

馬鈴薯葉柄中肋細胞表面構造の電子顕微鏡による観察 (第1報)

山 本 昌 木

Masaki YAMAMOTO

Observations on the Petiole-Midribs of Potato Leaves
by Means of Electron-Microscope (1)

はじめに

疫病に対する馬鈴薯の過敏現象 (Hypersensitivity) については、Müller⁽⁵⁾⁽⁶⁾、堀⁽³⁾、Meyer⁽⁴⁾、Ferris⁽¹⁾らが観察しており、抵抗性の強い品種に親和性のない疫病菌系統が侵入すると、侵入を受けた細胞とその周辺の細胞は褐変し、疫病菌は閉じ込められて死ぬ。一方、親和性のある疫病菌系統が罹病性品種に侵入する場合、その初期においては病原菌と感受体細胞とは共生的関係にあるといえよう。富山によると、抵抗性の強い品種では侵入部を中心として原形質糸の出現が激化し、侵入部付近には原形質の肥厚が認められ、菌侵入後10~60分でブラウン運動をする顆粒が現われ、その後20~90分でゲル化し疫病菌の生長はとめられる。8~10時間後褐変の濃化に伴ない疫病菌の死が起ることを観察した。また筆者は位相差顕微鏡により、ヤヌス緑で染色されミトコンドリアと考えられる顆粒が抵抗性品種では侵入部に集合し、原形質糸が出現することを認め、偏光顕微鏡で観察すると、親和性のない菌の侵入により過敏現象を示す場合、侵入部を中心として強い複屈折を認めた。この複屈折は細胞膜のそれとは質的に異なり、消光角は45°であることを明らかにし、感受体細胞内でミセル構造の変動が起り、組織の代謝活性と関連したものと考えた⁽⁹⁾⁽¹⁰⁾。このように、過敏現象は疫病菌に対する馬鈴薯の抵抗性機作を考える場合重要であるが、疫病菌が感受体侵入に際し、細胞膜に何らかの変化を与えることも考えられる。そのためには、まず健全な馬鈴薯葉の抵抗性、罹病性両品種群についてよく検討することが必要であるが、今回は罹病性品種農林1号葉柄中肋部についてレプリカ法により電子顕微鏡を用いて観察した結果を予報的に述べることにする。中肋部を特にとりあげたのは、細胞膜の長径が中肋の主軸方向と平行であり、従来筆者はこの部分をうすく剥いで位相差顕微鏡や偏光顕微鏡を用いて観察したので考察にも便利であろうと思われたからである。稿を起すに当り、京大大学林産工学教室原田浩教授には本研究

に種々助言を賜わり、レプリカ法による試料の作成や電子顕微鏡による観察、写真撮影についても格別の配慮と援助を頂いたので厚く感謝申し上げる。

実験材料と方法

9月上旬研究室圃場に馬鈴薯品種農林1号を植え付け10月下旬第3葉位複葉を採集しこの葉柄中肋部についてレプリカ法によりその表面構造を電子顕微鏡により観察した。レプリカ試料の作成は、プラスチック2段ウェット・レプリカ法によった。すなわち、厚さ約0.75mmのセルロイド板上にエチルメタクリル樹脂を約100°Cで重合固化したものを準備し、馬鈴薯葉柄中肋の表面を樹脂板上にのせ、数kg/cm²の圧力と約100°(水温)を加え、wet(水中)状態でプレスした。冷却は室温において行ない、試料片を樹脂板から剝離した。レプリカが得られた樹脂板は、これを真空蒸着装置に入れ、まず1/8の角度で斜めからクロムシャドウイングし、上からカーボン蒸着し、樹脂板のレプリカ面にクロム+カーボンの被膜を作った。

検鏡はいずれも80KVのJEM7型電子顕微鏡を用いて行なった。なお、試料は生のまま、またはエチルアルコールあるいはトルエン抽出処理を行なったものについてレプリカ法を施したものである。

実験結果

細胞膜の構造の研究には、細胞膜を構成する構造単位(結晶領域を形成すると考えられるミセルまたはマイクロフィブリル)の性質を明らかにし、これらのミセルまたはマイクロフィブリルが細胞膜の各膜層中にどのような配列をしているかを知る必要がある。

本研究はまだ出発したばかりであり、これらを概観できる知見はないけれども、アルコール処理の材料でみると(第1図)、細胞のミセル配列の方向は細胞の長軸方向に対し、ほぼ直角方向のものが見られた。生の材料をアルコールやトルエン処理すると、マイクロフィブリルがは

つきりして来ることから、マイクロフィブリル介在物により包埋されていることが推察される。第1図においてはマイクロフィブリルの主方向は細胞の長軸に対しほぼ直角のいわゆる横巻き構造を示すようであるが、第2図を見るとトルエン処理のものでは、疣状突起(?)を結んだ線に対し30~35°の方向にマイクロフィブリルが並んでいるようである。また第3図(A)に示すように、アルコール処理区では短かいマイクロフィブリルが種々の方向に並んでいるものもあったが、第3図(B)のように疣状突起(?)を結んだ線に対し約18°の方向にマイクロフィブリルが平行して走り、さらにこれらに40~60°の方向に交わるマイクロフィブリルが平行する像も見られた。また第1図のようにアルコール処理のもので疣状突起(?)を結んだ線にほぼ直角(70~90°)に平行してやゝ太いフィブリルが走り、その間18°, 20°, 35°, 50°, 70°など種々の方向のマイクロフィブリルが混在するものもあった。

考 察

偏光顕微鏡の消光角を利用して行なった研究結果は、細胞膜の第1次膜、第2次膜の全膜層を合せたものの平均的なミセル配列を示すものである。

筆者が従来行なった光学顕微鏡、位相差顕微鏡あるいは偏光顕微鏡による過敏感現象の観察すらミセル構造の変動を推定するに過ぎないものである。すなわち、直接ミセル構造の配列を可視化したものではなかった。電子顕微鏡のこの分野への応用により従来光学顕微鏡またはX線回折により推定されていたミセルを直接マイクロフィブリルとしてその配列状態を可視化する可能性が出て来る。木材細胞膜のミセル構造については原田の⁽⁹⁾詳細な研究があるが、植物の病的変化特に過敏感現象と細胞膜のミセル構造の変動について論じたものは皆無である。

本報に示された写真は一罹病性品種の健全な状態における複葉中肋の表面構造の一部を示すに過ぎないが、今後の研究の進展によって、抵抗性品種の過敏感現象についても細胞膜構造の面から細胞膜を構成する構造単位(ミセルまたはマイクロフィブリル)の性質を明らかにし、これらの構造単位が内中外の各膜層においてその細胞の

形態学的軸方向に対し、どのような配列状態をとるかなどが明らかとなって行くことを期待したい。

摘 要

疫病に対する馬鈴薯の過敏感現象究明の基礎資料とするために、抵抗性、罹病性両品種の健全な状態における形態や生理について調査されなければならない。本報はこの目的により、馬鈴薯(品種農林1号)葉柄中肋を生ものまゝ、またはエチルアルコール抽出を行なったものについて、レプリカ法により試料を作り電子顕微鏡を用い観察した結果である。エチルアルコールやトルエン処理を行なったものでは、生のものに比べてマイクロフィブリルがはっきり認められることから、網目構造をもつマイクロフィブリルは介在物により包埋されているものと考えられた。また細胞のミセル配列の方向についても若干の考察がなされた。

引用文献

1. FERRIS, V. R. : *Phytopathology* 45 : 546-552, 1955
2. 原田浩・宮崎幸男・若崎妙子 : *林試研報* 104 : 1-115, 1958
3. 堀正侃 : *日植病報* 5 : 225-244, 1935
4. MEYER, G. : *Arb. Reichsanst. Land. Forstw.* 23 : 97-132, 1940
5. MÜLLER, K. O. : *Nature (London)* 166 : 392-395, 1950
6. MüLLER, K. O. : In *Plant Pathology I* (Edited by Horsfall and Dimond) Academic Press, New York pp 469-519, 1959
7. 富山宏平 : *北海道農試彙報* 67 : 28-38, 1959
8. 富山宏平 : *日植病報* 22 : 75-78, 1956
9. YAMAMOTO, M. : *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 22 : 148-152, 1965
10. YAMAMOTO, M. : *Tagungsberichte Nr. 74* : 175-199, 1965

Summary

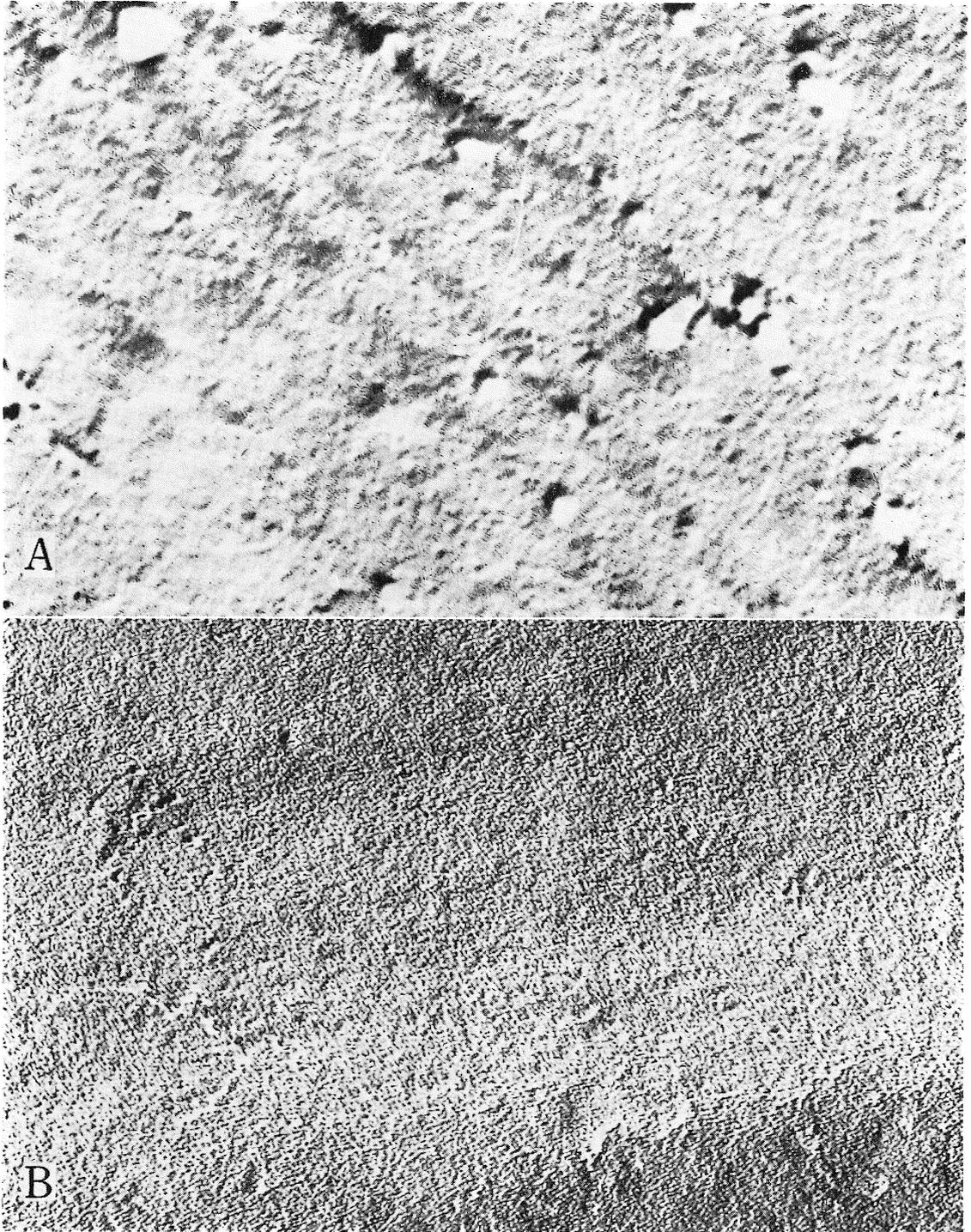
This paper deals with the results of preliminary observations by means of electron-microscope on the cell wall structure of potato leaves. Submicroscopic cellulose fibrils i.e. microfibrils was determined by observing the surface replica in two-step method (ethylmetacrylate-carbon and Cr-shadowed). The specimens were observed by J. E. M. 7 electron microscope. Some specimens were treated with ethyl alcohol or toluene before the surface replica was observed. Some photographs of microfibrillar orientation of cell wall structure in potato petiole epidermis (Variety Norin No. 1) in healthy condition were shown in this paper.



第1図 馬鈴薯葉柄中肋部（品種 農林1号）表面構造
エチルアルコール処理
36000×



第2図 馬鈴薯葉柄中肋部 (品種 農林1号) 表面構造
トルエン処理
37000×



第3図 馬鈴薯葉柄中肋部（品種 農林1号）表面構造
エチルアルコール処理
A 31000×
B 33000×