タマネギの球の形成肥大および休眠 に関する生理学的研究 (第10報)

球の汁液中の発芽抑制物質について

加 藤 徹

(高知大学農学部)

Physiological studies on the bulbing and dormancy of onion plant. X. Germination inhibitor in onion juice

T. KATO

Faculty of Agriculture, Kochi University, Nangoku, Kochi

Summary

This paper describes the properties germination inhibitor in onion juice and its inhibiting mechanism.

1. Germination inhibitor was found in ether extracts obtained from onion juice. This was soluble in organic solvents, insoluble in water. This substance had Rf value of 0.8~1.0 with isopropanol-ammonia-water (1.0 : 1 : 1 v/v) using strips of Toyo Roshi No. 51.

A large amount of inhibitor was found in rest bulbs as compared with sprouted one. Ohshu variety having a deep and long rest had less amount of inhibitor than Senshu-ki variety having a moderate rest.

These results suggested that the germination inhibitor in onion juice was not considered to be a main

factor in connection with rest phenomenon of bulbs.

2. This substance was identified as allylsulfide group by ultra-violet spectrum, Rf value and special odor. Microchemical observation showed that the inhibitor was accumulated with bulb thickening, reached a maximum peak at harvest time and then decreased with sprouting, and that at harvest time higher concentrations of the inhibitor were found in neck and outer part of bulb.

3. The inhibition of germination with ether extracts was recovered to some extent by addition of 10^{-1} and 10^{-3} mole cysteine solution. These facts suggest that allylsulfide may inhibit the activity of the sulfhydryl enzymes. Consequently germination inhibitor could be a inhibitor of sulphhydryl enzyme.

I. ま え が き

タマネギ汁液は種子の発芽を著しく抑制する力をもっており、それには物理的要因と発芽抑制物質が関与していることを前報⁽⁶⁾で報告した。

本報告では発芽抑制物質の本体を究明し、タマネギ球の休眠との関係を明らかにしたものである。

本研究は東北大学伊東教授のご指導のもとに行なわれたもので、ここに厚くお礼申しあげる。

II. 材料および方法

エーテル可溶物中に *Avena* の子葉鞘の生長を抑制する物質があつて、球の肥大とともに蓄積し、収穫時最高になり、後次第に減少することを明らかにし、球の休眠と関係する物質であろうと推論した⁽⁵⁾。

汁液中の発芽抑制作用もこれと同一物質によるものと

1965年12月16日受理

考え、収穫直後の泉州黄を主として使用し、汁液を調整し、100~300 cc の汁液からエーテルで抽出したエーテル・フラクションを分離し、減圧濃縮をした。

このエーテル・フラクションは油状のタマネギ臭を有する物質で、エーテル、アルコール、アセトンなどの有機溶媒に可溶で水に不溶な物質であつた。したがつて実験に際してはごく少量のアルコールにとかした後水を加えて 10 cc とし、これを原液として使用した。

III. 実験結果と考察

1. エーテル可溶物の種子発芽におよぼす影響

原液をいろいろにうすめて、9 cm シャーレに 3 cc ずつ与え、発芽におよぼす影響を調査した。

その結果は第1図のとおりで、ダイコンおよびタマネギの種子の発芽を原液は著しく抑制したが、その濃度が

Fig. 1. Inhibiting effect of ether fraction of onion juice on the germination of seeds.

うすめられるにつれて発芽率も高まり、エーテル抽出物の発芽抑制作用も低下した。したがってエーテル抽出物中に発芽抑制物質があることは明らかである。

2. エーテル可溶物の品種間差異

さきに供試した奥州種および泉州黄種の汁液 100 cc よりエーテル・フラクションを作り、10 cc の原液を調整し、いろいろにうすめて種子発芽におよぼす効果を検

Fig. 2. Varietal differences in inhibiting action of ether fraction of onion juice on the seed germination.

討した。

その結果は第2図のとおりであつた。

奥州種は泉州黄種より萌芽がおそいにもかかわらず種子の発芽抑制力が弱く、含有量の少ないことが示された。

このことは球の休眠に関連する要因としてエーテル・フラクションが考えられるが、主要因とはみとめられないことを暗示している。

Fig. 3. Histograms showing the germination inhibitor in ether extracts obtained from onion juice
 Extract A: Made on July 28 from rest bulbs
 Extract B: Made on Aug. 18 from sprouted bulbs grown in phytotron at 17°C after harvest.

3. Paper chromatography による分離

発芽抑制物質の本体を明らかにするために、エーテル・フラクションを休眠球および萌芽球の汁液 200cc より抽出し、濃縮後ペーパー・クロマトグラフィーによつて分離した。すなわち、東洋濾紙 No. 51 にエーテルでとかした原液をスポットし、イソプロピルアルコール：アンモニア：水 (v/v 10:1:1) で展開した。25 cm 前後上昇後とりだして風乾し、10 等分して小型シャーレにそれぞれを入れ、2 cc の蒸溜水を各シャーレに入れて溶出させ、その後ダイコンあるいはタマネギ種子を入れて発芽調査を行なつた。

その結果は第3図のとおりである。

第3図にみられるように Rf 0.8~1.0 の間に発芽を抑制する物質がみつめられた。この発芽抑制物質は萌芽球では減少しているが、なお存在していた。

Rf 0.8~1.0 の物質は発芽を抑制するばかりでなく、*Avena* の子葉鞘の生長も顕著に抑制する物質で、球の休眠と密接に関係している。したがつてこの物質を利用して種子の休眠誘起などの効果が期待される。

4. 発芽抑制物質の同定

エーテル抽出物中の発芽抑制物質はペーパークロマトグラフィーで分離すると、Rf 0.8~1.0 に分布することが明らかになったので、この部分をメタノールで抽出し、ベックマンで吸光度を測定した。

その結果は、第4図のとおりで、この曲線はピークがあまり明瞭でないが、ニンニク臭を有する点および FEHNEL ら⁽¹⁾ の報告より Allylsulfide 系物質であると同定された。

市販の Allylsulfide を供試してのベックマンの吸光度もほぼ同一であつたので、エーテル抽出の油状の物質は Allylsulfide であると考えられた。

また Allylsulfide と同一であるかを確かめるために市販の Allylsulfide をペーパーにスポットし、前記溶媒によつて展開後 10 等分して各切片について発芽試験を前と同様に行なつた。その結果、第5図にみられるように発芽抑制物質が Rf 0.8~1.0 にみつめられ、エーテル、フラクションとまちがいないことが確認された。

5. Allylsulfide の分布

Allylsulfide の球内分布を知りうるならばこの物質の萌芽抑制の機構も明らかにすることもできると思い、調査を行なつた。

Allylsulfide は刺激物質として報告⁽⁷⁾され、渡辺⁽⁸⁾、藤原⁽²⁾によつてつぎのようになつて発生することが引用されている。

Fig. 4. Ultraviolet absorption of Rf 0.8~1.0 zone.

Fig. 5. Effect of allylsulfide on the germination of radish and onion seeds.

したがつて Allylsulfide が発生する際はアンモニアも遊離に存在することが暗示され、このアンモニアの分布を調査すれば Allylsulfide の分布も知りうるものと考えられたので、球の切断面を作り、それにネスラー試薬を散布して呈色反応を試みた。

その結果は第6、7図のとおりである。

第6図は短日処理を行なつて球形形成を阻害せしめてい

る緑苗と肥大中の球とを供試したもので、底盤部を除き、ほとんど着色がみとめられなかった。

したがって苗から肥大中にかけて Allylsulfide の集積は少ないものと考えられる。

第7図は収穫後2週間めの球の結果で、外部肥厚葉および頸部に強い黄色の反応がみとめられた。

このことはタマネギの球には Allylsulfide が外側肥厚葉に多くあつて、貯蔵中分解して内部に移行するものと一部揮発するものとなつて内部生長を抑制しているものと思われた。

Fig. 6. Color reaction of onion plant grown under different photoperiod with Nessler's reagent.

Fig. 7. Color reaction of rest bulbs with Nessler's reagent (2 weeks after harvest).

第2報⁽²⁾で報告したように葉鞘の外部に乳腺組織が存在し、Allylsulfide 化合物が集積するものと思われるが、肥大とともに葉身中の Allylsulfide 化合物は葉鞘に移行する結果外部肥厚葉に多く集積しているものと思われる。

6. Allylsulfide の発芽抑制機構

Allylsulfide の発芽抑制の機作を明らかにするため、

タマネギ汁液 100 cc よりエーテル抽出物を作り、これを原液として実験を行なつた。

(1) この原液をわずかのアルコールに溶解後蒸留水 10 cc を加えて Allylsulfide 溶液をえた。この溶液に二十日ダイコン種子を浸漬し、18 時間後、48 時間後にそれぞれ取り出してから流水で洗い、外部の水を十分に濾紙で吸いとり、発芽試験を行なつた。

浸漬処理の方法は 9 cm シャーレに沍紙をしき、その上に種子をならべ、その沍紙上に Allylsulfide 溶液を流して行なつた。

発芽試験には 9 cm シャーレに水、1/100 M および 1/1000 M シスチン溶液 5 cc を培養液として加えて、室温（日中 20°C 前後、夜間 10°C 前後）のもとで行なつた。

その結果は第8図のとおりであつた。

18 時間浸漬処理では著しい発芽抑制作用はみられなかったが、48 時間浸漬処理では顕著に抑制された。

この発芽抑制も培養液として 10^{-2} あるいは 10^{-3} M シスチン液を用いるとかなり減退し、発芽の回復がみられた。

(2) エーテル抽出物の原液をわずかのアルコールにとかして後水、 10^{-2} M および 10^{-3} M シスチン液それぞれ 10 cc を加えて 48 時間混合処理をした。

それぞれの溶液を培養液とし、二十日ダイコン種子の発芽におよぼす影響を調査した。

その結果は第9図のとおりで、水で培養した区は著しく発芽が抑制された。それに対し、 10^{-2} M および 10^{-3} M シスチン液で培養した区ではわずかであるが発芽が増加している。しかしこの発芽の増加は 10^{-3} M シスチン区の方が 10^{-2} M シスチン区より著しいが、両区

Fig. 8. Recovery of germination of seed soaked in ether extracts obtained from onion juice by cysteine treatment.

Fig. 9. Effect of combination of ether extracts and cysteine on seed germination.

ともまだ発芽はかなり抑制されていた（水、両シスチン溶液で発芽試験を行なつた結果は5日締切で96, 98, 98パーセントで差異がなかつた）。

これら2実験によつてエーテル抽出物による発芽抑制がシスチンによつてかなり回復されたことは Allylsulfide が蛋白の -SH- と結合して -S-S- となり、不活性な酵素を形成するため、発芽が阻害される可能性がみとめられた。

すでに Allicin によつてパパインの SH 酵素が阻害されることを WILLS⁽⁹⁾ が報告しているし、また川崎⁽³⁾は B₁ 誘導体の Disulfide 型化合物によつて酵素であるウレアーゼの活性が阻害されることを報告している。

したがつてタマネギ汁液中の発芽抑制物質である Allylsulfide も SH 酵素の活性を阻害して発芽を抑制するものと考えられる。

今回の実験では Allylsulfide の純品を使用していないので、Allylsulfide の濃度とこれによる発芽阻害回復に必要なシスチンの濃度との関係などの解明が今後に残された問題かと思われる。

IV 摘 要

タマネギ汁液中の発芽抑制物質の本体を明らかにし、さらにこれの作用機作を検討するために実験を行ない、つぎの結果がえられた。

1. タマネギ汁液中のエーテル可溶物には種子の発芽を抑制する発芽抑制物質のあることがみとめられた。
2. このエーテル可溶物は遅萌芽性の奥州種に少なく、早萌芽性の泉州黄に多いことがみとめられ、発芽抑制物質が球の休眠と関係している主要因とは考えられない結果を示した。
3. イソプロピルアルコール・アンモニア・水で展開し、10等分してから蒸留水でそれぞれの部分を溶出せ

しめ、それらの液についてダイコン、タマネギ種子の発芽におよぼす影響を調査した結果は、Rf 0.8~1.0 の間に発芽抑制物質が存在することを示した。この部分は明らかに萌芽球のものよりも休眠球のものに著しい抑制力のあることを暗示した。

4. Rf 0.8~1.0 の部分はタマネギ臭があること、この部分の吸光度が Allylsulfide と一致していることおよび市販の Allylsulfide もこの位置に分布し、タマネギのものと Rf が一致することから Rf 0.8~1.0 の部分は Allylsulfide であると考えられた。

5. Allylsulfide の球内の分布をみると、肥大中はごくわずかであるが球の肥大完了とともに集積し、外部肥厚葉およびくびの部分に多く集積していた。

6. Allylsulfide をエーテル抽出物からえて発芽抑制機構を調査したところ、エーテル抽出物による発芽抑制がシスチンによつてかなり回復されたので、SH 酵素を Allylsulfide が不活性にして発芽を阻害するものであらうと考えられた。

引 用 文 献

1. FEHNEL, E. A. and M. CORMACK. 1949. The ultraviolet absorption spectra of organic sulfur compounds. I. Compounds containing the snlfide function. Jour. Amet. Chem. Soc. 71: 84~93.
2. 藤原元典. 1953. アリチアミンの発見. ビタミン. 6: 857~862.
3. 川崎近太郎・小橋恭一. 1963. Disulfide 化合物によるウレアーゼ阻害: (Ⅲ) ビタミン B₁ 誘導体によるウレアーゼ阻害. ビタミン. 28: 286~289.
4. 加藤 徹. 1963. タマネギの球の形成肥大および休眠に関する生理学的研究 (第2報) 園学雑. 32: 303~310.
5. ————. 1966. ———— (第8報). 園学雑. 35: 142~151.
6. ————. 1966. ———— (第9報). 同上. 35: 297~303.
7. PLATENIUS, H. and J. E. KNOTT. 1941. Factors affecting onion pungency. Jour. Agt. Res. 62: 371~379.
8. 渡辺 弘. 1953. ニンニクの栄養学的価値に関する研究 (I) ニンニクのビタミン B₁ 不顕化作用とその生成物質の生化学的検索. ビタミン. 6: 121~125.
9. WILLS, E. D. 1956. Enzyme inhibition by allicin, the active principle of garlic. Biochem. J. 63: 514~520.