

BCB (bromocholine bromide) に関する研究

(第4報) 二、三の作物における細胞の分裂と伸長に
およぼす影響

長南信雄・太田敏郎・川原治之助

Studies on BCB (bromocholine bromide)

IV. Influence on cell division and cell elongation in some crop plants.

NOBUO CHŌNAN, TOSHIRO OTA and HARUNOSUKE KAWAHARA

緒 言

植物の茎の伸長を抑制する物質としていくつかの四基のアンモニウム塩が知られている。Amo-1618 は有効な物質として最もよく知られているが、最近 BCB (2-bromoethyl trimethylammonium bromide $\text{CH}_2\text{Br}-\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3\text{Br}$, bromocholine bromide ともいう), CCC (2-chloroethyl trimethylammonium chloride $\text{CH}_2\text{Cl}-\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3\text{Cl}$, chlorocholine chloride ともいう), Phosfon D などともこれと似た性質をもっていることが明らかにされた^{2), 4), 5)}。

Amo-1618 の効果については細胞学的・組織学的にも研究が行われた^{1), 3)}。キクを用いた実験によると、Amo-1618 で処理した場合 subapical meristem の細胞分裂と細胞伸長は抑えられるが、apical meristem は殆んど正常な機能を果し、gibberellin の antagonist の性質を持っていることが示された。

しかし、Amo-1618 以外の物質については細胞学的・組織学的研究は行われていない。そこで前報において報告された土壌処理による BCB・CCC の水稲・小麦・馬鈴薯・キウリ・タバコなどの生育におよぼす諸影響のうち形態的变化の認められたものについて、材料の一部をとり BCB が細胞の分裂と伸長におよぼす影響を調べた結果がこの報告である。

材料および方法

実験に用いた作物は小麦・馬鈴薯・キウリ・タバコである。いずれも前報の実験で用いた材料の一部を使用したので栽培方法・処理方法についての詳細な記述は省略

する。

小麦については第1報に詳述した BCB 10^{-2} M 区・ 10^{-3} M 区および対照区の3区とし、温室内のベンチの蔭に置き1日のうち約3時間直射光が当る環境にした。これは Tolbert⁶⁾ が光を制限した条件で BCB の効果が顕著にあらわれることを報告していることにもとづいたものである。また、この際の最低温度は 15°C であった。第5葉が完成したのち固定し、各区から代表的なものを3個体ずつ選び、第4葉と第5葉の葉身長と葉鞘長を測定した。2% NaOH 溶液に数分浸漬したのち、葉の背軸面を下にして上からけずり取り、残された背軸面の表皮を顕微鏡写真装置で撮影し、細胞の長さを測定した。維管束にはさまれた部分の細胞について、葉身では気孔と毛茸を除くすべての細胞の長さを中央部と基部で測定し、葉鞘では中央部で測定した。各々の部分で測定した細胞の数は約200個であった。

馬鈴薯では第2報の実験で用いた材料のうち、土壌処理を行ったものの中から代表的なものを各区1個体ずつ選び開花初期に固定した。上から8・9・10葉目の先端の小葉について面積と背軸面の表皮細胞の大きさを測定した。表皮はピンセットではぎ、2% NaOH 溶液に1分以内浸漬したのち検鏡した。一定視野内の細胞数(70~140)を描画装置で番号を附しながらかぞえ、細胞面積を算出した。各々の葉について同じ位置を3点とりそれを平均した。また葉肉の厚さは葉の中央部で徒手切片により測定した。茎では、上から9葉目と12葉目の節間長を測定し、表皮と髓の細胞について縦軸の長さを測定した。茎の表皮はカミソリではぎ、髓細胞は徒手切片をつくって測定した。

キウリでは第3報の実験で用いた材料について、苗床で処理中に出葉した第2葉と移植後に出葉した第5葉の背軸面の表皮細胞の面積と葉肉の厚さを測定した。測定方法は馬鈴薯の場合と同様である。

タバコでは茎の長さを測定し、生長点から約15mm下までをパラフィン切片法により縦と横に15 μ の厚さに切り、サフランとヘマトキシリンで二重染色して、髓細胞の長さを測定した。

実験結果

BCBで処理した小麦では葉身長と葉鞘長が短くなる。第1表は第5葉の葉身と葉鞘について細胞の長さや細胞数を示したものである。10⁻²Mでは葉身と葉鞘の細胞伸長が抑制され細胞数が減少する。10⁻³Mでは主に葉身で細胞伸長が抑制され細胞数は主に葉鞘で減少する。第2表は第4葉についての調査であって、その傾向は第5葉と全く同様である。

第1表 小麦第5葉の葉身と葉鞘におよぼす影響

| 濃 度 | 葉 身 | | | 葉 鞘 | | |
|------------------------|--------------------|----------------------------------|------|-------------------|----------------------------------|------|
| | 葉身長 | 細胞長 | 細胞数 | 葉鞘長 | 細胞長 | 細胞数 |
| control | 22.7 ^{cm} | 33.4 ^{μ} | 6800 | 6.3 ^{cm} | 23.5 ^{μ} | 2680 |
| BCB 10 ⁻² M | 16.4 | 28.0 | 5860 | 4.7 | 20.6 | 2280 |
| BCB 10 ⁻³ M | 19.1 | 30.7 | 6220 | 5.0 | 23.1 | 2160 |

第2表 小麦第4葉の葉身と葉鞘におよぼす影響

| 濃 度 | 葉 身 | | | 葉 鞘 | | |
|------------------------|--------------------|----------------------------------|------|-------------------|----------------------------------|------|
| | 葉身長 | 細胞長 | 細胞数 | 葉鞘長 | 細胞長 | 細胞数 |
| control | 21.1 ^{cm} | 38.0 ^{μ} | 5550 | 5.0 ^{cm} | 23.2 ^{μ} | 2150 |
| BCB 10 ⁻² M | 13.9 | 26.8 | 5190 | 3.8 | 21.8 | 1740 |
| BCB 10 ⁻³ M | 17.4 | 31.0 | 5610 | 4.0 | 23.0 | 1730 |

第3表は馬鈴薯の葉におよぼす影響を調べた結果で、葉面積・表皮細胞の面積と数および葉肉の厚さを示したものである。葉面積は10⁻²Mと10⁻³Mで著しく小さくなる。細胞面積・細胞数も同じ濃度で著しく減少する。

第3表 馬鈴薯の葉におよぼす影響

| 濃 度 | 葉面積 | 細胞面積 | 細胞数 | 葉肉の厚さ |
|------------------------|--------------------------------|------------------------------------|-------------------|---------------------------------|
| control | 30.1 ^{cm²} | 2750 ^{μ^2} | 109 $\times 10^4$ | 292 ^{μ} |
| BCB 10 ⁻² M | 19.4 | 2100 | 92 $\times 10^4$ | 272 |
| BCB 10 ⁻³ M | 17.7 | 2240 | 79 $\times 10^4$ | 229 |
| BCB 10 ⁻⁴ M | 33.4 | 2930 | 114 $\times 10^4$ | 223 |

少する。葉肉の厚さは一般に薄くなる傾向がみられ、10⁻³Mと10⁻⁴Mで著しい。柵状組織と海綿状組織の厚さもほぼ同じ割合で薄くなるが、表皮の厚さでは差がみられなかった。

第4表はキウリの葉におよぼす影響を調べた結果で、第2葉と第5葉の表皮細胞の面積と葉肉の厚さを示したものである。苗床で処理中に出葉した第2葉では細胞面積は10⁻²Mで減少しているが、移植後に出葉した第5葉では差がみられない。葉肉の厚さにおいても第2葉では濃度が高くなるに従い厚くなる特徴がみられるが、第5葉では差がみられない。また、柵状組織と海綿状組織においてもこれらの傾向は同じであることを認めた。

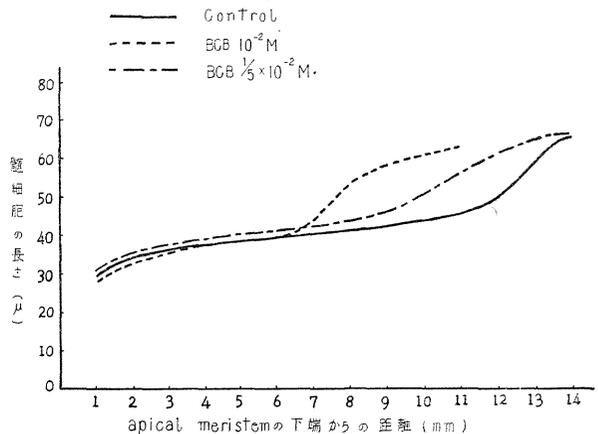
第4表 キウリの葉におよぼす影響

| 濃 度 | 第 2 葉 | | 第 5 葉 | |
|----------------------------|------------------------------------|---------------------------------|------------------------------------|---------------------------------|
| | 細胞面積 | 葉肉の厚さ | 細胞面積 | 葉肉の厚さ |
| control | 1360 ^{μ^2} | 237 ^{μ} | 1330 ^{μ^2} | 214 ^{μ} |
| BCB 10 ⁻² M | 1210 | 308 | 1290 | 217 |
| BCB 1/3 $\times 10^{-2}$ M | 1400 | 287 | 1260 | 213 |
| BCB 10 ⁻³ M | 1380 | 265 | 1250 | 219 |
| BCB 10 ⁻⁴ M | 1350 | 240 | 1330 | 210 |

第5表 馬鈴薯の茎におよぼす影響

| 濃 度 | 節間長 | 表皮細胞 | | 髓細胞 | |
|------------------------|-------------------|----------------------------------|-----|----------------------------------|------|
| | | 長さ | 数 | 長さ | 数 |
| | | μ | | μ | |
| control | 5.0 ^{cm} | 84.0 ^{μ} | 600 | 25.6 ^{μ} | 1950 |
| BCB 10 ⁻² M | 1.2 | 49.0 | 240 | 13.3 | 900 |
| BCB 10 ⁻³ M | 3.0 | 56.2 | 530 | 14.3 | 2100 |
| BCB 10 ⁻⁴ M | 7.5 | 126.2 | 590 | 25.8 | 2900 |

第1図 タバコの subapical meristem におよぼす影響



第5表は馬鈴薯の茎におよぼす影響を調べた結果で、上から9葉目と12葉目の節間長を測定し、表皮細胞・髓細胞の長さとおよぼす影響を示したものである。茎の伸長は 10^{-2} M と 10^{-3} M で著しく抑制された。表皮細胞と髓細胞は長さ・数ともに 10^{-2} M で著しく減少しているが、 10^{-3} M では主に長さが減少している。

タバコの苗では 10^{-2} M と $1/5 \times 10^{-2}$ M で茎の伸長が30~60%抑制された。第1図はタバコの茎の subapical meristemにおよぼす影響を示したもので apical meristem の下端からの距離と髓細胞の長さとの関係をあらわしている。subapical meristem では細胞分裂が盛んに行われ、細胞伸長は徐々に進む。対照区では apical meristem からおよそ 11 mm 離れたところで細胞が急激に伸長し、この間は subapical meristem である。これに対し 10^{-2} M では apical meristem から約 6 mm, $1/5 \times 10^{-2}$ M では約 9 mm 離れたところで細胞が急激に伸長し、subapical meristem の範囲がせばめられる。一方、この範囲では細胞の長さは各処理区の間で殆んど差がみられない。

考 察

BCB で土壌処理した作物は濃度が高い場合 (10^{-2} M) には葉面積が小さくなり、茎の伸長が著しく抑制される。これは細胞の分裂と伸長が抑制されるためである。 10^{-3} M では抑制程度はより少なくなり、細胞の分裂と伸長のいずれか一方だけに抑制的に働らく場合がみられる。すなわち、馬鈴薯の茎の髓細胞では伸長が40%以上抑制されたのに対し、分裂は抑制されていない。また、小麦の葉鞘では分裂は約20%抑制されるが伸長は抑制されない。 10^{-4} M では抑制効果は殆んどないものと考えられる。馬鈴薯の茎では表皮細胞の伸長と髓細胞の分裂が促進された。しかし、BCB が一般に低濃度で細胞の分裂と伸長に促進的に働らくか否かは本実験の結果だけでは不十分であり、更に検討する必要がある。

BCB の抑制効果は作物の種類により異なる。例えば、形態的には 10^{-3} M で小麦、馬鈴薯、タバコの葉が小さくなるがキウリではむしろ大きくなる。細胞分裂においては、 10^{-2} M と 10^{-3} M で最も抑制された場合、小麦は約20%、馬鈴薯では約60%抑制される。また、細胞伸長においては、小麦では約30%、馬鈴薯では約50%、キウリでは約10%それぞれ抑制され、作物によって抑制効果が異なっている。

葉の厚さは 10^{-2} M 区が 10^{-3} ・ 10^{-4} M 区より厚くなる傾向は一般的であるが、キウリでは各区とも対照区より厚くなり馬鈴薯では薄くなる。

以上の諸結果に加えて BCB が殆んど効果を示さなかった作物もあって、作物に対する影響についてはかなりの類似性は認められるが、変異に富むことも注目する必要がある。

Sachs et al³⁾ の実験によると、Amo-1618 で処理したキウリは茎の先端から 2~3 cm のところでは細胞の分裂と伸長が抑えられ、subapical meristem の範囲では主に細胞分裂が抑制されることによって茎の伸長が抑えられることを認めた。本実験において、伸長が著しく抑制されたタバコの茎では subapical meristem の範囲がせばめられるが細胞伸長は殆んど抑制されないから、BCB の subapical meristem におよぼす影響は Amo-1618 と類似していることが想像される。こういった結果から Amo-1618 と同様に BCB が gibberellin に対する antagonist と考えられる点もあり、このことについては更に詳細に追求中である。

なお、タバコの apical meristem について、縦断切片と横断切片で観察したが、とくに著しい差異は認められなかった。前報の実験で小麦・キウリ・タバコなどの葉の展開が促進されたことからみても、BCB は apical meristem の活動を抑制することは少ないものと考えられるが、更に詳細な検討を加える必要がある。

要 約

前報で土壌処理による BCB・CCC の水稻・小麦・馬鈴薯・キウリ・タバコなどの生育におよぼす影響が報告された。この実験では前報で行われた実験のうち形態的变化のみとめられたものについて、材料の一部をとり BCB が細胞の分裂と伸長におよぼす影響を調べた。

葉の背軸面の表皮細胞の面積と茎の節間における表皮細胞と髓細胞の長さを測定し、葉面積と節間長から細胞数を算出した。

BCB で処理した小麦は葉身長・葉鞘長が短くなる。この実験では 10^{-2} M と 10^{-3} M で細胞伸長が抑制され細胞数が減少した。馬鈴薯では、葉面積が小さくなる 10^{-2} M と 10^{-3} M では細胞の大きさ、細胞数は減少する。また、同じ濃度で茎の伸長は葉よりも著しく抑制される。節間の表皮細胞と髓細胞の長さも著しく抑制され、細胞数は 10^{-2} M で減少した。キウリでは苗木で処理中に出葉した葉の表皮細胞は 10^{-2} M で小さくなるが、移植後に出葉した葉では差がみられなかった。

葉の厚さはキウリでは厚くなるが馬鈴薯では薄くなる傾向がみられた。

伸長が著しく抑制されたタバコの茎では subapical meristem の範囲がせばめられる。これは主に細胞分裂

が抑制されるためである。

以上のことから BCB は細胞分裂と細胞伸長を抑えるが、その程度は作物により異なることがみとめられる。

参 考 文 献

1) Cathey, H. M.: *Plant Physiol.* **33** Suppl., xliii (1958)

2) Cathey, H. M.: *Plant Physiol.* **36** Suppl., xxxviii (1961)

3) Sachs, R.M., A. Lang, C.F. Bretz, and J. Roach: *Amer. Jour. Bot.* **47**, 260 (1960)

4) Tolbert, N. E.: *Jour. Bio. Chem.* **235**, 475 (1960)

5) Tolbert, N. E.: *Plant Physiol.* **35**, 380 (1960)

Summary

The morphological effects of rice, wheat, potato, cucumber and tobacco plants treated by BCB or CCC were reported previously. In this study the histological influence of BCB on cell division and cell elongation in those plants were observed.

In wheat plants, the length of leaf blade and leaf sheath shortened by BCB were due to the inhibitions of both cell elongation and division. In potato plants, the leaf area was reduced at 10^{-2} M or 10^{-3} M. It was also caused by the reductions of cell area and number of cells. The epidermal and pith cell length of the stem internode were remarkably reduced.

In cucumber plants, the epidermal cell area of the seedling was reduced by 10^{-2} M BCB, but in the leaf grown after transplantation it was not reduced.

The cucumber leaf was thickened with BCB treatment, but it was reduced in the potato leaves.

When the elongation of tobacco stem was remarkably inhibited by BCB, the divisions in the subapical meristem were inhibited.

With the result of this experiment, it is recognized that BCB inhibits both the cell division and cell elongation at various extent among the crops.