

水稻根の皮層細胞における「破生」を否定する論拠 (1)

渋谷 紀 起 *

Toshioki SHIBUYA: Studies on the Absence of Morphological "—lysis" in So-called Lysigenous Tissue in the Cortex of Rice Root. 1st report.

緒 言

最近, 作物の根の機能と形態との関係や, 根の機能・形態と地上部・地下環境との関係などに関して研究が重ねられつつあるが, これらは作物の生産の増大に役立つべき生物学的原理の追求である. 筆者も, 水稻の根の形態並びに組織化学的性質について, 2, 3の注目すべき知見を得たので, 茲に初報として発表することとした.

水稻の根の皮層における空洞が, 「破生組織」「通気系破生組織」「破生通気組織」などと呼ばれるようになったのは, たぶん Boeke, J. E. (1940) が空洞を Intercellular canals と Intercellular cavities とにわけ, これらは「細胞間の接続の破壊, 溶解または放射状に並ぶ皮層細胞の縦裂による」との観察結果を提出して以来であるとおもわれるが, 更に三井 (1949) が, 「皮層細胞における FeS の黒色沈澱が, 硫化水素水に溶解して白色と化する際に, 皮層細胞の残部がバラバラに切断される」という観察並びに表現のしかたをしたので, 細胞膜が破れて空洞が生じた組織という意味で, 「破生」なる語がつかわれるようになったものと思われる.

しかし, この破生組織と称される組織の出現は, 水稻の根の伸長を停止した皮層細胞に発現する正常現象のようであるから, もし「破れる」なら, 「破る生理」が常に認められなければならないはずである. しかるに, 正常な「破る生理」についての研究業績が, 現在まで出ていない. ただ, 「酸素不足に対する適応」とか「地上部からの通気に好都合」というような合目的的意見が出されたことがあるにすぎない.

筆者は, 本論文において, 正常の状態においては, 上記のごとき「破れる」という現象は起らないことを証明しようとするのである.

材料整備に助力して下さった本学部教官源馬氏に感謝の意を表する次第である.

観 察 及 び 考 察

(1) 皮層細胞の収縮順序

Plate-1 は酢酸・アルコール・フォルマリンで固定しパラフィンに埋蔵して, ミクロトームにて切った水稻の根の横断切片の数々である.

第1図は, 根帽に包囲されている根端の組織をデラフィールドのヘマトキシリンで染色したものである. 第1図によれば, 皮層細胞は既に規則正しく放射状に配列し, その細胞間隙も透光明点となつて規則正しく放射状に配列している.

第2図は, 根帽から解放された, いわゆる伸長域であつて, 最外側の表皮の下には, 表皮と同じような小形の細胞からなる1層があり, 更にその下には厚膜の小形の細胞からなる層がある. この厚膜細胞層までを表皮系と見なせば, これより内側が皮層で, 皮層の最外側には, やや小形の細胞があるが, 皮層細胞は概ね根の内方に向うほど小形となつてい

* 山形大学農学部作物学育種学研究室 (Labor. Crop Sci. Plant Breed., Faculty Agric. Yamagata Univ.)

る。皮層と中心柱との堺にあるべき内皮の分化が不明瞭である。

第3図は、伸長域の後方の伸長停止開始域の断面を、上記の如く染色した像である。それゆえ、皮層のうちで染色されずに明るく見える部分が細胞間隙である。この部位では、細胞間隙が、このように大きくなり、放射状に連なるものさえ現われ始める。然して皮層の各細胞は収縮して歪曲してくる。

第4図は、皮層の放射状各列の収縮の種々相を示す好標本であつて、写真の中央列は収縮の程度小さく、この列から遠ざかるにつれて収縮度を増し、ついには1本の線の如くになつているものも見られる。このように収縮の種々相を混有している皮層は、側根の上下においてのみ観られるのであつて、このことは、側根の直上または直下の皮層細胞が、その他の皮層細胞よりも収縮し難いことを示している。

第5図は、側根及び側根直上の未収縮皮層を含むいわゆる通気破生組織の全貌である。この時期の切片を、プレパラート上にて、過マンガン酸加里と塩酸とアンモニア水とを以つて、呈色反応を起させると、リグニンの蓄積された細胞膜が赤色に呈色する。そして赤色となるのは、表皮系の厚膜細胞と中心柱の組織と、収縮皮層の外方乃至内方に未収縮のまま残留している小形の皮層細胞等の細胞膜であるゆえ、これらの細胞膜が、リグニンを蓄積し木化しているのである。

第6図は、収縮して隔膜のようになつた皮層細胞と、その内方に未収縮のまま残つてゐる皮層細胞と、その内方の中心柱とを示す写真である。第2図と同様に染色しない像であるためか、内皮を区別できない。膜状に収縮した皮層細胞の放射状各列の合計数は、その基部に残る細胞の1円の数と、ほぼ等しい。これによつても、いわゆる破生組織の形成過程は、「破生」という語によつて表明される現象に非ずして、「収縮」によることが判明する。

(2) 皮層細胞収縮の原因

水稻の根の皮層細胞が、細胞の老化と併行して収縮して行く原因を探ねて2, 3の観察を試みた。

観察の1 パーオキシダーゼの追跡

Plate-2の第7, 8, 9図は、McJunkin氏の方法(Glick, D., 1949による)に従つて、根をフォルマリンで固定し、パラフィン埋蔵後、横断切片のプレパラートを作り、パラフィンをベンゾール及びアセトンにて溶去し、ベンチデン試薬にてパーオキシダーゼを発色させ、ハリスのヘマトキシリン並びにエオシンによつて、パーオキシダーゼ以外の部分を染色し、アルコールにて脱水した後、キシロールに浸し、バルサムで封じた材料である。然して、写真における黒い組織がパーオキシダーゼ濃度の異なる組織である。

第7図は、細胞分裂終止期の根端の像であるが、このようなごく若い時期では、分化不充分的な内皮及び皮層が特異的にパーオキシダーゼ濃度において大である。

第8図及び第9図は伸長域の像で、パーオキシダーゼは既に皮層に稀薄となつて、表皮系第3~4層(厚膜細胞層となるべき層の数は、この写真によれば、2層である)及び内皮、内鞘、Protophloem, Metaphloem及びその周辺に濃厚である。

しかし、第5図に見るが如き側根が発生したり、木化細胞が生じた老成域では、パーオキシダーゼは若い側根の組織中に濃厚に存在して、それ以外には、顕微化学的には検出することができない。

内皮には終始パーオキシダーゼの存在を認めることができるが、十分に木化した後には

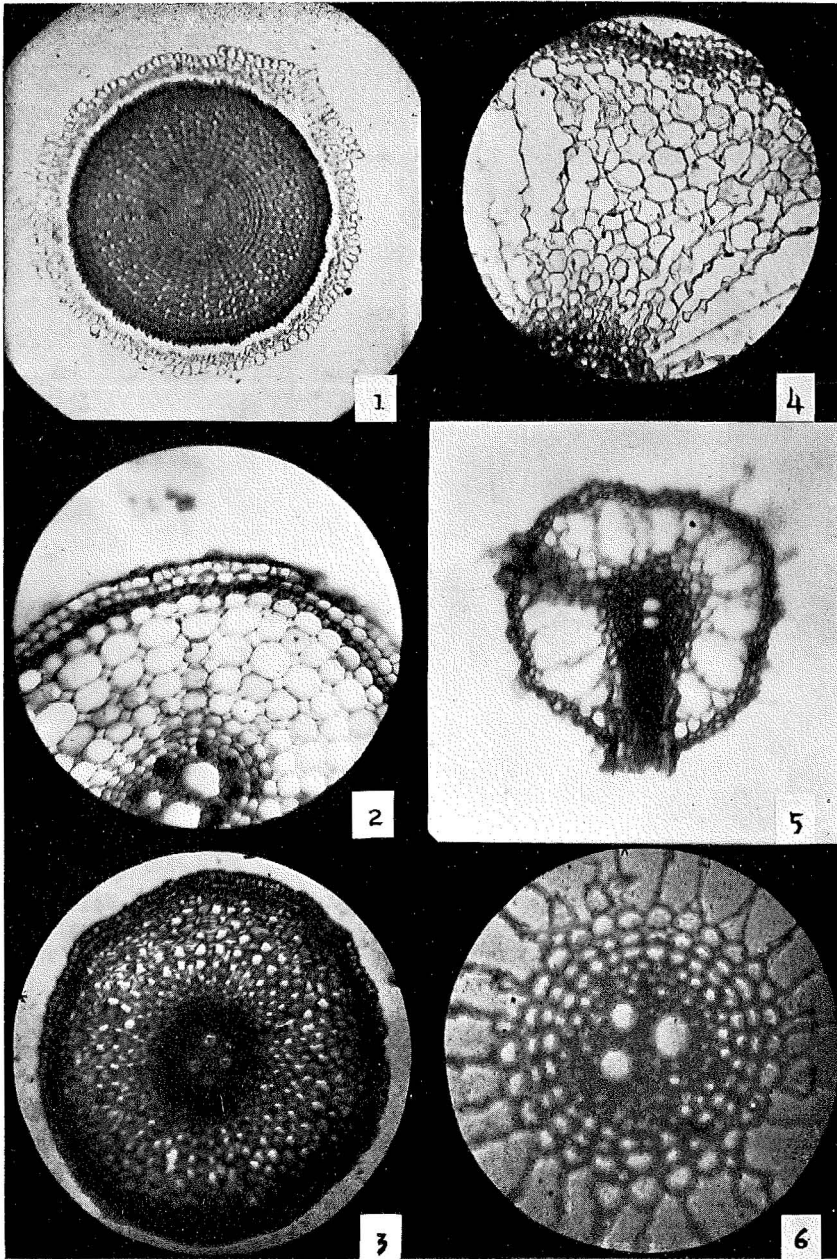


Plate-1

- Fig. 1 : Cortex consisted of radial cells and radial intercellular canals. The most outside tissue is the root-cap.
 Fig. 2 : Transversal section at the elongating zone in a root of rice plant.
 Fig. 3 : Beginning of the enlargement of intercellular canals and the contraction of radial cells in the cortex.
 Fig. 4 : Several kinds of contraction in cortical radial cell-lines.
 Fig. 5 : So-called "lysigenous tissue" which has radial cell-walls and wide intercellular canals in the cortex. These radial cell-walls are originated in the contraction of each radial cell-line.
 Fig. 6 : Non-contracted cells at the feet of contracted cells, and phloem, xylem in the mature zone of a rice root.

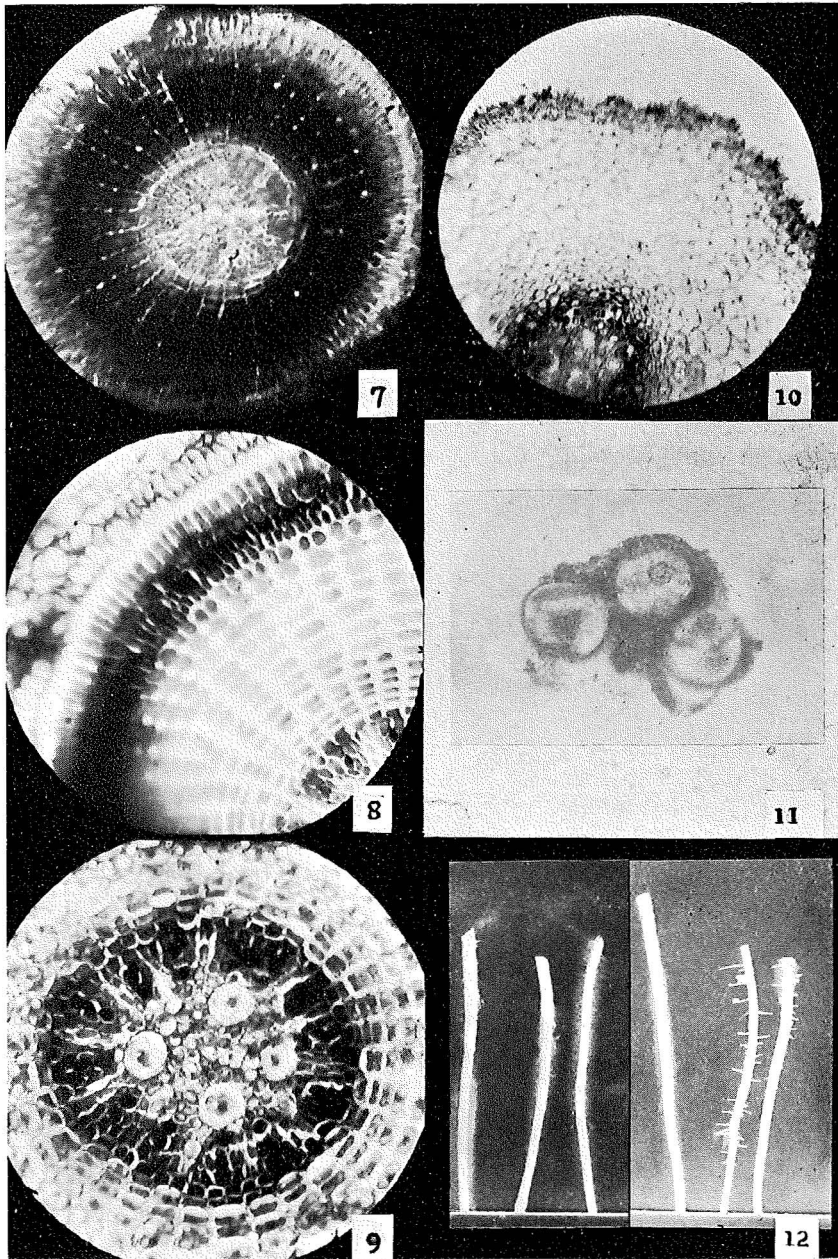


Plate-2

Fig. 7 : Peroxidase colored by benzidine is visible in the primarily differentiated cortex.

Fig. 8, Fig. 9 : Section of the elongating zone in a rice root. Peroxidase exists clearly in the tissues apart from the cortex : In the outside of vascular tissue and the inside of epidermal tissue.

Fig. 10 : Cytoplasmic shrinkage in cortical cells after the excretion of nitrogenous compounds by indoleacetic acid (IAA).

Fig. 11 : Excretion of nitrogenous compounds by IAA in the immature pollen.

Fig. 12 : Lefthand three : Roots grown under red light producing long root-hairs. Righthand three : Roots grown under blue light producing short root-hairs.

無い。表皮では、根毛の形態をとろうととるまいと、上記染色法によつては、パーオキシダーゼを認知することができない。しかし実際には存在するというを、本論文の最後に記した。表皮系第2層にも見出すことが出来ない。

以上のごとく、筆者が、パーオキシダーゼを追跡した理由は、パーオキシダーゼがIAAを酸化分解する (Galston, A. W. 1950) 酵素の1つであるからで、細胞の老化が、生長素の失活によるものではあるまいかと想像したからである。しかし以上のデータのみによつては、パーオキシダーゼが、細胞収縮の前提条件になると断定することが出来ない。皮層細胞の伸長開始の際には、むしろパーオキシダーゼの薄らぐことが、伸長の前提条件となつている。しかし、Jensen, W. A. (1955) や Galston, A. W. (1955) が言つているように細胞膜へのリグニン蓄積の前提条件としてのパーオキシダーゼの活性化は、以上のデータによつても、承認され得る。

観察の2 IAAによる窒素化合物の溶出

稲苗の地上部と新根とを剪り離さずに、根部だけを0.05%のIAA溶液中に24時間浸漬しておいた。対照区として蒸留水を用いた。その結果、IAA水溶液中に、アミノ酸その他が溶出したが、対照区の蒸留水中には溶出していながつた。浸漬後の液から、ペーパー・クロマトグラフィによりアミノ酸の同定を行い、マイクロ・ケルダール蒸溜法により可溶性アンモニア態Nを定量した。IAA水溶液においては、

同定されたアミノ酸：Tyrosine, Alanine, Glutamic acid,

定量されたアンモニア態N：0.126mg/10cc (0.05%水溶液),

であつた。

この実験により、IAAは、根の細胞中の窒素化合物を、細胞外に溶脱させる作用があることが推定された。

第10図は、外部から侵入のIAAにより、窒素化合物が細胞外に溶脱した後の、皮層の細胞質の収縮を示す。この写真は、根の伸長域の横断面で、これの対照には、Plate-1の第2図が適当である。

第10図の細胞質の収縮は、原形質分離的であるが、皮層細胞が放射状に収縮する直前には、細胞質もまた放射方向に原形質分離の様相を示す場合が多いことは第4図によつても窺い知ることができる。これは、IAAが細胞の外側壁即ち細胞間隙の内側壁に沿つて移動しつつ、細胞質を細胞外に溶脱させる作用を及ぼし得ることを示すものである。このIAAの作用を別途証明するために、稲の未熟花粉(第11図)及び、大豆根瘤を材料として実験をおこなつた。出穂数日前の穂から採られた未熟花粉を、0.05% IAA水溶液に入れれば、花粉内の細胞質は、またたく間に花粉周辺に、おびただしく溶出して散在するようになる。これは吐出と異つているのであるが、第11図はカバーガラスをかけたので吐出の様相となつたに過ぎない。この溶出速度は、蒸留水を用いた場合よりも遙かに速かつた。また大豆根瘤においては、0.05% IAA水溶液は、根瘤菌そのものを溶解して、菌の形骸を残さず、したがつて窒素化合物の溶出が甚だ顕著である。

以上2種類の諸観察により、皮層細胞の収縮並びに、木化細胞出現の原因を推定すれば次のとおりである。

1) 皮層細胞が伸長及び膨脹し始める頃に、パーオキシダーゼが稀薄となり、IAAが増加し始めるが、最初はBound formであろう。皮層細胞が或程度伸長及び膨脹したとき、

細胞膜の外側即ち細胞間隙の内側に遊離し、その面に沿つて移動する IAA が、細胞膜の内側に沿つて稀薄に存在する細胞質に作用し始め窒素化合物を細胞外に溶脱させたり、細胞質を細胞膜から分離させたりする。この結果、細胞は収縮し、細胞間隙は拡大する。

2) 側根上下に位置する皮層細胞が、特に収縮し難いのは、(イ) 側根のパーオキシダーゼ活性が強くて、側根に接する皮層細胞間隙内面の IAA が、その影響を受けて或程度失活することによるか、または(ロ) 皮層細胞膜の細胞間隙側の面に沿い移動する物質を、側根が吸収してしまい、したがつて IAA も存在しなくなり、皮層の細胞間隙が完全に Air-space となるからか、または(ハ) 上記移動物質の移動が側根によつてさえぎられて、皮層細胞の細胞膜の内外の滲透圧が等しくなるからであろう。

3) 伸長域にオーキシンが生成されることは Nagao, M. (1936, 1937) によつて証明されているし、この IAA の Feed-back 即ち IAA がパーオキシダーゼを活性化して IAA 自体が失活し、その場合にリグニンが細胞膜に蓄積してくる現象は、Jensen, W. A. (1955) や Galston, A. W. (1955) が報じているから、これによつて木化細胞出現の原因が説明できるであろう。

なお、細胞膜の肥厚が、糖の供給の大なる場合に起ることは、雨宮・明峯・鳥山 (1956) によつて報じられたが、筆者が稲の Isolated roots をブドウ糖にて培養した場合にも、表皮系細胞層や中心柱の細胞膜の肥厚が観られたので、ブドウ糖や蔗糖を細胞膜質物に転じ得る能力の大なる細胞において細胞膜の肥厚が起ると言い得よう。この培養実験については、後報にて詳述するであろうが、表皮系第3層や中心柱が肥厚し木化し始める頃に、この両者の中に介在する皮層に、細胞の収縮が起るのであるから、皮層の細胞内に吸収されない糖は、皮層細胞に対してアンモニアの溶奪や原形質分離の役割を果たすと考えられる。

5) Protoxylem や metaxylem (Heimsch, C. 1951) は、その始源は細胞間隙ではないけれど、それらが管状にまで分化するのは、Wetmore, R. H. (1955) によれば、全く天然生長素特に IAA によるのであるから、皮層細胞のなかに空洞が生ずるのも、この原理に従うと考えるのが妥当である。筆者は 2,4-D を作用させて、稲根の内鞘から僅かに突出した異常側根の周辺に、あたかも甘藷塊根の通気組織(戸丸, 1950) の如き半円形の大細胞間隙の生ずるのを発見した(写真省略)。これは、2,4-D によつて蛋白との結合が不可能となつた Free の IAA が局部的に増加することによると考える。この詳細は後報することとする。

根の皮層細胞の収縮は、上述の点以外に更に複雑なメカニズムによるとみられる。例えば畑苗の冠根の皮層細胞には、その収縮直前頃から澱粉粒が出現するのであつて、収縮完了皮層細胞では澱粉粒が細胞質の消失と同時に消失してしまつている。

(3) 皮層細胞収縮促進の要因

山崎(1952)は、土壤の多湿が、いわゆる破生組織形成を促すと言ひ、有門(1953, 1955)は、破生組織の形成を、酸素不足の環境のもとにおける通気系の発達なりと見なし、嵐・新田(1955)は、稈の崩潰間隙も、深水という環境の下での稲植物の通気系と見なしている。また川田(1956)は、水田土壤の酸化還元に関係があると言つている。

筆者の観察によれば、種子根のうち、水中を下方に向つて生長する根は、砂中を下方に

向つて生長する根よりも、皮層細胞の収縮域の割合が多かつた。また、水道水や蒸留水を用いて発根させた場合に、若い稲苗から生じた冠根や、種子根では、皮層細胞の収縮部位と側根の発生部位とがほぼ一致したが、齢を重ねた稲特に幼穂分化後の稲から生じた冠根においては、冠根皮層細胞の収縮が微弱であるに係わらず、側根が生じていた。Plate-3の第13図は種子根で、第14図は Adult plant に生じた根であつて、前者の皮層細胞の収縮が著しく、後者の皮層細胞の収縮が著しくない。

写真によつて判明するよ
うに、導管の
数と皮層の層
数とは正比例
的關係にある
ようであり、
またこれらの
数が大なる根
の表皮系厚膜
細胞の層の数
は2つである。

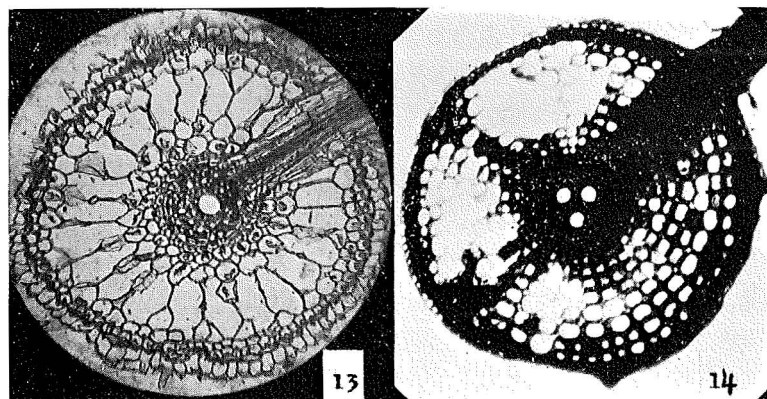


Plate-3

Fig 13 : Cortical contraction in a seminal root. Fig 14 : A root grown on an adult plant.

また、硝酸

加里の0.05%水溶液中で生長した根は、伸長域が長い、その後方の伸長停止域の皮層細胞の収縮が顕著であり、硝酸アンモニア0.05%水溶液中で生長した根は、伸長域が短かく、その後方の伸長停止域とおもわれる部分の皮層細胞は殆んど収縮せず、しかも側根が生じていた(写真省略)。これと同様の実験を K_2SO_4 , $(NH_4)_2SO_4$, KCl , NH_4Cl , KH_2PO_4 等3要素各塩の単用並びに蒸留水を用いておこない、それらの観察の結果から、根の皮層細胞が収縮しないのは、苗がアンモニア態Nを吸収した場合で、この窒素を多く吸収することが伸長域を短小ならしめ且つ皮層細胞の収縮を困難にさせることを知つた。

また、濾紙電気泳動法により、冠根の単位生体重当りの蛋白含量を測定し、側根未発生
の若齢部分が、側根既発生
の老齢部分よりも大であることを確め得た。

以上の諸観察の結果から、皮層細胞の細胞質が過少となりやすい条件が、その細胞の収縮を促し、同時に根の形成、若齢細胞の伸長を促すと推定される。Torrey, J. G. (1954)は根端分裂域が Zn, Mn, Mo, ビタミン類を、根の老齡組織から供給されていると述べているから、水稻の根においても、IAAによつて細胞外に溶出された窒素化合物が、冠根根端や内鞘の方向に移動し、この循環的移動が速やかな場合に、老齡細胞の収縮と伸長域の伸長とが促されると考えられなくもない。要するに、細胞の伸長及び膨脹によつて稀薄となつた細胞質が、更に細胞外に溶出されると同時に、原形質分離を起して細胞内方に収縮すれば、細胞の伸長や膨脹が停止し、細胞膜の接近即ち細胞の収縮が促進されると考えるのである。

皮層細胞における上述の現象のうち、FreeのIAAのみについてみれば、窒素化合物と共に移動し去ることは1種のFeed-backである。IAAのFeed-backはPilet, P. E.及びGalston, A. W. (1955)やGalston, A. W.及びDalberg, L. (1954)や、Jensen, W. A.

(1955)らによつて指摘された現象で、元來は、IAAの Deinductive disappearance を意味している。

次に筆者は色光を用いて実験してみた。

第12図は、水中において生長した水稻の冠根であるが、左側3本は赤色光のもとに生長し、右側3本は青色光のもとに生長した。青色光は赤色光に比し、冠根の発生を促すことは、前報(1956)——ただし詳細は未発表——、並びに Galston, A. W. 及び Baker, R. S. (1953) が述べているとおりであり、また写真にみられるように、赤色光が側根の発生を抑制することは、Torrey, J. G. (1952)のエンドウの根における観察と全く一致している。このような現象は、Galston らによれば、赤色光が発根抑制物質を生成するからである。以上の両色光のもとに生じた根の皮層細胞の収縮程度を比較したところ、大差は認め得なかつたけれど、赤色光区のほうがやや収縮度が大きであつた。根毛の長さにおいては、写真にみられるとおり、青色光がこれを短小にし、赤色光がこれを長く伸長させた。

Appleman, D. 及び Pyfrom, H. T. (1955) は、赤色光がカタラーゼ活性を大ならしめ青色光はカタラーゼ活性を低めると述べているから、色光に照らされる根の表皮の根毛の横伸長とカタラーゼの活性とが、密接な関係があると推定される。

カタラーゼ活性が大となれば、 H_2O_2 の分解が大となるので、パーオキシダーゼの作用する基質が乏しくなり、したがつてIAAが失活し難くなる。それゆゑ赤色光のもとに形成される根毛は、IAA含量の比較的が多い表皮に形成される根毛であつて、そのために根毛の長さが長くなると解すべきである。これにより、根毛の伸長度は、表皮細胞のIAAによつて左右されると推定され、また、ベンチデン発色法によつてはパーオキシダーゼを認知できない表皮細胞にも、パーオキシダーゼは含まれているものであると推定される。

引用文献

- 1) 雨宮 昭・明峯英夫・鳥山国土 (1956) : 農技研報 D, 6号
- 2) APPLEMAN, D. and PYFROM, H. T. (1955) : Plant Physiol. **30** (6)
- 3) 嵐 嘉一・新田英雄 (1955) : 日作紀 **24** (2)
- 4) 有門博樹 (1953, 1955) : 日作紀 **22** (1-2), **24** (1)
- 5) BOEKE, J. E. (1940) : Ann. Jardin Botanique de Buitenzorg. 50 (山崎伝, 1952 : 農技研報. B, 1 : 57による)
- 6) GALSTON, A. W. (1950) : Science Vol. **111**
- 7) GALSTON, A. W. and BAKER, R. S. (1953) : Amer. Jour. Bot. **40** (7)
- 8) GALSTON, A. W. and DALBERG, L. (1954) : Amer. Jour. Bot. **41** (5)
- 9) GALSTON, A. W. (1955) : Chem. Mode Act. Plant Growth Substances. Wye Coll. London
- 10) GLICK, D. (1949) Techniques of Histo— and Cytochemistry.
- 11) GOLDACRE, P. L. (1951) : Aust. Joure. Sci. Res. B **4** (GALSTON, 1955による)
- 12) HEIMSCH, C. (1951) Amer. Jour. Bot. **38** (7)
- 13) JENSEN, W. A. (1955) : Plant Physiol. **30** (5)
- 14) 川田信一郎 (1956) : 日作紀 **24** (3)
- 15) 三井進午 (1949) : 農及園 **24** (3及び4)
- 16) NAGAO, M. (1936, '37) : Repts. Tohoku Imp. Univ., 4 th Ser. 10, 11. (ÅBERG, B. : Ann. Rev. Plant Physiol. **8**, 1957による)
- 17) PILET, P. E. and GALSTON, A. W. (1955) : Physiol. Plant. **8** (GALSTON, 1955による)
- 18) 渋谷紀起 (1956) : 山形大学紀要(農) **2** (2)
- 19) 戸薙義次 (1950) : 農試報 68号
- 20) TORREY, J. G. (1952) : Plant Physiol. **27** (3)
- 21) TORREY, J. G. (1954) : Plant Physiol. **29** : 279-287

- 22) WETMORE, R. H. (1955) : Science, 121 : 626
 23) 山崎 伝 (1952) : 農技研報, B (1)

Summary

1) No morphological “-lysis” can be found in the so-called lysigenous tissue of cortex of the rice root, but the rows of contracted radial cells and enlarged intercellular canals appear normally in the mature zone. The process of contraction is shown in Plate-1.

2) The mechanism of contraction was studied. Histochemical localization of peroxidase (i. e. an oxidative enzyme for IAA) was searched by means of McJunkin's method, and it was found that peroxidase which was detected in procortex at the end of the meristematic zone disappeared in the cortex of the elongating zone, while it appeared in the inner and outer tissues apart from cortex (i. e. endodermis, pericycle and inner side of epidermal tissue). On those written in brackets, lignification occurred before long.

3) 0.05% IAA was pretreated directly to the root. It made the root excrete the nitrogenous substances (i. e. amino acids and others), especially in the elongating zone of the root. IAA solution induced similar excretion in young pollen of rice plants and root-nodules of soybean plants.

4) Contraction as mentioned above occurred more remarkably in the roots grown on seedling or in the seminal root than in those grown on adult plants, and occurred remarkably in the roots grown in KNO_3 and other potassium solutions but did not occur in those grown in NH_4NO_3 and other inorganic nitrogenous solutions.

5) According to the facts mentioned above, it is safely assumable that such elongation as to increase IAA induces the dissolution of cytoplasmic protein in cortical cells and the excretion of nitrogenous substances, so that the contraction of cells in cortex may occur. But it is not yet distinct why the contraction has to be radial and linear in older cortex.

6) Assumable excretion and transport must occur mostly towards root-tip and pericycle and partly towards epidermal tissue, and then IAA is transported according to the excretive stream. The contraction caused by the cytoplasmic excretion frequently appears just in the same phase with the formation of lateral roots. But neighbouring upon and down a lateral root, cortical contraction is not remarkable. This phenomenon should be dependent upon the consumption of IAA by the lateral root formation or the inactivation of IAA by the peroxidase of lateral roots.

7) The phenomena as mentioned above are seen to be the effects of feed-back of IAA, and a kind of feed-back is the transport with the excreted nitrogenous substances and another feed-back is lignification. The former has been found by the present author and the latter was reported by JENSEN (1955). JENSEN mentioned that pretreated IAA induced peroxidase, and that enzymatic activity produced a compound which appeared to be an intermediate in lignin biosynthesis.

8) Root-hairs grown under red light are longer than those grown under blue light. According to this fact, and to the experimental results of APPLEMAN & PYFROM (1955), GALSTON (1950) and GOLDACRE (1951), root-hairs should elongate dependently upon IAA, for the red light induces catalase activity and blue light reduces it, and when catalase dissolves H_2O_2 , hydrogen peroxide and peroxidase activity decrease, and IAA is not destroyed.