

夏大豆種子の発芽不良に関する生化学的研究

第1報 磷脂質成分における量的変化について

原 正 紀・大 庭 寅 雄

(九州農業試験場 作物第二部)

九州地域で栽培される夏大豆は、種子の発芽不良をとまうことが多い。²⁾この問題を、技術的、育種的に解決するのに必要な知見を得る目的で、本研究を始めた。

キュウリの発芽不良については、種子の老化にともない磷脂質成分のうち、フォスファチジルコリン(PC)含量が60%も減少し、その水解産物として、リゾフォスファチジルコリン(LPC)と、フォスファチジン酸(PA)が増加したという例が報告されており、種子の発芽力が弱まる機構のひとつと考えられている。⁴⁾磷脂質は細胞および細胞内小器官を覆っている膜の主要な構成成分であり、膜の機能発現に大きな影響を与えていると考えられていることからこの知見は注目される。また、Wilsonら⁵⁾は、発育過程における大豆子実の磷脂質について研究し、とくに子実登熟の後期に、各磷脂質構成の成分比率が著しく変動することを明らかにしている。九州地域の夏大豆の成熟期間は、7月下旬から8月中旬までであり、この間、高温による急激な乾燥と降雨による吸水の繰り返しの中での成熟は、その後の種子の発芽力に大きな影響を与えるものと考えられるが、今回は、このような環境条件が、登熟後期に変動が著しいといわれる磷脂質代謝に異常をもたらし、結果的に原形質膜など各種の膜系の機能に影響して発芽活力を低下させているのではないかという観点に従い検討した結果を報告する。

材料および方法

供試品種は、夏大豆の5品種・系統で供試種子の採種条件は、第1表に示したとおりである。

得られた種子の発芽活力については、第2表に示した。

表より、夏作種子では秋作種子に比べ著しい発芽不良が認められ、また、夏作種子でも発芽率に大きな品種間差のあることが認められた。すなわち、夏作種子では、オリヒメ、ヒゴムスメの2品種は比較的発芽率は高く、他の3品種系統は低い。出芽所要日数の長くなる低温条件下の発芽では、一層顕著な発芽不良となるのが特徴である。磷脂質分析に用いた材料は、未成熟種子の場合、サンプリング直後に120℃、10分の条件でオートクレイ

昭和53年5月12日 第55回講演会で発表

第1表 供試品種と夏作採種状況

品種名	開花期 (月・日)	成熟期 (月・日)	百粒重 (g)	登熟日数 (日)
九州 90 号	6.7	8.11	20.8	65
コガネダイズ	6.20	8.16	18.6	57
オリヒメ	6.24	8.12	15.5	49
ヒゴムスメ	6.20	8.8	15.9	49
九州 88 号	6.14	8.10	20.9	57

播種は4月20日。秋作は8月17日に播種し

11月中旬に採種。いずれも昭和52年。

ブ処理し、酵素を失活させてから、-20℃のフリーザーに保存したものを用いた。成熟期にサンプリングした種子については、収穫直後にオートクレイブ処理するのではなく、通常の収穫・調整作業を経て、種子庫で保存されていたものを、翌年2月にオートクレイブで高温処理して後分析に供した。磷脂質の抽出には、Wilsonら⁵⁾の方法を一部変更して用いた。磷脂質の85~90%が抽出され、その磷脂質組成比は、抽出を繰り返して得られた100%近い抽出分画の示す比率とよく一致した。得られた分画はシリカゲルGの薄層クロマトグラフィーにより磷脂質の各組成に分離した。展開溶媒は主としてクロロホルム：メタノール：水(65：25：4 $V/V/V$)を用いた。定量は、Hane's 試薬で115℃、10分の処理により生じる蛍光をクロマトスキャナーにより励起波長365nm、蛍光波長450nmで測定した。

標準試料には、市販の大豆レシチン(PC)を精製したものをを用い、その一定量が示す蛍光強度を基準として表示した。この標準レシチンは純品ではなく、大豆磷脂質のほとんどの組成を含み、用いた薄層クロマトグラフィーではHane's 試薬呈色により、定性的に8ケの分離スポットを示した。それらは、Rfの小さい順に R_f 1から8までの番号によって区別した。3種類の展開溶媒によるRf値、ドラーゲン試薬、ニンヒドリン試薬による発色性から、 R_f 1がLPC、 R_f 2がフォスファチジイノシトール(PI)、 R_f 3がPC、 R_f 4がフォスファチジエタノールアミン(PE)と推定された。(それぞれ純品を用いた

同定はまだできていない。)

第2表 供試種子の発芽活力

		室内発芽試験 ¹⁾				圃場発芽 ²⁾	
		出芽率		正常個体率		出芽率	正常個体率
		夏作	秋作	夏作	秋作	夏作	夏作
		%		%		%	%
1	九州 90 号	70	100	42	92	72	57
2	コガネダイズ	80	96	42	94	78	69
3	オリヒメ	80	98	62	98	90	86
4	ヒゴムスメ	92	100	68	100	93	89
5	九州 88 号	74	100	30	98	78	66

1) 2月 2日播 22日目調査 室温11~17.4℃

2) 4月21日播 17日目調査 地温(5cm)14.7~20.3℃
いずれも初生葉展開期

結果および考察

夏作および秋作により得られた大豆種子における磷脂質を8組成に分離し、その組成比を各品種について求めた結果を第3表に示した。老化により発芽能力を欠いたキュウリの種子の場合では、老化前にくらべてPCの含量が半減し、LPCとPAが増加したといわれる。従ってここでは、発芽活力の高い秋作種子の与える組成比が、そ

れぞれの品種における正常値と考えて、発芽活力の低い夏作種子における組成比の変化を比較検討した。

しかしその組成比における夏作・秋作の間の変化は、いずれの品種においても小さく、発芽活力と関係させるような特徴は見い出せなかった。Wilsonら⁵⁾は大豆子実の磷脂質組成が、登熟後期の15日間に著しく変化することを明らかにしている。主要な3組成PI, PC, PEについてみれば、全磷脂質量を100とした分子比率で、成熟15日前にはそれぞれ9.1%, 9.8%, 8.6%であったものが、成熟時には、それぞれ17.4%, 46.0%, 25%に急増し、N-アシルフォスファチジル・エタノールアミン(NPE)では逆に54.6%から4.8%に急減したという。この著しい代謝過程に、夏大豆成熟期の高温環境が何らかの影響をおよぼす可能性を仮定したのであったが、結果は否定的なものであった。ここでWilsonらの結果と比較して、ひとつの興味ある相違点が指摘できる。成熟時の組成比を、主要3組成、すなわちPI, PC, PEにかぎってみると、PIでやや低目になっている以外、比較的類似した比率となっている。しかし、子実の生育を追って、経時的に分析した結果については、Wilsonらの結果と相違が見られたのである。第4表に磷脂質主要3組成PI, PC, PEの和を100としたときのそれぞれの組成の比を経時的に求

第3表 夏作と秋作における大豆種子磷脂質組成比

		磷脂質組成百分率							
磷脂質区分		1	2	3	4	5	6	7	8
九州 90 号	夏作	3.0	10.8	43.1	19.3	8.4	1.1		14.3
	秋作	2.1	10.5	43.1	22.0	6.6	0.4		15.4
	増減	-0.9	-0.3	0	+2.8	-1.8	-0.7		+1.1
コガネダイズ	夏	1.4	7.9	43.6	21.4		9.4	7.3	9.0
	秋	0.2	6.4	46.4	23.7		7.1	5.0	11.3
	増減	-1.2	-1.5	+2.8	+2.3		-2.3	-2.3	+2.3
オリヒメ	夏	2.8	8.1	40.1	21.1	7.9	1.6		18.7
	秋	2.1	6.8	40.8	22.0	7.0	1.4		20.1
	増減	-0.7	-1.3	+0.7	+1.0	-0.9	-0.2		+1.4
ヒゴムスメ	夏	2.7	6.0	42.8	19.3	7.2	1.6		20.7
	秋	2.4	6.2	41.6	21.7	7.1	1.3		20.0
	増減	-0.3	+0.2	-1.3	+2.4	-0.1	-0.3		-0.7
九州 88 号	夏	4.6	9.9	40.4	19.2	9.3	1.1		15.9
	秋	2.6	8.0	43.9	21.8	7.8	0.2		15.9
	増減	-2.0	-1.9	+3.6	+2.6	-1.5	-0.9		0

めた。Wilsonらの場合、PCにおいて成熟15日前で36.5%と他の2組成と同じレベルであったものが、成熟時には52%へと相対的に増加し、PI, PEは19.7%, 28.3%へと減少している。ところが本実験での結果は、夏作、秋作をとわず、PEで漸増、PIで漸減の傾向にあり、PC

は殆んど変化せずかなり安定した相対的比率を示している。この結果から、大豆子実の生育後期に磷脂質組成比を著しくかえるような特徴的な代謝過程が果して普遍的に存在するものかどうかという疑問を生じた。今後再検討に値する点である。

次に各磷脂質の組成比における変化でなく、生体にある膜系の構成成分の絶対量としてみた場合の品種間差を検討するため、主要組成（すべての品種で、成熟種子の磷脂質8組成総量の60%前後を占める）PCについて子実の単位乾物当りの量的比率を、品種間で比較した結果を、第5表に示した。夏作でみると発芽活力の比較的高いオリヒメ、ヒゴムスメの2品種と、他の3品種の間に明らかな差が認められ、前2者で高含量であって、何か発芽活力との間に有意の関係がありそうに思われる。しかし同様の差は、発芽活力で品種間差の認められない秋作においても認められることなどから、この点での結論をうるには更に検討することが必要と思われる。

第4表 磷脂質主要3成分間における組成比の経時的变化

品種名	磷脂質 クラス	供試時期(月・日)					
		夏 7月22日	夏 7.27	作 8.3	秋 成熟時 10.17	秋 成熟時	
九州90号	PI	17.7%	16.5	20.8	12.8	15.4	11.5
	PC	60.3	70.1	59.4	59.3	57.7	58.2
	PE	22.0	13.4	19.8	27.9	26.9	30.3
コガネダイズ	PI		14.5	19.5	10.8	15.3	8.3
	PC		62.3	62.6	59.8	63.0	60.7
	PE		23.2	17.9	29.4	21.7	31.0
オリヒメ	PI		17.0	21.7	11.7	14.8	9.8
	PC		63.3	59.3	57.9	58.8	58.6
	PE		19.7	19.0	30.4	26.4	31.6
ヒゴムスメ	PI		17.5	20.4	8.8	14.4	8.9
	PC		62.2	60.2	62.8	59.3	59.9
	PE		20.3	19.4	28.4	26.3	31.2
九州88号	PI		18.6	12.1	14.2	14.6	10.9
	PC		61.5	70.7	58.2	59.9	59.5
	PE		19.9	17.2	27.6	25.5	29.6

いずれにせよ、以上の結果から、夏大豆種子における発芽活力の低下の原因として、膜を構成する磷脂質の量的な変化を想定する必要性は小さくなった。しかし夏大豆は高温期に登熟し、低温時に播種されるという特徴をもつことを考慮すると、磷脂質膜の質的な問題としてな

第5表 大豆種子の主要磷脂質・フォスファチジルコリン(PC)含量における品種間差

種子乾物1g当りPC含量 ¹⁾					
	九州90号	コガネダイズ	オリヒメ	ヒゴムスメ	九州88号
夏作	10.0	10.0	18.0	16.3	11.4
秋作	12.4	15.5	22.6	24.6	15.4

1) 市販大豆レシチンを精製して標準に用い、その単位量が薄層クロマトグラム上のPC区分で示す蛍光量を1として表示。

お検討すべき点が残っている。すなわち、極く高温期に登熟する結果として、磷脂質の脂肪酸構成部分における不飽和度の低下が考慮されなければならない。

すなわち、膜の遷移温度が高温域に移行し、春先の発芽条件となる低温下では、膜の機能を発揮するのに必要な液晶性の保持ができにくくなっていることが考えられる³⁾。一般に乾燥した植物種子の多くで、低温条件下の発芽時に傷害が生じることが知られているが、¹⁾その機構についても必ずしも明確にはされていない。このことも考え合せつゝ、ひきつづき膜の質的な変化について検討を加えていくことが必要と思われる。

文 献

- 1) Hobbs, P.R. and R.L. Obendorf : Interaction of initial seed moisture and imbibitional temperature on germination and productivity of soybean Crop Science **12**; 664 (1972)
- 2) 異儀田和典, 岩田岩保: 夏大豆種子の出芽不良に関する研究 日作九支報 **44**, 76 (1977)
- 3) Kito, M. et al : Biochim. Biophys. Acta, **260**; 475 (1972)
- 4) Kooststra, P.T. and J.F. Harrington : Biochemical effects of age on membrane lipids of Cucumis sativus L. seed. Proc. int. Seed Test Ass., **34**; 329 (1969)
- 5) Wilson, R.F. and R.W. Rinne : Phospholipids in the developing soybean seed. Plant physiology **54**; 744 (1974)