

作物体における酸性ホスファターゼの組織化学的研究*

I. 菜種 (*Brassica napus* L.) における分布

池 田 三 雄

Histochemical Studies on the Acid Phosphatase in the Several Crop Plants

I. Localization of the Enzyme in Rape Plant

Mitsuo IKEDA

(Laboratory of Crop Science)

I 緒 言

ホスファターゼは種々のリン酸エステルの水解並に合成を触媒する酵素であるが、その中の酸性ホスファターゼが植物に多く含まれていて、色々な生理現象に関係していると考えられる。近年、OLSEN ('50) は玉蜀黍や豌豆に 1.5 p.p.m. の 2·4-D を撒布すると根のホスファターゼ活性が増大すること、COWIE ('53) は小麦に 5 p.p.m. と 500 p.p.m. の 2·4-D を撒布して地上部のホスファターゼが減少したこと、SCHEURMAN ('52) はアスコルビン酸によつてホスファターゼが活性化すること、EHRENBERG ('54) は *Kalanchoe* で明期と暗期を繰返し与えるとそのホスファターゼの活性度も周期性をもつこと、田川等 ('54) に馬鈴薯の萌芽時にホスファターゼが急激に増大することを報じている。さらに WANNER ('52) はこの酵素が同化養分の移行に重要な働きを有するのではないかと考え、WILSON ('55) は石細胞の原形質連絡に関係を有するかも知れぬと示唆している。

而して、組織化学的研究法によれば、生物の器官、組織並びに細胞構成物における化学物質の正確な所在を知り得て、生体内の酵素の働きを形態と結びつけて研究することが出来る。植物のこの酵素については GLICK 等 ('45, '46) が小麦の種子及び芽生に用いて以来、KUGLER 等 ('47) が玉蜀黍の発芽種子に、KATHERINE ('49) が胡瓜の果実に用いた他、上記 WANNER や WILSON 等も用いている。しかしながら今迄の成果はまだ不十分で、さらに多くの作物の組織について調査することは作物の生理現象の理解に役立つものとする。

II 材料及方法

菜種の品種は農林 14 号で、本学農場栽培の個体とシャーレ上にて発芽させた芽生を用いた。

方法は GLICK and FISCHER ('46, '49) によつたので、その原理は、アルコールで固定した切片を鉛イオンの存在のもとで適当な基質中に入れて、酵素の作用によつて遊離したリン酸がリン酸鉛となつて酵素の所在位置に沈澱したものを硫化アンモンで黒褐色の硫化鉛となして検鏡するものである。すなわち 70% アルコールで 1 時間固定、n-ブチルアルコールで脱水し 60°C 以下でパラフィンに埋没、切片とした。基質液の組成は次の通りである。

0.1 M	醋酸緩衝液	4 cc.
0.1 M	硝酸鉛	1 cc.
蒸溜水		0.6 cc.
3.2 %	グリセロリン酸ソーダ	0.4 cc.

基質の消化時間は 37°C で 20 時間とし、対称のプレパラートは基質液のグリセロリン酸ソーダを蒸溜水で置換えたものに浸した。これが終つた後、切片を蒸溜水で洗い、さらに 2% の硫化アンモ

* 昭和 20 年 3 月 31 日 日本作物学会第 107 回講演会に於て発表。

ン液に2~3分入れて後蒸留水で洗つた。この後デラフィルドのヘマトキシリンで後染色し、アルコールで脱水、キシロールを通してバルサムで封じた。

III 実験結果

芽生において幼根では表皮に酵素の存在は見られず、皮層の部分に多く中心柱に少なかった (Fig. 3)。少々古い根では酵素は減少し、新しい側根の先の部分に多かつた (Fig. 5)。展開しない子葉や第1葉には非常に多く (Fig. 1)、少々古くなつた子葉では表皮の部分には見られなかつた。 (Fig. 2)。

圃場固体において、葉柄や茎では篩部の部分のみ見られたが、幾らかの導管膜にも見られた (Fig. 7)。そして緑葉に比し黄変色した葉では少なかった。子房では胚珠に最も多く、珠柄や隔膜にも次いで多いが、心皮には管束以外は少なかった。 (Fig. 9)。花柱においては柱頭組織や誘導組織にのみ多く存在することが分つた (Fig. 6)。

IV 考察

芽生幼根における観察結果は GLICK ('46) の報告と一致しているが、茎と異なつて皮層の部分に多い理由については今後攻究する必要がある。なお、さらに相当古い根について調査したい。成葉や茎の篩部に多いことは WANNER ('52) の云う通りであるが、導管膜にも多少認められることは一考を要する。このことは WILSON ('55) がココヤシの果実の石細胞の膜孔中に存在を認めていることと聯関がありそうに思える。

子房中では胚珠の部分に多いことは WILSON ('49) や WILSON, CUTTER ('52, '55) がそれぞれ胡瓜やココヤシで認めているのと全く同様である。そしてこの他芽生において若い根に多いこと、成体の黄変色葉に少ないこと等から Van FLEET ('52) や WILSON ('55) の述べているように酸性フォファターゼは細胞分裂が急速に行われて、原形質合成の盛んな部分や維管束分化の盛んな部位に多いと云える。田川等 ('55) が馬鈴薯の萌芽時の芽に多いと云つていることも同様である。

花柱の柱頭組織や花粉誘導組織にのみ多いことはこれまでの報文にないことであるが、煙草の雌蕊での観察も同様であつた。このことは花粉管の伸長とホスファターゼの間に何か関係がありそうで興味深い。

V. 摘要

菜種における酸性ホスファターゼの所在を GLICK and FISCHER の方法を用いて組織化学的に観察した結果は次の通りである。

1. 芽生の子葉及び第1葉に多く存在した。
2. 葉や根での結果は若いものに多くて古いものに少なかった。
3. 若い根では皮層に多く、中心柱に僅で、表皮には見られなかつた。
4. 子房では胚珠、珠柄、隔膜と心皮の管束部に見られた。
5. 成葉の葉脈や葉柄では篩部にのみ存し、僅かに導管膜に見られた。
6. 花柱では柱頭組織や花粉誘導組織にのみ存し、花粉管の伸長とホスファターゼの間に何か関係があることを想わせた。

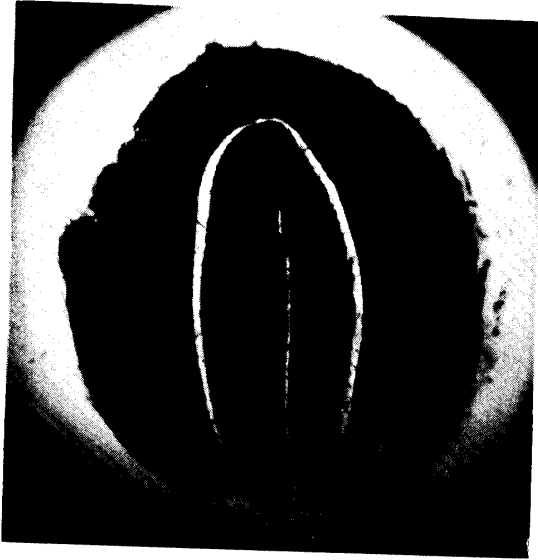


Fig. 1.



Fig. 2.

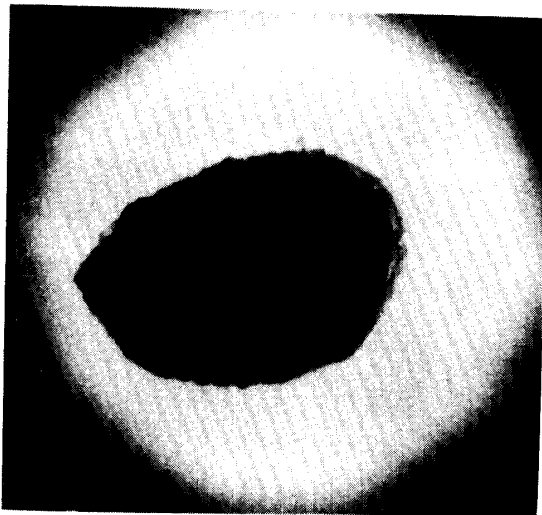


Fig. 3.

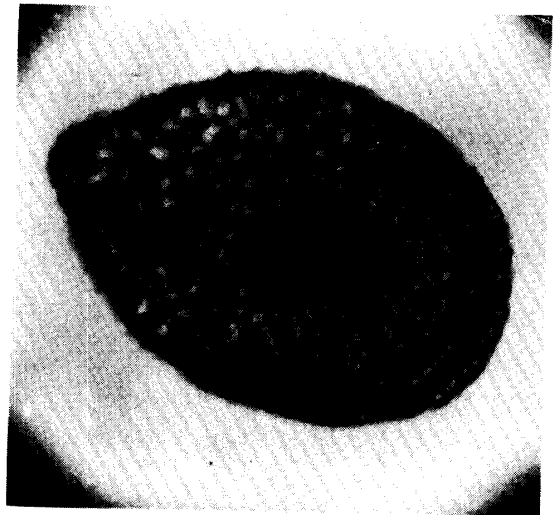


Fig. 4.

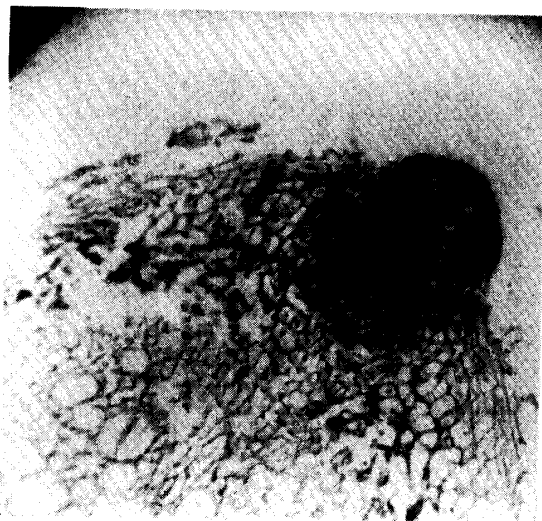


Fig. 5.

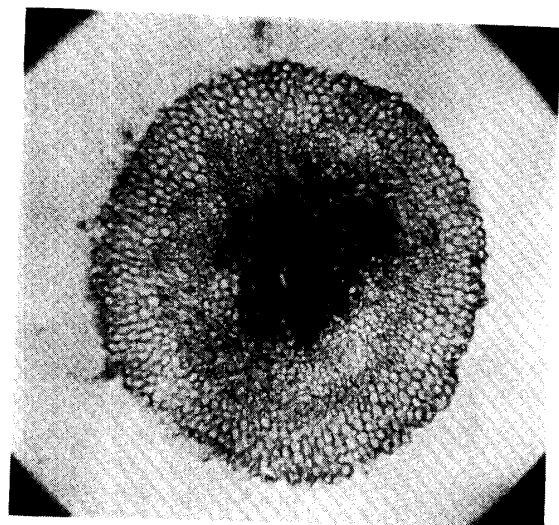


Fig. 6.

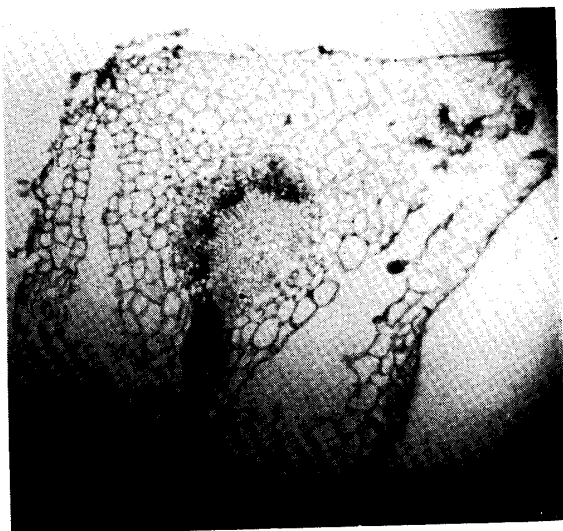


Fig. 7.



Fig. 8.



Fig. 9.

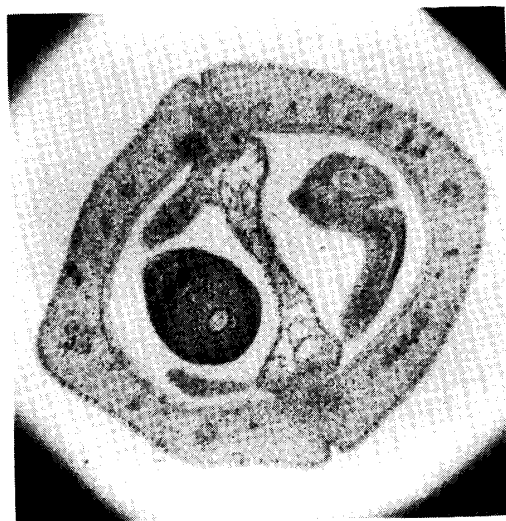


Fig. 10.

Explanation of the plates.

- Fig. 1. Transverse section of the cotyledon of the sprout. $\times 30$
 Fig. 2. Transverse section of the cotyledon of the older sprout. $\times 40$
 Fig. 3. Transverse section of the root of the sprout. $\times 70$
 Fig. 4. Control section of Fig. 3. $\times 100$
 Fig. 5. Transverse section of the root with the primordial root. $\times 120$
 Fig. 6. Transverse section of the style. $\times 70$
 Fig. 7. Transverse section of the leaf rib. $\times 60$
 Fig. 8. Transverse section of the petiole. $\times 50$
 Fig. 9. Transverse section of the ovary. $\times 60$
 Fig. 10. Control section of Fig. 9. $\times 60$

The presence of the phosphatase is shown deep black in these plates.

文 献

- 1) WORT, D. T., and L. M. COWIE : *Plant Physiol.* **28**, 135—139 (1953).
- 2) GLICK, D., and E. E. FISCHER : *Arch. Bioche.* **8**, 91—96 (1945).
- 3) — , and — : *Arch. Bioche.* **11**, 65—79 (1946).
- 4) — : *Techniques of histo- and cytochemistry.* (1949).
- 5) KUGLER, O. E., and E. H. BENNETT: *Stain Techn.* **22**, 9—15 (1947).
- 6) OLSEN, O. E. : *Abst. and Western section Meeting. Amer. Soc. Plant Physiol.* (1950).
- 7) 田川, 岡沢 : 日作紀事 **23**, 1—5 (1954).
- 8) VAN FLEET, D. S. : *Bot. Rev.* **18**, 354—398 (1952).
- 9) WANNER, H. : *Planta* **41**, 190—194 (1952).
- 10) WILSON, Katherine S. : *Amer. Jour. Bot.* **36**, 806—807 (1949).
- 11) — , and V. M. CUTTER, Jr. : *Amer. Jour. Bot.* **39**, 57—58 (1952).
- 12) — , and — : *Amer. Jour. Bot.* **42**, 116—119 (1955).

R é s u m é

The present histochemical observations on the localization of the acid phosphatase in rape plant (*Brassica napus* L.) have been made by means of leadphosphate method of Glick and Fischer. The results obtained are as follows :

1. Very high phosphatase activity is present in both cotyledon and the first leaf tissues of sprout. (Fig. 1.)
2. In the young root, the enzyme is abundantly localized in the cortex, and slightly in the stele. (Fig. 3.)
3. The enzyme, in the ovary, is chiefly localized in the ovule, funicle, placenta and vascular bundle of the carpel. (Fig. 9.)
4. In the adult leaf ribs and petioles the phosphatase is almost confined to the phloem and still less detected along some vessel walls. (Fig. 7. 8.)
5. It is observed in the leaf and root that the enzyme activity predominates in the younger tissues and decreases as the tissues age.
6. The presence of phosphatase is demonstrated in the stigma and pollen-conducting tissues (Fig. 6.), hence it is suggested that phosphatase has some relationship to the elongation of the pollen tube.