アメリカナデシコとコムギの芽ばえにおける α -アミラーゼの生成に対する可視光線の影響

高 見 亘*

Wataru TAKAMI*: Effect of Visible Light on the Formation of α -Amylase
in Seedlings of *Dianthus barbatus* and *Triticum aestivum*.

1963 年 7 月 20 日受付

種子の発芽に対する光の影響については、最近多くの研究がなされているが、発芽時における種子内のアミラーゼの生成に対する可視光線の影響についてはまったく知られていない。この報告においては、アメリカナデシコとコムギの種子で主として、可視光線の α -アミラーゼの生成に対する影響について調べた結果をのべる。

実験方法と結果

この実験は数年にわたってなされたが、使用した材料は、タキイ種苗株式会社から購入したアメリカナデシコ (*Dianthus barbatus*) および、同一農家から分けてもらったコムギ (*Triticum aestivum*) 農林 26 号の種子である。アメリカナデシコの種子は暗発芽性で、カラナデシコなどとはちがって α -アミラーゼを生成する。実験方法は、アメリカナデシコの場合には、直径 9 cm のペトリ皿にろ紙をしき、150~200 の種子をまき、蒸留水 4 ml を加え、恒温器内で発芽させた。照射の光源にはナショナル蛍光灯 (Fl. 20 w) を用い、恒温器内の温度の変化を少なくするために、恒温器の上方をガラス窓にし、光源を器外の上方面においた。照度はペトリ皿の底面における値で示し、対照としてペトリ皿を黒紙で包んだものを用いたが、ペトリ皿に穴をあけ温度計をそう入したものについて、一方を黒紙で包んでも温度差はほとんどないことをたしかめた。

一定日数後に 2 つずつのペトリ皿について発芽を測り、1~2 日風乾した後、発芽したものだけをえ

らんでその一部分で水分を測るとともに、他の大部分を量り、乳鉢ですりつぶし、重量で 10 倍の蒸留水中に懸濁させ、40°, 60 分間恒温槽で抽出、汙過したものを酵素液として、 α -アミラーゼの定量に使用した。 α -アミラーゼの活性度測定法は Wohlgemuth 法の荻原による改変法¹⁾、すなわちヨード呈色による変量法を時間法に改変したものを用いた。本論文の各表に示す活性度はすべて 1 ml の酵素液が 40°, 30 分間に分解 (ヨード呈色が標準色を示すまで) した 1% 可溶性デンプンの ml 数 ($D_{40}^{30'}/\text{ml}$) を示す。なお、これらの値は風乾種子より得た酵素液での実験結果を、乾種子を用いた場合に換算した値であって、次のようにして求めた。

麦芽 α -アミラーゼの最適 pH が 4.9~5.4 であるので、pH 5.0 で 40°, 30 分間に酵素液 1 ml が 1% 可溶性デンプン 6 ml をヨード呈色が標準色を示すまで分解する活性度を基準 (6) とする。重量 a の種子の乾燥量が a' であるとき、えられた酵素液 1 ml が t 分で 1% 可溶性デンプン 6 ml を分解した場合の活性度は

$$D_{40}^{30'}/\text{ml} = 6 \times \frac{30}{t} \times \frac{a}{a'}$$

コムギの場合には、直径 9 cm のペトリ皿に 1% 寒天をいれ、これに 50 個の種子をまき、2 または 3 個のペトリ皿を一試料とした。照射の方法はアメリカナデシコの場合とまったく同様で、 α -アミラーゼの活性度測定は、風乾した種子の水分を測るとともに、約 2 g を乳鉢ですりつぶし、重量で 10 または 20 倍の蒸留水中に懸濁させ、40°, 60 分間恒温槽で抽出、汙過したものを酵素液として使用した。また前者をさらに 2 倍、3 倍にうすめたものを用

* 早稲田大学商学部生物学教室 Biological
Institute, Faculty of Commerce, Waseda University, Tokyo, Japan.

い、標準点まで分解するに要する時間が 10~60 分程度になるようにしたが、 α -アミラーゼの活性度は 20 倍の水を加えて抽出した酵素液として算出した。

Table 1. Effect of irradiation of 500 lux on activity of α -amylase in seedlings and germination percentage of *Dianthus barbatus* at 20°. Results, 2 days after sowing. The activity of α -amylase is expressed as $\frac{a}{a'} \times$ millilitres of 1% soluble starch solution decomposed by 1 ml enzyme solution to the standard point in 30 minutes at 40° (a , weight of air-dried seedlings; a' , dry weight of seedlings). The enzyme solution was prepared by extracting the air-dried seedlings with 10 times the weight of water.

Hrs. of irradiation	Act. of α -amylase	Germ. %
0	4.0	67
24 (former half)	less than 2.0	65
24 (latter half)	less than 2.0	35
48	2.7	56

1. アメリカナデシコの芽ばえにおける α -アミラーゼの生成に対する光の影響： アメリカナデシコの種子は種まき後 2 日に弱い α -アミラーゼの活性が検出される。その強さは種まきの季節でかなり変動するようである。Table 1 は 20° で 500 lux の照射を、種まき直後の 24 時間、つぎの 24 時間および 48 時間連続おこなった場合における 2 日後の α -アミラーゼの活性度と参考までに発芽率を示す。 α -アミラーゼの活性度は 48 時間の照射によって阻害効果がみられる。このことは他の例でも認められた。しかし、24 時間の照射の方がより著しい阻害効果を与える。この阻害効果は温度の上昇によって減少するようである。その 1 例をあげると、25° の場合に 500 lux の照射時間が Table 1 のように 0, 24, 24, 48 時間の場合の α -アミラーゼの活性度は 3.9, 3.1, 3.8, 3.6 であった。

Table 2 は 20° または 25° で 500 lux の照射を 24 時間と 72 時間おこなった場合、種まき後 3 日における α -アミラーゼの活性度を示したもので

Table 2. Effect of irradiation of 500 lux on activity of α -amylase in seedlings of *Dianthus barbatus* at 20° or 25°. Results, 3 days after sowing. Other descriptions as in Table 1.

Hrs. of irradi.	Act. of α -amylase	
	20°	25°
0	10.0	14.3
24 (1st)	10.0	13.3
24 (middle)	10.0	16.7
24 (last)	10.5	20.0
72	10.0	15.4

Table 3. Effect of irradiation on activity of α -amylase in seedlings of *Dianthus barbatus*. Measurements 4 or 5 days after sowing. Other descriptions as in Table 1.

Temperature	Lux	0	96	0	120
20°	250	—	—	20.2	40.5
20°	250	—	—	31.1	33.7
25°	1000	13.6	17.1	—	—
27°	500	14.2	13.3	—	—
27°	500	—	—	17.1	20.5
27°	1000	—	—	10.9	14.8
27°	1000	—	—	18.1	24.1

Table 4. Activity of α -amylase in the flower of *Triticum aestivum* after anthesis. The activity of α -amylase is expressed as in Table 1. Ordinarily the enzyme solution was prepared by extracting the air-dried material with 20 times the weight of water. The activity of α -amylase was calculated as such extraction had been done.

Days after anthesis	α -amylase
8	7.5
12	6.8
16	6.0
19	2.5
26	0.9

ある。これによると、20° の場合には、照射の影響はみられず、25° の場合には、後期照射の場合に α -アミラーゼの生成が増加するといえることができる。

Table 3 は4日または5日間連続照射した場合の結果で、27°, 500 lux の4日後に対照とほとんど等しい値である1例を除いて照射により α -アミラーゼ生成の増加がみられる。

2. コムギの開花後の α -アミラーゼ: コムギの開花中にはきわめて弱い α -アミラーゼの活性がみられるが、開花後にはしだいに強くなり、開花後9日ころに最強となり、その後しだいに弱くなる。

Table 4 は5月初旬に開花したコムギの花中の α -アミラーゼの活性の変化を示したものである。

Table 5. Effect of irradiation of 500 lux on activity of α -amylase in seedlings of *Triticum aestivum* at 15°. Measurements 2 days after sowing. Other descriptions as in Table 4.

Hrs. of irradiation	Act. of α -amylase	
	1st exp.	2nd exp.
0	3.1	4.1
24 (former half)	2.9	3.1
24 (latter half)	3.8	3.6
48	3.1	4.1

Table 6. Effect of irradiation of 500 lux on activity of α -amylase in seedlings of *Triticum aestivum* at 20°. Measurements 2 days after sowing. Other descriptions as in Table 4.

Hrs. of irradiation	Act. of α -amylase	
	1st exp.	2nd exp.
0	7.5	8.8
24 (former half)	7.5	8.8
24 (latter half)	6.3	7.5
48	8.3	8.7

3. コムギの芽ばえにおける α -アミラーゼの生成に対する光の影響: Table 5, 6 はそれぞれ15° と 20° において、500 lux の照射をたねまき直後

Table 7. Activity of α -amylase in seedlings of *Triticum aestivum* under the consecutive irradiation at 15°. Other descriptions as in Table 4.

Temp.	Lux	Days	Act. of α -amylase	
			Dark	Light
15°	150	2	4.2	5.2
		3	37.2	29.2
		4	59.8	59.8
15°	500	2	1.4	4.5
		3	26.4	21.5
		4	80.0	54.5
		5	100.1	114.8
15°	500	2	1.4	4.5
		3	19.4	17.6
15°	500	2	6.6	5.6
		3	29.2	25.4

の24時間、つぎの24時間および48時間連続おこなった場合における2日後の α -アミラーゼの活性度を示したものである。これによると、15° の場合には最初の24時間の照射が、20° の場合には2日目の24時間の照射が阻害効果を与え、48時間の照射は20° の1例の場合を除き影響がないようである。しかし、15° の場合にも Table 7 に示すように、連続照射により2日後に α -アミラーゼの生成が増加する場合もある。2日、3日、4日後の α -アミラーゼの活性度はいずれもかなりのふれを示した。15° の場合には、3日または4日後に対照の値が大きくなり、その後対照と照射されたものとは同程度の値におちつくものと考えられる。

20° または 25° の場合には、Table 8 で示すように照射によって α -アミラーゼの生成は、多くの場合、2日後から促進されるといえることができる。対照と照射されたものの活性度は、4、5日後には同程度になる場合と、照射されたものの活性度がかなり大きい場合とが観察された。

考 察

暗発芽種子であるアメリカナデシコの発芽に際しては、コムギなどに比べて弱いけれども α -アミラーゼが生成される。上の実験の結果によれば、発芽

Table 8. Activity of α -amylase in seedlings of *Triticum aestivum* under the consecutive irradiation at 20° or 25°. Other descriptions as in Table 4.

Temp.	Lux	Days	Act. of α -amylase	
			Dark	Light
20°	150	2	69.6	83.6
		3	76.1	139.6
		4	139.6	139.6
20°	150	2	22.6	22.3
		3	105.8	84.7
		4	105.8	141.1
20°	180	2	40.0	57.1
		3	64.9	112.5
		4	130.9	145.5
		5	130.9	145.5
20°	300	2	14.9	20.9
		3	59.2	59.2
		4	94.7	94.7
		5	170.5	170.5
20°	500	2	12.4	14.0
		3	70.6	84.8
		4	105.8	114.4
		5	121.0	121.0
20°	900	2	26.8	29.5
		3	85.6	122.4
		4	135.8	135.8
		5	135.8	135.8
25°	1000	2	25.2	55.2
		3	65.2	94.2
		4	121.0	121.0

した種子については、20° で発芽させるとき、発芽の初期の2日後に観察すると、光は α -アミラーゼの生成を阻害することがしられる。この阻害効果

は、3日後には消失し、それ以後には、光の連続照射によって α -アミラーゼの生成は促進されることがわかる。ところが温度が25° の場合には光による α -アミラーゼの促進効果はすでに3日後に現われる。

したがって、 α -アミラーゼの生成は照射によって最初は阻害され、その後促進に転じるので、その中間の段階では、対照と照射されたものとの α -アミラーゼの活性が等しい時期があることになる。

コムギの開花後の α -アミラーゼは最も活性度が強いときには、種子をまいてから2日後にみられる活性と同程度となる。種子の成熟時の α , β -アミラーゼの変量についてはすでに報告されている²⁾。開花後に活性がみられた α -アミラーゼはタンパク質と結合して不活性な状態となり、プロティナーゼの作用によって遊離されると考えられている³⁾。コムギの種子は、15° で発芽した場合の α -アミラーゼの活性度は、照射によってかなり複雑な変動をするようである。すなわち、2日後では、対照の活性度の方が小さいが、3、4 日後には対照の活性度の方が大きくなり、その後両者は同程度の値にまで増加するか、または照射された方が大きい値となる。この照射による α -アミラーゼの生成の促進効果は温度の上昇とともに著しくなり、20° または25° では、対照の値が、3、4 日後に照射されたものの値をおいこさずに、いつも小さいか等しい傾向をもつということが出来る。種子の場合に関連して行なったコウジカビの実験の結果のうち、洗浄菌体を使った実験では、コウジカビの α -アミラーゼの生成は光によって阻害されることがみられた⁴⁾。

文 献

- 1) Hagiwara, B., Ann. Rep. Fac. Sci. Osaka Univ. **2**: 35 (1954).
- 2) Proskuriakov, N. I., and Nikiforovskaia, S.A., Doklady Akad. Nauk SSSR **102** (5): 989 (1955).
- 3) Nakamura, M., J. Agr. Chem. Soc. Japan **24**: 197, **25**: 248 (1951).
- 4) Takami, W., Journ. Ferm. Assoc. Japan, in press.

Summary

- 1) α -Amylase activity can be detected in the seedlings of *Dianthus barbatus*.
- 2) A slight α -amylase activity is observed in the flower of *Triticum aestivum*. About a week after anthesis, the activity attains its maximum value which is nearly as much as the value seen in seedlings 2 days after sowing at 15°.
- 3) Formation of α -amylase in the seedlings of *Dianthus barbatus* and *Triticum aestivum* is inhibited by light in the early stage of germination at lower temperatures 20° in the former plant and 15° in the latter. Formation of α -amylase in these seedlings is then noticeably promoted by light on the 4th or 5th day after sowing, so that there may be some intermediate stage in which the formation is not affected by light at all.