

発芽および春化処理過程におけるコムギ 胚の炭水化物代謝

その1 発芽春まきおよび秋まきコムギの各部位における炭水化物の比較

高井 稜 寺岡 宏

CARBOHYDRATE METABOLISM OF WHEAT EMBRYOS DURING THE PERIOD OF GERMINATION OR VERNALIZATION.

I. The carbohydrates in the endosperms, scutella, roots, coleoptiles and foliage leaves of wheat seedlings.

RYO TAKAI HIROSHI TERAOKA

(*Bulletin of Hokusei Gakuen Jnr. College*, 1970, 16.)

Abstract

Free sugars extracted from the endosperms, scutella, roots, coleoptiles and foliage leaves were submitted to chromatography by the ascended method with the use of Toyo No. 51 paper. The solvent used was butyl alcohol : acetic acid : water in the ratio (v/v) of 4 : 1 : 2.

Distribution of carbohydrates in winter wheat seedlings was very similar to that of spring wheat seedlings.

The spring wheats and winter wheats examined in this investigation contained xylose, fructose, glucose, sucrose, maltose and raffinose. Furthermore, they seem to contain small amounts of oligosaccharides of raffinose-stachyose series and maltodextran series. The spots of sucrose and raffinose are much more distinct in the scutella and foliage leaves than in the endosperms, roots and coleoptiles. All parts of seedlings show 6 to 9 chromatographic spots supposed as the oligosaccharides of raffinose-stachyose series. All parts of seedlings show 6 to 8 chromatographic spots supposed to be oligosaccharides of maltodextran series.

As germination proceeds, sucrose is rapidly transported from the scutella to coleoptile, root and foliage leaves in which sucrose may undergo degradation to glucose and fructose.

高等植物種子の発芽時における糖組成の変化および定量についてはすでに豆類^(1~4)、米^(5,6)、エンバク⁽⁷⁾、オオムギ⁽⁸⁾の報告がなされている。またコムギの発芽胚に存在する糖については寺岡等^(9~10)によって研究され、糖組成とその発芽期間中における変化について報告がなされている。本実験は前報⁽⁹⁾の研究を更に発展させるために、春まきコムギと秋まきコムギの糖組成の比較、ならびに各部位における糖の量的関係を明確にし、更に

コムギ胚の発芽および春化処理過程における炭水化物代謝を解明することを目的とするものである。

1. 材料と方法

1.1. 材 料

本実験に用いられた材料は春まきコムギ農林75号 (*Triticum vulgare* L.) および秋まきコムギムカ (*Triticum vulgare* L.) である。これ

らの品種はともに北海道北見農業試験場において1969年に収穫されたもので、1970年4月以降12月までの間実験に用いられた。実験材料は $\frac{1}{1000}$ ウスプルン溶液で滅菌し、適度の水を加え、シャーレ中で暗中、26°Cで発芽させた。本実験には春まきコムギと秋まきコムギの発芽3日の胚を用い、これを胚乳、胚盤、根、子葉鞘および子葉に分離し、各々を使用した。なおデキストリン系列およびラフィノース系列と推定される糖の同定のためには発芽2日の秋まきコムギの胚乳を除いた胚全体を用いた。

1. 2. ペーパークロマトグラフィー用試料の調製

発芽した胚を胚乳、胚盤、根、子葉鞘および子葉に分離し、これをエタノール中に10分間浸漬して代謝をとめる。これを完全に真空乾燥させる。各部位の乾燥重量をはかり、これにシーサンドと乾燥重量の20~30倍の水を加え、10分間磨砕する。このhomogenateを60°Cで湯せんし、糖を十分溶出させてから、3,000 r.p.m.で10分間遠心分離する。homogenateの上澄液を1N酢酸によってpH 5.3に調整し、これを70°Cで湯せんし、タンパク質を分離させる。この溶液を3,000 r.p.m.で10分間遠心分離し、第1段階の除タンパクをおこなう。この上澄液を蒸発皿に入れ45°Cの恒温器中で蒸発乾固させる。この残滓には糖の他に更に少量のタンパク質、アミノ酸および無機塩が含まれているため、ピリジンで数回洗滌し、糖を抽出分離する。このピリジン溶液を10,000 r.p.m.で10分間遠心分離する。この上澄液を65°Cで湯せんし、蒸発乾固させる。この残滓にごく少量の水を加えてとかし、更に7,000 r.p.m.で10分間遠心分離する。この上澄液をペーパークロマトグラフィー用試料(糖混合液)として用いる。

1. 3. ペーパークロマトグラフィーによる展開と発色

ペーパークロマトグラフィーには東洋濾紙No. 51を用い、展開溶媒としてはブタノール:酢酸:水(4:1:2)を用いる。展開は一次元上

昇法によりR_f値の低い点をより明確に分離するために3回多重展開をおこなう。発色試薬としては主に還元糖検出用に、アエリン・クエン酸試薬⁽¹⁶⁾を用いる。またケトース検出用にオルシン・トリクロル酢酸試薬⁽¹⁷⁾を用いる。展回終了後は風乾により溶媒を揮発させ、各々の発色試薬をスプレーし、105°C前後で5分間加熱現像すると、遊離糖類の発色スポットをえる。

1. 4. 糖の同定方法

そのa. キシロース、フラクトース、グルコース、ガラクトース、シュクロース、マルトースおよびラフィノースの各スポット同定には上記の標準糖液を用い、各部位から抽出された糖混合液と対照(同時)展開させる。

そのb. マルトースを含むデキストリン系列と推定される糖の確認には次の方法でデキストリン標準液をつくり、対照展開させた。すなわちデキストリン標準液は1%スターチ溶液を唾液アミラーゼを用いて加水分解し、ヨード反応が赤色になった段階で加熱によりアミラーゼ活性をとめる。この溶液を蒸発乾固後ピリジンで数回洗滌し、糖を溶出させる。この溶液を7,000 r.p.m.で10分間遠心分離し、その上澄液を蒸発乾固させる。この残滓を少量の水で溶かし、これをデキストリン標準液とする。

そのc. ラフィノース⁽¹⁸⁾系列と推定される糖を同定するため、次の方法を用いた。1枚のクロマトグラフィー用濾紙に胚から抽出した糖混合液を同量、隣接するようにして2点つける。これを30枚用意し展開する。展開した1枚の濾紙を縦に2分し、一方はオルシン・トリクロル酢酸試薬で発色

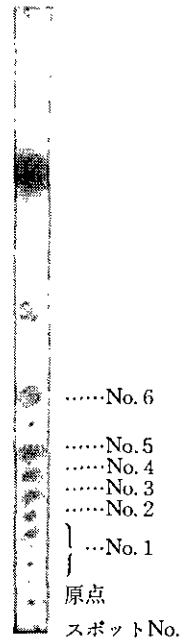


図1 オルシン・トリクロル酢酸試薬による発色(試料は秋まきコムギ発芽2日)

させる。発色により確認された各スポットに対応して原点～No.6までの部分を区別する。(図1) 発色させていないもう一方の濾紙を上記スポット番号にあわせ対照切断する。次に原点～No.6に分類された30枚の濾紙を約10mm×1mmの大きさに切り、ビーカー中の水に浸漬し、30°Cで24時間糖の溶出をおこなう。この糖溶出液をIN-H₂SO₄⁽¹⁹⁾で6時間加水分解する。この溶液をコンゴレッドを指示薬とし、炭酸バリウム⁽²⁰⁾で中和する。この中和溶液を濾過し、加水

分解された糖溶液を得る。この溶液を濃縮し、ペーパークロマトグラフィーで展開し、発色させる。またキシロース、グルコース、ガラクトースの確認のため、これらの標準糖液と対照展開する。フラクトースはオルシン・トリクロル酢酸試薬による発色とR_f値により同定する。

2. 実験結果

1. 2, 1. 3 により春まきコムギと秋まきコムギの胚乳、胚盤、根、子葉鞘および子葉から抽

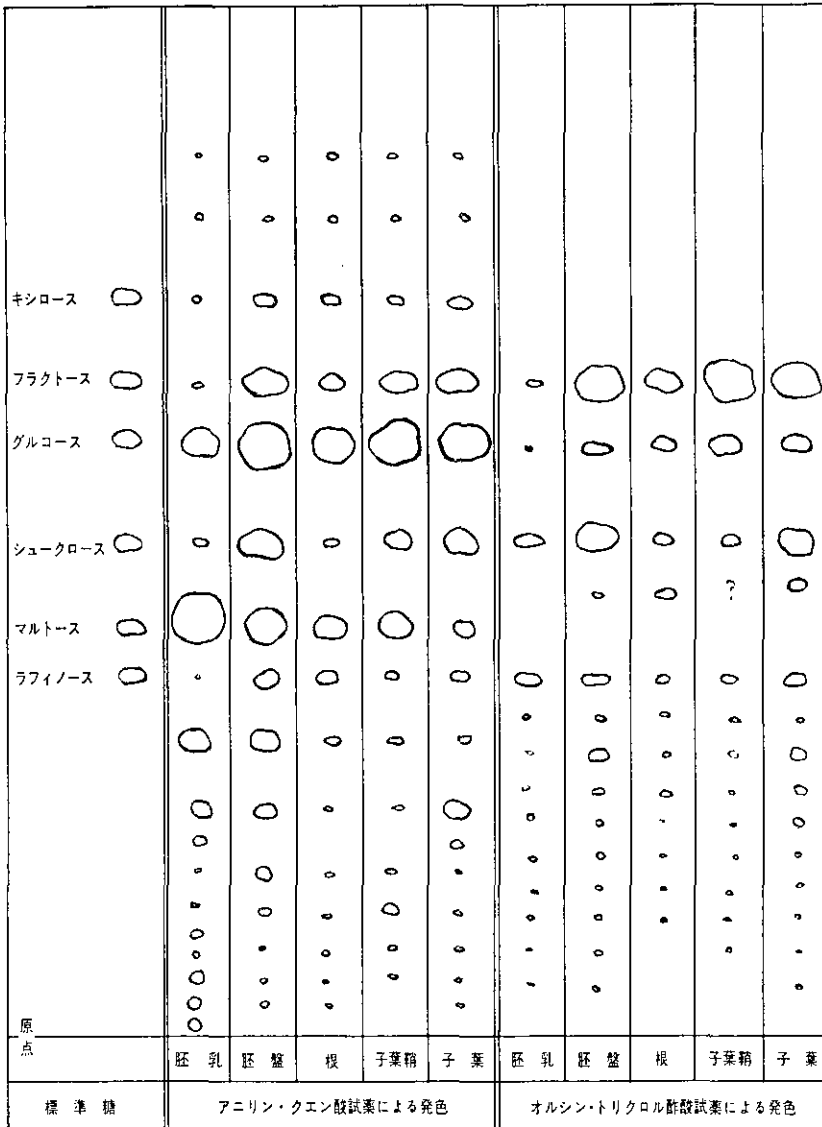


図2 春まきコムギの各部位におけるペーパークロマトグラフィーによる分離と発色

出された糖混合液のペーパークロマトグラフィーによる分離と発色の結果を図2,3に示す。また図2,3に標準糖液のペーパークロマトグラフィーによる分離と発色の結果を併記する。以上の結果発芽器官中に遊離糖としてキシロース、フラクトース、グルコース、シュクロース、マルトースおよびラフィノースの存在することが確認された。ただし、春まきコムギおよび秋まきコムギの各部位にキシロースよりも R_f 値の高い2つの発色点が認められるが、この物質

の同定は行っていない。また春まきコムギの胚盤、根および子葉のオルシン・トリクロル酢酸試薬による発色においてシュクロースとマルトースの間に1つの不明な糖が認められるが、この同定も行っていない。

ラフィノース以下の不明な糖については1,4 Cにしたがってラフィノース系列の糖同定のための実験を行った。すなわち原点～No.6の濾紙より溶出された糖の加水分解産物のクロマトグラフィーによる分離と発色の結果を表1に示

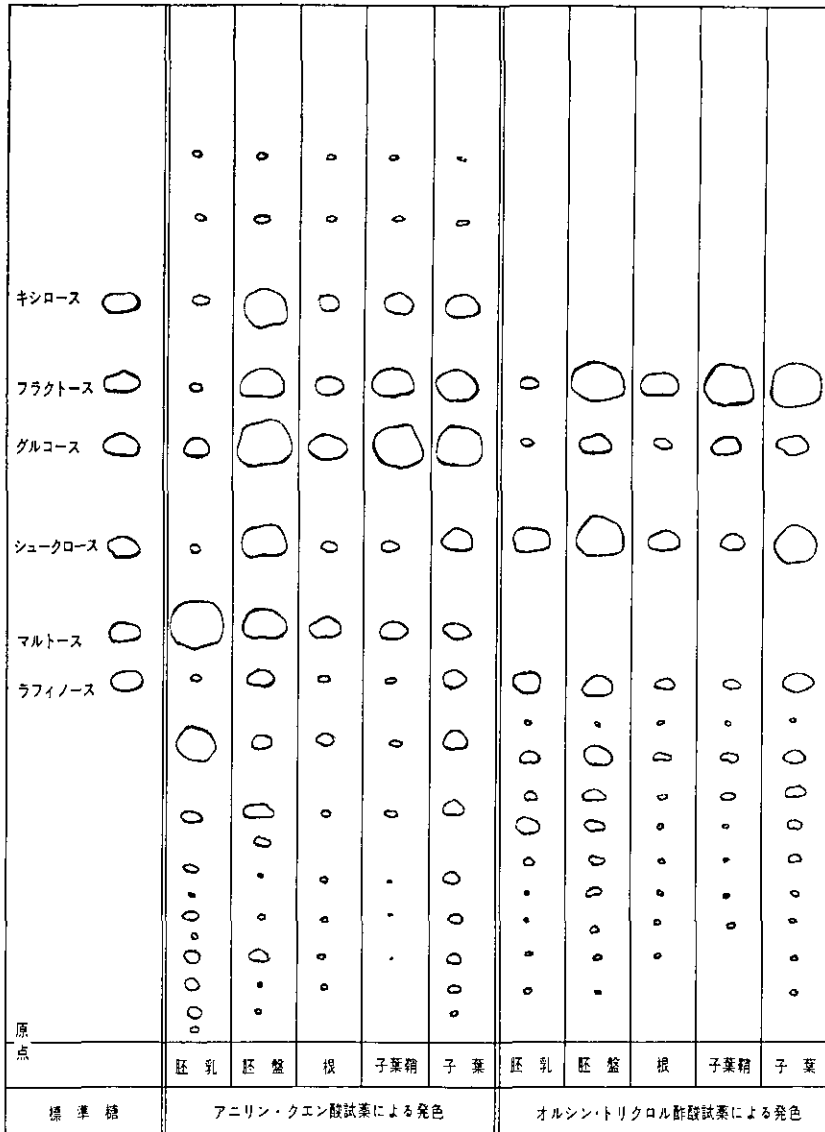


図3 秋まきコムギの各部位におけるペーパークロマトグラフィーによる分離と発色

表1 原点~No.6 部分から溶出された糖の加水分解産物

加水分解産物	原点	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6 *
フラクトース	++	++	+	+	+	+	++
グルコース	++	+	+	+	+	++	++
ガラクトース	+	++	++	+	+	+	++
キシロース	++	+	±	++	±	±	+

* No.6はラフィノース標準液との対照展開により、ラフィノースと同定されている。
 明確に糖の存在が認められるもの(++)
 うすいが糖の存在が認められるもの(+)
 痕跡程度に糖の存在が認められるもの(±)

す。

表1の結果から加水分解に用いられた濾紙の各部分においてラフィノース系列の糖を構成するフラクトース、グルコースおよびガラクトースの存在が認められた。以上の事実からラフィノース、スタキオース、ベルバスコース等のラフィノース系列を構成する糖の存在が推察される。なお酵素的な分解による研究を通して、更にその存在についての確証をえる必要があると思われる。

またラフィノース以下の不明な糖のう

ちデキストリン系列の糖同定のために1.4.bにしたがって実験をおこなった。その結果を図4に示す。

図4の結果から秋まきコムギ発芽2日の胚部分にマルトース以下8ケのデキストリン系列と推定される糖の存在することが明らかにされた。これらの実験結果はW.J. WHELANによる報告⁽²¹⁾と類似性をもつものである。

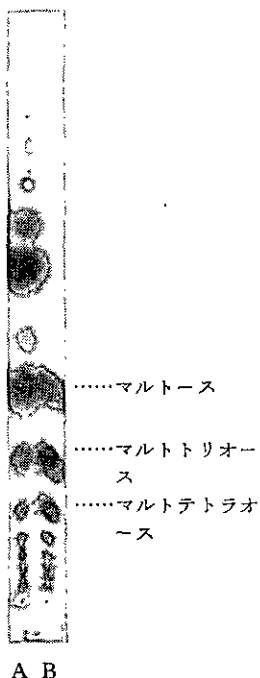


図4 アニリン・クエン酸試薬による発色
 A: 秋まきコムギ発芽2日試料
 B: デキストリン標準液

3. 考 察

発芽コムギの胚乳、幼根および幼芽部におけるスタキオース、マルトース、シュークロース、グルコースに関しては松下⁽¹⁴⁾による定量値が報告されている。松下による使用コムギの品種ならびに発芽日時は本実験に用いられたものと相違しているが、一般的な糖の存在様式については、本実験の結果との間に類似性が認められる。しかし胚乳においてグルコース含量がマルトース含量より多いことは本実験の結果と相違する。

本実験において明らかにされた春まきコムギと秋まきコムギの発芽種子の糖の存在を比較すると、両者にいちじるしい相違は認められない。しかしシュークロースと他の oligosaccharide の存在において多少の相違が認められた。すなわちシュークロースおよび他の oligosaccharide スポットは春まきコムギよりも秋まきコムギが大きく、特に胚盤、子葉において顕著である。また春まきコムギの胚盤、子葉のオルシン・トリクロル酢酸試薬による発色において、シュークロースとマルトースの間に1つの不明な糖⁽¹⁴⁾の存在が認められた。GRZESIUK S., 等の報告によるとコムギ発芽胚において glyco-difuctose の存在が認められているが、この不明な糖がこれに相当するか否かは明らかでない。ただし R_f 値の観点から、その可能性については否定的である。

次に各部位に存在する糖を比較すると、胚乳に存在する糖は他部位に比べ、マルトースおよ

びマルトトリオースと推定されるスポットが特に大きい。また単糖類およびシュクロースのスポットは他部位に比べ小さいのに反比例してデキストリン系列と推定される糖のスポットが大きい。胚乳を除いた他の4部位を比較すると、胚盤と子葉、根と子葉鞘はそれぞれ類似した大きさの糖スポット分布をしめす。すなわち胚盤と子葉のシュクローススポットは他部位に比べ大きく、デキストリン系列およびラフィノース系列と推定される糖スポットも根、子葉鞘に比べより顕著にその存在が認められる。また単糖類スポットの大きいのも特徴である。これらのことから胚盤および子葉では糖代謝に関係する酵素により、糖の合成ならびに分解がさかんにおこなわれていることが推察される。また根と子葉鞘においても単糖類スポットは大きく、またラフィノースおよびイソマルトテトラオースと推定される糖よりも R_f 値の低い糖は痕跡程度の存在が認められるのみである。この部位においては糖合成よりもインベルターゼおよびガラクトシダーゼ⁽⁵⁾による糖の分解がさかんにおこなわれていると推察される。

また発芽初期のコムギ胚に存在するラフィノース系列およびデキストリン系列と推定される糖は発芽にともない次第に消失していく。このことは各部位において共通に観察される。PALMER G.H.^(16,9)等によれば、ラフィノースはガラクトシダーゼによりシュクロースとガラクトースに分解され、ガラクトースは epimerize 過程においてグルコースに変化し、更にその1部はフラクトースへと変化することが報告されている。以上のことからラフィノース系列と推定される糖はシュクロースとともに、コムギ発芽胚における生長のためのエネルギーとして用いられることが推察される。

またマルトースおよびデキストリン系列と推定される糖は、細胞内におけるグルコースの貯蔵としての機能を果していると推定される。同様にラフィノース系列と推定される糖はガラクトースの貯蔵としての機能を果していると推察される。

また1.4.C原点付近およびスポット No.3の部分の加水分解産物中にキシロースの存在が認められた。この事実については高等植物に普遍的に存在するキシラン系列の糖の分解によるものと推察される。

今後の研究課題として発芽胚にみられる糖の存在様式と春化処理過程におけるそれとの比較があげられる。更に各糖の定量を通して発芽および春化処理過程における糖の存在様式を代謝的に解明していくことがあげられる。

4. 結 論

1. 春まきコムギと秋まきコムギに共通してキシロース、フラクトース、グルコース、シュクロース、マルトースおよびラフィノースが存在する。
2. 春まきコムギと秋まきコムギの各部位にラフィノース系列と推定される糖が6~9種類存在する。
3. 春まきコムギと秋まきコムギの各部位においてデキストリン系列と推定される糖が6~8種類存在する。
4. 胚乳にはデキストリン系列と推定される糖が多く存在し、そのスポットは大きい。
5. 胚盤および子葉においてはラフィノース系列と推定される糖が多く存在し、そのスポットは大きい。
6. コムギ胚に存在するラフィノース系列の糖はインベルターゼおよびガラクトシダーゼの分解方式によって代謝されることが考察された。

本実験を行うにあたり、春まきコムギおよび秋まきコムギを提供して下さった、北海道北見農林試験場に対し、あつく御礼申し上げます。

引 用 文 献

- 1) PRIDHAM, J.B.: 1958, *Nature*, 182 1687.
- 2) W. KORYTNYK., and E. METZLER: 1962, *Nature*, 195 617.
- 3) TADASHI KASAI, et al.: 1966, *Kagawa Daigaku Nogakubu Gakuzyutu Hokoku*, 18 (1)

- 9~15.
- 4) MAKIO MORITA., et al. : 1967, *Agr. Biol Chem.*, **31** 314~318.
 - 5) 福井俊郎, 二国二郎: 1959, 農化誌 **33** 72.
 - 6) IAN. C. MACRAE., and TERESITA F. CASTRO: 1966, *Phyton, (Buenos Aires)* **23** 95~100.
 - 7) 高橋美帆, 下村得治: 1967, 栄養と食糧 **19** 361~364.
 - 8) R.D. HALL., and G. HARRIS: 1956, *J. Inst. Brew.*, **62** 232.
 - 9) 寺岡宏: 1960 北星短大紀要 **8** 62~77.
 - 10) GRZESIUK., S. and K. KULKA: 1962, *Acta. Soc. Bot. Polon.*, **31** 83~93.
 - 11) AGINYAN, A.A. and S.M. MINASYAN: 1965, *Izv. Acad. Nauk. Arm. SSSR. Biol. Naok.*, **8** 35~40.
 - 12) I.M. GEVORKYAN: 1965, *Dokl. Akad. Nauk. Arm. SSSR.*, **41** 59~64.
 - 13) TRIONE, EDWARD J.: 1966, *Plant physiol.*, **41** 277~281.
 - 14) 松下あや子: 1967, 農化誌, **41** 646~653.
 - 15) PALMER, G.H.: 1969, *JINST. BREW.*, **75** 505~508.
 - 16) A.A. WHITE., and W.G. HESS: 1956, *Arch. Biochem. Biophys.*, **64** 57.
 - 17) KLEVESTRAND, R., and NORDAL, A.,: 1950 *Acta. Chem. Scand.*, **4** 1320.
 - 18) TRENCH, D., and WILD, G.M.,: 1953, *J. Am. Chem. Soc.*, **75** 2612.
 - 19) T. MAN, F.R.S., and A.W. MARTIN: 1970, *Proc. Roy. Soc. Lond.*, **175** 31~61.
 - 20) 赤堀四郎編: 1957, 実験化学講座, **23** 241.
 - 21) W.J. WHELAN: 1962, *Methods in Carbohydrate Chemistry.* **1** 321~324.