

MCP によるダイコン幼苗の奇形

野津 幹雄[※]・中尾 清隆[※]・山本 昌木[※]

Mikio Nozu, Kiyotaka NAKAO and Masaki YAMAMOTO

Hypocotyl Malformation of Radish Seedlings Caused by MCP

はじめに

植物(感受体)と病原体の相互関係において、病原体が感受体細胞に侵入しなくても、病原体の産生物質が感受体細胞に影響を与える場合があり、典型的病徴を示している植物菌癭組織においても病原体が感受体細胞に侵入していないことがある¹⁾²⁾。植物がんしゅにおいても、病原体は感受体細胞に侵入しておらず³⁾⁴⁾、第二次がんしゅ組織には病原体は存在しない⁵⁾。また各種さび病⁶⁾⁷⁾や白さび病⁸⁾には病原体の吸器が形成されるが、この場合も病原体の吸器は感受体細胞の原形質と直接接触していない。マメ科植物の根瘤の場合も根瘤菌は根瘤菌包囲膜¹⁰⁾によって取り囲まれ、感受体の原形質とは直接接触していない¹¹⁾。イネ黄化萎縮病においても、病原体は感受体細胞に侵入していない¹²⁾。

植物菌癭形成機構の解明には物質面からの解析が鍵になると信じる。植物菌癭に植物ホルモンが関与しているとし、各種さび病やモモ縮葉病などで実験されているが¹³⁾¹⁴⁾¹⁵⁾、現段階では病原体が関与しないと病徴を再現させることは不可能のようである¹⁶⁾。イネ馬鹿苗病のように、病原体が植物ホルモンを産出する場合もあるが、これでは線虫や昆虫による植物組織の肥大の場合は説明が困難である。

筆者らは既知の物質による植物の組織や細胞の変化、ことに肥大組織の観察を企画した。IAA やカイネチンでキュウリやダイコンを処理したが、肥大組織を得ることができなかった。ここでは市販 MCP ソーダ塩液剤(以後 MCP とよぶ)水溶液により発芽させたハツカダイコン胚軸の奇形の観察結果を述べる。

本実験を行なうに当り有益な助言を頂いた島根大学農学部達山和紀教授に感謝の意を表する。

実験材料と方法

観察には主としてハツカダイコンを用いたが、トマト、ニンジン、キュウリ、スイカ、インゲン、ダイコン

についても発芽テストを行なった。

シャーレにろ紙を敷き、MCP ソーダ塩液剤の 0.1, 1, 10, 100ppm 水溶液を加えた。なお対照区としては水を用いた。発芽テストは25°C、常時照明下(NK式人工気象器)で行なった。胚軸が肥大したハツカダイコン幼苗は植木鉢に移植、栽培した。肥大胚軸は光顕と電顕を用いて観察した。光顕観察には70%アルコールで固定したものを用いた。電顕観察の試料はグルタルアルデヒドとオスミウム酸で二重固定し、エポンに包埋した。

結果と考察

発芽・栽培試験 発芽処理7日目、MCP 0.1ppm 処理においてはハツカダイコン胚軸の肥大は起こらず、1, 10, 100ppm において起こりやすい。図1は10ppm, 25°C, 7日目の状態を示したものである。1ppm, 10ppm では側根が伸長する場合もあるが、100ppm では側根の発育は抑制された。その他の野菜の種子、例えばトマト(大型福寿)、ニンジン(時無五寸人蔘)、キュウリ(四葉)、スイカ(緑富研号)、インゲン(つる有穂高菜豆)、ダイコン(聖護院大根、時無大根)においてもハツカダイコンと類似の胚軸の肥大を起こした。10ppm のダイコンは4日目に肥大が明らかである。特にインゲンでは MCP によって極端に胚軸が太くなる。また軸に沿っての伸長が抑制されるのもインゲンの場合に顕著であった。

ハツカダイコンの種子を24時間 MCP 処理後、MCP のないシャーレーに移しても胚軸の肥大が生じる。すなわち、種子の水分吸収と共に、24時間以内に、胚軸の肥大を起こすに充分な MCP が入っていることが推定できる。MCP の各濃度で処理7日目の幼苗において胚軸や根部に異常が生じるのに対し、子葉には肉眼的な異常は認められなかった。MCP 処理7日目のハツカダイコン幼苗を素焼鉢に移植し、ガラス室で4週間栽培し、比較した結果、100ppm の苗は発根せず、1週間以内に枯死

※ 植物病理学研究室

した。0.1ppm の苗は対照苗とほぼ同様に発育した。1ppm, 10ppm の苗（胚軸肥大幼苗）は活着するが、生育は悪かった。ハツカダイコンの色は肉眼的には差は認められなかった。

組織の異常 健全なダイコンの肥大は胚軸と幼根上部の細胞分裂や細胞体積の増大によることはいままでの間。幼苗期の根長増大は生長点末端の細胞分裂に負うところが大きい。

発芽時における MCP 処理による肥大は、細胞数の増加より、むしろ細胞体積の増大とこれに伴う細胞間隙の増大による。このような変化は胚軸の皮層において著しかった。ハツカダイコン幼苗の皮層は、ハツカダイコンが発育すると脱落する組織である。根の表皮細胞には根毛があるが、MCP 処理幼苗の根毛は無処理幼苗に比較して密度が高い。これはダイコン根部の伸長が抑制された結果であると思われる。ハツカダイコン幼苗には皮層の内側に内皮があり中心柱がある。MCP により肥大した胚軸の中心柱には特異な様相が見られる。すなわち、対照健全幼苗では1週間目には数本の側根があり、かつ光顕下で側根原基が観察できる。これに対し肥大胚軸では側根原基の相互間の間隔はほとんどない。根の伸長抑制が著しいために生じた現象のように思える。胚軸の肥大は子葉葉柄に及ぶこともあるが、子葉には組織の肥大は認められなかった。同一個体の細胞であっても細胞の形態や働きが異なっていることが想像できる。MCP はハツカダイコンの種子が発芽する前に、ハツカダイコン種子の細胞に入っていると考えられるが、子葉組織や根端組織は肥大しない。菌瘻組織の場合も限られた組織に、限られた条件で発生している。ヒマワリ胚軸に大腸菌を接種するとカルスを形成する¹⁷⁾という報告もあるが、ダイズ根瘤菌をダイズの胚軸や子葉に接種しても、肥大組織は形成されない。

電子顕微鏡による観察 図2に示すように、肥大胚軸の表皮細胞の細胞壁は外界と接する側は特に厚く、細胞壁の最外層は特に電子密度が高い。細胞の中心部には大きな液泡があり、原形質は細胞壁に密着している。原形質内にはプラスチッドは観察することができず、ミトコンドリアやゴルジ体を観察する機会が多い。肥大胚軸の中心柱の外層細胞は皮層組織や表皮が脱落した後、いわゆるダイコンの表皮になる細胞である。この細胞は図3に示すように、胚軸の表皮細胞（図2）に類似した構造であった。しかし液泡は表皮細胞に比較して小さく、原形質が多く、核はもとより、ミトコンドリア、プラスチッドなどが観察できる。これらの細胞の形態は対照幼苗の細胞の形態に類似しており、MCP による変化は認め

られなかった。

皮層細胞は胚軸組織では最大である。皮層細胞の内部の大部分は液泡で、原形質はきわめて薄い層になり、細胞壁に密着している。図4でもわかるように、原形質の層は細胞の場所により、細胞壁の厚さより薄い場合もある。このような細胞には扁平状の核が存在する。肥大胚軸であっても肥大していない部分に近い組織は緑色をおびており、ここの皮層細胞には葉緑体が存在する場合がある。皮層細胞の葉緑体は図5に示すように、澱粉が蓄積しているもの、澱粉が認められないもの（図9）などがある。葉緑体の構造は、葉緑体周辺の変化によって影響されることも考えられる。図5、左側に示されるような葉緑体もある。また皮層細胞には、観察する機会は少ないが、図7に示されるようなプラスチッドが液胞内に存在した。皮層細胞の大部分は健全であると考えられるが、まれに図5、7に示される像のように、崩壊した細胞や原形質が不明瞭な細胞があることがわかった。このように、同一組織の細胞であり、かつ隣接した細胞がかなり異なった細胞構造を示すことについては数種の菌瘻組織の超薄切片で観察したものと同ような傾向を示した。

中心柱細胞の液胞にはプラスチッド様構造（図6の右下）がしばしば観察された。一般に生細胞の液胞内に細胞内器官が存在することはなく、細胞の異常、細胞構造の崩壊が考えられる。図6、7、8のように、液胞内にプラスチッド様構造が存在する細胞は原形質部分が不明瞭である。図8の細胞ではミトコンドリアが液胞内に認められ、かつミトコンドリアが膨潤しており、原形質の構造は崩壊している。このように中心柱の細胞には変性している細胞が点在し、これが個体として充分な発育をしなかった原因の一つになるとも想像できる。

肥大胚軸の側根原基の細胞（図11）は、対照幼苗根端細胞（図10）と区別することができなかった。これらは細胞においては、液泡はほとんどなく原形質が充満した形を示した。すなわち、核は1個の仁を持ち、細胞の中心にあって、球状を呈する。核の周辺にはプロプラスチッド、ミトコンドリアなどが観察できる。これらの細胞は相互に密着しており、細胞間隙も小さく、原形質連絡もしばしば観察できる。光顕下では、肥大胚軸中心柱組織が異常であり、側根原基の細胞も異常ではなかろうかと考えた。しかし健全根端細胞と比較して相違を見出すことは困難であった。肥大胚軸の中心柱の細胞には核が数個の仁を持つ場合もあったが、この原因については今後検討したいと考える。前述したように、胚軸が肥大した場合においても、肉眼的に子葉には変化がなかった。子葉の葉緑細胞は MCP 処理した場合にも構造上の変

化はないようである (図12, 13).

MCP によるハツカダイコンの肥大胚軸について述べたが、病的な組織の肥大や組織の分化の過程をさかのぼって考えれば、感受体細胞の異常代謝が始まる。これには、植物菌瘻の場合、病原体が産生する植物ホルモンや植物にホルモンの不均衡を起こさせるような物質を病原体が産出する場合が考えられる。いずれにしろ、菌瘻形成を起因する「引き金」となる物質の確認を期待する。本実験にはホルモンの除草剤である MCP を使用したが、既知の物質によって組織が肥大すること、同一組織であるにもかかわらず隣接する細胞が相互に異なる場合があること、組織の肥大が起っているにもかかわらず細胞の基本的構造が破損しない場合が多いことなど、菌瘻組織と類似した点が認められた。今後さらに、植物組織の肥大を起因する既知の物質と細胞との関係を検討したい。

図の説明

- 図1 MCP によるハツカダイコンの肥大胚軸。
MCP 10ppm, 25°C, 発芽処理 1 週間目。 ×7400
- 図2 肥大胚軸表皮細胞。 ×7400
- 図3 肥大胚軸の中心柱周皮細胞。 ×7400
- 図4 肥大胚軸の皮層細胞。 ×12000
- 図5 肥大胚軸の皮層細胞。肥大胚軸上部は着色しており、この部分の皮層細胞にはしばしばプラスチックが観察される。ここでは、澱粉が蓄積した葉緑体、構造が不明瞭な葉緑体の例を示した。この細胞は原形質の状態から健全なものとは考えられない。 ×12000
- 図6 肥大胚軸中心柱の細胞 中心柱を縦断した超薄切片の一部である。細胞の膜構造が比較的明瞭なものとは不鮮明なものがある。図6右側の細胞の液胞には変性したプラスチックが観察される。この細胞は生きているとは考えられない。 ×6000
- 図7 肥大胚軸皮層細胞液胞内の変性プラスチック。液胞内に細胞内器官は存在しないので、この細胞は異常であることが推察できる。変性プラスチックが皮層細胞に観察される機会は少なかった。 ×18000
- 図8 中心柱細胞の変性プラスチック。
図6の右下にも示されるように、中心柱の細胞において観察される機会が多かった。図8ではミトコンドリア (M) も膨潤しており、この細胞は生きているとは考えられない。 ×8000
- 図9 肥大胚軸皮層細胞の葉緑体 ラメラ構造は少ないが、着色 (緑) した組織細胞の葉緑体の一般像。 ×18000

- 図10 ハツカダイコン健全幼苗根端細胞 (低倍撮影)。 ×6600
- 図11 肥大胚軸 中心柱の側根原基細胞。 ×6600
- 図12 肥大胚軸幼苗子葉葉緑細胞の1例。 約5000
- 図13 肥大胚軸幼苗 子葉細胞の葉緑体。 ×13000

図中の記号の説明

CH:葉緑体 CS:細胞間隙 CW:細胞壁 DP:変性プラスチック M:ミトコンドリア N:核 NO:仁 P P:プロプラスチック S:澱粉粒 V:液胞

摘 要

菌瘻形成機構を解明する手がかりを得るために、既知の物質による植物の肥大組織の観察を企画し、除草剤 MCP ソーダ塩によるハツカダイコンの肥大胚軸について観察した。1, 10ppm MCP でハツカダイコンを発芽させると胚軸に肥大が起こる。同じような現象はキュウリ、スイカ、インゲン、ニンジンなどにも見られた。肥大胚軸は皮層組織の肥大と伸長抑制された中心柱からなっている。皮層細胞の体積が増大し、それに伴う細胞間隙の増大が認められた。また中心柱の伸長は抑制され、側根原基の間隔が狭くなった。肥大胚軸の表皮細胞、中心柱周皮細胞には、電顕下で異常は認められなかった。皮層細胞は大きな液胞を持ち、原形質の層は薄く、細胞壁に密着していた。肥大していない部分に近い組織は着色しており、皮層細胞には葉緑体が認められた。また、液胞に変性したプラスチックを持つ皮層細胞もあった。変性したプラスチックが液胞に存在する細胞は、中心柱でも見られた。これらの細胞は原形質の膜構造も不明瞭で、ミトコンドリアも膨潤していた。肥大胚軸の側根原基の細胞は健苗根端細胞と同じように、液胞は発達しておらず、原形質が充満し、核やプロプラスチックが認められ、異常は認められなかった。肥大胚軸の子葉は肉眼的にも電顕的にも異常は観察できなかった。子葉の葉緑体はラメラ構造も発達していた。

引用文献

- 野津幹雄・山本昌木:日植病報 38:363-366, 1972.
- 山本昌木・野津幹雄:日林誌 54:150-157, 1972.
- 向 秀夫・後藤正夫・六浦 勉・中村重正:日植病報 35:391, 1969.
- 向 秀夫・六浦 勉・栗原一雄・中村重正:日植病報 35:391, 1969.
- 林 俊郎:月刊細胞 2(4):29-35, 1970.

6. EHRLICH, M. A., SCHAFFER, J. F. and EHRLICH, H. G. : *Can. J. Bot.* **46** : 17-20, 1967.
7. BOYER, M. G. and ISACC, P. K. : *Can. J. Bot.* **42** : 1305-1309, 1964.
8. 野津幹雄・山本昌木：日 菌 報 **12** : 179-187, 1971.
9. BERLIN, J. D. and SOWEN, C. C. : *Amer. J. Bot.* **51** : 445-452, 1964.
10. 野津幹雄：日作紀 **36** : 472-480, 1967.
11. GOODCHILD, D. J. and BERGERSEN, F. J. : *J. Bacteriol.* **92** : 204-213, 1966.
12. 福富雅夫・赤井重恭・白石雅也：月刊細胞 **3** (4) : 18-26, 1971.
13. 平田正一：日植病報 **19** : 33-38, 1954.
14. 平田正一：日植病報 **21** : 185-190, 1956.
15. 松山宣明：生物科学 **21** : 66-71, 1969.
16. 佐藤満彦：生物科学 **16** : 110-118, 1964.
17. PHILIPSON, W. R. and SHEAT, D. E. G. : *Nature* **197** : 204-205, 1963.

Summary

The present paper deals with the results of electron-microscopic observations on the hypertrophied hypocotyl of radish caused by an application of MCP (Sodium [(4-chloro-o-tolyl) oxy] acetate).

Hypertrophied tissues were induced by the solution of MCP in the concentration 1.0 ppm. Short time treatment of MCP (less than 24 hrs) caused the malformation of the seedling even after their transplanting to the condition without the chemicals. When the radish seeds were treated in the lower concentration of MCP, they grew up as well as the control after their transplanting, but died from the treatment of MCP in higher concentration.

From histological observations on the hypertrophied hypocotyl, intercellular space was not recognized abundantly in the central cylinder compared with that of cortex tissues.

The cortical cell had a large vacuole and thin peripheral layer of protoplasm. Plasmolysis did not occur and the cell membrane was adjacent to the cell wall. Degenerated plastids were scarcely recognizable in the vacuole of cortical cells, and sometimes degenerated plastids and swelled mitochondria were observed in the cells of central cylinder. Abundant protoplasm, nuclei, proplastids and plasmodesmata as shown in the normal cells were observed in the primordium-cells of roots affected with the chemicals. Cotyledon was not injured with the application of MCP. Osmiophilic granules, grana structures and matrix were found in most chloroplasts of cotyledon cells.









