

マツ類種子の成熟ならびに発芽過程 に関する生理学的研究 (第 I 報)

種子蛋白質の変遷

大学院学生 勝 田 柁

Masaki KATSUTA:

Physiological Studies of the Ripening and Germinating Processes of Pine Seeds (I)

Changes of seed proteins

目 次

I. 緒 言	125	3) 発芽過程における蛋白質 および遊離アミノ酸の変遷について.....	147
II. 材料と方法	126	IV. 総 括	155
III. 研究成果	129	V. Summary.....	157
1) マツ類の種子蛋白質について.....	129		
2) 成熟過程における蛋白質 および遊離アミノ酸の変遷について.....	131		

I. 緒 言

種子の成熟 ならびに 発芽過程に認められる形態的变化をとらえて、生理学的な意義づけをすることは重要である。生理学的な解明には 構成物質の適確な かつ連続した解析が必要である。しかるに このような研究は 従来とも、その例が はなはだ少ない。筆者はこの点を考慮して、種子蛋白質の変遷を中心に、マツ類種子の成熟 ならびに 発芽過程を生理学的に考究した。

筆者は 当初 成熟した種子の蛋白質について、その構成 および 組成を中心に、検討をおこなった。その知見にもとづいて、種子の成熟 ならびに 発芽過程における 種子蛋白質の変遷をしらべた。さらに 種子蛋白質の変遷の結果を一層明確にするために、遊離窒素化合物の変化を中心に 窒素化合物の代謝の問題も検討した。ここに 結果の概要を報告する。

本研究をおこなうに当つて 御懇篤な御指導をいただいた 大政正隆教授に 心からの御礼を申しあげる。また 御助言をいただいた佐藤大七郎教授、郷正士博士 および 材料採取その他に御援助くださった 東京大学農学部造林学教室、東京大学演習林附属田無苗畑の方々に 厚く御礼を申しあげる。

II. 材 料 と 方 法

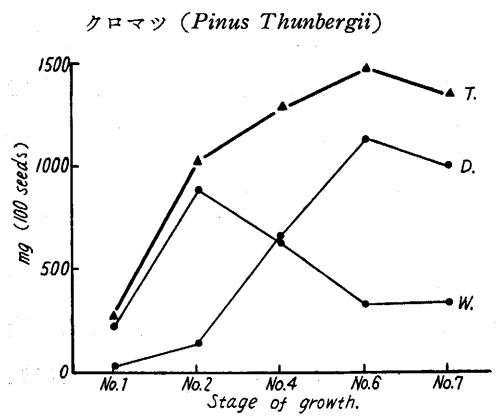
A. 供 試 材 料

成熟過程の実験に用いた クロマツ (*Pinus Thunbergii*), アカマツ (*P. densiflora*) の種子は 1956 年, 1957 年に 東大演習林附属田無苗畑で採取したものである。発芽過程の実験に用

第 1 表 供 試 材 料
Table 1. Materials

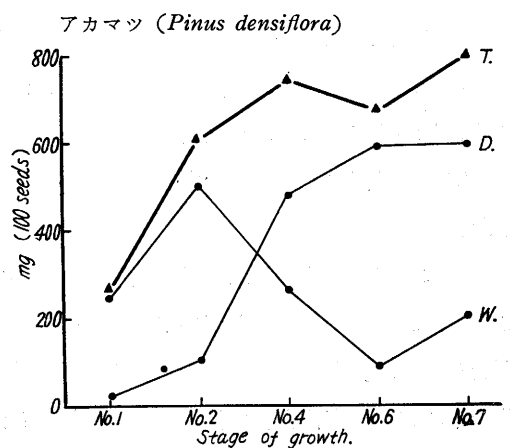
試料番号 Sample number	成熟過程 (クロマツ, アカマツ) Ripening process (<i>P. Thunb.</i> , <i>P. densifl.</i>)		発芽過程 (クロマツ) *** Germination period (<i>P. Thunb.</i>)	
	種子蛋白質の実験に 用いた試料 Samples used for protein's analysis	遊離アミノ酸の実験 に用いた試料 Samples used for free amino acid's analysis.	種子蛋白質ならびに遊離アミノ酸の実験 に用いた試料 Samples used for protein and free amino acid's analysis.	
	採 取 月 日 Date of seed collection	採 取 月 日 Date of seed collection	置 床 後 日 数 Length of period of placing seeds on germ. bed	備 考 Notes
No. 1	June. 15 *	June. 15	0 (day.)	
No. 2	July. 15 *	July. 15	2	
No. 3	(July. 31) *	August. 8	7	
No. 4	August. 14 *, **	August. 23	9	発芽 (めきり)
No. 5	(September. 2) **	September. 7	12	幼根長 3~5mm
No. 6	September. 12 *, **	September. 22	16	幼根長 8~12 //
No. 7	October. 14 **	October. 6	23	幼植物
No. 8	—	October. 16	29	// (胚乳の脱落)

*: 顕微鏡観察に用いた試料
 **: 発芽試験に用いた試料
 発芽床はベトリ皿にガーゼと和紙をおき, 適度の水を加えたものを用いた。温度は 25°C, 夏の高温のときには室内に放置した。
 ***: 発芽条件は上記 (**) と同様である。



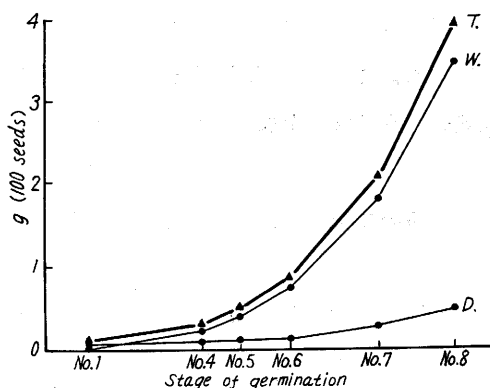
第 1 図 成熟過程の種子重量の変化
Fig. 1. Changes of seed weight in the ripening process.

T: 種子全重量 total weight of seed
 D: 種子乾物量 dry weight of seed
 W: 種子水分量 water content of seed



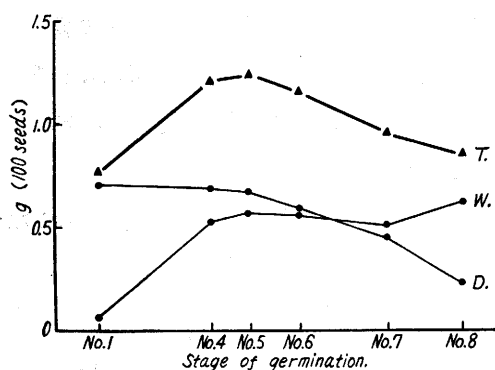
第 2 図 成熟過程の種子重量の変化
Fig. 2. Changes of seed weight in the ripening process.

T: 種子全重量 total weight of seed
 D: 種子乾物量 dry weight of seed
 W: 種子水分量 water content of seed

クロマツの胚 (Embryo of *P. Thunbergii*)

第3図 発芽過程の種子重量の変化
Fig. 3. Changes of seed weight during the germination period.

T: 胚の全重量 total weight of embryo
D: 胚の乾物量 dry weight of embryo
W: 胚の水分量 water content of embryo

クロマツの胚 (Endosperm of *P. Thunbergii*)

第4図 発芽過程の種子重量の変化
Fig. 4. Changes of seed weight during the germination period.

T: 胚乳の全重量 total weight of endosperm
D: 胚乳の乾物量 dry weight of endosperm
W: 胚乳の水分量 water content of endosperm

いたクロマツの種子は 1955年, 1956年に 東大千葉演習林で採取したものである。

供試材料の供試年月日, 実験条件などは第1表に示すとおりである。

表中の sample number は 種子の成熟ならびに 発芽の過程にそつてつけたものである。本論文においては 試料の採集年月日 あるいは 置床後の経過日数などをいちいち記載することはわずらわしく かつ 読者の理解を困難にすると、すべて sample number をもつてこれにかえた。したがつて 本論文の sample number は 種子の成熟段階, ならびに 発芽段階を示すものと理解されてよい。また各過程の種子の重量変化は 第1~4図に示すとおりである。

B. 抽出 および 分別

採取された新鮮な材料は (成熟過程では 約100球果, 約5000粒, 発芽過程では 2000粒以上) 粉碎し soxhlet 抽出器で 比較的短時間 (通常 ether を用いて 7~8時間, 未成熟時は短時間で終結できる) の脱脂操作をおこない, 乾燥して粉末状にした。

上記の試料を 1M NaCl 溶液* を用いて 0~5°C で抽出した。抽出は 最初15時間はそのまま静置し, その後抽出を完全にするために 1~2時間の同様操作をくりかえした。抽出液は 濾過して 透明溶液とした。これを約 20時間流水に対して透析し, 後 0~5°C に保ち, さらに蒸留水に対して透析し 溶液と沈澱をえた。これを 遠心分離と濾過によつて 沈澱部と溶液部に分けた。透明溶液は 凍結乾燥し Albumin 区分とした。この区分の一部はさらに精製した。沈澱は 洗滌後, 再溶解 再沈澱し のち凍結乾燥して Globulin 区分とした。

* DANIELSSON 1951. による。pH 7.0, phosphate buffer である。

1 M NaCl 溶液で抽出後の残渣は 洗滌後 0.2 % KOH 溶液を用いて 0~5°C で抽出した。抽出は 最初5時間は静置し、その後 抽出を完全にするために 1~2時間の同様操作をくりかえした。抽出液は 遠心分離により透明溶液とした。これを CH₃COOH で中和すると沈澱が形成される。この沈澱を 水洗、再溶解 再沈澱後、透析操作を加え、凍結乾燥し Glutelin 区分とした。

各試料について Prolamin の検定をおこなったが、極めて微量か、あるいは存在しなかつたので、上記の抽出法を採用したのである。

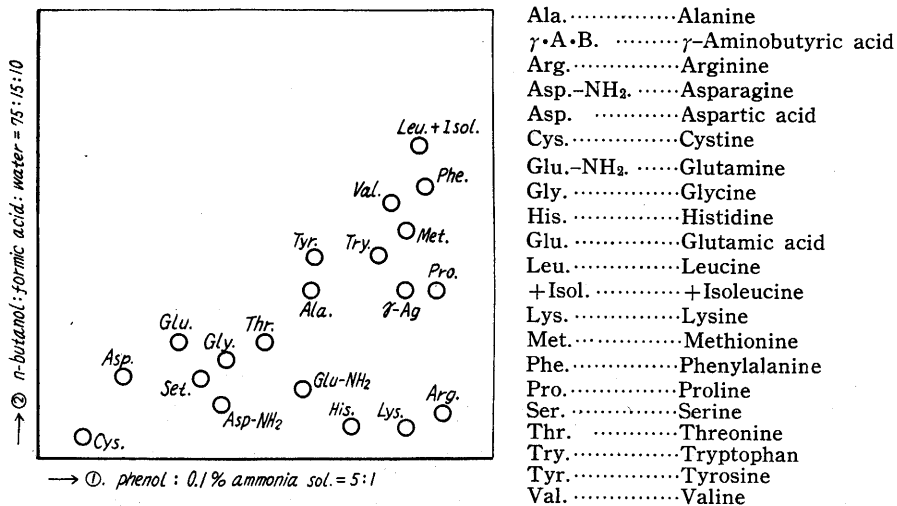
凍結乾燥した蛋白質は 各々 一定量を封管中で 6 N HCl を用い 20 時間 加水分解した。これを減圧乾固した後 0.5 c.c H₂O に再溶解し 構成アミノ酸の分析に用いた。

一方 脱脂後の試料の一部は 75~80 % C₂H₅OH 溶液で くりかえし抽出し 減圧濃縮後 0.5 c.c H₂O に再溶解して 遊離アミノ酸の分析に用いた。

C. Paper Chromatography

濾紙は すべて 東洋濾紙 No. 50 を使用し、展開溶媒には Phenol: water (0.1% ammonia) = 5 : 1 (8-hydroxyquinolin 添加) と n-Butanol: formic acid: water = 75 : 15 : 10 を用いた。

検出試薬としては 通常 Ninhydrin reagent (BERRY & CAIN 1949; 0.2 % ninhydrin, water-saturated butanol) を用い、二次元クロマトと同時に展開された一次元クロマトに対しては Isatin reagent (0.2 % isatin, butanol containing 4 % of acetic acid), Pauly's reagent (BLOCK 1951, BOLLING 1949; 1 % sulfanilamide in 10 % HCl, 5 % NaNO₂, half-saturated NaCO₃), Ehrlich's reagent (BLOCK & BOLLING 1951; 1 % p-dimethylaminoben-



第5図 アミノ酸の標準展開図
Fig. 5. Two-dimensional chromatogram of amino acids.

zaldehyde in 1 N HCl) を用いた。

アミノ酸の同定は 検討して作成した 標準展開図 (第5図参照) によった。

D. 顕微鏡観察

受精後の成熟過程について 胚の形成を中心に 顕微鏡観察をおこなった。採取後の新鮮な材料は ただちに Navashin 溶液 (1% chromic acid - acetic acid, formalin) および Flemming 溶液 (1% chromic acid - acetic acid, 2% osmic acid) で固定した。

III. 研 究 成 果

1). マツ類の種子蛋白質について

マツ類の種子蛋白質の研究は ほとんどない*。したがって マツ類種子の成熟 ならびに発芽過程に関する筆者の研究成果をのべるにさきだち、マツ類種子の蛋白質について筆者の研究によつてえられた知見を 本項で概説することにする。

クロマツ、アカマツの成熟した種子の蛋白質構成**は 第2表中の No. 7 に示すとおりである。両種は 極めて類似した蛋白質構成を示し、共通した特色は *Glutelin* の含有量が高いことである。従来 2, 3 の例外をのぞき *Glutelin* が存在するときには *Prolamin* も同時に存在するとされていたが、本実験に供した クロマツ、アカマツでは、いずれも *Prolamin* が痕跡、もしくは、皆無であつた。また *Glutelin* の含有量が多い蛋白質構成で、*Glutelin* が *Albumin* より 少ないことも、上記の結果とあわせて、マツ類の種子の蛋白質構成の特徴であると思われる。

クロマツ、アカマツを通じ、胚、胚乳それぞれの蛋白質構成は、第3表中の No. 1 に示されたとおりである。これによると *Glutelin*, *Globulin* の大部分 (*Glutelin* 98% 弱, *Globulin* 97% 強) が 胚乳に存在することがわかる。このことは 発芽初期に必要な栄養物質が 比較的安定な形の蛋白質として 胚乳に貯蔵されていることを示すものである。

一方、*Albumin* は胚の全蛋白質の 80 % 以上を占めている。しかし 胚に高率で含有されるとはいえ、その含有量は 種子全体に含まれる *Albumin* の 28 % 強で 胚乳にも相当量含有されている。

このような種子蛋白質の含有量を 従来の研究成績と比較するには 抽出、分別方法の相違、または 種子の種類とか その成熟環境による蛋白質含有量の相違、さらに 各区分の比率が 全蛋白質とともに変化するということなどを考慮に入れる必要がある。同様の考慮は 本報告の数値比較のさいにも 念頭におかなければならない。

* BROHULT, S. and SANDEGREN, E.; *The proteins II*, 487, 1955, Danielsson, C. E.; *Ann. Rev. Plant Physiol* 7, 215. 1956 などの綜説を参照。

** 各蛋白質区分の含有比率を意味する。

第2表 成熟過程の各蛋白質の変化
Table 2. Changes of fractions in the ripening process.

ク ロ マ ッ (*P. Thunbergii*)

Sample number and date of seed collection (Weight for 100 seeds)	No. 1	No. 2	No. 4	No. 6	No. 7
	June. 15	July. 15	August. 14	September. 12	October. 14
Albumin fraction mg	12.7	11.8	63.9	105.3	51.2
Rates for dry matter %	46.0	8.4	9.9	9.3	5.1
Globulin fraction mg	0.6	—	5.8	29.3	33.6
Rates for dry matter %	2.1	—	0.9	2.6	3.4
Glutelin fraction mg	5.8	16.9	74.2	180.2	182.6
Rates for dry matter %	20.9	12.1	11.5	15.9	18.3
Total protein mg	69.0	28.7	143.8	314.8	267.4
Rates for dry matter %	19.0	20.5	22.3	27.8	26.7
Albumin/Total protein %	66.7	41.0	44.4	33.5	19.1
Globulin/Total protein %	3.0	—	4.0	9.3	12.6
Glutelin/Total protein %	30.3	58.8	51.6	57.2	68.3
Albumin/Globulin	—	—	11.1	3.6	1.6
Glutelin/Albumin	0.5	1.4	1.2	1.7	3.6

ア カ マ ッ (*P. densiflora*)

Sample number and date of seed collection (Weight for 100 seeds)	No. 1	No. 2	No. 4	No. 6	No. 7
	June. 15	July. 15	August. 14	September. 12	October. 14
Albumin fraction mg	15.8	12.9	28.3	25.2	47.9
Rates for dry matter %	67.7	12.6	5.9	4.3	8.1
Globulin fraction mg	—	0.5	2.4	23.9	33.6
Rates for dry matter %	—	0.5	0.5	4.1	5.7
Glutelin fraction mg	0.8	9.0	62.5	125.8	140.2
Rates for dry matter %	3.2	8.8	13.0	21.3	23.7
Total protein mg	16.5	22.4	93.1	174.9	221.7
Rates for dry matter %	70.9	21.8	19.4	29.9	37.5
Albumin/Total protein %	95.5	57.6	30.4	14.4	21.6
Globulin/Total protein %	—	2.0	2.6	13.6	15.1
Glutelin/Total protein %	4.5	40.4	67.1	71.9	63.3
Albumin/Globulin	—	—	11.7	1.1	1.4
Glutelin/Albumin	0.1	0.7	2.2	5.0	2.9

成熟した種子の各蛋白質のアミノ酸組成は概して Arginine, Glutamic acid, Lencine Proline, Tyrosine の含有量が多く, Aspartic acid が比較的少ない。Gystine, Glycine, Histidine, Lysine の含有量も少ない。

胚乳に含まれる蛋白質は 概して Arginine, Leucine の含有量が多く, Glycine が著るしく微量である。

種間では アカマツにおいて Serine の含有量が少ないこと以外には 大差が認められな

第3表 発芽過程の各蛋白質の変化
Table 3. Changes of fractions during the germination period.

クロマツの胚 (Embryo of <i>P.Thunbergii</i>)						
Sample number (days)	No. 1	No. 4	No. 6	No. 7	No. 8	
(Weight for 100 seeds)	0	9	16	23	29	
Albumin fraction mg	19.7	23.7	31.2	73.6	86.3	
Rates for dry matter %	21.3	22.9	26.1	25.7	17.9	
Globulin fraction mg	0.7	0.7	0.9	2.0	5.2	
Rates for dry matter %	0.7	0.7	0.7	0.7	1.1	
Glutelin fraction mg	3.4	3.5	5.2	12.0	49.5	
Rates for dry matter %	3.6	3.4	4.4	4.2	10.3	
Total proteins mg	23.7	27.8	37.3	87.6	141.0	
Rates for dry matter %	25.6	26.9	31.2	30.6	29.3	
Albumin/Total proteins %	83.0	85.0	83.6	84.0	16.2	
Globulin/Total proteins %	2.8	2.5	2.3	2.3	3.7	
Glutein/Total proteins %	14.2	12.5	14.1	13.7	35.1	
Albumin/Globulin	—	—	—	—	—	
Glutelin/Albumin	0.2	0.2	0.2	0.2	0.6	

クロマツの胚乳 (Endosperm of <i>P. Thunbergii</i>)						
Sample number (days)	No. 1	No. 4	No. 6	No. 7	No. 8	
(Weight for 100 seeds)	0	9	16	23	29	
Albumin fraction mg	49.9	50.0	41.1	22.3	7.3	
Rates for dry matter %	7.2	7.3	6.9	5.1	3.1	
Globulin fraction mg	27.0	26.8	26.2	27.2	1.2	
Rates for dry matter %	3.9	3.9	4.4	6.2	0.5	
Glutelin fraction mg	159.9	153.3	74.9	19.8	5.9	
Rates for dry matter %	22.9	22.4	12.7	4.5	2.5	
Total protein mg	236.8	230.1	142.2	69.2	14.3	
Rates for dry matter %	33.9	33.6	24.0	15.8	6.1	
Albumin/Total protein %	21.1	21.7	28.9	32.2	50.7	
Globulin/Total protein %	11.4	11.7	18.5	39.2	8.2	
Glutelin/Tatal protein %	67.5	66.6	52.7	28.6	41.2	
Albumin/Globulin	1.9	1.9	1.6	0.8	6.2	
Glutelin/Albumin	3.2	3.1	1.8	0.9	0.8	

つた。

2). 成熟過程における蛋白質および遊離アミノ酸の変遷について

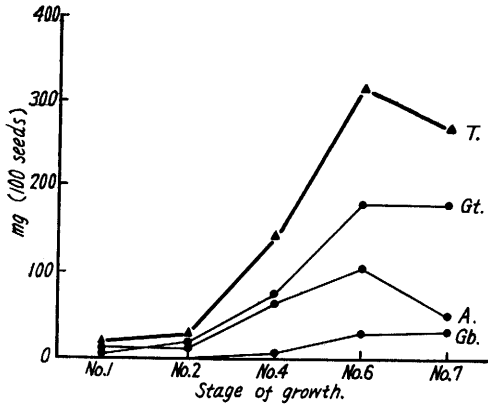
A. 種子蛋白質の変遷

a) 総蛋白質

総蛋白質は 第 6, 7 図の示すように、胚形成とともに 急激に形成され、その生成率* は

* (Rate of synthesis). 一定時間に形成される蛋白質質量。各蛋白質について図示してある。(筆者の場合は mg/day として示してある)。

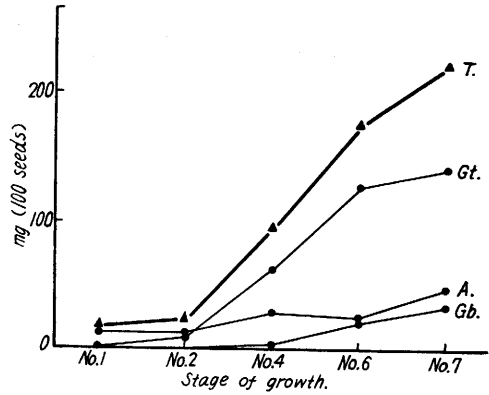
クロマツ (*P. Thunbergii*)



第 6 図 成熟過程の種子蛋白質の変遷
Fig. 6. Changes of seed proteins in the ripening process.

T : Total protein
Gt : Glutelin
A : Albumin
Gb : Globulin

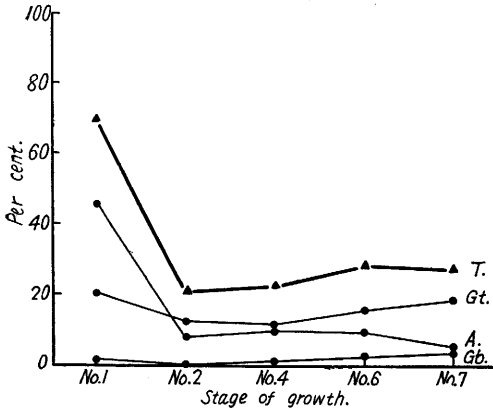
アカマツ (*P. densiflora*)



第 7 図 成熟過程の種子蛋白質の変遷
Fig. 7. Changes of seed proteins in the ripening process.

T : Total protein
Gt : Glutelin
A : Albumin
Gb : Globulin

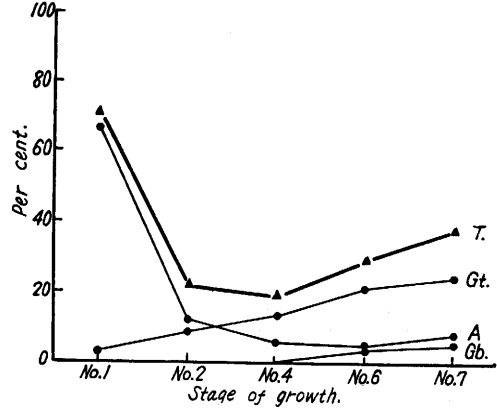
クロマツ (*P. Thunbergii*)



第 8 図 成熟過程における種子の乾物量に対する種子蛋白質の比率
Fig. 8. Rates of protein to dry matter of seed in the ripening process.

T : Total protein
Gt : Glutelin
A : Albumin
Gb : Globulin

アカマツ (*P. densiflora*)



第 9 図 成熟過程における種子の乾物量に対する種子蛋白質の比率
Fig. 9. Rates of protein to dry matter of seed in the ripening process

T : Total protein
Gt : Glutelin
A : Albumin
Gb : Globulin

No. 4 ~ No. 6 で最大である。

一方、総蛋白質の乾物量に対する比率は 第 8, 9 図の示すように 初期に最も高く、のち著るしく減少し、ふたたび終期に若干増大している。No. 1 は受精前の試料で、No. 2 は受精後の試料であるから、受精前に蛋白質が 構成物質の主要部分を占めることが指摘できる。

第4表 Albumin のアミノ酸組成
Table 4. Amino acid composition of albumin in the ripening process

Sample number Amino acid	<i>Pinus Thunbergii</i>				<i>Pinus densiflora</i>			
	No. 1 6.15	No. 4 8.14	No. 6 9.12	No. 7 10.14	No. 1 6.15	No. 4 8.14	No. 6 9.12	No. 7 10.14
Alanine	—	++	++	++	++	++	++	++
Arginine	—	+++	++	+++	—	+++	+++	++
Aspartic acid	—	++	+	+	+++	++	+	+
Cystine	—	+	—	[+]	+	+	—	—
Glutamic acid	—	++	+++	+++	++	+++	+++	+++
Glycine	—	+	+	[+]	+	+	+	+
Histidine	—	+	+	+	+	+	+	+
Leucine (+Isol.)	—	++	++	++	+	++	++	++
Lysine	—	+	[+]	+	—	+	[+]	+
Phenylalanine	—	[+]	—	[+]	—	—	—	—
Proline	—	+	+	+	—	+	+	+
Serine	—	+	+	++	+++	++	+	+
Threonine	—	[+]	[+]	+	[+]	[+]	[+]	[+]
Tyrosine	—	+	+	++	[+]	+	++	+
Valine	—	+	+	+	+	+	+	+
unknown. A	—	+	—	—	[+]	+	[+]	—

- (注) 1. 符号は相対的濃度を示すように配慮した。[]印は稀薄でも識別認定できるもの。unknown A. は Methionine と想定される。これらのことはアミノ酸組成表すべてに適用される。
2. 酸分解による分析では Tryptophan を認定できない。
3. *P. Thunbergii* No. 1 は試料の関係で良好な展開をえられなかった。

b). Albumin

Albumin の成熟ともなう変化は 第 6, 7 図に示すように、クロマツの場合には 胚形成とともに増大し No. 6 で最高を示した。したがって その生成率は 第 10 図に示すように、No. 2~No. 6 で高い値を示した。一方、アカマツでは ほぼ直線的な漸増の傾向を示し その変化量は少なかった。

Albumin は 受精前には 主要蛋白質であるが(第2表参照)その生成量の僅少であることから 乾物量に対する比率は 第 8, 9 図に示すように、胚発生とともに 著るしく減少し 胚形成とともに 2次的なものになることが認められた。

Albumin のアミノ酸組成は 第4表にみられるように、受精前後において 著るしい変化を示した。受精前では Arginine, Proline は検出できず、Tyrosine も微量であつた。一方、Serine, Aspartic acid が多量に検出された。受精後では 受精前と比較して Arginine, Glutamic acid, Leucine, Lysine, Proline, Tyrosine などが増大し、Serine, Aspartic acid が減少した。受精後の Albumin は Arginine, Serine が若干多いこと以外は 成熟後と相違は認められなかった。

c). Globulin

第 5 表 Globulin の アミノ酸組成
Table 5. Amino acid composition of globulin in the ripening process

Sample number Amino acid	<i>Pinus Thunbergii</i>			<i>Pinus densiflora</i>		
	No. 4 8. 15	No. 6 9. 12	No. 7 10. 14	No. 4 8. 14	No. 6 9. 12	NN. 7 10. 14
Alanine	+	+	++	—	++	++
Arginine	++++	++	++	—	+++	+++
Aspartic acid	+	+	+	—	+	+
Cystine	—	—	—	—	—	—
Glutamic acid	+++	++	+++	—	+++	+++
Glycine	+	+	[+]	—	+	+
Histidine	+	+	[+]	—	+	+
Leucine (+Isol.)	++	+	++	—	+	++
Lysine	[+]	—	+	—	—	+
Phenylalanine	[+]	—	[+]	—	—	—
Proline	++	—	—	—	+	+
Serine	+	+	++	—	+	+
Threonine	[+]	[+]	[+]	—	[+]	[+]
Tyrosine	+	+	+	—	++	++
Valine	+	+	+	—	+	+
unknown. A	—	—	—	—	[+]	—

(注) *P. densiflora* No. 4 は試料が少なく、良好な結果がえられなかった。

Globulin は 胚形成と平行して形成された。その生成率は 第 11 図のように 胚の形態的完成時に最高を示した。しかし含有量のもつとも少ない蛋白質で 成熟した種子で 総蛋白質の 12~15 %であった。

Globulin の形成は 胚形成と密接な関連があり、その生成率 あるいは 総蛋白質に対する比率に Albumin と反対の傾向が認められた。そのアミノ酸組成は 第 5 表でわかるように、定性的に 変化が認められなかった。これは胚発生後に生成される蛋白質が 成熟後と 類似した組成であることを示すものと考えられる。

d). Glutelin

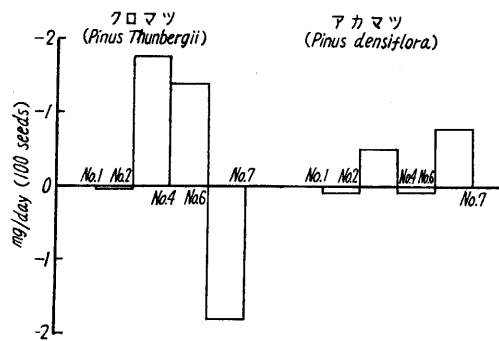
Glutelin は 第 6, 7 図の示すように 受精前には ごく微量であったが、胚発生とともに急激に形成された。しかし 終期には 生成が低減している。生成率は 第 12 図の示すように 胚の形態的に完成する時期に最高である。この場合 アカマツは クロマツに比して 胚形成初期に 比較的高い傾向が認められた。

総蛋白質に対する比率は 胚形成過程で ほぼ一定の値 (60—70 %) を示し、この過程では Glutelin が 主要蛋白質となっている。

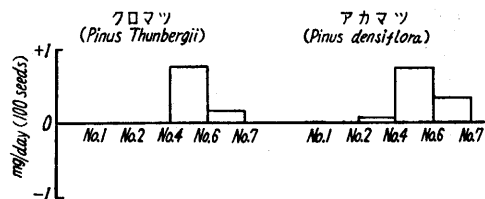
Glutelin の受精前のアミノ酸組成を 第 6 表でみると、Arginine, Lysine, Phenylalanine が 検出されず、Leucine, Tyrosine, Valine が少なく、Aspartic acid, Serine が多量に含まれている。これらの事実は受精後のものと著しく対照的である。

第 6 表 Glutelin のアミノ酸組成
Table 6. Amino acid composition of glutelin in the ripening process

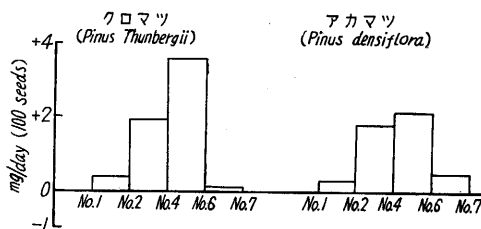
Sample number Amino acid	<i>Pinus Thunbergii</i>				<i>Pinus densiflora</i>			
	No. 1 6. 15	No. 4 8. 14	No. 6 9. 12	No. 7 10. 14	No. 1 6. 15	No. 4 8. 14	No. 6 9. 12	No. 7 10. 14
Alanine	++	++	++	++	++	++	++	++
Arginine	[+]	+++	++	+++	—	++	+++	+++
Aspartic acid	++	+	+	+	++	+	+	+
Cystine	[+]	—	—	[+]	[+]	—	—	—
Glutamic acid	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
Glycine	++	+	+	[+]	++	++	+	+
Histidine	[+]	[+]	+	+	+	+	+	+
Leucine (Isol.)	+	+++	++	+++	+	++	++	++
Lysine	—	[+]	+	[+]	—	+	+	+
Phenylalanine	[+]	+	+	+	[+]	+	+	+
Proline	+	+	+	++	+	+	+	+
Serine	++	+	+	++	++	++	+	+
Threonine	+	+	+	[+]	+	+	+	+
Tyrosine	[+]	++	+	++	+	++	++	++
Valine	+	+	+	++	+	++	++	++
unknown. A	—	—	—	—	—	+	[+]	—



第 10 図 Albumin の生成率
Fig. 10. Synthesis of albumin. in the ripening process



第 11 図 Globulin の生成率
Fig. 11. Synthesis of globulin in the ripening process



第 12 図 Glutelin の生成率
Fig. 12. Synthesis of glutelin in the ripening process

受精後の種子の成熟過程では アミノ酸組成上の差異は認められなかつた。

B. 遊離アミノ酸の変遷

a) 受精期の変遷

受精期の遊離アミノ酸の変化は 第 7 表に示すとおりである。この時期に次のような変化が

第7表 受精期の遊離アミノ酸
Table 7. Free amino acids during the fertilization period

Sample number Amino acid	<i>Pinus Thunbergii</i>			<i>Pinus densiflora</i>		
	No. 1 6.14	No. 2 7.15	No. 3 8.8	No. 1 6.14	No. 2 7.15	No. 3 8.8
Alanine	++	+++	++	++	+++	++
γ -Aminobutyric acid	+++	+++	+	+++	+++	+++
Arginine	+++	++	—	[+]	++	—
Asparagine	—	[+]	[+]	[+]	+	+++
Aspartic acid	+	+	+	+	+	+
Cystine (or Cystein)	—	—	+	—	—	+
Glutamic acid	[+]	+	+++	—	+	++
Glutamine	+	+	+++	+	+	+
Glycine	+	—	+	+	—	+
Histidine	+	—	+	+	—	+
Leucine (+Isol.)	+	+	+	+	+	+
Lysine	[+]	+	[+]	[+]	[+]	[+]
Phenylalanine	—	—	—	—	—	—
Proline	[+]	[+]	+	[+]	[+]	+
Serine	+	+	+	+	+	+
Threonine	[+]	[+]	[+]	[+]	+	+
Tryptophan	[+]	—	—	[+]	—	+
Tyrosine	[+]	+	+	[+]	+	+
Valine	+	+	+	+	+	+
unknown B	—	—	—	—	—	—

(注) unknown B は Arginine の上 (① 0.90—② 0.17) で現在検討中である。以下のアミノ酸組成表の unknown B はこれと同様である。

注目された。

Arginine はクロマツ、アカマツともに、この時期に多量に出現し、胚発生とともにその存在が確認できなくなつたが、この傾向はクロマツの種子で、一層明確に認められた。

一方、amide は受精期に わずかに存在するが、胚発生にともなつて急激に形成された。しかもクロマツの種子では Glutamine として、アカマツの種子では Asparagine の形でおもに形成された。

Glutamic acid は胚発生とともに多量に検出された。この傾向はクロマツの種子で顕著に認められた。これに対して γ -Aminobutyric acid はクロマツの種子で胚発生とともに減少する傾向が認められた。アカマツの種子では常に多量に存在し、かかる傾向は認められなかつた。

b). 胚発生後の変遷

i) 胚における変化

胚発生後の胚の遊離アミノ酸の変化は第8, 9表に示すとおりである。成熟過程の種子の胚

第 8 表 成熟過程におけるクロマツの胚の遊離アミノ酸
Table 8. Free amino acids of embryo (*P. Thunbergii*) in the ripening process

Sample number	No. 3 8. 8	No. 4 8. 23	No. 5 9. 7	No. 6 9. 22	No. 7 10. 6	No. 8 10. 16
Alanine	++	++	++	+	+	++
γ -Aminobutyric acid	+	++	++	+	+	++
Arginine	—	—	—	+++	+++	+++
Asparagine	—	—	[+]	++	+	+
Aspartic acid	+	+	+	+	+	[+]
Cystine (or Cystein)	[+]	+	—	++	+	+
Glutamic acid	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Glutamine	++	++	+	++	+	+
Glycine	[+]	+	+	+	+	+
Histidine	—	—	—	—	—	—
Leucine (+Isol.)	+	+	[+]	[+]	+	—
Lysine	—	—	—	—	—	—
Phenylalanine	—	—	—	—	—	—
Proline	[+]	+	—	—	—	—
Serine	+	+	+	+	+	+
Treonine	—	—	[+]	—	—	[+]
Tryptophan	—	—	—	—*	—*	—*
Tyrosine	—	[+]	—	—	[+]	—
Valine	+	+	+	+	+	+
unknown B	—	—	—	—	—	—

* ; Ehrlich's reagent による検定をおこなっていない。

では 次のように変化が注目された。

胚発生とともに 消失した Arginine は No. 5 まで 検出できなかつたが, No. 6 以後 急激に生成され多量に存在することが認められた。Asparagine も クロマツの種子では Arginine と同様の傾向を示したが, アカマツの種子では No. 4 ~ No. 5 に 一時的な減少を示した。この一時的な減少は Tyrosine にも認められた。しかし クロマツの種子では 一時的な減少傾向は認められず, また Tyrosine も成熟過程でほとんど検出できなかつた。Cystine も クロマツの種子では Arginine, Asparagine と類似の傾向を示した。

一方 Proline は No. 5 以後 検出できなかつた。これは アカマツの種子で 一層明確であつた。

胚では クロマツ, アカマツともに Glutamic acid, Glutamine, γ -Aminobutyric acid, Alanine が常に比較的多量に検出されたが γ -Aminobutyric acid は アカマツの種子に, Glutamine は クロマツの種子に 多量に認められた。

ii) 胚乳における変化

胚発生後の胚乳の遊離アミノ酸の変化は 第 10, 11 表に示すとおりである。

第 9 表 成熟過程における アカマツの胚の遊離アミノ酸
Table 9. Free amino acids of embryo. (*P. densiflora*) in the ripening Process.

Sample number Amino acid	No. 3 8. 8	No. 4 8. 23	No. 5 9. 7	No. 6 9. 22	No. 7 10. 6
Alanine	+++	+	+	++	++
γ -Aminobutyric acid	+++	+++	+++	++	++
Arginine	—	—	—	+++	++
Asparagine	++	[+]	+	++	+
Aspartic acid	—	+	—	[+]	[+]
Cystine (or Cystein)	+	+	—	+	+
Glutamic acid	+	++	++	+++	+++
Glutamine	+	+	[+]	+	+
Glycine	+	+	+	+	+
Histidine	+	—	—	—	—
Leucine (+Isol.)	+	+	+	+	[+]
Lysine	—	—	—	[+]	—
Phenylalanine	—	—	—	—	—
Proline	++	+	—	—	—
Serine	+	+	+	+	+
Threonine	+	+	—	[+]	[+]
Tryptophan	—	—	—	—*	—*
Tyrosine	++	+	[+]	+	+
Valine	+	+	+	+	[+]
unknown B	—	—	—	—	—

* ; Ehrlich's reagent による検定をおこなっていない。

γ -Aminobutyric acid は アカマツの種子では No. 6 以後 急激に減少し 極めて微量になつた。クロマツの種子でも類似の傾向が認められたが、減少は No. 7 以後に認められた。Proline にも 同様の傾向が示された。Glutamine にも類似の傾向が指摘できるが、アカマツの種子ではそれが明確でなかつた。Asparagine は アカマツの種子では No. 4 に 一時的減少を示し、No. 6 に多量に検出されたが、クロマツの種子では 成熟にともなつて増大し、No. 7 以後 減少する傾向を示した。

Arginine は アカマツの種子では No. 5 まで検出できないが、No. 6 以後顕著に形成された。一方 クロマツの種子では No. 6 に 一時的に確認された。アカマツの種子では 類似の傾向を Tyrosine にも認めることができた。

Glutamic acid, Alanine は 全過程を通じて 胚乳に 常に比較的多量に存在した。

C). 考 察

a) 受精と種子蛋白質の変遷

種子の成熟過程を 受精期と 胚発生後の成熟過程とに区分して検討を加えることにする。

第10表 成熟過程における クロマツの胚乳の遊離アミノ酸
 Table 10. Free amino acids of endosperm (*P. Thumbergii*) in the ripening process

Sample number Amino acid	No. 3 8. 8	No. 4 8. 23	No. 5 9. 7	No. 6 9. 22	No. 7 10. 6	No. 8 10. 16
Alanine	++	++	++	++	++	+++
γ -Aminobutyric acid	+	++	++	++	+	[+]
Arginine	—	—	—	++	—	[+]
Asparagine	[+]	+	++	++	+	+
Aspartic acid	+	+	+	+	+	[+]
Cystine (or Cystein)	+	—	—	+	—	—
Glutamic acid	++	+++	+++	+++	+++	+++
Glutamine	+++	++	++	++	+	+
Glycine	+	+	+	+	+	+
Histidine	+	—	—	—	—	—
Leucine (+Isol.)	+	++	+	+	+	++
Lysine	[+]	—	—	—	—	—
Phenylalanine	—	—	—	—	—	+
Proline	+	++	+	++	—	+
Serine	+	+	+	+	+	+
Threonine	[+]	+	[+]	—	—	+
Tryptoyhan	—	—	—	—*	—*	—*
Tyrosine	+	+	[+]	[+]	—	++
Valine	+	+	+	+	+	++
unknown B	—	[+]	—	—	—	[+]

* ; Ehrlich's reagent による検定をおこなっていない。

まず 受精現象と種子蛋白質の変遷であるが、Phot. 1, 2, 3 は 受精から胚発達初期の種子（雌性配偶体）の形態的変化を示したものである。これらの写真を比較検討すると Phot. 1 にかんがりの空隙にみえる部分と 2つの蔵卵器が存在する。Phot. 2 に 明確に区分された3つの膜状部分と胚発生が認められる。この写真は Phot. 1, Phot. 3 と比較対照することによって、初期の胚発達の過程を示すものと考えられる。したがって 受精は No. 1 と No. 2 の間におこなわれたものとするのが至当のように思われる。

このような形態的変化にともなつて、受精期（No. 2）に 急激な水分吸収が認められた。（第 1, 2 図参照）この水分吸収の現象は 発芽過程の初期に胚乳でおこる水分吸収に類似した傾向と思われ、一定の水分吸収が 胎頭する物質変換にとって不可欠の要素であることを示したものと見える。

種子蛋白質は この時期にも、極めて僅かであるが増大している。蛋白質の全構成物質に対する比率が この時期に急激に減少し、あたかも蛋白質の減少を示すかのごとくであるが、（第 8, 9 図参照）この激減の現象は 受精前の種子（配偶体）には他の物質に比して、蛋白質が極めて高率に含有されていたのに、（第 2 表参照）受精後は膜状物質の形成など、（Phot 2, 3 参照）非蛋白性物

第11表 成熟過程における アカマツの胚乳の遊離アミノ酸
 Table 11. Free amino acids of endosperm (*P. densiflora*) in the ripening process

Sample number Amino acid	No. 3 8.8	No. 4 8.23	No. 5 9.7	No. 6 9.22	No. 7 10.6
Alanine	++	++	+	++	++
γ -Aminobutyric acid	+++	+++	+++	[+]	[+]
Arginine	—	—	—	+++	+++
Asparagine	+++	+	++	+++	++
Aspartic acid	+	+	—	+	—
Cystine (or Cystein)	+	—	—	+	—
Glutamic acid	++	+++	+++	+++	+++
Glutamine	+	++	[+]	+	+
Glycine	+	+	+	+	+
Histidine	+	—	—	—	—
Leucine (+Isol.)	+	+	+	+	+
Lysine	[+]	—	—	+	—
Phenylalanine	—	—	—	—	—
Proline	+	++	+	—	—
Serine	+	+	+	+	+
Threonine	+	—	—	+	[+]
Tryptophan	+	—	—	—*	—*
Tyrosine	+	—	—	++	++
Valine	+	+	+	+	+
unknown B	—	—	—	+	—

* ; Ehrlich's reagent による検定をおこなっていない。

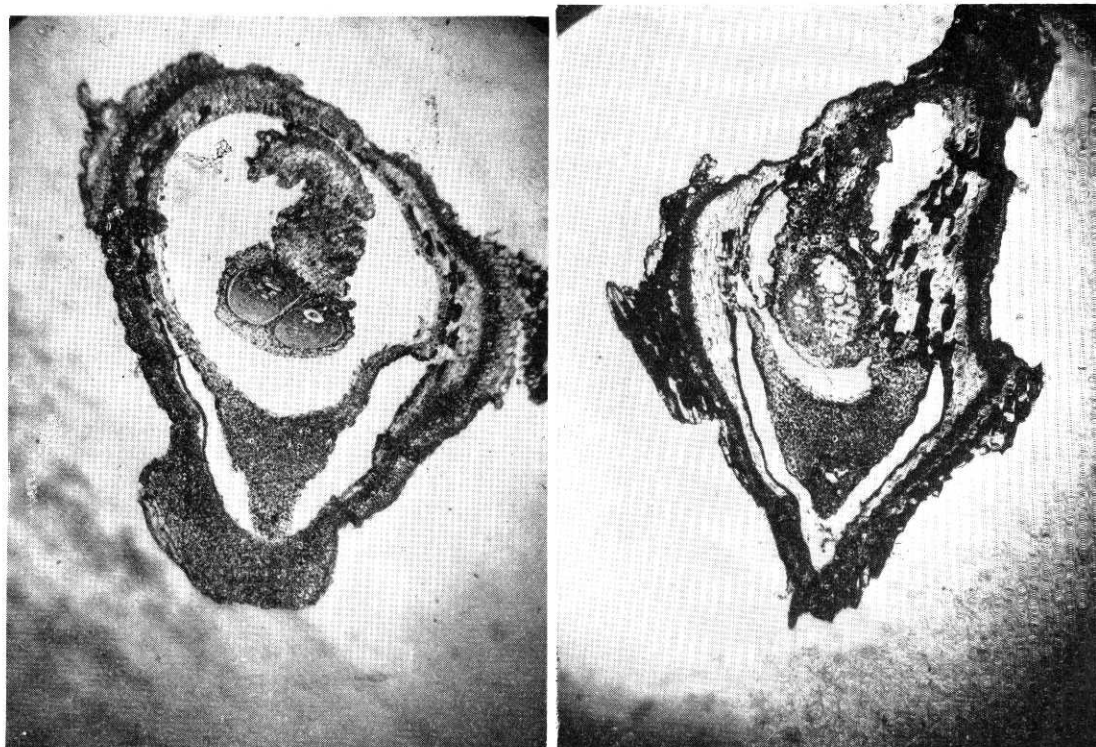
質が増加したためにおこつたので、蛋白質量そのものは僅少ではあるが増大しているのである。

一方 受精前の蛋白質構成をみると、Albumin が多量に含有され、成熟した種子の蛋白質構成とまったく異なっている。さらに 受精から胚発達初期への時期の蛋白質の変化をみると、Albumin が主体となっていた蛋白質構成が Glutelin を中心にした貯蔵蛋白質の堆積に移行しつつあることがわかる。この変化は Albumin の生成が 成熟過程を通じて 極めて低率であるのに、(第 10 図参照)* 胚発生とともに Glutelin の形成がはじまるためである。

この時期の蛋白質 (特に Albumin) のアミノ酸組成は 胚発生後の蛋白質のアミノ酸組成と 顕著に相違している。この変化は 受精 ならびに 胚発生という生理的变化にもなつておこつたものと考えられる。同様の現象は 発芽過程における 種子と幼植物に含有される Albumin の間にも認められる。

アミノ酸組成の変化は 前項 (III, A) に述べたように、Arginine を中心とする塩基性アミ

* ; BISHOP, L. R. 1930; The proteins of barley during development and storage and in the mature grain. J. Inst. Brewing 36. 336.; DANIELSSON, C. E. 1952; A contribution to the study of the synthesis of the reserve proteins in ripening pea seeds. Acta. chem. Scand. 6, 149. などはずでにこの事実を認めている。



a

b

Microscopic observation in the ripening process.

Phot. 1. Sample No. 1

a; *P. Thumbergii* b; *P. densiflora*

ノ酸の離脱と Aspartic acid, Serine, (Glycine) などの増大によつて特徴づけられる。

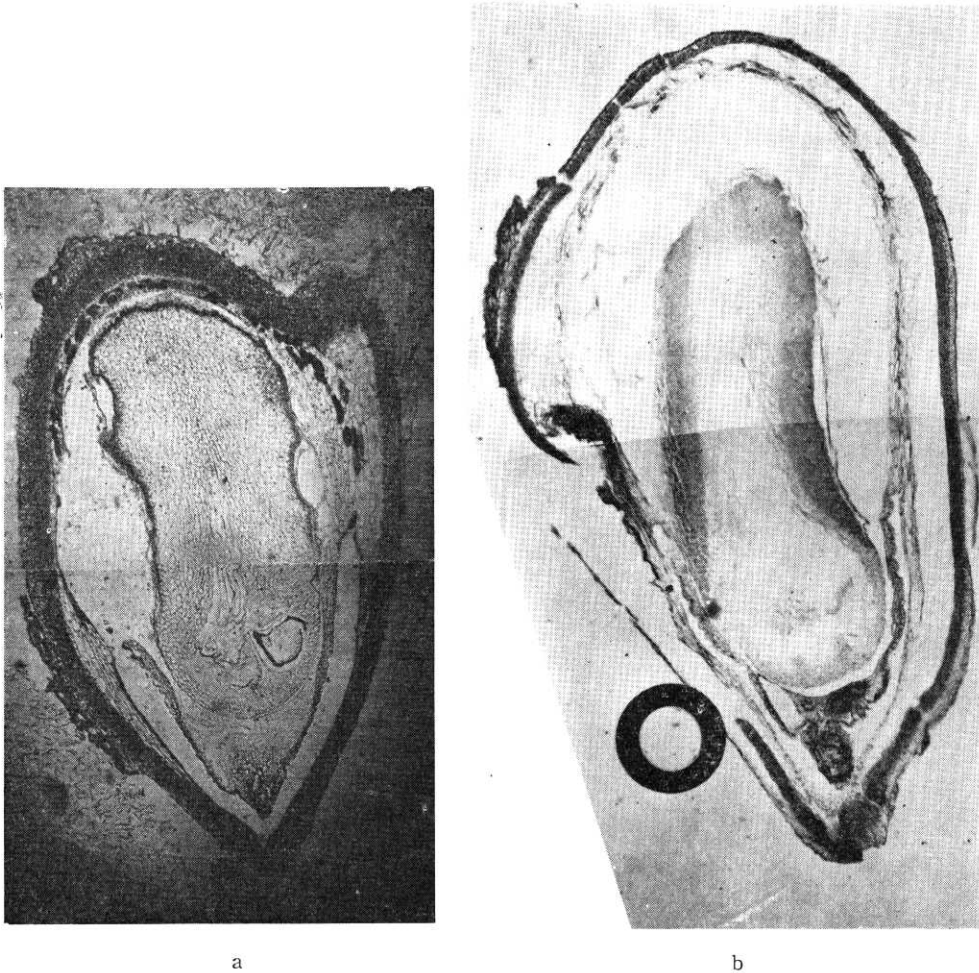
このような蛋白質のアミノ酸組成の変化にともなつて、遊離状態のアミノ酸に興味深い変化が認められた。それは 受精期に多量の Arginine が検出され、胚発生とともに amide の形成が確認されたことである。

遊離状態にある Arginine の出現、消失の現象は 蛋白質を構成する Arginine の上述の変化と密接に関連している。同様の現象が 胚の形態的に完成する時期 あるいは 胚から幼植物への生育過程で認められる。このことから蛋白質内へ あるいは 遊離状態への Arginine の移行が 生理的变化にともなつておこるものと考えられる。

また amide の形成は それが胚発達と並行していることから、蛋白態への窒素移行に一種の中間体として作用をもつものと考えられる。

b) 胚の形態的発達と種子蛋白質の変遷

Phot. 3, 4, 5 は 胚の形態的発達を示したものである。これらの写真を比較検討すると Phot. 5 で 胚は形態的に完成していると考えられる。Phot. 4 までの形態的発達は 極めて著

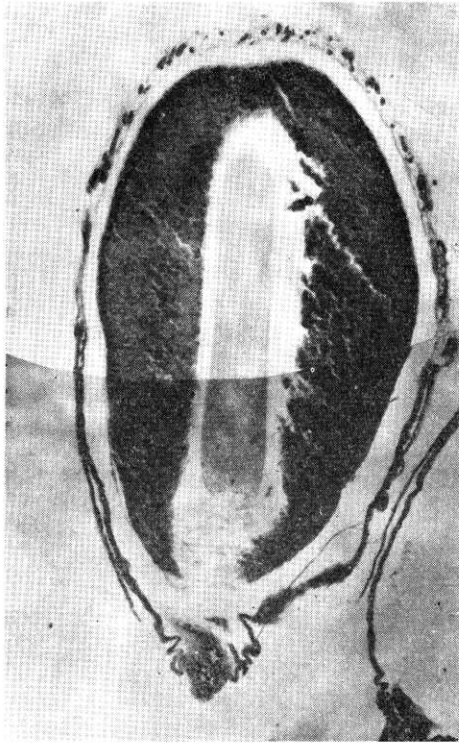


a
b
Microscopic observation in the ripening process.
Phot. 2. Sample No. 2
a; *P. Thunbergii* b; *P. densiflora*

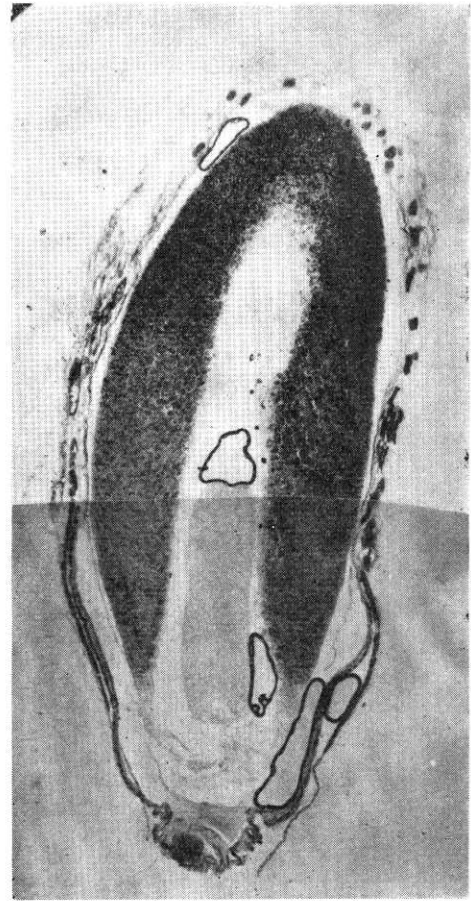
るしく、これにともなつて 水分量の減少* と 急激な物質形成が認められる。(第 1, 2 図参照)

種子蛋白質は 胚の形態的発達にともなつて 急速に形成された。しかし 著るしい物質形成を示す胚発達初期に総蛋白質の全構成物質に対する比率がほぼ一定か いくぶん低減する現象は (第 8, 9 図参照) 急速な細胞分裂とそれにとまなう非蛋白性物質の形成が 蛋白質の生成を凌駕していることによるためである。この蛋白質の生成傾向は 低次の窒素化合物の蛋白質への変換が 細胞分裂が主体となるこの時期には 急速におこなわれなことを示していると考えられ

*; 水分量の減少については、郷正士, 平松遙, 1955; タネのうれかたと発芽・東大演報 48,103 が詳細な実験をおこなつている。



a



b

Microscopic observation in the ripening process.

Phot. 3. Sample No. 3

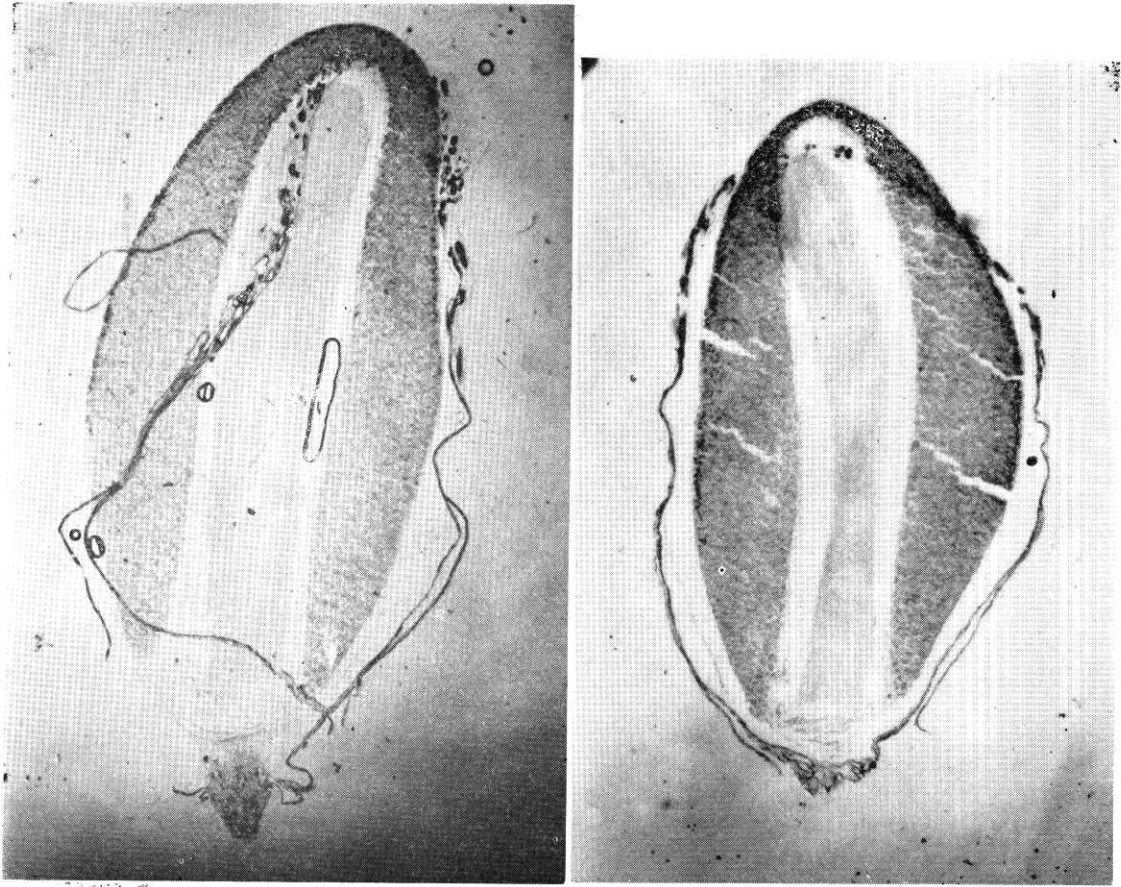
a; *P. Thumbergii* b; *P. densiflora*

る*。

胚の形成にともなう蛋白質構成の変化は Glutelin, Globulin の形成が中心になつている。Glutelin の生成傾向は 種間において異なるが、胚発達にともなつて急速に形成されること、また その生成率の最大の点が 胚の形態的完成時にあること、さらに 成熟後 総蛋白質の 60~70 %を示すことなどは クロマツ、アカマツに共通の傾向である。

Glutelin とともに 貯蔵蛋白質とみなされる Globulin の形成も 胚の形態的完成時に 最高の生成率を示した。したがつて 胚の形態的発達の過程は 比較的安定な蛋白質の形成が中心になつていると考えられる。

*; HYDE, T. G. 1954.; Nitrogen metabolism in *Pisum sativa*. Proc. Roy. Soc. [B] 65, (20) 299.
の研究結果もこの事実を示しているものと思われる。



a

b

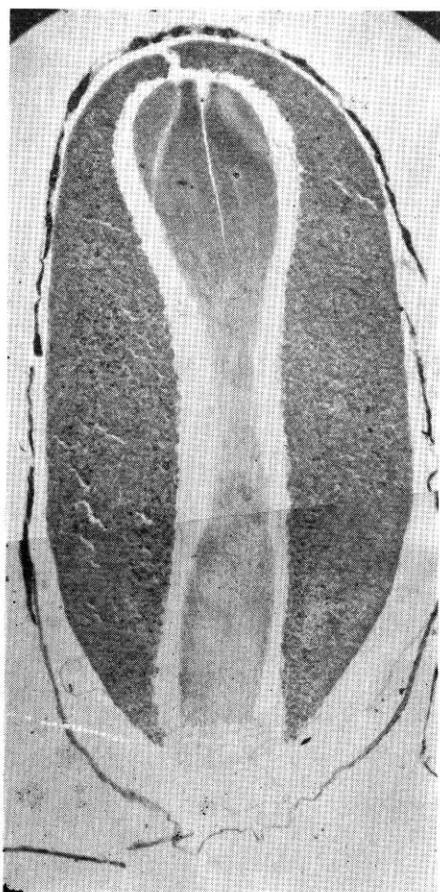
Microscopic observation in the ripening process.

Phot. 4. Sample No. 4

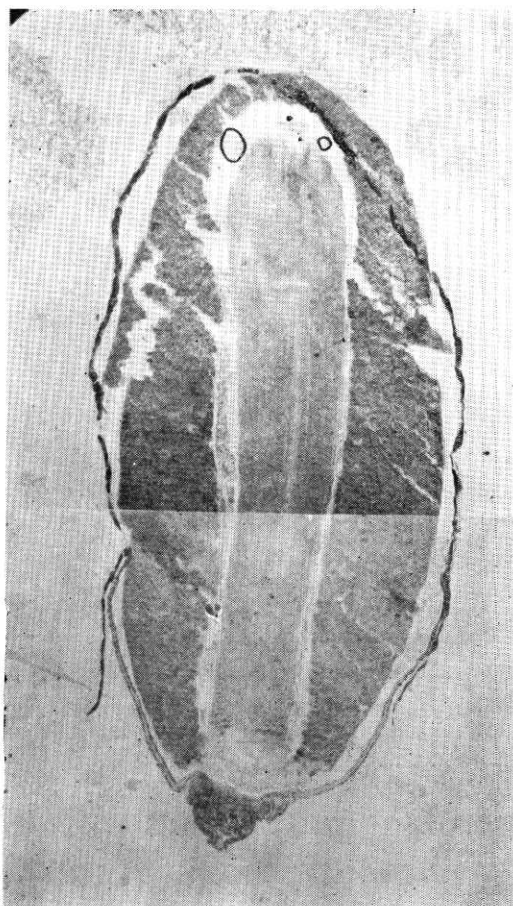
a; *P. Thunbergii* b; *P. densiflora*

この過程で生成される蛋白質のアミノ酸組成が成熟後と近似した組成を示すことも 上記の事実に関連して興味深い。

一方 遊離アミノ酸では 胚が形態的に完成される時期に 著るしい変化が認められた。まず遊離の Arginine であるが、この時期に 胚に激増している。このことは 受精後 胚発生にともなつて 遊離 Arginine が急激に減少した事実と全く相反している。蛋白質内の Arginine はこのさいに、減少の傾向を示している。この減少率は著るしいものではないが、蛋白質量が大きいことから考えれば 減少した蛋白質内の Arginine の量はそれほど少ないものとは考えられない。そこで Arginine の生体内での移行が 前にも述べたように、(c, a) 項) 生理的変化にともなつておこなわれ、生理的に重要な意味をもつものと考えられる。



a



b

Microscopic observation in the ripening Process.

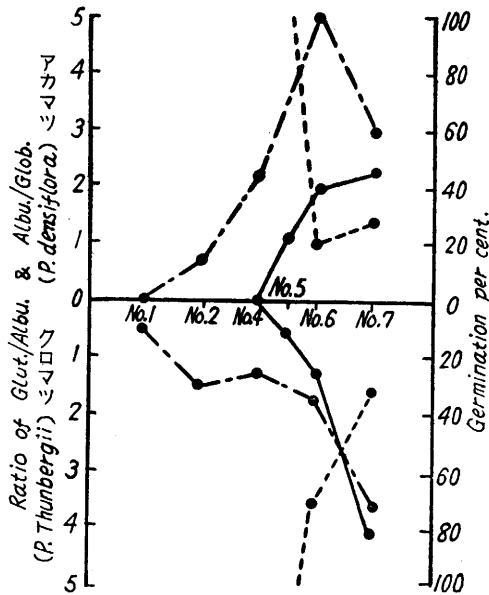
Phot. 5. Sample No. 5

a; *P. Thunbergii* b; *P. densiflora*

また この時期に 胚乳で amide, Proline, γ -Aminobutyric acid などを中心にして、遊離アミノ酸が急速に減少したが、これは 胚乳で 貯蔵蛋白質の堆積がおこなわれることを示しているものと考えられる。この場合の amide 消失の傾向は 胚発達初期の amide 形成と関連した一連の現象で、蛋白態への窒素移行と考えられる*。胚発達初期の比較的低率の蛋白質形成、また胚の形態的に完成される時期にみられる急速な蛋白質の堆積、さらに この時期に発生する発芽力の種間における差異などが、ある程度 amide の形成、消失によつて示されると思われる。

amide は 主として クロマツでは Glutamine として、アカマツでは Asparagine として

* ; HATANO, K; 1955: Freie Aminosäuren in den reifenden Gingo-Samen. J. Jap. Forestry Soc. 37-12. 527. は Asparagine の週期的出現の事実を記載している。



第13図 発芽と種子蛋白質
Fig. 13. Germination and deposition of reserve protein in the ripening process

- 発芽率 germination percent
- - - - - Glutelin/Albumin
- Albumin/Globulin

発芽が比較的安定な形で堆積される貯蔵物質の一定の含有量と関係することは明らかである。したがって 胚の形態的に完成する時期までの Glutelin を中心とする貯蔵蛋白質の形成が発芽力の発生と密接に関連するものと考えられる。Glutelin, Globulin の含有量 あるいは Glutelin, Globulin の水溶性蛋白質に対する比率 (第 13 図参照) などは、それが一定の値に達した時に発芽力が発生することをよく示している。したがって 比較的未熟の段階でも ある程度の発芽力を示すこと ならびに 成熟にともなう種間での発芽率の相違などは 上述の結果から説明できると思われる。

また 胚の形態的に完成する時期にみられる遊離アミノ酸の変化が 貯蔵蛋白質の堆積に関連していることから、遊離アミノ酸の変化からも 発芽力の発生 あるいは 成熟にともなう種間での発芽率の相違などを 知ることができる。

一定の貯蔵蛋白質の堆積は 上述のように、発芽力の発生と密接に関連しているが、未熟な種子の一定の貯蔵が発芽勢を増大させる現象は 未熟な段階で採取された種子でも 一定の条件をあたえ 一定の日時を経過させると 自然の状態で成熟させた場合と同様に、比較的安定な形の

形成される。このことは 受精期 および 胚の形成の過程で ともに明確に認められた。

種子は 9月中旬に 形態的に完成するが、発芽力の発生は 9月初めに すでに認められること*、また 形態的に完成しても 発芽勢は 高くないこと**が注目された。(第 13 図参照) さらに 未熟な段階では 置床後 相当日数を 経過してから発芽する傾向があり、また 未熟な種子のある程度の貯蔵は 発芽勢を増大させる傾向がある**。本実験の場合には 9月中旬まで アカマツの種子が クロマツの種子より 発芽率は高かったが 10月中旬に この関係は 逆になった。

このような種子の発芽力の発生にともなう 種子蛋白質の変遷であるが、種子の発芽力の

*; 従来、胚の形態 および 胚乳内の空間占有度 あるいは 胚、胚乳の充実度などによって種子の完成をみているが、その完全な完成時をまたずに、発芽力は十分に認められる。

**; 郷正士, 平松遙, 1955.: 前掲書にも この事実が記載されている。

蛋白質への生体内での変換がおこることを示しているものと考えられる。

3) 発芽過程における蛋白質および遊離アミノ酸の変遷について

発芽過程では、クロマツを実験試料に用いた。アカマツは 剝皮などの前処理が煩雑であること および 抽出、分別に十分な試料をうる事が困難であることから、これをのぞいた。

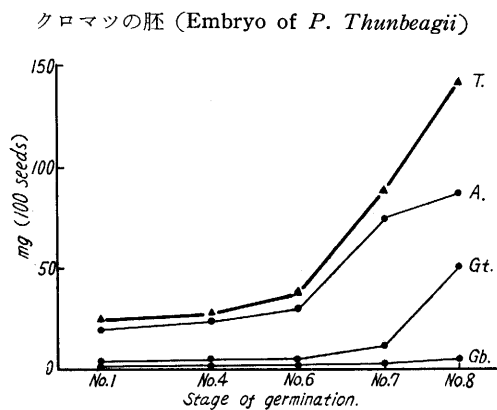
A. 種子蛋白質の変遷

a). 胚の種子蛋白質

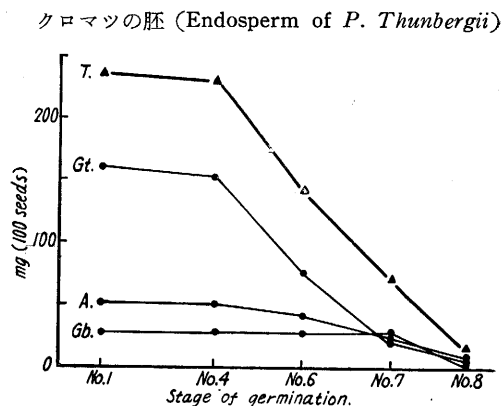
i) 総蛋白質

発芽過程にある種子の胚の総蛋白質は 第 14 図に示すように 発芽ともなつて著しく増大した。蛋白質形成は生育する胚における物質形成ともなうので 乾物量に対する比率は 発芽過程を通じて ほぼ一定の値 (25~30%) を示している。

種子全体の総蛋白質は 初期に ほぼ一定の値を示し、発芽後減少し、のち再び一定の値を示した。(第 3 表参照) 発芽後に認められた減少は 胚乳における分解と 胚における再合成ともなわないことに起因し、後期の一定の蛋白質含有量は 分解、合成過程の平行していることにもとづくと考えられた。



第 14 図 発芽過程の種子蛋白質の変遷
Fig. 14. Changes of seed proteins during the germination period
T : Total protein
Gt : Glutelin
A : Albumin
Gb : Globulin



第 15 図 発芽過程の種子蛋白質の変遷
Fig. 15. Changes of seed proteins during the germination period
T : Total protein
Gt : Glutelin
A : Albumin
Gb : Globulin

ii) Albumin

胚の Albumin の胚の総蛋白質に対する比率は No. 7 まで 80%以上の高率を示した。これは 発芽過程の種子の胚では Albumin が主要蛋白質であることを示している。

胚の Albumin は 第 14 図に示すように 発芽過程を通じて増大する。No. 1~No. 6 および No. 7 以後で 漸増の傾向を示した。生成率は 第 16 図に示すように No. 6~No. 7

で最大を示した。

胚の Albumin のアミノ酸組成は第 12 表に示すように 幼植物において Arginine, Glycine, Tyrosine などの減少, 特に 塩基性アミノ酸群の離脱が目された。このアミノ酸組成の変化は受精期の変化と類似した傾向である。

iii) Glutelin

Glutelin は 成熟した種子の胚で 極めて微量にしか存在しなかった。しかし 第 14 図に示すように 幼植物で 急激に形成された。これは 蛋白質の再合成が幼植物では, Glutelin の形をとることを示している。

胚の Glutelin の生成と 胚乳の Glutelin の分解とを考えると 第 17 図に示すように, 明らかに 分解された形 (Non-protein nitrogen compounds) で残存することが考えられる。

胚 および 幼植物の Glutelin のアミノ酸組成は 第 13 表に示すごとく 類似の構成状態を示した。

b) 胚乳の種子蛋白質

i) 総蛋白質

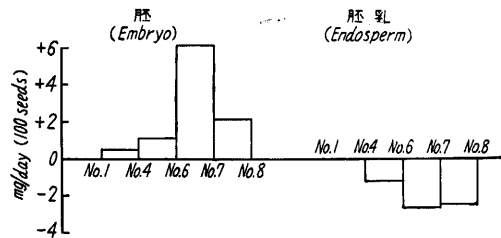
胚乳の総蛋白質は 第 15 図に示すように, 発芽後 急激に減少した。特に No. 4~No. 6 でその分解は最大を示した。蛋白質の分解は比較的初期におこなわれた。これは 発芽過程の進展とともに減少する乾物量の傾向と明らかに異なっていた。

ii) Albumin

胚乳の Albumin は 第 15 図に示すように, 発芽後 減少する傾向を示した。その分解は第 16 図に示す如く, No. 6~No. 8 に高い比率を示した。この Albumin の変化は 第 3 表に

第 12 表 Albumin のアミノ酸組成
Table 12. Amino acid composition of albumin during the germination period

Sample number Amino acid	Embryo		Endosperm	
	No. 1	No. 8	No. 1	No. 8
Alanine	++	++	++	++
Arginine	++	[+]	+++	++
Aspartic acid	+	+	+	+
Cystine	+	—	—	[+]
Glutamic acid	+++	+++	+++	+++
Glycine	+	[+]	—	[+]
Histidine	+	+	+	+
Leucine (Isol.)	++	++	++	++
Lysine	+	+	+	[+]
Phenylalanine	[+]	[+]	[+]	[+]
Proline	+	[+]	++	+
Serine	++	++	++	++
Threonine	+	[+]	[+]	[+]
Tyrosine	++	[+]	+	+
Valine	+	++	+	++
unknown A.	[+]	[+]	[+]	[+]



第 16 図 Albumin の分解と再合成
Fig. 16. Break down and resynthesis of albumin during the germination period

第13表 Glutelin のアミノ酸組成
Table 13. Amino acid composition of glutelin
during the germination period

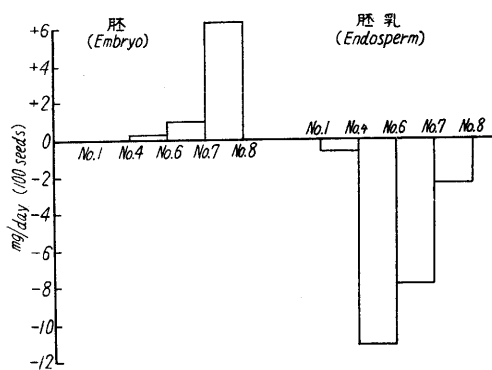
Sample number	Embryo		Endosperm	
	No. 1	No. 8	No. 1	No. 8
Amino acid				
Alanine	++	++	++	++
Arginine	++	++	++	++
Aspartic acid	+	+	+	++
Cystine	—	—	[+]	—
Glutamic acid	+++	+++	+++	+++
Glycine	+	+	[+]	++
Histidine	+	[+]	+	[+]
Leucine (+Isol.)	++	++	+++	++
Lysine	+	+	[+]	+
Phenylalanine	[+]	+	[+]	[+]
Proline	++	++	++	+
Serine	++	++	++	++
Threonine	+	+	[+]	[+]
Tyrosine	++	+	++	+
Valine	+	++	++	+
unknown A	[+]	[+]	[+]	[+]

示すように、胚乳の総蛋白質に対する比率の増大をもたらした。

胚乳残部 (No. 8) に存在する Albumin のアミノ酸組成は 第12表のように、種子の胚乳に存在する Albumin と類似した構成を示した。

iii) Globulin

胚乳の Globulin は第15図に示すように、No. 7までほぼ一定の値を示した。しかし No. 8でその大部分が分解された。No. 7では各蛋白質がほぼ等量であることから、この時期には分解の難易あるいは分解条件などに関係せず分解が進行する



第17図 Glutelinの分解と再合成
Fig. 17. Break down and resynthesis of glutelin during the germination period

ものと考えられた。

この分解の形と Globulin が胚あるいは幼植物でその存在および形成が僅かであることから、発芽過程では貯蔵蛋白質としてあるいは幼植物形成に重要な蛋白質とみることはできない。

胚乳残部の Globulin のアミノ酸組成は第14表に示すように、種子中のものと次の様な相違が認められた。すなわち Arginine を中心とする塩基性アミノ酸群の離脱、Leucine, Proline, Serine, Tyrosine など

の主要な構成アミノ酸の減少と、Glycine の増大である。

iv) Glutelin

胚乳の総蛋白質の 68 %弱を占める Glutelin は第15図に示すように、発芽後急激に減少した。その分解率は第17図に示すように、No. 4～No. 6で最大を示した。また胚乳の Glutelin の 96 %強が発芽過程で分解された。

一方胚乳の総蛋白質に対する Glutelin の含有比率は第3表にみられるように、発芽とと

もに 低減した。これは Glutelin の分解が他の蛋白質に比して 急激におこなわれることを示している。

胚乳残部の Glutelin のアミノ酸組成は 第 13 表に示すように、種子の胚乳の Glutelin と比較して 次のような相違が認められた。すなわち Glycine, Aspartic acid, などの増大と Leucine, Valine, Proline, Tyrosine などの減少である。

B. 遊離アミノ酸の変遷

本項では クロマツとともに バイマツ (*Pinus palstris*) も試

料に用いた*。これは 発芽 および 幼植物形成のさいの遊離アミノ酸の変化を 5 葉松類においてもとらえようとしたからである**。

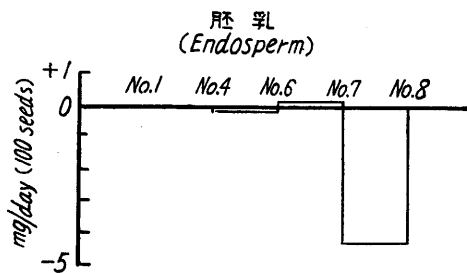
a) 胚における変遷

胚から幼植物への生育過程で 遊離アミノ酸は 第 15 表 ならびに 第 16 表に示すように変化した。

γ -Aminobutyric acid は 置床後まもなく 著るしく増大し、発芽後 減少する傾向を示した。Glutamic acid も No. 2 で増大し 以後減少した。このような発芽後減少する傾向は ハイマツの種子でも明確に認められた。また 置床後ただちに 遊離アミノ酸が多量に出現する傾向は 胚、胚乳ともに認められた。

第 14 表 Globulin のアミノ酸組成
Table 14. Amino acid composition of globulin during the germination period

Sample number	Embryo		Endosperm	
	No. 1	No. 8	No. 1	No. 8
Amino acid				
Alanine	++	++	++	++
Aarginine	+++	[+]	++++	++
Aspartic acid	+	++	+	+
Cystine	[+]	—	—	[+]
Glutamic acid	+++	+++	+++	+++
Glycine	+	++	—	++
Histidine	+	[+]	+	[+]
Leucine (+Isol.)	++	++	+++	+
Lysine	[+]	[+]	+	[+]
Phenylalanine	[+]	[+]	[+]	[+]
Proline	+	[+]	++	[+]
Serine	++	+	++	+
Threonine	[+]	+	+	[+]
Tyrosine	++	+	++	+
Valine	+	++	+	+
unknown A	[+]	[+]	[+]	[+]



第 18 図 Globulin の分解
Fig. 18. Break down of globulin during the germination period

*; 試料に用いたハイマツは 北海道帯広営林局管内で採取されたものである。約 60 日の低温処理(0°C 湿润)をし、各試料の発芽後置床日数などは 次のとおりである。Sample No. 1: 成熟した種子, No. 2: 発芽(メキリ), No. 3: 発芽後 5 日, 幼根長 5~7mm, No. 4: 発芽後 10 日, 幼根長 10~14mm, No. 5: 発芽後 25 日, 幼植物の形成, No. 6: 発芽後 30 日, 胚乳の脱落。なお 発芽床にはペトリ皿に適度の水を含んだ脱脂綿をしいたものを用い、25°C で実験した。

**; 本項では クロマツを中心に論述する。

第15表 発芽過程における クロマツの胚の遊離アミノ酸
 Table 15. Free amino acids of embryo (*P. Thunbergii*) during the germination period

Sample number	No. 1 0	No. 2 2	No. 3 7	No. 4 9	No. 5 12	No. 6 16	No. 7 23	No. 8 29
Amino acid								
Alanine	+	+++	+	+	+++	+++	++	++
γ -Aminobutyric acid	[+]	+++	+++	+++	++	++	+	[+]
Arginine	++	++	+++	+++	—	—	—	—
Asparagine	—	—	+	++	+	++	+++	+++
Aspartic acid	+	—	+	—	[+]	++	++	+
Cystine (or Cystein)	+	+	+	+	[+]	—	—	—
Glutamic acid	++	+++	+	++	+	+	+	+
Glutamine	—	[+]	+	++	++	+	++	++
Glycine	—	—	+	+	—	—	—	—
Histidine	—	—	—	+	+	+	+	+
Leucine (+Isol)	—	+	+	+	+	++	+	+
Lysine	—	—	—	—	—	—	—	—
Phenylalanine	—	—	—	—	—	—	—	+
Proline	—	—	—	[+]	—	[+]	+	—
Serine	[+]	+	+	+	[+]	+	+	+
Threonine	—	—	[+]	+	—	—	—	—
Tryptophan	—	[+]	[+]	[+]	[+]	[+]	[+]	[+]
Tyrosine	—	—	+	[+]	[+]	+	+	+
Valine	[+]	+	+	+	+	++	++	++
unkown A	—	—	—	—	—	—	—	—

amide は 発芽後 多量に存在した。特に Asparagine は No. 2 まで検出されず、発芽後著しく増大し、Glutamine より変化は明確であった。ハイマツの種子でも この傾向は認められたが、成熟した種子で Asparagine が多量に存在し、発芽のさいに検出されなかつた。クロマツの種子では Alanine も 発芽後多量に存在した。このような発芽後形成される傾向は Histidine, Tyrosine などにも認められた。

また Arginine は 発芽前に存在し のち検出されなかつたが ハイマツでは 幼植物にその存在を確認した。

b) 胚乳における変遷

発芽過程にある種子の胚乳における 遊離アミノ酸の変化は 第17表 および 第18表に示す通りである。

Alanine, Leucine, Valine は 発芽時に 急激に増大し、以後減少する傾向を示した。また γ -Aminobutyric acid は No. 2 に、Glutamic acid は No. 2~No. 6 に、Proline は No. 4~No. 6 に多量に存在し、以後減少した。このような発芽時を中心に多量に出現し、以後減少する傾向は ハイマツの種子においても 明確に認められた。

一方 Glutamine は No. 5 以後 比較的少量に存在した。また Tyrosine は No.1~No. 2

第16表 発芽過程における ハイマツの胚の遊離アミノ酸
 Table 16. Free amino acids of embryo (*P. Palustris*) during the germination period

Sample number	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6
Amino acid						
Alanine	+	+	++	++	+	+
γ -Aminobutyric acid	[+]	+++	++	++	+	+
Arginine	+	—	—	—	—	++
Asparagine	+++	—	+	++	++	+++
Aspartic acid	+	—	+	+	+	+
Cystine (or Cystein)	+	—	—	—	—	—
Glutamic acid	++	+	+	+	+	+
Glutamine	—	++	++	+++	+++	+++
Glycine	—	—	+	[+]	—	[+]
Histidine	—	+	+	+	+	+
Leucine (+Isol.)	—	+	[+]	+	+	+
Lysine	—	—	—	—	—	—
Phenylalanine	—	—	—	—	—	—
Proline	—	—	—	—	—	[+]
Serine	+	—	+	+	+	+
Threonine	—	—	—	—	—	[+]
Tryptophan	—	[+]	—	—	—	+
Tyrosine	[+]	—	—	+	—	[+]
Valine	—	+	+	+	+	+
unknowh A	—	—	—	—	—	—

に検出されず、No. 4 以後 多量に存在した。

Asparagine, Histidine は発芽後 存在を確認したが、Arginine, Cystine は 発芽前に 存在を確認した。しかし ハイマツでは Arginine は 発芽後に認められた。

C. 考 察

a) 発芽と種子蛋白質の変遷

種子の発芽の現象は 種子蛋白質の変遷を中心に考えると、貯蔵器官における 蛋白質の分解と、生長器官における 蛋白質の再合成との まったく異なる 2つの過程に分けられる。ここでは 主に 前者の分解過程を中心に検討を加えることにする。

発芽とともに種子蛋白質の変化をみると、胚乳では 発芽とともに Glutelin の分解が急速におこなわれる。この Glutelin の分解は 発芽直後に最大であり、また 発芽過程を通じて 総蛋白質に対しても、全構成物質に対しても その含有比率が低減することから、(第3表参照) Glutelin が貯蔵蛋白質として 発芽とともに 分解、利用されるものと考えられる。

これに反して Glutelin の分解とまったく傾向を異にする Albumin, Globulin の変化が認められる。Albumin は 発芽ともなつて しいに減少するが、Albumin の総蛋白質に対す

第17表 発芽過程における クロマツの胚乳の遊離アミノ酸
 Table 17. Free amino acids of endosperm (*P. Thunbergii*) during
 the germination period

Sample unnumbered days	No. 1 0	No. 2 2	No. 3 7	No. 4 9	No. 5 12	No. 6 16	No. 7 23	No. 8 29
Alanine	+	+++	++	+++	+++	++	+	+
γ -Aminobutyric acid	[+]	++	++	+	+	+	[+]	[+]
Arginine	++	++	++	++	—	—	—	—
Asparagine	—	—	[+]	+	+	+	+	[+]
Aspartic acid	+	—	[+]	—	+	+	+	+
Cystine (or Cystein)	+	+	—	—	—	—	—	—
Glutamic acid	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+
Glutamine	—	+	+	+	++	++	++	++
Glycine	—	+	[+]	+	+	+	+	+
Histidine	—	—	—	+	+	+	+	+
Leucine (+Isol.)	—	+	+	+++	++	++	+	+
Lysine	—	—	—	—	—	—	—	—
Phenylalanine	—	—	—	—	—	—	—	+
Proline	—	—	+	++	+	++	[+]	—
Serine	[+]	+	+	+	+	+	+	+
Threonine	—	—	[+]	+	—	—	—	—
Tryptophan	+	+	+	+	[+]	[+]	[+]	[+]
Tyrosine	—	—	+	++	++	++	++	+
Valine	[+]	+	+	+++	++	++	+	+
unknown A	—	—	—	—	—	—	—	—

る比率は 増大の傾向を示している*。(第3表参照) この現象は **Glutelin** の急速な消失に比較して, **Albumin** の分解比率が低いためで, 胚乳に含有される **Albumin** が 貯蔵蛋白質として直接 分解され, 幼植物形成のために移行するものではないことを示しているものと考えられる。

また 胚乳残部の **Albumin** のアミノ酸組成が種子の胚乳に含有されているものと 近似していることも, 上記の事実に関連して 興味深く, 注目される。

Globulin は No. 7 まで その含有量がほぼ一定であるが, 胚乳残部で その大部分が分解されるという特異な分解形を示している。(第15図参照) この最終の分解は **Globulin** が他の蛋白質とほぼ等量であり, また 蛋白質の全量が少ないことから, すべての蛋白質に分解がおよぶものと考えられる。幼植物で その存在, 形成が微量であることから, 発芽過程では 重要な意味をもつ貯蔵蛋白質とは考えられない。

胚乳残部における **Glutelin**, **Globulin** のアミノ酸組成には **Arginine**, **Leucine**, **Proline**, **Tyrosine** (**Valine**, **Serine**) などが減少し, **Glycine**, (**Aspartic acid**) が増大するという現

*; DANIELSSON, C. E. 1951; The breakdown of the high molecular reserve proteins of pea during germination. Acta. Chem. Scand. 5. 541. の結果からも同一の事実が指摘できる。

第18表 発芽過程における ハイマツの胚乳の遊離アミノ酸
 Table 18. Free amino acids of endosperm (*P. Palustris*) during the germination period

Sample number	No. 1	No. 1	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6
Amino acid						
Alanine	+	+++	+++	+++	++	+++
γ -Aminobutyric acid	—	+	++	+	++	++
Arginine	—	—	—	—	++	[+]
Asparagine	+	[+]	++	+	+	+
Aspartic acid	[+]	+	++	++	+	+
Cystine (or Cystein)	—	—	—	—	—	—
Glutamic acid	—	++	+++	++	++	+
Glutamine	—	++	+++	++	+	+
Glycine	[+]	+	++	+	+	+
Histidine	—	+	+	+	+	+
Leucine (+Isol)	—	++	+	+	+	+
Lysine	—	—	—	—	—	—
Phenylalanine	—	—	[+]	[+]	+	—
Proline	—	+	+	++	+	+
Serine	[+]	+	+	+	+	+
Threonine	—	—	—	—	—	+
Tryprophan	—	[+]	[+]	+	—	+
Tyrosine	[+]	++	++	++	+	+
Valine	—	++	+	+	+	+
unknown A	—	—	—	—	—	—

象が認められた。受精から胚発達初期にかけて、Arginineが増大し、Aspartic acid, Glycineなどが減少するというアミノ酸組成の変化が認められたが、この場合には上述のように、それとまったく逆の変化がみられる。これは蛋白質を構成するArginineが生理的变化に応じて容易に離脱することをよく示しているものと思われる。さらに胚乳残部のアミノ酸組成の変化には種子蛋白質の主要構成アミノ酸の離脱がみとめられ、胚乳で蛋白質の激しい分解がおこなわれることを示している。

蛋白質が同一の溶解性を示してもそのアミノ酸組成には上述のように著しい変化がある。このことは溶解性にもとづく分別方法を採用する場合に、他の方法を用いた再検討が必要であることを示していると思われる。また既往の研究にみられるように生理的变化のおこらない一定条件下で種子蛋白質のアミノ酸組成を厳密に決定するよりも、その組成が種子のおかれた生理的条件によつてどのように変化するかを知ることが一層重要なことと考えられる。

一方遊離アミノ酸では置床後まもなく胚、胚乳ともにGlutamic acid, γ -Aminobutyric acid, Alanineなどが多量に出現した。ところがこの時期には胚で細胞分裂が認められ、種子内ですでに物質変換がおこっていることを示しているものと思われる。

この初期の変化につづいて 発芽 および その直後に 胚乳で 遊離アミノ酸が著るしく生成され、さらに それが急速に消失する現象が認められた。この現象は 生成されるアミノ酸の大部分が 種子蛋白質を構成する主要なアミノ酸であることから、発芽後 胚乳で 急速に蛋白質の分解がおこなわれ、また 生成されたアミノ酸が 生長器官に 急速に移行するものと考えられる。

b) 幼植物の形成と種子蛋白質の変遷

幼植物の形成にともなう種子蛋白質の変化をみると、Albumin が 胚から幼植物への生育過程で 急速に形成され、この過程を通じて総蛋白質に対して つねに 80 %以上の高率で含有されている。これは 胚から幼植物への生育過程にみられる蛋白の再合成が ほとんど Albumin 態であることを示している。

また このさいに 幼植物に含有される Albumin のアミノ酸組成は 胚に含まれる Albumin のそれと比較して、Arginine, Tyrosine などが著るしく減少している。このことは 上述の結果と関連して注目される。

幼植物への生育過程で 上述のように Albumin が多量に含有され、また そのアミノ酸組成が 変化していることは、種子蛋白質の変遷を中心にして考えれば、この過程が 受精期と類似したものであると考えられる。それは 後述のように、幼植物で Glutelin が形成され、より安定な蛋白質の形成に移行する現象が認められるからである。

幼植物では Glutelin の急速な形成が認められた*。このさい 幼植物で再合成される Glutelin のアミノ酸組成が 胚に含有される Glutelin のそれと比較して、大差が認められなかつたことは注目されてよいと思われる。

これは 胚発生後の成熟過程に形成される Glutelin と類似した傾向である。したがって 幼植物における Glutelin の再合成が その比較的安定した構造による 窒素堆積であると考えられる。

胚の遊離アミノ酸では 発芽前に Arginine が多量に出現し、発芽後に amide が形成されることが注目された。発芽前に 多量に出現した Arginine は 蛋白質内から 移行したものと考えるのが 至当のように 思われる。この遊離 Arginine の 発芽後の消失は 幼植物で生成される Glutelin と 密接に関連していると考えられる。

また amide の形成は 胚乳で 発芽後 遊離アミノ酸が急速に消失することから、再合成された蛋白質とともに、生長器官への窒素移行に介在するものと思われる。

IV. 総 括

*; BISHOP, L. R. 1929; The changes undergone by the nitrogenous constituents of barley during malting-I., J. Inst Brewing 35. 323. がすでに glutelin の再合成を認めている。

1) クロマツ, アカマツの成熟した種子に含有される蛋白質は **Glutelin, Albumin, Globulin** と **Prolamin** で, **Glutelin** が主要蛋白質であつた。 **Prolamin** は 極めて微量で, このことは従来の研究結果と著しい相違を示した。また 胚, 胚乳の分割によつて 各部分の蛋白質構成の相違が 明らかになつた。すなわち 胚では **Albumin** が, 胚乳では **Glutelin** が主要蛋白質であり, **Glutelin** と **Globulin** の大部分は 胚乳に存在した。

2) 前項の知見にもとづいて, 成熟過程における 種子蛋白質の変遷を連続的に検討し, また各蛋白質の変遷と そのアミノ酸組成の変化にもなつて, 変化 あるいは 移行する遊離窒素化合物の動向について 次のごとき結果をえた。

a) 受精前には **Albumin** が多量に含有され, 成熟した種子の蛋白質構成とまったく異なつていた。また この時期の蛋白質 (特に **Albumin**) のアミノ酸組成は 胚発生後の蛋白質のアミノ酸組成と顕著に相違していた。

アミノ酸組成の変化は **Aspartic acid, Serine** が増大し, **Arginine, Proline, Tyrosine** などが減少することである。

b) 胚発達初期に **Glutamic acid, amide** などの遊離アミノ酸が多量に形成された。また **Arginine** が 受精期に遊離状態で多量に出現し, 胚発生とともに消失し, 蛋白質のアミノ酸組成の変化と密接に関連していることが認められた。

c) 受精後の胚の形態的発達にもなつて, 受精期に微量であつた **Glutelin** の急速な形成が認められ, 胚が形態的に完成される時期にその生成率は最大を示した。同時に この時期に **Globulin** の生成が認められ, 両者の胚乳への一定の集積が 種子の発芽力の発生と関連することを確認した。

また この時期に形成される蛋白質のアミノ酸組成は 成熟後と近似したものであつた。

d) 胚の形態的に完成される時期に 胚乳では 遊離アミノ酸が急速に消失した。同時に おもに胚で 受精期とまったく相反する **Arginine** の変化が認められた。

3) 発芽過程における 種子蛋白質 ならびに 遊離アミノ酸の変化を 胚, 胚乳をさけて それぞれを検討し, 以下のごとき結果をえた。

a) 胚乳では **Glutelin** が 発芽直後に 急速に分解された。また この **Glutelin** の分解と まったく独立した **Globulin, Albumin** の変化がみられた。

胚乳残部の **Albumin** のアミノ酸組成は 種子の胚乳に含まれる **Albumin** のアミノ酸組成と近似していたが, 胚乳残部の **Glutelin, Globulin** のアミノ酸組成は 種子の胚乳に含まれるものと比較して, **Arginine, Proline, Tyrosine, Leucine, (Valine, Serine)** などが減少し, **Glycine, (Aspartic acid)** などが増大していた。

b) 発芽とともに 胚乳では 蛋白質を構成する主要なアミノ酸が 遊離状態で多量に出現し, その後急速に消失する現象が認められた。すなわち **Glutamic acid, Leucine, Valine,**

Tyrosine, Alanine, Proline, Aspartic acid, Glycine などの変化である。

c) 胚から幼植物への生育過程では Albumin が著るしく形成され、幼植物では Glutelin が再合成されるのを確認した。

このときの Albumin のアミノ酸組成は 種子の胚に含まれる Albumin のそれと 著るしく相違していたが、Glutelin のアミノ酸組成は 種子の胚に含まれるもの類似していた。Albumin のアミノ酸組成の変化は 受精期の変化に類似していた。

d) 発芽前の胚では 遊離の Arginine が多量に存在した。また 発芽後に amide が形成された。

Summary

This paper deals with the metabolism of proteins and amino acids which occurred in the seeds of Japanese pines during the period from fertilization to germination.

Results of the investigation so far are as follows:

1) The proteins found in ripe seeds of Japanese black and red pines (*Pinus Thunbergii* and *P. densiflora*) were glutelin, albumin, globulin and prolamin of which glutelin was most abundant and prolamin very scarce. This fact found by the author differs from the results hitherto obtained by other investigators. According to the author's investigation, the main protein of embryo of both pines was albumin while that of endosperm was glutelin. Most of the glutelin and globulin existed in endosperm. (cf. Tab. 2 & Tab. 3)

2) Following the above-mentioned study, the changes of proteins of seed during the ripening process as well as the changes and movement of free nitrogen compounds resulting from the change of each protein were studied and the following results were obtained:

a) Throughout the period of fertilization, albumin occupied the main part of protein of seed. On the contrary, at the beginning of embryo growth, the quantity of albumin was comparably less than that of total protein and other component substances. The reason of this fact is comprehensibly shown by the gradual increase of albumin and rapid increase of other substances including other proteins during the ripening period. (cf. Fig. 6-9)

Comparing the amino acid composition of albumin before and after fertilization, a marked difference was noticed, that is, after fertilization, aspartic acid and serine decreased while arginine, proline and tyrosine increased. (cf. Tab. 4)

b) Free amino acids such as glutamic acid and amide were formed abundantly in the period of embryo growth. The formation of amide in this case can be thought to play a role in the movement of nitrogen from lower molecule to protein-type. The appearance of abundant free-type arginine at the fertilization

period has a close connection with the change of amino acid composition of protein. (compare Tab. 4 & Tab. 7)

In this case arginine is assumed to be set free resulting from physiological changes.

c) Along with the embryo development of seed after fertilization, rapid formation of glutelin, which was very little at the beginning, was noticed. (cf. Fig. 6 & Fig. 7) At the end of embryo growth, its synthesis was most active. Globulin formation was also noticed in the latter period. (cf Fig. 11 & Fig. 12) Formation of glutelin and globulin in the endosperm was found to have a close connection with the appearance of seed germinative power.

The amino acid composition of protein formed during this period was similar to that of mature seed. (cf. Tab. 4-6)

d) At the stage of completion of embryo development, free-type arginine appeared in embryo, and at the same time, the quantity of arginine combined in the protein decreased. The change of arginine found in this stage is quite contrary to that occurred in the fertilization period. In the endosperm of this stage, free amino acids such as amide, proline and γ -aminobutyric acid, etc. decreased rapidly. The rapidity of decrease of these amino acids differed according to the difference of species. This phenomena, however, was accompanied with the difference of germinative power. (cf. Tab. 8-11)

3) The changes of the proteins and free nitrogen compounds of embryo and endosperm during the germination period were studied and following results were obtained:

a) Glutelin in the endosperm was rapidly decomposed immediately after germination, whereas, globulin was not decomposed and albumin very slowly at the same period. (cf. Fig. 15)

Although the amino acid composition of albumin in the endosperm fallen down from [seedling was similar to that of the endosperm contained in the seed, the amino acid composition of glutelin and globulin of the former case was quite different from that of the latter case, i. e., arginine, proline, tyrosine, leucine, (valine, serine) decreased and glycine, (aspartic acid) increased in both proteins at the end of germination. (cf. Tab. 13 & Tab. 14)

These phenomena shows that each protein change independently.

b) In the endosperm, at the beginning of germination, free amino acids such as glutamic acid, leucine, valine, tyrosine, alanine, proline, aspartic acid and glycine appeared abundantly. As there is no supply of nitrogen from the outside of the seed, it is clear that these free amino acids were formed by the decomposition of proteins. These amino acids disappeared rapidly in a few days. (cf. Tab. 17 & Tab. 18)

c) Albumin was rapidly formed during the period from embryo to seedling and glutelin was formed in the seedling. (cf. Fig. 14)

Although the amino acid composition of albumin in the seedling was quite

different from that of embryo contained in the seed, the amino acid composition of glutelin of the former case was similar to that of the latter case. The change of the amino acid composition of albumin during the germination period was similar to that of albumin at the fertilization period. (cf. Tab. 12 & Tab. 13)

d) Free-type arginine appeared abundantly before germination and amide was formed after germination in the embryo. (cf. Tab. 15 & Tab. 16)