

クワ種子の発芽を促進する高温処理の作用機構

誌名	日本蠶絲學雜誌
ISSN	00372455
著者	楠, 茂樹 諸橋, 征雄
巻/号	56巻2号
掲載ページ	p. 138-142
発行年月	1987年4月

クワ種子の発芽を促進する高温処理の作用機構

楠 茂樹・諸橋 征雄

東京都府中市幸町・東京農工大学農学部 (〒183)

(1986年8月23日 受領)

SHIGEKI KUSU and YUKIO MOROHASHI: Mechanism of stimulation of germination of mulberry seeds by high-temperature treatment

High temperature treatment during a short time (e. g., 15 min at 35°C) stimulated the germination of mulberry seeds at 25°C. Sensitivity of the seeds to the high temperatures continued to increase after imbibition and leveled off after about 20 hr of imbibition. Far-red light irradiation applied immediately before or after the treatment with high temperatures did not suppress the stimulating effect of high temperatures. On the basis of these results, a possible mechanism for the high-temperature action was proposed. (Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology, Fuchu, Tokyo 183)

25°Cで発芽させられたクワ種子は、短時間の高温処理(例えば35°C, 15分)を施されると発芽は強く促進される。この高温に対する sensitivity は、吸水開始後約20時間迄、時間とともに増加していく。高温処理の直前直後に近赤外光を照射しても、高温の発芽促進効果は打ち消される事はなかった。これらの結果に基づいて、クワ種子における高温の発芽促進作用の機作を考察した。

フィトクロムによって発芽が制御されている光発芽種子が、高い温度を短時間経験すると、暗所におかれても発芽が促進される (Isikawa and Fujii, 1961; Taylorson and Hendricks, 1972a)。そして Taylorson and Hendricks (1972b) は、高温処理は、暗所におかれた種子がもつ低濃度の活性型フィトクロム (P_{fr}) と相互作用を持つ事によって発芽を促進させるのではないかとした。同様に、Takakiら (Takaki *et al.*, 1981; Hand *et al.*, 1982; Takaki and Zaia, 1984) は、高温は、種子の、 P_{fr} に対する sensitivity を高める作用があり、そのために低濃度の P_{fr} の存在下 (暗所) でも発芽が促進されると考えた。

25°C下におかれたクワ種子の発芽は、フィトクロムによって制御されているが、25°Cよりも高い温度で短時間処理されると暗所でも発芽は強く促進される (楠・諸橋, 1987)。したがって、クワ種子においても、高温の発芽促進の作用に関しては上述の考えが、あてはまる可能性があるように思われる

が、しかしながら、高温の作用とフィトクロムの作用との関連性について検討してみたところ、クワの場合には必ずしも上述の仮説は成り立たないように考えられた。本報では、その検討結果について報告し、クワ種子における高温の作用機作について、一つの可能性を提示する。

本文に入るに先立ち、本研究を行うに当たり、深い理解を示して、たえず暖く励まして下さった本学中島 誠名誉教授に深甚の謝意を表す。又、cis-4-cyclohexene-1, 2-dicarboximide を供与して下さい下さった Bewley 教授 (カナダ・グエルフ大学) に対し、厚く感謝する。

材料と方法

使用したクワ種子は、1982年に採取した一ノ瀬の自然交雑種子である。種子は CaCl_2 (乾燥剤) を入れたデシケーター中で5°C暗所に保存した。播種や、光照射、温度処理は、前報(楠・諸橋, 1987)に記載した方法によって行った。照射された光のエ

ネルギーは赤色光(R)は $3.1\text{W}/\text{m}^2$ 、近赤外光(F)は $3.5\text{W}/\text{m}^2$ であり、いずれも5分間照射された。35°C処理をした後に光照射をする際には、35°Cから25°Cに戻して30分間保ち、温度平衡に達した後に照射した。cis-4-cyclohexene-1,2-dicarboximide(CHDC)で種子を処理する際には、この試薬の水溶液で湿らせた濾紙上に種子を播いた。光照射の時以外は種子は常に暗所に保たれ、また高温処理時以外は、常に25°Cに保持された。発芽種子(幼根が種皮より突出したもの)の計数は、35°Cで処理されたものについては、その処理後25°Cに戻してから5日後に、35°Cで処理しないものは、吸水開始5日後に行った。種子の発芽率や光・温度に対するsensitivityは実験時期によって若干変動したので、常に適当なコントロールを設けた。全ての実験は四連で行われ、図には標準偏差が示されている。

結果と考察

25°Cにおかれたクワ種子は、Fig. 1に示したように、R照射によって発芽が促進される一方、このRの効果は、R照射直後に与えられるF照射によって打ち消された。この事は、25°Cにおけるクワ種子の発芽は、フィトクロムによって制御される事を示しており、斎藤・諸橋(1981)の結果に良く一致している。

フィトクロム作用の阻害剤であるCHDC(Bewley and Oaks, 1980)(2mM)の存在下では、暗所にお

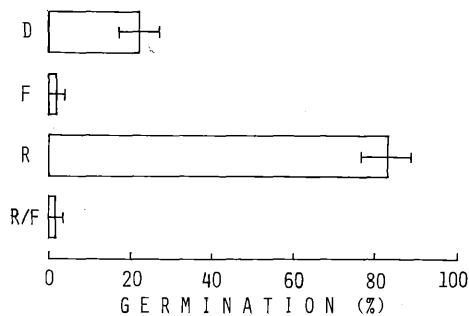


Fig. 1. Effects of R or F irradiation on germination of mulberry seeds at 25°C. Light treatment applied after 1-hr imbibition. R: R irradiated for 5 min; F: F irradiated for 5 min; R/F: F irradiated (5 min) immediately after R irradiation (5 min); D: Dark control (no light treatment).

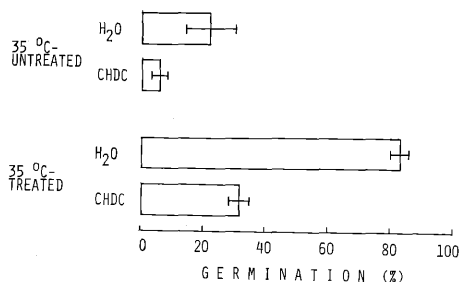


Fig. 2. Effects of 35°C and CHDC on the germination of mulberry seeds at 25°C. Treatment at 35°C applied for 15 min 30 hr after imbibition. CHDC: 2 mM.

ける発芽は阻害された(Fig. 2)。この事は、暗所における発芽もフィトクロムによって制御されている事を示しており、暗所におかれている種子にも、ある程度の活性型フィトクロム(P_{fr})が存在している、これが20%前後(Fig. 2)の発芽をもたらしているものと理解される。吸水開始後10~20時間を経過すると、高温(27°C以上)に短時間(15分)移されただけで、暗所、25°Cでの発芽が強く促進される事は前報で報告したが(楠・諸橋, 1987)、この高温による発芽の促進は、Fig. 2に示されているように、CHDCによって強く阻害された。この事は、高温の発芽促進の作用が、フィトクロムの作用と何らかの関連がある事を示唆している。

そこで、この関連性について、さらに検討を試み、まず、Fig. 3に示したような実験を行った。吸水開始60分後にFが照射されると、(Fig. 3-C)、種子の発芽率は、無照射(dark control)(Fig. 3-A)のものよりさらに低下する。この事は、F照射によってP_{fr}含量は、dark controlのレベルよりさらに低くなる事を示している。そこで、F照射をして、P_{fr}のレベルを低くしておいて高温処理をしたところ(Fig. 3-E)、高温の促進効果は、殆どみられなかった(Fig. 3-C,-D,-E間の比較)。一方、dark controlのレベルのP_{fr}の存在下での高温処理は、full germinationを惹起した(Fig. 3-B,-D)。そしてこの時の高温の促進作用は、高温処理直後のF照射によって、殆ど打ち消されなかった(Fig. 3-F)。

これらの結果は、*Rumex* (Taylorson and Hen-

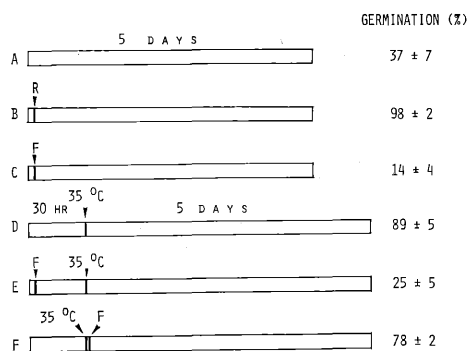


Fig. 3. Effects of light and 35°C treatments on germination of mulberry seeds at 25°C. A: dark control; B, C: R or F applied after 1-hr imbibition; D: 35°C treatment applied for 15 min 30 hr after imbibition; E: F applied after 1-hr imbibition and 35°C treatment (15 min) applied 30 hr after imbibition; F: after the 35°C treatment, seeds were reexposed to 25°C, incubated for 30 min for temperature equilibrium, then irradiated with F. Germinated seeds were counted 5 days after the start of imbibition (A-C), or counted after incubation at 25°C for 5 days following the 35°C treatment (D-F).

dricks, 1972b; Takaki *et al.*, 1981) やレタス (Takaki and Zaia, 1984) で示されたような高温の作用機作——即ち高温処理は種子の P_{fr} に対する sensitivity を増加させるように作用するのであり、したがって、高温処理は、作用機作的には P_{fr} の含量を高めると同じような効果を持つ——で説明する事ができるであろうか。Fig. 3-Dと-Eの結果は、上述の作用機作で一応説明する事が可能である。即ち、クワ種子の P_{fr} に対する sensitivity は高温処理によって増加するが、 P_{fr} 含量がきわめて低いと (F照射された場合)、いかに sensitivity が高くなって、 P_{fr} の作用が増幅されたとしても、発芽に至る反応は十分には作動しない、しかし、dark controlのレベル程度の P_{fr} があれば、sensitivity の増加によって大きな促進効果 (即ち、Rを照射して P_{fr} を増加させた場合と同様の効果) を示す事ができる、と考えれば、Fig. 3-Dで高温の発芽促進効果がみられ、Fig. 3-Eでみられない事は説明がつく。しかしながら、この仮説では Fig. 3-Fの結果は説明が困難であるように思われる。高温処理後のF照射によって、 P_{fr} のレベルは Fig. 3-E (あるいは Fig. 3-

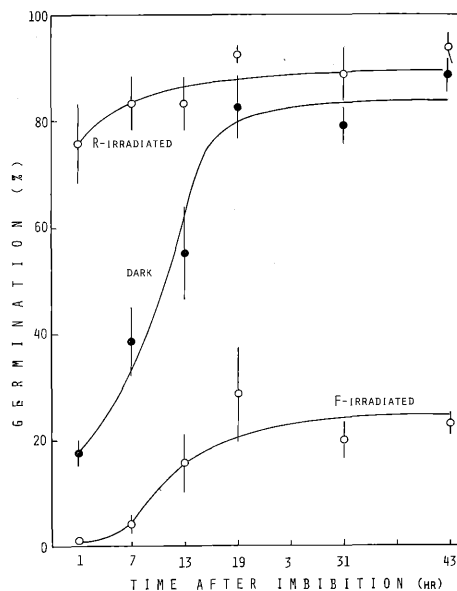


Fig. 4. Effects of 35°C treatment (15 min) applied at different times after the light treatments. Light (R or F) treatment was applied after 1-hr imbibition. The time when the 35°C treatment was applied is plotted as abscissa. Dark: no light treatment.

C) のレベル、つまり高温処理の効果がみられないレベル、に迄低下しているから、発芽率は Fig. 3-Eのレベルになる筈である。実際にもレタスでは高温処理後のF照射は高温の促進作用を打ち消すという (Takaki and Zaia, 1984)。ところが、クワでは、Fig. 3-Fにみられるように、高温処理後にFで処理しても、高温の発芽促進作用は打ち消される事はなく、発芽率は、かなり高いレベルに維持されている。このように、Fig. 3に示されている実験結果は、高温の作用に関して *Rumex* やレタスで言われているような機作は、クワには必ずしもあてはまらない事を示している。では、他にどのような作用機作を考える事ができるであろうか。

吸水開始 60 分後に R 又は F を照射し、その後の種々の時刻に 35°C の処理 (15 分間) をしてから、25°C に戻し、その 5 日後に発芽率を調べたところ、Fig. 4 に示すような結果を得た。いずれの光処理においても、高温処理の効果は、吸水後徐々に増加し、約 20 時間で最大となった。最高の発芽率は、R

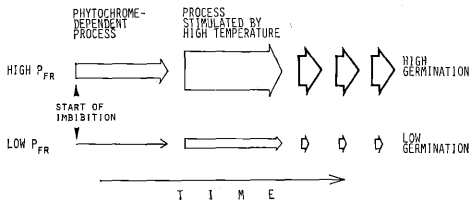


Fig. 5. Scheme showing a possible relationship between phytochrome-dependent and high-temperature sensitive processes in the germination of mulberry seeds.

照射のものでみられ、暗条件のものは、それよりやや低く、F照射のものは、高温処理で発芽は促進されるが、大変に低い発芽率しか得られなかった。このように、高温に対するクワ種子の sensitivity は、吸水後増加し続け、約20時間後に最大に達する。一方、クワ種子の発芽のRに対する sensitivity は吸水1時間後には既に最高になっている（齊藤・諸橋，1981）。Rと高温に対する sensitivity の変化の time course のこのようなちがいがから、次のような可能性を考える事ができる。即ち、P_{fr} に誘発されて始まる発芽のプロセスは、吸水とともに始まるが、高温は、P_{fr} によって開始されたプロセスがある程度進行した後でなければ、その効果を示し得ないのではないか、という可能性である。吸水開始60分後にR照射をするか、F照射をするか、或いは暗所においておくかによってP_{fr} のレベルは異なるわけだが（P_{fr} のレベルは発芽率に反映される——Fig. 1）、このP_{fr} のレベルの高低に対応した形で、高温処理の効果の大小が決まっているように見える（Fig. 4）。この事もまた、P_{fr} に依存するプロセスがある時間経過した後にはじめて高温処理が有効になるという仮説を支持するものであろう。Fig. 5 にこの仮説の内容を、模式図で示した。P_{fr} が高濃度に存在しているほどP_{fr} によって始まるプロセスは十分に進行し、一定時間後には高温に感応するに十分な状態に達している、それ故、そのような種子に高温処理を施せば、非常に高い発芽率が得られる事になるであろう。逆にP_{fr} 含量が低ければ、高温に感応するには不十分な状態にしかならず、したがって、高温処理を行っても、発芽率は低いのであろう。高温処理後のF照射は、高温の発芽促進の作用を打ち消す事はできないという現象（Fig. 3-F）も

上の仮説によって説明できる。即ち、P_{fr} に依存したプロセスは高温処理時迄には、既にかなり進行してしまっていて、P_{fr} にはそれほど依存しないが、しかし、高温には感応する段階に入っている、だからこの時点でF照射をしてP_{fr} のレベルを低くしてもFの強い阻害効果はみられなかったと考える事ができる。

Fig. 3-Fの結果からもうかがえるように、上述の仮説（Fig. 5）が正しいとするならば、高温処理前・後のF照射は、高温の効果に強い影響を及ぼさない筈である。なぜなら、発芽促進の作用に関して高温に対する種子の sensitivity が最高になる時点迄にはフィトクロムに依存したプロセスは、かなり進行してしまっていると考えるわけであるから、そのような時点でF照射によって発芽が抑えられるようなレベルに迄P_{fr} を低下させても、発芽のプロセスの進行という点では殆ど意味がない事になるからである。一方、クワにおいては、F照射によってもたらされる低いP_{fr} 量では、かりに高温処理によって sensitivity が高くなったとしても（*Rumex* や *Letas* でいわれているように）、発芽促進には至らないのであるから（Fig. 3-E）、高温処理直前にF照射をされた場合には、高温の促進効果はでない筈である。しかし、もし、Fig. 5 の仮説に立つならば、高温処理直前にFを照射しても、高温の促進効果は認められる筈である。

そこで、次にこれらの点について検討してみた。吸水開始1時間後にRを照射した後、種々の時刻に35°Cに15分間インキュベートし、その後再び25°Cに戻して5日後に発芽率を調べた。そして、高温（35°C）処理の前、もしくは後にFの照射を行った。なお、R照射を行った理由は、高温処理によって発芽率が最も高く出るのはR照射された種子であり（Fig. 4）、もしF照射によって発芽の阻害が起こるとすれば、最も明瞭にその阻害効果を検出する事ができると考えたからである。事実、R照射後のF照射の効果は、きわめて強い発芽阻害となって観察できる（約90%→約5%、Fig. 1）。Fig. 6 からわかるように、クワ種子ではF照射を高温処理の前に受けた場合でも、後に受けた場合にも、殆ど同じ発芽率を示した。しかも高温処理されずにF照射だけを受けたものにくらべ、はるかに高い発芽率が観察され、F照射をしないで、高温処理だけをした種

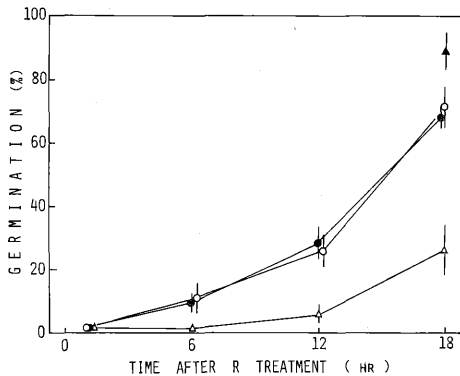


Fig. 6. Effect of F irradiation applied before or after the 35°C treatment on the germination of mulberry seeds at 25°C. Seeds irradiated with R after 1-hr imbibition, and 35°C treatment (15 min) applied at different times after R irradiation. Time when the 35°C treatment was given is plotted as abscissa. ○: F was irradiated just before the 35°C treatment; ●: F was given 30 min after the 35°C treatment; △: F irradiated at the time indicated on the abscissa, but not treated with 35°C; ▲: treated with 35°C but not treated with F.

子の発芽率に近い値を示した(18時間の時点)。このように、高温処理の効果は、処理前後に与えられるFによって殆ど打ち消されないのである。これらの結果は、上述の推論のように、本報で提出された仮説(Fig. 5)を支持するものといえよう。

CHDC処理によって、高温の発芽促進の効果は低下したが(Fig. 2)、この現象も上述の仮説によっ

て理解する事ができる。おそらく、フィトクロムに依存するプロセスが、CHDCによって阻害されたために、高温に感応する準備が十分にできず、そのために高温の促進効果は小さかったのであろう。

以上述べたように、クワ種子における高温の発芽促進の作用は、従来提示されているメカニズムでは、説明できない点があり、別のメカニズムを考えなければならぬように思われる。本報で、クワについて考え得るメカニズムの一例を示した。しかし、これはまだ作業仮説の域を出ず、その妥当性、あるいは、このようなメカニズムの一般化の可能性については、さらに今後の検討をまたなければならぬ。

文 献

- BEWLEY, J. D. and OAKS, A. (1980): Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **77**, 3408-3411.
- HAND, D. J., CRAIG, G., TAKAKI, M. and KENDRICK, R. E. (1982): Planta, **156**, 457-460.
- ISIKAWA, S. and FUJII, T. (1961): Plant Cell Physiol., **2**, 51-62.
- 楠 茂樹・諸橋征雄 (1987): 日蚕雑, **56**, 72-76.
- 斎藤裕行・諸橋征雄 (1981): 日蚕雑, **50**, 415-421.
- TAKAKI, M. and ZAIA, V. M. (1984): Planta, **160**, 190-192.
- TAKAKI, M., KENDRICK, R. E. and DIETRICH, S.M.C. (1981): Planta, **152**, 209-214.
- TAYLORSON, R. B. and HENDRICKS, S. B. (1972a): Plant Physiol., **49**, 127-130.
- TAYLORSON, R. B. and HENDRICKS, S. B. (1972b): Plant Physiol., **50**, 645-648.