

天狗巢病桐樹の酸化酵素について

徳重, 陽山
九州大学農学部植物病理学教室

<https://doi.org/10.15017/21354>

出版情報：九州大学農学部学藝雑誌. 15 (2), pp.145-150, 1955-03. 九州大学農学部
バージョン：
権利関係：

天狗巢病桐樹の酸化酵素について*

徳 重 陽 山

On the oxidase of paulownia affected
by witche's-broom

Yozan Tokushige

前 言

一般にウイルス病に感染した植物は健全植物に比して、酸化酵素の活性度が増大すると云われている。^{1, 2, 3, 11, 16-20} 桐樹天狗巢病はウイルス性疾病であり、^{21, 22} 罹病の桐樹組織中の酸化酵素と健全桐樹のそれとを比較した。即ち健病両桐樹組織中に含有されている酸化酵素が、各種基質に対して示す活性度の差異、健全桐樹及び罹病桐樹の葉部、莖部、根部に於ける酸化酵素の活性度の差異、健葉及び病葉の各時期に於ける酸化酵素の活性度変化等について測定を行つた。

本実験の目的は以上の測定結果より、罹病組織の搾汁液が急速且つ濃色に褐変する原因、及び病葉の呼吸昂進と酸化酵素の関係、更に健病桐樹の検定判別の可能性について知見を得ようとしたものである。

1. 健葉及び病葉中の酸化酵素が種々の基質に対して示す活性度

i. 実験方法及び試料の調製

酵素液に下記の如き基質を加え、吸収する酸素の量を Warburg 検圧計により測定した。全実験を通じて測定条件は恒温槽の温度 30°C, 振盪回数毎分 120 回, 振幅約 3 cm であり、測定時間は 10 分間毎 30 分迄測定し、後に 1 時間の測定値に還算した。酵素液として健病葉の搾汁液を使用し、搾汁液は次の如く調製した。生葉 10 g を秤量し、細切して少量の石英砂と 20 cc の磷酸緩衝液 (M/10 pH 7.2) を加え、乳鉢にて摩砕し、更に 70 cc の磷酸緩衝液を加え 10 分間静置し、粗布で濾過し、濾液を 100 cc となし、これを酵素液とした。基質として、カテコール (M/40)、レゾルシン (M/40)、ヒドロキノン (M/40)、ピロガロール (M/40)、アスコルビン酸 (4 mg/1cc)、蔞酸 (M/40)、の 6 種類を調整し、実験に供した。

以上の酵素液及び基質を次の如く検圧計の容器内にビベットによつて分注した。即ち主室に酵素液 2 cc を入れ (ただし、アスコルビン酸酸化酵素測定の場合は、酵素液 2 cc にゲラチン 1 cc を加える)、測室に基質 0.5 cc を入れ、副室に 5% の苛性曹達 0.5 cc を入れて行つた。

* 九州大学農学部植物病理学研究室業績。

† 本研究にあたり種々御教示を賜つた吉井教授、佐藤教授、木場助教授に謝意を表す。

ii. 実 験 結 果

Table 1. Oxidase activities of the healthy and the diseased leaves of paulownia tree against several substrates, presented by the relative numbers.

Substrates	Hydrochinon	Catechol	Resorsin	Pyrogallol	Ascorbic acid	Oxalic acid
Diseased leaves (%)	100	2,617	0.0	1,804	271	0.0
Healthy leaves (%)	100	2,634	0.0	1,745	245	0.0

二価のフェノールであるカテコール、レゾルシン、ハイドロキノンに対して、桐葉中の酸化酵素はカテコールを最も強く酸化し（ポリフェノールオキシダーゼ）、ハイドロキノンを可なり酸化し（ラッカーゼ）、レゾルシンに対しては作用しないようである。従つて、メタの位置に OH を有するフェノールには不活性であり、オルソ又はバラの位置に OH を有するフェノール類に対して活性を有するものと思われる。更に、このことは三価のフェノール類であるピロガロールに対する本酵素液の活性度からしても知ることが出来る。尙、酵素液中にはアスコルビン酸を可なりよく酸化する酵素の存在が認められるが、蓚酸酸化酵素は含まれていないようである。要するに樹の葉組織搾汁液中には、ポリフェノール作用、ラッカーゼ作用、アスコルビン酸酸化作用を有する酸化酵素の存在が予見出来るが、ポリフェノール酸化酵素の存在は確定的である。以上の結果を総合すれば、健葉及び病葉中の酸化酵素の作用は同一傾向を有しており、此の点に関する健病間の質的差異は認められない。

2. 健全桐及び病桐の葉部、莖部、根部に於ける酸化酵素作用

i. 実験方法及び試料の調製

測定方法及び測定条件は前記と同様である。基質は M/40 のハイドロキノンを使用し、酵素液を調製する材料は葉、莖、根であり、調製方法は前記の通りである。材料の採集規準は頂葉から第 4 葉まで摘葉し、その中から生重 10 g を秤量し、莖は頂芽より下に 10 g を秤量し、根は直径 2 cm 程度の根を採集し、10 g を秤量して供試材料とした。

ii. 実 験 結 果

葉部、莖部、根部、の各部分について、健病両桐樹の酸化酵素活性度を比較すれば、病葉は健葉より 20% 強く、莖部に於ては殆んど両者間に差がなく、病根は健根より 40% 強い結果を示した。

健病両桐樹の酸化酵素は共に各部分に於て非常に活性度に差異があり、今健葉の酸化酵素活性度を 100% とすれば、莖は約 13% であり、根は約 3% である。罹病桐樹の葉部に於ける酸化酵素活性度を 100% とすれば莖は約 10%、根は約 4% である。此の点に於て健病両桐樹の傾向は似ている。

Table 2. Comparison of oxidase activities of leaves, shoots, and roots of the healthy and the diseased tree.

	Leaves		Shoots		Roots	
	Healthy	Diseased	Healthy	Diseased	Healthy	Diseased
	mm ³	mm ³	mm ³	mm ³	mm ³	mm ³
1	2,524	2,864	322	339	89	119
2	2,448	2,968	304	304	81	116
3	2,320	2,874	292	307	89	119
4	2,490	2,968	343	326	91	124
5	2,436	3,086	330	343	77	120
Mean	2,443	2,952	318	324	85	119

mm³ : mm³ of oxygen consumed per g. of raw material.

3. 各時期に於ける健葉及び病葉の酸化酵素活性度の変化

実験方法、試料の調製、材料の採集規準は前記の通りであり、基質としては M/40 のハイドロキノンを使用した。

Table 3. Seasonal changes of oxidase activity of the healthy leaves.

	July	August	September	October
	mm ³	mm ³	mm ³	mm ³
1	1,762	2,492	2,034	2,524
2	1,752	2,242	2,038	2,448
3	1,598	2,224	2,028	2,320
4	1,682	2,178	1,946	2,490
5	2,014	2,220	2,092	2,436
Mean	1,704	2,213	2,027	2,443

Table 4. Seasonal changes of oxidase activity of the diseased leaves.

	July	August	September	October
	mm ³	mm ³	mm ³	mm ³
1	2,204	3,270	2,814	2,864
2	2,242	2,950	2,788	2,968
3	2,224	3,346	3,034	2,374
4	2,178	3,242	2,744	2,968
5	2,220	3,448	2,874	3,086
Mean	2,213	3,251	2,850	2,952

以上の結果に於て、健葉を 100% とした場合、病葉は 7 月では 129%、8 月では 138%、9 月では 140%、10 月では 120% となり、病葉の酸化酵素は何れも 20~40% 健葉よりも増大していることが認められる。尚、健病両葉中の酸化酵素は時期的に、第 1 図に示す如く変化し、両者の最低は 7 月であるが、最高は病葉では 8 月、健葉では 10 月となっている。

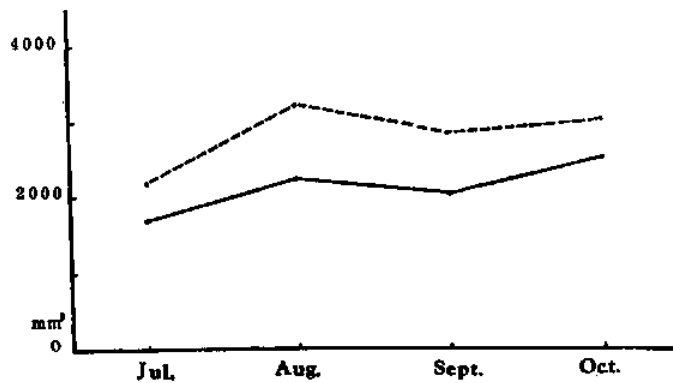


Fig. 1. Seasonal changes of the oxidase activity of the healthy and the diseased leaves.

考 察

桐樹組織中には鞣酸を酸化する酵素を含んでいないようである。従つて、桐樹葉柄中に多量に見出される鞣酸石灰の結晶は結局、代謝生理の最終産物として、生成されるものであろう。

酵素液として、桐樹組織の搾汁を供試材料としたのであるが、この搾汁液は、ポリフェノール酸化酵素作用、ラッカーゼ作用、アスコルビン酸酸化酵素作用を有することを示している。然しこの三つの作用に相当する固有の酵素が三種類供試液中に既存するものであるか何うかは、疑問なのであるが、兎に角オルソの位置に OH 基を有する多価フェノール類を非常に強力に酸化させるポリフェノール酸化酵素の存在は確実であろう。従つて本酵素は桐葉中に含まれているクロロゲン酸²⁶⁾を非常に活発に酸化するものと期待される。即ち桐の呼吸に於て末端酸化酵素として、馬鈴薯^{2,3,14)}及びほうれん草²⁷⁾と同様にポリフェノール酸化酵素が一部の役割を果しているものとすれば、罹病葉の呼吸増加の^{25,24,23)}一原因として、ポリフェノール酸化酵素の増加を挙げることが出来る筈である。

バイラス病に罹病した桜及び桃は、その各部分の組織搾汁液が健全な桜及び桃に比較して、濃褐色に変化すると Lindner^{10,11,12,13)}は報告している。桐樹に於ても同様に、葉組織の搾汁液は室内に放置すれば、病搾汁液は健搾汁液に比較して、急速且つ濃褐色に変化する。汁液の褐変現象はフェノール様物質によつて起るものと考えられるが、健病搾汁の褐変度の差異について説明する為には、解決しなければならぬ三つの問題が存在する。即ち其の一は搾汁液に含まれている褐変物質(フェノール様物質)の量の問題であり、其の二はフェノール様物質を酸化する酸化酵素の活性度の問題であり、其の三はフェノール様物質の自動酸化に関係する搾汁液の pH の問題である。然しながら搾汁液の pH の問題は両者間に殆んど差異がないようであるから、フェノール様物質の絶対量と、ポリフェノール酸化酵素の活性度の二つに帰することが出来る。本実験に於いて、病汁液のポリフェノール酸化酵素の活性度は 20~40% 程度大である。従つて病汁液の濃厚褐変に対する作用因子の一つとして、ポリフェノール酸化酵素の活性度増大を挙げることが出来る。然し勿論

作用基質であるフェノール様物質の量的差異が明らかにされた後で、改めて論じらるべき問題であろう。

尙、根部に於ける酸化酵素の活性度は、莖部、葉部に比較して低いけれども、健根及び病根の酸化酵素の活性度に相当の差異が認められるから、桐樹栽培に於ける、種根の健病検定に利用出来るのではなかろうかと思われる。

天狗巣病桐樹に於ける、酸化酵素の増加はウイルス蛋白増殖によつて攪乱された体内代謝生理の結果に基くものであろうと解したい。

摘 要

本実験の目的は、天狗巣病に罹病した桐樹及び健全な桐樹中に含有されている酸化酵素について、その性質、分布、時期的変化を測定し、罹病桐樹の異状代謝生理を究明しようとしたものである。実験方法は各基質と酵素液によつて消費される酸素の量を、Warburg 検圧計によつて測定した。実験結果は次の通りである。

1. 健病両葉の搾汁に含有されている酸化酵素は、レゾルシン、蔞酸には作用せず、ハイドロキノン及びアスコルビン酸を可なりよく酸化し、カテコールに対しては、ハイドロキノンの 26 倍、ピロガロールに対しては、ハイドロキノンの 17 倍程度酸化した。此の各種基質に対する酸化傾向は健病葉同一であつた。

2. 桐樹の葉部、莖部、根部、に於ける酸化酵素は、葉部が最大で莖部はその約 10%、根部は約 4% 程度で、此れは健病桐とも同一傾向であつた。然し各部分に於ける、健病両者の比較は病組織が大で、葉部では病葉が 20% 大で、莖部では両者に差がなく、根部では病根が 40% 大であつた。

3. 健病葉について、各月に測定した酸化酵素の活性度比較は、何れも病葉が大で、7 月 29% 大、8 月 38% 大、9 月 40% 大、10 月 20% 大となつている。

病葉中に於ける酸化酵素活性度の増加と云う今回の実験結果と、既報の病葉の呼吸量増加と云う実験結果より、ポリフェノール酸化酵素が桐樹の末端呼吸酵素として、一部の役割を演じているものではあるまいかと考察される。尙、罹病葉搾汁液が、健全葉搾汁液に比較して、急速に褐変する現象は褐変物質であるフェノール様物質を酸化するポリフェノール酸化酵素の活性度が病葉に於て高いことが、一つの原因であらうと考えられる。

引用文献

- (1) 麻生慶次郎：調査報告，農商務省農局，6，419～459 (1902)。
- (2) Baker, D., and J. M., Nelson : *e. Gen. Physiol.*, 28, 269 (1943)。
- (3) Boswell, J. G., and G. C., Whiting, : *Ann. Botany. New. Series*, 2, 847 (1938)。
- (4) Bunzel, H. H., : *U. S. Dept. Agr. Bur. Pl. Ind. Bull.*, 227, 1～28 (1913)。
- (5) Chapman, G. H., : *Mass. Agr. Exp. Sta. 25th Ann. Rept. Part 2*, 41～51 (1913)。
- (6) — : *Mass. Agr. Exp. Sta. Bull.*, 175, 73～117 (1917)。
- (7) 大工原銀太郎：東京化学会誌，25，215～253 (1904)。
- (8) Doby, G., : *Zeitschr. Pflanzenkr.*, 21, 10～17, 321～336 (1911)。
- (9) 猪狩源三：札幌農林学会報，17，366～372 (1925)。
- (10) Lindner, R. C., : *Science* 107, 17～19 (1948)。
- (11) —, T. E. Weeks, and H. C. Kirkpatrick, : *Phytopath.*, 39, 1059～1060 (1949)。
- (12) —, —, and —, : *Science*, 112, 119～120 (1950)。

- (13) —, —, and —, : *Phytopath.*, 41, 897~902 (1951).
 (14) 奥田 謙, 片井喜太郎: 日本農芸化学会誌, 14, 1270~1394.
 (15) Robinson, E. S., and J. M., Nelson : *Arch. Biochem.*, 4, 111~ (1944).
 (16) Rouzinoﬀ, P. G. : *Morbi Plantarum Leningrad*, 19, 148~159 (1930).
 (17) 柴田桂太: 植物学雑誌, 17, 157~164 (1903).
 (18) Sorauer, P., *Intern. Phytop. Dienst*, 1, 33~59 (1908).
 (19) 鈴木梅太郎: 東京化学会誌, 23, 840~870 (1902).
 (20) 鈴木梅太郎: 東京化学会誌, 23, 840~870 (1902).
 (21) 徳重陽山, 吉井 甫, 佐藤敬二: 日本林学会九州支部, 第1回研究抄録, 89~91 (1950).
 (22) Tokushige, Y. : *Jour. Facult. Agr. Kyushu Univ.*, 10, 45~67 (1951).
 (23) 徳重陽山: 九州大学演習林報告, 19, 71~82 (1951).
 (24) 徳重陽山: 九州大学農学部学芸雑誌, 12, 309~314 (1952).
 (25) —: —, 12, 315~319 (1952).
 (26) —: — (未発表論文).
 (27) Wildman, S. G., and J. Bonner, : *Arch. Biochem.*, 14, 381~ (1947).

Résumé

The purpose of this study is to compare the oxidase activity of the healthy paulownia tree with that of the diseased tree affected by wicthe's-broom, and to find some explanations on the abnormal metabolism of the disease tree. The oxidase activity was determined by the Warburg micro-manometric method. The results are as follows:

- 1) The enzyme solution from paulownia leaf is not responsible for the oxidation of resorsin and oxalic acid but is fairly capable of catalyzing the oxidation of hydrochinon and ascorbic acid; and it is able to oxidize pyrogallol seventeen times and catechol twenty six times stronger than to oxidize hydrochinon. The oxidases of the diseased and the healthy leaves show the same tendency against those substrates.
- 2) Among the oxidase activities of leaves, shoots, ad roots, it is found that the strongest is that of leaves. The oxidase activity of shoots is about ten per cent of that of leaves, and that of roots is about four per cent. These tendencies are the same both in the case of the healthy and the diseased leaves. The oxidase activity of the diseased leaves is twenty per cent greater than that of the healthy ones. The oxidase activity of the diseased shoots is scarcely different from the healthy ones. The oxidase activity of the diseased roots is forty per cent greater than that of the healthy.
- 3) Observations of the seasonal changes of oxidase activity show that it is greater in the diseased leaves than in the healthy ones at the rate of 29% in July, 38% in August, 40% in September and 20% in October.

The increase of polyphenol oxidase activity and respiration in the diseased leaves, indicate that the polyphenol oxidase may play a part of the respiration as a terminal oxidase of paulownia tree. It may be partly explained by the increase of polyphenol oxidase activity in the diseased leaves that the sap of the diseased leaves changes to brown more quickly than that of the healthy one.

Laboratory of Plant Pathology,
 Faculty of Agriculture,
 Kyushu University