

コムギの登熟期における酸可溶性ヌクレオチドの体内分布と、開花初期の穂切除の影響

誌名	日本作物學會紀事
ISSN	00111848
著者名	村上,高
発行元	日本作物學會
巻/号	39巻4号
掲載ページ	p. 409-417
発行年月	1970年12月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



コムギの登熟期における酸可溶性ヌクレオチドの 体内分布と、開花初期の穂切除の影響*

村 上 高
(農林省農業技術研究所)

著者は前報でイネの地上部の酸可溶性ヌクレオチドの種類と開花初期の穂切除処理がヌクレオチド・プールにおよぼす影響について報告した^{7,8)}。

イネとコムギでは登熟の様式が異なる。イネは登熟が進んでも、その茎葉部は緑色を保ち、穂が完熟した後に残る。これに反して、コムギは登熟期の茎葉部の枯れ上りは早く、穂が完熟する前に枯れてしまう。イネとコムギのこの違いが、ヌクレオチド・プールに反映されるかどうかを検討するために、コムギについてイネと類似の実験を行なった。その結果、コムギの登熟期には、稈葉部における酸可溶性ヌクレオチドの減少がイネよりも著しいことがわかった。また、穂切除によつて、コムギもイネと同様にアデノシン・ヌクレオチドが蓄積されたが、イネにみられたアデノシンニリン酸-糖化合物は検出できなかった。さらに、コムギの場合には、ウリジン・ヌクレオチドの減少が著しいことがわかった。これらの結果を報告する。

実験材料および方法

(1) 実験材料

コムギ農林 61 号を供試した。東京・北区西ヶ原の農技研圃場で普通栽培したものである。1969 年 5 月 21 日、出穂後 1 ヶ月の材料を採取し秤量後ディープフリーザーに保存しておき供試した。

無処理区：上記材料を穂部と穂部以外の地上部全体にわけて供試した。穂部とは、穂から穂軸を取り除いた部分をいう。穂 78 本分から得た穂部 150 g (生体重) をヌクレオチドの抽出に用いた。穂部以外の地上部全体には穂軸も含んでおり、この部分を稈葉部と呼ぶ。生体重 150 g (47 本分) からヌクレオチドを抽出した。

処理区：開花初期に圃場において所定の株は穂を完全に切除した(4 月 25 日)。その後、そのまま無処理区と共に同じ圃場におき、5 月 21 日、材料を採取した。生体重 150 g (47 本分) からヌクレオチドを抽出した。

* 昭和 45 年 6 月 9 日受理

大要は第 149 回講演会(昭和 45 年 4 月)において発表

出した。

(2) ヌクレオチドの抽出

酸可溶性ヌクレオチドの抽出は前報⁷⁾に従つて行なつた、その大要を示すと次の通りである。抽出および溶出の操作はすべて 0~3°C の室で行なつた。まず材料を 2~3 cm に切断してミキサーに入れ、0.6 N 冷過塩素酸を生体重の 6 倍(穂部)、11 倍(稈葉部)、10 倍(穂切除をした稈葉部)量(w/v)それぞれ加え

Table 1. Extraction of acid soluble nucleotides from ripening wheat plants.

Step	Total A ₂₆₀ /75 g fresh weight		
	(a)*	(b)**	(c)***
Perchloric acid extract	3,161.4	6,853.5	6,086.0
× (A ₂₆₀ -A ₃₁₀)	(1,095.6)	(2,101.8)	(1,766.9)
A part not adsorbed on Dowex-1	1,269.6	3,714.1	3,363.9
A part adsorbed on Dowex-1	1,891.8	3,139.4	2,722.1
Recovered in effluents of chromatography	768.2	863.1	752.2

* (a) : Grains.

** (b) : Leaves and culms.

*** (c) : Leaves and culms from the plant whose ears were cut off at the early flowering stage.

Materials used: wheat (var Nōrin No. 61)
Samplings were made at one month after heading.

てよく摩砕する。木綿布でこしてから冷却遠心機にかけ(3000 G, 20 分間)、その上澄をヌッチェで汚過してから、10 N の水酸化カリで pH 6.8 に中和し、-10°C にした。凍結直前に冷却遠心分離(3000 G, 20分間)を行ないさらにヌッチェで汚過する。次にロータリーエバポレーターを用いて減圧濃縮→低温→遠心分離を 2 回繰り返す。最後に 50~70 ml になつたところで pH を 6.8~6.9 に調整して約 10,000 G, 20 分間冷却遠心分離して、この上澄の全ヌクレオチドを概算で求める。

ヌクレオチド量 $A = (A_{260m\mu} - A_{310m\mu}) \times \text{全量}$
但し、A : 吸光度

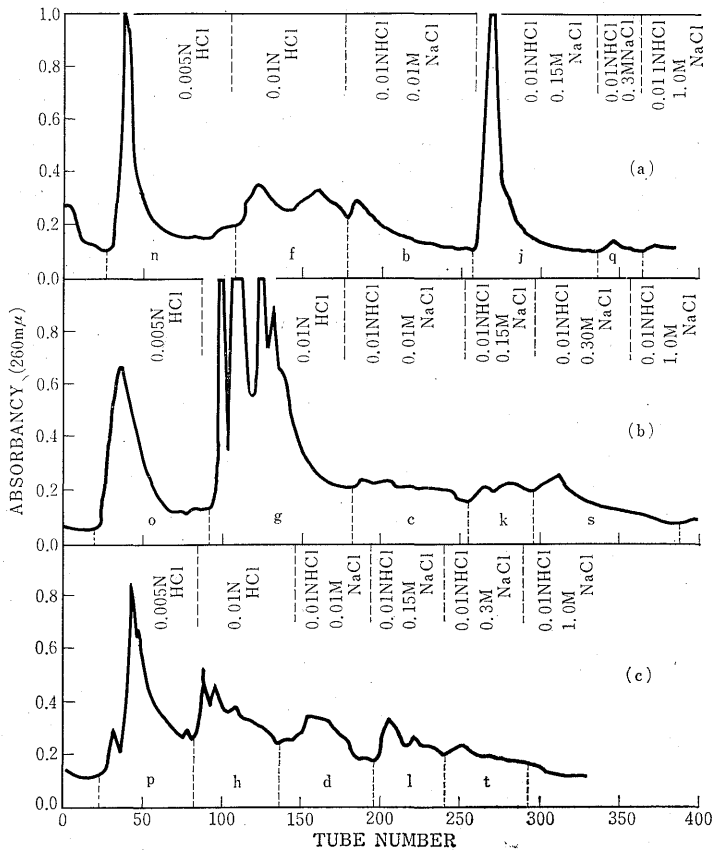


Fig. 1. Anion-exchange chromatograms of acid soluble nucleotides extracted from 75 g of wheat plants. The nucleotides were fractionated on Dowex 1 X-8 column (1.2×20 cm, chloride form) in a HCl-NaCl system, and the eluates were collected in 10-ml portions. Materials shown in table 1.

Fractions corresponding to the portions divided by dotted line were combined and analyzed for identification of nucleotides. The small letters shown in these fractions are temporal names of samples.

3試料ともそれぞれ生体重150gから抽出し濃縮して、その1/2量、すなわち75g分をカラムにチャージした。

(3) 陰イオン交換カラムクロマトグラフィー

カラムは、陰イオン交換樹脂、Dowex 1 X8, Cl型、200~400メッシュを、直径12mm、高さ20cmに調製した。カラムからの溶出は、塩酸-食塩系溶媒で段階的に濃度を高めて溶出し、溶出液は10mlずつを分画採取した。

各作業段階におけるおのおの試料の全吸光度を第1表に示した。この表から明らかのように、穂部は抽

出液の $A_{260m\mu}$ が最も少ない。稈葉部は全Aは高いがカラムに吸着されない部分が非常に多く、溶出画分は3試料とも大差がなかった。従つて稈葉部からの抽出液中には多量にヌクレオチド以外の紫外外部吸収物質が混在していることがわかる。

(4) 溶出液の吸光度の測定

ヌクレオチドの溶出は、260 m μ における溶出液の吸光度の変化を、日立分光光度計 EPU 2 A型を使用して追跡した。すなわち、各分画の $A_{260m\mu}$ を測定し、ヌクレオチドの溶出曲線として示した。また、得られた各ピークの頂点分画の紫外外部吸収スペクトルや、濃縮精製した物質の紫外外部吸収スペクトルを測定し、溶出された物質の光学的性質を知る手段とした。

(5) ペーパークロマトグラフィー (PC) による物質の分離と検出

得られた各分画を活性炭で濃縮し⁷⁾、その液をPCで分離した。PCは東洋沓紙 No. 50を使用し、下降法で行なつた¹²⁾。溶媒は次の3種類を

用いた。1) エタノール(95%)—1M酢酸アンモニウム、7.5:3¹⁰⁾、2) イソ酪酸—0.5Nアンモニア、10:6⁹⁾、3) *n*-ブタノール—酢酸—水、4:1:2¹¹⁾。

スポットの認定は、254 m μ の紫外線を照射して紫外外部吸収物質の位置を探知する方法を用いた。それぞれのスポットは切り抜いて水抽出し¹²⁾、再展開用または分析用として次の操作を行なつた。スポットの移動度は、ヌクレオチドではアデノシン・5'-リン酸(AMP)を、糖の場合はグルコースを同時に展開して R_f 値の基準とし、 R_{AMP} または $R_{glucose}$ として表わした。

(6) 得られた物質の光学的性質の測定

PC での紫外外部吸収物質のスポットを水抽出し、その液の一部を希釈して紫外外部吸収スペクトルを測定し、そのスポットの全 A_{260} $m\mu$, 最大および最小吸収波長 (λ_{max} , λ_{min}), 吸収比 ($250 m\mu/260 m\mu$, $280 m\mu/260 m\mu$, $290 m\mu/260 m\mu$) 等を算出し純品のそれと比較した。

(7) 全リン酸の定量

スポットから溶出された液の一部を全リン酸の定量に用いた。すなわち, Al-len の方法²⁾に従って過塩素酸による湿式灰化を行ない、アミドール、モリブデン酸塩液を加えて、720 $m\mu$ で比色定量し全リン酸とした²⁾。

(8) 糖の定性

ヌクレオチド糖化合物の糖の検出は、スポットから溶出された液の一部を加水分解 (20% 酢酸, 100°C, 10~15分) してから、3) の溶媒を用いて PC を行なつた。風乾後、次の方法で濾紙上に遊離した糖を検出した。すなわち ① 硝酸銀—アセトン試薬 (還元糖の発色)¹³⁾および ② レゾルシン反応 (ケトースの発色)⁴⁾を用いた。

また、二糖類の加水分解は、1 N 硫酸で 100°C, 4 時間行ない、炭酸バリウムで中和¹⁾後、濃縮して再び PC で展開した。発色は上述の ① と ② を用いた。

実験結果

コムギの冷過塩素酸抽出液をカラムクロマトグラフで分別し、塩酸食塩系溶媒で溶出した時のクロマトグラムを第1図に示した。図の (a) は穂軸を含まない穂の部分であり、(b) は穂以外の地上部全体 (穂軸を含む) で稈葉部と呼ぶ。(c) は開花初期に穂を切除しておいた植物体の地上部全体で、穂切除稈葉部 (処理区) と呼ぶ。何れも出穂後約1ヶ月の時期に供試した。

Table 2. Paper chromatographic movement of nucleotides extracted from wheat plants compared with authentic ones.

Part	Nucleotides extracted from wheat plants			Authentic nucleotides		
	Sample	PAMP values		Nucleotides	RAMP values	
		Solvent I*	Solvent II**		Solvent I*	Solvent II**
Grains	n 3	1.04	0.80	CMP	1.04	
	f 5	1.34	0.51	UMP	1.33	0.52
	f 3-3	0.77	0.33	ADPG***	0.71	0.33
	b 1	0.38	0.66	ADP	0.38	0.65
	j 4	0.85	0.24	UDPG***	0.86	0.22
	j 13-2	0.46	0.20	UDP	0.45	0.20
	j 13-3	0.22	0.43	ATP	0.16	0.43
	q 1-1	0.15	0.13	UTP		0.12
	q 3	0.87		GMP	0.85	
Leaves & culms	g 4-2	1.00	1.01	AMP	1.00	1.00
	c 1-1	0.34	0.72	ADP	0.34	0.72
Ear cut off-leaves & culms	p 3-1		1.01	AMP	1.00	1.00
	h 4-3	1.18		CMP	1.04	
	d 3-3	1.25		UMP	1.30	
	d 2-2	0.83	0.44	ADPG	0.74	0.25
	d 1-1	0.38	0.65	ADP	0.38	0.65
	l 4	0.79	0.22	UDPG	0.79	0.22
	l 3-1	0.41	0.21	UDP	0.45	0.21
	l 1-2	0.20	0.48	ATP	0.16	0.49

* 95% ethanol/1 M ammonium acetate (7.5 : 3). ** iso-butylic acid/0.5 N ammonia (10 : 6). *** ADPG: adenosine diphosphate glucose, UDPG: uridine diphosphate glucose.

Descending method was used.

穂部では、0.005 N HCl 分画と、0.01 N HCl, 0.15 M NaCl 分画で大きなピークを得たが、他の濃度の溶媒による分画ではあまり顕著なピークは見られなかつた。これに反して、稈葉部では 0.005 N HCl 分画と、次の 0.01 N HCl 分画で数個のピークを得た後は著しいピークは一つも得ることができなかつた。穂切除稈葉部では 0.005 N HCl と 0.01 N HCl の分画では、比較的稈葉部に類似した形のピークを得たが、その後はやや穂部のそれに近かつた。

これらの分画を、第1図の溶出曲線内に示した点線の位置でわけてそれぞれ合し、精製濃縮してその中に含まれるヌクレオチドの分析および同定を行なつた。濃縮した分画のそれぞれの単位には溶出順に便宜上次のように名を附した。穂部 : n, f, b, j, q. 稈葉部 : o, g, c, k, s. 穂切除稈葉部 : p, h, d, l, t.

濃縮試料を PC で展開し、得られた紫外外部吸収物質のうち、ヌクレオチドに関係あると思われるものを第2-4表に示した。第2表はそれぞれの試料の濾紙上の行動を対応する純品のそれと比較したものである。第

Table 3. Spectrophotometric data of the nucleotides extracted from wheat plants.

Parts	Sample	Solvent*	pH	λ_{max}	λ_{min}	250/260	280/260	290/260	Compound identified
Grains	n 3	1	2	270	243	0.849	0.971	0.687	CMP
			11	263	252	0.944	0.670	0.359	
	f 5	2	2	261	236	0.826	0.520	0.211	UMP
			11	263	240	0.830	0.569	0.245	
	f 3-3	2	2	256	233	0.857	0.268	0.088	ADPG
			11	259	235	0.820	0.223	0.067	
	b 1	3	2	257	235	0.923	0.372	0.205	ADP
			11	260	240	0.893	0.350	0.189	
	j 4	4	2	262	232	0.777	0.430	0.108	UDPG
			11	260	240	0.824	0.410	0.115	
	j 13-2	4	2	260	236	0.839	0.528	0.255	UDP
			11	260	240	0.881	0.490	0.209	
j 13-3	4	2	258	240	0.906	0.503	0.278	ATP	
		11	260	243	0.896	0.449	0.242		
q 1-1	5	2	260	240	0.893	0.483	0.213	UTP	
		11	258	245	0.946	0.506	0.256		
q 3	5	2	257	238	0.942	0.827	0.705	GMP?	
		11	253	236	1.021	0.764	0.588		
Leaves & culms	g 4-2	2	2	257	245	0.940	0.571	0.421	AMP
			11	257	247	0.983	0.532	0.450	
	c 1-1	3	2	257	237	0.923	0.372	0.191	ADP
11			260	240	0.901	0.316	0.170		
Ear cut off-leaves & culms	p 3-1	1	2	257	233	0.908	0.429	0.282	AMP
			11	259	240	0.949	0.402	0.286	
	h 4-3	2	2	275	238	0.682	1.345	0.784	CMP
			11	270	240	0.681	0.892	0.295	
	d 3-3	3	2	264	240	0.761	0.685	0.304	UMP
			11	266	242	0.732	0.809	0.367	
	d 2-2	3	2	255	235	1.000	0.644	0.433	?
			11	253	243	1.038	0.614	0.297	
	d 1-1	3	2	257	233	0.873	0.269	0.108	ADP
			11	260	235	0.835	0.239	0.092	
l 4	4	2	260	235	0.866	0.557	0.319	UDPG	
		11	260	242	0.928	0.561	0.331		
l 3-1	4	2	260	242	0.914	0.546	0.272	UDP	
		11	258	243	0.991	0.549	0.297		
l 1	4	2	257	234	0.895	0.516	0.338	ATP	
		11	259	236	0.913	0.496	0.299		

* Solvent

1. 0.005 N HCl
2. 0.01 N HCl
3. 0.01 N HCl+0.01 M NaCl
4. 0.01 N HCl+0.15 M NaCl
5. 0.01 N HCl+0.30 M NaCl

3表はPCで得られた紫外外部吸収物質のスポットから水抽出で得られた液の光学的性質を測定したものである。また第4表はヌクレオチド中の全リン酸の定量および弱加水分解後の還元糖の検出を行なった結果を示したものである。スポットのRAMP値、光学的性質、全リン酸および弱加水分解後の還元糖の検出等から、穂部にはシチジン一リン酸(CMP)、AMP、ウリジン一リン酸(UMP)、アデノシン二リン酸-グルコース(ADP-グルコース)、ADP、ウリジン二リン酸(UDP)、

UDP-グルコース、アデノシン三リン酸(ATP)、ウリジン三リン酸(UTP)およびグアノシン・ヌクレオチドの存在を確認した。しかし同時期の稈葉部にはAMPとADPを検出したにすぎない。一方、穂切除稈葉部では、CMP、AMP、UMP、ADP、ATP、UDP、UDP-グルコースの存在を確認した。これらの物質の紫外外部吸収スペクトルを第2図に示した。

第3図は、PCによつて穂部から得たスポット、j-4、b-2-2、f-3-2および穂切除稈葉部から得たスポット

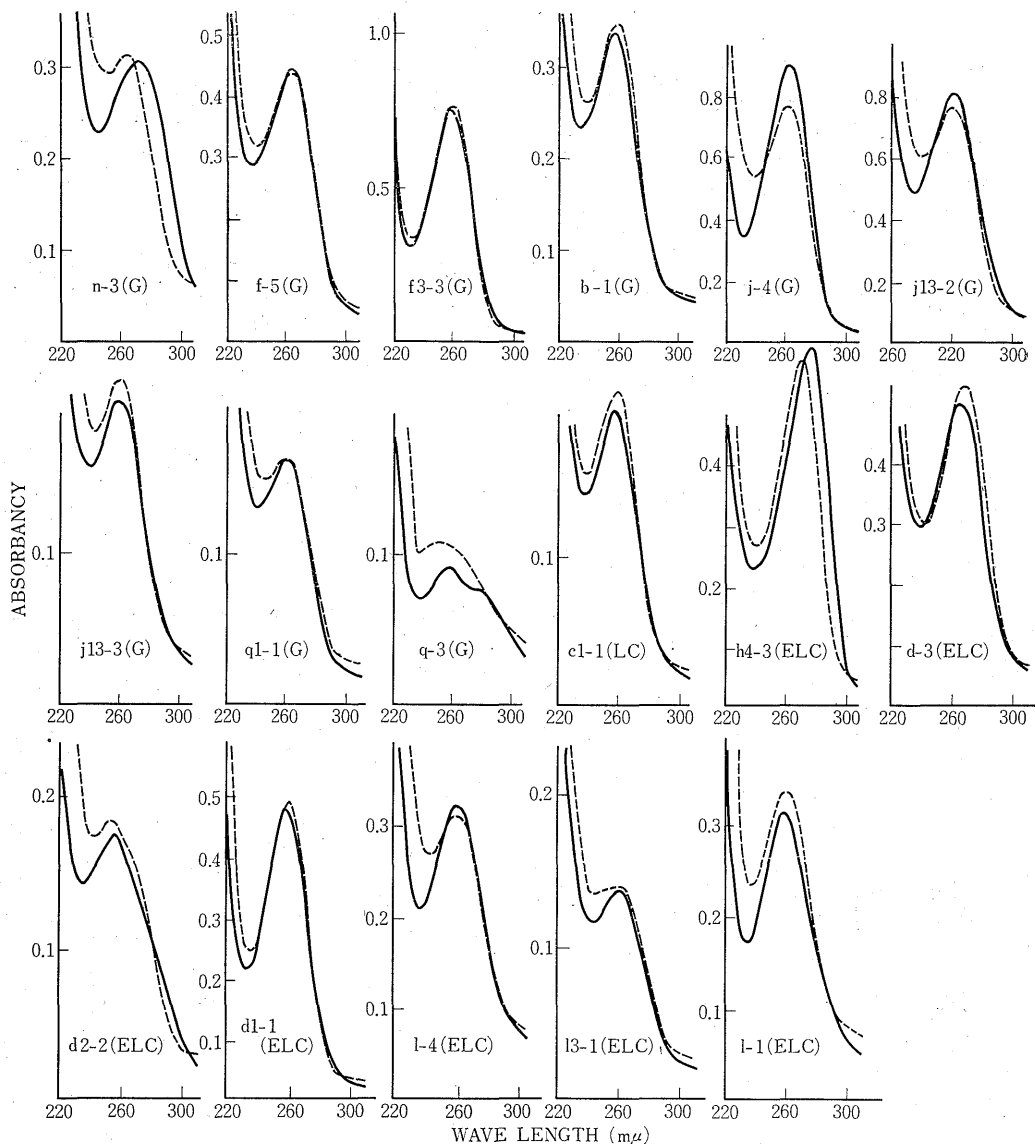


Fig. 2. Ultraviolet absorption spectra of the main nucleotide peaks shown in fig. 1, followed by the separation of paper chromatography. — at pH 2.0, at pH 11.0. These nucleotides isolated from the part of grains (G), leaves and culms (LC) and near cut off-leaves and culms (ELC).

1-4 を弱加水分解したのち、溶媒 3) で再び展開し、硝酸銀アセトン試薬で発色した糖のクロマトグラムである。純品として各 $0.15 \mu\text{mol}$ のグルコース、フラクトースおよびマルトースを同時に展開した。試料はそれぞれの塩基として $0.12 \sim 0.18 \mu\text{mol}$ を使用した。このうち j-4 と l-4 のヌクレオチド部分は UDP と一致し、b-2-2 と f-3-2 のそれは ADP と一致した。図に示したように、これらの試料にはグルコースの位

置 (X_2) の主要スポット以外に、マルトースの位置 (X_3) に薄いスポットが現われた。さらに、b-2-2 は X_5 の位置に、f-3-2 はフラクトースの位置 (X_1) および X_4 の位置にも薄いスポットを得た。これらグルコース以外の還元物質について、さらに強加水分解またはレゾルシン反応を用いて同定を進めているが、その詳細については次報に記す予定である。

Table 4. Analysis of nucleotides extracted from wheat plants.

Parts	Sample	Total P moles/mole base	Glucose after hydrolysis	Compounds identified
Grains	f 3-2	2.00	+	ADP-glucose
	f 3-3		+	ADP-glucose
	f 3-5	0.90		CMP
	f 5	1.20		UMP
	b 1	1.95		ADP
	j 13-2	1.96		UDP
	j 13-3	2.93		ATP
Leaves & culms	j 4	1.48	+	UDP-glucose
	c 1-1	1.96		ADP
Ear cut off-leaves & culms	h 4-3	0.91		CMP
	d 1-1	2.07		ADP
	l 1	2.77		ATP
	l 4		+	UDP-glucose

考 察

1. コムギの体内ヌクレオチドの種類と分布 (第5表参照)

出穂後1ヶ月の体内ヌクレオチドの大部分は穂部にあつて、稈葉部にはきわめて少なく、少量のAMPとADPが検出されたに過ぎない。その量は、穂部の全ヌクレオチドの約3%、穂部のアデノシン・ヌクレオチド全量の約11%であつた。しかし、このアデノシン誘導体のうち、ATPおよびADP-グルコースは検出されなかつたのに反し、ADPは穂部の26%、AMPは36%と、分子量の大きいものの減少に反して、

分子量の小さいものの増加が著しい。

穂部にはアデノシン-, ウリジン-, シチジン-, グアノシン・ヌクレオチドが検出された。その中では前2者が圧倒的に多く、後2者は僅かである。中でもグアノシン誘導体はごく少量が検出されたに過ぎない、アデノシン・ヌクレオチド中ではADP-グルコースが最も多く、アデノシン・ヌクレオチド全量の約54%を占め、ATPが23%、ADPが21%、AMPが2%弱と、リン酸結合度の高いものが多い。ウリジン・ヌクレオチド中에서도、UDP-グルコースが最も多く、ウリジン・ヌクレオチド全量の約58%を占め、あとをUMP 21%、UDP 19%、UTP 1%強が占めている。穂部では全ヌクレオチドの60%がウリジン誘導体で、アデノシン誘導体は25%であつた。

出穂後1ヶ月のイネの穂部と稈葉部におけるヌクレオチドの分布を調べたところ、稈葉部にもUDP-グルコースの存在が顕著に見出だされている⁸⁾。コムギの稈葉部でヌクレオチド糖化合物が見出だされないのは、この時期にコムギの稈葉部が、見かけ上はもとより、生理的にもほとんど枯れてしまつていることであらわれであろう。これに反してイネでは、この時期の稈葉部が生理的にも活力を保つているといえる。

Jenner⁹⁾は、登熟中のコムギの種実から可溶性ヌクレオチドを抽出し、アデノシン誘導体・ウリジン誘導体と共に、少量のシチジン誘導体を抽出した。これらのヌクレオチドの量的な関係は、登熟期の何れの時期でも、粒の中でUDP-グルコースが最も多く、筆者の今回のコムギの結果と非常によく類似している。

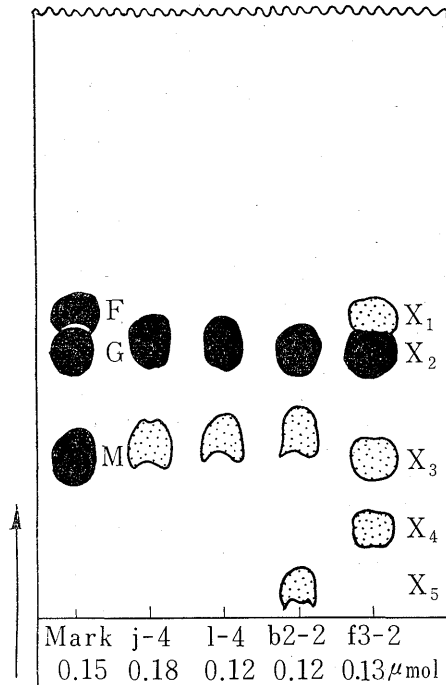


Fig. 3. Papar chromatographic identification of sugar nucleotides extracted from wheat plants.

Samples were extracted from grains (j-4, b-2-2, f-3-2) and ear cut off-leaves and culms (l-4). These spectral types were follows; j-4 and l-4 were uridine; b-2-2 and f-3-2 were adenosine. Samples were hydrolyzed with 20% acetic acid, 100°, 10 min., and then spotted to start line. PC was done by descending method. Solvent: n-butanol/acetic acid/water (4:1:2). G; glucose, F; fructose, M; maltose.

Table 5. Nucleotides extracted from ripening wheat plants.

Contents Nucleotides	Parts		Non-treated plant			Treated plant		
	Grains		Leaves and culms			Ear cut off-leaves and culms		
	μmol^* (A)	%**	μmol^* (B)	%**	$\frac{B}{A}$	μmol^* (C)	%**	$\frac{C}{A}$
AMP	0.05	0.4	0.18	51.4	3.60	0.55	22.0	11.00
ADP	0.66	5.3	0.17	48.6	0.26	0.32	12.8	0.48
ADP-glucose	1.65	13.3	—	—	0.00	—	—	0.00
ATP	0.71	5.7	—	—	0.00	0.42	16.8	0.59
UMP	1.60	12.9	—	—	0.00	0.34	13.6	0.21
UDP	1.45	11.7	—	—	0.00	0.16	6.4	0.11
UDP-glucose	4.33	35.0	—	—	0.00	0.38	15.2	0.09
UTP	0.10	0.8	—	—	0.00	—	—	0.00
CMP	0.96	7.7	—	—	0.00	0.22	8.8	0.23
GMP ?	0.08	0.7	—	—	0.00	—	—	0.00
?	0.80	6.5	—	—	0.00	0.11	4.4	0.14
Total nucleotides	12.39	100.0	0.35	100.0	0.03	2.50	100.0	0.21
Adenosine derivatives	3.07	24.7	0.35	100.0	0.11	1.29	51.6	0.42
Uridine derivatives	7.48	60.4	—	0.0	0.00	0.88	35.2	0.12
Cytidine derivatives	0.96	7.7	—	0.0	0.00	0.22	8.8	0.23
Guanosine derivatives	0.08	0.7	—	0.0	0.00	—	0.0	0.00

* per 75 g of fresh weight.

** Relative value of nucleotides.

Bergkvist³⁾も、粒を形成しはじめた時のコムギの地上部における酸可溶性ヌクレオチドを検索した。その結果、ADP-グルコースは検出されていないが、アデノシン-およびウリジン・ヌクレオチドが他のシチジン-, グアノシン・ヌクレオチドに比し圧倒的に多いことを報告している。

2. 開花初期の穂切除処理の体内ヌクレオチド量に及ぼす影響 (第5表参照)

穂切除した稈葉部 (以下、処理区) には、無処理区 (穂部+稈葉部) の約 20% のヌクレオチドが検出された。出穂後1ヶ月の稈葉部が、穂部の約 3% しかヌクレオチドが検出できなかったのに比べると非常に多いことがわかる。検出されたヌクレオチドの種類は、大体無処理区のそれと類似している。処理区から検出されたアデノシン・ヌクレオチド中では AMP が最も多く、アデノシン・ヌクレオチド全量の約 43% を占め、ATP, ADP がそれぞれ 33% および 25% であつたが、ADP-グルコースは検出されなかつた。これを無処理区から検出されたヌクレオチドと比較すると、リン酸の結合度の低い AMP が多いこと、および糖の結合したアデノシン・ヌクレオチドが検出されないことが大きな相違点である。ウリジン・ヌクレオチド中では UDP-グルコースが最も多く 43% で、次いで UMP が 39% と多く、UDP は 18% とやや少な

い。この関係は無処理区の穂部で見出だされた量的関係と類似している。

穂切除した処理植物から検出された各々のヌクレオチド量を、無処理植物からのそれと比較すると、ヌクレオチドの全量は 20% であるが、その中では AMP のみが 2.4 倍であるのに反し、あとは何れも少なく、ADP 39%, ADP-グルコース 0%, ATP 59%, UMP 21%, UDP 11%, UDP-グルコース 9%, CMP 23% であつた。AMP のみが増加しており、ヌクレオチド糖化合物の減少が他のヌクレオチドの減少よりも著しく大であつた。

コムギでは、穂が登熟するという事は、茎葉部の酸可溶性ヌクレオチドの種類と量の顕著な減少をとまなうものである。穂を開花初期に切除しても、その稈葉部は枯死の方向に進むようであるが、登熟する穂がないと、ヌクレオチドの減少は止まり、穂切除しない同期の稈葉部に比べてかなり蓄積されているといえる。相対的にいえば、ウリジン・ヌクレオチドの減少が大で、アデノシン・ヌクレオチドの減少はそれほど大ではない。

前報で報告したよりに³⁾、登熟期のイネに対する穂切除処理は、登熟期の穂部に多い AMP, UMP, ADP-グルコースおよび ATP が、処理した植物体に蓄積されるという結果を生じているが、今回のコムギの処理

実験でも、ADP-グルコース以外は同様な結果であつたことは興味深い。

引用文献

- 阿武喜美子・瀬野信子 1957. 糖類の分離, 分析. 日本化学会編, 実験化学講座 23: 生物化学 I. 丸善 p. 391.
- ALLEN, R. J. L. 1940. The estimation of phosphorus. *Biochem. J.* 34: 858—865.
- BERGKVIST, R. 1956. The acid-soluble nucleotides of wheat plants. *Acta Chem. Scand.* 10: 1303—1316.
- BRYSON, J. L., T. J. MITCHELL, 1951. Improved spraying reagents for the detection of sugars on paper chromatograms. *Nature* 167: 864.
- JENNER, C. F. 1968. The composition of soluble nucleotides in the developing wheat grain. *Plant Physiol.* 43: 41—49.
- MAGASANIK, B., E. VISCHER, R. DONIGER, D. ELSON, and E. CHARGAFF, 1950. The separation and estimation of ribonucleotides in minute quantities. *J. Biol. Chem.* 186: 37—50.
- 村上 高 1968. イネの生育にともなう酸可溶性ヌクレオチドの消長. 日作紀 37: 539—550.
- 村上 高 1970. イネの登熟期における酸可溶性ヌクレオチドの体内分布と, 開花初期の穂切除の影響. 日作紀 39: 287—294.
- 大村京生 1957. リン酸化合物分画法. 日本化学会編, 実験化学講座 23: 生物化学 I. 丸善 p. 536.
- PALADINI, A. C. and L. F. LELOIR, 1952. Studies on uridine-diphosphate-glucose. *Biochem. J.* 51: 426—430.
- 佐竹一夫 1952. クロマトグラフ. 共立全書 12. 共立出版 p. 98.
- 鈴木 旺 1963. 酸可溶性ヌクレオチドの化学. 生化学 35: 737—752. および私信.
- TREVELYAN, W. E., D. P. PROCTER, and J. S. HARRISON, 1950. Detection of sugars on paper chromatograms. *Nature*, 166: 444—445.

Acid Soluble Nucleotides in Wheat Plants at Ripening Stage and Effect of Removal of Ears on the Nucleotide Pool

Taka MURAKAMI

(National Institute of Agricultural Sciences, Nishigahara, Kita-ku, Tokyo)

Summary

Acid soluble nucleotides of wheat were surveyed at the one month after heading. They were extracted with cold perchloric acid and separated by chromatography on columns of Dowex 1 (Cl⁻), followed by repeated paper chromatography. The nucleotide composition of wheat is presented in table 5. The detected nucleotides in the grain were adenosine monophosphate (AMP), adenosine diphosphate (ADP), ADP-glucose, ADP-X₁, ADP-X₃, adenosine triphosphate (ATP), uridine monophosphate (UMP), uridine diphosphate (UDP), UDP-glucose, UDP-X₃, uridine triphosphate (UTP), cytidine monophosphate (CMP) and guanosine derivatives. In leaves and culms, only AMP and ADP were detected. The total nucleotides were 12.39 μ moles in 75 g fresh weight of grains, while 0.35 μ moles in the leaves and culms. Thus, the contents of nucleotides in leaves and culms were approximately 3% of those in grains. ATP and ADP-sugar were not detected in leaves and culms. These nucleotides were probably decomposed to AMP and ADP during senescence.

In grains, ADP- and UDP-sugars were main derivatives of adenosine and uridine. ADP-

sugar and UDP-sugar occupied 54% and 58% of respective nucleotides.

As reported in the previous paper⁸⁾, rice contained UDP-glucose in the leaves and culms at the stage of one month after flowering, but wheat did not as described above. These differences may reflect that leaves and culms of rice are less senescent than those of wheat at this stage.

Wheat, whose ears were cut off at the flowering stage, were grown further one month. The detected nucleotides from leaves and culms of these treated plants were AMP, ADP, ATP, UMP, UDP, UDP-glucose, UDP-X₃ and CMP. ADP-sugar and UTP which were detected in non-treated plants were not found in treated plants. The contents of nucleotides in treated plants were about 20% of those from the non-treated plants. Only AMP was greater in treated plants than in non-treated. Adenosine derivatives were predominant in treated plants.

The treated plants contained less UDP-glucose and more AMP in their acid soluble nucleotide pool than non-treated plants. When ears were cut off, leaves and culms were probably substituted for ears to pool acid soluble nucleotides.

Identification of the nucleotide sugar of fraction f, j and l (see figure 1) was tried. After mild hydrolysis with 20% acetic acid, several sugars were detected on paper chromatogram (see figure 3). Glucose (X₂), maltose (X₃) and fructose (X₁) were tentatively identified after comparison with R_f values (R_{glucose} values) of authentic samples.