サンショウモの日長反応に関する研究 (VIII) CO による孢子のう果形成の促進

柴 田 治*

Osamu SHIBATA*: Studies on Photoperiodic Responses of *Salvinia natans* (VIII)
Promoting Effect of CO Application on Sporocarp Formation.

Received April 22, 1969

Abstract

The sporocarp formation in *Salvinia natans* was greatly accelerated in the first short day cycle consisting of 8 hour light and 16 hour dark periods, when 90% CO was given during the photoperiodic dark period. As the number of photoperiodic cycles increased, the number of sporocarps always became greater than that of controls.

The sporocarp formation under CO application was accelerated in the dark period longer than 12 hours. In 8 hour dark period, the sporocarps were initiated only when CO was applied, and it was suggested that CO can shorten the critical dark length of the plants.

The most effective time for the acceleration of sporocarp formation by CO in 16 hour dark period was found in the fourth quarter of the dark period, i. e. from 12 to 16 hours after the beginning of the dark period, and somewhat effective in the third quarter, whereas the CO applied during the first or the second quarter of the dark period was ineffective. The result seems to be consistent with the fact that the effect of CO to accelerate the sporocarp formation was observed only in the dark period longer than 12 hours.

No sporocarp was formed with the preceding photoperiodic cycle alone, consisting of the light and the light-interrupted dark periods. But, the sporocarps were initiated when the preceding cycle was followed by the cycle of main dark period. Thus, the number of the sporocarps was increased in the following order; (1) the non-CO treated dark period which was light-interrupted in aerobic condition, (2) the CO-treated dark period which was light-interrupted in aerobic one, and (3) the anaerobic dark period light-interrupted in anaerobic one.

From these results, it is suggested that a metabolic system which produces a photoperiodic stimulus is originally formed with the photoperiodic treatment and that an O_2 -independent process is contained in the later stage of the dark reaction in the metabolic system. The promoting effect of CO on the sporocarp formation may be due to the activation of the O_2 -independent process, and some O_2 -dependent processes may also be involved in the light interruption.

短日植物の暗期反応が日長刺激の生成に重要な役割を演じていることはよく知られている。この暗期

反応の機構については多くの報告がなされているにもかかわらず、生理的な面では詳しいことはそれほどよくわかっていない。

* 信州大学理学部生物学教室 Department of Biology, Faculty of Science, Shinshu University, Matsumoto, Japan.

Mercher und Claes¹⁾ はオナモミを用いて、光週暗期に N_2 を与えると花芽形成が阻害されること

を報告しており、暗期反応の代謝的特徴の輪かくを暗示している。また、種々の短日植物を用いて、Nakayama²⁾、柴田³⁾、Searle⁴⁾も暗期に種々の代謝阻害剤を与えて日長効果を観察している。その結果によると、何れの場合も重金属酵素阻害剤は日長効果を減少させ、暗期反応に重金属酵素の関与した代謝系の存在が予想された。しかし、柴田の場合には、この阻害された暗期に続く明期にブドウ糖を与えると、サンショウモの胞子果数が逆に対照区のものより増加することをみており、日長効果は重金属酵素阻害剤によってむしろ促進されるのではないかと考えた。Higase^{5,6)}はタバコの根の有気呼吸を抑制するような培養条件が花芽形成を促進し、また、根から吸収させたエタノールが同様に花芽形成を促進することから、花芽形成における無気呼吸系の関与を推測している。

CO は重金属酵素阻害剤の中で唯一の気体であるが、鉄酵素の多くを暗所においてのみ阻害するという点で他の阻害剤とは異っており、これらの特徴は暗期反応の解析的実験に基だ有効であると思われる。このようなCOが、短日条件下でサンショウモの胞子果形成を促進することはすでに前報³⁾で報告したが、この日長効果の促進についてさらに詳細な検討を行なったので、その結果をこゝに報告する。

実験材料と方法

実験材料には夜間にも白光色と昼光色の蛍光灯照射によって、24時間の連続照明下にKnop液で培養したサンショウモを用いた。培養条件や実験条件は前報³⁾とまったく同様であった。実験に先立って、生長しつつあるサンショウモの先端部から、生長点を含めて完全に展開した気中葉3対をつけた部分を切りとり、これを供試個体とした。したがって、実験に用いた個体は気中葉6枚を有していたことになる。短日処理は明期8時間、暗期16時間とし、とくに断らない限りは短日処理は3回行なった。この短日処理期間中に展開する葉は展葉前にすべて取り去った。処理の初めから15日目に、胞子果をつけた個体数による着果率と、1個体当りの平均胞子果数を数え、これらの多少によって日長効果の大小を判定した。

CO濃度はこれまでの実験と同様に90%とした。

暗期にCO処理をおこなう場合には、暗期の初めにサンショウモを気密なガラス箱に入れてワセリンで封じ、箱についた管の一方からCOを送入しつつ、他方の管から排気して箱内部の空気をCOと置換した。置換後はそれぞれの管についているゴム管をピンチコックで押え、箱外部との連絡を断った。この箱にはさらに暗箱をかぶせて遮光処理をおこない、暗期終了と同時にサンショウモをこれらの装置から取り出して、胞子果数を数える時まで連続照明下においた。

実験は5回から7回くりかえし、実験のそれぞれの処理には7個体を用いた。

実験結果

実験1

はじめに、短日処理の回数とCO処理の効果との関係を調べた。

COを与えた暗期(CO暗期)よりなる短日処理の回数が5回位になると、サンショウモの生長がやや抑えられたので、これの胞子果形成への影響を考慮してCO暗期の回数は4回までとした。

暗期にCOを与えない無CO暗期の場合には、着果率と平均胞子果数は、短日処理回数の増加につれてS字状曲線を描いて増加した。これに対してCO暗期よりなる短日では、処理回数の3と4でやや少なくなったとはいえ、処理回数の各々に対して平均胞子果数は無CO暗期の場合のほぼ100%の増加がある。したがって、この場合のS字状曲線の立上りは無CO暗期のものより急であった(Fig. 1)。着果率の変化も平均胞子果数の変化に似ており、COは試みた処理回数の範囲ではすべての場合に日長効果を強めた。

実験2

COによる日長効果の促進が限界暗期に影響を与えるか否かを検討するために、暗期の長さを7時間から16時間の間で2時間毎に変えて、着果率と平均胞子果数を調べた。

これらの結果はFig. 2に示した。無CO暗期の長さが10時間の時には、着果率は78%、平均胞子果数は1.9となり、10時間暗期でも多くの個体が日長に感応した。暗期がこれより長くなると着果率はすべて100%となり、平均胞子果数も暗期の長

Fig. 1. A relation between number of given short days and number of produced sporocarps per plant with or without CO treatment during photoperiodic dark period. —●—, with CO; —○—, without CO.

Fig. 2. Sporocarp formation in the various lengths of photoperiodic dark period with or without CO treatment during dark periods. —●— and —○—, % of plants produced sporocarps with and without CO treatment;●.... and○...., number of sporocarps per plant with and without CO.

Fig. 3. Effect on sporocarp formation of CO treatment given partially during a photoperiodic dark period. The procedure was repeated in three times. Sporocarps were initiated in all plants tested. /// , CO treatment; $\square$, absence of CO.

さに応じて増加した。しかし、暗期がこれより短くなると孢子果は全くつくられなくなった。CO 暗期の場合にはこれに反して、8 時間でも着果率は 20%，平均孢子果数は 0.2 となり、少数にせよ日長に感応したものがあつたが、7 時間では孢子果は全くつくられなかった。この結果、無 CO のときの限界暗期は 8 時間から 10 時間の間にあつたが、CO 暗期では 7 時間から 8 時間となり、CO 処理は限界暗期を少くとも 1 時間短縮させた。しかし、CO による孢子果形成の促進は、暗期の長さが 12 時間を超えた時にはじめて明らかであつた。

実験 3

16 時間暗期を通じて与えられた CO が日長効果を増大させることは、これまでの実験で明らかに示された。そこで、CO のこのような働きが暗期反応のすべての過程でなされるのか、あるいは一部の過程にのみ働くのかを知るために、つぎの実験をおこなつた。

16 時間暗期を 4 時間毎に 4 等分し、暗期の初めからサンショウモを入れてあつた気密な暗箱中へ、暗期開始後それぞれ所定の時刻に 90% CO を送入了。CO 送入後は、暗期の終了時刻までサンショウモを CO 気中においた。

得られた結果は Fig. 3 に示した。暗期開始後 12 時間目から CO を与えた時には、全く CO を与えなかったものと比較して孢子果数はかなり増加し、8

時間目から与えたものでは、12 時間目のものより孢子果数はさらに増加した。しかし、CO 処理された時間数—暗期開始から 8 時間以後では CO 処理は 8 時間、12 時間以後では 4 時間—から比較すれば、Fig. 3 から明らかなように、孢子果数の増加の割合は、12 時間目から CO を与えた時のほうが 8 時間目からのものより大であつた。暗期開始後 4 時間目から CO を与えた場合には、8 時間後のものとはほとんど差はなく、またこの両者は暗期の初めから CO 気中におかれたものとの間にも、平均孢子果数にはほとんど差はなかつた。したがって、CO による孢子果形成促進の働きは、暗期開始後 12 時間から 16 時間の間でもっとも大であり、次は 8 時間から 12 時間の間であつた。暗期前半では、CO による孢子果形成促進の働きはみられなかつた。

実験 4

短日植物では一般に、暗期中央における光中断処理が日長効果を無効にする。サンショウモも暗期を光中断されると孢子果がつくられなくなるが、この光中断暗期よりなる短日処理に続いて光中断されない短日暗期を与えると、光中断されない短日処理のみを与えた場合より多くの孢子果がつくられる。しかし、光中断した場合も含めた短日処理と等しい回数の時よりは少い。このことは光中断暗期も孢子果形成に何等かの影響を与えていたことを示すものと思われる⁹⁾。ここではこの様な事実をもとに、光中

Fig. 4. Sporocarp formation influenced by aerobic or anaerobic condition of the dark period of a preceding cycle. Numbers on each line which shows a time schedule of various treatments indicate the number of the preceding or main cycle given. Light interruption was given for 10 minutes at the middle of 16 hr. dark period. □, light period; ■, dark period; ····, CO treatment.

断暗期に CO を与えた場合と与えない場合に、光中断時の気相条件を有気的あるいは無気的に変えて日長効果のあらわれ方を調べた。

光中断は 16 時間暗期の中央で 10 分間、100W 白熱ランプと 30W 白光色蛍光灯を照射して行なった。CO 暗期を光中断する際の条件としては、90% CO を満たした気密箱内にサンショウモをおいたまま遮光用暗箱のみを取り去った無気的条件（無気的光中断）と、その時に気密箱内からサンショウモを取り出して、大気中で露光した有気的条件（有気的光中断）の 2 通りであった。後者の場合、光中断処理後は直ちに気密箱内にサンショウモを戻し、箱内部の気相を CO と置換した後に再び遮光した。

種々の処理条件の組合わせは、それらの結果と一緒に Fig. 4 に示した。無 CO 暗期を光中断した場合も含めて、光週期の暗期のすべてが光中断暗期であれば、ここで試みた条件の範囲では孢子果は全くつくられなかった。しかし、光中断暗期よりなる光週期に続いて光中断されない暗期が与えられた時には、孢子果がつくれ、その時つくられる平均孢子果数は光中断暗期、あるいは光中断の条件の違いによって変動した。すなわち、有気的に光中断された無 CO 暗期 2 回に続いて光中断されない暗期を 1

回与えた時よりも、CO 暗期を有気的に光中断した後光中断されない暗期を与えた場合の方が、平均孢子果数は著しく多かった。この CO 暗期の光中断が無気的におこなえば、平均孢子果数は有気的に光中断されたものよりさらに増加した。有気的にせよ無気的にせよ、CO 暗期を光中断すれば、光中断されなかった場合—ここでは CO 暗期 2 回と無 CO 暗期 1 回よりなる短日処理—よりも平均孢子果数は少なくなった。この様に、光中断暗期に対する CO 処理の影響は、次に光中断されない短日処理が与えられた時の日長効果のうえにあらわれ、光中断暗期、または光中断の条件は有気的であるより無気的である方が、平均孢子果数は多かった。

考 察

CO は一般に重金属酵素の活性を阻害するが、鉄酵素は暗所では阻害されても、多くのものは光照射によって再活性化されることはよく知られた事実である。したがって、鉄酵素では、CO による暗期の阻害処理と実際の阻害の一致が他の阻害剤よりも期待出来る。また、ここで用いた CO 濃度は 90% で、残余の 10% は空気であって完全な無気の状態と

なっていないが、ここでは CO で置換された状態を無氣的と呼ぶことにした。

CO が代謝阻害に関して 上述の如き特徴を有するとはいえ、CO 暗期の回数の増加はサンショウモの發育を阻害する傾向があった。しかし、外觀上發育阻害がみられない範囲の処理回数では、すべての場合に平均胞子果数は対照区の無 CO 暗期より著しく増加した。

このように日長効果を強める働きを有する CO は、限界暗期にも僅かではあるが影響を与えた。日長を 2 時間毎にしか変えていないため、詳しい時間は明らかではないが、CO は限界暗期を少なくとも 1 時間短くした。しかし、平均胞子果数のうえに CO 処理の影響が明らかに現われたのは、暗期が 12 時間より長くなった時で、暗期がこれより短い場合には、CO 処理をしないものとの間に差はなかった。このことは、CO の日長効果を強める主な働きが、暗期の初めから 12 時間以後にあることを示している。しかし、CO 処理によって限界暗期がほぼ 1 時間短縮されたことは、暗期の初めから 8 時間の間においても、CO は胞子果形成に何等かの影響を与えていたことを示すものと思われる。

CO による胞子果形成の促進が暗期の特定の過程においてなされることは、実験 3 の結果から明らかである。暗期開始直後から 8 時間までの間で CO を与えた時の平均胞子果数は時期によって変化せず、したがって、暗期の前半では、CO は胞子果形成を促進しない。暗期後半においては、CO を与えた時の平均胞子果数の変動の様子から、胞子果形成にもっとも促進的に働く時期は暗期開始から 12 時間以降にあると思われる。この推測は、限界暗期が 12 時間より長くなった時に初めて、CO 処理の効果があらわれてきたことと一致している。Nakayama⁹⁾によれば、アサガオでは 16 時間暗期を 2 等分してその半期に KCN、または NaN_3 を与えると、前半期より後半期にそれらを与えた時の方が花芽形成阻害は著しかった。しかし一方では、種子発芽の日長性に関する実験から、Fujii¹⁰⁾ は、暗期の無氣的条件がむしろカゼクサ種子の発芽を促進させることをみて、発芽には O_2 を必要とする過程と必要としない過程の 2 つが含まれる、と結論しているが、この結論はここで得られた結果と比較して興味がある。

カゼクサ種子の発芽において、光中断時の気相条

件を調べた Fujii¹⁰⁾ は、光週暗期の光中断を有氣的条件下で行なえば光中断の効果はあらわれるが、 N_2 中の無氣的条件下で行なえばその効果はみられなくなることから、光中断には O_2 依存性の過程が含まれると推測している。サンショウモの日長効果の場合には、暗期の条件にも光中断時の条件にも関係なく、暗期が光中断されると胞子果は全くつかない。

しかし、この直後に光中断されない暗期よりなる光週期が与えられた場合には、胞子果がつくられたが、この時つくられる胞子果数は、光中断暗期と光中断時の条件によって変動した。すなわち、何れの場合も有氣的よりは無氣的である方が胞子果数は多い。この点では、ここで得られた結果は、種子発芽の光週性における光中断に関して Fujii が得た結論に似ている。

実験 4 の結果において、光中断された無 CO 暗期 2 回と、これに続く 3 回目に光中断されない無 CO 暗期を 1 回与えた時の平均胞子果数は、3 回目の処理に対してのみつくられたものと考えられる。他方、光中断しない無 CO 暗期を、それぞれ 2 回と 3 回与えた時の平均胞子果数の差は、同様に 3 回目の処理のみでつくられた数に相当すると考えられる故、現在の実験条件では、日長刺激が無効にされるのはほとんど光中断処理によると考えれば、両者の平均胞子果数は理論的には等しくなる筈である。ここで実際に得られた値と比較すれば、前者は 3.4、後者は 3.5 となって、両者はほぼ等しく差は認められない。同様にして、光中断されない無 CO 暗期の 1 回目と 2 回目のみの日長処理効果に相当する平均胞子果数は、それぞれ 0.6、2.6 と次第に増加する。これらの結果は、日長刺激のような光に不安定な成分以外に、光に安定な、したがって累積しう成分が日長処理によって生成することを暗示していると思われる。内生リズムの発生に関して、Takimoto and Hamner¹²⁾ がアサガオで示した条件がサンショウモにも適用しうるとすれば、この成分は内生リズムとは関係ない。すでに前報⁸⁾でも論じ、また他の人々^{13,14)}によってもしばしば暗示されているように、日長刺激の生成に関与した新たな代謝系の活性化を示しているのかも知れない。この推測は、日長処理が呼吸量を増加させ¹⁵⁾、脱水素酵素活性を強める¹⁶⁾、という報告とも一致するように思われる。

上述のような観点からすれば、光中断暗期におけ

る CO の存在が、これに続いた光中断されない無 CO 暗期でつくられる孢子果数を増加させたことと、CO が暗期の特定の時刻でのみ孢子果形成の促進に有効であったという結果は、日長刺激の生成に関与した代謝系は光中断には安定であり、そのような代謝系の一部が、光中断処理の有無に関係なしに CO によって一層活性化された可能性を示している。短日処理で活性化されたサンショウモの脱水素酵素能は、CO 処理されたものでは一層強くなる、という報告¹⁷⁾はこのような観点と一致するように思われる。

終りに、終始御鞭撻をいただき、原稿校閲の労をとられた信州大学中山包教授に深甚なる謝意を表します。

摘 要

サンショウモは短日条件の下で孢子果をつくるが、暗期(16時間)に濃度90%のCOを与えると孢子果数は著しく増加し、日長効果が促進された。

暗期の長さを変えてCOの効果のみとところ、孢子果形成は暗期が12時間より長い時にのみ促進された。8時間暗期では、COを与えない時には孢子果は全くつくられなかったが、COを与えると僅かではあるが孢子果をつけ、CO処理は限界暗期を短くした。

16時間暗期の一部にCOを与えた時、孢子果形成の促進にもっとも有効に働いた時期は、暗期開始後12時間と16時間の間にあり、次は8時間と12時間の間にあった。暗期開始直後から8時間までは、COは孢子果形成を促進しなかった。

暗期が光中断された時には孢子果はつくられないが、これに続いて光中断されない暗期よりなる短日処理を与えると、孢子果がつくられた。この時つくられる孢子果数は、有氣的に光中断された有氣的暗

期、有氣的に光中断された無氣的暗期、無氣的に光中断された無氣的暗期の順で増加した。

日長刺激を生成する特異な代謝系が暗期を通じて形成され、この暗期反応の後期にはO₂の関与しない過程があると思われる。COはこの過程の活性化を促進することによって孢子果数を増加させたのであろう。また、光中断には、O₂依存性の過程が含まれていると思われる。

文 献

- 1) Merchers, G. und Claes, H., Naturwiss. 31: 249 (1943).
- 2) Nakayama, S., Bot. Mag. Tokyo 68: 61 (1955).
- 3) 柴田 治, 植雑. 73: 120 (1960).
- 4) Searle, N. E., Plant Physiol. 39: suppl. xxxvii (1964).
- 5) Higase, S., Plant & Cell Physiol. 6: 775 (1965).
- 6) 東瀬士郎, 日作紀. 34: 197 (1965).
- 7) Shibata, O., J. Fac. Lib. Arts & Sci., Shinshu Univ. 8 (Part II): 7 (1958).
- 8) Shibata, O., J. Fac. Lib. Arts & Sci., Shinshu Univ. 9 (Part II): 21 (1959).
- 9) Nakayama, S., Memo. Fac. Lib. Arts Edu. Miyazaki Univ. 1: 7 (1957).
- 10) Fujii, T., Plant & Cell Physiol. 6: 135 (1965).
- 11) Fujii, T., Plant & Cell Physiol. 4: 357 (1963).
- 12) Takimoto, A. and Hamner, K. C., Plant Physiol. 39: 1024 (1964).
- 13) Ross, C. and Krinner, M., Plant Physiol., 42: suppl. s-20 (1967).
- 14) Schwabe, W. W., J. Exptl. Bot. 10: 317 (1959).
- 15) Elliot, B. B. and Leopold, A. C., Plant Physiol. 27: 787 (1952).
- 16) Thein, M. M., Amer. J. Bot. 44: 514 (1957).
- 17) 柴田 治, 第32回植物学大会(神戸)(1967).