種子における休眠・発芽の制御機構

江 刺 洋 司 Yohji ESASHI
東北大学教養部生物学教室

植物の種類や繁殖環境で異なる種子の多様な発芽行動を、その底を流れる共通の仕組から統一的に理解することは多くの研究者にとっての長年の夢であったが、それは至難のことであった。しかし、今日、それを達成させるためのいくつかの糸口がみつかり始めている。本稿では、この問題についての最近の研究動向を、筆者らの研究成果をも踏まえながら紹介してみたい。

1. Khan の三因子制御説まで

Hemberg⁽¹⁾が、ジャガイモ塊茎の休眠現象を2種類の相反する働きをする生長調節物質の関与と、その均衡によって説明して以来、この種の考え方は急速に一般化され、やがて種子発芽の調節機構にも適用されるようになった。とくに、種々のジベレリン (GA) が、すべての種子においてではないが、多くの種子の発芽を促進し、そして、種子内に存在することが明らかになり、また発芽を抑えるアブシジン酸 (ABA) も種子に普遍的に含まれることが見いだされ^(2,3)、この種の考え方は発芽の仕組の説明に一層定着したかのように思われた。しかし、塊茎や樹木の休眠芽の場合とは異なって、種子の発芽に対しては ABA と GA が互いに拮抗的であるよりはそうでない場合のほうが多く、両者を主役として種子発芽の調

節機構を統一的に理解することは困難であった。したがって、当時 ABA は種子の場合にも休眠を誘導する本体であると思われていたので、それに対抗しうるもう一つの発芽促進物質の存在を仮定しない限り、Hemberg の考え方を種子発芽にまで拡大して適用することは不可能であった。Khan が *Science* 誌上に発表した休眠・発芽の三因子制御説^(4,5)は、そのような背景のもとに生まれる (図1)。

それに好都合な発芽促進物質としてサイトカイニン (Kin) が存在した^(2,3)。この植物ホルモンは多くの現象において ABA 作用と拮抗し⁽⁶⁾、実際に発芽を促進するものであった。しかし、GA の作用範囲に比べて Kin のそれは非常に狭く、禾本科植物の種子には効果がなく、

図1 植物ホルモンの三種、GA、Kin、発芽阻害物質 (ABA など) の組合せによる種子休眠・発芽の制御様式のモデル

⊕生理的作用を発揮するレベルで体内に存在する場合、
⊖そのレベルで存在しない場合 (Khan, 1971, 1975)^(4,5)

光発芽種子に限られたものであったので、Kin を発芽制御機構のもう一方の旗頭と考える動きはそれまではほとんど見られなかった。

ところで、種子発芽の科学史にレタスなどとともに指導的役割を果たしてきた実験材料にオナモミ属がある。その果実は、やや大型でその下位に位置する種子と、やや小型でその上位に位置している種子との2個の種子を含み、両者ともに収穫直後は休眠して常温・空気下で発芽できないが、高温乾燥下での後熟によって休眠から覚めると、下位種子だけが発芽し、上位種子は依然として休眠状態を続ける。後熟前での発芽不能の状態は、種子内組織（胚や子葉）が生長できないことによるものなので、真の休眠とでも称するとするならば⁽⁶⁾、後熟上位種子のそれは、生長しうるが種皮の強度に勝るほどの推力をそれによって作ることができないことに起因する偽りの休眠であることが明らかにされている⁽⁷⁾。当時、この上位・下位種子間の発芽能（生長力）の違いは、それらに含まれる2種類の生長抑制物質の分解力の差に由来すると考えられていた⁽⁸⁾が、Khan⁽⁹⁾は光発芽種子でもないこの種子の発芽が、GA によっては促進されないのに、Kin によって誘起されることを見だし、その結果は、GA が体内の生長抑制物質の作用に拮抗できないのに対して、Kin はそれに拮抗できることから生じたと考えた（図1-③）。

ここで考えられたような Kin と ABA やタマリシなどの発芽阻害物質との拮抗関係は、レタスをはじめ多くの種子でも一般的に認められることであった⁽¹⁰⁻¹²⁾ので、逆に、穀類種子における Kin 効果の欠失は、それらの休眠が主として GA 分泌能の欠如に由来するものであり、もしこれらに対しても外から ABA を与えるならば、Kin の効果を発現させると判断した（図1-⑤）。そこで、このことを証明するために、オオムギ芽生における子葉鞘伸長生長、および糊粉層における α -アミラーゼ生合成系^(13,14)などを用いて、ABA と Kin との間の相互関係について詳しく検討し、オオムギ種子も Kin に感応しうることを明らかにした。この仮説は、低湿後熟型の西洋トネリコ⁽¹⁵⁾、カエデ^(16,17)、リンゴ⁽¹⁸⁾などの種子その他において、図2⁽¹⁷⁾に代表されるような、低湿下での休眠覚醒が ABA の減少と GA、Kin の増大を伴う過程であることが明らかにされ（図1-⑥型から-②への移行）、一層確固たるものになった。また、発芽を促

図2 カエデの一種、*Acer saccharum* の種子におけるブタノール可溶 Kin、酸性酢酸エチル可溶 GA 様物質、ならびに ABA 含有量の 5°C での低温処理に伴う変動
■レタス下胚軸検定による GA 活性、○ダイズのカルス生長検定による Kin 活性、●GLC による ABA 活性 (Webb et al., 1973)⁽¹⁷⁾

進する赤色光が光発芽種子の Kin 含量を高めること^(19,20)も、彼の説には都合のよいものであった。この説の特徴は、発芽制御の主役はあくまで GA であり、Kin は GA によって誘導されるべき発芽過程の進行が ABA その他によって阻止されているときのみ副次的に働きだし、必要になるというものであり、すべての植物種子はこの 8 型のうちのどれかに属するとした。

以後、この仮説は発芽の科学に多大の影響を与え、今日に至っている。しかし、この仮説の抱えているいくつかの問題点を指摘せざるをえない。その第一は、発芽過程そのものとはまったく無縁の子葉鞘伸長生長や α -アミラーゼ生合成をホルモン活性の指標として用いたことである。いうまでもなく、オーキシン依存の液胞拡張型細胞生長は発芽にはまったく関与しない。また、 α -アミラーゼを中心とする種々の加水分解酵素生合成の GA による促進も、当時は発芽そのものに不可欠な過程であるかのように考えられていたが、彼もまたその立場において、GA、Kin、ABA 間の相互関係を解析し、発芽の制御に結びつけてしまったのである。実際には、その前年の 1970 年から Chen & Varner⁽²¹⁾、Bewley⁽²²⁾、Chen & Park⁽²³⁾、Koehler & Varner⁽²⁴⁾らによって、GA による酵素合成の促進は発芽の前提条件ではなく、むしろ発芽後の芽生の生長にかかわる現象であることが続々と報告されたのである。そして、残りのいくつかの理由の中で、Khan の説に致命的であったのは、当時すでにその存在が明らかにされていたにもかかわらず、第4の発芽制御因子としてのエチレン (C_2H_4) をまったく無視してしまったことである。

2. 発芽における閉鎖環境の意義

光発芽種子に多いごく微小の種子を除いて、土の中は発芽にとって望ましい環境であることはいうまでもない。しかし、土中の環境がなぜ望ましいのかについては、つい最近までそれほど真剣に検討されたことはなく、単に、発芽に必要な水分の供給に適した環境であるといった程度の認識ではなかったと思われる。

第4の制御因子としての C_2H_4 を登場させることになったきっかけを作ったのは、Ballard & Grant Lipp による *Trifolium subterraneum* (ツメクサの一種) を用いた一連の研究である。このマメ科の硬実種子は、他の硬実種子と同様に、種皮の濃硫酸処理・摩損処理などによって発芽させることができる⁽²⁵⁾が、GA や Kin に感応することはない。ところが、0.5~5% の CO_2 はその発芽を促進したのである^(26,27)。 CO_2 の発芽促進作用は以前から知られていたが、問題は、光発芽種子のレタス⁽²⁸⁾、および高乾後熟型のオナモミ⁽²⁹⁾の両者ともに CO_2 によって促進されるので、それは発芽の制御に一般的な現象らしいということである。

ところで、 CO_2 以外で種子が放出するガスとして C_2H_4 が存在し、同時に、 C_2H_4 ^(30~32) あるいはその類似化合物としての ethylenechlorohydrin^(33,34) が樹木の休眠芽、塊茎、種子などの休眠打破に働くことが古くから知られていた。したがって、 CO_2 の効果を確かめるために用いられる閉鎖環境は、必ずしも CO_2 だけの効果を反映させるとは限らないと思われる。そこで、*T. subterraneum* を用いて、表1に示すような CO_2 、 C_2H_4 、および両者の吸収剤の組合せのもとで発芽実験をしてみたところ、 CO_2 と C_2H_4 の吸収剤としての $NaOH \cdot Hg(ClO_4)_2$ が存在するときには発芽がまったく起こらず、 CO_2 と C_2H_4 両者が加えられたときに最大の効果を示した。しかし、 $NaOH$ が存在していてもわずか $1 \mu l/l$ の C_2H_4 によって高い発芽率を示すこと、逆に $Hg(ClO_4)_2$ の存在下では CO_2 の効果はすこぶる小さいことから、閉鎖環境下での発芽調節の主役は CO_2 ではなく C_2H_4 であることは明らかである⁽³⁵⁾。さらに、 $Hg(ClO_4)_2$ の存在下での CO_2 効果の減衰から、 CO_2 効果の中には C_2H_4 作用と関係しあって働く部分もあると推定されるが、その後、発芽過程において CO_2 が C_2H_4 の生成を促進することも明らかになった^(35,36)。また、 C_2H_4 は $0.001 \mu l/l$ の低

表 1 *Trifolium subterraneum* cv. Dinninup
の発芽と CO_2 および C_2H_4

処 理	発 芽 率 (%)			
	空気	C_2H_4 ($1 \mu l/l$)	CO_2 (2.5%)	$C_2H_4 + CO_2$ ($1 \mu l/l$)(2.5%)
無処理(対照)	12	62	27	83
$Hg(ClO_4)_2$	4	5	17	
$NaOH$	2	55	4	
$Hg(ClO_4)_2 \cdot NaOH$	0			

CO_2 、 C_2H_4 それぞれの吸収剤として 10% $NaOH$ 、2.5N $Hg(ClO_4)_2$ 溶液をビーカー中に放置、ビーカーはパラフィルムで密封、25°C、24 時間暗所での発芽率を示す (Esashi & Leopold, 1969)。

濃度で発芽を促進した⁽³⁵⁾。

かくして、*T. subterraneum* の硬実性は、まさに開放系(ペトリ皿の上)で発芽実験がなされたがために生じた虚像であって、自然界における土中という半閉鎖的環境下ではこの硬実種子もありきたりの種子でしかなかったのである。考えようによっては、GA よりも Kin よりも重要な発芽制御物質、それが C_2H_4 であったのである。その後、レタス^(37,38)、ピーナッツ^(39,40)をはじめ、多くの種子の発芽が C_2H_4 によって促進され、単子葉植物種子を含めてすべての種子が C_2H_4 を放出することが明らかになり、 C_2H_4 の発芽調節上の役割は一層重要性を帯びてきている。その上、土壤微生物によって作られる C_2H_4 を含めて、土中における C_2H_4 濃度が時によって $10 \mu l/l$ にも達することが報告されており⁽⁴¹⁾、土中の環境は単に保水のためだけでなく、自らの放出した CO_2 とくに C_2H_4 を自らのまわりに貯えるために、なくてはならないものであったのである。

オナモミの発芽も CO_2 によって促進されるので^(29,36)、当然この種子の休眠・発芽の制御も C_2H_4 によって調節されていると考えられる。事実、 C_2H_4 は $0.1 \mu l/l$ の濃度で効果を示し、最適濃度では Kin よりも効果的であった⁽³⁶⁾。つまり、種子自体が含み、あるいは放出する物質、GA、Kin、 CO_2 、 C_2H_4 のうち C_2H_4 がもっとも高い活性を示し、これら4種の物質の同時添加が最大の効果をもたらした⁽⁴²⁾。また、水浸後、 C_2H_4 に感応する時期は CO_2 に感応する時期の後に来る⁽⁴³⁾が、Kin に感応する時期に先行し、GA は C_2H_4 の存在するときだけ効力を発揮した⁽⁴²⁾。

以上は、オナモミの発芽行動を決定する因子は C_2H_4 であることを意味し、植物ホルモンとしての C_2H_4 の関与を無視する如何なる仮説も無意味であることを示して

いる。

オナモミ種子には好氣的・嫌氣的と2種類の C_2H_4 生成系があるが、後熟前で休眠中の種子の好氣的 C_2H_4 生成能は非常に低い⁽⁴⁴⁾。また、ピーナッツ品種間の休眠性の差⁽³⁹⁾、オナモミ上位・下位種子間の発芽能の差⁽³⁶⁾は、 C_2H_4 の生成能の差に対応している。したがって、リンゴやカエデの低温後熟型の種子における休眠覚醒がGAやKin水準の上昇を伴う過程であるとするれば、オナモミやピーナッツ⁽⁴⁵⁾の高乾後熟型の種子における休眠覚醒は好氣的 C_2H_4 生成能の獲得ということになる。

3. 発芽は生長の結果である

つい最近まで、種皮を構成する多糖類の加水分解による種皮の脆弱化が発芽に必要な過程であるとする意見があった。発芽を促進する赤色光やGAが種々の多糖類加水分解酵素、endo- β -mannase⁽⁴⁶⁾、endo- β -1,3-glucanase^(47,48)、endo-hydrolase⁽⁴⁹⁾の生成・分泌を促す事実などもこの見解に与るものであった。しかし、前述のように、GAによる α -アミラーゼ生成促進が発芽に不可欠な過程ではありえないと同様に、Halmerら⁽⁵⁰⁾による詳細な検討から、レタスにおけるendo- β -mannaseの活性増大も発芽後に起こる現象であることが明確になっており、種皮の強度が発芽の容易さに関わっている事実については認めざるをえないものの、種皮の脆弱化を発芽の前提条件とする意見が妥当なものでないことは明らかである。

種子における休眠覚醒が種子内組織の生長力獲得の過程であり、その発芽は、種皮の強度の減少の結果でなくて、種皮の耐推力*に種子内組織の生長力(推力)の和が打ち勝ったときに起こる現象であることは、オナモミをモデルとした解析から明らかである⁽⁷⁾。種皮の耐推力は発芽の起こる時点までほとんど変化せず、そのときの下位・上位種子の種皮の耐推力は、それぞれ67.5g重であった。それに対して、下位種子の胚(幼根、下胚軸、

表2 種々の植物ホルモンおよび発芽促進物質に対するオナモミ種子の発芽行動

処 理 物 質	発芽反応		生 長 反 応				正 常 型 発 芽 の 割合(%)
			胚 軸		子 葉		
	休 眠	見掛けの 休眠	休 眠	非休眠	休 眠	非休眠	
オーキシシン (IAA)	±	—	±	—	±	±	
Kin (BA)	卅	卅	卅	卅	卅	卅	55
GA (GA ₃)	±	+	±	卅	+	卅	57
C ₂ H ₄	卅	卅	卅	卅	卅	卅	48
CO ₂	+	卅	+	卅	+	+	76
チオウレア	卅	卅	卅	卅	卅	卅	80
KNO ₃	±	±	±	—	卅	±	

—は阻害、+〜卅は促進の程度を示す。休眠は後熟前の種子およびそれから取りだされた切片、見掛けの休眠は後熟上位種子を示す。正常型発芽とは幼根突出型の発芽を指す。オーキシン、Kin、GAの代表として、IAA、ベンジルアデニン、GA₃が用いられている。(Esashi *et al.*, 1977)⁽⁵¹⁾

胚芽、子葉柄を含む)組織、子葉組織は、それぞれ、受動的吸水(N₂気中)で10および20g重、能動的吸水(空気中での生長)で39および15g重、計84g重の推力を発芽直前に創出し、この値は種皮の耐推力67g重をはるかに越えるもので、その結果発芽可能であった。一方、上位種子からの総推力は41g重にしかならず、種皮の耐推力を越えるに至らない。その結果、上位種子は休眠は覚めても、前述の土中の環境に類した条件が与えられない限り見掛けの休眠状態に留まり、そのまま後述の二次休眠に突入してしまう。重要なことは、双子葉植物における総推力は胚組織と子葉組織の生長力の和によるのに対して、単子葉植物におけるそれは主として胚組織の生長力にだけ依存するということで、これは、主として子葉の初期生長促進を介して働くKinが禾本科種子に効果を示しえない理由でもあらうと思われる。

前述の種々の植物ホルモンや、従来発芽促進に働くといわれてきたその他の物質の作用は、究極的にはすべて種子内組織の初期生長の促進を介して働くものといって過言ではない(表2)⁽⁵¹⁾。GA単独ではオナモミ種子の休眠を打破することも、発芽を誘導することもできないが、それは、GAが胚組織の生長促進に機能しえないことに起因している。一方、Kinは種皮を子葉側で破る異常発芽を惹起する場合が多いが、それは、Kinが主として子葉の初期生長を促すことと関係している。C₂H₄はもっとも効果の大きいホルモンであったが、それは両組織の生長に対してともに高い活性をもつことによると思われる。NO₃⁻は多くの種子で発芽促進剤として知られているが、オナモミでは効果はない。これも胚組織の生長を

* 吸水しつつある胚によって形成され、種皮を内側から押し破ろうとする力に対する抵抗力。

促進しえないことに関係すると思われるが、逆に、時によって C_2H_4 以上の発芽促進効果を示すチオウレアは特に胚組織の生長力を高めることによって正常型（種皮が幼根部で破れる）での発芽を促進する。GA の発芽促進効果は C_2H_4 の存在するときだけ発現されたが、GA による生長促進効果もまた C_2H_4 の存在するときに大きい⁽⁵²⁾。つまり、 C_2H_4 は体内に存在する GA を賦活する働きをも兼ねていることになるかもしれない。

ここで重要なことは、外から GA や Kin を与えて発芽させることは発芽の制御においては邪道であるということである。それぞれの発芽に必要最低限の量は自らの体内にもっているわけであり、要はその使用発現を抑えたり、あるいはその作用効果を拡大している仕組の解明にこそ発芽の科学の基本的命題がある。外部からのホルモン処理は無理矢理に種子内組織の生長を促すことによって種皮を破らせたに過ぎないのである。しかし、それらの効果さえ、種子の置かれた状態によって減退してゆく。そこに関わる仕組は何か。

4. 発芽と O_2

種子の発芽に O_2 が必要なことは、いわば常識のようなものであろう。事実、種皮を傷つけて O_2 に対する透過性を高めたり、あるいは O_2 分圧を高めたりすることによって発芽を誘導する例は、硬実種子に限らず枚挙にいとまがない。レタス^(29,53)、オナモミ^(29,36) もしかりである。しかし、水生植物のイネ⁽⁵⁴⁾ やガマ⁽⁵⁵⁾ で代表されるように、 O_2 欠失下において発芽しうる種子もまた存在する。この違いが単に ATP 供給系の差に求めるものか否か、あらためて発芽における O_2 の役割を検討してみたい。

従来、オナモミ種子の高 O_2 分圧下での発芽は、体内に存在する発芽阻害物質の酸化的分解の促進の結果であるとされてきた⁽⁸⁾。しかし、高 O_2 分圧下での発芽行動は子葉展開主導の異常型であり^(29,42)、むしろ Kin の効果に近い。また、実際に子葉の最大生長は高 O_2 分圧下で起こるが、胚軸生長はむしろ低 O_2 分圧下で良好である⁽⁴⁴⁾ ので、 O_2 による阻害物質分解促進によるという説は当を得たものではないと思われる。その点、まだ、 O_2 の促進効果を体内 Kin 生合成の促進に求めた行き方⁽⁵⁶⁾ のほうが、 O_2 も Kin もともに子葉の生長を促すだけに、より適切と思われる。しかし、高 O_2 分圧効果は子葉を

もたないオオムギ⁽⁵⁷⁾ や野性エンバク⁽⁵⁸⁾ でも見られることなので、これまた妥当なものとはいえない。ところで、これらの禾本科種子の休眠は、胚芽が GA 生成・分泌能を欠くことによるとされてきたが⁽⁵⁹⁾、後熟の前後で呼吸能に差はなく、GA によって O_2 吸収が高められることもない⁽⁶⁰⁾。また、オナモミでは O_2 分圧の増大が C_2H_4 生成を促進することもない⁽³⁶⁾。したがって、種々の発芽様式に高 O_2 分圧が果たす共通の役割は、阻害物質の分解、Kin の生合成、GA 作用の助長、 C_2H_4 生合成の促進などとは無縁のものと考えられる。

ところで、水生植物の種子に限らず、種子発芽の初期過程には O_2 は不要で、 O_2 を必要とする種子の場合でも、 O_2 を必要とする時期は幼根突出期の少し前にある^(43,61-63)。その時期以前では、種子によってはむしろ O_2 が存在しないほうが発芽によいこともある⁽⁶⁴⁻⁶⁶⁾。重要なことは、*T. subterraneum*⁽⁶⁶⁾ を例にとるならば、この嫌気性は CO_2 の発芽促進効果が生ずるような条件下でのみ発現するというものであり、それは、この種子のペトリ皿上での硬実としての挙動が、先述のように放出した C_2H_4 を身近に貯えることができなかったがために起こっただけではなく、その種皮が期待とは逆に O_2 を透しえないのではなく、 O_2 を透しえたがために生じたものであるということである。筆者らの研究グループは、草本植物の無性の繁殖器官全般における休眠発達は好氣的過程であり、無 O_2 条件は休眠化を阻止することで萌芽をもたらしうることを報告してきた^(67,68)。種子の場合にも、まさに O_2 が介在することによって発芽力を低下させるような系が介在することが暗示されたのである。つまり、*T. subterraneum* においては高温下では発芽を抑える系が作動し出すので、その条件下で発芽させるには外から余分の CO_2 を与えることによって C_2H_4 効果を引き出すことが必要であったのであり、 O_2 がなければ仮想される抑制系が作動していないので、 CO_2 を与えなくとも、低温域においてのようにその後空気下に戻されたならば発芽しえたのであろうと推定される。

陸生植物の種子のすべてが発芽に O_2 を必要とするといっても過言ではないほどなのに、この種の好嫌気性がこれらの中にも一般的に存在するらしいことが最近になってわかってきている。Tissaoui & Côme⁽⁶⁹⁾ によれば、低湿後熟型のリンゴの休眠を破るには低温処理が必要であるが、この場合の低湿条件は高温嫌気条件によって完

全に代替できる。つまり、 O_2 があれば休眠覚醒は低温でしか進行しなかったが、 O_2 がなければ高温でかまわないことになり、もし前述した ABA の消失、GA·Kin の生成が好氣的低温下で進行する特異的な反応であるとすれば、高温嫌気処理は GA·Kin の存在なしに発芽を許すことにさえなりかねない。 O_2 の存在が発芽抑止系の作動を伴うからこそ、 O_2 の存在下では GA·Kin が必要なかもしれない。先の図 2 において、不思議なことに休眠の完全覚醒は体内 GA·Kin の消失さえ伴っていた。この事実は、従来はまったく説明不可能なことであったが、もし低温処理が、仮想される抑止系の発達基盤をも除去してしまうと仮定するならば、好氣的条件下でさえも発芽に必要な GA·Kin の量はごくわずかなものになることは当然のことであろう。

5. 二 次 休 眠

先の Khan の三因子制御説に見られるように、体内の GA·Kin などの働きを加減するのは、体内に含まれる ABA を代表とする発芽阻害物質と考えられてきた。しかし、レタスなどでは、体内 ABA 含量はたとえ二次休眠を誘導するような高温・暗所下でも、まったく間に減少し、消失してしまうことさえある⁽⁷⁰⁾ので、その種の考え方が適切とはいえない。

ところで、レタス⁽⁷¹⁻⁷⁴⁾、オナモミ⁽⁵²⁾をはじめ、光であろうとホルモンであろうと、外から与える発芽促進因子の効率は例外なく水浸とともに減少し、やがて消失する。この時期は二次休眠の始まりに対応する。二次休眠はどの種子の場合にも高温で発芽に不適な条件下、たとえばレタスでは暗所で、オナモミ下位種子では低 O_2 分圧⁽⁷⁵⁾で進行する現象であることは古くから知られていることであるが、問題は、何が GA, Kin, CO_2 , C_2H_4 , チオウレア、赤色光などに対する反応性を支配しているかである。

これらの発芽促進因子の効果は、多くは C_2H_4 の存在下で高められ^(52,72,74,76)、二次休眠の誘導につながる条件はレタス⁽⁷⁷⁾でもオナモミ⁽⁵²⁾でも C_2H_4 生成能の低下を伴うので、それらの効果を調節する因子も C_2H_4 生成能で、また二次休眠化も低い C_2H_4 生成能によって特徴づけることができるのかもしれない。しかし、種子が二次休眠に突入してしまったときには C_2H_4 を与えても発芽させることができない⁽⁵²⁾ので、光やホルモンに対する感応性

を奪う主たる原因が C_2H_4 生成能の衰退にあるとは考えられない。また、この時点での種子内組織も GA, Kin, C_2H_4 , チオウレアに感応して生長できる⁽⁵²⁾ので、それらに対する感応性の低下によるものとも思われない。

ところが、Vidaver & Hsiao は、レタスにおける赤色光や GA 感応性を減衰させ、二次休眠化を促す高温・暗所の条件を無 O_2 状態で保つならば、その減衰も二次休眠化も起こらないことを見だしている⁽⁷⁸⁾。つまり、 O_2 の存在が発芽抑止系の作動を許し、光や GA に対する感応性さえも奪ったのであって、この現象も先のリンゴや *T. subterraneum* の場合と本質的には同じことになる。好氣的条件下で、二次休眠化を妨げ、高温・暗所での発芽を光発芽種子であるレタスで誘起するには、 O_2 分圧を高めて発芽抑止系の活性に勝る推力を種子内組織に与える以外に方法はない^(28,53)。

まったく同じ現象は、彼らの研究とは無関係に他の視点からなされたオナモミの発芽に関する研究でも見だされている⁽⁷⁹⁾。高 O_2 分圧を発芽に必要としたオナモミが、0.5% 以下の O_2 濃度に曝された後も発芽したのである。この嫌気処理は、ある期間の水浸後にだけ効果を生じ、しかも、その効果は嫌気処理時間に比例した⁽⁷⁹⁾。その後、この現象は発芽の無気誘導と名付けられている⁽⁸⁰⁾。先に、 C_2H_4 は種子においては嫌氣的にも形成されることを述べたが、そのようにして形成される C_2H_4 は無気誘導をも促進する⁽⁸⁰⁾。しかし、 C_2H_4 吸収剤の存在下でも無気誘導は起こるので、 O_2 欠失条件それ自体が、 O_2 の存在下で発達し作動する発芽抑止系を不活性化することによって発芽力を高めることは間違いない。二次休眠を誘導する発芽抑止系の実体は、そしてそれを抑える無気誘導の仕組みは、逆にそれに打ち勝つ高 O_2 分圧の作用機構は、何か。休眠発芽の制御機構の統一的理解を得るための鍵はここにあるように思われる。

6. EMP 系と PP 系の均衡

低温後熟型（リンゴ）であろうと、高乾後熟型で高温発芽（オナモミ）、低温発芽（*T. subterraneum*）、低温発芽・高温光要求（レタス）型であろうと、無気誘導が共通に成立することから、仮想される発芽抑止系の発達・作動に O_2 が必要なことは明らかである。このことは、水浸とともに始まる発芽抑止系の発達もエネルギー利用の積極的過程であることを示唆するが、事実、レタスを

用いた実験において、二次休眠を誘導するような条件下でも核酸、ポリゾーム、蛋白質の生合成が起こっていることが明らかにされる^(81,82)。したがって、発芽が一種の生長現象であるからには、当然生長の基盤としての核酸や蛋白質の生合成があり、その調節こそ休眠・発芽の制御機構の本質であるとする単純な思考はいただけない。むしろ、父母によって伝えられた遺伝情報の活用に見合うエネルギーや還元力の供給のあり方の中にこそ、我々の求めねばならない本質があるということであろう。

このきっかけを作ったのは、1964年に始まる Roberts グループによる一連の研究であろう。彼らは、イネを代表とする種々の禾本科植物の種子の発芽が、いわゆる呼吸阻害剤である CN, N₃, NH₂OH, Malonate などによって促進されることを見だした^(83,84)。それら阻害剤の効果は、その後レタス⁽⁸⁵⁻⁸⁷⁾や *T. subterraneum*⁽⁸⁸⁾ でも見いだされ、発芽にごく一般的な現象であることが明らかになった。

いわゆる有気呼吸系としての解糖 (EMP 系)・TCA 回路・電子伝達系路の連鎖が発芽初期から働いていることはよく知られた事実である。しかし、水浸初期には無気呼吸が先行し^(82,83)、発芽初期におけるこの連鎖が発芽にさほど意味をもったものでないこともまた、水生植物の種子発芽を考えるまでもなく明らかであろう^(89,90)。事実、レタス⁽⁸¹⁾にしろ、オナモミ⁽⁴³⁾にしろ、水浸後しばらくの間は O₂ は発芽にまったく不要である。ところが、発芽初期における呼吸の大部分が六炭糖-磷酸副路 (PP 系) を介して行なわれていることもわかっており^(91,92)、

しかもそれが CN や N₃ によって阻害されないことから、CN, N₃ などの発芽促進作用は PP 系路と関係させられることになっていった。とくに、低温後熟型の *Prunus cerasus*^(93,94)、高乾後熟型のオオムギ⁽⁹⁵⁾、野性エンバク⁽⁶⁰⁾でも休眠覚醒が PP 系路活性の増大を伴うことが判明するに及んで、発芽における PP 系路の意義は一層揺ぎないものになり、その後の Roberts⁽⁹⁶⁾ の説、「休眠覚醒は糖代謝の EMP 系路から PP 系路依存への転換である」の基をなすことになった。野性エンバクにおいては休眠を破る GA がその転換を促し⁽⁶⁰⁾、PP 系路を構成する 2 つの主要脱水素酵素、glucose-6-phosphate dehydrogenase (G 6 PD) と 6-phosphogluconate dehydrogenase (6 PGD) を活性化させること⁽⁹⁷⁾もこの説に好都合である。

ところで、乾燥種子においては休眠・非休眠種子間で G 6 PD, 6 PGD 活性の間に差はなく、給水が両者の活性増大を惹き起こすに過ぎない^(96,97)。また、電子伝達系路の補酵素、NAD, NADH₂ と、PP 系路の補酵素、NADP, NADPH₂ の含有量についても乾燥状態では両者間に差はない⁽⁹⁸⁾ので、休眠種子における低い PP 系路活性は酵素量や補酵素量の違いによるものとは考えられない。

一方、代謝調節の研究から、PP 系路制御の鍵酵素は G 6 PD であり⁽⁹⁸⁾、その活性の調節因子は NADPH₂ であることが証明されている⁽⁹⁹⁾ので、PP 系路の実際の制御は NADPH₂→NADP の再酸化能によって決定されると考えられる。Roberts⁽⁹⁶⁾はこの立場から、休眠種子に

図 3 野性エンバクの発芽の EMP 系路と PP 系路均衡による発芽調節図式
a₁: 最大 O₂ 消費, a₂: 制限された O₂ 消費, K: O₂ 供給の機能, T: O₂ 供給量 (Simmonds & Simpson, 1972)⁽¹⁰⁰⁾

おける PP 系路の欠失は NADPH_2 再酸化能の欠失に由来するものであり、後熟は再酸化能獲得の過程でもあるとした。そしてこの点から、従来その作用機構の不明であった高 O_2 分圧、 NO_2^- (NO_3^- は NO_2^- に還元されてから) の作用はもちろんのこと、CN, malonate などの呼吸阻害剤の作用も説明しうるとした。水浸初期では EMP 系と PP 系が拮抗関係にあるが、休眠中は前者に傾いているものを、malonate, CN などは EMP 系、TCA 回路、電子伝達路を介しての糖分解を抑えることによって後者の活性を強めて発芽を促進し、一方、高濃度の O_2 は前者の作動をも高めるが、CN 非感受型の酸化・還元系を介して NADPH_2 の再酸化を促すことによって発芽促進に働くことと推定した。また、 NO_2^- も NADPH_2 再酸化における H_2 受容体として機能しうると考えている。

それに対して、Simmonds & Simpson⁽¹⁰⁰⁾ は Atkinson⁽¹⁰¹⁾ によるエネルギー価の概念を導入することによって、 O_2 濃度に関わる発芽調節は代謝調節の視点から理解すべきものとした(図3)。 O_2 分圧の上昇が芽生における呼吸の PP 系路依存度を高めることが報告されていた⁽¹⁰²⁾が、EMP系路活性を支配するphosphofructokinase (PK) の活性がエネルギー価によって決定されることから⁽¹⁰³⁾、Roberts が指摘するように O_2 が直接に NADPH_2 の再酸化に働くよりは、高 O_2 分圧が EMP 系を介しての糖分解とそこでの酸化的磷酸化を促すことによってエネルギー価を高め、その結果 PK 活性を抑制し、G 6P の PP 系路での運用を大きくすることで働くのであろうとした。このことは、休眠覚醒・発芽には高い PP 系路活性に基づく還元力 (NADPH_2) や素材 (ribose-5-P など) の供給が不可欠であると同時に、EMP 系を介しての一定量の ATP 供給もまた不可欠であることを示唆している。このような発芽における EMP 系と PP 系活性の均衡の重要性は、CN や N_3 の発芽促進がある濃度範囲でだけ認められる現象であることから推察されることではあるが、さらには次に述べる malonate や GA の効果などからも理解される。

Malonate は野性エンバクの休眠中は発芽を促進するが、休眠から覚めたときには逆にそれを抑制する。つまり、休眠中で EMP 系活性が高過ぎる場合には促進的であるが、非休眠でその活性が適正になっている場合には malonate は抑制的に働く。一方、GA の効果は suc-

inate と同時に与えると大きい。これは、GA が TCA 回路を活性化し、その結果としての高いエネルギー価が feedback 的に EMP 系を阻害するが、succinate の存在はそれを一層加速し、Pasteur 効果類似の効果を引き出したことによるとした。もし O_2 が限定要因でなければ、蓄積した G 6P が PP 系路に導入され、ATP 供給量に見合った NADPH_2 供給体制を形作ることになる。この種の考え方は、先の CO_2 独自の発芽促進効果 (C_2H_4 生成の促進も間接的には関係するかもしれないが) にも適用できるかもしれない。なぜなら、この種子の後熟が malate 含量の増大に対応し、しかも水浸初期に CO_2 が malate に固定されることが知られているからである⁽¹⁰⁴⁾。このときもまた、PK の feedback 制御が起こるのではなかろうか。

7. 発芽抑止系

これまでの話の中で、種子発芽の制御には、高乾後熟型種子に代表されるように、もともと体内に所有したり、自らが分泌したりする GA, Kin, C_2H_4 の作用の発現の仕方に関わるものと、それに対して低湿後熟型種子に代表されるように、GA や Kin の量自体の調節に関わるものとの二型の存在を述べてきたが、両者ともに無気誘導によって発芽力が高められるか、あるいは維持されるものであった。このことは、以上のように対処の仕方は異なり、またその表われ方や程度は異なるであろうが、すべての種子に共通に、発芽に不適な O_2 分圧下で温度上昇とともに活性の増大する発芽抑止系そのものの解明なしには発芽の制御機構の統一的理解はありえないことを示唆するものと思われる。

Malonate は休眠中の種子においてだけ促進的であったが、レタスにおいても類似の効果が認められている。chloramphenicol は発芽を促進するが、その効果は休眠性の深い系統 (同じ品種でも産地・収穫年で異なる) において大きく⁽¹⁰⁵⁾、かつ高温・暗所あるいは近赤外光照射後の二次休眠誘導条件下でのみ認められた^(106,107)。なお、この場合、cycloheximide, puromycin, *p*-fluorophenylalanine は無効なので⁽¹⁰⁵⁾、chloramphenicol は蛋白質生成阻害剤としてよりは酸化的磷酸化阻害剤⁽¹⁰⁸⁾として作用したと見なされるが、とくに重要なことは、その存在下で起こるはずの赤色光感受性の減衰 (二次休眠化) がまったく起こらなかったことである⁽¹⁰⁷⁾。そし

図 4 オナモミ上位種子の KCN, NaN₃, NH₂OH に
対する感応性の好気的水浸期間を通じての変化
○ 10 mM KCN, ● 0.5 mM NaN₃, △ 20 mM NH₂OH
前処理, 発芽テストはすべて 23°C で行なう。
(Esashi et al., 投稿中)⁽¹¹³⁾

て, 同じことが酸化の磷酸化共役阻害剤である DNP の存在下でも見られたのである⁽¹⁰⁷⁾。同様に, 先の *T. subterraneum* の場合も⁽⁸⁸⁾, DNP, N₃ などの効果は, CO₂ の発芽促進効果が生ずるような条件, つまり高温下での二次休眠誘導条件下においてだけ生じた。このことは, その存在を仮定してきた発芽抑止系が, まさに一般的な EMP 系路・TCA 回路・電子伝達系路という ATP 供給系の発達作動と密接に関係していることを示している。そうであるならば, 単に PP 系路に勝る EMP 系路活性化が発芽抑止系であり, それが光やホルモンに対する感応性を奪い, 二次休眠化をもたらすと考えられる。

さて, いわゆる呼吸阻害剤としての CN, N₃, NH₂OH

などの発芽促進作用は, 先に述べた以外にも, エゾミソハギ⁽¹⁰⁹⁾, スゲ⁽¹¹⁰⁾, オオアワガエリ⁽⁸⁷⁾, ヤマガラシ⁽⁸⁷⁾, *Bartarea verna*⁽⁸⁷⁾, *Amaranthus albus*⁽⁸⁵⁻⁸⁷⁾, ホソムギ⁽¹¹¹⁾, *Lepidium virinicum*^(85,86), *Bideus radiata*⁽¹¹²⁾, *Hordeum distichon*⁽¹¹¹⁾, *H. spontaneum*⁽¹¹¹⁾, カラスムギ⁽¹¹¹⁾, *Digitaria exelis*⁽⁸³⁾, ヒモゲイトウ⁽⁸³⁾, タイリソルリマカリバナ⁽⁸³⁾, オナモミ⁽¹¹³⁾などの多くで見られることから, ごく一般的な現象であると推察される。Taylorson & Hendricks⁽⁸⁶⁾は, ¹⁴CN が発芽の初期過程において β-cyanoalanine, aspartate, asparagine などにとり込まれ, その時点では CN の形では体内から検出されず, また, それらのアミノ酸が発芽を促進することから, CN の発芽促進作用は蛋白合成のためのアミノ酸の供給にあるとした。しかし, オナモミにおいては, これらのアミノ酸がわずかに効果的であるとしても, C₂H₄ の作用に匹敵する CN や N₃ に及ぶものではなく, また前者が水浸初期においてだけ効果をもつに対して, 後者は二次休眠突入過程でもなお発芽促進の効果がある(図 4)⁽¹¹³⁾ことから, CN の一部がアミノ酸に転換して働くことがあるとしても, その大部分の作用は呼吸阻害物質としてのものと見なさざるをえない。

一方, NO₃⁻, NO₂⁻ とともに休眠打破, 発芽促進に働くチオウレアの作用機構についてはこれまでまったく明らかにされていなかった。先の Hendricks & Taylorson⁽¹¹⁴⁾ は, それらがへム蛋白の機能を抑える事実に着目して, 種子中の種々の関連酵素活性に対するそれらの

図 5 発芽過程における D-glucose-6-P の代謝に関する仮想代謝図式

a : D-glucose-6-P : NADP⁺1-oxidoreductase, b : 6-P-D-gluconate 5-lactone hydrolase, c : 6-P-D-gluconate : NADP⁺ 2-oxidoreductase, d : NADPH : quinone oxidoreductase, e : ペルオキシダーゼ, f : カタラーゼ, g : ATP : NAD⁺2-phosphotransferase (Hendricks & Taylorson, 1975)⁽¹¹⁴⁾

効果を調査し, それらが水浸に伴うカタラーゼ活性の増大を特異的に抑えることを見いだした。同様な効果は N₃ や NH₂OH でも認められ, それらによるカタラーゼ活性阻害度は発芽率に比例した。当然, これらの窒素化合物の発芽促進作用はカタラーゼ阻害による H₂O₂ 分解抑制に起因すると推定されたが, その解決のための直接的きっかけを与えたのは, イヌビエの発芽を hydroquinone が促進するという報告であった⁽¹¹⁵⁾。

A. albus の発芽はピロガロールで, レタスのそれはカテコールで促進され, 乾燥種子内に pyridine nucleo-

quinone reductase (PNQR) の存在することがわかり、図5に示すような関係図を提示するに至った。上述の窒素化合物はカタラーゼ活性を抑え、その結果余分になった H_2O_2 がペルオキシダーゼと PNQR との働きを介してキノンの酸化還元と連結し、最終的に NADPH_2 の再酸化を促すことによって PP 系路を賦活させることになるというのである。

しかし、この仮説もまた問題を含むといわざるをえない。なぜなら、以前から休眠覚醒はカタラーゼ活性の増大をもたらすこと^(75,116,117)、二次休眠の誘導は逆にその低下をもたらすこと^(25,33)、オナモミについていえば上位種子のほうが下位種子よりも低い活性を示すこと⁽¹¹⁸⁾など、彼らの仮説に矛盾する結果が蓄積しているからである。また、オナモミの発芽に対しては、カタラーゼを抑制するとしている物質のうち、 NO_2^- 、 NO_3^- はまったく効果なく、チオウレアと NH_2OH は高い促進作用を示すが、水浸初期に限って効果的であるのに対して、 N_3 と CN は高い効果を示すだけでなく、水浸途中でも効力を保つ(図4)⁽¹¹³⁾。また、 NH_2OH 、チオウレアと N_3 、CN との間では発芽行動も異なる。前者は下胚軸生長誘導を促進することで種皮を破る推力を作るが、後者は幼根生長主導で推力を作る⁽¹¹³⁾。したがって、チオウレアと NH_2OH の作用機構については彼らの仮説(図5)を適用できるかもしれないが、 N_3 、CN については他の異なる仕組みを考えざるをえないものと思われる。

ところで、乾燥種子内にはチトクローム *a* はあるが *c* はないため、水浸初期にはいわゆる電子伝達系路は機能せず、そのため酸化的リン酸化との共軛もないので DNP の抑制効果もないという報告がある⁽¹¹⁹⁾。あるいは、水浸初期での呼吸は CN で阻害されず、CN 感受性呼吸系は水浸の途中から発生し、それまでの時期は CN 非感受性呼吸の阻害剤である salicylhydroxamic 酸による呼吸阻害のほうが顕著であるとした報告もある⁽¹²⁰⁾。これらは、種子発芽過程において CN 非感受型呼吸から感受型呼吸系への転換が起こることを示すものと思われる。ところで、図4に示したように、CN、 N_3 の効果は水浸初期から与えようと途中で与えようと効果的であるが、 C_2H_4 も Kin、 CO_2 などと異なって、CN 様式の促進を示す⁽⁵²⁾。また、先述の無気誘導は水浸直後ではまったく効果なく、逆に CN、 N_3 がもっとも高い活性を示すところに効力を発揮しうようになる^(79,121)。これらの結果

は、CN、 N_3 、 C_2H_4 、無気誘導の作用は互いに関連し、そしてそれは CN 感受性電子伝達系の発達・作動に関わることを暗示するものと思われる。

ところで、 C_2H_4 によって休眠の破られるジャガイモについて、最近その呼吸は C_2H_4 によってだけでなく^(122,123)、CN によっても促進されることが明らかにされている⁽¹²⁴⁾。Solomos & Laties⁽¹²⁴⁾ は、 C_2H_4 、CN 処理はジャガイモ塊茎における CN 感受型呼吸から CN 非感受型呼吸系への転換をもたらし、その系での電子の流れを4~6倍増加させ、ATP、triose-phosphate、fructose-di-phosphate の蓄積をもたらすことを見いだした。その後、 C_2H_4 や CN によって誘導される EMP 系の中間物質の変動は、嫌気条件によって誘導される変動と同じであることを、アボカド果実の呼吸の climacteric にさいして報告している⁽¹²⁵⁾。さらに、CN や C_2H_4 による呼吸の促進は、CN 非感受型電子伝達系を潜在的に有する組織器官でのみ見られる現象であることを明らかにした⁽¹²⁶⁾。また、最近、*Oryzopsis hymenoides* の種子の発芽は C_2H_4 を放出する ethrel と Kin の同時処理によって促進されるが、この際 ATP 水準の増加を伴うことも明らかにされている⁽¹²⁷⁾。したがって、CN、 C_2H_4 、無気誘導による発芽力の維持、発芽の促進は、CN 非感受型呼吸系の存在を無視しては起こりえないと考えられるし、また、仮想された発芽抑止系は CN 感受性呼吸型の発達・作動か、あるいは CN 非感受性呼吸系の減衰・消失に密接にかかわるものと見なされる。単に EMP 系路を介する ATP 供給系の作動が光やホルモンに対する感応性を低め、発芽を抑えることになるとは考えられない。CN 感受性呼吸が水浸初期から作動する種子も存在することは、二次休眠誘致に結果する因子がむしろ CN、非感受性呼吸系の消失にかかわることを示唆する。CN・ N_3 が二次休眠突入とともにその働きを失ったことも、それらによって間接的に活性化されるはずの CN 非感受性呼吸系が消滅してしまっていたことによるだろう。なぜ、それが好気的水浸過程を通じて消滅し、なぜ、その消滅が発芽を抑えることになるのか、今後のこの分野の最大の研究課題であろう。興味あることに、 C_2H_4 による推力形成は準嫌気条件下でもっとも効率が良い^(128,129)。このことも、自然における発芽の場が土中であって、 CO_2 や C_2H_4 の蓄積に好都合だけでなく、限られた O_2 しかな存在しない環境であるということに、自然に対する適

応の神秘を感じるのである。

8. 発芽と光

これまで、もっぱら土中の環境に焦点を合せてきた。しかし、種子の中にはレタスのようにある温度を越えようと光の助けを必要とするものもある。つまり、先の発芽抑止系が作動する発芽に不適な条件下でのみ赤色光が働きだし、低温域では発芽に光は何の役割も果たさない^(130,131)。云い換えれば、CN 感受型呼吸系が作動し、PP 系路活性との間に不均衡がある場合にのみ、赤色光つまりはフィトクロームが機能しだすことを意味している。Yamamoto & Tezuka による一連の研究から^(132,133)、 $\text{NAD} \rightleftharpoons \text{NADP}$ の相互転換に関与する NAD kinase 活性がフィトクロームの可逆的制御下にあり、赤色光は NAD kinase の NAD への親和力を高め、近赤外光はそれを戻すように働くことは、発芽における ATP 供給系と NADPH_2 供給系の均衡制御に対応し、それによって発芽の光可逆性もうまく説明できると考えられるからである。一日も早いその実験的証明が待たれるところである。好気的高温下で CN 感受型呼吸系が作動しやすいときには、赤色光は $\text{NAD} \rightarrow \text{NADP}$ を促すことによって PP 系活性を高めて発芽を促進するだろうし、低温下でもし非 CN 感受型呼吸の作用が優位を占めるとすれば、赤色光の意味はもはやないことになる⁽¹³⁴⁾。そして、今なおその仕組の明らかにされていなかった発芽における温周性の仕組もまた、このことに関係すると思われるのである⁽¹³⁵⁾。

文 献

- 1) T. Hemberg : *Physiol. Plant.*, 2, 24 (1949).
- 2) P. F. Wareing & P. F. Saunders : *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 22, 261 (1971).
- 3) A. M. Mayer & A. Poljakoff-Mayber : in "The Germination of Seeds", Pergamon Press, 1975.
- 4) A. A. Khan : *Science*, 171, 853 (1971).
- 5) A. A. Khan : *Bot. Rev.*, 41, 391 (1975).
- 6) Y. Esashi & H. Katoh : *Plant & Cell Physiol.*, 16, 707 (1975).
- 7) Y. Esashi & A. C. Leopold : *Plant Physiol.*, 43, 871 (1968).
- 8) P. F. Wareing & H. A. Foda : *Physiol. Plant.*, 10, 266 (1957).
- 9) A. A. Khan : *Physiol. Plant.*, 19, 869 (1966).
- 10) A. A. Khan : *Plant Physiol.*, 43, 1462 (1968).
- 11) N. Sankhla & D. Sankhla : *Z. Pflanzenphysiol.*, 58, 402 (1968).
- 12) T. Reynolds & P. A. Thompson : *Physiol. Plant.*, 24, 544 (1971).
- 13) A. A. Khan & R. D. Downing : *Physiol. Plant.*, 21, 1301 (1968).
- 14) A. A. Khan : *Physiol. Plant.*, 22, 94 (1969).
- 15) T. A. Villiers & P. F. Wareing : *J. Exp. Bot.*, 16, 519 (1965).
- 16) J. van Staden, D. P. Webb & P. F. Wareing : *Planta*, 104, 110 (1972).
- 17) D. P. Webb, J. van Staden & P. F. Wareing : *J. Exp. Bot.*, 24, 105 (1973).
- 18) F. Kopecký, J. Šebánek & J. Blažková : *Biol. Plant.*, 17, 81 (1975).
- 19) J. van Staden & P. F. Wareing : *Planta*, 104, 126 (1972).
- 20) J. van Staden : *Physiol. Plant.*, 28, 222 (1973).
- 21) S. S. C. Chen & J. E. Varner : *Plant. Physiol.*, 46, 108 (1970).
- 22) J. D. Bewley : *Can. J. Bot.*, 50, 53 (1972).
- 23) S. S. C. Chen & W. -M. Park : *Plant Physiol.*, 52, 174 (1973).
- 24) D. E. Koehler & J. E. Varner : *Plant Physiol.*, 52, 208 (1973).
- 25) L. A. T. Ballard & A. E. Grant Lipp : *Proc. Int. Seed Test. Ass.*, 30, 893 (1965).
- 26) L. A. T. Ballard : *Aust. J. Biol. Sci.*, 2, 246 (1958).
- 27) A. E. Grant Lipp & L. A. T. Ballard : *Aust. J. Agric. Res.*, 10, 409 (1959).
- 28) N. C. Thornton : *Contrib. Boyce Thomp. Inst.*, 8, 25 (1936).
- 29) N. C. Thornton : *Contrib. Boyce Thomp. Inst.*, 7, 477 (1935).
- 30) A. K. Balls & W. S. Hale : *Cereal Chem.*, 17, 490 (1940).
- 31) G. A. Vacha & R. B. Harvey : *Plant Physiol.*, 2, 187 (1927).
- 32) V. K. Toole, W. K. Bailey & E. H. Toole : *Plant Physiol.*, 39, 822 (1964).
- 33) C. G. Deuber : *Science*, 73, 320 (1931).
- 34) L. P. V. Johnson : *Forestry Chron.*, 22, 17 (1946).
- 35) Y. Esashi & A. C. Leopold : *Plant Physiol.*, 44, 1470 (1969).
- 36) H. Katoh & Y. Esashi : *Plant & Cell Physiol.*, 16, 687 (1975).
- 37) F. B. Abeles & J. Lonski : *Plant Physiol.*, 44, 277 (1969).
- 38) E. R. Stewart & H. T. Freebairn : *Plant Physiol.*, 44, 955 (1969).
- 39) D. L. Ketring & P. W. Morgan : *Plant Physiol.*, 44, 326 (1969).
- 40) D. L. Ketring & P. W. Morgan : *Plant Physiol.*, 45, 268 (1970).
- 41) K. A. Smith & R. S. Russell : *Nature*, 222, 769 (1969).
- 42) Y. Esashi, Y. Hata & H. Katoh : *Aust. J. Plant Physiol.*, 2, 569 (1975).
- 43) H. Katoh & Y. Esashi : *Plant & Cell Physiol.*, 16, 697 (1975).
- 44) Y. Esashi, Y. Ohhara, K. Kotaki & K. Watanabe : *Planta*, 129, 23 (1976).
- 45) D. L. Ketring & P. W. Morgan : *Plant Physiol.*, 50, 382 (1972).
- 46) P. Halmer, J. D. Bewley & T. A. Thorpe : *Nature*, 258, 716 (1975).
- 47) L. Taiz & R. L. Jones : *Planta*, 91, 73 (1970).
- 48) P. A. Bennett & M. J. Chrispeels : *Plant Physiol.*, 49, 445 (1972).
- 49) G. M. Ballance & W. O. S. Meredith : *Can. J. Plant Sci.*, 54, 223 (1974).
- 50) P. Halmer, J. D. Bewley & T. A. Thorpe : *Planta*, 130, 189 (1976).
- 51) Y. Esashi, H. Katoh & A. C. Leopold : *Plant Physiol.*, 59, 117 (1977).

- 52) Y. Esashi, M. Okazaki, Y. Yanaki & K. Hishinuma : *Plant & Cell Physiol.*, 印刷中.
- 53) D. H. Rose : *Bot. Gaz.*, 59, 425 (1915).
- 54) T. Yokoi : *Bull. Coll. Agric. Tokyo Imper. Univ.*, 3, 482 (1898).
- 55) T. Morinaga : *Amer. J. Bot.*, 13, 141 (1926).
- 56) J. van Staden & N. A. C. Brown : *Physiol. Plant.*, 29, 108 (1973).
- 57) W. Major & E. H. Roberts : *J. Exp. Bot.*, 19, 77(1968).
- 58) J. R. Hay : *Can. J. Bot.*, 40, 191 (1962).
- 59) G. M. Simpson : *Can. J. Bot.*, 43, 793 (1965).
- 60) J. A. Simmonds & G. M. Simpson : *Can. J. Bot.*, 49, 1833 (1971).
- 61) H. Ikuma & K. V. Thimann : *Plant Physiol.*, 39, 756 (1964).
- 62) P. B. De la Fuente & G. Nicolás : *Plant Sci. Letters*, 3, 143 (1974).
- 63) S. M. Siegel & L. A. Rosen : *Physiol. Plant.*, 15, 437(1962).
- 64) H. B. Sifton : *Can. J. Bot.*, 37, 719 (1959).
- 65) T. Fujii : *Plant & Cell Physiol.*, 4, 357 (1963).
- 66) L. A. T. Ballard & A. E. Grant Lipp : *Aust. J. Biol. Sci.*, 22, 279 (1969).
- 67) Y. Esashi & M. Nagao : *Plant Physiol.*, 51, 504(1973).
- 68) 岡上伸雄 : 化学調節, 2, 121 (1967).
- 69) T. Tissaoui & D. Côme : *Planta*, 111, 315 (1973).
- 70) J. W. Braun & A. R. Khan : *Plant Physiol.*, 56, 731(1975).
- 71) F. B. Negm, O. E. Smith & J. Kumamoto : *Plant Physiol.*, 49, 869 (1972).
- 72) R. D. Keys, O. E. Smith, J. Kumamoto & J. L. Lyon : *Plant Physiol.*, 56, 826 (1975).
- 73) W. Vidaver & A. I.-H. Hsiao : *Plant Physiol.*, 53, 266 (1974).
- 74) H. L. Speer, A. I. Hsiao & W. Vidaver : *Plant Physiol.*, 54, 852 (1974).
- 75) W. E. Davis : *Amer. J. Bot.*, 17, 77 (1930).
- 76) C. M. Karssen : *Physiol. Plant.*, 36, 264 (1976).
- 77) A. N. Burdett : *Plant Physiol.*, 50, 201 (1972).
- 78) W. Vidaver & A. I.-H. Hsiao : *Can. J. Bot.*, 53, 2557(1975).
- 79) Y. Esashi, K. Kotaki & Y. Ohhara : *Planta*, 129, 109(1976).
- 80) Y. Esashi, M. Okazaki & K. Watanabe : *Plant & Cell Physiol.*, 17, 1151 (1976).
- 81) D. W. Fountain & J. D. Bewley : *Plant Physiol.*, 52, 604 (1973).
- 82) D. W. Fountain & J. D. Bewley : *Plant Physiol.*, 58, 530 (1976).
- 83) E. H. Roberts : *Physiol. Plant.*, 17, 14 (1964).
- 84) E. H. Roberts : *Physiol. Plant.*, 17, 30 (1964).
- 85) S. B. Hendricks & R. B. Taylorson : *Nature*, 237, 169(1972).
- 86) R. B. Taylorson & S. B. Hendricks : *Plant Physiol.*, 52, 23 (1973).
- 87) S. B. Hendricks & R. B. Taylorson : *Plant Physiol.*, 54, 304 (1974).
- 88) L. A. T. Ballard & A. E. Grant Lipp : *Science*, 156, 398 (1967).
- 89) A. Poljakoff-Mayber : *J. Exp. Bot.*, 6, 313 (1955).
- 90) A. M. Mayer, A. Poljakoff-Mayber & W. Appleman : *Physiol. Plant.*, 10, 1 (1957).
- 91) M. Chakravorty & D. P. Burma : *Biochem. J.*, 73, 48(1959).
- 92) A. Poljakoff-Mayber & M. Evenari : *Physiol. Plant.*, 11, 84 (1958).
- 93) L. J. LaCroix & A. S. Jaswal : *Plant Physiol.*, 42, 479 (1967).
- 94) L. J. LaCroix & A. S. Jaswal : *Can. J. Bot.*, 51, 1267(1973).
- 95) E. H. Roberts : *Symp. Soc. Exp. Biol.*, 23, 161(1969).
- 96) E. H. Roberts : in "Seed Ecology", London, 1972, p. 189.
- 97) M. I. P. Kovacs & G. M. Simpson : *Phytochemistry*, 15, 455 (1976).
- 98) H. Ashihara & A. Komamine : *Plant Sci. Letters*, 2, 331 (1974).
- 99) V. S. Butt & H. Beevers : *Biochem. J.*, 80, 21 (1961).
- 100) J. A. Simmonds & G. M. Simpson : *Can. J. Bot.*, 50, 1041 (1972).
- 101) D. E. Atkinson : *Science*, 150, 851 (1965).
- 102) W. R. Effer & S. L. Ranson : *Plant Physiol.*, 42, 1053 (1967).
- 103) G. J. Kelly & J. F. Turner : *Biochem. J.*, 115, 481 (1969).
- 104) J. W. Hart & A. H. Berrie : *Phytochemistry*, 7, 1257(1968).
- 105) B. Frankland & H. Smith : *Planta*, 77, 354 (1967).
- 106) M. Black & M. Richardson : *Nature*, 1114 (1965).
- 107) M. Black & M. Richardson : *Planta*, 73, 344 (1967).
- 108) J. B. Hanson & W. A. Krueger : *Nature*, 211, 1322(1966).
- 109) P. Rollin & Y. Bidault : *Phytochem. Phytobiol.*, 2, 59 (1963).
- 110) J. M. Baskin & C. C. Baskin : *Bot. Gaz.*, 132, 3(1971).
- 111) W. Major & E. H. Roberts : *J. Exp. Bot.*, 19, 77(1968).
- 112) P. Rollin : *Physiol. Vég.*, 13, 362 (1975).
- 113) Y. Esashi, Y. Ohhara, M. Okazaki & K. Hishinuma : *Planta*, 投稿中.
- 114) S. B. Hendricks & R. B. Taylorson : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 72, 306 (1975).
- 115) N. Shimizu & K. Ueki : 日作紀, 41, 488 (1972).
- 116) W. E. Davis : *Amer. J. Bot.*, 17, 58 (1930).
- 117) F. Flemion : *Contrib. Boyce Thomp. Inst.*, 3, 413(1931).
- 118) C. A. Shull & W. B. Davis : *Bot. Gaz.*, 75, 268 (1923).
- 119) S. B. Wilson & W. D. J. Bonner : *Plant Physiol.*, 48, 340 (1971).
- 120) S. Yentur & A. C. Leopold : *Plant Physiol.*, 57, 274 (1976).
- 121) Y. Esashi & Y. Ohhara : *Aust J. Plant Physiol.*, 4, 印刷中.
- 122) M. S. Reid & H. K. Pratt : *Plant Physiol.*, 49, 252(1972).
- 123) I. Rylski, L. Rapaport & H. K. Pratt : *Plant Physiol.*, 53, 658 (1974).
- 124) T. Solomos & G. G. Laties : *Plant Physiol.*, 55, 73 (1975).
- 125) T. Solomos & G. G. Laties : *Plant Physiol.*, 54, 506 (1974).
- 126) T. Solomos & G. G. Laties : *Plant Physiol.*, 58, 47(1976).
- 127) K.-L. Tao, M. B. McDonald & A. A. Khan : *Life Sci.*, 15, 1925 (1975).
- 128) Y. Esashi, K. Watanabe, Y. Ohhara & H. Katoh : *Aust. J. Plant Physiol.*, 3, 701 (1976).
- 129) Y. Esashi, K. Kotaki & O. Ishidoya : *Aust. J. Plant Physiol.*, 3, 711 (1976).
- 130) J. Scheibe & A. Lang : *Plant Physiol.*, 40, 485 (1965).
- 131) A. M. M. Berrie : *Physiol. Plant.*, 19, 429 (1966).
- 132) T. Tezuka & Y. Yamamoto : *Plant Physiol.*, 50, 458 (1972).
- 133) T. Tezuka & Y. Yamamoto : *Plant Physiol.*, 53, 717 (1974).
- 134) Y. Esashi : 未発表.
- 135) Y. Esashi & Y. Tsukada : *Aust. J. Plant Physiol.*, 投稿中.