

「イネ科植物の発芽時におけるジベレリンの働き」  
に関する実験方法についての研究  
泉 好 弘・山 口 一 茂

A Study on Experimental Methods for Investigating "the  
Function of Gibberellin during the Germination in Plants of Poaceae"

IZUMI, Yoshihiro and YAMAGUCHI, Kazushige

大分大学教育福祉科学部研究紀要 第34巻第1号

2012年4月 別刷

Reprinted From

THE RESEARCH BULLETIN OF THE FACULTY OF

EDUCATION AND WELFARE SCIENCE,

OITA UNIVERSITY

Vol. 34, No. 1, April 2012

OITA, JAPAN

## 「イネ科植物の発芽時におけるジベレリンの働き」 に関する実験方法についての研究

泉 好 弘\*・山 口 一 茂\*\*

**【要 旨】** イネ科植物のオオムギでは、種子が発芽する際に胚でジベレリンが合成され、ジベレリンが糊粉層の細胞内に存在するアミラーゼを活性化させていることが知られている。我々はこの過程を理解するための実験に関する条件検討を行った。その結果、マカラスムギの三分切種子を実験に用いること、ジベレリンの濃度は 100 mg/L とすること、培養期間は 3 日間とすることによって明瞭な結果が得られることがわかった。

**【キーワード】** マカラスムギ ジベレリン アミラーゼの活性化

### I はじめに

高等学校理科の生物 I では、「環境と植物の反応」の単元において、植物の成長、老化、発芽、花芽形成などが植物ホルモンによって調節されていることを学習する。これらの中で発芽の促進についてはレタスなどの光発芽種子の事例とイネ科植物の事例が多く教科書に掲載されている。イネ科植物のオオムギでは、種子が吸水すると胚でジベレリンが合成され、そのジベレリンが糊粉層の細胞に働きかけてアミラーゼが放出されている<sup>(1)~(5)</sup>。そのアミラーゼによって胚乳中のデンプンが糖に分解され、胚は糖を栄養分として成長し、発芽する。このようなジベレリンによるイネ科植物の発芽促進は、半切種子を用いた実験で証明することができ、啓林館の高等学校生物 I の教科書では、イネの種子を材料とした実験の例が紹介されている<sup>(6)</sup>。この実験では、胚を含む半切種子では吸水させるとデンプンが分解されること、胚を含まない半切種子では吸水させてもデンプンが分解されないこと、胚を含まない半切種子でもジベレリンを与えると吸水によってデンプンが分解されることがヨウ素デンプン反応によって、簡単かつ明瞭に確認できるため、高等学校の授業に取り入れると種子発芽におけるジベレリンの働きがよく理解できるようになると考えられる。しかしながら、ジベレリンの濃度や培養期間などの培養条件に関する記述が全く無いため、このまま授業で実験を実施することは難しいと思われる。また、実験材料として挙げられていたイネは一般の種苗店で種子を購入することが難しい。そこで今回の研究では、高等学校生物の授業で実験教材として利用できるようにするために、飼料作物であるマカラスムギを実験材料として実験の諸条件を検討した。

---

平成 23 年 10 月 31 日受理

\*いづみ・よしひろ 大分大学教育福祉科学部

\*\*やまぐち・かずしげ 大分大学教育福祉科学部、大分市立植田東中学校

## II 材料及び方法

### 1 材料

マカラスムギ (*Avena sativa L.*) の種子を実験材料として用いた。マカラスムギは一般にエンパクと呼ばれ、前進（不二種苗株式会社）という品種の種子を種苗店より購入した。

### 2 方法

#### 1) 半切種子および三分切種子の作成

マカラスムギの種子を剃刀の刃で二等分したもの（以後、半切種子と呼ぶ）と三等分したもの（以後、三分切種子と呼ぶ）の両端を実験に用いた（中央部は使用しない）。また、胚が含まれる半切種子及び三分切種子を「胚有り」とし、胚が含まれない方を「胚無し」とした（図1）。なお、三分切種子の作成では、切断する際に「胚無し」に剃刀の刃から胚の細胞が混入することを防ぐために、同一の刃は用いないようにした。

#### 2) 培地の組成と培養条件など（詳細は IVまとめを参照）

0.5 %デンプンと1%寒天を含む培地上に脱イオン水またはジベレリン溶液を加え、半切または三分切種子を置き、室温で1～3日間培養した。半切または三分切種子と脱イオン水またはジベレリン溶液の組み合わせは、「胚有り」+脱イオン水、「胚無し」+脱イオン水、「胚無し」+1 g/Lジベレリン溶液、「胚無し」+100 mg/Lジベレリン溶液、「胚無し」+10 mg/Lジベレリン溶液、「胚無し」+1 mg/Lジベレリン溶液の6種類を試した。培養後、10倍に希釀したヨウ素ヨウ化カリウム溶液を霧吹きで培地に吹きかけ、ヨウ素デンプン反応を確認した。

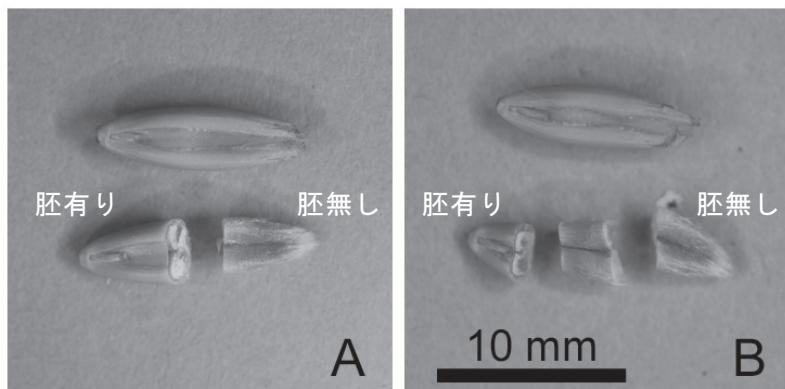


図1 マカラスムギの半切種子(A)と三分切種子(B)。

## III 結果と考察

最初に、半切種子を用いて種子の培養期間を検証した。1日間培養した培地にヨウ素ヨウ化カリウム溶液を吹きかけると、ヨウ素デンプン反応によって培地全体が濃い紫色になった（図2A）。このような状態は培地のデンプンがほとんど分解されていないことを示している。培養

2日後には半切種子の周辺でヨウ素デンプン反応が弱まり（図2B），培養3日後では半切種子の周辺が白く抜けた（図2C）。このような状態は培地のデンプンが分解されたことを示している。これらの結果は、培養期間は3日間が適当であることを示している。

ジベレリンを添加した培地で「胚無し」の半切種子を3日間培養した場合では、すべての濃度でデンプンの分解が確認された（図3C-F）。これらの結果は、胚が無くてもジベレリンがアミラーゼの活性化を促進することを示している。1mg/Lジベレリンでは半切種子の周辺に白く抜けた部分がわずかに見られただけだったが（図3C），1g/Lでは白く抜けた部分が非常に大きくなっていた、「胚有り」の場合よりも大きくなっていた（図3F）。ジベレリンの濃度が10mg/Lの場合では白く抜けた部分の大きさが「胚有り」の場合とほぼ同じ小さく（図3D），10mg/Lでは同程度か大きくなっていた（図3E）。このように、今回の実験では結果にバラツキがあったため、適切なジベレリンの濃度を完全に特定することはできなかったが、10mg/Lまたは100mg/Lが実験に適していることがわかった。

「胚無し」の半切種子を脱イオン水のみを添加した培地で3日間培養すると、ヨウ素デンプン反応によって半切種子の周辺部も濃い紫色になる場合と（図3B），半切種子の周辺部が白く抜けた場合があった（表1）。この実験は、胚が無いとジベレリンが合成されないためにアミラーゼが活性化しないことを示すためのもので、すべての場合で前者のような結果になる必要がある。しかしながら、今回の実験では胚を持たない半切種子をジベレリンの存在しない培地で培養した場合でもデンプンが分解されてしまうことがあった。このような結果になった原因については明らかではないが、我々は半切種子の「胚無し」に胚の一部が含まれてしまう場合があるのでないかと考え、半切種子の代わりに三分切種子を用いて同様の実験を行った。

図4は三分切種子を用いた実験の典型的な結果を示したものである。半切種子の場合と同様に、脱イオン水のみを添加した培地で「胚有り」を培養した場合では、すべての三分切種子の周辺部でデンプンの分解が確認された（図4A, 表2）。一方、脱イオン水のみを添加した培地で「胚無し」を培養した場合では、培地全体でヨウ素デンプン反応が確認され、三分切種子の周辺部に白く抜けた部分が見られることはまったく無かった（図4B, 表2）。ジベレリンを添加した培地で「胚無し」を培養した場合では、すべての三分切種子の周辺部でデンプンの分解が確認された（図4C-D, 表2）。これらの結果は、胚が無いとアミラーゼは活性化されないが、ジベレリンを添加すると胚が無くてもアミラーゼが活性化されることを明瞭に示しており、三分切種子を実験に用いると理想的な結果が得られることが分かった。

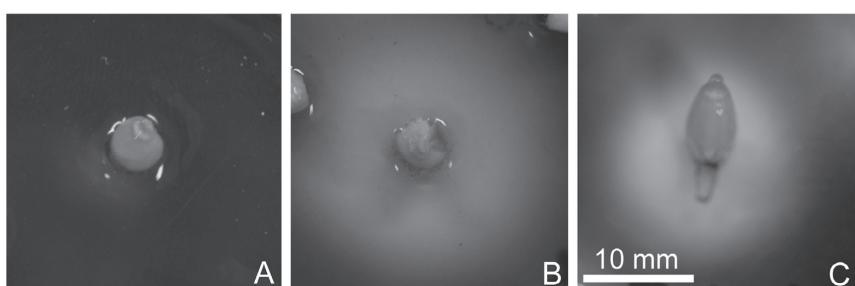


図2 胚を含む半切種子に脱イオン水を添加して培養した場合のヨウ素デンプン反応。

A：培養1日後      B：培養2日後      C：培養3日後

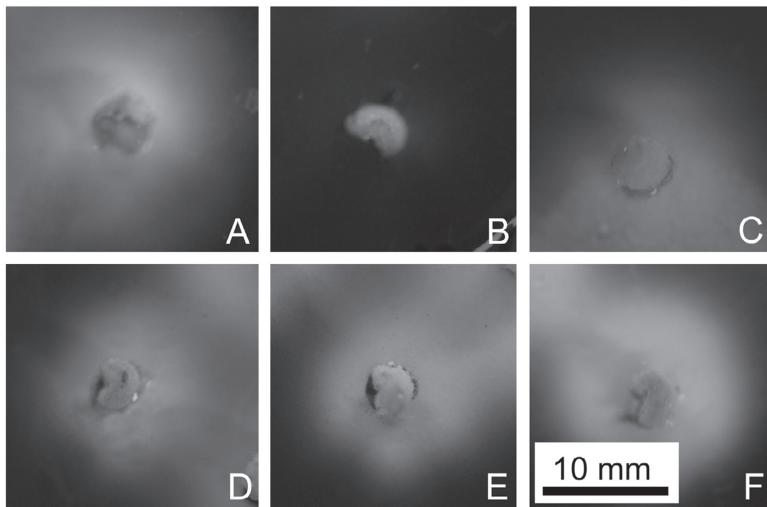


図3 半切種子を3日間培養した培地のヨウ素デンプン反応。

A : 「胚有り」 + 脱イオン水      B : 「胚無し」 + 脱イオン水  
 C : 「胚無し」 + 1 mg / L ジベレリン      D : 「胚無し」 + 10 mg / L ジベレリン  
 E : 「胚無し」 + 100 mg / L ジベレリン      F : 「胚無し」 + 1 g / L ジベレリン

表1 半切種子を用いた実験の結果

培 地	培地中のデンプンを分解した種子の数	培地中のデンプンを分解しなかった種子の数
「胚有り」 + 脱イオン水	34	0
「胚無し」 + 脱イオン水	13	19
「胚無し」 + 1 mg / L ジベレリン	25	7
「胚無し」 + 10 mg / L ジベレリン	32	0
「胚無し」 + 100 mg / L ジベレリン	32	0
「胚無し」 + 1 g / L ジベレリン	38	0

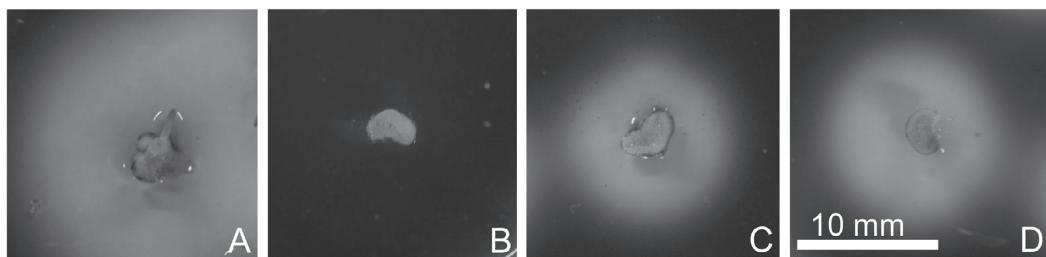


図4 三分切種子を3日間培養した培地のヨウ素デンプン反応。

A : 「胚有り」 + 脱イオン水      B : 「胚無し」 + 脱イオン水  
 C : 「胚無し」 + 10 mg / L ジベレリン      D : 「胚無し」 + 100 mg / L ジベレリン

表2 三分切種子を用いた実験の結果

培地	培地中のデンプンを分解した種子の数	培地中のデンプンを分解しなかった種子の数
「胚有り」+脱イオン水	36	0
「胚無し」+脱イオン水	0	36
「胚無し」+10 mg/L ジベレリン	32	0
「胚無し」+100 mg/L ジベレリン	32	0

#### IV まとめ

今回の研究によって、マカラスムギでは三分切種子を実験に用いると明瞭な実験結果が得られることが分かった。ジベレリンの濃度については結果にバラツキがあったため、最適なジベレリンの濃度を決定することはできなかったが、対照実験である「胚有り」に比べて低い効果しか得られない場合がある 10 mg/L よりも、「胚有り」に比べてより高い効果がでてしまう場合がある 100 mg/L のほうが実験に適しているのではないかと我々は考えている。三分切種子の培養期間は 3 日間が適切であったが、今回の研究では、実験を 11 月中旬から 1 月中旬に行っているため、室温が高い時期に実施する場合は予備実験を行って適切な培養期間を確認したほうがよいと思われる。

マカラスムギを用いた「ジベレリンによるアミラーゼの活性化の実験」について、理想的な結果が得られると考えられる方法を以下に示す。

- 1) ヨウ素ヨウ化カリウム溶液の作成： ヨウ素ヨウ化カリウム溶液は、ヨウ化カリウム 50 g を約 800 ml の脱イオン水に溶かした後ヨウ素 12.7 g を溶かし、脱イオン水で 1 L にして褐色瓶で保存する。
- 2) ジベレリン溶液の作成： 100 mg のジベレリン ( $GA_3$ 、和光純薬) を約 80 ml の脱イオン水に溶かし、1 N 水酸化ナトリウム溶液を滴下しながら攪拌し、完全に溶解させた後、脱イオン水を加えて 100 ml にする (ジベレリンの最終濃度は 1 g/L)。これを褐色瓶に入れて冷蔵庫で保存し、使用直前に 10 倍希釈して 100 mg/L にする。
- 3) 寒天培地の作成： 脱イオン水 100 ml に可溶性デンプン 0.5 g と寒天 1 g を加え、加熱しながら攪拌して完全に溶解させる。それを直径 60 mm のプラスチックシャーレに約 5 ml ずつ分注し、固まるまで室温で静置し、上皿と下皿をパラフィルムで固定する。
- 4) 三分切種子の作成： 刃またはカッターナイフの刃を用いて、マカラスムギの種子を長軸の 1/3 の位置で切断して胚を含む三分切種子と胚を含まないものを作成する。胚を含まない三分切種子を作成する場合は、新品の刃を用いる。
- 5) 培養と結果の確認： 寒天培地に脱イオン水または 100 mg/L ジベレリン溶液を約 1 ml 加え、三分切種子を 4 個程度置き、上皿と下皿をパラフィルムで固定する。「胚有り」+脱イオン水、「胚無し」+脱イオン水、「胚無し」+100 mg/L ジベレリン溶液の 3 種類を用意して室温で 3 日間培養した後、10 倍に希釈したヨウ素ヨウ化カリウム溶液を霧吹きで培地全体に吹きかけてヨウ素デンプン反応を確認する。

この方法で実験を行うと、胚を含む三分切種子では吸水させるとデンプンが分解されること、

胚を含まない三分切種子では吸水させてもデンプンが分解されないこと、胚を含まない三分切種子でもジベレリンを与えると吸水によってデンプンが分解されることが明瞭に確認できる。そのため、この実験を高等学校の授業に取り入れると、イネ科植物の発芽の際には胚でアミラーゼが合成されるのではなく、胚ではジベレリンが合成されて、胚以外の領域（糊粉層）に存在するアミラーゼの前駆物質をジベレリンが活性化することを推察できるようになり、種子発芽におけるジベレリンの働きがよく理解できるようになると考えられる。

### 参考文献

- (1) 四方 治五郎 1958, 麦芽に関する研究 一大麦種子の殺菌及び分離せる胚乳よりのアミラーゼの生成－ 発酵協会誌 **16** 444－448.
- (2) 四方 治五郎 1960, アミラーゼ附活物質に関する研究（第2報）－胚培養液及び麦芽抽出液中のアミラーゼ附活物質について－ 発酵協会誌 **18** 494－499.
- (3) 四方 治五郎 1960, アミラーゼ附活物質に関する研究（第3報）－麦芽中のアミラーゼ附活物質の精製－ 発酵協会誌 **18** 500－502.
- (4) 四方 治五郎 1960, アミラーゼ附活物質に関する研究（第4報）－ジベレリンのアミラーゼ附活作用について－ 発酵協会誌 **18** 600－602.
- (5) 四方 治五郎 1960, アミラーゼ附活物質に関する研究（第5報）－麦芽中のアミラーゼ附活物質の精製（2）及びその性質－ 発酵協会誌 **18** 603－606.
- (6) 太田次郎, 本川達雄ほか13名 2004, 高等学校生物 I 新興出版社啓林館.

## A Study on Experimental Methods for Investigating "the Function of Gibberellin during the Germination in Plants of Poaceae"

IZUMI, Yoshihiro and YAMAGUCHI, Kazushige

### Abstract

In *Hordeum vulgare* of Poaceae, it is known that gibberellin is synthesized in an embryo during the seed germination and activates amylase in aleurone cells. We carried out a study of the requirements for experiments to understand with the this process. This study showed that the experiment is successful with the culture of one-third cut seeds of *Avena sativa* without an embryo on a medium containing 100 mg / L gibberellin.

【Key words】 *Avena sativa*, Gibberellin, Activation of amylase