

速報

スギ、ヒノキ倍数体のスーパーオキシドジスムターゼ (SOD) 活性*1

佐々木義則*2 · 丹羽 鞆負*3

スギ、ヒノキについて、倍数性及び季節の違いが針葉中のスーパーオキシドジスムターゼ (SOD) 活性に及ぼす影響を調べた。両樹種ともに倍数性が高まるに従って SOD 活性が上昇する傾向が認められ、特に四倍体は著しく高い活性を示した。SOD 活性に及ぼす季節の影響は、ヒノキよりもスギの方で大きく、特にスギの四倍体では、冬期に比べて夏期の方が著しく高い活性が認められた。これらの結果から、スギ、ヒノキは倍数化によって SOD 活性を上昇させ、抗酸化能力が向上している可能性が示唆された。

I. はじめに

植物は絶えず変化する環境条件下で生育するため、様々な環境ストレスを受けやすい。種々のストレス下では、スーパーオキシド (O_2^-)、過酸化水素 (H_2O_2) 等の反応性に富む酸素分子種である「活性酸素」が発生しやすい。これらの活性酸素に対する防御系として、グルタチオン (GSH)、アスコルビン酸 (AsA) 等の抗酸化物質、及びスーパーオキシドジスムターゼ (SOD)、アスコルビン酸ペルオキシターゼ (AsAP) 等の抗酸化酵素が存在している。何らかの原因で、活性酸素の生成と消去のバランスが崩れた場合、酵素の不活性化、脂質の過酸化、タンパク質の分解等が起こり、生育障害が発生しやすくなる。近年は、大気汚染の増大、オゾン層破壊による紫外線 (UV) の増量等にもなう生体内の活性酸素の増加が非常に懸念されている (5, 6, 7, 13)。

抗酸化酵素の中で、SOD は最初に活性酸素 (O_2^-) を消去する重要な酵素とされている。そこで、今回、スギ及びヒノキの倍数体について、夏期及び冬期における SOD 活性を調べてみた。

II. 材料及び方法

実験に用いた材料を表-1に示した。スギでは二倍体が5クローン、三倍体が5クローン、四倍体が2クローンの計12クローン、ヒノキにおいては二倍体が5クローン、三倍体が2クローン、四倍体が2クローンの計9クローンを用いた。これらは、いずれもさし木によって増殖し、大分県林業試験場内のクローン集植所に植栽されており、試料採取当年 (2000年) の樹齢は10~15年生であった。試料の採取時期は夏期 (8月5日) 及び冬期 (12月8日) であった。いずれも地上高1.5~3m部位の南側の枝から当年生針葉を採取し、分析用試料とした。

SOD 活性の測定は、Cytochrome C 還元法に準じ、Niwa *et al.* (10) の方法によった。なお、SOD 活性の分析においては、同一

試料について3回の測定を行い、平均値±標準偏差 (M.V. ± S.D.) で表示した。

表-1. 実験に用いたスギ及びヒノキの材料

倍数性	スギ		ヒノキ	
	精英樹名	選抜地	精英樹名	選抜地
二倍体 (2 n=22= 2 x)	秋田1号	秋田県	阿蘇7号	熊本県
	西川2号	埼玉県	日出4号	大分県
	名賀9号	三重県	玖珠6号	大分県
	佐賀3号	佐賀県	竹田8号	大分県
	佐伯10号	大分県	佐伯17号	大分県
三倍体 (2 n=33= 3 x)	遠田2号	宮城県	富士2号	静岡県
	大井5号	静岡県	三次4号	広島県
	三好10号	徳島県		
	藤津28号	佐賀県		
四倍体 (2 n=44= 4 x)	九林スギ	大分県		
	Cr-38	茨城県	木曾ヒノキ	長野県
	神川スギ	大分県	三光ヒノキ	大分県

III. 結果

スギ倍数体の夏期及び冬期における SOD 活性を調べた結果を表-2に、また、ヒノキ倍数体の夏期及び冬期における SOD 活性を調べた結果を表-3に示した。さらに、両樹種について、倍数性及び季節別の SOD 活性を比較した結果を図-1に示した。

倍数体別の SOD 活性においては、両樹種ともに倍数性が高まるに従って活性が上昇する傾向が認められ、特に四倍体では著しく高い活性を示すことが判明した。

季節別の SOD 活性において、スギの二倍体では冬期、四倍体では夏期の方がそれぞれ活性が高かったが、三倍体においては、

*1 Sasaki, Y. and Niwa, Y.: Superoxide dismutase activity in Polyploids of *Cryptomeria japonica* and *Chamaecyparis obtusa*

*2 大分県林業試験場 Oita Pref. Forest Exp. Stn., Hita, Oita 877-1363

*3 丹羽免疫研究所 Niwa Res. Inst. Immunology, Tosashimizu, Kochi 787-0303

季節間にほとんど差異は無かった。ヒノキの二倍体は夏期の方が活性が高かったが、三倍体及び四倍体は季節間に差異が認められなかった。

樹種別のSOD活性においては、二倍体及び三倍体はヒノキの方が、また、四倍体ではスギの方がそれぞれ活性が高い傾向が認められた。

IV. 考 察

近年、植物の抗酸化活性を調べた報告が多数見られるようになってきた。これらの報告は、植物の種あるいは品種間における抗酸化活性の差異(1, 3, 7, 9, 17, 19)、光、温度、水分等のストレス条件下での抗酸化活性の変化等(2, 4, 8, 12, 14, 18)であり、研究対象は農業及び園芸分野の作物が大多数を占めている。

樹木においては、酸性化ストレスに対するヒノキ葉内のSOD等の活性(12)、モミのSOD活性等の経時的変化(14)が報告されている。筆者ら(11)は、スギ、ヒノキ倍数体針葉の試料エキス添加が不飽和脂肪酸の酸化に及ぼす影響を調べ、四倍体等の倍数体品種は過酸化脂質の生成を抑制する能力が高いこと等を報告した。

今回、筆者らはスギ、ヒノキについて、倍数性及び針葉採取時期の違いがSOD活性に及ぼす影響を調べたところ、二倍体、三倍体、四倍体の中では、両樹種ともに高倍数化にともなってSOD活性が上昇する傾向が認められ、特に夏期におけるスギではこのような現象が著しいことが判明した。このような結果は、筆者らの報告(11)における倍数性と過酸化脂質生成の抑制能力との関連性を裏づけるものと考えられる。

紫外線照射は生体内に多量の活性酸素を生成させるが、これに対する植物の適応反応として、葉の肥厚、矮性化等が指摘されている(15, 16)。これらは、スギ、ヒノキの四倍体等の外部形態に類似していることから、倍数性と抗酸化活性の関連性を考える上で興味深い現象と考えられる。

以上のことから総合的にみると、スギ及びヒノキの場合、倍数化によってSOD活性を上昇させ、これが抗酸化能力の向上に関与している可能性が示唆された。

引用文献

- (1) 網本邦宏ほか(1997) 植物工場学会誌 9 : 93-102.
- (2) 沈 文雲ほか(1998) 園学雑 67 (別2) : 303.
- (3) 堂前喜章ほか(2000) 日本作物学会記事 69 (別2) : 170-171.
- (4) 細川宗孝ほか(1998) 園学雑 67 (別2) : 377.
- (5) 近藤矩朗(1994) 植物の大気汚染耐性の仕組み(環境問題と植物バイオテクノロジー, 山田康之監修, 147pp, 秀潤社, 東京), 59-68.
- (6) 近藤矩朗ほか(1995) 植物・生態系への影響. (オゾン層破壊, 環境庁地球環境部監修, 216pp, 中央法規出版, 東京), 97-127.
- (7) 久野春子(1994) 植物の大気汚染耐性と感受性(環境問題と植物バイオテクノロジー, 山田康之監修, 147pp, 秀潤社, 東京), 50-58.
- (8) 李 進才ほか(2000) 園学雑 69 (別1) : 367.
- (9) 村山 徹ほか(1999) 園学雑 68 (別1) : 106.
- (10) Niwa, Y. *et al.* (1987) *Life Sciences* 40 : 921-927.
- (11) Niwa, Y. and Sasaki, Y. (2001) Oxidative injury to trees and self-defense mechanisms. *Ecotoxicology and Environmental Safety* (投稿中).
- (12) 小川匡文ほか(2001) 第112回日林学術講 : 479.
- (13) 重岡 成(1994) 植物の光・酸素毒耐性機構(環境問題と植物バイオテクノロジー, 山田康之監修, 147pp, 秀潤社, 東京), 40-47.
- (14) 高見智香ほか(2001) 第112回日林学術講 : 477.
- (15) Takeuchi, Y. *et al.* (1989) *Physiol. Plant* 76 : 425-430.
- (16) Tevini, M. and Teramura, A. H. (1989) *Photobiol.* 50 : 479-487.
- (17) 津志田藤二郎ほか(1994) 日本食品工業学会誌 41 : 611-618.
- (18) 山口朋之ほか(1998) 園学雑 67 (別2) : 311.
- (19) 趙 習姐ほか(2000) 園学雑 69 (別2) : 444.

表- 2. スギ倍数体の夏期及び冬期における SOD 活性

精英樹名	夏期 SOD (unit/g)		冬期 SOD (unit/g)	
	M.V. ± S.D.		M.V. ± S.D.	
秋田 1 号	37 ± 4		121 ± 13	
西川 2 号	17 ± 2		176 ± 23	
名賀 9 号	12 ± 1		133 ± 15	
佐賀 3 号	21 ± 3		149 ± 17	
佐伯10号	52 ± 7		421 ± 54	
二倍体平均	27.8 ^{ax}		200.0 ^{ay}	
遠田 2 号	317 ± 44		408 ± 45	
大井 5 号	161 ± 19		248 ± 31	
三好10号	95 ± 12		309 ± 33	
藤津28号	236 ± 28		181 ± 23	
九林スギ	108 ± 11		98 ± 12	
三倍体平均	183.4 ^{bx}		248.8 ^{ax}	
Cr-38	2,684 ± 295		1,382 ± 193	
神川スギ	3,589 ± 430		1,498 ± 179	
四倍体平均	3,136.5 ^{cy}		1,440.0 ^{bx}	

(注) M. V. : 平均値, S. D. : 標準偏差
 a, b, c, は同一時期における倍数体間, また x, y は同一倍数性における時期間の有意差検定 (5 % 水準) を示しており, 同一文字間では有意差は無く, 異文字間では有意差があることを示す。

表- 3. ヒノキ倍数体の夏期及び冬期における SOD 活性

精英樹名	夏期 SOD (unit/g)		冬期 SOD (unit/g)	
	M.V. ± S.D.		M.V. ± S.D.	
阿蘇 7 号	459 ± 55		348 ± 34	
日出 4 号	544 ± 76		320 ± 29	
玖珠 6 号	459 ± 59		217 ± 26	
竹田 8 号	655 ± 85		271 ± 28	
佐伯17号	423 ± 54		160 ± 19	
二倍体平均	508.0 ^{ay}		263.2 ^{ax}	
富士 2 号	582 ± 75		451 ± 62	
三次 4 号	420 ± 46		578 ± 80	
三倍体平均	501.0 ^{ax}		514.5 ^{bx}	
木曾ヒノキ	905 ± 99		1,232 ± 172	
三光ヒノキ	1,902 ± 190		1,773 ± 265	
四倍体平均	1,403.5 ^{bx}		1,502.5 ^{cx}	

(注) M. V. : 平均値, S. D. : 標準偏差
 a, b, c, は同一時期における倍数体間, また x, y は同一倍数性における時期間の有意差検定 (5 % 水準) を示しており, 同一文字間では有意差は無く, 異文字間では有意差があることを示す。

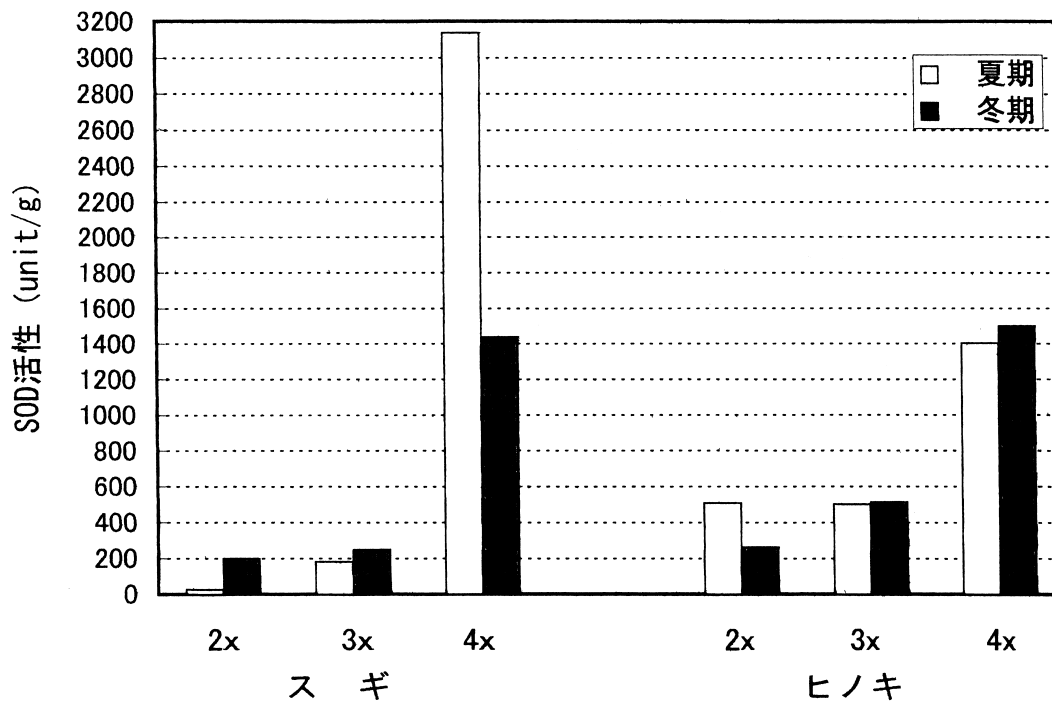


図- 1. スギ, ヒノキ倍数体の夏期及び冬期における SOD 活性の比較

(2001年11月27日 受理)