

コムギ春化处理に影響をおよぼす 諸要因について

寺 岡 宏

著者は、コムギ春化处理の生理的機構の解明を目的として、従来コムギ発芽胚および低温処理胚における代謝系の特性を研究してきた。その結果、低温処理によってタンパク質代謝やヒストンの組成などに特徴的な変化が観察され、春まきコムギの代謝系に類似した方向えの変化が秋まきコムギ低温処理胚に誘発されることを見出した。しかし、胚の代謝レベルで観察される生理的現象と生育個体における花芽形成・出穂といった春化处理による最終効果との間には多くの未解決の問題が残されているのが現状である。それゆえ両者をつなぐ糸口を見出すことは高等植物における発育生理学における重要な課題とされている。以上の観点から今回の研究においては、秋まきコムギにおける花芽形成・出穂に直接関連する要因を解明することを目的として実験が行なわれた。

また、春化处理効果の判定は、生育個体における出穂の有無によってなされるものである。しかし、春化处理の効果を定量的に扱うためには、出穂の有無という定性的な形質にかわって、定量的な扱いに適した形質をえらぶことが求められる。この目的のために本研究では、生育個体が出穂にいたるまでに形成する葉数を用い、春化处理効果の定量的な観察を行なった。

以上が本研究の目的と方法上の特徴として指摘される事柄である。

材 料 と 方 法

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号および春まきコムギハルミノリで、収穫の年の翌年1月からその年の12月までの間に実験に用いられた。

秋まきコムギ赤サビ不知1号は、秋まき性の最も強い品種（Ⅶ段階）で、春化处理の完了の

ために約2℃の低温処理を60日間以上必要とするものである。春まきコムギハルミノリは低温要求性の最も低い品種（Ⅰ段階）であり、長日条件下で生育するとき低温の影響なしに出穂がみられる。

発芽および春化处理の方法は前報(1)にしたがった。発芽および春化处理を行なった種子や培養胚は、約10cm程度の伸長の後内径16cm高さ20cmのポットに植えかえ、コイトロンの中で生育をつづけさせた。1ポット当り硫酸アンモニウム1g、過磷酸石灰1g、硫酸カリウム0.5gを肥料として加えた。コイトロン内は光の照射時は約8,000ルクス、温度26℃、暗期は温度19～20℃に保たれた。

胚培養には、発芽または春化处理種子から胚を切除し、これを1.5%サッカロース、0.75%アガールを含むMurashige and Skoogの培養液(2)を基調として、他に目的に応じて必要な物質を加えた培地で生育させた。培養期間は4～5日間で、約7℃の暗所に保った。

胚浸出液の作り方、発芽2～3日目の胚を用い、これを胚盤の面にほぼ平行になるように胚の生長点をふくむ面のスライスをつくった。スライスの厚さは約0.5mmで1ヶの胚から2～3ヶのスライスをつくった。これをM/100pH6.0の磷酸緩衝液に入れ5℃で20時間放置し、その後6,000r.p.mで遠心分離し、その上澄液を胚浸出液として用いた。

結 果 と 考 察

1. 低温処理日数と生育個体における出穂にいたるまでの葉数

14時間明期・10時間暗期の長日条件のもとで春化处理40日～60日の種子を発芽生育させ、出穂の有無と出穂にいたるまでの葉数をしらべた(表1)。

表1. 低温処理日数と出穂までの葉数

| 処理日数 | 出穂までの葉数 (平均) | 所要日数 | 日数/葉 |
|--------|--------------|------|------|
| V - 40 | 13-16 (14) | 110 | 7.9 |
| V - 50 | 11-13 (11) | 70 | 6.4 |
| V - 60 | 8-9 (9) | 50 | 6.5 |
| 春まきコムギ | 6-8 (7) | 43 | 6.5 |

(14時間照射)

上記の結果にみられるように、赤サビ不知1号の場合、春化処理日数が40日から60日へと増加するに従って出穂にいたる葉数および日数が減少してゆくことが観察された。以上の事実から、春化処理効果を定量的に示す一つの形質として、葉数を用いることが出来ることが明らかにされた。なお、比較のために同一条件下で、春まきコムギを生育させた場合は、平均7葉で出穂がみられた。春化処理60日の秋まきコムギが春まきコムギの状態に近づいていることがわかる。

なお、葉数の測定の場合、分けつ穂を生じる場合には分けつ部分に生ずる葉は、これをすべて一括して一葉として計算した。

2. 20時間明期の長日条件下での出穂

上記表1の結果は、長日条件として14時間明期が用いられた。低温処理効果と長日条件の相互作用を明らかにすることを目的として20時間明期の条件下で低温処理0日~60日の種子を発芽させ、その出穂状況を観察した(表2)。

表2. 長日条件下での出穂までの葉数
(20時間照射)

| 処理日数 | 出穂までの葉数 (平均) |
|------|--------------|
| 0 日 | 21 - 27 (24) |
| 10 日 | 24 - 26 (25) |
| 20 日 | 21 - 27 (24) |
| 30 日 | 20 - 24 (22) |
| 40 日 | 10 - 18 (14) |
| 50 日 | 8 - 13 (10) |
| 60 日 | 7 - 9 (8) |

平均日数/葉数 = 7

赤サビ不知1号の場合、14時間明期の長日条件下では、低温処理0~30日では出穂はみられず、個体はロゼット型で100葉以上の葉を形成した後に枯死する。しかし、20時間明期の長日条件下では、低温処理を全く行なわない個体においても平均24葉の生育後、出穂がみられる。また低温処理30日以上において出穂促進効果がみられるようになる。

以上の事実は、秋まき性が最も強いとされる品種においても、低温要求性は花芽形成にとって不可欠要因となるものではなく、長日条件が十分に作用する場合、低温要求性は長日条件によって代行可能なものであることを示している。24葉出葉のために約180日を要し、さらに自然条件においては北海道地方で最大日長時間が約15時間程度であることを考慮すると、Ⅶ段階クラスの秋まきコムギは、低温処理なしには自然条件では、出穂不可能であることは明らかである。しかし、たとえ自然条件では実現不可能な、長期間の長日条件下であるにせよ、全く低温の作用なしにⅦ段階クラスの秋まきコムギが出穂可能であるという事実は、低温の効果が不可欠要因でないことを示すものであり従来の春化処理をめぐる考え方に修正を要する問題である。

3. 短日条件下での出穂

上記表2の結果長日条件が低温要求性を代行しうるものであることが明らかにされたがもしこの代行作用が相互に交換可能なものであるとした場合、低温処理によって秋まきコムギの長日要求性を代行し、短日条件下においても出穂が可能になることが予測される。以上の点を確認するため10時間明期、14時間暗期の短日条件下で、低温処理種子を発芽・生育させ、その出穂状況を観察した(表3)。

表3. 短日条件下での出穂までの葉数
(10時間照射14時間暗黒)

| 処理日数 | 秋まきコムギ | 春まきコムギ |
|------|------------|------------|
| 30 日 | 19-21 (20) | 13-14 (13) |
| 45 日 | 17-19 (19) | 12-14 (13) |
| 60 日 | 14-18 (17) | 13-14 (13) |
| 85 日 | 13-17 (14) | 13 |

平均日数/葉数 = 10

低温処理30日以前の秋まきコムギは短日条件下では出穂がみられず枯死する。また春まきコムギでも、短日条件下では枯死し出穂にいたるものはなかった。しかし、30日以上低温処理によって秋まきコムギは短日条件下でも生育可能となり、出穂がみられるようになる。同様の事実は、春まきコムギにおいても認められる。また処理60日の場合20時間照明では平均8葉、10時間照明では平均17葉で出穂がみられ、短日効果が出穂に阻害的に、長日効果が出穂に促進的に作用していることが顕著にみとめられる。

表3の結果から、コムギにおける長日要求性は花芽形成にとって不可欠要因ではなく、それは低温処理の効果によって十分に代行しうるものであることが明らかにされた。

以上表2, 3にみられた結果から、秋まきコムギの花芽形成出穂にとって、低温処理も長日条件も、いずれも絶対的な要因ではなく相互に代行可能な作用であり、相互にその効果を補完し合えるものであることが見出された。

従来、春化処理の効果を発育段階的にとらえ、生育の第一段階として低温が作用し、これが十分に補われた後に第二段階として長日性が作用するとみる見方がなされたが、このような考え方は今回の実験結果と相いいれないものと考えられる。

4. 発芽胚浸出液の出穂におよぼす影響

低温処理や長日条件によって、秋まきコムギの花芽形成が誘発されることが見出されたが、花芽形成に関与する生体内の要因として花芽形成ホルモンの生成か、あるいは花芽形成阻害物質の消失かの可能性が考えられる。これらの問題を明らかにするための一つの方法として、発芽胚のスライスから浸出液をつくり、これを春化処理40日、50日、60日の胚の培地に加え、その影響をしらべた(表4)。

表4の結果から、発芽胚浸出液中には、春化処理効果を阻害し、花芽形成を遅延させる効果をもった物質が存在すること、および春化処理の進行にともない胚はこの阻害効果の影響を全く受けなくなることが見出された。以上の結果

表4. 胚浸出液の出穂に及ぼす影響

(14時間照射) (平均)

| 処 理 | - 浸出液 | + 浸出液 |
|--------|-------|------------|
| V - 40 | 14 | 17-19 (18) |
| V - 50 | 11 | 10-15 (12) |
| V - 60 | 9 | 8-10 (9) |
| 春まきコムギ | 7 | 6-8 (7) |

は、春まきコムギや春化処理の完了した胚においては、秋まきコムギ発芽胚に存在する花芽形成阻害物質の影響を受けなくする生体内の機構がそなえられていることを示唆するものである。

5. 胚浸出液からのエーテル抽出物質の出穂におよぼす影響

胚浸出液中にふくまれる阻害物質を解明することを目的として、以下の操作によるエーテル抽出を行った。

胚浸出液を約20時間低温下で透析し、透析外液に10%塩酸を加えて酸性にする。これにエーテルを加えて、エーテル抽出を行う。次に10% NaOHでアルカリ性にした水溶液をエーテル抽出液に加え、水層抽出を行う。水層に10%塩酸を加えて再び酸性とし、これにエーテルを加えて再びエーテル抽出を行う。エーテルを蒸溜し、蒸溜の残滓にアルコールを加えてこれをとくす。

以上の方法によるアルコール溶出液は図1にみられるように270nm以下の光の強い吸収を示すが、275 nm付近に一つの吸収のピークを示すことが特徴である。また、ポリエチレングリコール(20M)担体ユニポートB、カラム温度200℃、キャリアーガスN₂、流量60ml/minのガスクロマトグラフの分析によれば、アルコール溶出液は図2のような約10成分のピークにわけられる。図2には比較のために加えた安息香酸のピークがカーブの最後に記録されているが、アルコール溶出液ではこのピークは観察されない。

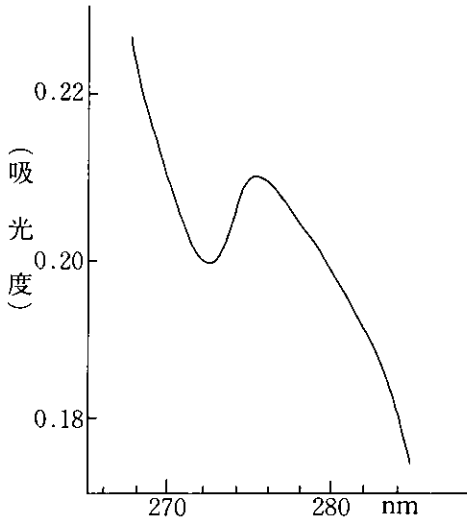


図1. 浸出液の吸収スペクトル

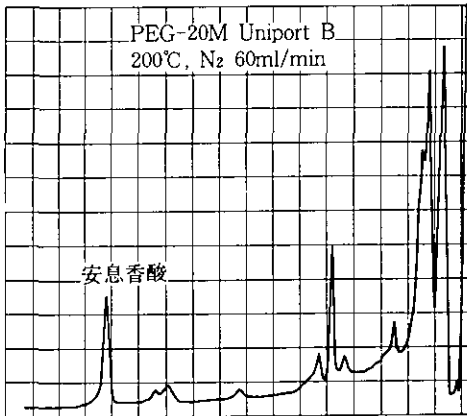


図2. 胚浸出液のガスクロマトグラフ

以上のアルコール溶出液を水でうすめ、発芽胚の培地に加えて胚培養を行ない、花芽形成におよぼす影響を観察した。日長は20時間の条件を用いた(表5)。

表5. 胚浸出液の出穂に及ぼす影響 (20時間照射)

| 浸出液 | 葉数 (平均) |
|-----|--------------|
| - | 17 - 22 (19) |
| + | 19 - 32 (25) |

表5の結果にみられるように、アルコール溶出液を加えない発芽胚では平均19葉で出穂がみられるが、これを加えた場合、出穂が遅延され、30個体中3個体では30葉以上の出葉によっても出穂がみられなかった。これに対比して、19葉で出穂がみられた個体もあり結果の偏差が大きくなっている。しかし、結論的にみて、胚浸出液からのエーテル抽出物中には花芽形成阻害物質がふくまれていることは明らかであろう。この物質は透析可能であることから、低分子化合物であり、エーテルに対する溶解性や吸収のピークなどから、構造的に安息香酸に類似した物質である可能性が考えられる。

6. 出穂におよぼす安息香酸、サリチル酸、EDTAの影響

上記発芽胚にふくまれる阻害物質が安息香酸類似のものであるか否かを検証するため、胚培養の培地に安息香酸、サリチル酸、EDTAを添加し、出穂におよぼす影響をしらべた(表6)。

表6. 出穂におよぼすキレート剤の影響 (20時間照射)

| | | 濃度 | — | 10 ⁻⁵ M | 10 ⁻⁴ M | 10 ⁻³ M |
|---|-------|----|------|--------------------|--------------------|--------------------|
| W | 安息香酸 | | 18±2 | 22±2 | 26±3 | |
| | サリチル酸 | | 19±3 | 20±3 | 枯死 | |
| | EDTA | | 18±2 | 17±2 | 19±2 | |
| | — | | 18±2 | | | |
| S | 安息香酸 | | 6 | 6 | 6 | 6 |

W: 秋まきコムギ S: 春まきコムギ

表6の結果、10⁻⁴M以上の濃度において安息香酸は顕著な阻害効果を示すこと、また同じキレート効果をもつEDTAの場合にはその阻害効果は全くみとめられないことが見出された。また春まきコムギにおいては10⁻⁵M~10⁻³Mの安息香酸において、全く阻害効果がみられないのが特徴的である。

安息香酸およびその関連物質の花成誘導については、滝本らによって、短日植物であるアオウキクサにおいて花成誘導効果のあることが報告されている(3, 4)。これらの物質が短日

効果を促進する方向に作用するものと考えるとき、上記表3の結果から、長日植物であるコムギにおいては、花芽形成に阻害的に作用することも推察されることである。

以上の結果から、発芽胚における花芽形成の阻害物質として、安息香酸類似の物質の可能性はなお残されていると言える。

7. 胚の切断処理の出穂におよぼす影響

発芽胚における花芽形成阻害物質がもし、胚の特定の部位に局在しているとすれば、その部分を切除した場合、花芽形成の促進効果が期待される。以上の観点から発芽2日目の胚の胚盤部分や胚の先端部分、また発芽3日目の胚の先端部分などを切除し、出穂におよぼす影響を観察した(表7)。

表7. 切断処理をした胚での出穂
(20時間照射)

| 処 理 方 法 | 出穂までの葉数 |
|-----------------|---------------|
| 正 常 胚 | 18-22(19) |
| 胚 盤 切 除 胚 | 22-24(24) |
| 2 日 目 胚 先 端 切 除 | 17-27(22) |
| 3 日 目 胚 先 端 切 除 | 28-45(40%未出穂) |

以上の結果、いずれの切断処理を行った胚においても出穂の促進はみられず、阻害物質の局在については否定される。特に発芽3日目の胚の先端部分切除の場合には、出穂に対する顕著な阻害効果が生じ、約40%の個体においては20時間照明の場合にも出穂がみられなかった。この場合、胚の生長点部分が切除されたための阻害によるものと推察される。

8. 出穂後の個体の基部切断面からの再出穂

出穂が行われた個体について、図3のように茎の基部で切断し、その後水を与えておくと、切口から再び葉が生じてくる。形態的には、もとの個体の葉に比べて小さいがやがて主幹が生じ6~7葉後に再び出穂がみられる。20時間照明における6~7葉の出穂は春まきコムギの場

合同様であり注目される現象である。以上の事実は出穂後の個体の基部にある組織は発芽胚にみられた阻害物質を有しないか、またはその影響を受けない状態にあることを示すものである。さらに上記の現象は、花芽形成に直接的に関与するものが、花芽形成を促進するホルモン様の物質であるよりは、阻害物質による抑制効果の除去によるものとした方が考えやすいことを示すものである。

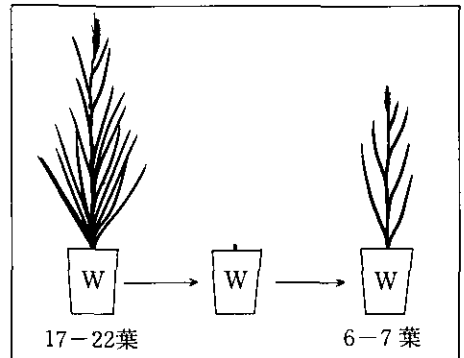


図3. 切口から生育した茎での出穂

結 論

秋まきコムギに対する春化处理効果は、出穂にいたるまでに形成する葉数によって定量的に扱うことが可能である。

秋まきコムギの出穂におよぼす低温処理の効果は長日効果と相互に代行可能なものであり、長日条件が十分なときには全く低温の影響なしに出穂がなされる。また低温処理が十分なされるときには、短日条件下でも出穂がなされる。

秋まきコムギ発芽胚には花芽形成を阻害する物質がふくまれるが、春化处理胚や春まきコムギ胚は、この阻害効果を受けない。

発芽胚にふくまれる阻害物質はエーテルに抽出される低分子化合物であり、安息香酸に類似の物質である可能性が残されている。この阻害物質が発芽胚の特定の部位に局在する可能性はきわめてうすいと考えられる。

本研究を行うに当たり、秋まきコムギ・赤サビ不知1号および春まきコムギハルミノリを提供

して下さった、北海道北見農業試験場に対し厚くお礼申し上げます。

文 献

1. TERAOKA, H. : *Plant and Cell Physiol.* 8:87~95 (1967)
2. MURASHIGE, T. and SKOOG, F. : *Physiol Plant.*, 15, 473 (1962)
3. WATANABE, K. and A. TAKIMOTO : *Plant and Cell Physiol.* 20, 847-850 (1979)
4. 渡辺一夫、滝本 敦 : 日本植物生理学会1981年年会講演要旨集