

# 発芽および春化処理コムギ胚の代謝活性におよぼす温度の影響

寺 岡 宏

種子の発芽には、外的要因として水分の供給とともに温度条件が重要な要因として作用する。すなわち、吸水によって種子内部の代謝系が活性化されるが、このとき種子の生理的活性を量的に規定するもの、および発芽の進行にもなり代謝系の発現を質的に規定する主要な要因として温度が作用する。とくに秋まきコムギにおいては、発芽過程においてその伸長生長を抑制する2~4°Cの低温が花芽形成にいたる発育を促進する主要な要因として作用することから、胚の代謝系におよぼす低温の影響が種々の観点から研究されてきた。

以上の研究の継続として、春化処理および、発芽秋まきコムギ胚の代謝系の特性を解明することを目的として、これらの胚が2~40°Cの温度条件のもとで示す生長速度、呼吸活性、およびタンパク質合成速度等を比較した。

本論文においては以上の実験結果を報告する。

## 材 料 と 方 法

材料 本実験に用いた材料は、北海道北見農業試験場において栽培された秋まきコムギ、赤サビ不知1号 (*Triticum aestivum* var. Akasabishirazu No.1) で、収穫の年の翌年1月から12月までの間に実験に用いた。この品種は秋まき性が強く、春化処理の完了のためには約2°Cの低温処理を60日間以上必要とするものである。この期間中胚は徐々に伸長し、60日目には6~9mmの長さになる。これは26.5°C発芽の胚に比較すると、発芽48時間を経過したときの胚の長さとはほぼ一致する。以上の理由から、春化処理60日の胚に対する対照として、26.5°Cにおける48時間発芽の胚を主に用いた。

方法 発芽および春化処理の方法は前報によるものにしたがった。

種々の温度における生長速度を測定するためには、±0.5°Cの低温恒温器を用い胚10ケの値によって、計算した。

種々の温度における胚のO<sub>2</sub>吸収量とCO<sub>2</sub>排出量は±0.5°Cの恒温水槽においてワールブルグ検圧法を用いて測定した。

胚からのタンパク質の抽出は1%食塩水を用い基本的には前報の方法を用いた。またアミノ酸、ペプチド類は1%食塩水抽出液に最終濃度1%になるようにトリクロル醋酸を加え、凝固物を遠心分離によって除去した後の上澄液におけるN量からこれを求めた。またアミノ酸の分画は、胚の上記上澄液を日立034型アミノ酸自動分析装置を用い規定の方法にしたがって行なった。

胚の抽出液のN量の定量はLOWRY法を用い、カリブレーションカーブは、ウシ血清タンパク質によるものを用いた。

## 結 果 と 考 察

### 1. 胚の温度・生長曲線

発芽48時間の胚(G-2と略す)と春化処理60日の胚(V-60と略す)の生長を2°C, 7°C, 12°C, 17°C, 21.5°C, 26.5°C, 29°C, 33°C, 38°Cの温度条件のもとで比較した。図1は各温度下における48時間中の胚の伸長量(mm)、図2は各温度下における48時間中の胚1ケの生体重量の増加量(mg)を示す。

以上の結果から、29°Cにおいて発芽および春化処理胚のいずれの場合にも、最大生長速度が観察される。また発芽胚に比べて春化処理胚では、胚の伸長および生体重量増加のいずれの場合においても生長速度は低下する。春化処理

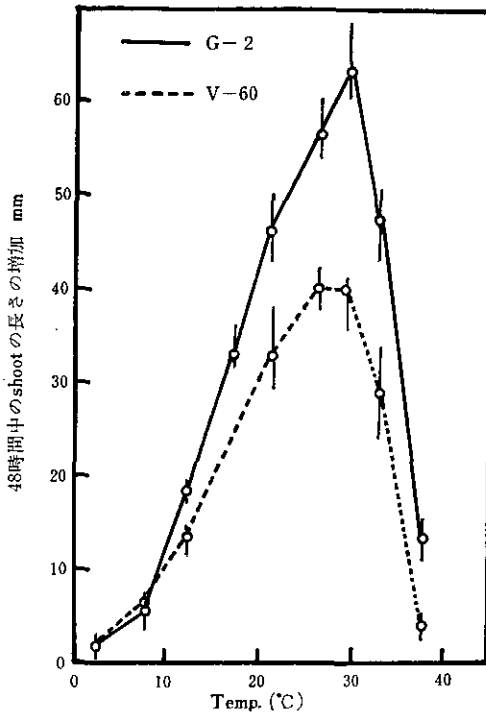


図1 発芽2日目の胚と、春化処理60日の胚の温度・生長曲線  
(各温度における48時間中の子葉の伸長)

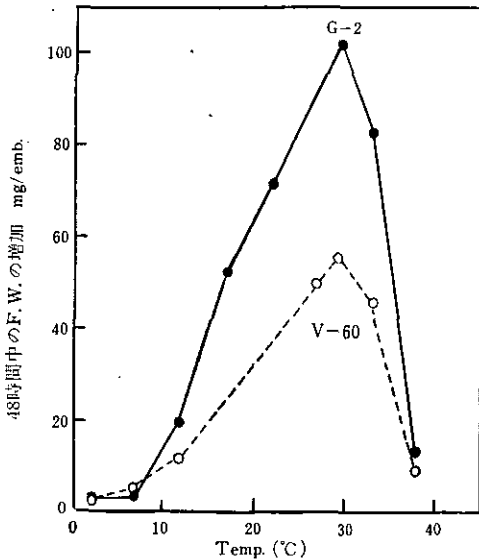


図2 発芽2日目の胚と春化処理60日の胚の温度・生長曲線  
(各温度における48時間中の胚の生体重量の増加量)

表1 発芽胚および春化処理胚における子葉鞘の最大伸長量および子葉鞘構成細胞の長軸方向の長さ

胚	子葉鞘の最大の伸び (mm)	細胞の長軸方向の長さ ( $\mu$ )		
		子葉鞘先端部	子葉鞘中間部	子葉鞘基部
発芽胚	59.0	210	375	270
春化処理胚	28.0	105	210	165

によって、胚の生理的状態として生長抑制的な要因の蓄積、または生長促進的要因が減少することが推察される。この点に関連する一つの現象として子葉鞘の最大伸長の度合いが春化処理によって低下し表1にみられるように、発芽胚の50%に相当する長さにしかな春化処理胚では子葉鞘が伸長しないことがあげられる。

オーキシンなどの植物ホルモンが植物細胞壁に作用して、その伸長度を増大する役割をもつことを前提とするとき、春化処理胚における子葉鞘伸長および伸長速度の低下は、生長に関与する植物ホルモン含量の減少がその一つの要因として作用することが推察される。表1にみられる様に子葉鞘を形成する細胞の長軸方向の長さが、春化処理胚では発芽胚に比較して短縮している事実も上記の推察を支持するものと考えられる。

## 2. 胚の呼吸活性と温度との関係

発芽24時間胚 (G-1)、48時間胚 (G-2)、春化処理60日胚 (V-60) の2~40°Cにおける $O_2$ 吸収量およびRQの値を比較した。

以上の結果、各胚とも40°C付近まで $O_2$ 吸収量は直線的に増加してゆくこと、また、 $CO_2$ 排出量も直線的に増加し、その増加率は $O_2$ の増加率よりも高いため呼吸のRQ値は温度の上昇につれ、ほぼ直線的に増加してゆくことが明らかにされた。温度の上昇につれ、とくに胚乳部分においてアルコール発酵が急激に増加してゆくことが発芽種子の観察からみとめられる。それゆえ、胚における $CO_2$ 排出量の増加についても、胚の中の炭水化物の酵素的な分解が、温度の上昇にともない急激に増加してゆくことによるものと考えられる。とくに温度によるRQの増加傾向はG-2に比べてG-1の胚が強

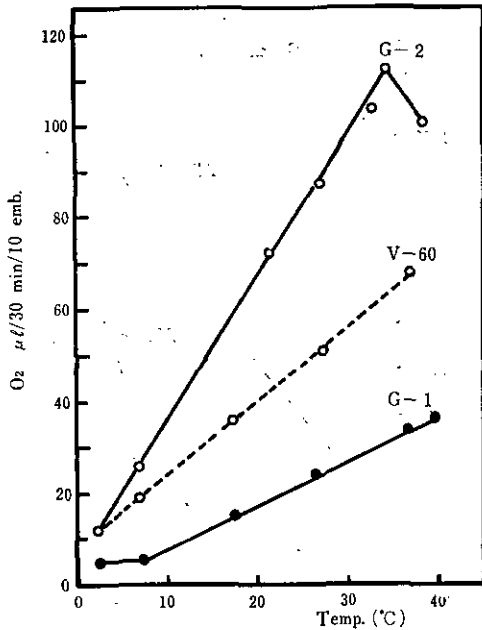


図3 発芽1日 (G-1), 2日 (G-2), 春化処理60日 (V-60) 胚の O<sub>2</sub> 吸収量

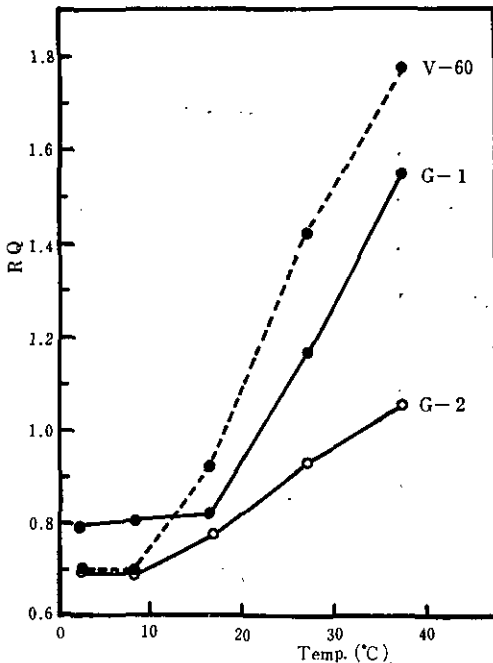


図4 発芽1日 (G-1), 2日 (G-2), 春化処理60日 (V-60) 胚の RQ 値

く、V-60の胚がこの点についてはG-1の特徴をそなえ、G-2の胚と生理的な点において相違していることがわかる。

表2 発芽2日 (G-2) 胚および春化処理60日 (V-60) 胚における伸長生長、生体重量増加に要するエネルギー量 (cal)

	胚	生長 温度			
		2°C	12°C	22°C	32°C
胚1ヶの1mm伸長に要するエネルギー (cal × 10 <sup>-3</sup> )	G-2	510	110	75	102
	V-60	450	222	64	102
胚の生体重量1mg増加に要するエネルギー (cal × 10 <sup>-3</sup> )	G-2	255	100	49	59
	V-60	354	123	57	63

以上の温度・生長曲線にみられた各温度における生長速度と、各温度における胚の O<sub>2</sub> 吸収量をもとにして、胚1ヶ当り1mmの伸長に要するエネルギー量 (cal)、および胚が生体重量を1mg増加させるために必要とするエネルギー量 (cal) を、2°C、12°C、22°C、32°Cの条件下におかれた胚について求めた。この計算において、炭水化物、タンパク質、脂質がそれぞれ呼吸基質として用いられる場合、吸収される O<sub>2</sub> 1 cm<sup>3</sup> 当り、約 5.0 cal、5.0 cal、4.7 cal のエネルギー発生を示すことを基礎として、今回は、すべて吸収される O<sub>2</sub> 量 1 cm<sup>3</sup> 当り 5.0 cal のエネルギーの発生があるものと仮定した。

表2の結果から生長に要するエネルギー量は、発芽温度によって相違し 22°C (計算の結果では 22~27°C の範囲) で最少となり、生長にとってエネルギー的に最も効率のよい温度条件であることが明らかにされた。種子の発芽がとくに、発芽適温以下の条件下で進行する場合、温度が代謝の活性化を十分に実現しないことがあげられるが、しかしこの外に生長に対するエネルギー効率の低下という事実が生長速度をおくらせる要因として作用するものと考えられる。

なお呼吸基質を炭水化物のみと仮定して計算するとき、発芽胚が胚の乾燥重量 100 μg を増加させるためには、2°C においては 60 μg、22°C においては 12 μg の炭水化物を呼吸によって分解することが必要とされる。同様の関係は春化処理胚においても認められる。このように低温条件のもとでの生長は物質的な効率におい

てもきわめて低いものであることがわかる。

### 3. 発芽胚および春化処理胚におけるタンパク質の合成速度

秋まきコムギが 26.5°C で発芽する期間と、2°C での春化処理期間での胚におけるタンパク質の合成速度を比較するため、胚の Homogenate を次の3つの分画にわけた。

Alubumin: 水ですりつぶした胚の Homogenate の成分のうち3%トリクロル醋酸で凝固沈澱するもの。

Globulin: 水にとけず1%食塩水にとける胚の抽出液の成分のうち3%トリクロル醋酸で凝固沈澱するもの。

TCAsol: 水ですりつぶした胚の Homogenate の成分のうち、3%トリクロル醋酸で凝固沈澱しないアミノ態窒素化合物。

図5、図6に発芽過程および春化処理期間中における上記3成分の胚20ヶ中の含量の変化を示す。

以上の結果から、発芽および春化処理期間中の Alubulin, Globulin, TCAsol. 分画の各平均合成速度を比較した。すなわち各分画の1時間当り、胚生体重量 1 mg 当りの平均合成速度を、発芽2~3日 (G 2~3 と略す)、3~5日 (G 3~5 と略す) の期間および春化処理 30~50日 (V 30~50 と略す) の期間について求めた。

表3の TCAsol. 分画はアミノ酸およびペプチッドを含み、これらの数値は、かならずしも胚の中で合成されたものとは限らず、胚乳から胚盤をとおして胚へ移動した遊離アミノ酸量をふくんでいる。それゆえ、TCAsol. 分画の値は平均合成速度よりは平均蓄積速度と考えた方がより適切であるが、便宜的に同一の表にまとめた。表3の数値から 2°C と 26.5°C の温度差において Alubumin, Globulin の合成速度には約 4~11 倍の差が生ずることが明らかにされた。これらの値を一義的に呼吸活性と比較することは問題があるが、しかしタンパク質合成速度を規定する一つの要因として呼吸活性をあげることができるであろう。呼吸活性は 2°C に対して 26.5°C では発芽胚において約 7.3 倍

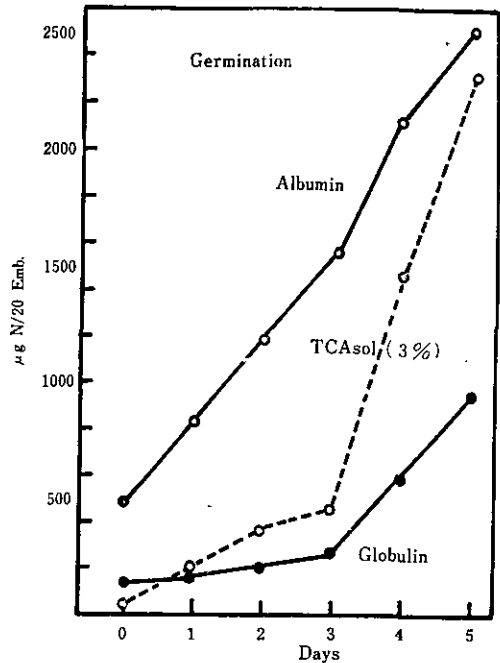


図5 発芽過程における胚のアルブミン、グロブリン、3%トリクロル醋酸可溶性 N 化合物の含量 (胚 20 ヶ中の N 量)

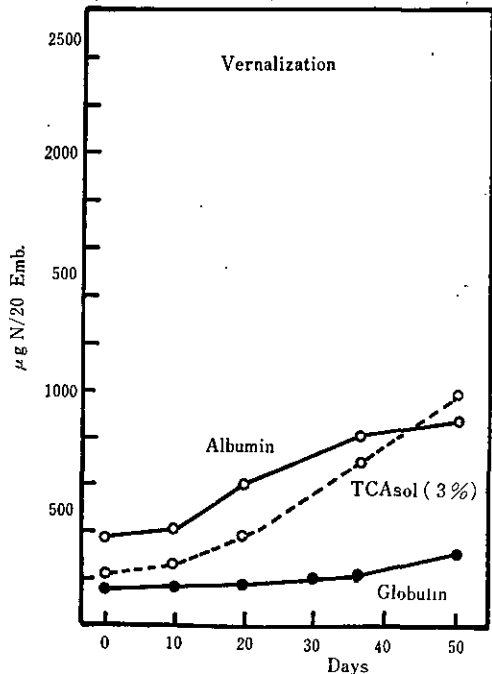


図6 春化処理期間中の胚のアルブミン、グロブリン、3%トリクロル醋酸可溶性 N 化合物の含量 (胚 20 ヶ中の N 量)

表3 発芽および春化処理過程における胚の平均タンパク質合成速度  
(生体重量 1 mg 当り 1 時間の合成量  $\mu\text{g}$ )

	平均合成速度 $\mu\text{g}/\text{F. W. mg/hr.}$			G-2~3 V-30~50	G-3~5 V-30~50
	発芽 2~3 日 (G-2~3)	発芽 3~5 日 (G-3~5)	春化処理 30~50 日 (V-30~50)		
アルブミン	198	83	20	9.9	4.2
グロブリン	33	57	5	6.6	11.4
3%トリクロル醋酸可溶性 N 量	61	161	38	1.6	4.2

(胚の生体重量は G-2~3, 25.6 mg, G-3~5, 75 mg, V-30~50, 9.8 mg を計算に用いた)

の値を示し、タンパク質合成速度にみられる変動中のほぼ中間的な値をしめるものである。

次に春化処理 60 日 (V-60) の胚と 26.5°C 発芽 48 時間 (G-2) の胚を用い、これらの材料を 2°C~40°C の温度条件で 48 時間発芽を継続させ、この時間中に増加したタンパク質量 (前記の Albumin と Globulin 含量の和) と 1% トリクロル醋酸可溶性・アミノ態窒素化合物 (TCAsol.) の量を定量した。

なお図 7, 8 において V-60 の値は 2°C で 48 時間、発芽を進行させた材料についての値を基準とし、この値に対しての各温度で発芽させた V-60 胚での値の増加分を用いた。

V-60 胚のタンパク質値をのぞいて、他のす

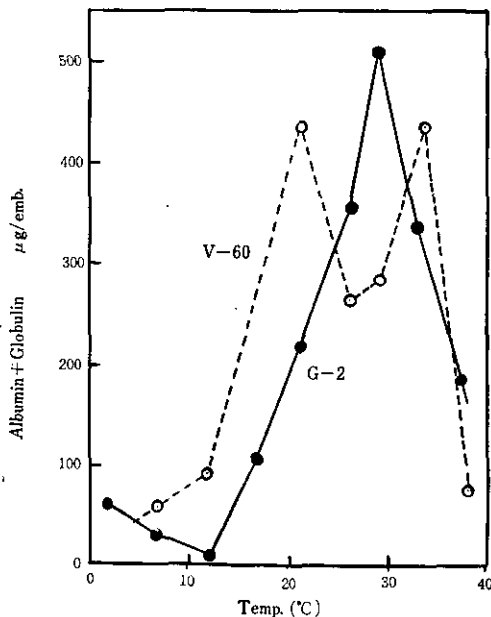


図7 発芽 2 日 (G-2) 胚と春化処理 60 日 (V-60) 胚の 48 時間中のタンパク質増加量

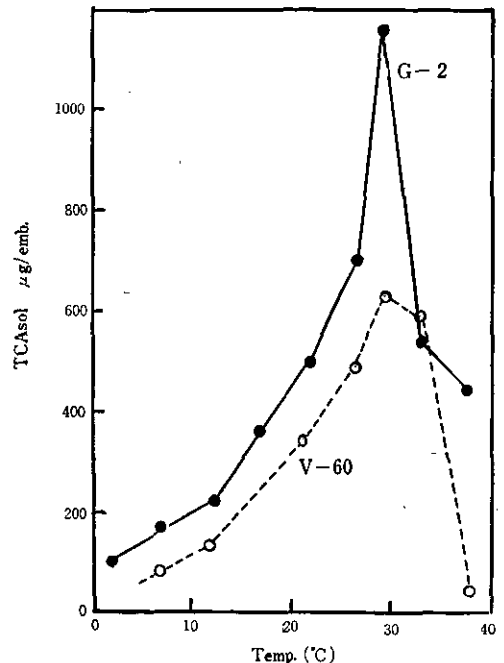


図8 発芽 2 日 (G-2) 胚と春化処理 60 日 (V-60) 胚の 48 時間中の 1% トリクロル醋酸可溶性 N 化合物の増加量

べての場合、最高の増加が 29°C で観察されこれは、胚の生長の最適温度と一致する。

V-60 胚ではタンパク質合成の最大増加を示すピークが 21.5°C と 33°C の 2ヶ所にみられ、G-2 胚のカーブとの間に大きな相違がみられた。この性質が、両者の胚の生理的な特性の相違にもとづくものか、あるいは実験上の何らかの Artifact な要因に帰因するものか更に詳細な検討を加えてゆきたい。

#### 4. 発芽胚および春化処理胚におけるアミノ酸含量の比較

春化処理 60 日 (V-60) の胚と、26.5°C 発芽

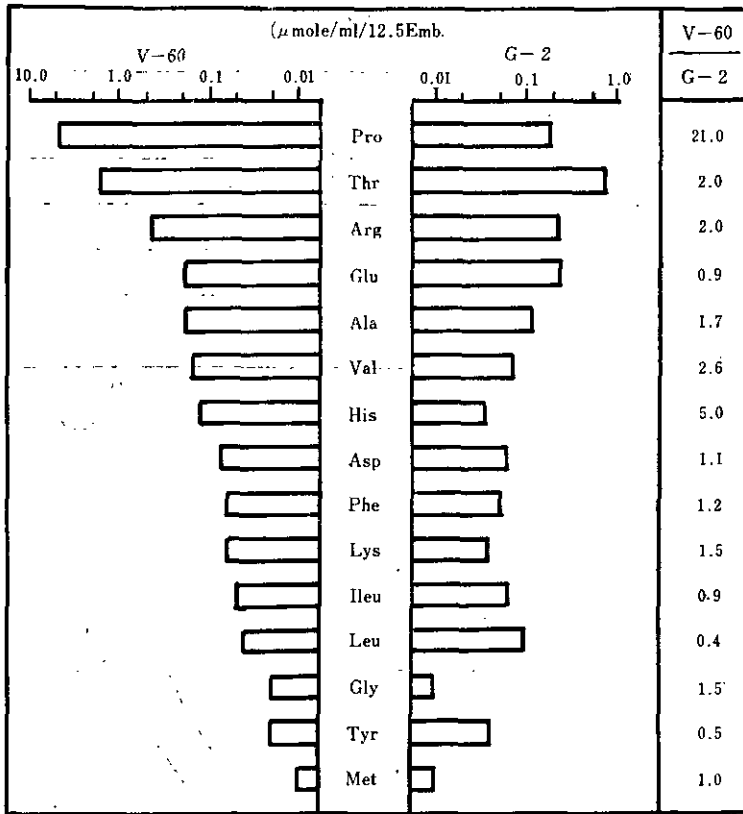


図9 発芽2日胚と春化処理60日胚における遊離アミノ酸含量の比較

48時間 (G-2) の胚を用い、胚の遊離アミノ酸含量の比較をおこなった。

図9の結果から、春化処理期間中の特徴として、プロリン含量が増加し、発芽胚に比較して20倍の含量に達することがみられた。このほか、ヒスチジン、アルギニン、バリン、スレオニン等の蓄積が春化処理でみられる。

春化処理期間中におけるプロリン含量の増加については、すでに MARKOWSKI *et al.*<sup>6)</sup>、TRIONE *et al.*<sup>7)</sup>、SHIOMI and HORI<sup>8)</sup> によって報告され、それは春化処理過程を特徴づける一つの指標とみなされている。<sup>9)</sup> しかしその生理的意義については明らかではないが、その一つの可能性としてプロリンはヒドロキシプロリンの前駆物質として作用し、植物細胞の細胞壁にはヒドロキシプロリンをふくむタンパク質が構成成分として存在することが知られている。<sup>10~12)</sup>

以上のことからプロリンは細胞壁の合成と関係する物質であることが推察される。CLELAND

and KARLSNES<sup>13)</sup>によれば、*hydroxyproline-containing protein* は植物細胞において細胞の伸長を停止させる要因の一つとして作用する。以上の点を考察するとき、本実験において、春化処理胚において、子葉鞘の伸長や、子葉鞘を形成する細胞の長軸方向への伸長が、発芽胚のそれらに比較していちじるしく低下している事実と、春化処理胚にみられるプロリン含量のいちじるしい蓄積は CLELAND and KARLSNES<sup>13)</sup>の見解と関連する事実と考えられる。プロリンの蓄積をとおして、細胞壁構成タンパク質の組成変化がおこり、これが伸長生長に対してマイナス要因として作用するもの

とすれば、春化処理胚にみられる生長速度の低下は、かならずしも代謝活性や生長促進物質の低下のみに帰因するものと結論づけることはできないであろう。

## 結 論

発芽胚 (G-2) と春化処理胚 (V-50) の生理的特性を比較するための一つの方法として、2~40°C におけるそれぞれの胚の生長量、呼吸活性、タンパク質合成速度等の比較をおこなった。その結果次の点を明らかにすることができた。

1. G-2, および V-50 の胚では生長の最大は29°C においてみられた。しかしV-50 胚は G-2 胚に比べて、生長速度は低下し、子葉鞘の最大伸長の度合いも低下する。
2. G-2 および V-50 胚ともに 2°C から40°C 付近まで O<sub>2</sub> 吸収量は直線的に増加する。また RQ の値も温度の上昇に比例

して増加する。RQ 値の温度変化については V-50 胚は G-2 胚よりも G-1 胚により類似した性質を示す。

3. 胚の 1 mm 伸長または生体重量 1 mg 増加に要するエネルギー量を計算した。その結果、胚の生長が 22~27°C の範囲においておこなわれるときに最もエネルギー効率が高いこと、また生育温度が低下するに従い、生長のためのエネルギー率は低下することがわかった。
4. 春化处理期間中に比較して発芽期間中の胚では、4~11 倍の平均速度でタンパク質の合成がおこなわれることが明らかにされた。
5. G-2 胚、V-50 胚ともにタンパク質合成の最高は 29°C で観察された。温度とタンパク質合成速度との関係については、G-2 胚と V-60 胚の間で顕著な相違がみられた。
6. 発芽胚に比較して春化处理胚では、プロリンのいちじるしい蓄積が特徴的である。さらに、ヒスチジン、アルギニン、バリン、スレオニン等の春化处理胚での増加がみとめられた。

## 文 献

- 1) TERAOKA, H.: *Plant and Cell Physiol.* 14: 1053-1061 (1973).
- 2) TERAOKA, H.: *Plant and Cell Physiol.* 8: 87~95 (1967).
- 3) 寺岡: 北星短大紀要 8: 13-24 (1962).
- 4) *Instruction manual for O34 Liquid Chromatograph, Analytical Procedure.* Hitachi Ltd, Tokyo.
- 5) LOWRY, O. H., *et al*: *J. Biol. Chem.* 193: 265-275 (1951).
- 6) MARKOWSKI, A., *et al*: *Bull. Acad. Pol. Sci. Ser. Sci. Biol.* 10: 145-150 (1962).
- 7) TRIONE, E. J., *et al*: *Phytochem.* 6: 85-91 (1967).
- 8) SHIOMI, N. and S. HORI: *Ann. Rep. Rad. Ctr. Osaka.* 12: 98-102 (1971).
- 9) STE-MARIE, G. and P. WEINBERGER: *Can. J. Bot.* 48: 671-681 (1970).
- 10) DOUGALL, D. K. and K. SHIMBAYASHI: *Plant Physiol.* 35: 396-404 (1960).
- 11) OLSON, A. C.: *Plant Physiol.* 39: 543-550 (1964).
- 12) KING, N. J. and S. T. BARLEY: *J. Exptl. Bot.* 16: 294-303 (1965).
- 13) CLELAND, R. and A. M. KARLSNES: *Plant Physiol.* 42: 669-671 (1967).