

発芽過程におけるマメ科種子貯蔵蛋白質に関する生理生化学的研究 第四報 発芽過程における青えんどうと赤えんどうの 各部位の水分含量と貯蔵蛋白質含量の相違

宇高 京子, 酒井 弥生
(平成 15 年 10 月 2 日受理)

Phsiological Biochemical Study on Legumes Strage Protein in Germination Process Part 4 Moisture Content of Each Part of Pea and Rea Pea, and Difference of Content of Strage Protein in Germination Process

UDAKA, Kyoko and SAKAI, Yayoi
(Received on October 2, 2003)

キーワード：えんどう、発芽、蛋白質、水分
Key words : pea, germination, seed, moisture

I. 緒 言

完熟した種子の組織は脱水状態にあり、形態的には未分化で、細胞内生理活性は極めて低い個体である。しかし、食用マメ科種子は穀類蛋白質に比べても蛋白質含量が高く、昔から有用な植物性蛋白質の供給源であり、調理・加工などの食材として多く用いられて来た。また、いったん休眠が解除されると種子内休眠器官の代謝系が活発化し胚が発育できうる状態に置かれる。さらに光、水、温度、ガス、pHなど外的条件に影響されながらも、さらに成長を続け、ついに「幼根が種皮を破る」という形態的な現象を最終過程として、それに先立って起こる一連の細胞内生理生化学的变化を一般に「発芽」という。このような種子休眠および発芽は、生体内における遺伝的機構に組み込まれた高位の制御によってもたらされた特殊な生理的状态にあると考えられる。従来から宇高らは、大豆貯蔵蛋白質の生合成と分解作用について検討している^{2)~12)}。また、分解過程における異化作用に関するプロテアーゼとの関連についても検討してい

る^{13)~24)}。前報²⁴⁾に続き、青えんどうと赤えんどうの各部位の水分含量と貯蔵蛋白質含量の相違について検討したので報告する。

実験方法

(1) 試料の調製と水分含量

青えんどうと赤えんどう乾燥完熟種子(2000年度北海道産)は低温貯蔵2年以内のものをを用いた。種子を1%洗剤で洗った後、70%エタノール中で30秒、次に5%晒し粉液中に30分浸漬し、殺菌する。これを滅菌水で十分に晒し粉液を洗い流した後、4時間滅菌水に浸漬し、滅菌ポリ箱中で滅菌水を浸み込ませたガーゼを置き、恒温機(25℃)で発芽さす。発芽1日目、3日目、5日目、7日目、9日間目に種子を採取し、皮、子葉、胚軸に分けて凍結乾燥し、その前後の差を水分含量とした。その後、イワタニミルサー(300DG, 5分間)で粉末とし以下の実験に供した。

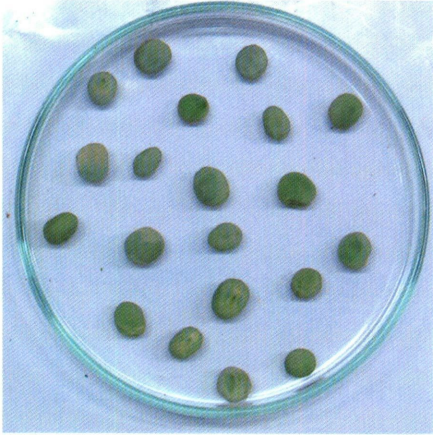


図1 青えんどう乾燥完熟種子で中央に皺が深く入っている。



図2 発芽1日目の青えんどうである。
幼芽が平均1.2cm位観察できる。



図3 発芽3日目の青えんどうである。
幼根が平均3.8cm位観察できる。



図4 発芽3日目の青えんどうである。
根毛が伸び始めている。



図5 発芽7日目の青えんどうである。
根毛が著しく、上胚軸も伸び始めている。



図6 発芽9日目の青えんどうである。
根毛や上胚軸の伸びが著しい。

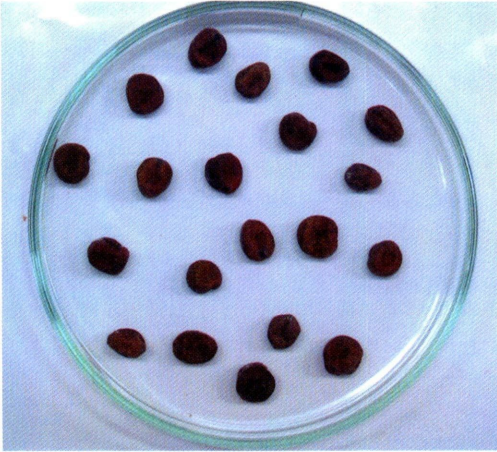


図7 赤えんどう乾燥完熟種子で中央に皺が深く入っている。

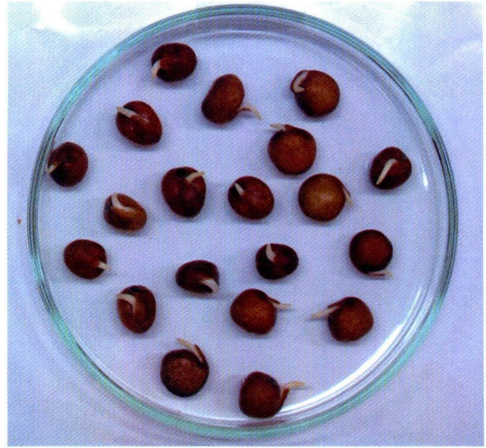


図8 発芽1日目の赤えんどうである。幼芽が平均0.8cm位観察できる。



図9 発芽3日目の赤えんどうである。幼根が平均3.9cm位観察できる。



図10 発芽3日目の赤えんどうである。根毛が伸び始めている。



図11 発芽7日目の赤えんどうである。根毛が著しく、上胚軸も伸び始めている。



図12 発芽9日目の赤えんどうである。根毛や上胚軸の伸びが著しい。

(2) 発芽各時期における種子貯蔵蛋白質の定量

上記(1)の粉末試料4.00gに0.8M-食塩を含む0.01M-バルビタール緩衝液80mlを加え24時間攪拌抽出した(4℃)。次ぎに日立高速冷却遠心機(SCR-20B)で16,000 rpmで25分遠心し(4℃)、その上澄液をローリー法(フェノール試薬法)で定量した。タンパク質標準液には牛血清アルブミンを用い、500 nmで比色定量した²⁵⁾。

実験結果と考察

図1～図6までは青えんどうの発芽過程である。図1は青えんどう乾燥完熟種子である。

3g/10粒, 6g/20粒, 9g/30粒, 12g/40粒, 15g/50粒のものを用いた。その種子の中央には皺が深く入っている。図2は発芽1日目(播種後24時間)の青えんどうである。幼根は約1.2cm位見える。図3は発芽3日目(播種後72時間)の青えんどうである。幼根が約3.8cm位伸びている。図4は発芽5日目の青えんどうである。根毛が伸び始めている。図5は発芽7日目の青えんどうである。根毛が著しく、上胚軸も伸び始めている。図6は発芽9日目の青えんどうである。根毛が著しく伸び、全体に上胚軸も著しく伸びている。図7～図12までは赤えんどうの発芽過程である。図7は赤えんどう乾燥完熟種子である。3g/10粒, 6g/20粒, 9g/30粒, 12g/40粒, 15g/50粒のものを用いた。種子の中央には深く皺が入っている。図8は発芽1日目(播種後24時間)の赤えんどうである。幼根は約0.8cm位見える。図9は発芽3日目(播種後72時間)の赤えんどうである。幼根が約3.9cm位伸びている。図10は発芽5日目の赤えんどうである。根毛が見え始めている。図11は発芽7日目の赤えんどうである。根毛が著しく、上胚軸も伸び始めている。図12は発芽9日目の赤えんどうである。全体的に根毛も上胚軸も著しく伸びている。以上の観察結果から、青えんどうも赤えんどうも発芽過程(発芽時期)における形態的变化は同様であった。すなわち、発芽1日目は幼根が伸び始め、発芽3日目は幼根が著しく伸びる。発芽5日目は根毛が伸び始め、発芽7日目は上胚軸が伸び始める。発芽9日目は特に上胚軸の伸びが著しい。

図13は青えんどう乾燥完熟種子(図1)と赤えんどう乾燥完熟種子(図7)の吸水率の経時的変化である。4.5時間浸漬で80%以上の吸水率を示すため、乾燥完熟種子を上記(1)のように滅菌水に4時間浸漬後、播種するのは適当と思う。図14は発芽各時期における青えんどうと

赤えんどう胚軸の長さである。それぞれ50粒の平均値(cm)である。共に順調に成長している。図15～図17までは発芽各時期における青えんどうと赤えんどう各部位の水分含量である。

図15は発芽各時期における青えんどうと赤えんどう子葉中の水分含量である。青えんどう子葉の場合、発芽1日目(57.0%)、発芽3日目(59.7%)、発芽5日目(65.1%)、発芽7日目(67.5%)、発芽9日目(70.6%)である。発芽過程が進むに従って、水分含量は増加している。赤えんどう子葉の場合、発芽1日目(55.3%)、発芽3日目(58.6%)、発芽5日目(61.0%)、発芽7日目(63.2%)、発芽9日目(66.0%)である。発芽過程が進むに従って、青えんどうと同様に水分含量は増加している。図16は発芽各時期における青えんどうと赤えんどう胚軸中の水分含量である。青えんどう胚軸の場合、発芽1日目(84.9%)、発芽3日目(90.1%)、発芽5日目(90.3%)、発芽7日目(91.4%)、発芽9日目(91.7%)である。発芽過程が進むに従って、わずかではあるが、増加している。赤えんどう胚軸の場合、発芽1日目(80.5%)、発芽3日目(90.2%)、発芽5日目(91.4%)、発芽7日目(91.7%)、発芽9日目(91.9%)である。発芽過程が進むに従って、青えんどうと同様、ごくわずかではあるが、増加している。図17は発芽各時期における青えんどうと赤えんどう種皮中の水分含量である。青えんどう種皮中の場合、発芽1日目(66.2%)、発芽3日目(67.9%)、発芽5日目(54.2%)、発芽7日目(56.3%)、発芽9日目(64.3%)である。発芽過程ではいくつかバラツキがあるが、平均61～62%である。また、赤えんどう種皮中の場合、発芽1日目(57.2%)、発芽3日目(52.8%)、発芽5日目(53.9%)、発芽7日目(56.2%)、発芽9日目(57.1%)である。発芽過程での差はほとんどなく、平均55%前後である。以上、発芽過程での青えんどうと赤えんどうの各部位での水分含量を測定したが、共に、胚軸中での水分含量が一番多かった(平均で青えんどう89.7%、赤えんどう89.2%)。図18は発芽各時期における青えんどうと赤えんどう貯蔵タンパク質含量の変化をローリー法で定量した。青えんどうの場合、発芽0日目(18.98%)、発芽1日目(20.00%)、発芽3日目(20.08%)、発芽5日目(19.48%)、発芽7日目(18.75%)、発芽9日目(17.18%)である。赤えんどうの場合、発芽0日目(17.75%)、発芽1日目(21.88%)、発芽3日目(21.13%)、発芽5日目(20.75%)、発芽7日目(20.25%)、発芽9日目(19.25%)である。

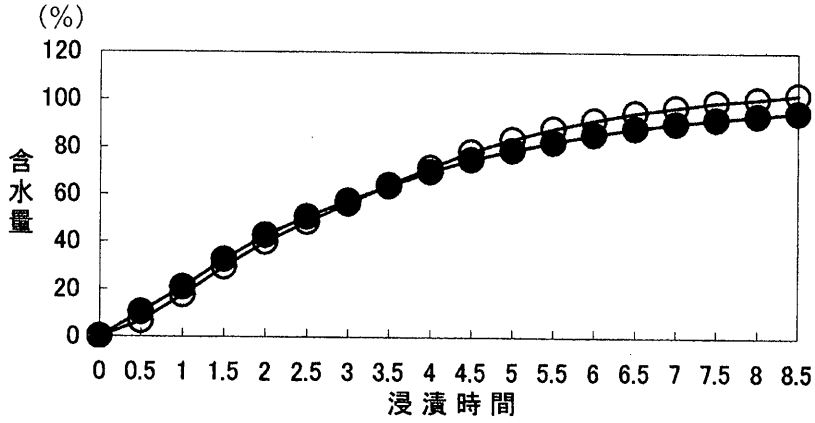


図13 青えんどうと赤えんどうの吸水率の経時的変化
—○— 青えんどう —●— 赤えんどう

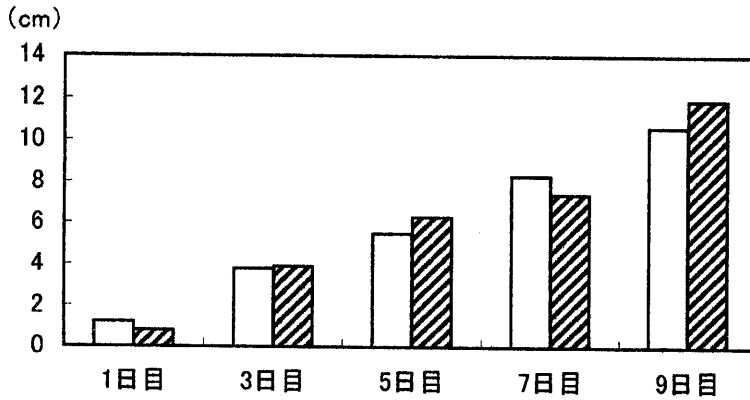


図14 発芽各時期における青えんどうと赤えんどう胚軸の長さ
□ 青えんどう ▨ 赤えんどう

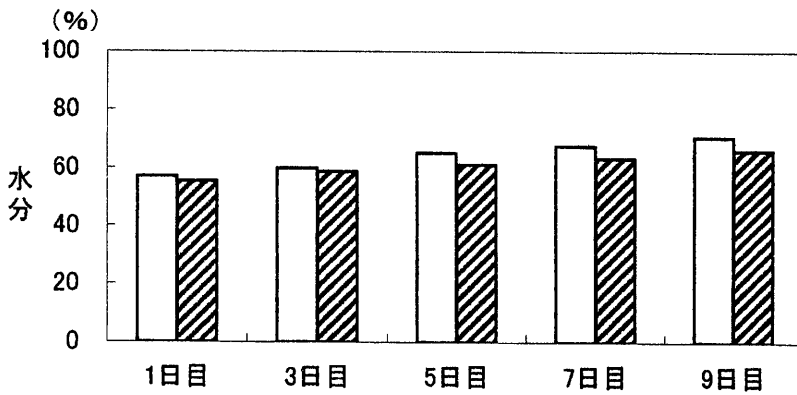


図15 発芽各時期における青えんどうと赤えんどう子葉中の水分含量
□ 青えんどう ▨ 赤えんどう

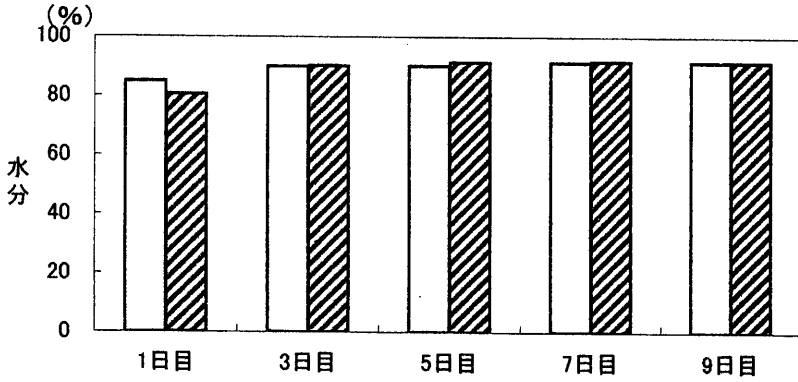


図16 発芽各時期における青えんどうと赤えんどう胚軸中の水分含量
□ 青えんどう ▨ 赤えんどう

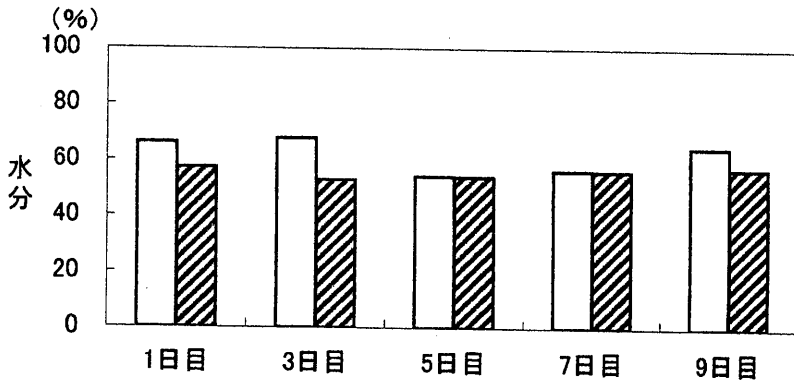


図17 発芽各時期における青えんどうと赤えんどう種皮中の水分含量
□ 青えんどう ▨ 赤えんどう

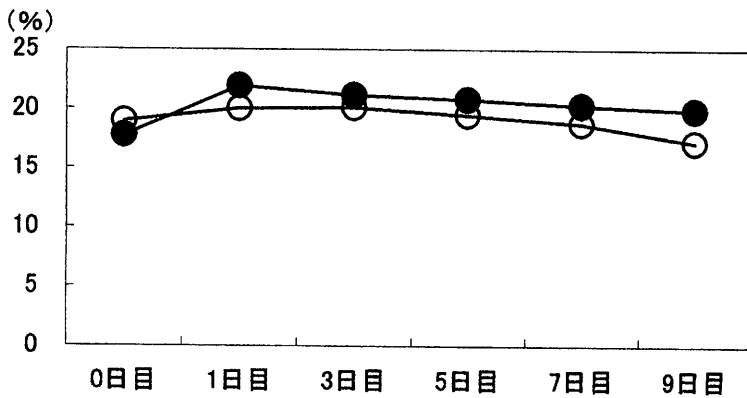


図18 発芽各時期における青えんどうと赤えんどう貯蔵タンパク質含量の変化
—○— 青えんどう —●— 赤えんどう

赤えんどうの方が青えんどうよりも発芽各時期において貯蔵タンパク含量は1~2%多いことが確認された。また、共に、発芽3日目までは貯蔵タンパク含量は増加傾向にあるが、これおすきて発芽5日目以降の貯蔵タンパク含量は減少傾向になる。従って、発芽3日目すぎに何らかの分岐点があるように思われる。大豆発芽過程においても同様な結果が見出されている。

要 約

(1) 発芽過程(発芽各時期)において、青えんどうも赤えんどうも形態的变化は同様であった。すなわち、発芽1日目(播種後24時間)は幼根が種皮を破って始める。発芽3日目は幼根が著しく伸びる。発芽5日目は根毛が伸び初め、発芽7日目は上胚軸が伸び始める。発芽9日目は特に上胚軸の伸びが著しい。

(2) 青えんどうと赤えんどう乾燥完熟種子は4.5時間浸漬で、80%以上の吸水率を示すため、滅菌水に4時間浸漬後、播種するのは適当と思う。

(3) 発芽過程での青えんどうと赤えんどうの子葉、胚軸、種皮での水分含量は胚軸中が一番多かった。すなわち、青えんどう胚軸89.7%、赤えんどう胚軸89.2%であった。

(4) 発芽各時期において種子貯蔵蛋白質は青えんどうよりも赤えんどうの方が、1~2%多い。また、共に、発芽3日目までは貯蔵蛋白質は増加傾向にあるが、発芽5日目以降は貯蔵蛋白質含量は減少傾向になる。従って、発芽3日目すぎに何らかの分岐点があるように思われる。大豆発芽過程においても同様の結果が見出されているが、もっと多くの検討が必要である。

文 献

- 1) 旭正編：分子生物科学12(植物の機能) 岩波書店(1993)
- 2) C. Fukazawa, K. Udaka, et al. : Kulturflanzen, **32**, 75-78 (1984)
- 3) C. Fukazawa, K. Udaka, et al. : J. Biol. Chem., **260**, 6234-6239 (1985)
- 4) T. Momma, K. Udaka et al. : Eur. J. Biochem., **149**, 491-496 (1985)
- 5) T. Momma, K. Udaka et al. : FEBS Lett., **118**, 117-122 (1985)
- 6) C. Fukazawa, K. Udaka et al. : Nucleic Acids

- Res., : **15**, 8117-8119 (1987)
- 7) C. Fukazawa, K. Udaka et al., : FEBS Lett., **22**, 125-127 (1987)
- 8) N. A. Yeboah, K. Udaka et al., : Protein Expression Purif., : **7**, 309-314 (1996)
- 9) M. Arahira, K. Udaka et al. : Biosci. Biotechn. Biochem., **62** (5), 108-1021 (1998)
- 10) A. Watanabe, K. Udaka et al. : Biosci. Biotechn. Biochem., **63** (2) 251-256 (1999)
- 11) M. Arahira, K. Udaka, et al. : Eur. J. Biochem. **267**, 2649-2657(2000)
- 12) Van Hai Nong, C. Fukazawa, K. Udaka et al. : J. biochem. **132**, 291-300 (2002)
- 13) 宇高京子：東京家政大学生生活科学研究所報告, 第13集 (1990)
- 14) 宇高京子：東京家政大学研究紀要, 第35集 (1995)
- 15) 宇高京子：東京家政大学研究紀要, 第36集 (1996)
- 16) 宇高京子, 川名広子：東京家政大学研究紀要, 第37集 (1997)
- 17) 宇高京子, 森永真希子：東京家政大学研究紀要, 第38集 (1998)
- 18) 森永真希子, 宇高京子：東京家政大学研究紀要, 第38集 (1998)
- 19) 宇高京子, 星野かほり：東京家政大学研究紀要, 第39集 (1999)
- 20) 宇高京子, 北村陽子, 田口亜紀子：東京家政大学研究紀要, 第40集 (2000)
- 21) 星野かほり, 宇高京子：東京家政大学研究紀要, 第41集 (2001)
- 22) 宇高京子, 北村陽子, 田口亜紀子, 星野かほり：東京家政大学研究紀要, 第41集 (2001)
- 23) 宇高京子, 北村陽子, 酒井弥生：東京家政大学研究紀要, 第42集 (2002)
- 24) 宇高京子, 北村陽子, 酒井弥生：東京家政大学研究紀要, 第43集 (2003)
- 25) O. H. Lowry, N. J. Rosebrouch, A. L. Farr, R. J. Randall, : J. Biol. Chem., 1993, 265 (1951)

Abstract

A morphology of pea and red pea was similar in germination process. That is, the first germination day was broken the testa by an infant root and begins to go out and then, an infant root expands remarkably on the third germination day. Root hair began to expand on the fifth germination day. Next the epicotyl began to expand on the seventh germination day. The expansion of the epicotyl is especially remarkable on the ninth germination day. Dryness and ripe a seed of pea and red pea was soaked for 4.5 hours. As a result, a rate of water absorption of 80% or more was occupied. The moisture contents of the hypocotyl were better than the testa and cotyledon. The seed storage protein was red pea 1%~2% more than a pea epicotyl