

負傷植物の治癒反応に関する研究 : II. 馬鈴薯の癒傷反応にみられる油滴状物

木場, 三郎
九州大学農学部植物病理学教室

<https://doi.org/10.15017/21450>

出版情報 : 九州大学農学部学藝雑誌. 16 (3), pp.403-410, 1958-03. 九州大学農学部
バージョン :
権利関係 :

負傷植物の治癒反応に関する研究

II. 馬鈴薯の癒傷反応にみられる油滴状物^{1,2)}

木 場 三 朗

Wound healings in cultivated plants

II. Oil-drop-like substances emerge in the wound reaction of potato tubers

Saburo Koba

I. 結 言

著者は、第1報¹⁾において、病原細菌側に有利な条件であつても、馬鈴薯の負傷後、7～8時間を経過すれば、ほとんど傷痕侵入が不可能となる事について述べた。この現象に係して、今までに種々の実験結果がある。

傷からの病菌侵入阻止については、3つの段階がある。

まず切断された細胞群の死滅と、裸出した1～3層の細胞に起る乾燥による枯死によつて生ずる機械的の防衛層の出現である。傷面には、澱粉粒や塩類の結晶がある。¹³⁾

次は負傷に対する馬鈴薯の自主的な反応で、最外層にある生きた細胞膜に沈着する Lignin と Suberin と Suberin 様物質である。その成因に関して2説があり、これらは死細胞の内容物が重合又は酸化によつて生じ、生きた細胞膜の外側に起るとする説¹⁾と、生きた細胞の原形質活動によつて生じ、細胞膜の内側に起るとする説^{4,8,13)}がある。これと連関して負傷面生細胞内の澱粉の消失が起り、^{4,14)} glucose の増加と呼吸の亢進、⁶⁾ 原形質の量の増加が起る。⁴⁾

これらの沈着物の確認には、負傷後すくなくとも20時間を要し、^{8,12,13,14)} 多くは24時間以上を要する。²⁾

従つて著者の第1報の結果に対し、その原因を明らかにするために種々の実験、特に短時間に起る原形質の行動の変化の中に、病害抵抗の状況を探る実験が問題となる。

II. 実験材料及び実験法

実験材料は第1報¹⁾に同じく、一定の大きさ ($10 \pm 2 \times 7 \pm 1.5 \times 5 \pm 1$ cm) の馬鈴薯 (男爵) を用い、その中心部の柔組織部の傷について実験した。

顕微化学的方法は Tunman-Rosenthaler 著の Pflanzenmikrochemie (2 Auflage) および今泉氏訳 Lison 著「組織化学および細胞化学理論と方法」第1版に従つた。

1) この研究は文部省科学助成研究費によつた。また吉井教授の御教示を賜わつた。併せて感謝の意を表する。

2) 九州大学農学部植物病理学教室業績。

特に記載がなければ、温度は 30°C、湿度は 91~98% である。

III. 実験結果

(1) 癒傷組織形成の一般的道程 (Fig. 1)

負傷面の切断された細胞層は、直ちに枯死萎凋し、細胞内容物は、直下の生細胞膜の外側に固着し、淡く褐変し、澱粉粒および塩類の結晶が、顕微鏡下で輝いて見える。はなはだしく乾燥している空気中では数層の細胞が次々と乾燥枯死して、つぎに記載する現象の出現が遅れる。

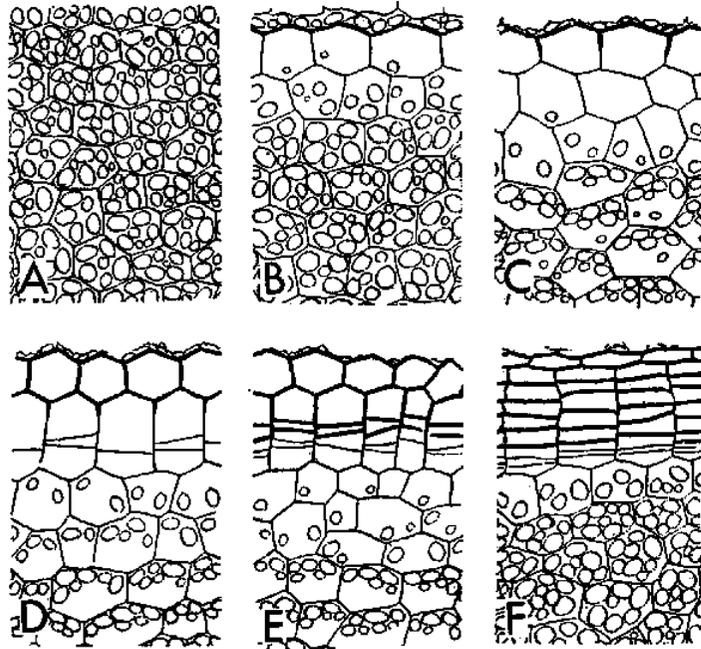


Fig. 1. Semi-diagrammatic expression of wound cork formation in potato tubers (Temp. 30° C. Humidity 91~97%)

A, B, C, D, E, and F represent the wound healings of potatoes 0, 1, 2, 5, 10, and 25 days elapsed after wounding respectively.

生きた第1層の細胞の、傷に面した細胞膜は、負傷後 12~16時間でスダン III 染色性となり、20~28時間で、フロログルシン塩酸でわずかに発色する。24時間で傷面1~3層の澱粉粒の減小又は消失がみえ、48時間では更に深部の細胞に及ぶ。2日目にはスダン III 染色は顕著となり、傷面細胞膜の上部が染まる。その後、傷面下数層の細胞の澱粉粒、原形質、核等は、傷面の側に偏在するようになるが、これは2日目に始まり、5日目には顕著となる、5日目には第1層細胞膜のすべてがスダン III 染色性となり、第2層の細胞膜は薄くなり、細胞は肥大し、原形質は充実して癒傷コルク形成層に変る。10日目頃にはすでに2~3層のコルク層を生じ、細胞分裂は極めて活潑である。25日目には、コルク層の形成はほとんど完成され、細胞分裂も極めて緩慢となる。澱粉粒、原形質、核の位置もす

べて正常に戻る。

これらの変化は、個々の細胞によつて互に多少異り、癒傷組織の形態は、材料の相違によつて相当差異があるので、第1図は半模式図をもつて示した。

以上の結果から、形態学的にみた治癒反応の完成にはきわめて長時間を要し、初期の Suberin, Suberin 様物質及び Lignin 等の形成がまず取り上げられねばならないことを示している。

Suberin 又は Suberin 様物質の沈着とコルク層形成の生理的関与の度の比較のために、これらと温度との関係を検した (Table 1)。

Table 1. Wound healing and temperature (Humidity 91~95%).

Temperature (°C)	Days elapsed after wounding									
	1	5	10	15	20	25	30	35	40	45
30	B	D	E	E	E	E	E	F	F	F
20	B	B	D	D	E	E	E	F	F	F
10	A	(C)	(D)	(D)	(D)	(E)	(E)	(E)	(E)	(E)

A, B, C, D, E, and F represent the stages of wound healing which were shown in Fig. 1. (C)-(E) represent the modified shape of C-E.

すなわち 30°C では、1日目に表面部の変化が起り、5日目にはコルク形成層が活動を始め、25日目にはほとんど完成する。これに対して 10°C では、上記の変化がそれぞれ5日目、15日目、45日目以上で起り、コルク層形成は著しく温度に左右せられ、Suberin 又は Suberin 様物質の沈着は、やや温度に無関係であることが解つた。

(2) 負傷面下の第1層細胞の細胞膜の変成

負傷面下の生きた細胞では、その細胞膜に Suberin 及び Suberin 様物質と Lignin とが集積される。

負傷後 24時間目の材料についての実験では、Suberin 様物質は、スダン III では褐色に片寄つた赤色に染まり、正常の Suberin とは異なる。これらの物質が細胞膜に沈着する状況については色々、異論があるが、メチル赤、ゲンチアン紫、サフラニン等を用いてその分布を検したところ、はじめ Suberin 様物質の沈着が、生きた細胞の細胞膜の外側(負傷面)に起り、ついでその内側に、Suberin と Lignin とが現われるものようである。

傷面を1時間流水で洗つて後放置すれば、Suberin 様物質の沈着とコルク層形成はなく、Suberin と Lignin の反応が現われることは、上記の推論を裏書するものと思われる。

この Suberin 様物質と Lignin の形成とを温度を変えて比較してみると、Table 2 に示す結果を得た。

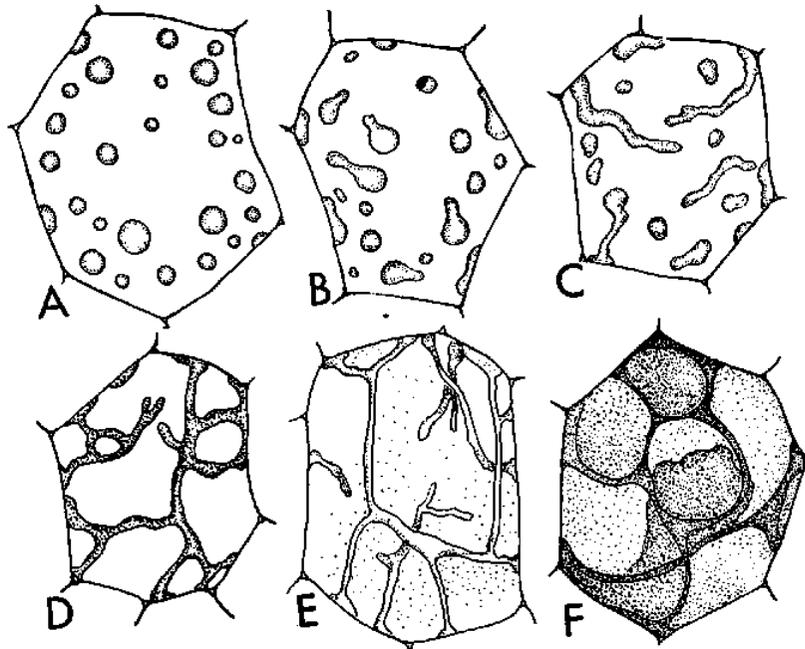
すなわち Suberin 様物質の沈着は、あまり温度に関係しないのに対して、Lignin 形成ははなはだしく温度に左右される。両者形成の時間的差異は、30°C で8時間、20°C で12時間、10°C で32時間である。したがつて両者は互に異なる関連を、癒傷の過程の上に持つと云える。

(3) 負傷面下の生きた細胞内にみえる油滴状物

負傷面直下の生細胞を、剃刀で薄く表面に平行に、はぎ取つて、これに 45~60% の濃硫酸を滴下すれば、はじめ澱粉が消失して、組織が透明になる。

Table 2. Relation between temperature and suberised deposit and lignin reaction (Humidity 90~98%).

Temp.	Staining	Hours elapsed after wounding																
		0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	32	48
30°C	Sudan III	-	-	-	-	-	-	-	±	±	±	+	+	+	+	+	+	+
	Phloroglucin+HCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±	+	+	+	+	+
20°C	Sudan III	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±	+	+	+	+	+	+	+
	Phloroglucin+HCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	+	+	+
10°C	Sudan III	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±	±	+	+	+	+	+
	Phloroglucin+HCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

Fig. 2. Oil-drop-like substances which emerge in the cells beneath the cut surface of potato tubers treated with conc. H_2SO_4 .

A, B, C, D, E, and F represent the wound reactions of the cells which elapsed 0, 2, 4, 6, 8 and 12 hours respectively after wounding.

細胞内には不定形無色の紐状物が多数みえるが、10分以内に之等は凝集して、負傷からの経過時間数に応じて、夫々一定の形をとるようになる (Fig. 2).

すなわち負傷当初では球形 (細胞膜に付着するものは半球形) をとり、その大きさは、最大 5μ 位から色々である。

2時間目では稍流れたような油滴状を呈し、4時間目ではさらに細長く伸びたものと、

油滴状物が混在する。6時間目には紐状物だけとなり、これは傷面細胞膜近くに集まる傾向がある。8時間目からその形は多様を極め始めるが、傷の側の細胞膜面に、一様に、又は断続的に、薄い膜状物が沈着していることがある。この頃、紐状物は淡紅色にみえるものもある。12時間目には膜状物は稍明瞭で、汚黄色に着色する。これを傷面に直角に切つてみると、上記の変化は、3～8層の深さにまで及んでいるのがみえる (Fig. 3)。

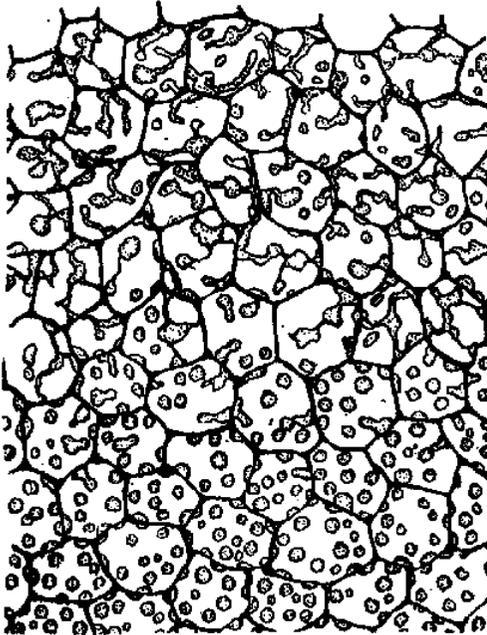


Fig. 3. Oil-drop-like substances appeared in the cell of potato tuber slice treated with conc. H_2SO_4 4 hours after wounded.

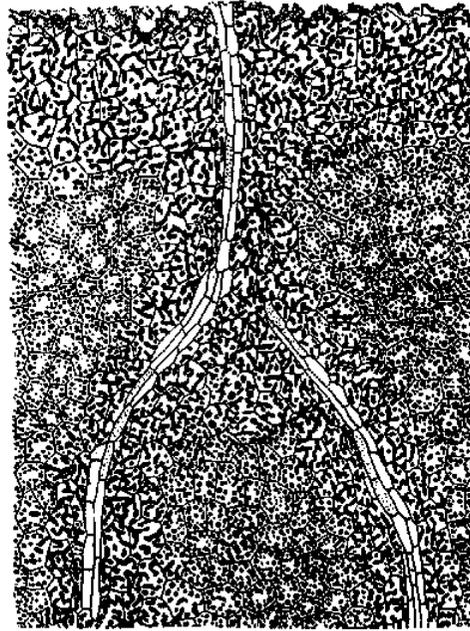


Fig. 4. Oil-drop-like substances in the cells around the vascular bundles of potato tuber slice 5 hours after wounded.

例外は多いが、その変化の度は、普通の柔組織では、Fig. 2 の D まで進むものが多い。維管束附近の柔組織では、Fig. 2 の C 又は D まで進み、Fig. 2 の E と F とは、負傷面直下の、第 1 層生細胞に見られるのみである。傷面に細い初生維管束が出ておれば、傷の刺戟は維管束を伝わって深部に達するものようである。すなわち、維管束周囲の柔組織細胞内の油滴状物は 1～3 層 (時に 5 層に達することもみている) の細胞において、Fig. 2 の C または D の形 (流れた油滴状) をとる。皮層下の発達した維管束が傷つけられると、その刺戟は芋の全体に及ぶことがある。同様の現象は、芋の発芽の際にも認められる。従つて、このような変化は、細胞活動の興起を意味するものであろう。

この傷面細胞群での油滴状物の変化は、傷が治るまで持続するが、傷より遠い細胞から復元し始めて、普通 25 日目頃には、コルク形成層直下の一層の細胞群に、Fig. 2 の B 又は C の形を取つて残る。その復元の状況は、大体、澱粉粒の位置の復元に一致するようにみえる。

維管束付近の柔細胞にみられる上述の変化も 1 時的で、さらに短い時間に復元するようであるが、例外が多く研究中である。

馬鈴薯の品種、含水量、Virus 含有、特に長期貯蔵に関係するようにみえるが、傷を受けても、油滴状物の変化が、全く起らぬ場合がある。この場合にも、傷面の Suberin 様物の沈着や、枯死細胞による傷面の褐変は起るのであるが、Lignin の反応やコルク層の形成は全く起らず、馬鈴薯の切断片は、漸次水分を失つて萎縮し、ついに乾燥枯死する。このような傷面に水を与えて後、病菌を接種すれば、負傷後 3 日目の傷からでも容易に侵入発病する。一般に、Suberin 様物質の沈着には厚薄がありまた亀裂があり、恐らく病原菌の侵入を完全に防止し得ないものであろう。

以上の実験結果から、油滴状物の変化と治癒反応との間に密接な関係があることが解る。しかし、Fig. 2 の A, B, C, D の 4 者と、E, F の 2 者との間の連続的な関係が良く解らない。更に追試中である。

(4) 負傷面下の生細胞内に現われる油滴状物の定性反応

馬鈴薯切片を濃硝酸で処理すれば、硫酸を使用した場合と同様な油滴状物がみられるが、球は小形で、紐状物は細い。濃塩酸では、全面透明となり、全く現われない。

キシロールまたはエーテルに浸漬後、濃硫酸処理すれば現われるが、アルコール (99%) または苛性加里 (20%) に浸漬後の濃硫酸処理では全く現われない。切片を 5 分間煮沸後、濃硫酸処理すれば現われる。このものは 24 時間、流水で処理しても消失することはない。スダン III、シヤハール赤、メチル赤、サフラニン、ゲンチアン青、フロロゲルチン塩酸、コットン青等で染まらぬ。Millon, biuret, ninhydrin 反応はない。Fehring 反応及び Trommer 反応はいずれも負の結果であつた。フェノールに対する銀親和反応及びアゾ反応は呈色しない。

以上を要するに、この油滴状物の性格は不明であるが、その形の変化自体にも、相当重要な意味があるのではないかと考えられる。

IV. 考 察

この実験の結果を総合すれば次のとおりとなる。負傷馬鈴薯のコルク層形成は勿論、Suberin, Suberin 様物質及び Lignin の沈着にも相当時間がかかるので、負傷後 7~8 時間で病原細菌の侵入を阻止するという実験結果を充分説明しない。

Hill¹⁾は馬鈴薯の負傷部切片を濃硫酸処理し、澱粉とセルローズを溶解し、Lignin と Suberin の形成を観察したが、癒傷反応の一部をなす、油滴状物を見逃している。しかし isotropic な Suberin 様物質と、anisotropic な Suberin とを区別し、これらが何れもフェノール反応を呈することをみた。

この実験からみると、Suberin 様物質による防衛力は決定的なものではないようにみえる。

この実験で最も問題となるのは、Fig. 2 の中での A, B, C, D と E, F の 2 群が、どう関連するかにある。此の両者は恐らく別のもので、此の E と F は多分、上記の anisotropic な Suberin や Lignin の初生物かも知れない。ただ、之等の染色反応及びフェノール反応は全く認められない。また其のような初生物が、病原細菌侵入を防止し得るか否かも疑

が濃い。

Hopkins⁵⁾は、負傷後8時間目に、馬鈴薯傷面細胞のグルコースの量と呼吸の量が最大に達すると報告している。この実験と直ちに結びつけて考察する事は危険であるが、防衛反応の第1の段階は、従来考えられていた細胞膜の変成の他に、この実験にみられる油滴状物の変化の状況が問題になり、生きた原形質が持っている、抵抗力の変化が考慮されるべきであろう。

V. 摘 要

馬鈴薯が負傷すれば、まず傷面細胞に Suberin 様物質の沈着が起り、ついで Lignin 及び Suberin が形成され、最後にコルク層が作られる。しかし之等の検出までには、負傷後すくなくとも20時間を要し、負傷後8時間には、既に病菌の侵入を阻止する事実を説明しない。

50%内外の濃硫酸で処理した切片に現われる油滴状物の変化の状況は、病原菌侵入阻止と関連があるらしい。

維管束が傷けられると、維管束周囲の細胞にも速かに油滴状物の変化が起るから、傷の刺激は速かに深部に伝わるものらしい。

引用文献

1. Appel, O., 1906. Ber. Deut. Bot. Gesell., 24: 118~122.
2. Appel, O., 1915. Science, n. s., 41: 773~782.
3. Bretfeld, H. F., 1879. Vernarbung Jahrb. Wiss. Bot., 12: 132~146.
4. Hill, L. M., 1939. Phytopath., 29: 274~282.
5. Hopkins, E. F., 1927. Bot. Gaz., 84: 75~88.
6. Koba, S., 1957. Sci. Bull. Fac. Agr. Kyushu Univ., 16: 397~401.
7. Kny, L., 1896. Ber. Deut. Bot. Gesell., 14: 378~391.
8. Kurssanov, A., 1943. Biol. Abst., 18: 9335.
9. Massart, J., 1898. Mem. Acad. Roy. Sci. Belgique, 57: 214~227.
10. Mc Millan, H. G., 1919. Jour. Agr. Res., 16: 279~303.
11. Olufsen, L., 1903. Beih. Bot. Centbl., 15: 269~308.
12. Priestley, J. H., 1921. New Phytologist, 20: 17~29.
13. Priestley, J. H., and Woffenden, L. M., 1923. Ann. Appl. Biol., 10: 96~115.
14. Prunet, A., 1891. Rev. Gén. Bot., 3: 166~175.

R é s u m é

Several bacterial pathogens of potato tuber cannot infect from the wound about 8 hours after wounding.

When the sections of the wounded part of potato tubers were dipped in 50 % H₂SO₄ and examined by the microscope, oil-drop-like substances emerged in the cells of parenchymatous tissue (Fig. 3). In 3~8 layers of the cells, which lay under the cut surface, those oil-drop-like substances changed their forms gradually after wounding, being spherical at first, somewhat amoeboid at 2~4 hours, somewhat fibrous at 4~6 hours, and membranous at 8~12 hours later respectively (F.g. 2).

About 10 days after wounding, those transformations were recovered. The spherical oil-drop-like substances appeared again in all cells, with the exception of a layer of cells under the wound cork cambium.

Above phenomena were also found out in the cells around the vascular bundles, which lay far from the site of wounding. The stimulation of the wounding seems to spread by the aid of the vascular bundles (Fig. 4).

The formation of suberised deposit has no connection with that of suberin and lignin (Table 1 and Table 2). All of them are seemed to be formed too late to prevent the wound infection of bacterial pathogens of potato tubers (Fig. 1).