論文のご高閲を賜った東京教育大学三輪知雄教授に対し厚く感謝の意を表する。また材料の栽培

は大阪学芸大学岡本義春助教授のご援助によった。ここに深謝する。

Summary

The phosphorylase activity was determined with the growing endosperms of each of the starchy, waxy and sugary races of maize as well as those of the hybrids, starchy×waxy and starchy×sugary. Changes in the enzyme activity were followed during the period of from 10 to 35 days after pollination.

No appreciable difference was found to exist between these different races and also between the hybrids thereof.

引 用 文 献

- 1) Tanaka, K., Mem. Osaka Univ. of the Lib. Arts & Educ. B. 3: 99 (1954). 2) Fiske, C. H. & Subbarow, Y. A., J. Biol. Chem., 66: 375 (1925). 3) Bliss, L. & Naylor, N. M., Cereal Chem., 23: 177 (1946). 4) Harte, C., Naturwiss. 42: 199 (1955):

ミトリササゲの発芽初期における澱粉粒の消長*

(ミトリササゲにおける形態形成の研究 第 I 報)

川 松 重 信**

Sigenobu KAWAMATU**: Changes in the Distribution and the Amount of Starch Grains in the Seedlings of a Bean, *Vigna sesquipedalis**. (Morphogenetical Studies in *Vigna sesquipedalis*, 1.)

1957 年 1 月 14 日受付

種子発芽に伴う諸物質の変移、消長及びそれと関連した物質代謝については、近來多くの報告がなされている。ミトリササゲについては、太田等 (4, 10, 11, 12, 13, 14) によって生理化学的に広汎な研究がなされている。堀田 (1954) は同じミトリササゲを用いて発芽初期の形態学的研究をしている。これらの諸結果から、発芽初期の生長

に炭水化物が一つの重要な役割をしていることが指摘される。

発芽に伴う炭水化物の動きを追究するのに、先ずでんぷんの消長が問題となる。筆者はミトリササゲ種子の発芽初期の各器官について、生長に伴うでんぷん粒の消長に関して若干の観察を行った。

この研究に当って、名古屋大学理学部生物学教室植物第一講座の人々から施設の利用など御援助をいただいたことを記し、感謝の意を表する。

材 料 と 方 法

材 料

* 本研究の一部は文部省科学研究費(総合研究課題番号 4074)を用いて行われた。この研究の一部は、日本植物学会中部支部大会(第 3 回)で発表した。

** 愛知学芸大学生物学教室 Biological Institute, Aichi Gakugei University, Okazaki, Japan.

市販のミトリスサゲ *Vigna sesquipedalis* Wight の種子を用いた。発芽状態、生長状態をなるべく同じようにそろえるため前年産の種子を用いた。

観察時期

完熟乾燥種子そのものの観察を0時間とし、以後は水に浸してから5時間おきに5, 10, 15, 20, 25時間目に観察した。30, 35時間, 2, 3, 4, 5, 6, 7日目の発芽幼植物の場合には、最初の24時間は水に浸し、それから種皮をむいて培養したもので観察した。7日目で観察を打ち切った理由は、子葉は7日目で離脱し、以後は専ら自營養的な生長しかなし得ないという一段階を劃する時期だからである。

培養方法

試験管に5ccのKnop液を入れ、細長く切ったろ紙を2枚立て、その間へ種皮をむいた24時間目の幼発芽植物をはさむ。この方法は幼根や胚軸をまっすぐに生長させるので、都合がよい。試験管は30°Cの暗黒にした恒温器へ入れた。Knop液及び暗黒ということで、発芽植物体の炭水化物は全く外部から入らず、すべて体内の変移・消長だけに問題が限られる。

観察した部位

幼根、子葉、子葉附着部位、ヒポコチル(胚軸)、エピコチル(上胚軸)及び幼葉(第一葉)。ヒポコチルは最も長く伸長し、かつ伸長度が一様でない。上、中、下に区切ってそれぞれ観察した。またエピコチルも4日目頃から伸長度が大になるので、上下に分けて観察した。幼根では、根端部と根毛の生えている伸長部に分けて観察した。

観察方法

上記の各時期の各器官を Tellyesniczky 液で固定し、パラフィン法で10μの切片とした。染色は主として I₂KI を用い、補助的に Hotchkiss McManus 法及び Lillie 法のも糖類染色法を用いた。いずれの場合もでんぷん粒は赤紫色に染まる。生材料の徒手切片及び凍結切片も作り染色したが、固定パラフィン切片法と全く同一の結果であった。

観 察 結 果

(1) 子 葉

発芽と共に子葉中のでんぷん粒は次第に数が減少し、又形も次第に小さくなってゆく。0時間か

ら25時間までは、その変化は著しくない、即ち子葉内の柔細胞はすべて大きなでんぷん粒がぎっしりつまっている(Pl. IV, 1)。30時間目頃から、でんぷん粒の減少は著しくなり、それと共に I₂KI で黄褐色に染る小粒子が目立ってくる(Pl. IV, 2)。2日目頃には、子葉外辺部の細胞にはでんぷん粒は殆んど無くなる(Pl. IV, 3)。でんぷん粒の減少、消失は時間と共に子葉内部の細胞へと及んでゆく。4日目頃には維管束のまわりの柔細胞にしかでんぷん粒は見られない(Pl. IV, 4, 5)。更に時間がたつと、この部位のでんぷん粒も消失してゆき、7日目即ち子葉離脱の頃には維管束のまわりの細胞に僅かのでんぷん粒が残っている程度となる(Pl. IV, 6)。

(2) 子葉附着部位

この部分は、3~4日目頃から第二次的な細胞分裂を行い離層形成が行われる特殊な機能をもつ組織である。0時間の時から既に少量且つ小粒のでんぷん粒が見られる(Pl. IV, 7)。ところが24時間程たった頃にはでんぷん粒は全然見られない(Pl. IV, 8)。次に30時間目頃から急激にはっきりとでんぷん粒が出現し、次第にその数が増加し(Pl. IV, 9)、35時間~2日目頃に最高に達する(Pl. IV, 10)。しかし、その1粒の大きさは子葉のそれに比べはるかに小さい。3~5日目にかけてでんぷん粒は離層形成部位に特に集中的に偏在してくる(Pl. IV, V, 13)。離層の分化形成は5日目には極めて明らかとなる(5~6日目に離層が出来て崩かいしてゆくことは、細胞形態学的観察のほかにその部分がアルテウムレッドでよく染まることから確かめられた)(Pl. IV, 12)。6日目には離層細胞は崩かいし始め子葉離脱現象が始まるが、その頃には崩かい部の両側にでんぷん粒を含む細胞の列が見られる(Pl. IV, 14)。

(3) ヒポコチル

0時間の時に既にかかなりの量のでんぷん粒が見られる。しかしその形は小さい(Pl. V, 1)。10~15時間目頃にはいく分増加の傾向を示すが(Pl. V, 2)、以後は次第に減少し25~30時間目頃になるとでんぷん粒は殆んど見られなくなる(Pl. V, 3)。この減少、消失期間を経たのちに再びでんぷん粒は出現し、しかも急激に増加し、35時間目頃にはでんぷん鞘(starch sheath)が現れ(Pl. V, 4)、2日目頃にヒポコチル全体のでんぷん粒の増

加は最高に達する (Pl. V, 5)。これ以後は、又次第に減少してゆくが、このさいでんぶん鞘の近くの細胞にはあとまででんぶん粒が残って見られる。この頃のヒポコチルはかなり長くなつて居り、上、中、下の 3 部分ででんぶん粒の量は異なる、即ち下部ほど多い (Pl. V, 5, 6, 7)。更に時間がたち、5 日目頃 (この頃はヒポコチルの生長は殆んど止まっている) になるとでんぶん粒は殆んど消失して居り、でんぶん鞘に僅かに見られるだけである (Pl. V, 8)。

(4) エピコチル

ヒポコチルによく似た結果を示す。0 時間のとき既にでんぶん粒は存在している (Pl. V, 9)。10～15 時間目頃いく分増加の傾向を示し (Pl. V, 10)、以後減少し 25～30 時間目頃にはほとんど消失し見られなくなる (Pl. V, 11)。しかるに又急激に増加し、2 日目頃に最高量のでんぶん粒が見られる (Pl. V, 12)。それ以後は次第に減少してゆく (Pl. V, 13)。4 日目よりはエピコチルもかなり長くなるので、上、下の 2 部分に分けてみると、5 日目までは下部の方が上部にくらべてでんぶん粒が多い (Pl. V, 14, 15)。しかし、6 日目以後は、逆に上部の方に多くなり、下部にはほとんど見られなくなる (Pl. V, 16, 17)。

(5) 幼 根

根端部 0 時間から発芽後 20 時間乃至 24 時間目までは、 I_2KI で僅かに青く染る微小粒しか見えず、典型的なでんぶん粒は存在しない。24 時間目頃から、はっきりしたでんぶん粒が黒く染って、根端生長点分裂部位に接した根冠のところに少し現れてくる。30 時間目には、更にはっきりとし、根端をつつむ根冠部にはどこでもでんぶん粒が見られる。2 日目に、でんぶん粒の出現度は最大となり、且つ、生長点分裂部位と根の最先端との間の円錐体状の部域に最も著しくでんぶん粒が分布して見られる (Pl. V, 18)。3 日目からは、でんぶん粒は減少しはじめ、5 日目には、ごく僅かしか見られず、7 日目には殆んど完全に消失してしまう。

伸長部 0～30 時間位の頃は、ヒポコチルとの区別が困難なので、2 日目以後即ち根毛が生じはじめた時から扱った。2 日目には、その部域全体にでんぶん粒が僅か見られる。3 日目も大体同様であるが、でんぶん鞘には特に多量のでんぶん粒

が見られる。4 日目以後は、その部域全体を通じてでんぶん粒は減少してゆく。特に中央部には殆んど見られなくなる。但しでんぶん鞘には最後 (7 日目) まで僅かではあるがでんぶん粒が残っている。

(6) 幼 葉

ミトリササゲでは第一葉 (2 枚の幼葉 plumule) は、既に完熟種子内において形成されている (但し、柵状・海綿の両組織分化は未だ行われていない)。0～20 時間の頃には、中肋部の下面に当る部域にのみ極めて僅かではあるがでんぶん粒が見られる。30 時間目には、増加し、出現部域も中肋下面部を中心に左右の葉肉下側部に及ぶ。2 日目には、でんぶん粒は極めて顕著となり、部域は葉肉上側部にも見られる (Pl. V, 19)。3 日目からは、でんぶん粒は減少しはじめ、中肋部下面にだけ僅か残った状態で 7 日目にいたる。

考 察

用いた培養方法即ち暗処で Knop 液という条件では、ミトリササゲの発芽幼植物は炭素源に関する限り従属栄養的な生長を行っているとみなしてよい。即ち発芽開始時の種子の各期官、組織内にある炭水化合物が、発芽生長とともに変化するだけである。或るものは呼吸基質として消費され、或るものは相互に転化し合つてゆく (でんぶんと可溶性糖とセルローズ)。これらに関する生理化学的解析はミトリササゲにおいて太田 (1953, 1954), Oota, Fujii & Osawa (1953), Oota, Fujii & Sunobe (1956), 藤井 (1956) により詳しく行われている。

植物体の個々の器官や組織におけるでんぶん粒の消長については古くから多くの研究があるが、近來は glucose-1-phosphate との関係においてなされている (Yin & Sun, 1949, Dyar, 1950, Ono, 1955 など)。しかし植物体の発生過程を追って各器官、組織のでんぶん粒消長をしらべた報告は少い (Buell, 1952 は *Dianthus* の胚囊・胚形成過程で詳しく観察している。原田 (1953) はミトリササゲの胚形成の研究で、極めて簡単ではあるが、子葉におけるでんぶん粒蓄積の様子を見ている)。

筆者は本報において、ミトリササゲの発芽初期の各器官、組織におけるでんぶん粒の消長を時間

を追って I_2KI 染色法でしらべた。ここにいう発芽初期とは、種子が発芽を始めてから7日までの間であり、7日目という時期は、(1) 明処、暗処、栄養物の有無に関せず必ず子葉の離脱が起る時であり (堀田, 1954 及び未発表論文), (2) ここに用いた培養法では体内の物質の移動、組み換えが一応終る時であり (Oota等, 1953), 又 (3) 同じくこの培養法では、種子内に形成されていた諸器官が展開しつくした時であり、根毛の発生、幼根内部組織の分化、幼葉柔組織の分化及び子葉離層の分化は起るけれども太田 (1953) の言う「本質的には、すでに分化すみの胚の各器官の拡大再生産にすぎず、新しい形態の展開すなわち茎の頂端部における葉原始体などの展開を実際上ともなわないといってよい」時であり、器官のオーダーでは単なる引き伸しとも言える簡単な生長が終った時である。要するに問題は専ら、子葉内に貯えられていたでんぷん粒が他の器官の展開に伴っていかに移動し消費されていくかということである。

観察結果を概観するために、Buell (1952) の用いた方法にならって、各器官、組織のでんぷん粒の消長を比較上の傾向として示すと第1図の如くである。でんぷん粒の減少は、形態学的には粒の数及び大きさの減少として認められるのであるが、問題は粒が微小になるにつれ、 I_2KI 染色の色調が変化することである。 I_2KI 反応は顕微化学的染色反応としては簡便且つ高い信頼度あるものとされているが、でんぷん粒が微小になると問題が出てくる (Swanson, 1948 は大きさと I_2KI 染色色調のことを論じている)。このミトリササゲの場合、赤褐色に染る小粒までにとどめ、それ以下の黄色に見える微小粒は問題外とした。

子葉には初め圧倒的に多量なでんぷん粒があり、発芽とともに一方的に減少してゆく。このことは Oota 等, (1953) の行つた可溶性多糖類 (主としてでんぷん) の定量的結果と一致している。但し、筆者の場合、発芽後1日間はでんぷん粒の減少は著しくない。これは、種子を水に浸したまま即ち airation のない状態で発芽させたため、でんぷん分解が始んど起らないためであろうと考えられる。子葉におけるでんぷん粒消長において

Fig. 1. Approximate tendency in changes of the amount of starch grains (after the representation mode employed by Buell, 1952). C: cotyledon, H: hypocotyl, E: epicotyl, R: radicle, P: plumule, A: abscission region of the cotyledon.

特に指摘したいことは、消失は子葉外辺部から始まり、次第に内部に及び、最後は維管束周囲の細胞にしかでんぷん粒が見られないことである。これは次のように説明できよう: (1) ミトリササゲの子葉内でんぷんの可溶性糖類への分解は amylase によらず専ら phosphorylase によるものと考えられて居る (藤井, 1956)。でんぷん粒の減少・消失が外辺部から起るのは、phosphorylase の活動が酸素供給と関連して起ること即ち子葉組織の airation は外辺部から順次内部へと及ぶからであろう。でんぷんからの糖生成に酸素の存在が大いに関係することは Porter, (1953), Porter & May, (1955), Oota 等, (1956) によって指摘されている; (2) 末期には維管束周囲の細胞にしかでんぷん粒が見られぬことは、その細胞の活動力、この場合維管束へ物を送り込む働き、と関連したことを考えられる (後述の子葉離層部、幼葉中肋附近、でんぷん鞘における場合も同じことであろう)。

子葉の離脱は新たにコルク形成層が分化し典型的な離層組織を作って行われる。形成層分化の開始は発芽後5日目の終り頃に始めて組織学的に認められる (堀田, 1954 及び未発表論文と一致した結果である)。しかるに離層形成予定域におけるでんぷん粒の消長は初期から特徴的な様子を示し

ている。即ち、発芽時に少量あったでんぷん粒は発芽とともに減少してゆき、24 時間程のうちに一旦全く見られなくなり、それからつづいて短時間のうちに急激にでんぷん粒は再び出現し、35 時間～2 日目に最高度になり、以後は漸次減少してゆく。組織学的に認められる離層の分化開始(5 日目)に先立って離層予定域にでんぷん粒の蓄積が起る(35 時間目から)ことは注意すべきことと思われる。離層組織の分化には、細胞分裂、セルロース膜形成、ペクチン質の変化、コルク質の生成という一連の現象が短時日のうちにつづいて起っているのであり、離層予定域の細胞には当然、生理学的・生化学的变化が生じているわけである(堀田、(未発表論文)は若干の物質について組織化学的研究を行って、このことを裏づけている)。でんぷん粒の蓄積が早くも 35 時間目から著しいことは、離層予定域の細胞が既にその頃から活動を始めたことの一つの現れであろう。黒上・曾我部(1952)は、晩生柑橘八朔種のがく部離層細胞において同じくでんぷん様顆粒の沈積を見ており、このことは「単なる生理現象の一環であるか又はがく部分離の前駆的不可欠条件として発現せるものであるか否か現在のところ不明である。しかしとにかくかかる顆粒細胞が他の細胞に比し相当高い生活機能を維持していることは明瞭である。」と論じている。

ヒポコチルとエピコチルにおけるでんぷん粒消長は大体同じ傾向である。極めて初期(10～15 時間)にはほんの僅か増加を示す(他の器官、組織ではこのようなことは見られなかった)が、その理由は今のところ判らない。25～30 時間の頃に完全にでんぷん粒が消失するのは、ヒポコチル、エピコチルの生長活動に消費されたことと考えられる、しかも子葉から供給される糖の量が未だ少ないことも相まっているであろう。2 日目頃に最高度のでんぷん蓄積が見られるのは、その頃には子葉からの糖供給が充分になり、余分の糖がでんぷんとして貯えられたものと考えられる。その後は、次第にでんぷん粒は減少するが、このことは発芽後半期のヒポコチル、エピコチルの生長には前半期にくらべて多量の炭水化物が消費されることを示すものであろう。これは、太田(12)の「前半には原

形質たんぱく増殖と壁物質増殖が見られ、後半には壁物質増殖だけが独走する」という結論とよく一致している。なお、ヒポコチルでは上部の方が下部よりも常にでんぷん粒が多いが、エピコチルでは初めは下部に多く後に逆転して上部の方になる。このことは、ヒポコチルとエピコチルでは伸長部域の分布が異っていること及び「前半にヒポコチルで起ったことが後半にはエピコチルでくりかえされるものようである」ということ(太田, 1953)から理解されよう。

幼根においては、根端部と伸長部ででんぷん粒の分布部域が異っている。根端ではでんぷん粒は根冠細胞にしか見られない(Dyar, 1950 の用いたマメにおいても、常に根冠細胞はでんぷん粒蓄積の能力が高い)。2 日目までに急速に蓄積が起り、以後は次第に減少しているが、これはここに用いた培養法では根端の生長は発芽前半で大体停止し、以後はむしろ凋びてゆくこと、即ち生長活動の程度と対応して説明できることであろう。幼根の伸長部域ではでんぷん粒は専らでんぷん鞘に見られる(ヒポコチルにおいてもでんぷん鞘にでんぷん粒の蓄積が最後まで認められた)。でんぷん鞘の生理学的役割とでんぷん粒の消長については、この場合、はっきりした説明はできないが、やはりこの部分の細胞は特別な活動をするものと見なされているから(Haberlandt, 1918, Esau, 1953), 単なるでんぷんの貯蔵場処というほかに内皮の分化と関連する積極的な役割も考えられる。

幼葉に関しては、中肋周辺の細胞に常にでんぷんの蓄積が強くみられることを指摘したい。これは子葉における場合と同じく、該細胞の有する活動力と結びついた現象として理解されよう。

以上の、子葉、子葉附着部位(若しくは離層形成部)、ヒポコチル、エピコチル、幼根、幼葉におけるでんぷん粒の分布、消長の状態を通じて、次のことが一貫した現象として指摘し得るであろう：(1) でんぷん粒は子葉から他の器官、組織へと移ってゆき、(2) そこにおけるでんぷん粒の消長は、子葉から供給される量とそこで消費される量との差として現れていること、及び(3) 生長活動特に細胞の活動が盛んな組織又は近隣の組織にでんぷん粒の蓄積が強いこと、である。

Summary

1. Changes in the distribution and the amount of starch grains were observed following the development of various organs and tissues in young seedlings of a bean, *Vigna sesquipedalis*.

2. The amount of starch grains in the cotyledon decreases steadily as germination proceeds; after 24 hr. the decrease is especially abrupt. Starch grains are first consumed in the outer portion of the cotyledon and the consumption proceeds then inward, and finally, on the 7th day, starch grains are observable only in the cells around the vascular bundles.

3. In the presumptive abscission region of the cotyledon, there is a marked accumulation of starch grains from the 2nd to the 5th day; on the 5th day the inception of a histologically detectable differentiation of abscission layer of the cotyledon appears.

4. The hypocotyl and the epicotyl possess a definite amount of starch grains at the beginning of germination; from 25 to 30 hr. the amount of starch grains becomes minimum; soon after they increase again and on the 2nd day their amount reaches maximum; then they decrease gradually until the starch grains are almost all consumed on the 6th day, except for a few remaining in the starch sheath of the hypocotyl.

5. In the radicle, there is a heavy accumulation of starch grains in the root cap cells and markedly so in the starch sheath of the elongation zone, reaching a maximum on the 2nd day.

6. In the plumule, starch grains are first detectable only in the dorsal part adjacent to the midrib; on the 2nd day they locate throughout the dorsal mesophyll tissue and then they decrease gradually until on the 6th or 7th day a few starch grains are retained only in the cells beneath the midrib.

文 献

- 1) Buell, K. M., Amer. Jour. Bot. **39**: 458 (1952). 2) Dyar, M. T., Amer. Jour. Bot. **37**: 786 (1950).
- 3) Esau, K. Plant anatomy. (New York) (1953). 4) 藤井良平, 植雑 **69**: 34 (1956).
- 5) Haberlandt, G., Physiologische Pflanzenanatomie. (Leipzig) (1918). 6) 原田市太郎, 日本植物学会中部支部大会 (1953).
- 7) 堀田康雄, 第19回日本植物学会大会 (1954). 8) 黒上泰治・曾我部哲, 園芸学会雑誌 **22**: 65 (1952).
- 9) Ono, H., Jap. Jour. Bot. **15**: 28 (1955). 10) 太田行人, 科学 **23**: 60 (1953).
- 11) 太田行人, 科学 **24**: 544 (1954). 12) 太田行人, 生物科学. 特集号. 発生: 52 (1955).
- 13) Oota, Y., Fujii, R. & Osawa, S., Jour. Biochem. **40**: 649 (1953), Oota, Y., Fujii, R. & Sunobe, Y., Physiol. Plant. **9**: 38 (1956).
- 15) Porter, H., Biochem. Soc. Symp. **11**: 27 (1953). 16) Porter, H. & May, L. H., Jour. Exper. Bot. **6**: 43 (1955).
- 17) Swanson, M. A., Jour. Biol. Chem. **172**: 825 (1948). 18) Yin, H. C. & Sun, C. N., Plant Physiol. **24**: 103 (1949).

Plate IV. 1—6. Starch grains of the cotyledon at various times after germination. ca. $\times 90$, except for 4 (ca. $\times 10$). 1. 24 hr. 2. 30 hr. 3. 2 days. 4. 4 days. Cross section, showing several vascular bundles. 5. 4 days. One vascular bundle. 6. 7 days. Ditto.

7—14. Starch grains in the abscission region of the cotyledon. ca. $\times 90$. 7. At the beginning of germination. 8. 24 hr. No starch grains. 9. 30 hr. 10. 35 hr. 11. 3 days. 12. 5 days. Formation of the abscission layer (iron haematoxylin). 13. 5 days. Ditto (I_2KI). 14. 6 days. Separating of the abscission layer.

S. Kawamura: Changes in the distribution and the amount of starch grains in the seedlings of a bean, *Vigna sesquipedalis*.

Plate V. 1—8. Starch grains in the hypocotyl. ca. $\times 90$. 1. At the beginning of germination. 2. 10 hr. 3. 30 hr. 4. 35 hr. Formation of the starch sheath. 5. 2 days. Upper part. 6. 2 days. Middle part. 7. 2 days. Lower part. 8. 5 days. Upper part.

9—17. Starch grains in the epicotyl. ca. $\times 90$. 9. At the beginning of germination. 10. 10 hr. 11. 30 hr. 12. 2 days. 13. 3 days. 14. 4 days. Upper part. 15. 4 days. Lower part. 16. 6 days. Upper part. 17. 6 days. Lower part.

18. Starch grains in the tip of radicle. 2 days. Starch grains are heavily seen in the root cap cells. ca. $\times 55$.

19. Starch grains in the plumule. 2 days. ca. $\times 55$.

S. Kawamura: Changes in the distribution and the amount of starch grains in the seedlings of a bean, *Vigna sesquipedalis*.