

種子の発芽と細胞内部のライブイメージ

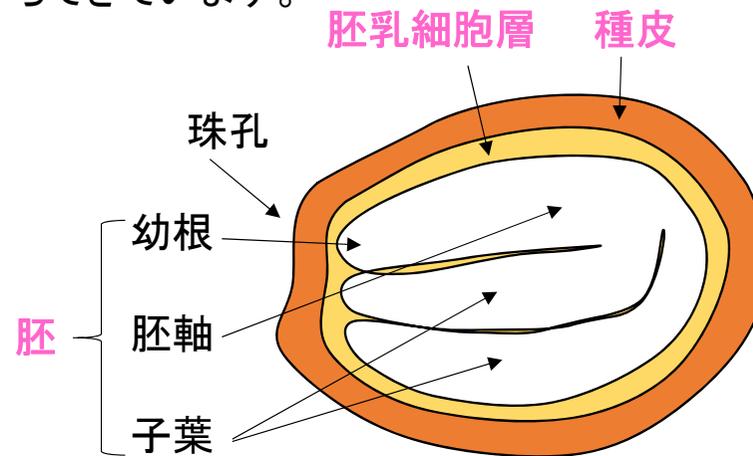
はじめに

乾燥状態の種子が水を得て発芽に至るプロセスには、その後の成長とは異なる現象が、見た目でも内部でも、そして細胞内部でもあります。

最近、モデル植物のシロイヌナズナ種子の発芽において、劇的に変化する細胞内部の様子が**ライブイメージ**として明らかにされました。

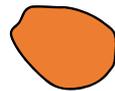
シロイヌナズナの種子と発芽

シロイヌナズナ種子は芥子粒ほどの大きさです。発芽に必要な貯蔵タンパク質を蓄え、将来植物体となる**胚**、その周りを取り囲むわずか細胞1層からなる**胚乳細胞層**、一番外側を守る**種皮**という三要素からできています。



採種直後のシロイヌナズナ種子は、時間を経て最適な季節になってから発芽するために、たとえ最適な温度で吸水させても発芽しません。このような現象を、**種子の休眠**といいます。

休眠を打破し、発芽させるためには、乾燥状態のまま長期間保存するか、または播種後まず暗所低温で2, 3日おいてから明所適温へ移します。

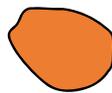
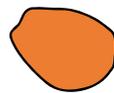


ZZZ.....よく寝た後か、
低温で播種されると目が
覚め、発芽します。

発芽における種子の見た目の変化

シロイヌナズナ種子を播種し暗所低温(4°C)で3日置いた後、明所適温(22°C)に移し顕微鏡で観察すると、18時間で種皮が破れてきます(The Plant Journal 41、pp 936-944、2005)。

暗所低温 3日間 明所適温



0



18~30時間



30~51時間

種子により、早い、遅いがあります。

全種子が一斉に反応するわけではなく、種子により早い、遅いがあります。30時間たつと、8割の種子の種皮が破れます。

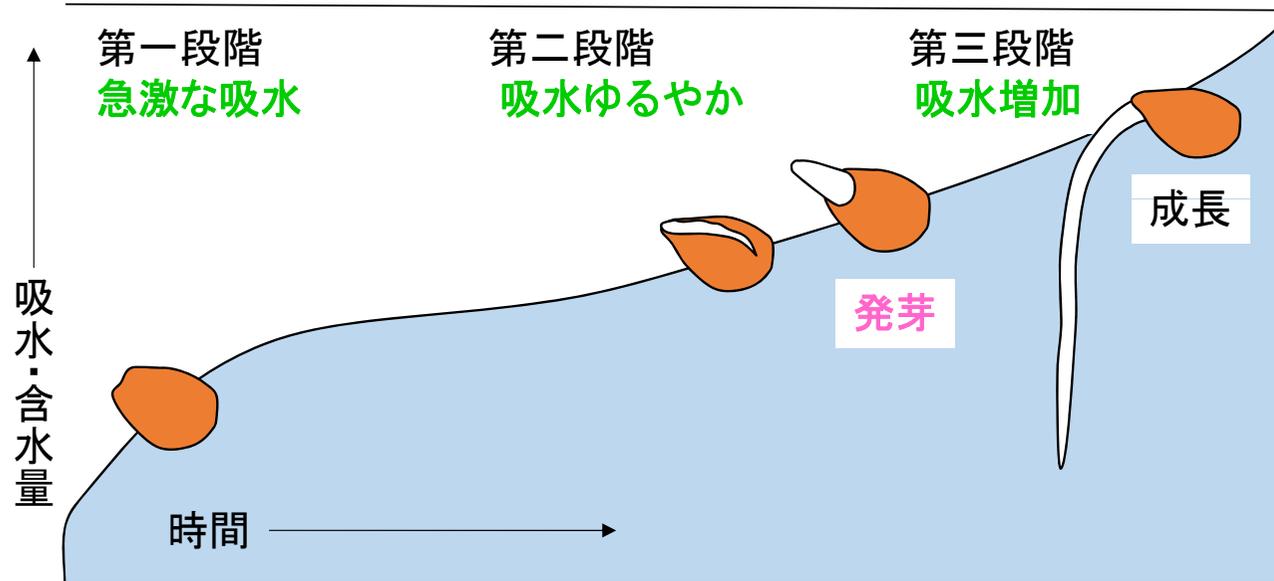
その頃には、幼根が胚を取り囲む胚乳細胞層を突き破ります。**これが、種子の発芽です。**8割の種子の胚乳細胞層が破れるのは、51時間後になります。

発芽における種子内部の変化

種皮は、種子内部の胚が吸水して肥大することにより破れ、次いで胚軸部が分裂・成長し幼根が胚乳細胞層を貫通することが、1980年代からレタスやタバコなど複数例報告されています。



水分吸収の速さ、つまり種子含水量の増加は一様ではありません。急激に吸水する第一段階があり、ついで吸水が緩やかになる第二段階となり、発芽します。発芽後は胚から幼植物体への成長に伴い再び吸水が増えます。



呼吸と、細胞のエネルギー生産

胚が肥大したり、胚軸が分裂・成長する際には、当然いろいろな化学反応が行われます。そして**化学反応には、エネルギーが必要**です。化学反応に利用するためのエネルギーとして、生物は**アデノシン三リン酸(略称ATP)分子などの強い還元力が酸化**される際に放出する**エネルギーを利用します**。

その**ATPは、呼吸により生産されます**。呼吸は、ミトコンドリアという細胞内の器官でブドウ糖と酸素を使って行われます。ブドウ糖は種子では貯蔵デンプンの分解から得られます。ブドウ糖1分子から38個のATPが作られます。ミトコンドリアや酸素がない状況では効率が悪く、ブドウ糖1分子からATPは2個しかできません。

化学的エネルギー生産と発芽

発芽に伴う種子内部の変化の1つとして、播種に伴う酸素消費も調査されました(The Plant Cell, 29, pp109-128, 2017, Arabidopsis seed mitochondria are bioenergetically active immediately upon imbibition and specialize via biogenesis in preparation for autotrophic growth)。

播種後暗所4°Cにおいた場合は呼吸阻害処理した場合とほぼ同様の酸素消費量しかありませんが、**適温に移すとわずか2時間で5倍以上になりました。このような酸素消費の早い立ち上がり**はすでに他作物でも報告されており、**乾燥状態の種子や播種後のミトコンドリアはいつ活動を始めるのか**、興味をもたれていました。

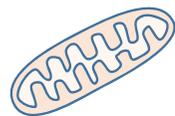
乾燥種子の細胞内を知る最新のライブイメージ 技術

ミトコンドリアの活動(活性)は、これまでは種子を水溶液中で破碎し反応液(水溶液)とし、ミトコンドリア呼吸系酵素の反応を試験管で再現することにより調べていました。しかしこの手法では水を使うので、本当の、特に興味をもたれる乾燥状態の活性はわかりませんでした。

前述の2017年の報告では、乾燥状態や発芽時の種子のミトコンドリアの様子を、ライブイメージング技術で明らかにしています。

まずミトコンドリアが緑色の蛍光タンパク質をつくるような遺伝子をシロイヌナズナに導入し、その**遺伝子組み換え体**を育てて種子を得ます。そして、**その乾燥種子や発芽時種子切片を水無しで作り、蛍光顕微鏡で連続して観察**しました。

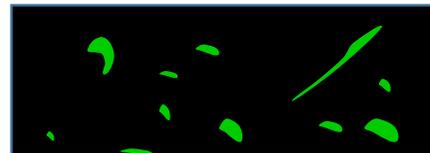
前述の文献タイトルなどをキーワードとしてグーグルなどで検索すると、論文がみられます。論文の一番最後に付録データとしてmovie（映像）があり、黒い背景に緑色の不定形のスポットとして散在しているのがミトコンドリアです（下図右）。長い丸形で内部にひだがある教科書などのイラスト（下図左）とは異なります。



イラストのミトコンドリア

種子内の、子葉のミトコンドリアライブイメージ

この緑色が動く



別途、非水溶性蛍光染色液を用い、ミトコンドリアの活性も調査しました。乾燥種子および播種後暗所4℃ではその赤紫色の蛍光はみられず、明所21℃に移され、発芽に向かう状態になると15分で蛍光を発する像が検出され、ミトコンドリアが活動を始めることがわかりました。

また、前述の緑色の蛍光の動きを連続的に調査し、発芽に向かう2時間のうちに、ミトコンドリアの移動や融合、分裂も起こることがわかりました。

今後

ミトコンドリア創成(バイオジェネシス)の動画をみますと、発芽における吸水初期の重要性を改めて感じます。

このようにかつて植物生理学や発生学で扱われていた現象が、現在次々とライブイメージとして観られるようになっていきます。映像には、インパクトがあります。これからは、楽しみです。