈および主脈中に移行した全 ^{14}C -activity の経時的变化を第 1 図に示した。 $^{14}\text{CO}_2$ 同化後 30 分では一次支脈中の全 ^{14}C と主脈中の全 ^{14}C はほぼ同量であるが, 以後, 時間の経過とともに主脈中の全 ^{14}C のほうが高い値となる。主脈中の全 ^{14}C の activity の変化を前報¹⁴⁾の結果とくらべると, 今回の実験では, $^{14}\text{CO}_2$ 同化 60 分後までの主脈中の全 ^{14}C の増加はややゆるやかであるが, 180 分後における主脈中の全 ^{14}C は前報とほぼ同じ値を示している。

葉肉部, および主脈中の ^{14}C 化合物を分画した結果を第 1 表に示す。これによると, 一次支脈および主脈中では, ^{14}C の約 80% が中性部中に認められ, この値は同化後 180 分まではほぼ一定である。一次支脈および主脈中の ^{14}C の塩基性部および酸性部への分布割合は葉肉部における分布割合より高い。80% エタノール不溶部への ^{14}C 分布割合をみると, 葉肉部では全 ^{14}C の約 30% であり, 一次支脈および主脈では数% 以下である。一次支脈および主脈中の 80% エタノール不溶部の ^{14}C を 80% エタノール不溶部の乾物 mg あたりの cpm で表わすと第 2 図に示すように, $^{14}\text{CO}_2$ 同化 30 分後から一次支脈において高い値がみられる。

葉肉部, 一次支脈, および主脈中の中性部の ^{14}C は, sucrose, glucose, fructose に検出された (第 2 表)。葉肉部における中性部の ^{14}C の c.p.m. は化合物により異なるが, 全体として, ^{14}C 同化 60 分後

から 180 分後にかけて減少している。これは主として ^{14}C が葉肉部から他の器官に移行した結果であると考えられる。葉肉部における ^{14}C -glucose と ^{14}C -fructose の量はほぼ同じであり, 60~180 分の間で約 2 倍に増加し, 双方の activity を加えると中性部中の activity の 50% 上に達する。一方, 一次支脈

Fig. 1 Time-course changes of total ^{14}C translocated from the mesophyll into the veins of 1st order of branching, and midrib

Fig. 2 Time-course changes of ^{14}C recovered in 80% ethanol insoluble fraction

Table I. Distribution of ^{14}C among several fractions in the mesophyll, the veins of 1st order of branching, and the midrib

		80% ethanol soluble fraction			80% ethanol insoluble fraction
		Neutral fraction	Anionic fraction	Cationic fraction	
Mesophyll	30 min	64.8%	3.8%	2.6	28.9%
	60	62.0	6.1	1.6	30.4
	180	65.7	5.5	1.3	27.5
Veins of 1st order of branching	30	81.9	7.7	5.3	5.1
	60	81.9	7.5	7.5	4.3
	180	80.2	9.7	4.2	6.1
midrib	30	78.3	6.7	11.3	3.7
	60	81.7	6.8	7.6	3.9
	180	84.9	5.2	6.2	3.8

Each value shows the percentage of total ^{14}C in each part

および主脈では中性部中の ^{14}C の大部分は sucrose に見いだされた。この場合、一次支脈と主脈中の ^{14}C -化合物は移行したものの他、通導組織およびその他の細胞内で代謝によつて生成されたものもあると考えられる。この点を明確にするため、摘採葉を用いて実験を行なつた。すなわち、前報¹⁴⁾によれば、タバコの摘採葉では光合成産物の主脈への移行がきわめて少ないので intact の状態で ^{14}C が主脈中に移行した葉を摘採し以後一定時間放置してから主脈中の分布を調べれば葉脈中で移行しない ^{14}C 化合物の変化を推定出来る。以上の考えにもとづき、葉肉に $^{14}\text{CO}_2$ を供与して intact のままで 60 分間放置したのち、120 分間水中に挿した葉について葉脈中の ^{14}C 分布を調べた。その結果は第2表に示すように、 ^{14}C -glucose、 ^{14}C -fructose への ^{14}C 分布割合は intact の場合にくらべて高く、とくに

この傾向は一次支脈においていちぢるしい。以上の結果は着生葉の一次支脈と主脈中の ^{14}C -glucose と ^{14}C -fructose は移行してきた ^{14}C -sucrose の分解によつて生成される可能性を示している。

つぎに葉の全 ^{14}C に対する塩基性部中の ^{14}C 比率をみると、葉肉では時間の経過とともに減少し、一方、一次支脈と主脈では増加している(第3表)。また、個々のアミノ酸への ^{14}C 分布割合をみると、葉肉部では ^{14}C -glutamic acid がもつとも多く、 ^{14}C -serine は時間の経過とともに減少し、 ^{14}C - γ -aminobutyric acid は増加する。これに対して、一次支脈では $^{14}\text{CO}_2$ 同化 30 分後に 64.3% の ^{14}C が serine に認められ、主脈では検出された ^{14}C は全部 serine にとりこまれた。以後、serine への ^{14}C 分布は減少するが、以上のことから、アミノ酸の中で serine は生成されてか

Table II. Distribution of ^{14}C in the neutral fraction

	time-course (min)	Sucrose		Glucose		Fructose	
		cpm ($\times 10^{-4}$)	(%)	cpm ($\times 10^{-4}$)	(%)	cpm ($\times 10^{-4}$)	(%)
Mesophyll	60	1690.0	(71.6)	356.4	(15.0)	313.9	(13.3)
	180	878.6	(43.4)	583.0	(28.8)	562.8	(27.8)
	Detached* (60~180)	1435.5	(59.6)	513.0	(21.3)	460.0	(19.1)
Veins of 1st order of branching	60	55.1	(93.7)	2.0	(3.7)	1.4	(2.6)
	180	54.9	(85.3)	5.3	(8.2)	4.2	(6.5)
	Detached* (60~180)	35.1	(59.4)	13.9	(23.5)	10.1	(17.1)
Midrib	60	71.5	(96.6)	2.1	(2.8)	0.4	(0.6)
	180	163.8	(93.9)	7.5	(4.3)	3.1	(1.8)
	Detached* (60~180)	124.0	(89.0)	7.5	(5.4)	7.8	(5.6)

* At the time of 60 min after $^{14}\text{CO}_2$ feeding, fed leaf was detached and immersed into water. The detached leaf was sampled 180 min after $^{14}\text{CO}_2$ feeding.

Table III. Distribution of ^{14}C among the compounds of cationic fraction

	Misophyll			Veins of 1st order of branching			Midrib		
	30min	60min	180min	30min	60min	180min	30min	60min	180min
Aspartic acid	16.5%	7.4%	7.7%	8.3%	8.4%	15.1%	—%	3.2%	6.0%
Glutamic acid	38.6	44.6	56.7	9.6	17.9	61.2	—	4.7	16.0
Serine	10.2	7.0	2.7	64.3	35.2	2.9	100.0	85.4	25.4
Threonine	—	1.6	0.6	—	3.6	1.6	—	0.8	1.8
Glycine	1.7	1.0	0.6	—	—	1.6	—	1.0	—
Alanine	9.9	8.5	6.2	14.6	1.8	0.6	—	0.7	1.8
Glutamine	8.5	5.8	5.5	—	2.8	7.3	—	1.9	15.7
γ -Aminobutyric acid	6.9	14.0	14.0	—	5.6	9.8	—	0.8	28.6
Asparagine	—	0.4	0.3	—	3.7	—	—	—	3.7
Others	6.0	9.1	5.7	3.1	5.1	—	—	0.6	1.1
The percentage of the ^{14}C -cationic fraction to the total ^{14}C in the leaf	2.46	1.40	1.09	0.03	0.10	0.08	0.05	0.17	0.34

ら比較的短時間のうちに移行する物質であると推察される。一次支脈と主脈における aspartic acid, glutamic acid, glutamine, γ -aminobutyric acid への ^{14}C 分布割合は $^{14}\text{CO}_2$ 同化後 30 分では少なく, 60 分から 180 分にかけていちぢるしく増加する。alanine には $^{14}\text{CO}_2$ 同化 30 分後に一次支脈において 14.6% の ^{14}C がとりこまれていたが, 以後 ^{14}C の分布は少なく, 主脈中では ^{14}C -alanine はわずかである。

つぎに, 酸性部を糖リン酸と有機酸に分別し, それらへの ^{14}C 分布を調べた結果を第 4 表に示す。それによると, ^{14}C -malic acid は葉肉と一次支脈中にみられ, 主脈中には認められない。したがって同化後 180 分以内では, 葉で生成された ^{14}C -malic acid は主脈を経て茎へ移行しないと判断される。

考 察

第 1 表と第 2 表からわかるように, 一次支脈あるいは主脈における全 ^{14}C のそれぞれ 70% が sucrose にとりこまれていることから, 黄色種タバコの葉肉から茎に移行する光合成産物の大部分は sucrose であると言える。さきに, 山本¹³⁾は同じ stage の黄色種タバコの $^{14}\text{CO}_2$ 同化葉から茎に移行した ^{14}C の分布を調べている。それによると, $^{14}\text{CO}_2$ 同化 180 分後に, 上部茎では中性部中の ^{14}C の 24% が glucose に, 12% が fructose にとりこまれ, 下部茎では 11% が glucose に, 6% が fructose にとりこまれていた。これらの値にくらべて, 本実験における一次支脈と主脈中の ^{14}C の glucose, fructose への分布割合は低く数%以下である。しかし, 葉を摘採して葉肉からの ^{14}C 移行をとめると一次支脈および主脈中の ^{14}C -glucose, ^{14}C -fructose は増加する。これらのことから, さきに茎の中で認められた ^{14}C -glucose, ^{14}C -fructose は主として葉より移行してきた ^{14}C -sucrose の分解によつて生成されたものと思われる。この点について Swanson⁸⁾ ら, Burley¹⁾ も同様の考察をおこなつて

いる。

Nelson⁶⁾, Clauss²⁾ らは大豆の幼植物の葉に $^{14}\text{CO}_2$ を供与した場合, 茎中に ^{14}C -malic acid が認められると報告しているが, 本実験の結果では ^{14}C -malic acid は葉肉, 一次支脈中に認められたが, 主脈中には検出されなかつた。したがってタバコ植物では malic acid は葉から茎へ移行する物質であると考えられない。一次支脈中の ^{14}C -malic acid は一次支脈中で生成されたか, あるいは葉肉から一次支脈へ移行し, そこですみやかに代謝されたかのいずれかであると考えられる。

一次支脈では主脈にくらべて 80% エタノール不溶部への ^{14}C 分布も多く(第 2 図) sucrose の分解も比較的さかんである(第 2 表)。このことは一次支脈では主脈にくらべて移行してきた ^{14}C が組織の形成によりさかんに利用されていることの結果であろう。

アミノ酸については, 第 3 表から serine は生成されてから比較的短時間のうちに移行する物質であると推察される。

最近, 吉田ら¹⁵⁾はタバコ葉に $^{14}\text{CO}_2$ を同化させ, 葉で生成された ^{14}C -serine が根に移行することを報告した。この実験によると, $^{14}\text{CO}_2$ を 60 分間供与した葉における serine の ^{14}C -activity は他のアミノ酸にくらべてとくに高い値を示している。したがって, $^{14}\text{CO}_2$ 同化後短い時間のうちに ^{14}C -serine が移行することは serine が光合成の初期に比較的多く生成されることに 1 つの原因があると思われる。第 2 表と第 3 表では葉肉中の ^{14}C 分布と葉脈中の ^{14}C 分布に相違がみられるが, これは葉肉からの ^{14}C 化合物が移行する際の時間的おくれを示していると同時に, 葉肉から葉脈への段階で移行しやすい物質と移行しにくい物質のあることを示している。

つぎに, 一次支脈および主脈中では時間の経過にともない ^{14}C -aspartic acid, ^{14}C -glutamic acid, ^{14}C -glutamine, ^{14}C - γ -aminobutyric acid らが増加しているが, それらが葉肉より移行してきたものとすれば, ^{14}C -sucrose や ^{14}C -serine よりおくられて移行していることになる。あるいは, それらの物質が葉脈中で ^{14}C -sucrose から生成されたとすれば, ^{14}C は解糖系を経て TCA 回路に入り, aspartic acid と glutamic acid にとりこまれ, glutamic acid から glutamine と γ -aminobutyric acid へと移つていつたものと考えられる。

本実験の結果から, タバコ植物において葉から他の器官に移行する主な光合成産物は sucrose であり,

Table IV. Distribution of ^{14}C in the anionic fraction

	Mesophyll		Veins of 1st order of branching		Midrib	
	min 60	min 180	min 60	min 180	min 60	min 180
Sugar phosphate	80.3	62.2	87.6	77.5	100.0	100.0
Malic acid	16.8	31.0	12.4	22.5	—	—
Others	2.9	5.9	—	—	—	—

移行アミノ酸の中ではとくに serine が生成後早く移行すると判断されるが、その理由として、先に述べたようにそれらが光合成の初期に比較的多く生成されることと、葉肉から葉脈への段階で他の光合成産物にくらべてとくに移行しやすいということが考えられる。

この葉肉から葉脈への選択的移行については今後明らかにすべき問題である。

摘 要

黄色種タバコの葉から移行する光合成産物の組成を明らかにするため、葉肉の一部に $^{14}\text{CO}_2$ を供与し、 $^{14}\text{CO}_2$ 供与後 180 分以内における一次支脈および主脈中の ^{14}C 分布を調べた。

得られた結果は次のとおりである。

1) 一次支脈および主脈の全 ^{14}C の 70% が sucrose に存在し、glucose, fructose への ^{14}C 分布はごくわずかであつた。このことから、黄色種タバコでは sucrose が主な移行物質であると判断される。

2) 一次支脈および主脈中における塩基性部の ^{14}C は、 $^{14}\text{CO}_2$ 同化後 30 分、60 分において、とくに serine に多く認められた。以後、時間の経過とともに ^{14}C -serine は減少し、aspartic acid, glutamic acid, glutamine, そして γ -aminobutyric acid への ^{14}C とりこみが増大した。

3) ^{14}C -malic acid は葉肉および一次支脈では認められたが主脈中では認められなかつた。

4) 一次支脈および主脈中の ^{14}C 分布を比較すると、一次支脈では 80% エタノール不溶部への ^{14}C とりこみが多く、 ^{14}C -sucrose の分解もさかんである。

これらの事実から、一次支脈に移行した光合成産物は主脈中の光合成産物にくらべて、組織形成により活発に利用されていると判断される。

本論文作成にあたり、当研究所第九部長、野口正雄博士に有益な助言と批判をいただいた。ここに記して深く感謝の意を表する。

引用文献

1. BURLEY, W.A. 1961. Carbohydrate translocation in raspberry and soybean. *Plant Physiol.* **36** : 820—824.
2. CLAUS, H., D.C. MORTIMER and P.R. GORHAM 1964. Time course study of translocation of products of photosynthesis in soybean plants. *Plant Physiol.* **39** : 269—273.
3. GEIGER, D.R. and C.A. SWANSON 1965. Suc-

rose translocation in the sugar beet. *Plant Physiol.* **40** : 685—690.

4. JOY, K.M. 1963. Translocation in sugar beet. (I) Assimilation of $^{14}\text{CO}_2$ and distribution of material from leaves. *Jour. Exp. Bot.* **15** : 485—494.
5. MOKRONOSOV, A.T. and N.B. BUBENSHCHIKOVA 1962. Translocation of assimilates in potato plants. *Soviet Plant Physiol.* **8** : 447—454.
6. NELSON, C.D., H. CLAUS, D.C. MORTIMER, and P.R. GORHAM 1961. Selective translocation of products of photosynthesis in soybean plants. *Plant Physiol.* **36** : 581—588.
7. PEEL, A. and P.E. WEATHERLEY 1959. Composition of sieve-tube sap. *Nature* **184** : 1955—1956.
8. SWANSON, C.A. and E.D.H. EL-SHISHINY 1958. Translocation of sugars in the concord grape. *Plant Physiol.* **33** : 33—37.
9. SHIROYA, M., G.R. LISTER, C.D. NELSON, and G. KROTOV 1961. Translocation of ^{14}C in tobacco at different stage of development following assimilation of $^{14}\text{CO}_2$ by a single leaf. *Can. Jour. Bot.* **39** : 855—864.
10. VAN SLYKE, D.D., J. PLAZIN and J.R. WEISIGER 1951. Reagents for the Van Slyke-Folch wet carbon combustion. *J. Biol. Chem.* **191** : 299—304.
11. VERNON, L.P. and S. ARONOFF. 1952. Metabolism of soybean leaves IV. Translocation from soybean leaves. *Arch. Biochem. Biophys.* **36** : 383—398.
12. WEBB, J.A. and P.R. GORHAM 1964. Translocation of photosynthetically assimilated ^{14}C in straight-necked squash. *Plant Physiol.* **39** : 663—672.
13. YAMAMOTO, T. 1967. The distribution pattern of carbon-14 assimilated by a single leaf in tobacco plant. *Plant & Cell Physiol.* **8** : 353—362.
14. 山本友英・関口節子・大関和彦 1969. 黄色種タバコにおける光合成産物の葉肉から主脈への移行について (I) ^{14}C 移行におよぼす sink の影響. *日作紀* **38**.
15. YOSHIDA, D. and A. HIRATO 1968. Transloca-

- tion of serine from leaves to roots in tobacco plants. *Soil Sci. Plant Nutri.* **14**: 183—189.
16. ZIMMETMAN, M.H. 1957. Translocation of organic substances in trees (I) The nature of the sugars in the sieve tube exudate of trees. *Plant Physiol.* **32**: 288—291.
17. ZIMMERMAN, M.H. 1958. Translocation of organic substances in trees. (III) The removal of sugars from the sieve tubes in the white ash (*Fraxinus Americana* L.) *Plant Physiol.* **33**: 213—217.

The Translocation of Photosynthetic Products from Mesophyll into Midrib in Flue-cured Tobacco Plant

II The distribution of translocated- ^{14}C among various compounds in the veins of 1st order of branching and the midrib

Setsuko SEKIGUCHI, Tomohide YAMAMOTO and Kazuhiko ÔZEKI

(Central Research Institute, Japan Monopoly Corporation,
Nishishinagawa Shinagawa-ku, Tokyo)

Summary

To investigate the composition of photosynthetic products translocated from the leaf of flue-cured tobacco plant, $^{14}\text{CO}_2$ was supplied to a part of mesophyll, and the distribution of ^{14}C among various compounds in the veins of 1st order of branching and the midrib was traced during the period of 180 minutes after $^{14}\text{CO}_2$ feeding.

Results obtained were summarized as follows:

- 1) In the veins of 1st order of branching and the midrib, about 70% of the total ^{14}C was found in sucrose, and a little amount of ^{14}C in glucose and fructose. Therefore, it was concluded that sucrose was the main transport substance in flue-cured tobacco plant.
- 2) The assay of ^{14}C -components of cationic fraction in the veins of 1st order of branching and the midrib showed that most of ^{14}C in fraction was incorporated into serine at the time of 30 and 60 minutes after $^{14}\text{CO}_2$ feeding, thereafter, ^{14}C -serine decreased. On the contrary, the radioactivities in aspartic acid, glutamic acid, glutamine, and γ -aminobutyric acid increased with time.
- 3) Radioactive malic acid was found in the mesophyll and the veins of 1st order of branching, but not in the midrib,
- 4) In the veins of 1st order of branching, the incorporation of ^{14}C into the insoluble fraction and the hydrolysis of the translocated ^{14}C -sucrose were found to be more profound than those in the midrib. From these facts, it was inferred that the ^{14}C translocated into the veins of 1st order of branching was more actively utilized for formation of the tissue, comparing with the ^{14}C in the midrib.