

レタスの二品種（New York 515, Grand Rapids）の 種子発芽に対する赤色光，温度，植物ホルモンの効果

竹 葉 剛

Effects of Red Light, Temperature, and Plant Hormones on the Germinations of Two Varieties of Lettuce Seeds (New York 515 and Grand Rapids)

GO TAKEBA

レタスの2品種，New York 515 および Grand Rapids について，ジベレリン（GA），カイネチン（KIN），アブシジン酸（ABA）の種子発芽に対する効果を，15°～35°C，明暗両条件下で調べた。

（1）New York 515 は，低温域（20°C 以下）での暗発芽効果が高く，また KIN に対する感受性が高い。一方，Grand Rapids は，低温域での暗発芽効果が低く，光又は GA に対する依存性が高い。また，Grand Rapids の KIN に対する感受性は，New York 515 に比べて低い。

（2）赤色光と GA とは，互いに相加作用的な効果を示した。すなわち GA の作用は暗黒下でのみ観察され，赤色光下では，ほとんどその作用が認められなかった。したがって，赤色光と GA とはその作用点が比較的近いものと考えられる。

（3）KIN は赤色光（または GA）と相乗作用的な効果を示した。すなわち，KIN は赤色光または GA で飽和した効果をさらに高める作用を示し，その作用はとくに高温（35°C）で著しかった。したがって，KIN と赤色光または GA との作用点は異なるものと考えられる。

（4）ABA は，種子発芽のみでなく，胚軸の伸長を強く抑制した。発芽抑制作用は低温では弱く，とくに New York 515 では，10°，15°C での発芽抑制効果を全く示さなかった。高濃度の ABA（ $4 \cdot 10^{-5}M$ ）による発芽抑制作用は，GA によっては回復できず，KIN によって見かけ上回復した。

（5）Khan, A. A. の報告⁷⁾と比較すると，部分的には同様の結果が得られたが，KIN が単独で大きな発芽促進効果を示した点が異なり，したがって，KIN が ABA による発芽抑制作用を解除する点にのみ作用するとした Khan, A. A. の結論は，一般化できる現象ではないことが明らかとなった。

I 緒 言

レタス種子は代表的な光発芽種子であり，その光の作用を解析することによって，フィトクロームが発見されたことはよく知られている。レタス種子は，光のみでなく，ジベレリン，サイトカイニン，エチレン，チオ尿素等によっても発芽が促進され，アブシジン酸

によって発芽抑制を受ける^{1,2,4,5,8,9,10,11,16)}。また，温度によっても大きな影響を受け，35°C 以上の高温では赤色光照射下でも全く発芽せず，20°C 以下の低温では暗条件下でも，ほぼすべての種子が発芽する。

レタス種子発芽に影響する諸因子のうち，ジベレリン，サイトカイニン，エチレン，アブシジン酸は，それらが植物体内に一般に存在する植物ホルモンである

ために、自然条件下で発芽を調節している物質ではないか、という点で、特に注目されてきた。また、植物生理学の分野では、促進物質と抑制（阻害）物質の相対的な存在比によって、生理現象を物質レベルで説明しようと試みる発想が古くからあり、そのような発想も、レタス種子発芽において植物ホルモン類の役割が注目されてきた背景になっていると考えられる。

さて、Khan, A. A.⁷⁾ はレタスの Grand Rapids 品種を用いて、ジベレリン (GA), カイネチン (KIN), アブシジン酸 (ABA) の作用を調べた結果、25°C 暗黒下で大きな発芽促進効果をもつのは GA であり、GA が発芽の primary stimulus である、一方 KIN は単独では発芽促進効果をもたないが、ABA の発芽抑制作用を解除する効果があるとして、種子発芽における3つの植物ホルモンの役割の違いを強調した。Khan, A. A. の報告はその後、実験結果についての十分な追試のないまま、彼の推論した「結論」のみが多くの研究者により引用され一般化されている^{5,6)}。

本報では、Khan, A. A. の報告した実験結果が、光条件、温度条件、および品種を変えた場合にも常に成立つという意味で、一般性のある現象ではない、との追試結果を得たので、以下に報告する。

II 実験材料および実験方法

(1) 実験材料

実験には、レタスの2つの品種を用いた。Grand Rapids (青チリメンチシャ) はタキイ種苗 K. K. (京都) より、また、New York 515 Improved は高山種苗 K. K. (京都) より購入した。いずれも、1973年度に米国より輸入した種子である。購入後の種子は、密閉した容器に乾燥剤とともに入れ、容器は冷蔵庫に貯蔵した。実験はすべて1974年に行った。

(2) 種子の吸水条件

種子を吸水させる際には、7cm シャーレに口紙2枚を入れ、水または適当な溶液を4ml 加え、通常約100粒の種子をまいた。暗条件下のものは、直ちに黒い紙箱に入れ光が入らないようにした。光照射区では、蛍光灯 (National EL 20-R-F, 20w) 1本を恒温器内に設置し、種子面より約15cm 上になるようにした。この蛍光灯より得られる光は赤色光であり Toshiba glass filter V-R-69 (0%透過/660nm, 50%/690nm, 85%/730nm 以上) を通して白熱電灯より得た近赤外光とは、レタス種子発芽に対し、可逆的に作用することを予備実験において確認している。吸水はすべて一定温度に設定した Sanyo Incubator (SHR-200) 内

で行った。設定温度は±1°C の変動幅であった。

(3) 発芽種子の確認

胚軸が種皮をつき破った状態の種子を発芽種子とみなした。とくに KIN 処理の場合に、胚軸が伸びる方向とは反対側から子葉が種皮をつき破って出る現象が観察されたが、このような種子も発芽種子とみなした。発芽率は、通常、吸水開始後48時間後に計測し、図中の実験結果は同一区2枚の平均値を示す。

(4) 植物ホルモンの入手

ジベレリンおよびカイネチンは半井化学 K. K. (京都) より購入し、アブシジン酸は Roche 社 (スイス) より購入した。

III 実験結果

(1) ジベレリンによる発芽促進作用

各ホルモンの相互作用をみる前に、それぞれ単独の効果を濃度別に調べてみた。図1は、New York 515 Improved について、20°~35°C, 明暗両条件下で、いろいろな濃度の GA (10^{-6} ~ 10^{-3} M) 上での発芽率を調べた結果である。この図に示された結果は、次の2点に整理できよう。

- ① 25°C, 30°C, 暗条件下では、GA は大きな発芽促進作用を示す。用いた GA の濃度範囲では 10^{-3} M が最適濃度である。
- ② 35°C, 暗条件では、発芽促進作用を全く示さない。35°C, 明条件下でわずかな促進効果が認められる程度である。

(2) カイネチンによる発芽促進作用

次に KIN (10^{-7} ~ 10^{-4} M) の効果をみた (図2)。

- ① GA の場合と同様に、25°, 30°C 暗条件下で大きな発芽促進作用を示す (最適濃度: 10^{-5} M)。
- ② 35°C においても促進効果が認められ、その効果は、特に光照射下において著しい。

なお、KIN 処理すると Ikuma らの報告するように、子葉の側から種皮をつき破る、いわゆる“atypical germination”が多く認められる。これは KIN に特有な現象で、赤色光照、GA 処理による発芽や低温域での暗発芽では全く観察されない。

(3) アブシジン酸による発芽抑制

ABA ($4 \cdot 10^{-7}$ ~ $4 \cdot 10^{-5}$ M) 上で種子を吸水させると図3に示すように、高温域では大きな発芽抑制作用が

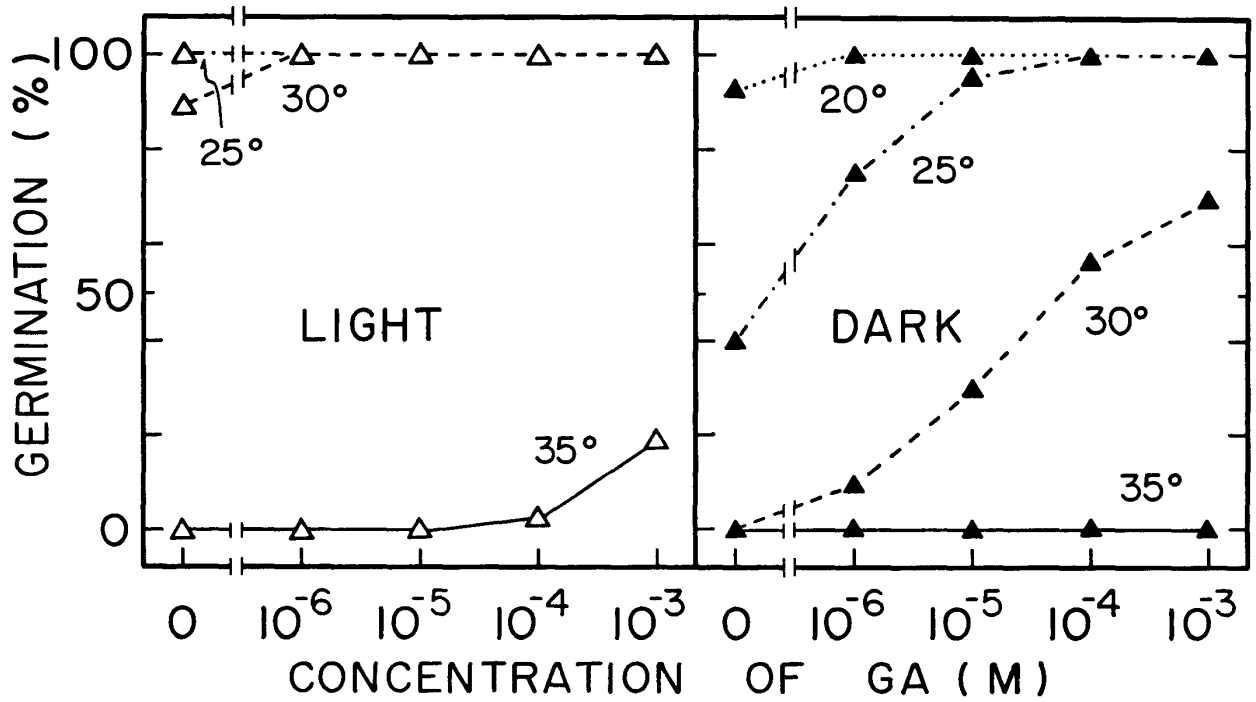


図 1 New York 515 Improved の種子発芽に対するジベレリン (GA) の効果¹⁵⁾

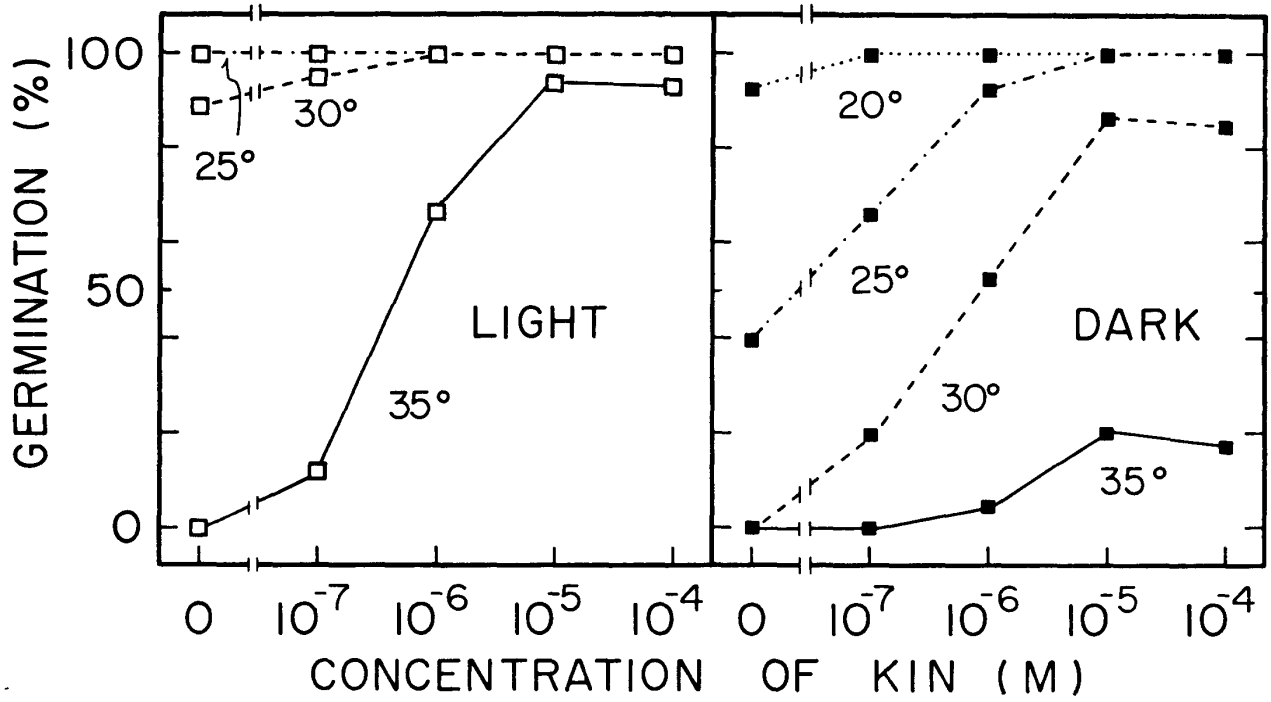


図 2 New York 515 Improved の種子発芽に対するカイネチン (KIN) の効果¹⁵⁾

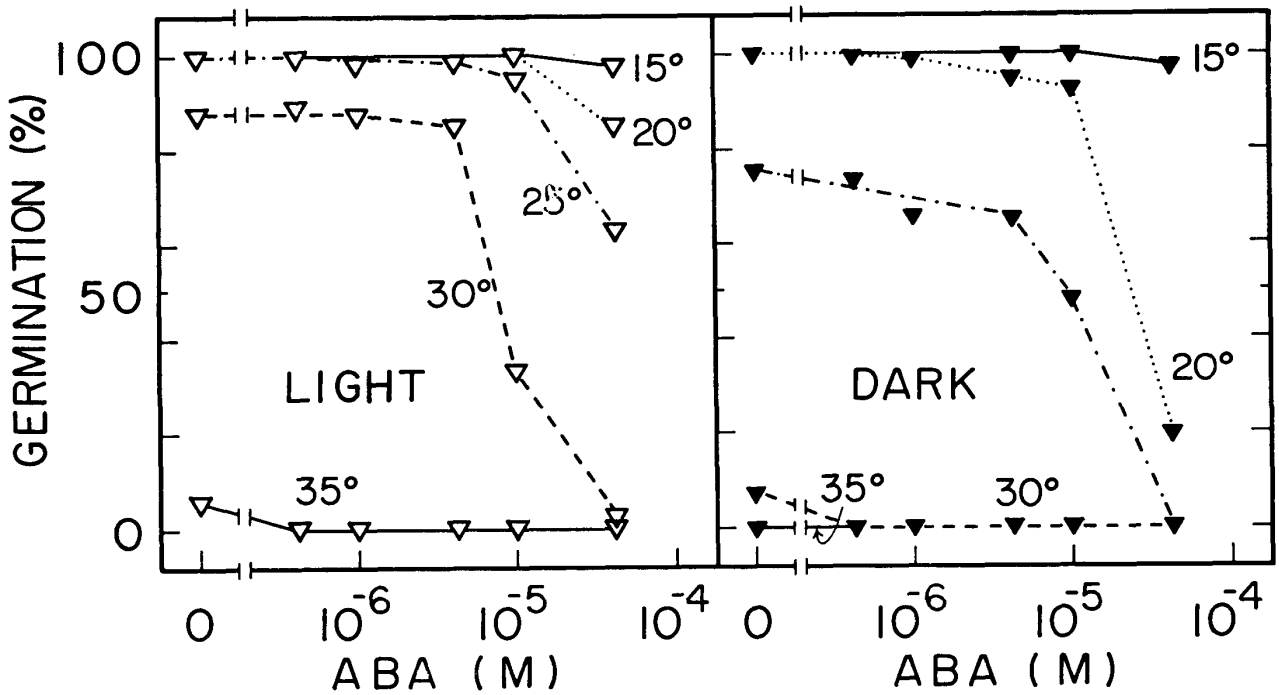


図 3 New York 515 Improved の種子発芽に対するアブシジン酸 (ABA) の効果

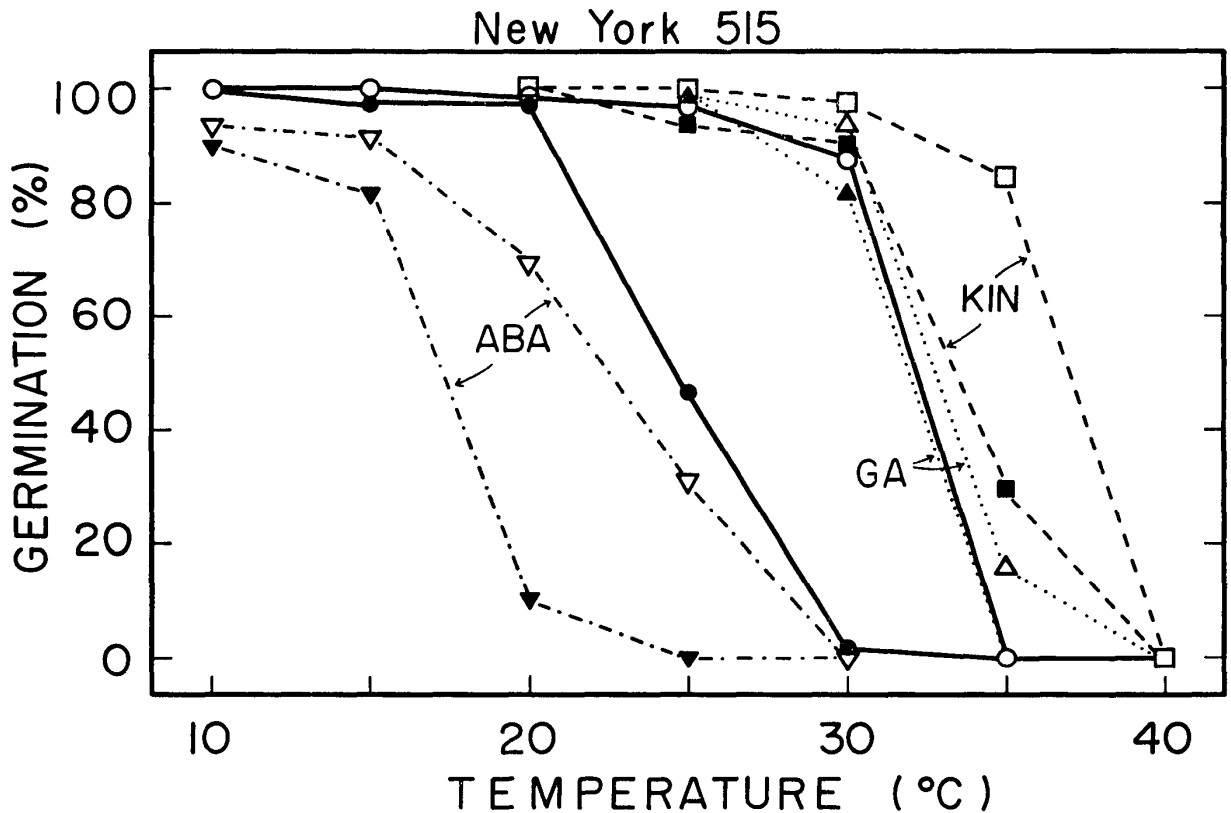


図 4 New York 515 Improved の種子発芽に対するジベレリン (GA, $10^{-3}M$), カイネチン (KIN, $10^{-5}M$), アブシジン酸 (ABA, $4 \cdot 10^{-5}M$) の作用の比較. 実線は水のみ対照区を示す. ○, □, △, ▽: 光照射下, ●, ■, ▲, ▼: 暗条件下

認められるが、低温域、とくに 15°C では暗条件下でも発芽率の低下は認められない。15°C (ABA : $4 \cdot 10^{-5}$ M) では、胚軸の伸長は著しく阻害されるにもかかわらず、発芽そのものは抑制されない。また、ABA 存在下でも、照射の効果は認められるので、ABA は光の作用点とは異なる部位に作用するものと考えられる。

(4) 品種による相違

図 1, 2, 3 はいずれも New York 515 Improved 品種についての結果であるが、レタスの種子発芽を研究する大部分の研究者は Grand Rapids 品種を用いている。前者は低温域での暗発芽率が高く、その点では発芽を調節する主要な要因は温度であるといえる¹²⁾。後者は低温域での暗発芽率が低く、光が主要な発芽調節要因である。そこで、この 2 品種について、GA (10^{-3} M), KIN (10^{-5} M), ABA ($4 \cdot 10^{-5}$ M) の効果を 10°~40°C, 明暗両条件下で調べてみた。図 4 (New York 515 Improved, NY), 図 5 (Grand Rapids, GR) に示した結果は、次の 4 点に整理できよう。

- ① NY と GR との基本的な差は、低温 (25°C 以下) での暗発芽率の差にあり、光感受性の差ではないといえる (図 4, 5 の実線参照, 30°C にお

ける明暗差は、NY と GR とではほぼ同じ)。

- ② 25°C 以下の暗条件下では両品種とも GA により著しい発芽促進効果を示すが、高温域では発芽促進効果が小さくなる (特に GR で、30°C 暗条件下の GA 処理の効果が小さい)。
- ③ KIN は高温 (35°C) 下でも発芽促進効果を示すが、その効果は照射下において著しい。暗条件下での KIN 処理の効果を両品種で比較すると、NY の方が KIN に対する感受性が大きい品種といえる。
- ④ ABA は明暗とも発芽率を低下させるが、低温ほど、その発芽抑制効果は小さくなる。NY では、10°~15°C での抑制効果はほとんどない。

以上の結果をまとめると、GR は低温での暗発芽率は低く、光、GA に対する依存性が高い、一方、NY は低温での暗発芽率が高く、また KIN による発芽促進効果が大きい品種である、といえる。

(5) GA, KIN, ABA の相互作用

GA, KIN, ABA の相互作用は、Khan, A. A. と同じ実験方法で調べた。すなわち、KIN (10^{-5} M), ABA ($4 \cdot 10^{-5}$ M) の濃度を固定し、GA (10^{-6} ~ 10^{-3} M) の添加効果を調べたが、Khan, A. A. の設定した条件 (20°,

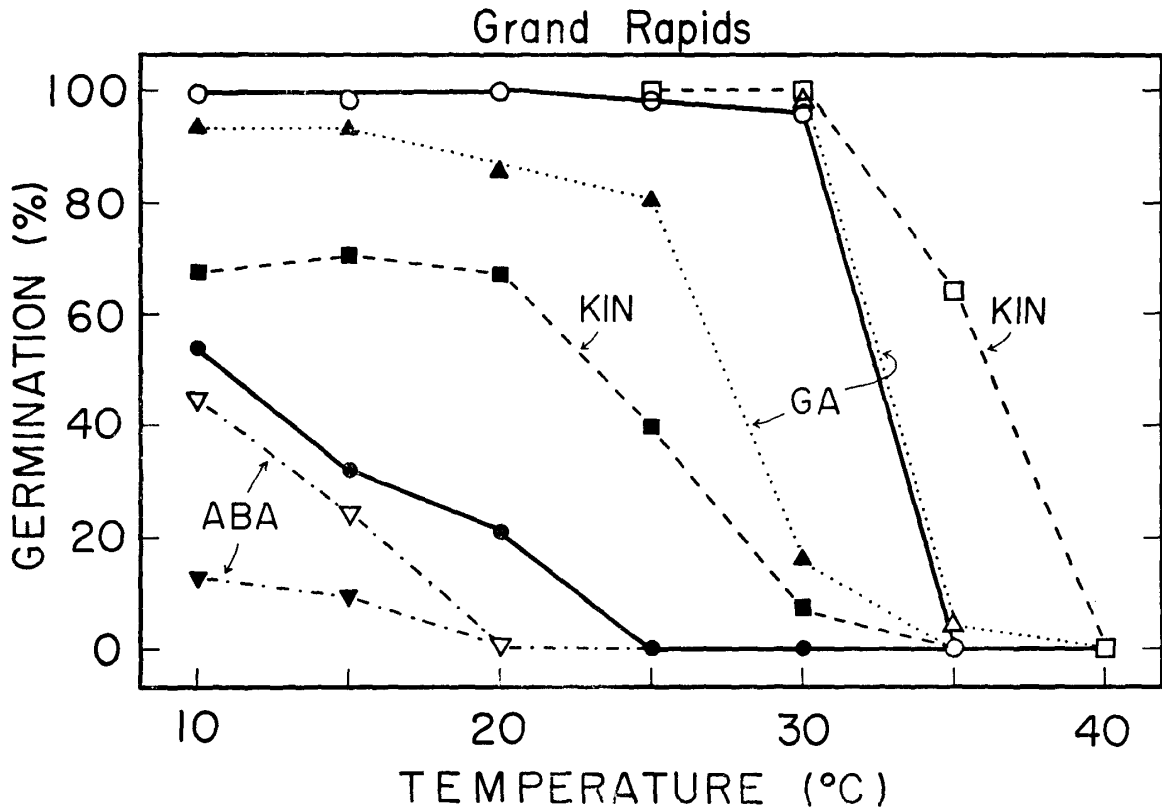
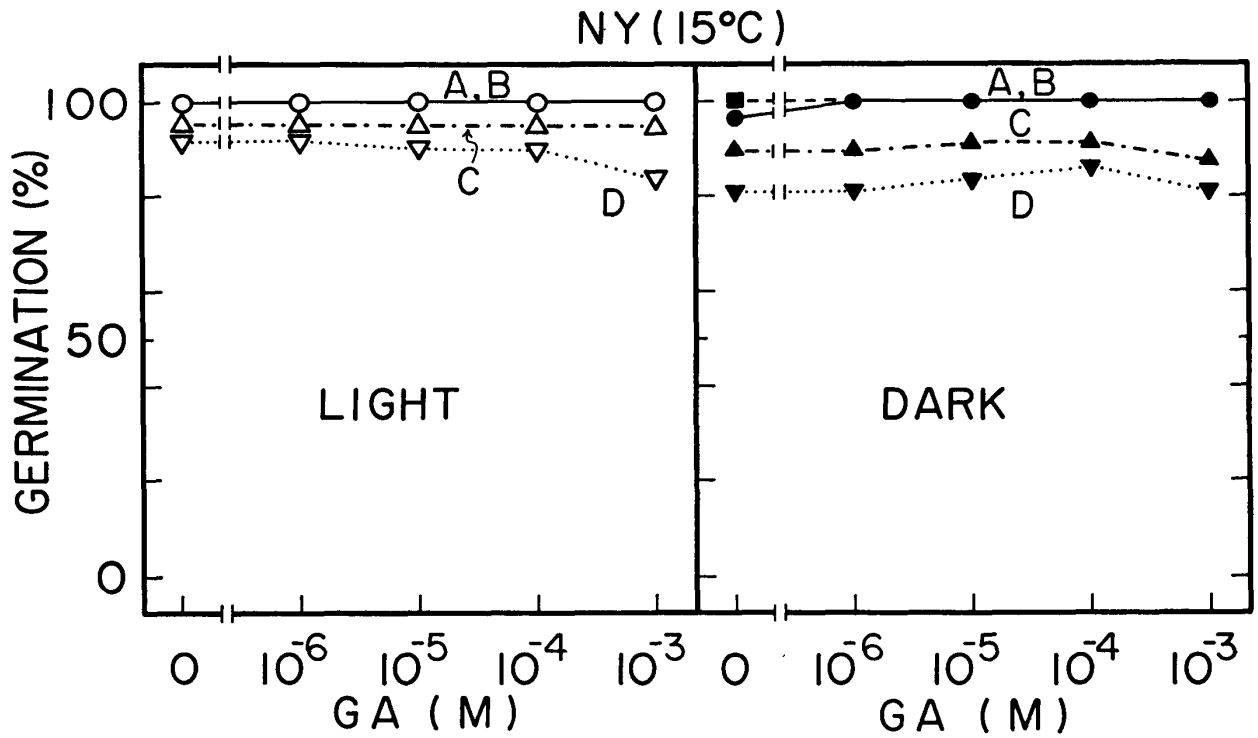
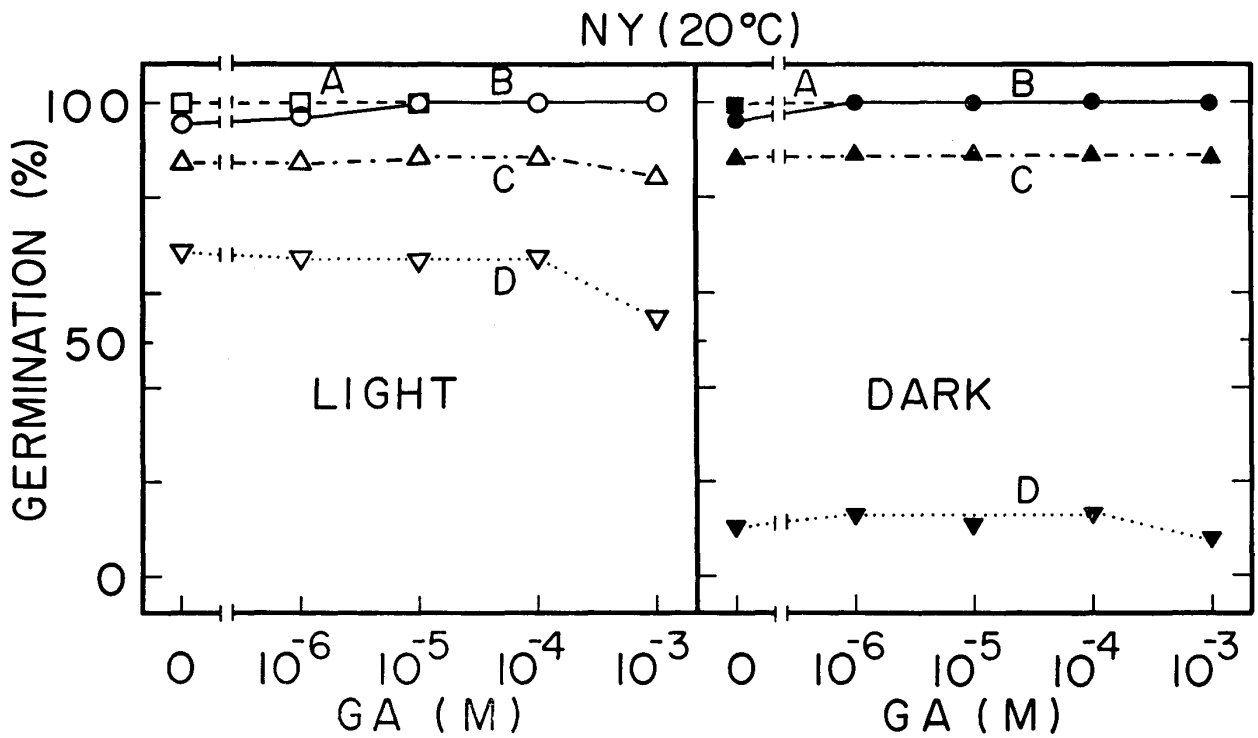


図 5 Grand Rapids の種子発芽に対するジベレリン (GA, 10^{-3} M), カイネチン (KIN, 10^{-5} M), アブシジン酸 (ABA, $4 \cdot 10^{-5}$ M) の作用の比較。記号は図 4 に同じ



(a)



(b)

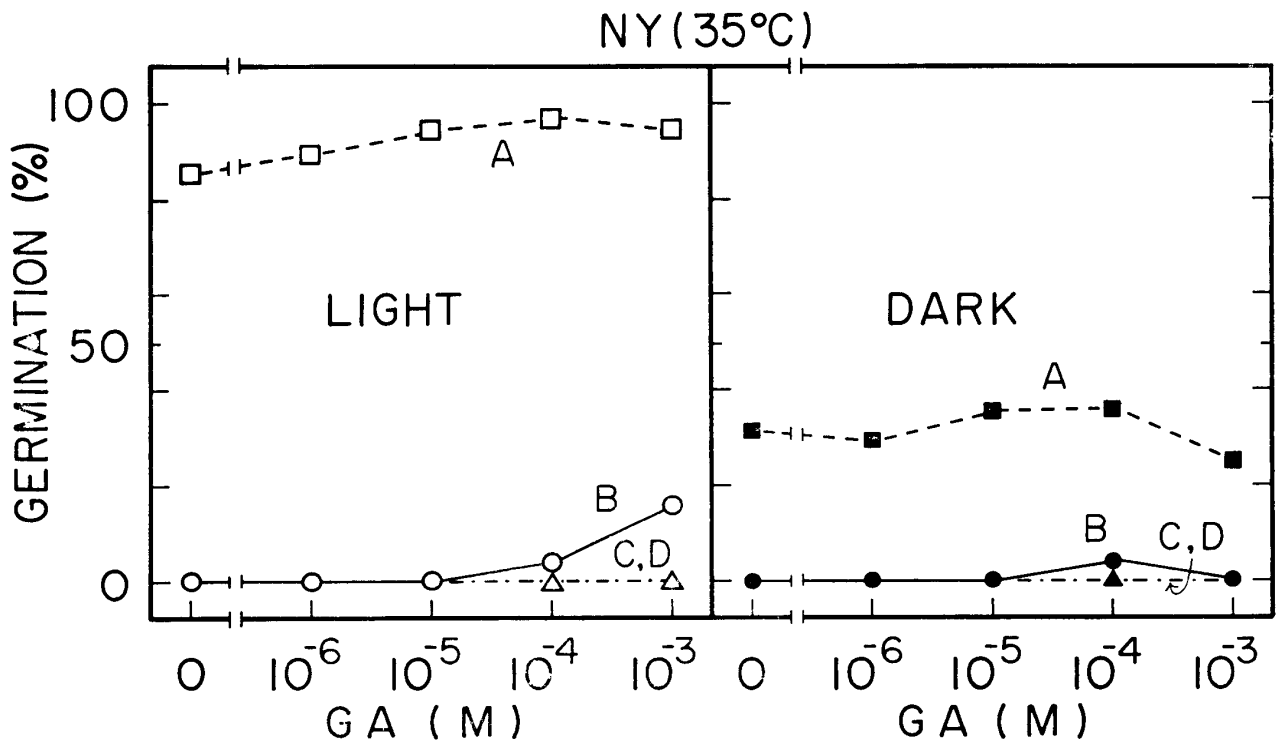
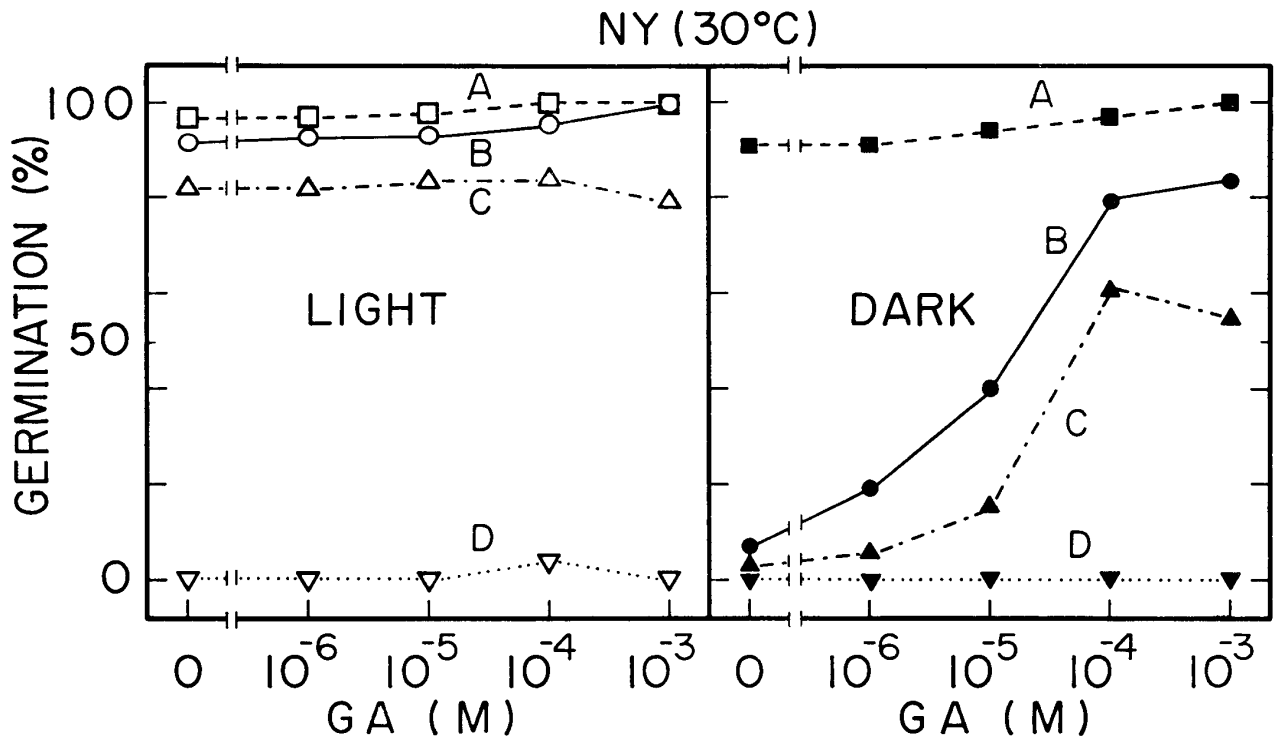
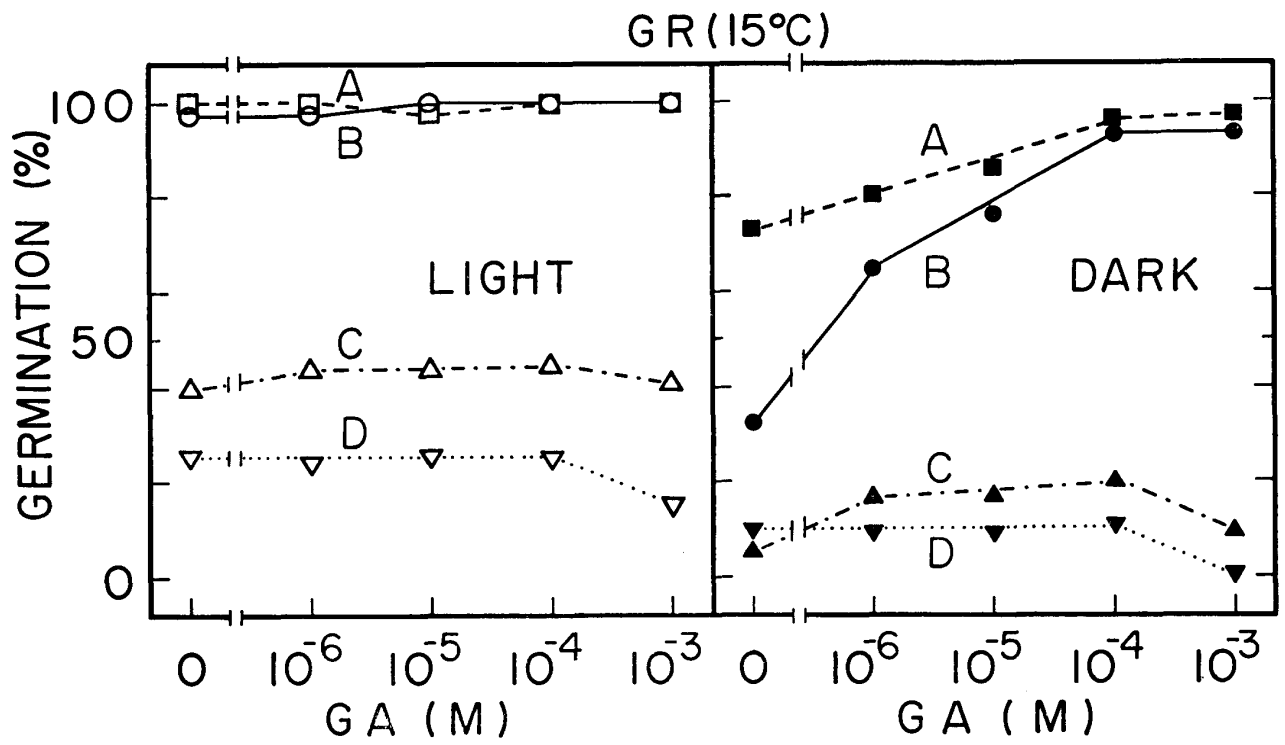
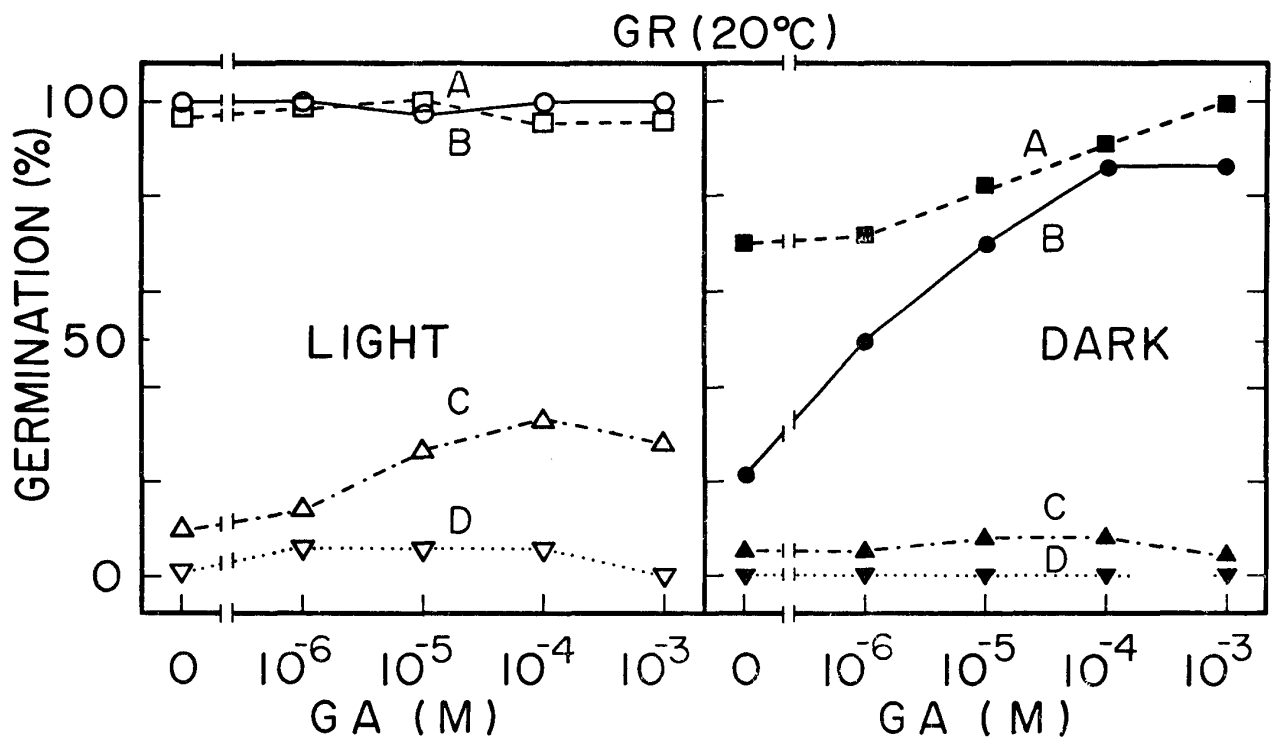


図 6 New York 515 Improved の種子発芽に対するジベレブシジン酸 (ABA) の相互作用. A : KIN ($10^{-5}M$), B : 水のみ, C : KIN ($10^{-5}M$) + ABA ($4 \cdot 10^{-5}M$), D : ABA ($4 \cdot 10^{-5}M$), (a) 15°C, (b) 20°C, (c) 30°C, (d) 35°C,



(a)



(b)

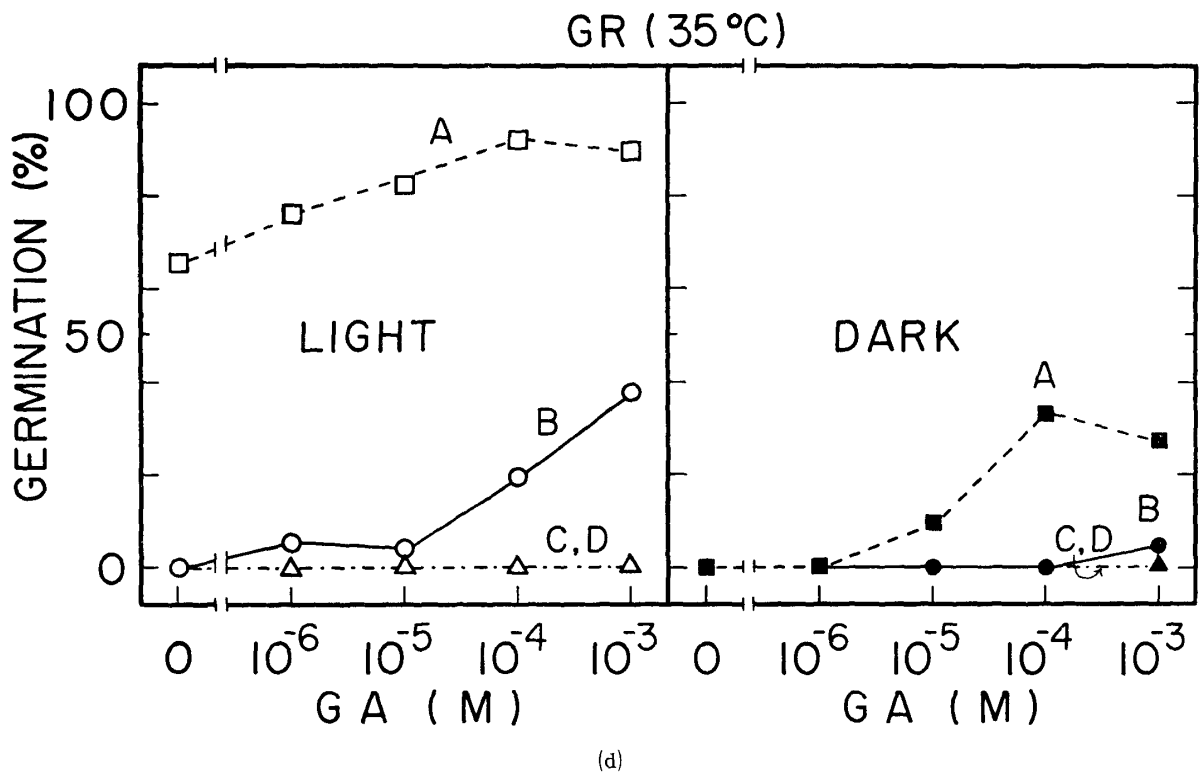
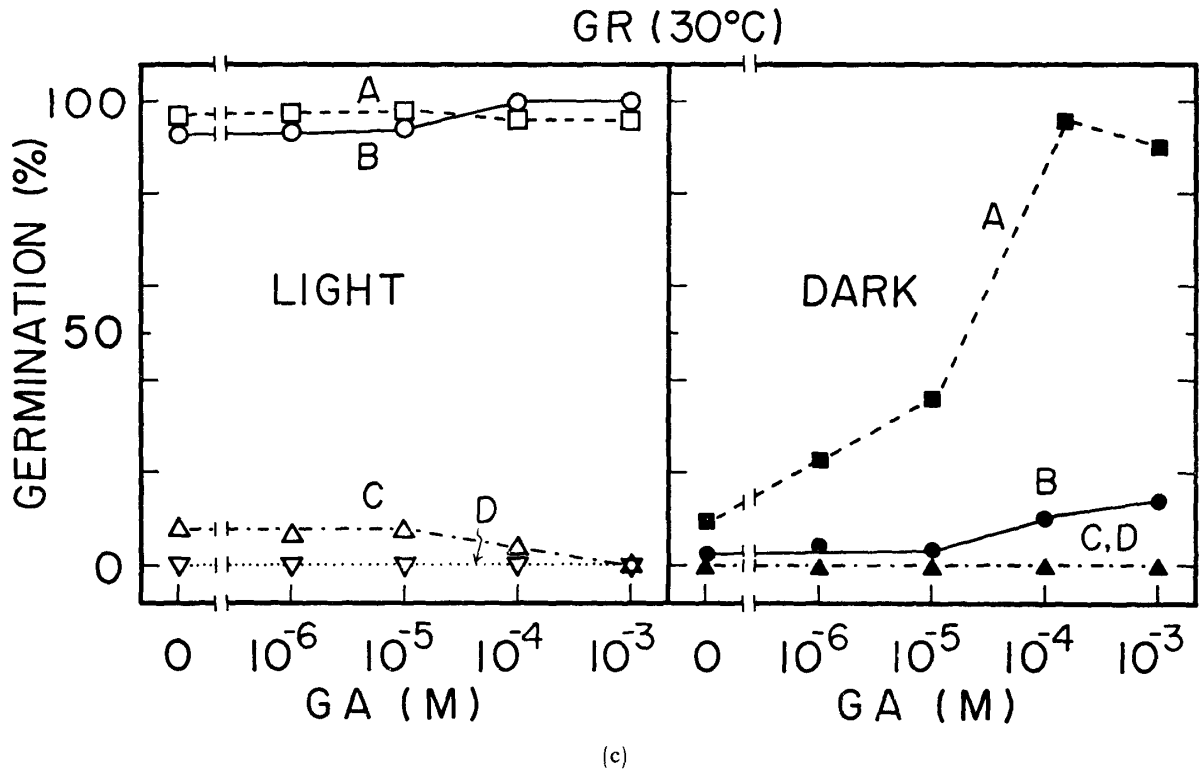


図 7 Grand Rapids の種子発芽に対するジベレリン (GA), カイネチン (KIN), アブシジン酸 (ABA) の相互作用. 記号は図 6 に同じ. (a) 15°C, (b) 20°C, (c) 30°C, (d) 35°C,

25°C 暗条件のみ) を拡大し, 15°~35°C, 明暗両条件下で GR, NY 両品種について調べた. 図 6 (NY), 図 7 (GR) に示した図中の記号は, 次のような実験区である.

A : KIN ($10^{-5}M$)

B : 水

C : KIN ($10^{-5}M$) + ABA ($4 \cdot 10^{-5}M$)

D : ABA ($4 \cdot 10^{-4}M$)

GA の添加効果について, 図 6, 7 の結果を要約すると,

- ① 光照射区では両品種とも GA の添加効果はごくわずかであるか (図 7-(d)), 又はほとんど認められない.
- ② 暗条件下で GA の添加効果の認められるのは, A, B (図 6(c), 図 7), および C (図 6-(c)) であり, D 区は両品種とも GA の添加効果が認められない. すなわち, GA は単独では ABA の作用を回復できないといえる.

一方, KIN 処理区についてみると, A は常に B を大きく上まわっているので, KIN 単独で促進効果をもつことは明らかであるが, 光条件下の A は常に暗条件下の A を大きく上まわっており, KIN の作用に対しては, 光は「協力」(Synergism) 的に働き, さらにこの際にも GA は光の代用をすることがわかる. また, ABA 存在下でもある程度は KIN の発芽促進効果を表わすことができ, この点でも KIN と GA とは作用が異なる.

IV 考 察

化学物質の生理現象への効果を調べる際に, まず問題となるのは, その生理現象を量的に記述する方法である. 種子発芽の場合には, 当然, 発芽率が 1 つの指標となるが, 発芽率 (%) そのものは, 明らかに, 種子内に蓄積して胚軸伸長の原因となるであろう物質とは直線関係にない. 胚乳を含む種皮が胚軸の伸長を機械的に抑止している力に達するまでの閾値が存在するはずだからである¹⁵⁾. したがって, 発芽率のみを指標として用いる限り, 種々の化学物質の作用を量的に解析することは困難である. 発芽率のみを指標する場合には, ある物質の効果が一般化できる現象かどうかを結論する前に, 少なくとも異なる条件下でその物質の効果を調べる程度の慎重さは必要である. Khan, A. A. の報告⁷⁾の追試を行うに当たり, 光条件, 温度条件, 品種が変化した場合について検討したのは, このような理由による.

さて, 本報に示された実験結果をもとにして, 他の

報告をも参考にしつつ, 光・温度・ホルモン類のレタス種子発芽に対する作用の特徴について整理してみよう.

(1) Grand Rapids は, レタスの種子発芽を研究する大部分の研究者が用いている品種であるが, 他の品種との相違は, 主に低温域 (20°C 以下). での暗発芽率の差にある¹²⁾. この品種の光感受性又は光依存性が高いのは事実であるが, 低温域での暗発芽率が低いために, 光の効果が大きく表われているにすぎない (図 5 の対照区参照). 一方, New York 515 Improved は低温域での暗発芽率が高く, そのため光による発芽促進効果は低温域では大きく表われないが, 例えば, 30°C では暗 (0%) に対し明 (90%) である (図 4 の対照区参照) から, この品種の光感受性が低いわけではないことがわかる. したがって, Grand Rapids を photosensitive と呼び, 他を non-photosensitive と呼ぶのは正しくない. 多くの研究者が発芽率を 25°C でのみ観察するために生じた誤解であるといえよう.

(2) GA と赤色光 (フィトクロームにより吸収される) とは, その作用様式が非常に類似している. たとえば, GA 処理は暗条件下でのみ有効であり, また, GA も赤色光も高温域ではともに単独では発芽促進効果がほとんど認められない (図 1, 5, 6, 7 参照). 暗発芽種子であるハゼリソウ (*Phacelia tanacetifolia*) では, GA が発芽促進するのに対し, 赤色光は逆に発芽抑制する³⁾ので, どの種子でも観察される現象ではないにしても, 少なくともレタス種子では Pfr (活性型フィトクローム) と GA との作用点は, 比較的近いのではないかと考えられる. なお, GA と赤色光はいずれも胚軸の growth potential を増大させることを通じて発芽促進作用を表わすことは, 前回¹⁵⁾報告した.

(3) KIN は GA や赤色光とは全く異なった様式で種子に働き発芽を促進しているものと考えられる. その理由は, 高温 (35°C) でとくに光照射下で大きな発芽促進作用を示すこと, ABA の存在にかかわらず発芽促進作用を示すこと (図 2, 4, 5, 6, 7 参照) である. この作用は, 他の研究者の観察と一致する^{9, 10)}. なお, KIN は胚軸の growth potential と子葉の膨潤との, 2 つの作用を 35°C で示すことは前回¹⁵⁾報告した.

(4) 本報に示した実験結果は, いずれも, レタス種子発芽を調節する要因として温度要因が最も主要であることを示唆している. たとえば, 低温では, 暗条件下あるいは ABA 存在下でも種子発芽が観察され, 逆に高温では発芽促進因子 (赤色光, GA など) の存在下でも発芽が抑制される. このことは, 高温で失活し

低温で活性化されるような因子 (thermo-labile factor)^{12,13,14,15)} が発芽 レベルを規定する最終産物の生成に直接関わっていることを示唆しているが, KIN の作用がその因子と何らかの関係があるのかどうか, 本報に示した実験のみからは明らかでない。

(5) ABA は種子発芽のみでなく胚軸の伸長も抑制したが, とくに低温域では, 胚軸の伸長が強く阻害されているにもかかわらず, 発芽をほとんど抑制しなかった (図3) ので, 胚軸の伸長阻害が ABA の発芽抑制作用の原因ではないようである。また, ABA の発芽抑制作用は GA によって回復できず, KIN 存在下で ABA の発芽抑制作用が弱められた (図6, 7)。Khan, A. A. は, KIN 単独では発芽促進作用は示さず, KIN が ABA と共存するときに ABA の発芽抑制作用を弱める作用を示すから, KIN の作用は ABA の阻害を解除する点に限られる, と結論しているが, 本報の結果は, KIN が単独で大きな発芽促進作用を示した点で, Khan, A. A. の報告と大きく異なる。Poggi-Pellegrin, M. C. ら⁹⁾ は, 低濃度の ABA による発芽抑制作用は GA により回復され, 高濃度の ABA の場合には, KIN+GA か KIN+赤色光かにより回復される, と報告しているが, 彼らの報告⁹⁾も Khan, A. A. の下した結論が誤っていることを示している。

(1979年7月31日受理)

引用文献

- 1) Abeles, F. B. and J. Lonski: Stimulation of lettuce seed germination by ethylene. *Plant Physiol.* 44 : 277-280 (1969)
- 2) Burdett, A. N. and W. E. Vidaver: Synergistic action of ethylene with gibberellin or red light in germinating lettuce seeds. *ibid* 48 : 656-657 (1971)
- 3) Chen, S. S. C. and K. V. Thimann: Nature of seed dormancy in *Phacelia tanacetifolia*. *Science* 153 : 1537-1539 (1966)
- 4) Dunlap, J. R. and P. W. Morgan: Reversal of induced dormancy in lettuce by ethylene, kinetin, and gibberellic acid. *Plant Physiol.* 60 : 222-224 (1977)
- 5) 江刺洋司: 種子における休眠と発芽の制御機構, 化学と生物 15 : 623-634 (1977)
- 6) Galston, A. W. and P. J. Davies: Control mechanisms in plant development. Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliffs, New Jersey (1970)
- 7) Khan, A. A.: Inhibition of gibberellic acid-induced germination by abscisic acid and reversal by cytokinins. *Plant Physiol.* 43 : 1463-1465 (1968)
- 8) Negm, F. B., O. E. Smith, and J. Kumamoto: Interaction of carbon dioxide and ethylene in overcoming thermodormancy of lettuce seeds. *ibid.* 49 : 869-872 (1972)
- 9) Poggi-Pellegrin, M.-C. and C. Buland: Interactions between abscisic acid, gibberellins and cytokinins in Grand Rapids lettuce seeds germination. *Physiol Plant.* 36 : 40-46 (1976).
- 10) Reynolds, T. and P. A. Thompson: Effects of kinetin, gibberellins and (±) abscisic acid on the germination of lettuce (*Lactuca Sativa*). *ibid.* 28 : 516-522 (1973).
- 11) Speer, H. L., A. I. Hsiao, and W. Vidaver: Effects of germination-promoting substances given in conjunction with red light on the phytochrome-mediated germination of dormant lettuce seeds (*Lactuca Sativa* L.). *Plant Physiol.* 54 : 852-854 (1974).
- 12) Takeba, G. and S. Matsubara: Analysis of temperature effect on the germination of New York lettuce seeds. *Plant and Cell Physiol.* 17 : 91-101 (1976).
- 13) Takeba, G. and S. Matsubara: Rapid disappearance of small fat bodies during the early stage of imbibition of lettuce seeds. *ibid.* 18 : 1067-1075 (1977).
- 14) Takeba, G.: A thermo-labile process in dark germination of New York lettuce seeds. *Sci. Rep Kyoto Pref Univ. (Nat Sci and Liv Sci)* 29(A) : 9-14 (1978).
- 15) Takeba, G. and S. Matsubara: Measurement of growth potential of the embryo in New York lettuce seed under various combinations of temperature, red light and hormones. *Plant and Cell Physiol.* 20 : 51-61 (1979)
- 16) Thompson, R. C. and W. F. Kosar: Stimulation of germination of dormant lettuce seed by sulfur compounds. *Plant Physiol.* 14 : 567-573 (1939).
- 17) Toole, E. H., V. K. Toole, H. A. Borthwick, and S. B. Hendricks: Interaction of temperature and light in germination of seeds. *ibid* 30 : 473-478 (1955).