水 稻 の 登 熟 に 及 ぼ す 粃 殻 の 役 割

第 8 報 粃殻におけるでんぶんの蓄積およびリグニンの形成と
それらに関連する 2, 3 の酵素活性について

徐 錫 元・太 田 保 夫

(農林水産省農業技術研究所)

昭和 57 年 7 月 31 日受理

著者らは、不稔粃では粃殻の乾物重が、登熟期間中ほとんど増加しないこと、一方稔実粃ではいったん受精すると米粒の発達に先行してその重量が急速に増大すること^{8,9)}を報告した。さらに出穂期に同化させた¹⁴C が登熟期間中どのように転流していくかを、不稔粃と稔実粃とについて追跡し、不稔粃では粃殻への¹⁴C の移行はきわめて少ないが、稔実粃の粃殻では受精後¹⁴C の著しい集積が急速に進行し、登熟中期以後集積した¹⁴C が米粒に転流移行し粃殻から消失することを明らかにした¹¹⁾。また浪岡ら⁷⁾は、稔実粃と不稔粃の粃殻ヨード・ヨードカリ反応によって、稔実粃の粃殻には登熟初・中期にヨード・ヨードカリ反応がみられ、粃殻にでんぶんが集積すること、一方不稔粃ではこの反応が認められないことを明らかにしている。

以上のように、登熟期間中不稔粃と稔実粃とでは炭水化物の動態に差異がみとめられる。本報においては、不稔粃と稔実粃の粃殻におけるでんぶんの蓄積およびリグニンの形成に注目し、これらの消長に関連する 2, 3 の酵素活性について検討を行った。

実験材料および方法

第 1 実験

日本晴と日印交雑品種の密陽 23 号を供試し、1981 年 6 月 10 日に土をつめた 1/5,000 a ワグネルポットに、1 ポット当たり、催芽種子 20 粒を円形播きし、2 週間ガラス室内で均一に畑状態で生育させた後戸外に移した。施肥およびその他の耕種法は前報⁹⁾に準じて行った。実験材料としては、すべて 1 次枝梗上の穎花を用い、出穂期には開花前日の粃を出穂後 9, 18, 35 日目には稔実粃と不稔粃をおのおの採取し、70% アルコールで固定した後、米粒を取り除き粃殻のでんぶん蓄積およびリグニン形成を定性的に観察した。でんぶンは、ヨード・ヨードカリ反応⁵⁾またリグニンはフロログルジン反応¹⁾によった。

第 2 実験

コシヒカリを用い、第 1 実験と同様な方法で栽培し

た。実験材料としては、すべて 1 次枝梗上の穎花を用い、出穂期には開花前日の粃を、出穂後 7, 18, 30 日目には稔実粃と不稔粃をおのおの採取した。これらの粃殻を 1 粒ずつ手ですばやく取り、おのおの 30 粒分の粃殻を乳針中で 0.1 M トリスバッファー (pH=6.0) および少量の石英砂で磨砕し、20 分間遠心分離 (3,000 rpm/min) した。この上澄液を回収し全量を 25 ml として粗酵素液とした。

アミラーゼ活性は、相見ら²⁾の方法に準じて測定した試験管に 2.5% 可溶性でんぶん 4 ml, 酢酸緩衝液 (pH=5.2, 0.1 M), 蒸留水 1 ml 粗酵素液 1 ml を順次入れ、30 分間 30°C 下で酵素反応を行わせた。反応終了後、反応液 1 ml についての還元力を常法¹²⁾によって求めた。

フォスフォリラーゼ活性は、相見ら²⁾の方法を参考にして測定した。試験管に 0.1 M グルコース 1 磷酸 0.2 ml, 2% 可溶性でんぶん 0.2 ml, トリス緩衝液 (pH=6.2, 0.1 M) 0.2 ml, 粗酵素液 0.2 ml を順次加え、30 分間 30°C 下で酵素反応を行わせた。反応終了液、反応後 0.5 ml について、無機リンを Allen 法によって求めた。

実 験 結 果

第 1 実験

(1) でんぶんの蓄積

第 1 図に示したように、開花前日の粃殻にはヨード・ヨードカリ反応はみられなかった。その後も、浪岡ら⁷⁾が報告しているように、不稔粃では登熟期間中いずれの時期にもヨード・ヨードカリ反応がみられなかったが、稔実粃では出穂後 9, 18 日目の粃殻にヨード・ヨードカリ反応がみられでんぶんの蓄積が認められた。しかし出穂後 35 日目でこの反応はみられず、でんぶんが消失していることがわかった。

(2) リグニンの形成

第 2 図に示したように、開花前日の粃殻にはフロログルジン反応は認められずリグニン形成はみられな

Fig. 1. Changes in iodine-starch action of hulls after heading.

Note: Sampled at heading were those one day before flowering.

■: Stained black.

F: Hulls of fertile grains.

S: Hulls of sterile grains.

Table 1. Comparison of amylase activity of hulls between fertile and sterile grains during ripening.

Days after heading	Sterile	Fertile
0**	0.254	
7	0.254 (100)	0.215 (84.6)
18	0.259 (100)	0.240 (92.7)
30	0.259 (100)	0.257 (99.2)

The values in the table show the optical density at 500 nm after enzymatic action of definite enzyme solution.

** : Samples were those one day before flowering.

() : Index of fertile to sterile grains.

Table 2. Comparison of phospholylase activity of hulls between fertile and sterile grains during ripening.

Days after heading	Sterile	Fertile
0**	0.210	
7	0.248 (100)	0.317 (127.8)
18	0.166 (100)	0.282 (169.2)
30	0.138 (100)	0.260 (188.4)

The values in the table show the optical density at 660 nm after enzymatic action of definite enzyme solution.

** : Samples were those one day before flowering.

() : Index of fertile to sterile grains.

Fig. 2. Changes in phloroglucin action of hulls after heading.

Note: Samples at heading were those one day before flowering.

■: Stained red.

F: Hulls of fertile grains.

S: Hulls of sterile grains.

Table 3. Comparison of peroxidase activity of hulls between fertile and sterile grains during ripening.

Days after heading	Sterile	Fertile
0**	0.74	
7	0.90 (100)	1.84 (204.4)
18	0.78 (100)	1.90 (243.5)
30	0.82 (100)	2.20 (268.2)

The values in the table show the optical density at 430 nm after enzymatic action of definite enzyme solution.

** : Samples were those one day before flowering.

() : Index of fertile to sterile grains.

った。しかし、その後はでんぶんの場合と同様に籾の稃、不稃によってフロログルシン反応は全く異なり、稃実籾の籾殻ではフロログルシン反応はみられ、登熟の進行に伴ってその反応が強まり、籾殻にリグニン形成が促進されているのに対し、不稃籾の籾殻ではフロログルシン反応がほとんど認められず、リグニン形成が著しく抑制されていた。

第2実験

(1) アミラーゼ活性

第1表に示したように、登熟期間中の籾殻のアミラーゼ活性は、稃実籾と不稃籾で異なり、稃実籾の籾殻のアミラーゼ活性はつねに不稃籾のそれよりも低く、

その差異はとくに出穂後7日目の登熟初期に大きかった。

(2) フォスフォリラーゼ活性

第2表に示したように、アミラーゼ活性と反対に、不稔籾よりも稔実籾で籾殻のフォスフォリラーゼ活性はつねに高かった。また両者の活性は登熟の進行と共に増大する傾向を示した。

(3) パーオキシダーゼ活性

第3表に示したように、パーオキシダーゼ活性はフォスフォリラーゼ活性と同様に不稔籾よりも稔実籾でつねに高く、その差異も登熟の進行と共に増大する傾向であった。

考 察

第1図に示したとおり、籾殻におけるでんぶんの蓄積は、籾の稔・不稔によって異なるが、このことは浪岡ら⁷⁾の報告と全く一致している。この籾殻におけるでんぶんの蓄積と密接に関係する酵素として、でんぶんの生成に関与するフォスフォリラーゼおよびでんぶんの分解に関与するアミラーゼについて、不稔籾と稔実籾の籾殻のこれらの活性の比をみると、稔実籾の籾殻は不稔籾のそれよりも、でんぶんの生成に関与するフォスフォリラーゼ活性が高く、逆にでんぶんの分解に関与するアミラーゼ活性が低い。このことは、稔実籾の籾殻にでんぶんが蓄積することと関連してきわめて興味深い。また、登熟末期の出穂後35日目は稔実籾の籾殻もでんぶんが消失していたが、これは登熟後期においては、稔実籾の籾殻のでんぶんの分解に関与するアミラーゼ活性が不稔籾のそれとほとんどかわらないことと関連しているものと考えられる。

稔実籾の籾殻は不稔籾の籾殻に比べて物理的に強固である。その理由として、籾殻の表皮部における珪酸の集積^{10,12)}もあるが、さらに厚膜組織の木化すなわちリグニン形成が考えられる。本実験から明らかなように、開花前の籾殻はほとんど木化していない。しかし、開花後稔実籾の籾殻ではリグニンの形成が急速に進行するのに対し、不稔籾のそれにはほとんどみられなかった。このことは、出穂後、乾物重の増加が稔実籾の籾殻ではみられるが、不稔籾の籾殻ではみられないことと密接に関連しており、前者では受精直後から急激に転流移行¹¹⁾してくる炭水化物の一部を利用して厚膜組織でのリグニン形成が促進されるものと考えられる。このことはリグニン形成に関与するパーオキシダーゼ^{8,9)}活性が、受精直後急速に高まっていることから推定される。

以上の諸結果から、籾殻は炭水化物の中間プールと

しての役割をはたしていると同時に、そこでは米粒保護のためのその物理的強度を増大するための生化学反応も籾の受精が引き金となって引き起こされることが明確となった。

摘 要

登熟過程における、稔実籾と不稔籾の籾殻のでんぶんの蓄積およびリグニン形成の差異と、それらと密接に関連する2, 3の酵素活性を測定し、つぎの結果を得た。

1. 不稔籾の籾殻には、登熟期間中でんぶんの蓄積はみられなかったが、稔実籾では、登熟初、中期にでんぶんの蓄積がみられ、登熟後期には消失した。

2. 登熟期間中のリグニン形成は、不稔籾の籾殻にはほとんど認められなかったが、稔実籾の籾殻にはその形成が認められ、登熟と共に促進された。

3. 登熟期間中における籾殻のアミラーゼ活性は、不稔籾に比べて稔実籾で低かった。一方、フォスフォリラーゼ活性は、稔実籾の籾殻が不稔籾のそれよりも高かった。

4. 籾殻のパーオキシダーゼ活性は、稔実籾の籾殻が不稔籾のそれよりもはるかに高かった。

以上の諸結果から、籾殻の炭水化物の中間プールとしての役割とともに、米粒保護のための籾殻の物理的な強度の増大が受精によって引き起こされることがわかった。

謝辞 本研究は東京農業大学馬場 昶教授ならびに金木良三教授により実施する機会が与えられ、終始御指導と激励を頂いた。記して深謝する。

引 用 文 献

1. 相見霊三 1957. 組織化学的検査法. 戸刈義次ら編. 作物試験法. 農業技術協会, 東京. 227—258.
2. ———・村上 高 1964. イネの登熟機構に関する生理的研究(1). 種実におけるでんぶん生成と蓄積機構に関する細胞生理的研究. 農技研報 **D12**: 1—36.
3. HARKIN, J.M. and OBST, J.R. 1973. Lignification in trees: Indication of exclusive peroxidase participation. *Science* **180**: 296—298.
4. 樋口隆昌 1981. 二次代謝産物の合成. 植物生理学 3. 代謝 1. 朝倉書店, 東京. 213—237.
5. 松島省三・田中孝幸 1959. 水稻収量の成立原理とその応用に関する作物学的研究. **LV**. 不受精籾の早期鑑別法. 日作紀 **28**: 365—366.
6. 南出隆久 1980. 酵素活性. 中川昌一ら編. 園芸学実験・実習. 養賢堂, 東京. 201—206.

7. 浪岡 実・高館正男・佐藤尚雄・金沢俊光・中川宣興・小山田善三 1976. 水稻冷害の実際的研究. 第 47 報. 穎のヨード・ヨードカリ染色による稔, 不稔の判別. 日作東北支部会報 **18**: 31—32.
8. 徐 錫元・太田保夫 1981. 水稻の登熟に及ぼすアデノシン三リン酸の役割. 第 2 報 登熟温度の違いが籾殻と米粒のアデノシン三リン酸含量に及ぼす影響. 日作紀 **50**: 519—524.
9. ———— 1982. 水稻の登熟に及ぼす籾殻の役割. 第 1 報 登熟過程における籾殻の無機成分の動態. 日作紀 **51**: 97—104.
10. ———— 1982. ————
———. 第 3 報籾殻における珪素, リン, カリウムおよびカルシウムの局在性について. 日作紀 **51**: 349—353.
11. ———— 1982. ————
———. 第 6 報 炭水化物の稔実籾および不稔籾への移行について. 日作紀 **51**: 570—576.
12. 田村太郎 1980. 還元糖の定量法. 栽培植物分析測定法. 養賢堂, 東京. 280—288.
13. 吉田昌一 1965. 水稻体内におけるケイ素の存在様式と生理的意義に関する研究. 農技研報 **B15**: 1—58.

Role of the Hull in the Ripening of Rice Plant

VIII. Starch accumulation and lignin formation with relation to several enzyme activities in hulls

Seok Weon SEO and Yasuo OTA

(National Institute of Agricultural Sciences, Tsukuba, Ibaraki 305)

Summary

Starch accumulation and lignin formation with relation to several enzyme activities in hulls were studied with fertile and sterile grains during ripening.

1. Starch accumulation could not be observed in the hulls of sterile grains during ripening. However, in the hulls of fertile grains, that was observed at early and middle stage of ripening, although it disappeared thereafter.

2. Lignin formation could not be almost observed in the hulls of sterile grains during ripening, whereas it proceeded in the hulls of fertile grains with ripening.

3. In the hulls of fertile grains, the activity of amylase was lower and that of phospholylase was higher than in those of sterile grains during ripening period.

4. Peroxydase activity was much higher in the hulls of fertile than in those of sterile grains.

From these results, hulls might play several roles not only as a pool of mineral elements and carbohydrates as shown previously but also as the protector of kernels. The physical strength of hulls may increase through several biochemical progress which triggered by the fertilization as shown in this report.