

コムギ胚における炭水化物代謝

寺 岡 宏

高等植物の発芽過程においては、胚の生長及び呼吸の上昇と関連して、活潑な炭水化物の代謝が営まれることが考えられる。例えば 24°C で発芽した春まきコムギは、発芽5日間に種子乾燥量の13.5%を呼吸による炭酸ガスの排出として消失する。発芽胚における呼吸基質としては発芽のごく初期には胚の中に存在する糖類が用いられるが、発芽の進行にともない胚乳の貯蔵澱粉の分解が行われ、その分解産物が胚に移行し呼吸基質として用いられるようになる。 24°C で発芽した春まきコムギの場合には、発芽5~6日目には胚乳の貯蔵澱粉は殆んど完全に分解しつくされる程急速な反応が行われる。

このような発芽過程と更に其の後の生長過程における炭水化物の種類とその代謝については、すでにいくつかの植物について報告されているが(1~17)、コムギの発芽過程においてははまだ充分な定性的及び定量的な研究は少ないようである。

炭水化物の代謝が発芽胚の呼吸及び生長等と密接不可分な関連のもとにあるという事実から、それが発芽胚の生理的特性を支配する一つの要因として作用するであろうと考えられる。宇佐美、寺岡はさきにコムギ胚の発芽過程における発育の特性を解明するために、生理学的な立場から胚の呼吸系の変化などについて報告してきたが(18, 19, 20)、更にこれと関係して代謝パターンの一側面として炭水化物の代謝を取り上げた。ここでは主として春まきコムギの発芽過程における糖の定性的及び定量的な研究の結果について報告する。

材 料 と 方 法

実験材料としては春まきコムギ（農林75号）及び秋まきコムギ（赤錆不知1号）を用いた。

ウスプルン溶液で滅菌した種子をシャーレに入れ24°Cで暗中で発芽させた。実験には幼根を切除した胚盤、子葉、子葉鞘をふくむ部分を用いた。

発芽した胚を胚乳から分離し、エタノール中に約2分間浸して代謝を止め、これを水ですりつぶす。このhomogenateの上澄液を糖の抽出液として用いた。定量的な実験には糖の抽出を完全にするため、homogenateの沈澱物を更に数回水に浮遊させて残った糖を十分に水中に溶出させる。抽出液は60°Cで蒸発乾固させる。蒸発の残滓には炭水化物の外に蛋白質やアミノ酸も含まれているため、ピリジンを加え、これに炭水化物を溶出させる。定量的な実験では炭水化物を完全にピリジン中に溶出させるため不溶物を数回ピリジンで洗い出す。以上の方法で得られた糖のピリジン溶液をペーパークロマトグラフィーによつて展開する。ペーパークロマトグラフィーには東洋濾紙No.50を用い、展開液としてはブタノール：醋酸：水（4：1：2）及びフェノール：アンモニア（99：1）を用いた。展開は一次元上昇法により、必要な場合には2回又は3回の展開をくりかえした。糖の発色には、アニリン、クエン酸試薬を用いた(22)。糖の定量はペーパークロマトグラフィーによつて分離した糖を水に溶出させた後、ハーネス法(21)によつて定量した。糖の同定には対照物質とのR_F値の比較の外、フェーリング反応、セリバノフ反応、オルシン反応、フェニールヒドラジン反応等を行つた。又サツカロース、マルトース、ラフィノース、スタキオース等の場合には酸による加水分解及びcrude enzymeによる分解を行い、その分解産物をペーパークロマトグラフィーによつて分離同定した。

結 果

1. 発芽胚に存在する炭水化物

春まきコムギの胚の中には発芽の進行にともない、いくつかの異なった糖が検出される。

即ち発芽の初期にはサツカロース、ラフィノース等が主要な糖として存在するが、発芽の進行にともない、グルコースとフラクトースが主要な糖として存在するようになる。図1はペーパークロマトグラフィーによつて分離した胚の中の炭水化物を示す。

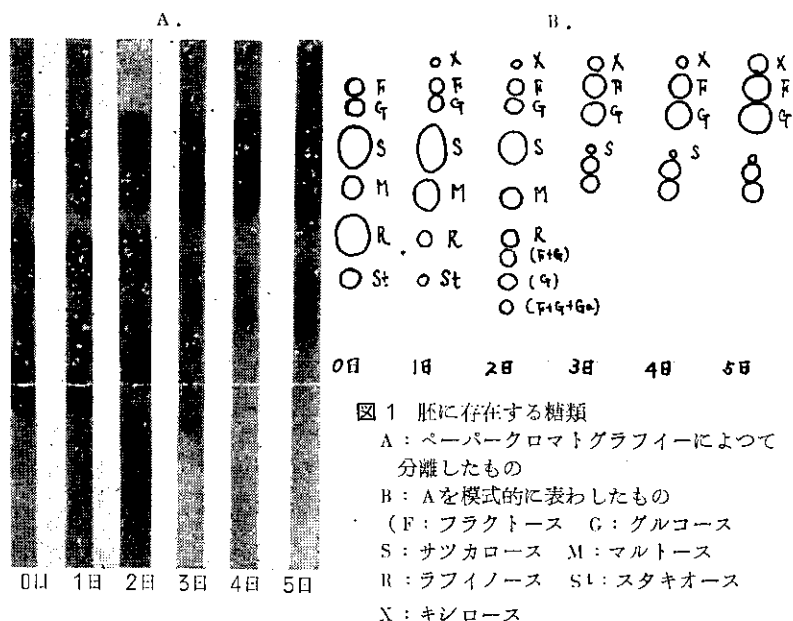


図1 胚に存在する糖類

A : ペーパークロマトグラフィーによつて分離したもの

B : Aを模式的に表わしたもの

(F : フラクトース G : グルコース

S : サツカロース M : マルトース

R : ラフィノース St : スタキオース

X : キシロース

(F + G) : 加水分解によつてフラクトースとグルコースを生ずるもの

(G) : 加水分解によつてグルコースを生ずるもの

(F + G + Ga) : 加水分解によつてフラクトース、グルコース、ガラクトースを生ずるもの

発芽2日目までのグルコースとフラクトースの含量は材料として用いられる種子の状態によつてかなりの変動を示し、アニリン、クエン酸試

葉によりごくわずかに検出される程度のものから、きわめて明瞭に検出されるものまである。なおキシロース、スタキオースの含量もごく微量で、かなり濃厚な試料を用いなければ検出され難い。発芽2日目の胚ではRF値がラフィノースより低い3つの不明な oligosaccharide が検出される。これらのものは酸による加水分解の結果、グルコースのみを生ずるもの、グルコースとフラクトースを生ずるもの及びグルコース、フラクトースとガラクトースを生ずるものである。

秋まきコムギ発芽胚中における糖の組成は春まきコムギの発芽胚にみられるものと殆んど同様であり、両者の間に明確な質的相違はみとめられない。

発芽胚中には2日目までマルトースが存在するが、これが胚に存在する他の糖類に由来するものか、あるいは胚乳からの転入によるものかを明らかにするため次の実験を行つた。まづ胚を発芽前に胚乳から分離し24°Cで8時間発芽させる。このような胚乳からの糖の供給の行われない胚ではマルトースの蓄積はみられなかつた。この結果はマルトースが胚乳から胚に転入する可能性を示すものと考えられるが、更にこの点を次の方法によつて確めた。即ち発芽前に胚乳から分離した胚を20時間発芽させる。この結果胚に存在していた糖は殆んど完全に消費しつくされる。その後この胚を2%サツカロース溶液又は、2%マルトース溶液中で4時間発芽を続行させた後、胚における糖の組成をしらべた。その結果は、サツカロース溶液中で発芽した胚には多量のサツカロースと少量のマルトースが検出された。又マルトース溶液中で発芽した胚では多量のマルトースと少量のサツカロースが検出される。しかし発芽1日目の胚では、サツカロース、マルトース共にかなり多量存在する。これらの事実は発芽初期においては胚乳からマルトース及びサツカロースが胚に供給されていることを示すものと考えられる。

2. 発芽期の胚乳に存在する炭水化物

胚乳中における糖の組成は、胚と異り発芽の進行にともなう質的变化はみとめられない。

胚乳中に存在する糖は図に示されているようにマルトースとグルコースがその主なものである。なお発芽後胚乳中にはかなり高いRf値をもつた2つの糖が検出されるが、その同定は行われていない。

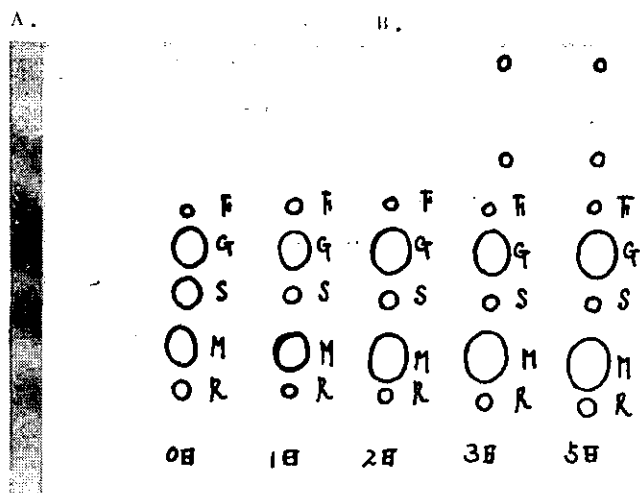


図 2. 胚乳に存在する糖類

A : 0日の胚乳の糖類をペーパークロマトグラフィーによつて分離したもの

B : 模式的に表わしたもの。

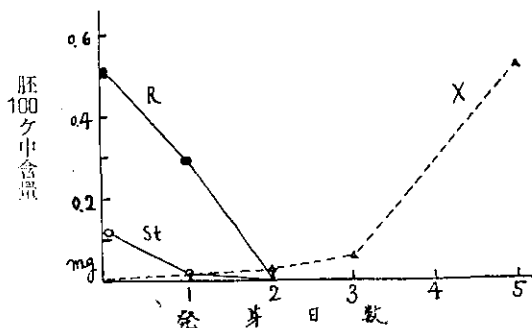
(図中の記号は図1のものと同一。)

発芽期における胚と胚乳の間には互いに有機的な関連があるものと考えられるが、この点に関し次のことが明らかにされた。即ち胚は胚乳における貯蔵澱粉の分解に促進的な効果をもち、その結果胚の影響を受けない胚乳では正常な胚乳に比べてマルトースとグルコースの含量が少い。又胚から分離された胚乳では胚に移行すべきサツカロースがそのまま存在するので正常な胚乳に比較してサツカロースの含量が高い。

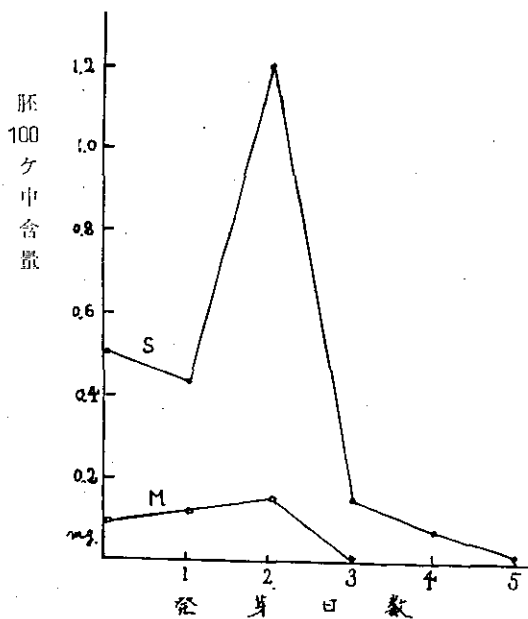
3. 発芽胚における炭水化物の含量

胚 100 ケ中にふくまれる種々の糖含量は図3,に示されるような変化を示す。

A : R : ラフィノース St : スタキオース X : キシロース



B : S : サツカロース M : マルトース



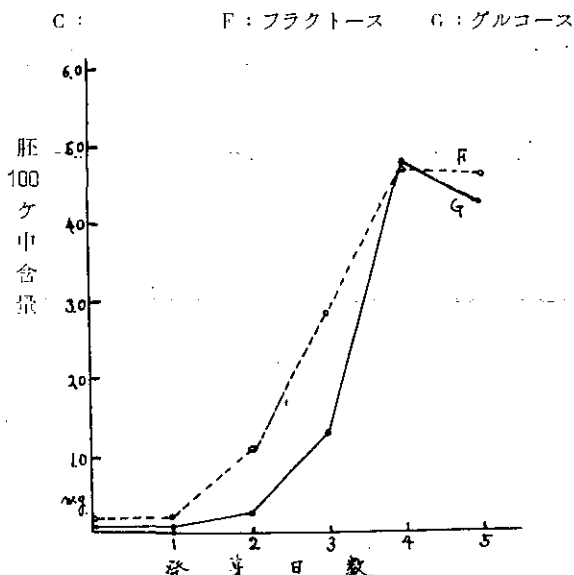


図 3. 発芽胚における糖の含量

これらの変化において発芽2~3日を境としたサツカロースの減少とグルコース、フラクトースの増加が特徴的である。これらの変化は図1のペーパークロマトグラフィーによる結果と一致する。胚に存在する主要な炭水化物がサツカロースからグルコース、フラクトースへと変化する事実から発芽2~3日を境として胚の生理的特性の変化が行われるのではないかと推察される。

4. 胚における糖分解酵素

胚及び胚乳中の糖の種類及びその含量を支配する一つの要因として、澱粉、マルトース、サツカロース等を分解する酵素が考えられる。

これらの酵素が発芽の進行にともない、逐次活性化するにしたがい、胚に存在する糖の質的及び量的な変化が行われる。以上のような観点から発芽とともに澱粉、マルトース、サツカロースの分解酵素の活性がどのように表われてくるかを調べた。胚又は胚乳の homogenate を遠心分

離 (3000r. p. m. 5分) してその上澄みを取り、この液を12時間流水中で透折したものをを用いて糖の分解能の有無を調べた。反応は2%の糖溶液を基質とし、40°Cで60分間行つた。加熱によつて反応を停止させた後、その分解産物をペーパークロマトグラフィーによつて分離、同定した。なお α -アミラーゼ、と β -アミラーゼの区別は次の方法によつた。即ち粗酵素液を65°Cで20分間加熱した後、pH 7.0で澱粉溶液に反応させる。この時の分解産物は図4 (A) のようになるが、このような澱粉の分解を α -アミラーゼの活性とした。又熱処理を加えない粗酵素液をpH 5.0で澱粉溶液に作用させると、図4 (B) にあるような澱粉の分解産物を生ずる。この時の分解を β -アミラーゼの活性とみなした。

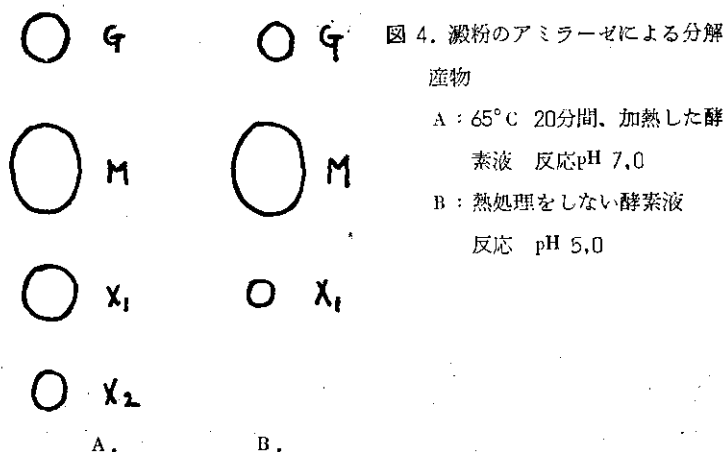


表1は発芽5日までの胚及び胚乳中の糖分解酵素の活性の有無を示す。

表 1: 発芽期間中の胚及び胚乳における糖分解酵素の活性

(+活性あり -活性なし)

酵 素	発芽日数	胚					胚乳				
		0	1	2	3	5	0	1	2	3	5
α -アミラーゼ		-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
β -アミラーゼ		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
マルターゼ		-	±	+	+	+	-	±	+	+	+
シユクラーゼ		-	±	±	+	+	-	-	-	-	-

胚と胚乳の相違として、胚にはサツガララーゼの活性が存在するが胚乳にはこの活性がみられないこと、胚乳にある α -アミラーゼの活性が胚にはないことなどがあげられる。胚及び胚乳において、澱粉からマルトースへの分解は発芽の最初から行われるが、マルトースのグルコースへの分解は発芽1日目以後に行われるようになる。それ故発芽初期には貯蔵澱粉の分解はマルトースの段階でとまり、このマルトースが胚に移行することが考えられる。マルターゼの活性が発芽1日目以後にあらわれることは発芽初期の胚にだけマルトースが存在する事実とも一致する。

5. ラフィノースとスタキオースの分解について

発芽にともない胚に存在していたラフィノースとスタキオースは消失する。その分解のされ方に関して例えばラフィノースでは α -ガラクトシダーゼによるサツカロースとガラクトースへの分解とイーストサツガララーゼによるメリビオースとフラクトースへの分解の二つの可能性が考えられる。同様の可能性はスタキオースの分解の場合にも考えられる。これらの点を明らかにするために次の実験を行った。

ラフィノース及びスタキオースを発芽前の種子から分離し、これに発芽1日目の胚からの粗酵素を作用させその分解産物をしらべた。粗酵素としては胚の homogenate を遠心分離して上澄液を集め、これを飽和硫酸で処理し沈澱物を再び少量の水にとかす。この液を流水中で24時間透析したものを用いた。反応は pH5.4 の磷酸緩衝液中で 40°C 60分間行つた。その結果ラフィノースの分解産物としてサツカロース及びグルコースとフラクトースがみられ、又スタキオースの分解産物としてはラフィノース、サツカロース、グルコース及びフラクトースがみられた。ここでみられたグルコースとフラクトースは次の事実からガラクトースが粗酵素の作用によつて変化したものと考えられる。即ちガラクトース溶液に上の粗酵素液を加えるとガラクトースは殆んどグルコースに変化し、更にフラクトースにも変化することがみられた。なお上で用いた粗酵素

液はサツカロースの分解能はもたない。以上の結果から発芽初期の胚においてラフィノーズ、スタキオーズ系の寡糖類が α -ガラクトシダーゼの活性によつてガラクトースとサツカロースに分解され、このガラクトースがグルコース、フラクトースへと変化し呼吸基質として利用されるものと推察される。

6. 糖の生体内平衡について

発芽過程において胚乳から胚に移行する糖は胚乳にマルトースとグルコースが最も多く存在することから、主にこの二つの糖であろうと推察される。この点を明らかにするため発芽1日目及び4日目の胚を胚乳から分離し、これらの胚を2%サツカロース溶液、2%グルコース溶液、2%マルトース溶液にひたして更に24時間発芽を進行させ、その後胚の内部における糖の組成を比較した。なお対照としては正常に発芽した胚、及び胚乳から分離し水にひたして発芽させた胚を用いた。

胚乳から分離した胚はサツカロース、マルトース、グルコース溶液中では殆んど正常な胚と同程度の生長を示すが、水につけたものでは、殆んど生長を示さない。これらの胚における糖の組成は図5(A)及び(B)にあるようにサツカロース、マルトース、グルコース溶液のいずれを用いた場合も正常のものと殆んど変わらない。

A : 1日目に胚乳から分離した胚

B : 4日目に胚乳から分離した胚

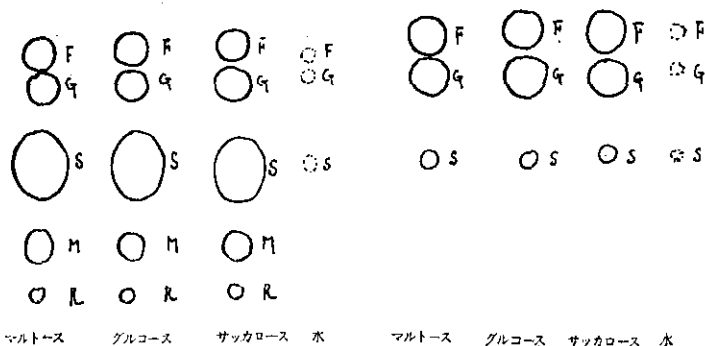


図5. 胚乳から分離後糖溶液にひたした胚に存在する糖類

24°C で24時間浸漬 (図中の記号図1と同じ)

しかし上の実験において胚乳から分離した胚にはすでに種々の糖が存在しているため、純粋に外部から転入した糖が生体内においてどのような変化をうけるかを知ることが出来ない。それ故に発芽1日の胚を胚乳から分離し最初水にひたして24°Cで24時間発芽させる。その結果胚に存在していた糖は殆んど消費されペーパークロマトグラフィーでは検出されない程度になる。このような胚を2%のマルトース、サツカロース、グルコース、フラクトース、ガラクトースの各溶液にひたして24°Cで約20時間発芽を進行させ、その後、胚における糖の組成をしらべた。その結果はマルトース、サツカロース、グルコース、フラクトースの各溶液の場合には図5(A)と同様な結果を示したが、ガラクトース溶液につけた胚ではグルコースとフラクトースが検出されただけであつた。このような結果は胚の内部においてマルトース、サツカロース、グルコース、フラクトースの間に動的な平衡関係の存在することを示すものである。

次に胚におけるこれらの平衡関係がどのような順序によつてつくられてゆくかを明らかにするために次の実験を行つた。先づ発芽1日目の胚を胚乳から分離し24°Cで24時間水にひたして胚に存在する糖を消失させる。次にこの胚を2%マルトース溶液にひたし、30分、1時間、2時間、3時間、5時間後における胚の中の糖の組成をしらべた。その結果は図6にあるように胚に吸収されたマルトースまづサツカロースの形で存在し、サツカロースがある程度貯積すると2時間目頃からフラクトースが出現してくる。更に3時間目頃からごく少量のマルトースが存在し、その後グルコースが胚に表われる。

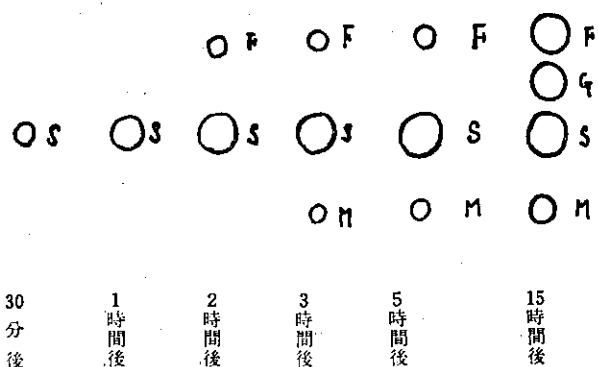


図 6. 餓状態の胚を2% マルトース溶液につけた後胚に出現する糖類

以上のような関係はマルトースの外、サツカロース、グルコース、フラクトースを用いても基本的には全く同様で胚にはつねにサツカロース→フラクトース→マルトース→グルコースの順であられる。ただサツカロースを用いた場合は5時間目にすでに少量のグルコースが検出されるようになることが特徴的である。以上のような関係は胚における糖類の平衡関係について一つの暗示を与えるものと考えられる。

考 察

高等植物の未発芽胚中にラフィノース、スタキオース系列の寡糖類が存在することはすでにオオムギ (1, 3) イネ (8) カラマツ (9) ソラマメ (6) 其の他多くの植物について報告されているが (2)、秋まきコムギ及び春まきコムギにおいても同様な事実が見出された。更にこれらの寡糖類は発芽の進行とともに消失することが報告されているが (3, 6, 8) コムギの発芽胚においても同様の現象がみられた。又現在の実験において春まきコムギと秋まきコムギの胚に存在する糖類には殆んど質的な相違がみられなかつた。以上のような事実から高等植物の胚における炭水化物の代謝に関してはかなり広い範囲にわたって共通性が存在し

種及び品種間の特異性はあまり大きいとは考えられない。

糖の存在及びその代謝に関して胚と胚乳の間には明確な相違がみられる。そしてこれらの相違は貯蔵器官としての胚乳と活潑な生長を営む器官としての胚の生理的特性の相違を物語るものと考えられる。即ち胚では胚乳に存在しないサツカラースの活性がみられる。このことは胚の呼吸にサツカロースが基質として用いられる可能性を示すものである(1)。更に胚乳にはフラクトースが殆んど存在しないのに反し胚では特に発芽2日目以後サツカロースの消失にともない多量のフラクトースがみられる。そして発芽期間を通じてフラクトースの量はグルコースの量とほぼひとしい。これらの事実は胚乳から胚に移行するマルトースやグルコースは胚に入るとただちにサツカロースに変化し、次にこれがサツカラースの作用によつてグルコースとフラクトースに分解されるのではないかと推察される。

次に胚乳では胚に存在しないα-アミラーゼの活性がみられる。このことは胚乳の貯蔵澱粉の分解に有利な条件であることは明かである。胚乳にはマルトース、グルコース更に少量のサツカロースが存在し、これらの糖の間の量的関係は発芽期間中あまり大きな変化を示さない。これらの事実から胚乳から胚に移行する糖類はマルトースとグルコースが主でサツカロースがこれにつくものと考えられる。しかし発芽胚中にはフラクトース、グルコース、マルトース及びサツカロースの間に極めて動的な平衡関係が存在するため、胚乳から胚に移行するこれらつの糖類の間の量的関係は胚の代謝にとつて差別大きな影響を及ぼす要因とは考えられない。なお同様の平衡関係は他の植物の発芽胚においてもみられている(8)。

胚における糖類の平衡関係については餓餓状態の胚にみられるサツカロース→フラクトース→マルトース→グルコースの順の糖の存在が一つの暗示を与えるものである。しかし発芽の進行にともない、マルターゼ

及びサツカラーゼの活性が胚にあらわれるとマルトース及びサツカロースはそれぞれ分解消失するため、胚にみられる糖の平衡関係は外見的には主としてグルコースとフラクトースの間のものとなる。

発芽胚に存在する炭水化物に関して、コムギ種子を 24°C で発芽させ場合、発芽 2 日から 3 日を境として或る質的な変化がみられる。即ち胚における主要な糖は発芽 2 日目まではサツカロースの形として存在するが、3 日目以後はグルコースとフラクトースの形として存在する。このような発芽 2 日から 3 日を境とするコムギ胚の変化は他の代謝系についてもいくつかみられる事実である。即ち胚の呼吸に対する阻害剤の阻害率の変化 (18) や胚の核酸含量の変化 (19) 更に胚の C/N 率の変化 (20) などいくつかみられる。そしてこれらいくつかの変化の様子から外見的に観察されることは発芽 2~3 日を境として発芽前期と後期とでは胚の生理的性質が相違するということである。

即ち発芽 3 日目頃までに胚ではある一定の特性をもつた代謝パターンが形成され、3 日目以後はこの代謝パターンが胚の活潑な生長と関連していくなされる。この新しく形成されてくる代謝パターンの特性は胚の生長に適応したものとして性格づけられるであろう。これに対して発芽 3 日目までのコムギ胚では既存の休眠体制から新しい生長に適した体制への移行がなされるものと考えられる。そこには質的な転換が期待される。即ち種子の結実と更に休眠を通して残存する代謝パターンの特性と生長に適応した代謝パターンの特性とが相等しいとは考え難いからである。以上のような推察により筆者は一つの仮説的な立場からコムギの発芽胚においては発芽 2~3 日を境としてその前期は生理的特性の転換期としての時期であり、後期は新しく形成された体制のもとに実質的な生長が開始する時期であると考えたい。

結 論

発芽コムギの胚及び胚乳中に存在する糖類をペーパークロマトグラフィーの方法によつて研究した。その結果次のような事柄が明らかにされた。

1. 胚には約12種類の糖が発芽期間中時期を異にして存在する。即ち発芽前期にはサツカロース、ラフィノースが主要な糖として又後期にはグルコースとフラクトースが主要な糖として存在する。

2. 胚乳には約6種類の糖が存在するが、そのうちマルトースとグルコースが主要な糖である。

3. 胚におけるいくつかの糖の発芽期間中の含量の変化を定量した。

4. α -アミラーゼ、 β -アミラーゼ、マタルーゼ、サツカラーゼの活性が胚及び胚乳で発芽の進行とともに出現する順序を明らかにした。

5. 胚に存在するラフィノース、スタキオースは α -ガラクトシダーゼの分解方式によつて代謝されることをみた。

6. 胚においてサツカロース、マルトース、グルコース、フラクトースの間に動的な平衡関係の存在することをみた。

最後に発芽コムギ胚の生理的特性について考察した。

文 献

1. T. Schmidhauser: Ber. Schweiz. Bot. Ges. 65, 302. (1955)
2. A. M. MacLeod and H. Mc Corquodale: New Phyt. 57, 168 (1958)
3. A. M. MacLeod: New Phyt. 56, 210 (1957)
4. S. Hattori and S. Hatanaka: Bot. Mag. Tokyo. 71, 845, 717 (1958)
5. S. Ito and H. Takenaka: J. Agr. Sci. Tokyo, Nogyo Daigaku. 4, 1. (1958)
6. J. B. Pridham: Natur 182, 4650, 1687 (1958)
7. S. Pieat and W. J. Whelan and J. R. Turvey: J. Chem. Soc. 23, 17 (1956)
8. 福井俊郎、二国二郎、農化 33巻、1号72 (1959)
9. S. Hattori and T. Siroya: Arch. Biochem. 34, 121 (1951)

10. H. Wanner: Ber. Schweiz. Bot. Ges. 60, 426 (1950)
11. H. Wanner: Ber. Schweiz. Bot. Ges. 62, 205 (1952)
12. Ulrich Heber: Planta 52, 144 (1958)
13. Y. Oota, R. Fujii and Y. Sunobe: Physiol. Plantarum 9, 38 (1956)
14. R. Fujii: Bot. Mag. Tokyo 69, 811, 34 (1956)
15. A. M. MacLeod: J. Inst. Brew. 58, 363 (1952)
16. A. M. MacLeod and I. A. Preece: J. Inst. Brew. 60, 46 (1954)
17. W. Kretovitch: Biochem. J. 27, 1687 (1933)
18. 宇佐美、外: 生物科学 特集号 45 (1955)
19. 寺岡、宇佐美: 生物科学 特集号 15 (1956)
20. 寺岡、宇佐美: 生物科学 特集号 30 (1957)
21. C. S. Hanes: Biochem. J. 23, 99 (1929)
22. A. A. White and W. C. Hess: Arch. Biochem. Biophys. 64, 57 (1956)