

光質の違いがオオシマザクラの種子発芽に及ぼす影響

横田 智 (森林総研)

要旨 : 外生ジベレリン (GA) によるオオシマザクラ種子の発芽促進には遮光が必要である。これは光によって発芽抑制されるためと思われる。レタスのような光発芽種子では、赤色光によって発芽が促進され、遠赤色光によって発芽が抑制されるのが知られていることから、光質の違いがオオシマザクラ種子の発芽に及ぼす影響を調べた。濃度を変えて GA を投与し、暗黒下で発芽させた実験では、15 mg/l GA₃ のとき発芽率が最も高くなった。次に 15 mg/l GA₃ を添加した培地に種子を播き、青色光 (460 nm)、赤色光 (660 nm)、および遠赤色光 (730 nm) 下において、それぞれ 16 時間日長で 10 日間培養した。その結果、赤色光での発芽率は 70 % で暗黒下の発芽率と差はなかったが、遠赤色光での発芽率は 22 % に低下した。また、赤色光 (R) / 遠赤色光 (FR) 比を変えた発芽実験では、R/FR 比の低下によって発芽率が低下した。これらから、オオシマザクラ種子の光による発芽抑制の原因が、遠赤色光にあることが示された。

キーワード : オオシマザクラ, 種子発芽, ジベレリン, 赤色光, 遠赤色光

I はじめに

オオシマザクラ種子の発芽期間短縮のため、外生ジベレリン (GA) による発芽促進を試みた結果、外生 GA によるオオシマザクラ種子の発芽促進には、遮光処理との組合せが有効であることが明らかになった (15, 16)。20 mg/l GA₃ を添加したアガーゲル培地にオオシマザクラの種子を播き、遮光下で培養すると、10 日後の発芽率は平均で 66% に達するが、蛍光灯照明下 (16 時間日長) で培養すると、発芽率は平均で 22% に低下した。しかし、同様の実験をエドヒガンで行った結果、光による著しい発芽抑制は認められなかった (15, 16)。

一般に植物は、光を情報源として自らの生理・発生分化を制御している。発芽においても光は重要な役割を果たしており、レタスの種子では、赤色光と遠赤色光がそれぞれ、促進的、および阻害的に働く (2)。この反応を媒介するのがフィトクロムと呼ばれる色素タンパク質である。フィトクロムは不活性化型である Pr 型で合成され、赤色光を吸収して活性化型の Pfr 型に変換されるが、遠赤色光を吸収すると Pr 型に戻る (8)。シロイヌナズナでは、活性化されたフィトクロムは PIL5 という転写因子と直接相互作用し (5, 6), GA 合成に関わる遺伝子の発現が誘導される一方、GA を

不活性化する遺伝子が抑制され (13, 14)、活性化型の GA 量が増加する (5)。活性化型 GA の存在によって SCF^{SLY1} E3 ユビキチンリガーゼが安定化し、GA 信号伝達の抑制因子である DELLA タンパクが分解されることによって種子発芽が進むと考えられている (1)。

本研究では、オオシマザクラ種子の光による発芽阻害の原因を解明するため、赤、青、遠赤の単色光により、光質の違いがオオシマザクラ種子の発芽に及ぼす影響を調べた。

II 材料と方法

オオシマザクラの種子

実験に使用した種子は、2009 年 5 月下旬～6 月上旬に森林総合研究所敷地内のオオシマザクラから採取した。採取後の種子は果肉を取り除いて水洗し、室温で一晩乾燥させた。その後種子を密閉容器に入れ、さらに容器をポリ袋に入れて密封し、発芽実験まで冷蔵庫で保存した。実験は同年 7 月～8 月に行った。実験では、種子 (堅い内果皮に包まれたもの) から種皮に包まれた胚と胚乳を取り出し、次亜塩素酸ナトリウム溶液 (有効塩素濃度 1%) に 15 分間浸して滅菌したあと、滅菌水で 2 度すすいで培地に播種した。

発芽培地

培地は McCOWN'S WOODY PLANT BASAL SALT MIXTURE (SIGMA-ALDRICH, St. Louis, MO, USA) を用いて pH5.7 に調製し、糖類は添加しなかった。培地の支持体には 5% AGARGEL (SIGMA-ALDRICH) を、GA 処理には GA₃ (SIGMA-ALDRICH) を用いた。

オオシマザクラ種子の発芽における GA 濃度依存性

0, 5, 10, 15, 20 mg/l GA を添加した培地を調製し、1つのシャーレ (直径×深さ: 90×20 mm) 当たり 10個の種子を播き、これの5回反復とした。なお、以後の実験においても播種数と反復回数を同様にした。種子を播いたシャーレは植物育成チャンパー (トミー精工 CL-301) 内に置き、温度 25°C、暗黒下で 10日間培養した。有意性の判定は Tukey 法によって行い、以後の実験においても同様にした。

オオシマザクラ種子の発芽に及ぼす光質の影響

植物育成チャンパー内に設置した植物栽培用 LED 照明器 (ランドマーク社 BMS-GL2000) 内において、白色光、青色光 (460 nm)、赤色光 (660 nm)、および遠赤色光 (730 nm) の下、温度 25°C、日長 16 時間、照度 30 μmol/m²/s (遠赤色光のみ 10 μmol/m²/s) で 10日間培養した。

R/FR 比がオオシマザクラ種子の発芽に及ぼす影響

植物栽培用 LED 照明器の赤色光と遠赤色光の発光強

度を調整して、赤色光 (R) /遠赤色光 (FR) 比 10 および 3 の時の発芽率を調べた。種子の培養は温度 25°C、日長 16 時間、照度 30 μmol/m²/s で 10日間行った。

III 結果

オオシマザクラ種子の発芽における GA 濃度依存性

0, 5, 10, 15, 20 mg/l GA 添加した培地での発芽率を調べた結果、GA 濃度に比例して発芽率が上昇し、15 mg/l のとき 76 % で最も高くなったが、20 mg/l では若干低くなった (図-1)。この結果から、以後の実験の外生 GA の濃度を 15 mg/l とした。

光質の違いがオオシマザクラ種子の発芽率に及ぼす影響

白色光、青色光、赤色光、および遠赤色光下の発芽実験の結果を図-2に示した。白色光下で発芽させた場合、白色蛍光灯の場合 (15, 16) と同様に発芽率は低く 32 % であった。赤色光下の発芽率は 70 % で、暗黒下の 76 % と同レベルであるが、暗黒下とは異なり芽生えは子葉が展開し、クロロフィルの蓄積も見られた。遠赤色光下では 22 % に低下して白色光下の 32 % と同レベルであった。したがって、オオシマザクラでも赤色光は促進的、遠赤色光は阻害的に作用することが示された。また、青色光下の発芽率は 46 % で、暗黒下や赤色光下と比べて低いが、その差は有意なものではなかった。なお、青色光下で発芽した芽生えは、クロロフィルの蓄積は見られるものの、胚軸の伸長が抑制されて著しく短くなっていた。

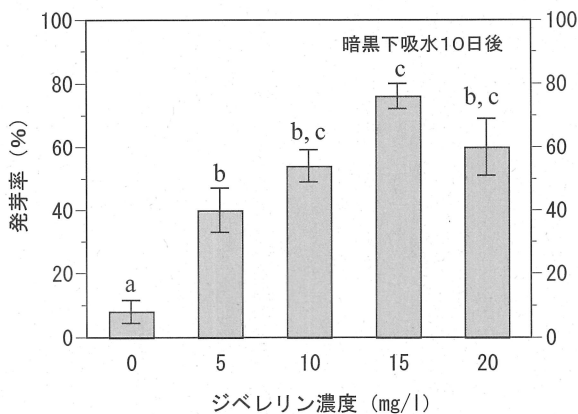


図-1. オオシマザクラ種子の発芽における GA 濃度依存性

発芽率は平均値±標準誤差で表示、異なるアルファベットは危険率 5% での有意差を表す

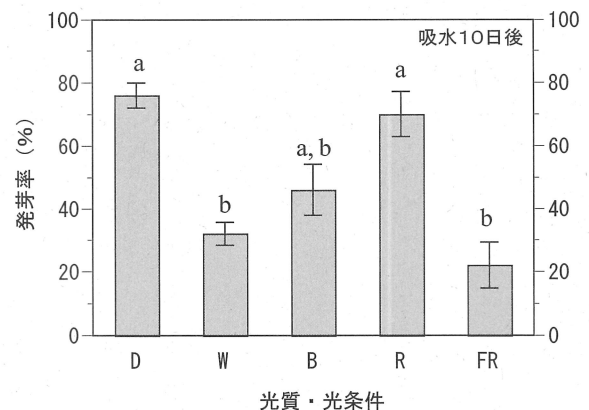


図-2. 光質の違いがオオシマザクラ種子の発芽に及ぼす影響

D: 暗黒, W: 白色光, B: 青色光, R: 赤色光, FR: 遠赤色光

発芽率は平均値±標準誤差で表示、異なるアルファベットは危険率 5% での有意差を表す

R/FR 比の違いによるオオシマザクラ種子の発芽率の変化

R/FR 比を変えた時のオオシマザクラ種子の発芽率の変化を調べた (図-3)。その結果、R/FR 比 10 の時の発芽率は 56 % であるが、R/FR 比 3 の時には白色光と同等の 36 % となった。このことから、オオシマザクラの種子発芽は赤色光と遠赤色光の相対強度によって変化することが示された。

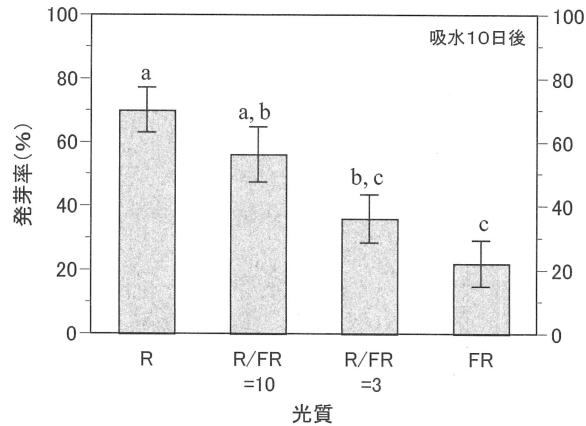


図-3. R/FR 比の違いがオオシマザクラ種子の発芽におよぼす影響

発芽率は平均値±標準誤差で表示、異なるアルファベットは危険率 5 % での有意差を表す

R : 赤色光, FR : 遠赤色光

IV 考察

光発芽する植物では、フィトクロムが光を受けることによって発芽が始まる (2, 10)。シロイヌナズナでは、phyA から phyE まで 5 種類のフィトクロムが存在し (9)、それぞれが重複、あるいは別個の働きをする (7, 12)。phyA は主に超低光量や遠赤色光の高照射に応答して種子発芽を促進するフィトクロムである。phyB は主として赤色光の低光量に応答して種子発芽を促進する主要なフィトクロムであり、Pr 型と Pfr 型の相互変換するのはこのフィトクロムであると考えられている。連続赤色光照射により PfrB が高レベルで維持され、発芽が促進される。連続遠赤色光は PfrB のレベルを下げて phyB のシステムを抑えるが、phyA のシステムを活性化して発芽を促進する (7)。また、phyE は吸水種子において低光量や遠赤色光の高照射に応答して発芽を促進し、遠赤色光の連続照射によって著しく発芽率が低下することはない (3)。白色光や遠赤色光によって発芽率が低下するオオシマザクラの種子で

は、phyA や phyE に相当するフィトクロムの構造や機能に違いがあり、遠赤色光による発芽阻害が生じるのかも知れない。

他方、熱帯植物であるケクロピア属の 1 種 (*Cecropia obtusifolia*) やコショウ属の 1 種 (*Piper auritum*) の種子は、R/FR 比の低い森の林床では発芽しないが、フィルターで遠赤光をブロックすると発芽する (4)。Smith (11) によれば、日中の太陽光の R/FR 比は 1.19、ツタの木陰では 0.13 とされている。照度が違うので単純な比較はできないが、R/FR 比 3 は赤色光が多い状態と言える。この状態で発芽が低下することは、シロイヌナズナの phyA に相当するフィトクロムの構造や機能に違いがあり、そのことが原因となっていることも考慮されねばならない。

引用文献

(1) BRADFORD, K. and NONOGAKI, H. (2007) Seed development, dormancy and germination. Annual Plant Reviews 27. 367pp., Blackwell Publishing, Oxford.

(2) BORTHWICK, H.A., HENDRICKS, S.B., PARKER, M.W., TOOLE, E.H. and TOOLE, V.K. (1952) A reversible photoreaction controlling seed germination. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 38 : 662-666.

(3) HENNIG, L., STODDART, W.M., DIETERLE, M., WHITELAM, G.C. and SCHAFER, E. (2002) Phytochrome E controls light-induced germination of Arabidopsis. Plant Physiol. 128 : 194-200.

(4) 西谷和彦・島崎研一郎 (2004) 植物生理学. 679pp., 培風館, 東京.

(5) OH, E., YAMAGUCHI, S., KAMIYA, Y., BAE, G., CHUNG, W. and CHOI, G. (2006) Light activates the degradation of PIL5 protein to promote seed germination through gibberellin in Arabidopsis. Plant J. 47 : 124-139.

(6) OH, E., KANG, H., YAMAGUCHI, S., PARK, J., LEE, D., KAMIYA, Y. and CHOI, G. (2009) Genome-wide analysis of genes targeted by PHYTOCHROME INTERACTING FACTOR 3-LIKE5 during seed germination in Arabidopsis. Plant Cell 21 : 403-419.

(7) REED, J.W., NAGATANI, A., ELICH, T.D., FAGAN, M. and CHORY, J. (1994) Phytochrome A and phytochrome B have overlapping but distinct functions in Arabidopsis development. Plant Physiol. 104 : 1139-1149.

(8) ROCKWELLI, N.C., SU, Y.S. and LAGARIAS, J.C. (2006) Phytochrome structure and signaling mechanisms. Annu. Rev. Plant Biol. 57 : 837-858.

- (9) SHARROCK, R.A. and QUAIL, P.H. (1989) Novel phytochrome sequences in *Arabidopsis thaliana*: structure, evolution and differential expression of a plant regulatory photoreceptor family. *Genes Dev.* **3** : 1745-1757.
- (10) SHINOMURA, T., NAGATANI, A., CHORY, J. and FURUYA, M. (1994) The induction of seed germination in *Arabidopsis thaliana* is regulated principally by phytochrome B and secondarily phytochrome A. *Plant Physiol.* **104** : 363-371.
- (11) SMITH, H. (1982) Light quality photoperception and plant strategy. *Annu. Rev. Plant Physiol.* **33** : 481-518.
- (12) SMITH, H., XU, Y. and QUAIL, P.H. (1997) Antagonistic but complementary actions of phytochromes A and B allow optimum seedling de-etiolation. *Plant Physiol.* **114** : 637-641.
- (13) YAMAGUCHI, S., SMITH, M.W., BROWN, R.G., KAMIYA, Y. and SUN, T. (1998) Phytochrome regulation and differential expression of gibberellin 3beta-hydroxylase genes in germinating *Arabidopsis* seeds. *Plant Cell* **10** : 2115-2126.
- (14) YAMAUCHI, Y., TAKEDA-KAMIYA, N., HANADA, A., OGAWA, M., KUWAHARA, A., SEO, M., KAMIYA, Y. and YAMAGUCHI, S. (2007) Contribution of gibberellin deactivation by AtGA2ox2 to the suppression of germination of dark-imbibed *Arabidopsis thaliana* seeds. *Plant Cell Physiol.* **48** : 555-561.
- (15) 横田智 (2007) ジベレリンによるサクラ種子の発芽促進. 関東森林研究 No. **58** : 95-96.
- (16) 横田智 (2008) ジベレリンと遮光によるサクラ種子の発芽促進効果. 関東森林研究 No. **59** : 125-126.