

高等植物におけるホウ素の役割 (第3報)

ペクチン生成におよぼすホウ素の影響*

山 内 益 夫

(鳥取大学農学部農芸化学科)

The Role of Boron in Higher Plants (Part. 2)

The Influence of Boron on the Formation of Pectic Substances

Masuo YAMANOUCHI

(Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, Tottori University)

Sunflower and soybean plants were grown with and without boron in sand and water cultures, respectively. Pectic substances in the leaves of sunflowers were determined by using the macro-analytical method. On the other hand, the determination of pectic substances in the root tips of soybeans were made by using topo-chemical and semimicro analytical methods.

Every analytical result showed that the concentration of pectic substances was higher in boron deficient plants than in normal ones. Concerning such a higher rate of pectic substances caused by boron deficiency, it was assumed that the formation of pectic substances continued normally although, at the same time, because of boron deficiency, new cells were not being produced.

緒 言

前報¹⁾において、同一土壌に生育する植物13科33種52点を用いて、ペクチン様物質とB含量との相関をとった結果、0.2%シュウ安可溶性ペクチンと水溶性Bの間に正の相関を認めた。しかし、この得られた相関は、Bが植物体内で減少するにつれて、ペクチンの生成が直接阻害されて行くというような代謝での因果関係に由来するものではないと推論した。

これまでも、ペクチン生成がB欠乏によって変動するか否かを検討した報告は少なくない。たとえば、Johnson²⁾はB欠乏の植物は組織にペクチン物質が認められないか、あるいは非常に少ないことを指摘し、一方、Baker³⁾はB欠乏植物の葉は、正常な葉よりもペクチン物質やペントーザンの多いことを認めている。このような相反する結果は、B欠乏の発展段階の相

違に基づき可能性が大きいと思われるが、この点上記の報告からはあきらかでない。B欠除栽培した植物での、処理後短期間に生ずる代謝異常の追跡はあまり例がないが、Skok⁴⁾は¹⁴Cでラベルしたペクチン構成成分の取り込み実験から、Bがペクチン代謝に何らかの関連をもつとしても、それは、ペクチンの主成分である α -D-ガラクトロン酸、ガラクトースあるいはアラビノースなどの生成にBが必要であるということではないと述べている。

以上のように、ペクチン生成とBの関係に関する既往の研究からは、前述の推論をうらずけることは出来ない。

そこで、前報¹⁾の推論を確めるために本実験を行なった。

実験方法

1. ヒマワリの栽培： ポリエチレン製容器 (30×38×11cm) に洗滌した石英砂を充填し、ヒマワリ (ロシヤ大輪) を容器当り40粒播種した。発芽後第1表に示す組

第1表 ヒマワリの培養液組成 (砂耕) (ppm)

要素	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Cu	Zn	Mo
濃度	300	30	180	480	300	1.0	0.2	0.2	0.2	0.02

7日毎に500ml添加, B処理: +B区0.05ppm B.-B区0ppmB

成の培養液を7日毎に500mlあて添加した。また、その間、適宜、脱イオン水にて水分を補給し、室内にて栽培した。B処理は、B無添加区と添加(0.05ppmB)区の2処理である。

2. 大豆の栽培： 大豆種子(早生緑白鳥)を砂床に播種し、根長が約3cm位になってから(2日)培養液に移植した。用いた培養液の組成は第2表のとおりである。この基本培養液にB添加(0.3~0.5ppmB)および

第2表 大豆の培養液組成(水耕) (ppm)

要素	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Cu	Zn	Mo
濃度	22.8	5.6	6.8	32.8	1.6	1.0	0.075	0.075	0.075	0.003

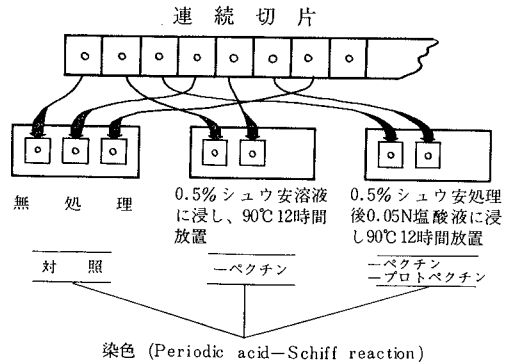
B 処理: +B区0.3~0.5ppmB, -B区0ppmB

B無添加(以後-B区と略称)の2処理を行ない実験室内で栽培し実験に供した。

なお、-B区の培養液中の水および供試試薬等に由来するBの汚染は0.002ppmであった。

3. 分析法: i) ヒマワリのBおよびペクチンの分析は前報¹⁾に述べた方法を用いた。

ii) トポ化学分析法。Jensenの方法⁵⁾を若干変形して用いた。その概要を第1図に示した。常法によりミク



第1図 ペクチン様物質に対するトポ化学的操作手順

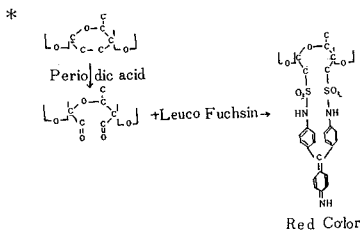
パラフィン溶除後、所定の溶液にスライドのまま浸し、ペクチン、プロトペクチンを溶失させる。その後細胞壁を染色し、その着色度の減少よりペクチン、プロトペクチンの量を比較する。

ロトームによる連続切片(厚さ9ミクロン)を作り、3枚のスライドガラスに順次はりつける。パラフィンを溶除したのち、ペクチン、プロトペクチンの順に抽出する。この場合、プロトペクチン抽出処理では貼付剤が加水分解をうけるため、切片の流失する恐れがあるから特に注意を要する。

抽出を終えたスライドは充分水洗後PAS(Periodic Acid-Schiff reaction)法⁵⁾(脚注参照)*によって染色する。次いで、検鏡、撮影し半定量的判定を行なった。

ルテニウム赤および塩酸ヒドロキシルアミン等によるペクチンの直接染色法は、それらによって着色される部分の多くが、0.5%シュウ安でペクチンを溶出した試料についても着色されることから、ペクチン量の推定には適さないと考えられた。

iii) 大豆根端中のウロン酸含量。当該の大豆根を先端から1mm毎に切断し、10個の切片を得る。各部位の切片を80%アルコールに一夜浸漬する。その切片2~5個(濃硫酸で加水分解した場合に着色しない量)につき、Jensen & Aston⁶⁾のカルバゾール法を若干改変して



ウロン酸定量に用いた。すなわち、上述切片を小試験管に入れ、95%アルコール 0.5mlを添加する。次いで、濃硫酸 2.5mlを加えて、20分間煮沸水中で加温した後、ただちに冷流水にて10分間冷却する。その溶液に 0.1%カルバゾール・アルコール溶液 0.1ml添加し充分かく拌する。1時間静置後、波長535nmで吸光度を測定した。結果はガラクッロン酸 (0~20 μ g) で作成した検量線を用いて、切片当たりのガラクッロン酸相当量として算出した。

なお、温湯可溶部については次のようにして行なった。切片 5~10個を乳鉢で磨砕後80%アルコールで小試験管に洗い込む。一夜放置後、遠心分離し上澄液を捨てる。残渣に脱イオン水 10ml添加し、ゆるい栓をして、90~95 $^{\circ}$ Cの熱水中で5時間加温抽出する。冷却後、遠心分離し上澄液を小試験に採る。それを、熱水中に入れて蒸発乾固する。これにつき、カルバゾール法を適用して温湯可溶画分のウロン酸量を求めた。

結果と考察

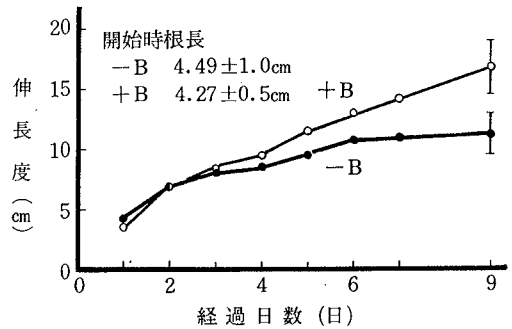
前報¹⁾では各種植物を対象として、ペクチン含量と水溶性B含量との間に正の相関を認めたと、その際、この関係はペクチン生成にBが直接その代謝に関与しているという因果関係にもとづくものではないと推論した。したがって、この点を確かめるために、まずB処理をして栽培したヒマワリの、Bとペクチン物質を定量した。その結果を第3表に示した。

-B区の2,3葉は栽培20日目頃より黄化、萎縮のB

欠乏症を呈するに到った試料である。1葉は収穫期まで肉眼的な欠乏症を認めなかった。Bの分析値もこの観察をうらざける結果となっている。一方、ペクチン含有率をみるといずれの葉においても-B区の方が高くなっている。特に欠乏症があらわれている2,3葉において対照区との差が著しくなっている。この結果はあきらかに前報¹⁾の推論を肯定するものである。

なお、この栽培期間では-B区と+B区の対比で各葉の乾物重に差がみられないので、-B区の場合、むしろB欠乏によりペクチン生成が促進されているようにみうけられる。そこで、植物におけるB欠乏症の発生がペクチン過剰の結果であるか否かについて、大豆の根の生長点附近を対象として検討した。

B処理を行なった栽培期間中の大豆根の伸長の推移は



第2図 大豆根の伸長に及ぼすBの効果

図中の測定値は10個所の平均値であり、9日目のたて線はその標準偏差 (σ) を示す。

第3表 ヒマワリ葉身中のB及びペクチン含量

	- B			+ B		
	1葉	2葉	3葉	1葉	2葉	3葉
	g/34ヶ体					
乾物重	0.85	0.63	0.43	0.79	0.60	0.49
	μ g/g			μ g/g		
水溶性 -B	21.2	8.4	9.0	56.3	41.8	28.1
0.5N 塩酸可溶性 -B	30.9	16.1	17.0	102.8	90.3	65.5
	mg/g			mg/g		
ペクチン	79.7	89.7	93.1	68.1	59.4	66.5
プロトペクチン	48.3	48.0	44.6	53.9	46.2	40.5

砂耕 30日

第2図に示すとおりである。また、栽培7日目の大豆根の状態は写真1に示すとおりである。第2図からあきらかなように、移植後4日目頃より-B区の根の伸長が対照区に比し減少を始め、6日目以後は伸長を停止する。写真1からもうかがわれるように、-B区の根は伸長が遅れるとともに、側根発生部位が対照区に比し著しく先端近くにまでおよんで

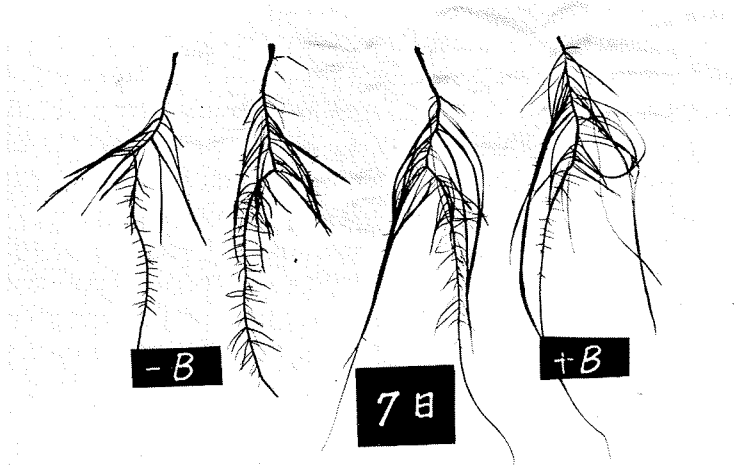


写真 1 大豆根の状態

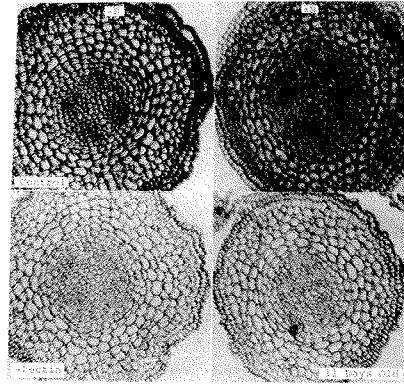
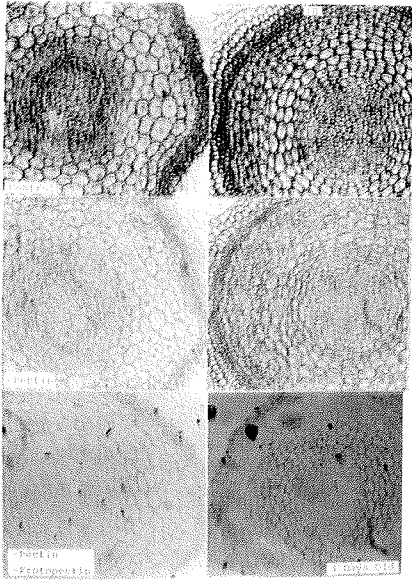


写真 2, 3 大豆根分裂域の細胞膜組成
各B系列において、上部から下部への赤色の減少量がペクチンあるいはプロトペクチン量に相当する。

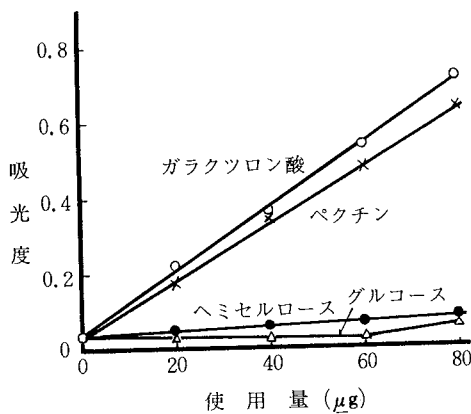
いる。正常根がいわゆる伸長域に側根を発生しないのと対照的で、B欠乏根はあたかも伸長域が消失するような観を呈する。この頃になると、トマトで報告されているB欠乏に起因するといわれる根端のケイ光(RNA由来)の消失するのが認められる。

なお、栽培6日後の根中のB濃度は、それぞれ、-B区で14.5(うち水溶性2.2), 対照区で25.3(うち水溶性8.2) ppmとなっている。以上の様に、典型的なB欠乏症を発現する品種と栽培法で得られた大豆根を以下の実験に供試した。

写真2, 3は移植後3日目と11日目のペクチン様物質の量をトポ化学によって推定するためのもので、各写真の上段のブロックから下段のブロックへの赤色の減少量が、ペクチンあるいはプロトペクチンの量に対応しているわけである。対象部位は分裂域に属する部分である。それ程明瞭ではないが、いずれも-B区の方がペクチンが多い様に見える。

この点をさらに定量的に確めるために、セミクロ法ではあるが、根端中のウロン酸量をもって、ペクチン量を推定するべく、さらに、次の実験を行なった。

第3図はペクチン、グルコースおよびヘミセルロース

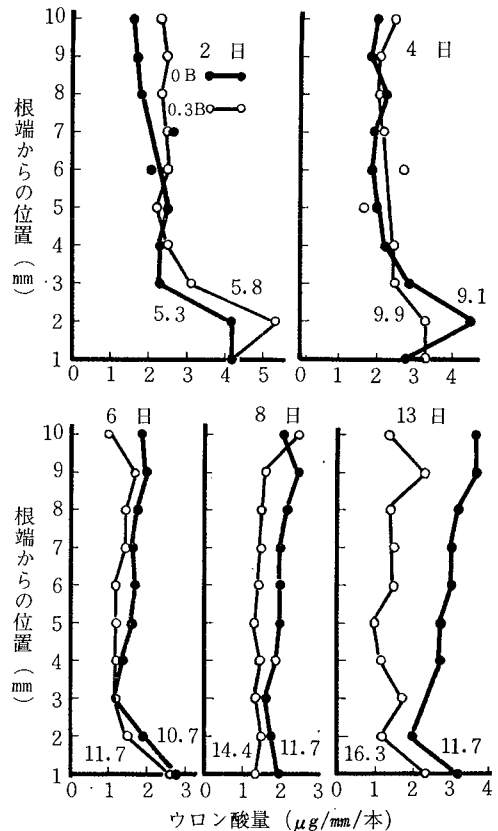


第3図 ペクチン、ヘミセルロースおよびグルコースのカルバゾールによる発色

グルコース、ガラクトツロン酸、ペクチン (Citrus) は市販品、ヘミセルロースは大豆根より調整したものをを用いた。

(大豆根より調整)量とウロン酸量との関係である。この結果から、ペクチン以外の物質によるであろう呈色は無視することが可能であると考えて論議することとした(糖の場合は、前処理としてアルコール可溶部を除いてあることも考りよされる)。

B処理した水耕液で栽培された大豆根端中のウロン酸量の経時的な推移は第4図に示すとおりである。本実験においてもB欠除処理において、大豆根端のウロン酸(ペクチン)量は対照区に比し減少することはなく、むしろ増加するのがうかがわれる。しかし、外観的にB欠乏症が明確となる時期(4~6日目)よりも以前にウロン酸の量の増加は認められず、欠乏症が明確となり、それ



第4図 根端切片中のウロン酸量の変量に及ぼすBの影響

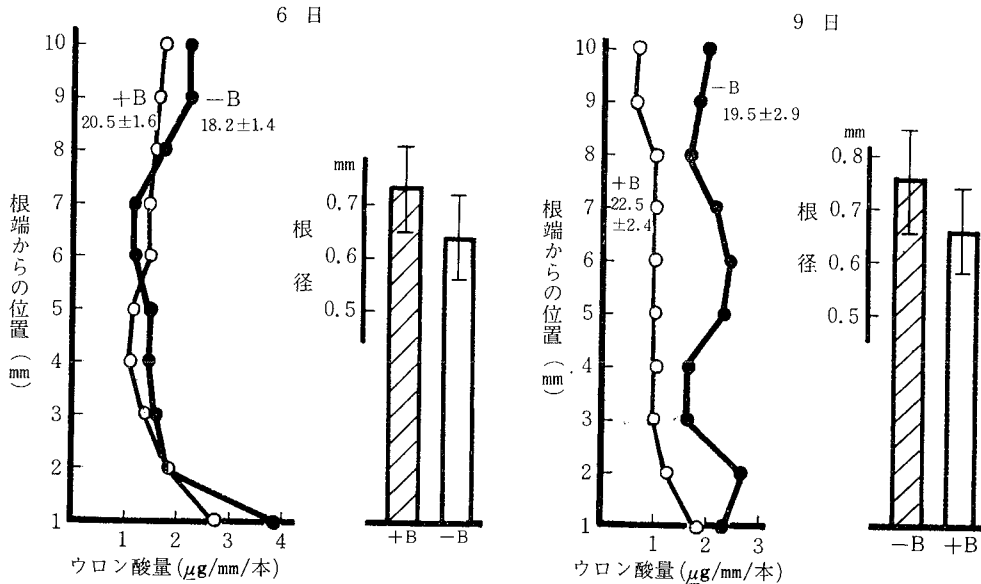
図中の数字はその時の根長 (cm) を示す。

が発展するにつれてウロン酸量が増加していくようになりうけられる。このことは、先述のトポ化学的手法の場合に認められた、3日目ですでに-B区のペクチン量が対照区に比して多い様に見うけられるのとは異なっている。細胞レベルでのB欠乏の有無について、現在論及することは出来ないで、両方の結果を直接比較することは困難であるが、B欠乏は生長点で最初に発生するというこれまでの知見から類推すれば、トポ化学での対照となった細胞群では、すでにB欠乏がかなり進向していた

ということかもしれない。

セミマイクロ定量の場合、対象となる根の太さが-B区と対照区では異なり、前者が大であることが観察され

る。したがって、切片当たりのウロン酸量算出では、その容量の差が効いて、-B区のウロン酸量が大きくなる可能性も存在する。そこで、根径の肥大の状況とウロン



第5図 大豆の根径肥大及びウロン酸含量に及ぼすBの影響

根径は根端より1.5cmの位置の直径を測定した。図中の数字はその時の根長(cm)を示す。

第4表 大豆根端中の温水可溶ウロン酸の割合

根端からの位置 (mm)	全ウロン酸量 (µg/本)				温水可溶部割合 (%)			
	5日		10日		5日		10日	
	-B	+B	-B	+B	-B	+B	-B	+B
1	2.27	2.67	2.50	2.00	36.6	87.4	40.0	42.0
2	3.03	2.33	2.00	1.20	46.5	76.0	46.0	70.0
3	2.67	1.47	2.17	1.50	46.9	87.0	42.4	63.3
4	2.33	1.33	2.93	1.63	30.0	73.7	32.8	63.3
5	2.67	1.50	3.00	1.83	30.8	45.3	39.0	68.7
6	2.34	2.17	3.50	2.37	50.0	42.9	27.5	38.8
7	2.56	2.13	3.50	2.83	30.6	39.0	23.7	29.3
8	2.47	2.13	3.00	3.00	48.6	39.0	39.0	28.0
9	2.27	2.13	2.83	3.17	52.0	37.6	27.9	31.5
10	2.17	2.67	3.00	2.50	53.9	27.0	31.7	31.6

全ウロン酸量は、温水可溶部と残渣中のウロン酸の含量より求めた。

酸量について調査した。その結果を第5図に示した。ウロン酸量に差異がない6日目に、すでに-B区の根径が対照区より約0.1mm大となっており、ウロン酸量に差異が認められる9日目においても根径の差異は6日目とあまり変わっていないことが判った。この結果から、B処理による根端中のウロン酸量の差異は、対象切片の容積の差に基づくよりは、単位容積当たりのウロン酸濃度の差異によるものであると判断される。

一方、それらウロン酸の存在状態については、第4表に示すとおりである。いずれの経過日数日においても、根端5mmまでは、対照区の温水可溶性画分のしめる割合が-B区のそれよりも著しく高くなっている。また、6mm以上の所では、処理による差は小さい。これらの結果から、-B区では、ペクチンは生成されるが、新たに細胞が出来ない⁸⁾ために、既に存在する細胞壁に結合して組織化されていく方向をとっていることがうかがわれる。

以上を要するに、前報⁷⁾の推論どおり、B欠乏によってペクチンの生成阻害あるいは分解促進ということは起こっていないということが明らかになった。本実験の生育段階では、むしろ、B欠乏によってペクチン

は増加の傾向をみせることを示した。しかし、B欠乏植物でのこのペクチン量の対照区に対する変異は、B欠乏に由来する代謝異常の結果ではないと考えられる。すなわち、B欠乏によって誘発されるある代謝異常によって、生長点における正常な細胞の増殖がとまり、一方、ペクチン生成の方は正常に回転する。その結果、その部位での単位量あたりのペクチン量が増加して来るものであろう。

要 約

ペクチン生成反応にBが直接関与しているのではないという前報の推論を確かめるために本実験を行なった。

B処理をして栽培したヒマワリの葉の分析結果、あるいは同様にB処理をして栽培した大豆の根端を対象としたトポ化学的手法による半定量や、セミミクロの定量分析結果は、いずれもB欠除区が対照区より高いペクチン含有率を示し、前報における推論の妥当性をうらざけた。

さらに、B欠除区における高ペクチン含有率は、植物体内のB含有率が減少するためペクチン生成が促進されるのではなく、B欠乏により正常な細胞増殖が出来なくなるにもかかわらず、ペクチン生成回路の方は阻害され

ないためであらうと考えられた。

謝辞 本報告をまとめるにあたって、長井助教授に有益な助言をいただいた。また藤堂教授には御校閲をいただいた。記して感謝の意を表します。

文 献

- 1) 山内益夫：土肥誌，42，207 (1971)
- 2) Johnson, E. S. and Dore, W. H., : *Plant Physiol.*, 4, 31 (1929)
- 3) Baker, J. E., Gauch, H. G. and Dugger, W. M. Jr., : *Plant Physiol.*, 31, 89 (1957)
- 4) Lamb, C. A., Bentley, O. G. and Beattie, J. M., : *Trace Elements*, P. 240 (1957) Academic Press INC. New York and London.
- 5) Jensen, W. A., : *Am. J. Botany*, 47, 287 (1960)
- 6) Jensen, W. A., : *Botanical Histochemistry*, P. 185 (1962), W. H. Freeman and Company.
- 7) Albert, L. S., : *Plant Physiol.*, 40, 649 (1965)
- 8) Whittington, W. J., : *J. Expt. Bot.*, 10, 93 (1959)